Original Article

The Cytotoxic Effect of Metformin on Cervical Cancer (Hela) Cells in Comparison with Non-Cancerous Kidney Cells

Zahra Gholamhosseyni[1], Rahim Ahmadi[1*], Yeganeh Hamidi[2]

[1]*Department of Physiology, Faculty of Basic Sciences, Hamadan Branch, Islamic Azad University, Hamadan, Iran.*

[2]*Department of Biology, Faculty of Basic Sciences, East Tehran Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.*

[*]***Corresponding Author:***
Rahim Ahmadi;
Department of Physiology, Faculty of Basic Sciences, Hamadan Branch, Islamic Azad University, Hamadan, Iran.

Email:
rahahmadi2001@yahoo.com

Received: 28 Jul, 2018
Accepted: 28 Aug, 2018

Abstract

Background and Objectives: Studies have shown that antidiabetic drugs can inhibit cancer cells proliferation. The aim of this study was to investigate the cytotoxic effects of metformin on cervical **c**ancer (Hela) cells in comparison with non-cancerous kidney cells (Hek293).

Methods: In this laboratory experimental study, Hela and Hek293 cells were purchased from Pasteur Institute Cell Bank and divided into group receiving metformin (at doses of 0.001, 0.01, 0.1, 1, and 10mg/ml) and control group. Cytotoxic effect of metformin on cell line, was measured using MTT assay method. Data were analyzed using one-way ANOVA.

Results: Exposure of Hela cells to 0.01, 0.1, 1, and 10mg/ml of metformin resulted in significant decrease in cell viability compared to the control group, however, exposure of Hek293 cells to metformin concentrations did not significantly change cell viability.

Conclusion: The results of this study indicated that exposure to metformin can reduce viability of cervical cancer cells but had no significant cytotoxic effects on non-cancerous cells. Accordingly, use of metformin should be considered for treatment and prevention of cervical cancer.

Keywords: Metformin; Cell survival; Hela cells; Hek293 cells.

مجله دانشگاه علوم پزشکی قم
دوره دوازدهم، شماره دهم، دی ۹۷
صفحه ۹ الی ۱۵

مقاله پژوهشی
(Original Article)

تأثیر سیتوتوکسیک متفورمین بر سلول‌های سرطانی دهانه رحم در مقایسه با سلول‌های غیرسرطانی کلیوی

زهرا غلامحسینی[۱]، رحیم احمدی[۱*]، یگانه حمیدی[۲]

[۱]گروه فیزیولوژی، دانشکده علوم پایه، واحد همدان، دانشگاه آزاد اسلامی، همدان، ایران.

[۲]گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، واحد تهران شرق، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.

[*]نویسنده مسئول مکاتبات:
رحیم احمدی؛ گروه فیزیولوژی، دانشکده علوم پایه، واحد همدان، دانشگاه آزاد اسلامی، همدان، ایران.

آدرس پست الکترونیکی:
rahahmadi2001@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۹۷/۵/۶
تاریخ پذیرش:۹۷/۶/۶

چکیده

زمینه و هدف: مطالعات نشان داده‌اند داروهای ضددیابتی می‌توانند باعث مهار تکثیر سلول‌های سرطانی شوند. این مطالعه با هدف بررسی اثرات سیتوتوکسیک متفورمین بر سلول‌های سرطان دهانه رحم (Hela) در مقایسه با سلول‌های غیرسرطانی کلیوی (Hek293) انجام شد.

روش بررسی: در این مطالعه تجربی - آزمایشگاهی، سلوهای سرطانی Hela و سلول‌های غیرسرطانی کلیوی Hek293، از بانک سلولی انستیتو پاستور تهیه و به گروه‌های دریافت‌کننده متفورمین (با دوزهای ۰/۰۰۱، ۰/۰۱، ۰/۱ ، ۱ و ۱۰ میلی‌گرم برمیلی‌لیتر) و گروه شاهد تقسیم شدند. با استفاده از تست MTT، سیتوتوکسیک متفورمین بر رده سلولی مورد سنجش قرار گرفت. داده‌ها به کمک روش آماری آنالیز واریانس یک‌طرفه تجزیه و تحلیل شدند.

