

Diabetes como factor pronóstico en leucemia linfoblástica aguda. Informe de casos y revisión de la bibliografía

Christian Omar Ramos-Peñañiel,* Irma Olarte-Carrillo,** Adolfo Martínez-Tovar,** Humberto Castellanos-Sinco,*** Etta Rozen- Fuller,* Juan Julio Kassack-Ipiña,* Juan Collazo-Jaloma,* Carlos Martínez-Murillo*

RESUMEN

Antecedentes: la leucemia linfoblástica aguda es una de las principales causas de mortalidad asociada al cáncer. Recientemente, la diabetes mellitus se vinculó con riesgo de aparición de neoplasias, principalmente de páncreas e hígado. El tratamiento antidiabético también se ha relacionado con respuesta favorable o desfavorable del tumor. En el caso de la leucemia se desconoce la respuesta.

Material y métodos: estudio retrospectivo, descriptivo, efectuado en pacientes con leucemia linfoblástica de novo atendidos en el Hospital General de México a partir del mes de diciembre de 2007. Se comparó la eficacia del tratamiento y las diversas variables clínicas en pacientes diabéticos y no diabéticos.

Resultados: se estudiaron 154 pacientes, seis con diabetes mellitus, cinco de tipo 2 y una dependiente de insulina. La mediana de edad fue 29 años (29 para no diabéticos y 44 para diabéticos). Ambos grupos contaron con la misma frecuencia de pacientes de riesgo alto (66.5%). Las tasas de respuestas tempranas a esteroides (33.7% vs 83%) y de remisiones completas (64.1% vs 83%) fueron estadísticamente mejores en los pacientes diabéticos ($p = 0.002$).

Conclusión: la diferencia de resultados en los pacientes diabéticos puede estar relacionada con el uso de clorhidrato de metformina como agente antidiabético. Existen ensayos *in vitro* e *in vivo* que han demostrado su eficacia para bloquear el crecimiento del tumor debido al bloqueo de vías de diferenciación (mTOR) y arresto del ciclo celular en G1/G0. Su efecto como parte del tratamiento con quimioterapia aún no se ha descrito en las neoplasias hematológicas.

Palabras clave: leucemia linfoblástica aguda, diabetes, metformina, cancer.

ABSTRACT

Background: Acute lymphoblastic leukemia in one of the most frequent causes of cancer-related deaths. Recently Diabetes has been associated with an increased risk of occurrence of malignant neoplasm mainly in liver and pancreas. The treatment has also been associated with the tumor response, favorably or unfavorably.

Material and Method: Retrospective, descriptive study in patients with novo acute lymphoblastic leukemia treated since December 2007. A comparison was made between Diabetic and Non-Diabetic patients in both treatment response and clinical variables.

Results: 154 Patients were studied, 6 with Diabetes, 5 diabetes type 2 and 1 Diabetes type 2. The median age was 29 years (29 for non Diabetic and 44 for Diabetic). Both groups had the same frequency of high-risk leukemia (66.5%). The good steroid response (33.7% vs 83%), complete remission (64.1% vs 83%) and overall survival was statistically better in Diabetic patients ($p > 0.002$).

Conclusion: The difference between the results in diabetic patients could be related with the use of metformin. An assay *in vitro* and *in vivo* showed is effectiveness in tumor growth by blocking signaling pathways (mTOR) and arresting the cell cycle in phase G1/G0 of cell cycle. Its effect as part of the chemotherapeutic treatment has not yet been described in hematologic malignancies.

Key words: Acute lymphoblastic leukemia, Diabetes, Metformin, Cancer

* Departamento de Hematología. Hospital General de México. México, DF.

** Departamento de Biología Molecular, Departamento de Hematología. Hospital General de México.

*** Clínica 48 del Instituto Mexicano del Seguro Social.

Correspondencia: Dr. Christian Omar Ramos-Peñañiel. Camino a Chapultepec 2C, Cofradía de San Miguel, Cuauhtlán Izcalli 54715, Estado de México. Correo electrónico: leukemiachop@hotmail.com

Recibido: diciembre 2011. Aceptado: enero 2012.

