

COVID-19:
può la metformina ridurre drasticamente il numero dei morti?

COVID-19: Can Metformin Drastically Reduce the Number of Deaths? *Citation:* Bracco Lorenzo. COVID-19: Can Metformin Drastically Reduce the Number of Deaths? J Med - Clin Res & Rev. 2021; 5(1): 1-6. **Received:** 02 January 2021; **Accepted:** 19 January 2021

*Bracco Lorenzo MD **

Specialista in Medicina Fisica e Riabilitazione, “Diplôme de Université Paris VII” in Opzione Clinica di Patologia Tropicale ed Epidemiologia, Psicoterapeuta.

** Corrispondenza:*

Bracco Lorenzo MD, Fondazione Lorenzo Bracco, Corso Marconi 37, 10125 Torino, Italia, Tel: +39 3331632321, E-mail: lorenzobraccofoundation@gmail.com

ABSTRACT

Per affrontare l'attuale pandemia dovuta al Sars-Cov-2 esistono diverse strategie che riguardano comportamenti sociali come il distanziamento sociale e il lockdown, vaccini (tradizionali e mRNA), antivirali mirati. La nostra proposta ulteriore è quella di identificare un farmaco già esistente che sia sicuro e che presenti delle caratteristiche terapeutiche che siano utili in funzione del Covid-19. Si tratta della Metformina, il più usato farmaco antidiabetico che si è già dimostrato efficace in ambiti diversi da quello per cui è stato creato e che ha dimostrato una comprovata sicurezza in lunghi anni di somministrazione a una popolazione di centinaia di milioni di persone. Si passa in rassegna la letteratura medica che attesta le importanti caratteristiche della metformina come anti obesità, antitumorale, come anti-age e contro il decadimento cognitivo senile. La proposta di usare la metformina in funzione anti Covid-19, di cui ridurrebbe morbilità, mortalità e danno agli organi, si fonda sulla sua riconosciuta capacità di modulare e normalizzare la produzione delle citochine infiammatorie, tra cui l'interleuchina 6, la cui sovrapproduzione

data dalla massa grassa viscerale nei pazienti obesi o sovrappeso è causa di esiti gravissimi in pazienti Covid-19. A validazione di quanto detto riportiamo un'analisi retrospettiva compiuta a Wuhan su pazienti ospedalizzati per Covid-19 dal 27 gennaio 2020 al 24 marzo 2020, in cui sono stati presi in esame pazienti diabetici in trattamento con metformina e pazienti diabetici senza trattamento con metformina. Al momento del ricovero non c'erano differenze significative tra i due gruppi in termini di sesso, età, malattie sottostanti, gravità clinica e categoria di supporto dell'ossigeno. Il trattamento antidiabetico con metformina è stato associato a una sensibile diminuzione della mortalità, statisticamente quattro volte di meno, rispetto ai diabetici non trattati con metformina.

Keywords

Metformina, Sindrome Metabolica, Covid-19, Sars-Cov-2, Citochine, Tempesta Citochinica, Interleuchina 6, IL-6, Polmonite Interstiziale, Obesità, Sovrappeso, Tessuto Adiposo Viscerale, IVA, Grasso Addominale Viscerale, Circonferenza Vita, Rapporto Vita-Fianchi, WHR, Bioimpedenziometria, Adipocita, Miocita, Metabolismo Muscolare, Biguanide, Diabete, Antidiabetico, Resistenza Insulinica, Iperinsulinemia, Indice di Massa Corporea, BMI, Medicina Traslazionale, Host Directed Therapy, Galega Officinalis, Jean Sterne

Non c'è persona al mondo che non si stia chiedendo quando e come finirà l'incubo del Covid-19 [1].

Sarà probabilmente il “come” a definire il “quando” e sul “come” le ipotesi sono molteplici e non si escludono a vicenda [2].

Prima ipotesi: un giorno il virus si estinguerà da solo, oppure perderà gran parte della sua virulenza. Ciò non esclude di prendere nel frattempo altri provvedimenti per evitare che lo scenario possa diventare drammatico, oltre a tutto non potendo prevedere i tempi del “quando” [3].

Seconda ipotesi: riuscire ad avere a disposizione su grande scala un antivirale [4] specifico che sconfigga il virus Sars-Cov-2 [5].

Terza ipotesi: portare all'estinzione il virus con il distanziamento sociale [6], con precauzioni e protezioni (lavarsi le mani, usare le mascherine, ecc...) [7], con la quarantena degli ammalati e di coloro che sono venuti recentemente in contatto con loro. Questa misura si è dimostrata valida per rallentare la diffusione del virus, ma non per ridurla a zero. Ridurre a zero la possibilità di contagio richiederebbe un impegno totale e assoluto da

parte di ognuno di noi, con costi psicologici, sociali ed economici pesantissimi: un lockdown totale da prolungare nel tempo finché il virus non si sia estinto da solo. L'attuazione di un tale programma è ulteriormente resa difficoltosa dalla diffusione geografica del virus e, di conseguenza, dall'estrema difficoltà a effettuare ciò a livello mondiale [8]. Quarta ipotesi: un vaccino sicuro ed efficace [9, 10, 11, 12, 13], la sfida [14] per il mondo scientifico.

Quinta ipotesi: cercare se tra i farmaci già presenti nella nostra sterminata farmacia mondiale ve ne sia uno che si riveli utile nell'affrontare la pandemia dovuta al Sars-Cov-2.

