



Metformina: un arma noble para tiempos más civilizados

RESUMEN

El objetivo del desarrollo actual de nuevos fármacos es diseñar moléculas altamente específicas, encaminadas hacia un solo blanco muy particular. En el pasado no muy lejano, hace apenas medio siglo, la principal labor de la industria farmacéutica era el aislamiento y purificación de los extractos herbales para su posterior síntesis y maticación comercial. Por ello, es comprensible que estos fármacos no son altamente específicos, pero sí sumamente efectivos; es el caso de los antimicrobianos, del ácido acetilsalicílico, de la pravastatina y del fármaco motivo de esta revisión: metformina. En el caso particular de la metformina, por mucho tiempo se desconoció con exactitud su mecanismo de acción (y aún no se conocen todos), pero gracias al buen control metabólico obtenido es que perduró y se extendió su administración, hasta posicionarse como antidiabético de primera línea. Es justamente gracias a su amplia prescripción que se originaron observaciones epidemiológicas que identificaron la administración de metformina como factor protector contra el cáncer. En el último decenio esta hipótesis se probó y verificó en diversos modelos *in vitro* e *in vivo*, se conocieron mejor los mecanismos de acción implicados y se permitió extender el espectro de prescripción a entidades clínicas tan distintas entre sí, como tuberculosis, periodontitis, cirrosis hepática e infarto de miocardio. Con este trabajo se espera hacer una rápida y concisa revisión al estado del arte de metformina, que sin duda alguna generará conocimiento de relevancia clínica acerca de este noble fármaco, que será parte indispensable del armamento del médico moderno.

Palabras clave: metformina, cáncer, infarto de miocardio, tuberculosis, proteínas cinasas activadas por AMP, apoptosis.

Christian Omar Ramos-Peñafl¹

Adrián Santoyo-Sánchez²

Irma Olarte-Carrillo³

Gloria Eugenia Queipo-García⁴

Yonathan Garfias-Becerra⁵

Adolfo Martínez-Tovar³

¹Servicio de Hematología.

²Unidad de Medicina Experimental.

³Laboratorio de Biología Molecular.

⁴Servicio de Genética.

Hospital General de México Dr. Eduardo Liceaga.

⁵Unidad de Investigación, Instituto de Oftalmología Conde de Valenciana.

Metformin: A kind weapon for more civilized times

ABSTRACT

Nowadays the goal of developing new drugs is to design highly specific molecules directed at a single and very particular target. Not long time ago (just half a century ago), the main task of the pharmaceutical industry was the isolation and purification of herbal extracts for subsequent synthesis and worldwide marketing. Understandably these drugs are not highly specific, but are highly effective. Examples of these are antimicrobials, aspirin, pravastatin, and metformin, the drug to review in this paper. In the case of metformin, for a long time the exact mechanism of action was unknown (and still some of them are unknown), but

Recibido: 23 de junio 2015

Aceptado: 9 de septiembre 2015

Correspondencia

Dr. Christian Omar Ramos Peñafl

Hospital General de México

Unidad 111-D, 2º piso

Dr. Balmis 148

06720 México, DF

leukemiaCHOP@hotmail.com

Este artículo debe citarse como

Ramos-Peñafl CO, Santoyo-Sánchez A, Olarte-Carrillo I, Queipo-García GE y col. Metformina: un arma noble para tiempos más civilizados. Med Int Méx 2015;31:719-732.

thanks to the good metabolic control obtained, its use persisted and spread until position it as first-line anti-diabetic. It is thanks to its wide prescription that epidemiological observations identified the use of metformin as a protective factor against cancer. In the last decade, this hypothesis has been tested and verified in several *in vitro* and *in vivo* models, contributing to understand the mechanisms of action involved and even allowing to extend the spectrum of use to different clinical entities such as tuberculosis, periodontitis, liver cirrhosis and myocardial infarction. This work is expected to provide a quick and concise review of the state of the art of metformin, a noble drug, which undoubtedly will continue generating knowledge with clinical relevance. Metformin will be an indispensable weapon for modern physicians.

Key words: metformin, cancer, myocardial infarction, tuberculosis, AMP-activated protein kinases, apoptosis.

ANTECEDENTES

Metformina es una de las tres biguanidas extraídas de la lila francesa (*Galega officinalis*) y comercializadas desde fines del decenio de 1950; en la actualidad es uno de los estándares de tratamiento contra la diabetes mellitus no insulinodependiente.¹ El principal mecanismo de acción de la metformina es metabólico, al inducir un desgaste energético a las células (adipocitos, células neoplásicas), obligándolas a activar vías metabólicas y, en caso de no conseguirlo, inducir los mecanismos de apoptosis mediante toxicidad mitocondrial.² El fármaco se acumula en la matriz mitocondrial y logra la inhibición del complejo I de la cadena respiratoria; este efecto genera una reducción en la oxidación de NADH y finalmente, la disminución de las concentraciones celulares de ATP, con la consiguiente activación de la AMPK (de las siglas en inglés de *adenosine 5'-monophosphate-activated protein kinase*).³ Este efecto se aprecia mejor en las células sometidas a un gran desgaste energético, como los hepatocitos.⁴

Sin embargo, al día de hoy, metformina dejó de aparecer exclusivamente en las recetas de los

pacientes diabéticos y su prescripción se extendió a entidades clínicas insospechadas, como síndrome de ovario poliquístico o cáncer.^{4,5}

Cáncer y metformina

El interés en metformina como medicamento antitumoral surgió de estudios observacionales, cohortes retrospectivas y estudios de casos y controles en los que la prescripción de metformina sola o en combinación con otros medicamentos antidiabéticos disminuyó el riesgo de aparición de cáncer.⁶

Estudios epidemiológicos

Bowker y colaboradores postularon en 2010 que la mortalidad asociada con cáncer en pacientes diabéticos era mediada principalmente por el tipo de tratamiento que recibían los pacientes. Mediante una cohorte retrospectiva evaluaron 10,309 casos, con seguimiento promedio de 5.4 años. La mortalidad en los pacientes sometidos a tratamiento con insulina fue mayor (6%), en comparación con los tratados con sulfonilureas (5%) o con biguanidas (3.5%); posterior a esto, el análisis multivariado demostró que los pacien-



tes tratados con sulfonilureas mostraron mayor riesgo de muerte, comparados con la cohorte de metformina (RR: 1.3 [IC 95% 1.1-1.6]), pero menor que la cohorte de insulina (riesgo relativo: 2 [IC 95% 1.5-2.4], $p<0.0001$).⁶ Posteriormente, con base en la repetición de esta observación en diversas cohortes se analizó el efecto en la aparición de diferentes tipos de cáncer en pacientes diabéticos tratados con metformina.