یافته‌ها: در مقایسه با گروه شاهد، مواجهه با سلول‌های Hela در غلظت‌های ۰/۰۱، ۰/۱، ۱ و ۱۰ میلی‌گرم برمیلی‌لیتر متفورمین سبب کاهش معنی‌دار زنده‌مانی شد، ولی مواجهه سلول‌های Hek293 با غلظت‌های متفورمین، تغییر معنی‌داری در زنده‌مانی این سلول‌ها ایجاد نکرد.

نتیجه‌گیری: نتایج این تحقیق نشان داد مواجهه با متفورمین می‌تواند سبب کاهش زنده‌مانی سلول‌های سرطان دهانه رحم شود، اما سیتوتوکسیک اثر قابل‌توجهی بر سلول‌های غیرسرطانی ندارد. بر این اساس، استفاده از متفورمین در درمان و پیشگیری از سرطان دهانه رحم باید مورد توجه قرار گیرد.

کلید واژه‌ها: متفورمین؛ بقای سلول؛ سلول‌های Hela؛ سلول‌های Hek293.

لطفاً به این مقاله به‌صورت زیر استناد نمایید:

Gholamhosseyni Z, Ahmadi R, Hamidi Y. The cytotoxic effect of metformin on cervical cancer (Hela) cells in comparison with Non-Cancerous kidney cells. Qom Univ Med Sci J 2018;12(10):9-15. [Full Text in Persian]

International License Creative Commons Attribution License 4.0

مقدمه

سرطان دهانه رحم، سرطان ناشی از گردن رحم بوده که بر اثر رشد و تکثیر غیرمنظم سلول‌های بافت رحم ایجاد می‌شود (۱). این سرطان می‌تواند ناشی از عوامل مختلفی؛ ازجمله ویروس پاپیلوما انسانی، مصرف دخانیات و ضعف سیستم ایمنی باشد. در سراسر دنیا، سرطان دهانه رحم به‌عنوان دومین سرطان شایع در زنان و بیشترین عامل مرگ‌ومیر در آنان شناخته شده است (۲). سرطان دهانه رحم در کشورهای در حال توسعه، بروز و شیوع قابل‌توجه‌ای دارد (۳). داروی متفورمین به‌عنوان اولین دارو برای درمان دیابت نوع ۲، در سال ۱۹۲۲ کشف و با نام تجاری گلوکوفاژ در دسترس بیماران قرار گرفت (۴). همچنین از این دارو در درمان سندرم پلی‌کیستیک نیز استفاده می‌شود (۵).

رده سلولی Hela یک نوع سلول سرطانی است که در سال ۱۹۵۱ از بیمار مبتلا به کارسینوم دهانه رحم جدا شد. سلول‌های Hela، اولین سلول‌های انسانی بودند که در مطالعات آزمایشگاهی، به‌ویژه در تحقیقات ویروسی، سرطانی و ژنتیک درخصوص بررسی اثر عوامل مختلف بر سلول‌های سرطانی دهانه رحم مورد استفاده قرار گرفتند (۶). در رابطه با تأثیر داروها بر انواع سرطان‌ها، مطالعات نشان داده‌اند داروهای شیمیایی می‌توانند اثرات درمانی داشته باشند. در این راستا، پژوهش‌های متعددی درپی یافتن داروهای جدید و یا ارتباط بین داروهای پرکاربرد با سرطان انجام شده است (۷). درخصوص درمان سرطان دهانه رحم، داروهای شیمیایی متعددی طی سال‌های متمادی مورد استفاده قرار گرفته است (۸)؛ اگرچه هنوز هم مصرف این داروها از محدودیت‌های قابل‌ملاحظه‌ای برخوردار می‌باشد. از طرفی، بررسی‌ها نشان می‌دهند داروهای ضددیابت یک گروه مهم از داروهای مورد مصرف در سرتاسر جهان هستند (۹). از میان آنها، متفورمین یکی از مهم‌ترین داروهای ضددیابت بوده که می‌تواند به عنوان داروی ضدسرطان نیز مطرح باشد (۱۰). درمقابل، برخی تحقیقات نشانگر آن است که بین متفورمین و تکثیر سلول‌های سرطانی، به‌ویژه سلول‌های سرطانی گردن رحم، ارتباط معنی‌داری وجود ندارد (۱۲،۱۱).