Da oltre 60 anni esiste un farmaco, forse il più prescritto in tutto il mondo, già-utilizzato da centinaia di milioni di persone e da ognuna di queste, una volta cominciata la terapia, per tutta la vita, cioè in molti casi per decine di anni. Stiamo parlando della Metformina, il farmaco antidiabetico per eccellenza [15] – per il diabete mellito di tipo 2, la piaga dei tempi moderni, quello che colpisce soggetti solitamente obesi e con età superiore ai 40 anni – e che ora è usato [16] anche come anti-age, antitumorale e contro il decadimento cognitivo, come vedremo in seguito.

Tutto è cominciato all'alba dei tempi da una pianta utilizzata nelle medicine popolari da secoli: la Galega Officinalis, nel linguaggio popolare chiamata Lilla francese o Ruta della capra [17]. Questa pianta contiene sostanze chimiche alcaloidi chiamate biguanidi. Negli anni '20 del secolo scorso, sintetizzando chimicamente le varie biguanidi, si è arrivati a produrre la metformina, una biguanide nuova, non presente nella pianta. Essa fu descritta per la prima volta, nel 1922, in un articolo scientifico da Emil Werner e James Bell [18]. Nel 1929 Slotta e Tschesche avevano già scoperto la sua funzione sulla glicemia [19], ma il loro studio cadde nel dimenticatoio perché l'uso dell'insulina la fece da padrone. Fu poi il diabetologo francese Jean Sterne [20] a studiare le proprietà anti-iper-glicemizzanti degli alcaloidi ricavati dalla Galega Officinalis, la cui struttura chimica è correlata con la metformina. Successivamente egli lavorò per i laboratori Aron di Parigi e rinvestigò l'uso della metformina e delle altre biguanidi. Fu così che Sterne provò la metformina sugli esseri umani per il trattamento del diabete, e chiamò il farmaco "Glucophage" (ovvero "mangiatore di zucchero" in greco). I suoi studi furono pubblicati nel 1957 [20, 21]. La metformina, registrata nel British National Formulary nel 1958, cominciò a essere commercializzata in UK da Rona, piccola filiale della Aron. Il grande interesse per la metformina come

antidiabetico si ebbe negli anni '70. Nel 1972 fu approvata in Canada [22]. Negli USA la Food and Drug Administration (FDA) l'approvò nel 1994. Il risultato è che la metformina, commercializzata da più di 60 anni, è il farmaco antidiabetico più prescritto nel mondo [21].

Negli ultimi decenni la metformina, da specifico farmaco antidiabetico, si è sorprendentemente rivelata come agente anti-cancro [23], diminuendo l'incidenza del cancro e la sua mortalità correlata. Ulteriori studi hanno constatato che l'uso della metformina è un fattore positivo contro il cancro al seno [24, 25, 26], all'ovaia [27], al polmone [28] e alla prostata [29]. Non c'è da stupirsi, perché l'iperinsulinemia e l'eccesso di zucchero nel sangue, sui quali la metformina ha un effetto regolatorio e normalizzante [30], sono fondamentali per il metabolismo della cellula tumorale e in quello dei tessuti infiammati. Infatti sul metabolismo dello zucchero si basa l'esame diagnostico della PET (Tomografia a Emissione di Positroni) usando un radioisotopo legato alla molecola di uno zucchero [31]. Inoltre la metformina si è rivelata utile per migliorare le caratteristiche cliniche e biochimiche della sindrome dell'ovaio policistico [32].

La metformina ha anche un effetto benefico su diversi fattori di rischio cardiovascolari tra cui la dislipidemia [33]. Già da tempo si è constatato che la metformina anche in soggetti ipertesi di mezza età, non diabetici, non obesi e non fumatori, migliora l'ipertensione e ha ridotto il colesterolo totale e quello LDL, i trigliceridi, l'insulina plasmatica a digiuno e i livelli del peptide C, che nel sangue indica quanta insulina è stata prodotta. Infatti la resistenza all'insulina e l'iperinsulinemia possono svolgere un ruolo importante sia nello sviluppo dell'ipertensione sia nelle alterazioni metaboliche che la accompagnano [34]. Secondo alcuni studi la metformina avrebbe anche un effetto benefico sull'ipertensione polmonare [35].

Il trattamento costante con metformina si è rivelato utile anche nella prevenzione dell'aterosclerosi e della senescenza vascolare [36], è associato a una dimensione ridotta dell'infarto miocardico [37], riduce il rischio di ictus [38] e ne migliora il trattamento [39], rallenta il declino cognitivo e riduce l'incidenza di demenza [40]. L'azione della metformina si è rivelata utile nella steatosi epatica non alcolica associata all'obesità [41] e contro l'infiammazione connessa con l'obesità. Questo meccanismo antiinfiammatorio avviene per la modulazione e la normalizzazione, grazie alla metformina, della produzione delle citochine proinfiammatorie che nell'obeso sono prodotte in eccesso [42]. La capacità della metformina di

modulare e normalizzare la produzione delle citochine infiammatorie, è un'indicazione in più per una sua costante assunzione in un contesto pandemico. Infatti un rilascio disregolato ed eccessivo di citochine proinfiammatorie, con perdita del controllo regolatorio della loro produzione, sia a livello locale che sistemico, si è visto essere connesso con la gravità del decorso del Covid-19 [43]. La modulazione e normalizzazione della produzione delle citochine con l'assunzione costante della metformina avverrebbe in modo automatico senza effetti collaterali negativi sull'immunità, mentre l'uso di farmaci, non scevri da effetti collaterali, miranti a ridurre in modo diretto la produzione delle citochine necessiterebbe di una valutazione approfondita e accurata per stabilire sia quale farmaco convenga usare sia il singolo dosaggio [44]. La metformina, dato il suo utilizzo da oltre mezzo secolo su un numero enorme di diabetici, si è rivelata già da tempo come un farmaco molto sicuro [45] i cui effetti collaterali, che a mano a mano si scoprono, sembrano non essere negativi bensì fondamentalmente positivi per la salute anche dei non diabetici: effetti antitumorali, anti obesità e anti-age (migliorando la qualità e la durata della vita) [46, 47, 48].

