

ИММУНОХИМИЧЕСКАЯ ИДЕНТИФИКАЦИЯ МЕЛАНКОРТИНОВЫХ И ЛЕПТИНОВЫХ РЕЦЕПТОРОВ НА СЕРТОНИНЕРГИЧЕСКИХ НЕЙРОНАХ СРЕДНЕГО МОЗГА КРЫС

© И. В. Романова, Е. В. Михайлова, А. О. Шпаков

Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И. М. Сеченова РАН,
Санкт-Петербург, Россия
E-mail: irinaromanova@mail.ru

В основе взаимодействия между меланокортиновой, лептиновой и серотониновой системами мозга лежит связывание пептидов меланокортинового семейства и лептина с меланокортиновыми рецепторами 3-го и 4-го типов (МК3Р и МК4Р) и лептиновыми рецепторами (ЛепР), локализованными на серотонинергических нейронах различных отделов мозга. Однако данные о локализации этих рецепторов на серотонинергических нейронах немногочисленны, а в отношении таких структур среднего мозга, как вентральная область покрышки (VTA) и дорсальное ядро шва (DRN), отсутствуют. Цель предпринятого иммуногистохимического исследования состояла в идентификации МК3Р, МК4Р и ЛепР на серотонинергических нейронах, иммунопозитивных к триптофангидроксилазе (ТТГ), в VTA и DRN крысы. Впервые установлено, что на серотонинергических нейронах VTA и DRN присутствуют все изученные типы рецепторов, но их количество различается. При этом в VTA и DRN число ТТГ-иммунопозитивных нейронов, на которых локализованы МК3Р, было на 32 и 84 % выше, чем число нейронов с локализованными на них МК4Р. Достоверно выше была и плотность МК3Р на серотонинергических нейронах. Доля ТТГ-иммунопозитивных нейронов, на которых локализованы ЛепР, в VTA и DRN составила 61 и 75 % соответственно, а их число сопоставимо с таковым для МК4Р. Таким образом, впервые показано, что МК3Р, МК4Р и ЛепР локализованы на серотонинергических нейронах VTA и DRN, что указывает на возможность регуляции их функциональной активности меланокортиновыми пептидами и лептином.

Ключевые слова: серотонин, ядро шва, вентральная область покрышки, меланокортиновый рецептор, лептиновый рецептор, средний мозг, флуоресцентное иммуномечение.

Рос. физиол. журн. им. И. М. Сеченова. Т. 104. № 1. С. 68—77. 2018

I. V. Romanova, E. V. Mikhailova, A. O. Shpakov. IMMUNOCHEMICAL IDENTIFICATION OF THE MELANOCORTIN AND LEPTIN RECEPTORS ON SEROTONINERGIC NEURONS OF THE RAT MIDBRAIN. I. M. Sechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry of the RAS, St. Petersburg, Russia; e-mail: irinaromanova@mail.ru.

The brain melanocortin, leptin and serotonin systems play an important role in the regulation of food behavior and energy metabolism, and this is to a large extent determined by the functional interaction between them. This interaction is due to the binding of peptides of the melanocortin family and leptin to types 3 and 4 melanocortin receptors (MC3R and MC4R) and leptin receptors (LepR), localized on serotonergic neurons within different areas of the brain. However, the data

on the localization of these receptors on serotonergic neurons are few, and for midbrain structures such as the ventral tegmental area (VTA) and the dorsal raphe nuclei (DRN) are absent. The purpose of our immunohistochemical study was to identify the MC3R, MC4R and LepR on the serotonergic neurons immunopositive to tryptophan hydroxylase (TPH), in the VTA and DRN of rats. It was first shown that all the investigated types of receptors are present on serotonergic neurons of the VTA and DRN, but their number differs. In the VTA and DRN, the number of TPH-immunopositive neurons on which MC3R is localized was 32 and 84% higher than the number of neurons with MC4R localized on them. The density of MC3R on serotonergic neurons is also significantly higher. The proportion of TPH-immunopositive neurons on which LepR is localized in the VTA and DRN was 61 and 75%, respectively, and their number was comparable to that for MC4R. Thus, for the first time it was shown that MC3R, MC4R and LepR are localized on VTA and DRN serotonergic neurons, which indicates the possibility of regulation of their functional activity by melanocortin peptides and leptin.

Key words: serotonin, raphe nucleus, ventral tegmental area, melanocortin receptor, leptin receptor, midbrain, serotonin fluorescent immunolabeling.