در مجموع، با توجه به شیوع و گستردگی سرطان دهانه رحم در جهان (۱۴،۱۳) و ایران، همچنین با توجه به عوارض متعدد اقتصادی، اجتماعی، روان‌شناختی و بالینی حاصل از ابتلا به سرطان دهانه رحم در مبتلایان (۱۵) و از سویی، با توجه به‌وجود نتایج ضد و نقیض در مطالعات پیشین درخصوص موضوع این پژوهش (۱۸-۱۶)،(۱۲،۱۱)، همچنین محدودیت مطالعات پیشین در حوزه این تحقیق؛ در پژوهش حاضر به بررسی اثرات سیتوتوکسیک متفورمین بر سلول‌های سرطان دهانه رحم (Hela) در مقایسه با سلول‌های غیرسرطانی کلیوی (Hek293) پرداخته شد. نتایج این پژوهش می‌تواند به‌عنوان مبنایی جهت تبیین ارتباط بین داروی متفورمین و سرطان دهانه رحم مورد توجه قرار گیرد.

روش بررسی

در این مطالعه تجربی - آزمایشگاهی، سلول‌های سرطانی دهانه رحم (Hela) و سلول‌های غیرسرطانی کلیوی (Hek 293) از بانک سلولی انستیتو پاستور ایران تهیه گردید. سلول‌ها به دو گروه شاهد (عدم مواجهه با دارو) و گروه‌های دریافت‌کننده متفورمین (با دوزهای ۰/۰۰۱، ۰/۰۱، ۰/۱، ۱ و ۱۰ میلی‌گرم برمیلی‌لیتر) تقسیم شدند. داروی متفورمین به‌صورت پودر خالص از شرکت دارویی فارماشیمی تهیه و متعاقباً در حلال PBS حل شد، سپس با استفاده از فیلتر سرسرنگی، محلول به‌دست‌آمده استریل گردید و غلظت‌های مورد نظر به روش سریالی تهیه شدند. در ادامه، جهت بررسی اثر سیتوتوکسیک دارو بر سلول‌های مورد نظر، از روش سنجش MTT استفاده گردید. در این راستا، با توجه به محیط کشت کافی برای سلول‌ها، همچنین در نظر گرفتن حداقل ۶ بار تکرار، دوزهای مختلف دارو به چاهک‌های حاوی سلول‌ها اضافه و پلیت‌ها درون انکوباتور به مدت ۲۴ ساعت نگهداری شدند. درپی سپری شدن زمان مورد نظر، مایع موجود از پلیت تخلیه شد و رنگ MTT اضافه گردید. متعاقباً ۶-۴ ساعت پس از افزودن رنگ، محلول MTT تخلیه و ماده DMSO افزوده شد و پس از حل شدن کامل، میزان جذب نوری محلول‌ها با استفاده از طول‌موج‌های ۵۷۰ و ۶۳۰ نانومتر خوانده شد و متعاقباً براساس جذب نوری نمونه‌ها، درصد زنده‌مانی سلول‌ها در هرگروه محاسبه گردید. داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۸، آزمون کولموگروف - اسمیرونف (جهت توزیع طبیعی داده‌ها)، آزمون آماری آنالیز واریانس یک‌طرفه (برای مقایسه گروه‌ها) و

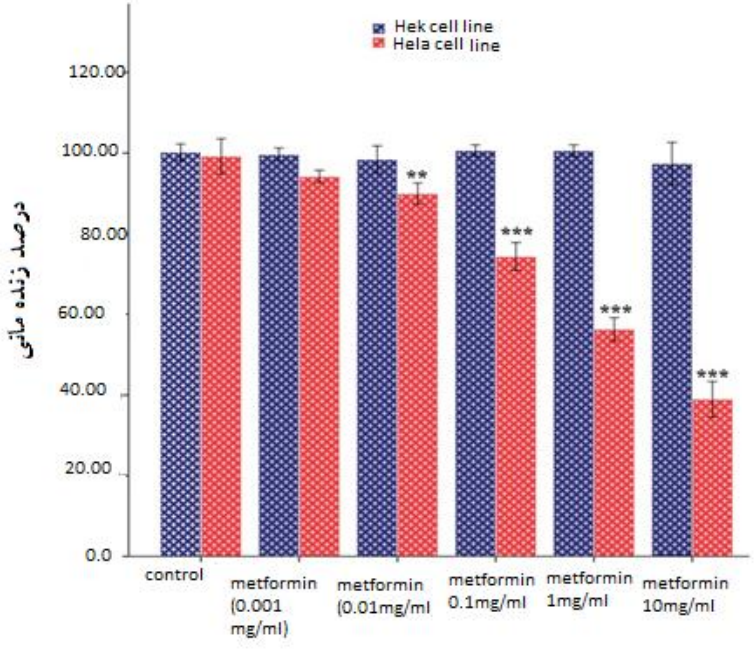
International License Creative Commons Attribution License 4.0