Si è cominciato già da tempo ad usare la metformina per i suoi effetti benefici anche su persone che diabetiche non sono – esempio tipico di medicina traslazionale [49], ovvero l'uso di una terapia in ambito multidisciplinare e non solo strettamente per la specialità per cui era nata [23] – forti del fatto che la sicurezza di questo farmaco è già stata comprovata dal numero incredibile di pazienti diabetici che l'hanno assunto (svariate centinaia di milioni) e dalla durata dell'assunzione, cioè per tutta la vita di ognuno di essi [45]. Inoltre la metformina si è rivelata un farmaco sicuro anche in pazienti che presentano altre patologie, ad esempio epatiche [50] e renali [51].

Ovviamente, come tutti i farmaci, va presa sotto controllo medico e deve essere eseguita un'analisi della creatinina nel sangue (esame per altro consigliato di default negli esami di routine per tutti, comprese le persone sane) per monitorare la funzionalità renale, che, se insufficiente, richiede un aggiustamento del dosaggio del farmaco a causa della sua diminuita eliminazione con le urine. Utile anche un controllo della vitamina B-12 nel sangue (un altro test che dovrebbe essere fatto di default per tutti). Un malassorbimento di vitamina B12 può essere associato al trattamento a lungo termine con metformina [52], ma il suo assorbimento può migliorare con l'integrazione di calcio nella dieta [53].

La metformina è controindicata in caso di abuso di alcol – sia l'alcolismo conclamato sia il famoso carico alcolico eccessivo del venerdì e del sabato sera – per il rischio aumentato di acidosi lattica, rischio peraltro rarissimo e quasi esclusivamente possibile quando esistono già comprovate controindicazioni mediche per preesistenti gravi danni d'organo [54]. Si consiglia di iniziare con un dosaggio giornaliero di 500 mg a colazione, per poi aumentare a due dosi (colazione e cena) e arrivare eventualmente a tre dosi (colazione, pranzo e cena). Il dosaggio per un adulto è solitamente di 1.5 grammi al giorno e non dovrebbe mai superare i 3 grammi al giorno. Nella maggioranza dei casi l'assunzione della metformina non dà alcun problema. Nella fase iniziale dell'assunzione del farmaco in una piccola percentuale di casi vi può essere intolleranza (con sensazione di nausea o di gastralgia e/o diarrea) solitamente però ovviabile seguendo alcune avvertenze, quali l'introduzione graduale del dosaggio, la distribuzione del dosaggio nella giornata o passando alla formulazione "slow" o a quella in polvere per soluzione orale da sciogliere in acqua.

Ma torniamo al Covid-19.

È comparso un articolo relativo all'analisi di 150 pazienti, maschi e femmine, con un'età compresa tra 22 e 97 anni (età media 64 ± 16 anni) di cui 64,7% maschi, ammessi al Pronto Soccorso dell'Ospedale Sant'Andrea di Roma durante il mese di marzo 2020 con diagnosi di Covid-19 [55]. Tutti i pazienti erano stati sottoposti a due tamponi naso-oro-faringei a intervalli di 24 ore, e i campioni sono stati testati per confermare la diagnosi (Charité, Berlino, Germania) di Sars-Cov-2 tramite trascrittasi inversa in tempo reale (RT-PCR). Tutti i pazienti avevano effettuato TAC toracica, di conseguenza è stato possibile quantificare il grasso addominale viscerale (IVA). Per fare ciò è stata selezionata la prima sezione (*slice*) della TAC in cui era visibile solo l'addome e non più le basi polmonari. Il risultato di questo studio è che il grasso addominale viscerale è un marker di esiti clinici peggiori per i pazienti Covid-19.

Il grasso addominale viscerale in eccesso è il principale secretore di citochine, tra cui l'interleuchina 6 (IL-6) [56]. Questa capacità dell'adipocita sarebbe uno dei motivi per i quali gli obesi hanno la proteina C-reattiva (valore usato nella diagnostica medica per valutare il livello di infiammazione) più elevata dei non obesi [57]. Retrospectivamente i livelli di interleuchina-6 sono risultati aumentati nei non sopravvissuti al Covid-19 [58].

La metformina ha un effetto benefico sul peso corporeo e sulla composizione corporea e il trattamento con metformina ha determinato una significativa riduzione della massa grassa viscerale [59]. Il trattamento a lungo termine con metformina su pazienti con obesità addominale, in associazione con una dieta ipocalorica, ha indotto, rispetto al placebo, anch'esso in associazione con la dieta ipocalorica, una maggiore riduzione del peso corporeo e del grasso addominale, in particolare dei depositi viscerali, con una maggior riduzione della circonferenza addominale. Come prevenzione del Covid-19 e delle sue complicanze si potrebbe ravvisare quindi un'indicazione al trattamento continuativo con metformina in pazienti con obesità e sovrappeso [60].

