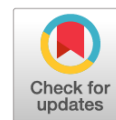


DOI: <https://doi.org/10.17816/ecogen133621>

Научная статья



Модифицирующее действие метформина на цитогенетические эффекты доксорубина и циклофосфамида у мышей

А.К. Жанатаев, А.В. Кулакова, А.Д. Дурнев

Научно-исследовательский институт фармакологии им. В.В. Закусова, Москва, Россия

Актуальность. Причинно-следственная связь между мутагенезом и канцерогенезом хорошо известна. Отсюда широкий интерес к исследованию мутаген-модифицирующих эффектов природных и синтетических соединений. Особое внимание привлекают широко распространенные соединения. Одно из них, метформин, масштабно применяется как гипогликемический препарат.

Цель — оценка влияния метформина на цитогенетические эффекты доксорубина и циклофосфамида в клетках костного мозга мышей.

Материалы и методы. Использованы самцы мышей-гибридов F₁ CBAxС57Bl/6. Циклофосфамид (20 мг/кг) или доксорубин (10 мг/кг) вводили внутривенно, метформин — перорально однократно или в течение четырех последовательных дней. Последнее введение метформина сочетали с введением мутагена. Цитогенетические препараты клеток костного мозга готовили через 18 ч после введения метформина и через 24 ч после его сочетанного введения с мутагенами. Анализ хромосомных aberrаций выполняли в соответствии с общепринятыми правилами.

Результаты. Метформин *per se* не проявил цитогенетической активности в дозах 500, 1000 и 2000 мг/кг. В дозе 500 мг/кг, но не 100 или 250 мг/кг, метформин уменьшал цитогенетические эффекты доксорубина. Метформин, вводимый однократно и в течение четырех дней в дозах 100, 250 и 500 мг/кг или однократно в дозах 10 и 20 мг/кг, в 2–3 раза увеличивал количество метафаз с aberrациями хромосом, индуцируемых циклофосфамидом. В дозах 2,5 и 5 мг/кг метформин не оказывал модифицирующего действия на эффект мутагена.

Заключение. Метформин ослабляет цитогенетические эффекты доксорубина и усиливает цитогенетическую активность циклофосфамида в клетках костного мозга мышей. Это позволяет заключить, что метформин обладает мутаген-модифицирующими свойствами.

Ключевые слова: метформин; доксорубин; циклофосфамид; мыши; хромосомные повреждения; антимутагенность; комутагенность.

Как цитировать:

Жанатаев А.К., Кулакова А.В., Дурнев А.Д. Модифицирующее действие метформина на цитогенетические эффекты доксорубина и циклофосфамида у мышей // Экологическая генетика. 2023. Т. 21. № 1. С. 53–60. DOI: <https://doi.org/10.17816/ecogen133621>

DOI: <https://doi.org/10.17816/ecogen133621>

Research Article

Modifying action of metformin on the cytogenetic effects of doxorubicin and cyclophosphamide in mice

Aliy K. Zhanataev, Alla V. Kulakova, Andrey D. Durnev

Research Zakusov Institute of Pharmacology, Moscow, Russia

BACKGROUND: The causal relationship between mutagenesis and carcinogenesis is well known. Hence the wide interest in the study of the mutagen-modifying effects of natural and synthetic compounds. Particular attention is drawn to widespread compounds. One of them, metformin, is widely used as a hypoglycemic drug.

AIM: evaluation of the influence of metformin on the cytogenetic effects of doxorubicin and cyclophosphamide in mouse bone marrow cells.

MATERIALS AND METHODS: Male F₁ CBAx57Bl/6 hybrid mice were used. Cyclophosphamide (20 mg/kg) or doxorubicin (10 mg/kg) was administered intraperitoneally, metformin was given orally once or for 4 consecutive days. The latter administration of metformin was combined with mutagen administration. Cytogenetic preparations of bone marrow cells were prepared 18 hours after metformin administration and 24 hours after its combined administration with mutagens. Chromosomal aberrations were analyzed according to accepted protocols.

RESULTS: Metformin *per se* showed no cytogenetic activity at doses of 500, 1000, and 2000 mg/kg. At a dose of 500 mg/kg, but not 100 or 250 mg/kg, metformin reduced the cytogenetic effects of doxorubicin. Metformin administered once and for 4 days at doses of 100, 250, and 500 mg/kg or once at doses of 10 and 20 mg/kg increased the number of metaphases with chromosome aberrations induced by cyclophosphamide by a factor of 2 to 3. At doses of 2.5 and 5 mg/kg, metformin had no modifying effect on the mutagen effect.

CONCLUSION: Metformin attenuates the cytogenetic effects of doxorubicin and enhances the cytogenetic activity of cyclophosphamide in mouse bone marrow cells. This allows us to conclude that metformin has mutagen-modifying properties.

Keywords: metformin; doxorubicin; cyclophosphamide; mice; chromosomal damage; antimutagenicity; comutagenicity.

