

## Metformina sinergicamente potencializa os efeitos antiproliferativos de cisplatina e etoposídeo em linhagem de células de câncer humano de pulmão NCI-H460\*

Metformin synergistically enhances antiproliferative effects of cisplatin and etoposide in NCI-H460 human lung cancer cells

Sarah Fernandes Teixeira, Isabella dos Santos Guimarães, Klesia Pirola Madeira, Renata Dalmaschio Daltoé, Ian Victor Silva, Leticia Batista Azevedo Rangel

### Resumo

**Objetivo:** Testar a eficácia da combinação terapêutica de antineoplásicos convencionais (cisplatina e etoposídeo) com metformina em linhagem celular NCI-H460 de câncer de pulmão não pequenas células, a fim de desenvolver novas possibilidades terapêuticas com eficácia superior e reduzida toxicidade. **Métodos:** Foi utilizado o ensaio de brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazólio (MTT) e calculado o índice de combinação dos fármacos estudados. **Resultados:** Observamos que o uso de metformina em monoterapia reduziu a viabilidade celular metabólica da linhagem de células estudada. O uso de metformina em combinação com cisplatina ou etoposídeo foi sinérgico e superior à monoterapia com cisplatina ou etoposídeo. **Conclusões:** A metformina, devido às suas ações independentes em *liver kinase B1*, apresentou atividade antiproliferativa na linhagem NCI-H460 e, em combinação com cisplatina ou etoposídeo, ampliou a taxa de morte celular.

**Descritores:** Carcinoma pulmonar de células não pequenas; Quimioterapia combinada; Metformina.

### Abstract

**Objective:** To test the effectiveness of combining conventional antineoplastic drugs (cisplatin and etoposide) with metformin in the treatment of non-small cell lung cancer in the NCI-H460 cell line, in order to develop new therapeutic options with high efficacy and low toxicity. **Methods:** We used the 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT) assay and calculated the combination index for the drugs studied. **Results:** We found that the use of metformin as monotherapy reduced the metabolic viability of the cell line studied. Combining metformin with cisplatin or etoposide produced a synergistic effect and was more effective than was the use of cisplatin or etoposide as monotherapy. **Conclusions:** Metformin, due to its independent effects on liver kinase B1, had antiproliferative effects on the NCI-H460 cell line. When metformin was combined with cisplatin or etoposide, the cell death rate was even higher.

**Keywords:** Carcinoma, non-small-cell lung; Drug therapy, combination; Metformin.

### Introdução

O câncer de pulmão (CP) é a neoplasia mais frequente e mortal na população mundial.<sup>(1)</sup> No Brasil, o CP encontra-se entre os cinco tipos de câncer mais incidentes, segundo estimativas para 2012, e é o que mais fez vítimas entre os brasileiros em 2010.<sup>(2)</sup> De posse desses dados, torna-se evidente que o CP é um desafio à saúde brasileira e mundial. Sabe-se que 85% de todos os casos de CP são classificados

como CP não pequenas células (CPNPC), grupo composto por diferentes tipos histológicos, como adenocarcinoma, carcinoma de células escamosas e carcinoma de células grandes, porém similares quanto a suas características clinicopatológicas.<sup>(3,4)</sup>

A quimioterapia é utilizada em pacientes nos estádios III e IV a fim de ampliar a sobrevida, controlar a doença e melhorar a qualidade de vida.<sup>(5)</sup> Em geral, os derivados de platina, tais

\*Trabalho realizado no Laboratório de Biologia Celular e Molecular do Câncer Humano, Universidade Federal do Espírito Santo - UFES - Vitória (ES) Brasil.

Endereço para correspondência: Leticia Batista Azevedo Rangel. Universidade Federal do Espírito Santo, Departamento de Ciências Farmacêuticas, sala 08. Avenida Marechal Campos, 1468, Maruípe, CEP 29040-090, Vitória, ES, Brasil.

