

## Metformin, Diyabet ve Meme Kanseri Üçgeni

Güven YENMİŞ

### Öz

Metformin, tip 2 diyabet (T2D) tedavisinde kullanılan umut verici, iyi bilinen bir klinik ilaçtır. Gerçekleştirilen epidemiyolojik çalışmaların meta-analizlerine göre, T2D'nin kanser gelişimiyle-özellikle meme kanserinde-insidans açısından-negatif bir korelasyonu vardır ve kanser hastaları metformin ile tedavi edildiğinde mortalite riskinin azaldığının gösterilmesi, metformin ve tümör oluşumu arasında bir bağlantı olduğunu düşündürmekte bu durumda birçok araştırmacının dikkatini çekmektedir. İlginçtir ki, sadece in vivo değil, aynı zamanda in vitro çalışmalar da metforminin direkt bir antitümör etkisine sahip olduğunu doğrulamaktadır, çünkü metformin, tümör proliferasyonunu baskılayabilir ve hücre döngüsü durmasını, apoptozunu ve hatta tümör hücrelerinin otofajisini tetikleyebilir. Bununla birlikte, metforminin kanser hücreleri üzerinde inhibe edici etkisini ortaya çıkaran kesin mekanizma henüz tam olarak belirlenmemiştir. Bu derlemede, metforminin etki mekanizması, hem T2D, hem de kanser ile ilişkili olarak değerlendirilmiştir. Kanser düzenleme yollarının detaylandırılması, metformini kanser tedavisinde yeni yaklaşımlar için bir aday olarak göstermektedir. Bu nedenle, metformin tedavisinin kanser önleme ve nüks durumunda hem tekli hem de adjuvan tedavilerde doğru etkinliğini doğrulamak için ek araştırmalara ihtiyaç vardır. Yapılacak büyük ölçekli klinik araştırmalar metforminin anti-kanser etkisini desteklerse, metformin, kanser tedavisi için umut vadeden, yeniden konumlandırılmış bir seçenek haline gelebilir.

**Anahtar Kelimeler:** Metformin, Meme kanseri, Tip 2 diyabet, Kanser ilacı

### The Triangle of Metformin, Type 2 diabetes mellitus, and the Breast Cancer

#### Abstract

Metformin is a promising well-known clinical drug used in type 2 diabetes mellitus (T2DM) treatment. According to meta-analyses of epidemiological studies, T2DM has a negative correlation-in case of incidence- with cancer development-especially breast cancer- and that patients with cancer have decreased risk of mortality if treated with metformin, suggesting a linkage between metformin and tumorigenesis which draws the attention of many researchers. Interestingly enough, not only in vivo but also in vitro studies have confirmed that metformin has a straightforward antitumor effect, as it may suppress tumor proliferation and trigger cell cycle arrest, apoptosis, and even autophagy of tumor cells. However, the exact mechanism by which metformin produces its inhibitory effect on cancer cells has not been well established yet. Here in this review, the mechanism of action of metformin is evaluated in correlation with both T2DM and cancer. Well-established cancer regulation pathways nominate metformin as a candidate for novel approaches in cancer treatment. Thus, additional research is needed to confirm the correct efficacy of metformin therapy in both single or adjuvant therapies in case of

---

Biruni Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji AD.  
Yazışma Adresi: Dr. Güven Yenmiş, Biruni Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji AD. Protokol Yolu No:45, 10. Yıl Cad., 34010 Zeytinburnu/İstanbul, e-mail: gyenmis@biruni.edu.tr, ORCID: 0000-0002-6688-9725  
Geliş Tarihi: 13 Mayıs 2020 - Kabul Tarihi: 16 Haziran 2020  
DOI:10.17932/IAU.TFK.2018.008/2020.302/tfk\_v03i2001

cancer prevention and recurrence. If large-scale clinical trials support the anti-cancer effect of metformin, metformin could become a rewarding and repositioned option for cancer therapy.

