

Universidade Federal de Minas Gerais

Instituto de Ciências Biológicas

Departamento de Farmacologia

Especialização em Farmacologia

**Metformina: revisão dos usos clínicos e potencial para
tratamento da Pré-eclâmpsia**

Belo Horizonte

2020

RENATA COALHO TEIXEIRA

**Metformina: revisão dos usos clínicos e potencial para
tratamento da Pré-eclâmpsia**

Trabalho de conclusão de curso, como requisito parcial para obter o título de Especialista em Farmacologia apresentado ao Departamento de Farmacologia da Universidade Federal de Minas Gerais

Orientador: Prof. Dr. Marcelo Rizzatti Luizon

Belo Horizonte

2020

043

Teixeira, Renata Coelho.

Metformina: revisão dos usos clínicos e potencial para tratamento da pré-eclâmpsia [manuscrito] / Renata Coelho Teixeira. – 2020.

56 f. : il. ; 29,5 cm.

Orientador: Prof. Dr. Marcelo Rizzatti Luizon.

Trabalho de conclusão de curso, como requisito parcial para obter o título de especialista em Farmacologia apresentado ao Departamento de Farmacologia da Universidade Federal de Minas Gerais.

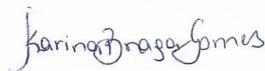
1. Farmacologia. 2. Gravidez. 3. Pré-Eclâmpsia. 4. Diabetes Mellitus. 5. Metformina/ uso terapêutico. I. Luizon, Marcelo Rizzatti. II. Universidade Federal de Minas Gerais. Instituto de Ciências Biológicas. III. Título.

CDU: 615

METFORMINA: REVISÃO DOS USOS CLÍNICOS E POTENCIAL PARA TRATAMENTO DA PRÉ-ECLÂMPSIA

Renata Coalho Teixeira

Monografia de Especialização defendida e aprovada, no dia **25 de agosto de 2020**, pela Banca Examinadora constituída pelos seguintes professores:



PROF^ª. DR^ª KARINA BRAGA GOMES BORGES
UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS



MA. DANIELA ALVES PEREIRA
UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS



PROF. DR. MARCELO RIZZATTI LUIZON
UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
ORIENTADOR

Curso de Especialização em Farmacologia
Instituto de Ciências Biológicas - Universidade Federal de Minas Gerais -
UFMG

Belo Horizonte, 25 de agosto de 2020

RESUMO

A pré-eclâmpsia (PE) é conhecida como a doença de herança multifatorial e de patogênese não totalmente elucidada. É caracterizada pelo aumento da pressão arterial associada a proteinúria ou lesão de órgãos maternos geralmente após a 20ª semana de gestação. A metformina é um fármaco de primeira escolha para o diabetes *mellitus* tipo 2 (DM2) e tem sido associado a outros efeitos terapêuticos como prevenção e tratamento da PE. Evidências demonstram a ação da metformina sobre a produção de tirosina quinase-1 solúvel do tipo fms (sFlt-1) e endoglina solúvel (sEng), melhora da disfunção endotelial, melhora da angiogênese, regulação na cadeia de transporte de elétrons mitocondrial e regulação de proteína quinase ativada por AMP (AMPK). Todos estes fatores têm sido associados à PE. O presente trabalho teve por objetivo pesquisar na literatura científica sobre o histórico e características gerais da metformina, seus uso em DM2, diabetes *mellitus* gestacional, síndrome do ovário policístico, hirsutismo, doença hepática gordurosa não-alcoólica, bem como os efeitos antitumoral, antienvhecimento, protetor cardiovascular e neuroprotetor da metformina. O foco principal foi em mecanismos conhecidos sobre a fisiopatologia da PE e nos achados que suportam o potencial uso da metformina para a prevenção e tratamento da PE. Evidências do efeito da metformina sobre a PE são demonstradas em vários estudos, entretanto, mais pesquisas precisam ser realizadas para se compreender a patologia da PE e os mecanismos de ação da metformina.

Palavras-chave: gravidez, metformina, pré-eclâmpsia, diabetes, usos clínicos

ABSTRACT

Preeclampsia (PE) is known as the multifactorial inheritance disease and the pathogenesis is not fully elucidated. It is characterized by an increase in blood pressure associated with proteinuria or damage to maternal organs, usually after the 20th week of pregnancy. Metformin is a drug of choice for type 2 diabetes mellitus (DM2) and has been associated with other therapeutic effects such as prevention and treatment of PE. Evidence demonstrates the action of metformin on the production of soluble tyrosine kinase-1 type fms (sFlt-1) and soluble endogline (sEng), improvement of endothelial dysfunction, improvement of angiogenesis, regulation of the mitochondrial electron transport chain and regulation of AMP-activated protein kinase (AMPK). All of these factors have been associated with PE. This study aimed to search the scientific literature on the history and general characteristics of metformin, its use in DM2, gestational diabetes mellitus, polycystic ovary syndrome, hirsutism, non-alcoholic fatty liver disease, as well as the anti-tumor, anti-aging effects, cardiovascular protector and metformin neuroprotector. The main focus was on known mechanisms on the pathophysiology of PE and on the findings that support the potential use of metformin for the prevention and treatment of PE. Evidence of the effect of metformin on PE is demonstrated in several studies, however, more research needs to be carried out to understand the pathology of PE and the mechanisms of action of metformin.

Key words: pregnancy, metformin, preeclampsia, diabetes, clinical uses

LISTA DE ABREVIATURAS

ADP	Adenosina difosfato
AMPK	Proteína quinase ativada por AMP
ATP	Adenosina trifosfato
AT1	Receptor de angiotensina
CO	Monóxido de carbono
cGMP	Monofosfato de guanosina cíclico
DHGNA	Doença hepática gordurosa não-alcoólica
DM2	Diabetes <i>mellitus</i> tipo 2
DMG	Diabetes <i>mellitus</i> gestacional
DNA	Ácido desoxirribonucleico
EBl3	Epstein-Barr vírus induzido 3
ET1	Endotelina 1
FDA	<i>Food and Drug Administration</i>
G6P	Glicose-6-fosfatase
GLP-1	Peptídeo 1 tipo glucagon
GLUT4	Transportador de glicose 4
HIF1 α	Fator induzível por hipóxia 1 alfa
HIF2 α	Fator induzível por hipóxia 2 alfa
H ₂ S	Sulfeto de hidrogênio
HELLP	Hemólise, aumento das enzimas hepáticas e plaquetopenia
HMG-CoA redutase	3-hidroxi-3metilglutaril coenzima A
HO	Heme oxigenase
HO-1	Heme oxigenase isoforma induzível
HO-2	Heme oxigenase isoforma constitutiva
IFN	Interferon
IGF-1	Fator de crescimento tipo insulina 1
IL-6	Interleucina 6
IL-12	Interleucina 12
IL-27	Interleucina 27

LDL	Lipoproteína de baixa densidade
LKB1	Proteína quinase hepática B1
MATE 1	Proteína de extrusão de fármacos e toxinas 1
MATE 2	Proteína de extrusão de fármacos e toxinas 2
MILES	<i>Metformin in Longevity Study</i>
MMPs	Metaloproteinases de matriz
mTOR	Proteína alvo de rapamicina em mamíferos
NADH	Nicotinamida adenina dinucleotídeo
NOS3	Sintase óxido nítrico 3
OCT1	Transportador de cátions orgânicos 1
OCT2	Transportador de cátions orgânicos 2
ONOO ⁻	Peroxinítrico
OMS	Organização Mundial de saúde
<i>OPA-1</i>	Gene relacionado a atrofia ótica 1
PE	Pré-eclâmpsia
PEPCK	Fosfoenolpiruvato carboxiquinase
PI	Fosfato inorgânico
PIGF	Fator de crescimento placentário
PMAT	Transportador de monoamina membrana plasmática
RNA	Ácido ribonucleico
sENG	Endoglina solúvel
sFit-1	Tirosina quinase-1 solúvel do tipo fms
SOP	Síndrome do Ovário Policístico
<i>SREBP-1</i>	Proteína de ligação reguladora de esterol 1
<i>SREBP-1c</i>	Proteína de ligação reguladora de esterol 1c
TCD4	Linfócito T-helper possui receptor CD4
TGFβ	Fator de transformação do crescimento beta
TNF-α	Fator de necrose tumoral alfa
UCA1	Gene Urotelial associado ao câncer
VCMA-1	Molécula de adesão celular vascular-1
VEGF	Fator de crescimento endotelial vascular
VLDL	Lipoproteína de muito baixa densidade

SUMÁRIO

1. Introdução.....	7
2. Objetivo.....	9
2.1 Objetivo Geral	9
2.2 Objetivos Específicos.....	9
3. Justificativa.....	10
4. Metodologia.....	11
5. Revisão Bibliográfica.....	12
5.1 Metformina	12
5.1.1 Histórico.....	12
5.1.2 Características Gerais da Metformina	14
5.1.2.1 Características físico-químicas da Metformina.....	14
5.1.2.2 Farmacocinética.....	15
5.1.2.3 Farmacodinâmica.....	15
5.1.2.4 Efeitos adversos.....	16
5.2 Efeitos e Usos da Metformina.....	17
5.2.1 DM2.....	17
5.2.2 DMG.....	17
5.2.3 Síndrome do Ovário Policístico.....	18
5.2.4 Hirsutismo.....	18
5.2.5 DHGNA.....	19
5.2.6 Antitumoral.....	19
5.2.7 Antienvelhecimento.....	20
5.2.8 Protetor cardiovascular.....	20
5.2.9 Neuroprotetor.....	21
5.3 Pré-eclâmpsia (PE).....	22

5.3.1 Mecanismos conhecidos sobre a fisiopatologia da PE.....	24
5.3.2 Tratamento da PE	28
5.4 Metformina para PE.....	30
6. Conclusão.....	36
Referências Bibliográficas.....	37

INTRODUÇÃO

A metformina é uma biguanida derivada da galegina, extraída da planta *Galega officinalis* (Bailey, 2017). Foi sintetizada em 1922, dentre várias biguanidas (Pryor e Cabreiro, 2015). Somente em 1945 foi aprovada pelo FDA (Rang e Dale, 2016). De acordo com as diretrizes da Associação Americana de Diabetes e a Associação Europeia é o fármaco de primeira escolha para pacientes com DM2. Ao longo dos anos, vários estudos têm demonstrado outras potenciais indicações da metformina, tais como agente anticâncer (Gandini et al., 2014; Zhao et al., 2020), agente antienvhecimento (Soukas et al., 2019; Salvatore et al., 2020), protetor cardiovascular (Hong et al., 2013), agente neuroprotetor (Cheng et al., 2014), para o tratamento da SOP (Patel and Shah, 2017) e prevenção e tratamento da PE (Brownfoot et al., 2016).

A PE é a terceira principal causa de morte materna no mundo. Segundo a OMS é estimada 76.000 mortes maternas anuais por PE, o que corresponde a 16% das mortes maternas mundial, sendo a maioria ocorrendo em países de baixa e média renda (Khan et al., 2006; Ronsmans et al., 2006). É definida como uma desordem materna caracterizada por hipertensão e ocorre geralmente após a 20ª semana de gestação. Quando não tratadas, as gestantes com PE podem apresentar sérias complicações, como eclâmpsia, lesão no fígado, acidente vascular cerebral, insuficiência renal ou edema pulmonar e problemas potencialmente fatais (Souza et al., 2013).

A Metformina é considerada segura para gestantes e um fármaco promissor para tratamento e prevenção da PE, por ter mostrado efeitos na redução da secreção de sFlt-1 e sEng de células endoteliais e trofoblastos (Brownfoot et al., 2016), redução de características associados a PE como a resistência à insulina e diminuição da disfunção endotelial (Agatista et al., 2004; Catalano et al., 2012). É considerado um ativador de AMPK, o que é importante porque a redução da atividade da via AMPK está relacionada na patogênese da PE (Banek et al., 2013; Skeffington et al., 2016). A Metformina age nas mitocôndrias reduzindo possíveis disfunções relacionadas a patogênese da PE (Brownfoot et al., 2016). Por estas indicações a metformina tem sido estudada para PE.

Este trabalho faz uma breve explicação sobre a metformina, seus possíveis usos e o potencial no tratamento e prevenção da PE. Tendo como principal foco revisar artigos e livros a respeito dos mecanismos da metformina para prevenção e tratamento da PE e possíveis usos em outras patologias. Pelo seu potencial farmacológico a metformina é pesquisada para diversas outras disfunções. A metformina é um fármaco promissor como alternativa para prevenção e tratamento da PE, podendo se tornar uma importante opção farmacológica futura.

2 OBJETIVO

2.1 Objetivo Geral

Realizar uma revisão de literatura sobre a utilização de metformina na prevenção e tratamento da PE;

2.2 Objetivos Específicos

Buscar dados na literatura científica sobre os usos e efeitos da metformina;

Identificar possíveis vias relacionadas a fisiopatologia da PE;

Descrever possíveis vias de ação da metformina para PE.

3 JUSTIFICATIVA

É estimado que a PE leve à morte anual de 76.000 mulheres grávidas e 500.000 crianças no mundo (Khan et al., 2006). Está entre as principais causas de morte materna no Brasil e no mundo. Atinge cerca de 10% das gestantes em todo o mundo e nos países em desenvolvimento o índice de mortalidade pode alcançar 16%. Apesar da fase inicial geralmente ser assintomática, a PE pode causar convulsão, sequelas e em casos mais graves levar a morte da gestante. Para a criança as consequências podem ser nascimento prematuro, sequelas e a morte. A antecipação do parto e consequente retirada da placenta representa um dilema clínico difícil no ambiente de PE. Esta opção é realizada para se evitar a progressão da doença e maior morbidade materna, porém, pode ocasionar prematuridade grave no feto.

Conforme recomendado pela OMS, os tratamentos atuais se baseiam em uso de ácido acetilsalicílico, anti-hipertensivos ou sulfato de magnésio, que são importantes, mas não garantem estabilidade e prolongamento da gestação. A metformina é o fármaco mais utilizado para tratamento da DM2 e apresenta evidências para tratamento e prevenção da PE, além de ter se mostrado um fármaco seguro para grávidas. Grande número de mulheres são atendidas em condições graves na PE. O estudo dos mecanismos de ação da metformina é fundamental para busca de um possível tratamento efetivo para PE.

4 METODOLOGIA

Nesta revisão bibliográfica foram realizadas pesquisas de artigos científicos nos seguintes sites: Scielo, PubMed e Portal Capes. As palavras-chave utilizadas foram: metformina, gravidez e PE. Não foram definidos critérios de seleção quanto ao ano de publicação e quantidade dos artigos. Foram consideradas publicações na língua inglesa, portuguesa, francesa e espanhola.

Inicialmente foram escolhidos artigos, teses, dissertações, livros e realizada leitura para verificação da relação com o tema. Posteriormente foram selecionadas publicações que continham informações sobre os diversos usos da metformina como em diabetes, conceito de PE e uso da metformina na PE. Ao término destas etapas foram selecionadas publicações para darem embasamento ao trabalho. Todas as publicações selecionadas estão descritas nas Referências Bibliográficas.

5 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

5.1 Metformina

5.1.1 Histórico

A metformina é um medicamento derivado da planta *Galega officinalis* (Rang e Dale, 2016). Algumas das nomenclaturas populares desta planta são rua de cabra, índigo falso, erva daninha e lilás francês (Bailey e Day, 1989). *Galega Officinalis* foi tradicionalmente utilizada na Europa Medieval e ficou reconhecida por ser uma galactogoga em animais, por isso a denominação “Galega” que significa em grego estimulante do leite. Esta planta tinha benefícios atribuídos contra vermes, epilepsia, febre e peste, descritos no *Culpeper’s complete herbal* datado de 1953 (revisado em (Bailey, 2017)). Para John Hill em 1772 era recomendada no tratamento de incontinência urinária.