Este artículo debe citarse como: Ramos-Peñañiel ChO, Olarte-Carrillo I, Martínez-Tovar A, Castellanos-Sinco H, Rozen- Fuller E, y col. Diabetes como factor pronóstico en leucemia linfoblástica aguda. Informe de casos y revisión de la bibliografía. Rev Hematol Mex 2012;13(1):5-11.

www.nietoeditores.com.mx

La leucemia linfoblástica aguda es una de las principales causas de mortalidad asociadas al cáncer, que mantiene una tasa de mortalidad estable hasta los 35 años (2.7 y 2.5 por 100,000 habitantes para hombres y mujeres) y que alcanza su nivel máximo en el grupo de mayores a 65 años (16.3 en hombres y 13.0 en mujeres).¹ El tratamiento consiste en regímenes de altas dosis de quimioterapia inspirada en los protocolos pediátricos, trasplante de progenitores hematopoyéticos, blanco molecular y bloqueadora de vías de señalización.² La prevalencia de diabetes en nuestro país es de alrededor de 7.5% en población adulta.³ Bo y colaboradores reportaron, recientemente, la mortalidad relacionada con cáncer en 3,685 pacientes diabéticos en un seguimiento de cinco años. De todas las muertes asociada con cáncer, la exposición a insulina se asoció con incremento de 1.25 veces la mortalidad, en comparación con el clorhidrato de metformina, que se asoció con reducción de 0.73 veces.⁴ Mas allá del riesgo cardiovascular, diversos autores han considerado que la diabetes es un factor de riesgo de cáncer porque existe una alteración del metabolismo de la glucosa, el efecto relación con la insulina como factor promotor de crecimiento y la producción continua de diversas especies reactivas de oxígeno.⁵ Ensayos en modelos animales de cáncer identificaron que la insulina (glargina o NPH) incrementa la proliferación celular.⁶ Sobre esto, Chang y colaboradores identificaron que la incidencia de cáncer fue de 13.8 y 16 por mil personas-año en usuarios de insulina glargina e insulina NPH, respectivamente.⁷ El tratamiento de inducción de la leucemia linfoblástica aguda incluye a los esteroides por su potencial para inducir apoptosis mediante el bloqueo de la expresión de factores como bcl-2, la sobreexpresión de la MAPK y la depresión de la vía del factor nuclear K-B.⁸ En el Hospital General de México el tratamiento de la leucemia linfoblástica aguda se basa en un régimen semejante al protocolo GIMEMA 0496, que utiliza un pre-tratamiento con esteroides.⁹ Este estudio describe la experiencia del tratamiento de pacientes adultos con leucemia linfoblástica aguda del adulto y la repercusión de la diabetes en el tratamiento y el pronóstico.

PACIENTES Y MÉTODO

Estudio de casos y controles efectuado en 153 pacientes con leucemia linfoblástica aguda *de novo*, diabéticos

diagnosticados entre diciembre de 2007 y marzo de 2010. Todos los datos se obtuvieron de los registros médicos de la institución.

El diagnóstico se realizó de acuerdo con los criterios morfológicos de la Asociación Franco-Américo-Británica (FAB) y se corroboró con citometría de flujo.¹⁰ La detección del transcrito de fusión BCR-ABL se realizó al diagnóstico mediante PCR punto final (RT-PCR) con base en los oligonucleótidos específicos. La punción lumbar para diagnóstico de infiltración al sistema nervioso central se realizó al diagnóstico y, posteriormente, en los días 1, 8, 15 y 22 de quimioterapia.

Reacción en cadena de la polimerasa (PCR)

Se obtuvieron células mononucleares a partir de las muestras de médula ósea, se aisló el ARN celular total por medio de trizol. A partir de 1 mg de RNA se sintetizó el cDNA por adición de 1 mL de oligo dT, buffer de reacción (200 mM Tris HCl, pH 8.4, 500 mM KCl, 25 mM MgCl₂), 1 mL de la mezcla de dNTP, 10 mM y 1 mL de supertranscriptasa (200 U/1 mL) (Gibco BRL). Los perfiles térmicos de la reacción fueron a 37 °C por 50 minutos para la realización de cDNA y 70 °C durante 10 minutos para desactivar la enzima supertranscriptasa. El cDNA se almacenó a -20 °C hasta su uso.