**Key Words:** Metformin, Breast cancer, Type 2 Diabetes Mellitus, Cancer treatment drug

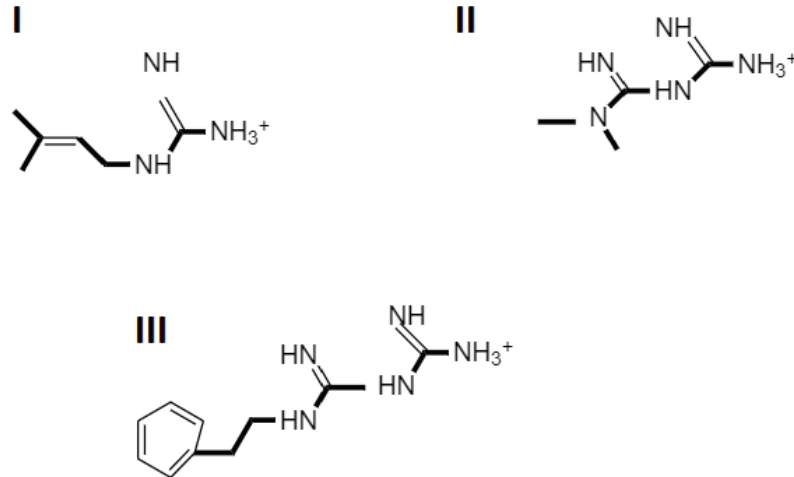
## Giriş

### Metformin ve Diyabet

1920'lerde diyabet tedavisi için kullanılan en ünlü bitkisel ajan, Fransız leylağı (*Galega officinalis*) özütü olan Galegine isimli kimyasaldır. Kan şekerini düşüren özelliğinin yanında toksik yan etkisinin varlığı (1,2), 1950'lere kadar unutulmasına neden olmuştur. Galegine'nin keşfinden hemen sonra galegine türevi iki yeni kimyasal ajan daha -metformin ve fenformin- sentezlenmiş ama 1957'de Amerika'daki kullanımının kabul edilmesine kadar kliniğe girememiştir (Şekil 1). Bu iki ajan daha sonraları sentezlenen buformin ile çeşitlilik kazanmış olmakla birlikte fenformin ve buforminin laktik asidozla ilişkilendirilmesi bu iki ajanın terapilerden çekilmesine neden olmuştur. Metforminin ise terapötik dozlarda laktik asidoz insidansı oldukça nadirdir (3,4). 1995'de Amerika'da da kabul görmesiyle metformin günümüzde özellikle yeni Tip 2 Diyabet (T2D)

tanısı almış hastaların tedavisinde etkin şekilde kullanılmaktadır. Tek başına, monoterapik olarak uygulanıyor olmakla birlikte sülfonilüre, inkretin, flozin ya da insülin ile birlikte günlük insülin enjeksiyonundan bağımsız olacak şekilde de uygulanabilmektedir (5,6). Biguanid ailesinden olan metformin, iki metil grubu bulunan bir dimetilbiguanid olarak bilinmektedir. Polar, beklenmedik şekilde hidrofilik, fenforminle karşılaştırıldığında aktif hücreler arası taşımada daha güvenilir (7), ve mitokondriyal membran afinitesi daha azdır.

Laktik asidoz insidansı her yıl 1000 hasta içerisinde 0.03 vaka olarak seyretmekte (8) bu durum mitokondriyal solunum zincirindeki baskılayıcı etkisinin azlığını açıklamaktadır (9). Öyle ki, metformin kullanan ve kullanmayan T2D hastalarındaki laktik asidoz oranları benzerlik göstermektedir (10).



**Şekil 1:** Galegine, metformin ve fenforminin kimyasal yapıları. Metformin ve fenformin, galeginin sentetik türevleridir. (I) Galegine (İzoprenilguanidin), (II) Metformin (Dimetilbiguanid), (III) Fenformin (Phenetilbiguanid).

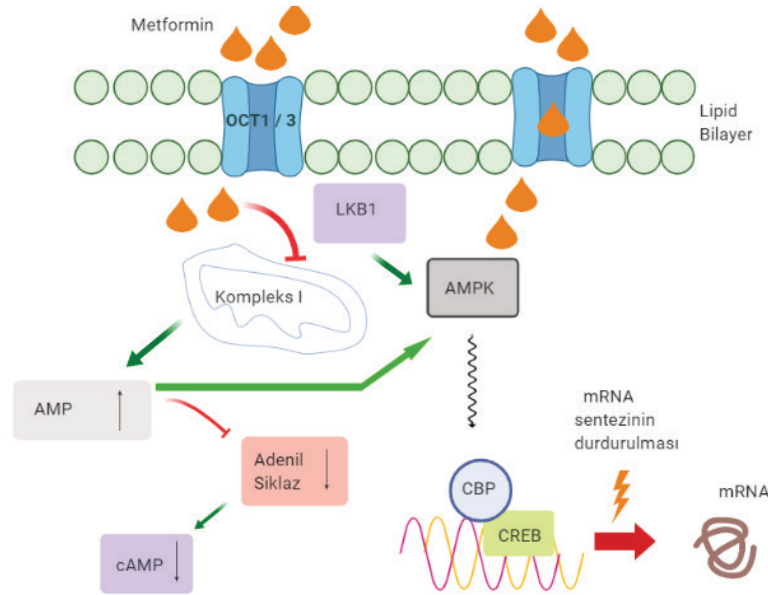
### Metforminin Hücre Düzeyinde Taşınması

Metformin insan ve hayvanlarda sindirilmeden, herhangi bir değişime uğramadan, renal yoldan dışarı atılmaktadır. Günlük kabul edilen maksimum doz 2.5 g'dır (35 mg/kg vücut ağırlığı). İnce bağırsakların apikal membranı üzerindeki plazma monoamin taşıyıcı (PMAT) ve organik katyon taşıyıcı (OCT) 3 ile emilir ve bazolateral membran üzerindeki OCT 1 ile bu hücrelerden çıkarılmaktadır (Şekil 2). Metformin daha sonra portal damarlar aracılığıyla karaciğere taşınmakta, bu süreçte portal damar içerisindeki plazma konsantrasyonu 40-70  $\mu$ M arasında seyretmektedir (11). Hepatik alım sonrasında, metforminin sistemik plazma konsantrasyonu hayvanlarda (12), ve insanlarda 10-40  $\mu$ M seviyesine düşmektedir.