Tel. 55 27 3335-7539. Fax: 55 27 3335-7293. E-mail: lbarangel@yahoo.com

Apoio financeiro: Este estudo recebeu apoio financeiro da Fundação de Amparo à Pesquisa do Espírito Santo (FAPES) e do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

Recebido para publicação em 28/7/2013. Aprovado, após revisão, em 22/10/2013.

quais a cisplatina e a carboplatina, cumprem bem esse papel quando associados a antineoplásicos de terceira geração, como, por exemplo, o etoposídeo.<sup>(6)</sup> Inquestionavelmente, a combinação terapêutica é vantajosa no tratamento do câncer, posto que possibilita afetar múltiplos alvos moleculares, com aumento da eficácia terapêutica, redução das dosagens e consequente redução de toxicidade, assim como redução ou retardo na aquisição de fenótipos de resistência.<sup>(7)</sup>

Nesse cenário, surge a metformina, uma biguanida amplamente utilizada como primeira linha de tratamento para pacientes com diabetes mellitus tipo 2.<sup>(8)</sup> No entanto, desde a década de 1970, Dilman sugere o uso das biguanidas antidiabéticas como protetores antienvhecimento e antineoplásicos.<sup>(9)</sup>

Nesse contexto, o objetivo do presente estudo foi determinar a ocorrência de aditamento, sinergismo ou antagonismo entre antineoplásicos utilizados na terapêutica de CPNPC e a metformina, em linhagem celular NCI-H460, no intuito de avaliar novas combinações terapêuticas para o tratamento dos CPNPC.

## Métodos

Inicialmente, a linhagem de CPNPC NCI-H460, representante do grupo histológico de carcinoma de células grandes, foi cultivada a 37°C e 5% de CO<sub>2</sub> em meio RPMI-1640 (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, EUA) suplementado com 10% (v/v) de soro fetal bovino (Gibco/Invitrogen, Grand Island, NY, EUA) e solução estabilizada de penicilina (100 UI/mL), estreptomicina (100 µg/mL) e 0,5% (p/v) de anfotericina B (Gibco/Invitrogen) até a subconfluência. Obtidos através de doação de colaboradores, a cisplatina (Incel, solução injetável 1 mg/mL; Laboratório Darrow, Areal, Brasil), o etoposídeo (Posidon, solução injetável 20 mg/mL; Piére, Buenos Aires, Argentina) e o cloridrato de metformina (Pharma Nostra, Rio de Janeiro, Brasil) foram diluídos em PBS 1x.

No teste de viabilidade celular metabólica *in vitro*, as células foram cultivadas na densidade de 7,5 x 10<sup>4</sup> células/poço em placas de 96 poços e, após 24 h, tratadas com cada fármaco, de modo dose-dependente, por 24 h. Em seguida, removeu-se o meio, adicionou-se 15 µL de brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazólio (MTT; Sigma-Aldrich) a 5 mg/mL em cada poço, e as placas foram incubadas por 4 h. Enfim, adicionou-se 100 µL de DMSO p.a. (Vetec, Rio de

Janeiro, Brasil) para a dissolução dos cristais de formazan. Desse modo, a produção de formazan pela atividade de succinato desidrogenase mitocondrial reflete a proporção de células vivas em processo de estresse oxidativo causado pelos fármacos em teste.<sup>(10)</sup> Nesse experimento, os valores de absorvância obtidos dos poços das células não tratadas, ou seja, expostas somente ao meio RPMI-1640, representam 100% de viabilidade celular. A citotoxicidade *in vitro* foi determinada pelo cálculo estimado da dose da concentração inibitória de 50% da proliferação celular (CI<sub>50</sub>) a partir da curva dose-resposta de cada fármaco, após o cálculo de viabilidade metabólica, avaliada através do ensaio de MTT (absorvância a 570 nm), utilizando um espectrofotômetro (MR-96; Bioclin, Belo Horizonte, Brasil). Vale ressaltar que os experimentos para a obtenção das curvas dose-resposta das monoterapias e estimativa do CI<sub>50</sub> foram realizados em quadruplicata em três experimentos independentes, enquanto os experimentos para a determinação do índice de combinação foram realizados em triplicata em três experimentos independentes. Ademais, a interação entre os fármacos foi avaliada através da análise do índice de combinação, cujo valor foi determinado utilizando a equação clássica do isobograma de Chou e Talalay, através do programa CompuSyn, versão 1.0 (ComboSyn, Paragon, NJ, EUA).<sup>(11)</sup> Nesse contexto, caso o valor resultante do índice de combinação seja superior a 1,1 considera-se uma relação de antagonismo; entre 0,9 e 1,1, o efeito da combinação é aditivo; e, abaixo de 0,9, a combinação é sinérgica. Quanto à análise estatística, a partir dos resultados do ensaio de MTT, a média e o desvio-padrão das absorvâncias foram calculados, ao passo que os CI<sub>50</sub> estimados foram calculados usando os programa GraphPad Prism, versão 5 (GraphPad Inc., San Diego, CA, EUA). Todos os dados de combinação foram expressos como média ± dp e analisados utilizando ANOVA de uma via seguido do pós-teste de Bonferroni com o auxílio do mesmo programa.

