



УДК 577.17

<https://www.doi.org/10.33910/2687-1270-2021-2-4-399-411>

Совместное применение метформина и интраназального инсулина нормализует чувствительность к глюкозе и гормональный статус у крыс с диабетом 2 типа

К. В. Деркач^{✉1}, В. М. Бондарева¹, Н. Е. Басова¹, Л. А. Кузнецова¹, А. О. Шпаков¹

¹ Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И. М. Сеченова РАН, 194223, Россия, г. Санкт-Петербург, пр. Тореза, д. 44

Сведения об авторах

Кира Викторовна Деркач,
SPIN-код: 6925-1558,
Scopus AuthorID: 6603743572,
ResearcherID: AAN-1060-2020,
ORCID: 0000-0001-6555-9540,
e-mail: derkatch_k@list.ru

Вера Михайловна Бондарева,
SPIN-код: 1896-0263,
Scopus AuthorID: 7005696695,
ResearcherID: T-6906-2017,
ORCID: 0000-0002-3761-1222,
e-mail: bondver@mail.ru

Наталья Евгеньевна Басова,
SPIN-код: 7047-8940,
Scopus AuthorID: 7004372495,
ResearcherID: AAN-2150-2020,
ORCID: 0000-0002-7316-2882,
e-mail: basovnat@mail.ru

Людмила Александровна
Кузнецова,
SPIN-код: 9168-5636,
Scopus AuthorID: 7203006089,
ORCID: 0000-0001-9215-6018,
e-mail: praskovia1231@mail.ru

Александр Олегович Шпаков,
SPIN-код: 6335-8311,
Scopus AuthorID: 35231150500,
ResearcherID: R-6581-2016,
ORCID: 0000-0002-4293-3162,
e-mail: alex_shpakov@list.ru

Для цитирования:

Деркач, К. В., Бондарева, В. М.,
Басова, Н. Е., Кузнецова, Л. А.,
Шпаков, А. О.
(2021) Совместное применение
метформина и интраназального
инсулина нормализует
чувствительность к глюкозе
и гормональный статус у крыс
с диабетом 2 типа.

Интегративная физиология,
т. 2, № 4, с. 399–411.

<https://www.doi.org/10.33910/2687-1270-2021-2-4-399-411>

Получена 20 сентября 2021;
прошла рецензирование

Аннотация. Метформин, препарат первой линии выбора при лечении сахарного диабета 2 типа (СД2), действуя как на периферические ткани, так и на различные области мозга, восстанавливает метаболические и гормональные показатели. Интраназально вводимый инсулин (ИИ), попадая в мозг, нормализует ослабленную при СД2 инсулиновую сигнализацию в ЦНС, в том числе в гипоталамусе, и тем самым улучшает центральную регуляцию метаболизма, пищевого поведения и функций эндокринной системы. Нами высказано предположение, что при совместном использовании метформина и ИИ будет наблюдаться усиление их восстанавливающего эффекта на метаболические и гормональные показатели при СД2. Целью работы было изучить влияние лечения самцов крыс с СД2, вызванным высококалорийной диетой и низкой дозой стрептозотоцина, с помощью метформина (4 недели, 100 мг/кг/сутки) и ИИ (4 недели, 0,5 МЕ/крысу/сутки), по отдельности и совместно, на чувствительность к глюкозе, уровни инсулина, лептина, глюкагоноподобного пептида-1 (ГПП-1), тиреоидных гормонов и тестостерона. Монотерапия метформином улучшила глюкозный гомеостаз, нормализовала базальные и стимулированные глюкозой уровни инсулина, лептина и ГПП-1. Совместное применение метформина с ИИ усиливало восстанавливающие эффекты метформина на чувствительность тканей к инсулину и уровни лептина. Метформин и ИИ нормализовали уровни тиреоидных гормонов и тестостерона, а их совместное применение вызывало активацию тиреоидной системы, о чем свидетельствует повышение уровней тиреоидных гормонов. Полученные нами данные указывают на перспективы комбинированного применения метформина и ИИ для улучшения метаболических и гормональных показателей, а также тиреоидного и андрогенного статуса у пациентов с СД2.

Ключевые слова: интраназальный инсулин, метформин, сахарный диабет, инсулин, глюкагоноподобный пептид-1, лептин, тиреоидные гормоны, толерантность к глюкозе

25 октября 2021;
принята 29 октября 2021.

Финансирование: Работа поддержана средствами Минобрнауки России (соглашение № 075-1502020-916 от 16.11.2020 г. о предоставлении гранта в форме субсидий из федерального бюджета на осуществление государственной поддержки создания и развития НЦМУ «Павловский центр»).

Права: © К. В. Деркач, В. М. Бондарева, Н. Е. Басова, Л. А. Кузнецова, А. О. Шпаков (2021). Опубликовано Российским государственным педагогическим университетом им. А. И. Герцена. Открытый доступ на условиях лицензии CC BY-NC 4.0.

Combined use of metformin and intranasal insulin normalise glucose sensitivity and hormonal status in rats with type 2 diabetes

K. V. Derkach^{✉1}, V. M. Bondareva¹, N. E. Basova¹, L. A. Kuznetsova¹, A. O. Shpakov¹

¹ Sechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry, Russian Academy of Sciences, 44 Thoreza Ave., Saint Petersburg 194223, Russia

Authors

Kira V. Derkach,
SPIN: [6925-1558](#),
Scopus AuthorID: [6603743572](#),
ResearcherID: [AAN-1060-2020](#),
ORCID: [0000-0001-6555-9540](#),
e-mail: derkach_k@list.ru

Vera M. Bondareva,
SPIN: [1896-0263](#),
Scopus AuthorID: [7005696695](#),
ResearcherID: [T-6906-2017](#),
ORCID: [0000-0002-3761-1222](#),
e-mail: bondver@mail.ru

Natalia E. Basova,
SPIN: [7047-8940](#),
Scopus AuthorID: [7004372495](#),
ResearcherID: [AAN-2150-2020](#),
ORCID: [0000-0002-7316-2882](#),
e-mail: basovnat@mail.ru

Ludmila A. Kuznetsova,
SPIN: [9168-5636](#),
Scopus AuthorID: [7203006089](#),
ORCID: [0000-0001-9215-6018](#),
e-mail: praskovia1231@mail.ru

Alexander O. Shpakov,
SPIN: [6335-8311](#),
Scopus AuthorID: [35231150500](#),
ResearcherID: [R-6581-2016](#),
ORCID: [0000-0002-4293-3162](#),
e-mail: alex_shpakov@list.ru

For citation:

Derkach, K. V., Bondareva, V. M., Basova, N. E., Kuznetsova, L. A.,

Abstract. Metformin is the first-line drug of choice in the treatment of type 2 diabetes mellitus (T2DM). It acts on peripheral tissues as well as different regions of the brain and restores metabolic and hormonal parameters. Insulin administered intranasally (II) enters the brain and normalises the insulin signaling in the central nervous system, including the hypothalamus, which is weakened in T2DM. This improves the central regulation of metabolism, food intake and functions of the endocrine system. We suggested that the combined use of metformin and II should enhance their restorative effect on the metabolic and hormonal parameters in T2DM. The study was conducted on male rats with T2DM2 induced by a high-calorie diet and a low-dose streptozotocin. The male rats with T2DM were administered metformin (4 weeks, 100 mg/kg/day) and II (4 weeks, 0.5 IU/rat/day), separately and together. The aim of the study was to analyse the effect of the treatment on glucose sensitivity and the levels of insulin, leptin, glucagon-like peptide-1 (GLP-1), thyroid hormones and testosterone. Metformin monotherapy improved glucose homeostasis and normalised basal and glucose-stimulated levels of insulin, leptin and GLP-1. Co-administration of metformin with II enhanced the restorative effects of metformin on tissue insulin sensitivity and leptin levels. Metformin and II normalised the levels of thyroid hormones and testosterone, and their combined use caused the activation of the thyroid system, as indicated by an increase in the levels of thyroid hormones. The data obtained indicate the prospects for the combined use of metformin and II for improving metabolic and hormonal parameters. It may also be used to improve the thyroid and androgenic status in patients with T2DM.

