

Отзыв официального оппонента

профессора, доктора медицинских наук, профессора кафедры фармакологии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Башкирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации Никитиной Ирины Леонидовны на диссертацию Хафизовой Айгуль Зульфаровны «Экспериментальное обоснование применения метформина как потенциального геропротектора», представленную на соискание ученой степени кандидата медицинских наук в диссертационный совет 21.2.012.01 при ФГБОУ ВО Казанский ГМУ Минздрава России по специальности 3.3.6. Фармакология, клиническая фармакология

1. Актуальность исследования

Демографическое старение является одним из ключевых вызовов современного здравоохранения, сопряжённым с прогрессирующим ростом мультиморбидности, неуклонным снижением качества жизни и значительным экономическим бременем. В этой связи поиск эффективных геропротекторов – лекарственных средств, способных замедлять биологическое старение, развитие возраст-ассоциированных заболеваний (включая нейродегенеративные, сердечно-сосудистые и диабетические расстройства) и увеличивать продолжительность здорового периода жизни, – признаётся приоритетной задачей фундаментальной и клинической фармакологии. Особый интерес в данном контексте представляют хорошо изученные препараты с доказанным профилем безопасности и мультимодальным механизмом, среди которых перспективным является метформин.

Метформин характеризуется мультитаргетным механизмом действия, выходящим далеко за рамки контроля гликемии, проявляет нейропротекторную активность, доказанную на модели старения нейронов, замедляет процессы физиологического старения в экспериментах на модельных организмах – нематодах (*Caenorhabditis elegans*), дрозофилах (*Drosophila melanogaster*), грызунах и приматах. Эффекты метформина, как потенциального геропротектора, направлены на основные патогенетические звенья процессов старения и частично опосредованы активацией транскрипционного фактора с антиоксидантными свойствами – Nrf2 и модуляцией сигнального пути 5'-АМФ-активируемой протеинкиназы – FохО3а, что обуславливает его потенциальную способность тормозить

различные когнитивные и поведенческие нарушения, сопряженные с патологическим старением.

Хотя в последние годы получены экспериментальные и клинические данные, указывающие на его геропротекторный потенциал, сохраняется неопределённость в отношении механизмов реализации этого эффекта, его характера, зависимости от дозы и целевой популяции. Так, в ряде клинических исследований и мета-анализов метформин ассоциирован с умеренным снижением смертности и частоты возраст-ассоциированных заболеваний (сердечно-сосудистых, онкологических, нейродегенеративных), но доказательств того, что он увеличивает продолжительность жизни недиабетиков пока нет – исследования касаются, главным образом, больных СД2 и носят в значительной степени наблюдательный характер. Данные, полученные на трансгенных мышах, свидетельствуют о возможном ухудшении когнитивных функций при длительном применении метформина.

Таким образом, актуальность диссертационного исследования Хафизовой А.Ф. обусловлена, дисбалансом между теоретическим обоснованием геропротекторных свойств метформина и противоречивостью экспериментальных и клинических результатов, а также их фрагментарностью. Выполненная работа представляет собой экспериментальное исследование на лабораторных животных, целью которого было обоснование применения метформина для коррекции поведенческих и когнитивных изменений в процессе физиологического старения с учетом половых и возрастных различий.

2. Научная новизна исследования, полученных результатов и выводов

Научная новизна работы связана с тем, что автором впервые показаны эффекты малых доз метформина (35 и 70 мг/кг), не оказывающих гипогликемического действия, на поведенческие характеристики, процессы обучения и памяти, когнитивные функции, а также тревожность у половозрелых и старых животных, причем эффект зависит от пола и возраста.

Кроме того, автором установлено, что 30-дневное введение метформина (35 мг/кг, внутривенно (в/в)): у половозрелых крыс-самцов повышает относительный уровень экспрессии гена *Bdnf*, экспрессию субъединиц белка *Bdnf* в гиппокампе и префронтальной коре; а у старых крыс-самцов, но не самок, – способствует увеличению относительного уровня экспрессии гена *Bdnf* в тканях (префронтальная кора, *musculus quadriceps*), что может свидетельствовать о наличии половых различий в механизме действия

метформина как потенциального геропротектора. Данные о половом диморфизме действия метформина представляют существенный научный интерес – у старых крыс-самцов эффект выражен отчетливее, тогда как у самок статистически значимых изменений не выявлено. Это наблюдение расширяет представления о вариабельности ответа на препарат и открывает перспективы для дальнейших исследований.