## Resultados

Inicialmente, foram conduzidos os experimentos de viabilidade celular para determinar as concentrações de CI<sub>50</sub> da metformina, cisplatina e etoposídeo para a linhagem de carcinoma de células grandes, NCI-H460, conforme apresentado na Tabela 1.

Em seguida, de posse desses dados, cada um dos fármacos foi diluído a fim de se obter soluções em concentrações na faixa do  $CI_{50}$ , bem como abaixo e acima desse valor, e foram conduzidos os testes de combinação in vitro da metformina com a cisplatina e com o etoposídeo a fim de permitir o cálculo dos gráficos de dose-resposta pelo programa; no entanto, somente serão discutidos os dados mais relevantes. Os dados resultantes desses gráficos foram analisados estatisticamente e estão representados nas Figuras 1 e 2. Finalmente, os efeitos das combinações foram utilizados para o cálculo do índice de combinação, cujos resultados estão apresentados na Tabela 2.

Conforme o observado nos resultados, a combinação de metformina (60,58 mM) com cisplatina (0,19 mM) demonstrou apresentar uma ação antiproliferativa superior à monoterapia com metformina (nas concentrações de 60,58 e 30,29 mM) ou cisplatina (0,09 mM). Ademais, as

combinações de metformina (60,58 e 30,29 mM) com cisplatina (0,19 mM) apresentaram sinergismo. A combinação de metformina (30,39 mM) com etoposídeo (0,18 mM) foi superior na redução da viabilidade celular metabólica da linhagem testada quando comparada à monoterapia com etoposídeo (0,18 e 0,09 mM) e com metformina (30,29 e 15,14 mM). Além disso, as combinações de metformina e etoposídeo, nas doses de 30,39 mM e 0,18 mM, respectivamente, e de 15,14 mM e 0,09 mM, respectivamente, foram sinérgicas.

## Discussão

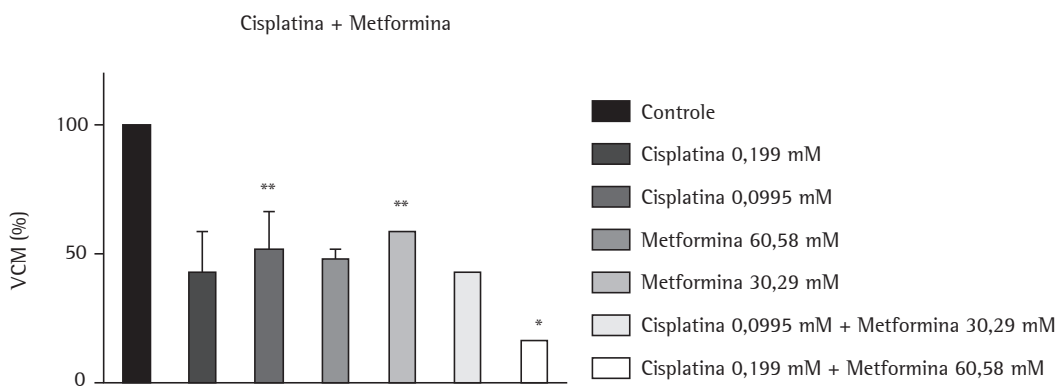
Diversos estudos epidemiológicos apontam a atividade da metformina tanto na prevenção quanto no tratamento do câncer.<sup>(12-15)</sup> Há, inclusive, estudos que apontam que a metformina é capaz de melhorar o tratamento e, por conseguinte, a sobrevida dos pacientes com CPNPC e diabetes submetidos à quimioterapia.<sup>(16)</sup> Posto que a metformina tem segurança e uso bem estabelecidos desde seu primeiro teste clínico em 1957, seu uso como um potencial agente antineoplásico é, decerto, uma estratégia interessante.<sup>(17)</sup>

Apesar de a ação citotóxica da metformina, observada no presente estudo, ter sido inferior à ação do etoposídeo e da cisplatina em até 200 vezes, conforme podemos observar pelas doses de  $CI_{50}$ , a metformina em monoterapia reduziu a viabilidade celular metabólica das

**Tabela 1** – Doses da concentração inibitória de 50% da viabilidade celular metabólica dos fármacos testados na linhagem celular NCI-H460.