To cite this article:

Zhanataev AK, Kulakova AV, Durnev AD. Modifying action of metformin on the cytogenetic effects of doxorubicin and cyclophosphamide in mice. *Ecological genetics*. 2023;21(1):53–60. DOI: <https://doi.org/10.17816/ecogen133621>

Received: 23.01.2023

Accepted: 09.03.2023

Published: 31.03.2023

АКТУАЛЬНОСТЬ

Метформин широко применяется для лечения сахарного диабета 2-го типа [1], которым страдают в мире около 500 млн человек с тенденцией к дальнейшему увеличению [2, 3]. Помимо гипогликемической активности у метформина выявлена способность к профилактике патологий, сопутствующих диабету 2-го типа: сердечно-сосудистых и нейродегенеративных заболеваний, ожирения, рака, старения. Их возникновение и/или развитие часто связывают с генотоксическими воздействиями [1, 4–6]. Обосновано мнение, что даже на фоне появления новых эффективных гипогликемических средств метформин сохранит ведущие позиции в лечении сахарного диабета 2-го типа и предупреждении сопутствующих заболеваний [4].

Ранее показано, что метформин способен снижать генотоксические эффекты, возникающие при моделировании сахарного диабета у животных [7, 8], и индукцию микроядер под действием адриамицина у мышей [9] и цисплатина у крыс [10].

Известные позитивные эффекты метформина при лечении и профилактике рака, этиология, патогенез и лечение которого тесно связаны с генотоксическими событиями, широко обсуждаются в литературе [5, 6] и могут быть обусловлены его возможными мутаген-модифицирующими свойствами. Отсюда, с учетом масштабов применения метформина, закономерен интерес к исследованиям его взаимодействий с мутагенными противоопухолевыми лекарствами.

В развитие исследований по мутаген-модифицирующему действию метформина *in vivo* целью настоящей работы явилась оценка его влияния на цитогенетические эффекты доксорубина и циклофосфамида в клетках костного мозга мышей.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Эксперименты выполнены на самцах мышей-гибридов F₁ CBAxС57Bl/6 массой 20–22 г, в возрасте 8–9 нед., полученных из питомника «Столбовая» ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий Федерального медико-биологического агентства» России.

Животные содержались в условиях вивария ФГБНУ «НИИ фармакологии им. В.В. Закусова», при 12-часовом световом режиме, при свободном доступе к воде и стандартному полнорационному гранулированно-экструдированному комбикорму для грызунов «Профгрызун» (Россия). Условия содержания животных и дизайн экспериментальных исследований были одобрены биоэтической комиссией ФГБНУ «НИИ фармакологии им. В.В. Закусова» и соответствовали ГОСТу 33215-2014 [11] «Правила оборудования помещений и организация процедур при работе с лабораторными животными», а также международным

правилам, определенным Директивой 2010/63/EU Европейского парламента и Совета Европейского союза (16 августа 2020 г.) по охране животных, используемых в научных целях [12].

В работе использовались метформин (Тева, Россия), циклофосфамид (Sigma-Aldrich или Сауман Chemical, США), доксорубин (Лэнс-Фарм, Россия). Метформин вводили внутривенно в виде суспензии в 10 % растворе диметилацетамида. Циклофосфамид, являющийся непрямым мутагеном алкилирующего действия [6], и доксорубин, сочетающий интеркалирующее и прооксидантное действие [6], вводили интрабрюшинно в виде водного раствора. Контрольным животным вводили перорально 10 % раствор диметилацетамида. Во всех случаях объем введения не превышал 0,2 мл.

Оценку цитогенетической активности метформина выполняли в соответствии с требованиями OECD TG475 [13]. Для этого препарат вводили в дозах 500, 1000 и 2000 мг/кг однократно с эвтаназией животных через 18 ч после введения.

При исследовании мутаген-модифицирующего действия метформин в широком диапазоне доз вводили однократно или четырехкратно (предобработка), сочетая последнее введение с инъекцией мутагена. Выбор доз мутагенов основывался на собственном опыте предшествующих исследований [6], выбор доз метформина — на основании литературных данных [7–10]. Забой животных осуществляли через 24 ч после последнего введения. Цитогенетические препараты костного мозга бедренных костей готовили стандартным суховоздушным методом [14]. Во всех вариантах экспериментов животным за 2,5 ч до забоя вводили колхицин из расчета 4 мг/кг с целью подавления формирования ахроматинового веретена клеточного деления и накопления метафаз. Окрашивали азур-эозином.

Для цитогенетического анализа использовали микроскоп Standart-20 (Carl Zeiss, Germany) при масляно-иммерсионном увеличении $\times 1000$. Учитывали клетки с ахроматическими пробелами (гепами), одиночными (хроматидными) и парными (хромосомными) фрагментами хромосом и обменами различного типа [15]. В отдельную категорию «клетки со множественными повреждениями» выделяли метафазы, имеющие более пяти хромосомных повреждений. Каждая экспериментальная группа включала 4–5 мышей, от каждого животного анализировалось по 100 метафаз.