Дополнительной новизной является экспериментальная оценка интраназального (и/н) пути введения метформина. Впервые продемонстрировано влияние метформина (70 мг/кг) при длительном (30 дней) введении на процессы обучения и памяти, когнитивные функции, а также уровень тревожности половозрелых крыс-самцов, что обосновывает перспективность изучения и/н пути введения метформина и необходимость разработки интраназальной лекарственной формы.

3. Научная и практическая значимость полученных результатов и их внедрение в практику

Практическая значимость связана с тем, что:

- автором обоснована целесообразность применения субтерапевтических доз метформина для коррекции поведенческих / когнитивных изменений в процессе физиологического старения, полученные данные могут быть использованы при планировании исследований в рамках программы разработки метформина как геропротектора.
- представлены доказательства целесообразности разработки интраназальной лекарственной формы метформина;
- установление анксиолитического эффекта малых доз открывает возможности для разработки метформина как более безопасного средства для коррекции тревожных расстройств.
- обозначены перспективы для регистрации новых показаний к применению метформина.

Научная значимость исследования состоит в расширении представлений о плеiotропных эффектах метформина (влиянии субтерапевтических доз на поведенческие характеристики и когнитивные функции лабораторных половозрелых животных и в процессе старения) и о возможной роли Bdnf-ассоциированных механизмов в реализации его нейротропного действия. Полученные данные расширяют представление о спектре фармакодинамических эффектов метформина и используются в

образовательных программах по фармакологии, что подтверждается актом внедрения в учебный процесс кафедры фармакологии ФГБОУ ВО Казанский ГМУ Минздрава России.

4. Соответствие диссертации паспорту специальности

Диссертационное исследование Хифизовой А. З. соответствует паспорту специальности 3.3.6. Фармакология, клиническая фармакология (п. 5. *Исследование механизмов действия фармакологических веществ в экспериментах на животных, на изолированных органах и тканях, а также на культурах клеток; п. 6 Изучение фармакодинамики, фармакокинетики лекарственных средств. Установление связей между дозами, концентрациями и эффективностью лекарственных средств. Экстраполяция полученных данных с биологических моделей на человека*), поскольку посвящена изучению фармакологических эффектов лекарственного средства - метформина, анализу зависимости эффекта от дозы и пути введения, а также оценке возможных механизмов действия. Работа находится на стыке экспериментальной нейрофармакологии и геронтологии, что полностью укладывается в рамки заявленной специальности.

5. Степень обоснованности и достоверности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации

Представленный объем экспериментальных данных, полученных на достаточном количестве животных (176 крыс линии *Wistar* разного возраста и 91 неинбредных мышей) с использованием современных валидированных экспериментальных методов, корректный статистический анализ, а также четкое описание и анализ полученных результатов позволяют квалифицировать результаты диссертационной работы как достоверные.

Положения, выносимые на защиту, полностью раскрывают суть диссертационной работы, обоснованы достаточным фактическим материалом и подкреплены статистической обработкой. Автором сформулированы 5 выводов, которые подтверждены примененными методами исследования, логично вытекают из полученных данных. Рекомендации корректно сформулированы и не вызывают каких-либо принципиальных возражений.

6. Полнота изложения основных результатов

По теме диссертации опубликовано 13 работ, в том числе 4 статьи в изданиях, включенных в перечень Высшей аттестационной комиссией Министерства науки и высшего образования Российской Федерации,

рекомендованных для публикации результатов исследований по специальности 3.3.6. – Фармакология, клиническая фармакология (медицинские науки), из них 3 статьи в журналах, индексируемых в международной базе данных *Scopus*.

Содержание публикаций соответствует материалам диссертации, основные результаты отражены достаточно полно.

7. Оценка содержания диссертации, ее структуры, объема и методов исследования

Диссертация изложена на 116 страницах машинописного текста, включает введение, обзор литературы, главы «Материал и методы», «Результаты исследования», заключение, выводы, практические рекомендации, перспективы дальнейшей разработки темы, список сокращений и список иллюстративного материала, список литературы (28 отечественных и 127 зарубежных авторов). Содержание работы дополняют 22 рисунка, 14 таблиц и 5 приложений. Основные требования, предъявляемые к оформлению диссертационной работы выполнены.

