

# Антидиабетический бигуанид метформин как геропротектор и антиканцероген

Анисимов В.Н.

НИИ онкологии им. Н.Н. Петрова, Санкт-Петербург  
(директор – профессор А.М. Беляев)

**Резюме.** В статье представлены данные, свидетельствующие о ключевой роли системы гормон роста/инсулиноподобный фактор роста-1 (IGF-1)/инсулин в механизмах старения у животных разных видов и человека. Обсуждаются перспективы генетических модификаций и применения антидиабетических бигуанидов для профилактики преждевременного старения и развития новообразований, механизмы их геропротекторного и антиканцерогенного эффектов. *Ключевые слова:* гормон роста, IGF-1, инсулин, антидиабетические бигуаниды, старение, рак.

**Resume.** Growth hormone (GH)/insulin-like growth factor 1 (IGF-1)/insulin, IGF-1 and insulin-receptor control life span in various species including human. It is possible that the life-prolonging effect of calorie restriction is due to a decrease in IGF-1 levels. A search for pharmacological modulators of life-span-extending mutations in the GH/IGF-1/insulin signaling pathway and mimetics of caloric restriction is a priority direction in the regulation of longevity. Some literature and our own observations suggest that antidiabetic drugs could be promising candidates for both life span extension and prevention of cancer. *Keywords:* growth hormone, IGF-1, insulin, antidiabetic drugs, life span, cancer.

## Введение

Вне сомнения, одной из наиболее «горячих точек» в современной геронтологии является вопрос о роли возрастных изменений в системе гормон роста (ГР)/инсулиноподобный фактор роста-1 (IGF-1)/инсулин в механизме старения и развития ассоциированной с возрастом патологии, включая рак [1, 50].

С возрастом ночной пик секреции ГР снижается как у человека, так и у лабораторных грызунов, сопровождаясь снижением концентрации IGF-1 в плазме крови. Полагают, что возрастное снижение секреции ГР обусловлено снижением ответа гипофиза на действие GHRH (соматолиберина), продукция которого, в свою очередь, также уменьшается. Определенную роль в снижении секреции ГР при старении могут играть также возрастное увеличение тонической продукции соматостатина [1, 50] и снижение чувствительности нейронов гипоталамуса, продуцирующих GHRH, к гомеостатическому действию гормона роста. Следует заметить, что старение эпифиза и гипоталамуса затрагивает и такой важный регуляторный механизм, как контроль потребления пищи, то есть центры аппетита и насыщения [1, 48].

Важным звеном в возрастных нарушениях функции этой системы является уменьшение индуцируемой ГР продукции IGF-1. У старых крыс отмечено двукратное увеличение концентрации рецепторов к ГР в тканях, что, однако, не компенсирует возрастного снижения секреции этого гормона. С возрастом способность ГР индуцировать экспрессию гена IGF-1 также существенно снижается. Таким образом, и у человека, и у лабораторных животных с возрастом развиваются нарушения в системе передачи сигнала рецептора ГР, приводящие к снижению секреции IGF-1 [50].

У мышей в течение взрослой жизни уровень IGF-1 уменьшается. У итальянских столетних людей в сыворотке крови он очень низкий [21]. Эти данные соответствуют представлениям о том, что низкий уровень IGF-1 во время взрослой жизни способствует долголетию нематод, мух и мышей [22, 27, 39]. Один из механизмов, с помощью которых IGF-1 может увеличивать продолжительность жизни, состоит в его роли как митогена. Имеются доказательства того, что избыток IGF-1 увеличивает риск развития рака. Например, у людей с мутацией в гене опухолевого супрессора PTEN, контролирующего IGF-зависимую киназу PI3, с большой частотой развиваются различные новообразования [39]. Соответственно, дети с очень большим ростом, больные акромегалией. И собаки крупных пород имеют высокий уровень IGF-1 и высокий риск рака.

К важным свойствам ГР и IGF-1 относится их влияние на функцию головного мозга. Оба гормона стимулируют синтез ДНК, РНК и белков в мозге, образование нейритов, пролиферацию олигодендроцитов и выживание нейронов и глии *in vitro*, усиливают образование синапсов в мышцах и способствуют репарации нервной ткани. IGF-1 участвует в регуляции уровня обмена кальция в мозге и экспрессии онкогена *c-fos*. Введение ГР увеличивало концентрацию IGF-1 в головном мозге и защищало нейроны от гибели в условиях ишемии, что свидетельствует о его способности преодолевать гематоэнцефалический барьер [50]. Имеются убедительные доказательства избирательной стимуляции введением IGF-1 утилизации глюкозы в мозге старых крыс, а также нейротропного действия IGF-1. Так, введение его в желудочки головного мозга старых животных увеличивало утилизацию глюкозы и активность глутамата в областях мозга, связанных со способностью к обучению и памятью [42].

Последствия низкого уровня IGF-1 не столь очевидны. Имеются указания, что низкий уровень IGF-1 увеличивает уязвимость (frailty), мышечную слабость и хрупкость костей. Если это так, то низкий уровень IGF-1 в молодом возрасте может иметь неблагоприятные последствия, увеличивая вероятность переломов костей в пожилом возрасте, но, в конечном счете, благоприятный эффект у очень старых [21].

### Роль генов в регуляции системы передачи сигнала в системе гормон роста/IGF-1/инсулин при старении

В исследованиях, выполненных на нематодах *C. elegans*, установлено, что группа генов, имеющих отношение к контролю продолжительности жизни (ПЖ) (*age-1*, *daf-2*, *daf-23*, *spe-26*, *clk-1*), является частью общего генетического пути и контролируется геном *age-1*. Существенно, что ген *daf-2* является гомологом рецептора инсулина [1, 40]. Уменьшение активности этого гена приводит к 2-кратному увеличению ПЖ нематод. У дрозофил система передачи сигнала от инсулина и IGF-1 регулирует размеры тела и, так же, как у нематод, ПЖ. Мутации в регуляторном участке гомолога рецептора инсулина (*chico*) у дрозофил сопровождаются увеличением ПЖ на 45% [29]. Если же мушки были гетерозиготны по двум различным мутациям в рецепторе инсулина/IGF-1, то их ПЖ была на 85% дольше особей дикого типа [53]. Оба типа мутаций в рецепторе инсулина сопровождались также увеличением активности супероксиддисмутазы.

