



FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE DE COIMBRA

**TRABALHO FINAL DO 6º ANO MÉDICO COM VISTA À ATRIBUIÇÃO
DO GRAU DE MESTRE NO ÂMBITO DO CICLO DE ESTUDOS DE
MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA**

ANA RITA GOMES CARVALHO

**METFORMINA E CANCRO: NOVO
HORIZONTE PARA UM VELHO FÁRMACO**

ARTIGO DE REVISÃO

ÁREA CIENTÍFICA DE ENDOCRINOLOGIA

**TRABALHO REALIZADO SOB A ORIENTAÇÃO DE:
PROFESSORA DOUTORA MANUELA CARVALHEIRO**

[FEVEREIRO 2012]

Índice

Abstract.....	2
Resumo	3
Introdução.....	4
Mecanismos de ação da Metformina.....	6
Metformina e via do AMPK	6
Inibição da via mTOR.....	9
Inibição da síntese de ácidos gordos (<i>FAS</i>).....	10
Estimulação do <i>p53</i>	11
Metformina e insulina/fatores de crescimento insulina-like.....	13
Outros mecanismos.....	15
Estudos Observacionais.....	17
Ensaio clínico a decorrer	23
Metformina em combinação com a Quimioterapia.....	25
Metformina e o Cancro da Mama.....	27
Metformina e carcinogénese colo-retal	30
Metformina no cancro da próstata.....	32
Efeito anti-tumoral da metformina no cancro do Endométrio.....	34
Associação da metformina com o cancro do pulmão	35
Conclusão	36
Referências	37
Agradecimentos.....	44



Abstract

Metformin, one of the most widely prescribed oral hypoglycemic agents, has recently increased attention because of its potential antitumorigenic effects that are thought to be independent of its hypoglycemic effects. Several observational and biological studies revealed a significant association between metformin and a dose-dependent reduction in cancer incidence, and with a better response to chemotherapy. The mechanisms by which metformin exerts these effects are mediated through activation of AMP-activated protein kinase (AMPK), inhibition of the mammalian target of rapamycin (mTOR) pathway, and inhibition of insulin like growth factors (IGFs), and many others. This review highlights basic aspects of the molecular biology of metformin and summarizes new advances in the anti-neoplastic activities of metformin as well as intriguing results from recent clinical studies.

Key-words: Metformin; Cancer; AMPK; mTOR; Diabetes mellitus; Chemotherapy



Resumo

A metformina, um dos agentes hipoglicemiantes orais mais amplamente prescrito, recebeu recentemente maior atenção devido aos seus potenciais efeitos anti-tumorogénicos, os quais se pensam ser independentes dos seus efeitos hipoglicémicos. Diversos estudos observacionais e biológicos revelaram uma associação significativa entre a metformina e a redução da incidência de cancro, de uma forma dose-dependente, bem como uma melhor resposta à quimioterapia. Os mecanismos através dos quais a metformina exerce estes efeitos são mediados pela ativação da proteína cinase AMPK, inibição da via do *mammalian target of rapamycin* (mTOR), inibição dos fatores de crescimento insulina-like (IGFs), e muitos outros. Esta revisão destaca aspetos básicos da biologia molecular da metformina e sumariza novos avanços na atividade anti-neoplásica da metformina, integrando resultados de estudos clínicos recentes.

Palavras-chave: Metformina; Cancro; AMPK; mTOR; Diabetes mellitus; Quimioterapia

Introdução

A metformina (N,N'-dimetilbiguanida) é considerada, em conjunto com a modificação do estilo-de-vida, o tratamento de primeira-linha para a Diabetes tipo 2. “Micic et al. (2011)” A guanidina era o princípio ativo da *Galega officinalis*, usado para aliviar a poliúria na Europa medieval. Nos anos 20, a fisiopatologia da diabetes foi direcionada ao pâncreas, e nos anos 50, metformina e fenformina, as duas principais biguanidas, foram apresentadas. O uso da metformina para o tratamento da diabetes foi aprovado nos anos 70 na Europa e em 1995 nos Estados Unidos da América. Desde então, a sua utilização tem vindo gradualmente a crescer, tratando-se atualmente de um fármaco amplamente usado, prescrito a cerca de 120 milhões de diabéticos no mundo. “Kourelis and Siegel (2011)” Efeitos benéficos da metformina foram já observados no tratamento do síndrome do ovário poliquístico, esteatose hepática e puberdade precoce. Trata-se de um fármaco seguro, cujos efeitos adversos são sintomas gastro-intestinais mínimos. “Aljada and Mousa (2011)”

Os mecanismos de ação primários da metformina incluem a inibição da produção de glicose hepática e a redução da resistência à insulina no tecido periférico, levando ao aumento da captação e utilização pelo músculo esquelético. Estudos recentes mostram também efeitos ao nível do GLP-1, com aumento da sua produção endógena. Isto resulta numa diminuição da glicose circulante e dos níveis de insulina plasmática. “Li et al. (2011)”



Numerosas meta-análises demonstraram que os doentes diabéticos apresentam um risco elevado para o cancro, ao manifestarem maior incidência para o cancro do fígado, pâncreas, endométrio, mama, colon, bexiga e linfoma não Hodgkin, com um risco relativo na ordem de 1.2-2.5. Os mecanismos envolvidos na explicação para este risco aumentado incluem os efeitos mitogénicos da insulina (padrão de hiperinsulinemia) e anormalidades metabólicas como aumento do stress oxidativo, hiperglicemia, hiperlipedemia e obesidade. “Chong and Chabner (2009)” Adicionalmente, a Diabetes Mellitus tipo 2 representa um fator de pior prognóstico para os doentes com cancro. “Berstein et al. (2011)”

Recentemente, numerosos estudos *in vitro* e *in vivo* colocaram a metformina numa posição de destaque na literatura científica, ao revelarem uma associação significativa entre este anti-diabético oral e a redução da incidência de cancro. “Kourelis and Siegel (2011)” Assim, para além do seu já conhecido efeito hipoglicemiante, diversos estudos referem uma atividade inibitória direta sobre o crescimento de células cancerígenas, bem como uma ação anti-tumoral, traduzindo-se numa diminuição do risco de vir a desenvolver cancro e numa melhor resposta à quimioterapia. “Sahra et al. (2010)” As neoplasias mais frequentemente envolvidas nestes estudos são: mama, cólon, endométrio, pulmão e próstata. “Aljada and Mousa (2011)” Os mecanismos aqui implicados prendem-se essencialmente com a ativação da via do AMP proteína cinase (AMPK), chave fundamental na regulação da homeostase energética da célula. O principal efeito da ativação do AMPK é a inibição do *mammalian target of rapamycin* (mTOR), frequentemente ativado nas células malignas e associado à resistência a drogas anti-cancerígenas. “Jalving et al. (2010)” Além disso, a metformina inibe os fatores de crescimento insulina-like (IGFs), importantes reguladores do metabolismo e crescimento. “Sahra et al. (2010)”



Mecanismos de ação da Metformina

Metformina e via do AMPK

Em 1956, o Nobel Heinrich Warburg colocou a hipótese de existência de uma conexão entre o metabolismo celular e a malignidade. Desta forma, concluiu que as células cancerígenas necessitam de utilizar glicose a um nível muito mais elevado, comparativamente às células normais. Consequentemente, são mais sensíveis à privação de nutrientes do que as células não-malignas. “Kourelis and Siegel (2011)”

O AMPK é um sensor major dos níveis de energia celular. É ativado por qualquer condição que aumente o rácio AMP/ATP, levando à supressão do metabolismo e proliferação celular. Uma vez ativado, o AMPK fosforila substratos que inibem processos anabólicos e promovem processos catabólicos para reverter o elevado rácio AMP/ATP e assim permitir à célula sobreviver durante períodos de stresse metabólico. “Aljada and Mousa (2011); Steinberg (2009)” No entanto, enquanto nas células normais a ativação do AMPK leva a uma conservação de energia e aumento da sobrevivência, células cancerígenas com crescimento rápido não são capazes de sustentar este limite induzido pelo AMPK para recursos viáveis. “Kourelis and Siegel (2011)” A metformina ativa indiretamente a via do AMPK em células normais e cancerígenas através da inibição do complexo I da fosforilação oxidativa na mitocôndria. “Chong and Chabner (2009)” Esta inibição resulta num baixo consumo de oxigénio pelas células e num aumento do rácio NADH/NAD. Como a β -oxidação dos ácidos-gordos é feita pela enzima L-3 hidroxiacetil CoA desidrogenase, que usa NAD como cofator, esta é assim bloqueada, com consequente aumento do rácio AMP/ATP e ativação do AMPK. “Patel et al. (2004)” A ativação do AMPK leva à restrição do consumo de energia durante



períodos de privação de nutrientes, conduzindo à inibição da síntese proteica e proliferação. “Aljada and Mousa (2011)”