Во введении автором обосновывается актуальность темы диссертационной работы, сформулированы цель и 5 задач исследования.

В главе «Обзор литературы» обоснована необходимость поиска геропротекторов, представлены известные теории старения организма, обсуждена связь старения с развитием возраст-ассоциированных заболеваний, обсуждается развитие когнитивных расстройств на фоне СД 2 типа. Отдельно подробно изложены механизм и фармакодинамика метформина с акцентом на нейропротекторную активность.

В разделе «Материалы и методы» изложена на 10 страницах и посвящена подробному структурированному описанию материалов, дизайна и методов исследования. Автором использован комплексный подход, базирующийся на использовании современных, информативных фармакологических (поведенческие методы), биохимических (определение глюкозы, холестерина и липопротеинов низкой плотности), иммунологических (иммуноблоттинг) и молекулярно-биологических методов (ПЦР) исследования. Все использованные методы релевантны поставленным задачам и позволяют достичь поставленной цели. Эксперименты по исследованию спектра фармакологической активности метформина были проведены согласно «Руководству по проведению доклинических исследований лекарственных средств» (Миронов А. Н. и др., 2012).

Результаты экспериментальных исследований подробно изложены автором в третьей главе диссертационной работы. Представленный материал в полной мере иллюстрирован хорошо читаемыми и понятными рисунками и таблицами, что облегчает восприятие информации.

На первом этапе был проведён скрининг поведенческих эффектов метформина при в/ж введении в широком диапазоне доз (35–700 мг/кг) у половозрелых мышей-самцов. Оценивали двигательную-исследовательскую активность, уровень тревожности, процессы обучения и памяти при однократном и 14-кратном введении, что позволило выделить малые (субтерапевтические) дозы, не вызывающие гипогликемическое действие, но оказывающие поведенческие эффекты.

На втором этапе метформин (70 и 35 мг/кг) вводили в/ж половозрелым крысам-самцам и самкам в течение 30 дней. Исследовали обучение и память (Т-образный лабиринт, [ТоЛ] водный лабиринт Морриса [ВЛМ]), тревожность (приподнятый крестообразный лабиринт [ПКЛ], тест экстраполяционного избегания [ЭИ]), мышечную выносливость (ротарод, ВЛМ), а также биохимические показатели сыворотки (глюкоза, холестерин, ЛПНП). У самцов в субтерапевтических дозах показано улучшение когнитивных функций, обучения, памяти и снижение тревожности без изменений уровня глюкозы, что сопряжено с повышением относительного уровня экспрессии гена *Bdnf* и субъединиц белка *Bdnf* в гиппокампе и префронтальной коре; у самок – значимое снижение уровня ЛПНП и повышение локомоторной активности в водном лабиринте Морриса. Это позволило автору заключить, что метформин может стать потенциально более безопасным средством для коррекции тревожности и когнитивных нарушений, а также о наличии половых отличий в действии метформина.

На следующем этапе исследования выполнены на старых животных, которые получали метформин (70 и 35 мг/кг) по аналогичным схемам в/ж – в течение 14 дней (мыши-самцы, 22 мес.) и 30 дней (крысы обоих полов, 24 мес.). Оценивали тревожность, пространственную память, а также относительный уровень экспрессии гена *Bdnf* в структурах мозга (гиппокамп, префронтальная кора, мозжечок) и скелетных мышцах (*soleus*, *quadriceps*, *gastrocnemius*). Показано снижение тревожности и улучшение пространственной памяти у старых мышей (70 мг/кг и 35 мг/кг) и крыс-самцов (70 мг/кг), при этом у крыс-самцов отмечено выраженное повышение экспрессии *Bdnf* в префронтальной коре и *musculus quadriceps* (35 мг/кг), тогда

как у крыс-самок значимых изменений не было, что позволило заключить о половом диморфизме действия метформина как потенциального геропротектора.