Статистическую обработку данных проводили в соответствии с принятыми подходами к обсчету цитогенетических результатов с нормальным распределением [16] с использованием углового ϕ -критерия Фишера путем сравнения долей aberrантных метафаз в контрольной и экспериментальной группах. Результаты представлены в виде среднего и его ошибки.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Установлено, что метформин в диапазоне доз 500–2000 мг/кг не вызывает увеличения выхода каких-либо категорий хромосомных aberrаций и ахроматических пробелов или суммы клеток с aberrациями хромосом (табл. 1).

Доксорубин в дозе 10 мг/кг индуцировал хромосомные повреждения $10,2 \pm 1,4$ % клеток. При этом в спектре хромосомных aberrаций наряду с одиночными (хроматидные) и парными (хромосомные) фрагментами выявляли большое количество хромосомных обменов (5,2 на 100 исследованных метафаз), не было установлено клеток со множественными повреждениями хромосом. На фоне введения метформина во всех использованных дозах наблюдалась тенденция к снижению выхода клеток с хромосомными повреждениями. Однако статистически значимый результат был достигнут только при использовании метформина в дозе 500 мг/кг (табл. 2).

В табл. 3 суммированы результаты нескольких серий исследований, направленных на оценку влияния метформина на эффекты циклофосамида. В первой серии

экспериментов было выявлено, что однократное введение циклофосамида в сочетании с метформином в дозах 100, 250 и 500 мг/кг приводит к 2,0–2,6-кратному увеличению выхода aberrантных метафаз, преимущественно за счет увеличения количества клеток со множественными повреждениями хромосом. На фоне известных результатов, свидетельствующих в пользу антимуtagenности метформина [9, 10], наблюдаемый эффект оказался неожиданным. В этой связи для проверки и подтверждения наблюдения были выполнены дополнительные серии экспериментов. Прежде всего метформин использовали в течение 4 дней в тех же дозах. В результате также наблюдали 2,6–3,4-кратное увеличение выхода aberrантных клеток за счет увеличения выхода метафаз со множественными повреждениями хромосом. Далее метформин применяли однократно, но в существенно меньших дозах. При использовании из расчета 10 и 50 мг/кг метформин в 2,3–2,6 раза увеличивал выход поврежденных метафаз, так же как в предыдущих случаях за счет существенного увеличения метафаз со множественными повреждениями хромосом. При применении в дозах 2,5 и 5 мг/кг метформин не влиял на проявление цитогенетического эффекта циклофосамида.

Таблица 1. Цитогенетическая активность метформина в клетках костного мозга мышей

Table 1. Cytogenetic activity of metformin in mouse bone marrow cells

Группа	Количество клеток	На 100 клеток					Всего поврежденных метафаз, % ($M \pm m$)
		гепов	хроматидных фрагментов	хромосомных фрагментов	обменов	клеток с МП*	
Контроль	500	0	0,4	0	0	0	$0,4 \pm 0,3$
Метформин 500 мг/кг	500	0	0,8	0	0	0	$0,8 \pm 0,4$
Метформин 1000 мг/кг	500	0,2	0,4	0	0	0	$0,6 \pm 0,3$
Метформин 2000 мг/кг	500	0	0,4	0	0	0	$0,4 \pm 0,3$

*Клеток со множественными повреждениями хромосом (>5 на метафазу).

Таблица 2. Влияние метформина на цитогенетические эффекты доксорубина в клетках костного мозга мышей

Table 2. Effect of metformin on the cytogenetic effects of doxorubicin in mouse bone marrow cells

Группа	Количество клеток	На 100 клеток					Всего поврежденных метафаз, % ($M \pm m$)
		гепов	хроматидных фрагментов	хромосомных фрагментов	обменов	клеток с МП*	
Контроль	500	0	0,4	0	0	0	$0,4 \pm 0,3$
Доксорубин 10 мг/кг	500	0,2	5,2	0,2	5,2	0	$10,2 \pm 1,4$, $p < 0,001^{**}$
+Метформин 100 мг/кг	500	0	3,8	0	5,6	0	$8,8 \pm 1,3$, $p > 0,05^{\dagger}$
+Метформин 250 мг/кг	500	0	3,6	0	4,2	0	$7,4 \pm 1,2$, $p > 0,05^{\dagger}$
+Метформин 500 мг/кг	500	0	2,8	0	2,8	0	$5,2 \pm 1,0$, $p < 0,01^{\dagger}$

*Клеток со множественными повреждениями хромосом (>5 на метафазу); **по сравнению с контролем; †по сравнению с эффектом мутагена.

Таблица 3. Влияние метформина на цитогенетические эффекты циклофосфида в клетках костного мозга мышей
Table 3. Effect of metformin on the cytogenetic effects of cyclophosphamide in mouse bone marrow cells

