

Хафизова Айгуль Зульфаровна

**ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ОБОСНОВАНИЕ ПРИМЕНЕНИЯ
МЕТФОРМИНА КАК ПОТЕНЦИАЛЬНОГО ГЕРОПРОТЕКТОРА**

3.3.6. Фармакология, клиническая фармакология

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание учёной степени
кандидата медицинских наук

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Казанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Научный руководитель:

Семина Ирина Ивановна – доктор медицинских наук, профессор

Официальные оппоненты:

Никитина Ирина Леонидовна – доктор медицинских наук, профессор кафедры фармакологии, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Башкирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Суханов Илья Михайлович – доктор медицинских наук, доцент, заведующий лабораторией фармакологии поведения Института фармакологии им. А.В. Вальдмана, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Ведущая организация:

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Белгородский государственный национальный исследовательский университет»

Защита диссертации состоится «__» _____ 2026 года в __ часов на заседании диссертационного совета 21.2.012.01 при Федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Казанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (420012, г. Казань, ул. Бутлерова, д.49).

С диссертацией можно ознакомиться в научной библиотеке ФГБОУ ВО Казанский ГМУ Минздрава России по адресу: 420012, г. Казань, ул. Бутлерова, д.49 и на сайте организации: <https://kazangmu.ru>.

Автореферат разослан «__» _____ 2026 года.

Учёный секретарь диссертационного совета,
доктор медицинских наук, профессор

Г.Р. Хасанова

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность и степень разработанности проблемы

Согласно оценке и прогнозам Организации Объединенных Наций в области мирового народонаселения, численность людей в возрасте 50-60 лет продолжает расти, достигнув пика в 10,3 млрд человек к 2080 году. К середине 2030 годов в мире будет насчитываться 265 млн человек в возрасте 80 лет и старше (World Population Prospects, 2024). Вышеуказанные данные отражают тенденцию к общемировому старению населения и повышают актуальность поиска лекарственных средств, обладающих геропротекторными свойствами.

В настоящее время в разных странах ведутся поиски лекарственных средств, способных улучшить качество жизни пожилых людей (Kulkarni A.S. et al., 2020, Triggle C.R. et al., 2020, Li Z. et al., 2021). Перспективным средством может явиться метформин – пероральное противодиабетическое средство (Foretz M. et al., 2023, Yang Y. et al., 2024, Yao L. et al., 2025, Zhang T. et al., 2025). Метформин является золотым стандартом для терапии сахарного диабета 2-го типа с доказанной эффективностью и безопасностью. В последние годы многие исследователи отмечают перспективность применения метформина для профилактики и лечения нейродегенеративных заболеваний, в том числе в процессе физиологического старения (Markowicz-Piasecka M. et al., 2017, Kulkarni A.S. et al., 2020, Li Z. et al., 2021, Kristófi R. et al., 2021, Zhang T. et al., 2025, Yao L. et al., 2025). Однако сведений о влиянии метформина в субтерапевтических дозах, не оказывающих гипогликемического действия, на поведенческие характеристики и когнитивные функции в процессе физиологического старения недостаточно.

Цель исследования

Экспериментальное обоснование применения метформина для коррекции поведенческих и когнитивных изменений в процессе физиологического старения с учетом половых различий.

Задачи исследования

1. Исследовать влияние однократного и 14-дневного внутрижелудочного (в/ж) введения метформина в диапазоне доз (от 35 мг/кг до 700 мг/кг) на двигательно-исследовательскую активность, процессы обучения и памяти, а также тревожность половозрелых мышей-самцов.

2. Изучить влияние 30-дневного в/ж введения метформина в малых (субтерапевтических) дозах (70 мг/кг и 35 мг/кг), не оказывающих гипогликемического действия, на процессы обучения и памяти, когнитивные функции и тревожность половозрелых крыс-самцов, а также оценить влияние на изменение относительного уровня экспрессии гена нейротрофического фактора *Bdnf* и экспрессию субъединиц белка *Bdnf* в структурах мозга (гиппокамп, префронтальная кора) половозрелых крыс-самцов.

3. Изучить влияние 30-дневного в/ж введения метформина в дозах 70 мг/кг и 35 мг/кг на физическую активность и биохимические показатели сыворотки крови половозрелых крыс обоего пола (уровень глюкозы, холестерина, липопротеинов низкой плотности (ЛПНП)).

4. Исследовать влияние 14-дневного у старых мышей (возраст – 22 мес.) и 30-дневного у старых крыс обоего пола (возраст – 24 мес.) в/ж введения метформина в дозах 70 мг/кг и 35 мг/кг на процессы обучения и памяти, когнитивные функции и выраженность тревожного поведения старых животных, с последующей оценкой изменения относительного уровня экспрессии гена нейротрофического фактора *Bdnf* в тканях старых крыс обоего пола.

5. Изучить эффекты метформина при 30-дневном интраназальном (и/н) введении в дозе 70 мг/кг на поведение, процессы обучения и памяти, когнитивные функции половозрелых крыс-самцов, а также оценить его влияние на изменение относительного уровня экспрессии гена нейротрофического фактора *Bdnf* и экспрессию субъединиц белка *Bdnf* в структурах мозга (гиппокамп, префронтальная кора) половозрелых крыс-самцов.

Научная новизна

Впервые исследовано влияние малых доз (70 мг/кг и 35 мг/кг) метформина, не оказывающих гипогликемического действия при в/ж введении на поведенческие характеристики, процессы обучения и памяти, когнитивные функции, а также тревожность животных разного возраста и пола, а именно половозрелых мышей-самцов и крыс-самцов, а также старых мышей-самцов и старых крыс обоего пола.

Установлено, что 30-дневное в/ж введение метформина в дозе 35 мг/кг повышает относительный уровень экспрессии гена *Bdnf* в гиппокампе и префронтальной коре половозрелых крыс-самцов, а также повышает экспрессию субъединиц белка *Bdnf* в гиппокампе и префронтальной коре половозрелых крыс-самцов.

Выявлено, что 30-дневное в/ж введение метформина в дозе 35 мг/кг способствует увеличению относительного уровня экспрессии гена *Bdnf* в тканях (префронтальная кора, *musculus quadriceps*) старых крыс-самцов, но не самок, что может свидетельствовать о наличии половых различий в механизме действия метформина как потенциального геропротектора.

Показана эффективность метформина при и/н введении в дозе 70 мг/кг на процессы обучения и памяти, когнитивные функции, а также тревожность половозрелых крыс-самцов при его 30-дневном введении, что обосновывает перспективность изучения и/н пути введения метформина и необходимость разработки его лекарственной формы.

Теоретическая и практическая значимость работы

Теоретическая значимость заключается в существенном углублении представлений о влиянии противодиабетического средства метформина на поведенческие характеристики и когнитивные функции лабораторных животных в процессе физиологического старения.

Практическая значимость работы заключается в получении новых данных о влиянии противодиабетического средства метформин в малых дозах на поведение, процессы обучения и памяти, когнитивные функции и уровень

тревожности животных (мышей и крыс) разного возраста и пола. При этом следует отметить, что исследованные малые дозы метформина не способствуют развитию гипогликемического действия. Таким образом, в дальнейшем метформин возможно будет рассматривать как более безопасное анксиолитическое средство, а также, как средство, улучшающее процессы обучения и памяти, когнитивные функции в процессе физиологического старения.