RUSSIAN JOURNAL OF PHYSIOLOGY. V. 104. N 1. P. 68—77. 2018

Серотонин, действуя на специфичные к нему серотониновые рецепторы (СР) в различных отделах мозга, осуществляет контроль памяти, эмоций, когнитивных процессов, цикла сон—бодрствование, социального поведения, функций эндокринной системы [18, 20, 26, 31]. Показано также, что серотонин и его сигнальные системы вовлечены в регуляцию пищевого поведения, эффектов награды и подкрепления, периферического метаболизма [24, 27, 33]. Нарушения серотониновой сигнализации в ЦНС приводят к гиперфагии, ожирению и другим метаболическим расстройствам [6, 26, 34]. При этом важную роль в реализации регуляторных влияний серотонина на пищевое поведение играет взаимодействие между серотониновой системой и другими сигнальными системами мозга, контролирующими аппетит и энергетический баланс, в первую очередь с меланокортиновой и лептиновой системами [3]. Так, серотонин влияет на функциональную активность лептиновой и меланокортиновой систем в гипоталамусе, поскольку гипоталамические структуры обогащены окончаниями серотонинергических нейронов, а на телах гипоталамических нейронов, чувствительных к лептину и меланокортиновым пептидам гипоталамических нейронов, локализованы различные типы СР, включая СР 1В- и 2С-подтипов [2].

Имеются основания полагать, что осуществляется и обратная регуляция. Предполагается, что лептин, поступающий в ЦНС через гематоэнцефалический барьер путем рецептор-опосредуемого эндоцитоза, и пептиды меланокортинового семейства, которые генерируются из проопиомеланокортина (ПОМК), секретируемого ПОМК-нейронами аркуатного ядра гипоталамуса, могут влиять на функциональную активность серотонинергических нейронов, расположенных во внегипоталамических отделах ЦНС, в первую очередь в структурах среднего мозга — вентральной области покрышки (ventral tegmental area, VTA) и дорсальном ядре шва (dorsal raphe nuclei, DRN). Необходимым условием для осуществления такой регуляции является присутствие на телах серотонинергических нейронов в DRN и VTA рецепторов к лептину (ЛепР) и меланокортиновых рецепторов 3-го и 4-го типов (МКЗР и МК4Р), которые являются основной популяцией МКР в мозге. Однако сведения о локализации МКЗР, МК4Р и ЛепР на серотонинергических нейронах в этих структурах среднего мозга в настоящее время отсутствуют. Вследствие этого цель предпринятого исследования состояла в идентификации с помощью иммуногистохимических методов и конфокальной микроскопии МКЗР, МК4Р и ЛепР на серотонинергических нейронах в DRN и VTA крысы. Для идентификации серотонинергических нейронов использовали иммунную реакцию с ферментом триптофангидроксилазой (ТПГ), катализирующей скоростьлимитирующую стадию биосинтеза серотонина.

МЕТОДИКА

В экспериментах использовали 4-месячных самцов крыс линии Вистар массой тела 230—280 г. Все экспериментальные процедуры соответствовали требованиям Этического комитета ИЭФБ РАН, European Communities Council Directive 1986 (86/609/ЕЕС) и правилам, изложенным в «Guide for the Care and Use of Laboratory Animals».

Наркотизированных хлоралгидратом (400 мг/кг) животных последовательно перфузировали транскардиально сначала 0.1 М натрий-фосфатным буфером (рН 7.4) и затем 4%-ным раствором пара-формальдегида в 0.2 М натрий-фосфатном буфере. Мозг фиксировали в течение ночи (4 °С), промывали буфером и после криопротекции в 30%-ном растворе сахарозы замораживали в изопентане при температуре –42 °С. С помощью криостата (Leica Microsystems, Германия) получали срезы среднего мозга, включающие VTA или DRN толщиной 20 мкм, и помещали их в холодный буфер. Для морфологического контроля использовали атлас мозга крысы [28]. При проведении иммуногистохимического анализа каждый десятый свободно плавающий срез приклеивали к стеклу и окрашивали 0.1%-ным раствором орто-толуидинового синего. Флуоресцентное иммуномечение проводили, как описано ранее [1]. После инкубации в течение 1 ч в блокирующем растворе, представляющем собой смесь 3%-ной сыворотки козы и 2%-ной сыворотки быка в 0.02 М натрий-фосфатном буфере (рН 7.4), содержащем 0.9 % NaCl и 0.01 % Triton X-100, срезы инкубировали с первичными антителами в течение 48 ч при 4 °С. Использовали первичные антитела овцы против триптофангидроксилазы (Millipore, США, разведение 1:500) в комбинации с первичными антителами кролика против МКЗР (Sigma, США, разведение 1:100), первичными антителами кролика против МК4Р (PhoenixPeptide, США, разведение 1:50) и первичными антителами кролика против ЛепР (Novusbio, США, разведение 1:100). После промывки срезы инкубировали в течение 1 ч с вторичными антителами, конъюгированными с флуоресцентными метками — козы против овцы с Alexa-543 и цыпленка против кролика с Alexa-488 (Invitrogen, США, разведение 1:1000). Далее осуществляли промывку срезов с помощью 0.02 М натрий-фосфатного буфера (рН 7.4), заключали их под покровное стекло с помощью среды Mowiol (Sigma, США) и хранили при 4 °С до ее полимеризации. Анализ срезов проводили с помощью конфокального микроскопа DMI6000 и лазерной установки SP5 II (Leica Microsystems, Германия). Использовали иммерсионный объектив ×63 и лазеры с длиной волны возбуждения 488 и 543 нм.