Гомозиготные мыши с «выключенным» геном рецептора гормона роста (*GHR*<sup>-/-</sup>) живут значительно дольше, чем гетерозиготные (*GHR*<sup>+/-</sup>) животные или мыши дикого типа (*GHR*<sup>+/+</sup>) [30]. У мышей *GHR*<sup>-/-</sup> наблюдается замедление роста, пропорциональная карликовость, уменьшение длины костей и содержания костных минералов, отсутствие рецептора ГР и ГР-связывающего белка, значительное уменьшение содержания в крови IGF-1 и связывающего его белка-3 и увеличение в сыворотке крови концентрации ГР.

Карликовые мыши Эймса являются гомозиготными аутосомально-рецессивными мутантами, несущими единичные точечные мутации в гене *Prophet pit-1*, и живут на 50–64% дольше (самцы и самки соответственно), чем «дикий» тип [27]. Эта модель – один из первых примеров способности единичного гена значительно продлевать жизнь у млекопитающих. У этих мышей снижены уровни пролактина, тиреоидстимулирующего гормона, ГР, IGF-1 и инсулина в крови, повышена чувствительность к инсулину и снижена температура тела. Как самцы, так и самки карликовых мышей бесплодны, у них выражена иммунодепрессия. Показано, что у этих мышей в печени снижен уровень глутатиона и аскорбиновой кислоты и увеличена активность каталазы по сравнению с контролем, что проявляется большей устойчивостью к окислительному стрессу [22]. Карликовые мыши Снелл (Snell), у которых имеется мутация в гене *Pit-1* (гипофизарно-специфичный транскрипционный фактор 1), также живут намного дольше, чем нормальные мыши, что связывают с дефицитом у них продукции ГР [35].

У самок гетерозиготных мышей *Igf1r*<sup>+/-</sup> с частично нокаутированным геном рецептора IGF-1 наблюдали увеличение средней ПЖ на 33% по сравнению с самками дикого типа, тогда как у самцов она увеличивалась лишь на 16%. У этих мышей не наблюдалось карликовости, а основной обмен, температура тела, потребление корма, физическая активность и фертильность не отличались от контроля. Отмечена большая устойчивость этих мышей к окислительному стрессу по сравнению с контролем (*Igf1r*<sup>+/+</sup>) [36]. У мышей *FIRKO* с избирательно нокаутированным в жировой ткани рецептором инсулина снижалось содержание жира в теле и на 18% увеличивалась средняя и максимальная ПЖ [24]. У этих мышей была нарушена толерантность к глюкозе, однако количество потребляемого ими корма не отличалось от такового у мышей дикого типа. Эти наблюдения позволяют предполагать увеличение основного обмена у мышей *FIRKO*. Возможно, что уменьшение массы жира в теле сопровождается снижением образования свободных радикалов. Интересно, что имеется очевидный параллелизм в фенотипических характеристиках мышей *FIRKO* и столетних людей [22].

У мышей с нокаутированным геном рецептора инсулина (*Irs2*<sup>-/-</sup>) наблюдалась задержка роста головного мозга и развитие фатального диабета, тогда как при выключении только одного аллеля этого гена (*Irs2*<sup>+/-</sup>) у мышей в возрасте 2 мес имел место нормальный метаболический фенотип, а в возрасте 22 мес был некоторый избыток веса, несмотря на одинаковое с мышами дикого типа потребление корма, они были чувствительнее к инсулину, поскольку уровень инсулина и глюкозы натощак у них был ниже [52]. Средняя ПЖ мышей *Irs2*<sup>+/-</sup> была на 17% больше, чем в контроле, увеличивалась и максимальная ПЖ. Важно отметить, что ПЖ также увеличивалась, если нокаутировали *Irs2* только в головном мозге мышей. При этом эти особи были резистентны к инсулину, у них наблюдались гиперинсулинемия и сниженная толерантность к глюкозе. Причины этого противоречия неизвестны. Тем не менее, результаты этой работы свидетельствуют о том, что у млекопитающих головной мозг (прежде всего, гипоталамус) является местом, где уменьшение сигналов системы IGF-1/инсулин реализует свое влияние на ПЖ, так же, как это наблюдается у нематод и плодовых мушек.

Компенсаторная гиперинсулинемия развивается для поддержания углеводного гомеостаза, предотвращая возникновение угрожающего жизни диабета 2-го типа. Однако увеличение циркулирующего инсулина может оказывать негативное влияние на головной мозг, приводя к укорочению ПЖ. Прямое ослабление передачи сигнала инсулина на его рецепторы в мозге, как это показано в работе [52], позволяет мозгу старых животных избегать неблагоприятного эффекта гиперинсулинемии, приводя к избытку веса тела и увеличению ПЖ. Как полагают авторы, умеренные физические упражнения, ограничение калорийности питания и снижение веса – то есть, воздействия, снижающие уровень циркулирующего инсулина, могут увеличивать ПЖ, ослабляя действие инсулина в головном мозге.

