

DOI: 10.7868/S0869813918060163

**ИЗМЕНЕНИЕ СООТНОШЕНИЯ ОРЕКСИГЕННЫХ
И АНОРЕКСИГЕННЫХ ФАКТОРОВ В ГИПОТАЛАМУСЕ КРЫС
С ОЖИРЕНИЕМ, ВЫЗВАННЫМ КАФЕТЕРИЙ-ДИЕТОЙ**

© *И. В. Романова, К. В. Деркач, И. Ю. Морина, И. Б. Сухов,
Л. А. Кузнецова, А. О. Шпаков*

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

Гипоталамус осуществляет контроль пищевого поведения, нарушения такой регуляции вызывают ожирение. Это во многом обусловлено изменениями баланса гипоталамических факторов — орексигенных, к которым относятся орексин (ОР), агутиподобный пептид (АПП) и нейропептид Y (НПУ), и анорексигенных, таких как меланокортиновые пептиды, генерируемые из проопиомеланокортина (ПОМК). Данные об экспрессии и соотношении этих факторов при ожирении, вызванном высококалорийной диетой, немногочисленны и противоречивы. Цель работы состояла в изучении экспрессии ПОМК, ОР А-типа (ОР-А), АПП и НПУ в гипоталамических структурах самцов крыс с ожирением, вызванным кафетерий-диетой, в сравнении с контрольными животными. Начиная с 26-дневного возраста крысы в течение 12 недель потребляли кафетерий-диету, что приводило к ожирению, инсулиновой резистентности, нарушениям углеводного и липидного обмена, гиперлептинемии. В перифорникальной области гипоталамуса крыс с ожирением было показано значительное снижение количества ОР-А, а также экспрессии мРНК гена, кодирующего пре-проорексин, предшественник ОР-А. В аркуатных ядрах гипоталамуса крыс с ожирением снижалась экспрессия гена, кодирующего АПП, антагониста меланокортиновых рецепторов 4-го типа, возрастала экспрессия гена белка ПОМК, в то время как экспрессия гена, кодирующего НПУ, менялась слабо. Таким образом, в различных областях гипоталамуса у крыс с индуцированным кафетерий-диетой ожирением запускаются компенсаторные процессы, направленные на усиление анорексигенных и подавление орексигенных влияний, что должно ослабить гиперфагию и предотвратить негативные метаболические и гормональные изменения, вызываемые избыточным потреблением калорий.

Ключевые слова: орексин, перифорникальная области, аркуатные ядра гипоталамуса, про-опиомеланокортин, агутиподобный пептид, ожирение.

Рос. физиол. журн. им. И. М. Сеченова. Т. 104. № 6. С. 724—730. 2018

I. V. Romanova, K. V. Derkach, I. Yu. Morina, I. B. Sukhov, L. A. Kuznetsova, A. O. Shpakov.
THE CHANGES IN THE RATIO OF OREXIGENIC AND ANOREXIGENIC FACTORS IN THE HYPOTHALAMUS OF RATS WITH CAFETERIA DIET-INDUCED OBESITY. Sechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry of the RAS, St. Petersburg, e-mail: irinaromanova@mail.ru.

The hypothalamus controls food behavior, and the abnormalities in this regulation induce obesity. This is largely due to the changes in the balance of the hypothalamic factors, such as ore-

xigenic factors, including orexin (OR), agouti-like peptide (AgRP) and neuropeptide Y (NPY), and anorexigenic factors including the melanocortin peptides generated from pro-opiomelanocortin (POMC). The data on the expression and the ratio of these factors in obesity induced by the high-calorie diet are few and contradictory. The aim was to study the expression of POMC, OR of the A-type (OR-A), AgRP and NPY in the hypothalamic structures of male rats with cafeteria diet-induced obesity as compared to control animals. Starting the 26-day-old age, the rats consumed a cafeteria diet for 12 weeks, which leads to obesity, insulin resistance, the changes in the carbohydrate and lipid metabolism, and hyperleptinemia. In the perifornical area of the hypothalamus of obese rats, a significant decrease in the number of OR-A and the mRNA expression for the gene encoding pre-proorexin, the OR-A precursor, was shown. In the hypothalamic arcuate nuclei of obese rats, the expression of the gene for AgRP, the antagonist of type 4 melanocortin receptor, was decreased, the expression of the gene for POMC was increased, and the expression of the gene for NPY changed to a small extent. Thus, in different areas of the hypothalamus of rats with cafeteria diet-induced obesity, the compensatory processes are triggered to increase anorexigenic effects and suppress orexigenic effects, which should weaken hyperphagia and prevent the negative metabolic and hormonal changes caused by excessive caloric intake.

Key words: orexin, perifornical area, hypothalamic arcuate nuclei, pro-opiomelanocortin, agouti-related peptide, obesity.