Keywords: intranasal insulin, metformin, diabetes mellitus, insulin, glucagon-like peptide-1, leptin, thyroid hormones, glucose tolerance

Shpakov, A. O.
(2021) Combined use of metformin and intranasal insulin normalise glucose sensitivity and hormonal status in rats with type 2 diabetes. *Integrative Physiology*, vol. 2, no. 4, pp. 399–411.
<https://www.doi.org/10.33910/2687-1270-2021-2-4-399-411>

Received 20 September 2021;
reviewed 25 October 2021;
accepted 29 October 2021.

Funding: The study was supported by the Ministry of Science and Higher Education of Russia as part of Agreement No. 075-1502020-916 of 16 November 2020.

The agreement provides a grant from the Federal budget as part of the government programme that supports the creation and development of the world-class research center Pavlov Center for Integrative Physiology to Medicine, High-Tech Healthcare and Technologies of Stress Resistance.

Copyright: © K. V. Derkach, V. M. Bondareva, N. E. Basova, L. A. Kuznetsova, A. O. Shpakov (2021). Published by Herzen State Pedagogical University of Russia. Open access under [CC BY-NC License 4.0](https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/).

Введение

Типичными признаками сахарного диабета 2 типа (СД2), наряду с повышением массы тела и дислипидемией, являются сниженная толерантность к глюкозе, гиперинсулинемия, гиперлептинемия, нарушение инкретинового ответа на глюкозную нагрузку, дисфункции эндокринной системы, в том числе изменения уровней тиреоидных и половых стероидных гормонов (Ha, Sherman 2020; Named et al. 2011; Leisegang et al. 2021). Это обусловлено нарушениями метаболических процессов в тканях, усилением в них окислительного стресса и воспаления, дисрегуляцией функциональной активности гипоталамических звеньев эндокринной системы. Важную роль в такой регуляции играют инсулин и лептин, которые поступают в ЦНС через гематоэнцефалический барьер (ГЭБ) с помощью рецепторопосредованных механизмов. Однако в условиях длительной гипергликемии и резистентности к инсулину и лептину транспорт инсулина и лептина в ЦНС нарушается, что приводит к их дефициту в гипоталамусе и других отделах мозга при СД2 (Banks 2020; Derkach et al. 2019). Ослабление инсулиновой и лептиновой

сигнализации в гипоталамусе является одной из первопричин снижения экспрессии и секреции гипоталамических рилизинг-факторов — тиролиберина и гонадолиберина, стимулирующих выброс аденогипофизом тиреотропного гормона и гонадотропинов (Costanzo, Knoblovits 2016; He et al. 2021; Shpakov 2016). Снижение активности инсулиновых и лептиновых путей в гипоталамусе и других отделах мозга приводит к нарушениям пищевого поведения и центральной регуляции углеводного и липидного обмена (Boucein et al. 2021; Scherer et al. 2021; Shpakov et al. 2015).

Перспективными подходами для восстановления сигнальных путей инсулина и лептина в ЦНС при СД2 являются повышение уровня инсулина и лептина в мозге, повышение чувствительности нейронов к инсулину и лептину путем подавления активности негативных регуляторов их сигнальных путей, а также нормализация метаболизма в нейронах, являющихся мишенями инсулина и лептина (Bhattamisra et al. 2020; Scherer et al. 2021). Для повышения уровня инсулина в ЦНС может быть использован интраназальный способ его введения, позволяющий, минуя ГЭБ, обеспечить доставку гормона в структуры

мозга (Bhattamisra et al. 2020; Scherer et al. 2021; Shprakov et al. 2015). В настоящее время интраназально вводимый инсулин (ИИ) широко применяют для лечения болезни Альцгеймера и других когнитивных дисфункций, ассоциированных с ослаблением инсулиновых путей в ЦНС (Bhattamisra et al. 2020; Hallschmid 2021). Для нормализации энергетического статуса нейронов может быть использована терапия метформинем, препаратом первой линии выбора при лечении СД2. Основной мишенью метформина как на периферии, так и в структурах мозга является фермент АМФ-активируемая протеинкиназа (АМФПК), основной энергетический сенсор клетки (Shprakov 2021; Wang, Cheng 2018). На периферии, где активность АМФПК в условиях диабетической патологии снижается, метформин оказывает на фермент стимулирующее влияние, в то время как в мозге, где при СД2 активность АМФПК, как правило, повышается, метформин ее снижает до контрольных значений (Derkach et al. 2019; Wang, Cheng 2018). Фермент АМФПК является также мишенью для лептина, причем как в мозге, так и на периферии воздействие на его активность лептина и метформина является однонаправленным (Kwon et al. 2016). Имеются доказательства синергизма между инсулиновыми и лептиновыми путями в гипоталамусе, что обусловлено наличием общих сигнальных звеньев — белков-субстратов инсулинового рецептора, фосфатидилинозитол-3-киназы и Akt-киназы (Carvalho et al. 2005). Вследствие этого метформин способен в определенной степени компенсировать дефицит лептина и инсулина в ЦНС.

Ранее нами было показано, что ИИ улучшает метаболические и гормональные показатели у крыс с различными моделями СД2, и важную роль в этом играют гипоталамические механизмы (Derkach et al. 2018, 2020b). В свою очередь, терапия метформинем крыс с различными моделями СД2 не только снижает у них массу тела и улучшает чувствительность к глюкозе и инсулину, но и частично восстанавливает функции эндокринной системы (Derkach et al. 2020a; Shprakov, Derkach 2018). На основании этих результатов мы предположили, что совместное применение ИИ и метформина может оказаться более эффективным в отношении восстановления метаболического и гормонального статуса в сравнении с монотерапией этими препаратами. Для проверки этого предположения было предпринято настоящее исследование, целью которого было изучить влияние лечения крыс с СД2 с помощью метформина и ИИ, по отдельности и совместно, на чувствительность

к глюкозе и инсулину, на уровне инсулина, лептина, глюкагоноподобного пептида-1 (ГПП-1), тиреоидных гормонов и тестостерона в крови.

Методика

Экспериментальную работу с самцами крыс Wistar осуществляли в соответствии с требованиями Комитета по биоэтике ИЭФБ РАН, а также European Communities Council Directive 1986 (86/609/ЕЕС) и Guide for the Care and Use of Laboratory Animals.

Модель СД2 у крыс вызывали с помощью высококалорийной диеты, которая включала потребление животными избыточного количества насыщенных жиров (ежедневная добавка 5–6 г маргарина/крысу к стандартному сухому корму) и потребление 30%-ного раствора сахарозы вместо питьевой воды. Крыс переводили на диету в возрасте 26 дней, после окончания молочного вскармливания. Через 10 недель после начала диеты животным внутривентриально вводили стрептозотин в дозе 15 мг/кг, растворенный в цитратном буфере (0,1 М, рН 4,5). Такая доза не вызывает сильного повреждения инсулин-продуцирующих β -клеток, но нарушает их ответ на повышение концентрации глюкозы в крови, результатом чего являются гипергликемия, гиперинсулинемия и другие нарушения, характерные для сильно выраженного СД2. Начиная с 15-й недели диеты, крыс распределяли на группы и начинали лечить метформинем (перорально через зонд, в течение 4 недель, 100 мг/кг/сутки) (Sigma, США) или бычьим инсулином (интраназально, в течение 4 недель, 0,5 МЕ/крысу/сутки, Sigma, США) по отдельности или совместно. Дозы метформина и инсулина были выбраны на основе результатов ранних исследований (Derkach et al. 2015; 2020a). Сформировали 5 групп, по 6 крыс в каждой: контроль (группа К), диабет без лечения (СД), диабет с лечением метформинем (СДМ), диабет с лечением ИИ (СДИ) и диабет с лечением комбинацией метформина и ИИ (СДМИ). Группы К и СД вместо препаратов в том же объеме и в те же сроки получали физиологический раствор.

