



Contents lists available at ScienceDirect

## Acta Haematologica Polonica

journal homepage: [www.elsevier.com/locate/achaem](http://www.elsevier.com/locate/achaem)

### Praca poglądowa/Review

## Metformina: stary lek w nowej aplikacji

### Metformin: an old drug in new application



Anna Dmoszyńska<sup>a</sup>, Monika Podhorecka<sup>1</sup>, Krzysztof Giannopoulos<sup>2,3,\*</sup>

<sup>1</sup>Klinika Hematoonkologii i Transplantacji Szpiku, Uniwersytet Medyczny w Lublinie, Polska

<sup>2</sup>Zakład Hematoonkologii Doświadczalnej Uniwersytet Medyczny w Lublinie, Polska

<sup>3</sup>Oddział Hematologiczny Centrum Onkologii Ziemi Lubelskiej im. św. Jana z Dukli, Polska

#### INFORMACJE O ARTYKULE

Historia artykułu:

Otrzymano: 07.03.2016

Zaakceptowano: 11.04.2016

Dostępne online: 20.04.2016

Słowa kluczowe:

- metformina
- mechanizmy działania
- hamowanie proliferacji

Keywords:

- Metformin
- Mechanisms of action
- Antiproliferative drug

#### ABSTRACT

Metformin is a biguanide derivative that was synthesized in the 20's of last century. The main mechanism of action is the ability to inhibit hepatic gluconeogenesis and trigger glucose uptake in skeletal muscles. Metformin is not only an antihyperglycaemic drug but also has protective effects on endothelium cells. In the last decade, many publications displayed that metformin can reduce risk of cancer in diabetic patients and demonstrated a protective effect against certain types of cancer. In this review article, we discuss known mechanisms of metformin anticancer action and its beneficial role as vascular protective and anticancer agent.

© 2016 Polskie Towarzystwo Hematologów i Transfuzjologów, Instytut Hematologii i Transfuzjologii. Published by Elsevier Sp. z o.o. All rights reserved.

### Wprowadzenie

Metformina jest syntetycznym dimetylobiguanidem, który został zsyntetyzowany w roku 1920 w Irlandii. Jednak praktyczne zastosowanie metforminy w leczeniu cukrzycy typu 2 datuje się od połowy lat 50. ubiegłego wieku. We wczesnych latach 70. pojawiły się pierwsze sugestie, że przeciw cukrzycowe biguanidy hamują procesy starzenia i mają właściwości przeciwnowotworowe [1]. Jednak dopiero w 2005 roku Evans i wsp. [2] wykazali, że leczenie metforminą zmniejsza ryzyko występowania raka piersi. Od tego momentu gwałtownie

wzrosła liczba publikacji wykazujących związek metforminy z procesem karcynogennym. Opisano też nowe mechanizmy działania tego niezwykłego leku [3–5]. W badaniach epidemiologicznych potwierdzono, że leczenie metforminą redukuje częstość występowania nowotworów i poprawia rokowanie u chorych z już wykrytym nowotworem [6–8].

### Mechanizm działania przeciwnowotworowego

Metformina działa na rozwój nowotworu w sposób pośredni i bezpośredni. Działanie pośrednie jest wynikiem obniżenia

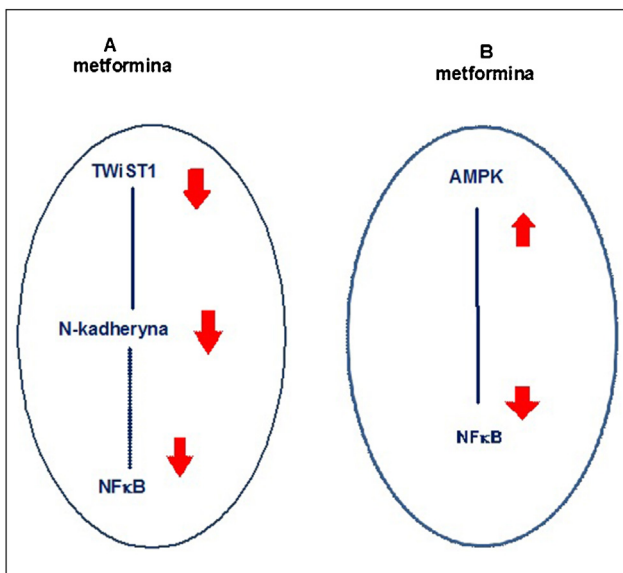
<sup>a</sup> Polska Grupa Szpiczakowa, emerytowany profesor Uniwersytetu Medycznego w Lublinie

\* Adres do korespondencji: Zakład Hematoonkologii Doświadczalnej, Uniwersytet Medyczny w Lublinie, ul. Chodźki 4a, 20-093 Lublin, Polska.  
Adres email: [giannop@wp.pl](mailto:giannop@wp.pl) (K. Giannopoulos).

