

DOI: 10.18027/2224-5057-2017-2-83-89

## Применение метформина – целевая метаболическая терапия в онкологии

О.П. Шатова, Д.С. Каплун, И.И. Зинкович

«Донецкий национальный медицинский университет им. М. Горького» (ДонНМУ), Донецк, Украина  
Для корреспонденции: shatova.op@gmail.com

**Резюме:** Общеизвестно широкое применение метформина для лечения сахарного диабета II типа. Однако в многочисленных эпидемиологических исследованиях было показано, что больные, принимавшие метформин, реже болели раком различной локализации и имели лучший прогноз по выживаемости. Многие исследователи считают метформин таргетным метаболическим препаратом, который имеет множество целей: действует на митохондрии, влияет на внутриклеточный сигналинг, блокирует каналы, тормозит образование эндотелиального и тромбоцитарного факторов роста, снижает уровень витаминов, вовлеченных в синтез нуклеотидов и аминокислот и пр. Также установлено, что метформин относится к группе «метабостемных» препаратов, то есть действует на раковые стволовые клетки, блокируя их деление. Нами проведено обзорное исследование, которое освещает важнейшие механизмы и области применения метформина. Изучение применения данного препарата в онкологии позволит понять патогенетические мишени метаболической терапии и профилактики онкопатологий.

**Ключевые слова:** метформин, рак, метилирование, фосфолипиды, раковые стволовые клетки, MAP-киназа, гликолиз, витамин B<sub>12</sub>

### Введение

В недавних исследованиях было показано, что препараты, которые можно использовать для модификации метаболизма опухолей, имеют различные показания к назначению и раньше не имели применения в онкологии. Таким примером может быть использование в онкологии самого распространенного противодиабетического препарата – метформина (диметилбигуанида) [1].

Так, установлено, что метформин сокращает число случаев заболевания раком молочной железы и раком предстательной железы и улучшает выживаемость онкобольных [2]. При проведении метаанализа авторы показали, что метформин снижает риск развития рака легких [3]. Интересно, что метформин превентивует развитие не только рака кишечника, но и уменьшает развитие доброкачественных новообразований толстой кишки [2]. Авторы показали, что метформин уменьшает пролиферацию опухоли в эндометрии [4]. Также описано, что применение метформина снижает заболеваемость раком поджелудочной железы [5]. Примечательно, что авторы указывают на прямую противоопухолевую активность метформина [6], мишенью для которого являются внутриклеточные хлорные каналы в клетках глиобластомы.

Интересно, что бигуаниды оказывают ингибирующее влияние на некоторые ангиогенные белки и, таким образом, являются антиангиогенными препаратами [7]. Так, недавно было доказано, что метформин снижает уровень экспрессии как эндотелиального фактора роста сосудов, так и тромбоцитарного фактора роста, которые являются ключевыми участниками ангиогенеза [8, 9].

### Актуальность

Актуальность применения метформина в метаболической комплексной терапии онкобольных не вызывает сомнения: только за 2015–2017 гг. на интернет-ресурсе PubMed было более 1100 соответствующих публикаций (ключ поиска – «метформин и рак»).

Как известно, одной из самых распространенных патологий в мире является сахарный диабет (СД). Больных СД во всем мире около 347 млн человек, из них 90% страдают СД 2 типа [10]. Самым назначаемым препаратом для данной группы больных является метформин [11]. Кроме этого, установлено, что ожирение, которое сопровождается повышением секреции адипонектина, активацией AKT/mTOR-пути, гиперинсулинемией и гиперэстрогемией, является неблагоприятным фактором в развитии рака [12, 13].

В настоящее время выделилась группа лекарственных препаратов, которые оказывают влияние на метаболизм раковых стволовых клеток (РСК) – *metabostemness*. Это противогрибковый препарат (рапамицин), антибиотик (ресвератрол) и бигуанид (метформин). Данная группа препаратов может перепрограммировать клеточный метаболизм, предотвращая развитие и функцию РСК в опухолевых тканях, а этот эффект, соответственно, приводит к снижению заболеваемости раком и увеличивает продолжительность жизни [14]. Так, скорость энергетического обмена является главной мишенью в управлении поведения РСК, а от их количества и метаболизма зависит опухольная инициация, прогрессия и рецидивирование.