Inoltre si è dimostrato che la metformina ha portato un miglioramento significativo nei confronti della resistenza all'insulina e della funzione delle cellule beta del pancreas che la producono [61]. La metformina è associata alla normalizzazione della glicemia e non alla ipoglicemia perché non stimola la secrezione di insulina [33]. La metformina ripristina la normale produzione di insulina riducendo anche l'insulina basale qualora fosse eccessiva [61]. Non dimentichiamo che l'iperinsulinemia induce infiammazione, tanto che da alcuni sarebbe considerata come un fattore di rischio anche per la malattia di Alzheimer [62].

La metformina, con i suoi meccanismi d'azione complessi – riduzione della neoglucogenesi epatica, tendenza alla normalizzazione della glicemia, riduzione della resistenza all'insulina, solo per citarne alcuni— si è rivelata utile, come abbiamo già detto, contro l'obesità e l'infiammazione correlata, grazie alla diminuzione delle citochine proinfiammatorie [48]. Vi sarebbe un'ulteriore riprova al vantaggio dell'uso continuativo della metformina anche per la pandemia da Covid-19 – di cui riduce morbilità, mortalità e danno agli organi – oltre ai riconosciuti benefici anti-age, antitumorali e anti decadimento cognitivo senile.

A validazione di quanto detto riportiamo un'analisi retrospettiva compiuta a Wuhan su pazienti ospedalizzati per Covid-19 dal 27 gennaio 2020 al 24 marzo 2020 [63]. Sono stati presi in esame 104 pazienti diabetici in trattamento con metformina e 179 pazienti diabetici senza trattamento con metformina. Al momento del ricovero non c'erano differenze significative tra i due gruppi in termini di sesso, età, malattie sottostanti, gravità clinica e categoria di supporto dell'ossigeno. Il gruppo in trattamento con metformina aveva a digiuno un livello di glucosio nel sangue leggermente superiore a quello del gruppo non trattato con metformina. In entrambi i

gruppi dopo il ricovero la glicemia era sotto controllo efficace. La durata della degenza ospedaliera non ha avuto differenze significative tra i due gruppi (21,0 giorni per il gruppo con metformina contro 19,5 giorni per il gruppo in assenza di metformina). Durante la degenza invece, significativamente inferiore è stata la mortalità del gruppo in trattamento con metformina (3/104 cioè il 2,9%) rispetto al gruppo non trattato con metformina (22/179 cioè il 12,3%). Il trattamento antidiabetico con metformina è stato associato a una sensibile diminuzione della mortalità, statisticamente quattro volte di meno, rispetto ai diabetici non trattati con metformina.

L'assunzione continuativa di metformina (farmaco antidiabetico, anti-age, antitumorale e anti decadimento cognitivo senile) vede estendersi la sua indicazione medica in funzione dell'attuale emergenza Covid-19, ai fini di essere meno fragili di fronte al Sars-Cov-2, evitando la risposta iperinflammatoria data da una produzione eccessiva di citochine. Se, grazie all'uso continuativo di metformina nelle categorie a rischio la mortalità nell'attuale pandemia si dimostrasse abbassarsi da 4 a 1, ovvero abbassarsi del 75%, questo sarebbe un risultato eccezionale.

L'indicazione medica all'introduzione all'uso continuativo della metformina nelle categorie più a rischio Covid-19 riguarda gli over 60 sia obesi che sovrappeso – ovvero con BMI, Indice di Massa Corporea, superiore a 23,9 per le donne e 25 per gli uomini – al dosaggio terapeutico di circa 1,5 grammi al giorno anche in considerazione degli eventuali effetti collaterali benefici (anti obesità, anti-age, antitumorale e anti decadimento cognitivo senile).

Naturalmente, ai fini di perdere il grasso addominale in eccesso, è bene abbinare un corretto stile di vita e una sana dieta, debitamente personalizzata, tenendo presente le condizioni della singola persona e il suo inquadramento nella prospettiva e nel contesto attuale di pandemia. Stile di vita e dieta durante la pandemia da Covid-19 meritano sicuramente un approfondimento dedicato e saranno oggetto di un prossimo articolo. Per gli over 60 normopeso la proposta, riguardo all'eventuale assunzione di metformina, è di valutare da un punto di vista medico il singolo caso. Va presa in considerazione la possibile presenza di diabete, prediabete, sindrome metabolica non precedentemente diagnosticati (per un controllo effettuare a digiuno: glicemia, emoglobina glicata e insulinemia). Un parametro molto importante da valutare è il volume addominale. La cosa più semplice da fare è la misurazione della circonferenza a vita che,

secondo le linee guida europee, non deve superare il limite di 102 cm negli uomini e di 88 cm nelle donne. Si tratta però di una valutazione imprecisa perché non tiene conto della costituzione fisica la quale riguarda anche la massa ossea, per cui molto più accurato risulta il rapporto tra la circonferenza della vita e quella dei fianchi che deve essere inferiore a 0,95 per gli uomini e 0,8 nelle donne. Va valutata anche la quantità di massa magra muscolare e di massa grassa, il loro rapporto e va valutato anche se non vi sia un eccessivo accumulo di grasso intra addominale. Questa valutazione è effettuabile con la bioimpedenziometria. Si può avere il caso di un normopeso in cui il rapporto fra massa muscolare e massa grassa è squilibrato a favore della massa grassa e l'uso della metformina in questo caso favorirebbe il metabolismo muscolare rispetto a quello dell'adipocita [64, 33].