Ген IGF-1 человека расположен на длинном плече хромосомы 12, представлен 6 экзонами и включает 90 тыс. п.о. Были обнаружены различные генетические полиморфизмы сигнального пути IGF-1 у человека, причем, с разной степенью воспроизводимости, и установлена их связь с плотностью костей, ростом и раком. По крайней мере, два полиморфизма, один по гену рецептора *IGF1-R* и другой, около *PIK3CB*, который кодирует проведение сигнала IGF-1, гомологичный гену *age-1* нематоды, ассоциированы с уменьшенным уровнем IGF-1 и увеличением ПЖ или «успешным старением» [26]. Наиболее частые аллели IGF-1 (19 и 20 СА повторов) ассоциированы с максимальным уровнем IGF-1 в сыворотке крови. Отсутствие этих аллелей проявляется значительным снижением уровня IGF-1, что ассоциировано с повышенным риском внезапной остановки сердца и переломов костей. Низкий уровень IGF-1 коррелирует с высокой смертностью, а его повышенному уровню соответствует увеличение мышечной массы и физической силы у пожилых людей. При этом существенно возрастает риск развития злокачественных новообразований [21]. Анализ аллельного полиморфизма генов, контролирующих различные компоненты системы передачи сигнала (*GHRH*, *GHI*, *IGF1*, *INS*, *IRS1*), показал, что у женщин-носителей аллеля *GHI* SNP в среднем на 2 см меньше рост и на 20% снижен риск смерти по сравнению с носительницами аллеля дикого типа [55]. У мужчин эта закономерность не прослеживалась.

В механизме возрастного нарушения передачи сигнала ГР определенную роль играет увеличение обновления рецептора ГР, а также точечные мутации, посттрансляционные модификации рецепторного белка и увеличение активности фосфатазы фосфотирина [50]. Концентрация рецепторов IGF-1 и уровень специфически связывающего его белка в тканях с возрастом не изменяются. Полиморфизм GA гена рецептора IGF-1 (IGF-IR) ассоциирован с низким уровнем IGF-1 в плазме крови и чаще встречается у долгожителей [26]. Полагают, что паракринная экспрессия IGF-1 в старческом возрасте может быть важным механизмом поддержания нормальной функции тканей в ответ на специфические стимулы. В целом же возрастное снижение уровня IGF-1 в плазме крови может быть важным фактором в снижении пролиферативной активности тканей и, соответственно, в развитии ряда ассоциированных с возрастом патологических процессов. Следует отметить, что, поскольку как гормон роста, так и IGF-1 стимулируют пролиферацию эндотелиальных клеток сосудистой стенки, образование трубок и ангиогенез в целом, снижение их продукции с возрастом является существенным фактором развивающейся при старении сосудистой недостаточности.

В работе [12] было проанализировано возрастное распределение частот аллелей аполипопротеин С-III (АпоС-III), один из которых располагается в 5'-нетранслируемой области этого гена (Т-455С) в пределах функционального участка связывания инсулина, в группе из 137 престарелых жителей Санкт-Петербурга (возраст 70–106 лет) и контрольной группе из 110 школьников (возраст 6–17 лет). Было установ-

лено, что частота мутационного события в инсулинотвечающий элемент (insulin response element) (IRE) гена АпоС-III человека строго положительно коррелирует с ПЖ. Таким образом, впервые были представлены доказательства, что мутация в системе передачи сигнала инсулина, находящаяся ниже гена *daf-16*, непосредственно связана с долголетием. В этой связи представляется очень важным оценить структурную организацию (полиморфизм) IRE других генов, регулируемых инсулином, и их вклад в долголетие.

Несмотря на то, что введение ГР и IGF-1 старым животным оказывало ряд благоприятных эффектов, в частности стимулировало внутриклеточный синтез белка, когнитивные функции, толщину кожи, массу костей, иммунную функцию и рост сосудов у животных и человека, длительное их применение может представить большую опасность для организма, стимулируя развитие неопластического процесса [1]. У человека высокий уровень IGF-1 в крови является фактором риска для рака молочной железы, рака легких и предстательной железы, тогда как снижение его может быть важным в профилактике возрастной патологии [50]. Вместе с тем, при синдроме Ларона, обусловленном дефектом рецептора гормона роста, когда имеет место снижение уровня гормона роста или IGF-1, наблюдаются уменьшение ПЖ, массы мышечной и костной ткани, увеличение содержания жира в теле, гипертония, поведенческие проблемы, резистентность к инсулину и ранний атеросклероз [41]. Увеличение смертности, которое наблюдается при дефиците ГР у пациентов с гипопитуитаризмом, сопровождается также отсутствием продукции АКТГ. Мутации, аналогичные мутациям *prop-1*, которые у мышей увеличивают ПЖ, у человека приводят к карликовости, морщинистости кожи, снижению интеллекта, но не сокращают ПЖ. При этом АКТГ продуцируется в достаточном количестве. Последнее обстоятельство позволяет предположить, что повышенная смертность при гипопитуитаризме обусловлена АКТГ, а не дефицитом ГР [41].

В целом, дефицит ГР и IGF-1 у человека ассоциируется с серьезной патологией и заболеваниями. Однако нормальная ПЖ у отдельных пациентов с мутациями, аналогичными тем, что приводят к увеличению ПЖ у мышей, позволяет предполагать, что, снижая уровень ГР и IGF-1, можно увеличить ПЖ у человека.

На основании представлений о едином эволюционном механизме старения В.М. Дильман [8, 31] рассматривал и роль возрастных нарушений в метаболическом гомеостазе в развитии ожирения, диабета и атеросклероза. Неизбежное возрастное увеличение веса тела и содержания в нем жира он считал следствием генетически запрограммированного повышения порога чувствительности гипоталамического центра насыщения к «глюкозному и инсулиновому сигналам», причем ведущее значение в развитии метаболических нарушений придавалось инсулину. В регуляции системы энергетического гомеостаза, наряду с инсулином, ключевую роль играют, по мнению В.М. Дильмана, также ГР, глюкоза и жирные кислоты. По данным, полученным в его лаборатории,

уже в среднем возрасте у людей наблюдается снижение чувствительности системы «гипоталамус-гормон роста» к ингибированию глюкозой, что, как считалось, приводило затем к снижению чувствительности к инсулину, увеличению уровня жирных кислот, которые, в свою очередь, вызывали с возрастом снижение в крови уровня гормона роста. Все эти изменения, как полагал В.М. Дильман, лежат в основе развития предиабета, ожирения и условий, способствующих развитию атеросклероза.

