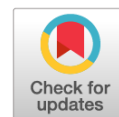


УДК 621.092

DOI: <https://doi.org/10.17816/RCF626249>

# Эффективность комбинации метформина и интраназального инсулина для коррекции метаболических и гормональных нарушений у взрослых самцов крыс с метаболическим синдромом, вызванным нарушением грудного вскармливания

К.В. Деркач<sup>1</sup>, А.О. Иванцов<sup>2</sup>, Н.Е. Басова<sup>1</sup>, А.О. Шпаков<sup>1, 3</sup><sup>1</sup> Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова Российской академии наук, Санкт-Петербург, Россия;<sup>2</sup> Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Петрова, Санкт-Петербург, Россия;<sup>3</sup> Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия

## АННОТАЦИЯ

**Актуальность.** Ограничение или краткосрочное прекращение грудного вскармливания может приводить к развитию метаболического синдрома во взрослом возрасте, что требует разработки подходов для его предотвращения и коррекции. Одним из них является лечение метформином или интраназально вводимым инсулином. Поскольку мишени этих препаратов различаются и они могут взаимодополнять друг друга, то было высказано предположение об эффективности их комбинированного использования.

**Цель** — изучение влияния четырехнедельного совместного введения метформина (перорально, в дозе 120 мг/кг × сут) и интраназально вводимого инсулина (в дозе 1,2 МЕ/кг × сут) самцам крыс с метаболическим синдромом, обусловленным прерыванием грудного вскармливания в 19–21-й дни постнатального развития, на их метаболические и гормональные показатели.

**Материалы и методы.** Исследование проводили в сравнении с монотерапией теми же препаратами.

**Результаты.** Установлено, что у взрослых самцов крыс с нарушением грудного вскармливания развиваются ожирение, дислипидемия и гиперлептинемия, нарушается толерантность к глюкозе, снижаются число  $\beta$ -клеток и площадь панкреатических островков, что характерно для метаболического синдрома. Длительное лечение с помощью метформина и его комбинации с интраназально вводимым инсулином частично или полностью нормализовало массу тела и абдоминального жира, метаболические и гормональные показатели, причем восстанавливающий эффект комбинированной терапии в отношении таких показателей, как масса тела и жировой ткани, толерантность к глюкозе и уровень гликированного гемоглобина в крови, был более выражен, чем таковой монотерапии метформином.

**Заключение.** Результаты исследования свидетельствуют в пользу перспективности применения комбинации метформина и интраназально вводимого инсулина для нормализации метаболических и гормональных нарушений при метаболическом синдроме, вызванном дефицитом грудного вскармливания в раннем онтогенезе.

**Ключевые слова:** метформин; интраназальный инсулин; метаболический синдром; гиперлептинемия; глюкозотолерантность; грудное вскармливание.

## Как цитировать

Деркач К.В., Иванцов А.О., Басова Н.Е., Шпаков А.О. Эффективность комбинации метформина и интраназального инсулина для коррекции метаболических и гормональных нарушений у взрослых самцов крыс с метаболическим синдромом, вызванным нарушением грудного вскармливания // Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии. 2024. Т. 22, № 3. С. 289–300. DOI: <https://doi.org/10.17816/RCF626249>

DOI: <https://doi.org/10.17816/RCF626249>

# Effectiveness of metformin in combination with intranasal insulin for the treatment of metabolic and hormonal disturbances in adult male rats with metabolic syndrome induced by impaired breastfeeding

Kira V. Derkach<sup>1</sup>, Alexandr O. Ivantsov<sup>2</sup>, Natalia E. Basova<sup>1</sup>, Alexander O. Shpakov<sup>1, 3</sup><sup>1</sup> Sechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry, Russian Academy of Sciences, Saint Petersburg, Russia;<sup>2</sup> N.N. Petrov National Medical Research Centre of Oncology, Saint Petersburg, Russia;<sup>3</sup> Saint Petersburg State University, Saint Petersburg, Russia

## ABSTRACT

**BACKGROUND:** Limiting or temporally stopping breastfeeding can lead to the development of metabolic syndrome in adulthood, which requires the development of approaches for its prevention and correction. One such approach is treatment with metformin or intranasal insulin. Since the targets of these agents differ and may complement each other, it has been suggested that their combined use could be effective.

**AIM:** To study the effect of a four-week co-administration of metformin (orally, 120 mg/kg/day) and intranasal insulin (1.2 IU/kg/day) in male rats with metabolic syndrome, induced by breastfeeding disruption on postnatal days 19–21, on their metabolic and hormonal parameters.

**MATERIALS AND METHODS:** The study treatment was compared with monotherapy using the same drugs.

**RESULTS:** It was found that adult male rats with disrupted breastfeeding developed obesity, dyslipidemia, hyperleptinemia, impaired glucose tolerance, and a reduction in the number of  $\beta$ -cells and the area of pancreatic islets, which are characteristic of metabolic syndrome. Long-term treatment with metformin and its combination with intranasal insulin partially or fully normalized body weight, abdominal fat, and metabolic and hormonal parameters, with the restorative effect of combination treatment on such parameters as body weight, fat mass, glucose tolerance, and blood glycated hemoglobin levels being more pronounced than with metformin alone.

**CONCLUSIONS:** The results of the study support the use of a combination of metformin and intranasal insulin to normalize metabolic and hormonal parameters in metabolic syndrome induced by breastfeeding disruption in early days of life.

**Keywords:** metformin; intranasal insulin; metabolic syndrome; hyperleptinemia; glucose tolerance; breastfeeding.

## To cite this article

Derkach KV, Ivantsov AO, Basova NE, Shpakov AO. Effectiveness of metformin in combination with intranasal insulin for the treatment of metabolic and hormonal disturbances in adult male rats with metabolic syndrome induced by impaired breastfeeding. *Reviews on Clinical Pharmacology and Drug Therapy*. 2024;22(3):289–300. DOI: <https://doi.org/10.17816/RCF626249>

## АКТУАЛЬНОСТЬ

Нарушение пищевого поведения в раннем детском возрасте, включая недостаточное или, напротив, избыточное потребление пищи, а также замену грудного молока искусственными смесями, вызывает функциональные изменения в формировании эндокринной и других систем организма, что во взрослом возрасте может приводить к развитию метаболических и гормональных расстройств, включая ожирение и метаболический синдром (МС). В соответствии с этим одной из важнейших задач современной медицины является изучение механизмов развития метаболических, гормональных и эндокринных дисфункций, вызванных нарушением питания в раннем возрасте, а также поиск эффективных путей для их коррекции во взрослом возрасте.

Подходящая модель для исследования взаимосвязи между нарушением питания в ранний постнатальный период и отставленными метаболическими и гормональными нарушениями является прекращение грудного вскармливания крысят с 19-го по 21-й дни постнатального развития путем индуцированного бромокриптином или метилглиоксалем подавления лактации у кормящих самок [1, 2]. В результате у животных во взрослом возрасте развиваются ожирение и некоторые признаки МС, что было продемонстрировано ранее как нами [3, 4], так и другими авторами [1, 2].

Одной из причин развития во взрослом возрасте метаболических и гормональных расстройств, вызванных прерыванием грудного вскармливания, является нарушение инсулиновой сигнализации в мозге, что может быть, по крайней мере, отчасти устранено введением крысятам, непосредственно после периода голодания в ранний постнатальный период, интраназального инсулина (ИИ) [4]. Однако с практической точки зрения использование терапии ИИ в раннем возрасте трудно осуществимо, особенно с учетом отсутствия явных признаков метаболических и гормональных расстройств, которые развиваются существенно позднее. В этой связи важно отметить, что в более позднем возрасте ИИ оказывается малоэффективным, существенно не влияя на паттерн неонатально запрограммированных нарушений [4]. Поэтому важным является поиск эффективных путей коррекции уже развившегося МС, для чего может быть использована терапия метформином (МФ), которая, как показано нами, восстанавливает ряд метаболических и гормональных показателей у взрослых самцов крыс с ограничением грудного вскармливания в раннем возрасте [3]. Имеются многочисленные свидетельства высокой эффективности МФ в клинике для коррекции МС и сахарного диабета 2-го типа (СД2), вследствие чего он становится одним из наиболее широко применяемых для этой цели фармакологическим препаратом [5–7]. Однако применение МФ имеет ряд ограничений, что обусловлено серьезными побочными эффектами при использовании его сравнительно

высоких доз [8, 9]. Поэтому актуальной задачей является снижение дозы МФ путем применения его комбинаций с другими препаратами, усиливающими его терапевтический эффект. Перспективной здесь может быть комбинация МФ и ИИ. Такая комбинация позволяет, с одной стороны, нормализовать массу тела, улучшить метаболический статус и повысить системную чувствительность к инсулину (при использовании МФ), а с другой — нормализовать активность инсулиновой системы мозга, сниженной при различных формах МС, предотвратив тем самым развитие нейродегенеративных процессов в мозге и улучшив центральную инсулиновую регуляцию физиологических функций (при использовании ИИ). До настоящего времени в экспериментальных условиях комбинацию МФ и ИИ применяли только с целью коррекции нарушений при индуцированном диетой СД2 [10] и вызванном контрацептивами МС [11], а также для ослабления инсулиновой резистентности (ИР), индуцированной обработкой крыс дексаметазоном [12].