Группа	Количество клеток	На 100 клеток					Всего поврежденных метафаз, % ($M \pm t$)
		гепов	хроматидных фрагментов	хромосомных фрагментов	обменов	клеток с МП*	
Контроль	500	0	0,4	0	0	0	0,4 ± 0,3
Однократное введение метформина							
Циклофосфамид 20 мг/кг	500	0,4	11,8	0	2,0	6,2	16,0 ± 1,6, $p < 0,001^{**}$
+Метформин 100 мг/кг	500	0,2	15,8	0,2	4,8	26,8	42,0 ± 2,2, $p < 0,001^{\dagger}$
+Метформин 250 мг/кг	500	0,4	17,2	0,4	3,0	18,6	33,2 ± 2,1, $p < 0,001^{\dagger}$
+Метформин 500 мг/кг	500	0,8	19,3	0,3	4,5	17,3	34,0 ± 2,4, $p < 0,001^{\dagger}$
Четырехдневное предварительное введение метформина							
Циклофосфамид 20 мг/кг	500	0,4	10,0	0	0,6	2,4	10,6 ± 1,4, $p < 0,001^{\dagger}$
+Метформин 100 мг/кг	500	0,8	27,6	0	2,6	16,5	35,6 ± 2,1, $p < 0,001^{\dagger}$
+Метформин 250 мг/кг	400	0,8	21,0	0	1,6	12,0	27,6 ± 2,0, $p < 0,001^{\dagger}$
+Метформин 500 мг/кг	500	0,6	24,0	0,4	1,6	9,8	27,6 ± 2,0, $p < 0,001^{\dagger}$
Однократное введение метформина							
Циклофосфамид 20 мг/кг	400	0,8	10,0	0	2,8	3,0	14,3 ± 1,7, $p < 0,001^{**}$
+Метформин 10 мг/кг	400	0	25,3	0	4,8	16,5	36,5 ± 2,4, $p < 0,001^{\dagger}$
+Метформин 50 мг/кг	400	0	18,3	0,8	4,5	15,3	32,5 ± 2,3, $p < 0,001^{\dagger}$
Однократное введение метформина							
Циклофосфамид 20 мг/кг	500	0,2	5,2	0,2	1,6	5,4	11,4 ± 1,4, $p < 0,001^{**}$
+Метформин 2,5 мг/кг	500	0,8	13,6	0	2,0	2,0	14,8 ± 1,6, $p > 0,05^{\dagger}$
+Метформин 5 мг/кг	500	0,2	16,4	0,2	2,2	1,4	15,2 ± 1,8, $p > 0,05^{\dagger}$

*Клеток со множественными повреждениями хромосом (>5 на метафазу); **по сравнению с контролем; †по сравнению с эффектом мутагена.

ОБСУЖДЕНИЕ

Имеющиеся литературные сведения о цитогенетической активности метформина противоречивы. Кластогенная активность метформина ранее отмечалась в экспериментах в культуре лимфоцитов периферической крови человека при использовании препарата в концентрациях от 12,5 до 125 мкг/мл [17]. Увеличение числа микроядер обнаруживалось в отшелушенных уротелиальных клетках больных сахарным диабетом 2-го типа, леченых метформином [18].

В противовес было показано, что метформин в терапевтически значимых концентрациях 12,5, 25 или 50 мкМ (2,1–8,3 мкг/мл) не влиял на уровни хромосомных аберраций и микроядер в культуре лимфоцитов человека [19]. Препарат в диапазоне доз 62,5–332,9 мг/кг не индуцировал микроядра в клетках костного мозга мышей [9, 20], при использовании в дозе 100–2500 мг/кг не вызывал увеличения уровней микроядер и хромосомных аберраций у крыс [21].

Данные настоящего исследования, полученные в соответствии с общепринятой методикой цитогенетической оценки новых лекарств [6, 13], являются важным новым свидетельством в пользу отсутствия у метформина кластогенной активности *in vivo*.

Метформин при однократном введении в дозе 500 мг/кг статистически значимо на 50 % уменьшал проявление цитогенетического эффекта доксорубина, но был не эффективен в меньших дозах.

Ранее было показано, что при 7-дневном введении в дозах 125 и 250 мг/кг препарат со сходной эффективностью снижает индукцию доксорубином (адриамицин, 15 мг/кг) микроядер в костном мозге мышей [9]. Предварительное 7-дневное введение метформина в дозах 50 и 100 мг/кг уменьшало индукцию микроядер в полихроматофильных эритроцитах крыс, вызываемую однократным введением цисплатина в дозе 5 мг/кг [10]. Данные, полученные в настоящем исследовании, подтверждают наличие у метформина антимутагенной активности.

В доступной литературе не обнаружено сведений о влиянии метформина на цитогенетические эффекты циклофосфида. В настоящем исследовании метформин в широком диапазоне доз от 10 до 500 мг/кг продемонстрировал способность к выраженному усилению цитогенетических эффектов циклофосфида, что свидетельствует о его комутагенной активности в отношении этого мутагена. Выход клеток с хромосомными повреждениями, возникающими под действием циклофосфида, был увеличен метформином в 2–3,4 раза. Эффект был наиболее выражен при многократном введении препарата в дозе 100 мг/кг. Полученные данные предполагают наличие некоего триггерного механизма комутагенного действия метформина в отношении циклофосфида.