Uno de los estudios más grandes fue el de Baur y colaboradores, en Alemania, que incluyó pacientes de 3,188 médicos de atención primaria. La prevalencia de cáncer fue mayor en el grupo de pacientes con diabetes mellitus tipo 2, en comparación con la población sin diabetes (66/1,242 *versus* 185/6,025, 5 *versus* 3%, $p<0.001$). En cuanto al tratamiento, los pacientes con diabetes mellitus tipo 2 que se trataron con metformina como monotratamiento mostraron una tendencia menor a padecer cáncer (razón de momios 1.04; IC 95% 0.46-2.4), en comparación con los pacientes con tratamiento oral sin la adición de metformina (razón de momios: 2.3; IC 95% 1.24-4.13). En ese mismo estudio, pero en la cohorte prospectiva, también el riesgo de morir por cáncer fue menor en el grupo de tratamiento con metformina (riesgo relativo: 1.3; IC 95% 0.42-4.25), en comparación con los pacientes con cualquier otro tratamiento que no incluyera metformina (riesgo relativo: 3.5; IC 95% 2.09-5.9).⁷ Semejante a esto, los resultados se replicaron en la mayor parte de los estudios epidemiológicos efectuados en otros países (Cuadro 1).⁶⁻¹¹ Zhang y su grupo, acorde con los hallazgos de cinco ensayos, reportaron menor riesgo de padecer neoplasias colorrectales en pacientes con diabetes mellitus tipo 2 tratados con metformina (riesgo relativo: 0.63; IC 95% 0.5-0.79).¹² Posterior a esto, y debido a la evidencia disponible, Col y su grupo diseñaron un metanálisis basado en siete estudios (cuatro cohortes y tres casos-controles); todos los estudios evaluaron metformina *versus* cualquier otro tratamiento (sulfonilureas, insulina y la combi-

nación con sulfonilurea); la mayor parte de los estudios consideró únicamente cáncer de mama invasor y sólo uno se basó en los subtipos histopatológicos (estado del receptor de hormona y HER2). Se determinó que metformina tiene un factor protector (razón de momios: 0.83; IC 95% 0.71-0.97) en los siete estudios, que es mayor en las pacientes con más de tres años de tratamiento ($n=4$ estudios, razón de momios: 0.75; IC 95% 0.62-0.91).⁸ Debido a toda la evidencia clínica disponible, se decidió realizar ensayos celulares sobre diversas líneas celulares de cáncer.

Mecanismos fisiopatogénicos del cáncer

En el año 2000, Hanahan y Weinberg publicaron una revisión que organiza el conocimiento disponible acerca de la patogénesis del cáncer. Describieron seis mecanismos que comparten todos los tumores, pero en lo individual, cada neoplasia puede sobreexpresar algún mecanismo específico (por ejemplo: leucemias, proliferación descontrolada, mieloma múltiple, evasión de la apoptosis, metástasis y angiogénesis).¹³ Gracias al entendimiento de la fisiopatología de las neoplasias y su interacción con el microambiente, recientemente se postularon cuatro nuevos mecanismos: evasión al sistema inmunitario, interacción con el microambiente, participación de células como los fibroblastos y los pericitos, y alteraciones energéticas en las células tumorales.^{14,15} La inflamación es un mecanismo primordial en la patogénesis de la enfermedad e, inclusive, en la resistencia a la quimioterapia. También los fibroblastos juegan un papel muy importante al constituir el estroma y sostener a las células endoteliales, permitir la expresión de citocinas inflamatorias y mantener la capacidad de interactuar con las células musculares (miofibroblastos).^{14,16} Estos efectos en el microambiente le dan a la célula tumoral la posibilidad de sobrevivir y pasar inadvertida en el sistema inmunitario e, inclusive, resistir a los diferentes compuestos utilizados como quimioterapia. La Figura 1 indica estos mecanismos, actualizados

Cuadro 1. Estudios epidemiológicos de la prescripción de metformina y riesgo de cáncer

Autor (año)	Tipo de estudio	Pacientes (país)	Seguimiento	Riesgo relativo o razón de momios (IC 95%)
Bowker y col. (2006) ⁶	Cohorte retrospectiva Mortalidad general respecto al tipo de tratamiento	10,309 (Canadá)	5.4 años	1.3 (1-1.6)
Baur y col. (2011) ⁷	Estudio transversal y cohorte prospectiva Asociación entre tipo de antiguicemiantes y prevalencia y mortalidad por cáncer	7,482-6,826 (Alemania)	5 años	Padecer cáncer: 1.04 (0.46-2.39) Mortalidad asociada con cáncer: 1.34 (0.42-4.25)
Col y col. (2012) ⁸	Metanálisis (7 estudios) Riesgo de cáncer de mama en pacientes que toman metformina	418,541 (NA)	6 meses-5 años	0.83 (0.71-0.97)
Singh y col. (2013) ⁹	Metanálisis (10 estudios) Riesgo de hepatocarcinoma en pacientes que reciben metformina	334,307 (NA)	6 meses-5 años	0.50 (0.34-0.73)
Zhang y col. (2014) ¹⁰	Metanálisis (5 estudios) Riesgo de cáncer de colon en pacientes con diabetes mellitus tipo 2	108,161 (NA)	2.4-5.6 años	0.63 (0.5-0.79)
Wang y col. (2014) ¹¹	Metanálisis (11 estudios) Riesgo de cáncer de páncreas en pacientes con diabetes mellitus tipo 2	766,195 (NA)	0.5-7.9 años	0.63 (0.46-0.86)

por los mismos Hanahan y Weinberg en 2011; además de incluir los puntos en los que metformina tiene efectos, mismos que se detallarán más adelante.¹⁵