Figura 1: *Galega officinalis*



Fonte: Bailey C.J. Diabetologia, 2017

A partir do século XIX, análises da *Galega Officinalis* demonstraram alta concentração de guanidina e compostos relacionados. Em 1918 foi evidenciada a ação da guanidina em reduzir a glicose em sangue de animais e, após 1920 e nos anos seguintes, seus derivados monoguanidina (galegina) e diguanidina (sintalina) também evidenciaram esta redução. Entretanto, logo foi observada a toxicidade destes compostos (revisado em (Bailey, 2017)). Com a síntese da insulina em 1921 seu uso foi ofuscado (Okonkwo, 2017).

As primeiras preparações da guanidina datam com os experimentos de Adolph Strecker entre 1840 e 1860, seguido por Bernhard Rathke em 1879, estes trabalhos resultaram na formação das biguanidas, com a fusão de duas guanidinas. Estas pesquisas foram base para síntese da metformina, seu composto químico corresponde ao dimetilbiguanida que foi sintetizado pela primeira vez em 1922 por Walter e Bell (Pryor e Cabreiro, 2015). Entretanto, somente em 1929, os pesquisadores Hesse, Taubmann, Slotta e Tschesche, demonstraram o efeito das biguanidas na redução da glicose em sangue de coelhos e cachorros. Devido as altas doses necessárias para alcançar a diminuição nos níveis de glicose estudos não foram desenvolvidos por décadas (revisado em (Bailey, 2017)).

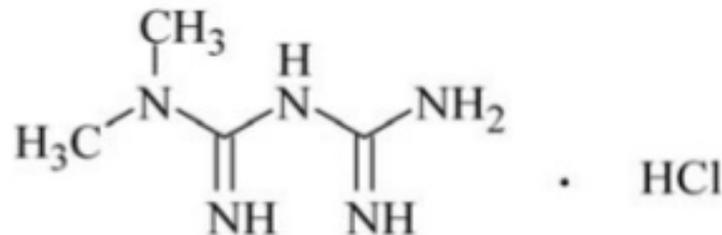
Na década de 1940 foi desenvolvida a proguanila um agente antimalárico a base de guanidina, que demonstrou efeitos na redução da glicose no sangue de animais (Chen e Anderson, 1947). Na busca por novos agentes antimaláricos, testes realizados na Filipina por Eusebio Garcia, em 1949, modificando a molécula da proguanila para metformina, demonstraram ação no tratamento contra influenza. A metformina como agente anti-influenza foi chamada de flumamina e pode-se verificar nos pacientes tratados uma tendência a diminuição nos níveis de glicemia (revisado em (Bailey, 2017)).

Em 1956 o médico e cientista francês Jean Sterne avaliou a evidência em torno da flumamina e começou uma grande pesquisa sobre a farmacodinâmica dos compostos à base de guanidina. Sterne juntamente com sua equipe selecionaram a metformina para estudo na clínica de diabetes. Estudos iniciais indicaram que a metformina poderia substituir a necessidade de insulina em alguns indivíduos com diabetes e reduzir a dose em outros, mas não eliminaria a necessidade da insulina no início da adolescência. Jean Sterne publicou em 1957 suas descobertas em um artigo que é reconhecido como um marco para o tratamento de diabetes com metformina. Sterne anunciou como propriedade da metformina, como *Glucophage* o composto “comedor de glicose” e desde então, tem sido utilizada para tratamento de diabetes (revisado em (Bailey, 2017)).

5.1.2 Características Gerais da Metformina

5.1.2.1 Características físico-químicas da Metformina

Figura 2. Estrutura molecular do cloridrato de metformina



Fonte: Farmacopeia Brasileira, 2010

O cloridrato de metformina é obtido pela fusão de duas moléculas de guanidina (Filizola et al., 1995). Com o objetivo de evitar a formação de metabólitos potencialmente tóxicos e para aumentar a estabilidade foram substituídas duas moléculas de hidrogênio por grupos metila (Hollenbeck et al., 1991). Em condições fisiológicas a forma predominante da molécula é protonada no grupo amino central: $[(CH_3)_2NC(=NH_2^+)NHC(=NH)NH_2]$ (Hariharan et al., 1989). A fórmula molecular da metformina $C_4H_{11}N_5HCL$ corresponde a uma dimetilbiguanida, quimicamente N,N-dimetilbiguanida. É um pó branco, cristalino, com sabor amargo, quase inodoro e possui características higroscópicas (Sirtori e Pasik, 1994).

Tabela 1. Características físico-químicas da Metformina

Peso molecular na forma de cloridrato de metformina (base)	165,6 (129,2)
Solubilidade Álcool	1:100
Água	1:2
Acetona, cloreto de metileno, éter etílico e clorofórmio	Praticamente insolúvel
Faixa de Fusão	222 a 226 °C

Fonte: Farmacopeia Brasileira, 2010

5.1.2.2 Farmacocinética

O cloridrato de metformina é administrado via oral e é absorvido principalmente pelo intestino delgado, com biodisponibilidade de 70% a 80%. (Goodman e Gilman, 2019). No epitélio intestinal a absorção da metformina ocorre na borda em escova e é um substrato importante da proteína PMAT. O transporte da metformina no fígado é mediado pelo transportador OCT1 e no rim pelo transportador OCT2 (Zhou et al., 2007; Takane et al., 2008).

A metformina possui uma meia-vida de cerca de 3 horas (Rang e Dale, 2016). Este fármaco circula de forma livre e é pouco metabolizado. A fração ligada às proteínas plasmáticas é insignificante, sua distribuição ocorre rapidamente para os tecidos periféricos e mais lentamente em eritrócitos (Nolte e Karan, 2006). São observadas altas concentrações da metformina no intestino, fígado, rins e na bexiga, e ocorre uma pequena acumulação nos músculos (Gormsen et al., 2016).

Em reações de fase II apresenta taxa de biotransformação de cerca de 10%, com metilação ou alquilação dos hidrogênios terminais dos grupamentos amina. O *clearance* é em média 400 mL/min, em uma pessoa sadia, indicando filtração glomerular seguida por secreção tubular (Branchtein e Matos, 2004). A excreção da metformina ocorre de forma inalterada na urina e sua liberação é feita por proteínas de extrusão de múltiplos fármacos e toxinas, chamadas de MATE1/2 (Goodman e Gilman, 2019).

5.1.2.3 Farmacodinâmica

Os alvos moleculares em que a metformina age ainda são pouco claros, mas os efeitos bioquímicos são bem esclarecidos. Sua ação promove redução da produção da glicose hepática, aumento na captação de glicose, redução na absorção de carboidratos no intestino, aumento da oxidação de ácidos graxos e redução de LDL e VLDL (Rang e Dale, 2016). O principal efeito da metformina é a redução da síntese de glicose hepática ao inibir o complexo I da cadeia respiratória mitocondrial (Viollet e Foretz, 2013). Essa redução de energia ativa a AMPK, uma importante proteína quinase (Towler e Hardie, 2007). AMPK é uma proteína que atua em diversos órgãos no metabolismo de lipídeos e glicose (Carling, 2004).

No fígado a redução da gliconeogênese ocorre com a ativação da AMPK que gera a transcrição das enzimas PEPCK e G6P (Lochhead et al., 2000; Cool et al., 2006). A fosforilação da AMPK é modulada pelo transportador OCT1 que possui papel fundamental neste processo (Shu et al., 2007). Ocorre pela ativação da AMPK a supressão da atividade dos genes *SREBP-1* e *SREBP-1c* relacionados a dislipidemias, DM2 e resistência à insulina (Zhou et al., 2001). A acetil-CoA carboxilase e a HMG-CoA redutase são inibidas com a ativação da AMPK, estas enzimas são fundamentais no processo de síntese de colesterol e triglicerídeos (Henin et al., 1995; Viollet et al., 2009).

No hipotálamo a metformina inibe a fosforilação do AMPK reduzindo a expressão do neuropeptídeo-Y (Chau-Van et al., 2007) e a proteína conexa agouti obtendo efeitos anoréxicos (Minokoshi et al., 2004). No músculo ocorre ativação da AMPK gerando aumento na oxidação de ácidos graxos (Dzamko e Steinberg, 2009). No músculo, a metformina promove aumento da glicose nas células devido ao aumento do consumo de glicose com a translocação do transportador GLUT4 para membrana plasmática e atividade da hexoquinase (Zhou et al., 2001).

5.1.2.4 Efeitos adversos

A metformina é um agente anti-hiperglicemiante, mas não causa hipoglicemia, seus eventos indesejáveis mais comuns são distúrbios gastrointestinais como náuseas, indigestão, cólicas ou distensão abdominais ou diarreias (Goodman e Gilman, 2019). O uso a longo prazo pode causar a redução nos níveis sanguíneos de vitamina B12. A acidose láctica não é comumente relatada, mas pode ser um efeito tóxico com potencial fatal (Rang e Dale, 2016).

5.2 Efeitos e usos da Metformina

A metformina é a única biguanida utilizada na prática clínica e o fármaco de primeira escolha para o tratamento da DM2 (Rang e Dale, 2016). Estudos indicam que a metformina retarda a progressão da diabetes em pré-diabéticos, e deve ser utilizada para tratamento de diabetes gestacional (Rowan et al., 2008; Hostalek et al., 2015).

Com pesquisas adicionais do efeito clínico e mecanismos de ação da metformina possíveis indicações foram ampliadas ao efeito antitumoral (Gandini et al., 2014; Zhao et al., 2020), como agente antienvhecimento (Soukas et al., 2019;

Salvatore et al., 2020), como protetor cardiovascular (Hong et al., 2013), como agente neuroprotetor (Cheng et al., 2014) e para tratamento da síndrome do ovário policístico (Patel and Shah, 2017) e prevenção e tratamento da PE (Brownfoot et al., 2016).

5.2.1 DM2

A principal característica do DM2 é a hiperglicemia crônica, ocorre deficiência na secreção e ação da insulina. O DM2 ocorre quando a ação da insulina não é suficiente para manter os níveis de glicose dentro da faixa normal. O sobrepeso e a obesidade acometem cerca de 80% dos pacientes com DM2. Acredita-se que o DM2 se desenvolva no decorrer dos anos de forma gradual por evolução de um estágio pré-diabético verificado (Goodman e Gilman, 2019).

A metformina é o fármaco de primeira escolha e atualmente o agente oral mais utilizado para o tratamento do DM2. Apresenta eficácia superior ou equivalente, quando comparada a outros fármacos orais utilizados para DM2, para diminuição dos níveis de glicose (Goodman e Gilman, 2019). A metformina no tratamento de DM2 pode promover a diminuição dos níveis de glicose, melhora na resistência periférica à insulina, perda de peso e aumento na secreção de GLP-1 pelas células intestinais (Mulherin et al., 2011).

5.2.2 DMG

O DMG é diagnosticado durante a gravidez e definida com o aumento da glicemia acima dos níveis normais, associada a eventos adversos na gravidez como macrossomia fetal, natimorto, distúrbios metabólicos neonatais e outros problemas relacionados (American Diabetes, 2013). A metformina tem sido cada vez mais utilizada no tratamento do DMG, demonstrando menores taxas de hipoglicemia neonatal e quando comparada a insulina não gera algum risco de desfecho adverso materno (Priya e Kalra, 2018). Este fármaco atua como terapia adjuvante em mulheres grávidas obesas ou acima do peso, reduzindo a produção de glicose no fígado, melhorando a absorção de glicose nas células musculares lisas e conseqüentemente a saúde metabólica das mulheres durante a gravidez (Kirpichnikov et al., 2002). Os efeitos adversos da metformina são incomuns, fundamental para o uso por grávidas (Gilbert et al., 2006; Hawthorne, 2006).

5.2.3 SOP

A SOP é um distúrbio metabólico e endócrino com incidência maior em mulheres na fase reprodutiva, caracterizada por hiperandrogenismo, disfunção ovulatória, oligomenorreia ou amenorreia e ovários policísticos. Responsável por cerca de 70% dos casos de infertilidade por anovulação (Pereira et al., 2015). O mecanismo terapêutico da metformina pode estar relacionado ao aumento da sensibilidade à insulina, aumento da secreção ovariana de estrogênio, diminuição da produção ovariana de androgênio (Moggetti et al., 2000). Uma revisão da Cochrane de ensaios clínicos controlados e randomizados revelou que a metformina melhorou as taxas de ovulação e de gravidez quando comparada ao placebo ou a nenhum tratamento em mulheres com SOP (Tang et al., 2012).

5.2.4 Hirsutismo

O hirsutismo é caracterizado pela presença de pelos terminais em mulheres, em um padrão masculino, geralmente causado pelo excesso de androgênio (hiperandrogenismo). Como primeira escolha terapêutica o uso de anticoncepcionais e antiandrogênios, podendo em quadros leves a monoterapia com contraceptivos ser efetiva (Martin et al., 2008). A metformina surge como alternativa na impossibilidade de uso do anticoncepcional oral, para distúrbios metabólicos e distúrbios menstruais (Cosma et al., 2008). A metformina age nas células tecais ovarianas, diminuindo a síntese andrógena (Hashim, 2016).

5.2.5 DOENÇA HEPÁTICA GORDUROSA NÃO-ALCOÓLICA

A DHGNA é caracterizada pelo acúmulo de gordura no fígado, sendo a maior causa assintomática de aumento nos níveis de transaminases. A dislipidemia, a obesidade e a DM2 são as principais causas de DHGNA (Akyuz et al., 2007). O uso da metformina para DHGNA ainda é controverso. Dentre as várias pesquisas, uma encontrou associação efetiva entre o uso de metformina e redução das transaminases (Bugianesi et al., 2005). Ainda não existem estudos conclusivos (Haukeland et al., 2009).

5.2.6 Antitumoral

O possível efeito antitumoral da metformina atraiu vários pesquisadores. Primeiramente Wu et al. identificaram elementos em uma via genética que demonstrou efeitos antitumorais da metformina, dentre eles o complexo de poro nucleares que facilita a passagem de moléculas para dentro e fora do núcleo e uma enzima acetil-COA. A supressão da capacidade respiratória mitocondrial causada pela metformina, reduz a energia nas células, inativa uma importante molécula de crescimento mTORC1 e induz a transcrição de uma enzima acetil-COA. Esse processo prolongou a vida útil de *Caenorhabditis elegans* (Wu et al., 2016).

As células cancerígenas geralmente absorvem muita glicose. Ao reduzir os níveis de glicose, a metformina pode inibir o crescimento tumoral por interromper o suprimento (Morales e Morris, 2015). Este fármaco pode reduzir os níveis de IGF-1 e insulina, que são potenciais fatores de crescimento celular para progressão do câncer (Gallagher e LeRoith, 2011). A ativação da AMPK é importante para preservação de energia (Chiang e Abraham, 2007), redução da lipogênese (Zhou et al., 2001), diminuição da angiogênese (Ersoy et al., 2008), inibição de citocinas pró-inflamatórias (Hirsch et al., 2013) e aumento de linfócitos CD8 (Eikawa et al., 2015). Faltam evidências clínicas para atividade antitumoral da metformina, entretanto, vários estudos relatam efeito em diferentes tumores como de ovário (Mazzone et al., 2012), mama (Lega et al., 2013) e próstata (Margel et al., 2013).

