

ЭФФЕКТИВНОСТЬ КУРСОВОГО ПРИМЕНЕНИЯ МЕТФОРМИНА В КОМБИНАЦИИ С ИНТРАНАЗАЛЬНО ВВОДИМЫМ ИНСУЛИНОМ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ КРЫС С ОЖИРЕНИЕМ, ВЫЗВАННЫМ «КАФЕТЕРИЙ-ДИЕТОЙ»

© 2024 г. К. В. Деркач¹*, И. И. Зорина¹, А. О. Шпаков^{1,2}

¹Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН,
Санкт-Петербург, Россия

²Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия

* E-mail: derkach_k@list.ru

Поступила в редакцию 28.01.2024 г.

После доработки 22.02.2024 г.

Принята к публикации 12.03.2024 г.

«Кафетерий-диета», включающая избыток насыщенных жиров и легкоусваиваемых углеводов, приводит к ожирению и является фактором риска для развития сахарного диабета 2-го типа. Для коррекции диета-индуцированного ожирения (ДИО) часто используют метформин (МФ), но у части пациентов он вызывает серьезные побочные эффекты, что требует снижения его доз, в том числе путем совместного применения с препаратами, потенцирующими эффекты МФ. Кандидатом на роль таких препаратов является интраназально вводимый инсулин (ИВИ), который и сам обладает восстанавливающим потенциалом при лечении метаболических расстройств. Целью работы было изучить эффективность совместного трехнедельного применения МФ (100 мг/кг/сутки, перорально) с ИВИ в двух дозах (1.5 и 6.0 МЕ/кг/сутки) для коррекции метаболических и гормональных нарушений у самцов крыс с ДИО, вызванным «кафетерий-диетой». Показано, что у крыс с ДИО комбинация МФ и ИВИ нормализовала массу тела и абдоминального жира, восстанавливала глюкозный гомеостаз, показатели липидного обмена, базовые и стимулированные глюкозой уровни инсулина и лептина. В сравнении с монотерапией МФ, совместное применение МФ и ИВИ более эффективно восстанавливало чувствительность к инсулину, оцениваемую по снижению индекса инсулиновой резистентности, а также нормализовало толерантность к глюкозе, оцениваемую по снижению значения AUC_{0-120} интегрированной площади под глюкозными концентрационными кривыми в глюкозотолерантном тесте. Комбинация МФ с ИВИ в дозе 1.5 МЕ/кг/сутки нормализовала гормональный статус тиреоидной системы, нарушенный при ДИО, в то время как комбинация МФ с ИВИ в дозе 6 МЕ/кг/сутки усугубляла гипотиреоидное состояние в основном вследствие гиперактивации секреции тиреотропного гормона и развития резистентности к нему щитовидной железы. Тем самым для коррекции метаболических и гормональных показателей при ДИО, в том числе для восстановления функций тиреоидной системы, перспективным является применение МФ со сравнительно низкими дозами ИВИ, не оказывающими негативного влияния на тиреоидную ось.

Ключевые слова: метформин, интраназальный инсулин, ожирение, высококалорийная диета, инсулиновая резистентность, гиперлептинемия, тиреоидный гормон, тиреотропный гормон, самцы крыс, эндокринная система

ВВЕДЕНИЕ

Высококалорийная диета, включающая избыточное содержание насыщенных жиров и легкоусвояемые углеводы (сахарозу, фруктозу и др.), называемая также «кафетерий-диетой», приводит к ожирению, которое является фактором риска для развития в дальнейшем метаболического синдрома (МС) и сахарного диабета 2-го типа (СД2), в том числе в молодом возрасте. Несмотря на хорошую изученность этиологии и патогенеза диета-индуцированного ожирения (ДИО) и использование в клинике различных подходов для его коррекции, включающих фармакологические препараты, бариатрическую хирургию, специальные комплексы физических нагрузок, проблема разработки новых, более эффективных подходов для лечения и предотвращения ожирения остается весьма актуальной, тем более, что число пациентов с патологическими формами ожирения неуклонно возрастает как в России, так и в мире в целом. Так, каждый пятый житель нашей планеты имеет избыточную массу тела или страдает ожирением [1]. Более того, по данным ВОЗ, ожирение выявлено у 44% пациентов с СД2, у 23% пациентов с ишемической болезнью сердца, а также у 7–41% пациентов с различными формами онкологических заболеваний [2].

Одним из фармакологических препаратов, широко и успешно применяемых для лечения ожирения, является бигуанид метформин (МФ), который повышает чувствительность к инсулину и лептину, нарушенную при ожирении, способствует нормализации массы тела, углеводного и липидного метаболизма [3]. МФ нормализует глюкозный гомеостаз путем снижения продукции глюкозы гепатоцитами и всасывания глюкозы в желудочно-кишечном тракте, а также вследствие усиления инсулин-опосредуемой утилизации глюкозы тканями [3, 4]. Последнее во многом определяется ослаблением инсулиновой резистентности (ИР) при ожирении [3, 5]. Помимо улучшения метаболического статуса пациентов, МФ также положительно влияет на функции эндокринной системы, которые в различной степени нарушаются при ожирении и ассоциированных с ним эндокринных расстройств (синдром поликистозных яичников, андрогенная недостаточность у мужчин, нарушения функций щитовидной железы и др.) [3, 6, 7].

Однако применение МФ имеет ряд ограничений. Одни из них обусловлены низкой чувствительностью к МФ части пациентов, в среднем 30–40%. Это вызвано рядом причин, в том числе инактивирующими мутациями в молекулах транспортеров органических катионов OAT1, OAT2, MATE1 и MATE2, которые опосредуют транспорт МФ внутрь клетки, к основным мишеням его действия, а также в гене *ATM* (*ataxia-telangiectasia mutated*), ответственном за функциональный ответ клетки на воздействие МФ [8–10]. Другие ограничения обусловлены побочными эффектами МФ терапии, в том числе при длительном использовании сравнительно высоких доз препарата, среди которых нарушения функционирования желудочно-кишечного тракта и в ряде случаев явления лактоацидоза [11–13]. Все это требует разработки подходов для повышения эффективности МФ терапии при условии снижения дозы препарата, и здесь определенные успехи достигнуты в отношении применения комбинированной терапии, когда МФ используется совместно с препаратами, которые сами обладают терапевтическим потенциалом при лечении ожирения (не обязательно совпадающим с таковым у МФ) и наряду с этим способны потенцировать эффекты МФ, действуя на мишени МФ прямо или опосредованно. Среди наиболее удачных таких комбинаций можно привести совместное применение МФ и ситаглиптина, высокоселективного ингибитора дипептидилпептидазы 4-го типа, повышающего уровни глюкагоноподобного пептида и глюкоза-зависимого инсулинотропного пептида, что вносит дополнительный вклад в восстановление инсулиновой чувствительности и глюкозного гомеостаза при ожирении, СД2 и других метаболических расстройствах [14], а также комбинирование МФ терапии с тиазолидинами, сахароснижающими препаратами [15].