Líneas celulares de cáncer y metformina

Diversos investigadores utilizaron líneas celulares de cáncer y adicionaron diversas concentraciones de metformina para evaluar la viabilidad celular final. Liu y colaboradores identificaron el efecto de la adición de diferentes concentraciones de metformina en la proliferación celular en líneas de cáncer de mama triple negativo.¹⁷ Koh y su grupo, sobre esa misma línea celular, adicionaron un segundo compuesto: ácido gamma-aminobutírico (GABA), con datos semejantes, pero evidenciaron un potencial anti-proliferativo 100 veces mayor.¹⁸ Diversas líneas celulares permiten establecer el mecanismo de acción antitumoral, más allá del desgaste energético sometido por la activación

de AMPK (AMP proteín-cinasa); los más sobresalientes se describen en el Cuadro 2.¹⁷⁻²⁷ De manera normal, AMPK induce la fosforilación de diversos factores, como TSC2, mismo que estimula la actividad de la GTPasa, lo que reduce la actividad de mTOR. Otro mecanismo es el bloqueo de una diversidad de factores de transcripción (llamados factores de Yamanaka: OCT4, KLF4, SOX2, cMyc), al igual que la acción de microARNs indispensables para la transcripción de factores como FOXO o CREB.^{4,28,29} Su acción también es dependiente del tejido en donde se estudia; por ejemplo, en el hígado, metformina activa a AMPK e inhibe la vía de señalización mTOR; pero en los pulmones, su principal mecanismo de acción es la inhibición de la fosforilación mediada por un factor de crecimiento semejante a la insulina (IGF-1R/1R), al igual que la inhibición de la vía ERK (*extracellular signaling factor*).³⁰ Estos datos se reproducen en células de cáncer de páncreas, en donde la adición de metformina



Figura 1. Mecanismos implicados en la patogénesis del cáncer y mecanismos de acción antitumoral de metformina.

Modificada de la referencia 15.

inhibe a los receptores acoplados a proteínas G asociados con los receptores de IGF-1.³¹ Otra GTPasa que también es blanco de metformina es la GTPasa Rac1, que está altamente expresada en cáncer de próstata.²³ En la próstata, Dirat y colaboradores evidenciaron que

metformina inhibió también la GTPasa RAC1 mediante el bloqueo de las vías de señalización, como P-REX1, AMPc, CXCL12/CXCR4.²³ Otra vía implicada en los bloqueos mediados por metformina es la vía sonic hedgehog (Shh). Nakamura y su grupo identificaron en la línea

Cuadro 2. Ensayos celulares del efecto de metformina

Autor (año)	Tipo de estudio	Línea celular	Vía celular implicada	Hallazgos relevantes
Liu y col. (2009) ¹⁷	In vitro	Cáncer de mama (MCF-7, MDA-MB-453, BT474, SKBR-3)	AMPK/mTOR EGFR PARP	Actividad antiproliferativa y proapoptótica (vía intrínseca y extrínseca)
Kim y col. (2011) ¹⁹	In vitro	Cáncer de mama (MCF-7, MCF-7/adr)	AMPK MDR1	Inhibición de la expresión de MDR mediada por la inhibición de las vías de NF-κB y CREB
Koh y col. (2013) ¹⁸	In vitro	Cáncer de mama (Hs578T)	AMPK/mTOR	Inhibición de las vías dependientes de AMPK/mTOR
	In vivo	Modelo murino	Fenotipo invasivo MMP-2	Reduce las células con fenotipo invasivo Reduce la expresión de MMP-2 Reducción del crecimiento tumoral en modelo murino
Lin y col (2013) ²⁰	In vitro	Adenocarcinoma pulmonar (PC14PE6, CL1-5)	IL-6/STAT3 ROS AMPK/mTOR	Reducción de las ROS Inhibe las señales de IL-6 y su transductor STAT3, de manera independiente a AMPK
Nakamura y col. (2014) ²¹	In vitro	Cáncer de páncreas (BxPC3)	Shh	Inhibición dosis dependiente de la vía Shh
Lesan y col. (2014) ²²	In vitro	Cáncer gástrico (MKN-45)	AMPK/mTOR Survivina Akt	Antagonismo a los efectos de cisplatino debido a que metformina induce mayor expresión de Akt
Dirat y col. (2015) ²³	In vitro	Cáncer de próstata (PC3, DU145)	GTPasa Rac1 CXCL12/CXCR4	Disminución de la migración celular mediada por alteraciones citoesqueléticas
Ramos-Peñaflor y col. (2015) ²⁴	In vitro	Leucemia linfoblástica estirpe T (MOLT-4)	AMPK/mTOR P13K/Akt	Bloqueo de la progresión del ciclo celular y disminución de la viabilidad celular
Fan y col. (2015) ²⁵	In vitro	Cáncer de mama (MDA-MB-231, MCF-7, BT-549)	Shh	Inhibición de la vía Shh, de manera dependiente a AMPK
	In vivo	Modelo murino	AMPK	Reducción de la tasa de proliferación, migración e invasión celular
Thakur y col. (2015) ²⁶	In vitro	Epitelio tubular renal y fibroblastos intersticiales	AMPK TGF-β miR-221	Reducción del daño generado por TGF-β mediante la activación de las vías AMPK-dependientes
Tanaka y col. (2015) ²⁷	In vitro	Células pancreáticas (PANC-1)	TRAIL	Inducción efectiva de las señales proapoptóticas, sensibilizando para TRAIL

CREB: proteína de cAMP respuesta elemento-vinculante; EGFR: receptor del factor de crecimiento epidermoide; MDR1: genes de resistencia a múltiples fármacos; MMP-2: metaloproteína 2; PARP: poli ADP-ribosa-polimerasa; Shh: sonic hedgehog; STAT3: transductor de señal y activador de la transcripción 3; ROS: especies reactivas de oxígeno; STGF-β: factor transformante de crecimiento beta; TRAIL: ligando del receptor relacionado con la inducción de necrosis tumoral.

celular BxPC3 del páncreas que metformina también bloquea las diversas proteínas de esta vía de señalización y muestra correlación con las concentraciones de actividad de la AMPK.²⁵ Asimismo, la vía STAT3 (*signal transducer and*

activator transcriptor), efector de IL-6, es bloqueada con la administración de metformina, regulada principalmente por la activación de LKB1-AMPK, así como por mecanismos independientes de mTOR.²⁰