*Цель работы* — изучить влияние длительной МФ-терапии в комбинации с ИИ для коррекции метаболических и гормональных показателей, нарушенных у взрослых самцов крыс с МС, обусловленным краткосрочным прерыванием грудного вскармливания, и провести это исследование в сравнении с монотерапией МФ и ИИ в тех же дозах и той же продолжительности.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для экспериментов по индукции МС и его лечению МФ и ИИ совместно и раздельно использовали самцов крыс линии Wistar, которых содержали в стандартных условиях вивария при свободном доступе к воде и сухому корму. Все процедуры осуществляли в полном соответствии с требованиями Комитета по биоэтике ИЗФБ РАН (протокол № 2–1/2023 от 26.01.2023), а также с требованиями Директивы Совета Европейских сообществ (European Communities Council Directive, 1986, 86/609/EEC) и руководства по уходу и использованию лабораторных животных (Guide for the Care and Use of Laboratory Animals).

Модель МС, обусловленную прерыванием грудного вскармливания крысят, обозначаемую как «неонатальная» модель, вызывали по описанной нами ранее методике [3, 4]. Самцов-крысят в течение трех дней, с 19-го по 21-й дни постнатального развития, лишали как грудного вскармливания, так и иных источников пищи, после чего, на 22-й день, переводили на стандартный сухой корм. Прерывание вскармливания осуществляли обработкой лактирующих самок с помощью бромокриптина-мезилата, который вводили ежедневно, на протяжении 3 дней, перорально через зонд, в суточной дозе 10 мг/кг. В результате лактация прекращалась, и вместо грудного молока у самок начинало выделяться молозиво, которое не содержало необходимых для полноценного роста и развития крысят питательных веществ, гормональных

агентов и микроэлементов, содержащихся в грудном молоке. Контрольную группу составляли самцы-крысы с нормальным режимом грудного вскармливания, которых кормили самки, получавшие плацебо вместо бромкриптина-мезилата. В дальнейшем самцы крыс находились на стандартной диете вплоть до шестимесячного возраста, когда у части животных начинали развиваться признаки МС. Для отбора животных с выраженным МС оценивали массу тела и уровень постпрандиальной глюкозы в крови. Концентрацию глюкозы измеряли, используя тест-полоски и глюкометр Life Scan (Johnson & Johnson, Дания). Животных с массой тела, которая была повышена не менее чем на 8 % в сравнении с массой тела у контрольных крыс, и с концентрацией постпрандиальной глюкозы в крови не менее 6,0 ммоль/л относили к животным с развившимся МС, случайным образом распределяя их на экспериментальные группы.

Формировали следующие группы (в каждой по 6 крыс): контроль (К), в которой вместо препаратов животные получали 0,9 % раствор натрия хлорида; МС без лечения (МС), МС с 4-недельным лечением МФ (перорально, в дозе 120 мг/кг×сут; МС-М), МС с 4-недельным лечением ИИ (в дозе 1,2 МЕ/кг×сут; МС-И), МС с совместным лечением МФ и ИИ в тех же дозах (МС-МИ). Для интраназального введения инсулин растворяли в необходимой концентрации в 0,1 М Na-цитратном буфере (pH 4,5) и, переверачивая крысу на спину, вводили раствор в обе ноздри (примерно по 10–20 мкл в каждую), как описано ранее [13]. МФ растворяли в воде и вводили с помощью желудочного зонда. За 3 дня до окончания эксперимента, используя интраперитонеальный глюкозотолерантный тест (ИГТТ), оценивали толерантность к глюкозе. В ходе ИГТТ крысам внутривенно вводили 40 % раствор глюкозы в суммарной дозе 2 г/кг и оценивали уровень глюкозы в крови в течение 120 мин после глюкозной нагрузки. Измеряли также уровни инсулина и лептина в крови до глюкозной нагрузки и через 120 мин после нее с помощью ИФА-наборов «Rat Insulin ELISA» (Mercodia, Швеция) и ELISA for Leptin, Rat (Cloud-Clone Corp., США). Кровь забирали из хвостовой вены под местным наркозом, для чего использовали раствор лидокаина в дозе 3 мг/кг.

Перед окончанием эксперимента в крови крыс (натошак) измеряли уровень свободных жирных кислот с помощью набора NEFA FS kit (DiaSys, Германия), содержание гликированного гемоглобина, используя набор Multi Test HbA1c System kit (Polymer Technology Systems, США), концентрацию триглицеридов и общего холестерина с помощью тест-полосок Triglycerides multiCare-in и Cholesterol multiCare-in (Biochemical Systems International, Италия). Затем крыс наркотизировали (хлоральгидрат, 400 мг/кг, внутривенно), декапитировали, забирали ткани поджелудочной железы для оценки морфологии панкреатических островков, оценивали массу абдоминального жира.

Образцы ткани поджелудочной железы фиксировали в формалине (конечная концентрация 10 %), растворенном в 50 mM Na-фосфатном буфере, pH 7,4, используя их затем для гистологического анализа. Процедуру гистохимического окрашивания панкреатических островков с помощью гематоксилина и эозина проводили с использованием Thermo Scientific Lab Vision Autostainer 720 (Thermo Fisher Scientific, США). Морфометрическую оценку изображений осуществляли с использованием программного обеспечения AxioVision (Carl Zeiss, Германия). Оценивали число панкреатических островков, их диаметр (в микронах), для количественной оценки площади островков использовали произведение этих показателей.

Статистический анализ проводили с использованием пакета программ IBM SPSS Statistics 26 (IBM, США). Нормальность распределения проверяли с помощью критерия Шапиро–Уилка, а также использовали критерий Ливиня на равенство дисперсий. Сравнения между группами проводили с помощью однофакторного дисперсионного анализа с поправкой Тьюки. Достоверными считали различия при  $p < 0,05$ . Результаты представляли как среднее и ошибка среднего ( $M \pm SEM$ ).

## РЕЗУЛЬТАТЫ

У взрослых самцов крыс с «неонатальной» моделью МС были значимо повышены общая масса тела и масса абдоминального жира. Были также повышены уровни триглицеридов и общего холестерина, отмечалась тенденция к повышению уровня свободных жирных кислот, что указывает на признаки дислипидемии. В соответствии с результатами ИГТТ в группе МС была нарушена толерантность к глюкозе, на что указывают повышение концентрации глюкозы через 120 мин после глюкозной нагрузки и повышенные значения  $AUC_{0-120}$  (интегрированная площадь под глюкозной кривой в ИГТТ) (табл. 1, рисунок). Наряду с этим было повышено содержание гликированного гемоглобина в крови и имелась тенденция к повышению уровня глюкозы натошак, хотя различия с контролем в этом случае не были значимыми.

Помимо метаболических нарушений у крыс группы МС отмечали изменение гормональных показателей. У них были значимо повышены базальный и стимулированный глюкозой уровни лептина, продуцируемого адипоцитами белого жира и регулирующего пищевое поведение и периферический энергетический обмен, что свидетельствует в пользу развития лептиновой резистентности. Довольно неожиданным было то, что базовый уровень инсулина у крыс с МС не отличался от такового в контроле, и только через 120 мин после глюкозной нагрузки выявлялось значимое его повышение. При этом значение индекса инсулиновой резистентности, рассчитанное как произведение базовых концентраций инсулина и глюкозы, в группе МС не отличалось от контроля, что указывает на отсутствие явных признаков инсулиновой резистентности при этой модели МС (табл. 2).