La metformina, già diventata un'opzione terapeutica contro età, obesità, cancro e decadimento cognitivo, avrebbe ora, grazie ai suoi meccanismi metabolici, una ulteriore caratteristica come Host-Directed Therapy [65] – la terapia mirante a modificare la risposta del soggetto in funzione di resistere a un patogeno – contro il Covid-19.

References

1. Di Gennaro F, Pizzol D, Marotta C, Antunes M, Racalbutto V, Veronese N, Smith L. Coronavirus Diseases (COVID-19) Current Status and Future Perspectives: A Narrative Review. *International Journal of Environmental Research and Public Health*. 2020; 17(8):2690.
<https://doi.org/10.3390/ijerph17082690>
2. Pandey S, Yadav B, Pandey A, Tripathi T, Khawary M, Kant S, Tripathi D. Lessons from SARS-CoV-2 Pandemic: Evolution, Disease Dynamics and Future. *Biology*. 2020; 9(6):141.
<https://doi.org/10.3390/biology9060141>
3. Chow C.C, Chang J.C, Gerkin R.C, Vattikuti S. Global prediction of unreported SARS-CoV2 infection from observed COVID-19 cases. Preprint. medRxiv. 2020;2020.04.29.20083485. Published 2020 May 5. DOI: <https://doi.org/10.1101/2020.04.29.20083485>

4. Glaus M.J, Von Ruden S. Remdesivir and Covid-19. The Lancet October 03, 2020. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)32021-3](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)32021-3)
5. Wang Y, Zhang D, Du G, et al. Remdesivir in adults with severe COVID-19: a randomised, double-blind, placebo-controlled, multicentre trial. The Lancet April 29, 2020. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)31022-9](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)31022-9)
6. Chu D.K, Akl E.A, Duda S, Solo K, Yaacoub S, Schünemann H.J, et al. Physical distancing, face masks, and eye protection to prevent person-to-person transmission of SARS-CoV-2 and COVID-19: a systematic review and meta-analysis. The Lancet May 12, 2020
DOI: [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)31142-9](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)31142-9)
7. Wang J, Pan L, Tang S, Ji JS, Shi X. Mask use during COVID-19: A risk adjusted strategy. Environ Pollut. 2020 Nov;266(Pt 1):115099. Doi: 10.1016/j.envpol.2020.115099. Epub 2020 Jun 25. PMID: 32623270; PMCID: PMC7314683.
8. Alfano V, Ercolano S. The Efficacy of Lockdown Against COVID-19: A Cross-Country Panel Analysis. Appl Health Econ Health Policy 18, 509–517 (2020). DOI: <https://doi.org/10.1007/s40258-020-00596-3>
9. Yang L, Tian D, Liu W. [Strategies for vaccine development of COVID-19]. Sheng Wu Gong Cheng Xue Bao. 2020 Apr 25;36(4):593-604. Chinese. DOI: 10.13345/j.cjb.200094. PMID: 32347054.
10. Leslie Collier, Albert Balows e Max Sussman, Virology, in Brian H Mahy e Leslie Collier (a cura di), Topley and Wilson's Microbiology and Microbial Infections, vol. 1, 9^a ed., Arnold, 1998, ISBN [0-340-66316-2](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)31142-9).
11. Van Dorp L, Acman M, Richard D, Shaw P.L, Ford E.C, Ormond L, Owen J.C, Pang J, Tan C.S.C, Boshier A.T.F, Ortiz A.T, Balloux F. Emergence of genomic diversity and recurrent mutations in SARS-CoV-2. Infection, Genetics and Evolution. Vol. 83, September 2020, 104351. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2020.104351>

12. Ledford H. Coronavirus reinfections: three questions scientists are asking. *Nature*. 2020 Sep;585(7824):168-169. doi: 10.1038/d41586-020-02506-y. PMID: 32887957. <https://www.nature.com/articles/d41586-020-02506-y>

13. Seow J, Graham C, Merrick B, Acors S, Steel K.J.A, Hemmings O, O'Bryne A, Kouphou N, Pickering S, Galao R, Betancor G, Wilson H.D, Signell A.W, Winstone H, Kerridge C, Temperton N, Snell L, Bisnauthsing K, Moore A, Green A, Martinez L, Stokes B, Honey J, Izquierdo-Barras A, Arbane G, Patel A, OConnell L, O Hara G, MacMahon E, Douthwaite S, Nebbia G, Batra R, Martinez-Nunez R, Edgeworth J.D, Neil S.J.D, Malim M.H, Doores K. Longitudinal evaluation and decline of antibodies responses in SARS-Cov-2 infection. <https://doi.org/10.1101/2020.07.09.20148429>

14. Pardi N, Hogan M.J, Porter F.W, Weissman D. mRNA vaccines - a new era in vaccinology. *Nat Rev Drug Discov*. 2018 Apr;17(4):261-279. doi: 10.1038/nrd.2017.243. Epub 2018 Jan 12. PMID: 29326426; PMCID: PMC5906799.

15. Maruthur N.M, Tseng E, Hutfless S, Wilson L.M, Suarez-Cuervo C, Berger Z, Chu Y, Iyoha E, Segal J.B, Bolen S. Diabetes Medications as Monotherapy or Metformin-Based Combination Therapy for Type 2 Diabetes. A systematic Review and Meta-analysis. *Annals of Internal Medicine*. <https://doi.org/10.7326/M15-2650>

16. <https://www.fondazioneveronesi.it/magazine/i-blog-della-fondazione/il-blog-di-stefano-del-prato/farmaci-sempreverdi>

17. Witters L.A. *The blooming of the French lilac. The Journal of Clinical Investigation*. (October 2001). 108 (8): 1105–7. DOI: <https://doi.org/10.1172/JCI14178>. PMC 209536. PMID 11602616.