Ранее нами были получены данные об эффективности интраназально вводимого инсулина (ИВИ) для коррекции метаболических и гормональных нарушений при ДИО и МС с ожирением [16–18]. Этот эффект ИВИ обусловлен восстановлением активности инсулиновой системы в гипоталамусе и других отделах мозга, ослабленной при ожирении, МС и СД2 вследствие нарушения транспорта циркулирующего в крови инсулина через гематоэнцефалический барьер и развития центральной ИР [19, 20]. Однако эффективность монотерапии ИВИ в отношении снижения массы тела и нормализации показателей липидного обмена при МС и СД2 была сравнительно низкой, в то время как ИВИ оказывал значимый эффект на функциональную активность тиреоидной оси и толерантность к глюкозе [18, 21, 22]. На модели СД2, вызванного высокожировой диетой и низкой дозой стрептозотоцина, нами было показано, что совместное применение МФ и ИВИ оказывается более эффективным в отношении восстановления ряда показателей в сравнении с монотерапией этими препаратами [23]. Другими авторами установлено, что комбинированное использование МФ и ИВИ было эффективным при коррекции ИР, которая вызывалась обработкой крыс дексаметазоном [24]. Все это указывает на возможность потенцирования эффекта МФ с помощью ИВИ при коррекции метаболических и гормональных показателей у крыс с ДИО. В связи с этим целью работы было изучить эффективность курсового применения различных доз ИВИ совместно с МФ (100 мг/кг/сутки, перорально) для коррекции метаболических и гормональных нарушений у самцов крыс с ожирением, вызванным «кафетерий-диетой». В качестве метаболических показателей были изучены масса тела и жировой ткани, уровень триглицеридов и общего холестерина, содержание глюкозы в крови до и после глюкозной нагрузки, глюкозотолерантность. Был изучен гормональный статус тиреоидной и гонадной осей, а также содержание инсулина и лептина в плазме крови крыс. В случае ИВИ были избраны две дозы – относительно низкая, 1.5 МЕ/кг, оказывающая значимое влияние на когнитивный дефицит у крыс [25], и относительно высокая, 6.0 МЕ/кг, значимо влияющая на уровни глюкозы и инсулина в крови животных [26, 27]. У пациентов также продемонстрирован сходный паттерн физиологических эффектов ИВИ на функции ЦНС и метаболические показатели [28].

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Для создания модели ожирения были выбраны самцы крыс линии Wistar, которым с возраста 26 дней (перевод с грудного вскармливания на стандартный корм) начинали давать высокожировую смесь и вместо питьевой воды 30%-ный раствор сахарозы. Крыс содержали в стандартных условиях вивария (соотношение день/ночь – 12 ч/12 ч, температура 22 ± 2 °C) в пластиковых клетках при свободном доступе к воде и сухому корму, по шесть животных в одной клетке. Стандартный сухой корм представлял собой полноценный комбикорм ПК 120-2_243 для содержания лабораторных животных производства ООО «Лабораторкорм» (Москва, Россия), в то время как 1 кг высокожировой смеси имел следующий состав – 524 г свиного сала, 417 г творога, 50 г печени, 5.3 г L-метионина, 1.85 г пекарских дрожжей и 1.85 г хлорида натрия [29]. Ежедневно животные контрольной группы потребляли по 20–25 г сухого корма, в то время как крысы с высококалорийной диетой на фоне потребления раствора сахарозы ежедневно потребляли 7–8 г высокожировой смеси и 3–8 г стандартного сухого корма.

По достижении самцами крыс возраста 4 месяцев оценивали развитие ожирения и признаков МС, для чего проводили интраперитонеальный глюкозотолерантный тест (иГТТ). В ходе иГТТ животным в/б вводили глюкозу в дозе 2 г/кг массы тела, при этом измеряли уровни глюкозы в крови до и через 15, 30, 60, 90 и 120 мин после глюкозной нагрузки. Концентрацию глюкозы измеряли с помощью тест-полосок «One Touch Select» (США) и глюкометра («Life Scan Johnson & Johnson», Дания). Наряду с этим оценивали массу тела животных (мониторинг этого показателя осуществляли ежеме-

сячно, начиная с однемесячного возраста). В группу с развившимся ожирением были включены крысы с массой тела, повышенной не менее чем на 10% в сравнении со средним показателем массы тела в контрольной группе, которая получала стандартный корм, и уровнем глюкозы через 120 мин после глюкозной нагрузки в иГТТ не менее 6.5 ммоль/л. Из выборки были также исключены два животных с массой тела, превышающей контрольные значения более чем на 30%. Тем самым из первоначальной выборки были отобраны около 65% животных, которых затем рандомизировали на экспериментальные группы. Были сформированы контрольная группа (С) и 6 экспериментальных групп – ожирение без лечения (Об), ожирение с трехнедельным лечением МФ в суточной дозе 100 мг/кг (ОбМ) или двумя суточными дозами ИВИ – 1.5 и 6.0 МЕ/кг (ОбI1.5, ОбI6), ожирение с трехнедельным лечением совместно с МФ в суточной дозе 100 мг/кг и ИВИ в двух суточных дозах 1.5 и 6.0 МЕ/кг (ОбM1.5, ОбMI6). В каждой группе было по 6 животных. МФ растворяли в воде и вводили перорально через желудочный зонд, инсулин растворяли в 0.1 М Na-цитратном буфере (рН 4.5) и вводили по каплям в обе ноздри (в каждую по 10–20 мкл) [26]. Крысы групп С и Об вместо препаратов получали их растворители.

За 3 дня до окончания эксперимента с помощью иГТТ повторно оценивали толерантность к глюкозе и с помощью наборов «Rat Insulin ELISA» («Mercodia», Швеция) и ELISA for Leptin, Rat («Cloud-Clone Corp.», США) измеряли уровни инсулина и лептина в плазме крови до и через 120 мин после введения глюкозы. Пробоподготовку и измерение уровня гормонов в плазме крови с помощью ИФА здесь и далее проводили в соответствии с рекомендациями фирм-производителей. Индекс ИР оценивали как произведение концентраций глюкозы (ммоль/л) и инсулина (нг/мл) до (базовый, ИР-0) и через 120 мин после глюкозной нагрузки (ИР-120). Кровь для определения уровней инсулина и лептина забирали из хвостовой вены под местным наркозом, для чего животным местно вводили раствор лидокаина в дозе 2–4 мг/кг массы тела. До проведения иГТТ (натошак) в крови с помощью тест-полосок Triglycerides multiCare-in и Cholesterol multiCare-in («Biochemical Systems International», Италия) оценивали уровни триглицеридов и общего холестерина, а с помощью набора «Multi Test HbA1c System kit» («Polymer Technology Systems», США) – содержание гликированного гемоглобина (HbA1c).

За день до выведения из эксперимента в крови животных оценивали уровни лютеинизирующего гормона (ЛГ) (в 11.00) с помощью набора «ELISA for LH, Rat» («Cloud-Clone Corp.», США) и тестостерона (в 11.00 и 15.00) с использованием набора «Тестостерон-ИФА» («АлкорБио», Россия). Как и в случае определения уровней инсулина и лептина, кровь для оценки уровней ЛГ и тестостерона забирали из хвостовой вены под лидокаиновым наркозом.

Затем животных наркотизировали хлоралгидратом (400 мг/кг массы тела, в/б), декапитировали и оценивали массу абдоминального жира. В крови наркотизированных животных, взятой из шейной вены непосредственно перед декапитацией, измеряли уровни тиреотропного гормона (ТТГ) с помощью набора «Rat Thyroid Stimulating Hormone ELISA» («Cusabio Biotech Co.», Китай) и тиреоидных гормонов – свободного тироксина (fT4) и общего трийодтиронина (tT3), используя наборы фирмы «АлкорБио» (Россия).

Статистический анализ полученных данных осуществляли с помощью программы «IBM SPSS Statistics 26» («IBM», Armonk, NY, США). Нормальность распределения оценивали с помощью критерия Шапиро–Уилка и критерия Ливиня на равенство дисперсий. Большинство данных имели нормальное распределение (за исключением концентрации ТТГ и HbA1c) и были проанализированы с помощью однофакторного дисперсионного анализа Анова с применением теста Tukey. Результаты представляли как $M \pm SEM$. Для сравнения выборок с ненормальным распределением применяли непараметрический медианный тест. Данные представляли как медиана и межквартильный размах (25%; 75%). Достоверными считали различия при $p < 0.05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

У крыс группы Ob без обработки МФ и ИВИ масса тела и абдоминального жира и уровни триглицеридов и общего холестерина были выше, чем в контрольной группе (табл. 1).