Изображения анализировали с помощью пакета программ Leica LAS AF, подготовку к демонстрации проводили с помощью программы Photoshop CS3. Количественную оценку общего числа нейронов, иммунопозитивных по отношению к ТПГ, и числа нейронов, в которых имелась двойная иммуногистохимическая реакция к ТПГ+МКЗР, ТПГ+МК4Р и ТПГ+ЛепР, проводили, как описано в работе [12]. Для статистического анализа использовали дисперсионный анализ ANOVA, данные обрабатывали с помощью пакета программ IBM SPSS Statistics. Данные представлены в виде $M \pm SD$ трех независимых экспериментов. Различия между группами оценивали как достоверные при $p < 0.05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

С помощью двойного флуоресцентного иммуномечения в VTA среднего мозга крыс Wistar была впервые продемонстрирована локализация МКЗР, МК4Р и ЛепР на телах серотонинергических нейронов (рис. 1). Для визуализации серотонинергических нейронов использовали специфичные антитела к ТПГ, ключевому ферменту синтеза серотонина, который является молекулярным маркером для этих нейронов. Показано, что число ТПГ-иммунопозитивных нейронов, на кото-

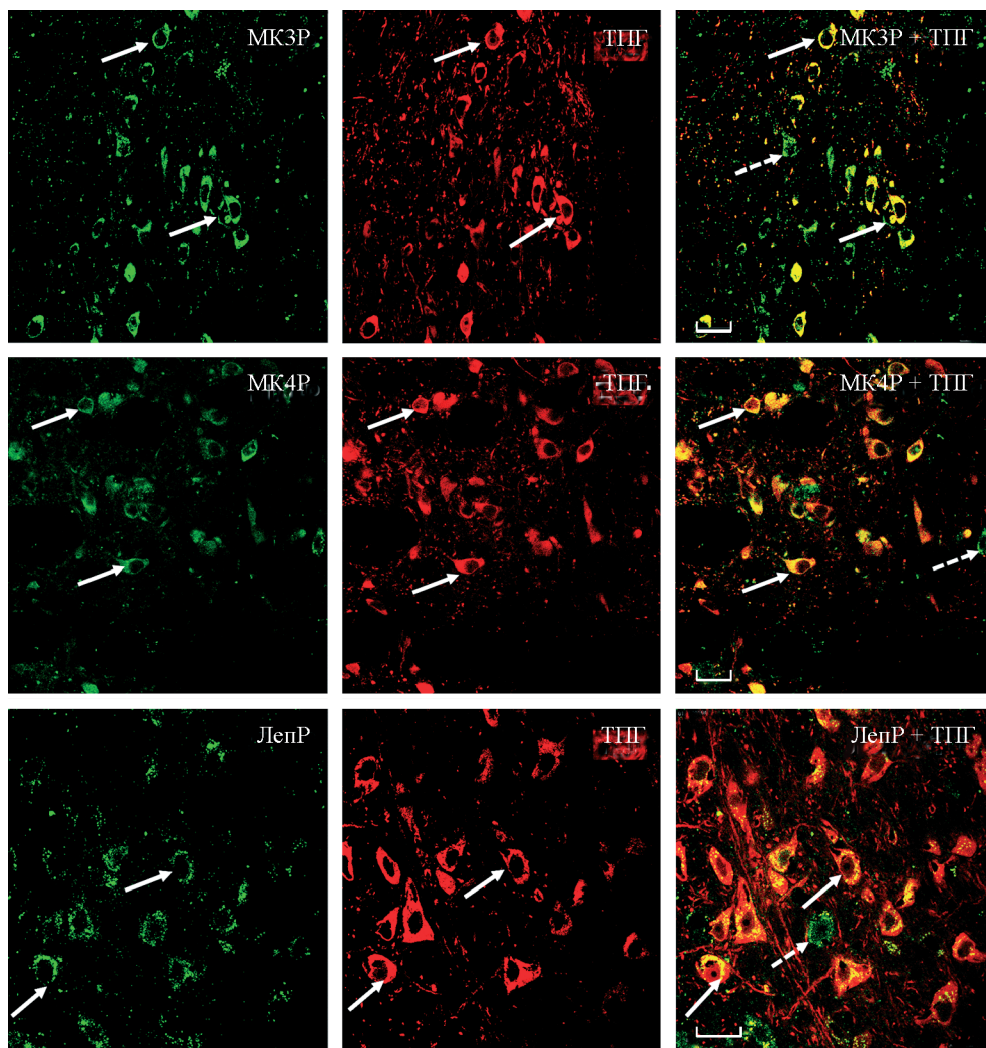


Рис. 1. Локализация меланокортиновых рецепторов 3-го и 4-го типов и лептиновых рецепторов на серотонинергических нейронах вентральной области покрышки (VTA) среднего мозга крыс.