Diversos estudos apontam o LKB1 (Liver Kinase B1) como a principal ligação entre o AMPK, o cancro e a metformina. O gene LKB1 codifica uma proteína de supressão tumoral que se encontra mutada no síndrome de Peutz-Jeghers, doença hereditária caracterizada por pólipos gastrointestinais benignos (hamartomas) e por uma suscetibilidade aumentada para tumores malignos gastro-intestinais. “Kourelis and Sieger (2011)” Uma vez ativado, o LKB1 é responsável pela fosforilação do resíduo Thr-172 e ativação do sensor energético AMPK, que se encontra inativo até ser fosforilado por cinases em resposta a stresses celulares que diminuem o nível de energia e aumentam o rácio AMP/ATP. “Sahra et al. (2010)” Estudos “in vitro” e “in vivo” sugeriram que a perda do LKB1 resulta numa completa perda de função do AMPK. “Aljada and Mousa (2011)” O efeito da metformina na via do LKB1/AMPK foi inicialmente estudado na homeostase da glicose no fígado, onde foi demonstrado que a perda de função do LKB1 resultava em hiperglicemia. Os mecanismos de ação da metformina no tratamento da diabetes envolvem a inibição da neoglicogénese hepática e a estimulação da captação de glicose pelo músculo. Estes efeitos são assim conseguidos pela via do AMPK que, uma vez ativada, regula a transcrição de genes envolvidos na neoglicogénese hepática e codificadores de transportadores de glicose no músculo como o peroxisoma proliferador-ativado recetor- γ coactivador 1 α (PGC-1 α) e o transportador de glicose tipo 4 (GLUT4), respetivamente. “Dowling et al. (2011)”

O envolvimento de uma via supressora tumoral na ação da metformina na homeostase da glicose perpetuou estudos sobre possíveis efeitos em células tumorais. “Chong and Chabner (2009)” Evidências sobre a ação direta da metformina no crescimento de células cancerígenas foram claramente estabelecidas em numerosos estudos “in vitro”.



Assim, a metformina exibe uma forte e consistente ação anti-proliferativa em várias linhas celulares cancerígenas, incluindo mama, cólon, ovário, pâncreas, pulmão e próstata. “Sahra et al. (2010)” A ativação do AMPK pela metformina inibe o crescimento de células tumorais através de três diferentes vias de uma forma tecido-dependente: inibição do *mammalian target of rapamycin* (mTOR) e síntese de ácidos-gordos (FAS), bem como estimulação do gene supressor tumoral p53. “Micic et al. (2011)”

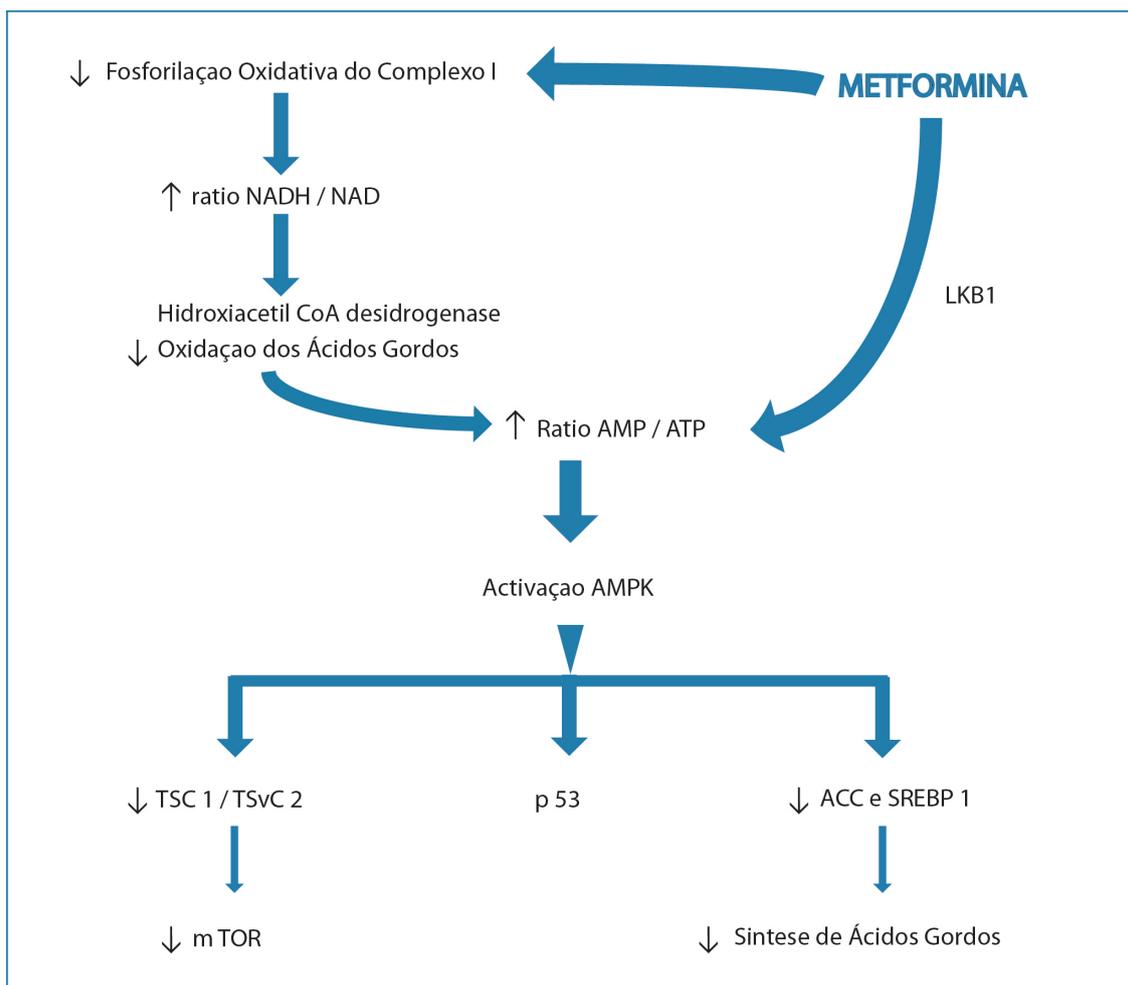


Figura 1 – Mecanismo de ação da metformina. Adaptado de “Aljada and Mousa (2011)”

Inibição da via mTOR

Uma consequência direta da ativação do AMPK é a inibição da via do mTOR, um importante regulador positivo na iniciação da transdução e, por isso, da proliferação celular. “Sahra et al. (2010); Aljada and Mousa (2011)”. O mTOR (*mammalian target of rapamycin*) é uma proteína cinase serina/treonina que, nos humanos, é codificada pelo gene FRAP1. A rapamicina e os seus análogos exibem atividade anti-neoplásica e são atualmente clinicamente usados no tratamento do carcinoma de células renais. “Micic et al. (2011)” O mTOR está integrado em dois complexos multi-proteicos, TORC1 e TORC2, e é regulado por fatores extra-celulares (insulina e fatores de crescimento insulina-like) e intra-celulares (nutrientes, aminoácidos, glicose), essenciais para o crescimento da célula. “Hadad et al. (2008)”

O complexo esclerose tuberosa (TSC) desempenha um papel importante na ativação do mTOR. O TSC é constituído pelos complexos TSC1 e TSC2, sendo que o TSC2 atua como um regulador do TSC1. A combinação do TSC2 com o TSC1 forma um complexo de supressão tumoral que inibe a atividade do mTOR. Assim, a ausência de fatores de crescimento e um aumento do rácio AMP/ATP inibe o mTOR através da formação do complexo de supressão tumoral TSC2-TSC1. A ativação do mTOR resulta na fosforilação de um regulador-chave da tradução de proteínas, S6K (ribosomal protein kinase S6) e iniciação do fator 4EBP1 (4E binding protein 1). “Dowling et al. (2007)” O S6K regula a atividade do mTOR através de um mecanismo de feedback negativo que afeta o substrato-1 do recetor de insulina (IRS-1). Por sua vez, a fosforilação do IRS-1 leva à inibição do PI3K e ativação do Akt com subsequente inibição do crescimento celular e proliferação através da via mTOR. A via de sinalização PI3K/Akt/mTOR está desregulada num grande número de neoplasias humanas, resultando num aumento da



atividade mTOR, ampliando a tradução de mRNA e aumentando a proliferação celular.