Metformina y su asociación con las proteínas que inhiben la apoptosis

Uno de los principales mecanismos de metformina es su efecto en las proteínas implicadas con la vía de señalización PI3K;³² otra proteína asociada con los mecanismos de inhibición de la apoptosis es la survivina, que está implicada con una gran familia de genes activos, en estado patológico y en estado normal. Su actividad principal es en la mitosis y en la etapa G2/M, e inhibiendo la actividad de caspasa 7.^{33,34} Durante la evolución tumoral existe una asociación entre la expresión de survivina y el crecimiento tumoral.³⁵ Diversos fármacos están considerados con efecto sinérgico con metformina; entre ellos, varios quimioterápicos y solamente está descrito un efecto antagonista con un fármaco. Lesan y su grupo, en la línea celular MKN-45, demostraron que la adición de metformina en conjunto con cisplatino incrementa las concentraciones de survivina y mTOR. Este efecto antagonista se justifica por la interferencia de cisplatino mediada por metformina, por lo que no es una buena opción para el tratamiento del cáncer gástrico.²²

Efecto en los genes de resistencia a sustancias

La familia de los genes de resistencia a medicamentos incluye una superfamilia de 49 genes humanos denominados ABC (*adenosine triphosphate (ATP)-Binding Cassette*), que están clasificados en ocho subfamilias que van desde ABC-a hasta ABC-G. Estos genes están implicados principalmente en el transporte celular dependiente de energía y en procesos como la expulsión de sustancias nocivas, secreción de toxinas, movilización de iones, péptidos y señalización celular.³⁶ La P-gp constituye un sistema de desintoxicación natural que se expresa en varios tejidos normales, como el hígado, el intestino delgado, el riñón, la placenta, las células endoteliales del sistema nervioso central y los testículos.^{36,37} Se reportan como sustratos antitumorales de la gp-P170 a los alcaloides de

la vinca, vincristina y vinblastina; antraciclinas como daunorrubicina y doxorrubicina; epipodofilotoxinas como etopósido y tenopósido;³⁸ debido a que son una bomba de flujo de energía, diversos investigadores mostraron que las diferentes vías energéticas influyen en las vías de señalización; tal vez, la más conocida es la vía del AMPc. Glazer y colaboradores en 1994 establecieron una asociación en un modelo de cáncer de mama, en el que la expresión de los MDR1 puede ser regulada mediante una cinasa dependiente de AMP (cAMP); su alta expresión también se asoció con mayor expresión de los genes MDR.³⁹

En un modelo posterior, este mismo grupo también estableció que al administrar un inhibidor selectivo de la cinasa dependiente de AMP (PKA) se redujo la actividad de MDR1, lo que sugiere que estos inhibidores pueden bloquear el fenotipo de resistencia.⁴⁰ Otros modelos *in vitro* utilizaron células tumorales resistentes a quimioterapia. Parissenti y su grupo evaluaron un inhibidor farmacológico de AMPc en la línea de células MCF-7 de cáncer de mama, mismo que es resistente a la doxorrubicina. Entre los resultados, y en comparación con el grupo control, la densidad del crecimiento tumoral fue menor en las células a las que se les adicionó este inhibidor, lo que sugiere que el bloqueo de MDR1 por algún inhibidor puede ser una estrategia viable para vencer la quimiorresistencia.⁴¹

La guerra civil entre estatinas y metformina

Próstata

Tseng evaluó el efecto de metformina en la incidencia de cáncer de próstata y demostró que existe menor incidencia en los pacientes que tomaron el fármaco principalmente a largo plazo.⁴² En todo el mundo, diversos estudios epidemiológicos evaluaron el potencial de la prescripción de estatinas para la reducción del riesgo de cáncer, principalmente de próstata.

Boudreau y colaboradores, en su estudio de cohorte retrospectiva de 83,372 hombres (14% tomaron estatinas), evaluaron la eficacia en la reducción de la aparición de cáncer. A diferencia de metformina, adicionar estatinas no tuvo efectos en la aparición, la agresividad o el estado clínico del cáncer.⁴³ Zhang y su grupo analizaron los resultados de diversos ensayos entre 2005-2010 acerca de la prescripción de estatinas y aparición de cáncer de próstata; concluyeron que su administración sí proporciona un efecto protector (razón de momios: 1.195 [IC 95%, 1.018-1.403], p=0.029).⁴⁴ A pesar de esto, diversos investigadores postulan que su eficacia en el tratamiento del cáncer de próstata es nula, principalmente en posprostatectomía.⁴⁵ Con base en los efectos de estas sustancias (estatinas y metformina), diversos investigadores consideraron que pueden mostrar un efecto sinérgico en el cáncer de próstata.

Lehman y colaboradores, en un estudio observacional, realizaron una primera aproximación e identificaron que la incidencia de cáncer de próstata se modifica principalmente por la adición de estatinas, y que la administración de metformina en conjunto con estatinas redujo significativamente el riesgo (riesgo relativo: 0.69 [IC 95%, 0.50-0.92]).⁴⁶ Relacionado con esto, Danzig y su grupo también describieron una posible interacción de metformina con estatinas en pacientes sometidos a prostatectomía radical. De los 767 casos analizados, en 10% se administró sólo estatinas, en 7% sólo metformina y en 5.5% tratamiento combinado. El análisis final de la recaída bioquímica resultó a favor del grupo de estatinas, pero el tratamiento combinado generó un riesgo relativo de 0.2 sobre la recaída; concluyeron una posible sinergia antitumoral, que finalmente debe ser corroborada en medios de cultivo.⁴⁷ Chen-Pin y colaboradores describieron una asociación similar; analizaron la prescripción de metformina, estatinas y finasterida de manera aislada o en combinación entre ellas. Sus conclusiones son que finasterida es el mejor

factor protector y, contrario a lo esperado, al combinarse con metformina o estatinas, reduce su efecto, especialmente en el caso de combinarlo con metformina (p<0.0001).⁴⁸