Результаты проведенных экспериментальных исследований позволяют рассматривать перспективы для новых показаний к применению метформина, в том числе при его и/н введении.

Полученные результаты при и/н применении метформина обосновывают перспективность дальнейшей разработки его лекарственной формы для и/н введения с целью повышения биодоступности и биоадгезивных свойств метформина.

Методология и методы исследования

Диссертационная работа представляет экспериментальное исследование, для выполнения которого были применены современные методы поведенческого тестирования, генетического, биохимического и статистического анализов. При подготовке обзора литературы использовались современные источники, отражающие актуальные достижения по теме диссертационного исследования.

Работа выполнена на базе кафедры фармакологии ФГБОУ ВО Казанский ГМУ Минздрава России. Исследование одобрено на заседании Локального этического комитета ФГБОУ ВО Казанский ГМУ Минздрава России (Протокол №6 от 20.06.2023 г.).

Положения, выносимые на защиту

1. Многократное введение метформина в малых (субтерапевтических) дозах (в отношении гипогликемического действия) снижает уровень тревожности и улучшает когнитивные функции старых крыс-самцов.

2. Многократное введение метформина в малых дозах оказывает анксиолитическое действие, улучшает когнитивные функции, процессы обучения и памяти половозрелых крыс-самцов.

3. Многократное введение метформина в субтерапевтических дозах повышает относительный уровень экспрессии гена нейротрофического фактора *Bdnf* в префронтальной коре старых крыс-самцов, а также в гиппокампе и префронтальной коре половозрелых крыс-самцов.

4. Интраназальное многократное введение метформина в малой дозе улучшает поведенческие характеристики половозрелых крыс-самцов, аналогичное эффекту при внутрижелудочном применении.

Степень достоверности и апробация результатов

В процессе подготовки обзора литературы и обсуждения результатов были использованы актуальные источники литературы по теме диссертационного исследования. Дизайн экспериментальных исследований включал обязательное использование как опытных, так и контрольных групп животных. Достоверность исследования обусловлена необходимым и достаточным числом экспериментального материала, с использованием современных методов исследования, которые позволили правильно провести статистическую обработку данных экспериментов и сформулировать выводы.

Апробация диссертации проведена на научно-проблемной комиссии «Фундаментальные медицинские и биологические науки» ФГБОУ ВО Казанский ГМУ Минздрава России (Протокол №6 от 8.04.2026 г.).

Основные результаты исследований были представлены в форме устных и постерных докладов на следующих научных конференциях: Всероссийском научном медицинском форуме студентов и молодых учёных с международным участием «Белые цветы» (Казань, 2022, 2023, 2024), Восьмой Междисциплинарной конференции «Молекулярные и Биологические аспекты Химии, Фармацевтики и Фармакологии» (Санкт-Петербург, 2023), LXXXV научно-практической конференции студентов и молодых учёных с международным участием «Актуальные вопросы экспериментальной и

клинической медицины 2024» (Санкт-Петербург, 2024), Девятой Междисциплинарной конференции «Молекулярные и Биологические аспекты Химии, Фармацевтики и Фармакологии» (Сыктывкар, 2024), Саммите разработчиков лекарственных препаратов «СИРИУС.БИОТЕХ» (Сириус, 2024), Международной Пироговской научной медицинской конференции студентов и молодых учёных (Москва, 2025).

Публикации. По теме диссертационной работы опубликовано 13 работ, в том числе 4 статьи – в журналах, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией Министерства науки и высшего образования РФ, из них 3 статьи – в журналах, индексируемых в международной базе данных *Scopus*.

Внедрение результатов диссертационной работы в практику

Материалы диссертационной работы внедрены в учебный процесс кафедры фармакологии ФГБОУ ВО Казанский ГМУ Минздрава России.

Личный вклад автора

Вклад автора в диссертационной работе выражался в создании плана и концепции работы, подготовке обзора литературы по теме исследования, организации и проведении всех экспериментальных процедур. Автор самостоятельно осуществляла обработку экспериментальных данных и оформила к печати публикации по результатам полученных исследований.

Объём и структура диссертации

Диссертационная работа изложена на 116 страницах машинописного текста, содержит следующие разделы: введение, обзор литературы, материал и методы исследования, главы результатов собственных исследований, заключение, выводы, практические рекомендации, перспективы дальнейшей разработки темы, список сокращений и условных обозначений, список литературы, включающий работы 28 отечественных и 127 зарубежных авторов, а также 5 приложений. Работа проиллюстрирована 14 таблицами и 22 рисунками.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Объект исследования

Объектом исследования явилось противодиабетическое средство метформин («ОзонФарм», Россия). Исследование фармакологической активности метформина проводилось в диапазоне доз и путях введения, представленных в Таблице 1.

Таблица 1 – Диапазон доз и путей введения метформина лабораторным животным

Путь введения	Половозрелые мыши	Половозрелые крысы		Старые мыши (22 мес.)	Старые крысы (24 мес.)
	В/ж	В/ж	И/н	В/ж	
Дозы исследуемого препарата	700 мг/кг	70	70	70 мг/кг	
	350 мг/кг	мг/кг			
	70 мг/кг	35		35 мг/кг	
	35 мг/кг	мг/кг			

Экспериментальные животные

Фармакологические исследования выполнены на 70 беспородных половозрелых мышах-самцах массой 18-25 г (5 мес.), 104 половозрелых крысах-самцах линии *Wistar* массой 180-200 г (5 мес.), 24 половозрелых крысах-самках линии *Wistar* массой 150-180 г (5 мес.), 21 беспородных старых мышах-самцах массой 45-50 г (22 мес.), 24 старых крысах-самцах линии *Wistar* массой 550-600 г (24 мес.), 24 старых крысах-самках линии *Wistar* массой 250-300 г (24 мес.).

Методы исследований

Методы поведенческого тестирования

Экспериментальные работы по исследованию спектра фармакологической активности метформина были проведены согласно «Руководству по проведению доклинических исследований лекарственных средств» (Миронов А. Н. и др., 2012). В диссертационной работе были применены методы поведенческого тестирования на установках: «Открытое поле» (двигательно-исследовательская активность), «Приподнятый крестообразный лабиринт», «Темно-светлая

камера» (исследование уровня тревожности), «Т-образный лабиринт» (процессы обучения и памяти), «Водный лабиринт Морриса» (пространственная память, локомоторная активность), «Экстраполяционное извлечение» (исследование уровня тревожности и когнитивных функций в условиях острого стресса) (научно-производственная компания «Открытая Наука», Россия), комплекс «Ротарод» (мышечная выносливость) (Общество с ограниченной ответственностью «Нейроботикс», Россия).