“Aljada and Mousa (2011)”

A inibição da via mTOR mostrou efeitos benéficos em diversos cancros. Estudos apontam a via de sinalização do mTOR como uma peça central na sinalização do crescimento celular, pelo que desempenha um papel clinicamente relevante para o desenvolvimento do cancro. “Kourelis and Siegel (2011)” A sinalização mTOR está aumentada nos cancros humanos mais comuns e a ativação da tradução de proteínas mTOR-dependente correlaciona-se com progressão maligna, mau prognóstico e resistência à quimioterapia. “Jalving et al. (2010)” A inibição da via mTOR induzida pela metformina através da inibição do passo inicial na tradução pode permanecer uma explicação para as ações anti-neoplásicas já observadas. “Aljada and Mousa (2011)”

Inibição da síntese de ácidos gordos (*FAS*)

A síntese de ácidos gordos está aumentada em várias células cancerígenas, especialmente no cancro da mama, como resultado de uma elevada expressão da *FAS* (fatty acid synthase), enzima chave na síntese de ácidos gordos. “Micic et al. (2011)” Por sua vez, a expressão da *FAS* é regulada pela sterol regulatory element binding protein (SREBP). Níveis elevados de *FAS* estão associados ao fenótipo maligno do cancro da mama e ovário, enquanto a inibição da *FAS* suprime a proliferação cancerígena e induz morte celular através da apoptose. “Hadad et al. (2008)”

A ativação do AMPK via metformina leva à supressão da expressão do gene da *FAS* e inativação da acetil-CoA carboxilase (*ACC*). Isto causa redução da lipogénese e síntese do produto da *ACC*, malonil-CoA, resultando num aumento da oxidação dos ácidos-gordos. “Zhou et al. (2001)” Estudos já demonstraram que esta reduzida expressão da



FAS e *ACC* resulta na supressão da proliferação de células malignas no cancro da próstata. “Xiang et al. (2004)”

De forma semelhante, a ativação do AMPK leva à inibição da 3-hidroxi-3-metilglutaril-CoA (*HMG-CoA*) reductase, enzima envolvida na síntese de colesterol e portanto de todos os produtos dele derivados. Alguns destes produtos são essenciais para a proliferação e sobrevivência celular. “Aljada and Mousa (2011)”

Estimulação do *p53*

O *p53* é um gene supressor tumoral envolvido na regulação do ciclo celular que se encontra frequentemente mutado no cancro. “Micic et al. (2011)” O AMPK pode fosforilar e ativar o *p53*, levando à inibição da divisão celular e indução da apoptose em células que apresentam baixas condições nutritivas. “Jalving et al. (2010)” Ao mesmo tempo, o *p53* demonstrou ter um papel pró-sobrevivência em células metabolicamente fragilizadas pela privação de glicose. “Micic et al. (2011)” A privação de glicose é comum em células tumorais, especialmente no centro do tumor. “Aljada and Mousa (2011)” Além disso, o *p53* exerce um papel essencial no processo de autofagia. “Buzzai et al. (2007)” A autofagia é um processo catabólico que envolve a degradação dos próprios componentes celulares através da maquinaria lisossômica, e é um mecanismo major de sobrevivência através do qual células em stresse metabólico deslocam nutrientes de processos desnecessários para outros mais essenciais. “Kourelis and Siegel (2011)”

No entanto, a implicação do *p53* na ação da metformina é ainda assunto de debate. Desta forma, Buzzai et al. (2007) mostraram que apenas as células HCT116 deficientes para o *p53* e não HCT116 com *p53* normal são sensíveis à metformina, mas outros estudos revelaram que linhas celulares cancerígenas como LNCaP e MCF-7 com *p53*



funcional exibiam uma sensibilidade para a metformina, semelhante à das células sem atividade *p53*. “Zakikhani et al. (2006), Sahra et al. (2008), Zhuang et al. (2008)” As adaptações metabólicas são cruciais para manter a sobrevivência em resposta a situações de stresse, por isso a hipótese de que o *p53* é necessário para superar os efeitos nocivos da metformina é plausível. Por outro lado, o *p53* pode também ser necessário para fazer parar o ciclo celular com o tratamento com metformina. Finalmente, uma terceira hipótese, apoiada por diversos estudos, refere que o efeito anti-proliferativo da metformina é independente do *p53*.” Sahra et al. (2010)”



Metformina e insulina/fatores de crescimento insulina-like

Um dos importantes mecanismos de ação da metformina em oncologia prende-se com a diminuição dos níveis de insulina circulantes. A insulina e os fatores de crescimento “insulina-like” (IGF) são importantes reguladores do metabolismo e crescimento celular, sendo já bem conhecido o facto de as células cancerígenas expressarem recetores de insulina, bem como de fatores de crescimento insulina-like (IGF-R). “Kourelis and Siegel (2011)”

Estudos comprovam que a ativação do IGF-R leva a um aumento da sobrevivência e proliferação independentemente da captação de glicose. A hiperglicemia, indiretamente, estimulando a libertação de insulina, contribui para a ativação do IGF-R e crescimento celular. “Kourelis and Siegel (2011)”

Existem dois recetores para os IGFs: IGF1R e IGF2R. A insulina é expressa exclusivamente pelas células β -pancreáticas, enquanto IGF1 e IGF2 são produzidos pelo fígado e tecido neoplásico. A atividade dos IGFs é modulada por proteínas de ligação dos fatores de crescimento insulina-like (IGFBPs), que limitam o acesso dos IGFs ao IGF1-R, inibindo a sua ação. No entanto, uma sobre-expressão de determinadas IGFBPs, em particular IGFBP2 e IGFBP5, resulta num aumento da atividade IGF. Níveis aumentados de IGF1 estão associados a tumorigénese maligna e não-maligna. “Aljada and Mousa (2011)” Além disso, foi demonstrado que o IGF1 é capaz de inibir a apoptose induzida por quimioterapia através da ativação da via PI3K-Akt. A inibição do IGF1-R foi assim associada a um aumento da eficácia do etoposide e carboplatina. (Warshamana-Greene et al., 2005)

A biodisponibilidade do IGF1 é regulada pela IGFBP1, cuja síntese é mediada pelo fígado, células da granulosa do ovário e endométrio. A produção de IGFBP1 é controlada pela insulina por um mecanismo de “feedback” negativo. A metformina atua

através do aumento da sensibilidade periférica à insulina e assim reverte a hiperinsulinemia e inibe o “feedback” negativo da insulina sobre a IGFBP1. A redução dos níveis de insulina após terapia com metformina resulta num aumento dos níveis de IGFBP1 e, assim, diminuição da atividade IGF1. “Pawelczyk et al. (2004)”

A hiperinsulinemia pode também promover o crescimento do tumor através de vários mecanismos indiretos, como a proliferação de tecido epitelial, aumento da biodisponibilidade das hormonas esteroides sexuais e dos níveis séricos dos fatores de crescimento “insulina-like” (IGFs). Pode ainda interromper a homeostase das adipocinas, citocinas seletivamente secretadas pelo tecido adiposo que se pensa estarem implicadas na patogénese do cancro. Adicionalmente, a ativação do IGF promove a migração e proliferação do músculo liso vascular, fomentando a angiogénese, a qual contribui para o crescimento tumoral. “Kourelis and Siegel (2011)”



Outros mecanismos

Outro mecanismo envolvido na ação da metformina relaciona-se com o ciclo celular. O tratamento com metformina em células prostáticas humanas cancerígenas resultou numa inibição da proliferação de uma forma dose-dependente através de uma diminuição da expressão da proteína ciclina D1, com paragem no ciclo celular na fase G0/G1. “Sahra et al. (2008)” A análise do genoma demonstrou também que a metformina bloqueia diversas famílias de genes relacionadas com a mitose, incluindo tubulinas e histonas. “Jalving et al. (2010)” Resultados semelhantes foram obtidos em células de cancro da mama, em que o bloqueio do ciclo celular induzido pela metformina envolveu o *p27* ou *p21*, além da diminuição da ciclina D1. A paragem do ciclo celular na fase S foi observada em células pancreáticas. “Zhuang et al. (2008)”

Além dos efeitos no ciclo celular, a metformina interfere com alguns recetores, nomeadamente o HER-2. “Sahra et al. (2010)” Verifica-se uma sobre-expressão do HER-2 em aproximadamente 20% dos cancros da mama, sendo este um condutor major da proliferação nas células malignas. Foram descritos efeitos da metformina na expressão e sinalização do HER-2. A metformina reduz a expressão da proteína HER-2 nas células do cancro da mama humano através da inibição do mTOR. “Vazquez-Martin et al. (2009)” Curiosamente, em baixas concentrações, a metformina bloqueia a atividade cinase HER-2. Os inibidores do mTOR podem superar a resistência aos citostáticos e a ativação do AMPK permite às células cardíacas sobreviver ao efeito cardiotoxíco da terapia anti-HER-2. “Jalving et al. (2010)” Estes mecanismos indicam que a combinação de uma terapia com agentes anti-HER-2 e metformina poderá ter efeitos sinérgicos. O cancro da mama tem sido intensivamente estudado como um potencial alvo terapêutico para a metformina. “Kourelis and Siegel (2011)”