Микрофотографии демонстрируют иммуногистохимические реакции к ТПГ (красное свечение) и к рецепторам — МК3Р, МК4Р и ЛепР (зеленое свечение), а также двойное флуоресцентное иммуноочечение МК3Р + ТПГ, МК4Р + ТПГ и ЛепР + ТПГ. *Сплошные стрелки* указывают на локализацию ТПГ и рецепторов на серотонинергических нейронах, *пунктирные стрелки* — на локализацию рецепторов на нейронах другой эргичности, не имеющих иммунной реакции по отношению к ТПГ. Масштаб 20 мкм.

рых локализованы МК3Р, на 32 % больше, чем число ТПГ-иммунопозитивных нейронов, на которых локализованы МК4Р (см. таблицу). Оценка количества МКР, которую проводили по соотношению между интенсивностью флуоресценции МКР и ТПГ, показала, что число МК3Р на серотонинергических VTA-нейронах на 52 % выше, чем число МК4Р. Число ТПГ-иммунопозитивных нейронов, на которых были локализованы ЛепР, и количество ЛепР на этих нейронах были сходны с таковыми для МК3Р (см. таблицу).

В ядре шва (DRN) общая плотность серотонинергических нейронов, иммунопозитивных по отношению к ТПГ, была существенно выше, чем в VTA, что

Относительное количество серотонинергических нейронов, иммунопозитивных по отношению к ТПГ, экспрессирующих МК3Р, МК4Р и ЛепР, и соотношение интенсивного свечения этих рецепторов на ТПГ-иммунопозитивных нейронах в VTA и DRN среднего мозга крысы

Исследуемая область	Показатель		
	МК3Р	МК4Р	ЛепР
VTA			
Число серотонинергических, ТПГ-иммунопозитивных, нейронов, %	61.8 ± 8.8	46.8 ± 12.7*	61.3 ± 15.1
Соотношение интенсивностей свечения рецептор/ТПГ, усл. ед.	3.26 ± 0.61	2.15 ± 0.46*	2.99 ± 0.41
DRN			
Число серотонинергических, ТПГ-иммунопозитивных, нейронов, %	91.2 ± 9.6	49.6 ± 8.8*	75.3 ± 13.5
Соотношение интенсивностей свечения рецептор/ТПГ, усл. ед.	3.41 ± 0.27	2.37 ± 0.51*	3.31 ± 0.32

Примечание. * различия между показателями для МК3Р и МК4Р статистически значимы при $p < 0.05$, $M \pm SD$ ($n = 6$).

хорошо согласуется с данными других авторов [5, 14]. С помощью иммуногистохимического подхода было впервые показано, что на этих нейронах локализованы все три типа изученных нами рецепторов — МК3Р, МК4Р и ЛепР (рис. 2). В DRN, по сравнению с VTA, число ТПГ-иммунопозитивных нейронов, на которых были локализованы МКР, было намного выше — МК3Р располагались практически на всех нейронах, МК4Р — на половине из них. В то же время соотношение МК3Р и МК4Р на серотонинергических DRN-нейронах было сходным с таковым в VTA — плотность МК3Р была на 44 % выше, чем МК4Р. Доля серотонинергических DRN-нейронов, содержащих ЛепР, была существенно выше, чем в случае VTA-нейронов, а количество ЛепР на ТПГ-иммунопозитивных нейронах было сопоставимым с таковым МК3Р (см. таблицу).

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Серотонинергические нейроны представлены в VTA среднего мозга, хотя их число здесь меньше, чем дофаминергических, ГАМКергических и глутаматергических нейронов, и в значительной степени уступает числу серотонинергических нейронов в DRN [7]. Установлено, что серотонинергические нейроны могут быть вовлечены в реализацию эффектов вознаграждения и подкрепления, за которые в значительной степени отвечает VTA [23]. Все это предполагает существование тесной взаимосвязи между синтезом и секрецией серотонина VTA-нейронами и гипоталамическими факторами, такими как лептин, меланокортиновые пептиды, агути-подобный пептид (АПП), которые контролируют пищевое поведение. Для реализации такой взаимосвязи на гипоталамических нейронах, в которых осуществляется продукция ПОМК и АПП, должны быть локализованы серотониновые рецепторы, что для ПОМК-нейронов было продемонстрировано нами ранее [2], в то время как на серотонинергических VTA-нейронах, ответственных за синтез и секрецию серотонина, должны быть локализованы рецепторы МК3Р, МК4Р и ЛепР, мишени меланокортинов, АПП и лептина. В настоящем исследовании с помощью иммуногистохимического подхода нами были впервые получены доказательства такой локализации. При этом установлено, что количество ТПГ-имму-