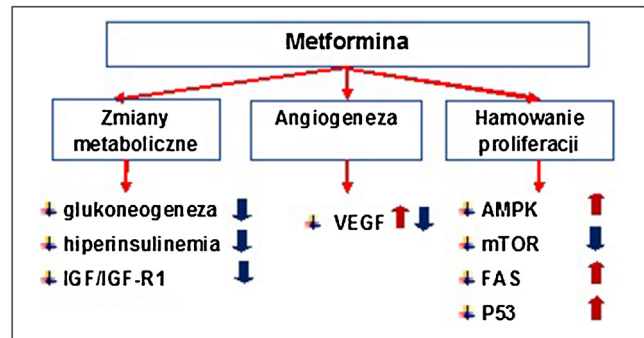
<http://dx.doi.org/10.1016/j.achaem.2016.04.001>

0001-5814/© 2016 Polskie Towarzystwo Hematologów i Transfuzjologów, Instytut Hematologii i Transfuzjologii. Published by Elsevier Sp. z o.o. All rights reserved.

stężenia glukozy i poziomu insuliny, a wpływ bezpośredni zachodzi przez AMPK – kinazę białkową aktywowaną AMP i aktywację drogi sygnałowej przez ssaczy cel dla rapamycyny – mTOR (*mammalian target of rapamycin*) [9, 10]. Wykazano nadto, że metformina wykazuje również działanie niezależnie od AMPK [11]. Ge i wsp. [12] opisali dwa niezależne szlaki odpowiedzialne za przeciwnowotworowe właściwości metforminy. Autorzy ci, badając komórki nowotworowe z ekspresją N-kadheryny i komórki z niedoborem tej cząsteczki, wykazali, że przeciwnowotworowy efekt metforminy jest mediowany przez różne mechanizmy molekularne. I tak w komórkach wykazujących ekspresję N-kadheryny (*wild type*) jej działanie polega na supresji szlaku TWiST1/N-kadheryna/NFκB niezależnie od AMPK. Natomiast aktywacja tej drogi czyni komórkę nowotworową oporną na metforminę. Podobnie, obniżenie AMP powoduje niewrażliwość na metforminę. Autorzy ci, śledząc drogę sygnałową TWiST1/N-kadheryna/NFκB, zaobserwowali, że zmieniając ekspresję TWiST1 (transkrypcyjny aktywator N-kadheryny), można obserwować różną wrażliwość na metforminę. Wykazali ponadto, że w komórkach z niedoborem N-kadheryny aktywność przeciwnowotworowa metforminy jest mediowana przez AMPK (Ryc. 1). Stwierdzili też, że poziomy N-kadheryny, p 65 i AMPK mogą być czynnikami predykcyjnymi nawrotu nowotworowego u chorych operowanych z powodu raka prostaty. Rycina 2 ilustruje



**Ryc. 1 – Uproszczony mechanizm molekularny przeciwnowotworowego działania metforminy w komórkach nowotworowych z ekspresją N-kadheryny typu dzikiego (A) i komórkach z niedoborem N-kadheryny (B); TWIST 1 – transkrypcyjny aktywator N-adheryny, AMPK – aktywowana AMP kinaza białkowa, NFκB – jądrowy czynnik transkrypcyjny kappa B**  
**Fig. 1 – Simplified molecular mechanism of metformin anticancer action in N-cadherin wild type expression cells (A) and N-cadherin deficient cells (B); TWIST 1 – transcriptional activator of N-cadherin, AMPK – AMP-activated protein kinase, NFκB – nuclear factor kappa B**



**Ryc. 2 – Główne mechanizmy przeciwnowotworowego działania metforminy; IGF/IGF-R1 – szlak przewodzenia insulinowy czynnik wzrostu/receptor1 dla insulinowego czynnika wzrostu, VEGF – naczyniowo-śródbłonkowy czynnik wzrostu, AMPK – aktywowana AMP kinaza białkowa, mTOR – ssaczy cel dla rapamycyny, FAS – białko FAS, P53 – białko TP53**  
**Fig. 2 – Main mechanisms of metformin action; IGF/IGF-R1 – pathway insulin growth factor/receptor 1 of insulin growth factor, VEGF – vascular endothelial growth factor, AMPK – activated AMP kinase, mTOR – mammalian target for rapamycin, FAS – FAS protein, p53 – TP53 protein**

główne mechanizmy przeciwnowotworowego działania metforminy.

Aktywacja AMPK wywołuje zahamowanie ekspresji genów związanych z glukoneogenezą, regulacją enzymów zaangażowanych w lipogenezę i utlenowanie kwasów tłuszczowych [12, 13]. AMPK fosforyluje kompleks 1 celu dla rapamycyny, blokując jego translokację i transkrypcję genów zaangażowanych w glukoneogenezę. Za aktywację AMPK *in vivo* odpowiada wątrobowa kinaza B1 (LBK1), dla której AMPK jest substratem [14]. Metformina, zmieniając metabolizm wątroby przez zwiększenie AMPK, wywołuje bezpośredni efekt antyproliferacyjny przez zahamowanie czynności kompleksu mitochondrialnego 1. Są autorzy, którzy uważają, że mechanizm działania metforminy nie polega na hamowaniu kompleksu mitochondrialnego, gdyż metformina wykazuje słabe powinowactwo do błony mitochondrialnej i przenika w niewielkiej ilości do tego organu [15].