Fármacos	$CI_{50}$ , mM
Cisplatina	0,19
Etoposídeo	0,37
Metformina	60,58

$CI_{50}$ : concentração inibitória de 50%.

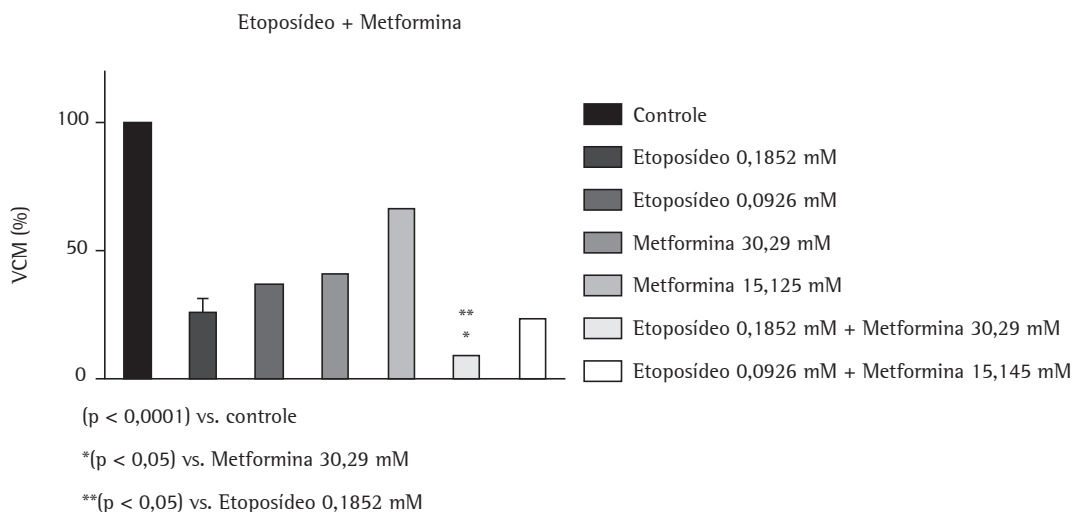


( $p < 0,001$ ) vs. controle

\*( $p < 0,05$ ) vs. Metformina 60,58 mM

\*\*( $p < 0,05$ ) vs. Cisplatina 0,199 mM + Metformina 60,58 mM

**Figura 1** – Avaliação da atividade da metformina e cisplatina, em diferentes concentrações, em monoterapia e em combinação, na redução da viabilidade celular metabólica (VCM) sobre as células da linhagem celular NCI-H460.



**Figura 2** – Avaliação da atividade da metformina e etoposídeo, em diferentes concentrações, em monoterapia e em combinação, na redução da viabilidade celular metabólica (VCM) sobre as células da linhagem celular NCI-H460.

**Tabela 2** – Índices de combinação de metformina com cisplatina ou com etoposídeo em linhagem celular NCI-H460.

Concentração, mM			Índice de combinação
Metformina	Cisplatina	Etoposídeo	
60,58	0,19	0,00	0,70
30,29	0,19	0,00	0,90
30,29	0,00	0,18	0,81
15,14	0,00	0,09	0,90

células de carcinoma de células grandes. Todavia, em esquemas politerápicos, a metformina, nas concentrações de 60,58 e 30,29 mM em combinação com cisplatina na concentração de 0,19 mM, demonstrou um efeito superior e sinérgico quando comparado à metade da dose do  $CI_{50}$  da cisplatina (0,09 mM). Por sua vez, a combinação de metformina (30,39 mM) e etoposídeo (0,18 mM) apresentou um efeito sinérgico e superior na redução da viabilidade celular metabólica da linhagem NCI-H460 ao uso monoterápico do etoposídeo, nas doses de 0,18 e 0,09 mM, e da metformina, nas doses de 30,29 e 15,14 mM. Em consonância com nossos resultados, estudos pré-clínicos indicam que a administração oral de metformina em combinação à quimioterapia é capaz de bloquear o crescimento tumoral e prevenir a recidiva, bem como permite a redução das doses de doxorubicina utilizadas no tratamento.<sup>(18)</sup>