آزمون تعقیبی توکی تجزیه و تحلیل شدند. سطح معنی‌داری اختلاف بین گروه‌ها، α<۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

در این مطالعه طبق نمودار، کاهش معنی‌دار زنده‌مانی سلول‌های سرطانی دهانه رحم در گروه‌های مواجهه با متفورمین (غلظت‌های ۰/۰۱، ۰/۱، ۱ و ۱۰ میلی‌گرم برمیلی‌لیتر) نسبت به گروه کنترل مشاهده گردید (P<۰/۰۱)؛ درحالی‌که زنده‌مانی سلول‌های سرطانی دهانه رحم در گروه مواجهه با متفورمین (غلظت ۰/۰۰۱ میلی‌گرم برمیلی‌لیتر) نسبت به گروه کنترل دچار تغییر معنی‌داری نشد.

از سویی، زنده‌مانی سلول‌های سرطان دهانه رحم در گروه‌های مواجهه با داروی متفورمین (غلظت‌های ۰/۱، ۱، ۱۰ میلی‌گرم برمیلی‌لیتر) نسبت به همه گروه‌های دیگر دارای تفاوت معنی‌داری بود (P< ۰/۰۰۱). همچنین سلول‌های نرمال کلیوی (Hek) در مواجهه با داروی متفورمین (در غلظت‌های ۰/۰۰۱، ۰/۰۱، ۰/۱، ۱ و ۱۰ میلی‌گرم برمیلی‌لیتر) نسبت به گروه کنترل دچار تغییر معنی‌داری نشد.



نمودار: بررسی مقایسه‌ای داده‌های حاصل از اثرات سیتوتوکسیک داروی متفورمین بر سلول‌های سرطانی دهانه رحم (Hela) و سلول‌های نرمال کلیوی (Hek۲۹۳) در گروه‌های کنترل و دریافت‌کننده داروی متفورمین (با دوزهای ۰/۰۰۱، ۰/۰۱، ۰/۱، ۱ و ۱۰ میلی‌گرم برمیلی‌لیتر).
**** و *** به ترتیب بیانگر اختلاف معنی‌دار در مقایسه با گروه کنترل در P<۰/۰۱ و P< ۰/۰۰۱ می‌باشد.**

بحث

نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد مواجهه با متفورمین می‌تواند سبب کاهش زنده‌مانی سلول‌های سرطان دهانه رحم شود، اما اثر سیتوتوکسیک قابل‌توجهی بر سلول‌های غیرسرطانی نداشته باشد. همسو با این یافته، مطالعات دیگر نیز نشان داده‌اند داروهای ضددیابتی، به‌ویژه متفورمین می‌تواند موجب کاهش سرطان‌های تولیدمثلی و گردن دهانه رحم شود (۱۹، ۲۰).

در این راستا طبق نتایج، متفورمین مانع از اثرات پرولیفراتیو و پروآنژیوژنز وابسته به فاکتور رشد عصب در برخی سلول‌های سرطانی می‌شود (۲۱). همچنین این دارو می‌تواند به‌عنوان یک داروی ضدسرطانی مهم در درمان سرطان تخمدان مورد توجه قرار گیرد (۲۲). در دیگر تحقیقات نیز مشخص شده است متفورمین به‌صورت سینرژیک مانع از تکثیر و اثرات ضداتوفاژی استروژن در سلول‌های سرطانی اندومتر می‌شود (۲۳).