### Wpływ metforminy na komórki śródbłonka naczyń

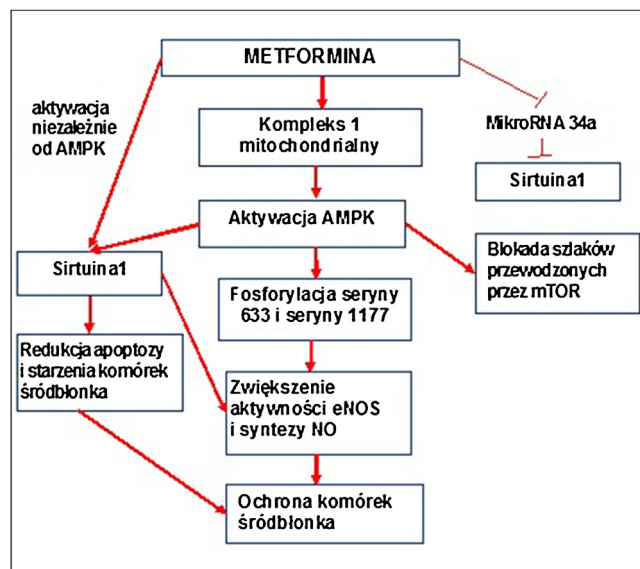
Ważnym działaniem metforminy jest jej ochronny efekt na komórki śródbłonka [16]. W regulowaniu funkcji śródbłonka ważną rolę oprócz szlaku AMPK/LKB1 odgrywa sirtuina 1 – produkt białkowy genu SIRT1 [14, 15]. Ochronny efekt metforminy przed wywołanym hiperglikemią starzeniem komórek śródbłonka wymaga ekspresji SIRT1. Ten efekt ochronny jest częściowo mediowany przez deacetylację Lys 496 i Lys 506 w domenie kalmoduliny wiążącej eNOS, co powoduje wzrost aktywności eNOS, a przez dodatnie sprzężenie zwrotne wzrost SIRT1 i dalsze zwiększenie eNOS [16].

W funkcjonowaniu komórek śródbłonna istotną rolę odgrywają mikro-RNA, małe endogenne, niekodujące części RNA. Zidentyfikowano kilka mikro-RNA regulujących czynność komórek śródbłonna i angiogenezę, takich jak: mikro-RNA 34a, miR-126, miR-10a, miR-217 [17]. Szczególną uwagę skupia miR 34a, wykazujący aktywność supresorową na komórki nowotworowe. Co jest niezwykle ciekawe, miR 34a jest regulowany przez statyny [18–20]. Zwiększona ekspresja miR34a eliminuje ochronny efekt metforminy na komórki śródbłonna. Na rycinie 3 przedstawiono mechanizmy ochronnego działania metforminy na śródbłonek naczyń.

Konieczne są dodatkowe badania, aby dokładniej określić molekularne mechanizmy ochronnego działania na śródbłonek i przeciwnowotworowego działania metforminy [21]. Trzeba jednak pamiętać, że aktywacja AMPK przez metforminę powoduje również wzrost ekspresji naczyniowo-śródbłonkowego czynnika wzrostu (VEGF; *vascular endothelial growth factor*) czego skutkiem może być zwiększona angiogeneza, co z kolei sprzyja promowaniu wzrostu nowotworu.

## Autofagia

Autofagia jest procesem polegającym na recyklingu, który wykorzystywany jest do zapewnienia równowagi odżywczej i czynnościowej organelli wewnątrzkomórkowych. W procesie tym usuwane są także komórki, które uległy apoptozie, jednak rola autofagii nie jest do końca poznana. W niektórych badaniach wykazano, że jest ona mechanizmem obronnym przed stresem promującym przeżycie komórki i działa antagonisticznie do apoptozy. Są jednak prace wskazujące,



Ryc. 3 – Działanie metforminy na komórki śródbłonna; eNOS – śródbłonkowa syntaza tlenku azotu, mTOR – ssaczy cel dla rapamycyny, AMPK – kinaza białkowa aktywowana AMP

Fig. 3 – Metformin effects on endothelial cells; eNOS – endothelial NO synthase, mTOR – mammalian target of rapamycin, AMPK – adenosine monophosphate-activated protein kinase

że dwa procesy autofagia i apoptoza mogą działać razem, prowadząc do śmierci komórki [23].

Badania farmakologiczne wykazały, że metformina, wpływając hamująco na wiele szlaków przewodzenia sygnałów komórkowych, wywołuje również supresję autofagii zależną od GRP78 (*glucose regulated protein 78*). Białko GRP78 kodowane przez gen HSPA5 jest niezbędnym komponentem autofagii wywołanej stresem i głównym regulatorem podtrzymującym integralność funkcji retikulum wewnątrz cytoplazmatycznego [22]. Jagannathan i wsp. [22] wykazali, że metformina przez supresję autofagii zależnej od GPR78 wzmacnia aktywność przeciwszpizakową u chorych na szpiczaka plazmocytoowego leczonych bortezomibem.