A inibição da angiogénese é outro mecanismo proposto para o efeito da metformina. A metformina atenua o estímulo angiogénico no soro de doentes com síndrome do ovário poliquístico com resistência à insulina e diminui os níveis de fator de crescimento endotelial vascular (VEGF) em doentes diabéticos obesos. “Ersoy et al. (2008)” Além disso, estudos *in vitro* mostraram inibição da angiogénese e inflamação pela metformina através da inibição de mediadores como HIF-1 α , fator de necrose tumoral α , antigénio inibidor do ativador de plasminogénio e fator de von Willebrand, possivelmente através da via de sinalização mTOR. “Jalving et al. (2010)”

Alguns autores propuseram a deficiência em vitamina B12, efeito secundário já conhecido da metformina, como um potencial mecanismo de ação no cancro. A inativação da vitamina B12 *in vitro* e o défice de vitamina B12 *in vivo* foram associadas a um aumento da morte de células malignas e a uma melhor resposta à quimioterapia, respetivamente. “Garcia and Tisman (2010)” Este potencial mecanismo merece mais atenção na prática clínica, uma vez que a deficiência em vitamina B12 pode também ter efeitos prejudiciais como neuropatia e anemia. “Jalving et al. (2010)”

Estudos Observacionais

Depois da descoberta dos efeitos da metformina na via LKB1/AMPK/mTOR, numerosos estudos clínicos e epidemiológicos surgiram no sentido de testar a hipótese de que o uso de metformina está potencialmente associado a uma diminuição da incidência de cancro. “Kourelis and Siegel (2011)”

Em Tayside, na Escócia, Evans et al. (2005) foram os primeiros a mostrar que o tratamento com metformina se encontra associado à redução do risco para todos os cancros. De 11,876 pacientes recém-diagnosticados com Diabetes Mellitus tipo 2, 923 foram admitidos no hospital com tumores malignos durante o período de observação (1993-2001). Os resultados mostraram uma associação do tratamento com metformina com uma redução do risco de cancro neste grupo de doentes (odds ratio para qualquer exposição à metformina de 0.79) e uma correlação positiva entre a redução do cancro e a duração do tratamento com metformina.

Pouco tempo depois, Bowker et al. (2006), num estudo retrospectivo incluindo 10,309 doentes diabéticos, comparou a incidência de cancro durante o tratamento com insulina, metformina ou sulfonilureias por um período de 5 anos. Concluíram que doentes tratados com metformina tinham um nível significativamente mais baixo de mortalidade relacionada com o cancro, comparativamente com doentes utilizadores de insulina ou sulfonilureias. De facto, a percentagem de mortalidade por cancro foi de 6.3% e 9.7% para a metformina e sulfonilureias, respetivamente. Os utilizadores de insulina apresentaram maior incidência de mortalidade associada ao cancro do que os doentes não tratados com insulina.

De forma semelhante, Currie et al. (2009), num estudo que incluía 62,809 diabéticos tratados com metformina, sulfonilureias e insulina, mostraram que doentes tratados com insulina ou secretagogos de insulina tinham mais propensão para o desenvolvimento de tumores sólidos do que aqueles tratados com metformina. Ainda no mesmo estudo, o uso de metformina foi associado a uma redução do risco para cancro do cólon e pancreático, mas não teve relação com o cancro da mama e próstata.

Libby et al. (2009) apresentaram também um extenso estudo retrospectivo com 4,085 diabéticos tipo 2 utilizadores de metformina, comparativamente a um grupo que nunca usou o fármaco. Foi diagnosticado cancro em 7,3% dos utilizadores de metformina durante um máximo de 10 anos de follow-up, comparativamente a 11,6% nos não-utilizadores. O tempo médio para o desenvolvimento de cancro foi de 3.6 anos entre os doentes medicados com metformina e 2.5 anos para os que nunca utilizaram o fármaco. 3.0% dos utilizadores de metformina morreram devido ao cancro, comparativamente com 6.1% nos não-utilizadores.

Em mais um estudo retrospectivo, Jiralerpong et al. (2009) baseou o seu trabalho no estudo de uma possível associação entre a utilização de metformina e as taxas de resposta patológica completa (pCR) em doentes diabéticas com cancro da mama a efetuar quimioterapia neoadjuvante. Foram identificadas 2,529 doentes a realizar quimioterapia neoadjuvante para estadios iniciais de cancro entre 1990 e 2007. Os resultados apresentaram uma taxa de pCR de 24% no grupo utilizador de metformina, 8,0% no grupo não utilizador de metformina e 16% no grupo não-diabético ($P=0.02$). A comparação entre os grupos metformina e não-metformina ($P=0.007$) e não-metformina e não-diabéticas ($P=0.04$) foi significativa. No entanto, a comparação das taxas de pCR entre o grupo metformina e não-diabético não obteve significância ($P=0.04$). Ainda nos resultados, a utilização de metformina teve um valor preditivo independente para a pCR



(odds ratio, 2.95; P=0.04) depois dos ajustes para diabetes, IMC, idade, estadio, grau, status dos recetores ER/PR e HER-2, e utilização de neoadjuvante com taxano. Estes resultados vão ao encontro dos estudos epidemiológicos que mostram que a terapêutica com metformina em diabéticos diminui a incidência e mortalidade por cancro. São também concordantes com o já conhecido efeito inibitório da metformina no crescimento de linhas celulares cancerígenas e de tumores em modelos animais.

Outros autores dedicaram a sua investigação à possível influência da terapêutica com metformina na melhor resposta à quimioterapia em vários tipos de cancro. Um estudo caso-controlo mostrou que doentes diabéticos a tomar metformina tinham um risco significativamente inferior para cancro do pâncreas, comparativamente àqueles que não efetuavam tratamento com metformina (odds ratio, 0.38; P=0.001). “Li et al. (2009)”

Bodmer et al. (2010) avaliaram a relação entre a toma de agentes hipoglicemiantes orais e uma alteração no risco de cancro da mama em mulheres. Os resultados mostraram que uma longa utilização de metformina (>5anos) estava associada a uma diminuição da incidência de cancro da mama com um *odds ratio* de 0.44. Nem a curta exposição à metformina, nem o uso de sulfonilureias ou outros anti-diabéticos estava associada a uma alteração do risco de cancro da mama.

Em 2010, na Holanda, surgiu o primeiro estudo observacional com um desenho prospetivo, investigando a associação entre a metformina e a mortalidade por cancro. Concluiu-se então, após um follow-up médio de 9.6 anos, que a utilização de metformina como tratamento base estava associada a menor mortalidade relacionada com doença oncológica e que esta associação era dose-dependente. Doentes diabéticos tipo 2 que não realizavam tratamento com metformina mostraram um aumento da mortalidade atribuída a causa cancerígena comparado com a população em geral. A



mortalidade dos doentes a tomar metformina era comparável com aquela atribuída à população geral. “Landman et al. (2010)”

Mais recentemente, num estudo realizado com 3685 diabéticos tipo 2 em Turim, Itália, as mortes por outras causas e associadas a cancro ocorreram em: 9.2%, 1.6% em utilizadores de metformina, 13.1%, 3.0% em utilizadores de sulfonilureias e 26.8%, 4.8% em utilizadores de insulina, respetivamente. O estudo sugeriu ainda que cada 5 anos de exposição à metformina está associado a uma redução na morte por cancro de 0.73, enquanto cada 5 anos de exposição à insulina está relacionado com um aumento de 1.25 na morte por outras causas que não sejam o cancro. “Bo et al. (2012)”

Os estudos acima descritos encontram-se esquematizados na Tabela I.