Apesar de sua consolidação no tratamento de diabetes, os mecanismos pelos quais a metformina

pode atuar na supressão tumoral ainda precisam ser mais bem elucidados. O principal mecanismo possível da ação das biguanidas está relacionado à sua capacidade de inibir o complexo I das mitocôndrias com conseqüente desequilíbrio energético, desencadeando a fosforilação da enzima *AMP kinase* (AMPK) dependente da *liver kinase B1* (LKB1).<sup>(19,20)</sup> A LKB1 é a principal reguladora, em condições de estresse energético, da AMPK; essa, por sua vez, é moduladora do crescimento celular e do metabolismo em condições de redução do ATP intracelular.<sup>(21,22)</sup>

Perdas alélicas de *LKB1* ocorrem em diversos tipos de câncer – entre estes, os CPNPC – principalmente em adenocarcinomas pulmonares. Ademais, acredita-se que a maior parte das mutações em *LKB1* no CPNPC geram perda da função da proteína codificada.<sup>(23,24)</sup> A linhagem celular de carcinoma de células grandes utilizada no presente estudo (NCI-H460) apresenta uma mutação do tipo *nonsense* no *LKB1*, que leva à ausência da expressão do seu produto proteico.<sup>(24)</sup> É possível atestar, portanto, que os mecanismos de ação da metformina nessas células são independentes da atividade de LKB1. Shackelford et al. observaram que a fenformina, um dos membros do grupo das biguanidas, pode ser utilizada como um agente antineoplásico para tumores com deficiência em LKB1 por ocasionar apoptose possivelmente induzida por estresse metabólico.<sup>(25)</sup> Dessa forma, sugere-se que um possível mecanismo para a ação da

metformina e outras biguanidas em células tumorais deficientes em LKB1 seja a inibição do complexo I mitocondrial, que causa a indução de espécies reativas de oxigênio e consequente apoptose, devido a sua incapacidade de neutralizar eficientemente essas espécies.<sup>(26)</sup>

Outra razão plausível para a ação antiproliferativa e sinérgica da metformina é a sua atividade preferencial em células-tronco tumorais, grupo de células da massa tumoral que pode relacionar-se à formação tumoral, manutenção da massa tumoral, recidiva e metástase. Devido a essas características, fármacos que atinjam seletivamente essas células são extremamente promissores, posto que junto à quimioterapia convencional, poderiam tornar o tratamento mais efetivo e impedir a recidiva da doença.<sup>(27)</sup> Hirsch et al. observaram que, em modelos xenográficos, a metformina inibe a proliferação, de forma preferencial, de células tumorais com fenótipo de células-tronco.<sup>(26)</sup>

Em suma, o presente estudo apontou, pela primeira vez, que a metformina apresenta atividade antiproliferativa em uma linhagem de carcinoma de células grandes (NCI-H460) e, em combinação com cisplatina ou etoposídeo, age sinergicamente, ampliando a taxa de morte celular. Entretanto, ainda são necessários estudos mais amplos no intuito de elucidar melhor os mecanismos envolvidos.