## Dawki metforminy

Franciosi i wsp. [24], dokonując retrospektywnej analizy efektów przeciwnowotworowych metforminy, stwierdzili, że może ona wpływać na specyficzne szlaki sygnałowe wybranych nowotworów, będąc bardziej skuteczna w jednych typach nowotworów, a mniej skuteczna w innych. Wydaje się jednak, że efekt metforminy zależy również od stosowanej dawki. Franciosi i wsp. sądzą, że stężenie metforminy używane w doświadczeniach na liniach komórek nowotworowych potrzebne do zahamowania proliferacji komórek nowotworowych jest zbyt duże w porównaniu ze stężeniem we krwi chorych leczonych metforminą. Stężenie w badaniach *in vitro* waha się od 0,5 do 50 mM, podczas gdy stężenie we krwi chorego waha się od 4 mikroM do 15 mikroM, ale są także autorzy, którzy uważają, że do efektu przeciwnowotworowego metforminy u człowieka wystarczą dawki 510–600 mg/m<sup>2</sup> [15].

## Nowotwory, w których stosowano metforminę

Już ponad 40 lat temu Dilman i wsp. [25] sugerowali, że biguanidy hamują rozwój nowotworów u ssaków, a następnie po kilkunastu latach wprowadzili termin „rehabilitacji metabolicznej” proponując, żeby chorym na nowotwory dawać biguanidy i stosować dietę niskokaloryczną [26]. Jednak te idee i pomysły dopiero w obecnym wieku zostały szerzej rozpropagowane i zastosowane.

Jednym z najczęściej występujących nowotworów w cukrzycy typu 2 jest rak jelita grubego. Cukrzyca typu 2 i rak jelita grubego mają wiele wspólnych cech. Czynniki sprzyjające rozwojowi tego nowotworu to otyłość typu brzusznego i zespół metaboliczny z jego narządowymi następstwami. Proces karcynogenezy u chorych na cukrzycę związany jest m.in. z hiperinsulinemią, dużym stężeniem IGF-1 i małym stężeniem IGFBP3 (*insulin growth factor binding protein 3*). IGF-1 stymuluje naczyniowo-śródbłonkowy czynnik wzrostu (VEGF) kluczowy czynnik angiogeny podtrzymujący wzrost nowotworu [27].

Wu GF i wsp. [28] w metaanalizie obejmującej 39 073 chorych na raka prostaty leczonych w latach 1966–2014 nie stwierdzili istotnego statystycznie połączenia między leczeniem metforminą i zmniejszeniem ryzyka wystąpienia raka prostaty, chociaż obserwowali trend w tym kierunku.

W innych metaanalizach dotyczących raka piersi, raka jelita grubego i raka wątroby stwierdzono, że terapia metforminą skojarzona jest ze zmniejszonym ryzykiem wystąpienia tych nowotworów [8, 29, 30]. Z wielu badań wynika, że mechanizm działania metforminy jest zróżnicowany w zależności od typu komórki nowotworowej. W tabeli I zestawiono piśmiennictwo dotyczące wybranych guzów litych.

## Leczenie metforminą nowotworów hematologicznych

Najczęściej występującą na półkuli zachodniej białaczką u ludzi dorosłych jest przewlekła białaczka limfocytowa (PBL), mediana wieku zachorowania to 60 lat. U około 20% chorych na PBL wykrywa się cukrzycę typu 2.

Silvia Bruno i wsp. [48] badali w hodowli komórkowej komórki PBL i oceniali aktywność cytotoksyczną metforminy w skojarzeniu z fludarabiną lub ABT-737 (inhibitor rodziny BCL2). Metformina zwiększała cytotoksyczność fludarabiny. W badaniach *in vitro* wrażliwość komórek PBL na fludarabinę jest osłabiona przez zwiększoną w tej chorobie aktywność mitochondriów, tak więc dodanie metforminy, zmniejszając aktywność mitochondriów, zwiększa skuteczność fludarabiny. Skojarzenie metforminy z ABT-737 również skutkuje zwiększeniem cytotoksyczności tego leku w następstwie

zahamowania cyklu komórkowego przez metforminę. Autorzy tej pracy konkludują, że metformina powinna się stać adjuwantem do aktualnie stosowanych terapii w PBL.

Shi i wsp. [49] opisali wpływ metforminy na komórki blastyczne ostrej białaczki limfoblastycznej (OBL) z obecnością translokacji BCR/ABL oraz na blasty białaczkowe linii K562 (wrażliwej na imatynib) i K562R (opornej na imatynib). Autorzy ci wykazali, że metformina aktywuje szlak ERK w komórkach blastycznych oraz przełamuje oporność na imatynib. Aktywacja szlaku ERK wzbudza również autofagię, co sugeruje, że w tym przypadku metformina jest czynnikiem cytoprotekcyjnym, jednak synergizm z imatynibem i przywrócenie wrażliwości na ten lek sugeruje, że metformina może mieć zastosowanie w tej postaci białaczki.