Na maioria destes estudos retrospectivos, está presente um conjunto de limitações. Primeiramente, o seu desenho retrospectivo faz com que não seja possível obter fortes conclusões devido ao complexo tratamento da Diabetes. Os indivíduos que recebem tratamento com agentes hipoglicemiantes podem ter utilizado diversas formas em monoterapia, ou realizado variadas terapêuticas combinadas, com ou sem insulina. Torna-se por isso arriscado tirar conclusões acerca dos efeitos individuais da metformina. Em segundo lugar, o processo de tumorigénese é lento, e para qualquer efeito protetivo ou prejudicial é necessário uma certa exposição a determinadas doses destes medicamentos. Os curtos períodos de follow-up em alguns estudos, por esta razão, não permitem tirar conclusões de causalidade. Além disso, em muitos destes estudos, a metformina é comparada com a insulina, segretagogos da insulina e tioglitazonas. Consequentemente, é difícil concluir se o efeito benéfico da metformina pode ser atribuído a um efeito anti-tumorigénico inerente ao fármaco, ou a um possível

efeito promotor da carcinogénese da insulina e outros fármacos antidiabéticos. Este último ponto é bastante importante, na medida em que diversos estudos epidemiológicos sugerem uma relação entre a insulina, especialmente a insulina glargina, e o cancro. Ainda de realçar que, em vários estudos realizados, informações importantes acerca de fatores como o controlo diabético, obesidade, duração ou dose dos fármacos, diagnóstico de cancro, não estão disponíveis ou foram obtidos a partir de métodos indiretos como questionários ou registos de prescrição. “Kourelis and Siegel (2011)”

Numa recente exposição consensual da American Diabetes Association e da American Cancer Society, após uma revisão das evidências epidemiológicas que interligam a Diabetes e o seu tratamento com a incidência e o prognóstico do cancro, concluíram que “ Although still limited, early evidence suggests that metformin is associated with a lower risk of cancer and that exogenous insulin is associated with an increased cancer risk. Further research is needed to clarify these issues and evaluate if insulin glargine is more strongly associated with cancer risk compared with other insulins.” “Giovannucci et al. (2010)”



Tabela I – Estudos observacionais mostrando uma redução do risco de cancro na utilização de metformina em pessoas diabéticas tipo 2. Adaptado de “Aljada and Mousa (2011)”

Estudos	Observações
Estudo retrospectivo: 10,309 doentes tratados com metformina ou sulfanilureias (Bowker et al., 2006)	Maior mortalidade devido a doença oncológica com a utilização de sulfanilureias e insulina.
Estudo retrospectivo: 62,809 diabéticos tratados com metformina, Sulfanilureias e insulina (Currie et al., 2009)	Redução do risco para cancro do cólon e pancreático mas não para cancro da mama ou próstata com o uso de metformina.
Estudo retrospectivo: 2529 doentes em estágio inicial de cancro da mama a receber quimioterapia neoadjuvante (Jiralerspong et al., 2009)	24% pCR em diabéticas em tratamento com metformina versus 8% pCR em diabéticas que não receberam metformina.
Estudo retrospectivo: 4085 diabéticos tipo 2 tratados com metformina comparados com diabéticos que nunca usaram a droga (Libby et al., 2009)	Foi diagnosticado cancro a 7.3% dos 4085 consumidores de metformina comparado com 11.6% dos 4085 em comparação.
Estudo retrospectivo: 3685 diabéticos tipo 2 (Bo et al., 2012)	Morte atribuída ao cancro ocorreu em doentes tratados com metformina, sulfanilureias e insulina em 1.6%, 3.0% e 4.8%, respetivamente.
Estudo prospetivo: 1353 doentes com diabetes tipo 2 (Landman et al., 2010)	O uso de metformina (depois de um tempo-médio de follow-up de 9.6 anos) foi associado a uma mortalidade por cancro mais baixa comparativamente com a não utilização de metformina e esta associação foi dose-dependente.
Caso-controlo: 11,876 doentes recém-diagnosticados com diabetes tipo 2 (Evans et al., 2005)	O uso de metformina resultou numa diminuição do risco para admissões hospitalares por cancro.
Caso-controlo: 973 doentes com adenocarcinoma do pâncreas e 863 controlos (Li et al., 2009)	Um risco inferior para cancro do pâncreas em doentes diabéticos tratados com metformina.
Caso-controlo: 22,621 mulheres utilizadoras de anti-diabéticos orais com diabetes tipo 2 (Bodmer et al., 2010)	Doentes com diabetes tipo 2 a usar metformina a longo prazo mostraram diminuição do risco de cancro da mama.

Ensaio clínico a decorrer

Atualmente existem numerosos ensaios clínicos prospetivos em andamento, investigando a segurança e/ou eficácia da metformina em doentes com cancro. Alguns destes estudos encontram-se sumarizados na Tabela II. O estudo MA32 irá provavelmente fornecer dados suficientes para incluir (ou não) a metformina, nesta vertente terapêutica, na prática clínica corrente. Este ensaio compara a sobrevivência livre de doença invasiva em doentes com cancro da mama em estágio precoce tratadas com metformina hidróclorida vs. placebo em adição à terapêutica adjuvante *standard*. “Belda-Iniesta et al. (2011)”

Apesar de haver uma experiência clínica extensa com a metformina em doentes com resistência à insulina, é necessária prudência ao dar este fármaco a doentes sensíveis à insulina. A atenção ao perfil de segurança da metformina é absolutamente essencial nestes doentes, em ensaios iniciais. “Jalving et al. (2010)”



Tabela II- Ensaios clínicos a decorrer registados em clinicaltrials.gov. Adaptado de “Belda-Iniesta et al. (2011)”

Condição	Fase	Objetivo Principal	Design	Referência
Cancro da mama	II	Farmacodinâmica	Metformina 2 semanas antes da terapêutica adjuvante no cancro da mama precoce	NCT01266486
Cancro da mama	II	Eficácia na redução na taxa de proliferação no tecido cancerígeno	Metformina 2-3 semanas antes da cirurgia no cancro da mama precoce	NCT00897884
Cancro da mama	II	Eficácia na modulação na via de sinalização AMPK/mTOR	Metformina 2-3 semanas antes da cirurgia no cancro da mama precoce	NCT00930579
Cancro do endométrio	II	Eficácia na expressão do s6K	Metformina 30 dias antes da cirurgia	NCT01205672
Cancro da próstata	II	Eficácia em termos de diferença na coloração P-AKT	Metformina 4-12 semanas antes da prostatectomia radical	NCT00881725
Cancro da próstata	II	Eficácia em termos de resposta PSA	Metformina em monoterapia no cancro da próstata resistente à cirurgia	NCT01215032
Cancro da mama	Randomizado II	Segurança/Eficácia em termos de perda de peso	2 doses de metformina durante 24 semanas adjuvante em doentes com cancro da mama	NCT00909506
Cancro da mama	III	DFS	Metformina vs. Placebo durante 5 anos adjuvante em doentes com cancro da mama	NCT01101438 MA32
Cancro da mama	II	Alteração nos níveis de Ki67 e caspase-3 antes e depois do tratamento	Metformina durante 21 dias e depois cirurgia	NCT00984490
Cancro da próstata	II	PFS às 12 semanas	Metformina como primeira linha para doentes com cancro da próstata astration-resistente	NCT01243385
Qualquer	I	Dose máxima tolerada e limite de toxicidade	Lapatinib em combinação com sirolimus ou metformina	NCT01087983
Cancro do pâncreas	Randomizado II	OS em 6mo	Metformina/placebo mais cisplatina, epirrubicina, capecitabine e gemcitabine	NCT01210911
Cancro do pâncreas	Randomizado II	PFS em 6mo	Metformina/placebo mais cisplatina, epirrubicina, capecitabina e gemcitabina	NCT01167738
Cancro da mama	I	Limite de toxicidade	Metformina mais rosiglitazona com/sem exemestane para mulheres obesas com cancro da mama metastático	NCT00933309

Metformina em combinação com a Quimioterapia

Os tratamentos com quimioterapia para o cancro podem, efetivamente, reduzir a massa tumoral, mas a doença recidiva frequentemente. A explicação deste fenómeno reside no facto de os tumores possuírem um pequeno número de “stem cells”, auto-renovadoras. Estas células são resistentes à quimioterapia e, após o tratamento, podem regenerar todos os tipos celulares no tumor através do seu comportamento “stem cell”. Por esta razão, moléculas seletivamente direcionadas para as “stem cells” do tumor são muito promissoras para o tratamento do cancro, apesar de ainda nenhuma ser conhecida atualmente. “Hirsch et al. (2009)”

A metformina foi testada como um fármaco anti-cancerígeno em vários estudos *in vitro* e modelos animais. No entanto, alguns dados recentes fornecem um suporte científico para a sua inclusão na prática clínica corrente. “Belda-Iniesta et al. (2011)” Tal como foi mencionado anteriormente, um estudo liderado por Jiralespong avaliou retrospectivamente um grupo de doentes com o diagnóstico de cancro da mama localmente avançado recebendo terapia neo-adjuvante. Concluiu-se que doentes que eram tratadas concomitantemente com metformina e quimioterapia desenvolviam uma melhor resposta patológica comparativamente com as diabéticas que não efetuavam tratamento com metformina. “Jiralespong et al. (2009)”

Na atualidade, algumas investigações clínicas exploram a combinação de terapêuticas com metformina e quimioterapia clássica. “Belda-Iniesta et al. (2011)” Assim, estudos mostram que a metformina, de forma seletiva, destrói “stem cells” cancerígenas em quatro diferentes tipos de cancro da mama. A combinação da metformina e doxorubicina, um citostático, destrói as “stem cells” e “non-stem cells” do tumor em



cultura, reduzindo a massa tumoral e prolongando a remissão de forma muito mais eficiente do que qualquer fármaco isolado num modelo com ratos enxertados. Estas observações constituem um suporte independente para a hipótese das “stem cells” cancerígenas, e fundamentam o porquê da combinação da metformina e outros fármacos quimioterapêuticos poder melhorar o tratamento de doentes com cancro da mama (e possivelmente outros). “Hirsch et al. (2009)”