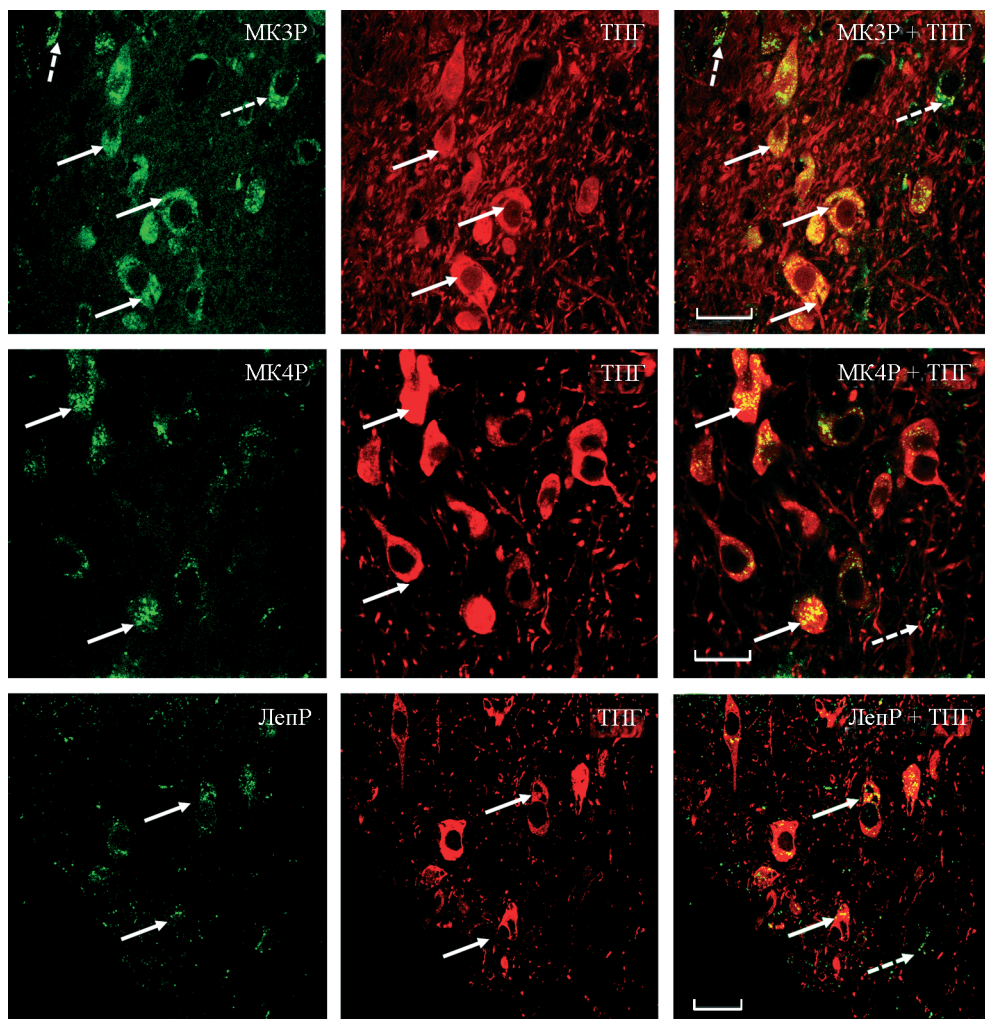


Рис. 2. Локализация меланокортиновых и лептиновых рецепторов на серотонинергических нейронах дорсального ядра шва (DRN) среднего мозга крысы.

Обозначения те же, что и на рис. 1. Масштаб 20 мкм.

нопозитивных нейронов, на которых локализованы МКЗР, и плотность МКЗР на этих нейронах достоверно выше, чем аналогичные показатели для МК4Р. Эти результаты согласуются с данными других авторов, которые изучали различные типы МКР в VTA среднего мозга. Так, с помощью иммунохимических методов было обнаружено, что на телах дофаминергических VTA-нейронов, число которых многократно превосходит число серотонинергических VTA-нейронов, также имеется большое количество МКЗР, в то время как количество МК4Р очень мало [21]. С помощью молекулярно-биологического подхода в VTA среднего мозга мышей был выявлен высокий уровень экспрессии гена *Mcs3r* и значительно более низкий уровень экспрессии гена *Mc4r* [22, 30].