Vakana i Platanius [50] opisali wpływ aktywności AMPK w przewlekłej białaczce szpikowej i ostrej białaczce limfoblastycznej z translokacją BCR/ABL. Mimo wielkiego postępu w leczeniu tych białaczek po wprowadzeniu inhibitorów kinazy tyrozynowej, część chorych staje się oporna na to leczenie w wyniku mutacji w domenie BCR/ABL wiążącej inhibitory kinaz. Modulacja szlaku AMPK przez inhibitory PI3K/AKT/mTOR w skojarzeniu z metforminą może okazać się skuteczna w leczeniu opornych białaczek.

Ramos-Panafiel i wsp. [51] leczyli 73 chorych na ostrą białaczkę limfoblastyczną, kojarząc standardową chemioterapię z metforminą i porównali wyniki z grupą nieotrzymującą

**Tabela I – Wybrane nowotwory lite w których stosowano metforminę**  
**Table I – Selected solid tumors in which metformin was used**

Rodzaj nowotworu	Autor	Efekt działania
Rak piersi	Yang T i wsp. [30] El-Haggar i wsp. [31]	Zmniejszenie śmiertelności u chorych ze współistniejącą cukrzycą. Po 6 miesiącach terapii obniżenie IGF-1, IGFBP-3, CA 15-3 i zmniejszenie liczby przerzutów.
Rak jelita grubego	Fransgaard T i wsp. [32] Wang XW i Zhang YJ [33]	15-procentowy spadek śmiertelności w porównaniu do chorych leczonych insuliną. Na modelu mysim wykazano hamowanie szlaku sygnałowego mTOR.
Rak trzustki	Li D i wsp. [34] Lee SH i wsp. [35]	Metformina redukuje ryzyko raka trzustki u chorych na cukrzycę leczonych metforminą, a zwiększa ryzyko u leczonych insuliną. Wydłużenie przeżycia u chorych z rakiem trzustki i cukrzycą.
Rak wątroby	Park DB i wsp. [36] Singh i wsp. [37]	Zwiększenie apoptozy komórek rakowych, supresja autofagii. Metaanaliza wykazała 50% redukcji ryzyka raka wątroby u leczonych metforminą, a wzrost ryzyka u chorych leczonych insuliną lub pochodnymi sulfonilomocznika.
Rak dróg żółciowych	Kaewpitoom SJ i wsp. [38]	Aktywacja szlaku AMPK/mTOR C 1 w komórkach rakowych.
Rak jajnika	Zhang R i wsp. [39] Rattan R i wsp. [40]	Redukcja komórek macierzystych raka jajnika (badanie na liniach komórkowych) Na modelu mysim zahamowanie proliferacji komórek nowotworowych i hamowanie przerzutów do płuc. Synergizm metforminy i cis-platyny.
Niedrobnokomórkowy rak płuc	Della Corte CM i wsp. [41] Menamin UC i wsp. [42] Tian RH i wsp. [43]	Na liniach komórkowych zwiększenie inhibitora MEK oraz redukcja NFjB (p65) i wiązania komórek nowotworowych z MM2 i MM9. Nie wykazano istotnego wpływu metforminy na przeżycie chorych z rakiem płuc. W wybranych grupach chorych z rakiem płuc i cukrzycą obserwowano lepsze rokowanie.
Rak gruczołu tarczowego	Becker C i wsp. [44]	Nie wykazano zmniejszenia ryzyka raka tarczycy u chorych na cukrzycę leczonych metforminą.
Rak pęcherza	Peng M i wsp. [45]	Do pęcherzowe podanie metforminy zmniejsza znacząco proliferację komórek nowotworowych.
Rak gruczołu krokowego	Stopsack KH i wsp. [46]	Zmniejszenie ryzyka nawrotu biochemicznego u chorych na cukrzycę i raka prostaty.
Rak nerki	Tseng CH [47]	Metformina zmniejsza ryzyko raka nerki u chorych na cukrzycę.

metforminy. Całkowita odpowiedź w grupie z metforminą wynosiła 81,3%, a w grupie bez metforminy 70%. Po roku obserwacji całkowite przeżycie było podobne w obu grupach.

Nowotworem występującym w starszym wieku jest szpiczak plazmocytowy (mediana 70 lat). Prawie wszystkie protokoły leczenia tego nowotworu zawierają kortykosterydy (deksametazon lub prednizon), co u części chorych wywołuje cukrzycę posterydową. Analiza retrospektywna dokonana przez badaczy z Uniwersytetu w Cincinnati w Stanach Zjednoczonych wykazała, że występowanie cukrzycy u chorych na szpiczaka jest niekorzystnym czynnikiem rokowniczym i wiąże się z mniejszym odsetkiem remisji całkowitych po leczeniu indukującym remisję oraz krótszym czasem całkowitego przeżycia [52]. Jednym z możliwych wyjaśnień, dlaczego cukrzyca obciąża rokowanie u tych chorych, jest duża ekspresja IGF-1R na komórkach szpiczaka, która powoduje, że leczenie insuliną cukrzycy stymuluje wzrost szpiczaka, aktywując szlak IR/IGF-1R i prowadzi do wystąpienia oporności na deksametazon. W przeciwieństwie do egzogennej insuliny zastosowanie metforminy może poprawić tę niekorzystną sytuację. Autorzy ci na modelu mysim plazmocytoma porównali efekt leczenia samym bortezomibem oraz bortezomibem skojarzonym z metforminą, wykazując korzystny efekt tego połączenia w postaci zmniejszenia rozmiarów guza oraz wydłużenia czasu przeżycia myszy z 22 do 27 dni. Opierając się na danych epidemiologicznych, sugerują również, że dodanie metforminy może skutkować redukcją dawek bortezomibu i zapobiegać neuropatii wywołanej przez ten lek.