De acordo com um estudo realizado por Hirsch e tal. (2009), a capacidade da metformina em destruir seletivamente as “stem cells” cancerígenas e ter uma ação sinérgica com a doxorubicina ao bloquear quer as “stem cells”, quer as “non-stem cells” do tumor, é única. No caso do cancro da mama, herceptine e tamoxifeno são fármacos úteis para tipos de cancro que expressam, respetivamente, os HER2 e os recetores de estrogénios. No entanto, algumas formas de cancro da mama não expressam estes recetores e resistem a estes tratamentos. Para todos estes tipos de cancro da mama, a metformina inibe seletivamente o crescimento das “stem cells” do tumor, e portanto é esperado um efeito sinérgico com os citostáticos. Além disso, tendo em conta que a metformina inibe a transformação de células MCF10A-ER-Src (células epiteliais mamárias derivadas de tecido fibro-quístico da mama obtidas a partir de mastectomia de mulher de 36 anos, sem história familiar de cancro da mama e sem evidência de doença, com uma oncoproteína acoplada, ligada a um recetor de estrogénios), poderá ser potencialmente usada na prevenção do desenvolvimento de cancro, em oposição ao tratamento da doença oncológica já estabelecida. O estudo refere ainda que, neste contexto, a metformina, como um fármaco preventivo do cancro, seria usada num regime de longo-prazo, necessitando de concentrações substancialmente abaixo daquelas usadas no tratamento da Diabetes.



Metformina e o Cancro da Mama

Foi já demonstrado que a metformina reprime significativamente o crescimento de algumas linhas celulares cancerígenas *in vitro*, incluindo linhas celulares do cancro da mama. “Zakikhani et al. (2006), Sahra et al. (2008), Alimova et al. (2009)” Em modelos animais, a metformina também reduziu o crescimento de células de cancro da mama em enxertos em ratos “Sahra et al. (2008)” e suprimiu o desenvolvimento de cancro da mama em ratos transgénicos “Tomimoto et al. (2008)”

A metformina pode exercer estes efeitos através de diversos mecanismos, incluindo a paragem do ciclo celular na fase S, bem como diminuição da proliferação, formação de colónias e apoptose. “Aljada and Mousa (2011)” Um possível mecanismo proposto para o efeito anti-cancro da metformina é através da redução do recetor IGF1. Estudos clínicos observacionais referenciaram associações entre níveis circulantes de insulina e o cancro da mama em pessoas não diabéticas. Por sua vez, a metformina diminuiu os níveis circulantes de insulina em 22% das doentes com cancro da mama não-diabéticas. “Goodwin et al. (2008)”

Outro mecanismo possível através do qual a metformina pode causar impacto na cancro da mama é a inibição da transcrição dos genes da neoglicogénese no fígado, aumentando a captação de glicose pelo músculo esquelético. Isto leva à redução dos níveis de glicose circulantes e a um aumento da sensibilidade à insulina, com redução da hiperinsulinemia associada à resistência à insulina, os quais são já todos fatores relacionados com o prognóstico da cancro da mama. “Gonzalez-Angulo and Meric-Bernstam (2010)” A metformina ativa o AMPK através de um mecanismo mediado pelo LKB1/STK11, o qual reduz a neoglicogénese no fígado, levando à diminuição dos



níveis circulantes de insulina. “Zhou et al. (2001)” Por outro lado, a metformina é capaz de influenciar diretamente as células cancerígenas, independentemente das alterações dos níveis de insulina. A ativação do AMPK pela metformina diretamente através do LKB1/STK11 em células tumorais resulta numa inibição do mTOR, levando à redução da síntese proteica e proliferação celular. “Zakikhani et al. (2006)” Outro potencial efeito direto da metformina inclui a redução das ciclinas D1 e E “Alimova et al. (2009)”, aumento dos processos de autofagia, efeitos nas “stem cells” cancerígenas, redução da atividade aromatase, e redução na expressão da proteína HER2 com subsequente redução na resistência aos agentes HER2-alvo. “Hirsch et al. (2009)” Num implante num rato modelo de células de cancro da mama HER2 positivas, a iniciação endógena e a progressão do cancro da mama foi significativamente diminuída pelo tratamento com metformina. “Anisimov et al. (2005)” Adicionalmente, foi demonstrado que a metformina interage sinergicamente com o anti-corpo mono-clonal anti-HER2, trastuzumab, eliminando populações de “stem cells” em carcinomas da mama HER2 positivos. “Valquez-Martin et al. (2011a)”

Apenas escassos estudos são dirigidos ao fenótipo do recetor dos tumores da mama em pessoas que sofrem de diabetes. “Aljada and Mousa (2011)” Inicialmente foi descrito que a prevalência de recetores de estrogénios (ER) e recetores de progesterona (PR) destes tumores eram os mesmos, em mulheres com diabetes e sem diabetes. Mais tarde, um estudo prospetivo demonstrou que mulheres com diabetes tipo 2 apresentavam uma ocorrência mais elevada de tumores da mama ER-positivos, com uma tendência para o fenótipo ER⁺/PR⁻ do cancro da mama em doentes diabéticas. Curiosamente, a metformina foi reportada à inibição do crescimento de um vasto leque de linhas celulares de cancro da mama, independentemente do status ER ou PR. “Bershtein et al. (2005)”



Mais recentemente, foi também atribuída à metformina a capacidade de suprimir a metastização associada à proteína CD24 em cancro da mama triplo-negativo "Vazquez-Martin et al. (2011b)", sugerindo a possibilidade da metformina em inibir o promotor de metástases e marcador das "stem cells" do cancro da mama CD24. Este facto abre uma nova linha molecular para a gestão da terapêutica de sub-grupos altamente metastáticos de cancro da mama triplo-negativo naturalmente enriquecidos com populações celulares CD44 e CD24. "Aljada and Mousa (2011)"

Atualmente não existe consenso relativamente à importância relativa destes potenciais mecanismos da metformina no cancro da mama, sendo necessários mais estudos. "Alimova et al. (2009)"



Metformina e carcinogénese colo-retal

Pouco é sabido acerca do efeito da metformina na carcinogénese colo-retal humana. “Aljada and Mousa (2011)” Diversos estudos epidemiológicos mostraram um risco diminuído para o cancro, incluindo cancro colo-retal, em doentes diabéticos tipo 2 a tomar metformina quando comparados com doentes que não fazem tratamento com a mesma. “Currie et al. (2009), Libby et al. (2009)”

O efeito quimiopreventivo da metformina foi evidenciado em dois modelos animais de carcinogénese colo-retal. Assim, o tratamento sistémico com metformina suprimiu o desenvolvimento de pólipos intestinais em ratos com polipose cólica adenomatosa (APC^{Min/+}) “Tomino et al. (2008)”, e bloqueou a formação de criptas colo-retais aberrantes. “Hosono et al. (2010a)” Este último estudo examinou o efeito da metformina na supressão da carcinogénese colo-retal em modelos animais com carcinogénese quimicamente induzida, verificando-se uma diminuição no índice de proliferação epitelial cólica e de antigénio nuclear de proliferação celular (PCNA) nos ratos tratados com 250mg/Kg/dia de metformina, durante 6 semanas.

Relativamente a estudos clínicos, um recente estudo prospetivo em pessoas não diabéticas a tomar uma baixa dose de metformina (250 mg/dia) reduziu significativamente o número de focos retais de criptas aberrantes comparativamente com o grupo controlo, no qual não se registaram alterações significativas. O índice de antigénio de proliferação celular estava significativamente diminuído e o índice de apoptose celular permaneceu inalterado no epitélio retal normal dos doentes tratados com metformina. “Hosono et al. (2010b)”



Estes estudos sugerem que a metformina deverá ser avaliada pelo seu efeito quimiopreventivo contra o cancro colo-retal. No entanto, são ainda necessários estudos em larga escala em doentes diabéticos e não-diabéticos. “Aljada and Mousa (2011)”



Metformina no cancro da próstata

Diversos estudos epidemiológicos sugeriram uma relação inversa entre a diabetes e o cancro da próstata. Esta tendência foi atribuída a vários fatores como alterações do metabolismo associadas à diabetes e efeitos anti-neoplásicos diretos da medicação para a diabetes. “Aljada and Mousa (2011)”

O tratamento com metformina efetivamente reprimiu células de cancro prostático em modelos animais com enxertos tumorais. “Sahra et al. (2008)” De forma semelhante, num recente estudo caso-controlo com 1001 casos de cancro da próstata e 942 indivíduos no grupo controlo, o tratamento com metformina foi associado a uma redução de 44% do risco de incidência de cancro da próstata em homens caucasianos. A mesma associação não foi verificada na raça afro-americana. “Wright and Standford (2009)”