**Таблица 1.** Масса тела и абдоминального жира, содержание липидов, гликированного гемоглобина, а также значение  $AUC_{0-120}$  для глюкозных кривых у взрослых самцов крыс с «неонатальной» моделью метаболического синдрома и влияние на эти показатели лечения метформином и интраназальным инсулином и их комбинацией,  $M \pm SEM$

**Table 1.** Body weight and abdominal fat mass, lipid content, glycated hemoglobin levels, as well as  $AUC_{0-120}$  values for glucose curves in adult male rats with the "neonatal" model of metabolic syndrome and the effects of treatment with metformin, intranasal insulin, and their combination on these parameters,  $M \pm SEM$

| Показатель                   | Группы      |              |               |               |                  |
|------------------------------|-------------|--------------|---------------|---------------|------------------|
|                              | К (n = 6)   | МС (n = 6)   | МС-М (n = 6)  | МС-И (n = 6)  | МС-МИ (n = 6)    |
| Масса тела, г                | 401 ± 7     | 461 ± 10*    | 429 ± 9       | 456 ± 12*     | 412 ± 10**, #    |
| Масса абдоминального жира, г | 6,9 ± 0,4   | 11,0 ± 0,7*  | 7,9 ± 0,7     | 9,3 ± 0,8*    | 7,0 ± 0,3**, #   |
| Триглицериды, мМ             | 2,15 ± 0,10 | 3,34 ± 0,15* | 2,53 ± 0,08** | 2,94 ± 0,09*  | 2,46 ± 0,12**, # |
| Общий холестерин, мМ         | 4,52 ± 0,09 | 5,66 ± 0,21* | 4,65 ± 0,19** | 4,75 ± 0,25** | 4,62 ± 0,11**    |
| Свободные жирные кислоты, мМ | 3,92 ± 0,24 | 4,75 ± 0,35  | 4,32 ± 0,19   | 4,05 ± 0,25   | 4,15 ± 0,26      |
| HbA1c, %                     | 4,53 ± 0,21 | 5,43 ± 0,16* | 4,75 ± 0,29   | 4,45 ± 0,06** | 4,33 ± 0,15**    |
| Глюкоза (0 мин), мМ          | 4,05 ± 0,15 | 4,75 ± 0,29  | 4,27 ± 0,17   | 4,37 ± 0,29   | 4,23 ± 0,20      |
| Глюкоза (120 мин), мМ        | 4,52 ± 0,17 | 5,73 ± 0,22* | 4,72 ± 0,18** | 4,88 ± 0,32   | 4,23 ± 0,12**    |
| $AUC_{0-120}$ , усл. ед.     | 1126 ± 70   | 1420 ± 37*   | 1225 ± 52     | 1249 ± 51     | 1063 ± 36**, #   |

*Примечание.* К — контроль; МС — метаболический синдром без лечения; МС-М — МС с 4-недельным лечением метформином; МС-И — МС с 4-недельным лечением интраназальным инсулином; МС-МИ — МС с совместным лечением метформином и интраназальным инсулином;  $AUC_{0-120}$  — площадь под кривой «концентрация глюкозы, ммоль/л — время, мин» (в условных единицах) в интраперитонеальном глюкозотолерантном тесте. Различия с контролем (\*) и группой МС (\*\*), а также между группами МС-М и МС-МИ (#) или между группами МС-И и МС-МИ (##) статистически значимы при  $p < 0,05$ .

*Note.* K, control; MC, untreated metabolic syndrome; MC-M, MC with 4-week metformin treatment; MC-I, MC with 4-week intranasal insulin treatment; MC-MI, MC with combined metformin and intranasal insulin treatment;  $AUC_{0-120}$ , area under the curve "glucose concentration, mmol/l — time, min" (in arbitrary units) in the intraperitoneal glucose tolerance test. Differences with the control (\*) and MC group (\*\*), as well as between the MC-M and MC-MI groups (#) or between the MC-I and MC-MI groups (##) are statistically significant at  $p < 0.05$ .

**Таблица 2.** Базовые и стимулированные глюкозой уровни лептина и инсулина в крови самцов крыс с «неонатальной» моделью метаболического синдрома и влияние на них лечения метформином и интраназальным инсулином и их комбинацией,  $M \pm SEM$

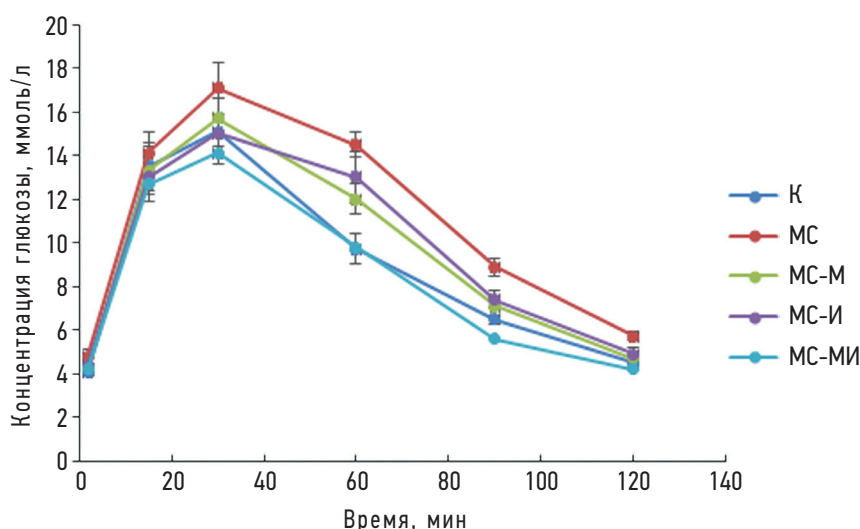
**Table 2.** Baseline and glucose-stimulated levels of leptin and insulin in the blood of male rats with the "neonatal" model of metabolic syndrome and the effects of treatment with metformin, intranasal insulin, and their combination on these parameters,  $M \pm SEM$

| Показатель                                  | Группы      |              |               |                 |               |
|---------------------------------------------|-------------|--------------|---------------|-----------------|---------------|
|                                             | К (n = 6)   | МС (n = 6)   | МС-М (n = 6)  | МС-И (n = 6)    | МС-МИ (n = 6) |
| Инсулин (0 мин), нг/мл                      | 0,51 ± 0,07 | 0,48 ± 0,07  | 0,58 ± 0,09   | 0,39 ± 0,06     | 0,53 ± 0,06   |
| Инсулин (120 мин), нг/мл                    | 0,70 ± 0,09 | 1,42 ± 0,18* | 0,82 ± 0,14** | 0,88 ± 0,12**   | 0,80 ± 0,10** |
| Лептин (0 мин), нг/мл                       | 1,14 ± 0,14 | 2,43 ± 0,21* | 1,51 ± 0,18** | 1,91 ± 0,23*    | 1,37 ± 0,18** |
| Лептин (120 мин), нг/мл                     | 1,50 ± 0,17 | 3,28 ± 0,29* | 1,99 ± 0,18** | 2,36 ± 0,20*,** | 1,74 ± 0,19** |
| Индекс инсулиновой резистентности, усл. ед. | 2,05 ± 0,29 | 2,38 ± 0,47  | 2,51 ± 0,43   | 1,70 ± 0,29     | 2,20 ± 0,18   |

*Примечание.* Представлены значения концентраций инсулина и лептина в крови до (0) и через 120 мин (120) после глюкозной нагрузки. Инсулиновая резистентность рассчитана как произведение базовых концентраций глюкозы и инсулина в крови. К — контроль; МС — метаболический синдром без лечения; МС-М — МС с 4-недельным лечением метформином; МС-И — МС с 4-недельным лечением интраназальным инсулином; МС-МИ — МС с совместным лечением метформином и интраназальным инсулином. Различия с группами К (\*) и МС (\*\*) статистически значимы при  $p < 0,05$ .