*Оценка относительного уровня экспрессии гена *Bdnf* в тканях крыс*

После проведения поведенческого тестирования была осуществлена декапитация животных с помощью гильотины (научно-производственная компания «Открытая Наука», Россия) и произведен забор структур головного мозга крыс (гиппокамп, префронтальная кора) у половозрелых крыс-самцов. В качестве биологического материала у старых крыс обоего пола образцами служили: 3 типа структур мозга (гиппокамп, префронтальная кора и мозжечок); 3 типа мышечных волокон (*musculus soleus*, *musculus quadriceps*, *gastrocnemius*). Из иссеченных тканей каждой крысы выделяли рибонуклеиновую кислоту и определяли концентрацию с помощью спектрофотометра «Nanodrop Lite» (ThermoFisher, Соединённые Штаты Америки (США)). Относительный уровень экспрессии гена *Bdnf* проводился методом полимеразно-цепной реакции в режиме реального времени на амплификаторе CFX96 (BioRad, США).

Биохимический анализ сыворотки крови крыс

Определение содержания глюкозы, холестерина и ЛПНП в сыворотке крови крыс проводили на автоматическом биохимическом анализаторе DURUI CS-300B (Китайская Народная Республика).

Статистическая обработка данных эксперимента

Анализ данных поведенческого тестирования выполняли с использованием видеотрекинговой системы «Ethovision^{XT}» фирмы Noldus (Нидерланды) с автоматическим способом анализа треков. Для последующей статистической обработки, в том числе полученных данных после биохимического анализа, был использован t-критерий Стьюдента в программе

Graph pad Prism 8.0.1. (GraphPad Software, США). Данные представлены как среднее значение (M) $\pm$ стандартная ошибка среднего (SEM). Экспериментальные результаты относительного уровня экспрессии гена *Bdnf* представлены как RQ (Relative Quantity, Lower-Upper Limit). Перед проведением статистического анализа нормальность распределения данных проверялась с помощью теста Шапиро-Уилка. Сравнение значений уровня экспрессии гена между группами проводилась согласно t-критерию Стьюдента в программе Graph pad Prism 8.0.1. (GraphPad Software, США). Для всех видов анализа отличия считались статистически значимыми при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Исследование влияния метформина на поведенческие характеристики и когнитивные функции старых животных

Состояние повышенной тревожности характерно для процесса физиологического старения (Левин О.С. и др., 2019). Результаты экспериментов показали, что метформин у старых мышей-самцов при 14-дневном в/ж введении в обеих исследуемых дозах (70 мг/кг и 35 мг/кг) в тесте «Приподнятый крестообразный лабиринт» проявляет анксиолитическое действие. Так, в/ж введение препарата в дозе 35 мг/кг способствовало увеличению продолжительности пребывания в «открытых» рукавах в 5,7 раза ($p=0,02$) и уменьшению продолжительности пребывания в «закрытых» рукавах установки в 1,7 раза ($p=0,001$) по сравнению с группой контроля (рисунок 1 А, Б). Применение метформина в дозе 70 мг/кг оказывало аналогичный эффект, т.е. увеличивалось время пребывания в «открытых» рукавах лабиринта в 5,7 раза ($p=0,001$) по сравнению с группой контроля (рисунок 1 А).

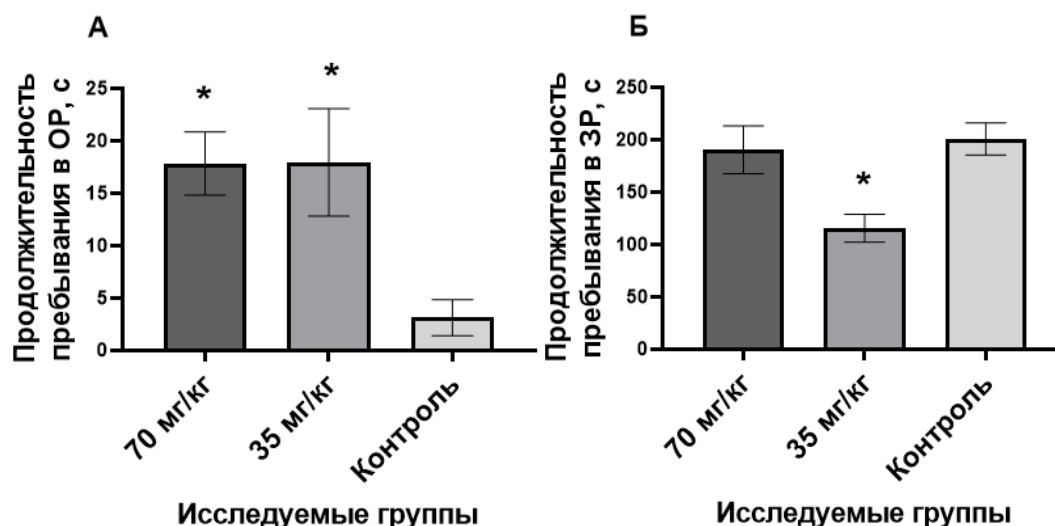


Рисунок 1 – Влияние метформина на тревожность старых мышей-самцов (возраст – 22 мес.) в тесте «Приподнятый крестообразный лабиринт» при 14-дневном внутрижелудочном введении в «открытых» рукавах (ОР) (А) и «закрытых» рукавах (ЗР) (Б); * $p < 0,05$ – статистически значимые различия с группой контроля

Анксиолитический эффект метформина выявлен при 30-дневном в/ж введении в дозе 70 мг/кг старым крысам-самцам в тесте «Приподнятый крестообразный лабиринт»: увеличивалась продолжительность пребывания в «открытых» рукавах в 3,5 раза ($p=0,044$) и уменьшалась продолжительность пребывания в «закрытых» рукавах 1,5 раза ($p=0,016$) по сравнению с группой контроля (рисунок 2 А, Б). У старых крыс-самок статистически значимых различий не выявлено (рисунок 2 В, Г).

Ранее другими исследователями было показано наличие анксиолитического эффекта метформина, но в более высоких дозах, который может заключаться в регулировании сигнального пути 5'-АМФ-активируемой протеинкиназы- FoxO3a , что приводит к активации транскрипции белка, ассоциированного с рецепторами гамма-аминомасляной кислоты (GABARAP) в гиппокампе (Fan J. et al., 2019).