Уровни глюкозы натощак и через 120 мин после глюкозной нагрузки, содержание HbA1c и значение AUC_{0-120} для глюкозных кривых в иГТТ у крыс группы Ob были выше, что указывает на нарушенную толерантность к глюкозе (табл. 2, рис. 1). Базовые и стимулированные глюкозой концентрации инсулина и лептина в крови крыс группы Ob в сравнении с контролем были повышены, в большей степени в случае лептина, что указывает на отчетливо выраженную гиперинсулинемию и гиперлептинемию и сниженную чувствительность к инсулину и лептину (табл. 3). В пользу снижения чувствительности к инсулину свидетельствуют значимо повышенные значения индекса ИР в группе Ob (табл. 3).

Трехнедельная обработка МФ приводила к значимому снижению массы тела и жировой ткани, уровней триглицеридов и общего холестерина в крови и улучшала толерантность к глюкозе, снижая уровень глюкозы через 120 мин после глюкозной нагрузки (табл. 1, 2, рис. 1). Уровень глюкозы натощак и значение AUC_{0-120} в группе ObM имели тенденцию к снижению, но достоверно от группы Ob не отличались, хотя и не отличались от группы C (табл. 2). Повышенные при ожирении уровни инсулина, как базовый, так и стимулированный глюкозой в группе ObM снижались, хотя в случае базового уровня отличие от группы Ob не было значимым (табл. 3). Это указывает на улучшение чувствительности к инсулину и подтверждается снижением индексов ИР-0 и ИР-120, которые в группе ObM были на 33 и 55% ниже, чем в группе Ob (табл. 3).

Обработка ИВИ в дозе 1.5 МЕ/кг/сутки в течение 3 недель не приводила к существенному снижению массы тела и жировой ткани, уровней триглицеридов и общего холестерина, в то время как ИВИ в дозе 6.0 МЕ/кг/сутки значимо снижал массу абдоминального жира и уровень общего холестерина (табл. 1). В группах ObI1.5 и ObI6 отмечали улучшение толерантности к глюкозе, но, как и в случае монотерапии МФ, различия значения AUC_{0-120} с группой Ob не были значимыми (табл. 2, рис. 1). В груп-

Таблица 1. Масса тела и жировой ткани и уровень триглицеридов и общего холестерина в крови у крыс с ожирением и влияние на них лечения МФ и ИВИ в двух дозах, совместно и раздельно

Группа крыс	Масса тела, г	Масса АЖ, г	Триглицериды, ммоль/л	Общий холестерин, ммоль/л
C	403.3 ± 8.1	7.8 ± 0.4	1.90 ± 0.08	4.18 ± 0.17
Ob	484.7 ± 10.7 ^a	16.3 ± 0.9 ^a	3.14 ± 0.15 ^a	6.21 ± 0.41 ^a
ObM	440.8 ± 8.0 ^b	10.1 ± 0.7 ^b	2.39 ± 0.12 ^b	4.64 ± 0.20 ^b
ObI1.5	473.2 ± 11.7 ^a	14.0 ± 1.2 ^{a,c}	3.09 ± 0.09 ^{a,c}	5.78 ± 0.21 ^{a,c}
ObI6	457.3 ± 9.3 ^a	12.4 ± 0.8 ^{a,b}	2.79 ± 0.13 ^a	5.17 ± 0.17 ^b
ObMI1.5	434.3 ± 9.4 ^b	8.6 ± 0.5 ^b	1.97 ± 0.08 ^b	4.10 ± 0.17 ^b
ObMI6	432.2 ± 10.0 ^b	8.8 ± 0.6 ^b	2.14 ± 0.13 ^b	4.56 ± 0.24 ^b

Примечание. АЖ – абдоминальный жир. Различия с группами C (^a), Ob (^b) и ObM (^c) статистически значимы при $p < 0.05$. Данные представлены как $M \pm SEM$, $n = 6$.

Таблица 2. Уровни глюкозы до (натощак) и через 120 мин после глюкозной нагрузки, содержание гликированного гемоглобина (HbA1c) в крови и значение AUC_{0-120} для глюкозных кривых в ИГТТ у крыс с ожирением и влияние на эти показатели лечения МФ и ИВИ, совместно и раздельно

Группа крыс	Глюкоза (0), ммоль/л	Глюкоза (120), ммоль/л	HbA1c, %	AUC_{0-120} , усл. ед.
C	4.2 ± 0.1	4.6 ± 0.1	4.30 (4.23; 4.43)	1147 ± 49
Ob	5.0 ± 0.2 ^a	7.1 ± 0.3 ^a	5.65 (5.20; 6.38) ^a	1510 ± 77 ^a
ObM	4.7 ± 0.2	5.6 ± 0.3 ^b	4.85 (4.68; 5.33) ^a	1335 ± 20
ObI1.5	4.4 ± 0.2	6.1 ± 0.4 ^a	5.45 (5.08; 5.95) ^a	1362 ± 82
ObI6	4.2 ± 0.1 ^b	5.7 ± 0.2 ^b	5.15 (5.00; 5.43) ^a	1334 ± 68
ObMI1.5	4.6 ± 0.2	4.9 ± 0.3 ^b	4.25 (4.05; 4.55)	1164 ± 33 ^b
ObMI6	4.4 ± 0.1	5.1 ± 0.2 ^b	4.90 (4.78; 5.13) ^a	1178 ± 56 ^b

Примечание. HbA1c – гликированный гемоглобин в крови, AUC_{0-120} – площадь под кривой «концентрация глюкозы, ммоль/л – время, мин» в ИГТТ. Различия с группами C (^a) и Ob (^b) статистически значимы при $p < 0.05$. Данные для всех значений, исключая содержание HbA1c, представлены как $M \pm SEM$. Значения содержания HbA1c, не удовлетворяющие нормальности распределения согласно критерию Шапиро–Уилка, представлены как медиана и межквартильный интервал (25%; 75%). Число животных в каждой группе $n = 6$.

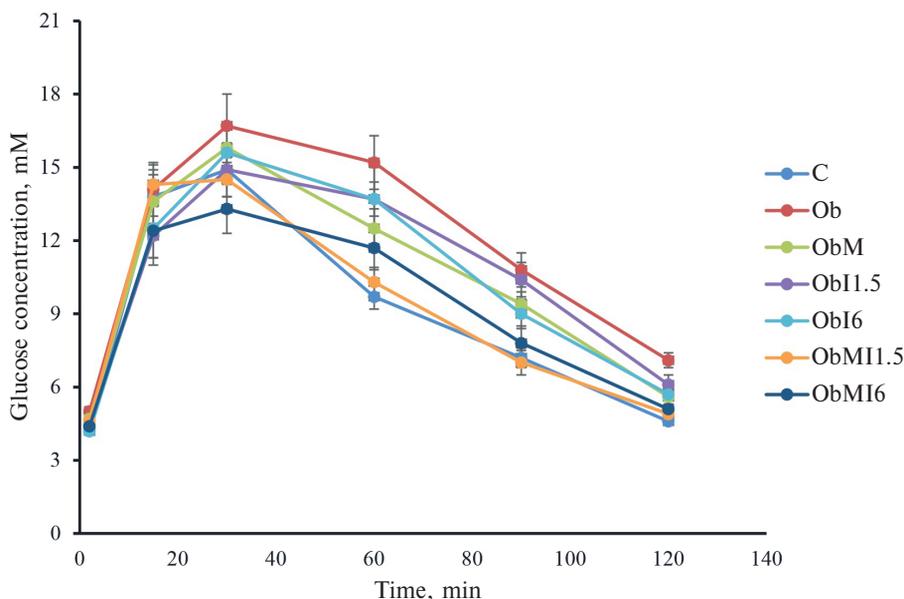


Рис. 1. Концентрация глюкозы в крови самцов крыс в течение 120 мин после нагрузки глюкозой в интраперитонеальном глюкозотолерантном тесте.