Corazón

La eficacia de las estatinas para prevenir y reducir las complicaciones y la mortalidad asociadas con el síndrome coronario agudo está perfectamente documentada. Se ha establecido que las estatinas poseen efectos pleiotrópicos, como mejorar la función endotelial y la reducción de la agregación plaquetaria.^{49,50} Sin embargo, seguramente nos tocará ser testigos de la inclusión de metformina en el arsenal del cardiólogo en un futuro no muy lejano, puesto que investigaciones recientes revelan el beneficio de su prescripción no sólo en pacientes con síndrome coronario agudo, sino como cardioprotector que evite la disfunción diastólica y en pacientes con insuficiencia cardiaca para reducir la fibrosis y preservar la fracción de eyección.^{51,52} Al igual que en el caso de las propiedades antitumorales, los estudios epidemiológicos que apuntaban a que la administración de metformina reducía los eventos catastróficos cardiacos en diabéticos^{53,54} sirvieron de base para modelos murinos de infarto agudo de miocardio, en los que se corroboró que metformina reducía significativamente las lesiones de isquemia-reperfusión, al parecer por la inhibición de AMPK en combinación con incremento en la producción de óxido nítrico endotelial.⁵⁵ Soraya y colaboradores recientemente probaron el efecto cardioprotector de la prescripción continua de metformina contra un evento isquémico. Para ello administraron metformina durante 14 días a ratas, para posteriormente inducir isquemia con isoproterenol; los modelos que recibieron metformina sufrieron menos daño isquémico y menor reclutamiento de neutrófilos a la lesión; esto último conllevó a que la remodelación posterior del tejido fue significativamente menor; todo esto fue independiente de la dosis de metformina administrada;⁵⁶



sin embargo, los resultados en humanos permanecen en controversia. DIGAMI (*Diabetes mellitus, insulin glucose infusion in acute myocardial infarction*) fue una de las primeras cohortes retrospectivas que evaluaron el tratamiento de control glucémico como factor de riesgo o protector en pacientes diabéticos que sufrieron infarto agudo de miocardio; sus resultados indican que metformina actuó como factor protector contra reinfarto y redujo la mortalidad.⁵³ Lexis y colaboradores ratificaron estos resultados en su propio ensayo clínico, en el que concluyen que los pacientes con administración crónica de metformina tuvieron lesiones isquémicas de menor tamaño y una consecuente menor alteración de los marcadores bioquímicos típicamente utilizados.⁵⁴ Este mismo grupo condujo el ensayo clínico GIPS-III (*Glycometabolic intervention as adjunct to primary percutaneous intervention in ST elevation myocardial infarction*), cuya finalidad fue evaluar la administración de metformina en pacientes no diabéticos con infarto. No se obtuvo el éxito esperado de mejorar la fracción de eyeción del ventrículo, por lo que los autores concluyen que la prescripción de metformina no representa ninguna ventaja en el tratamiento del infarto en pacientes no diabéticos.⁵⁷

Metformina en hepatología

Las células hepáticas son de los principales blancos de metformina para lograr el control metabólico y regular los ácidos grasos y carbohidratos.^{4,28} La mayor parte de las hepatopatías crónicas se acompañan de estrés oxidativo, que en última instancia induce la apoptosis celular.⁵⁸ Conde de la Rosa y colaboradores demostraron que en los hígados de ratas sometidas a daño que generaba estrés oxidativo, metformina fue capaz de evitar la apoptosis de los hepatocitos al reducir la actividad de las caspasas y PARP.⁵⁹ Similar a lo que ocurre con la administración de metformina en el infarto agudo de miocardio, metformina es un tratamiento de primera línea para pacientes con hígado graso no alcohólico y

diabetes mellitus tipo 2; su papel en pacientes sin diabetes aún genera controversia y se mantiene a la espera de ensayos clínicos más precisos, especialmente los que valoren los resultados en términos histológicos.^{58,60,61}

Los pacientes con cirrosis hepática (sin distinción de la causa) también podrán beneficiarse de la prescripción de metformina. A pesar de que en años previos se aconsejaba descontinuar la administración de metformina en pacientes con cirrosis, debido al mayor riesgo de efectos secundarios, las recomendaciones actuales van en sentido contrario, porque el riesgo de efectos secundarios es mínimo y es superado, por mucho, por los beneficios al aumentar la supervivencia global; además, recientemente también están implicados los posibles efectos de metformina en los fibroblastos, que es el punto clave de las alteraciones en estos pacientes.^{62,63} Un estudio de interés particular en este tema es el realizado por Goto y colaboradores, que investigaron el papel de SNARK (SNF1/AMP kinase-related kinase) en la patogénesis y replicación viral del virus de la hepatitis C. Se logró inhibir SNARK de manera efectiva con metformina, con lo que se reguló la vía del factor de crecimiento transformante beta (TGF- β), y resultó en último lugar la supresión en la replicación viral.⁶⁴

Neumología como próximo destino de metformina

Singhal y colaboradores evaluaron el efecto de metformina en el crecimiento de *Mycobacterium tuberculosis*, partiendo del conocimiento acumulado en los últimos 10 años en la inhibición de la expresión de las glicoproteínas p, mediada por la expresión de la vía del factor nuclear kappa B (NF- κ B), responsable de la resistencia a fármacos.¹⁹ En su modelo, el crecimiento fue detenido mediante la activación de AMPK, lo que produjo especies reactivas de oxígeno, además de facilitar la fusión lisosomal.⁶⁵ Estos hallazgos han dado las bases para ser adicionado

al tratamiento, principalmente en los casos con bacilos multirresistentes.⁶⁶

Lo próximo a venir en la prescripción de metformina

Además de las publicaciones más recientes, debemos estar conscientes de que varios ensayos clínicos acerca de metformina aún están en curso. Para dar una cifra más precisa, una búsqueda rápida en el portal estadounidense ClinicalTrials (www.clinicaltrials.gov) señala 1,608 ensayos registrados hasta junio de 2015. Si bien es cierto que gran parte de éstos son análisis farmacodinámicos o farmacocinéticos, en el Cuadro 3 se recopilan los estudios que contemplaron metformina para el tratamiento de entidades clínicas distintas contra las que su prescripción está aprobada actualmen-

te. Es notable el número de estudios acerca de la incorporación de metformina al tratamiento de pacientes con diferentes tipos de cáncer y adquiere mayor importancia el hecho de que instituciones de excelencia mundial, como el Anderson Cancer Center, analiza estos tratamientos.

No menos importante será ver los resultados finales de los estudios que administran metformina en casos de periodontitis,⁶⁷ infertilidad masculina⁶⁸ o alteraciones del sistema inmunológico, afecciones todavía más alejadas de la diabetes mellitus tipo 2, donde situamos al fármaco, pero que gracias al nuevo conocimiento de las vías moleculares que puede regular, podemos comprender la posible utilidad que puede tener y, quizás en un futuro no muy lejano, usar en la práctica clínica propia (Figura 2).