## Гипогликемический эффект метформина

Метформин был применен в практике еще в 50-х годах, в то время препарат носил название «глюкофаг – пожиратель глюкозы». В настоящее время метформин – один из самых назначаемых препаратов. Показаниями для назначения являются: сахарный диабет 2 типа, синдром поликистозных яичников, ожирение и метаболический синдром [15].

Для реализации гипогликемического действия метформин оказывает следующие эффекты [16]:

- 1) ингибирует транскрипцию ключевых генов глюконеогенеза в печени;
- 2) увеличивает захват глюкозы скелетными мышцами;
- 3) снижает уровень циркулирующей глюкозы и усиливает чувствительность к инсулину;
- 4) снижает гиперинсулинемию, связанную с инсулиновой резистентностью;
- 5) увеличивает тирозинкиназную активность инсулинового рецептора и активность ГЛЮТ-4;
- 6) активирует АМФ-зависимую протеинкиназу (АМФ-ПК);
- 7) снижает всасывание глюкозы из кишечника;
- 8) снижает липолиз в адипоцитах [17].

Однако в последнее время в научных публикациях появляется все больше информации о новых мишенях метформина. Некоторые из них проанализированы в данном обзоре.

## Влияние на раковые стволовые клетки

Метформин участвует в перепрограммировании метаболизма в РСК [18], в связи с чем представляет интерес отличие метаболизма стволовых клеток от РСК.

Нами проанализированы уникальные отличия РСК:

1. Клетки подвергаются ассиметричному делению на идентичную РСК и прогениторную клетку, которая способна к дифференцировке и размножению.
2. Мультилинейная дифференцировка, при которой образуются гетерогенные популяции раковых клеток, составляющих опухоль, что обуславливает иерархию клеток в неоплазии.
3. Туморогенность – только РСК способны инициировать малигнизацию, поэтому их называют «клетки-инициации опухолевого роста», с тем чтобы подчеркнуть их онкогенный потенциал.

Следует отметить еще одну важную черту – РСК являются гораздо более химио- и радиорезистентными, чем дифференцированные клетки, которые образуют опухолевую массу, и, таким образом, они ответственны за лекарственную устойчивость и рецидив опухоли [19, 20].

Авторами установлено, что метформин ингибирует клеточную трансформацию и селективно действует на РСК молочной железы [11].

Метформин выражено ингибирует морфологическую трансформацию, инвазивный рост, формирование колоний в агаре и образование маммосфер MCF-10A клеточной линии. Метформин предпочтительно действует на РСК (CD 44 высокая/CD 24 низкая) внутри популяции трансформированных MCF-10A и MCF-7 клеток. Таким образом, данный препарат обладает селективностью в отличие от доксорубина, который не оказывает цитостатического эффекта на РСК. После 15-дневного (3 курса по 5 дней) применения комбинации доксорубина и метформина опухоль была элиминирована, тогда как монотерапия доксорубином уменьшала опухоль вдвое, а монотерапия метформином не имела значительного эффекта. Авторы приходят к выводу, что метформин и доксорубин являются функциональными синергистами [21].

Теория РСК требует новых подходов к терапии и разработке способов доставки лекарственных веществ. Так, авторы предлагают коинкапсулировать в липосомах метформин и эпирубин [22]. В последние два года появилось множество публикаций, в которых обсуждаются способы доставки метформина [17, 19].

Исследователи обсуждают потенциальную роль метформина в модуляции опухоли-ассоциированных или РСК-ассоциированных микроРНК и в развитии, а также прогрессии рака молочной железы и рака поджелудочной железы [23].

## Роль метформина в метилировании

Представляет интерес противоопухолевый эффект при приеме бигуанида метформина. Интересно, что в отличие от других препаратов этой группы сахароснижающих лекарственных средств именно метформин предотвращает развитие опухолей различной локализации. Примечательно, что данный препарат содержит метильные группы, в отличие от фенформина и буформина, и может участвовать в реакциях метилирования.