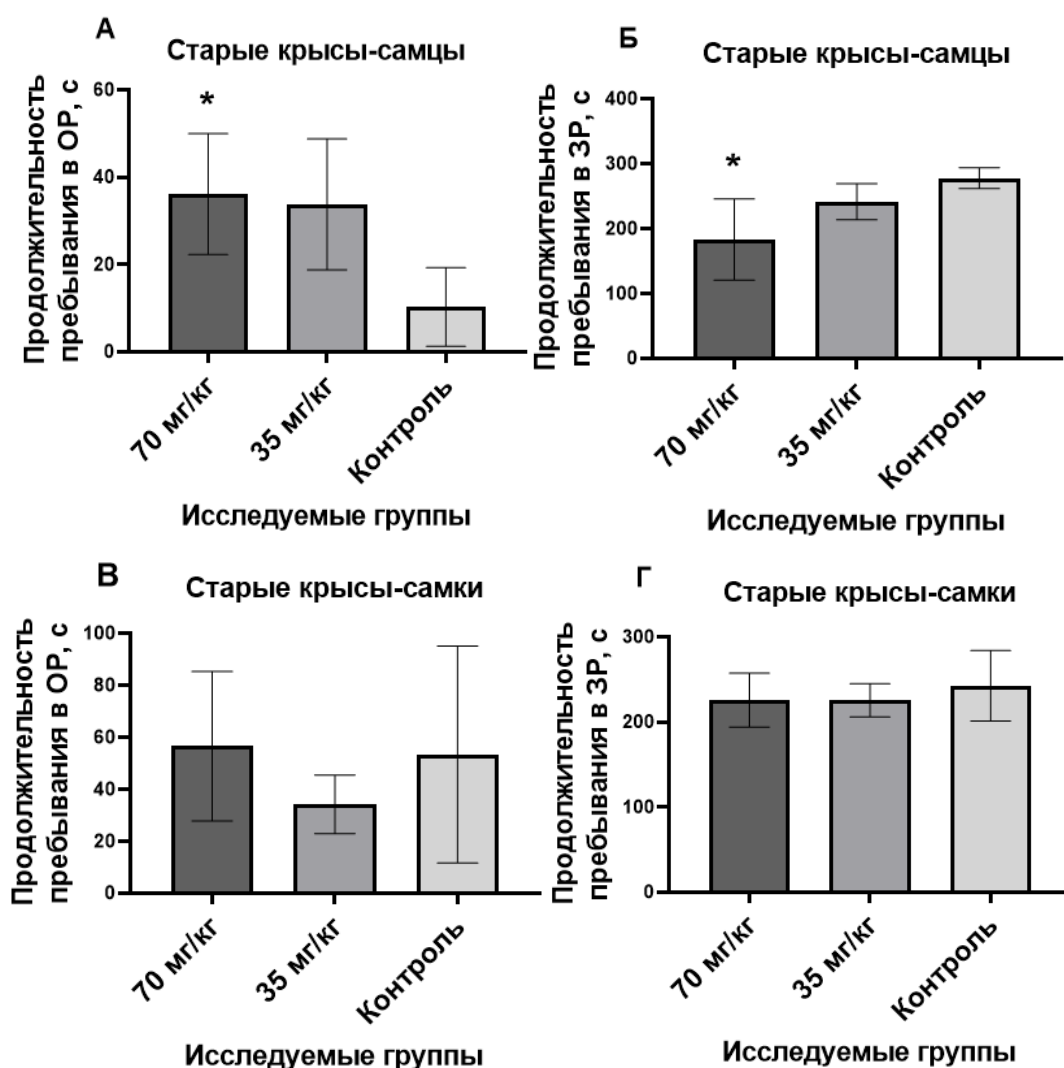


Рисунок 2 – Влияние метформина на тревожность старых крыс-самцов (А, Б) и крыс-самок (В, Г) (возраст – 24 мес.) в тесте «Приподнятый крестообразный лабиринт» при 30-дневном внутрижелудочном введении в «открытых» рукавах (ОР) (А, В) и «закрытых» рукавах (ЗР) (Б, Г); * $p < 0,05$ – статистически значимые различия с группой контроля

Снижение способности к пространственному обучению в процессе физиологического старения может быть связано с изменениями, происходящими в гиппокампе. Известно, что гиппокамп является областью мозга, участвующей в пространственном обучении и запоминании (Pilly P.K. et al., 2012, Ashrotaghi Z. et al., 2015). 30-дневное в/ж введение метформина в дозе 70 мг/кг улучшало пространственную память старых крыс-самцов в тесте «Водный лабиринт Морриса»: увеличивалась длительность нахождения в зоне платформы у старых крыс-самцов в 1,7 раза ($p=0,03$) и в дозе 35 мг/кг в 1,5 раза ($p=0,047$)

по сравнению с группой контроля (рисунок 3 А). У старых крыс-самок статистически значимых различий не обнаружено (рисунок 3 Б).

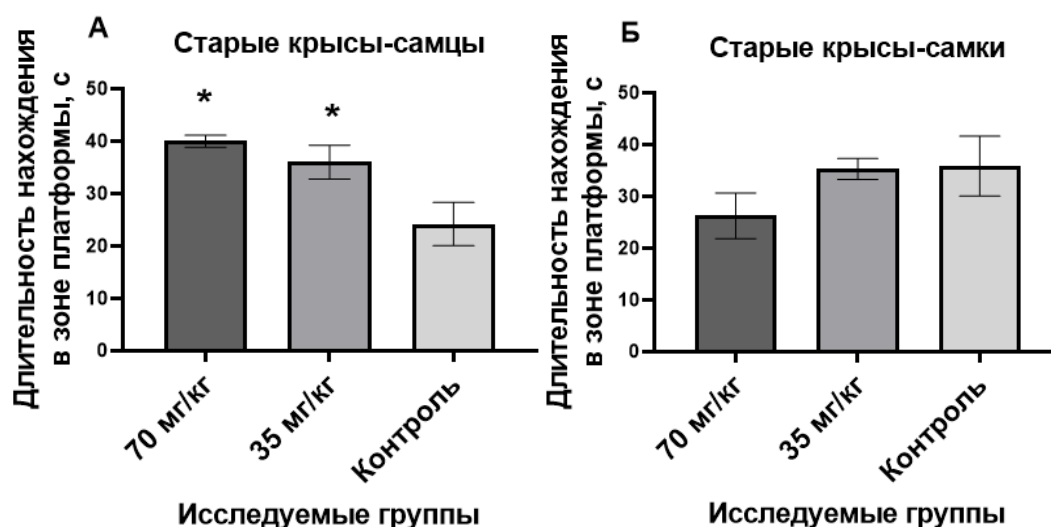


Рисунок 3 – Влияние метформина на пространственную память старых крыс-самцов (А) и крыс-самок (Б) (возраст – 24 мес.) в тесте «Водный лабиринт Морриса» при 30-дневном внутрижелудочном введении; * $p<0,05$ – статистически значимые различия с группой контроля

Механизмы улучшения пространственной памяти крыс под воздействием метформина, по данным литературы и дополненными нашими сведениями в экспериментах, могут включать комплекс процессов, обусловленных его мультитаргетным механизмом действия, а именно: активацией сигнального пути 5'-АМФ-активируемой протеинкиназы (Markowicz-Piasecka M. et al., 2017), противовоспалительным эффектом, заключающимся в снижении нейровоспаления (Kristófi R. et al., 2021), а также усилением нейропластичности путем активации нейротрофического фактора мозга *Bdnf* в структурах головного мозга старых крыс (Hafizova A.Z. et al., 2025).

Исследование влияния метформина на поведение, когнитивные функции и биохимические показатели половозрелых крыс

Выявлено, что 30-дневное в/ж введение метформина в обеих исследуемых дозах (70 мг/кг и 35 мг/кг) улучшало процессы обучения и памяти половозрелых крыс-самцов, уменьшая латентный период выбора правильного рукава в 4,3 и 5,4 раза ($p=0,046$ и $p=0,023$) соответственно в тесте «Т-образный лабиринт», по сравнению с группой контроля.