пах ObI1.5 и ObI6 показано снижение по сравнению с группой Ob стимулированных глюкозой уровней инсулина и лептина, а также значения индексов ИР-0 и ИР-120. ИВИ в группе ObI1.5 в меньшей степени влиял на базовый уровень инсулина, который значимо восстанавливался при использовании более высокой дозы гормона (табл. 3).

Таблица 3. Уровни инсулина и лептина в крови и значения индекса инсулиновой резистентности у крыс с ожирением до и через 120 мин после глюкозной нагрузки и влияние на них лечения МФ и ИВИ, совместно и раздельно

Группа крыс	Инсулин (0), нг/мл	Инсулин (120), нг/мл	ИР (0), усл. ед.	ИР (120), усл. ед.	Лептин (0), нг/мл	Лептин (120), нг/мл
С	0.78 ± 0.09	1.12 ± 0.13	3.24 ± 0.36	5.08 ± 0.50	1.16 ± 0.14	1.33 ± 0.20
Об	1.61 ± 0.19 ^a	2.47 ± 0.16 ^a	7.94 ± 0.78 ^a	17.53 ± 1.05 ^a	3.16 ± 0.2 ^a	5.49 ± 0.62 ^a
ОбМ	1.15 ± 0.13	1.43 ± 0.16 ^b	5.34 ± 0.45 ^{a,b}	7.85 ± 0.36 ^{a,b}	1.83 ± 0.13 ^b	2.43 ± 0.19 ^b
ОбI1.5	1.22 ± 0.10	1.77 ± 0.16 ^b	5.37 ± 0.47 ^{a,b}	10.57 ± 0.81 ^{a,b}	2.76 ± 0.24 ^{a,c}	3.95 ± 0.40 ^{a,b,c}
ОбI6	0.80 ± 0.10 ^b	1.54 ± 0.15 ^b	3.32 ± 0.38 ^{b,c}	8.59 ± 0.60 ^{a,b}	2.49 ± 0.23 ^a	3.30 ± 0.25 ^{a,b}
ОбM1.5	0.99 ± 0.08 ^b	1.49 ± 0.14 ^b	4.50 ± 0.28 ^b	7.10 ± 0.49 ^b	1.51 ± 0.14 ^b	2.29 ± 0.16 ^b
ОбM6	0.68 ± 0.08 ^b	1.21 ± 0.15 ^b	2.94 ± 0.28 ^{b,c}	6.05 ± 0.56 ^b	1.83 ± 0.19 ^b	2.00 ± 0.21 ^b

Примечание. Даны концентрации инсулина и лептина в крови крыс до глюкозной нагрузки (0 мин) и через 120 мин после нее. Индекс ИР оценивали как произведение концентраций глюкозы (ммоль/л) и инсулина (нг/мл) до (базовый, ИР-0) и через 120 мин после глюкозной нагрузки (ИР-120). Различия с группами С (^a), Об (^b) и ОбМ (^c) статистически значимы при $p < 0.05$. Данные представлены как $M \pm SEM$, $n = 6$ – число животных в каждой группе.

В отношении нормализации уровней инсулина ИВИ был сопоставим с МФ, а при более высокой дозе ИВИ даже превосходил МФ по восстановлению индекса ИР-0. Но в отношении восстановления повышенных при ожирении уровней лептина ИВИ уступал МФ, по крайней мере при использовании дозы 1.5 МЕ/кг/сутки, на что указывает значимо более высокое значение уровней лептина в группе ОбI1.5 в сравнении с группой ОбМ (табл. 3).

Совместное применение МФ и ИВИ с высокой эффективностью нормализовало оцениваемые метаболические и гормональные показатели, причем в ряде случаев комбинированная терапия превосходила монотерапию МФ (табл. 1–3). Так, в группе ОбM6 значение индекса ИР-0 было значимо ниже как по отношению к группе Об, так и к группе ОбМ (табл. 3). Это указывает на ИВИ-опосредуемое потенцирование восстанавливающего эффекта МФ на чувствительность к инсулину, нарушенную при ожирении. Кроме того, комбинированная терапия приводила к значимому снижению показателя AUC_{0-120} для глюкозных кривых в иГТТ, что указывает на нормализацию толерантности к глюкозе. Как отмечено выше, в случае монотерапии МФ отмечали тенденцию к снижению этого показателя по сравнению с группой Об, но различия в этом случае не были достоверными (табл. 2).

На заключительном этапе эксперимента исследовали гормональный статус тиреоидной и гонадной осей. В крови крыс с ожирением снижались уровни тиреоидных гормонов – свободного тироксина (fT4) и общего трийодтиронина (tT3), и при этом в три раза уменьшалось соотношение fT4/ТТГ, что указывает на развитие гипотиреоидного состояния и ослабление ответа щитовидной железы на стимулирующее воздействие ТТГ (табл. 4). Соотношение tT3/fT4 не менялось, что свидетельствует в пользу сохранения эффективности конверсии тироксина в трийодтиронин с помощью дейодиназ 1-го и 2-го типов. Лечение МФ или ИВИ в дозе 1.5 МЕ/кг/сутки частично восстанавливало уровни тиреоидных гормонов, причем в случае fT4 различия с группой Об были значимыми, а при их комбинированном применении тиреоидный статус полностью нормализовался, а также восстанавливалась чувствительность тироцитов к ТТГ, на

что указывает значимое повышение соотношения $fT4/TTG$ в группе $ObM1.5$ (табл. 4). ИВИ в более высокой дозе, в том числе совместно с МФ, был неэффективен в отношении восстановления тиреоидного статуса и при этом значимо повышал концентрацию ТТГ в крови, в еще большей степени усугубляя резистентность тироцитов к ТТГ (табл. 4).

В группе Ob отсутствовали признаки выраженного андрогенного дефицита, так как уровни тестостерона, ЛГ и соотношение тестостерон/ЛГ в крови значимо от контрольной группы не отличались (табл. 5). Лечение МФ, в том числе совместно с ИВИ, значимого влияния на гонадную ось не оказывало.

Таблица 4. Уровни ТТГ, тиреоидных гормонов ($fT4$, $tT3$) и рассчитанные соотношения $fT4/TTG$ и $tT3/fT4$ у самцов крыс с ожирением и влияние лечения МФ, ИВИ и их комбинацией

Группа крыс	ТТГ, мкЕД/мл	$fT4$, пмоль/л	$tT3$, нмоль/л	$fT4/TTG$, усл. ед.	$tT3/fT4$, усл. ед.
С	0.38 (0.32; 0.61)	26.8 ± 1.1	2.24 ± 0.10	65.9 ± 7.5	83.6 ± 1.3
Ob	0.89 (0.65; 1.12)	17.2 ± 0.6^a	1.57 ± 0.11^a	20.9 ± 2.8^a	91.0 ± 3.9
ObM	0.76 (0.60; 0.98)	22.6 ± 1.4^b	1.96 ± 0.09	31.9 ± 5.2^a	87.7 ± 3.9
$Ob1.5$	0.84 (0.67; 1.20)	24.6 ± 1.1^b	1.99 ± 0.08	29.5 ± 4.3^a	81.6 ± 3.8
$ObI6$	1.20 (0.95; 1.48) ^a	20.9 ± 1.2^a	1.63 ± 0.09^a	18.4 ± 2.6^a	78.7 ± 4.1
$ObM1.5$	0.68 (0.56; 0.87)	29.6 ± 1.0^{bc}	2.50 ± 0.15^{bc}	$44.2 \pm 5.3^{a,b}$	84.3 ± 2.9
$ObMI6$	1.51 (1.10; 1.98) ^a	19.3 ± 1.5^a	1.72 ± 0.15^a	14.2 ± 2.8^a	89.0 ± 2.0