### Metforminin Etki Mekanizması

20 yıl kadar önce primer hepatositlerde metforminin, Adenozin Monofosfat Kinazı (AMPK), katalitik  $\alpha$  alt ünitesinin 172. sıradaki treonin amino asidinin net fosforilasyonunu arttırarak etkinleştirdiği

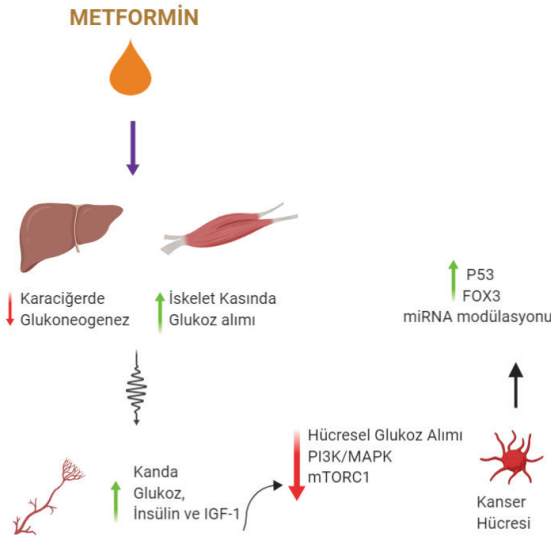
gösterilmiştir (13). Hemen sonrasında AMPK'nın treonin üzerinden fosforillenmesi yolağında uyarıcı etkinliği gösteren Serin/treonin kinaz 11 (LKB1) knock out edilmiş çalışmada metforminin hepatik glikoz üretimi üzerindeki baskısının kaybolduğu rapor edilmiştir (14). Yine 2009 yılında, AMPK aktivasyonunun CREB- bağlanma proteininin (CBP) 426. sıradaki serin amino asidinin fosforillenmesine neden olduğu, bu değişikliğin de CREB-koaktivatör kompleksin dağılmasına, bu dağılmanın ise glikoneojenik gen ekspresyonunun durdurulmasına sebep olduğu gösterilmiştir (15) (Şekil 2). Buna göre her ne kadar bir fikir birliği olmasa da metforminin etki mekanizmasının çok değişkenli bir yolağın farklı basamaklarında olduğu söylenebilir. Biguanidlerin pleiotropik etkilerinin temelinde mitokondri üzerindeki etkilerinin olduğu bir gerçektir. Birbirinden bağımsız şekilde, El-Mir ve Owen, metforminin mitokondri üzerinden ilerleyen, diğer yolak ve proteinlere etki etmeden, kısmi ama spesifik olarak solunum zincir kompleksi I (NADH:Ubiquinon oksidoredüktaz)'i



**Şekil 2:** Metforminin hücre içine alınması organik katyon taşıyıcıları (OCT) ile gerçekleştirilir. a) Artmış metformin konsantrasyonu mitokondride solunum zincir kompleksi I'ı durdurarak, AMP konsantrasyonunun artmasına, bu artış Adenil siklazın azalmasına, bu azalış da siklik AMP (c-AMP) konsantrasyonunun düşmesine sebep olmaktadır. Artmış AMP konsantrasyonu da doğrudan AMPK aktivasyonunu uyarmaktadır. b) Portal damar içerisinde artmış metformin konsantrasyonu AMPK'nın aktivasyonuna, bu aktivasyon ise CBP fosforilasyonu ile glikoneojenik gen ekspresyonunun baskılanmasına neden olmaktadır.

durdurduğunu göstermişlerdir (9,16) (Şekil 2). Bu bulgu sıçan, fare ve insan primer hepatositlere ait farklı hücrel modellerde (9,16,17), endotel hücrelerinde (18), sinir hücrelerinde (19) ve yakın zamanda da kanser hücrelerinde (20,21) gösterilmiştir.

Metformin, kan glikoz seviyelerini, karaciğerde glikoneojenezi ve glikojenolizi, ince bağırsakta glikozun emilimini, yağ dokusunda ise serbest yağ asitlerinin salınmasını azaltarak, kas tarafından glikoz kullanımını artırarak azaltır (22) (Şekil 3). Metforminin, glikoz düşürücü etkisinin yanı sıra kardiyovasküler sistem koruyucu etkisi ve farklı kanserlerde kanser önleyici etkileri çalışılmıştır (22-24). Hasta profiline ve çeşitli hastalık koşullarına bağlı olarak, karaciğer hastalıkları (25-28), böbrek hasarı ve bozuklukları (29), nörodejeneratif hastalıklar (30-32) ve kemik rahatsızlıklarının (33) tedavisinde metforminin yararlı etkileri rapor edilmiştir. Ayrıca metformin tedavisi varlığında, *C. elegans*, böcekler ve kemirgenlerde yaşlanma karşıtı etki ile yaşa bağlı bozuklukların başlangıcında gecikme ve yaşam süresi uzunluğunda iyileşme bildirilmiştir (4,34-36).



**Şekil 3:** AMPK aracılı ya da AMPK-bağımsız yollar aracılığıyla metforminin etki mekanizmaları

Son zamanlarda yapılan gözlemsel çalışmalar diyabetli hastalarda metformin ile kanser riski arasında, özellikle meme kanserinde, ters bir ilişki olduğunu göstermektedir (37-40). Ayrıca yakın zamanda yapılan bir alan çalışmasında, adjuvan metformin tedavisinin, meme kanseri başta olmak üzere eşzamanlı diyabeti de olan kanser hastaları için daha iyi sağkalım ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (41). Yine hem diyabet hem de kansere atfedilebilen birçok yaygın risk faktörü nedeniyle, çeşitli epidemiyolojik çalışmalarda, diyabetin ortaya çıkması ile çeşitli meme kanseri türleri de dahil olmak üzere birçok farklı kanserin daha yüksek risk ve insidansı arasında ikna edici bir bağlantı kurulmuştur (39,42-46). Bu bağlamda, özellikle meme kanserlerinde, diyabeti tedavi etmek için kullanılan insülin ve insülin analogları, anjiyogenezin indüklenmesi ve mitojenik sinyal mekanizmalarının aktivasyonu ile tümörün yayılımını artırırken; thiazolidinedionlar gibi T2D tedavisinde kullanılan ilaçlar, bir anti-kanser etki yapmamakta; buna karşılık metformin, proliferasyon önleyici ve anti-kanser etkisi sergilemektedir (39). Yüksek heterojenliğe rağmen bu birikimli kanıtlar, bir antitümör ajanı olarak metformine olan ilgiyi uyandırmıştır (41, 47).