Так, известно, что важным механизмом в эпигенетической регуляции является метилирование дезоксирибонуклеиновой кислоты (ДНК) и модификация гистоновых белков, а дисрегуляция экспрессии генов является патогенетическим звеном онкогенеза. Авторами показано, что в раковых клетках под воздействием метформина снижается уровень гистонметилтрансферазы [1], данный эффект сказывается на подвижности опухолевых клеток. Другими авторами было высказано предположение, что метформин нарушает метилирование ДНК, модулируя активность S-аденозгомоцистеин гидролазы. Таким образом, в раковых клетках под воздействием метформина оказываются гиперметилированы гены, которые активно вовлечены в метаболизм опухолей [24]. Метилированные зоны ДНК взаимодействуют

с метилцитозин-связывающими белками, что обеспечивает связывание с деацетилазой гистонов, тогда как ацетилирование гистонов – это пусковой этап в транскрипции любых генов.

Ключевым пусковым моментом опухолевого роста является гипометилирование. Напоминаем, что метформин – это метилирующий агент, а из эпидемиологических исследований [25] установлено, что при старении происходят широкомасштабные изменения профилей метилирования. Обычно наибольшее количество метилированных цитозиновых оснований наблюдается в ДНК, выделенной из эмбрионов или новорождённых животных, и это количество постепенно уменьшается с возрастом. Метформин называют анти-возрастным и противоопухолевым препаратом, связывая его роль с метилированием и формированием гетерохроматина [26].

### Влияние на уровень различных мембранных компонентов

Реакции метилирования играют ключевую роль в синтезе фосфолипидов, в том числе фосфотидилхолина, что определяет текучесть клеточных мембран. Текучесть зависит от соотношения фосфотидилхолина и холестерина. Авторами показано, что применение метформина приводит к статистически значимому снижению уровня общего холестерина [27]. Другими авторами детально изучается метаболизм фосфолипидов под влиянием метформина [28]. Так, на клеточной линии рака молочной железы показано снижение фосфотидилхолина под влиянием метформина.

Фосфолипиды играют активную роль в метаболических процессах – они активируют связанные с мембраной ферменты: аденилатциклазу, фосфатидилэтаноламиную метилтрансферазу и цитохромоксидазу.

В литературе встречаются единичные данные о влиянии метформина на фосфолипиды мембран [28, 29]. Однако четко установлено влияние метформина на текучесть мембран, на уровень серина, фолата и кобаламина, на концентрацию метилмалоновой кислоты, S-аденозилметионина (SAM), S-аденозилгомоцистеина (SAH). Исходя из этих данных, мы предполагаем, что снижение концентрации серина и витамина B<sub>12</sub> может быть связано с синтезом фосфатидилхолинов. Регенерация метионина происходит при участии заменимых аминокислот: серина и глицина. Аминокислота серин является первичным донором одноуглеродных фрагментов. Установлено, что применение метформина снижает уровень серина в организме и приводит к усилению противоопухолевого эффекта от бигуанидов [30]. Следует отметить, что для синтеза фосфолипидов необходим как серин, так и метионин.

### Влияние метформина на витамин B<sub>12</sub>

В многоцентровом плацебо-контролируемом исследовании его авторы показали, что длительный прием метформина (4,3 года) увеличивает риск развития гиповитаминоза B<sub>12</sub> (в среднем отмечено снижение витамина B<sub>12</sub> на 19%), что, в свою очередь, приводит к росту концентрации гомоцистеина [31]. Возможно, противоопухолевый эффект связан со снижением витамина B<sub>12</sub> и B<sub>9</sub>, а именно РСК страдают от недостатка этих двух витаминов, которые являются необходимыми для синтеза нуклеотидов и аминокислот.

Исследователи Уиттерского колледжа, изучающие рак, предлагают свою версию возможного механизма цитотоксического влияния метформина на злокачественные опухоли [25]. Согласно этой версии, во первых, назначение метформина приводит к дефициту и фолатов, и витамина B<sub>12</sub> (в сыворотке крови меньше 150 пМ) у 30% больных СД. Во вторых, у больных раком возможен скрытый дефицит B<sub>12</sub> (в активной форме находится только 20% всего сывороточного витамина), т.к. химиотерапия приводит к снижению активной формы витамина B<sub>12</sub>. В третьих, по данным других авторов, анестезия окисью азота также приводит к резкому дефициту B<sub>12</sub>, что сопровождается цитотоксическим эффектом для опухолевых клеток. Авторы считают, что механизм лечебного действия метформина состоит в том, что он вызывает дефицит B<sub>12</sub> [32].