*Note.* Presented are the values of blood insulin and leptin concentrations before (0) and 120 minutes (120) after glucose load. Insulin resistance is calculated as the product of the baseline blood glucose and insulin concentrations. K, control; MC, untreated metabolic syndrome; MC-M, MC with 4-week metformin treatment; MC-I, MC with 4-week intranasal insulin treatment; MC-MI, MC with combined metformin and intranasal insulin treatment. Differences between the K (\*) and MC (\*\*) groups are statistically significant at  $p < 0.05$ .





**Рисунок.** Концентрация глюкозы в крови самцов крыс в течение 120 мин после нагрузки глюкозой в интраперитонеальном глюкозотолерантном тесте. К — контроль; MC — метаболический синдром без лечения; MC-M — MC с 4-недельным лечением метформином; MC-I — MC с 4-недельным лечением интраназальным инсулином; MC-MI — MC с совместным лечением метформином и интраназальным

**Figure.** Blood glucose concentration in male rats at 120 minutes after glucose load in the intraperitoneal glucose tolerance test. K, control; MC, untreated metabolic syndrome; MC-M, MC with 4-week metformin treatment; MC-I, MC with 4-week intranasal insulin treatment; MC-MI, MC with combined metformin and intranasal insulin treatment

**Таблица 3.** Число и диаметр панкреатических островков в поджелудочной железе крыс с «неонатальной» моделью метаболического синдрома и влияние на эти показатели лечения метформином и интраназальным инсулином и их комбинацией,  $M \pm SEM$

**Table 3.** Number and diameter of pancreatic islets in the pancreas of rats with the “neonatal” model of metabolic syndrome, and the effects of treatment with metformin, intranasal insulin, and their combination on these parameters,  $M \pm SEM$

| Группа            | Число островков* | Диаметр островков, мкм | Произведение числа островков на их диаметр, $\times 10^3$ |
|-------------------|------------------|------------------------|-----------------------------------------------------------|
| К ( $n = 6$ )     | $43 \pm 4$       | $182 \pm 9$            | $7,7 \pm 0,5$                                             |
| MC ( $n = 6$ )    | $27 \pm 5^{**}$  | $168 \pm 8$            | $4,3 \pm 0,6^{**}$                                        |
| MC-M ( $n = 6$ )  | $39 \pm 3$       | $194 \pm 9$            | $7,4 \pm 0,4^{\#}$                                        |
| MC-I ( $n = 6$ )  | $34 \pm 4$       | $185 \pm 20$           | $5,9 \pm 0,3^{**}$                                        |
| MC-MI ( $n = 6$ ) | $38 \pm 3$       | $197 \pm 9$            | $7,5 \pm 0,4^{\#}$                                        |

**Примечание.** К — контроль; MC — метаболический синдром без лечения; MC-M — MC с 4-недельным лечением метформином; MC-I — MC с 4-недельным лечением интраназальным инсулином; MC-MI — MC с совместным лечением метформином и интраназальным инсулином. \*Число островков рассчитано для одного из срезов с максимальной площадью поджелудочной железы. Различия с группами К (\*\*) и MC (#) статистически значимы при  $p < 0,05$ .

**Note.** K, control; MC, untreated metabolic syndrome; MC-M, MC with 4-week metformin treatment; MC-I, MC with 4-week intranasal insulin treatment; MC-MI, MC with combined metformin and intranasal insulin treatment. \*The number of islets is calculated for one of the sections with the maximum area of the pancreas. Differences between the K (\*\*) and MC (#) groups are statistically significant at  $p < 0.05$ .

Для выяснения возможных причин, обуславливающих отсутствие базовой гиперинсулинемии у крыс с MC, с помощью гистологического анализа была изучена морфология панкреатических островков. В группе MC было снижено общее число островков и на 42 % снижено произведение числа островков на их размер (диаметр), что позволяет оценить их общую площадь (табл. 3). Полученные данные указывают на снижение у крыс с «неонатальной» моделью MC числа инсулин-продуцирующих панкреатических клеток, что, как мы полагаем, является причиной близкого к норме базового уровня инсулина.

Далее изучали влияние четырехнедельной комбинированной терапии МФ (перорально, в дозе 120 мг/кг  $\times$  сут)

и ИИ (в дозе 1,2 МЕ/кг  $\times$  сут) на выявленные нами метаболические и гормональные нарушения у MC-крыс. Исследование проводили в сравнении с монотерапией теми же препаратами в тех же дозах. Монотерапия МФ нормализовала массу тела, показатели липидного обмена (уровни триглицеридов, холестерина и свободных жирных кислот), восстанавливала чувствительность к глюкозе, что иллюстрируется нормализацией уровня глюкозы в крови через 120 мин после глюкозной нагрузки и снижением значения  $AUC_{0-120}$  (табл. 1, рисунок). МФ также снижал повышенные при MC базовый и стимулированный глюкозой уровни лептина, что указывает на повышение чувствительности тканей к лептину (табл. 2). В группе MC-M

восстанавливались общее число и площадь панкреатических островков (табл. 3). При этом базовый уровень инсулина существенно не менялся, будучи близок его значениям в норме, а стимулированный глюкозой уровень инсулина (через 120 мин после глюкозной нагрузки) не отличался от такового в контрольной группе (табл. 2). Монотерапия ИИ существенного влияния на оцениваемые метаболические и гормональные показатели не оказывала (табл. 1–3). Так, в группе МС-И масса тела и жировой ткани, уровень триглицеридов и уровни лептина значимо отличались от их значений в контроле. Исключение составили содержание общего холестерина, гликированного гемоглобина, а также уровень инсулина через 120 мин после нагрузки, которые при лечении ИИ значимо снижались в сравнении с необработанными МС-крысами и не отличались от контроля (табл. 1, 2). В группе МС-И было также показано частичное восстановление числа панкреатических островков, но их общая площадь, хотя и повысилась на 37 % в сравнении с группой МС, но оставалась ниже таковой в контроле (табл. 3).

Совместное применение МФ и ИИ по влиянию на ряд показателей демонстрировало более выраженный восстанавливающий эффект, чем монотерапия МФ. Группа крыс МС-МИ ни по одному из оцениваемых показателей значимо не отличалась от группы К (табл. 1–3). Так, в отличие от монотерапии МФ, в группе МС-МИ значимо снижались масса тела и абдоминального жира, содержание гликированного гемоглобина и значение  $AUC_{0-120}$  для глюкозной кривой в ИГТТ. Более того, значение  $AUC_{0-120}$  в группе МС-МИ было значимо ниже, чем в группе МС-М, что свидетельствует о более выраженном восстанавливающем потенциале комбинированной терапии в отношении толерантности к глюкозе. В отношении восстановления площади панкреатических островков комбинированная терапия и монотерапия МФ были сопоставимы.

## ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Нами показано, что в возрасте 6–7 мес. у самцов крыс, которые в раннем возрасте (P19–P21) были подвергнуты трехдневному прерыванию грудного вскармливания, возникали отчетливо выраженные признаки МС, в том числе повышалась масса тела и жировой ткани, нарушались толерантность к глюкозе и ответы инсулина и лептина на глюкозную нагрузку, повышались уровни триглицеридов и общего холестерина, снижались число инсулин-продуцирующих  $\beta$ -клеток и общая площадь панкреатических островков. Эти изменения в целом согласуются с метаболическими и гормональными нарушениями, которые ранее были выявлены нами и другими авторами у взрослых крыс с прерыванием грудного вскармливания [1–4, 14, 15]. При этом подобные нарушения начинают выявляться уже у трехмесячных животных [2] и в дальнейшем усугубляются, будучи наиболее выраженными в возрасте 6–10 мес. [1, 3, 4].