Meme kanseri bütün kanser tipleri içerisinde en sık rastlanan ikinci, sadece kadınlar düşünüldüğünde ise en sık görülen kanserdir. 2018'de yaklaşık 2 milyon yeni vaka bildirilmiştir (48). Meme kanseri, mutasyonlar ve dinamik genetik değişiklikler nedeniyle genetik bir hastalık olarak kabul edilmektedir. Meme kanseri hücrelerinin metabolik yollar için normal hücrelerden farklı olarak izlediği sistematik, kontrolsüz hücre büyümesi ve genetik değişiklikler ihtiyaç duyulan mutasyonun ortaya çıkmasının önde gelen nedenlerinden biridir. Nobel ödüllü Otto Heinrich Warburg, kanser hücrelerinin yüksek oranda aerobik glikoz alımına sahip olduğunu ve kanser hücrelerinin yeni terapötik stratejiler uygulanabilecek ayırt edilebilir bir metabolik fenotipe sahip olduklarını vurguladı (Warburg etkisi) (49,50). Tümörögenез sırasında Warburg etkisini düzenleyen sinyal yolağını değiştiren metformin, kanser hücrelerinin enerji kaynaklarını ve çoğalmasını sınırlayarak ve glikoz metabolizmasını durdurarak fayda sağlamaktadır.

### Metformin bir anti-kanser ajandır

Metforminin anti-kanser aktivitesi, hem dolaylı hem de doğrudan yollarla gerçekleşmektedir (51). Kanser hücresinin hücre bölünmesi, hücre sağkalımı gibi metabolik yetkinliklerinin yeniden düzenlenmesi, hücreleri terapötik stratejiler için tehlikeli bırakır. Metformin, kas hücrelerinin glikoz alımını artırır, bu da plazma insülin seviyesini azaltır ve hem preneoplastik hem de neoplastik hücrelerin çoğalmasının sınırlandırılmasına yardımcı olur (52) (Şekil 3). Dolaylı yolla, kanser hücresi artışı, insülin/IGF-1 yolağının insülin-düşürücü etkisi ile azaltılır; oysa doğrudan yolla, hücrelerdeki enerji alımını azaltmak için mitokondride elektron taşıma zinciri hedeflenir. Her iki yolak da, AMPK'yı etkinleştirerek kanser hücresinin çoğalması ve apoptozunu baskılayan memeli rapamisin hedefini (mTOR) baskılar (53) (Şekil 3). Yüksek testosteron, östrojen ve androjen seviyelerinin meme kanseri ve meme kanseri nüks riski ile ilişkili olması dolayısıyla; metformin insülin salınımının azaltılması ile seks hormonu biyoyararlanımının kısıtlanacak olması bir diğer mekanizma olarak önümüze çıkmaktadır (54,55).

### Meme Kanseri ve Metformin

Mevcut ilaçlara karşı oluşturulan direnç, bilim adamlarını zorlamakta ve yeni yaklaşımlar arayışına itmektedir. Meme kanserinin moleküler düzeyde çalışılmaya başlanması, ilgili genlerdeki mutasyonların farklı enerji yollarının bulunmasına olanak sağlamıştır. Metforminin, meme kanseri tedavisiyle bu enerji yolları üzerinden ilişkilendirilmesi de işte bu moleküler çalışmaların meyve vermesiyle aydınlatılabilmektedir. Metforminin fiziksel olarak anti-neoplastik (56) ve 2002'den beri patentsiz olması (57) ile ekonomik olarak kolay sentezlenmesi global olarak kabul görmesini sağlamıştır. Kabaca, dimetilamin hidroklorür ve 2-siyanoguanidinin yoğun ısıya maruz bırakılması ile kolayca elde edilebilmektedir (58). Kanser tedavisi için yararlı bile denilebilecek hafif seyreden yan etkileri mevcuttur. Tüm organizma düzeyinde, insülin seviyesini düşürerek kanser hücrelerinin aç kalmasını ve hücrel stres üretmesini sağlamaktadır. Metformin doğrudan kanser hücrelerinin hayatta kalmak, apoptozdan ve hücre döngüsünün duraklamasından kaçabilmek için

geliştirdikleri normal hücrelerdekinden farklılaşmış yeni metabolik yolları hedef almaktadır (59). Hidrofilik özellikleri, hücre zarından OCT'ler, plazma monoamin taşıyıcısı ve çoklu ilaç ve toksin ekstrüzyon proteini ile doğrudan taşınmasını sağlamaktadır.

AMPK, asetil-CoA karboksilaz (ACC), yağ asidi sentaz (FAS) ve HMG-CoA redüktaz gibi lipid ve sterol biyosentezinde yer alan çeşitli enzimleri fosforilleyerek inhibe eder (37,60-62). AMPK aracılı lipojenez ve sterol biyosentezinin engellenmesiyle, metformin, sadece ATP tüketimini sınırlamakla kalmaz, aynı zamanda hücre döngüsü ilerlemesi ve tümör proliferasyonu için gerekli olan yeni hücre membranlarının üretimini de sınırlar (63,64).