Примечание. Соотношения $fT4/TTG$ и $tT3/fT4$ рассчитывали как соотношения концентраций тиреоидных гормонов ($fT4$ – пмоль/л; $tT3$ – нмоль/л) к концентрации ТТГ (мкЕД/мл), представляя их в условных единицах. Различия с группами С (^a), Ob (^b) и ObM (^c) статистически значимы при $p < 0.05$. Данные для всех значений, исключая концентрацию ТТГ, представлены как $M \pm SEM$. Значения концентрации ТТГ, не удовлетворяющие нормальности распределения согласно критерию Шапиро–Уилка, представлены как медиана и межквартильный интервал (25%; 75%). Число животных в каждой группе $n = 6$.

Таблица 5. Уровни ЛГ, тестостерона и их соотношения у самцов крыс с ожирением и влияние на них лечения МФ и ИВИ, совместно или раздельно

Группа крыс	ЛГ, нг/мл	Тестостерон (11-00), нмоль/л	Тестостерон (14-00), нмоль/л	Тестостерон (11-00)/ЛГ, усл. ед.
С	1.89 ± 0.20	17.3 ± 1.4	16.2 ± 1.4	9.7 ± 1.2
Ob	2.51 ± 0.18	12.6 ± 1.2	11.5 ± 1.1	5.3 ± 0.9
ObM	1.85 ± 0.18	17.4 ± 1.4	17.6 ± 2.2	10.2 ± 1.8
$Ob1.5$	2.43 ± 0.17	14.4 ± 1.2	14.3 ± 1.4	6.2 ± 0.9
$ObI6$	2.16 ± 0.22	14.9 ± 1.4	14.6 ± 1.5	7.7 ± 1.6
$ObM1.5$	1.99 ± 0.18	16.5 ± 2.0	17.0 ± 1.7	9.1 ± 1.8
$ObMI6$	2.33 ± 0.18	16.7 ± 1.8	15.3 ± 1.6	7.7 ± 1.4

Примечание. Данные представлены как $M \pm SEM$, $n = 6$ в каждой группе.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

МФ является препаратом первой линии при лечении СД2 и МС, а также широко применяется для коррекции метаболических и гормональных нарушений при ожирении. Однако его применение ограничено тем, что часть пациентов имеют низкую к нему чувствительность, а у части пациентов, особенно при длительном использовании сравнительно высоких доз препарата, развиваются серьезные побочные явления, требующие замены МФ другими препаратами, которые очень часто оказываются малоэффективными [8–13]. В связи с этим перспективным направлением является комбинированное применение МФ с другими препаратами, способными потенцировать действие МФ, что позволяет снизить эффективные дозы МФ и повысить чувствительность к нему у резистентных к МФ пациентов. Нами ранее была показана эффективность комбинированного применения МФ с ИВИ при экспериментальном СД2 с ожирением, которая по ряду показателей превосходила монотерапию МФ [23]. Настоящее исследование показало, что такая комбинация эффективна и при коррекции метаболических и некоторых гормональных нарушений у самцов крыс с ДИО, вызванным «кафетерий-диетой».

Нами установлено, что комбинация сравнительно низкой (для крыс) суточной дозы МФ 100 мг/кг с ИВИ не только приводила к значимому снижению массы тела и жировой ткани, восстановлению глюкозного гомеостаза, нормализации уровней инсулина и лептина, показателей липидного обмена и тиреоидного статуса у крыс с ДИО, но и по некоторым показателям значимо превосходила терапию МФ. В сравнении с монотерапией МФ комбинированная терапия отчетливо нормализовала толерантность к глюкозе, на что указывает сходство значений AUC_{0-120} в контрольной группе и в группах с обработкой совместно МФ и ИВИ (табл. 2, рис. 1). Индекс ИР-0, иллюстрирующий чувствительность тканей к инсулину в условиях отсутствия пищевых стимулов (включая глюкозную нагрузку), в группе ОбМІ6 был значимо ниже, чем в группе ОбМ, и не превосходил его значения в контроле. Это свидетельствует о полноценном восстановлении чувствительности к инсулину в условиях комбинированной терапии, что хорошо согласуется с нормализацией глюкозного гомеостаза у крыс группы ОбМІ6. Необходимо отметить, что эффективность восстановления чувствительности к инсулину в группе ОбМІ.5 была сопоставимой с таковой в группе ОбМІ6.

Вызываемое ИВИ потенцирование восстанавливающего эффекта МФ на чувствительность тканей к инсулину обусловлено тем, что оба препарата положительно воздействуют на активность в них инсулиновой системы по различным механизмам. МФ, восстанавливая нарушенный в условиях метаболических расстройств энергетический статус клеток путем нормализации активности в них АМФ-активируемой протеинкиназы (АМРК), подавляет процессы воспаления, апоптоза, снижает продукцию активных форм кислорода и азота, нормализует продукцию эндогенной глюкозы и липидный обмен, и это непосредственно влияет на функциональную активность инсулиновой системы в мышцах, жировой ткани и других тканях, включая мозг [30]. В свою очередь ИВИ усиливает центральную регуляцию энергетического обмена, ослабляя глюконеогенез в печени, что приводит к улучшению глюкозного гомеостаза, а также модулирует сигнальные пути в гипоталамусе и других отделах мозга, контролируемые анорексигенными и орексигенными факторами, что приводит к снижению аппетита и массы тела и улучшает нарушенный при ожирении энергетический баланс [31–33]. Следует, однако, отметить, что эффективность ИВИ в отношении нормализации метаболических показателей и чувствительности к инсулину в значительной степени определяется характером метаболических нарушений, выраженностью ИР и гендерными особенностями [33–35]. Важную роль играет способность ИВИ потенцировать сигнальные пути лептина в ЦНС, которые во многом синергичны таковым у инсулина [36]. Поскольку лептин является основным эндогенным регулятором АМРК, то это вносит

определенный вклад в нормализацию всей интегративной сети сигнальных каскадов мозга и в центральную регуляцию периферического метаболизма и инсулиновой чувствительности [32, 36]. ИВИ способен положительно влиять на показатели липидного обмена, нарушенные при ожирении, но действие его, как и в случае АМРК, является опосредованным [37]. В этой связи необходимо отметить, что коррекция дислипидемии МФ, реализуемая через системное восстановление энергетического обмена в адипоцитах, вносит значимый вклад в восстановление чувствительности к инсулину при СД2 и ожирении [38, 39].

Ожирение и МС часто ассоциированы с заболеваниями щитовидной железы, причем метаболические расстройства могут быть как следствием, так и причиной таких заболеваний. В условиях ожирения, МС и СД2 с высокой частотой развиваются различные формы гипотиреоза, которые характеризуются сниженным метаболизмом, обуславливающим накопление жировой массы, нарушения липидного и углеводного обмена [40]. Неудивительно, что МФ терапия способна существенно улучшать функции тиреоидной системы при этих метаболических расстройствах, но в последние годы превалирует точка зрения о том, что МФ положительно воздействует на функции щитовидной железы не только опосредованно, но и непосредственно влияя на компоненты гипоталамо-гипофизарно-тиреоидной оси [41, 42]. Кроме того, МФ способствует ослаблению последствий аутоиммунных заболеваний щитовидной железы, включая аутоиммунный субклинический тиреоидит [41, 43] и офтальмопатию Грейвса, ассоциированную с аутоиммунным гипертиреозом [44].