International License Creative Commons Attribution License 4.0

ترکیب متفورمین و نلفینوآیر با اثرات سینرژیک می‌تواند سبب مهار رشد سلول‌های سرطانی دهانه رحم گردد (۲۴). از طرفی، اثر مهاری متفورمین بر سلول‌های سرطانی ممکن است از طریق القای آپوپتوز اعمال شود (۲۶،۲۵). تحقیقات نشان می‌دهند دوز تجمعی متفورمین پس از تشخیص سرطان دهانه رحم در زنان مسن دیابتی، ممکن است با کاهش قابل‌توجه مرگ‌ومیر نیز همراه باشد (۲۷). در سال‌های اخیر گزارش شده است متفورمین می‌تواند باعث کاهش خطر سرطان‌زایی و مهار رشد سلول‌های سرطانی پستان شود (۲۸). همچنین ارتباط قابل‌توجهی بین داروهای ضددیابتی و مهار برخی سرطان‌ها وجود دارد (۲۹). برخی مطالعات نشان می‌دهند داروهای ضددیابتی احتمالاً اثر قابل‌توجهی در درمان سرطان‌های تولیدمثلی یا سرطان دهانه رحم ندارند که این نتایج با یافته‌های مطالعه حاضر همخوانی نداشت. در این راستا، در تحقیقات دیگر مشخص شده است متفورمین اثر درمانی قابل‌ملاحظه‌ای بر سرطان دهانه رحم ندارد (۳۰)، همچنین متفورمین هیچ‌گونه اثر مهاری بر پیشرفت تومورهای سینه (۳۱)، و کارآیی لازم جهت کاهش تکثیر سلول‌های سرطانی اندومتر نمی‌گذارد (۳۲).

از نظر تبیین مکانیسم احتمالی اثر سیتوتوکسیک متفورمین بر سلول‌های سرطان دهانه رحم، از آنجا که اثرات سیتوتوکسیک عوامل مختلف در سلول‌های سرطانی عمدتاً ناشی از القای آپوپتوز و نکروز در سلول‌های سرطانی است؛ لذا بر این اساس و با توجه به مطالعات پیشین، به‌نظر می‌رسد در مطالعه حاضر متفورمین در دوزهای مناسب سبب آپوپتوز و یا نکروز در سلول‌های سرطانی دهانه رحم شده، اما اثر آپوپتوزی و یا القای نکروز در سلول‌های غیرسرطانی نداشته است. در این راستا، تحقیقات پیشین نیز نشان داده‌اند متفورمین می‌تواند سبب القای آپوپتوز یا نکروز در سلول‌های سرطانی گردد (۳۷-۳۳)؛ اگرچه جهت بررسی دقیق تأثیر متفورمین بر سرطان دهانه رحم در سطح سلولی و مولکولی، نیاز به تحقیقات گسترده‌تری است.

نتیجه‌گیری

نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد مواجهه با دوزهای مناسب متفورمین می‌تواند سبب کاهش زنده‌مانی سلول‌های سرطان دهانه رحم شود، اما اثر سیتوتوکسیک قابل‌توجهی بر سلول‌های غیرسرطانی نداشته باشد؛ بر این اساس، استفاده از متفورمین می‌تواند در درمان و پیشگیری از سرطان دهانه رحم مورد توجه قرار گیرد.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله از کمک و مساعدت همه کسانی‌که در اجرای این پژوهش ما را یاری کردند، تقدیر و تشکر به عمل می‌آید.

References:

1. Smith JS, Green J, De Gonzalez AB, Appleby P, Peto J, Plummer M, et al. Cervical cancer and use of hormonal contraceptives: A systematic review. Lancet 2003;361(9364):1159-67. PubMed

2. Olorunfemi G. Trends and determinants of the incidence and mortality of cervical cancer in South Africa (1994-2012). [PhD Thesis] Johannesburg: University of the Witwatersrand. Link

3. Walboomers JM, Jacobs MV, Manos MM, Bosch FX, Kummer JA, Shah KV, et al. Human papillomavirus is a necessary cause of invasive cervical cancer worldwide. J Pathol 1999;189(1):12-9. PubMed