Mitojenik etkisiyle uyumlu olarak IGF-1, meme kanserleri dahil olmak üzere kanser hücrelerinde sıklıkla aşırı yüksek seviyelerde ekspres edilir (65). Bu nedenle insülin/IGF-1 sinyali, T2D'nin kanser üzerindeki destekleyici etkisine aracılık eden bir mekanizma olarak kabul edilmektedir. İnsülin ve IGF-1 reseptörlerinin aktivasyonu, hücre büyümesi ve artmış hücre sağkalımı ile sonuçlanan iki ana hücre içi transdüksiyon yolağını indüklemektedir: fosfotidilinozitol-3-kinaz (PI3K) ve mitojenle aktifleştirilen protein kinaz (MAPK) sinyal yolları (66). Metforminin, hem in vitro hem de in vivo meme kanseri modellerinde IGF-1'i baskıladığı, bu baskılama sonucunda da PI3K ve mTOR sinyalizasyonlarında azalma gözlemlendiği bilinmektedir (67,68) (Şekil 3).

Hem östrojen reseptörü ER(+), hem ER(-) meme kanseri hücre hatlarında metforminin hücre döngüsünün duraklatılmasına neden olduğu gösterilmiştir (69).

p53; apoptoz, hücrel yaşlanma ve otofajide önemli rolleri olan bir tümör baskılayıcıdır. Sinerjik olarak AMPK ile uyumlu bir şekilde etki ederek, mTOR'u baskılar ve hücre döngüsünü duraklatır (70). Bir çalışmada, MCF-7 meme kanseri hücrelerindeki p53 geninin susturulmasının hem metformin hem de fenforminin antitümör etkilerine karşı dirence yol açtığı; bununla birlikte, bir p53 reaktivatörü olan CP/31398 ile tedavi edilen MDA-MB-231

meme kanseri hücrelerinde metformin kaynaklı büyüme baskılanması, apoptoz ve yaşlanmada artış gözlemlendiği bilinmektedir (71). Bu gözlem, metforminin antitümör etkilerini gösterebilmesi için p53 ekspresyonunun gerekli olduğunu düşündürmektedir (Şekil 3).

FOXO3, DNA tamiri, apoptoz, enerji metabolizması, stres direnci ve hücre döngüsü ilerlemesinin düzenlenmesi gibi birçok ifadeyi düzenleyen bir transkripsiyon faktörüdür (72,73). Hücre sitoplazmasında sentezlendikten sonra FOXO3'ün çekirdeğe taşınması gerekmektedir (74). Sitoplazmaya sıkışıp, çekirdeğe geçememesi sonrasında oluşacak FOXO3 fonksiyon kaybının tümör oluşumuna yol açtığı bilinmektedir (73). AKT (hücre sağ kalımında ve glikoz homeostazı kritik rol oynayan bir serin/treonin kinaz), Ser253 kısmından FOXO3'ü fosforilleyerek inaktivasyonuna ve sitoplazmada sıkışıp kalmasına yol açabilmektedir (72). Metformin, AMPK aracılı glikoneojenez baskılaması yoluyla insülin salınımını ve aktivitesini azaltır, bu da mTORC2'nin aktivasyonunu önleyerek, FOXO3'ün aktif kalmasına olanak sağlar (74) (Şekil 3).

BT-549 meme kanseri ve OVCA429 yumurtalık kanseri hücrelerine uygulanan düşük doz metformin tedavisi sonrasında p53 ile birlikte FOXO3'ün çekirdek içerisine taşınmasında artış olmuş, hücre döngüsü duraklamıştır, kök hücre biyobelirteçlerinden CD44, Nanog, Oct-4 ve c-Myc ekspresyonlarında azalma gözlemlenmiştir (73). Bu gözlem, düşük doz metforminin kanser hücrelerinin kanserli olmayan fenotiplere yeniden programlanmasına neden olabileceği fikrine yol açmıştır.

Artan kanıtlar, metforminin miRNA modülasyonu yoluyla antikanser etkileri gösterebildiğini göstermektedir (75-78). Özellikle meme kanseri hücrelerinde metforminin, farklı moleküllerin aktivitesini düzenleyen birkaç farklı miRNA'nın ekspresyonuna etki ettiği rapor edilmiştir. Son zamanlarda yapılan bir çalışma metforminin, AKT2'yi hedefleyen miR-200c ekspresyonunu arttırarak meme kanseri hücrelerinin büyümesini ve invaziv özelliğini baskıladığı sonucuna varmıştır (79). Ek olarak, AMPK $\alpha$ 2 hedefli miR-27a ifadesinin azalmasının metformin kaynaklı MCF-7 hücre büyümesinin baskılanmasında hayati bir rol oynadığı görülmektedir (80). Metformin, üçlü negatif meme kanseri hücrelerinde FAS'ı doğrudan hedeflemekte miR-193 ailesi üyelerinin ifadesinde artışa neden olmakta (75), böylece AMPK'ya bağlı etkilerle sinerjik olarak hareket etmektedir.

Detaylandırılmış kanser düzenleme yolları metformini aday sinyalizasyon yolları için yeni bir yaklaşım haline getirmektedir. Glikozun etkisi, metformin ile meme kanseri yönetiminde anahtar rol üstlenirken, etkin doz ve kök hücreler de terapötik etkinlikte önem kazanmaktadır. Hastalığın heterojen doğası, kanser tedavisini zorlaştırmakta, fakat pre-klinik ve klinik çalışmalar, metforminin meme kanseri tedavisi için yeni bir umut olduğunu güçlü bir şekilde desteklemektedir. Metformin tedavisinin kanserin önlenmesi ve tekrarlanmasının önüne geçilmesi için kullanılması konusunda, tekli veya adjuvan terapide doğru etkinliğini doğrulamak için çok daha fazla ek araştırmaya ihtiyaç bulunmaktadır. Büyük ölçekli klinik çalışmalar metforminin anti-kanser etkisini desteklerse, metformin kanser tedavisi için değerli ve yeniden konumlandırılmış bir seçenek haline gelebilir.