О наличии анксиолитического эффекта метформина свидетельствует, что 30-дневное в/ж введение метформина половозрелым крысам-самцам в дозе 70 мг/кг увеличивало продолжительность пребывания в «открытых» рукавах в 3,0 раза ($p=0,01$) по сравнению с группой контроля (рисунок 4 А) в тесте «Приподнятый крестообразный лабиринт». Отмечалось сокращение продолжительности пребывания в закрытых частях установки при введении метформина в обеих исследуемых дозах (70 мг/кг и 35 мг/кг) в 1,28 ($p=0,0001$) и 1,3 раза ($p=0,032$) по сравнению с группой контроля (рисунок 4 Б), что подтверждает выявленный анксиолитический эффект метформина у старых животных.

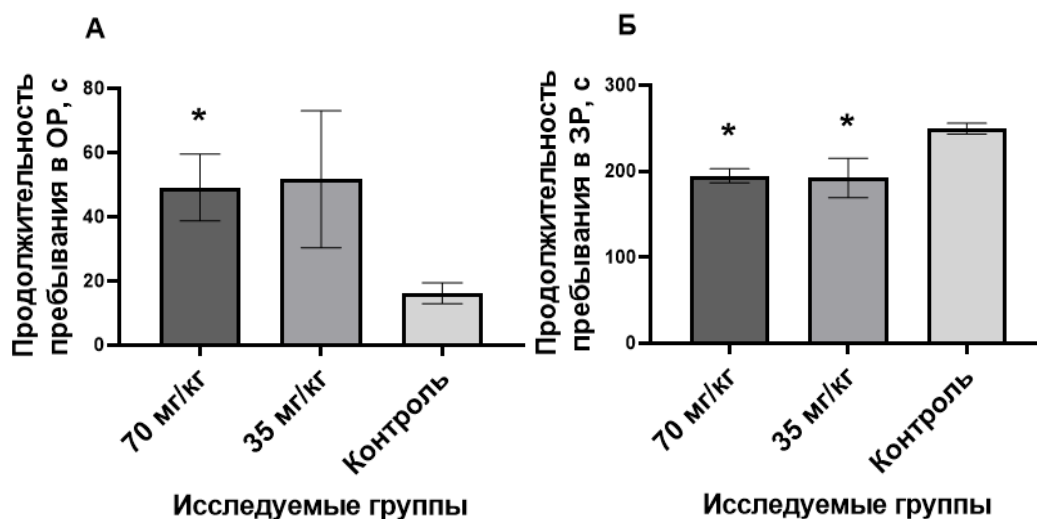


Рисунок 4 – Влияние метформина на уровень тревожности половозрелых крыс-самцов в тесте «Приподнятый крестообразный лабиринт» при 30-дневном внутрижелудочном введении в «открытых» рукавах (ОР) (А) и «закрытых» рукавах (ЗР) (Б); * $p < 0,05$ – статистически значимые различия с группой контроля

В тесте «Экстраполяционное избавление» введение метформина уменьшало тревожность половозрелых крыс-самцов в условиях острого стресса. Так, 30-дневное в/ж введение метформина в обеих исследуемых дозах (70 мг/кг и 35 мг/кг) половозрелым крысам-самцам уменьшало продолжительность периода прыжков в 2,8 и 3,9 раза ($p=0,038$ и $p=0,036$) соответственно по сравнению с группой контроля (рисунок 5).

Кроме того, в тесте «Экстраполяционное избавление» метформин улучшал когнитивные функции в острых стрессогенных условиях при 30-дневном в/ж

введении в дозе 70 мг/кг половозрелым крысам-самцам, что выражалось в уменьшении латентного периода подныривания под край цилиндра в 3,3 раза ($p=0,047$) по сравнению с группой контроля в тесте (рисунок 6).

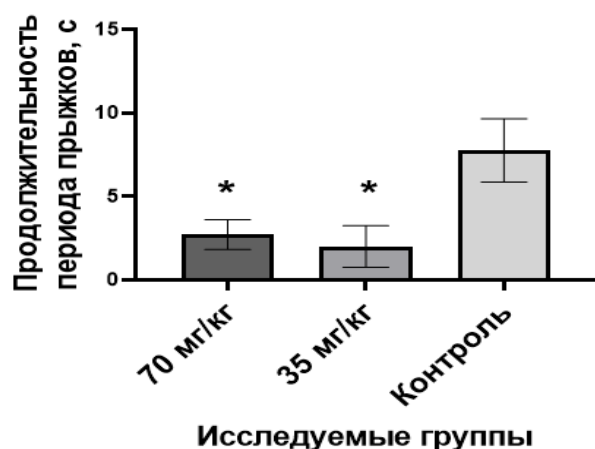


Рисунок 5 – Влияние метформина на тревожность половозрелых крыс-самцов в тесте «Экстраполяционное избавление» при 30-дневном внутрижелудочном введении; * $p < 0,05$ – статистически значимые различия с группой контроля

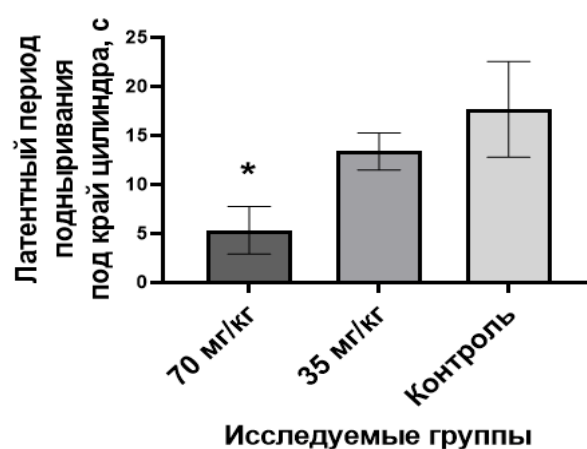


Рисунок 6 – Влияние метформина на когнитивные функции половозрелых крыс-самцов в тесте «Экстраполяционное избавление» при 30-дневном внутрижелудочном введении; * $p < 0,05$ – статистически значимые различия с группой контроля

30-дневное в/ж введение метформина в обеих исследуемых дозах (70 мг/кг и 35 мг/кг) не выявило изменения уровня глюкозы у половозрелых крыс обоего пола, при этом происходило уменьшение уровня ЛПНП в обеих исследуемых дозах (70 мг/кг и 35 мг/кг) в 1,2 и 1,3 раза ($p=0,016$ и $p=0,044$) соответственно у крыс-самок по сравнению с группой контроля (таблица 2).