В конце эксперимента для оценки толерантности к глюкозе и гормонального ответа на глюкозную нагрузку проводили оральную глюкозотолерантный тест (ОГТТ), для чего животным перорально вводили глюкозу в дозе 2 г/кг и оценивали уровни глюкозы, инсулина, лептина и ГПП-1 до глюкозной нагрузки и в течение 120 мин после нее. Уровень глюкозы оценивали с помощью тест-полосок One Touch Ultra (США)

и глюкометра Life Scan Johnson & Johnson (Дания). Уровни инсулина, лептина и ГПП-1 оценивали с помощью ИФА-наборов Rat-Insulin (Merckodia AB, Швеция), ELISA for Leptin, Rat (Cloud-Clone Corp., США) и ELISA kit for Glucagon like Peptide-1 (GLP-1) соответственно. Время для забора крови при определении уровней гормонов после глюкозной нагрузки, которое выбирали на основании результатов собственных исследований и данных литературы, составило для ГПП-1 — 15 мин, для инсулина и лептина — 120 мин. Уровни тиреоидных гормонов в крови — свободного (fT4) и общего (tT4) тироксина и свободного (fT3) и общего (tT3) трийодтиронина — определяли с помощью наборов «Иммунотех» (Россия), уровень тестостерона — с помощью набора «Алкор-Био» (Россия).

Статистический анализ полученных данных проводили с помощью программы Microsoft Office Excel 2007. Нормальность распределения проверяли на основе использования критерия Шапиро — Уилка. Для сравнения двух выборок с нормальным распределением использовали

t-критерий Стьюдента. Данные представляли как $M \pm SD$, статистически значимыми считали отличия при $p < 0,05$.

Результаты

Четырехнедельное лечение крыс метформином приводило к снижению массы тела и жировой ткани, а также индекса инсулиновой резистентности (ИР), рассчитанного как произведение уровней глюкозы и инсулина натощак (табл. 1). Лечение ИИ слабо влияло на массу тела и жировой ткани, но снижало индекс ИР, в первую очередь вследствие снижения уровня инсулина в крови (табл. 1). Совместное применение метформина и ИИ усиливало снижение индекса ИР (табл. 1).

Лечение самцов крыс с помощью метформина и ИИ приводило к частичному восстановлению у них чувствительности к глюкозе, на что указывают сниженные в сравнении с группой СД значения AUC_{0-120} (площадь под кривой «концентрация глюкозы, мМ — время, мин») и содержание глюкозы в крови через 120 мин после нагрузки (рис. 1, табл. 2). Метформин

Табл. 1. Влияние метформина и интраназально вводимого инсулина на массу тела и жировой ткани, уровни глюкозы и инсулина и индекс инсулиновой резистентности у самцов крыс Wistar с СД2

Группа крыс	Масса тела, г	Масса жира, г	Глюкоза, натощак, мМ	Инсулин, натощак, нг/мл	Индекс ИР, усл. ед.
К	341 ± 19	7,3 ± 1,0	4,9 ± 0,2	0,64 ± 0,13	3,08 ± 0,38
СД	422 ± 16 ^a	12,6 ± 1,2 ^a	6,7 ± 0,4 ^a	1,22 ± 0,24 ^a	8,22 ± 0,79 ^a
СДМ	359 ± 17 ^b	9,5 ± 0,9 ^{a,b}	5,5 ± 0,2 ^{a,b}	0,87 ± 0,15 ^b	4,82 ± 0,48 ^{a,b}
СДИ	399 ± 22 ^a	10,9 ± 1,7 ^a	5,9 ± 0,5 ^{a,b}	0,68 ± 0,24 ^b	4,07 ± 0,90 ^b
СДМИ	352 ± 22 ^b	8,6 ± 1,2 ^b	4,7 ± 0,3 ^{b,c}	0,65 ± 0,20 ^b	3,01 ± 0,62 ^{b,c}

Примечание: ^a — различия между контролем и диабетическими группами статистически значимы при $p < 0,05$; ^b — различия между группой СД и диабетическими группами с лечением статистически значимы при $p < 0,05$; ^c — различия между группами СДМ и СДМИ статистически значимы при $p < 0,05$. Данные представлены как $M \pm SD$, $n = 6$.

Table 1. Effect of metformin and intranasally administered insulin on body weight and adipose tissue, glucose and insulin levels, and insulin resistance index in male Wistar rats with T2DM

Group of rats	Body weight, g	Fat weight, g	Glucose, fasting test, mM	Insulin, fasting test, ng/ml	IR index, conv. units
C	341 ± 19	7.3 ± 1.0	4.9 ± 0.2	0.64 ± 0.13	3.08 ± 0.38
D	422 ± 16 ^a	12.6 ± 1.2	6.7 ± 0.4 ^a	1.22 ± 0.24 ^a	8.22 ± 0.79 ^a
DM	359 ± 17 ^b	9.5 ± 0.9 ^{a,b}	5.5 ± 0.2 ^{a,b}	0.87 ± 0.15 ^b	4.82 ± 0.48 ^{a,b}
DI	399 ± 22 ^a	10.9 ± 1.7 ^a	5.9 ± 0.5 ^{a,b}	0.68 ± 0.24 ^b	4.07 ± 0.90 ^b
DMI	352 ± 22 ^b	8.6 ± 1.2 ^b	4.7 ± 0.3 ^{b,c}	0.65 ± 0.20 ^b	3.01 ± 0.62 ^{b,c}

Note: ^a—differences between control and diabetic groups are statistically significant at $p < 0.05$; ^b—differences between the D group and the diabetic treatment groups are statistically significant at $p < 0.05$; ^c—differences between the DM and DMI groups are statistically significant at $p < 0.05$. Data are presented as $M \pm SD$, $n = 6$.