Нами показано, что МФ терапия частично восстанавливала гормональные показатели тиреоидной оси у крыс с ожирением, в то время как комбинация МФ и сравнительно низкой дозы ИВИ (1.5 МЕ/кг) восстанавливала их полностью (табл. 4). При этом обнаружено отчетливо выраженное негативное влияние комбинации МФ с более высокой дозой ИВИ на тиреоидную ось крыс с ожирением, что выражалось в значимом повышении в сравнении с контролем уровня ТТГ в крови, а также в сохранении сниженных значений тиреоидных гормонов и соотношения $fT4/TTG$. Одной из причин этого может быть стимулирующее влияние ИВИ на продукцию ТТГ, что было показано нами ранее при исследовании длительного влияния сравнительно высоких доз ИВИ на компоненты тиреоидной системы у самцов крыс со среднетяжелой формой сахарного диабета 1-го типа, сопровождающегося выраженным дефицитом тиреоидных гормонов [26]. Нами был сделан вывод о том, что длительное лечение высокими дозами ИВИ несет риски развития гипотиреоза, вызванного повышенной активностью тиреотрофов и увеличением уровня ТТГ в крови, приводящего к резистентности тирцитов к стимулирующему действию ТТГ. Этот вывод получил новые подтверждения в рамках настоящего исследования, демонстрируя сильно выраженную зависимость влияния ИВИ на функциональную активность тиреоидной системы при различных дозах ИВИ.

Следует также отметить, что терапия МФ и его комбинацией с ИВИ на изученной нами экспериментальной модели ожирения не влияла на гормональный статус гонадной оси у самцов крыс, что обусловлено отсутствием выраженного андрогенного дефицита у крыс с ожирением, вызванным «кафетерий-диетой». При этом в литературе имеются многочисленные данные о положительном влиянии МФ на андрогенный статус, сперматогенез и фертильность при метаболических расстройствах, а также о механизмах этого влияния, включающего как улучшение центральной регуляции гипоталамо-гипофизарно-гонадной оси, так и восстановление энергетического статуса клеток репродуктивной системы как по зависимым, так и по независимым от АМРК механизмам [45].

Таким образом, впервые показано, что трехнедельное лечение комбинацией МФ и ИВИ нормализует массу тела и абдоминального жира, восстанавливает метаболические и гормональные показатели у крыс с ожирением, вызванным «кафетерий-диетой»,

включающей легкие углеводы и насыщенные жиры. В сравнении с монотерапией МФ, его комбинация с ИВИ с более высокой эффективностью восстанавливала чувствительность к инсулину, оцениваемую по снижению индекса ИР, а также нормализовала толерантность к глюкозе, оцениваемую по снижению значения AUC_{0-120} для глюкозных кривых в иГТТ. При этом комбинация МФ с ИВИ, взятым в более низкой дозе (1.5 МЕ/кг), полностью восстанавливала гормональный статус тиреоидной системы, в то время как при использовании совместно с МФ сравнительно высокой дозы ИВИ (6 МЕ/кг) отмечали усугубление гипотиреоидного состояния в основном вследствие гиперактивации секреции ТТГ и развития резистентности тироцитов к этому гормону. Тем самым для коррекции метаболических и гормональных показателей при ДИО, в том числе для восстановления функций тиреоидной системы, перспективным является совместное применение МФ и сравнительно низких доз ИВИ, не оказывающих негативного влияния на тиреоидную ось.

ВКЛАДЫ АВТОРОВ

Идея работы и планирование эксперимента (А. О. Ш., К. В. Д.), сбор и обработка данных (И. И. З., К. В. Д.), написание и редактирование манускрипта (А. О. Ш., К. В. Д.).

ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Данная работа финансировалась за счет средств бюджета Минобрнауки России (соглашение № 075-15-2022-296), на создание и развитие научного центра мирового уровня «Павловский центр «Интегративная физиология – медицине, высокотехнологичному здравоохранению и технологиям стрессоустойчивости». Никаких дополнительных грантов на проведение или руководство данным конкретным исследованием получено не было.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Эксперименты с животными проводились в соответствии с международными рекомендациями по проведению биомедицинских исследований с лабораторными животными и были одобрены Комиссией по этике Института эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН, протокол заседания № 2-2/2023 от 28.02.2023 г.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

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

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *GBD 2017 Risk Factor Collaborators* (2018) Global, regional, and national comparative risk assessment of 84 behavioural, environmental and occupational, and metabolic risks or clusters of risks for 195 countries and territories, 1990–2017: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2017. *Lancet* 392(10159): 1923–1994.
[https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(18\)32225-6](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(18)32225-6)
2. *Frühbeck G, Toplak H, Woodward E, Yumuk V, Maislos M, Oppert JM; Executive Committee of the European Association for the Study of Obesity* (2013) Obesity: the gateway to ill health – an EASO position statement on a rising public health, clinical and scientific challenge in Europe. *Obes Facts* 6(2): 117–120.
<https://doi.org/10.1159/000350627>
3. *Dutta S, Shah RB, Singhal S, Dutta SB, Bansal S, Sinha S, Haque M* (2023) Metformin: A Review of Potential Mechanism and Therapeutic Utility Beyond Diabetes. *Drug Des Devel Ther* 17: 1907–1932.
<https://doi.org/10.2147/DDDT.S409373>
4. *Hundal RS, Inzucchi SE* (2003) Metformin: new understandings, new uses. *Drugs* 63(18): 1879–1894.
<https://doi.org/10.2165/00003495-200363180-00001>