5.2.7 Antienvelhecimento

A metformina tem se destacado como possível agente terapêutico para envelhecimento (Salvatore et al., 2020). Cabreiro et al. descobriram o aumento da vida útil em *C. elegans* com o uso da metformina (Cabreiro et al., 2013). Martin-Montalvo et al. relataram que a metformina proporcionou o aumento de 4% a 6% na vida útil em diferentes ratos (Martin-Montalvo et al., 2013). O prolongamento da vida útil estaria relacionado a inibição do crescimento mediado pelo complexo de poro nucleares e a enzima acetil-COA (Wu et al., 2016). Especificamente, para o efeito antienvelhecimento, a metformina diminui a síntese endógena de espécies reativas do oxigênio (Bridges et al., 2014).

Recentemente, Kulkarni et al. relataram a primeira evidência direta de que a metformina exerce efeitos específicos em tecidos na expressão de genes humanos metabólicos e não metabólicos relacionados ao envelhecimento (Kulkarni et al., 2018). O *MILES* é um estudo clínico cruzado, duplo-cego, controlado por placebo, realizado em 2014 com 14 participantes humanos que buscou verificar se 1.700 mg/dia de metformina poderia restaurar a expressão gênica em idosos com tolerância a glicose diminuída. O perfil do músculo esquelético e tecido adiposo forneceram a evidência da modulação da metformina sob a expressão gênica. Apesar destas evidências, permanecem questões relevantes, tais como: os efeitos colaterais apresentados pela metformina e se a mesma terá eficácia para envelhecimento em toda a população (Soukas et al., 2019).

5.2.8 Protetor cardiovascular

As complicações cardiovasculares são as principais causas de morte de pacientes diabéticos (Benjamin et al., 2017). De acordo com as diretrizes da Associação Americana de Endocrinologistas clínicos de 2013 a metformina é o único antidiabético indicado para benefício cardiovascular. A metformina auxilia na melhora no metabolismo de lipídeos, reduzindo o nível de LDL pela ativação de AMPK (Xu et al., 2015). Este fármaco foi associado a perda ou menor ganho de peso e o mecanismo considerado foi a diminuição do apetite (Seifarth et al., 2013). Estudos recentes sugerem uma redução da pressão arterial sistólica em pacientes não diabéticos (Zhou et al., 2017). A metformina pode melhorar a função celular endotelial e a resposta inflamatória (Isoda et al., 2006; Wan et al., 2013). Entretanto, uma recente revisão sistemática de ensaios clínicos randomizados comparou a monoterapia com metformina e outras intervenções em adultos com DM2 e não evidenciou melhoras importantes em desfechos clínicos (Gnesin et al., 2020).

5.2.9 Neuroprotetor

Em Cingapura, um estudo realizado por Ng et al., descobriu que o tratamento acima de 6 anos com metformina em pacientes diabéticos tipo 2 está associado ao menor risco de comprometimento cognitivo (Ng et al., 2014). Herath et al., mostraram em comparação a outros tratamentos diabéticos que a metformina apresenta melhor efeito sobre memória de trabalho, função executiva e aprendizagem verbal (Herath et

al., 2016). A ativação da AMPK pela metformina melhora a angiogênese e a neurogênese (Poels et al., 2009; Jiang et al., 2014; Venna et al., 2014). A metformina pode prevenir a disfunção mitocondrial cerebral, melhorar déficits neurológicos e o comprometimento cognitivo (Pintana et al., 2012; Alzoubi et al., 2014; Cheng et al., 2014; Zhao et al., 2014).

5.3 PE

A PE é uma complicação obstétrica caracterizada por hipertensão que ocorre após 20 semanas de gravidez e outras alterações, que podem incluir a proteinúria. A PE pode progredir para disfunções em múltiplos órgãos e está associada com grande morbidade e mortalidade materna e fetal (Phipps et al., 2019). Em 1637, François Mauriceau precursor na especialidade obstétrica, observou o alto risco de convulsões na PE e o aumento do risco dessa complicação em primigestas. Nos anos 1700, Boissier de Sauvages fez importante distinção entre eclâmpsia e epilepsia. A PE foi definida em 1843 por John Lever, que descobriu a presença de albumina na urina de mulheres com PE e por Robert Johns que verificou sintomas como dor de cabeça, alteração da visão, e edema em pacientes acometidos (Bell, 2010).

Em 2014, os critérios para diagnóstico da PE foram alterados pela Sociedade Internacional para Estudo da Hipertensão na Gravidez, inicialmente a proteinúria era requisito de diagnóstico. A PE é definida como hipertensão (pressão arterial sistólica > 140mmHg e diastólica > 90 mmHg, medidas no mínimo duas vezes em um intervalo de 4 a 6 horas, após 20 semanas de gestação, combinada com proteinúria (> 300 mg/dia) ou outras disfunções como insuficiência renal, complicações hepáticas, déficit neurológico ou hematológico, alteração uteroplacentária ou restrição de crescimento fetal (Magee et al., 2014).

Os principais fatores de risco para PE são hipertensão prévia na gravidez, doença renal crônica, diabetes mellitus, distúrbios autoimunes como lúpus eritematoso sistêmico ou síndrome antifosfolípídica (Staff et al., 2013; Bramham et al., 2014). Os fatores de risco moderados são idade igual ou superior a 40 anos, intervalo de gravidez superior a 10 anos, primeira gravidez, histórico familiar de PE, gravidez múltipla e índice de massa corporal igual ou maior que 35 Kg/m² (NICE, 2019). Outros fatores de risco positivos são nuliparidade, fertilização *in vitro*, gravidez molar, Trissomia 13 e abrupção placentária prévia ou restrição intra-uterina de crescimento fetal (Bartsch et al., 2016).

A apresentação clínica da PE é variada (Ananth et al., 2013). Na maioria dos casos, as gestantes são assintomáticas e o diagnóstico ocorre em um exame pré-natal de rotina (von Dadelszen et al., 2011) Gestantes com PE grave podem apresentar sintomas como náusea, vômito, distúrbios epigástricos, dor de cabeça e

distúrbios visuais que podem levar a cegueira (Mol et al., 2016). A PE grave se manifesta como síndrome HELLP, que se caracteriza por anemia hemolítica, trombocitopenia, hipertensão grave, disfunção hepática podendo ou não ocorrer proteinúria (Habli et al., 2009).

A PE grave é caracterizada por pressão arterial $\geq 160/110$ mmHg em duas ocasiões distintas e a presença de um ou mais diagnósticos seguintes, contagem de plaquetas < 100.000 por microlitro, insuficiência hepática verificada pela elevação das enzimas hepáticas até o dobro da concentração normal, dor epigástrica, dor no quadrante superior direito persistente grave, insuficiência renal com nível sérico de creatinina $>1,1$ mg/dl, distúrbios visuais iniciados recentemente, distúrbios cerebrais ou edema pulmonar (American College of et al., 2013).

A disfunção hepática se manifesta com hematoma ou ruptura. Na PE grave pode ocorrer insuficiência renal aguda com a necessidade de diálise. Complicações neurológicas incluem convulsões, encefalopatia posterior reversível, acidente vascular cerebral, déficit neurológico isquêmico reversível, cegueira cortical, descolamento de retina. Nas alterações cardiorrespiratórias estão inclusos edema pulmonar, isquemia ou infarto agudo do miocárdio. Pode ocorrer descolamento da placenta ou coagulação intravascular disseminada (Habli et al., 2009).

Para muitos pesquisadores a PE ocorre em dois estágios. O primeiro processo geralmente entre 14 a 18 semanas de gestação, envolve uma invasão de trofoblastos da artéria uterina espiralada que gera diminuição do fluxo sanguíneo uteroplacentário. A diminuição do fluxo sanguíneo reduz a oxigenação ocasionando desequilíbrio de fatores angiogênicos e antiangiogênicos, liberação de células apoptóticas e detritos de micropartículas do sincíotrofoblasto. Este desequilíbrio prejudica a vascularização placentária e provoca uma resposta inflamatória e endotelial que afeta vários órgãos progredindo para segunda fase da doença (Hromadnikova et al., 2015).

A função placentária alterada no início da gravidez é uma forte hipótese para ocorrência da PE. As alterações associadas à decídua também aparecem na zona de junção no miométrio, seguido de invasão de trofoblastos com remodelação associada (Ng et al., 2006). A falha na remodelação leva à redução do fluxo arterial uteroplacentário e a episódios de perfusão irregular. A Hipoperfusão leva a hipóxia que pode gerar espécies reativas de oxigênio (Burton et al., 2009a). Outras

ocorrências são o estresse oxidativo e à disfunção placentária, estresse do retículo endoplasmático e deficiência na síntese de proteínas (Burton et al., 2009b).

Descobertas patológicas em placentas pré-eclâmpticas evidenciam aterosclerose, deposição de fibrina e infarto, achados compatíveis com hipoperfusão placentária e isquemia (Hecht et al., 2016). Vasculopatia decidual hipertrófica também foi evidenciada, os vasos apresentam lesão crônica com fragmentação e descolamento endotelial, além de necrose fibrinóide e remodelação (Hecht et al., 2017). As artérias radiais do útero se dividem em dois ou mais ramos que desembocam no miométrio ou decídua (artérias basais) ou se abrem no espaço interviloso (artérias espiraladas). Com a abertura no espaço interviloso, os citotrofoblastos invadem as artérias espiraladas no começo da gravidez e induzem necrose fibrinóide das paredes dos vasos (Lyll et al., 2013).

5.3.1 Mecanismos conhecidos sobre a fisiopatologia da PE

Acredita-se que a transformação das artérias espiraladas de pequenos vasos para grandes vasos é fundamental para o aporte do fluxo sanguíneo da placenta. A invasão da decídua resulta em artérias espiraladas estreitas e não dilatadas o que gera hipoperfusão uterina e fluxo sanguíneo anormal para o espaço interviloso (Burton et al., 2009a). Essas evidências foram confirmadas por um estudo que demonstrou grande alteração no remodelamento da artéria espiralada miometrial, prevalente na PE seguida de severa restrição do crescimento fetal (Lyll et al., 2013). Outros estudos demonstraram que na placentação normal os citotrofoblastos diferenciam de uma forma epitelial para endotelial e essa mudança falha na PE (Zhou et al., 1997a; Zhou et al., 1997b).

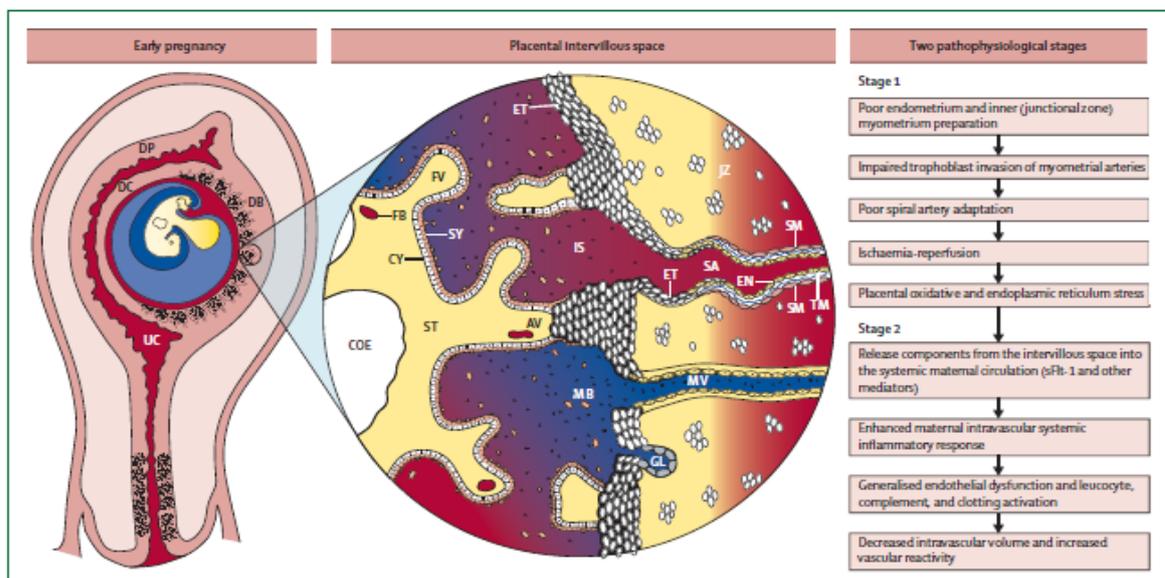
HIF1 α e HIF2 α são produtos de uma via de detecção de oxigênio que regula a expressão de genes induzidos por hipóxia, incluindo óxido nítrico, VEGF e eritropoietina. No primeiro trimestre ocorre aumento na expressão de HIF1 α nas placentas e diminuição em torno de 9 semanas. Níveis constantemente elevados de HIF1 α podem indicar estresse placentário e risco no desenvolvimento da PE (Caniggia et al., 2000). Placentas pré-eclâmpticas apresentam superexpressão de HIF1 α e HIF2 α e falham na regulação da oxigenação (Rajakumar et al., 2003).

HO é uma enzima fundamental no processo de estresse oxidativo na gravidez normal e na patogênese da placentação anormal na PE (Zhao et al., 2009; George et al., 2011). A HO-1 é um importante mediador endógeno do desenvolvimento e regulação placentária (Ahmed et al., 2000). HO-1 e HO-2 produzem biliverdina e CO, a biliverdina é convertida em bilirrubina que apresenta efeitos antioxidantes como inibição da oxidação do LDL e o CO apresenta efeitos de vasodilatação e cardioproteção. Os níveis de HO-1 apresentam-se reduzidos em placentas pré-eclâmpticas (Ahmed et al., 2000).

Os prejuízos no fluxo na placenta podem ser verificados em 12 semanas em grávidas que posteriormente desenvolvem a PE (Plasencia et al., 2007). As causas não definidas do primeiro estágio da PE podem incluir a excessiva ou atípica resposta imune materna dos trofoblastos (Jauniaux et al., 2006) e condicionamento uterino inadequado (Brosens et al., 2009). A hipótese de falha na interação entre dois organismos geneticamente diferentes, obtendo um conflito materno-fetal pode ser relevante (Haig, 1996).

Na **Figura 3** estão demonstrados os estágios fisiopatológicos da PE. No estágio 1 preparações deficientes na zona de junção do miométrio levam a invasão prejudicada dos trofoblastos das artérias miometriais. A adaptação deficiente das artérias espiraladas causa isquemia-reperfusão com estresse oxidativo placentário e do retículo endoplasmático.

Figura 3 – Possíveis processos fisiopatológicos na pré-eclâmpsia



No estágio 2 ocorre liberação de componentes como sFlt-1 e outros mediadores no espaço interviloso da circulação sistêmica materna (Redman e Sargent, 2009), gerando uma resposta inflamatória seguida por disfunção endotelial generalizada, liberação de leucócitos e ativação da coagulação (Myers et al., 2005; Huppertz, 2008). É observada a diminuição do volume intravascular e aumento da reatividade vascular. O segundo estágio da PE corresponde a uma ativação exacerbada do endotélio e um estado de hiperinflamação comparado a gestação normal (Redman et al., 1999). A falta da integridade endotelial gera alterações no volume de sódio e possíveis prejuízos cardiovasculares e redução da atividade da aldosterona e renina (Irani and Xia, 2008).

Estudos epidemiológicos e experimentais demonstram o papel patológico no desequilíbrio dos fatores angiogênicos no estágio 2 da PE, caracterizado por efeitos generalizados que não se limitam a placenta (Powe et al., 2011; Karumanchi, 2016). O sFlt-1 é uma variante solúvel do receptor VEGF-1, que se liga às proteínas pró-angiogênicas locais e circulantes, o VEGF e ao PlGF. O sFlt-1 atua contrariamente a sinalização angiogênica mediada por ligantes através de receptores de superfície celular, resultando na inibição da sinalização de VEGF e PlGF na vasculatura (Powe et al., 2011).