**KAYNAKLAR**

1. Howlett HCS, Bailey CJ. Galegine and antidiabetic plants. In: Bailey CJ, Campbell IW, Chan JCN, Davidson JA, Howlett HCS, Ritz P (eds) *Metformin—the gold standard*. Wiley, Chichester; 2007, pp 3–9.
2. Muller H, Reinwein H. Zur pharmakologie des Galegins. *Arch Exp Pathol Pharmacol* 1927; 125: 212–228.
3. Viollet B, Guigas B, Sanz Garcia N, et al. Cellular and molecular mechanisms of metformin: an overview. *Clin. Sci. (Lond.)* 2012; 122, 253–270.
4. Pryor, R.; Cabreiro, F. Repurposing metformin: An old drug with new tricks in its binding pockets. *Biochem. J.* 2015; 471, 307–322.
5. Inzucchi SE, Bergenstal RM, Buse JB, et al. Management of hyperglycaemia in type 2 diabetes: a patient-centered approach. Position statement of the American Diabetes Association (ADA) and the European Association for the Study of Diabetes (EASD). *Diabetologia*. 2012; 55(6): 1577–1596.
6. Polskie Towarzystwo Diabetologiczne. Zalecenia kliniczne dotyczące postępowania z chorym na cukrzycę 2016. *Diabetol Klin.* 2016; 2(supl. A).
7. Segal ED, Yasmeen A, Beauchamp MC, et al. Relevance of the OCT1 transporter to the antineoplastic effect of biguanides. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2011; 414, 694–699.
8. Sogame Y, Kitamura A, Yabuki M, et al. Transport of biguanides by human organic cation transporter OCT2. *Biomed. Pharmacother.* 2013; 67, 425–430.
9. 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. 348, 607–614.
10. Brown JB, Pedula K, Barzilay J, et al. Lactic acidosis rates in type 2 diabetes. *Diabetes Care* 1998, 1659–1663.
11. Jin HE, Hong SS, Choi MK, et al. Reduced antidiabetic effect of metformin and down-regulation of hepatic Oct1 in rats with ethynylestradiol-induced cholestasis. *Pharm. Res.* 2009; 26, 549–559.
12. Wilcock C, and Bailey CJ. Accumulation of metformin by tissues of the normal and diabetic mouse. *Xenobiotica* 1994; 24, 49–57.
13. Zhou G, Myers R, Li Y, et al. Role of AMP-activated protein kinase in mechanism of metformin action. *J. Clin. Invest.* 2001; 108, 1167–1174.
14. Shaw RJ, Lamia KA, Vasquez D, et al. The kinase LKB1 mediates glucose homeostasis in liver and therapeutic effects of metformin. *Science* 2005; 310, 1642–1646.
15. He L, Sabet A, Djedjos S, et al. Metformin and insulin suppress hepatic gluconeogenesis through phosphorylation of CREB binding protein. *Cell* 2009; 137, 635–646.
16. El-Mir MY, Nogueira V, Fontaine E, et al. Dimethylbiguanide inhibits cell respiration via an indirect effect targeted on the respiratory chain complex I. *J. Biol. Chem.* 2000; 275, 223–228.
17. Stephenne X, Foretz M, Taleux N, et al. Metformin activates AMP-activated protein kinase in primary human hepatocytes by decreasing cellular energy status. *Diabetologia* 2011; 54, 3101–3110.
18. Detaille D, Guigas B, Chauvin C, et al. Metformin prevents high-glucose-induced endothelial cell death through a mitochondrial permeability transition-dependent process. *Diabetes* 2005; 54, 2179–2187.