5. *Alshahrani A, Aljada A, Masood A, Mujammami M, Alfadda AA, Musambil M, Alanazi IO, AlDubayee M, Abdel Rahman AM, Benabdelkamel H* (2023) Proteomic Profiling Identifies Distinct Regulation of Proteins in Obese Diabetic Patients Treated with Metformin. *Pharmaceuticals (Basel)* 16(10): 1345.
<https://doi.org/10.3390/ph16101345>
6. *Franks S* (2011) When should an insulin sensitizing agent be used in the treatment of polycystic ovary syndrome? *Clin Endocrinol (Oxf)* 74(2): 148–151.
<https://doi.org/10.1111/j.1365-2265.2010.03934.x>
7. *Condorelli RA, Cannarella R, Aversa A, Basile L, Avola O, Calogero AE, La Vignera S* (2022) Effects of Slow-Acting Metformin Treatment on the Hormonal and Morphological Thyroid Profile in Patients with Insulin Resistance. *Pharmaceutics* 14(10): 1987.
<https://doi.org/10.3390/pharmaceutics14101987>
8. *Van Leeuwen N, Nijpels G, Becker ML, Deshmukh H, Zhou K, Stricker BH, Uitterlinden AG, Hofman A, van 't Riet E, Palmer CN, Guigas B, Slagboom PE, Durrington P, Calle RA, Neil A, Hitman G, Livingstone SJ, Colhoun H, Holman RR, McCarthy MI, Dekker JM, 't Hart LM, Pearson ER* (2012) A gene variant near ATM is significantly associated with metformin treatment response in type 2 diabetes: a replication and meta-analysis of five cohorts. *Diabetologia* 55(7): 1971–1977.
<https://doi.org/10.1007/s00125-012-2537-x>
9. *Chen P, Cao Y, Chen S, Liu Z, Chen S, Guo Y* (2022) Association of *SLC22A1*, *SLC22A2*, *SLC47A1*, and *SLC47A2* Polymorphisms with Metformin Efficacy in Type 2 Diabetic Patients. *Biomedicines* 10(10): 2546.
<https://doi.org/10.3390/biomedicines10102546>
10. *Peng A, Gong C, Xu Y, Liang X, Chen X, Hong W, Yan J* (2023) Association between organic cation transporter genetic polymorphisms and metformin response and intolerance in T2DM individuals: a systematic review and meta-analysis. *Front Public Health* 11: 1183879.
<https://doi.org/10.3389/fpubh.2023.1183879>
11. *Kanto K, Ito H, Noso S, Babaya N, Hiromine Y, Taketomo Y, Toma J, Niwano F, Yasutake S, Kawabata Y, Ikegami H* (2017) 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 Invest* 9(3): 587–593.
<https://doi.org/10.1111/jdi.12755>
12. *DeFronzo R, Fleming GA, Chen K, Bicsak TA* (2016) Metformin-associated lactic acidosis: Current perspectives on causes and risk. *Metabolism* 65(2): 20–29.
<https://doi.org/10.1016/j.metabol.2015.10.014>
13. *Nabrdalik K, Skonieczna-Żydecka K, Irlík K, Hendel M, Kwiendacz H, Loniewski I, Januszkiewicz K, Gumprecht J, Lip GYH* (2022) 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)* 13: 975912.
<https://doi.org/10.3389/fendo.2022.975912>
14. *Ji L, Han P, Wang X, Liu J, Zheng S, Jou YM, O'Neill EA, Golm GT, Engel SS, Kaufman KD, Shankar RR* (2016) Randomized clinical trial of the safety and efficacy of sitagliptin and metformin co-administered to Chinese patients with type 2 diabetes mellitus. *J Diabetes Invest* 7(5): 727–736.
<https://doi.org/10.1111/jdi.12511>
15. *Shaaban HH, Alzaim I, El-Mallah A, Aly RG, El-Yazbi AF, Wahid A* (2022) Metformin, pioglitazone, dapagliflozin and their combinations ameliorate manifestations associated with NAFLD in rats via anti-inflammatory, anti-fibrotic, anti-oxidant and anti-apoptotic mechanisms. *Life Sci* 308: 120956.
<https://doi.org/10.1016/j.lfs.2022.120956>
16. *Derkach KV, Ivantsov AO, Chistyakova OV, Sukhov IB, Buzanakov DM, Kulikova AA, Shpakov AO* (2017) Intranasal restores metabolic parameters and insulin sensitivity in rats with metabolic syndrome. *Bull Exp Biol Med* 163(2): 184–189.
<https://doi.org/10.1007/s10517-017-3762-6>
17. *Шпаков АО, Деркач КВ, Суркова ЕВ, Беспалов АИ* (2019) Перспективы применения интраназального вводимого инсулина для коррекции метаболических и гормональных нарушений при сахарном диабете и метаболическом синдроме. *Пробл эндокринол* 65(5): 389–395. [*Shpakov AO, Derkach KV, Surkova EV, Bespalov AI* (2019) Prospects for the use of intranasally administered insulin for the correction of metabolic and hormonal disorders in diabetes mellitus and metabolic syndrome. *Probl endocrinol* 65(5): 389–395. (In Russ)].
<https://doi.org/10.14341/probl9960>
18. *Деркач КВ, Бондарева ВМ, Шпаков АО* (2022) Влияние интраназально вводимого инсулина на метаболические и гормональные показатели у взрослых самцов крыс, нарушен-

- ные вследствие трехдневного голодания в раннем постнатальном периоде. Биомед химия 68(4): 263–271. [*Derkach KV, Bondareva VM, Shpakov AO* (2022) The effect of intranasally administered insulin on metabolic and hormonal parameters in adult male rats, impaired due to three-day fasting in the early postnatal period. *Biomed khimiya* 68(4): 263–271. (In Russ)]. <https://doi.org/10.18097/PBMC20226804263>
19. *Shpakov AO, Derkach KV, Berstein LM* (2015) Brain signaling systems in the Type 2 diabetes and metabolic syndrome: promising target to treat and prevent these diseases. *Future Sci OA* 1(3): FSO25. <https://doi.org/10.4155/fso.15.23>
 20. *Derkach K, Zakharova I, Zorina I, Bakhtyukov A, Romanova I, Bayunova L, Shpakov A* (2019) The evidence of metabolic-improving effect of metformin in Ay/a mice with genetically-induced melanocortin obesity and the contribution of hypothalamic mechanisms to this effect. *PLoS One* 14(3): e0213779. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0213779>
 21. *Derkach KV, Bondareva VM, Shpakov AO* (2018) Coadministration of intranasally delivered insulin and proinsulin C-peptide to rats with the types 1 and 2 diabetes mellitus restores their metabolic parameters. *Advances Gerontol* 8(2): 139–146. <https://doi.org/10.1134/S2079057018020030>
 22. *Derkach KV, Bondareva VM, Shpakov AO* (2019) Regulatory effects of intranasal C-peptide and insulin on thyroid and androgenic status of male rats with moderate type 1 diabetes mellitus. *J Evol Biochem Physiol* 55(6): 493–496. <https://doi.org/10.1134/S0022093019060073>
 23. *Деркач КВ, Бондарева ВМ, Басова НЕ, Кузнецова ЛА, Шпаков АО* (2021) Совместное применение метформина и интраназального инсулина нормализует чувствительность к глюкозе и гормональный статус у крыс с диабетом 2-го типа. *Интегра т физиол* 2(4): 399–411. [*Derkach KV, Bondareva VM, Basova NE, Kuznetsova LA, Shpakov AO* (2021) Combined use of metformin and intranasal insulin normalizes glucose sensitivity and hormonal status in rats with type 2 diabetes. *Integrat Physiol* 2(4): 399–411. (In Russ)]. <https://doi.org/10.33910/2687-1270-2021-2-4-399-411>
 24. *Oche J, Olorundare O, Afolabi S, Ologe M, Njan A, Akanbi O* (2023) 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* 38(1): 37–46. <https://doi.org/10.54548/njps.v38i1.7>
 25. *Sukhov IB, Lebedeva MF, Zakharova IO, Derkach KV, Bayunova LV, Zorina II, Avrova NF, Shpakov AO* (2020) Intranasal Administration of Insulin and Gangliosides Improves Spatial Memory in Rats with Neonatal Type 2 Diabetes Mellitus. *Bull Exp Biol Med* 168(3): 317–320. <https://doi.org/10.1007/s10517-020-04699-8>
 26. *Derkach KV, Bogush IV, Berstein LM, Shpakov AO* (2015) The Influence of Intranasal Insulin on Hypothalamic-Pituitary-Thyroid Axis in Normal and Diabetic Rats. *Horm Metab Res* 47(12): 916–924. <https://doi.org/10.1055/s-0035-1547236>
 27. *Njan AA, Fatigun CO, Alli-Oluwafuyi AM, Olorundare OE, Afolabi OS, Akinola O, Amin A* (2018) Effect of intranasal insulin on peripheral glucose profile in dexamethasone-induced insulin resistance in Wistar rats. *Beni-Suef University J Basic Appl Sci* 7(4): 516–524. <https://doi.org/10.1016/j.bjbas.2018.06.003>
 28. *Nijssen KMR, Mensink RP, Joris PJ* (2023) Effects of Intranasal Insulin Administration on Cerebral Blood Flow and Cognitive Performance in Adults: A Systematic Review of Randomized, Placebo-Controlled Intervention Studies. *Neuroendocrinology* 113(1): 1–13. <https://doi.org/10.1159/000526717>
 29. *Bakhtyukov AA, Derkach KV, Sorokoumov VN, Stepochkina AM, Romanova IV, Morina IY, Zakharova IO, Bayunova LV, Shpakov AO* (2021) The Effects of Separate and Combined Treatment of Male Rats with Type 2 Diabetes with Metformin and Orthosteric and Allosteric Agonists of Luteinizing Hormone Receptor on Steroidogenesis and Spermatogenesis. *Int J Mol Sci* 23(1): 198. <https://doi.org/10.3390/ijms23010198>
 30. *He L* (2020) Metformin and Systemic Metabolism. *Trends Pharmacol Sci* 41(11): 868–881. <https://doi.org/10.1016/j.tips.2020.09.001>
 31. *Dash S, Xiao C, Morgantini C, Koulajian K, Lewis GF* (2015) Intranasal insulin suppresses endogenous glucose production in humans compared with placebo in the presence of similar venous insulin concentrations. *Diabetes* 64(3): 766–774. <https://doi.org/10.2337/db14-0685>