Указывают, что гиперинсулинемия может способствовать окислительному стрессу и тем самым, независимо от гипергликемии, ускорять старение и формирование ассоциированных с возрастом заболеваний, таких как сахарный диабет, атеросклероз, гипертоническая болезнь и рак [1, 4]. Гиперинсулинемия развивается вторично в связи с нарушенной способностью инсулина стимулировать метаболизм глюкозы в скелетных мышцах (резистентность к инсулину). Другой способствующий старению эффект инсулина состоит в стимуляции полиненасыщенных жирных кислот и угнетению протеосома. Доказано, что у столетних существенно реже наблюдается резистентность к инсулину и чаще сохранена функция  $\beta$ -клеток инсулярного аппарата, чем в более молодых возрастных группах [1].

### Антидиабетические средства как геропротекторы

Антидиабетические бигуаниды (фенформин, буформин, метформин), наряду с гипогликемическим действием, обладают также способностью улучшать утилизацию глюкозы в тканях, снижать использование организмом жирных кислот в качестве энергетического субстрата, снижать концентрацию в крови холестерина, триглицеридов и инсулина, а также биосинтез холестерина и, кроме того, уменьшать массу тела [1, 31, 44, 46, 47]. Эти свойства антидиабетических бигуанидов, а также способность устранять явления метаболической иммунодепрессии послужили основанием для их использования в качестве геропротекторов и в онкологической клинике для нормализации некоторых нарушений обмена и иммунитета, свойственных онкологическим больным [4, 31].

В серии исследований было изучено влияние антидиабетических бигуанидов фенформина и буформина на ПЖ и развитие спонтанных и индуцированных опухолей у крыс и мышей (табл. 1 и 2). Было также показано, что буформин способен увеличивать ПЖ нематоды *C. elegans* [20].

В опытах на самках крыс буформин или фенформин вводили, начиная с 3,5-месячного возраста до естественной гибели животных [1, 13, 19]. В возрасте 16–18 мес у 38% контрольных животных были выявлены нарушения эстральной функции, а у получавших буформин – лишь в 9% случаев. Под влиянием буформина на 9% увеличивалась средняя ПЖ крыс и в 1,6 раза снизилась кумулятивная частота развития спонтанных опухолей. Почти в 2 раза под его влиянием уменьшилась множественность развития спонтанных новообразований.

Фенформин не увеличивал средней ПЖ крыс, но на 3 мес увеличил ее максимальную длительность. При этом в 1,3 раза снизилась по сравнению с контролем частота спонтанных опухолей [13, 19]. При длительном введении фенформина самкам мышей линии СЗН/Sp средняя ПЖ увеличилась на 21%, а максимальная – на 26%, при этом в 4 раза уменьшилась частота спонтанных опухолей [32].

Применение буформина и, особенно, фенформина в настоящее время ограничено или не практикуется, что обусловлено высоким риском побочных эффектов, в частности, лактатного ацидоза. Используемый в настоящее время метформин вызывает меньше осложнений, чем эти препараты, однако его влияние на ПЖ и развитие опухолей в эксперименте не было изучено. В наших опытах [14, 17] введение метформина трансгенным HER-2/neu мышам несколько снижало потребление ими корма и не оказывало влияния на динамику веса тела. В опухолях контрольных и получавших метформин мышей исследовали экспрессию мРНК, кодирующей лимфоцит-ассоциированные белки гранзим В и перфорин. Экспрессия мРНК этих цитолитических молекул не была обнаружена в контроле, но была существенно увеличена у мышей, получавших метформин. Введение метформина сопровождалось замедлением возрастного увеличения уровня глюкозы, а также некоторым уменьшением уровня инсулина,

Таблица 1

Влияние антидиабетических бигуанидов на продолжительность жизни лабораторных животных						
Линия	Пол	Препарат	Продолжительность жизни, в % к контролю			Авторы
			Средняя	Последних 10%	Максимальная	
<b>Мыши</b>						
СЗН/Sp	Самки	Фенформин	+21,1	+28,4**	+26,0	[32]
FVB/N	Самки	Метформин	+8,0*	+13,1*	+16,2	[14]
FVB/N	Самки	Метформин	+6,7	-11,1	-9,3	[17]
SHR	Самки	Метформин	+37,9**	+20,8	+10,3	[15]
SHR	Самки	Метформин	+14,1	+1,3	+3,3	[16]
129/Sv	Самцы	Метформин	-13,4	-2,1	+1,5	[18]
129/Sv	Самки	Метформин	+5,1	0	+3,9	
<b>Крысы</b>						
ЛИО	Самки	Фенформин	0	+10,1**	+11,8	[1, 19]
ЛИО	Самки	Буформин	+7,3	+12,0*	+5,5	[1, 19]
Fischer-344	Самцы	Метформин	+2,4	+2,1	0	[49]

Различие с контролем достоверно: \* -  $p < 0,05$ ; \*\*  $p < 0,01$  (Student's test)