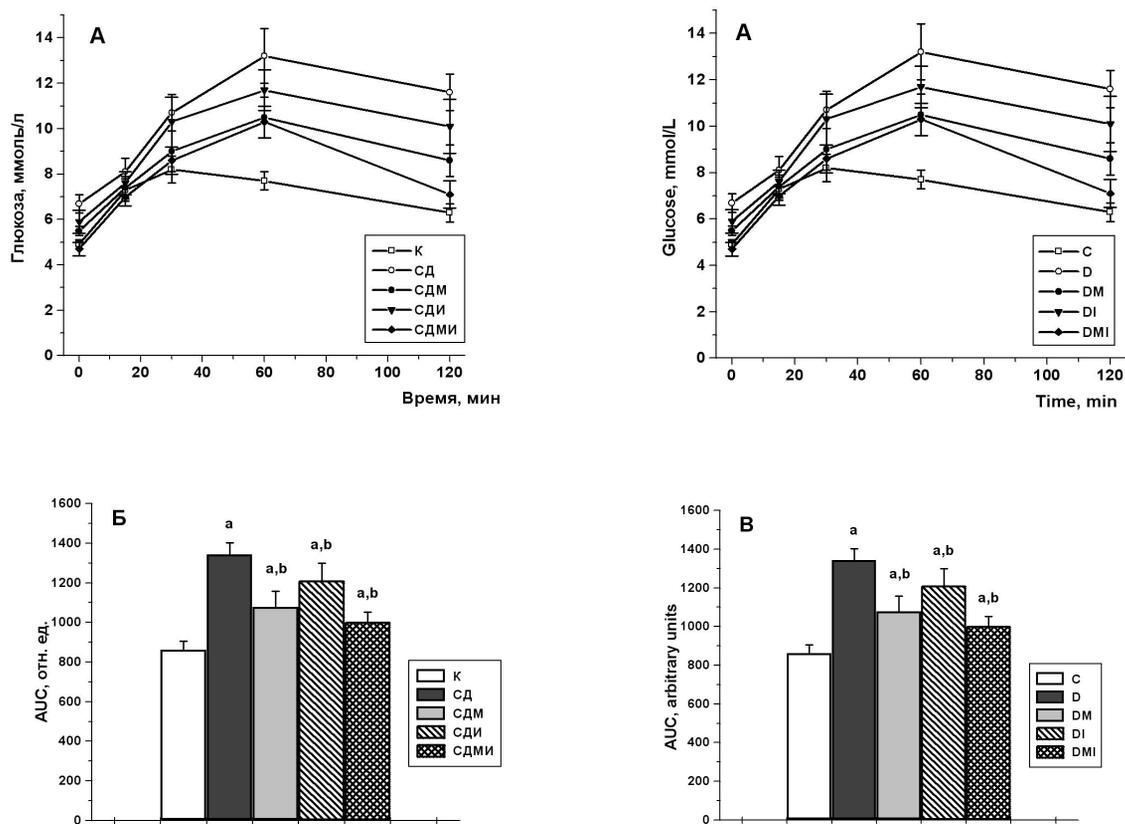


Рис. 1. Влияние метформина и интраназально вводимого инсулина на уровни глюкозы в крови (А) и на значения AUC_{0-120} (Б) при проведении орального глюкозотолерантного теста у самцов крыс Wistar с СД2. К — контроль, СД — диабет, СДМ — диабет с лечением метформином, СДИ — диабет с лечением ИИ, СДМИ — диабет с лечением метформином и ИИ. ^a — различия между контролем и диабетическими группами статистически значимы при $p < 0,05$; ^b — различия между группой СД и диабетическими группами с лечением статистически значимы при $p < 0,05$. Данные представлены как $M \pm SD$, $n = 6$

Fig. 1. Effect of metformin and intranasally administered insulin on blood glucose levels (A) and on AUC_{0-120} values (B) during the oral glucose tolerance test in male Wistar rats with T2DM. C—control group, D—diabetes without treatment, DM—diabetes with metformin treatment, DI—diabetes treated with intranasal insulin, DMI—diabetes treated with a combination of metformin and intranasal insulin. ^a—differences between control and diabetic groups are statistically significant at $p < 0.05$; ^b—differences between the D group and the diabetic treatment groups are statistically significant at $p < 0.05$; ^c—differences between the DM and DMI groups are statistically significant at $p < 0.05$. Data are presented as $M \pm SD$, $n = 6$

в плане нормализации толерантности к глюкозе был эффективнее ИИ, в то время как совместное применение метформина и ИИ по эффективности превосходило монотерапию метформином. Уровень глюкозы в крови через 120 мин после нагрузки глюкозой в группах СДМИ и СДМ статистически значимо отличался ($p = 0,004$) и был снижен на 38,8% и 25,9% по сравнению с группой СД, хотя различия значений AUC_{0-120} между группами СДМ и СДМИ не были статистически значимыми ($p = 0,083$) (рис. 1, табл. 2).

В группах СДМ и СДМИ отмечали снижение базальных и стимулированных глюкозой

(через 120 мин после глюкозной нагрузки) уровень инсулина и лептина, повышенных в группе СД (табл. 2). При этом при совместном применении метформина и ИИ восстанавливающий эффект на стимулированную глюкозой продукцию лептина был выражен сильнее, чем в случае монотерапии (табл. 2). Лечение с помощью ИИ в значительной степени снижало базальный уровень инсулина, но не влияло на стимуляцию его продукции глюкозной нагрузкой. В группе СДИ отмечали снижение базального и стимулированного глюкозой уровней лептина, но различия с необработанной диабетической группой были статистически значимыми

только для стимулированного уровня этого адипокина (табл. 2). У диабетических крыс был снижен базальный и стимулированный глюкозой уровни ГПП-1, и лечение метформином полностью их восстанавливало. Однако в группах СДИ и СДМИ не было выявлено влияния используемых препаратов на базальный уровень ГПП-1 и было достигнуто менее выраженное в сравнении с монотерапией метформином восстановление стимулированного глюкозой уровня этого инкретина (табл. 2).

У крыс с СД2 отмечали тенденцию к снижению уровня тироксина и достоверное снижение уровней fT3 и tT3 (рис. 2). Лечение метформи-

ном частично восстанавливало тиреоидный статус, в то время как совместное применение метформина и ИИ вызывало дополнительную активацию тиреоидной оси, на что указывает значительное повышение продукции тироксина и трийодтиронина не только по отношению к диабетической группе, а в случае tT4 и fT3 и по отношению к группе СДМ (рис. 2). Лечение ИИ также оказывало на уровень тиреоидных гормонов стимулирующее влияние, но оно было менее выражено в сравнении с группой СДМИ (рис. 2). Показано также, что терапия метформином и интраназальным инсулином приводит к нормализации андрогенного статуса (рис. 2).

Табл. 2. Влияние метформина и интраназально вводимого инсулина на базальные и стимулированные глюкозой уровни глюкозы, инсулина, лептина и глюкагоноподобного пептида-1 (ГПП-1) в крови самцов крыс Wistar с СД2

Группа крыс	Глюкоза, 120 мин, мМ	Инсулин, баз., нг/мл	Инсулин, 120 мин, нг/мл	Лептин, баз., нг/мл	Лептин, 120 мин, нг/мл	ГПП-1, баз., пг/мл	ГПП-1, 15 мин, пг/мл
К	6,3 ± 0,4	0,64 ± 0,13	0,90 ± 0,28	2,76 ± 0,57	3,65 ± 0,77	28,2 ± 3,3	67,3 ± 9,9
СД	11,6 ± 0,8	1,22 ± 0,24	2,45 ± 0,44	3,97 ± 0,73 ^a	9,20 ± 1,32 ^a	22,3 ± 3,3 ^a	42,2 ± 6,0 ^a
СДМ	8,6 ± 0,7 ^{a,b}	0,87 ± 0,15 ^b	1,29 ± 0,24 ^b	2,41 ± 0,42 ^b	4,87 ± 0,64 ^b	30,6 ± 2,6 ^b	63,7 ± 4,0 ^b
СДИ	10,1 ± 1,2 ^{a,b}	0,68 ± 0,24 ^b	2,07 ± 0,53	3,11 ± 0,43	6,95 ± 1,05 ^{a,b}	21,2 ± 1,8 ^a	55,8 ± 10,1
СДМИ	7,1 ± 0,6 ^{b,c}	0,65 ± 0,20 ^b	1,02 ± 0,28 ^b	2,19 ± 0,44 ^b	3,10 ± 0,46 ^{b,c}	22,1 ± 1,2 ^{a,c}	58,4 ± 5,2 ^b

Примечание: ^a — различия между контролем и диабетическими группами статистически значимы при $p < 0,05$; ^b — различия между группой СД и диабетическими группами с лечением статистически значимы при $p < 0,05$; ^c — различия между группами СДМ и СДМИ статистически значимы при $p < 0,05$. Данные представлены как $M \pm SD$, $n = 6$.