Protocolo de tratamiento

Entre diciembre de 2007 y enero de 2009 se inició el tratamiento conforme a lo señalado en el protocolo institucional HGMLAL07 y, posteriormente, desde febrero de 2009 se realizó una modificación en la etapa de inducción a la remisión reduciendo el intervalo de administración de la daunorrubicina (días 1,2,3). Ambos protocolos de tratamiento contaban con un pre-tratamiento con base de una dosis progresiva de esteroides. La duración de la etapa de mantenimiento fue de dos años con ciclos bimensuales de intensificación con esteroides y alcaloides de la vinca (vincristina). El esquema general de tratamiento se describe en la Cuadro 1. Todos los pacientes contaban con el consentimiento informado de la institución al momento del ingreso.

Pacientes diabéticos

Todos los pacientes diabéticos tenían diagnóstico y tratamiento previo a su ingreso al servicio de Hematología. La evaluación del control de la glucosa durante la etapa

Cuadro 1. Protocolo institucional para el tratamiento de la leucemia linfocítica del adulto

			HGMLAL07	HGMLAL09
Inducción a la remisión (Fase I)				
Daunorrubicina	60 mg/m ²	IV	1,8,15	1, 2, 3
Vincristina	1.5 mg/m ²	IV	1, 8, 15, 22	1, 8, 15, 22
Prednisona	60 mg/m ²	IV	1-28	1-28
Citarabina	40 mg	IT	1, 8, 15, 22	1, 8, 15, 22
Dexametasona	8 mg	IT	1, 8, 15, 22	1, 8, 15, 22
Metotrexato	15 mg	IT	1, 8, 15, 22	1, 8, 15, 22
Inducción a la remisión (Fase II)				
Ciclofosfamida	650 mg/m ²	IV	1, 8	1, 8
Citarabina	65 mg/m ²	IV	1-4, 8 – 11	1-4, 8-11
6- mercaptopurina	50 mg/m ²	VO	1-15	1-15
Consolidación I				
Metotrexato	1.5 g/m ²		1, 15, 45	1, 15, 45
Intensificación				
Doxorrubicina	30 mg/m ²	IV	1, 8, 15	1, 8, 15
Vincristina	1.5 mg/m ²	IV	1, 8, 15, 22	1, 8, 15, 22
Prednisona	60 mg/m ²	VO	1-28	1-28
Consolidación II				
Etoposido	100 mg/m ²	IV	1-5, 28- 32	1-5, 28- 32
Citarabina	75 mg/m ²	IV	1-5, 28-32	1-5, 28-32
Mantenimiento (2 años)				
6-mercaptopurina	50 mg/m ²	VO	Lunes-viernes	Lunes-viernes
Metotrexato	50 mg	IM	Semanal	Semanal

Superficie corporal: m²; VO: vía oral; IM: intramuscular; IV: intravenoso; IT: intratecal. Al final de cada ciclo de quimioterapia se administró quimioterapia intratecal, durante el mantenimiento se administró cada dos meses. La médula ósea por aspiración se realizó al final de cada ciclo de quimioterapia.

de inducción a la remisión se realizó mediante la medición de glucosa capilar preprandial y glucosa central. Se utilizó insulina NPH durante la etapa de inducción a dosis de 0.4U/kg/día, dividida en dos aplicaciones e insulina rápida a requerimientos. En conjunto con la insulina se administró clorhidrato de metformina (límites de dosis de 500 mg y 1500 mg al día) excepto en un caso que padecía diabetes mellitus tipo 1 y solo fue tratada con insulina NPH (Neutral Protamine Hagedorn).

Criterios de respuesta al tratamiento

La estratificación por riesgos se describe en el Cuadro 2. Posterior al esquema de inducción a la remisión se consideró RC a la existencia de $>1 \times 10^3/\mu\text{L}$ neutrófilos, $>100 \times 10^3/\mu\text{L}$ plaquetas y la ausencia de blastos en sangre peri-

férica con menos de 5% de blastos en la médula ósea. A los pacientes con más de 5% de blastos posterior a la inducción se les inició un ciclo alternativo de quimioterapia; si no lograron obtener RC se les consideró leucemias resistentes.