Влияние антидиабетических препаратов на канцерогенез у грызунов				
Препарат	Канцероген	Основная ткань-мишень	Эффект	Авторы
<b>Мыши</b>				
Фенформин	Спонтанные опухоли	Молочная железа	Угнетение	[32]
Фенформин	20-метилхолантрен	Мягкие ткани	Угнетение	[5]
Метформин	HER2/neu	Молочная железа	Угнетение	[14, 17]
Метформин	Спонтанные опухоли	Молочная железа	Нет эффекта	[15]
Метформин	Arc <sup>Min/+</sup>	Тонкая кишка	Угнетение	[54]
Метформин	Спонтанные опухоли, PTEN+/-	Лимфоидная ткань, кишка	Угнетение	[38]
Фенформин	Спонтанные опухоли, PTEN+/-		Угнетение	
Метформин	Азоксиметан	Толстая кишка	Угнетение	[37]
Метформин	Эстрадиол, тамоксифен	Эндометрий	Угнетение	[33]
Метформин	Бензо(а)пирен	Шейка матки и влагалище	Угнетение	[7]
Метформин	Бензо(а)пирен	Кожа	Угнетение	[6,9]
Метформин	4-(метилнитрозамино)-1-(3-пиридил)-1-бутанол	Легкие	Угнетение	[45]
<b>Крысы</b>				
Буформин	Спонтанные опухоли	Общая частота	Угнетение	[1,13,19]
Фенформин	Спонтанные опухоли	Общая частота	Угнетение	[1,13,19]
Фенформин	ДМБА	Молочная железа	Угнетение	[4,13,19]
Фенформин	N-нитрозометилмочевина	Молочная железа	Угнетение	[1,13,19]
Буформин	ДМБА	Молочная железа	Угнетение	[13,19]
Буформин	N-нитрозометилмочевина трансплацентарно	Нервная система	Угнетение	[10,13,19]
Фенформин	N-нитрозозтилмочевина трансплацентарно	Нервная система почки	Угнетение	[13,19]
Фенформин	1,2-диметилгидразин	Толстая кишка	Угнетение	[2,13,19]
Фенформин	Рентгеновское облучение	Общая частота	Угнетение	[13,19]
Метформин	N-нитрозометилмочевина	Молочная железа	Угнетение	[25]
<b>Хомячки</b>				
Метформин	N-нитрозобис(2-оксопропил)-амин	Поджелудочная железа	Угнетение	[см.19]

триглицеридов и суммарных липопротеидов в сыворотке крови, по сравнению с контролем, в то время как различий в концентрации тиреоидных гормонов в крови животных не наблюдалось. Под влиянием метформина увеличивалась средняя ПЖ всех и последних 10% мышей, наблюдалось отчетливое замедление нарастания частоты возникновения, уменьшение множественности и размеров аденокарцином молочной железы. Полученные данные свидетельствуют о замедлении под влиянием метформина старения и развития опухолей молочных желез у трансгенных мышей HER-2/neu.

В опытах на самках мышей SHR введение метформина в дозе 100 мг/кг с 2-месячного возраста сдвигало вправо кривую выживаемости, на 38% увеличивало среднюю и на 10% – максимальную ПЖ [15]. В другом опыте на этой же линии мышей метформин вводили с питьевой водой, начиная с возраста 3, 9 или 15 мес [16]. Средняя ПЖ мышей, которым препарат вводили с 3-месячного возраста, увеличилась на 14%, а максимальная на 1 мес, тогда как при введении с 9 мес средняя ПЖ увеличилась только на 6%, а в старшей группе не изменялась. Средняя продолжительность жизни мышей, у которых в течение всей жизни не развились опухоли, увеличивалась на 21% и 7% в младшей и средней группах, тогда как в старшей сократилась на 13%. Важно отметить, что во всех возрастных группах применение метформина сопровождалось снижением у мышей температуры тела и замедлением возрастного выключения эстрального цикла. Воздействие метформином замедляло накопление стареющих клеток в первичных культурах

фибробластов кожи, полученных от мышей, которым вводили метформин, начиная с 3, 9 или 15 мес [3].

В опытах на инбредных мышях линии 129/Sv метформин уменьшал среднюю ПЖ самцов на 13,4%, а у самок незначительно увеличивал ее. При этом метформин снижал в 3,5 раза частоту развития спонтанных злокачественных опухолей у самок, и не влиял на нее у самцов [18].

Недавно было показано, что применение метформина увеличивало на 20,1% среднюю ПЖ самцов трансгенных мышей с болезнью Хантингтона (хореей) [43]. При этом авторы не отметили влияния метформина на динамику веса тела или уровень глюкозы в крови натощак. Метформин не оказывал такого влияния на самок мышей.

У крыс-самцов Fischer-344, получавших стандартную диету с добавлением метформина (300 мг/кг/день), не наблюдалось изменений в продолжительности жизни по сравнению с интактным контролем. Однако была использована только одна доза бигуанида и в группе, содержащейся на ограниченной по калорийности диете, не было увеличения максимальной продолжительности жизни [49].

Имеются данные об антиокислительном действии антидиабетических бигуанидов, их прямом действии на митохондрии и нейропротекторной активности [1, 31, 47]. Показано, что метформин оказывает влияние на активность тех же генов, экспрессия которых изменяется при ограничении калорийности питания [51]. Это прежде всего гены, регулирующие метаболизм ксенобиотиков, клеточный стресс, энергетический обмен, биосинтез, передачу сигналов и цитоскелет.

### Антиканцерогенный эффект антидиабетических бигуанидов

На различных моделях спонтанного, химического и радиационного канцерогенеза установлено, что фенформин, буформин тормозят развитие опухолей различного гистогенеза и локализации. Среди них аденокарциномы молочной железы, эндометрия, толстой и тонкой кишки, аденомы и карциномы легких, саркомы мягких тканей, папилломы и плоскоклеточные карциномы шейки матки и влагалища, лейкозы и лимфомы, новообразования поджелудочной железы. Этот эффект проявлялся не только в снижении частоты опухолей, но и в увеличении латентного периода их развития [1] (таблица 2). Исследования, выполненные на животных различных видов (мышах, крысах, хомячках), получили полное подтверждение в клинических наблюдениях. Так, показано, что применение метформина для лечения сахарного диабета 2 типа (СД2) существенно снижает у пациентов риск развития рака, прежде всего рака молочной железы [4].

Показано, что антидиабетические бигуаниды угнетают рост многих злокачественных новообразований человека *in vitro* [4, 11, 13, 17]). В опытах *in vivo* с перевиваемыми опухолями выявлено как прямое тормозящее действие фенформина и метформина на рост ряда новообразований, а также их способность потенцировать эффект цитостатиков на перевиваемый рак шейки матки SCC, гепатому-22а карциному легкого Льюиса и другие опухоли [1, 4, 17].