Методом ДНК-комет было показано, что метформин усиливает индуцируемую комбинацией 5-фторурацила,

эпирубицина и циклофосфида поврежденность ДНК опухолевых клеток *in vitro* путем ингибирования репарации двунитевых разрывов [22]. Возникновение последних является основным механизмом кластогенного действия циклофосфида. Установлена способность метформина индуцировать апоптоз на фоне экзогенного повреждения ДНК путем ингибирования синтеза ДНК, активации проапоптотического белка p53 и выхода митохондриального цитохрома C [23]. В связи с этим важно отметить, что в представленном наблюдении усиление кластогенных эффектов циклофосфида происходило преимущественно за счет увеличения уровня клеток со множественными повреждениями хромосом. К этому следует добавить, что за рамками стандартного цитогенетического протокола, в ходе микроскопического анализа в значительном количестве выявлялись метафазы с полной деструкцией хроматина, которые не наблюдались у животных, получавших метформин *per se*. Наличие таких метафаз служит косвенным свидетельством цитотоксического действия на клетки костного мозга. В контексте выполненной работы это может свидетельствовать об усилении гибели клеток с поврежденной ДНК под действием метформина.

Примечательно, что результаты настоящего исследования согласуются с экспериментальными данными о снижении выживаемости мышей при сочетанном применении циклофосфида и метформина [24], а также данными, демонстрирующими снижение под влиянием метформина резистентности опухолей к циклофосфамиду [25], паклитакселу и цисплатину [26].

Способность к активации клеточной гибели определяет возможность применения метформина в качестве средства химиотерапии злокачественных опухолей, однако его влияние на различные опухоли малоизучено, а механизмы противоопухолевого действия до конца не ясны [26, 27]. Более перспективным на сегодня представляется применение метформина в комплексе противоопухолевой химиотерапии цитостатиками с целью усиления их эффективности и снижения терапевтических дозировок и, как следствие, токсических побочных эффектов [23].

В заключение можно сказать, что совокупность собственных и литературных данных указывает на способность метформина проявлять разнонаправленную модифицирующую активность в зависимости от механизма мутагенного действия — антимуtagenную или комутагенную, что определяет широкий спектр его потенциального применения помимо основного в качестве антидиабетического средства. Полученные в настоящем исследовании данные определяют необходимость осторожного подхода при назначении метформина пациентам, находящимся на

терапии циклофосфамидом и его аналогами, в частности, при иммуносупрессивной терапии аутоиммунных заболеваний и в трансплантологии.

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Благодарности. Авторы выражают свою признательность кандидату биологических наук, старшему научному сотруднику отдела лекарственной токсикологии ФГБНУ «НИИ фармакологии им. В.В. Закусова» Н.В. Ереминой за помощь в оформлении рукописи при подготовке к публикации.

Вклад авторов. Все авторы внесли равный вклад в подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию перед публикацией. Вклад каждого автора: А.К. Жанатаев — идея исследования, анализ результатов и источников, доработка текста, критическое рецензирование рукописи; А.В. Кулакова — микроскопический анализ, обработка первичного экспериментального материала, доработка текста; А.Д. Дурнев — концептуализация, анализ результатов и источников, написание первоначального текста, научное редактирование.

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Источник финансирования. Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования в рамках финансирования по теме № FGFG-2022-0002.

ADDITIONAL INFORMATION

Acknowledgements. The authors are grateful to senior research associate of the Department of Drug Toxicology N.V. Eremina for help in preparation of the manuscript for publication.

Author contribution. Thereby, all authors made a substantial contribution to the conception of the study, acquisition, analysis, interpretation of data for the work, drafting and revising the article, final approval of the version to be published, and agree to be accountable for all aspects of the study. The contributions of each author: A.K. Zhanataev — idea of the study, analysis of the results and literature data, finalizing the text, final critical review of the manuscript; A.V. Kulakova — microscopic analysis, processing of experimental material, finalizing the manuscript; A.D. Durnev — conceptualization, analysis of results and sources, initial text writing, scientific editing.

Competing interests. The authors declare that they have no competing interests.

Funding source. This work was supported by the Ministry of Science and Higher Education through funding under No. FGFG-2022-0002.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Sciannimanico S., Grimaldi F., Vescini F., et al. Metformin: Up to Date // *Endocr Metab Immune Disord Drug Targets*. 2020. Vol. 20, No. 2. P. 172–181. DOI: 10.2174/1871530319666190507125847
2. Cho N.H., Shaw J.E., Karuranga S., et al. IDF Diabetes Atlas: Global estimates of diabetes prevalence for 2017 and projections for 2045 // *Diabetes Res Clin Pract*. 2018. Vol. 138. P. 271–281. DOI: 10.1016/j.diabres.2018.02.023