Análisis estadístico

La supervivencia global y la supervivencia libre de enfermedad se analizaron por el método de Kaplan-Meier y se definieron como el tiempo transcurrido desde el inicio del tratamiento hasta la última fecha registrada (muerte, última fecha de visita) y el tiempo existente entre la remisión completa y la fecha de recaída o última fecha registrada respectivamente. Las diversas variables se analizaron por el método de la χ^2 y se consideraron significativas si contaban con una $p \geq 0.05$

Cuadro 2. Criterios de riesgo

	<i>Riesgo habitual</i>	<i>Riesgo alto</i>
Edad (años)	< 35	>35
Leucocitos (x 10 ³ /μl) (B)	< 30	>30
Leucocitos (x 10 ³ /μl) (T)	<100	>100
Remisión completa	< 4 semanas	>4 semanas
Líquido cefalorraquídeo*	Negativo	Positivo
Inmunofenotipo	B-común	B-madura, T
BCR/ABL	Negativo	Positivo

RESULTADOS

Se incluyeron 153 pacientes con leucemia linfoblástica aguda de novo, la mediana de edad fue 29 (16-60 años). El 60% de los pacientes contaba con menos de 35 años al diagnóstico y 70% se clasificó como leucemia de riesgo alto. La detección del transcrito de fusión BCR-ABL fue de 12%, ningún paciente diabético tuvo la alteración. Las diferencias entre los pacientes diabéticos y no diabéticos se describen en el Cuadro 3.

Inducción a la remisión

De forma global el porcentaje de RC fue de 63%, la mortalidad en inducción de 26% y se registraron 11% de leucemias resistentes. De los seis pacientes diabéticos 84% (n=5) íntegro RC, no se registraron muertes durante el periodo de inducción y solo un paciente fue resistente al tratamiento. La toxicidad hematológica fue el principal evento adverso, la recuperación de la cuenta de neutrófilos y plaquetas se registró en 36 y 38 días, respectivamente. No se registraron muertes en el grupo de diabetes.

Recaída y trasplante de progenitores hematopoyéticos

Se registraron 48 recaídas, la de médula ósea fue el principal sitio seguido del sistema nervioso central (98 *versus* 2%) con un tiempo promedio de recaída de 198 días. Se registraron dos recaídas en el grupo de diabéticos iniciándose esquema de rescate en uno de ellos y terapia paliativa en el segundo.

Supervivencia y marcadores pronósticos

La supervivencia a 40 meses de seguimiento fue de 40% con diferencia estadísticamente significativa en la supervivencia entre los pacientes diabéticos y no diabéticos

Cuadro 3. Características de los pacientes

	<i>No diabéticos</i>	<i>Diabéticos</i>
<i>n</i> =	145	6
Edad (años)	29 (16- 61)	44 (22-61)
Género		
Masculino (%)	74 (51)	3 (50)
Femenino (%)	71 (49)	3 (50)
Tiempo de inicio (semanas)	4 (1 -12)	3 (1 -8)
Anemia (%)	139 (95)	6 (100)
Hemorragia (%)	42 (48)	1 (17)
Fiebre (%)	29 (20)	2 (33)
Cuenta de leucocitos	24.7 (0.9 -158)	31.1 (1.8-111)
Hb (g/dL)	7.32 (4 -13.2)	9.4 (7-11.8)
Plaquetas	9 (6 -232)	14.5 (5 -33)
Tipo de riesgo		
Riesgo habitual (%)	49 (33.5)	2 (33.5)
Riesgo alto (%)	96 (66.5)	4 (66.5)
Ph (+) (64)*	9 (14)	0
Infiltración al SNC	6 (4)	0
Inmunofenotipo		
Linaje B	139 (95)	5 (83)
Linaje T	6 (4)	1 (16)
Respuesta favorable a esteroides (%)	49 (33.7)	5 (83)
Remisiones completas (%)	93 (64.1)	5 (83)
Leucemias resistentes (%)	18 (12.4)	1 (17)

* Cantidad de pruebas realizadas; SNC: sistema nervioso central, BCR/ABL, Ph (+); leucemia aguda cromosoma Philadelphia positiva.

($p = 0.002$). En cuanto al tratamiento, no existieron diferencias entre la frecuencia de remisiones completas o leucemias resistentes. La respuesta temprana a esteroides fue estadísticamente significativa para la población diabética en comparación con los pacientes no diabéticos ($p = 0.012$). La significación estadística del resto de las variables se describe en el Cuadro 4.