На моделях рака молочной железы *in vitro* установлено, что противоопухолевый эффект метформина реализуется, по крайней мере, частично, путем активации АМР-киназного пути и активации киназы S6 [4, 11, 13]. Метформин подавляет пропорционально дозе пролиферацию и рост клеточных колоний ряда клеточных линий рака молочной железы человека (MCF-7, MCF-7/713, BT-474 и SKBR-3), различающихся по наличию рецепторов к эстрогенам и экспрессии HER-2/neu [11]. Эффект метформина не зависел от наличия или отсутствия в клетках рецепторов к эстрогену и erbB-2 статуса. Методом проточной цитометрии было выявлено, что метформин увеличивает продолжительность G1-фазы клеточ-

ного цикла и значительно сокращает продолжительность S-фазы. Использование метформина угнетало экспрессию Cyclin D1 и E2F1, фосфорилирование mTOR, MAPK и AKT, что позволяет предполагать его угнетающее влияние на сигналы рецепторов семейства тирозинкиназ. В низких концентрациях метформин подавлял фосфорилирование erbB-2, а в концентрациях 10 и 50 мМ тормозил как экспрессию белков erbB-2, так и AKT, IRS-1, IRS-2, mTOR и IGF-1R. Полученные данные свидетельствуют о том, что антиканцерогенный механизм метформина включает воздействие на циклин D1 и подавление экспрессии erbB-2 и позволяют рассматривать метформин как перспективный препарат для лечения и профилактики рака молочной железы.

### Заключение

Имеющиеся данные позволяют рассматривать применение метформина в качестве перспективного средства для профилактики ассоциированной с возрастом патологии. В клинических наблюдениях было установлено, что применение метформина и других бигуанидов снижает более чем на треть общую смертность, смертность от инфарктов миокарда и от осложнений сахарного диабета [36, 71], улучшает выживаемость онкологических больных и снижает риск рака молочной железы у больных сахарным диабетом 2-го типа [4, 23, 34]. В опытах на лабораторных грызунах выявлен геропротекторный эффект антидиабетических препаратов, сопровождавшийся снижением частоты развития спонтанных опухолей. На различных моделях химического и радиационного канцерогенеза установлено, что бигуаниды тормозят развитие индуцированных опухолей [1, 4, 13, 19], а также угнетают рост ряда трансплантируемых опухолей [27, 34]. В целом, имеющиеся данные свидетельствуют о ключевой роли системы гормон роста/IGF-1/инсулин в механизмах старения животных и человека. Сравнение эффектов, вызываемых ограничением калорийности диеты, генетическими модификациями и антидиабетическими препаратами, показывает, что последние имеют ряд очевидных преимуществ перед калорийно ограниченным питанием и могут рассматриваться как адекватные миметики последних [13, 44, 46].

1. Анисимов В.Н. Молекулярные и физиологические механизмы старения / В 2 т. – 2-е изд., перераб. и доп. – СПб.: Наука, 2008. – Т. 1. – 481 с.; – Т.2. – 434 с.
2. Анисимов В.Н., Пожарисский К.М., Дильман В.М. Влияние фенформина на бластомогенный эффект 1,2-диметилгидразина // Вопр. онкол. – 1980. – Т. 26. – № 8. – С. 54–58.
3. Аркадьева А.В., Мамонов А.А., Попович И.Г., Анисимов В.Н., Михельсон В.М., Спивак И.М. Метформин замедляет процессы старения на клеточном уровне у мышей линии SHR // Цитология. – 2011. – Т. 53. – № 2. – С. 166–174.
4. Берштейн Л.М. Антидиабетический бигуанид метформин и онкологическая заболеваемость // Сахарный диабет. – 2011. – № 3. – С. 45–48.
5. Винницкий В.Б., Якименко В.А. Влияние фенформина, L-ДОФА и парахлорфенилаланина на иммунологическую реактивность и развитие химического канцерогенеза у мышей BALB/c // Вопр. онкол. – 1981. – Т. 27. – № 6. – С. 45–50.
6. Дерябина О.Н., Плотникова Н.А., Анисимов В.Н. Мелатонин и метформин угнетают канцерогенез кожи, индуцируемый бенз(а)пиреном у мышей // Вопр. онкол. – 2010. – Т. 56. – С. 583–587.
7. Дерябина О.Н., Плотникова Н.А., Харитонов Т.В., Кириченко Е.В., Солдатов О.М., Пашкевич И.В., Анисимов В.Н. Мелатонин и метформин угнетают развитие опухолей шейки матки и влагалища, индуцируемых бензо(а)пиреном у мышей // Морфол. ведомости (Самара). – 2010. – № 2. – С. 36–41.
8. Дильман В.М., Софронов Б.Н., Анисимов В.Н., Назаров П.Г., Львович Е.Г., Полушина Л.И. Устранение фенформиниммунодепрессии, вызванной 1,2-диметилгидразином у крыс // Вопр. онкол. – 1977. – Т. 23, № 8. – С. 50–54.
9. Маньчева Т.А., Демидов Д.В., Плотникова Н.А., Харитонов Т.В., Пашкевич И.В., Анисимов В.Н. Мелатонин и метформин угнетают канцерогенез кожи и перекисное окисление липидов, индуцируемые бенз(а)пиреном у самок мышей // Бюлл. экпер. биол. мед. – 2011. – Т. 151. – С. 339–342.
10. Alexandrov V.A., Anisimov V.N., Belous N.M., Vasilieva I.A., Mazon V.B. The inhibition of the transplacental blastomogenic effect of nitrosomethylurea by postnatal administration of buformin to rats // Carcinogenesis. – 1980. – Vol. 1. – № 12. – P. 975–978.