Porém, Patel et al. (2010) levantaram dúvidas acerca do efeito benéfico da utilização de metformina depois do diagnóstico de cancro da próstata. Este estudo, com 616 doentes, 112 diabéticos consumidores de metformina e 98 diabéticos não utilizadores do fármaco, demonstrou que a diabetes está significativamente associada a uma maior probabilidade de recorrência bioquímica após prostatectomia radical e o tratamento com metformina não teve um efeito protetivo. Outros estudos mostraram também resultados inesperados, sugerindo que o uso de metformina aumenta o risco de cancro da próstata em doentes diabéticos tipo 2, principalmente naqueles com terapias longas. Estes resultados tiveram origem numa análise que incluiu 63,000 indivíduos, e os seus resultados entraram assim em conflito com estudos anteriores. “Azouley et al. (2011)”

Estes resultados sublinham a importância de mais investigação, a fim de avaliar a ação da metformina no cancro da próstata. “Aljada and Mousa (2011)”



Efeito anti-tumoral da metformina no cancro do Endométrio

A obesidade e diabetes são importantes fatores de risco que levam ao desenvolvimento de cancro endometrial do tipo I. Estudos realizados com duas linhas celulares de cancro endometrial expostas à metformina mostraram uma diminuição do crescimento celular em ambas as linhas celulares, de uma forma dose-dependente. O mesmo estudo conclui que a metformina é então um potente inibidor da proliferação celular no cancro endometrial, predominantemente através do bloqueio do ciclo celular em G1. O tratamento com metformina resultou na ativação do AMPK, seguido da diminuição da fosforilação da proteína S6 e inibição significativa da via mTOR. A metformina foi ainda capaz de induzir a apoptose, mas apenas em elevadas concentrações. “Cantrell et al. (2010)”

Outros estudos colocam em evidência a interação da metformina com os recetores de progesterona (PR) e a expressão de IGF-II. A progesterona tem sido usada no tratamento hormonal no cancro endometrial, mas a resposta à terapêutica tem sido insatisfatória. Os resultados mostraram que a metformina promove a expressão dos recetores de progesterona (PR), que pode estar inibida pela sobre-expressão do IGF.II no cancro endometrial. Este efeito é parcialmente mediado pela ativação do AMPK e inibição da via mTOR. “Xie et al. (2011)”

Desta forma, uma vez estabelecida a relação entre a metformina e as vias de sinalização AMPK e mTOR, a metformina poderá ter importantes implicações quimioterapêuticas para o cancro do endométrio. No entanto, estes estudos suportam a necessidade de ensaios clínicos futuros para avaliar o papel da metformina no tratamento do cancro do endométrio. “Cantrell et al. (2010)”



Associação da metformina com o cancro do pulmão

Lesões pulmonares pré-neoplásicas no homem e em ratos induzidas pela exposição ao tabaco são caracterizadas pelo aumento da ativação da via Akt/mTOR, sugerindo um papel desta via no desenvolvimento do cancro do pulmão. Estudos realizados com a rapamicina, um inibidor da via mTOR, em ratos expostos ao carcinógeno tabaco-específico 4-(metilnitrosamino)-1-(3-piridil)-1-butatona (NNK), diminuíram a multiplicação do tumor em 90%. “Granville et al. (2007)”

Um estudo recente em modelos animais demonstrou que a metformina é efetiva na prevenção do crescimento tumoral na carcinogénese induzida pelo tabaco. A administração oral de 1mg/mL ou 5mg/mL de metformina reduziu a carga tumoral pulmonar em 38% e 57%, respetivamente. Os níveis constantes de metformina nos ratos que receberam 5mg/mL são semelhantes àqueles dos doentes diabéticos tratados com metformina, sugerindo assim a possibilidade de a prevenção clínica do cancro do pulmão ser conseguida através da dose oral standard do fármaco. Este estudo fornece assim um forte argumento para a realização de um ensaio clínico com a metformina em fumadores para a prevenção do cancro do pulmão. “Memmott et al. (2010)”

Conclusão

Em conclusão, tem-se verificado recentemente uma larga e rápida expansão no conhecimento científico no que diz respeito à aplicação da metformina como um fármaco anti-cancerígeno. De uma forma simplificada, a metformina atua na via do AMPK, um regulador major dos níveis de energia e metabolismo celular, os quais se encontram alterados nas células cancerígenas. Ao ativar o AMPK, através de um mecanismo mediado pelo LKB1, a metformina reduz a neoglicogénese no fígado, diminuindo assim os níveis de insulina circulantes. Por outro lado, a metformina pode influenciar diretamente as células cancerígenas, isto é, independente das alterações da insulina circulante. Assim, a ativação do AMPK diretamente nas células tumorais resulta numa inibição da via mTOR com conseqüente redução da síntese proteica e proliferação celular.

Estudos observacionais mostraram uma redução da incidência de cancro em pessoas com diabetes tipo 2 tratados com metformina. Decorrem atualmente numerosos estudos clínicos, os quais avaliam a segurança e eficácia da metformina em doentes com diversos tipos de cancro, nomeadamente como terapêutica adjuvante no cancro da mama.

Apesar dos avanços marcantes já realizados nesta área, é necessário mais trabalho experimental e clínico, no sentido de explorar os benefícios terapêuticos da inclusão da metformina nos protocolos de quimioterapia.



Referências

- Aljada A, Mousa S A (2011) Metformin and neoplasia: Implications and indications. *Pharmacology and Therapeutics*, doi: 10.1016/j.pharmthera.2011.09.004
- Alimova IN, Liu B, Fran Z, Edgerton SM, Dillon T, Lind SE (2009) Metformin inhibits breast cancer cell growth, colony formation and induces cell cycle arrest in vitro. *Cell Cycle* 8, 909-915
- Anisimov VN, Egorin PA, Bershtein LM, Zabezhinskii MA, Piskunova TS, Popovich IG (2005) Metformin decelerates aging and development of mammary tumors in HER-2/neu transgenic mice. *Bull Exp Biol Med* 139, 721-723
- Azouley L, Dell'Aniello S, Gagnon B(2011) Metformin and the incidence of prostate cancer in patients with type 2 diabetes. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 20:337-344
- Belda-Iniesta C, Pernía O, Simó R (2011) Metformin: a new option in cancer treatment. *Clin Transl Oncol* 13:363-367
- Bernstein LM, Boyarkina MP, Teslenko SY (2011) Familial diabetes is associated with reduced risk of cancer in diabetic patients: a possible role for metformin. *Med Oncol*
- Bershtein LM, Tsyrlina EV, Kovalenko IG, Vasil'ev DA, Semiglazov VF (2005) Breast Cancer receptor status in smoking and diabetic patients. *Vopr Onkol* 51, 187-191



- Bo S, Ciccone G, Rosato R, Villois P, Appendino G, Ghigo E, Grassi G (2012) Cancer mortality reduction and metformin. A retrospective cohort study in type 2 diabetic patients. *Diabetes Obes Metab.* Jan;14(1):23-9
- Bodmer M, Meier C, Krahenbuhl S, Jick S, Meier C (2010) Long-Term Metformin Use is Associated With Decreased Risk of Breast Cancer. *Diabetes Care* 33:1304-1308
- Bonovas S, Filioussi K, Tsantes P (2004) Diabetes Mellitus and risk of prostate cancer: a meta-analysis. *Diabetologia* 47, 1071-1078
- Bowker SL, Majumdar S, Veugelers P, Johnson JA (2006) Increased cancer-related mortality for patients with type 2 diabetes who use sulfonylureas or insulin. *Diabetes Care* 29(2):254-8
- Buzzai M, Jones RG, Amaravadi RK (2007) Systemic treatment with the antidiabetic drug metformin selectively impairs p53-deficient tumor cell growth. *Cancer Res* 67:6745-6752
- Cantrell LA, Zhou C, Mendivil A, Malloy KM, Gehrig PA, Bae-Jump VL. (2010) Metformin is a potent inhibitor of endometrial cancer cell proliferation-implications for a novel treatment strategy. *Gynecol Oncol* 116, 92-98
- Chong CR, Chabner BA (2009) Mysterious Metformin. *The Oncologist* 14:1178-118
- Currie CJ, Poole CD, Gale EA (2009) The influence of glucose-lowering therapies on cancer risk in type 2 diabetes. *Diabetologia* 52(9):1766-1777