## Podsumowanie

Metformina hamuje zmiany metaboliczne towarzyszące cukrzycy typu 2 i za pośrednictwem wielu mechanizmów może wpływać hamująco na rozwój procesów nowotworowych, chociaż mechanizm jej działania przeciwnowotworowego nie jest do końca wyjaśniony. Przeglądając literaturę, można odnieść wrażenie, że metformina to lek uniwersalny o plejotropowym mechanizmie działania wykazujący aktywność nie tylko w cukrzycy, prewencji nowotworów, chorobach układu krążenia, ale i wielu innych. Jednak mało jest badań prospektywnych, randomizowanych. Większość badań prowadzona była na zwierzętach bądź liniach komórkowych poszczególnych nowotworów. Badania dotyczące chorych to głównie badania obserwacyjne dotyczące chorych na cukrzycę typu 2, u których wystąpiły nowotwory. Wyniki dotychczasowych badań mimo pewnych zastrzeżeń są na tyle obiecujące, że należy zaplanować prospektywne, wieloosrodkowe badania, aby ustalić miejsce metforminy nie tylko w prewencji nowotworów, ale także w leczeniu już rozpoznanego nowotworu. Bardzo obiecujące wydaje się łączenie standardowej chemioterapii z metforminą, która jest lekiem tanim i dobrze tolerowanym przez chorego. Dalszych badań wymaga również określenie roli metforminy w leczeniu nowotworów u chorych bez współistniejącej cukrzycy.

## Wkład autorów/Authors' contributions

Według kolejności.

## Konflikt interesu/Conflict of interest

Nie występuje.

## Finansowanie/Financial support

Nie występuje.

## Etyka/Ethics

Treści przedstawione w artykule są zgodne z zasadami Deklaracji Helsińskiej, dyrektywami EU oraz ujednoliczonymi wymaganiami dla czasopism biomedycznych.

## PIŚMIENNICTWO / REFERENCES

- [1] Snima KS, Pillai P, Cherian AM, Nair SV, Lakshmanan VK. Anti-diabetic drug metformin: challenges and perspectives for cancer therapy. *Curr Cancer Drug Targets* 2014;14:727-736.
- [2] Evans JM, Donnelly LA, Emslie-Smith AM, Alessi DR, Morris AD. Metformin and reduced risk of cancer in diabetic patients. *BMJ* 2005;330:1304-1305.
- [3] Anisimov VN. Metformin for cancer and aging prevention: is it a time to make the long story short? *Oncotarget* 2015;6:39398-39407.
- [4] Pawlyk AC, Giacomini KM, McKeon C, Shuldiner AR, Florez JC. Metformin pharmacogenomics: current status and future directions. *Diabetes* 2014;63:2590-2599.
- [5] Zhao Z, Cheng X, Wang Y, Han R, Li L, Xiang T, et al. Metformin inhibits the IL-6-induced epithelial-mesenchymal transition and lung adenocarcinoma growth and metastasis. *PLoS One* 2014;9:e95884.
- [6] Hirsch HA, Iliopoulos D, Tschichl PN, Struhl K. Metformin selectively targets cancer stem cells, and acts together with chemotherapy to block tumor growth and prolong remission. *Cancer Res* 2009;69:7507-7511.
- [7] Col NF, Ochs L, Springmann V, Aragaki AK, Chlebowski RT. Metformin and breast cancer risk: a meta-analysis and critical literature review. *Breast Cancer Treat* 2012;135:639-646.
- [8] Zhang ZJ, Zheng ZJ, Kan H, Song Y, Cui W, Zhao G, et al. Reduced risk of colorectal cancer with metformin therapy in patients with type 2 diabetes: a meta-analysis. *Diabetes Care* 2011;34:2323-2328.
- [9] Mei ZB, Zhang ZJ, Liu CY, Cui A, Liang ZL, et al. Survival benefits of metformin for colorectal cancer patients with diabetes: a systemic review and meta-analysis. *PLoS One* 2014;9:e91818.
- [10] Moiseeva O, Deschênes-Simard X, Pollak M, Ferbeyre G. Metformin, aging and cancer. *Aging* 2013;5:330-331.
- [11] Han G, Gong H, Wang Y, Guo S, Liu K. AMPK/mTOR-mediated inhibition of survivin partly contributes to metformin-induced apoptosis in human gastric cancer cell. *Cancer Biol Ther* 2015;16:77-87.
- [12] Ge R, Wang Z, Wu S, Zhuo Y, Otsetov AG, et al. Metformin represses cancer cells via alternate pathways in N-cadherin expressing vs. N-cadherin deficient cells. *Oncotarget* 2015;6:28973-28987.
- [13] Madiraju AK, Erion DM, Rahimi Y, et al. Metformin suppresses gluconeogenesis by inhibiting mitochondrial