Одним из подходов для коррекции этих нарушений при «неонатальном» МС является курсовое применение МФ, который характеризуется высокой эффективностью при метаболических расстройствах — СД2 и МС, сопровождающихся ожирением, дислипидемией и нарушенной чувствительностью к инсулину и лептину [5, 7, 16]. Ранее нами было показано, что четырехнедельное лечение МФ 9-месячных самцов крыс с МС, индуцированным нарушением грудного вскармливания, приводило к восстановлению у них ряда метаболических и гормональных показателей [3]. При этом высокая суточная доза МФ (250 мг/кг) была наиболее эффективной в отношении снижения массы тела и восстановления метаболических показателей, нормализуя липидный статус и уровень лептина, в то время как сравнительно низкая доза (125 мг/кг  $\times$  сут) положительно влияла на показатели тиреоидной и гонадной осей, но была менее эффективна в отношении нормализации массы тела и метаболических показателей [3]. В этой связи необходимо учитывать, что длительная терапия высокими дозами МФ может приводить к ряду нежелательных эффектов, таким как дисфункции желудочно-кишечного тракта, включая изменения в нем микробиома, и лактоацидоз [8, 9, 17]. В связи с этим большие надежды связывают с разработкой подходов для потенцирования восстанавливающего эффекта МФ без повышения его дозы, что возможно при использовании комбинированной терапии.

Ранее мы показали, что ИИ эффективен при ряде метаболических расстройств [18], в том числе при МС, вызванном ограничением грудного вскармливания [4], для которых характерны функциональные нарушения в инсулиновой сигнальной системе мозга. Одна из причин этих нарушений — усиление активности негативных регуляторов инсулинового сигналинга в нейронах и глиальных клетках, что ведет к центральной инсулиновой резистентности [19–21]. Другая причина состоит в ослаблении транспорта инсулина через гематоэнцефалический барьер, что снижает эффективность его доставки в мозг из кровотока и обусловлено нарушениями работы инсулин-транспортного механизма и структурной организации гематоэнцефалического барьера [18, 19, 22]. Введение инсулина непосредственно в мозг интраназально нормализует инсулиновый сигналинг в ЦНС и тем самым обеспечивает нормальную регуляцию зависимых от него физиологических процессов. Однако, согласно нашим данным, у крыс с нарушением грудного вскармливания ИИ был эффективен только в раннем возрасте, предотвращая развитие метаболических нарушений во взрослом возрасте, но был малоэффективным при коррекции уже развившегося «неонатального» МС у взрослых животных [4]. Низкая эффективность монотерапии ИИ у взрослых животных с «неонатальным» МС была подтверждена и в настоящем исследовании.

Изученная нами комбинированная терапия МФ и ИИ по ряду показателей превосходила монотерапию МФ,

на что указывают следующие данные. Комбинированная терапия приводила к восстановлению всего спектра оцениваемых нами метаболических и гормональных показателей, которые менялись в условиях «неонатального» МС. Эти показатели не только значимо отличались от таковых у МС-крыс, но при этом не отличались от таковых в контрольной группе. Значение  $AUC_{0-120}$ , иллюстрирующее толерантность к глюкозе, в группе с комбинированным лечением было значимо ниже, чем в группе с монотерапией МФ, что указывает на более высокую эффективность восстанавливающего влияния комбинации МФ и ИИ на глюкозный гомеостаз в сравнении с МФ-терапией. В пользу этого свидетельствует и более выраженное снижение в группе МС-МИ содержания гликированного гемоглобина. Кроме того, в отличие от монотерапии МФ комбинированная терапия приводила к значимому снижению массы тела и абдоминального жира, что, как мы полагаем, обусловлено анорексигенным влиянием ИИ.

Ранее нами были получены данные об эффективности совместного применения МФ и ИИ при лечении самцов крыс с СД2, индуцированным высокожировой диетой и низкой дозой стрептозотоцина [10]. Однако СД2 существенно отличается от «неонатального» МС как по патогенезу, так и по характеру и степени выраженности метаболических и гормональных нарушений. Имеются работы по изучению эффективности совместного применения МФ и ИИ для лечения самок крыс с моделью МС, вызываемой длительным введением им оральных контрацептивов — этинилэстрадиола и левоноргестрела [11], а также самцов крыс с инсулиновой резистентностью и гипергликемией, индуцированными дексаметазоном, хотя эта модель метаболических расстройств по этиологии и патогенезу имеет мало общего с МС и не сопровождается ожирением [12]. Лечение МС, индуцированного обработкой контрацептивами, проводимое в течение недели с помощью средней дозы МФ (150 мг/кг × сут) и достаточно высокой дозы ИИ (2 МЕ/крыса × сут), снижало уровни глюкозы и гликированного гемоглобина, нормализовало уровни липидов, активность каталазы, маркера окислительного стресса и экспрессию фактора некроза опухолей- $\alpha$ , маркера воспаления. В совокупности эти и полученные нами данные свидетельствуют о перспективах совместного применения МФ и ИИ для лечения различных по этиологии и патогенезу форм МС и СД2, в том числе для лечения МС, в генезисе которого определяющую роль играют нарушения пищевого поведения в раннем онтогенезе.

Вызываемое ИИ потенцирование восстанавливающего влияния МФ на метаболические и гормональные нарушения обусловлено взаимодополняемостью эффектов и мишеней МФ и ИИ. МФ легко проникает в ткани мозга через гематоэнцефалический барьер и улучшает

метаболические процессы как в мозге (воздействуя на нейроны), так и на периферии (через центральные механизмы). Этим во многом обусловлено его восстанавливающее влияние на нарушенный при МС и СД2 углеводный и липидный обмен, а также на функции нервной системы не только в экспериментальных условиях, но и в клинике [23–26]. Основными механизмами действия МФ в мозге являются активация АМФ-активируемой протеинкиназы, ключевого энергетического сенсора клеток [27], а также нормализация продукции активных форм кислорода и активности провоспалительных и апоптотических факторов, повышенных при СД2, МС и ассоциированных с ними нейродегенеративных заболеваниях [28–30].

Имеются данные, что восстанавливающее метаболизм антиоксидантное и противовоспалительное действие МФ приводит к повышению чувствительности тканей к инсулину и лептину не только на периферии, но и в мозге [31–33]. Вследствие этого стимулирующее влияние ИИ на инсулиновую систему мозга в условиях обработки МФ усиливается, и это обуславливает более выраженный эффект ИИ в условиях комбинированной терапии на выживаемость и функциональную активность нейронов, а также на периферический метаболизм. Это, в свою очередь, способствует более эффективному воздействию МФ на ткани-мишени, включая мозг. Здесь воспроизводится механизм потенцирующего влияния инсулина на лептиновые сигнальные пути в ЦНС, и наоборот, лептина на инсулиновый сигналинг [34–36], впервые продемонстрированный еще двадцать лет назад [37, 38]. В этой связи необходимо отметить, что ряд авторов предлагают использовать совместное введение лептина и инсулина у пациентов с формами диабета и другими метаболическими расстройствами, которые характеризуются сниженным уровнем лептина [36, 39].

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, впервые показано, что у взрослых самцов крыс с нарушением грудного вскармливания развиваются характерные для МС метаболические и гормональные нарушения, а также снижается площадь панкреатических островков. Их длительное лечение с помощью МФ и его комбинации с ИИ частично или полностью восстанавливает эти показатели, причем комбинированная терапия по эффективности восстановления ряда показателей (масса тела и жировой ткани, уровень гликированного гемоглобина, толерантность к глюкозе, оцениваемая в ИГТТ) превосходит монотерапию МФ. Это свидетельствует в пользу перспективности применения комбинации МФ и ИИ для нормализации метаболических и гормональных нарушений при МС, развившихся вследствие дефицита грудного вскармливания в раннем онтогенезе.



## ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

**Благодарности.** Определение гормонов с помощью иммуноферментного анализа выполнено с использованием оборудования Центра коллективного пользования ФГБУН «Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова» РАН.

**Вклад авторов.** Все авторы внесли существенный вклад в разработку концепции и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию перед публикацией. Личный вклад каждого автора: К.В. Деркач, А.О. Иванцов, Н.Е. Басова — получение и анализ данных, написание статьи; А.О. Шпаков — разработка общей концепции.

**Источник финансирования.** Работа поддержана Минобрнауки России, соглашение № 075-15-2022-296, на создание и развитие научного центра мирового уровня НЦМУ Павловский центр «Интегративная физиология — медицине, высокотехнологичному здравоохранению и технологиям стрессоустойчивости».

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

**Этический комитет.** Протокол исследования был одобрен локальным этическим комитетом ФГБУН «Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова» РАН (протокол № 2-3/2023 от 28.02.2023).

## ADDITIONAL INFO

**Acknowledgements.** Determination of hormones using enzyme immunoassay was performed using the equipment of the Shared Use Center of the Sechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry of the Russian Academy of Sciences.