## Referências

1. Globocan 2008 [homepage on the Internet]. Lyon: International Agency for Research on Cancer.[updated 2008; cited 2013 May 26]. Globocan 2008 Fast Stats. Available from: <http://globocan.iarc.fr/factsheets/populations/factsheet.asp?uno=900#BOTH>
2. INCA [homepage on the Internet]. Rio de Janeiro: Ministério da Saúde. [updated 2012; cited 2013 May 5]. Tipo de câncer – Pulmão. Available from: <http://www2.inca.gov.br/wps/wcm/connect/tiposdecancer/site/home/pulmao/definicao>
3. SEER - Surveillance, Epidemiology, and End Results Program [homepage on the Internet]. Bethesda: National Cancer Institute. [updated 2009; cited 2013 Jun 30]. SEER Cancer Statistics Review, 1975-2007. Available from: [http://seer.cancer.gov/csr/1975\\_2007/](http://seer.cancer.gov/csr/1975_2007/)
4. IARC - International Agency for Research on Cancer [homepage on the Internet]. Lyon: International Agency for Research on Cancer. [updated 2004; cited 2013 Jul 01]. Pathology and Genetics of Tumours of the Lung, Pleura, Thymus and Heart. [Adobe Acrobat document, 344p.]. Available from: <http://www.iarc.fr/en/publications/pdfs-online/pat-gen/bb10/BB10.pdf>
5. NCBI - National Center for Biotechnology Information [homepage on the Internet]. Bethesda: National Center for Biotechnology Information. [updated 2011; cited 2013 Jul 05]. The Diagnosis and Treatment of Lung Cancer (Update). [Adobe Acrobat document, 198p.]. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK99021/pdf/TOC.pdf>
6. Ettinger DS, Bepler G, Bueno R, Chang A, Chang JY, Chirieac LR, et al. Non-small cell lung cancer clinical practice guidelines in oncology. *J Natl Compr Canc Netw*. 2006;4(6):548-82. PMID:16813724
7. Chou TC. Theoretical basis, experimental design, and computerized simulation of synergism and antagonism in drug combination studies. *Pharmacol Rev*. 2006;58(3):621-81. Erratum in: *Pharmacol Rev*. 2007;59(1):124. <http://dx.doi.org/10.1124/pr.58.3.10> PMID:16968952
8. IDF - International Diabetes Federation [homepage on the Internet]. Brussels: International Diabetes Federation. [updated 2005; cited 2013 Apr 02]. Global Guideline for Type 2 Diabetes. [Adobe Acrobat document, 82p.]. Available from: <http://www.idf.org/webdata/docs/IDF%20GGT2D.pdf>
9. Dilman VM. Age-associated elevation of hypothalamic, threshold to feedback control, and its role in development, ageing, and disease. *Lancet*. 1971;1(7711):1211-9. [http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736\(71\)91721-1](http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736(71)91721-1)
10. Mosmann T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. *J Immunol Methods*. 1983;65(1-2):55-63. [http://dx.doi.org/10.1016/0022-1759\(83\)90303-4](http://dx.doi.org/10.1016/0022-1759(83)90303-4)
11. Chou TC, Talalay P. Quantitative analysis of dose-effect relationships: the combined effects of multiple drugs or enzyme inhibitors. *Adv Enzyme Regul*. 1984;22:27-55. [http://dx.doi.org/10.1016/0065-2571\(84\)90007-4](http://dx.doi.org/10.1016/0065-2571(84)90007-4)
12. Evans JM, Donnelly LA, Emslie-Smith AM, Alessi DR, Morris AD. Metformin and reduced risk of cancer in diabetic patients. *BMJ*. 2005;330(7503):1304-5. <http://dx.doi.org/10.1136/bmj.38415.708634.F7> PMID:15849206 PMID:PMC558205
13. Currie CJ, Poole CD, Gale EA. The influence of glucose-lowering therapies on cancer risk in type 2 diabetes. *Diabetologia*. 2009;52(9):1766-77. <http://dx.doi.org/10.1007/s00125-009-1440-6> PMID:19572116
14. Jiralerspong S, Palla SL, Giordano SH, Meric-Bernstam F, Liedtke C, Barnett CM, et al. Metformin and pathological complete responses to neoadjuvant chemotherapy in diabetic patients with breast cancer. *J Clin Oncol*. 2009;27(20):3297-302. <http://dx.doi.org/10.1200/JCO.2009.19.6410> PMID:19487376 PMID:PMC2736070
15. Larsson SC, Mantzoros CS, Wolk A. Diabetes mellitus and risk of breast cancer: a meta-analysis. *Int J Cancer*. 2007;121(4):856-62. <http://dx.doi.org/10.1002/ijc.22717> PMID:17397032
16. Tan BX, Yao WX, Ge J, Peng XC, Du XB, Zhang R, et al. Prognostic influence of metformin as first-line chemotherapy for advanced nonsmall cell lung cancer in patients with type 2 diabetes. *Cancer*. 2011;117(22):5103-11. <http://dx.doi.org/10.1002/cncr.26151> PMID:21523768
17. Sterne J. Du Nouveau dans les antidiabétiques. La NN diméthylamino guanyl guanidine (N.N.D.G.). *Maroc Med* 1957;36:1295-6.
18. Iliopoulos D, Hirsch HA, Struhl K. Metformin decreases the dose of chemotherapy for prolonging tumor remission in mouse xenografts involving multiple cancer cell types. *Cancer Res*. 2011;71(9):3196-201. <http://dx.doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-10-3471> PMID:21415163 PMID:PMC3085572