4. Sharma R, Wilkinson L, Vrazic H, Popoff E, Lopes S, Kanters S, et al. Comparative efficacy of once-weekly semaglutide and SGLT-2 inhibitors in type 2 diabetic patients inadequately controlled with metformin monotherapy: A systematic literature review and network meta-analysis. Curr Med Res Opin 2018;34(9):1595-603. PubMed

5. Kalafat E, Sukur YE, Thilaganathan B, Khalil A. Metformin for the prevention of hypertensive disorders of pregnancy in women with gestational diabetes and obesity: A systematic review and meta-analysis of randomized trials. Ultrasound Obstet Gynecol 2018;10. PubMed

International License Creative Commons Attribution License 4.0

6. Pirkkanen JS, Boreham DR, Mendonca MS. The CGL1 (hela× normal skin fibroblast) human hybrid cell line: A history of ionizing radiation induced effects on neoplastic transformation and novel future directions in SNOLAB. Radiat Res 2017;188(4.2):512-24. PubMed

7. Liu Y, Guo M. Chemical proteomic strategies for the discovery and development of anticancer drugs. Proteomics 2014;14(4-5):399-411. PubMed

8. He L, Yang H, Zhou S, Zhu H, Mao H, Ma Z, et al. Synergistic antitumor effect of combined paclitaxel with FEN1 inhibitor in cervical cancer cells. DNA Repair 2018;63:1-9. PubMed

9. Laskar J, Bhattacharjee K, Sengupta M, Choudhury Y. Anti-diabetic drugs: Cure or risk factors for cancer? Pathology & Oncology Research 2018;13:1-1. Link

10. Choi YK, Park KG. Metabolic roles of AMPK and metformin in cancer cells. Mol Cells 2013;36(4):279-87. PubMed

11. Imai A, Ichigo S, Matsunami K, Takagi H, Yasuda K. Clinical benefits of metformin in gynecologic oncology. Oncol Lett 2015;10(2):577-82. PubMed

12. Takiuchi T, Machida H, Hom MS, Mostofizadeh S, Frimer M, Brunette LL, et al. Association of metformin use and survival outcome in women with cervical cancer. Int J Gynecol Cancer 2017;27(7):1455-63. PubMed

13. Morales DR, Morris AD. Metformin in cancer treatment and prevention. Annu Rev Med 2015;66:17-29. PubMed

14. Bosch FX, Manos MM, Muñoz N, Sherman M, Jansen AM, Peto J, et al. Prevalence of human papillomavirus in cervical cancer: A worldwide perspective. JNCI: J Natl Cancer Inst 1995;87(11):796-802. PubMed

15. Schiffman M, Castle PE, Jeronimo J, Rodriguez AC, Wacholder S. Human papillomavirus and cervical cancer. Lancet 2007;370(9590):890-907. PubMed

16. Meireles CG, Pereira SA, Valadares LP, Rêgo DF, Simeoni LA, Guerra EN, et al. Effects of metformin on endometrial cancer: Systematic review and meta-analysis. Gynecol Oncol 2017;147(1):167-80. PubMed

17. Mayer MJ, Klotz LH, Venkateswaran V. Metformin and prostate cancer stem cells: A novel therapeutic target. Prostate Cancer Prostatic Dis 2015;18(4):303. PubMed

18. Tseng CH. Metformin use and cervical cancer risk in female patients with type 2 diabetes. Oncotarget 2016;7(37):59548. PubMed

19. Snima KS, Nair RS, Nair SV, Kamath CR, Lakshmanan VK. Combination of anti-diabetic drug metformin and boswellic acid nanoparticles: A novel strategy for pancreatic cancer therapy. J Biomed Nanotechnol 2015;11(1):93-104. PubMed

20. Mitsuhashi A, Sato Y, Kiyokawa T, Koshizaka M, Hanaoka H, Shozu M. Phase II study of medroxyprogesterone acetate plus metformin as a fertility-sparing treatment for atypical endometrial hyperplasia and endometrial cancer. Ann Oncol 2015;27(2):262-6. PubMed

21. Garrido MP, Vera C, Vega M, Quest AF, Romero C. Metformin prevents nerve growth factor-dependent proliferative and proangiogenic effects in epithelial ovarian cancer cells and endothelial cells. Ther Adv Med Oncol 2018;10:1758835918770984. PubMed