3. Шестакова М.В., Викулова О.К., Железнякова А.В., и др. Эпидемиология сахарного диабета в Российской Федерации: что изменилось за последнее десятилетие? // *Терапевтический архив*. 2019. Т. 91, № 10. С. 4–13. DOI: 10.26442/00403660.2019.10.000364
4. Du Y., Zhu Y.J., Zhou Y.X., et al. Metformin in therapeutic applications in human diseases: its mechanism of action and clinical study // *Mol Biomed*. 2022. Vol. 3, No. 1. P. 41. DOI: 10.1186/s43556-022-00108-w
5. Top W.M.C., Kooy A., Stehouwer C.D.A. Metformin: A Narrative Review of Its Potential Benefits for Cardiovascular Disease. *Cancer and Dementia // Pharmaceuticals (Basel)*. 2022. Vol. 15, No. 3. P. 312. DOI: 10.3390/ph15030312
6. Дурнев А.Д., Жанатаев А.К., Еремина Н.В. Генетическая токсикология. Москва: Миттель-пресс. 2022. 286 с.
7. Najafi M., Cheki M., Rezapoor S., et al. Metformin: Prevention of genomic instability and cancer: A review // *Mutat Res Genet Toxicol Environ Mutagen*. 2018. Vol. 827. P. 1–8. DOI: 10.1016/j.mrgentox.2018.01.007
8. Лисицын А.А., Жанатаев А.К., Чайка З.В., и др. Антигенотоксическая активность комбинации «аспартам-бетаин» и метформина у мышей с экспериментальным стрептозототиновым диабетом // *Молекулярная медицина*. 2022. Т. 20. № 5. С. 59–64. DOI: 10.29296/24999490-2022-05-08
9. Aleisa A.M., Al-Rejaie S.S., Bakheet S.A., et al. Effect of metformin on clastogenic and biochemical changes induced by adriamycin in Swiss albino mice // *Mutat Res*. 2007. Vol. 634. No. 1–2. P. 93–100. DOI: 10.1016/j.mrgentox.2007.06.005
10. Cheki M., Ghasemi M.S., Rezaei Rashnoudi A., Erfani Majd N. Metformin attenuates cisplatin-induced genotoxicity and apoptosis in rat bone marrow cells // *Drug Chem Toxicol*. 2021. Vol. 44, No. 4. P. 386–393. DOI: 10.1080/01480545.2019.1609024
11. ГОСТ 33215–2014. Межгосударственный стандарт. «Руководство по содержанию и уходу за лабораторными животными. Правила оборудования помещений и организации процедур». 2016. 20 с. Режим доступа: <https://docs.cntd.ru/document/1200127789> Дата обращения: 13.03.2023.
12. Directive 2010/63/EU of the European Parliament and of the Council. Official Journal of the European Union. Retrieved 16 August 2020. Режим доступа: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/?uri=celex%3A32010L0063> Дата обращения: 13.03.2023.
13. www.nucro-technics.com [Электронный ресурс]. OECD TG475: Mammalian Bone Marrow Chromosomal Aberration Test. Режим доступа: <https://www.nucro-technics.com/services/genetic-toxicology/invivo-chromosomeaberration/> Дата обращения: 13.03.2023.
14. Preston R.J., Dean B.J., Galloway S., et al. Mammalian *in vivo* cytogenetic assays. Analysis of chromosome aberrations in bone marrow cells // *Mutation Research*. 1987. Vol. 189. No. 2. P. 157–165. DOI: 10.1016/0165-1218(87)90021-8
15. Savage J.R. Classification and relationships of induced chromosomal structural changes // *J Med Genet*. 1976. Vol. 13. No 2. P. 103–122. DOI: 10.1136/jmg.13.2.103
16. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая / под ред. А.Н. Миронова. Москва: Гриф и К. 2012. 944 с.
17. Yuzbasioglu D., Mahmoud J.H., Mamur S., Unal F. Cytogenetic effects of antidiabetic drug metformin // *Drug Chem Toxicol*. 2022. Vol. 45. No 2. P. 955–962. DOI: 10.1080/01480545.2020.1844226
18. Harishankar M.K., Logeshwaran S., Sujeevan S., et al. Genotoxicity evaluation of metformin and glimepiride by micronucleus assay in exfoliated urothelial cells of type 2 diabetes mellitus patients // *Food Chem Toxicol*. 2015. Vol. 83. P. 146–150. DOI: 10.1016/j.fct.2015.06.013
19. Sant’Anna J.R., Yajima J.P., Rosada L.J., et al. Metformin’s performance in *in vitro* and *in vivo* genetic toxicology studies // *Exp Biol Med (Maywood)*. 2013. Vol. 238, No. 7. P. 803–810. DOI: 10.1177/1535370213480744
20. Amador R.R., Longo J.P., Lacava Z.G., et al. Metformin (dimethylbiguanide) induced DNA damage in mammalian cells // *Genet Mol Biol*. 2012. Vol. 35, No. 1. P. 153–158. DOI: 10.1590/s1415-47572011005000060
21. Attia S.M., Helal G.K., Alhaider A.A. Assessment of genomic instability in normal and diabetic rats treated with metformin // *Chem Biol Interact*. 2009. Vol. 180. No. 2. P. 296–304. DOI: 10.1016/j.cbi.2009.03.001
22. Soo J.S., Ng C.H., Tan S.H., et al. Metformin synergizes 5-fluorouracil, epirubicin, and cyclophosphamide (FEC) combination therapy through impairing intracellular ATP production and DNA repair in breast cancer stem cells // *Apoptosis*. 2015. Vol. 20. No 10. P. 1373–1387. DOI: 10.1007/s10495-015-1158-5
23. Peng M., Darko K.O., Tao T., et al. Combination of metformin with chemotherapeutic drugs via different molecular mechanisms // *Cancer Treat Rev*. 2017. Vol. 54. P. 24–33. DOI: 10.1016/j.ctrv.2017.01.005
24. Alhawaii A., Sajid S., Almogbel Y., et al. Effect of Cyclophosphamide and Its Combination with Metformin on the Survival Rate in Mice // *Journal of Pharmaceutical Research International*. 2019. Vol. 30, No 2. P. 1–6. DOI: 10.9734/JPRI/2019/v30i230263
25. Аникин И.В., Гончаров Н.В., Тындык М.Л., и др. Влияние фторацетата натрия и метформина на противоопухолевую активность циклофосфамида на модели аутохтонной саркомы мышей // *Вопросы онкологии*. 2014. Т. 60. № 4. С. 514–516.
26. Saini N., Yang X. Metformin as an anti-cancer agent: actions and mechanisms targeting cancer stem cells // *Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai)*. 2018. Vol. 50, No 2. P. 133–143. DOI: 10.1093/abbs/gmx106
27. Leng W., Jiang J., Chen B., Wu Q. Metformin and Malignant Tumors: Not Over the Hill // *Diabetes Metab Syndr Obes*. 2021. Vol. 14. P. 3673–3689. DOI: 10.2147/DMSO.S326378