Таблица 2 – Влияние метформина на биохимические показатели в сыворотке крови половозрелых крыс обоего пола

Крысы-самцы	Глюкоза, ммоль/л	Холестерин, ммоль/л	ЛПНП, ммоль/л	Крысы-самки	Глюкоза, ммоль/л	Холестерин, ммоль/л	ЛПНП, ммоль/л
МЕТ 70 мг/кг	6,85±0,26	2,1±0,16	0,39±0,05	МЕТ 70 мг/кг	7,37±0,26	2,03±0,15	0,26±0,01*
МЕТ 35 мг/кг	7,98±0,35	2,28±0,07	0,44±0,02	МЕТ 35 мг/кг	7,59±0,11	1,72±0,16	0,25±0,02*
Контроль	7,25±0,27	2,32±0,15	0,5±0,03	Контроль	7,5±0,12	1,9±0,06	0,32±0,02

Примечание – МЕТ – метформин, ЛПНП – липопротеины низкой плотности; * $p < 0,05$ – статистически значимые различия с группой контроля

Интраназальное введение метформина и его влияние на поведенческие характеристики и когнитивные функции половозрелых крыс

Одним из недостатков пероральной лекарственной формы метформина является его невысокая биодоступность (50-60%) (Markowicz-Piasecka M. et al., 2017), а также риск развития нежелательных лекарственных реакций со стороны желудочно-кишечного тракта. И/н путь введения является весьма перспективным, благодаря более таргетному воздействию и снижению частоты возникновения побочных эффектов (Порфирьева Н.Н. и др., 2021), особенно со стороны желудочно-кишечного тракта.

И/н 30-дневное введение метформина половозрелым крысам-самцам способствовало развитию анксиолитического эффекта в условиях острого стресса в дозе 70 мг/кг в тесте «Экстраполяционное избавление». Отмечалось уменьшение продолжительности периода прыжков в 5,1 раза ($p=0,02$) по сравнению с группой контроля (рисунок 7). И/н 30-дневное введение метформина в дозе 70 мг/кг половозрелым крысам-самцам уменьшало латентный период подныривания под край цилиндра в 1,9 раза ($p=0,041$) по сравнению с группой контроля (рисунок 8), что указывает на улучшение когнитивных функций крыс в острых стрессогенных условиях.

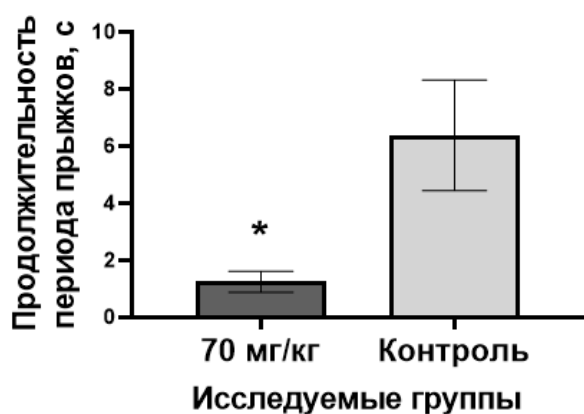


Рисунок 7 – Влияние метформина на тревожность половозрелых крыс-самцов в тесте «Экстраполяционное избавление» при 30-дневном интраназальном введении; * $p < 0,05$ – статистически значимые различия с группой контроля

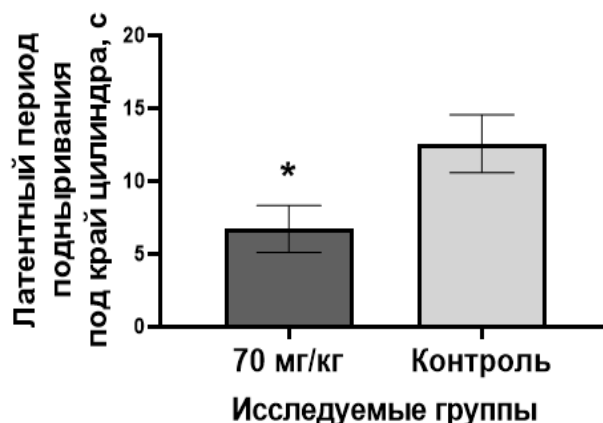


Рисунок 8 – Влияние метформина на когнитивные функции половозрелых крыс-самцов в тесте «Экстраполяционное избавление» при 30-дневном интраназальном введении; * $p < 0,05$ – статистически значимые различия с группой контроля

При и/н 30-дневном введении метформина в дозе 70 мг/кг половозрелым крысам-самцам уменьшался латентный период выбора правильного рукава в 5,6 раза ($p=0,021$) в тесте «Т-образный лабиринт» по сравнению с группой контроля, что говорит об улучшении процессов обучения и памяти крыс.

Исследование влияния метформина на экспрессию нейротрофического фактора *Bdnf* в тканях старых и половозрелых крыс как один из ключевых механизмов действия метформина

Нейротрофический фактор мозга *Bdnf* играет важную роль в нейрогенезе, и нарушение его экспрессии в процессе физиологического старения может оказывать негативное влияние на различные функции центральной нервной системы (когнитивные дисфункции, снижение процессов обучения, а также повышенная тревожность) (Спивак И.М. и др., 2023). Относительный уровень экспрессии гена *Bdnf* после 30-дневного в/ж введения метформина в дозе 35 мг/кг был увеличен в префронтальной коре у старых крыс-самцов в 3,3 раза ($p=0,047$) по сравнению с группой контроля (рисунок 9 А). У старых крыс-самок статистически значимых различий не выявлено (рисунок 9 Б).

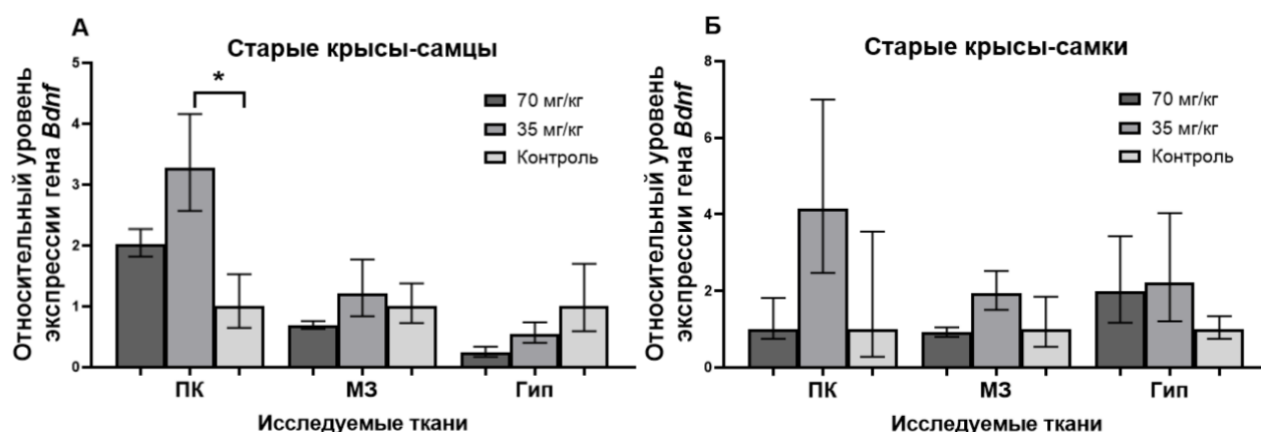


Рисунок 9 – Влияние метформина на относительный уровень экспрессии гена *Bdnf* в структурах мозга старых крыс-самцов (А) и крыс-самок (Б) (возраст – 24 мес.). Примечание – ПК – префронтальная кора, МЗ – мозжечок, Гип – гиппокамп; * $p < 0,05$ – статистически значимые различия с группой контроля

В процессе физиологического старения происходит постепенное изменение и снижение функций скелетной мускулатуры. Атрофия мышц, ассоциированная со старением, является одним из распространенных видов мышечной дисфункции, характеризующаяся снижением мышечной массы и

мышечной слабостью (саркопенией) (Larsson L. et al., 2019). У старых крыс-самцов после 30-дневного в/ж введения метформина в дозе 35 мг/кг относительный уровень экспрессии гена *Bdnf* был увеличен в *musculus quadriceps* в 18,0 раз ($p=0,006$) по сравнению с группой контроля (рисунок 10 А), а у старых крыс-самок статистически значимого результата не обнаружено (рисунок 10 Б). Увеличение относительного уровня экспрессии нейротрофического фактора *Bdnf* в *musculus quadriceps* старых крыс-самцов может обуславливать улучшение нейромышечной связи и метаболической функции, что в целом может способствовать усилению мышечной выносливости.