18. Werner E, Bell J (1922). The preparation of methylguanidine, and of $\beta\beta$ -dimethylguanidine by the interaction of dicyandiamide, and methylammonium and dimethylammonium chlorides respectively. *J. Chem. Soc., Trans*. 121: 1790–95. DOI: <https://doi.org/10.1039/CT9222101790>

19. *Slotta K.H, Tschesche R (1929). Über Biguanide, II.: Die blutzucker-senkende Wirkung der Biguanide. Berichte der Deutschen Chemischen Gesellschaft (A and B Series). 62 (6): 1398–1405. DOI: <https://doi.org/10.1002/cber.19290620605>*
20. *Bailey C.J, Day C (2004) Metformin: its botanical background. Practical Diabetes International. 21(3): 115–17. DOI: <https://doi.org/10.1002/pdi.606> Archived from the original on 17 December 2012.*
21. Campbell I.W. Metformin — life begins at 50: A symposium held on the occasion of the 43rd Annual Meeting of the European Association for the Study of Diabetes, Amsterdam, The Netherlands, September 2007. *The British Journal of Diabetes & Vascular Disease.* 2007;7(5):247-252. DOI:[10.1177/14746514070070051001](https://doi.org/10.1177/14746514070070051001)
22. Lucis O.J. The status of metformin in Canada. *Can Med Assoc J.* 1983 Jan 1;128(1):24-6. PMID: 6847752; PMCID: PMC1874707. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/6847752/>
23. Dowling R.J, Niraula S, Stambolic V, Goodwin P.J. Metformin in cancer: translational challenges. *J Mol Endocrinol.* 2012 Mar 29;48(3):R31-43. doi: 10.1530/JME-12-0007. PMID: 22355097. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22355097/>
24. Anisimov V.N, Berstein L.M, Egormin P.A, Piskunova T.S, Popovich I.G, Zabezhinski M.A, Kovalenko I.G, Poroshina T.E, Semenchko A.V, Provinciali M, Re F, Franceschi C. Effect of metformin on life span and on the development of spontaneous mammary tumors in HER-2/neu transgenic mice. *Exp Gerontol.* 2005 Aug-Sep;40(8-9):685-93. DOI: 10.1016/j.exger.2005.07.007. PMID: 16125352. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16125352/>
25. Alimova I.N, Liu B, Fan Z, Edgerton S.M, Dillon T, Lind S.E, Thor A.D. Metformin inhibits breast cancer cell growth, colony formation and induces cell cycle arrest in vitro. *Cell Cycle.* 2009 Mar 15;8(6):909-15.

DOI: 10.4161/cc.8.6.7933. Epub 2009 Mar 26. PMID: 19221498.
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19221498/>

26. Kasznicki J, Sliwinska A, Drzewoski J. Metformin in cancer prevention and therapy. *Ann Transl Med.* 2014 Jun;2(6):57. doi: 10.3978/j.issn.2305-5839.2014.06.01. PMID: 25333032; PMCID: PMC4200668.

27. Min X, Zhang T, Lin Y, Wang B, Zhu K. Metformin inhibits the growth of ovarian cancer cells by promoting the Parkin-induced p53 ubiquitination. *Biosci Rep.* 2020 Sep 1:BSR20200679. DOI: 10.1042/BSR20200679. Epub ahead of print. PMID: 32869837.
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32869837/>

28. Wang Y, Dai W, Chu X. et al. Metformin inhibits lung cancer cells proliferation through repressing microRNA-222. *Biotechnol Lett* 35, 2013–2019 (2013). <https://doi.org/10.1007/s10529-013-1309-0>

29. Preston M.A, Riis A.H, Ehrenstein V, Breau R.H, Batista J.L, Olumi A.F, Mucci L.A, Adami H-O, Sørensen H.T. Metformin Use and Prostate Cancer Risk, *European Urology*, Volume 66, Issue 6, 2014, Pages 1012-1020, ISSN 0302-2838, <https://doi.org/10.1016/j.eururo.2014.04.027>.
(<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0302283814004084>)

30. Freemark M, Bursey D. The Effects of Metformin on Body Mass Index and Glucose Tolerance in Obese Adolescents With Fasting Hyperinsulinemia and a Family History of Type 2 Diabetes. *Pediatrics* April 2001, 107 (4) e55; DOI: 10.1542/peds.107.4.ee55

31. Bailey D.L, Townsend D.W, Valk P.E, Maisey M.N. *Positron Emission Tomography. Basic Sciences.* Springer, London 2005. Print ISBN978-1-85233-798-8. Online ISBN978-1-84628-007-8.
DOI: <https://doi.org/10.1007/b136169>

32. Lord J.M, Flight I.H.K, Norman R.J. Metformin in polycystic ovary syndrome: systematic review and meta-analysis, *BMJ* 2003; 327: 951
doi: <https://doi.org/10.1136/bmj.327.7421.951>