Обнаружение нами МКЗР и МК4Р на серотонинергических VTA-нейронах обуславливает участие меланокортиновой системы в VTA-опосредуемой регуляции пищевого поведения и эффектов награды и подкрепления, что подтверждают и данные фармакологических исследований. Введение в VTA меланотана-II,

неселективного агониста МКЗР и МК4Р, приводит к существенному снижению приема пищи крысами, в то время как введение соединения SHU9119, антагониста этих рецепторов, напротив, вызывает у них гиперфагию [29]. Одним из механизмов этого является повышение секреции моноаминов в ответ на активацию меланокортиновой системы, как это продемонстрировано для дофаминергических VTA-нейронов. Так, инъекция в VTA γ 1-меланоцитстимулирующего гормона, который с высоким сродством активирует МКЗР, приводила к усилению секреции дофамина и повышению его уровня в прилежащем ядре, с чем авторы и связывают подавление аппетита МКЗР-агонистом [15]. Введение синтетического антагониста МКЗР непосредственно в прилежащее ядро никак не влияло на уровень дофамина и пищевое поведение. Следовательно, высвобождение дофамина в прилежащем ядре определяется активацией МКЗР-меланокортиновой системы именно в VTA-нейронах [16]. Следует отметить, что влияние агонистов и антагонистов МКЗР и МК4Р на продукцию и секрецию серотонина VTA-нейронами до настоящего времени не изучено. Обнаружение нами МКЗР и МК4Р на серотонинергических VTA-нейронах является предпосылкой для таких исследований. Важно отметить, что в отличие от дофаминергических VTA-нейронов, где очень мало МК4Р, их количество на серотонинергических нейронах существенно выше, хотя и уступает таковому для МКЗР. Мы полагаем, что присутствием МК4Р на серотонинергических VTA-нейронах можно объяснить тот факт, что не только селективные МКЗР-агонисты [15], но и селективный МК4Р-агонист цикло-(NH-(CH₂)₂-CO-His-d-Phe-Arg-Trp-Glu)-NH₂ способен снижать аппетит, как это продемонстрировано при его введении в VTA крыс линии Sprague-Dawley [19].

Наряду с МКЗР и МК4Р на телах серотонинергических VTA-нейронов нами в значительных количествах были обнаружены ЛепР, с которыми специфично связывается лептин, продуцируемый на периферии жировой тканью и поступающий через гематоэнцефалический барьер к различным структурам мозга, включая средний мозг. Имеются данные, что в VTA присутствуют функционально активные ЛепР, что делает эту область среднего мозга, наряду с гипоталамусом, одной из мишеней лептина [9]. Принято считать, что регуляторные эффекты лептина на пищевое поведение, реализуемые через посредство VTA-нейронов, осуществляются в основном через дофаминергические нейроны или нейроны, чувствительные к инсулину и амилину [8–10, 25, 32]. Наши данные свидетельствуют о возможном участии в реализации этих эффектов серотонинергических VTA-нейронов. В этом случае серотонинергические VTA-нейроны можно рассматривать как структурный элемент среднего мозга, который отвечает за cross-talk между серотониновой и лептиновой системами, осуществляя синхронизацию регуляторного влияния серотонина и лептина на пищевое поведение.

Ядро шва (DRN), в отличие от VTA, в большей степени обогащено серотонинергическими нейронами [5, 14], что показали и результаты наших иммуногистохимических исследований. Однако данные, касающиеся меланокортиновой и лептиновой систем в этих нейронах, не столь многочисленны, как в случае VTA, и роль DRN в координации функций серотониновой, меланокортиновой и лептиновой систем остается малоизученной. Показано, что количество МК4Р в DRN в значительной степени уступает количеству МК4Р в гипоталамических нейронах [13]. Однако даже такого количества МК4Р достаточно для эффективного ответа различных популяций DRN-нейронов на агонисты и антагонисты МК4Р. Так, МКЗР/МК4Р-агонист меланотан-II вызывал сильно выраженную активацию серотонинергических нейронов в DRN, в то время как МК4Р-антагонист АПП, напротив, препятствовал такой активации [17]. При этом в случае меланогана не совсем ясно, задействованы ли МКЗР в эффекте этого неселективного агониста, поскольку в отношении МКЗР данные об экспрессии и локализации в DRN отсутствуют. Несмотря на то что еще в 2001 г. в серотонинергических нейронах DRN обезьяны был выявлен высокий уровень экспрессии гена *Ob-R*, кодирующего ЛепР [11], в дальнейшем работы по изучению этих рецепторов в DRN не про-

водили, хотя не вызывает сомнений важность лептина в регуляции работы DRN-нейронов [35].

Вследствие этого обнаружение нами с использованием иммуногистохимического подхода на телах и отростках серотонинергических DRN-нейронов крысы ЛепР и обоих типов МКР открывает новые перспективы для изучения регуляции меланокортиновыми пептидами, АПП и лептином функциональной активности серотонинергических DRN-нейронов и продукции ими серотонина. Такая регуляция может рассматриваться как эффективный механизм для контроля пищевого поведения и энергетического гомеостаза на уровне среднего мозга, тем более что DRN, как и VTA, играет исключительно важную роль в реализации эффектов подкрепления и награды, а также в контроле мотивации приема пищи [27]. Выявленные различия в числе МК3Р- и МК4Р-иммунопозитивных серотонинергических нейронов и в плотности МК3Р и МК4Р на этих нейронах в DRN и VTA указывают на различную чувствительность этих областей среднего мозга крыс к различным представителям пептидов меланокортинового семейства и к эндогенному МК4Р-антагонисту АПП.