### Влияние метформина на экспрессию генов

Установлено влияние метформина на MiR-26a. Известно, что MiR-26a индуцирует рост клеток, клеточный цикл и прогрессирование клеточного апоптоза с помощью прямого нацеливания Bcl-2, циклина D1 и PTEN в раковых клетках. Лечение метформином ингибирует пролиферацию опухолевых клеток путем увеличения экспрессии MiR-26a в клетках 786-O (p < 0,05), в результате снижается уровень белка Bcl-2 и циклина D1, а PTEN увеличивается в клетках [33].

Применение метформина приводит к снижению экспрессии HER2 [34].

Авторами показано, что метформин ингибирует экспрессию HIF-1-альфа, а также белка, который ассоциирован с полилекарственной резистентностью (multidrug resistance associated protein 1 – MRP1) [35]. Метформин увеличивает miR-193 [32].

Метформин ингибирует эпителиально-мезенхимальную трансформацию (ЭМТ) – снижает мРНК и уровень белков: N-кадгерина (p=0,013), виментина (p=0,002), E-кадгерина (p=0,0023) и бета-катенина (p=0,034) [36]. Авторами показано повышение уровня микроРНК 30a, что, в свою очередь, связано со снижением пролиферации и ЭМТ.

## Метформин как активатор MAP-киназы

Данное противодиабетическое средство подавляет клеточную пролиферацию, останавливает клеточный цикл в G1-фазе, ингибирует митоген-активируемую протеинкиназу (MAP-киназа), серин-треонин протеинкиназу (Akt) и, соответственно, белок-мишень рапамицина у млекопитающих (mTOR). В исследованиях 2011 года показано, что молекулярной целью метформина является именно mTOR [37].

При стимулировании АМФ-ПК специфическими активаторами (а метформин также является активатором этого фермента) происходит подавление опухолевого роста, но только у p53-негативных опухолевых клеток. Обработка метформином усиливает бета-окисление жирных кислот в p53-позитивных опухолях, но не в p53-негативных [20].

Известно, что многие эффекты метформина нельзя объяснить только антигипергликемическими свойствами (подавлением глюконеогенеза в печени и усилением потребления глюкозы тканями). Многие терапевтические эффекты метформина объясняются его активирующим влиянием на АМФ-активируемую протеинкиназу, которая определяет энергетический статус клетки [4, 31]. Действуя на АМФ-ПК, метформин в то же время является ингибитором инициации трансляции [32]. АМФ-ПК – это центральный метаболический сенсор обмена глюкозы, холестерина и липидов [3].

Активность фермента АМФ-ПК регулирует важный с биохимической точки зрения белок LKB1 (серин/треонин протеинкиназа), известный как супрессор опухолевого роста. Утрата функции данного белка способствует формированию доброкачественных опухолей (гамартром) и некоторых типов рака легких и толстой кишки. Для большинства таких опухолей характерны высокие уровни нерегулируемой активности белка mTOR. Механизм LKB1/АМФ-киназа обеспечивает молекулярную взаимосвязь СД и рака. Таким образом, метформин активизирует АМФ-ПК [33] и воздействует на LKB1-зависимый канцерогенез.

## Влияние метформина на энергетический обмен

В гипоксических условиях метформин в комбинации с цисплатином оказывает антипролиферативный эффект и приводит как к структурным, так и функциональным изменениям в митохондриях [25].

Авторы высказывают следующее предположение: противоопухолевая активность метформина связана с тем, что он ингибирует окислительное фосфорилирование. Так, установлено, что метформин прямо ингибирует первый дыхательный комплекс [38].

Описано, что метформин ингибирует фермент гликолиза – гексокиназу-2, перенос электронов в дыхательной цепи и синтез АТФ [36]. В недавних исследованиях показано, что метформин реализует свой противоопухолевый

эффект через гликолиз и пентозо-фосфатный путь, снижая уровень НАДФН [39]. Скорее всего окажется, что метформин реализует свое противоопухолевое действие через эффект Варбурга/Кребтра.

Кроме всего, другие авторы показали, что метформин неконкурентно ингибирует креатинкиназу [40]. Данный фермент также является ключевым регулятором внутриклеточного соотношения АТФ/АДФ.