32. *Beddows CA, Dodd GT* (2021) Insulin on the brain: The role of central insulin signalling in energy and glucose homeostasis. *J Neuroendocrinol* 33(4): e12947.
<https://doi.org/10.1111/jne.12947>
33. *Scherer T, Sakamoto K, Buettner C* (2021) Brain insulin signalling in metabolic homeostasis and disease. *Nat Rev Endocrinol* 17(8): 468–483.
<https://doi.org/10.1038/s41574-021-00498-x>
34. *Heni M, Wagner R, Kullmann S, Gancheva S, Roden M, Peter A, Stefan N, Preissl H, Häring HU, Fritsche A* (2017) Hypothalamic and Striatal Insulin Action Suppresses Endogenous Glucose Production and May Stimulate Glucose Uptake During Hyperinsulinemia in Lean but Not in Overweight Men. *Diabetes* 66(7): 1797–1806.
<https://doi.org/10.2337/db16-1380>
35. *Hummel J, Benkendorf C, Fritsche L, Prystupa K, Vosseler A, Gancheva S, Trenkamp S, Birkenfeld AL, Preissl H, Roden M, Häring HU, Fritsche A, Peter A, Wagner R, Kullmann S, Heni M* (2023) Brain insulin action on peripheral insulin sensitivity in women depends on menstrual cycle phase. *Nat Metab* 5(9): 1475–1482.
<https://doi.org/10.1038/s42255-023-00869-w>
36. *Fujikawa T* (2021) Central regulation of glucose metabolism in an insulin-dependent and -independent manner. *J Neuroendocrinol* 33(4): e12941.
<https://doi.org/10.1111/jne.12941>
37. *Xiao C, Dash S, Stahel P, Lewis GF* (2017) Effects of Intranasal Insulin on Triglyceride-Rich Lipoprotein Particle Production in Healthy Men. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 37(9): 1776–1781.
<https://doi.org/10.1161/ATVBAHA.117.309705>
38. *Khan S, Jena G* (2016) Sodium butyrate reduces insulin-resistance, fat accumulation and dyslipidemia in type-2 diabetic rat: A comparative study with metformin. *Chem Biol Interact* 254: 124–134.
<https://doi.org/10.1016/j.cbi.2016.06.007>
39. *Min QQ, Qin LQ, Sun ZZ, Zuo WT, Zhao L, Xu JY* (2018) Effects of Metformin Combined with Lactoferrin on Lipid Accumulation and Metabolism in Mice Fed with High-Fat Diet. *Nutrients* 10(11): 1628.
<https://doi.org/10.3390/nu10111628>
40. *Biondi B* (2023) Subclinical Hypothyroidism in Patients with Obesity and Metabolic Syndrome: A Narrative Review. *Nutrients* 16(1): 87.
<https://doi.org/10.3390/nu16010087>
41. *Meng X, Xu S, Chen G, Derwahl M, Liu C* (2017) Metformin and thyroid disease. *J Endocrinol* 233(1): R43–R51.
<https://doi.org/10.1530/JOE-16-0450>
42. *Krysiak R, Kowalce K, Okopień B* (2020) Different effects of metformin on hypothalamic-pituitary-thyroid axis activity in levothyroxine-treated and levothyroxine-naïve women with non-autoimmune hypothyroidism. *J Clin Pharm Ther* 45(6): 1427–1433.
<https://doi.org/10.1111/jcpt.13247>
43. *Krysiak R, Kowalce K, Okopień B* (2022) Thyroid Antibody Titers and Hypothalamic-Pituitary-Thyroid Axis Activity in Levothyroxine-Treated Women With Autoimmune Subclinical Hypothyroidism Receiving Atorvastatin or Metformin. *J Clin Pharmacol* 62(12): 1566–1573.
<https://doi.org/10.1002/jcph.2123>
44. *Xu Z, Ye H, Xiao W, Sun A, Yang S, Zhang T, Sha X, Yang H* (2022) Metformin Attenuates Inflammation and Fibrosis in Thyroid-Associated Ophthalmopathy. *Int J Mol Sci* 23(24): 15508.
<https://doi.org/10.3390/ijms232415508>
45. *Shpakov AO* (2021) Improvement Effect of Metformin on Female and Male Reproduction in Endocrine Pathologies and Its Mechanisms. *Pharmaceuticals (Basel)* 14(1): 42.
<https://doi.org/10.3390/ph14010042>

Effectiveness of Course Use of Metformin and its Combination with Intranasal Insulin for Treatment of Rats with “Cafeteria Diet”-Induced Obesity

K. V. Derkach^{a, *}, I. I. Zorina^a, and A. O. Shpakov^{a, b}

^a*Sechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry, Russian Academy of Sciences, St. Petersburg, Russia*

^b*St. Petersburg State University, St. Petersburg, Russia*

*e-mail: derkach_k@list.ru

The “cafeteria diet,” which includes an excess of saturated fats and easily digestible carbohydrates, leads to obesity and is a risk factor for the development of type 2 diabetes. Metformin (MF) is often used to correct diet-induced obesity (DIO), but in some patients it causes serious side effects, which requires a reduction in its doses, including through combined use with drugs that potentiate the effects of MF. A candidate for the role of such drugs is intranasally administered insulin (INI), which itself has a restorative potential in the treatment of metabolic disorders. The goal of the work was to study the effectiveness of a three-week combined use of MF (100 mg/kg/day, perorally) with INI in two doses (1.5 and 6.0 IU/kg/day) for the correction of metabolic and hormonal disorders in male rats with DIO induced by a “cafeteria diet”. It was shown that in rats with DIO, the combination of MF and INI normalized body weight and abdominal fat, restored glucose homeostasis, lipid metabolism, basal and glucose-stimulated levels of insulin and leptin. Compared with MF monotherapy, the combined use of MF and INI more effectively restored sensitivity to insulin, assessed by a decrease in the insulin resistance index, and also normalized glucose tolerance, assessed by a decrease in the value of AUC_{0-120} , the integrated area under glucose concentration curves in the glucose tolerance test. The combination of MF with INI at a dose of 1.5 IU/kg/day normalized the hormonal status of the thyroid system, disturbed in DIO, while the combination of MF with INI at a dose of 6 IU/kg/day worsened the hypothyroid state, mainly due to hyperactivation of thyroid-stimulating hormone secretion and the development resistance of the thyroid gland to it. Thus, for the correction of metabolic and hormonal parameters in DIO, including the restoration of the functions of the thyroid system, the use of MF with relatively low doses of INI, which does not have a negative effect on the thyroid axis, is promising.

Keywords: metformin, intranasal insulin, obesity, high-calorie diet, insulin resistance, hyperleptinemia, thyroid hormone, thyroid-stimulating hormone, male rats, endocrine system