Таким образом, нами впервые показано, что на серотонинергических нейронах двух областей среднего мозга, VTA и DRN, локализованы МК3Р, МК4Р и ЛепР, через которые меланокортиновые пептиды, АПП и лептин способны регулировать активность этих нейронов, влиять на биосинтез и секрецию ими серотонина, а также модулировать влияние серотониновой системы среднего мозга на аппетит и энергетический баланс.

Работа поддержана Российским научным фондом (проект 16-15-10388).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- [1] *Михрина А. Л., Романова И. В.* Роль AGRP в регуляции дофаминергических нейронов мозга. *Рос. физиол. журн. им. И. М. Сеченова.* 99 (9) : 1036—1044. 2013.
- [2] *Романова И. В., Михрина А. Л., Шпаков А. О.* Локализация дофаминовых рецепторов 1-го и 2-го типов на телах ПОМК-экспрессирующих нейронов аркуатного ядра гипоталамуса мышей и крыс. *Докл. АН.* 472 (5) : 608—611. 2017.
- [3] *Шпаков А. О.* Лептиновая сигнальная система мозга и ее функциональное состояние в условиях метаболического синдрома и сахарного диабета 2-го типа. *Журн. эволюц. биохимии и физиологии.* 52 (3) : 161—176. 2016.
- [4] *Шпаков А. О., Деркач К. В.* Меланокортиновая сигнальная система гипоталамуса и ее функциональное состояние в условиях сахарного диабета 2-го типа и метаболического синдрома. *Рос. физиол. журн. им. И. М. Сеченова.* 102 (1) : 18—40. 2016.
- [5] *Andrade R., Haj-Dahmane S.* Serotonin neuron diversity in the dorsal raphe. *ACS Chem. Neurosci.* 4 (1) : 22—25. 2013.
- [6] *Bello N. T., Liang N. C.* The use of serotonergic drugs to treat obesity — is there any hope? *Drug Des. Devel. Ther.* 5 : 95—109. 2011.
- [7] *Carkaci-Salli N., Salli U., Kuntz-Melcavage K. L., Pennock M. M., Ozgen H., Tekin I., Freeman W. M., Vrana K. E.* TPH2 in the ventral tegmental area of the male rat brain. *Brain Res. Bull.* 84 (6) : 376—380. 2011.
- [8] *Fernandes M. F., Mathys D., Hryhorczuk C., Sharma S., Mogra S., Alquier T., Fulton S.* Leptin suppresses the rewarding effects of running via STAT3 signaling in dopamine neurons. *Cell Metab.* 22 (4) : 741—749. 2015.
- [9] *Figlewicz D. P.* Expression of receptors for insulin and leptin in the ventral tegmental area/substantia nigra (VTA/SN) of the rat: Historical perspective. *Brain Res.* 1645 : 68—70. 2016.
- [10] *Figlewicz D. P., Evans S. B., Murphy J., Hoehn M., Baskin D. G.* Expression of receptors for insulin and leptin in the ventral tegmental area/substantia nigra (VTA/SN) of the rat. *Brain Res.* 964 (1) : 107—115. 2003.
- [11] *Finn P. D., Cunningham M. J., Rickard D. G., Clifton D. K., Steiner R. A.* Serotonergic neurons are targets for leptin in the monkey. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 86 (1) : 422—426. 2001.