## Влияние метформина на иммунитет

Метформин снижает секрецию ИЛ-22 (таким образом, снижается STAT3 фосфорилирование) и гиперэкспрессию генов Bcl-2 и циклина D1 [41].

Авторы предполагают, что метформин обладает противоопухолевым эффектом, влияя именно на иммунную систему [30, 31, 35]. Возможно, это подтверждает высказанное нами предположение о том, что метформин косвенно, через лактат, влияет на концентрацию аденозина и функциональную активность лимфоцитов [10]. Кроме этого, установлено, что метаболической основой иммунного ответа является стимуляция гликолиза [30, 31, 42]. Другие авторы предполагают, что метформин оказывает свое противоопухолевое действие не только через влияние на иммунную систему, но и через гормональный и метаболический уровень регуляции [30, 31]. В исследовании метформин стимулировал фактор некроза опухоли-α, ингибировал ИЛ-8 и уменьшал развитие воспаления в толстой кишке [31, 43].

Авторы предлагают использовать метформин как препарат для лечения аутоиммунных воспалительных заболеваний. Метформин оказывает противовоспалительное действие: ингибирует Th17-клеточную дифференцировку и увеличивает уровень Т-регуляторных клеток [31].

## Влияние метформина на внутриклеточные каналы

Установлено, что метформин подавляет ток хлора в зависимости от функциональной активности хлорного внутриклеточного канала 1 (CLIC1). Ионный канал CLIC1 преимущественно активен в течение G1-S-фазы клеточного цикла [6]. Хлорные каналы (CLIC) могут быть активированы внеклеточными лигандами, внутриклеточными ионами Ca, цАМФ, G-белками, механическим растяжением и потенциалом.

Опухолевые клетки, достоверно экспрессирующие органический катионный транспортер 1 (ОКТ 1) [36], имеют низкий противоопухолевый эффект от метформина. Метформин может увеличивать экспрессию гена ОКТ 1 (через данный канал метформин проникает в клетки), и это – новая мишень для противоопухолевых препаратов, которые будут синтезированы в скором будущем.

## Информация об авторах

**Ольга П. Шатова**, к.м.н., заведующая кафедрой биологической химии, e-mail: shatova.op@gmail.com

**Дарья С. Каплун**, аспирант кафедры биологической химии, e-mail: kaplun.dascha@gmail.com

**Игорь И. Зинкович**, д.м.н., первый проректор, профессор кафедры биологической химии, e-mail: zii@dnmu.ru

**DOI:** 10.18027/2224-5057-2017-2-83-89

**For citation:** Shatova O. P., Kaplun D. S., Zinkovych I. I. Using of metformin is a target metabolic therapy in oncology. *Malignant Tumours* 2017; 2: 83–89. (In Russ.)

# Using of metformin is a target metabolic therapy in oncology

**O. P. Shatova, D. S. Kaplun, I. I. Zinkovych**

M. Gorky Donetsk National Medical University, Donetsk, Ukraine  
For correspondence: shatova.op@gmail.com

**Abstract:** It is well known that metformin is widely used for the treatment of type II diabetes mellitus. However, in numerous epidemiological studies it was shown that patients taking metformin were less likely to have cancer of different localization and had better survival prognosis. Many researchers consider metformin to be a targeted metabolic drug that has many goals: it acts on mitochondria, affects intracellular signaling, blocks channels, inhibits the formation of endothelial and platelet growth factors, reduces the level of vitamins involved in the synthesis of nucleotides and amino acids, etc. It has also been established that metformin belongs to the group of “metabostemness” drugs, that is, it acts on cancer stem cells, blocking their division. We conducted a survey study that highlights the most important mechanisms and fields of application of metformin. The study of the use of this drug in oncology will make it possible to understand the pathogenetic targets of metabolic therapy and the prevention of cancer.