Cuadro 3. Ensayos clínicos registrados en el portal de ClinicalTrials.gov que implican la adición de metformina (continúa en la siguiente página)

Identificador (estado)	Objetivo del protocolo	Patrocinador (país)	Ensayo clínico (fase)	Dosis de metformina	Fecha estimada de resultados
Cáncer					
NCT02285855 (reclutando)	Cáncer de pulmón de células pequeñas	MD. Anderson Cancer Center (EUA)	2	2 g/día + radioterapia	2015
NCT01440127 (concluido)	Cáncer de colon	Tufts Medical Center (EUA)	1	(?)	2015
NCT02048384 (reclutando)	Adenocarcinoma metastásico de páncreas	Sidney Kimmel Comprehensive Cancer Center (Australia)	1-2	850 mg/día + rapamicina 4 mg/día	2015
NCT02040376 (reclutando)	Meduloblastoma	The Hospital for Sick Children (Canadá)	3	500-1,000 mg/día	2016
NCT01750567 (reclutando)	Leucemia linfocítica crónica	University of Michigan Cancer Center (EUA)	2	500-1,000 mg c/12 horas	2016
NCT01849276 (reclutando)	Leucemia meloblástica aguda refractaria	Northwestern University (EUA)	2	(?)	2016
NCT02360618 (reclutando)	Cáncer de vesícula	London Health Sciences Centre (Inglaterra)	2	850 mg/día + simvastatina 20 mg/día	2018
NCT01638676 (reclutando)	Melanoma	James Graham Brown Cancer Center (EUA)	2	500-850 mg c/12 horas	2019
NCT02319200 (reclutando)	Prevención de hepatocarcinoma	Hôpitaux de Paris (Francia)	3	4 g/día	2020
Cardiología					
NCT02017561 (reclutando)	Prevención de disfunción diastólica	Universidad de do Porto (Portugal)	2	2 g/día	2016

Cuadro 3. Ensayos clínicos registrados en el portal de ClinicalTrials.gov que implican la adición de metformina (continuación)

Identificador (estado)	Objetivo del protocolo	Patrocinador (país)	Ensayo clínico (fase)	Dosis de metformina	Fecha estimada de resultados
NCT01610401 (completado)	Prevención del daño endotelial por reperfusión posinfarto agudo de miocardio	Radboud University (Holanda)	4	500 mg c/8 h	2012
Hepatología					
NCT00736385 (concluido)	Hígado graso no alcohólico	Duke University Medical Center (EUA)	4	2 g/día	2015
NCT02470546 (reclutando)	Encefalopatía hepática	Fundación Pública Andaluza para la Gestión de la Investigación en Sevilla (España)	4	1-2 g/día	2016
NCT00560690 (completado)	Hepatitis C	Tehran University of Medical Sciences (Irán)	4	500 mg c/8 horas	2015
Miscelánea					
NCT01529177 (reclutando)	Infertilidad masculina por hipoespermato-génesis	The Egyptian IVF-ET Center (Egipto)	0	850 mg/día	2015
NCT00620191 (completado)	Prevención de enfermedad de Alzheimer	Columbia University (EUA)	2	1 g/día	2013 (?)
NCT02372656 (completado)	Periodontitis crónica	Government Dental College and Research Institute (India)	2	Gel al 1% vs simvastatina	2014 (?)
NCT02383563 (reclutando)	Reducción de placas coronarias por activación de monocitos en pacientes con VIH	Universidad de Hawaii (EUA)	2	0.5-1 g/día	2016
NCT02018731 (reclutando)	Distrofia muscular de Becker	Hospital Universitario de Basel (Suiza)	2	1.5 g/día	2016
NCT01685762 (reclutando)	Hiperplasia endometrial	UNC Lineberger Comprehensive Cancer Center (EUA)	0	850 mg/día	2014
NCT02188654 (completado)	Artritis psoriásica	Universidad de Alejandría (Egipto)	0	500 mg/día	2014

CONCLUSIONES

Metformina es ahora un integrante más del equipo de élite que podríamos llamar los “Vengadores de la farmacología”, porque, en clara similitud a los “Avengers” de Marvel, son compuestos sintetizados en una época cercana a la segunda Guerra Mundial, pero el paso del tiempo los dejó en el olvido o luchando en solitario contra su propio personaje antagonico

(aspirina vs enfermedades cardiovasculares, metformina vs trastornos endocrinológicos). Y aunque a primera vista pareciera incompatible el hecho de unir sus fuerzas, así lo hacen en la lucha contra un poderoso enemigo común para la humanidad: el cáncer, que al igual que “Hydra” en Marvel, posee una compleja organización que le permite mantener varios escenarios implicados, muchos de ellos aún desconocidos.



Figura 2. Campos de la medicina y enfermedades en las que se probó la prescripción de metformina.

Agradecimientos

Se agradece el apoyo del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por los apoyos brindados (proyectos 80085 y 162269) para las investigaciones en curso al interior del Hospital General de México Dr. Eduardo Liceaga.