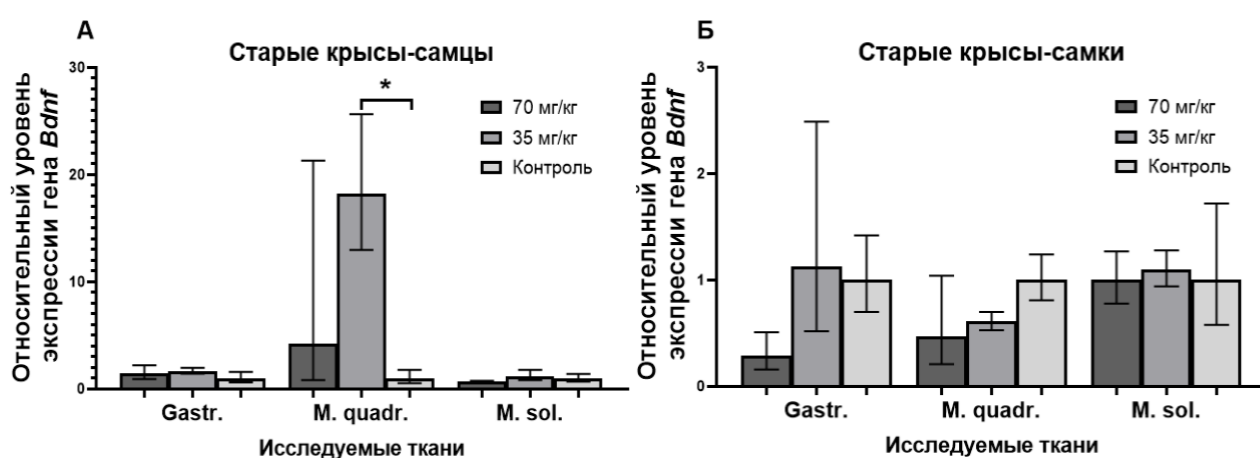


Рисунок 10 – Влияние метформина на относительный уровень экспрессии гена *Bdnf* в мышечных волокнах старых крыс-самцов (А) и крыс-самок (Б) (возраст – 24 мес.). Примечание – *Gastr.* – *gastrocnemius*, *M. quadr.* – *musculus quadriceps*, *M. sol.* – *musculus soleus*; * $p < 0,05$ – статистически значимые различия с группой контроля

Таким образом, на основании полученных результатов были выявлены половые различия при применении метформина в субтерапевтических дозах у старых крыс обоего пола (возраст – 24 мес.), что можно объяснить влиянием половых гормонов (эстрогенов у крыс-самок и тестостерона у крыс-самцов) на эффективность метформина (Lynch W. J. et al., 2002, Павлова И.В. и др., 2020).

У половозрелых крыс-самцов относительный уровень экспрессии гена *Bdnf* был повышен в гиппокампе после 30-дневного в/ж введения метформина в обеих исследуемых дозах (70 мг/кг и 35 мг/кг) в 1,34 раза ($p=0,029$) и в 1,28 раз ($p=0,04$) (рисунок 11 А). И только в дозе 35 мг/кг в 1,8 раза ($p=0,034$) в префронтальной коре по сравнению с группой контроля (рисунок 11 Б).

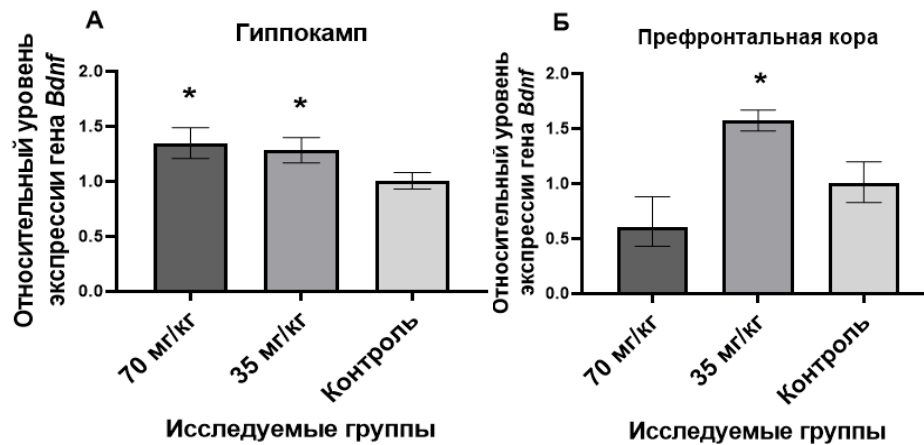


Рисунок 11 – Влияние метформина на относительный уровень экспрессии гена *Bdnf* половозрелых крыс-самцов после 30-дневного внутрижелудочного введения в гиппокампе (А) и префронтальной коре (Б); * $p < 0,05$ – статистически значимые различия с группой контроля

Увеличение относительного уровня экспрессии нейротрофического фактора *Bdnf* в гиппокампе и префронтальной коре может быть связано с влиянием на нейропластичность, приводящее к улучшению когнитивных функций крыс. Обнаруженный эффект влияния метформина на относительный уровень экспрессии нейротрофического фактора *Bdnf* позволяет нам предположить, что это может явиться одним из ключевых механизмов действия метформина как потенциального геропротекторного средства.

ВЫВОДЫ

1. 30-дневное внутрижелудочное введение метформина в субтерапевтических дозах, не оказывающих гипогликемического действия, улучшает процессы обучения и памяти, когнитивные функции и снижает уровень тревожности у половозрелых крыс-самцов. Кроме того, 30-дневное внутрижелудочное введение метформина в дозе 35 мг/кг повышает относительный уровень экспрессии гена нейротрофического фактора (*Bdnf*) и субъединиц белка *Bdnf* в гиппокампе и префронтальной коре у половозрелых крыс-самцов.

2. 30-дневное внутрижелудочное введение метформина в дозе 70 мг/кг снижает уровень тревожности, улучшает когнитивные функции у старых крыс-самцов (возраст – 24 мес.). 14-дневное внутрижелудочное введение метформина

в обеих исследуемых дозах (70 мг/кг и 35 мг/кг) снижает уровень тревожности у старых мышей-самцов (возраст – 22 мес.). Кроме того, 30-дневное внутрижелудочное введение метформина в дозе 35 мг/кг повышает относительный уровень экспрессии гена нейротрофического фактора (*Bdnf*) в префронтальной коре и *musculus quadriceps* у старых крыс-самцов.