**Keywords:** metformin, cancer, methylation, phospholipids, cancer stem cells, MAP-kinase, glycolysis, vitamin B<sub>12</sub>

## Information about the authors

**Olga P. Shatova**, MD, PhD, Head of the Biological Chemistry Department, e-mail: shatova.op@gmail.com

**Darya S. Kaplun**, Postgraduate at the Biological Chemistry Department, e-mail: kaplun.dascha@gmail.com

**Igor I. Zinkovych**, MD, PhD, DSc, Professor at the Biological Chemistry Department, e-mail: zii@gmail.com

## Литература • References

1. Yu T., Wang C., Yang J., Guo Y., Wu Y., Li X. Metformin inhibits SUV39H1-mediated migration of prostate cancer cells, *Oncogenesis*, 2017, Vol. 6, No. 5, p. e324.
2. Cho Y. H., Ko B. M., Kim S. H., Myung Y. S., Choi J. H., Han J. P. et al. Does metformin affect the incidence of colonic polyps and adenomas in patients with type 2 diabetes mellitus? *Intest. Res.*, 2014, Vol. 12, No. 2, pp. 139–145.
3. Hense H. W., Geier A. S. Re: “reduced risk of lung cancer with metformin therapy in diabetic patients: a systematic review and meta-analysis”, *Am. J. Epidemiol.*, 2014, Vol. 180, No. 11, pp. 1130–1131.
4. Schuler K. M., Rambally B. S., DiFurio M. J., Sampey B. P., Gehrig P. A., Makowski L. et al. Antiproliferative and metabolic effects of metformin in a preoperative window clinical trial for endometrial cancer, *Cancer Med.*, 2015, Vol. 4, No. 2, pp. 161–173.
5. Gong J., Robbins L. A., Lugea A., Waldron R. T., Jeon C. Y., Pandolfi S. J. Diabetes, pancreatic cancer, and metformin therapy, *Front. Physiol.*, 2014, Vol. 5, p. 426.
6. Gritti M., Wurth R., Angelini M., Barbieri F., Peretti M., Pizzi E. et al. Metformin repositioning as antitumoral agent: selective antiproliferative effects in human glioblastoma stem cells, via inhibition of CLIC1-mediated ion current, *Oncotarget*, 2014, Vol. 5, No. 22, pp. 11252–11268.