REFERENCIAS

1. Krentz AJ, Bailey CJ. Oral antidiabetic agents: current role in type 2 diabetes mellitus. *Drugs* 2005;65:385-411.
2. Chan K, Truong D, Shangari N, O'Brien PJ. Drug-induced mitochondrial toxicity. *Expert Opin Drug Metab Toxicol* 2005;1:655-669.
3. Emami Riedmaier A, Fisel P, Nies AT, Schaeffeler E, Schwab M. Metformin and cancer: from the old medicine cabinet to pharmacological pitfalls and prospects. *Trends Pharmacol Sci* 2013;34:126-135.
4. Pernicova I, Korbonits M. Metformin--mode of action and clinical implications for diabetes and cancer. *Nat Rev Endocrinol* 2014;10:143-156.
5. Jayasena CN, Franks S. The management of patients with polycystic ovary syndrome. *Nat Rev Endocrinol* 2014;10:624-636.
6. Bowker SL, Yasui Y, Veugelers P, Johnson JA. Glucose-lowering agents and cancer mortality rates in type 2 diabetes: assessing effects of time-varying exposure. *Diabetologia* 2010;53:1631-1637.
7. Baur DM, Klotsche J, Hamnvik OP, Sievers C, et al. Type 2 diabetes mellitus and medications for type 2 diabetes mellitus are associated with risk for and mortality from cancer in a German primary care cohort. *Metabolism* 2011;6:1363-1371.
8. Col NF, Ochs L, Springmann V, Aragaki AK, Chlebowski RT. Metformin and breast cancer risk: a meta-analysis and critical literature review. *Breast Cancer Res Treat* 2012;135:639-646.
9. Singh S, Singh PP, Singh AG, Murad MH, Sanchez W. Anti-diabetic medications and the risk of hepatocellular cancer: a systematic review and meta-analysis. *Am J Gastroenterol* 2013;108:881-891.
10. 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.
11. Wang Z, Lai ST, Xie L, Zhao JD, et al. Metformin is associated with reduced risk of pancreatic cancer in patients with type 2 diabetes mellitus: a systematic review and meta-analysis. *Diabetes Res Clin Pract* 2014;106:19-26.
12. Zhang ZJ, Zheng ZJ, Kan H, Song Y, 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.
13. Sonnenschein C, Soto AM. The aging of the 2000 and 2011 Hallmarks of Cancer reviews: a critique. *J Biosci* 2013;38:651-663.
14. Kharashvili G, Simkova D, Bouchalova K, Gachechiladze M, et al. The role of cancer-associated fibroblasts, solid stress and other microenvironmental factors in tumor progression and therapy resistance. *Cancer Cell Int* 2014;14:41.
15. Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell* 2011;144:646-674.
16. Kawaguchi M, Kataoka H. Mechanisms of hepatocyte growth factor activation in cancer tissues. *Cancers (Basel)* 2014;6:1890-1904.
17. Liu B, Fan Z, Edgerton SM, Deng X-S, et al. Metformin induces unique biological and molecular responses in triple negative breast cancer cells. *Cell Cycle* 2009;8:2031-2040.
18. Koh M, Lee JC, Min C, Moon A. A novel metformin derivative, HL010183, inhibits proliferation and invasion of triple-negative breast cancer cells. *Bioorg Med Chem* 2013;21:2305-2313.
19. Kim HG, Hien TT, Han EH, Hwang YP, et al. Metformin inhibits P-glycoprotein expression via the NF-κB pathway



- and CRE transcriptional activity through AMPK activation. *Br J Pharmacol* 2011;162:1096-108.
20. Lin CC, Yeh HH, Huang WL, Yan JJ, et al. Metformin enhances cisplatin cytotoxicity by suppressing signal transducer and activator of transcription-3 activity independently of the liver kinase B1-AMP-activated protein kinase pathway. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2013;49:241-250.
 21. Nakamura M, Ogo A, Yamura M, Yamaguchi Y, Nakashima H. Metformin suppresses sonic hedgehog expression in pancreatic cancer cells. *Anticancer Res* 2014;34:1765-1769.
 22. Lesan V, Ghaffari SH, Salaramoli J, Heidari M, et al. Evaluation of antagonistic effects of metformin with Cisplatin in gastric cancer cells. *Int J Hematol Oncol Stem cell Res* 2014;8:12-19.
 23. Dirat B, Ader I, Golzio M, Massa F, et al. Inhibition of the GTPase Rac1 mediates the antimigratory effects of metformin in prostate cancer cells. *Mol Cancer Ther* 2015;14:586-596.
 24. Ramos-Peñafl CO, Olarte-Carrillo I, Martínez-Tovar A, Castellanos-Sinco H, et al. Effect of Metformin to a pretreatment with steroids in adult patients with acute lymphoblastic leukemia and in the viability of the MOLT-4 cell line. *Med UIS* 2014;27:221-229.
 25. Fan C, Wang Y, Liu Z, Sun Y, et al. Metformin exerts anticancer effects through the inhibition of the Sonic hedgehog signaling pathway in breast cancer. *Int J Mol Med* 2015;36:204-214.
 26. Thakur S, Viswanadhapalli S, Kopp JB, Shi Q, et al. Activation of AMP-activated protein kinase prevents TGF-β1-induced epithelial-mesenchymal transition and myofibroblast activation. *Am J Pathol* 2015;185:2168-2180.
 27. Tanaka R, Tomosugi M, Horinaka M, Sowa Y, Sakai T. Metformin causes G1-phase arrest via down-regulation of MiR-221 and enhances TRAIL Sensitivity through DR5 Up-regulation in pancreatic cancer cells. *PLoS One* 2015;10:0125779.
 28. Dowling RJ, Niraula S, Stambolic V, Goodwin PJ. Metformin in cancer: translational challenges. *J Mol Endocrinol* 2012;48:31-43.
 29. Serrano M. Metformin and reprogramming into iPSCs. *Cell Cycle* 2012;11:1058-1059.
 30. Memmott RM, Mercado JR, Maier CR, Kawabata S, et al. Metformin prevents tobacco carcinogen-induced lung tumorigenesis. *Cancer Prev Res (Phila)* 2010;3:1066-1076.
 31. Zins K, Lucas T, Reichl P, Abraham D, Aharinejad S. A Rac1/Cdc42 GTPase-specific small molecule inhibitor suppresses growth of primary human prostate cancer xenografts and prolongs survival in mice. *PLoS One* 2013;8:74924.
 32. Honjo S, Ajani JA, Scott AW, Chen Q, et al. Metformin sensitizes chemotherapy by targeting cancer stem cells and the mTOR pathway in esophageal cancer. *Int J Oncol* 2014;45:567-574.
 33. Altieri DC. Survivin, versatile modulation of cell division and apoptosis in cancer. *Oncogene* 2003;22:8581-8589.
 34. Yang J, Liu F-X, Yan X-C. [Research advances on inhibitor of apoptosis, survivin]. *Ai Zheng* 2003;22:771-774.
 35. Yamamoto T, Tanigawa N. The role of survivin as a new target of diagnosis and treatment in human cancer. *Med Electron Microsc* 2001;34:207-212.
 36. Dean M, Rzhetsky A, Allikmets R. The human ATP-binding cassette (ABC) transporter superfamily. *Genome Res* 2001;11:1156-1166.
 37. Szakács G, Paterson JK, Ludwig JA, Booth-Genthe C, Gottesman MM. Targeting multidrug resistance in cancer. *Nat Rev Drug Discov* 2006;5:219-234.
 38. Moitra K, Lou H, Dean M. Multidrug efflux pumps and cancer stem cells: insights into multidrug resistance and therapeutic development. *Clin Pharmacol Ther* 2011;89:491-502.
 39. Glazer RI, Rohlf C. Transcriptional regulation of multidrug resistance in breast cancer. *Breast Cancer Res Treat* 1994;31:263-271.
 40. Rohlf C, Glazer RI. Regulation of the MDR1 promoter by cyclic AMP-dependent protein kinase and transcription factor Sp1. *Int J Oncol* 1998;12:383-386.
 41. Parissenti AM, Gannon BR, Villeneuve DJ, Kirwan-rhude AF, et al. Lack of modulation of MDR1 gene expression by dominant inhibition of cAMP-dependent protein kinase in doxorubicin-resistant MCF-7 breast cancer cells. *Int J Cancer* 1999;82:893-900.
 42. Tseng CH. Metformin significantly reduces incident prostate cancer risk in Taiwanese men with type 2 diabetes mellitus. *Eur J Cancer* 2014;50:2831-2837.
 43. Boudreau DM, Yu O, Buist DSM, Miglioretti DL. Statin use and prostate cancer risk in a large population-based setting. *Cancer Causes Control* 2008;19:767-774.
 44. Zhang Y, Zang T. Association between statin usage and prostate cancer prevention: a refined meta-analysis based on literature from the years 2005-2010. *Urol Int* 2013;90:259-262.
 45. Chao C, Jacobsen SJ, Xu L, Wallner LP, et al. Use of statins and prostate cancer recurrence among patients treated with radical prostatectomy. *BJU Int* 2013;111:954-962.
 46. Lehman DM, Lorenzo C, Hernandez J, Wang CP. Statin use as a moderator of metformin effect on risk for prostate cancer among type 2 diabetic patients. *Diabetes Care* 2012;35:1002-1007.
 47. Danzig MR, Kotamarti S, Ghadori RA, Rothberg MB, et al. Synergism between metformin and statins in modifying the risk of biochemical recurrence following radical prostatectomy in men with diabetes. *Prostate Cancer Prostatic Dis* 2015;18:63-68.
 48. Chen-Pin W, Javier H, Lorenzo C, Downs JR, et al. Statins and finasteride use differentially modify the impact of metformin on prostate cancer incidence in men with type 2 diabetes. *Ann Transl Med Epidemiol* 2014;1:1004.
 49. Martínez-González J, Badimon L. Efecto temprano de las estatinas después de un infarto de miocardio. ¿Se debe a los efectos pleiotrópicos? *Med Clin (Barc)* 2006;12:334-336.