Table 2. Effect of metformin and intranasally administered insulin on basal and glucose-stimulated levels of glucose, insulin, leptin, and glucagon-like peptide-1 (GLP-1) in the blood of male Wistar rats with T2DM

Group of rats	Glucose, 120 min, mM	Insulin, basal, ng / ml	Insulin, 120 min, ng / ml	Leptin, basal, ng / ml	Leptin, 120 min, ng / ml	GLP-1, basal, pg / ml	GLP-1, 15 min, pg / ml
C	6.3 ± 0.4	0.64 ± 0.13	0.90 ± 0.28	2.76 ± 0.57	3.65 ± 0.77	28.2 ± 3.3	67.3 ± 9.9
D	11.6 ± 0.8 ^a	1.22 ± 0.24	2.45 ± 0.44	3.97 ± 0.73 ^a	9.20 ± 1.32 ^a	22.3 ± 3.3 ^a	42.2 ± 6.0 ^a
DM	8.6 ± 0.7 ^{a,b}	0.87 ± 0.15 ^b	1.29 ± 0.24	2.41 ± 0.42 ^b	4.87 ± 0.64 ^b	30.6 ± 2.6 ^b	63.7 ± 4.0 ^b
DI	10.1 ± 1.2 ^{a,b}	0.68 ± 0.24 ^b	2.07 ± 0.53	3.11 ± 0.43	6.95 ± 1.05 ^{a,b}	21.2 ± 1.8 ^a	55.8 ± 10.1
DMI	7.1 ± 0.6 ^{b,c}	0.65 ± 0.20 ^b	1.02 ± 0.28 ^b	2.19 ± 0.44 ^b	3.10 ± 0.46 ^{b,c}	22.1 ± 1.2 ^{a,c}	58.4 ± 5.2 ^b

Note: ^a—differences between control and diabetic groups are statistically significant at $p < 0.05$; ^b—differences between the D group and the diabetic treatment groups are statistically significant at $p < 0.05$; ^c—differences between the DM and DMI groups are statistically significant at $p < 0.05$. Data are presented as $M \pm SD$, $n = 6$.

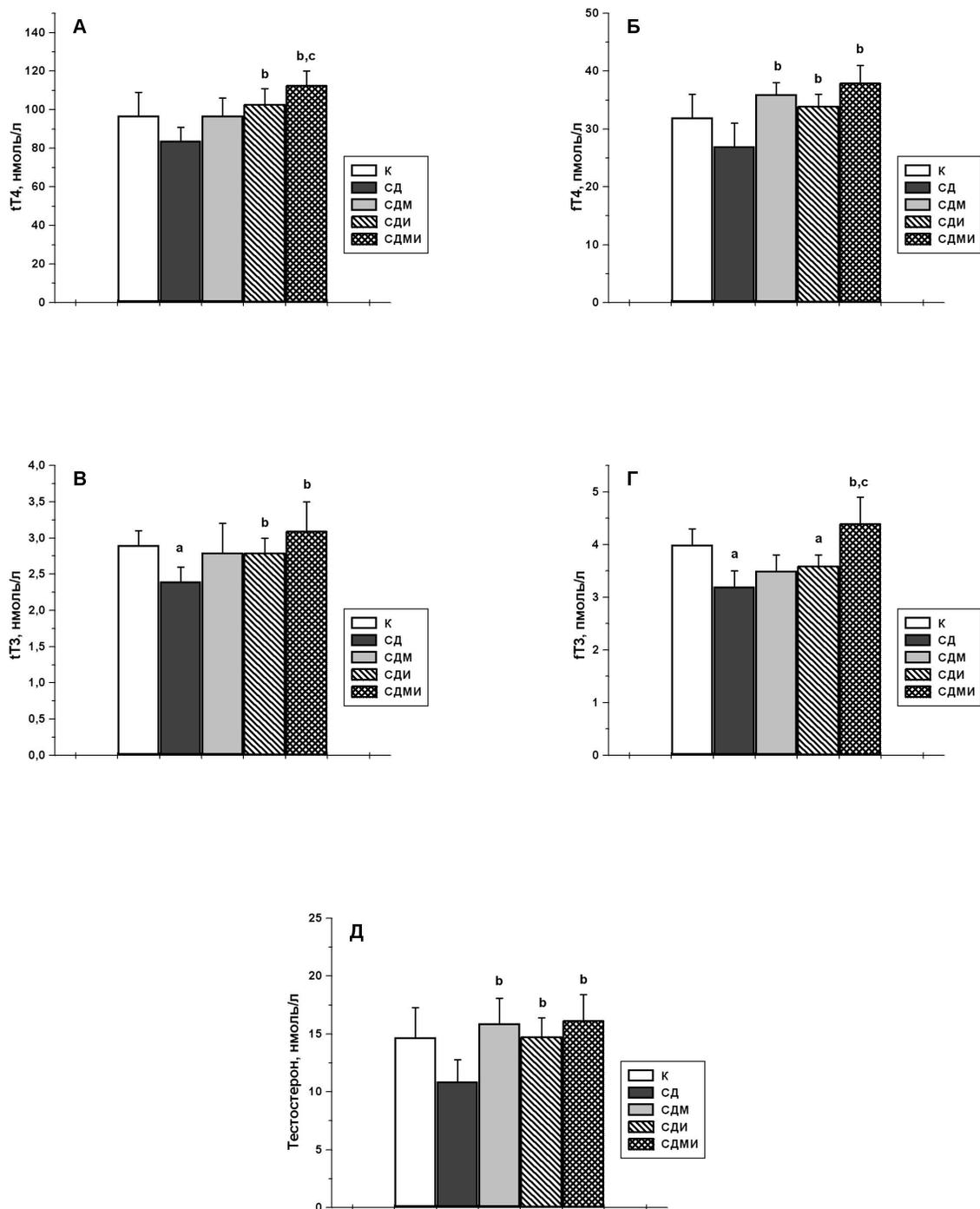


Рис. 2. Влияние метформина и интраназально вводимого инсулина на уровни тиреоидных гормонов и тестостерона в крови самцов крыс с СД2.

А — общий тироксин, Б — свободный тироксин, В — общий трийодтиронин, Г — свободный трийодтиронин, Д — тестостерон. К — контроль, СД — диабет, СДМ — диабет с лечением метформином, СДИ — диабет с лечением ИИ, СДМИ — диабет с лечением метформином и ИИ. ^a — различия между контролем и диабетическими группами статистически значимы при $p < 0,05$; ^b — различия между группой СД и диабетическими группами с лечением статистически значимы при $p < 0,05$; ^c — различия между группами СДМ и СДМИ статистически значимы при $p < 0,05$. Данные представлены как $M \pm SD$, $n = 6$