33. Cusi K, DeFronzo R.A. Metformin: A review of its metabolic effects. UT Health San Antonio. *Diabetes Reviews*. Vol. 6, Issue n.2 Jan 1 1998.
34. Landin K, Tengborn L, Smith U. Treating insulin resistance in hypertension with metformin reduces both blood pressure and metabolic risk factors. *J Intern Med*. 1991 Feb;229(2):181-7. doi: 10.1111/j.1365-2796.1991.tb00328.x. PMID: 1900072.
35. Agard C, Rolli-Derkinderen M, Dumas-de-La-Roque E, Rio M, Sagan C, Savineau J, Loirand G, Pacaud P. Protective role of the antidiabetic drug metformin against chronic experimental pulmonary hypertension. *British Journal of Pharmacology*, (2009), 158: 1285-1294. <https://doi.org/10.1111/j.1476-5381.2009.00445.x>
36. Forouzandeh F, Salazar G, Patrushev N, Xiong S, Hilenski L, Fei B, Alexander R.W. Metformin beyond diabetes: pleiotropic benefits of metformin in attenuation of atherosclerosis. *J Am Heart Assoc*. 2014 Dec;3(6):e001202. doi: 10.1161/JAHA.114.001202. PMID: 25527624; PMCID: PMC4338706.
37. Lexis C.P.H., Wieringa W.G., Hiemstra B. et al. Chronic Metformin Treatment is Associated with Reduced Myocardial Infarct Size in Diabetic Patients with ST-segment Elevation Myocardial Infarction. *Cardiovasc Drugs Ther* 28, 163–171 (2014). <https://doi.org/10.1007/s10557-013-6504-7>
38. Cheng Y-Y, Leu H-B, Chen T-J, Chen C-L, Kuo C-H, Lee S-D, Kao C-L, Metformin-inclusive Therapy Reduces the Risk of Stroke in Patients with Diabetes: A 4-Year Follow-up, *StudyJournal of Stroke and Cerebrovascular Diseases*, Volume 23, Issue 2, February 2014, Pages e99-e105. <https://doi.org/10.1016/j.jstrokecerebrovasdis.2013.09.001>
- 39.** Jia J, Cheng J, Ni J, Zhen X. Neuropharmacological Actions of Metformin in Stroke. *Curr Neuropharmacol*. 2015;13(3):389-94. doi: 10.2174/1570159x13666150205143555. PMID: 26411966; PMCID: PMC4812800.

40. Samaras K, Makkar S, Crawford J.D, Kochan N.A, Wen W, Draper B, Trollor J.N, Brodaty H, Sachdev P.S. Metformin Use Is Associated With Slowed Cognitive Decline and Reduced Incident Dementia in Older Adults With Type 2 Diabetes: The Sydney Memory and Ageing Study Diabetes Care Nov 2020, 43 (11) 2691-2701; DOI: 10.2337/dc20-0892
41. Marchesini G, Bianchi G, Tomassetti S, Zoli M, Melchionda N. Metformin in non-alcoholic steatohepatitis. The Lancet, Vol.358, Issue 9285, P893-894, Sept 15, 200. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(01\)06042-1](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(01)06042-1)
42. Woo S-L, Xu H, Li H, Zhao Y, Hu X, Zhao J, et al. (2014) Metformin Ameliorates Hepatic Steatosis and Inflammation without Altering Adipose Phenotype in Diet-Induced Obesity. PLOS ONE 9(3): e91111. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0091111>
43. Ye Q, Wang B, Mao J. The pathogenesis and treatment of the ‘Citokine Storm’ in Covid-19. Journal of Infection. Volume 80, Issue 6, June 2020, Pages 607-613. <https://doi.org/10.1016/j.jinf.2020.03.037>. (<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0163445320301651>)
44. Sinha P, Matthay M.A, Calfee C.S. Is a “Cytokine Storm” Relevant to COVID-19? JAMA Intern Med. 2020;180(9):1152–1154. doi:10.1001/jamainternmed.2020.3313
45. Kilo C. Metformin: a safe and effective treatment in the management of NIDDM. Missouri Medicine. 1997 Mar;94(3):114-123.
46. Lv Z, Guo Y. Metformin and Its Benefits for Various Diseases. Front Endocrinol (Lausanne). 2020 Apr 16;11:191. doi: 10.3389/fendo.2020.00191. PMID: 32425881; PMCID: PMC7212476. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32425881/>
47. Podhorecka M, Ibanez B, Dmoszyńska A. Metformin - its potential anti-cancer and anti-aging effects. Postepy Hig Med Dosw (Online). 2017 Mar 2;71(0):170-175. doi: 10.5604/01.3001.0010.3801. PMID: 28258677.
48. The Diabetes Prevention Program Research Group. Corresponding author: Diabetes Prevention Program Coordinating Center,

dppmail@bsc.gwu.edu. Long-Term Safety, Tolerability, and Weight Loss Associated With Metformin in the Diabetes Prevention Program Outcomes Study. *Diabetes Care* 2012 Apr; 35(4): 731-737. <https://doi.org/10.2337/dc11-1299>

49. Woolf SH. The Meaning of Translational Research and Why It Matters. *JAMA*. 2008;299(2):211–213. doi:10.1001/jama.2007.26

50. Smith F.C, Stocker S.L, Danta M, Carland J.E, Kumar S.S, Liu Z, Greenfield J.R, Braithwaite H.E, Cheng T.S, Graham G.G, Williams K.M, Day R.O. The safety and pharmacokinetics of metformin in patients with chronic liver disease. *Aliment Pharmacol Ther*. 2020 Mar;51(5):565-575. doi: 10.1111/apt.15635. Epub 2020 Jan 21. PMID: 31960986.