50. Ruiz-Bailén M. Administración de estatinas durante la fase aguda del síndrome coronario agudo. *Med Intensiva* 2010;34:56-63.
51. Ladeiras-Lopes R, Fontes-Carvalho R, Bettencourt N, Sampaio F, et al. Novel therapeutic targets of metformin: metabolic syndrome and cardiovascular disease. *Expert Opin Ther Targets* 2015;19:869-877.
52. Bai J, Zhang N, Hua Y, Wang B, et al. Metformin inhibits angiotensin II-induced differentiation of cardiac fibroblasts into myofibroblasts. *PLoS One* 2013;8:72120.
53. Mellbin LG, Malmberg K, Norhammar A, Wedel H, Rydén L. The impact of glucose lowering treatment on long-term prognosis in patients with type 2 diabetes and myocardial infarction: a report from the DIGAMI 2 trial. *Eur Heart J* 2008;29:166-176.
54. Lexis CP, Wieringa WG, Hiemstra B, van Deursen VM, et al. Chronic metformin treatment is associated with reduced myocardial infarct size in diabetic patients with ST-segment elevation myocardial infarction. *Cardiovasc Drugs Ther* 2014;28:163-171.
55. Calvert JW, Gundewar S, Jha S, Greer JJ, et al. Acute metformin therapy confers cardioprotection against myocardial infarction via AMPK-eNOS-mediated signaling. *Diabetes* 2008;57:696-705.
56. Soraya H, Rameshrad M, Mokarizadeh A, Garjani A. Metformin attenuates myocardial remodeling and neutrophil recruitment after myocardial infarction in rat. *Bioimpacts* 2015;5:3-8.
57. Lexis CP, van der Horst IC, Lipsic E, Wieringa WG, et al. Effect of metformin on left ventricular function after acute myocardial infarction in patients without diabetes: the GIPS-III randomized clinical trial. *JAMA* 2014;311:1526-1535.
58. Li Y, Liu L, Wang B, Wang J, Chen D. Metformin in non-alcoholic fatty liver disease: A systematic review and meta-analysis. *Biomed Rep* 2013;1:57-64.
59. Conde de la Rosa L, Vrenken TE, Buist-Homan M, Faber KN, Moshage H. Metformin protects primary rat hepatocytes against oxidative stress-induced apoptosis. *Pharmacol Res Perspect* 2015;3:00125.
60. Dyson J, Day C. Treatment of non-alcoholic fatty liver disease. *Dig Dis* 2014;32:597-604.
61. Rouabchia S, Milic N, Abenavoli L. Metformin in the treatment of non-alcoholic fatty liver disease: safety, efficacy and mechanism. *Expert Rev Gastroenterol Hepatol* 2014;8:343-349.
62. Zhang X, Harmsen WS, Mettler TA, Kim WR, et al. Continuation of metformin use after a diagnosis of cirrhosis significantly improves survival of patients with diabetes. *Hepatology* 2014;60:2008-2016.
63. Tsochatzis EA, Bosch J, Burroughs AK. Future treatments of cirrhosis. *Expert Rev Gastroenterol Hepatol* 2014;8:571-581.
64. Goto K, Lin W, Zhang L, Jilg N, et al. The AMPK-related kinase SNARK regulates hepatitis C virus replication and pathogenesis through enhancement of TGF- β signaling. *J Hepatol* 2013;59:942-948.
65. Singhal A, Jie L, Kumar P, Hong GS, et al. Metformin as adjunct antituberculosis therapy. *Sci Transl Med* 2014;6:263ra159.
66. Vashisht R, Brahmachari SK. Metformin as a potential combination therapy with existing front-line antibiotics for Tuberculosis. *J Transl Med* 2015;13:83.
67. Pradeep AR, Patnaik K, Nagpal K, Karvekar S, et al. Efficacy of locally-delivered 1% metformin gel in the treatment of intrabony defects in patients with chronic periodontitis: a randomized, controlled clinical trial. *J Investig Clin Dent* 2015;doi: 10.1111.
68. Alves MG, Martins AD, Vaz CV, Correia Set al. Metformin and male reproduction: effects on Sertoli cell metabolism. *Br J Pharmacol* 2014;171:1033-1042.