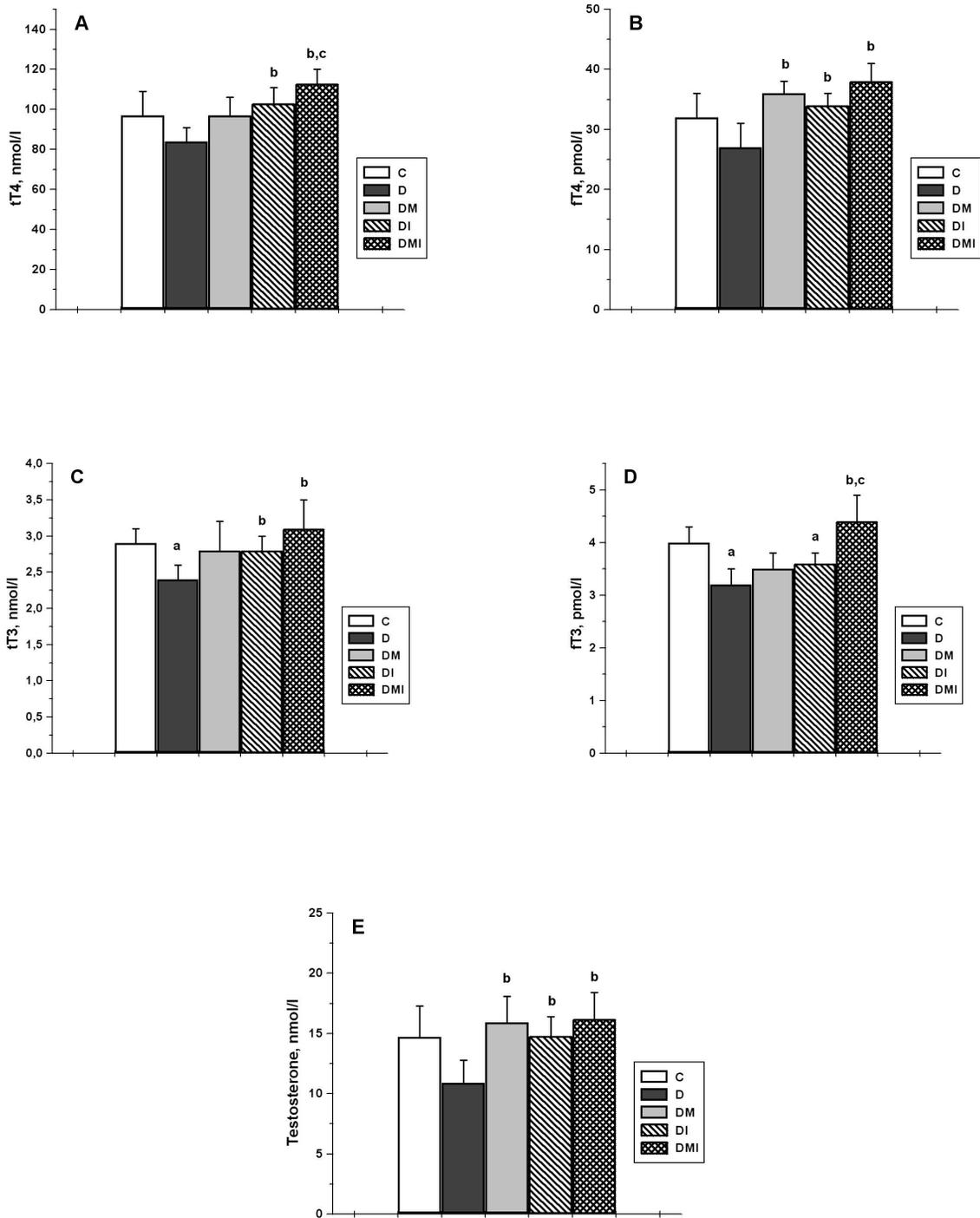


Fig. 2. The effect of metformin and intranasally administered insulin on the levels of thyroid hormones and testosterone in the blood of male rats with T2DM. A—total thyroxine, B—free thyroxine, C—total triiodothyronine, D—free triiodothyronine, D—testosterone. C—control group, D—diabetes without treatment, DM—diabetes with metformin treatment, DI—diabetes treated with intranasal insulin, DMI—diabetes treated with a combination of metformin and intranasal insulin.

^a—differences between control and diabetic groups are statistically significant at $p < 0.05$;

^b—the differences between the D group and the diabetic treatment groups are statistically significant at $p < 0.05$;

^c—the differences between the DM and DMI groups are statistically significant at $p < 0.05$.

Data are presented as $M \pm SD$, $n = 6$

Следует, однако, отметить, что уровень тестостерона в группе СД достоверно не отличался от такового в группе К, хотя и демонстрировал тенденцию к снижению ($p = 0,056$) (рис. 2).

Обсуждение

Метформин широко применяется для улучшения чувствительности к глюкозе и инсулину и нормализации углеводного и липидного обмена у пациентов с СД2, а также предотвращает развитие у них осложнений, в первую очередь со стороны сердечно-сосудистой системы (Baker et al. 2021; Rajjoub Al-Mahdi et al. 2021). Наряду с этим в клинических и экспериментальных исследованиях показано, что метформиновая терапия может быть эффективна для восстановления нарушенных при СД2 функций эндокринной системы (Derkach et al. 2020a; Karla et al. 2019; Shpakov 2021). Это обусловлено способностью метформина нормализовать метаболический и гормональный статус и ослаблять липотоксичность и окислительный стресс, тем самым улучшая функционирование всех основных звеньев гипоталамо-гипофизарной системы, а также положительно влиять на гипоталамические нейроны, ответственные за синтез и секрецию релизинг-факторов гипофизарных гормонов. Мы исследовали восстанавливающее влияние метформиновой терапии на метаболические и гормональные показатели у самцов крыс с СД2, вызванным высококалорийной диетой и низкой дозой стрептозотоцина. В результате было показано восстанавливающее действие метформина не только в отношении глюкозного гомеостаза и чувствительности тканей к инсулину, но и его нормализующее влияние на продукцию адипокина лептина и инкретина ГПП-1, контролирующих энергетический обмен и пищевое поведение. Наряду с этим метформиновая терапия приводила к частичному восстановлению продукции тиреоидных гормонов и полностью восстанавливала продукцию тестостерона. Ранее нами и другими авторами было установлено, что метформин нормализует стероидогенную активность семенников, сниженную в условиях диабетической патологии (Annie et al. 2020; Derkach et al. 2020a; Nna et al. 2019; Zhang et al. 2020).

При СД2 отмечается снижение уровня инсулина в мозге, являющееся результатом ослабления транспорта инсулина через ГЭБ, и, как следствие, ослабление инсулиновой сигнализации в ЦНС. Это приводит к нарушению центральной регуляции энергетического обмена, эндокринным дисфункциям, развитию нейро-

дегенеративных заболеваний и когнитивному дефициту (Shpakov et al. 2015). Вследствие этого повышение уровня инсулина в ЦНС, в том числе с помощью ИИ, рассматривается как один из перспективных путей для предотвращения этих нарушений. Однако до настоящего времени в медицине ИИ применяется для лечения когнитивного дефицита, в том числе при болезни Альцгеймера (Badenes et al. 2021; Bhattamisra et al. 2020; Hallschmid 2021), а его применение для коррекции функциональных нарушений при диабетической патологии ограничивается в основном экспериментальными исследованиями (Derkach et al. 2015; Scherer et al. 2021). Так, нами ранее было показано, что лечение крыс с СД2 с помощью ИИ улучшает у них гипоталамическую регуляцию энергетического обмена, повышает чувствительность периферических тканей к инсулину, что выражается в снижении уровня инсулина в крови при сохранении нормального захвата глюкозы (Derkach et al. 2018; 2020b). У крыс со стрептозотоциновым СД1 длительное лечение ИИ улучшало тиреоидный статус, повышая уровень эффекторного гормона тиреоидной системы — трийодтиронина (Derkach et al. 2015). В настоящем исследовании мы показали, что ИИ восстанавливает продукцию тиреоидных гормонов и тестостерона у крыс с СД2 (рис. 2), а также ослабляет у них ИР и гиперлептемию (табл. 2). Эти данные свидетельствуют о способности ИИ активировать тиреоидную и гонадную системы, как мы полагаем, на уровне гипоталамических тиролиберин- и гонадолиберин-экспрессирующих нейронов, а также через центральные механизмы повышать чувствительность тканей к инсулину и лептину. Повышение чувствительности к инсулину под действием ИИ было показано в клинике (Heni et al. 2014), причем следствием этого было снижение базального уровня инсулина, что было продемонстрировано и нами (табл. 1, табл. 2). Важно отметить, что ИИ в отношении восстановления метаболических и гормональных показателей был менее эффективен в сравнении с метформином, что, как мы полагаем, обусловлено более широким спектром действия метформина, который не только улучшает инсулиновую сигнализацию в ЦНС и на периферии, но и положительно влияет на другие сигнальные каскады. В пользу этого свидетельствуют данные о выраженном восстанавливающем эффекте метформина на базальный и стимулированный глюкозой уровень ГПП-1 у крыс с СД2, в то время как ИИ в сравнительно небольшой степени восстанавливал лишь

стимулированный глюкозой уровень ГПП-1 (табл. 2).