- glycerophosphate dehydrogenase. *Nature* 2014;510: 542–546.
- [14] Sui X, Xu Y, Wang X, Han W, Pan H, Xiao M. Metformin: A Novel but Controversial Drug in Cancer Prevention and Treatment. *Mol Pharm* 2015;12:3783–3791.
- [15] Zu Y, Liu L, Lee MY, Xu C, Liang Y, Man RY, et al. SIRT1 promotes proliferation and prevents senescence through targeting LKB1 in primary porcine aortic endothelial cells. *Circ Res* 2010;106:1384–1393.
- [16] Triggler CR, Ding H. Metformin is not just an antihyperglycaemic drug but also has protective effects on the vascular endothelium. *Acta Physiologica* 2016. (Epub ahead of print).
- [17] Arunachalam G, Yao H, Sundar IK, Caito S, Rahman I. SIRT1 regulates oxidant and cigarette smoke-induced eNOS acetylation in endothelial cells: role of resveratrol. *Biochem Biophys Res Commun* 2010;393:66–72.
- [18] Arunachalam G, Lakshmanan AP, Samuel SM, Triggler CR, Ding H. Molecular interplay between microRNA-34a and sirtuin1 in hyperglycemia-mediated impaired angiogenesis in endothelial cells: Effects of metformin. *J Pharmacol Exp Ther* 2015 (Epub ahead of print).
- [19] Kozak MM, Anderson EM, von Eyben R, Pai JS, Poultsides GA, Visser BC, et al. Statin and Metformin Use Prolongs Survival in Patients With Resectable Pancreatic Cancer. *Pancreas* 2016;45:64–70.
- [20] Babcook MA, Sramkoski RM, Fujioka H, Daneshgari F, Almasan A, Shukla S, et al. Combination simvastatin and metformin induces G1-phase cell cycle arrest and Ripk1- and Ripk3-dependent necrosis in C4-2B osseous metastatic castration-resistant prostate cancer cells. *Cell Death Dis* 2014;5:e1536.
- [21] Kinaan M, Ding H, Triggler CR. Metformin: An Old Drug for the Treatment of Diabetes but a New Drug for the Protection of the Endothelium. *Med Princ Pract* 2015;24: 401–415.
- [22] Jagannathan S, Abdel-Malek MA, Malek E, Vad N, Latif T, Anderson KC, et al. Pharmacologic screens reveal metformin that suppresses GRP78-dependent autophagy to enhance the anti-myeloma effect of bortezomib. *Leukemia* 2015;29:2184–2191.
- [23] Iain MV, Paczulla AM, Klonisch T, Dimgba FN, Rao SB, Roberg K, et al. Self-eating and self-killing: crosstalk between apoptotic, autophagic and necrotic pathways: implications for cancer therapy development. *J Cell Mol Med* 2013;17:12–22.
- [24] Franciosi M, Lucisano G, Lapice E, Strippoli GF, Pellegrini F, Nicolucci A. Metformin therapy and risk of cancer in patients with type 2 diabetes: systemic review. *PLoS One* 2013;8:e71583.
- [25] Dilman VM, Berstein LM, Zabezhinski MA, Alexandrov VA. On influence of phenformin in induction of mammary tumors in rats. *Vopr Onkol* 1974;20:94–97.
- [26] Dilman VM, Berstein LM, Yevtushenko TP, Tsyrlina YV, Ostroumova MN, Bobrov YF, et al. Preliminary evidence on metabolic rehabilitation in cancer patients. *Arch Geschwulstforsch* 1988;58:175–183.
- [27] Kowall B, Stang A, Rathmann W, Kostew K. No reduced risk of overall colorectal, lung, breast and prostate cancer with metformin therapy in diabetic patients: database analysis from Germany and the UK. *Pharmacoepidemiol Drug Saf* 2015 Jul 1. <http://dx.doi.org/10.1002/pds.3823>.
- [28] Wu GF, Zhang XL, Luo ZC, Yan JJ, Pan SH, Ying XR, et al. Metformin therapy and prostate cancer risk: a meta-analysis of observational studies. *Int J Clin Exp Med* 2015;8 (8):13089–13098.
- [29] Malki A, Youssef A. Antidiabetic drug metformin induces apoptosis in human MCF breast cancer via targeting ERK signaling. *Oncol Res* 2011;19:275–285.
- [30] Yang T, Yang Y, Liu S. Association between metformin therapy and breast cancer incidence and mortality. Evidence from a meta-analysis. *J Breast Cancer* 2015;18 (3):264–270.
- [31] El-Haggag, El-Shitany NA, Mostafa MF, El-Bassiouny NA. Metformin may protect nondiabetic breast cancer women from metastasis. *Clin Exp Metastasis* 2016 Feb 22 [Epub ahead of print].
- [32] Fransgaard T, Thygesen LC, Gögenur I. Metformin Increases Overall Survival in Patients with Diabetes Undergoing Surgery for Colorectal Cancer. *Ann Surg Oncol* 2015 (Dec 29) [Epub ahead of print].