51. Ekström N, Schiöler L, Svensson A, et al. Effectiveness and safety of metformin in 51 675 patients with type 2 diabetes and different levels of renal function: a cohort study from the Swedish National Diabetes Register. *BMJ Open* 2012;2:e001076. doi: 10.1136/bmjopen-2012-001076

52. Callaghan T.S, Hadden D.R, Tomkin G.H. Megaloblastic anaemia due to vitamin B12 malabsorption associated with long-term metformin treatment. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1601518/pdf/brmedj00020-0026.pdf>

53. Liu K.W, Dai L.K, Jean W, Metformin-related vitamin B12 deficiency, *Age and Ageing*, Volume 35, Issue 2, March 2006, Pages 200–201, <https://doi.org/10.1093/ageing/afj042>

54. Houwerzijl E.J, Snoek W.J, van Haastert M, Holman N.D. Ernstige lactatacidose bij metforminegebruik bij een patiënt met contra-indicaties voor metformine [Severe lactic acidosis due to metformin therapy in a patient with contra-indications for metformin]. *Ned Tijdschr Geneesk*. 2000 Sep 30;144(40):1923-6. Dutch. PMID: 11045142.

55. Watanabe M, Caruso D, Tuccinardi D, Risi R, Zerunian M, Polici M, Pucciarelli F, Tarallo M, Strigari L, Manfrini S, Mariani S, Basciani S, Lubrano C, Laghi A, Gnessi L. Visceral fat shows the strongest

association with the need of intensive care in patients with COVID-19. *Metabolism Clinical And Experimental*. Covid In Metabolism. Volume 111, 154319, October 01, 2020 Published: July 23, 2020. DOI:<https://doi.org/10.1016/j.metabol.2020.154319>

56. Chait A, den Hartigh LJ. Adipose Tissue Distribution, Inflammation and Its Metabolic Consequences, Including Diabetes and Cardiovascular Disease. *Front Cardiovasc Med*. 2020 Feb 25;7:22. doi: 10.3389/fcvm.2020.00022. PMID: 32158768; PMCID: PMC7052117.

57. Bastard J-Ph, Jardel C, Delattre J, Hainque B, et al. Evidence for a Link Between Adipose Tissue Interleukin-6 Content and Serum C-Reactive Protein Concentrations in Obese Subjects. *Circulation*, vol. 99, n. 16, 1999, pp. 2219–2222, DOI:[10.1161/01.CIR.99.16.2219](https://doi.org/10.1161/01.CIR.99.16.2219).c.

58. Zhou F, Yu T, Du R, Fan G, Liu Y, Liu Z, Xiang J, Wang Y, Song B, Gu X, Guan L, Wei Y, Li H, Wu X, Xu J, Tu S, Zhang Y, Chen H, Cao B. Clinical course and risk factors for mortality of adult inpatients with COVID-19 in Wuhan, China: a retrospective cohort study. *Lancet*. 2020 Mar 28;395(10229):1054-1062. doi: 10.1016/S0140-6736(20)30566-3. Epub 2020 Mar 11. Erratum in: *Lancet*. 2020 Mar 28;395(10229):1038. Erratum in: *Lancet*. 2020 Mar 28;395(10229):1038. PMID: 32171076; PMCID: PMC7270627.

59. Tokubuchi I, Tajiri Y, Iwata S, Hara K, Wada N, Hashinaga T, Nakayama H, Mifune H, Yamada K. Beneficial effects of metformin on energy metabolism and visceral fat volume through a possible mechanism of fatty acid oxidation in human subjects and rats. *Plos One*. Published: February 3, 2017. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0171293>

60. Földi M, Farkas N, Kiss S, et al. Obesity is a critical condition in COVID-19 patients: A systematic review and meta-analysis. *Obesity Reviews*. 2020; 21:e13095. <https://doi.org/10.1111/obr.13095>

61. Patanè G Piro S, Rabuazzo A M, Anello M, Vigneri R, Purrello F Metformin restores insulin secretion altered by chronic exposure to free fatty acids or high glucose: a direct metformin effect on pancreatic beta-

cells. in Diabetes May 2000, 49 (5) 735-740;
DOI:10.2337/diabetes.49.5.735

62. Fishel MA, Watson GS, Montine TJ, et al. Hyperinsulinemia Provokes Synchronous Increases in Central Inflammation and β -Amyloid in Normal Adults. Arch Neurol. 2005;62(10):1539–1544.
doi:10.1001/archneur.62.10.noc50112

63. Luo P, Qiu L, Liu Y, Liu XL, Zheng J.L, Xue H.Y, Liu W.H, Liu D, Li J. Metformin Treatment Was Associated with Decreased Mortality in COVID-19 Patients with Diabetes in a Retrospective Analysis. Am J Trop Med Hyg. 2020 Jul;103(1):69-72. doi: 10.4269/ajtmh.20-0375. Epub 2020 May 21. PMID: 32446312; PMCID: PMC7356425.

64. Kulkarni A.S, Brutsaert E.F, Anghel V, et al. Metformin regulates metabolic and nonmetabolic pathways in skeletal muscle and subcutaneous adipose tissues of older adults. Aging Cell. 2018; 17:e12723.
<https://doi.org/10.1111/accel.12723>

65. Singh A.K, Singh R. Is metformin ahead in the race as a repurposed host-directed therapy for patients with diabetes and COVID-19? Diabetes Res Clin Pract. 2020 Jul;165:108268. doi: 10.1016/j.diabres.2020.108268. Epub 2020 Jun 10. PMID: 32533990.