Основной задачей нашего исследования было изучить влияние на метаболические и гормональные показатели совместного применения метформина и ИИ, чтобы обосновать предположение о том, что они способны усиливать эффекты друг друга. Это имеет большое значение для метформиновой терапии, которая у ряда пациентов оказывается малоэффективной или требует повышения фармакологических доз, что, в свою очередь, может стать причиной лактоацидоза, расстройств желудочно-кишечного тракта и других побочных эффектов (Vaker et al. 2021; Fadden et al. 2021; Kalra et al. 2019). Полученные нами данные в значительной степени подтверждают наше предположение об эффективности совместного применения метформина и ИИ, которое усиливает, в сравнении с монотерапией, восстанавливающий эффект метформина на такие показатели, как чувствительность к инсулину и продукцию лептина, измененные при диабетической патологии (табл. 1, 2). Необходимо отметить, что совместное введение метформина и ИИ не влияло на базальный уровень ГПП-1, который в группе СДМИ не отличался от такового у необработанных диабетических животных и был ниже такового в группе СДМ, что представляется достаточно неожиданным. При этом стимулированный глюкозой уровень ГПП-1 в группе СДМИ полностью восстанавливался и был близок с таковым в группе СДМ (табл. 2). Нами также установлено, что ИИ не влияет на базальный уровень ГПП-1, но существенно повышает его секрецию в ответ на потребление глюкозы, что хорошо согласуется с данными о стимулирующем влиянии ИИ на секрецию панкреатического инсулина в условиях глюкозной нагрузки (Heni et al. 2020). Наряду с этим в группе СДМИ отмечали гиперактивацию тиреоидной системы, хотя различия с группой СДМ и контролем не были статистически значимыми (рис. 2), и это, как мы полагаем, обусловлено вкладом ИИ. Ранее нами было показано, что длительная обработка крыс с различными моделями СД1 с помощью ИИ вызывает стимуляцию тиреоидной оси (Derkach et al. 2015). При этом существенного усиления стимулирующего влияния метформина на продукцию тестостерона в группе СДМИ не было отмечено, что обусловлено полным восстановлением стероидогенной активности под влиянием метформина (рис. 2).

Таким образом, лечение крыс с СД2 метформином улучшает глюкозный гомеостаз, нормализует базальные и стимулированные глюкозой

уровни инсулина, лептина и ГПП-1. ИИ в этом отношении менее эффективен, но при совместном применении с метформином усиливает его эффекты, что отчетливо выявляется при снижении ИР и ослаблении гиперлептинемии. У диабетических крыс метформин и ИИ нормализуют уровни тиреоидных гормонов и тестостерона, а их совместное применение приводит к активации тиреоидной системы. Полученные нами данные указывают на возможные перспективы использования метформина и ИИ, в том числе при комбинированном применении для улучшения метаболических и гормональных показателей, а также тиреоидного и андрогенного статуса у пациентов с СД2.

Список сокращений

СД2 — сахарный диабет 2 типа; ИИ — интраназальный вводимый инсулин; ГПП-1 — глюкагоноподобный пептид-1; ГЭБ — гематоэнцефалический барьер; АМФПК — АМФ-активируемая протеинкиназа; К — группа контроль; СД — диабет без лечения; СДМ — диабет с лечением метформином; СДИ — диабет с лечением интраназальным вводимым инсулином; СДМИ — диабет с лечением комбинацией метформина и интраназального вводимого инсулина; ОГТТ — оральная глюкозотолерантная проба; ИР — индекс инсулиновой резистентности.

List of Abbreviations

T2DM—type 2 diabetes mellitus, II—intranasal injected insulin, GLP-1—glucagon-like peptide-1, BBB—blood-brain barrier, AMPK—AMP-activated protein kinase, C—control group, D—diabetes without treatment, DM—diabetes with metformin treatment, DI—diabetes treated with intranasal insulin, DMI—diabetes treated with a combination of metformin and intranasal insulin, OGTT—oral glucose tolerance test, IR—index of insulin resistance.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии потенциального или явного конфликта интересов.

Conflict of Interest

The authors declare that there is no conflict of interest, either existing or potential.

Соответствие принципам этики

Исследования с участием животных соответствуют принципам международной этики.

Ethics Approval

The authors state that all international ethical principles relevant to research that includes animal subjects have been duly followed.

Вклад авторов

а. Кира Викторовна Деркач — проведение экспериментов, анализ экспериментальных данных, статистическая обработка результатов, подготовка графических материалов, подготовка и корректировка рукописи;

б. Вера Михайловна Бондарева — проведение экспериментов;

с. Наталия Евгеньевна Басова — анализ экспериментальных данных, статистическая обработка результатов, подготовка графических материалов, подготовка рукописи;

д. Людмила Александровна Кузнецова — проведение экспериментов;

е. Александр Олегович Шпаков — подготовка и корректировка рукописи.

Author Contributions

a. Kira V. Derkach conducted experiments, analysed experimental data, obtained statistical results, prepared supporting material, prepared and proofread the manuscript;

b. Vera M. Bondareva conducted experiments;

c. Nataliia E. Basova analysed experimental data, obtained statistical results, prepared supporting material, prepared the manuscript;

d. Ludmila A. Kuznetsova conducted experiments;

e. Alexander O. Shpakov prepared and proofread the manuscript.

References

- Annie, L., Jeremy, M., Gurusubramanian, G. et al. (2020) Effect of metformin on testicular expression and localization of leptin receptor and levels of leptin in the diabetic mice. *Molecular Reproduction Development*, vol. 87, no. 5, pp. 620–629. <https://doi.org/10.1002/mrd.23342> (In English)
- Badenes, R., Qeva, E., Giordano, G. et al. (2021) Intranasal insulin administration to prevent delayed neurocognitive recovery and postoperative neurocognitive disorder: A narrative review. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, vol. 18, no. 5, article 2681. <https://doi.org/10.3390/ijerph18052681> (In English)
- Baker, C., Retzik-Stahr, C., Singh, V. et al. (2021) Should metformin remain the first-line therapy for treatment of type 2 diabetes? *Therapeutic Advances Endocrinology and Metabolism*, vol. 12, pp. 1–13. <https://doi.org/10.1177%2F2042018820980225> (In English)
- Banks, W. A. (2020) The blood-brain barrier interface in diabetes mellitus: Dysfunctions, mechanisms and approaches to treatment. *Current Pharmaceutical Design*, vol. 26, no. 13, pp. 1438–1447. <https://doi.org/10.2174/1381612826666200325110014> (In English)
- Bhattamisra, S. K., Shin, L. Y., Saad, H. I. B. M. et al. (2020) Interlink between insulin resistance and neurodegeneration with an update on current therapeutic approaches. *CNS & Neurological Disorders Drug Targets*, vol. 19, no. 3, pp. 174–183. <https://doi.org/10.2174/1871527319666200518102130> (In English)
- Boucsein, A., Kamstra, K., Tups, A. (2021) Central signalling cross-talk between insulin and leptin in glucose and energy homeostasis. *Journal of Neuroendocrinology*, vol. 33, no. 4, article e12944. <https://doi.org/10.1111/jne.12944> (In English)
- Carvalho, J. B. C., Torsoni, M. A., Ueno, M. et al. (2005) Cross-talk between the insulin and leptin signaling systems in rat hypothalamus. *Obesity Research*, vol. 13, no. 1, pp. 48–57. <https://doi.org/10.1038/oby.2005.7> (In English)
- Costanzo, P. R., Knoblovits, P. (2016) Male gonadal axis function in patients with type 2 diabetes. *Hormone Molecular Biology and Clinical Investigation*, vol. 26, no. 2, pp. 129–134. <https://doi.org/10.1515/hmbci-2016-0014> (In English)
- Derkach, K. V., Bakhtyukov, A. A., Romanova, I. V. et al. (2020a) The effect of metformin treatment on the basal and gonadotropin-stimulated steroidogenesis in male rats with type 2 diabetes mellitus. *Andrologia*, vol. 52, no. 11, article e13816. <https://doi.org/10.1111/and.13816> (In English)
- Derkach, K. V., Bogush, I. V., Berstein, L. M., Shpakov, A. O. (2015) The influence of intranasal insulin on hypothalamic-pituitary-thyroid axis in normal and diabetic rats. *Hormone and Metabolic Research*, vol. 47, no. 12, pp. 916–924. <https://doi.org/10.1055/s-0035-1547236> (In English)
- Derkach, K. V., Bondareva, V. M., Shpakov, A. O. (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 in Gerontology*, vol. 8, no. 2, pp. 140–146. <https://doi.org/10.1134/S2079057018020030> (In English)
- Derkach, K., Zakharova, I., Zorina, I. et al. (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*, vol. 14, no. 3, article e0213779. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0213779> (In English)