Отдельно оценивали эффекты метформина при и/н введении (70 мг/кг, 30 дней) половозрелым крысам-самцам. В тестах ЭИ, ПКЛ установлен анксиолитический эффект метформина, в тестах ТЛ и ВЛМ – улучшение когнитивных функций и пространственной памяти, что сопоставимо с эффектами при в/ж пути введения. Эти результаты легли в основу практических рекомендаций по разработке интраназальной лекарственной формы метформина для таргетной доставки в головной мозг.

В главе «Заключение» автор сопоставил данные всех серий экспериментов, связав поведенческие и когнитивные эффекты с изменением экспрессии *Bdnf* как одного из ключевых механизмов геропротекторного действия метформина. Сформулированы выводы о потенциальной геропротекторной, анксиолитической и когнитивно-модулирующей роли метформина в субтерапевтических дозах, а также даны рекомендации по учёту половых различий и перспективам дальнейших исследований (в том числе на моделях нейродегенеративных заболеваний).

Выводы и практические рекомендации корректно сформулированы, обоснованы, соответствуют цели и задачам исследования.

Автореферат соответствует содержанию диссертации, оформлен в соответствии с требованиями ГОСТ Р 7.0.11–2011.

Вопросы, возникшие при ознакомлении с диссертационной работой, требующие дополнительного пояснения и уточнения:

1. С чем может быть связан половой диморфизм эффектов метформина: различиями в гормональном фоне, особенностями метаболизма препарата или иными механизмами?
2. Как Вы объясняете отсутствие значимого влияния на уровень экспрессии гена *Bdnf* у старых крыс-самцов в дозе 70 мг/кг при сохранении выраженного анксиолитического и прокогнитивного эффектов метформина?
3. Чем обоснован выбор статистического t-критерия Стьюдента? Как решалась проблема множественности сравнения?

4. С чем связан выбор изученных доз метформина (35 – 700 мг/кг), как они соотносятся с LD₅₀ и экспозицией, наблюдаемой при применении терапевтических доз метформина пациентами?
5. Чем обосновано изучение новой лекарственной формы метформина для интраназального введения, какие преимущества будут получены в случае ее разработки для клинического применения? Какие недостатки могут быть связаны с ее применением?

6. Замечания:

При общей положительной оценке работы, хорошем стиле изложения и выверенности текста в диссертации есть ряд недочетов, например, в разделе 3.1.5 неверно указано название теста: открытое поле вместо ПКЛ; также не достаточно детально описан раздел «Статистические методы исследования»: отсутствует обоснование выбранных критериев сравнения и показателей вариационных рядов, не приведены ссылки на статистические методы анализа.

В целом, принципиальных замечаний и возражений по диссертационной работе нет. Все приведенные вопросы и замечания носят дискуссионный характер и не затрагивают существа работы.

7. Заключение

Диссертация Хафизовой А.З. на тему «Экспериментальное обоснование применения метформина как потенциального геропротектора», представленная на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 3.3.6. Фармакология, клиническая фармакология, выполненная под научным руководством доктора медицинских наук, профессора Семиной Ирины Ивановны, является завершенной самостоятельной научно-квалификационной работой, в которой содержится решение актуальной научной задачи по экспериментальному обоснованию применения метформина для коррекции поведенческих и когнитивных изменений в процессе физиологического старения с учетом половых различий, имеющей значение для фармакологии, клинической фармакологии.

По своей актуальности, объему исследований, научно-практической значимости научных положений, выводов и рекомендаций, научной новизне и достоверности полученных результатов диссертация Хафизовой А.З. полностью соответствует требованиям ВАК Министерства науки и высшего образования РФ (пункт 9 «Положения о присуждении ученых степеней»,

утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации №842 от 24 сентября 2013 года, в действующей редакции Постановления Правительства Российской Федерации №1382 от 16 октября 2024 года), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а её автор заслуживает присуждения ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 3.3.6. Фармакология, клиническая фармакология.

Официальный оппонент:

профессор, доктор медицинских наук,
профессор кафедры фармакологии
ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России

«12» августа 2026 г.



Никитина Ирина Леонидовна

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Башкирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Адрес: 450008, Республика Башкортостан, г. Уфа, ул. Ленина, д. 3.

Телефон: 8 (347) 2721160

E-mail: rectorat@bashgmu.ru

Web-сайт: <https://bashgmu.ru>

Подпись: 
Заверяю:
Ученый секретарь ФГБОУ ВО БГМУ
Минздрава России 