11. 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. – Vol. 15. – № 8. – P. 909–915.
12. Anisimov S.V., Volkova M.V., Lenskaya L.V., Khavinson V.Kh., Solovieva D.V., Schwartz E.I. Age-associated accumulation of the Apolipoprotein C-III gene T-455C polymorphism C allele in a Russian population // *J. Gerontol. Biol. Sci.* – 2001. – Vol. 2001. – № 56A. – P. B27–B32.
13. Anisimov V.N. Metformin for aging and cancer prevention // *Aging (Albany NY)*. – 2010. – Vol. 2. – № 11. – P.760–774.
14. Anisimov V.N., Berstein L.M., Egorin 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. – Vol. 40. – P. 685–693.
15. Anisimov V.N., Berstein L.M., Egorin P.A., Piskunova T.S., Popovich I.G., Zabezhinski M.A., Tyndyk M.L., Yurova M.V., Kovalenko I.G., Poroshina T.E., Semenchko A.V. Metformin slows down aging and extends life span of female SHR mice // *Cell Cycle*. – 2008. – Vol. 7. – P. 2769–2773.
16. Anisimov V.N., Berstein L.M., Popovich I.G., Zabezhinski M.A., Tyndyk M.L., Egorin P.A., Piskunova T.S., Yurova M.N., Semenchko A.V., Kovalenko I.G., Poroshina T.E. If started early in life, metformin increases life span and postpones tumors in female SHR mice // *Aging (Albany, NY)*. – 2011. – Vol. 3. – № 2. – P. 148–157.
17. Anisimov V.N., Egorin P.A., Piskunova T.S., Popovich I.G., Tyndyk M.L., Yurova M.V., Zabezhinski M.A., Anikin I.V., Karkach A.S., Romanyukha A.A. Metformin extends life span of HER-2/neu transgenic mice and in combination with melatonin inhibits growth of transplantable tumors in vivo // *Cell Cycle*. – 2010. – Vol. 9. – P. 188–197.
18. Anisimov V.N., Piskunova T.S., Popovich I.G., Zabezhinski M.A., Tyndyk M.L., Egorin P.A., Yurova M.N., Semenchko A.V., Kovalenko I.G., Poroshina T.E., Berstein L.M. Gender differences in metformin effect on aging, life span and spontaneous tumorigenesis in 129/Sv mice // *Aging (Albany, NY)*. – 2010. – Vol. 2. – № 12. – P. 945–958.
19. Anisimov V.N., Semenchko A.V., Yashin A.I. Insulin and longevity: antidiabetic biguanides as geroprotectors // *Biogerontology*. – 2003. – Vol. 4. – P. 297–307.
20. BakaeV.V. Effect of 1-butylbiguanide hydrochloride on the longevity in the nematoda *Caenorhabditis elegans* // *Biogerontology*. – 2002. – Vol. 3. – Suppl. 1. – P. 23–24.
21. Barbieri M., Rizzo M.R., Manzella D., Grella R., Ragno E., Carbonella M., Abbatecola A.M., Paolisso G. Glucose regulation and oxidative stress in healthy centenarians // *Exp. Gerontol.* – 2003. – Vol. 38. – P.137–143.
22. Bartke A. Role of the growth hormone/insulin-like growth factor system in mammalian aging // *Endocrinology*. – 2005. – Vol. 146. – P. 3718–3723.
23. Berstein L.M. Clinical usage of hypolipidemic and antidiabetic drugs in the prevention and treatment of cancer // *Cancer Lett.* – 2005. – Vol. 224. – P. 203–212.
24. Bluher M., Kahn B.B., Kahn C.R. Extended longevity in mice lacking the insulin receptor in adipose tissue // *Science*. – 2003. – Vol. 299. – P. 572–574.
25. Bojkova B., Orendas P., Garajlova M., Kassayova M., Kutna V., Ahlersova E., Ahlers I. Metformin in chemically-induced mammary carcinogenesis in rats // *Neoplasma*. – 2009. Vol. 56. – P. 269–274.
26. Bonafe M., Barbieri M., Marchegiani F., Olivieri F., Ragno E., Giampieri C., Mugianesi E., Centurelli M., Franceschi C., Paolisso G. Polymorphic variants of insulin-like growth factor I (IGF-I) receptor and phosphoinositide 3-kinase genes affect IGF-I plasma levels and human longevity: cues for an evolutionarily conserved mechanism of life span control // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* – 2003. – Vol. 88. – P. 3299–3304.
27. Buzzai M., Jones R.G., Amaravadi R.K., Lum J.J., DeBerardinis R.J., Zhao F., Violet B., Thompson C.B. Systemic treatment with the antidiabetic drug metformin selectively impairs p53-deficient tumor cell growth // *Cancer Res.* – 2007. – Vol. 67. – P. 6745–6752.
28. Brown-Borg H.M. Hormonal regulation of longevity in mammals // *Ageing Res. Rev.* – 2007. – Vol. 7. – P. 28–45.
29. Clancy D.J., Gems D., Harshman L.G., Oldham S., Stocker H., Hafen E., Leivers S.J., Partridge L. Extension of life-span by loss of CHICO, a Drosophila insulin receptor substrate protein // *Science*. – 2001. – Vol. 292. – P. 104–106.
30. Coschigano K.T., Clemmons D., Bellush L.L., Kopchick J.J. Assessment of growth parameters and life span of GHR/BP gene-disrupted mice // *Endocrinology*. – 2000. – Vol. 141. – P. 2608–2613.
31. Dilman V.M. Development, Aging and Disease. A New Rationale for an Intervention / Chur: Harwood Academic Publ. – 1994.
32. Dilman V.M., Anisimov V.N. Effect of treatment with phenformin, diphenylhydantoin or L-DOPA on life span and tumor incidence in C3H/Sn mice // *Gerontology*. – 1980. – Vol. 26. – P. 241–245.
33. Erdemoglu E., Güney M., Giray S.G., Take G., Mungan T. Effects of metformin on mammalian target of rapamycin in a mouse model of endometrial hyperplasia // *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.* – 2009. – Vol.145. – P. 195–199.