19. El-Mir MY, Detaille D, R-Villanueva et al. Neuroprotective role of antidiabetic drug metformin against apoptotic cell death in primary cortical neurons. *J. Mol. Neurosci* 2008. 34, 77–87.
20. Bridges HR, Jones AJ, Pollak MN, Hirst J. Effects of metformin and other biguanides on oxidative phosphorylation in mitochondria. *Biochem. J.* 2014; 462, 475–487.
21. Wheaton WW, Weinberg SE, Hamanaka RB, et al. Metformin inhibits mitochondrial complex I of cancer cells to reduce tumorigenesis. *Elife* 2014; 3, e02242.
22. Correia S, Carvalho C, Santos MS, et al. Mechanisms of action of metformin in type 2 diabetes and associated complications: An overview. *Mini Rev. Med. Chem.* 2008; 8, 1343–1354.
23. Samuel SM, Varghese E, Varghese S, Busselberg D. Challenges and perspectives in the treatment of diabetes associated breast cancer. *Cancer Treat. Rev.* 2018, 70, 98–111.
24. Nesti L, Natali A. Metformin acts on the heart and the cardiovascular system: A review of experimental and clinical data. *Nutr. Metab. Cardiovasc. Dis.* 2017; 27, 657–669.
25. Iranshahy M, Rezaee R, Karimi G. Hepatoprotective activity of metformin: A new mission for an old drug? *Eur. J. Pharmacol.* 2019;850,1–7.
26. Li Y, Liu L, Wang B, et al. Metformin in non-alcoholic fatty liver disease: A systematic review and meta-analysis. *Biomed. Rep.* 2013; 1, 57–64.
27. Yanardag R, Ozsoy-Sacan O, Bolkent S, et al. Protective effects of metformin treatment on the liver injury of streptozotocin-diabetic rats. *Hum. Exp. Toxicol.* 2005;24,129–135.
28. Brackett CC. Clarifying metformin's role and risks in liver dysfunction. *J. Am. Pharm. Assoc.* 2010;50,407–410.
29. Corremans R, Vervaet BA, D'Haese PC, et al. Metformin: A Candidate Drug for Renal Diseases. *Int. J. Mol. Sci.* 2018; 20, 42.
30. Rotermund C, Machetanz G, Fitzgerald JC. The Therapeutic Potential of Metformin in Neurodegenerative Diseases. *Front. Endocrinol.* 2018; 9, 400.
31. Ma J, Liu J, Yu H, et al. Beneficial Effect of Metformin on Nerve Regeneration and Functional Recovery After Sciatic Nerve Crush Injury in Diabetic Rats. *Neurochem. Res.* 2016; 41, 1130–1137.
32. Mao-Ying QL, Kavelaars A, Krukowski K, et al. The anti-diabetic drug metformin protects against chemotherapy-induced peripheral neuropathy in a mouse model. *PLoS ONE* 2014; 9, e100701.
33. Bahrambeigi S, Yousefi B, Rahimi M, Shafiei-Irannejad, V. Metformin; an old antidiabetic drug with new potentials in bone disorders. *Biomed. Pharmacother.* 2019; 109, 1593–1601.
34. Prattichizzo F, Giuliani A, Mensà E, et al. Pleiotropic effects of metformin: Shaping the microbiome to manage type 2 diabetes and postpone ageing. *Ageing Res. Rev.* 2018, 48, 87–98.
35. Barzilai N, Crandall JP, Kritchevsky SB, Espeland MA. Metformin as a Tool to Target Aging. *Cell Metab.* 2016;23,1060–1065.
36. Novelle MG, Ali A, Dieguez C, et al. Metformin: A Hopeful Promise in Aging Research. *Cold Spring Harb. Perspect. Med.* 2016; 6, a025932.
37. DeCensi A, Puntoni M, Goodwin P, et al. Metformin and Cancer risk in diabetic patients: a systematic review and meta-analysis. *Cancer Prev Res.* 2010;3:1451–61.



38. Zhang ZJ, Zheng ZJ, Kan H, 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.
39. Zhang ZJ, Zheng ZJ, Shi R, et al. Kip, Metformin for liver cancer prevention in patients with type 2 diabetes: a systematic review and meta-analysis, *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2012; 97, 2347–2353.
40. Zhang ZJ, Bi Y, Li S, et al. Reduced risk of lung cancer with metformin therapy in diabetic patients: a systematic review and meta-analysis, *Am. J. Epidemiol.* 2014;180, 11–14.
41. Zhang ZJ, Li S, The prognostic value of metformin for cancer patients with concurrent diabetes: a systematic review and meta-analysis, *Diabetes Obes. Metab.* 2014;16,707–710.
42. Boyle P, Boniol M, Koechlin A, et al. Diabetes and breast cancer risk: A meta-analysis. *Br. J. Cancer* 2012; 107, 1608–1617.
43. Hardefeldt PJ, Edirimanne S, Esllick GD. Diabetes increases the risk of breast cancer: A meta-analysis. *Endocr. Relat. Cancer* 2012;19,793–803.
44. Larsson SC, Mantzoros CS, Wolk A. Diabetes mellitus and risk of breast cancer: A meta-analysis. *Int. J. Cancer* 2007;121,856–862.
45. Stattin P, Björ O, Ferrari P, et al. Prospective Study of Hyperglycemia and Cancer Risk. *Diabetes Care* 2007; 30, 561.
46. Giovannucci E, Harlan DM, Archer MC, et al. Diabetes and cancer: A consensus report. *Diabetes Care* 2010;33,1674–1685.
47. Farmer RE, Ford D, Forbes HJ, et al., Metformin and cancer in type 2 diabetes: a systematic review and comprehensive bias evaluation, *Int. J. Epidemiol.* 2017;46,728–744.
48. Brem RF . Radiofrequency Ablation of Breast Cancer: A Step Forward . *Radiological Society of North America*; 2018 .
49. Warburg O . On the origin of cancer cells. *Science* .1956;123:309–314.
50. Phan LM , Yeung S-CJ , Lee M-H. Cancer metabolic reprogramming: importance, main features, and potentials for precise targeted anti-cancer therapies. *Cancer Biol Med* . 2014;11:1.
51. Camacho L, Dasgupta A, Jiralerspong S. Metformin in breast cancer-an evolving mystery . *BioMed Central*; 2015.
52. Dowling RJ, Niraula S, Chang MC, et al. Changes in insulin receptor signaling underlie neoadjuvant metformin administration in breast cancer: a prospective window of opportunity neoadjuvant study. *Breast Cancer Res* 2015;17:32.
53. Zakikhani M, Dowling R, Fantus IG, et al. Metformin is an AMP kinase-dependent growth inhibitor for breast cancer cells. *Cancer Res* 2006;66:10269–10273.
54. Kleinberg DL, Wood TL, Furth PA, Lee AV. Growth hormone and insulin-like growth factor-I in the transition from normal mammary development to preneoplastic mammary lesions, *Endocr. Rev.* 2009;30,51–74.
55. Husing A, Fortner RT, Kuhn T, et al, Added value of serum hormone measurements in risk prediction models for breast cancer for women not using exogenous hormones: results from the EPIC cohort, *Clin. Cancer Res.* 2017;23,4181–4189.
56. 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;9:1057–1064.