- [33] Wang XW, Zhang YJ. Targeting mTOR network in colorectal cancer therapy. *World J Gastroenterol* 2014;20:4178–4188.
- [34] Li D, Yeung SC, Hassan MM, Konopleva M, Abbruzzese JL. Antidiabetic therapies affect risk of pancreatic cancer. *Gastroenterology* 2009;137:482–488.
- [35] Lee SH, Yoon SH, Lee HS, Chung MJ, Park JY, Park SW, et al. Can metformin change the prognosis of pancreatic cancer? Retrospective study for pancreatic cancer patients with pre-existing diabetes mellitus type 2. *Dig Liver Dis* 2015. <http://dx.doi.org/10.1016/j.dld.2015.12.006>. Epub ahead of print.
- [36] Park DB. Metformin Promotes Apoptosis but Suppresses Autophagy in Glucose-Deprived H4IIE Hepatocellular Carcinoma Cells. *Diabetes Metab J* 2015;39:P518–P527.
- [37] Singh S, Singh PP, Singh AG, Murad MH, Sanchez W. Antidiabetic medication and the risk of hepatocellular cancer: a systematic review and meta-analysis. *Am J Gastroenterol* 2013;108:881–891.
- [38] Kaewpitoon SJ, Loyd RA, Rujirakul R, Panpimanmas S, Matrakool L, Tongtawee T, et al. Benefits of Metformin Use for Cholangiocarcinoma. *Asian Pac J Cancer Prev* 2015;16:8079–8083.
- [39] Zhang R, Zhang P, Wang H, Hou D, Li W, Xiao G, et al. Inhibitory effects of metformin at low concentration on epithelial-mesenchymal transition of CD44(+), CD117(+) ovarian cancer cells. *Stem Cell Res Ther* 2015;6:262. <http://dx.doi.org/10.1186/s13287-015-02100>.
- [40] Rattan R, Graham RP, Maquire JL, Giri S, Shridhar V. Metformin suppresses ovarian cancer growth and metastasis with enhancement of cisplatin cytotoxicity in vivo. *Neoplasia* 2011;13:483–491.
- [41] Della Corte CM, Ciaramella V, Di Mauro C, Castellone MD, Papaccio F, Fasano F, et al. Metformin increases antitumor activity of MEK inhibitors through GLI1 downregulation in LKB1 positive human NSCLC cancer cells. *Oncotarget* 2015. <http://dx.doi.org/10.18632/oncotarget.6559> (epub ahead of print).
- [42] Menamin UC, Cardwell CR, Hughes CM, Murray LM. Metformin use and survival from lung cancer: a population-based cohort study. *Lung Cancer* 2016;94:35–39.
- [43] Tian RH, Zhang YG, Wu Z, Liu X, Yang JW, Ji HL. Effects of metformin on survival outcomes of lung cancer patients with type 2 diabetes mellitus: a meta analysis. *Clin Transl Oncol* 2015 Oct 12 (Epub ahead of print).
- [44] Becker C, Jick SS, Meier CR, Bodmer M. No evidence for decreased risk of thyroid cancer in association with use of metformin or other antidiabetic drugs: a case control study. *BMC Cancer* 2015. <http://dx.doi.org/10.1186/s12885-015-1719-6>.
- [45] Peng M, Su Q, Zeng Q, Li L, Liu Z, Xue L, et al. High efficacy of intravesical treatment of metformin on bladder cancer in preclinical model. *Oncotarget* 2016. <http://dx.doi.org/10.18632/oncotarget.6933> (Epub ahead of print).
- [46] Stopsack KH, Ziehr DR, Rider JR, Giovannucci EL. Metformin and prostate cancer mortality: a meta-analysis. *Cancer Causes Control* 2016;27(1):105–113.
- [47] Tseng CH. Use of metformin and risk kidney cancer in patients with type 2 diabetes. *Eur J Cancer* 2016;52:19–25.

- 
- [48] Bruno S, Ledda B, Tenca C, Ravera S, Orengo AM, et al. Metformin inhibits cycle progression of B-cell chronic lymphocytic leukemia cells. *Oncotarget* 2015;6:22624–22640.
- [49] Rosilio C, Ben-Sahra I, Bost F, Peyron JF. Metformin: a metabolic disruptor and anti-diabetic drug to target human leukemia. *Cancer Lett* 2014;346:188–196.
- [50] Leclerc GM, Leclerc GJ, Kuznetsov JN, DeSalvo J, Barredo JC. Metformin induces apoptosis through AMPK-dependent inhibition of UPR signaling in ALL lymphoblasts. *PLoS One* 2013;8:e74420.
- [51] Shi R, Lin J, Gong Y, Yan T, Shi F, Yang X, et al. The antileukemia effect of metformin in the Philadelphia chromosome – positive leukemia cell line and patient primary leukemia cell. *Anticancer Drugs* 2015;29(9):913–922.
- [52] Wu W, Merriman K, Nabaah A, Seval N, Lin H, Wang M, et al. The association of diabetes and anti-diabetic medications with clinical outcomes in multiple myeloma. *Brit J Cancer* 2014;111:628–636.