Eng é um receptor altamente expresso em células endoteliais. Sua forma extracelular pode ser clivada e liberada de forma solúvel o sEng. Níveis elevados da forma solúvel contribuem para patogênese da PE (Lawera et al., 2019). O sEng é expresso em níveis elevados na PE e na eclampsia (Romero et al., 2008; Vaisbuch et al., 2011). O sEng pode regular negativamente a sinalização do TGF β , reduzindo a atividade da NOS3 e aumentando a permeabilidade vascular (Levine et al., 2006; Venkatesha et al., 2006). Os níveis de PlGF, sFlt-1 e sEng diferem significativamente entre mulheres com gestação normal e com PE (Moore Simas et al., 2014).

Germain et al. sugeriram que a função endotelial anormal ocasionada pela redução na vasodilatação, redução do óxido nítrico circulante aumento nos níveis de colesterol podem preceder a gestação em mulheres que desenvolverão a PE (Germain et al., 2007). O óxido nítrico é um potente vasodilatador e antioxidante que demonstrou mediar efeitos do PlGF e do VEGF *in vitro* (Burke et al., 2016; Zhang et al., 2017). Os níveis de óxido nítrico circulante são reduzidos em mulheres com PE

(Sandrim et al., 2008; Pimentel et al., 2013; Zeng et al., 2015). Outros mediadores relacionados a vasodilatação encontrados em níveis variados são a ET1, um potente vasoconstritor que aparece com nível elevado (Saleh et al., 2016) e o vasodilatador H₂S com redução dos níveis na PE (Wang et al., 2013; Snijder et al., 2014). Essa hipertensão presente na PE pode ser mediada por fatores antiangiogênicos ou anticorpos agonistas que se ligam ao receptor AT1 para angiotensina II (Verdonk et al., 2014; Burke et al., 2016), tendo em vista que o aumento da pressão não parece estar relacionado com o sistema renina-angiotensina-aldosterona, que apresentam níveis reduzidos em comparação a gravidez normal que apresenta aumento nos níveis fisiológicos (Verdonk et al., 2014; Burke et al., 2016).

5.3.2 Tratamento da PE

A falta de tratamento para gestantes com PE pode acarretar graves complicações, como eclampsia, ruptura do fígado, acidente vascular cerebral, insuficiência renal ou edema pulmonar, problemas potencialmente fatais (Phipps et al., 2019). A diminuição da qualidade de vida relacionada à saúde e o aumento do risco de depressão pós-parto são evidenciadas na PE (Rana et al., 2014a; Prick et al., 2015). São demonstradas relação entre a PE e o crescimento fetal restrito e ao nascimento prematuro. Os nascidos de mães com PE apresentam risco aumentado de displasia broncopulmonar e paralisia cerebral (Strand et al., 2013). Várias estratégias terapêuticas estão sendo estudadas para prolongar a gestação e tratar as complicações na PE (Strand et al., 2013).

O uso da aspirina em baixa dose é profilático para mulheres de alto risco para PE (James et al., 2013). Os usos de antioxidantes e heparina têm sido estudados quanto a possíveis efeitos benéficos para o tratamento da PE, apesar dos resultados obtidos não serem muito positivos. Ensaios utilizando antioxidantes como vitamina C e vitamina E não demonstraram eficácia na prevenção da PE (Roberts et al., 2010)

A terapia com estatina tem demonstrado melhora na função vascular através da expressão de HO-1 que leva ao aumento de óxido nítrico sintase e a diminuição na síntese placentária de sFlt-1 (Ramma e Ahmed, 2014; Girardi, 2017). O sildenafil é um inibidor de fosfodiesterase 5 que promove a melhora da sinalização de cGMP.

Em vários modelos de roedores foi demonstrado a redução da pressão arterial e melhora no crescimento fetal (Paauw et al., 2017). No entanto um estudo multicêntrico de sildenafil foi encerrado precocemente devido as elevadas taxas de doença pulmonar fetal e morte (Pels et al., 2017). A ouabaína é uma substância que inibe o HIF-1 e o HIF-2, em ratos com isquemia placentária mostrou bloquear a síntese de sFlt-1 e reduzir a hipertensão (Rana et al., 2014b).

Inibidores da bomba de prótons em estudos de cultura de células demonstraram bloquear a produção de sFlt-1 e em camundongos transgênicos reverter a hipertensão (Leanos-Miranda et al., 2012). No entanto, referente ao esomeprazol para PE, um grande estudo duplo-cego controlado por placebo não evidenciou prolongamento da gestação e redução de sFlt-1 (Cluver et al., 2018). A combinação entre esomeprazol e metformina pode ser mais benéfica que a monoterapia com esomeprazol (Kaitu'u-Lino et al., 2018).

A metformina na gravidez está relacionada com uma menor incidência de PE (Kalafat et al., 2018). Estudos in vitro demonstram que este fármaco reduz a produção de fatores antiangiogênicos (Brownfoot et al., 2016). O uso da metformina tem sido sugerida para PE por melhorar a função cardiovascular, melhorando a sensibilidade à insulina e limitando o ganho de peso das grávidas (Genest et al., 2012). Além disso há evidências na redução de sFlt-1 e sEng (Brownfoot et al., 2016). Pesquisas demonstram que a metformina atravessa livremente a placenta e é pouco metabolizada pelo feto sendo uma candidata em potencial para tratamento e prevenção da PE (Vanky et al., 2005; Nanovskaya et al., 2006).

5.4 Metformina para PE

A metformina é considerada um medicamento seguro para grávidas (Cassina et al., 2014). Este fármaco atravessa livremente a placenta e é pouco metabolizada pelo feto. Estudos em soro do cordão umbilical de mulheres grávidas demonstraram concentrações presentes no momento do parto (Nanovskaya et al., 2006). As concentrações de metformina no leite materno são muito baixas por isso são consideradas na prática irrelevantes (Priya e Kalra, 2018). Os efeitos adversos em grávidas geralmente são gastrointestinais e momentâneos em cerca de 25% das gestantes. Os efeitos incluem vômitos, náuseas, diarreia e gosto metálico após administração (Rowan et al., 2008; Lautatzis et al., 2013; McCreight et al., 2016). Outros efeitos associados estão a deficiência de B12 com uso crônico e a acidose láctica, este último extremamente raro (Lautatzis et al., 2013).

Metformina é um fármaco promissor para tratamento e prevenção da PE, por ter mostrado efeitos na redução da secreção de sFlt-1 e sEng de células endoteliais e trofoblastos (Brownfoot et al., 2016). A metformina reduz fatores que têm sido associados a PE, tais como a resistência à insulina e diminui a disfunção endotelial e a hiperglicemia (Agatisa et al., 2004; Catalano et al., 2012). É considerado um ativador de AMPK, o que é importante porque a redução da atividade da via AMPK está relacionada na patogênese da PE (Banek et al., 2013; Skeffington et al., 2016). Metformina age nas mitocôndrias reduzindo possíveis disfunções relacionadas a patogênese da PE (Brownfoot et al., 2016). Por estas indicações a metformina tem sido estudada para PE.

Torbergsen et al. foram os primeiros a sugerir que as mitocôndrias poderiam estar relacionadas a patogênese da PE (Torbergsen et al., 1989). Foi sugerido que mitocôndrias disfuncionais não poderiam suprir as demandas de energia de mulheres com PE, gerando acúmulo de adenosina pirofosfato (Masoura et al., 2015). Adenosina pirofosfato é um vasoconstritor que causa agregação plaquetária e se decompõe em ácido úrico. Em 1990, Shanklin e Sibai relataram que mulheres com PE tiveram variações morfológicas bastante diferentes das relatadas em gestações normais, apresentando ruptura central na morfologia mitocondrial e alterações no complexo de golgi e retículo endoplasmático (Shanklin e Sibai et al., 1990).

Outros achados sobre a participação mitocondrial na patogênese da PE foram observados. Comparando mulheres com gestação normal e mulheres com PE foram verificadas diferenças na regulação positiva de 4 proteínas e regulação negativa de 22 proteínas. Estas proteínas atuam nos processos pré-eclâmpticos na cadeia respiratória, na geração de espécies reativas de oxigênio, apoptose, oxidação de ácidos graxos e no ciclo do ácido tricarboxílico (Shi et al.,2013). Outro achado foi que o número médio de cópias de DNA mitocondrial materno no sangue total foi maior em gestantes que tiveram PE do que em mulheres com gravidez normal, o que pode sugerir processos inflamatórios (Mandò et al.,2014).

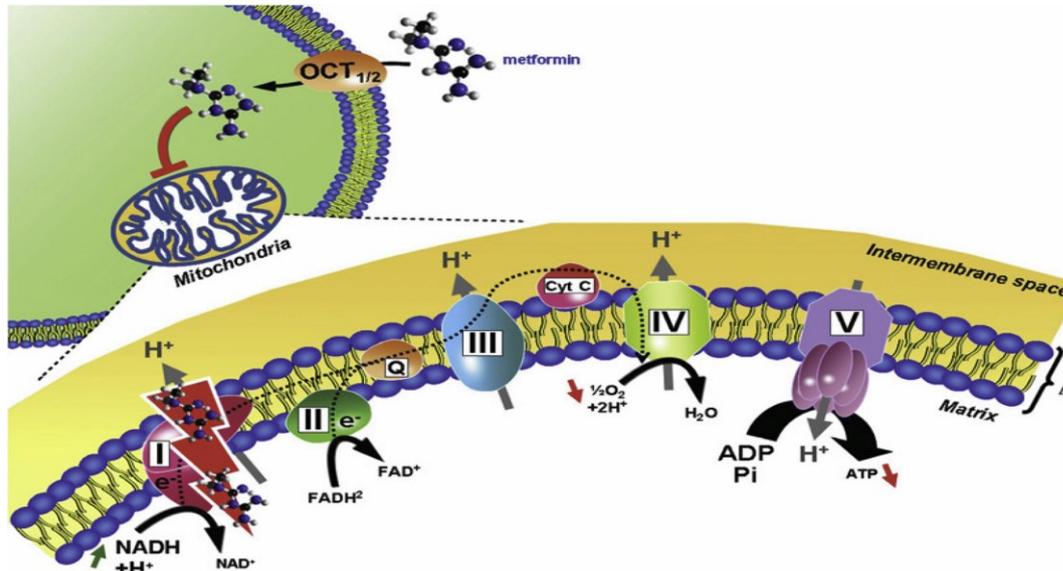
Foi observada a superexpressão do microRNA mir-210 na placenta de mulheres com PE e gestantes com PE e pouca idade gestacional. O mir-210 está relacionado à regulação da transcrição da resposta imune inata. Esta desregulação resultou em siderose (acúmulo de ferro) e formação de autofagossomas (Lee et al., 2011). O mir-210 também age modulando a função mitocondrial. Foi demonstrado que os complexos mitocondriais I, III e IV estão reduzidos na PE juntamente com o desequilíbrio de ferro ocasionado. A superexpressão do mir-210 resultou na diminuição do consumo de oxigênio mitocondrial, deficiência respiratória mitocondrial e síntese de espécies reativas do oxigênio (Muralimanoharan et al., 2012).

Pesquisas demonstram que a PE de início precoce está associada a ativação mitocondrial, regulação positiva de OPA-1 (gene relacionado a fusão mitocondrial e a estrutura interna da membrana mitocondrial), replicação ativa do DNA (gerando aumento da taxa respiratória) e regulação negativa do fator de transcrição mitocondrial (Vishnyakova et al., 2016). Em conjunto com as demais pesquisas, a Federação Internacional das Associações de Placenta verificou a atuação da mitocôndria na função placentária e sugeriu o importante papel da disfunção mitocondrial na patogênese da PE (Bianco-Miotto et al., 2016).

A metformina atua na cadeia de transporte de elétrons inibindo o complexo I da cadeia respiratória mitocondrial (Viollet et al., 2012; Madiraju et al., 2014), como demonstrado na **Figura 4**. A metformina atravessa a membrana plasmática da célula por difusão passiva, seu principal alvo é a mitocôndria. Ocorre a inibição do complexo I da cadeia de transporte respiratória mitocondrial gerando diminuição no bombeamento de prótons através da membrana mitocondrial, na taxa de consumo de

oxigênio e diminuição da oxidação do NADH. Diminuindo como consequência ATP, síntese de ADP e de PI (Romero et al., 2017).

Figura 4 - Efeito da metformina no complexo I da cadeia respiratória mitocondrial



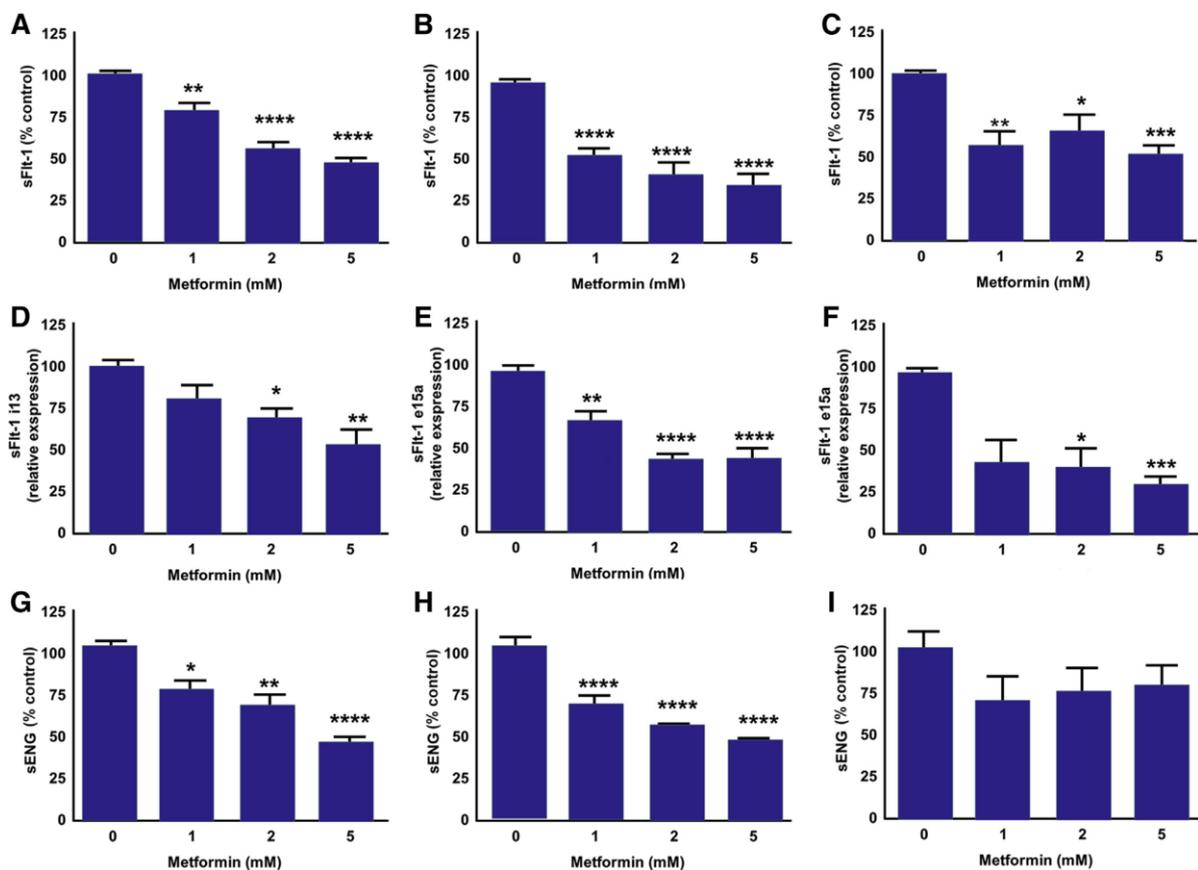
Cyt c: citocromo c; **e⁻**: elétrons; **FAD**: Flavina Adenina Dinucleotídeo; **H⁺**: íon hidrogênio; **H₂O**: água; **NAD**: Nicotinamida Adenina Dinucleotídeo; **OCT**: transportador de cátions orgânicos; **Q**: coenzima Q ou ubiquinona. Fonte: Romero R, et al. Metformina, a aspirina do século 21. Am J Obstet Gynecol 2017, com permissão de Viollet B, et al. Clin Sci (Lond) 2012; 122: 253-70)

Brownfoot et al. descobriram que a metformina pode melhorar a disfunção endotelial, diminuir a expressão do mRNA da molécula VCMA-1 induzida pelo TNF- α e melhorar a angiogênese de vasos comprometidos por sFlt-1 ou sVEGFR-1. Nesse estudo foi sugerido que a metformina regula fatores antiangiogênicos no nível mitocondrial. Ocorre diminuição da expressão da VCAM-1 expressa pelas células endoteliais disfuncionais ou estimulada pela citocina TNF- α (Bujold et al., 2005). Evidências recentes demonstram que citocinas são alteradas na PE precoce e tardia (Ananth et al., 2010; Ananth and Vintzileos, 2011). A VCAM-1 é uma proteína inflamatória associada a disfunção endotelial e regulada positivamente na PE (Austgulen et al., 1997).