3. 30-дневное внутрижелудочное введение метформина в дозе 70 мг/кг усиливает мышечную выносливость у половозрелых крыс-самцов в комплексе «Ротарод», также 30-дневное внутрижелудочное введение метформина в обеих исследуемых дозах (70 мг/кг и 35 мг/кг) уменьшает уровень ЛПНП в сыворотке крови у половозрелых крыс-самок.

4. В эксперименте на половозрелых мышах-самцах 14-дневное внутрижелудочное введение метформина оказывает влияние на их двигательную исследовательскую активность и снижает уровень тревожности.

5. Интраназальное 30-дневное введение метформина (70 мг/кг) улучшает процессы обучения и памяти, когнитивные функции и снижает уровень тревожности у половозрелых крыс-самцов.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Метформин в субтерапевтических дозах, не оказывающих гипогликемического действия, является потенциальным геропротектором для коррекции поведенческих и когнитивных изменений в процессе физиологического старения.

2. Необходима разработка интраназальной лекарственной формы метформина для доставки из носа в мозг.

3. Наличие анксиолитического эффекта метформина является основанием для разработки потенциального анксиолитического средства для коррекции тревожных расстройств.

4. При применении метформина следует учитывать выявленные половые различия в фармакологических эффектах.

ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ

В дальнейшем планируется проведение фармакологических исследований по изучению влияния метформина на течение нейродегенеративных заболеваний, например, на экспериментальной модели болезни Альцгеймера, с учетом выявленного полового диморфизма, и изучение нейрохимических механизмов, лежащих в основе возможного геропротекторного эффекта метформина.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Хафизова, А. З. Исследование поведенческих эффектов метформина в диапазоне доз на мышах в эксперименте / А. З. Хафизова // IX Международный молодёжный научный медицинский форум «Белые Цветы»: сборник тезисов. – Казань, 2022. – С. 917-918.

2. Хафизова, А. З. Оценка поведенческих эффектов метформина в высоких дозах на мышах / А. З. Хафизова // X Международный молодежный научный медицинский форум «Белые Цветы»: сборник тезисов. – Казань, 2023. – С. 1185.

3. Хафизова, А. З. Сравнительное исследование влияния метформина на когнитивные функции в диапазоне доз на мышах на модели «Т-образный лабиринт» / А. З. Хафизова // X Международный молодежный научный медицинский форум «Белые Цветы»: сборник тезисов. – Казань, 2023. – С. 1184.

4. Хафизова, А. З. Влияние противодиабетического средства метформина на поведенческие и когнитивные функции в эксперименте / А. З. Хафизова, Д. О. Никитин. И. И. Семина // Восьмая Междисциплинарная конференция «Молекулярные и Биологические аспекты Химии, Фармацевтики и Фармакологии»: сборник тезисов. – Санкт-Петербург, 2023. – С. 146.

5. Хафизова, А. З. Нейротропные эффекты при интраназальном введении метформина и влияние на экспрессию нейротрофического фактора *Bdnf* в структурах головного мозга половозрелых крыс // А. З. Хафизова, Е. В. Валеева, Д. О. Никитин // LXXXV Ежегодная итоговая научно-практическая конференция студентов и молодых ученых с международным участием «Актуальные вопросы

экспериментальной и клинической медицины – 2024»: сборник тезисов. – Санкт-Петербург, 2024. – С. 406-407.

6. Хафизова, А. З. Оценка эффектов метформина на когнитивные функции в условиях острого стресса и тревожность половозрелых крыс / А. З. Хафизова // XI Международный молодежный научный медицинский форум «Белые Цветы»: сборник тезисов. – Казань, 2024. – С. 1612.

7. Хафизова, А. З. Экспериментальное изучение влияния метформина на когнитивные функции и относительный уровень экспрессии гена *Bdnf* в головном мозге половозрелых крыс при его многократном введении / А. З. Хафизова, Д. О. Никитин, Е. В. Валеева // XI Международный молодежный научный медицинский форум «Белые Цветы»: сборник тезисов. – Казань, 2024. – С. 1613.

8. Хафизова, А. З. Экспериментальное изучение применения метформина как потенциального геропротектора на старых лабораторных животных / А. З. Хафизова, И. И. Семина, Д. О. Никитин // IX Междисциплинарная конференция «Молекулярные и Биологические Аспекты Химии, Фармацевтики и Фармакологии»: сборник тезисов. – Сыктывкар, 2024. – С. 127.

9. Хафизова, А. З. Экспериментальное исследование поведенческих эффектов метформина и влияния на экспрессию гена *Bdnf* в структурах мозга старых крыс / А. З. Хафизова, Е. В. Валеева, Д. О. Никитин // XX Международная (XXIX Всероссийская) Пироговская научная медицинская конференция»: сборник тезисов. – Москва, 2025. – С. 200 - 201.

10. **Перспективы применения противодиабетического средства метформина как способ замедления биологического старения и возраст-ассоциированных заболеваний / А. З. Хафизова, И. И. Семина, Д. О. Никитин [и др.] // Казанский медицинский журнал. – 2025. – Т. 106, № 1. – С. 105-116.**

11. **Хафизова, А. З. Изучение возможности применения метформина при интраназальном введении для коррекции поведенческих и когнитивных дисфункций половозрелых крыс / А. З. Хафизова, И. И. Семина // Фармакокинетика и Фармакодинамика. – 2025. – № 1. – С. 35-42.**

12. The effect of metformin on behavioral characteristics and *Bdnf* gene expression of old rats with sex differences / A. Z. Hafizova, E. V. Valeeva, D. O. Nikitin [et al.] // *Res Results in Pharmacol.* – 2025. – Vol. 11, № 4. – P. 155-161.

13. Исследование влияния метформина в малых дозах на поведенческие характеристики и биохимические показатели половозрелых крыс / А. З. Хафизова, Д. О. Никитин, Р. Г. Садыкова [и др.] // *Разработка и регистрация лекарственных средств.* – 2026. – Т. 15, № 2. – С. 89-97.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

в/ж	внутрижелудочное введение
Гип	гиппокамп
ЗР	«закрытые» рукава
и/н	интраназальное введение
ЛПНП	липопротеины низкой плотности
МЕТ	метформин
МЗ	мозжечок
ОР	«открытые» рукава
ПК	префронтальная кора
США	Соединённые Штаты Америки
<i>Bdnf</i>	ген нейротрофического фактора мозга (от англ. brain-derived neurotrophic factor)
Bdnf	белок нейротрофического фактора мозга (от англ. brain-derived neurotrophic factor)
FoxO3a	транскрипционный фактор (от англ. Forkhead box O3)
<i>Gastr.</i>	икроножная мышца (от англ. <i>gastrocnemius</i>)
<i>M. quadr.</i>	четырёхглавая мышца бедра (от англ. <i>musculus quadriceps</i>)
<i>M. sol.</i>	камбаловидная мышца (от англ. <i>musculus soleus</i>)