22. Takiuchi T, Machida H, Hom MS, Mostofizadeh S, Frimer M, Brunette LL, et al. Association of metformin use and survival outcome in women with cervical cancer. Int J Gynecol Cancer 2017;27(7):1455-63. PubMed

23. Gu CJ, Cheng J, Zhang B, Yang SL, Xie F, Sun JS, te al. Protopanaxadiol and metformin synergistically inhibit estrogen-mediated proliferation and anti-autophagy effects in endometrial cancer cells. Am J Transl Res 2017;9(9):4071. PubMed

24. Xia C, Chen R, Chen J, Qi Q, Pan Y, Du L, et al. Combining metformin and nelfinavir exhibits synergistic effects against the growth of human cervical cancer cells and xenograft in nude mice. Sci Rep 2017;7:43373. PubMed

International License Creative Commons Attribution License 4.0

25. Huo J, Bian XH, Huang Y, Miao ZC, Song LH. Inhibitory effect and mechanism of metformin on human ovarian cancer cells SKOV-3 and A2780. Eur Rev Med Pharmacol Sci 2017;21(03):484-9. PubMed

26. Zhu J, Zheng Y, Zhang H, Sun H. Targeting cancer cell metabolism: The combination of metformin and 2-Deoxyglucose regulates apoptosis in ovarian cancer cells via p38 MAPK/JNK signaling pathway. Am J Transl Res 2016;8(11):4812. PubMed

27. Han K, Pintilie M, Lipscombe LL, Lega IC, Milosevic MF, Fyles AW. Association between metformin use and mortality after cervical cancer in older women with diabetes. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 2016;25(3):507-12. PubMed

28. Gao S, Jiang J, Li P, Song H, Wang W, Li C, et al. Attenuating tumour angiogenesis: A preventive role of metformin against breast cancer. Biomed Res Int 2015;2015. link

29. But A, Wang H, Männisto S, Pukkala E, Haukka J. Assessing the effect of treatment duration on the association between anti-diabetic medication and cancer risk. PloS one 2014;9(11):e113162 .PubMed

30. de Barros Machado A, Dos Reis V, Weber S, Jauckus J, Brum IS, et al. Proliferation and metastatic potential of endometrial cancer cells in response to metformin treatment in a high versus normal glucose environment. Oncol Lett 2016;12(5):3626-32. link

31. Pérez-Hernández M, del Pino P, Mitchell SG, Moros M, Stepien G, Pelaz B, et al. Dissecting the molecular mechanism of apoptosis during photothermal therapy using gold nanoprisms. ACS Nano 2014;9(1):52-61. PubMed

32. Xiao X, He Q, Lu C, Werle KD, Zhao RX, Chen J, et al. Metformin impairs the growth of liver kinase B1-intact cervical cancer cells. Gynecol Oncol 2012;127(1):249-55. PubMed

33. Liu Y, Murray-Stewart T, Casero RA, Kagiampakis I, Jin L, Zhang J, et al. Targeting hexokinase 2 inhibition promotes radiosensitization in HPV16 E7-induced cervical cancer and suppresses tumor growth. Int J Oncol 2017;50(6):2011-23. PubMed

34. Milewicz T, Kiałka M, Mrozińska S, Ociepka A, Krzysiek J. Metformin--new treatment strategies for gynecologic neoplasms. Przegl Lek 2013;70(2):81-4. PubMed

35. Gadducci A, Biglia N, Tana R, Cosio S, Gallo M. Metformin use and gynecological cancers: A novel treatment option emerging from drug repositioning. Crit Rev Oncol Hematol 2016;105:73-83. PubMed

36. Takiuchi T, Machida H, Hom MS, Mostofizadeh S, Frimer M, Brunette LL, et al. Association of Metformin Use and Survival Outcome in Women With Cervical Cancer. Int J Gynecol Cancer 2017;27(7):1455-63. PubMed

37. Garrido MP, Vera C, Vega M, Quest AF, Romero C. Metformin prevents nerve growth factor-dependent proliferative and proangiogenic effects in epithelial ovarian cancer cells and endothelial cells. Ther Adv Med Oncol 2018;10:1758835918770984. PubMed

International License Creative Commons Attribution License 4.0