57. Gershell L. Type 2 Diabetes Market. Nature Publishing Group; 2005.
58. Werner EA, Bell J. CCXIV. The preparation of methylguanidine, and of  $\beta\beta$ -dimethylguanidine by the interaction of dicyanodiamide, and methylammonium and dimethylammonium chlorides respectively. *J Chem Soc Trans.* 1922;121:1790–1794.
59. Galluzzi L, Kepp O, Vander Heiden MG, Kroemer G. Metabolic targets for cancer therapy. *Nat Rev Drug Discovery* 2013;12:829.
60. Evans JMM, Donnelly LA, Emslie-Smith AM, et al. Metformin and reduced risk of cancer in diabetic patients. *BMJ* 2005;330:1304–5.
61. Saini N, Yang X. Metformin as an anti-cancer agent: actions and mechanisms targeting cancer stem cells. *Acta Biochim Biophys Sin Shanghai.* 2018;50:133–43.
62. Tang GH, Satkunam M, Pond GR, et al. Association of metformin with breast cancer incidence and mortality in patients with type 2 diabetes: a GRADE assessed systematic review and meta-analysis. *Cancer Epidemiol Biomark Prev.* 2018;27:627–35.
63. Wysocki PJ, Wierusz-Wysocka B. Obesity, hyperinsulinemia and breast cancer: novel targets and a novel role for metformin. *Expert Rev Mol Diagn.* 2010;10:509–19.
64. Pulito C, Donzelli S, Muti P, et al. microRNAs and cancer metabolism reprogramming: the paradigm of metformin. *Ann Transl Med.* 2014;2:58.
65. Chen W, Wang S, Tian T, et al. Phenotypes and genotypes of insulin-like growth factor 1, IGF-binding protein-3 and cancer risk: evidence from 96 studies. *Eur J Hum Genet.* 2009;17:1668–75.
66. Weinberg SE, Chandel NS. Targeting mitochondria metabolism for cancer therapy. *Nat Chem Biol.* 2015;11:9–15.
67. El-Haggag SM, El-Shitany NA, Mostafa MF, El-Bassiouny NA. Metformin may protect nondiabetic breast cancer women from metastasis. *Clin Exp Metastasis.* 2016;33:339–57.
68. Liu B, Fan Z, Edgerton SM, et al. Potent anti-proliferative effects of metformin on trastuzumab-resistant breast cancer cells via inhibition of erbB2/IGF-1 receptor interactions. *Cell Cycle* 2011;10:2959–66.
69. Hatoum D, McGowan EM. Recent advances in the use of metformin: can treating diabetes prevent breast cancer? *Biomed Res Int* 2015;2015:1–13.
70. Pizzuti L, Vici P, Di Lauro L, et al. Metformin and breast cancer: basic knowledge in clinical context. *Cancer Treat Rev Elsevier Ltd.* 2015;41:441–7.
71. Li P, Zhao M, Parris AB, Feng X, Yang X. P53 is required for metformin-induced growth inhibition, senescence and apoptosis in breast cancer cells. *Biochem Biophys Res Commun Elsevier Ltd.* 2015;464:1267–74.
72. Queiroz EAIF, Puukila S, Eichler R, et al. Metformin induces apoptosis and cell cycle arrest mediated by oxidative stress, AMPK and FOXO3a in MCF-7 breast cancer cells. *PLoS One* 2014;9.
73. Hu T, Chung YM, Guan M, et al. Reprogramming ovarian and breast cancer cells into noncancerous cells by low-dose metformin or SN-38 through FOXO3 activation. *Sci Rep.* 2014;4:1–13.
74. Davila D, Connolly NMC, Bonner H, et al. Two-step activation of FOXO3 by AMPK generates a coherent feed-forward loop determining excitotoxic cell fate. *Cell Death Differ.* 2012;19:1677–88.

75. Wahdan-Alaswad RS, Cochrane DR, Spoelstra NS, et al. Metformin-induced killing of triple-negative breast cancer cells is mediated by reduction in fatty acid synthase via miRNA-193b. *Horm Cancer NIH Public Access* 2014;5:374–89.
76. Yang J, Wei J, Wu Y, et al. Metformin induces ER stress-dependent apoptosis through miR-708-5p/ NNAT pathway in prostate cancer. *Oncogenesis* 2015;4:e158–8.
77. Li W, Yuan Y, Huang L, Qiao M, Zhang Y. Metformin alters the expression profiles of microRNAs in human pancreatic cancer cells. *Diabetes Res Clin Pract* 2012;96:187–95.
78. Cufi S, Vazquez-Martin A, Oliveras-Ferreros C, et al. Metformin lowers the threshold for stress-induced senescence: a role for the microRNA-200 family and miR-205. *Cell Cycle* 2012;11:1235–46.
79. Zhang J, Li G, Chen Y, et al. Metformin inhibits tumorigenesis and tumor growth of breast cancer cells by upregulating miR-200c but downregulating AKT2 expression. *J Cancer* 2017;8:1849–64.
80. Zhao W, Zhang X, Liu J, et al. miR-27 mediated antiproliferative effects of metformin on the breast cancer cell line MCF-7. *Oncol Rep* 2016;36:3691–9.