REFERENCES

1. Sciannimanico S, Grimaldi F, Vescini F, et al. Metformin: Up to Date. *Endocr Metab Immune Disord Drug Targets*. 2020;20(2): 172–181. DOI: 10.2174/1871530319666190507125847
2. Cho NH, Shaw JE, Karuranga S, et al. IDF Diabetes Atlas: Global estimates of diabetes prevalence for 2017 and projections for 2045. *Diabetes Res Clin Pract*. 2018;138:271–281. DOI: 10.1016/j.diabres.2018.02.023
3. Shestakova MV, Vikulova OK, Zheleznyakova AV, et al. Diabetes epidemiology in Russia: what has changed over the decade? *Therapeutic Archive*. 2019;91(10):4–13. (In Russ.) DOI: 10.26442/00403660.2019.10.000364
4. Du Y, Zhu YJ, Zhou YX, et al. Metformin in therapeutic applications in human diseases: its mechanism of action and clinical study. *Mol Biomed*. 2022;3(1):41. DOI: 10.1186/s43556-022-00108-w
5. Top WMC, Kooy A, Stehouwer CDA. Metformin: A Narrative Review of Its Potential Benefits for Cardiovascular Disease. *Cancer and Dementia. Pharmaceuticals (Basel)*. 2022;15(3):312. DOI: 10.3390/ph15030312
6. Durnev AD, Zhanataev AK, Eremina NV. *Geneticheskaya toksikologiya*. Moscow: Mittel-press; 2022. 286 p. (In Russ.)