**Authors' contributions.** All authors made significant contributions to the conception and preparation of the article, and read and approved the final version before publication. Personal contribution of each author: K.V. Derkach, A.O. Ivantsov, N.E. Basova — receiving and data analysis, article writing; A.O. Shpakov — development of the general concept.

**Funding source.** The work was supported by the Ministry of Education and Science of the Russian Federation, agreement No. 075-15-2022-296, for the creation and development of a world-class scientific center Pavlovsk Center "Integrative physiology — medicine, high-tech healthcare and stress resistance technologies".

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

**Ethics approval.** The study protocol was approved by the local ethics committee of the Sechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry of the Russian Academy of Sciences (protocol No. 2-3/2023 dated 28 Feb 2023).

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. De Silva Lima N., de Moura E.G., Fonseca Passos M.C., et al. Early weaning causes undernutrition for a short period and programmes some metabolic syndrome components and leptin resistance in adult rat offspring // *Br J Nutr.* 2011. Vol. 105, N 9. P. 1405–1413. doi: 10.1017/S0007114510005064
2. Francisco F.A., Barella L.F., de Silva Silveira S., et al. Methylglyoxal treatment in lactating mothers leads to type 2 diabetes phenotype in male rat offspring at adulthood // *Eur J Nutr.* 2018. Vol. 57, N 2. P. 477–486. doi: 10.1007/s00394-016-1330-x
3. Derkach K.V., Bondareva V.M., Sharova T.S., Shpakov A.O. Efficacy of various metformin doses for the restoration of metabolic indices and hormonal status in early weaned male rats // *J Evol Biochem Physiol.* 2022. Vol. 58, N 4. P. 1251–1261. doi: 10.1134/S0022093022040275
4. Деркач К.В., Бондарева В.М., Шпаков А.О. Влияние интраназально вводимого инсулина на метаболические и гормональные показатели у взрослых самцов крыс, нарушенные вследствие трехдневного голодания в раннем постнатальном периоде // *Биомедицинская химия.* 2022. Т. 68, № 4. С. 263–271. EDN: SSXUSF doi: 10.18097/PBMC20226804263
5. Guo Z., Priefer R. Current progress in pharmacogenomics of type 2 diabetes: A systemic overview // *Diabetes Metab Syndr.* 2021. Vol. 15, N 5. ID 102239. doi: 10.1016/j.dsx.2021.102239
6. Cwynar-Zajac Ł. Metformin — a new approach // *Pediatr Endocrinol Diabetes Metab.* 2021. Vol. 27, N 2. P. 134–140. doi: 10.5114/pedim.2021.107166
7. Kononova Y.A., Likhonosov N.P., Babenko A.Y. Metformin: expanding the scope of application—starting earlier than yesterday, canceling later // *Int J Mol Sci.* 2022. Vol. 23, N 4. ID 2363. doi: 10.3390/ijms23042363
8. Kanto K., Ito H., Noso S., et al. Effects of dosage and dosing frequency on the efficacy and safety of high-dose metformin in Japanese patients with type 2 diabetes mellitus // *J Diabetes Investig.* 2017. Vol. 9, N 3. P. 587–593. doi: 10.1111/jdi.12755
9. DeFronzo R., Fleming G.A., Chen K., Bicsak T.A. Metformin-associated lactic acidosis: Current perspectives on causes and risk // *Metabolism.* 2016. Vol. 65, N 2. P. 20–29. doi: 10.1016/j.metabol.2015.10.014
10. Деркач К.В., Бондарева В.М., Басова Н.Е., и др. Совместное применение метформина и интраназального инсулина нормализует чувствительность к глюкозе и гормональный статус у крыс с диабетом 2 типа // *Интегративная физиология.* 2021. Т. 2, № 4. С. 399–411. EDN: ZFDWAJ doi: 10.33910/2687-1270-2021-2-4-399-411
11. Afolabi S.O., Folahan J., Agedo O., Olorundare O. combined intranasal insulin/saxagliptin/metformin therapies ameliorate the effect of combined oral contraceptive- (COC-) induced metabolic syndrome (MetS) with a major target on glucose metabolism in adult female wistar rats // *Int J Reprod Med.* 2021. Vol. 2021. ID 9693171. doi: 10.1155/2021/9693171
12. Oche J., Olorundare O., Afolabi S., et al. Comparative therapeutic effect of single/combined administration of saxagliptin, metformin and intranasal insulin on dexamethasone induced insulin resistance in albino wistar rat model // *Niger J Physiol Sci.* 2023. Vol. 38, N 1. P. 37–46. doi: 10.54548/njps.v38i1.7
13. Derkach K.V., Bogush I.V., Berstein L.M., Shpakov A.O. The influence of intranasal insulin on hypothalamic-pituitary-thyroid axis in normal and diabetic rats // *Horm Metab Res.* 2015. Vol. 47, N 12. P. 916–924. doi: 10.1055/s-0035-1547236