- Derkach, K. V., Zorina, I. I., Zakharova, I. O. et al. (2020b) The influence of intranasally administered insulin and C-peptide on AMP-activated protein kinase activity, mitochondrial dynamics and apoptosis markers in the hypothalamus of rats with streptozotocin-induced diabetes. *Journal of Evolutionary Biochemistry and Physiology*, vol. 56, no. 3, pp. 207–217. <https://doi.org/10.1134/S0022093020030035> (In English)
- Fadden, E. J., Longley, C., Mahambrey, T. (2021) Metformin-associated lactic acidosis. *BMJ Case Reports*, vol. 14, no. 7, article e239154. <https://doi.org/10.1136/bcr-2020-239154> (In English)
- Ha, J., Sherman, A. (2020) Type 2 diabetes: One disease, many pathways. *American Journal of Physiology. Endocrinology and Metabolism*, vol. 319, no. 2, pp. E410–E426. <https://doi.org/10.1152/ajpendo.00512.2019> (In English)
- Hallschmid, M. (2021) Intranasal insulin for Alzheimer's Disease. *CNS Drugs*, vol. 35, pp. 21–37. <https://doi.org/10.1007/s40263-020-00781-x> (In English)
- Hamed, E. A., Zakary, M. M., Ahmed, N. S., Gamal, R. M. (2011) Circulating leptin and insulin in obese patients with and without type 2 diabetes mellitus: Relation to ghrelin and oxidative stress. *Diabetes Research and Clinical Practice*, vol. 94, no. 3, pp. 434–441. <https://doi.org/10.1016/j.diabres.2011.08.023> (In English)
- He, Z., Yin, G., Li, Q. Q. et al. (2021) Diabetes mellitus causes male reproductive dysfunction: A review of the evidence and mechanisms. *In Vivo*, vol. 35, no. 5, pp. 2503–2511. <https://doi.org/10.21873/invivo.12531> (In English)
- Heni, M., Wagner, R., Kullmann, S. et al. (2014) Central insulin administration improves whole-body insulin sensitivity via hypothalamus and parasympathetic outputs in men. *Diabetes*, vol. 63, no. 12, pp. 4083–4088. <https://doi.org/10.2337/db14-0477> (In English)
- Heni, M., Wagner, R., Willmann, C. et al. (2020) Insulin action in the hypothalamus increases second-phase insulin secretion in humans. *Neuroendocrinology*, vol. 110, no. 11–12, pp. 929–937. <https://doi.org/10.1159/000504551> (In English)
- Kalra, S., Aggarwal, S., Khandelwal, D. (2019) Thyroid dysfunction and type 2 diabetes mellitus: Screening strategies and implications for management. *Diabetes Therapy*, vol. 10, no. 6, pp. 2035–2044. <https://doi.org/10.1007/s13300-019-00700-4> (In English)
- Kwon, O., Kim, K. W., Kim, M. S. (2016) Leptin signalling pathways in hypothalamic neurons. *Cellular and Molecular Life Science*, vol. 73, no. 7, pp. 1457–1477. <https://doi.org/10.1007/s00018-016-2133-1> (In English)
- Leisegang, K., Sengupta, P., Agarwal, A., Henkel, R. (2021) Obesity and male infertility: Mechanisms and management. *Andrologia*, vol. 53, no. 1, article e13617. <https://doi.org/10.1111/and.13617> (In English)
- Nna, V. U., Bakar, A. B. A., Ahmad, A., Mohamed, M. (2019) Down-regulation of steroidogenesis-related genes and its accompanying fertility decline in streptozotocin-induced diabetic male rats: ameliorative effect of metformin. *Andrology*, vol. 7, no. 1, pp. 110–123. <https://doi.org/10.1111/andr.12567> (In English)
- Rajjoub Al-Mahdi, E. A., Barrios, V., Zamorano, J. L. (2021) Metformin in the era of new antidiabetics. *Future Cardiology*, vol. 17, no. 3, pp. 475–485. <https://doi.org/10.2217/fca-2020-0195> (In English)
- Scherer, T., Sakamoto, K., Buettner, C. (2021) Brain insulin signalling in metabolic homeostasis and disease. *Nature Reviews. Endocrinology*, vol. 17, no. 8, pp. 468–483. <https://doi.org/10.1038/s41574-021-00498-x> (In English)
- Shpakov, A. O. (2021) Improvement effect of metformin on female and male reproduction in endocrine pathologies and its mechanisms. *Pharmaceuticals*, vol. 14, no. 1, article 42. <https://doi.org/10.3390/ph14010042> (In English)
- Shpakov, A. O. (2016) *Tireoidnaya sistema v norme i pri sakharnom diabete 1-go i 2-go tipov [The thyroid system in normal conditions and in type 1 and 2 diabetes mellitus]*. Saint Petersburg: St. Petersburg and Peter the Great St. Petersburg Polytechnic University Publ., 222 p. (In Russian)
- Shpakov, A. O., Derkach, K. V. (2018) Molecular mechanisms of the effects of metformin on the functional activity of brain neurons. *Neuroscience and Behavioral Physiology*, vol. 48, no. 8, pp. 969–977. <https://doi.org/10.1007/s11055-018-0657-6> (In English)
- Shpakov, A. O., Derkach, K. V., Berstein, L. M. (2015) Brain signaling systems in the Type 2 diabetes and metabolic syndrome: promising target to treat and prevent these diseases. *Future Science OA*, vol. 1, no. 3, article FSO25. <https://doi.org/10.4155/fso.15.23> (In English)
- Wang, B., Cheng, K. K. (2018) Hypothalamic AMPK as a mediator of hormonal regulation of energy balance. *International Journal of Molecular Sciences*, vol. 19, no. 11, article 3552. <https://doi.org/10.3390/ijms19113552> (In English)
- Zhang, J., Li, S., Zhang, S. et al. (2020) Effect of icaraside II and metformin on penile erectile function, histological structure, mitochondrial autophagy, glucose-lipid metabolism, angiotensin II and sex hormone in type 2 diabetic rats with erectile dysfunction. *Sexual Medicine*, vol. 8, no. 2, pp. 168–177. <https://doi.org/10.1016/j.esxm.2020.01.006> (In English)