Os achados de Brownfoot et al. sugerem que a metformina pode ter papel na prevenção da PE devido aos seus efeitos no metabolismo celular, na antiangiogênese e nos processos associados a fase 2 da PE. A metformina possui efeito na inversão do comprometimento do relaxamento vascular induzido pela incubação dos vasos

sanguíneos maternos com meios condicionados à placenta no momento da cesária e da entrega em pacientes pré-eclâmplicas. A metformina eliminou o surgimento angiogênico em vasos omentais humanos induzidos por incubação com sVEGFR-1, receptor do fator de crescimento endotelial 1 (Brownfoot et al., 2016). É sugerido que o sVEGFR-1 é sintetizado na PE devido a hipóxia ou isquemia placentária e que o sVEGFR-1 antagoniza moléculas angiogênicas como VEGF e PlGF (Chaiworapongsa et al., 2004; Malshe e Sibai, 2017).

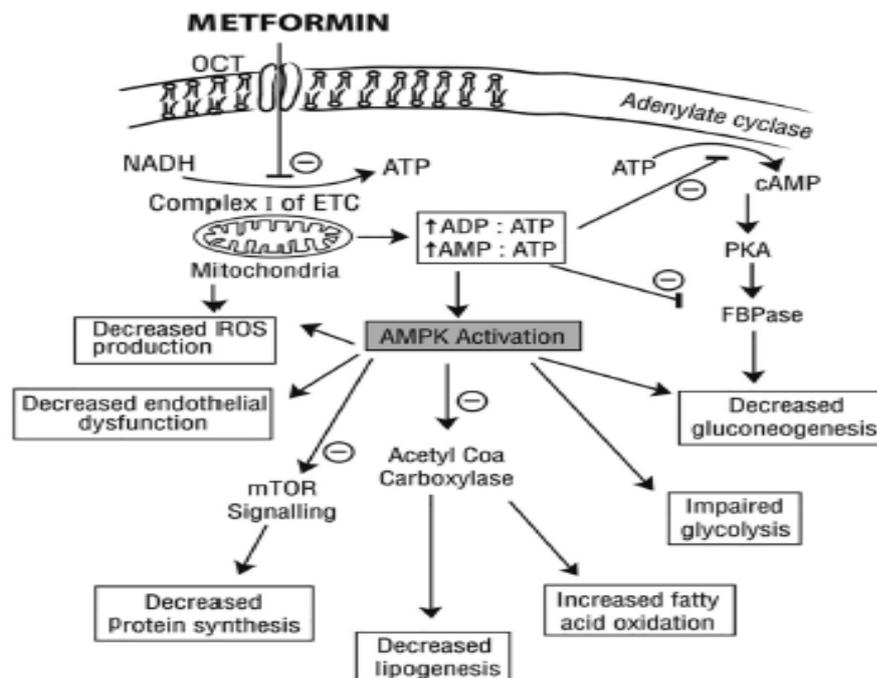
Figura 5 – Efeitos dose-dependentes da metformina sobre sFlt-1, sEng e isoformas e15a e i13 expressas em células endoteliais e tecido placentário.



Redução dependente da dose de sFlt-1 em **A** células endoteliais, **B** células citotrofobásticas vilosas **C** explantes vilosos placentários em PE pré-termo. Redução em células endoteliais de **D** isoforma i13 de sFlt-1, **E** células citotrofobásticas vilosas **F** expressão do RNA mensageiro do explante viloso placentário em PE pré-termo da isoforma e15a de sFlt-1. Diminuição da secreção de sEng em **G** células endoteliais, **H** células citotrofobásticas vilosas. Não alterou a secreção de sEng em **I** explantes vilosos placentários em PE pré-termo. * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,0001$; **** $p < 0,00001$. Fonte: Brownfoot et al., 2016.

A **Figura 5** mostra os achados de Brownfoot et al. sobre o efeito dose-dependente da metformina na redução da síntese de sFlt-1 e sEng em células endoteliais, trofoblastos vilosos e explantes vilosos (Brownfoot et al., 2016). A sFlt-1 é uma variante solúvel do receptor Flt-1, está relacionada a fatores de crescimento endotelial vascular também expressa na placenta principalmente pelo sinciciotrofoblasto. A secreção na placenta gera diminuição de fatores pró-angiogênicos (Sircar et al., 2015). A sEng é um co-receptor da superfície celular que inibe a ativação mediada por TGF- β 1 da enzima óxido nítrico sintase endotelial, este último responsável pela vasodilatação (Venkatesha et al., 2006). A redução de sFlt-1 e sEng pela metformina é sugerida pela inibição do complexo I da cadeia de transportes de elétrons mitocondrial (Andrzejewski et al., 2014; Wheaton et al., 2014).

Figura 6 - Mecanismo de ativação do AMPK pela metformina



ADP: adenosina difosfato; AMP: adenosina monofosfato; ATP: adenosina trifosfato; cAMP : AMP cíclico; ETC: cadeia transportadora de elétron;FBpase: frutose-1,6 bifosfatase; mTOR: alvo de rapamicina em mamíferos; NADH: nicotinamida adenina dinucleototídeo; OCT: transportador de cátion orgânico; PKA: proteína quinase A; ROS: espécies reativas de oxigênio. Fonte: Priya G e Kalra S, 2018. *Metformin in the management of diabetes during pregnancy and lactation*. Drugs in Context (Priya and Kalra, 2018).

A AMPK é um regulador central do metabolismo celular e do equilíbrio redução e oxidação em mamíferos (Wang et al., 2012; Garcia and Shaw, 2017). Em diversos

trabalhos há evidências que a metformina ativa AMPK. Esse aumento da atividade da AMPK gera uma inibição da via mTOR que está associada a redução na síntese de proteínas, proliferação celular, apoptose, autofagia e modulação do ciclo celular (Rena et al., 2017)

A **Figura 6** demonstra o mecanismo de ativação do AMPK pela metformina. O transporte através da membrana é feito por OCTs. A metformina inibe o complexo I da cadeia de transporte de elétrons nas mitocôndrias suprimindo a síntese de ATP. A depleção de energia celular resulta no aumento das proporções de ADP e AMP ativando AMPK, que atua como um sensor de energia celular. O aumento do AMP inibe a enzima frutose 1,6 bifosfatase, enzima fundamental na gliconeogênese e inibe também adenilato ciclase reduzindo a síntese de cAMP e enzimas gliconeogênicas. A ativação de AMPK é um mediador de vários efeitos metabólicos da metformina, como aumento da oxidação de ácidos graxos pela fosforilação da acetil-CoA carboxilase, sinalização da insulina, redução do colesterol e redução da expressão de genes ligados a gliconeogênese e lipogênese. A inibição das vias mTOR geram redução na síntese de proteínas (Rena et al., 2017).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Agatista, P.K., Ness, R.B., Roberts, J.M., Costantino, J.P., Kuller, L.H., and McLaughlin, M.K. (2004). Impairment of endothelial function in women with a history of preeclampsia: an indicator of cardiovascular risk. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 286, H1389-1393.
- Ahmed, A., Rahman, M., Zhang, X., Acevedo, C.H., Nijjar, S., Rushton, I., Bussolati, B., and St John, J. (2000). Induction of placental heme oxygenase-1 is protective against TNF α -induced cytotoxicity and promotes vessel relaxation. *Mol Med* 6, 391-409.
- Akyuz, F., Demir, K., Ozdil, S., Aksoy, N., Poturoglu, S., Ibrism, D., Kaymakoglu, S., Besisik, F., Boztas, G., Cakaloglu, Y., Mungan, Z., Cevikbas, U., and Okten, A. (2007). The effects of rosiglitazone, metformin, and diet with exercise in nonalcoholic fatty liver disease. *Dig Dis Sci* 52, 2359-2367.
- Alzoubi, K.H., Khabour, O.F., Al-Azzam, S.I., Tashtoush, M.H., and Mhaidat, N.M. (2014). Metformin Eased Cognitive Impairment Induced by Chronic L-methionine Administration: Potential Role of Oxidative Stress. *Curr Neuropharmacol* 12, 186-192.
- American College Of, O., Gynecologists, and Task Force on Hypertension In, P. (2013). Hypertension in pregnancy. Report of the American College of Obstetricians and Gynecologists' Task Force on Hypertension in Pregnancy. *Obstet Gynecol* 122, 1122-1131.
- American Diabetes, A. (2013). Standards of medical care in diabetes--2013. *Diabetes Care* 36 Suppl 1, S11-66.
- Ananth, C.V., Keyes, K.M., and Wapner, R.J. (2013). Pre-eclampsia rates in the United States, 1980-2010: age-period-cohort analysis. *BMJ* 347, f6564.
- Ananth, C.V., Smulian, J.C., and Vintzileos, A.M. (2010). Ischemic placental disease: maternal versus fetal clinical presentations by gestational age. *J Matern Fetal Neonatal Med* 23, 887-893.
- Ananth, C.V., and Vintzileos, A.M. (2011). Ischemic placental disease: epidemiology and risk factors. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 159, 77-82.
- Andrzejewski, S., Gravel, S.P., Pollak, M., and St-Pierre, J. (2014). Metformin directly acts on mitochondria to alter cellular bioenergetics. *Cancer Metab* 2, 12.
- Austgulen, R., Lien, E., Vince, G., and Redman, C.W. (1997). Increased maternal plasma levels of soluble adhesion molecules (ICAM-1, VCAM-1, E-selectin) in preeclampsia. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 71, 53-58.
- Bailey, C.J. (2017). Metformin: historical overview. *Diabetologia* 60, 1566-1576.
- Bailey, C.J., and Day, C. (1989). Traditional plant medicines as treatments for diabetes. *Diabetes Care* 12, 553-564.
- Banek, C.T., Bauer, A.J., Needham, K.M., Dreyer, H.C., and Gilbert, J.S. (2013). AICAR administration ameliorates hypertension and angiogenic imbalance in a model of preeclampsia in the rat. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 304, H1159-1165.
- Bartsch, E., Medcalf, K.E., Park, A.L., Ray, J.G. (2016). Clinical risk factors for pre-eclampsia determined in early pregnancy: systematic review and meta-analysis of large cohort studies. *BMJ*.
- Bell, M.J. (2010). A historical overview of preeclampsia-eclampsia. *J Obstet Gynecol Neonatal Nurs* 39, 510-518.
- Benjamin, E.J., Blaha, M.J., Chiuve, S.E., Cushman, M., Das, S.R., Deo, R., De Ferranti, S.D., Floyd, J., Fornage, M., Gillespie, C., Isasi, C.R., Jimenez, M.C.,

- Jordan, L.C., Judd, S.E., Lackland, D., Lichtman, J.H., Lisabeth, L., Liu, S., Longenecker, C.T., Mackey, R.H., Matsushita, K., Mozaffarian, D., Mussolino, M.E., Nasir, K., Neumar, R.W., Palaniappan, L., Pandey, D.K., Thiagarajan, R.R., Reeves, M.J., Ritchey, M., Rodriguez, C.J., Roth, G.A., Rosamond, W.D., Sasson, C., Towfighi, A., Tsao, C.W., Turner, M.B., Virani, S.S., Voeks, J.H., Willey, J.Z., Wilkins, J.T., Wu, J.H., Alger, H.M., Wong, S.S., Muntner, P., American Heart Association Statistics, C., and Stroke Statistics, S. (2017). Heart Disease and Stroke Statistics-2017 Update: A Report From the American Heart Association. *Circulation* 135, e146-e603.
- Bianco-Miotto, T., Mayne, B.T., Buckberry, S. Breen, J. Lopez, C.M.R. Roberts, C.T.(2016).Recent progress towards understanding the role of DNA methylation in human placental development. *Reproduction* 152, 23-30.
- Bramham, K., Parnell, B., Nelson-Piercy, C., Seed, P.T., Poston, L., and Chappell, L.C. (2014). Chronic hypertension and pregnancy outcomes: systematic review and meta-analysis. *BMJ* 348, g2301.
- Bridges, H.R., Jones, A.J., Pollak, M.N., and Hirst, J. (2014). Effects of metformin and other biguanides on oxidative phosphorylation in mitochondria. *Biochem J* 462, 475-487.
- Brosens, J.J., Parker, M.G., Mcindoe, A., Pijnenborg, R., and Brosens, I.A. (2009). A role for menstruation in preconditioning the uterus for successful pregnancy. *Am J Obstet Gynecol* 200, 615 e611-616.
- Brownfoot, F.C., Hastie, R., Hannan, N.J., Cannon, P., Tuohey, L., Parry, L.J., Senadheera, S., Illanes, S.E., Kaitu'u-Lino, T.J., and Tong, S. (2016). Metformin as a prevention and treatment for preeclampsia: effects on soluble fms-like tyrosine kinase 1 and soluble endoglin secretion and endothelial dysfunction. *Am J Obstet Gynecol* 214, 356 e351-356 e315.
- Branchtein, L.; Matos, M. C. G. (2004). Farmacologia clínica: Fundamentos da Terapêutica Reacional. 3. ed., Rio de Janeiro: Guanabara Koogan.
- Bugianesi, E., Gentilcore, E., Manini, R., Natale, S., Vanni, E., Villanova, N., David, E., Rizzetto, M., and Marchesini, G. (2005). A randomized controlled trial of metformin versus vitamin E or prescriptive diet in nonalcoholic fatty liver disease. *Am J Gastroenterol* 100, 1082-1090.
- Bujold, E., Romero, R., Chaiworapongsa, T., Kim, Y.M., Kim, G.J., Kim, M.R., Espinoza, J., Goncalves, L.F., Edwin, S., and Mazor, M. (2005). Evidence supporting that the excess of the sVEGFR-1 concentration in maternal plasma in preeclampsia has a uterine origin. *J Matern Fetal Neonatal Med* 18, 9-16.
- Burke, S.D., Zsengeller, Z.K., Khankin, E.V., Lo, A.S., Rajakumar, A., Dupont, J.J., Mccurley, A., Moss, M.E., Zhang, D., Clark, C.D., Wang, A., Seely, E.W., Kang, P.M., Stillman, I.E., Jaffe, I.Z., and Karumanchi, S.A. (2016). Soluble fms-like tyrosine kinase 1 promotes angiotensin II sensitivity in preeclampsia. *J Clin Invest* 126, 2561-2574.
- Burton, G.J., Woods, A.W., Jauniaux, E., and Kingdom, J.C. (2009a). Rheological and physiological consequences of conversion of the maternal spiral arteries for uteroplacental blood flow during human pregnancy. *Placenta* 30, 473-482.
- Burton, G.J., Yung, H.W., Cindrova-Davies, T., and Charnock-Jones, D.S. (2009b). Placental endoplasmic reticulum stress and oxidative stress in the pathophysiology of unexplained intrauterine growth restriction and early onset preeclampsia. *Placenta* 30 Suppl A, S43-48.
- Cabreiro, F., Au, C., Leung, K.Y., Vergara-Irigaray, N., Cocheme, H.M., Noori, T., Weinkove, D., Schuster, E., Greene, N.D., and Gems, D. (2013). Metformin