14. da Lima N.S., Franco J.G., Peixoto-Silva N., et al. Ilex paraguayensis (yerba mate) improves endocrine and metabolic disorders in obese rats primed by early weaning // *Eur J Nutr.* 2014. Vol. 53, N 1. P. 73–82. doi: 10.1007/s00394-013-0500-3
15. Pietrobon C.B., Miranda R.A., Bertasso I.M., et al., Early weaning induces short- and long-term effects on pancreatic islets in Wistar rats of both sexes // *J Physiol.* 2020. Vol. 598, N 3. P. 489–502. doi: 10.1113/JP278833
16. Tulipano G. Integrated or independent actions of metformin in target tissues underlying its current use and new possible applications in the endocrine and metabolic disorder area // *Int J Mol Sci.* 2021. Vol. 22, N 23. ID 13068. doi: 10.3390/ijms222313068
17. Nabrdalik K., Skonieczna-Żydecka K., Irlík K., et al. Gastrointestinal adverse events of metformin treatment in patients with type 2 diabetes mellitus: A systematic review, meta-analysis and meta-regression of randomized controlled trials // *Front Endocrinol (Lausanne).* 2022. Vol. 13. ID 975912. doi: 10.3389/fendo.2022.975912
18. Shpakov A.O., Zorina I.I., Derkach K.V. Hot spots for the use of intranasal insulin: cerebral ischemia, brain injury, diabetes mellitus, endocrine disorders and postoperative delirium // *Int J Mol Sci.* 2023. Vol. 24, N 4. ID 3278. doi: 10.3390/ijms24043278
19. Blázquez E., Velázquez E., Hurtado-Carneiro V., Ruiz-Albusac J.M. Insulin in the brain: its pathophysiological implications for States related with central insulin resistance, type 2 diabetes and Alzheimer's disease // *Front Endocrinol (Lausanne).* 2014. Vol. 5. ID 161. doi: 10.3389/fendo.2014.00161
20. Mei M., Liu M., Mei Y., et al. Sphingolipid metabolism in brain in insulin resistance and neurological diseases // *Front Endocrinol (Lausanne).* 2023. Vol. 14. ID 1243132. doi: 10.3389/fendo.2023.1243132
21. Sharma M., Yadav Y., Dey C.S. Neuronal insulin signaling and resistance: a balancing act of kinases and phosphatases // *J Endocrinol.* 2023. Vol. 260, N 1. ID e230151. doi: 10.1530/JOE-23-0151
22. Bogush M., Heldt N.A., Persidsky Y. Blood brain barrier injury in diabetes: unrecognized effects on brain and cognition // *J Neuroimmune Pharmacol.* 2017. Vol. 12, N 4. P. 593–601. doi: 10.1007/s11481-017-9752-7
23. Rotermund C., Machetanz G., Fitzgerald J.C. The therapeutic potential of metformin in neurodegenerative diseases // *Front Endocrinol (Lausanne).* 2018. Vol. 9. ID 400. doi: 10.3389/fendo.2018.00400
24. Madhu L.N., Kodali M., Shetty A.K. Promise of metformin for preventing age-related cognitive dysfunction // *Neural Regen Res.* 2022. Vol. 17, N 3. P. 503–507. doi: 10.4103/1673-5374.320971
25. Abosharaf H.A., Elsonbaty Y., Tousson E., Mohamed T. Alzheimer's disease-related brain insulin resistance and the prospective therapeutic impact of metformin // *J Neuroendocrinol.* 2024. Vol. 36, N 1. ID e13356. doi: 10.1111/jne.13356
26. Slouha E., Ibrahim F., Rezazadah A., et al. Anti-diabetics and the prevention of dementia: A systematic review // *Cureus.* 2023. Vol. 15, N 11. ID e49515. doi: 10.7759/cureus.49515
27. Kaneto H., Kimura T., Obata A., et al. Multifaceted mechanisms of action of metformin which have been unraveled one after another in the long history // *Int J Mol Sci.* 2021. Vol. 22, N 5. ID 2596. doi: 10.3390/ijms22052596
28. Ismaiel A.A.K., Espinosa-Oliva A.M., Santiago M., et al. Metformin, besides exhibiting strong in vivo anti-inflammatory properties, increases MPTP-induced damage to the nigrostriatal dopaminergic system // *Toxicol Appl Pharmacol.* 2016. Vol. 298. P. 19–30. doi: 10.1016/j.taap.2016.03.004
29. Oliveira W.H., Nunes A.K., Rocha França M.E., et al. Effects of metformin on inflammation and short-term memory in streptozotocin-induced diabetic mice // *Brain Res.* 2016. Vol. 1644. P. 149–160. doi: 10.1016/j.brainres.2016.05.013
30. Ponce-Lopez T., González Álvarez Tostado J.A., Dias F., Montiel Maltez K.H. metformin prevents NDEA-induced memory impairments associated with attenuating beta-amyloid, tumor necrosis factor-alpha, and interleukin-6 levels in the hippocampus of rats // *Biomolecules.* 2023. Vol. 13, N 9. ID 1289. doi: 10.3390/biom13091289
31. Dlodla P.V., Nyambuya T.M., Johnson R., et al. Metformin and heart failure-related outcomes in patients with or without diabetes: a systematic review of randomized controlled trials // *Heart Fail Rev.* 2021. Vol. 26, N 6. P. 1437–1445. doi: 10.1007/s10741-020-09942-y
32. Ning P., Luo A., Mu X., et al. Exploring the dual character of metformin in Alzheimer's disease // *Neuropharmacology.* 2022. Vol. 207. ID 108966. doi: 10.1016/j.neuropharm.2022.108966
33. Alshahrani A., Aljada A., Masood A., et al. Proteomic profiling identifies distinct regulation of proteins in obese diabetic patients treated with metformin // *Pharmaceuticals (Basel).* 2023. Vol. 16, N 10. ID 1345. doi: 10.3390/ph16101345
34. Frank-Podlech S., von Schnurbein J., Veit R., et al. Leptin replacement reestablishes brain insulin action in the hypothalamus in congenital leptin deficiency // *Diabetes Care.* 2018. Vol. 41, N 4. P. 907–910. doi: 10.2337/dc17-1867
35. Hallschmid M. Intranasal insulin // *J Neuroendocrinol.* 2021. Vol. 33, N 4. ID e12934. doi: 10.1111/jne.12934
36. Pereira S., Cline D.L., Glavas M.M., et al. Tissue-specific effects of leptin on glucose and lipid metabolism // *Endocr Rev.* 2021. Vol. 42, N 1. P. 1–28. doi: 10.1210/endrev/bnaa027
37. Air E.L., Benoit S.C., Clegg D.J., et al. Insulin and leptin combine additively to reduce food intake and body weight in rats // *Endocrinology.* 2002. Vol. 143, N 6. P. 2449–2452. doi: 10.1210/endo.143.6.8948
38. Burcelin R., Thorens B., Glauser M., et al. Gonadotropin-releasing hormone secretion from hypothalamic neurons: stimulation by insulin and potentiation by leptin // *Endocrinology.* 2003. Vol. 144, N 10. P. 4484–4491. doi: 10.1210/en.2003-0457
39. Paz-Filho G., Esposito K., Hurwitz B., et al. Changes in insulin sensitivity during leptin replacement therapy in leptin-deficient patients // *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2008. Vol. 295, N 6. P. E1401–E1408. doi: 10.1152/ajpendo.90450.2008

## REFERENCES

1. de Silva Lima N, de Moura EG, Fonseca Passos MC, et al. Early weaning causes undernutrition for a short period and programmes some metabolic syndrome components and leptin resistance in adult rat offspring. *Br J Nutr.* 2011;105(9):1405–1413. doi: 10.1017/S0007114510005064
2. Francisco FA, Barella LF, de Silva Silveira S, et al. Methylglyoxal treatment in lactating mothers leads to type 2 diabetes phenotype in male rat offspring at adulthood. *Eur J Nutr.* 2018;57(2):477–486. doi: 10.1007/s00394-016-1330-x