DISCUSIÓN

Hasta el momento, a pesar de los regímenes de quimioterapia adaptada al tipo de riesgo, la profilaxis al sistema nervioso central o la terapia de intensificación, la supervivencia a largo plazo no ha aumentado.¹¹ Las nuevas estrategias se dirigen al bloqueo de vías de señalización celulares implicadas en la diferenciación celular, exitosas en diversas situaciones, como la leucemia linfoblástica

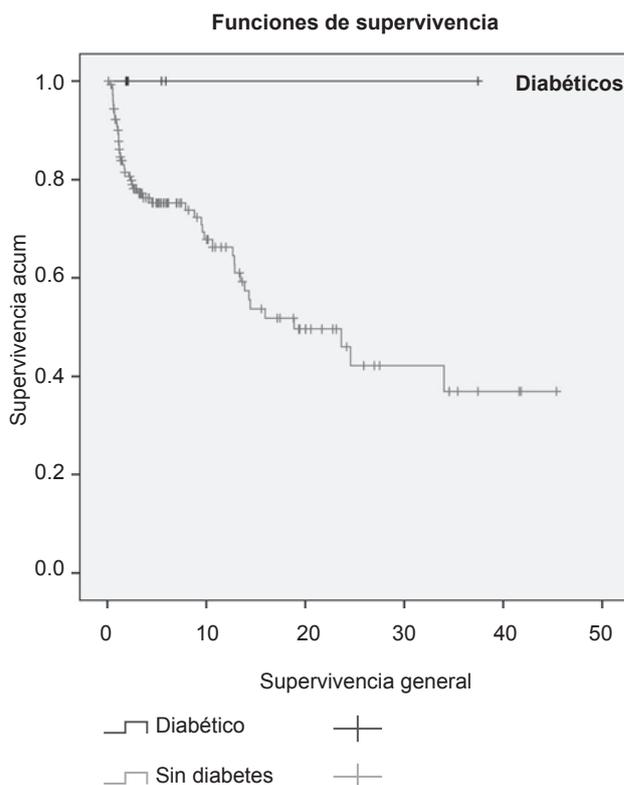
Cuadro 4. Impacto pronóstico de las diferentes variables de estudio

Variable	Valor de <i>p</i>
Diabéticos <i>versus</i> no diabéticos	
Respuesta temprana a esteroides	0.012
Supervivencia global	0.002
Cuenta de leucocitos > 35 x 10 ⁹ /L	0.000
Infiltración al sistema nervioso central	0.000
Edad mayor de 35 años	0.380
Riesgo habitual <i>versus</i> riesgo alto	0.003
Leucemia linfoblástica aguda Ph(+)	0.030

Ph (+). Leucemia aguda Philadelphia positiva

aguda Ph(+)¹² y otras que aún están en desarrollo, como el bloqueo de la vía mTOR¹³ o las cinasas Janus.¹⁴ La relación entre cáncer y diabetes es de exploración reciente. Entre estas existen semejanzas, como la relación directamente proporcional a la edad, al igual que su origen multifactorial. Los principales cánceres relacionados con la diabetes son de páncreas e hígado, a su vez vinculados con mal control metabólico.¹⁵ La insulina, debido a su capacidad de inducir proliferación celular, se ha relacionado como mediador en diversas vías de señalización asociadas con el cáncer. Tanto ésta como el factor de crecimiento semejante a la insulina (IGF-1) tienen afinidad con el receptor de insulina. Su presencia, al igual que la unión con su receptor (IGF-R), han mostrado relación con el tamaño del tumor.¹⁶ En tumores sólidos, Liao y colaboradores, en su metanálisis, describieron que la diabetes se asoció con mayor riesgo de cáncer de mama al igual que incrementó en 1.44 veces la mortalidad por cualquier otra causa asociada.¹⁷ Sobre esta misma línea, Li y colaboradores describieron que en las mujeres con cáncer de mama, la probabilidad de padecer cáncer de mama contralateral era 2.2 veces mayor en las pacientes diabéticas que en las no diabéticas.¹⁸ Algunos autores han relacionado el tratamiento con insulina con el riesgo de cáncer, aun con datos inconsistentes.^{19,20} La principal insulina implicada ha sido la glargina. Hace poco, Teng y colaboradores describieron, en la línea celular MCF-7 de adenocarcinoma de mama, una disminución en la apoptosis, de la concentración de proteínas Bax y sobreexpresión de Bcl-2.²¹ Contrario a esto, diversos estudios *in vitro* e *in vivo* han mostrado un efecto benéfico del clorhidrato de metformina en pacientes