- [12] Füzési T., Wittmann G., Liposits Z., Lechan R. M., Fekete C. Contribution of noradrenergic and adrenergic cell groups of the brainstem and agouti-related protein-synthesizing neurons of the arcuate nucleus to neuropeptide-Y innervation of corticotropin-releasing hormone neurons in hypothalamic paraventricular nucleus of the rat. *Endocrinology*. 148 (11) : 5442—5450. 2007.
- [13] Gelez H., Poirier S., Facchinetti P., Allers K. A., Wayman C., BedRNabe J., Alexandre L., Giuliano F. Neuroanatomical distribution of the melanocortin-4 receptors in male and female rodent brain. *J. Chem. Neuroanat.* 40 (4) : 310—324. 2010.
- [14] Hale M. W., Lowry C. A. Functional topography of midbrain and pontine serotonergic systems: implications for synaptic regulation of serotonergic circuits. *Psychopharmacology (Berl)*. 213 (2—3) : 243—264. 2011.
- [15] Jansone B., Bergstrom L., Svirskis S., Lindblom J., Klusa V., Wikberg J. E. Opposite effects of $\gamma(1)$ - and $\gamma(2)$ -melanocyte stimulating hormone on regulation of the dopaminergic mesolimbic system in rats. *Neurosci. Lett.* 361 (1—3) : 68—71. 2004.
- [16] Kask A., Schiöth H. B. Tonic inhibition of food intake during inactive phase is reversed by the injection of the melanocortin receptor antagonist into the paraventricular nucleus of the hypothalamus and central amygdala of the rat. *Brain Res.* 887 (2) : 460—464. 2000.
- [17] Kawashima N., Chaki S., Okuyama S. Electrophysiological effects of melanocortin receptor ligands on neuronal activities of monoaminergic neurons in rats. *Neurosci. Lett.* 353 (2) : 119—122. 2003.
- [18] Kiser D., Steemers B., Branchi I., Homberg J. R. The reciprocal interaction between serotonin and social behaviour. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 36 (2) : 786—798. 2012.
- [19] Lerma-Cabrera J. M., Carvajal F., de la Torre L., de la Fuente L., Navarro M., Thiele T. E., Cubero I. Control of food intake by MC4-R signaling in the lateral hypothalamus, nucleus accumbens shell and ventral tegmental area: interactions with ethanol. *Behav. Brain Res.* 234 (1) : 51—60. 2012.
- [20] Lesch K. P., Waider J. Serotonin in the modulation of neural plasticity and networks: implications for neurodevelopmental disorders. *Neuron*. 76 (1) : 175—191. 2012.
- [21] Lippert R. N., Ellacott K. L., Cone R. D. Gender-specific roles for the melanocortin-3 receptor in the regulation of the mesolimbic dopamine system in mice. *Endocrinology*. 155 (5) : 1718—1727. 2014.
- [22] Liu H., Kishi T., Roseberry A. G., Cai X., Lee C. E., Montez J. M., Friedman J. M., Elmquist J. K. Transgenic mice expressing green fluorescent protein under the control of the melanocortin-4 receptor promoter. *J. Neurosci.* 23 (18) : 7143—7154. 2003.
- [23] Mateo Y., Budygin E. A., John C. E., Jones S. R. Role of serotonin in cocaine effects in mice with reduced dopamine transporter function. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 101 : 372—377. 2004.
- [24] Meguid M. M., Fetissov S. O., Varma M., Sato T., Zhang L., Laviano A., Rossi-Fanelli F. Hypothalamic dopamine and serotonin in the regulation of food intake. *Nutrition*. 16 (10) : 843—857. 2000.
- [25] Mietlicki-Baase E. G., Olivos D. R., Jeffrey B. A., Hayes M. R. Cooperative interaction between leptin and amylin signaling in the ventral tegmental area for the control of food intake. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 308 (12) : E1116—E1122. 2015.
- [26] Nonogaki K. Serotonin conflict in sleep-feeding. *Vitam. Horm.* 89 : 223—239. 2012.
- [27] Pandit R., Omrani A., Luijendijk M. C., de Vrind V. A., Van Rozen A. J., Ophuis R. J., GadRNER K., Kallo I., Ghanem A., Liposits Z., Conzelmann K. K., Vanderschuren L. J., la Fleur S. E., Adan R. A. Melanocortin 3 receptor signaling in midbrain dopamine neurons increases the motivation for food reward. *Neuropsychopharmacology*. 41 (9) : 2241—2251. 2016.
- [28] Paxinos, G. T., Watson C. *The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates (Fourth Edition)*. Acad. Press. San Diego. Int. Standard Book Number: 0-12-547617-5. 1998.
- [29] Roseberry A. G. Altered feeding and body weight following melanocortin administration to the ventral tegmental area in adult rats. *Psychopharmacology (Berl)*. 226 (1) : 25—34. 2013.
- [30] Roselli-Reh fuss L., Mountjoy K. G., Robbins L. S., Mortrud M. T., Low M. J., Tatro J. B., Entwistle M. L., Simerly R. B., Cone R. D. Identification of a receptor for γ -melanotropin and other proopiomelanocortin peptides in the hypothalamus and limbic system. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 90 (19) : 8856—8860. 1993.
- [31] Seyedabadi M., Fakhfour G., Ramezani V., Mehr S. E., Rahimian R. The role of serotonin in memory: interactions with neurotransmitters and downstream signaling. *Exp. Brain Res.* 232 (3) : 723—738. 2014.

- [32] *Shen M., Jiang C., Liu P., Wang F., Ma L.* Mesolimbic leptin signaling negatively regulates cocaine-conditioned reward. *Transl. Psychiatry.* 6 (12) : e972. 2016.
- [33] *Strasser B., Gostner J. M., Fuchs D.* Mood, food, and cognition: role of tryptophan and serotonin. *Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care.* 19 (1) : 55—61. 2016.
- [34] *van Galen K. A., Ter Horst K. W., Booij J., la Fleur S. E., Serlie M. J.* The role of central dopamine and serotonin in human obesity: lessons learned from molecular neuroimaging studies. *Metabolism.* pii: S0026-0495(17)30251-2. doi: 10.1016/j. metabol.2017.09.007. 2017.
- [35] *Xu L.* Leptin action in the midbrain: From reward to stress. *J. Chem. Neuroanat.* 61—62 : 256—265. 2014.

Поступила 7 XI 2017