3. Derkach KV, Bondareva VM, Sharova TS, Shpakov AO. Efficacy of various metformin doses for the restoration of metabolic indices and hormonal status in early weaned male rats. *J Evol Biochem Physiol.* 2022;58(4):1251–1261. doi: 10.1134/S0022093022040275
4. Derkach KV, Bondareva VM, Shpakov AO. Influence of intranasally administered insulin on metabolic and hormonal parameters in adult male rats, impaired due to three-day fasting in the early postnatal period. *Biomeditsinskaya khimiya.* 2022;68(4):263–271. EDN: SSXUSF doi: 10.18097/PBMC20226804263
5. Guo Z, Priefer R. Current progress in pharmacogenomics of type 2 diabetes: A systemic overview. *Diabetes Metab Syndr.* 2021;15(5):102239. doi: 10.1016/j.dsx.2021.102239
6. Cwynar-Zajac Ł. Metformin — a new approach. *Pediatr Endocrinol Diabetes Metab.* 2021;27(2):134–140. doi: 10.5114/pedm.2021.107166
7. Kononova YA, Likhonosov NP, Babenko AY. Metformin: expanding the scope of application—starting earlier than yesterday, canceling later. *Int J Mol Sci.* 2022;23(4):2363. doi: 10.3390/ijms23042363
8. Kanto K, Ito H, Noso S, et al. Effects of dosage and dosing frequency on the efficacy and safety of high-dose metformin in Japanese patients with type 2 diabetes mellitus. *J Diabetes Investig.* 2017;9(3):587–593. doi: 10.1111/jdi.12755
9. DeFronzo R, Fleming GA, Chen K, Bicsak TA. Metformin-associated lactic acidosis: Current perspectives on causes and risk. *Metabolism.* 2016;65(2):20–29. doi: 10.1016/j.metabol.2015.10.014
10. Derkach KV, Bondareva VM, Basova NE, et al. Combined use of metformin and intranasal insulin normalise glucose sensitivity and hormonal status in rats with type 2 diabetes. *Integrative Physiology.* 2021;2(4):399–411. EDN: ZFDWAJ doi: 10.33910/2687-1270-2021-2-4-399-411
11. Afolabi SO, Folahan J, Agede O, Olorundare O. combined intranasal insulin/saxagliptin/metformin therapies ameliorate the effect of combined oral contraceptive- (COC-) induced metabolic syndrome (MetS) with a major target on glucose metabolism in adult female wistar rats. *Int J Reprod Med.* 2021;2021:9693171. doi: 10.1155/2021/9693171
12. Oche J, Olorundare O, Afolabi S, et al. Comparative therapeutic effect of single/combined administration of saxagliptin, metformin and intranasal insulin on dexamethasone induced insulin resistance in albino wistar rat model. *Niger J Physiol Sci.* 2023;38(1):37–46. doi: 10.54548/njps.v38i1.7
13. Derkach KV, Bogush IV, Berstein LM, Shpakov AO. The influence of intranasal insulin on hypothalamic-pituitary-thyroid axis in normal and diabetic rats. *Horm Metab Res.* 2015;47(12):916–924. doi: 10.1055/s-0035-1547236
14. da Lima NS, Franco JG, Peixoto-Silva N, et al. Ilex paraguariensis (yerba mate) improves endocrine and metabolic disorders in obese rats primed by early weaning. *Eur J Nutr.* 2014;53(1):73–82. doi: 10.1007/s00394-013-0500-3
15. Pietrobon CB, Miranda RA, Bertasso IM, et al. Early weaning induces short- and long-term effects on pancreatic islets in Wistar rats of both sexes. *J Physiol.* 2020;598(3):489–502. doi: 10.1113/JP278833
16. Tulipano G. Integrated or independent actions of metformin in target tissues underlying its current use and new possible applications in the endocrine and metabolic disorder area. *Int J Mol Sci.* 2021;22(23):13068. doi: 10.3390/ijms222313068
17. Nabrdalik K, Skonieczna-Żydecka K, Irlík K, et al. Gastrointestinal adverse events of metformin treatment in patients with type 2 diabetes mellitus: A systematic review, meta-analysis and meta-regression of randomized controlled trials. *Front Endocrinol (Lausanne).* 2022;13:975912. doi: 10.3389/fendo.2022.975912
18. Shpakov AO, Zorina II, Derkach KV. Hot spots for the use of intranasal insulin: cerebral ischemia, brain injury, diabetes mellitus, endocrine disorders and postoperative delirium. *Int J Mol Sci.* 2023;24(4):3278. doi: 10.3390/ijms24043278
19. Blázquez E, Velázquez E, Hurtado-Carneiro V, Ruiz-Albusac JM. Insulin in the brain: its pathophysiological implications for States related with central insulin resistance, type 2 diabetes and Alzheimer's disease. *Front Endocrinol (Lausanne).* 2014;5:161. doi: 10.3389/fendo.2014.00161
20. Mei M, Liu M, Mei Y, et al. Sphingolipid metabolism in brain insulin resistance and neurological diseases. *Front Endocrinol (Lausanne).* 2023;14:1243132. doi: 10.3389/fendo.2023.1243132
21. Sharma M, Yadav Y, Dey CS. Neuronal insulin signaling and resistance: a balancing act of kinases and phosphatases. *J Endocrinol.* 2023;260(1):e230151. doi: 10.1530/JOE-23-0151
22. Bogush M, Heldt NA, Persidsky Y. Blood brain barrier injury in diabetes: unrecognized effects on brain and cognition. *J Neuroimmune Pharmacol.* 2017;12(4):593–601. doi: 10.1007/s11481-017-9752-7
23. Rothermund C, Machetanz G, Fitzgerald JC. The therapeutic potential of metformin in neurodegenerative diseases. *Front Endocrinol (Lausanne).* 2018;9:400. doi: 10.3389/fendo.2018.00400
24. Madhu LN, Kodali M, Shetty AK. Promise of metformin for preventing age-related cognitive dysfunction. *Neural Regen Res.* 2022;17(3):503–507. doi: 10.4103/1673-5374.320971
25. Abosharaf HA, Elsonbaty Y, Tousson E, Mohamed T. Alzheimer's disease-related brain insulin resistance and the prospective therapeutic impact of metformin. *J Neuroendocrinol.* 2024;36(1):e13356. doi: 10.1111/jne.13356
26. Slouha E, Ibrahim F, Rezazadah A, et al. Anti-diabetics and the prevention of dementia: A systematic review. *Cureus.* 2023;15(11):e49515. doi: 10.7759/cureus.49515
27. Kaneto H, Kimura T, Obata A, et al. Multifaceted mechanisms of action of metformin which have been unraveled one after another in the long history. *Int J Mol Sci.* 2021;22(5):2596. doi: 10.3390/ijms22052596
28. Ismaiel AAK, Espinosa-Oliva AM, Santiago M, et al. Metformin, besides exhibiting strong in vivo anti-inflammatory properties, increases MPTP-induced damage to the nigrostriatal dopaminergic system. *Toxicol Appl Pharmacol.* 2016;298:19–30. doi: 10.1016/j.taap.2016.03.004
29. Oliveira WH, Nunes AK, Rocha França ME, et al. Effects of metformin on inflammation and short-term memory in streptozotocin-induced diabetic mice. *Brain Res.* 2016;1644:149–160. doi: 10.1016/j.brainres.2016.05.013
30. Ponce-Lopez T, González Álvarez Tostado JA, Dias F, Montiel Maltez KH. metformin prevents NDEA-induced memory impairments associated with attenuating beta-amyloid, tumor necrosis factor-alpha, and interleukin-6 levels in the hippocampus of rats. *Biomolecules.* 2023;13(9):1289. doi: 10.3390/biom13091289
31. Dludla PV, Nyambuya TM, Johnson R, et al. Metformin and heart failure-related outcomes in patients with or without diabetes: a systematic review of randomized controlled trials. *Heart Fail Rev.* 2021;26(6):1437–1445. doi: 10.1007/s10741-020-09942-y
32. Ning P, Luo A, Mu X, et al. Exploring the dual character of metformin in Alzheimer's disease. *Neuropharmacology.* 2022;207:108966. doi: 10.1016/j.neuropharm.2022.108966

33. Alshahrani A, Aljada A, Masood A, et al. Proteomic profiling identifies distinct regulation of proteins in obese diabetic patients treated with metformin. *Pharmaceuticals (Basel)*. 2023;16(10):1345. doi: 10.3390/ph16101345
34. Frank-Podlech S, von Schnurbein J, Veit R, et al. Leptin replacement reestablishes brain insulin action in the hypothalamus in congenital leptin deficiency. *Diabetes Care*. 2018;41(4):907–910. doi: 10.2337/dc17-1867
35. Hallschmid M. Intranasal insulin. *J Neuroendocrinol*. 2021;33(4):e12934. doi: 10.1111/jne.12934
36. Pereira S, Cline DL, Glavas MM, et al. Tissue-specific effects of leptin on glucose and lipid metabolism. *Endocr Rev*. 2021;42(1):1–28. doi: 10.1210/edrv/bnaa027
37. Air EL, Benoit SC, Clegg DJ, et al. Insulin and leptin combine additively to reduce food intake and body weight in rats. *Endocrinology*. 2002;143(6):2449–2452. doi: 10.1210/endo.143.6.8948
38. Burcelin R, Thorens B, Glauser M, et al. Gonadotropin-releasing hormone secretion from hypothalamic neurons: stimulation by insulin and potentiation by leptin. *Endocrinology*. 2003;144(10):4484–4491. doi: 10.1210/en.2003-0457
39. Paz-Filho G, Esposito K, Hurwitz B, et al. Changes in insulin sensitivity during leptin replacement therapy in leptin-deficient patients. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2008;295(6):E1401–E1408. doi: 10.1152/ajpendo.90450.2008

## ОБ АВТОРАХ

**\*Кира Викторовна Деркач**, канд. биол. наук;  
адрес: Россия, 194223, Санкт-Петербург, пр. Тореца, д. 44;  
ORCID: 0000-0001-6555-9540; eLibrary SPIN: 6925-1558;  
e-mail: derkach\_k@list.ru

**Александр Олегович Иванцов**, д-р мед. наук, профессор;  
ORCID: 0000-0001-6279-2312; eLibrary SPIN: 8347-0332;  
e-mail: shurikiv@mail.ru

**Наталья Евгеньевна Басова**, канд. биол. наук;  
ORCID: 0000-0002-7316-2882; eLibrary SPIN: 7047-8940;  
e-mail: basovnat@mail.ru

**Александр Олегович Шпак**, д-р биол. наук;  
ORCID: 0000-0002-4293-3162; eLibrary SPIN: 6335-8311;  
e-mail: alex\_shpakov@list.ru

## AUTHORS' INFO

**\*Kira V. Derkach**, Cand. Sci. (Biology);  
address: 44 Thoreza av., Saint Petersburg, 194223, Russia;  
ORCID: 0000-0001-6555-9540; eLibrary SPIN: 6925-1558;  
e-mail: derkach\_k@list.ru

**Alexandr O. Ivantsov**, Dr. Sci. (Medicine), Professor;  
ORCID: 0000-0001-6279-2312; eLibrary SPIN: 8347-0332;  
e-mail: shurikiv@mail.ru

**Natalia E. Basova**, Cand. Sci. (Biology);  
ORCID: 0000-0002-7316-2882; eLibrary SPIN: 7047-8940;  
e-mail: basovnat@mail.ru

**Alexander O. Shpakov**, Dr. Sci. (Biology);  
ORCID: 0000-0002-4293-3162; eLibrary SPIN: 6335-8311;  
e-mail: alex\_shpakov@list.ru

\* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author