- retards aging in *C. elegans* by altering microbial folate and methionine metabolism. *Cell* 153, 228-239.
- Caniggia, I., Mostachfi, H., Winter, J., Gassmann, M., Lye, S.J., Kuliszewski, M., and Post, M. (2000). Hypoxia-inducible factor-1 mediates the biological effects of oxygen on human trophoblast differentiation through TGFbeta(3). *J Clin Invest* 105, 577-587.
- Carling, D. (2004). The AMP-activated protein kinase cascade--a unifying system for energy control. *Trends Biochem Sci* 29, 18-24.
- Cassina, M., Dona, M., Di Gianantonio, E., Litta, P., and Clementi, M. (2014). First-trimester exposure to metformin and risk of birth defects: a systematic review and meta-analysis. *Hum Reprod Update* 20, 656-669.
- Catalano, P.M., Mcintyre, H.D., Cruickshank, J.K., Mccance, D.R., Dyer, A.R., Metzger, B.E., Lowe, L.P., Trimble, E.R., Coustan, D.R., Hadden, D.R., Persson, B., Hod, M., Oats, J.J., and Group, H.S.C.R. (2012). The hyperglycemia and adverse pregnancy outcome study: associations of GDM and obesity with pregnancy outcomes. *Diabetes Care* 35, 780-786.
- Chaiworapongsa, T., Romero, R., Espinoza, J., Bujold, E., Mee Kim, Y., Goncalves, L.F., Gomez, R., and Edwin, S. (2004). Evidence supporting a role for blockade of the vascular endothelial growth factor system in the pathophysiology of preeclampsia. Young Investigator Award. *Am J Obstet Gynecol* 190, 1541-1547; discussion 1547-1550.
- Chau-Van, C., Gamba, M., Salvi, R., Gaillard, R.C., and Pralong, F.P. (2007). Metformin inhibits adenosine 5'-monophosphate-activated kinase activation and prevents increases in neuropeptide Y expression in cultured hypothalamic neurons. *Endocrinology* 148, 507-511.
- Chen, K.K., Anderson, R.C. (1947).The toxicity and general pharmacology of N1-p-chlorophenyl-N5-isopropylbiguanide.*J Pharmacol Exp Ther* 91,475-482.
- Cheng, C., Lin, C.H., Tsai, Y.W., Tsai, C.J., Chou, P.H., and Lan, T.H. (2014). Type 2 diabetes and antidiabetic medications in relation to dementia diagnosis. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 69, 1299-1305.
- Chiang, G.G., and Abraham, R.T. (2007). Targeting the mTOR signaling network in cancer. *Trends Mol Med* 13, 433-442.
- Cluver, C.A., Hannan, N.J., Van Papendorp, E., Hiscock, R., Beard, S., Mol, B.W., Theron, G.B., Hall, D.R., Decloedt, E.H., Stander, M., Adams, K.T., Rensburg, M., Schubert, P., Walker, S.P., and Tong, S. (2018). Esomeprazole to treat women with preterm preeclampsia: a randomized placebo controlled trial. *Am J Obstet Gynecol* 219, 388 e381-388 e317.
- Cool, B., Zinker, B., Chiou, W., Kifle, L., Cao, N., Perham, M., Dickinson, R., Adler, A., Gagne, G., Iyengar, R., Zhao, G., Marsh, K., Kym, P., Jung, P., Camp, H.S., and Frevert, E. (2006). Identification and characterization of a small molecule AMPK activator that treats key components of type 2 diabetes and the metabolic syndrome. *Cell Metab* 3, 403-416.
- Cosma, M., Swiglo, B.A., Flynn, D.N., Kurtz, D.M., Labella, M.L., Mullan, R.J., Elamin, M.B., Erwin, P.J., and Montori, V.M. (2008). Clinical review: Insulin sensitizers for the treatment of hirsutism: a systematic review and metaanalyses of randomized controlled trials. *J Clin Endocrinol Metab* 93, 1135-1142.
- Dunaif, A. (2008). Drug insight: insulin-sensitizing drugs in the treatment of polycystic ovary syndrome--a reappraisal. *Nat Clin Pract Endocrinol Metab* 4, 272-283.
- Dzamko, N.L., and Steinberg, G.R. (2009). AMPK-dependent hormonal regulation of whole-body energy metabolism. *Acta Physiol (Oxf)* 196, 115-127.

- Eikawa, S., Nishida, M., Mizukami, S., Yamazaki, C., Nakayama, E., and Udono, H. (2015). Immune-mediated antitumor effect by type 2 diabetes drug, metformin. *Proc Natl Acad Sci U S A* 112, 1809-1814.
- Ersoy, C., Kiyici, S., Budak, F., Oral, B., Guclu, M., Duran, C., Selimoglu, H., Erturk, E., Tuncel, E., and Imamoglu, S. (2008). The effect of metformin treatment on VEGF and PAI-1 levels in obese type 2 diabetic patients. *Diabetes Res Clin Pract* 81, 56-60.
- Farmacopéia Brasileira. ed.5, p.845, Brasília, 2010. Disponível em: http://www.anvisa.gov.br/hotsite/cd_farmacopeia/pdf/farmacopeiavolume_2_2_803.pdf. Acesso em: 3 de maio de 2020.
- Filizola, R.G., Souza, J.E.L., Nascimento, A.X., E. L.; NASCIMENTO, A. X.(1995) Metformina - caracterização bioquímica, mecanismo de ação, indicações e contra-indicações na síndrome diabética. *Cienc. Cult. Saúde* 14,14-19.
- Gallagher, E.J., and Leroith, D. (2011). Diabetes, cancer, and metformin: connections of metabolism and cell proliferation. *Ann N Y Acad Sci* 1243, 54-68.
- Gandini, S., Puntoni, M., Heckman-Stoddard, B.M., Dunn, B.K., Ford, L., Decensi, A., and Szabo, E. (2014). Metformin and cancer risk and mortality: a systematic review and meta-analysis taking into account biases and confounders. *Cancer Prev Res (Phila)* 7, 867-885.
- Garcia, D., and Shaw, R.J. (2017). AMPK: Mechanisms of Cellular Energy Sensing and Restoration of Metabolic Balance. *Mol Cell* 66, 789-800.
- Genest, D.S., Falcao, S., Gutkowska, J., and Lavoie, J.L. (2012). Impact of exercise training on preeclampsia: potential preventive mechanisms. *Hypertension* 60, 1104-1109.
- George, E.M., Cockrell, K., Aranay, M., Csongradi, E., Stec, D.E., and Granger, J.P. (2011). Induction of heme oxygenase 1 attenuates placental ischemia-induced hypertension. *Hypertension* 57, 941-948.
- Germain, S.J., Sacks, G.P., Sooranna, S.R., Sargent, I.L., Redman, C.W.(2007). Systemic inflammatory priming in normal pregnancy and preeclampsia: the role of circulating syncytiotrophoblast microparticles. *J Immunol* 178,5949-56.
- Gilbert, C., Valois, M., and Koren, G. (2006). Pregnancy outcome after first-trimester exposure to metformin: a meta-analysis. *Fertil Steril* 86, 658-663.
- Girardi, G. (2017). Pravastatin to treat and prevent preeclampsia. Preclinical and clinical studies. *J Reprod Immunol* 124, 15-20.
- Gnesin, F., Thuesen, A.C.B., Kahler, L.K.A., Madsbad, S., and Hemmingsen, B. (2020). Metformin monotherapy for adults with type 2 diabetes mellitus. *Cochrane Database Syst Rev* 6, CD012906.
- Goodman e Gilman. *As Bases Farmacológicas da Terapêutica de Goodman e Gilman*. ed.13, 2019.
- Gormsen, L.C., Sundelin, E.I., Jensen, J.B., Vendelbo, M.H., Jakobsen, S., Munk, O.L., Hougaard Christensen, M.M., Brosen, K., Frokiaer, J., and Jessen, N. (2016). In Vivo Imaging of Human ¹¹C-Metformin in Peripheral Organs: Dosimetry, Biodistribution, and Kinetic Analyses. *J Nucl Med* 57, 1920-1926.
- Habli, M., Eftekhari, N., Wiebracht, E., Bombrys, A., Khabbaz, M., How, H., and Sibai, B. (2009). Long-term maternal and subsequent pregnancy outcomes 5 years after hemolysis, elevated liver enzymes, and low platelets (HELLP) syndrome. *Am J Obstet Gynecol* 201, 385 e381-385.
- Haig, D. (1996). Altercation of generations: genetic conflicts of pregnancy. *Am J Reprod Immunol* 35, 226-232.

- Hariharan, M., Rajan S., Srivasan, R. (1989). Structure of Metformin Hydrochloride. *Acta Crystallographica* 911-913.
- Hashim, H. A. (2016) Twenty years of ovulation induction with metformin for PCOS; What is the best available evidence? *Reproductive BioMedicine Online* 32, 44-53.
- Haukeland, J.W., Konopski, Z., Eggesbo, H.B., Von Volkmann, H.L., Raschpichler, G., Bjoro, K., Haaland, T., Loberg, E.M., and Birkeland, K. (2009). Metformin in patients with non-alcoholic fatty liver disease: a randomized, controlled trial. *Scand J Gastroenterol* 44, 853-860.
- Hawthorne, G. (2006). Metformin use and diabetic pregnancy-has its time come? *Diabet Med* 23, 223-227.
- Hecht, J.L., Ordi, J., Carrilho, C., Ismail, M.R., Zsengeller, Z.K., Karumanchi, S.A., and Rosen, S. (2017). The pathology of eclampsia: An autopsy series. *Hypertens Pregnancy* 36, 259-268.
- Hecht, J.L., Zsengeller, Z.K., Spiel, M., Karumanchi, S.A., and Rosen, S. (2016). Revisiting decidual vasculopathy. *Placenta* 42, 37-43.
- Henin, N., Vincent, M.F., Gruber, H.E., and Van Den Berghe, G. (1995). Inhibition of fatty acid and cholesterol synthesis by stimulation of AMP-activated protein kinase. *FASEB J* 9, 541-546.
- Herath, P.M., Cherbuin, N., Eramudugolla, R., and Anstey, K.J. (2016). The Effect of Diabetes Medication on Cognitive Function: Evidence from the PATH Through Life Study. *Biomed Res Int* 2016, 7208429.
- Hirsch, H.A., Iliopoulos, D., and Struhl, K. (2013). Metformin inhibits the inflammatory response associated with cellular transformation and cancer stem cell growth. *Proc Natl Acad Sci U S A* 110, 972-977.
- Hollenbeck, C.B., Johnston, P., Varasteh, B.B., Chen, Y.D., and Reaven, G.M. (1991). Effects of metformin on glucose, insulin and lipid metabolism in patients with mild hypertriglyceridaemia and non-insulin dependent diabetes by glucose tolerance test criteria. *Diabete Metab* 17, 483-489.
- Hong, J., Zhang, Y., Lai, S., Lv, A., Su, Q., Dong, Y., Zhou, Z., Tang, W., Zhao, J., Cui, L., Zou, D., Wang, D., Li, H., Liu, C., Wu, G., Shen, J., Zhu, D., Wang, W., Shen, W., Ning, G., and Investigators, S.-D. (2013). Effects of metformin versus glipizide on cardiovascular outcomes in patients with type 2 diabetes and coronary artery disease. *Diabetes Care* 36, 1304-1311.
- Hostalek, U., Gwilt, M., and Hildemann, S. (2015). Therapeutic Use of Metformin in Prediabetes and Diabetes Prevention. *Drugs* 75, 1071-1094.
- Hromadnikova, I., Kotlabova, K., Ondrackova, M., Pirkova, P., Kestlerova, A., Novotna, V., Hympanova, L., and Krofta, L. (2015). Expression profile of C19MC microRNAs in placental tissue in pregnancy-related complications. *DNA Cell Biol* 34, 437-457.
- Huppertz, B. (2008). Placental origins of preeclampsia: challenging the current hypothesis. *Hypertension* 51, 970-975.
- Irani, R.A., and Xia, Y. (2008). The functional role of the renin-angiotensin system in pregnancy and preeclampsia. *Placenta* 29, 763-771.
- Isoda, K., Young, J.L., Zirlik, A., Macfarlane, L.A., Tsuboi, N., Gerdes, N., Schonbeck, U., and Libby, P. (2006). Metformin inhibits proinflammatory responses and nuclear factor-kappaB in human vascular wall cells. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 26, 611-617.
- James, R.M. Maurice, D.Phyllis, A. Robert, G.R. George, B. (2013). Hypertension in pregnancy. ACOG guidelines. 1-100.

- Jauniaux, E., Poston, L., and Burton, G.J. (2006). Placental-related diseases of pregnancy: Involvement of oxidative stress and implications in human evolution. *Hum Reprod Update* 12, 747-755.
- Jiang, T., Yu, J.T., Zhu, X.C., Wang, H.F., Tan, M.S., Cao, L., Zhang, Q.Q., Gao, L., Shi, J.Q., Zhang, Y.D., and Tan, L. (2014). Acute metformin preconditioning confers neuroprotection against focal cerebral ischaemia by pre-activation of AMPK-dependent autophagy. *Br J Pharmacol* 171, 3146-3157.
- Kaitu'u-Lino, T.J., Brownfoot, F.C., Beard, S., Cannon, P., Hastie, R., Nguyen, T.V., Binder, N.K., Tong, S., and Hannan, N.J. (2018). Combining metformin and esomeprazole is additive in reducing sFlt-1 secretion and decreasing endothelial dysfunction - implications for treating preeclampsia. *PLoS One* 13, e0188845.
- Kalafat, E., Sukur, Y.E., Abdi, A., Thilaganathan, B., and Khalil, A. (2018). Metformin for prevention of hypertensive disorders of pregnancy in women with gestational diabetes or obesity: systematic review and meta-analysis of randomized trials. *Ultrasound Obstet Gynecol* 52, 706-714.
- Karumanchi, S.A.;eta I. (2009).Angiogenesis and preeclampsia. In: Lindheimer, M.D., Roberts, J.M., Cunningham, F.G.,eds. Chesley's hypertensive disorders in pregnancy.
- Karumanchi, S.A. (2016). Angiogenic Factors in Preeclampsia: From Diagnosis to Therapy. *Hypertension* 67, 1072-1079.
- Khan, K.S., Wojdyla, D., Say, L., Gulmezoglu, A.M., and Van Look, P.F. (2006). WHO analysis of causes of maternal death: a systematic review. *Lancet* 367, 1066-1074.
- Kirpichnikov,D., McFarlane, S.I.,Sowers, J.R. (2002). *Annals of Internal Medicine* 137, 25-33.
- Kulkarni, A.S., Brutsaert, E.F., Anghel, V., Zhang, K., Bloomgarden, N., Pollak, M., Mar, J.C., Hawkins, M., Crandall, J.P., and Barzilai, N. (2018). Metformin regulates metabolic and nonmetabolic pathways in skeletal muscle and subcutaneous adipose tissues of older adults. *Aging Cell* 17.
- Lautatzis, M.E., Goulis, D.G., and Vrontakis, M. (2013). Efficacy and safety of metformin during pregnancy in women with gestational diabetes mellitus or polycystic ovary syndrome: a systematic review. *Metabolism* 62, 1522-1534.
- Lawera, A., Tong, Z., Thorikay, M., Redgrave, R.E., Cai, J., Van Dinther, M., Morrell, N.W., Afink, G.B., Charnock-Jones, D.S., Arthur, H.M., Ten Dijke, P., and Li, W. (2019). Role of soluble endoglin in BMP9 signaling. *Proc Natl Acad Sci U S A* 116, 17800-17808.
- Leanos-Miranda, A., Campos-Galicia, I., Isordia-Salas, I., Rivera-Leanos, R., Romero-Arauz, J.F., Ayala-Mendez, J.A., and Ulloa-Aguirre, A. (2012). Changes in circulating concentrations of soluble fms-like tyrosine kinase-1 and placental growth factor measured by automated electrochemiluminescence immunoassays methods are predictors of preeclampsia. *J Hypertens* 30, 2173-2181.
- Lee, D.C., Romero, R.,Kim, J.S.,Tarca, A.D.,Montenegro, D.,Pineles, B.L.,Kim, E.,Lee, J.H.,Kim, S.Y.,et al. (2011).miR-210 Targets Iron-Sulfur Cluster Scaffold Homologue in Human Trophoblast Cell Lines: Siderosis of Interstitial Trophoblasts as a Novel Pathology of Preterm Preeclampsia and Small-for-Gestational-Age Pregnancies 179, 590-602.