7. Najafi M, Cheki M, Rezapoor S, et al. Metformin: Prevention of genomic instability and cancer: A review. *Mutat Res Genet Toxicol Environ Mutagen*. 2018;827:1–8. DOI: 10.1016/j.mrgentox.2018.01.007
8. Lisitsyn AA, Zhanataev AK, Chaika ZV, et al. Antigenotoxic activity of the combination “aspartame-betaine” and metformin in mice with experimental streptozotocin diabetes. *Molecular medicine*. 2022;20(5):59–64. (In Russ.) DOI: 10.29296/24999490-2022-05-08
9. Aleisa AM, Al-Rejaie SS, Bakheet SA, et al. Effect of metformin on clastogenic and biochemical changes induced by adriamycin in Swiss albino mice. *Mutat Res*. 2007;634(1–2):93–100. DOI: 10.1016/j.mrgentox.2007.06.005
10. Cheki M, Ghasemi MS, Rezaei Rashnoudi A, et al. Metformin attenuates cisplatin-induced genotoxicity and apoptosis in rat bone marrow cells. *Drug Chem Toxicol*. 2021;44(4):386–393. DOI: 10.1080/01480545.2019.1609024
11. GOST 33215–2014. Interstate standard. Guidelines for accommodation and care of animals. Environment, housing and management. 2016. 20 p. Available from: <https://docs.cntd.ru/document/1200127789>
12. Directive 2010/63/EU of the European Parliament and of the Council. Official Journal of the European Union. Retrieved 16 August 2020. Available from: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/?uri=celex%3A32010L0063>
13. www.nucro-technics.com [Internet]. OECD TG475: Mammalian Bone Marrow Chromosomal Aberration Test. Available from: <https://www.nucro-technics.com/services/genetic-toxicology/invivo-chromosomeaberration/>
14. Preston RJ, Dean BJ, Galloway S, et al. Mammalian *in vivo* cytogenetic assays. Analysis of chromosome aberrations in bone marrow cells. *Mutation Research*. 1987;189(2):157–165. DOI: 10.1016/0165-1218(87)90021-8
15. Savage JR. Classification and relationships of induced chromosomal structural changes. *J Med Genet*. 1976;13(2):103–122. DOI: 10.1136/jmg.13.2.103
16. Rukovodstvo po provedeniyu doklinicheskikh issledovaniy lekarstvennykh sredstv. Chapter I. Ed by A.N. Moscow: Grif i K; 2012. 944 p. (In Russ.)
17. Yuzbasioglu D, Mahmoud JH, Mamur S, Unal F. Cytogenetic effects of antidiabetic drug metformin. *Drug Chem Toxicol*. 2022;45(2):955–962. DOI: 10.1080/01480545.2020.1844226
18. Harishankar MK, Logeshwaran S, Sujeevan S. et al. Genotoxicity evaluation of metformin and glimepiride by micronucleus assay in exfoliated urothelial cells of type 2 diabetes mellitus patients. *Food Chem Toxicol*. 2015;83:146–150. DOI: 10.1016/j.fct.2015.06.013
19. Sant’Anna JR, Yajima JP, Rosada LJ, et al. Metformin’s performance in *in vitro* and *in vivo* genetic toxicology studies. *Exp Biol Med (Maywood)*. 2013;238(7):803–810. DOI: 10.1177/1535370213480744
20. Amador RR, Longo JP, Lacava ZG, et al. Metformin (dimethylbiguanide) induced DNA damage in mammalian cells. *Genet Mol Biol*. 2012;35(1):153–158. DOI: 10.1590/s1415-47572011005000060
21. Attia SM, Helal GK, Alhaider AA. Assessment of genomic instability in normal and diabetic rats treated with metformin. *Chem Biol Interact*. 2009;180(2):296–304. DOI: 10.1016/j.cbi.2009.03.001
22. Soo JS, Ng CH, Tan SH, et al. Metformin synergizes 5-fluorouracil, epirubicin, and cyclophosphamide (FEC) combination therapy through impairing intracellular ATP production and DNA repair in breast cancer stem cells. *Apoptosis*. 2015;20(10):1373–1387. DOI: 10.1007/s10495-015-1158-5
23. Peng M, Darko KO, Tao T, et al. Combination of metformin with chemotherapeutic drugs via different molecular mechanisms. *Cancer Treat Rev*. 2017;54:24–33. DOI: 10.1016/j.ctrv.2017.01.005
24. Alhawal A, Sajid S, Almogbel Y, et al. Effect of Cyclophosphamide and Its Combination with Metformin on the Survival Rate in Mice. *Journal of Pharmaceutical Research International*. 2019;30(2):1–6. DOI: 10.9734/JPRI/2019/v30i230263
25. Anikin IV, Goncharov NV, Tyndyk ML, et al. The effect of sodium fluoroacetate and metformin on the antitumor activity of cyclophosphamide on the autochthonous mice sarcoma model. *Problems in Oncology*. 2014;60(4):514–516. (In Russ.)
26. Saini N, Yang X. Metformin as an anti-cancer agent: actions and mechanisms targeting cancer stem cells. *Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai)*. 2018;50(2):133–143. DOI: 10.1093/abbs/gmx106
27. Leng W, Jiang J, Chen B, Wu Q. Metformin and Malignant Tumors: Not Over the Hill. *Diabetes Metab Syndr Obes*. 2021;14:3673–3689. DOI: 10.2147/DMSO.S326378

ОБ АВТОРАХ

***Алий Курманович Жанатаев**, канд. биол. наук, вед. научн. сотр. лаборатории фармакологии мутагенеза отдела лекарственной токсикологии; адрес: Россия, 125315, Москва, ул. Балтийская, д. 8; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7673-8672>; eLibrary SPIN: 7070-0510; Scopus Author ID: 6506103462; e-mail: zhanataev@academpharm.ru

Алла Владимировна Кулакова, канд. биол. наук, ст. научн. сотр. лаборатории фармакологии мутагенеза отдела лекарственной токсикологии; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6959-2150>; Scopus Author ID: 7006681153; e-mail: allakulak@mail.ru

Андрей Дмитриевич Дурнев, д-р мед. наук, профессор, чл.-корр. РАН, заведующий отделом лекарственной токсикологии; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0218-8580>; eLibrary SPIN: 8426-0380; Scopus Author ID: 7006060753; e-mail: addurnev@mail.ru

AUTHORS' INFO

***Aliy K. Zhanataev**, Cand. Sci. (Biol.), leading research associate of the Laboratory of Mutagenesis Pharmacology of Department of Drug Toxicology; address: 8 Baltiiskaya st., Moscow, 125315, Russia; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7673-8672>; eLibrary SPIN: 7070-0510; Scopus Author ID: 6506103462; e-mail: zhanataev@academpharm.ru

Alla V. Kulakova, Cand. Sci. (Biol.), senior research associate of the Laboratory of Mutagenesis Pharmacology of Drug Toxicology Department; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6959-2150>; Scopus Author ID: 7006681153; e-mail: allakulak@mail.ru

Andrey D. Durnev, Dr. Sci. (Med.), professor, corresponding member of RAS; head of the Department of Drug Toxicology and Pharmacology of Mutagenesis; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0218-8580>; eLibrary SPIN: 8426-0380; Scopus Author ID: 7006060753; e-mail: addurnev@mail.ru

* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author