con cáncer.²² Su mecanismo sobre las células tumorales aún es motivo de controversia. En la célula, el clorhidrato de metformina activa a la AMP-activated proteína kinase (AMPK), que está relacionado con el metabolismo celular que incrementa las concentraciones intracelulares de AMP. Los efectos anti-tumorales se vinculan con la insulina o independientes de ésta. Los mecanismos indirectos se asocian con la capacidad del AMPK de inhibir la transcripción de factores y de la transcripción implicada en la gluconeogénesis, la captación de glucosa y la producción de glucosa a través de los ácidos grasos.²³ Otro de los efectos independientes a la insulina es el bloqueo de la vía mTOR.^{24,25} La incidencia de diabetes y leucemia aguda es baja; en este estudio se revisó una serie de casos que comparan las características entre pacientes diabéticos y no diabéticos tratados con nuestro protocolo institucional HGMLAL07. No se evidenció una diferencia significativa en las tasas de remisiones completas ni con las diferentes variables clínicas, pero sí en la respuesta favorable a los esteroides y la supervivencia global. Una de las teorías para poder explicar las diferencias en la

**Figura 1.** Supervivencia general realizada por el método de Kaplan-Meier

supervivencia fue que durante todo el tratamiento con quimioterapia (inducción, consolidación y mantenimiento) se les administró clorhidrato de metformina a la mayoría. Congruente con lo descrito en otras líneas de cáncer, el clorhidrato de metformina puede actuar en conjunto con la quimioterapia²⁶ y disminuir el requerimiento de dosis de quimioterapia.²⁷ En conclusión: este estudio reúne diferentes experiencias del tratamiento de pacientes diabéticos con neoplasias malignas. Un punto en común con los diferentes autores es la mejoría en los resultados de pacientes a quienes se agregó clorhidrato de metformina como parte de su tratamiento. Los estudios en neoplasias hematológicas aún son pocos, por lo que se requieren más ensayos para corroborar que agregar metformina al tratamiento quimioterápico es benéfico.