7. Dagan M., Dufay W.A., d'Hayer B., Boudy V. Metformin: An anti-diabetic drug to fight cancer, *Pharmacol. Res.*, 2016, Vol. 113 (Pt. A), pp. 675–685.
8. Falah R.R., Talib W.H., Shbailat S.J. Combination of metformin and curcumin targets breast cancer in mice by angiogenesis inhibition, immune system modulation and induction of p53 independent apoptosis, *Ther. Adv. Med. Oncol.*, 2017, Vol. 9, No. 4, pp. 235–252.
9. Abo-Elmatty D.M., Ahmed E.A., Tawfik M.K., Helmy S.A. Metformin enhancing the antitumor efficacy of carboplatin against Ehrlich solid carcinoma grown in diabetic mice: Effect on IGF-1 and tumoral expression of IGF-1 receptors, *Int. Immunopharmacol.*, 2017, Vol. 44, pp. 72–86.
10. Shatova O.P., Butenko E.V., Khomutov E.V., Kaplun D.S., Sedakov I.E., Zinkovych I.I. Metformin impact on purine metabolism in breast cancer, *Biomed. Khim.*, 2016, Vol. 62, No. 3, pp. 302–305.
11. Janzer A., German N.J., Gonzalez-Herrera K.N., Asara J.M., Haigis M.C., Struhl K. Metformin and phenformin deplete tricarboxylic acid cycle and glycolytic intermediates during cell transformation and NTPs in cancer stem cells, *Proc. Natl. Acad. Sci., USA*, 2014, Vol. 111, No. 29, pp. 10574–10579.
12. Fuentes-Mattei E., Velazquez-Torres G., Phan L., Zhang F., Chou P.C., Shin J.H. et al. Effects of obesity on transcriptomic changes and cancer hallmarks in estrogen receptor-positive breast cancer, *J. Natl. Cancer Inst.*, 2014, Vol. 106, No. 7.
13. Kolb R., Phan L., Borcherdig N., Liu Y., Yuan F., Janowski A.M. et al. Obesity-associated NLRC4 inflammasome activation drives breast cancer progression, *Nat. Commun.*, 2016, Vol. 7: 13007.
14. Menendez J.A., Joven J. Energy metabolism and metabolic sensors in stem cells: the metabostem crossroads of aging and cancer, *Adv. Exp. Med. Biol.*, 2014, No. 824, pp. 117–140.
15. Kourelis T.V., Siegel R.D. Metformin and cancer: new applications for an old drug, *Med. Oncol.*, 2012, Vol. 29, No. 2, pp. 1314–1327.
16. Damjanovic A., Matic I.Z., Ethordic M., Ethurovic M.N., Nikolic S., Roki K. et al. Metformin effects on malignant cells and healthy PBMC; the influence of metformin on the phenotype of breast cancer cells, *Pathol. Oncol. Res.*, 2015, Vol. 21, No. 3, pp. 605–612.
17. Snima K.S., Pillai P., Cherian A.M., Nair S.V., Lakshmanan V.K. Anti-diabetic drug metformin: challenges and perspectives for cancer therapy, *Curr. Cancer Drug Targets*, 2014, Vol. 14, No. 8, pp. 727–736.
18. Pulito C., Donzelli S., Muti P., Puzzo L., Strano S., Blandino G. MicroRNAs and cancer metabolism reprogramming: the paradigm of metformin, *Ann. Transl. Med.*, 2014, Vol. 2, No. 6, p. 58.
19. Snima K.S., Jayakumar R., Unnikrishnan A.G., Nair S.V., Lakshmanan V.K. O-carboxymethyl chitosan nanoparticles for metformin delivery to pancreatic cancer cells, *Carbohydr. Polym.*, 2012, Vol. 89, No. 3, pp. 1003–1007.
20. Wurth R., Barbieri F., Florio T. New molecules and old drugs as emerging approaches to selectively target human glioblastoma cancer stem cells, *Biomed. Res. Int.*, 2014, Vol. 2014, 126586.
21. Zhao D., Long X.D., Lu T.F., Wang T., Zhang W.W., Liu Y.X. et al. Metformin decreases IL-22 secretion to suppress tumor growth in an orthotopic mouse model of hepatocellular carcinoma, *Int. J. Cancer*, 2015, Vol. 136, No. 11, pp. 2556–2565.
22. Zhang J., Shen C., Wang L., Ma Q., Xia P., Qi M. et al. Metformin inhibits epithelial-mesenchymal transition in prostate cancer cells: involvement of the tumor suppressor miR30a and its target gene SOX4, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 2014, Vol. 452, No. 3, pp. 746–752.
23. Bao B., Azmi A.S., Ali S., Zaiem F., Sarkar F.H. Metformin may function as anti-cancer agent via targeting cancer stem cells: the potential biological significance of tumor-associated miRNAs in breast and pancreatic cancers, *Ann. Transl. Med.*, 2014, Vol. 2, No. 6, p. 59.
24. Zhong T., Men Y., Lu L., Geng T., Zhou J., Mitsuhashi A. et al. Metformin alters DNA methylation genome-wide via the H19/SAHH axis, *Oncogene*, 2017, Vol. 36, No. 17, pp. 2345–2354.
25. Uehara T., Mitsuhashi A., Tsuruoka N., Shozu M. Metformin potentiates the anticancer effects of cisplatin under normoxic conditions in vitro, *Oncol. Rep.*, 2015, Vol. 33, No. 2, pp. 744–750.
26. Baranov V.S., Glotov O.S., Baranova E.V. Genetic and epigenetic news in gerontology, *Adv. Gerontol.*, 2014, Vol. 27, No. 2, pp. 247–256.
27. Liu C., Zeng X., Li Y., Ma H., Song J., Li Y. et al. Investigation of hypoglycemic, hypolipidemic and antinephritic activities of *Paecilomyces tenuipes* N45 in diet/streptozotocin-induced diabetic rats, *Mol. Med. Rep.*, 2017, Vol. 15, No. 5, pp. 2807–2813.
28. Smith T.A., Phyu S.M. Metformin Decouples Phospholipid Metabolism in Breast Cancer Cells, *PLoS One*, 2016, Vol. 11, No. 3, e0151179.
29. Huang Y., Fu J.F., Shi H.B., Liu L.R. Metformin prevents non-alcoholic fatty liver disease in rats: role of phospholipase A2/lysophosphatidylcholine lipopapoptosis pathway in hepatocytes, *Zhonghua Er Ke Za Zhi*, 2011, Vol. 49, No. 2, pp. 139–145.