- Dowling RJ, Goodwin PJ, Stambolic V (2011) Understanding the benefit of metformin use in cancer treatment. *BMC Medicine*, 9:33
- Ersoy G, Kiyici S, Budak F (2008) The effect of metformin treatment on VEGF and PAI-1 levels in obese type 2 diabetic patients. *Diabetes Res Clin Pract* 81:56-60
- Evans JM, Donnelly L., Emslie-Smith AM, Alessi DR, Morris AD (2005) Metformin and reduced risk of cancer in diabetic patients. *BMJ* 330(7503);1304-5
- Garcia A, Tisman G (2010) Metformin, B(12), and enhanced breast cancer response to chemotherapy. *J Clin Oncol* 28:e19
- Giovannucci E, Harlan D, Archer MC, Bergenstal RM, Gapstur SM, Habel LA, Pollak M, Regeinstainer JG, Yee D (2010) Diabetes and cancer: a consensus report. *CA Cancer J Clin* 60(4):207-221
- Gonzalez-Angulo AM, Meric-Bernstam F (2010) Metformin: A therapeutic opportunity in breast cancer. *Clin Cancer Res*. 2010 March 15; 16(6): 1695-1700
- Goodwin PJ, Pritchard KI, Ennis M, Clemons M, Graham M, Fantus IG (2008) Insulin-lowering effects of metformin in woman with early breast cancer. *Clin Breast Cancer* 8, 501-505
- Granville CA, Warfel N, Tsurutani J, Hollander MC, Robertson M, Fox SD (2007) Identification of a highly effective rapamycin schedule that markedly reduces the size, multiplicity, and phenotypic progression of tobacco carcinogen-induced murine lung tumors. *Clin Cancer Res* 13, 2281-2289



- Hadad SM, Fleming S, Thompson AM (2008) Targeting AMPK: a new therapeutic opportunity in breast cancer. *Crit Rev Oncol Hematol* 67:1-7
- Hirsch HA, Iliopoulos D, Tsichlis Philip N, Struhl K (2009) Metformin selectively targets cancer stem cells, and acts together with chemotherapy to block tumor growth and prolong remission. *Cancer Res.* October 1; 69(19):7507-7511
- Jalving M, Gietema JA, Lefrandt JD, Jong S, Reyners AK, Gans RO, Vries E (2010) Metformin: Taking away the candy for cancer? *European Journal of Cancer* 46 (2010) 2369-2380
- Jiralerspong S, Palla SL, Giordano SH, Meric-Bernstam F, Liedtke C, Barnett CM, Hsu L, Hung MC, Hortobagyi G, Gonzalez-Angulo AM (2009) Metformin and Pathologic Complete Responses to Neoadjuvant Chemotherapy in Diabetes Patients With Breast Cancer. *J Clin Oncol* 27:3297-3302
- Kourelis TV, Siegel RD (2011) Metformin and Cancer: new applications for an old drug. *Med Oncol* DOI 10.1007/s12032-001-9846-7
- Landman GW, Kleefstra N, van Hateren KJ, Groenier KH, Gans RO, Bilo HJ (2010) Metformin Associated With Lower Cancer Mortality in Type 2 Diabetes. *Diabetes Care* 33:322-326
- Li D, Yeung S, Hassan MM, Konopleva M, Abbruzzese JL (2009) Antidiabetic therapies affect risk of pancreatic cancer. *Gastroenterology* 137(2):482-8
- Li X, Zhang N, Li Y, Shi Y, Li D, Xie Y (2011) Effects of metformin and rosiglitazone on peripheral insulin resistance and beta-cell function in obesity: a double-blind, randomized, controlled study. *J Int Med Res* 39, 358-365



- Libby G, Donnelly LA, Donnan PT, Alessi DR, Morris AD, Evans JM (2009) New Users of Metformin Are at Low Risk of Incident Cancer. *Diabetes Care* 32:1620-1625
- Memmott RM, Mercado JR, Maier CR, Kawabata S, Fox SD, Dennis PA (2010) Metformin prevents tobacco carcinogen-induced lung tumorigenesis. *Cancer Prev Res (Phila)* 3(9): 1066-1076
- Micic D, Cvijovic G, Trajkovic V, Duntas LH, Polovina S (2011) Metformin: Its emerging role in oncology. *Hormones* 2011, 10(1):5-15
- Patel AC, Nunez NP, Perkins SN, Barrett JC, Hursting SD (2004) Effects of energy balance on cancer in genetically altered mice. *J Nutr* 134, 3394S-3398S
- Patel T, Hruby G, Badani K, Abate-Shen C, McKiernan JM (2010) Clinical outcomes after radical prostatectomy in diabetic patients treated with metformin. *Urology* 76, 1240-1244
- Pawelczyk L, Spaczynski RZ, Banaszewska B, Duleba AJ (2004) Metformin therapy increases insulin-like growth factor binding protein-1 in hyperinsulinemic woman with polycystic ovary syndrome. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 113, 209-213
- Sahra IB, Laurent K, Loubat A, Giorgetti-Peraldi S, Colosetti P, Auberger P (2008) The antidiabetic drug metformin exerts an antitumoral effect in vitro and in vivo through a decrease of cyclin D1 level. *Oncogene* 27, 3576-3586
- Sahra IB, Marchand-Brustel Y, Tanti JF (2010) Metformin in Cancer Therapy: A New Perspective for an Old Antidiabetic Drug? *Mol Cancer Ther* 9:1092-1099



- Steinberg GR, Kemp B (2009) AMPK in health and disease. *Physiol Rev.* 89(3):1025-1078
- Tomimoto A, Endo H, Sugiyama M, Fujisawa T, Hosono K, Takahashi H (2008) Metformin suppresses intestinal polyp growth in *ApcMin/+* mice. *Cancer Sci* 99, 2136-2141
- Vazquez-Martin A, Oliveras-Ferraros C, del Barco S, Martin-Castillo B, Menendez JA (2009) The antidiabetic drug metformin: a pharmaceutical AMPK activator to overcome breast cancer resistance to HER2 inhibitors while decreasing risk of cardiomyopathy. *Ann Oncol* 20, 592-595
- Vazquez-Martin A, Oliveras-Ferraros C, del Barco S, Martin-Castillo B, Menendez JA (2011a) The antidiabetic drug metformin suppresses self-renewal and proliferation of trastuzumab-resistant tumor-initiating breast cancer stem cells. *Breast Cancer Res Treat* 126,355-364
- Vazquez-Martin A, Oliveras-Ferraros C, Cufi S, del Barco S, Martin-Castillo B, Lopez-Bonet, E (2011b) The anti-diabetic drug metformin suppresses the metastasis-associated protein CD24 in MDA-MB-468 triple-negative breast cancer cells. *Oncol Rep* 25, 135-140
- Warshmana-Greene GS, Litz J, Buchdunger E, Garcia-Echeverria C, Hofmann F, Kristal GW (2005) The insulin-like growth factor-I receptor kinase inhibitor, NVP-ADW742, sensitizes small cell lung cancer cell lines to the effects of chemotherapy. *Clin Cancer Res* 11, 1567-1571



- Wright JL, Standford JL (2009) Metformin use and prostate cancer in Caucasian men: results from a population-based case-control study. *Cancer Causes Control* 20, 1617-1622
- Xiang X, Saha AK, Wen R (2004) AMP-activated protein kinase activators can inhibit the growth of prostate cancer cells by multiple mechanism. *Biochem Biophys Res Commun* 321: 161-167
- Xie Y, Wang YL, Yu L, Hu Q, Ji L, Zhang Y, Liao QP (2011) Metformin promotes progesterone receptor expression via inhibition of mammalian target of rapamycin (mTOR) in endometrial cancer cells. *J Steroid Biochem Mol Biol* 126(3-5)
- Zakikhani M, Dowling RJ, Sonenberg N, Pollak MN (2006) Metformin is an AMP kinase-dependent growth inhibitor for breast cancer cells. *Cancer Res* 66, 10269-10273
- Zhuang Y, Miskimins WK (2008) Cell cycle arrest in Metformin treated breast cancer cells involves activation of AMPK, downregulation of cyclin D1, and requires p27Kip1 or p21Cip1. *J Mol Signal* 3:18
- Zou G, Myers R, Li Y (2001) Role of AMP-activated protein kinase in mechanism of metformin action. *J Clin Invest* 108: 1167-1174



Agradecimentos

E porque esta revisão não é fruto de um trabalho exclusivamente individual, aproveito esta última página para expressar o mais sincero agradecimento a todos aqueles que tornaram possível a sua concretização.

Assim, em primeiro lugar gostaria de aqui agradecer à Sr.^a Professora Doutora Manuela Carvalheiro, orientadora deste trabalho, o estímulo e constante disponibilidade e amabilidade com que me recebeu, pelas suas sugestões e aval manifestado em todas as fases que levaram à realização do projeto.

Aos amigos, e em especial ao Beto, aos meus Pais e aos meus Irmãos, estou inteiramente grata pelas sugestões e comentários que acompanharam o processo evolutivo do trabalho.

À Música, pelo incentivo nos momentos menos inspirados.