19. El-Mir MY, Nogueira V, Fontaine E, Avéret N, Rigoulet M, Leverve X. Dimethylbiguanide inhibits cell respiration via an indirect effect targeted on the respiratory chain complex I. *J Biol Chem.* 2000;275(1):223-8. <http://dx.doi.org/10.1074/jbc.275.1.223> PMID:10617608
20. Hawley SA, Ross FA, Chevtzoff C, Green KA, Evans A, Fogarty S, et al. Use of cells expressing gamma subunit variants to identify diverse mechanisms of AMPK activation. *Cell Metab.* 2010;11(6):554-65. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cmet.2010.04.001> PMID:20519126 PMCID:PMC2935965
21. Hardie DG, Ross FA, Hawley SA. AMPK: a nutrient and energy sensor that maintains energy homeostasis. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2012;13(4):251-62. <http://dx.doi.org/10.1038/nrm3311> PMID:22436748
22. Inoki K, Zhu T, Guan KL. TSC2 mediates cellular energy response to control cell growth and survival. *Cell.* 2003;115(5):577-90. [http://dx.doi.org/10.1016/S0092-8674\(03\)00929-2](http://dx.doi.org/10.1016/S0092-8674(03)00929-2)
23. Avizienyte E, Loukola A, Roth S, Hemminki A, Tarkkanen M, Salovaara R, et al. LKB1 somatic mutations in sporadic tumors. *Am J Pathol.* 1999;154(3):677-81. [http://dx.doi.org/10.1016/S0002-9440\(10\)65314-X](http://dx.doi.org/10.1016/S0002-9440(10)65314-X)
24. Carretero J, Medina PP, Pio R, Montuenga LM, Sanchez-Cespedes M. Novel and natural knockout lung cancer cell lines for the LKB1/STK11 tumor suppressor gene. *Oncogene.* 2004;23(22):4037-40. <http://dx.doi.org/10.1038/sj.onc.1207502> PMID:15021901
25. Shackelford DB, Abt E, Gerken L, Vasquez DS, Seki A, Leblanc M, et al. LKB1 inactivation dictates therapeutic response of non-small cell lung cancer to the metabolism drug phenformin. *Cancer Cell.* 2013;23(2):143-58. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ccr.2012.12.008> PMID:23352126
26. Hirsch HA, Iliopoulos D, Tschlis PN, Struhl K. Metformin selectively targets cancer stem cells, and acts together with chemotherapy to block tumor growth and prolong remission. *Cancer Res.* 2009;69(19):7507-11. Erratum in: *Cancer Res.* 2009;69(22):8832. <http://dx.doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-09-2994> PMID:19752085 PMCID:PMC2756324
27. Polyak K, Weinberg RA. Transitions between epithelial and mesenchymal states: acquisition of malignant and stem cell traits. *Nat Rev Cancer.* 2009;9(4):265-73. <http://dx.doi.org/10.1038/nrc2620> PMID:19262571

## ***Sobre os autores***

---

### ***Sarah Fernandes Teixeira***

Farmacêutica. Universidade Federal do Espírito Santo – UFES – Vitória (ES) Brasil.

### ***Isabella dos Santos Guimarães***

Mestre em Biotecnologia. Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia, Universidade Federal do Espírito Santo – UFES – Vitória (ES) Brasil.

### ***Klesia Pirola Madeira***

Doutora em Biotecnologia. Programa de Pós-Graduação da Rede Nordeste de Biotecnologia, Universidade Federal do Espírito Santo – UFES – Vitória (ES) Brasil.

### ***Renata Dalmaschio Daltoé***

Professora Assistente. Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Espírito Santo – UFES – Alegre (ES) Brasil.

### ***Ian Victor Silva***

Professor Associado. Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Espírito Santo – UFES – e Chefe, Laboratório de Biologia Celular do Envelhecimento, Vitória (ES) Brasil.

### ***Leticia Batista Azevedo Rangel***

Professora Associada. Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Espírito Santo – UFES – e Chefe. Laboratório de Biologia Celular e Molecular do Câncer Humano, Vitória (ES) Brasil.