30. Luengo A., Sullivan L. B., Heiden M. G. Understanding the complex-l-ty of metformin action: limiting mitochondrial respiration to improve cancer therapy, *BMC Biol.*, 2014, Vol. 12, p. 82.
31. Son H. J., Lee J., Lee S. Y., Kim E. K., Park M. J., Kim K. W. et al. Metformin attenuates experimental autoimmune arthritis through reciprocal regulation of Th17/Treg balance and osteoclastogenesis, *Mediators Inflamm.*, 2014, Vol. 2014, p. 973986.
32. Wahdan-Alaswad R. S., Cochrane D. R., Spoelstra N. S., Howe E. N., Edgerton S. M., Anderson S. M. et al. Metformin-induced killing of triple-negative breast cancer cells is mediated by reduction in fatty acid synthase via miRNA-193b6 *Horm. Cancer*, 2014, Vol. 5, No. 6, pp. 374–389.
33. Yang Q., Zhang T., Wang C., Jiao J., Li J., Deng Y. Coencapsulation of epirubicin and metformin in PEGylated liposomes inhibits the recurrence of murine sarcoma S180 existing CD133+ cancer stem-like cells, *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, 2014, Vol. 88, No. 3, pp. 737–745.
34. Damjanovic A., Matic I. Z., Ethordic M., Ethurovic M. N., Nikolic S., Roki K. et al. Metformin effects on malignant cells and healthy PBMC; the influence of metformin on the phenotype of breast cancer cells, *Pathol. Oncol. Res.*, 2015, Vo. 21, No. 3, pp. 605–612.
35. Ling S., Tian Y., Zhang H., Jia K., Feng T., Sun D. et al. Metformin reverses multidrug resistance in human hepatocellular carcinoma Bel7402/5fluorouracil cells. *Mol. Med. Rep.*, 2014, Vol. 10, No. 6, pp. 2891–2897.
36. Salani B., Del R.A., Marini C., Sambuceti G., Cordera R., Maggi D. Metformin, cancer and glucose metabolism, *Endocr. Relat. Cancer*, 2014, Vol. 21, No. 6, pp. R461–R471.
37. Fontaine E. Metformin and respiratory chain complex I: the last piece of the puzzle? *Biochem. J.*, 2014, Vol. 463, No. 3, pp. e3–e5.
38. Troncone M., Cargnelli S. M., Villani L. A., Isfahanian N., Broadfield L. A., Zychla L. et al. Targeting metabolism and AMP-activated kinase with metformin to sensitize non-small cell lung cancer (NSCLC) to cytotoxic therapy; translational biology and rationale for current clinical trials, *Oncotarget*, 2017, Apr 27.
39. Marini C., Ravera S., Buschiazzo A., Bianchi G., Orengo A. M., Bruno S. et al. Discovery of a novel glucose metabolism in cancer: The role of endoplasmic reticulum beyond glycolysis and pentose phosphate shunt, *Sci. Rep.*, 2016, No. 6, 25092.
40. Garbati P., Ravera S., Scarfi S., Salis A., Rosano C., Poggi A. et al. Effects on Energy Metabolism of Two Guanidine Molecules, (Boc) 2-Creatine and Metformin, *J. Cell Biochem.*, 2017.
41. Zhao D., Long X. D., Lu T. F., Wang T., Zhang W. W., Liu Y. X. et al. Metformin decreases IL-22 secretion to suppress tumor growth in an orthotopic mouse model of hepatocellular carcinoma, *Int. J. Cancer*, 2015, Vol. 136, No. 11, pp. 2556–2565.
42. Cheng J., Huang T., Li Y., Guo Y., Zhu Y., Wang Q. et al. AMP-activated protein kinase suppresses the in vitro and in vivo proliferation of hepatocellular carcinoma, *PLoS One*, 2014, Vol. 9, No. 4, e93256.
43. Koh S. J., Kim J. M., Kim I. K., Ko S. H., Kim J. S. Anti-inflammatory mechanism of metformin and its effects in intestinal inflammation and colitis-associated colon cancer, *J. Gastroenterol. Hepatol.*, 2014, Vol. 29, No. 3, pp. 502–510.