- Lega, I.C., Austin, P.C., Gruneir, A., Goodwin, P.J., Rochon, P.A., and Lipscombe, L.L. (2013). Association between metformin therapy and mortality after breast cancer: a population-based study. *Diabetes Care* 36, 3018-3026.
- Levine, R.J., Lam, C., Qian, C., Yu, K.F., Maynard, S.E., Sachs, B.P., Sibai, B.M., Epstein, F.H., Romero, R., Thadhani, R., Karumanchi, S.A., and Group, C.S. (2006). Soluble endoglin and other circulating antiangiogenic factors in preeclampsia. *N Engl J Med* 355, 992-1005.
- Lochhead, P.A., Salt, I.P., Walker, K.S., Hardie, D.G., and Sutherland, C. (2000). 5-aminoimidazole-4-carboxamide riboside mimics the effects of insulin on the expression of the 2 key gluconeogenic genes PEPCK and glucose-6-phosphatase. *Diabetes* 49, 896-903.
- Lyall, F., Robson, S.C., and Bulmer, J.N. (2013). Spiral artery remodeling and trophoblast invasion in preeclampsia and fetal growth restriction: relationship to clinical outcome. *Hypertension* 62, 1046-1054.
- Madiraju, A.K., Erion, D.M., Rahimi, Y., Zhang, X.M., Braddock, D.T., Albright, R.A., Prigaro, B.J., Wood, J.L., Bhanot, S., Macdonald, M.J., Jurczak, M.J., Camporez, J.P., Lee, H.Y., Cline, G.W., Samuel, V.T., Kibbey, R.G., and Shulman, G.I. (2014). Metformin suppresses gluconeogenesis by inhibiting mitochondrial glycerophosphate dehydrogenase. *Nature* 510, 542-546.
- Magee, L.A., Pels, A., Helewa, M., Rey, E., Von Dadelszen, P., and Canadian Hypertensive Disorders of Pregnancy Working, G. (2014). Diagnosis, evaluation, and management of the hypertensive disorders of pregnancy. *Pregnancy Hypertens* 4, 105-145.
- Malshe, A.K., and Sibai, B.M. (2017). Angiogenic and Antiangiogenic Markers for Prediction and Risk Classification of Preeclampsia. *Clin Obstet Gynecol* 60, 134-140.
- Mandò, C., De Palma, C., Stampalija, T., Anelli, G. M., Figus, M., Novielli, C., et al. (2014). *Placental mitochondrial content and function in intrauterine growth restriction and preeclampsia*. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab* 306, 404-413.
- Margel, D., Urbach, D., Lipscombe, L.L., Bell, C.M., Kulkarni, G., Austin, P.C., and Fleshner, N. (2013). Association between metformin use and risk of prostate cancer and its grade. *J Natl Cancer Inst* 105, 1123-1131.
- Martin-Montalvo, A., Mercken, E.M., Mitchell, S.J., Palacios, H.H., Mote, P.L., Scheibye-Knudsen, M., Gomes, A.P., Ward, T.M., Minor, R.K., Blouin, M.J., Schwab, M., Pollak, M., Zhang, Y., Yu, Y., Becker, K.G., Bohr, V.A., Ingram, D.K., Sinclair, D.A., Wolf, N.S., Spindler, S.R., Bernier, M., and De Cabo, R. (2013). Metformin improves healthspan and lifespan in mice. *Nat Commun* 4, 2192.
- Martin, K.A., Chang, R.J., Ehrmann, D.A., Ibanez, L., Lobo, R.A., Rosenfield, R.L., Shapiro, J., Montori, V.M., and Swiglo, B.A. (2008). Evaluation and treatment of hirsutism in premenopausal women: an endocrine society clinical practice guideline. *J Clin Endocrinol Metab* 93, 1105-1120.
- Masoura, S., Makedou, K., Theodoridis, T., Kourtis, A., Zepidis, L., Athanasiadis, A. (2015). The involvement of uric acid in the pathogenesis of preeclampsia. *Current Hypertension Reviews* 11.
- Mazzone, P.J., Rai, H., Beukemann, M., Xu, M., Jain, A., and Sasidhar, M. (2012). The effect of metformin and thiazolidinedione use on lung cancer in diabetics. *BMC Cancer* 12, 410.
- Mccreight, L.J., Bailey, C.J., and Pearson, E.R. (2016). Metformin and the gastrointestinal tract. *Diabetologia* 59, 426-435.

- Minokoshi, Y., Alquier, T., Furukawa, N., Kim, Y.B., Lee, A., Xue, B., Mu, J., Fougère, F., Ferre, P., Birnbaum, M.J., Stuck, B.J., and Kahn, B.B. (2004). AMP-kinase regulates food intake by responding to hormonal and nutrient signals in the hypothalamus. *Nature* 428, 569-574.
- Moggetti, P., Castello, R., Negri, C., Tosi, F., Perrone, F., Caputo, M., Zanolin, E., Muggeo, M. (2000). Metformin effects on clinical features, endocrine and metabolic profiles, and insulin sensitivity in polycystic ovary syndrome: a randomized, double-blind, placebo-controlled 6-month trial, followed by open, long-term clinical evaluation. *J Clin Endocrinol Metab* 85,139-146.
- Mol, B.W.J., Roberts, C.T., Thangaratinam, S., Magee, L.A., De Groot, C.J.M., and Hofmeyr, G.J. (2016). Pre-eclampsia. *Lancet* 387, 999-1011.
- Moore Simas, T.A., Crawford, S.L., Bathgate, S., Yan, J., Robidoux, L., Moore, M., and Maynard, S.E. (2014). Angiogenic biomarkers for prediction of early preeclampsia onset in high-risk women. *J Matern Fetal Neonatal Med* 27, 1038-1048.
- Morales, D.R., and Morris, A.D. (2015). Metformin in cancer treatment and prevention. *Annu Rev Med* 66, 17-29.
- Mulherin, A.J., Oh, A.H., Kim, H., Grieco, A., Lauffer, L.M., and Brubaker, P.L. (2011). Mechanisms underlying metformin-induced secretion of glucagon-like peptide-1 from the intestinal L cell. *Endocrinology* 152, 4610-4619.
- Muralimanoharan, S., Maloyan, A., Mele, J., Guo, C., Myatt L. G., Myatt L. (2012). MIR-210 modulates mitochondrial respiration in placenta with preeclampsia. *Placenta* 33, 816–823.
- Myers, J., Mires, G., Macleod, M., and Baker, P. (2005). In preeclampsia, the circulating factors capable of altering in vitro endothelial function precede clinical disease. *Hypertension* 45, 258-263.
- Nanovskaya, T.N., Nekhayeva, I.A., Patrikeeva, S.L., Hankins, G.D., and Ahmed, M.S. (2006). Transfer of metformin across the dually perfused human placental lobule. *Am J Obstet Gynecol* 195, 1081-1085.
- NICE guideline. (2019). Hypertension in pregnancy: diagnosis and management. Acesso em:10 de agosto de 2020. Disponível em: www.nice.org.uk/guidance/ng133.
- Ng, E.H., Chan, C.C., Tang, O.S., Yeung, W.S., and Ho, P.C. (2006). The role of endometrial and subendometrial vascularity measured by three-dimensional power Doppler ultrasound in the prediction of pregnancy during frozen-thawed embryo transfer cycles. *Hum Reprod* 21, 1612-1617.
- Ng, T.P., Feng, L., Yap, K.B., Lee, T.S., Tan, C.H., and Winblad, B. (2014). Long-term metformin usage and cognitive function among older adults with diabetes. *J Alzheimers Dis* 41, 61-68.
- Nolte, M. S; Karan, J. H. E.(2006). Farmacologia básica e clínica. 9. ed., Rio de Janeiro: Guanabara Koogan.
- Okonkwo, U, and Dipietro, L.A. (2017). Diabetes and wound Angiogenesis. *Int J Mol Sci* 18.
- Paauw, N.D., Terstappen, F., Ganzevoort, W., Joles, J.A., Gremmels, H., and Lely, A.T. (2017). Sildenafil During Pregnancy: A Preclinical Meta-Analysis on Fetal Growth and Maternal Blood Pressure. *Hypertension* 70, 998-1006.
- Patel, R., and Shah, G. (2017). Effect of metformin on clinical, metabolic and endocrine outcomes in women with polycystic ovary syndrome: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Curr Med Res Opin* 33, 1545-1557.

- Pels, A., Kenny, L.C., Alfirevic, Z., Baker, P.N., Von Dadelszen, P., Gluud, C., Kariya, C.T., Mol, B.W., Papageorgiou, A.T., Van Wassenaer-Leemhuis, A.G., Ganzevoort, W., Groom, K.M., and International, S.C. (2017). STRIDER (Sildenafil TheRapy in dismal prognosis early onset fetal growth restriction): an international consortium of randomised placebo-controlled trials. *BMC Pregnancy Childbirth* 17, 440.
- Pereira, J. M., Silva, V. O., Cavalcanti, D. S. P. (2015). Síndrome do Ovário Policístico: Terapia Medicamentosa com Metformina e Anticoncepcionais Orais. *Revista Saúde e Ciência Em Ação* 1, 26-42.
- Phipps, E.A., Thadhani, R., Benzing, T., and Karumanchi, S.A. (2019). Pre-eclampsia: pathogenesis, novel diagnostics and therapies. *Nat Rev Nephrol* 15, 275-289.
- Pimentel, A.M., Pereira, N.R., Costa, C.A., Mann, G.E., Cordeiro, V.S., De Moura, R.S., Brunini, T.M., Mendes-Ribeiro, A.C., and Resende, A.C. (2013). L-arginine-nitric oxide pathway and oxidative stress in plasma and platelets of patients with pre-eclampsia. *Hypertens Res* 36, 783-788.
- Pintana, H., Apaijai, N., Pratchayasakul, W., Chattipakorn, N., and Chattipakorn, S.C. (2012). Effects of metformin on learning and memory behaviors and brain mitochondrial functions in high fat diet induced insulin resistant rats. *Life Sci* 91, 409-414.
- Plasencia, W., Maiz, N., Bonino, S., Kaihura, C., and Nicolaidis, K.H. (2007). Uterine artery Doppler at 11 + 0 to 13 + 6 weeks in the prediction of pre-eclampsia. *Ultrasound Obstet Gynecol* 30, 742-749.
- Poels, J., Spasic, M.R., Callaerts, P., and Norga, K.K. (2009). Expanding roles for AMP-activated protein kinase in neuronal survival and autophagy. *Bioessays* 31, 944-952.
- Powe, C.E., Levine, R.J., and Karumanchi, S.A. (2011). Preeclampsia, a disease of the maternal endothelium: the role of antiangiogenic factors and implications for later cardiovascular disease. *Circulation* 123, 2856-2869.
- Prick, B.W., Bijlenga, D., Jansen, A.J., Boers, K.E., Scherjon, S.A., Koopmans, C.M., Van Pampus, M.G., Essink-Bot, M.L., Van Rhenen, D.J., Mol, B.W., and Duvekot, J.J. (2015). Determinants of health-related quality of life in the postpartum period after obstetric complications. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 185, 88-95.
- Priya, G., and Kalra, S. (2018). Metformin in the management of diabetes during pregnancy and lactation. *Drugs Context* 7, 212523.
- Pryor, R., and Cabreiro, F. (2015). Repurposing metformin: an old drug with new tricks in its binding pockets. *Biochem J* 471, 307-322.
- Rajakumar, A., Doty, K., Daftary, A., Harger, G., and Conrad, K.P. (2003). Impaired oxygen-dependent reduction of HIF-1 α and -2 α proteins in pre-eclamptic placentae. *Placenta* 24, 199-208.
- Ramma, W., and Ahmed, A. (2014). Therapeutic potential of statins and the induction of heme oxygenase-1 in preeclampsia. *J Reprod Immunol* 101-102, 153-160.
- Rana, S., Karumanchi, S.A., and Lindheimer, M.D. (2014a). Angiogenic factors in diagnosis, management, and research in preeclampsia. *Hypertension* 63, 198-202.
- Rana, S., Rajakumar, A., Geahchan, C., Salahuddin, S., Cerdeira, A.S., Burke, S.D., George, E.M., Granger, J.P., and Karumanchi, S.A. (2014b). Ouabain inhibits placental sFlt-1 production by repressing HSP27-dependent HIF-1 α pathway. *FASEB J* 28, 4324-4334.