REFERENCIAS

1. Tirado-Gómez L, Mohar-Betancourt A. Epidemiología de las neoplasias hemato-oncológicas. *Cancerología* 2007;2:109-120.
2. Bassan R, Hoelzer D. Modern therapy of acute lymphoblastic leukemia. *J Clin Oncol* 2011;29 (5):532- 543.
3. Olaiz- Fernández G, Rojas R, Aguilar-Salinas CA, Rauda J, Villalpando S. Diabetes mellitas en adultos mexicanos. Resultados de la Encuesta Nacional de Salud 2000. *Salud Publica Mex* 2007;49(S3):5331-5337.
4. Bo S, Ciccone G, Rosato R, Villos P, Appendino G, Ghigo E, et al. Cancer mortality reduction and metformin. A retrospective cohorte study in type 2 diabetic patients. *Diabetes Obes metab* 2011 [Epub ahead of print].
5. Cebioglu M, Schild HH, Golubnitschaja O. Diabetes mellitas as a risk factor for cancer: stress or viral etiology? *Infect Disord Drug Targets* 2008;8(2):76-87.
6. Nagel JM, Staffa J, Renner-Muller I, Horts D, Vogeser M, Langkamp M, et al. Insulin Glargine and NPH Insulin increase to a Similar Degree Epitelial Cell Proliferation and Aberrant Crypt Foci Formation in Colons of Diabetic Mice. *Horm cancer* 2010;1(6):320-330.
7. Chang CH, Toh S, Lin JW, Chen ST, Kuo CW, Chuang LM, et al. Cancer risk Associated with Insulin Glargine hmong Adult type 2 Diabetes Patients- A Nationwide Cohort study. *PLoS One* 2011;6(6): e21368 [Epub ahead of print].
8. Schmidt S, Rainer J, Riml S, Pioner C, Jesacher S, et al. Identification of glucocorticoid-response genes in children with acute lymphoblastic leukemia. *Blood*.2008;107:2061-2069.
9. Mancini M, Scappaticci D, Cimino G, Nanni M, Derme V, Elia L, et al. A comprehensive genetic classification of adult acute lymphoblastic leukemia (ALL):analysis of the GIMEMA 0496 protocol. *Blood* 2005;105:3434-3441.
10. Jabbour E, Faderl S. Adult acute lymphoblastic leukemia. *Mayo Clinic Proceedings* 2005;80(11):1517.
11. Rabin KR, Poplack DG. Management strategies in acute lymphoblastic leukemia. *Oncology* 2011;25(4): 328-335.
12. Fullmer A, Kantarjian H, Cortes J, Jabbour E. New developments in the treatment of chronic myeloid leukemia and Philadelphia- positive acute lymphoblastic leukemia. *Leuk Lymphoma* 2011;52(S1):81-91.
13. Evangelisti C, Ricci F, Tazzari P, Tabellini G, Battistelli M, Falcieri E, et al. Targated inhibition of mTORC1 and mTORC2 by active-site mTor inhibitors has cytotoxic effects in T-cell acute lymphoblastic leukemia. *Leukemia* 2011;25(5):781-791.
14. Mullihgan CG. New strategies in acute lymphoblastic leukemia: translating advances in genomics into clinical practice. *Clin Cancer Resp* 2011;17(3):396-400.
15. Sun G, Kashyap SR. Cancer risk in type 2 diabetes mellitus: metabolic links and therapeutic considerations. *J Nutr Metab* 2011;270-281.
16. Shiratsuchi I, Akagi Y, Kawahara A, Kinugasa T, Romeo K, Yoshida T, et al. Expression of IGF-1 and IGF-1R and their relation to clinicopathological factors in colorectal cancer. *Anticancer Res* 2011;31(7): 2541-2545.
17. Liao S, Li J, Wei W, Wang L, Zhang Y, Li J, et al. Association between Diabetes Mellitus and Breast Cancer Risk: a Meta-analysis of the literature. *Asian Pac J Cancer Prev* 2011;12(4):1061-1065.
18. Li CI, Daling JR, Tang MT, Malone KE. Relationship between diabetes and risk of second primary contralateral breast cancer. *Breast Cancer Res Treat.* 2011;125(2):545-551.
19. Yang YX, Hennessy S, Lewis JD. Insulin therapy and colorectal cancer risk among type 2 diabetes mellitus patients. *Gastroenterology* 2004;127(4):1044-1050.
20. Drzewoski J, Drozdowska A, Sliwińska A. Do we have enough data to confirm the link between antidiabetic drug use and cancer development? *Pol Arch Med Wewn* 2011;121(3):81-87.
21. Teng JA, Hou RL, Li DL, Yang RP, Qin J. Glargine promotes proliferation of breast adenocarcinoma cell line MCF-7 via AKT activation. *Horm Metab Res* 2011;43(8):519-523.
22. Schott S, Bierhaus A, Schuetz F, Beckhove P, Schneeweiss A, Sohn C, Dom. Therapeutic effects of metformin in breast cancer: involvement of the immune system?. *Cancer Immunol Immunother.* 2011;60(9):1221-1225.
23. Dowling RJ, Goodwin PJ, Stambolic V. Understanding the Benefit of metformin use in cancer treatment. *BMC Med* 2011; 9:33.
24. Micic D, Cvijovic G, Trajkovic V, Duntas LH, Polovina S. Metformin: its emerging role in oncology. *Hormones* 2011;10 (1):5-15.
25. Jalving M, Gietema JA, Lefrandt JD, de Jong S, Reyners AK, Gans RO, et al. Metformin: taking away the candy for cancer? *Eur J Cancer* 2010;46(1): 2369- 2380.
26. Hirsch HA, Iliopoulos D, Tschichlis PN, Struhl K. Metformin selectively targets cancer stem cell, and acts together with chemotherapy to block tumor growth and prolong remission. *Cancer Res* 2009;69(19): 7507-7511.
27. Iliopoulos D, Hirsch HA, Struhl K. Metformin decreases the dose of chemotherapy for oprolonging tumor remission in mouse xenografts involving multiple cancer cell types. *Cancer Res* 2011;71(9):3196-3201.