34. Evans J.M.M., Donnelly L.A., Emslie-Smith A.M., Alessi D.R., Morris A.D. Metformin and reduced risk of cancer in diabetic patients // *Br. Med. J.* – 2005. – Vol. 330. – P. 1304–1305.
35. Flurkey K., Papaconstantinou J., Miller R.A., Harrison D.E. Life-span extension and delayed immune and collagen aging in mutant mice with defects in growth hormone production // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. – 2001. – Vol. 98. – P. 6736–6741.
36. Holzenberger M., Dupond J., Ducos B., Leneuve P., Géloën A., Even P.C., Cervera P., Le Bouc Y. IGF-1 receptor regulates lifespan and resistance to oxidative stress in mice // *Nature*. – 2003. – Vol. 421. – P. 182–187.
37. Hosono K., Endo H., Takahashi H., Sugiyama M., Uchiyama T., Suzuki K., Nozaki Y., Yoneda K., Fujita K., Yoneda M., Inamori M., Tomatsu A., Chihara T., Shimpo K., Nakagama H., Nakajima A. Metformin suppresses azoxymethane-induced colorectal aberrant crypt foci by AMP-activating protein kinase // *Mol. Carcinogenesis*. – 2010. – Vol. 49. – P. 662–671.
38. Huang X., Wullschlegel S., Shpiro N., McGuire V.A., Sakaoto K., Woods Y.L., McBurnie W., Fleming S., Alessi, D.R. Important role of the LKB1-AMPK pathway in suppressing tumorigenesis in PTEN-deficient mice // *Biochem. J.* – 2008. – Vol. 412. – P. 211–221.
39. Leroi A.M. Mutants: on Genetic Variety and the Human Body. New York: Viking. 2003.
40. Leroi A.M., Bartke A., De Benedictis G., Franceschi C., Gartner A., Gonos E.S., Fedei M.E., Kivisild T., Lee S., Kartaf-Ozer N., Schumacher M., Sikora E., Slagboom E., Tatar M., Yashin A.I., Vijg J., Zwaan B. What evidence is for the existence of individual genes with antagonistic pleiotropic effects? // *Mech. Ageing Dev.* – 2005. – Vol. 126. – P. 421–429.
41. Longo V.D., Finch C.E. Evolutionary medicine: from dwarf model systems to healthy centenarians? // *Science*. – 2003. – Vol. 299. – P.1342–1346.
42. Lynch C.D., Lyons D., Khan A., Bennett S.A., Sonntag W.E. Insulin-like growth factor-1 selectively increases glucose utilization in brains of aged animals // *Endocrinology*. – 2001. – Vol. 142. – P. 506–509.
43. Ma T.C., Beuscher J.L., Oatis B., Funk J.A., Nash A.J., Carrier R.L., Hoyt K.R. Metformin therapy in a transgenic mouse model of Huntington's disease // *Neurosci. Lett.* – 2007. – Vol. 411. – P. 98–103.
44. Martin-Castillo B., Vazquez-Martin A., Oliveras-Ferreros C., Menendez J.A. Metformin and cancer. Doses, mechanisms and the dandelion and hormetic phenomena // *Cell Cycle*. – 2010. – Vol. 9. – P. 1057–1064.
45. Memmott R.M., Mercado J.R., Maier C.R., Kawabata S., Fox S.D., Dennis P.A. Metformin prevents tobacco carcinogen-induced lung tumorigenesis // *Cancer Prev. Res.* – 2010. – Vol. 3. – P. 1066–1076.
46. Menendez J.A., Cufi S., Oliveras-Ferreros C., Vellon L., Joven J., Vazquez-Martin A. Gerosuppressant metformin: less is more // *Aging (Albany, NY)*. – 2011. – Vol. 3. – № 4. – P. 348–362.
47. Muntoni S. Metformin and fatty acids // *Diabetes Care*. – 1999. – Vol. 22. – P. 179–180.
48. Schwartz M.W., Woods S.C., Porte D., Seeley R.J., Baskin D.G. Central nervous system control of food intake // *Nature*. – 2000. – Vol. 404. – P. 661–671.
49. Smith D.L., Elam C.F., Mattison J.A., Lane M.A., Roth G.S., Ingram D.K., Allison D.B. Metformin supplementation and life span in Fischer-344 rats // *J. Gerontol. Biol. Sci.* – 2010. – Vol. 65A. – P.468–474.
50. Sonntag W.E., Lynch C.D., Cefalu W.T., Ingram R.L., Bennett S.A., Thornton P.L., Khan A.S. Pleiotropic effects of growth hormone and insulin-like growth factor (IGF)-1 on biological aging: inferences from moderate caloric-restricted animals // *J. Gerontol. Biol. Sci.* 1999. – Vol. 54A. – P. B521–B538.
51. Spindler S.R. Use of microarray biomarkers to identify longevity therapeutics // *Aging Cell*. – 2006. – Vol. 5. – P. 39–50.
52. Taguchi A., Wartschow L.M., White M.F. Brain IRS2 signaling coordinates life span and nutrient homeostasis // *Science*. – 2007. – V. 317. – P. 369–372.
53. Tatar M., Kopelman A., Epstein D., Tu M.P., Yin C.M., Garofalo R.S. A mutant Drosophila insulin receptor homolog that extends life-span and impairs neuroendocrine function // *Science*. – 2001. – Vol. 292. – P. 107–110.
54. Tominoto A., Endo H., Sugiyama M., Fujisawa T., Hosono K., Takahashi H., Nakajima N., Nagashima Y., Wada K., Nakagama H., Nakajima A. Metformin suppresses intestinal polyp growth in ApcMin/+ mice // *Cancer Sci.* – 2008. – Vol. 99. – P. 2136–2141.
55. Van Heemst D., Beekman M., Mooijaart S.P., Heijmans B.T., Brandt B.W., Zwaan B.J., Slagboom P.E., Westendorp R.G. Reduced insulin/IGF-1 signaling and human longevity // *Aging Cell*. – 2005. – Vol. 4. – P. 79–85.

Анисимов В.Н. д.м.н., проф. Анисимов Владимир Николаевич. Руководитель отдела канцерогенеза и онкогеронтологии НИИ онкологии им. Н.Н. Петрова Росмедтехнологий.  
E-mail: aging@mail.ru