- Rang, H.P. e Dale, M.M. Rang & Dale: Farmacologia. ed.8 Rio de Janeiro: Elsevier, 2016
- Redman, C.W., Sacks, G.P., and Sargent, I.L. (1999). Preeclampsia: an excessive maternal inflammatory response to pregnancy. *Am J Obstet Gynecol* 180, 499-506.
- Redman, C.W., and Sargent, I.L. (2009). Placental stress and pre-eclampsia: a revised view. *Placenta* 30 Suppl A, S38-42.
- Rena, G., Hardie, D.G., and Pearson, E.R. (2017). The mechanisms of action of metformin. *Diabetologia* 60, 1577-1585.
- Roberts, J.M. Myatt, L. Spong, C.S. Thom, E.A. Hauth, J.C. Leveno, K.J. Pearson, G.D. Wapner, R.J. et al. (2010). Vitamins C and E to prevent complications of pregnancy-associated hypertension. *Rev Obstet Gynecol* 3, 72-73.
- Romero, R., Erez, O., Huttemann, M., Maymon, E., Panaitescu, B., Conde-Agudelo, A., Pacora, P., Yoon, B.H., and Grossman, L.I. (2017). Metformin, the aspirin of the 21st century: its role in gestational diabetes mellitus, prevention of preeclampsia and cancer, and the promotion of longevity. *Am J Obstet Gynecol* 217, 282-302.
- Romero, R., Nien, J.K., Espinoza, J., Todem, D., Fu, W., Chung, H., Kusanovic, J.P., Gotsch, F., Erez, O., Mazaki-Tovi, S., Gomez, R., Edwin, S., Chaiworapongsa, T., Levine, R.J., and Karumanchi, S.A. (2008). A longitudinal study of angiogenic (placental growth factor) and anti-angiogenic (soluble endoglin and soluble vascular endothelial growth factor receptor-1) factors in normal pregnancy and patients destined to develop preeclampsia and deliver a small for gestational age neonate. *J Matern Fetal Neonatal Med* 21, 9-23.
- Ronsmans, C., Graham, W.J., and Lancet Maternal Survival Series Steering, G. (2006). Maternal mortality: who, when, where, and why. *Lancet* 368, 1189-1200.
- Rowan, J.A., Hague, W.M., Gao, W., Battin, M.R., Moore, M.P., and Mi, G.T.I. (2008). Metformin versus insulin for the treatment of gestational diabetes. *N Engl J Med* 358, 2003-2015.
- Saleh, L., Verdonk, K., Visser, W., Van Den Meiracker, A.H., and Danser, A.H. (2016). The emerging role of endothelin-1 in the pathogenesis of pre-eclampsia. *Ther Adv Cardiovasc Dis* 10, 282-293.
- Salvatore, T., Pafundi, P.C., Morgillo, F., Di Liello, R., Galiero, R., Nevola, R., Marfella, R., Monaco, L., Rinaldi, L., Adinolfi, L.E., and Sasso, F.C. (2020). Metformin: An old drug against old age and associated morbidities. *Diabetes Res Clin Pract* 160, 108025.
- Sandrim, V.C., Palei, A.C., Metzger, I.F., Gomes, V.A., Cavalli, R.C., and Tanus-Santos, J.E. (2008). Nitric oxide formation is inversely related to serum levels of antiangiogenic factors soluble fms-like tyrosine kinase-1 and soluble endogline in preeclampsia. *Hypertension* 52, 402-407.
- Seifarth, C., Schehler, B., and Schneider, H.J. (2013). Effectiveness of metformin on weight loss in non-diabetic individuals with obesity. *Exp Clin Endocrinol Diabetes* 121, 27-31.
- Shanklin, D.R. and Sibai, B.M. (1990). Ultrastructural aspects of preeclampsia II. Mitochondrial changes. *Am J Obstet Gynecol* 163, 943-953.
- Shi, Z., Long, W., Zhao, C., Guo, X., Shen, R., Ding, H. (2013). Comparative proteomics analysis suggests that placental mitochondria are involved in the development of pre-eclampsia. *Plos One* 8.
- Shu, Y., Sheardown, S.A., Brown, C., Owen, R.P., Zhang, S., Castro, R.A., Ianculescu, A.G., Yue, L., Lo, J.C., Burchard, E.G., Brett, C.M., and Giacomini, K.M. (2007).

- Effect of genetic variation in the organic cation transporter 1 (OCT1) on metformin action. *J Clin Invest* 117, 1422-1431.
- Sircar, M., Thadhani, R., and Karumanchi, S.A. (2015). Pathogenesis of preeclampsia. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 24, 131-138.
- Sirtori, C.R., and Pasik, C. (1994). Re-evaluation of a biguanide, metformin: mechanism of action and tolerability. *Pharmacol Res* 30, 187-228.
- Skeffington, K.L., Higgins, J.S., Mahmoud, A.D., Evans, A.M., Sferruzzi-Perri, A.N., Fowden, A.L., Yung, H.W., Burton, G.J., Giussani, D.A., and Moore, L.G. (2016). Hypoxia, AMPK activation and uterine artery vasoreactivity. *J Physiol* 594, 1357-1369.
- Snijder, P.M., Frenay, A.R., Koning, A.M., Bachtler, M., Pasch, A., Kwakernaak, A.J., Van Den Berg, E., Bos, E.M., Hillebrands, J.L., Navis, G., Leuvenink, H.G., and Van Goor, H. (2014). Sodium thiosulfate attenuates angiotensin II-induced hypertension, proteinuria and renal damage. *Nitric Oxide* 42, 87-98.
- Soukas, A.A., Hao, H., and Wu, L. (2019). Metformin as Anti-Aging Therapy: Is It for Everyone? *Trends Endocrinol Metab* 30, 745-755.
- Souza, J.P., Gulmezoglu, A.M., Vogel, J., Carroli, G., Lumbiganon, P., Qureshi, Z., Costa, M.J., Fawole, B., Mugerwa, Y., Nafiou, I., Neves, I., Wolomby-Molondo, J.J., Bang, H.T., Cheang, K., Chuyun, K., Jayaratne, K., Jayathilaka, C.A., Mazhar, S.B., Mori, R., Mustafa, M.L., Pathak, L.R., Perera, D., Rathavy, T., Recidoro, Z., Roy, M., Ruyan, P., Shrestha, N., Taneepanichsku, S., Tien, N.V., Ganchimeg, T., Wehbe, M., Yadamsuren, B., Yan, W., Yunis, K., Bataglia, V., Cecatti, J.G., Hernandez-Prado, B., Nardin, J.M., Narvaez, A., Ortiz-Panoso, E., Perez-Cuevas, R., Valladares, E., Zavaleta, N., Armson, A., Crowther, C., Hogue, C., Lindmark, G., Mittal, S., Pattinson, R., Stanton, M.E., Campodonico, L., Cuesta, C., Giordano, D., Intarut, N., Laopaiboon, M., Bahl, R., Martines, J., Mathai, M., Meriardi, M., and Say, L. (2013). Moving beyond essential interventions for reduction of maternal mortality (the WHO Multicountry Survey on Maternal and Newborn Health): a cross-sectional study. *Lancet* 381, 1747-1755.
- Staff, A.C., Benton, S.J., Von Dadelszen, P., Roberts, J.M., Taylor, R.N., Powers, R.W., Charnock-Jones, D.S., and Redman, C.W. (2013). Redefining preeclampsia using placenta-derived biomarkers. *Hypertension* 61, 932-942.
- Strand, K.M., Heimstad, R., Iversen, A.C., Austgulen, R., Lydersen, S., Andersen, G.L., Irgens, L.M., and Vik, T. (2013). Mediators of the association between preeclampsia and cerebral palsy: population based cohort study. *BMJ* 347, f4089.
- Takane, H., Shikata, E., Otsubo, K., Higuchi, S., and Ieiri, I. (2008). Polymorphism in human organic cation transporters and metformin action. *Pharmacogenomics* 9, 415-422.
- Tang, T., Lord, J. M.; Norman, R.J.(2012). Insulin sensitising drugs (metformin, rosiglitazone, pioglitazone, D-chiroinositol) for women with polycystic ovary syndrome, oligoamenorrhoea and subfertility. *Cochrane Database Syst. Rev.* Hoboken 6, p 1-164.
- Torbergsen, T., Oian, P., Mathiesen, E., and Borud, O. (1989). Pre-eclampsia--a mitochondrial disease? *Acta Obstet Gynecol Scand* 68, 145-148.
- Towler, M.C., Hardie, D.G., (2007). AMP- Activated protein kinase in metabolic control and insulin signaling. *Circulation Research* 100, 328-341.
- Vaisbuch, E., Whitty, J.E., Hassan, S.S., Romero, R., Kusanovic, J.P., Cotton, D.B., Sorokin, Y., and Karumanchi, S.A. (2011). Circulating angiogenic and

- antiangiogenic factors in women with eclampsia. *Am J Obstet Gynecol* 204, 152 e151-159.
- Vanky, E., Zahlsen, K., Spigset, O., and Carlsen, S.M. (2005). Placental passage of metformin in women with polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril* 83, 1575-1578.
- Venkatesha, S., Toporsian, M., Lam, C., Hanai, J., Mammoto, T., Kim, Y.M., Bdolah, Y., Lim, K.H., Yuan, H.T., Libermann, T.A., Stillman, I.E., Roberts, D., D'amore, P.A., Epstein, F.H., Sellke, F.W., Romero, R., Sukhatme, V.P., Letarte, M., and Karumanchi, S.A. (2006). Soluble endoglin contributes to the pathogenesis of preeclampsia. *Nat Med* 12, 642-649.
- Venna, V.R., Li, J., Hammond, M.D., Mancini, N.S., and Mccullough, L.D. (2014). Chronic metformin treatment improves post-stroke angiogenesis and recovery after experimental stroke. *Eur J Neurosci* 39, 2129-2138.
- Verdonk, K., Visser, W., Van Den Meiracker, A.H., and Danser, A.H. (2014). The renin-angiotensin-aldosterone system in pre-eclampsia: the delicate balance between good and bad. *Clin Sci (Lond)* 126, 537-544.
- Viollet, B., and Foretz, M. (2013). Revisiting the mechanisms of metformin action in the liver. *Ann Endocrinol (Paris)* 74, 123-129.
- Viollet, B., Guigas, B., Leclerc, J., Hebrard, S., Lantier, L., Mounier, R., Andreelli, F., and Foretz, M. (2009). AMP-activated protein kinase in the regulation of hepatic energy metabolism: from physiology to therapeutic perspectives. *Acta Physiol (Oxf)* 196, 81-98.
- Viollet, B., Guigas, B., Sanz Garcia, N., Leclerc, J., Foretz, M., and Andreelli, F. (2012). Cellular and molecular mechanisms of metformin: an overview. *Clin Sci (Lond)* 122, 253-270.
- Vishnyakova, P. A., Volodina, M. A., Tarasova, N. V., Marey, M. V., Tsvirkun, D. V., Vavina, O. V., Khodzhaeva, Z. S., Kan, N. E., Menon, R., Vysokikh, M. Y., Sukhikh, G. T. (2016). Mitochondrial role in adaptive response to stress conditions in preeclampsia. *Scientific reports* 6.
- Von Dadelszen, P., Payne, B., Li, J., Ansermino, J.M., Broughton Pipkin, F., Cote, A.M., Douglas, M.J., Gruslin, A., Hutcheon, J.A., Joseph, K.S., Kyle, P.M., Lee, T., Loughna, P., Menzies, J.M., Merialdi, M., Millman, A.L., Moore, M.P., Moutquin, J.M., Ouellet, A.B., Smith, G.N., Walker, J.J., Walley, K.R., Walters, B.N., Widmer, M., Lee, S.K., Russell, J.A., Magee, L.A., and Group, P.S. (2011). Prediction of adverse maternal outcomes in pre-eclampsia: development and validation of the fullPIERS model. *Lancet* 377, 219-227.
- Wan, X., Huo, Y., Johns, M., Piper, E., Mason, J.C., Carling, D., Haskard, D.O., and Boyle, J.J. (2013). 5'-AMP-activated protein kinase-activating transcription factor 1 cascade modulates human monocyte-derived macrophages to atheroprotective functions in response to heme or metformin. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 33, 2470-2480.
- Wang, K., Ahmad, S., Cai, M., Rennie, J., Fujisawa, T., Crispi, F., Baily, J., Miller, M.R., Cudmore, M., Hadoke, P.W., Wang, R., Gratacos, E., Buhimschi, I.A., Buhimschi, C.S., and Ahmed, A. (2013). Dysregulation of hydrogen sulfide producing enzyme cystathionine gamma-lyase contributes to maternal hypertension and placental abnormalities in preeclampsia. *Circulation* 127, 2514-2522.
- Wang, S., Song, P., and Zou, M.H. (2012). AMP-activated protein kinase, stress responses and cardiovascular diseases. *Clin Sci (Lond)* 122, 555-573.
- Wheaton, W.W., Weinberg, S.E., Hamanaka, R.B., Soberanes, S., Sullivan, L.B., Anso, E., Glasauer, A., Dufour, E., Mutlu, G.M., Budigner, G.S., and Chandel,

- N.S. (2014). Metformin inhibits mitochondrial complex I of cancer cells to reduce tumorigenesis. *Elife* 3, e02242.
- Wu, L., Zhou, B., Oshiro-Rapley, N., Li, M., Paulo, J.A., Webster, C.M., Mou, F., Kacergis, M.C., Talkowski, M.E., Carr, C.E., Gygi, S.P., Zheng, B., and Soukas, A.A. (2016). An Ancient, Unified Mechanism for Metformin Growth Inhibition in *C. elegans* and Cancer. *Cell* 167, 1705-1718 e1713.
- Xu, T., Brandmaier, S., Messias, A.C., Herder, C., Draisma, H.H., Demirkan, A., Yu, Z., Ried, J.S., Haller, T., Heier, M., Campillos, M., Fobo, G., Stark, R., Holzapfel, C., Adam, J., Chi, S., Rotter, M., Panni, T., Quante, A.S., He, Y., Prehn, C., Roemisch-Margl, W., Kastenmuller, G., Willemsen, G., Pool, R., Kasa, K., Van Dijk, K.W., Hankemeier, T., Meisinger, C., Thorand, B., Ruepp, A., Hrabe De Angelis, M., Li, Y., Wichmann, H.E., Stratmann, B., Strauch, K., Metspalu, A., Gieger, C., Suhre, K., Adamski, J., Illig, T., Rathmann, W., Roden, M., Peters, A., Van Duijn, C.M., Boomsma, D.I., Meitinger, T., and Wang-Sattler, R. (2015). Effects of metformin on metabolite profiles and LDL cholesterol in patients with type 2 diabetes. *Diabetes Care* 38, 1858-1867.
- Zeng, Y., Li, M., Chen, Y., and Wang, S. (2015). Homocysteine, endothelin-1 and nitric oxide in patients with hypertensive disorders complicating pregnancy. *Int J Clin Exp Pathol* 8, 15275-15279.
- Zhang, H.H., Chen, J.C., Sheibani, L., Lechuga, T.J., and Chen, D.B. (2017). Pregnancy Augments VEGF-Stimulated In Vitro Angiogenesis and Vasodilator (NO and H₂S) Production in Human Uterine Artery Endothelial Cells. *J Clin Endocrinol Metab* 102, 2382-2393.
- Zhao, B., Luo, J., Yu, T., Zhou, L., Lv, H., and Shang, P. (2020). Anticancer mechanisms of metformin: A review of the current evidence. *Life Sci* 254, 117717.
- Zhao, H., Wong, R.J., Kalish, F.S., Nayak, N.R., and Stevenson, D.K. (2009). Effect of heme oxygenase-1 deficiency on placental development. *Placenta* 30, 861-868.
- Zhao, R.R., Xu, X.C., Xu, F., Zhang, W.L., Zhang, W.L., Liu, L.M., and Wang, W.P. (2014). Metformin protects against seizures, learning and memory impairments and oxidative damage induced by pentylentetrazole-induced kindling in mice. *Biochem Biophys Res Commun* 448, 414-417.
- Zhou, G., Myers, R., Li, Y., Chen, Y., Shen, X., Fenyk-Melody, J., Wu, M., Ventre, J., Doebber, T., Fujii, N., Musi, N., Hirshman, M.F., Goodyear, L.J., and Moller, D.E. (2001). Role of AMP-activated protein kinase in mechanism of metformin action. *J Clin Invest* 108, 1167-1174.
- Zhou, L., Liu, H., Wen, X., Peng, Y., Tian, Y., and Zhao, L. (2017). Effects of metformin on blood pressure in nondiabetic patients: a meta-analysis of randomized controlled trials. *J Hypertens* 35, 18-26.
- Zhou, M., Xia, L., and Wang, J. (2007). Metformin transport by a newly cloned proton-stimulated organic cation transporter (plasma membrane monoamine transporter) expressed in human intestine. *Drug Metab Dispos* 35, 1956-1962.
- Zhou, Y., Damsky, C.H., and Fisher, S.J. (1997a). Preeclampsia is associated with failure of human cytotrophoblasts to mimic a vascular adhesion phenotype. One cause of defective endovascular invasion in this syndrome? *J Clin Invest* 99, 2152-2164.
- Zhou, Y., Fisher, S.J., Janatpour, M., Genbacev, O., Dejana, E., Wheelock, M., and Damsky, C.H. (1997b). Human cytotrophoblasts adopt a vascular phenotype as they differentiate. A strategy for successful endovascular invasion? *J Clin Invest* 99, 2139-2151.