RUSSIAN JOURNAL OF PHYSIOLOGY. V. 104. N 6. P. 724—730. 2018

Гипоталамические структуры играют ключевую роль в регуляции пищевого поведения и расхода энергии. Это во многом обусловлено продукцией орексигенных и анорексигенных факторов гипоталамическими нейронами [6]. Наиболее важными среди орексигенных факторов являются орексин А-типа (ОР-А), продуцируемый перифорникальной областью гипоталамуса, а также агутиподобный пептид (АПП) и нейропептид Y (НПУ), которые продуцируются АПП/НПУ-экспрессирующими нейронами аркуатных ядер (АРК) гипоталамуса [9]. Среди анорексигенных факторов необходимо выделить меланокортиновые пептиды, в первую очередь α -меланоцитстимулирующий гормон, образующиеся нейронами АРК гипоталамуса в результате сайт-специфичного протеолиза их предшественника — проопиомеланокортина (ПОМК) [12, 19].

Нарушения продукции орексигенных и анорексигенных факторов и их баланса в гипоталамусе приводят к гиперфагии, ожирению, метаболическому синдрому и другим метаболическим расстройствам. В свою очередь вызываемые ожирением и сопровождающими его нарушениями липидного и углеводного обмена липотоксичность, повышенная активность факторов воспаления, сниженная активность ферментов антиоксидантной защиты, стресс эндоплазматического ретикула приводят к нарушению функционирования гипоталамических нейронов, продуцирующих орексигенные и анорексигенные факторы [19]. Результатом этого является усугубление дисбаланса между этими факторами и нарушение функциональной активности контролируемых ими путей. На различных стадиях ожирения и метаболического синдрома в зависимости от степени выраженности метаболических и гормональных дисфункций и паттерна компенсаторных реакций, которые в значительной степени определяются этиологией и патогенезом метаболических расстройств, изменения в экспрессии, соотношении и активности орексигенных и анорексигенных факторов могут сильно варьировать.

Понимание характера и динамики этих изменений имеет первостепенное значение для разработки подходов для нормализации пищевого поведения и предупреждения развития тяжелых форм ожирения и метаболического синдрома, для которых характерны необратимые метаболические и функциональные патологические изменения в организме. Цель предпринятого исследования состояла в изучении локализации и экспрессии ОР-А в перифорникальной области гипоталамуса и экспрессии АПП, НПУ и ПОМК в АРК контрольных самцов крыс и крыс с ожирением, вызванным длительной кафетерий-диетой.

Для проведения экспериментов были взяты самцы крыс линии Вистар. Одна группа животных (ОЖ, $n = 12$) начиная с 26-дневного возраста получала кафетерий-диету, которая включала жировую смесь (52 % свиного сала) как добавку к стандартному сухому корму (19 % белка, 5 % жира, 4 % волокон, 9 % золы), а также 30%-ный раствор сахарозы вместо питьевой воды. Группа ОЖ находилась на кафетерий-диете в течение 12 недель. Контрольные крысы (К, $n = 12$) того же возраста вместо кафетерий-диеты потребляли только стандартный сухой корм. Из хвостовой вены крыс под местным наркозом забирали кровь для определения в ней уровня глюкозы с помощью глюкометра «Life Scan Johnson & Johnson» (Дания), а также инсулина и лептина с помощью наборов «Rat Insulin ELISA» (Merckodia AB, Швеция) и «ELISA Kit for Leptin» (Cloud-Clone Corp., США). Для оценки чувствительности к глюкозе и инсулину использовали глюкозотолерантный (ГТТ) и инсулин-глюкозотолерантный тесты (ИГТТ), для чего крысам вводили либо одну глюкозу (2 г/кг, внутривенно), либо одновременно глюкозу и инсулин (0.8 МЕ/крысу, подкожно), как описано ранее [4]. После декапитации крыс под наркозом извлекали ткань гипоталамуса для оценки экспрессии целевых генов. Для иммуногистохимического анализа крыс анестезировали хлоралгидратом, затем перфузировали 0.1 М фосфатным буфером (PBS, pH 7.4), содержащим 0.9 % NaCl, и раствором 4%-ного параформальдегида в 0.2 М PBS. После перфузии мозг извлекали, в течение ночи дофиксировали в растворе параформальдегида (4 °C), промывали 0.02 М PBS, выдерживали в 30%-ном растворе сахарозы в PBS (48 ч) и замораживали. Эксперименты проводили в соответствии с требованиями Этического комитета ИЭФБ РАН, European Communities Council Directive 1986 (2010/63/ЕЕС) и правилами, изложенными в «Guide for the Care and Use of Laboratory Animals».

Имуногистохимические исследования проводили, как описано ранее [1]. Для этого фронтальные срезы мозга (толщина 12 мкм) были приготовлены с помощью криостата («Leica», Германия). Каждый десятый срез монтировали на стекла «SuperFrost/plus» (Германия). Были отобраны стекла, содержащие перифорникальную область гипоталамуса. Стекла тщательно высушивали и промывали в 0.02 М PBS с 0.9 % NaCl (pH 7.4) и кипятили 5 мин в цитратном буфере (pH 6.0) для демаскировки антигена. После охлаждения до комнатной температуры стекла промывали в PBS и инкубировали в 0.3%-ном растворе перекиси водорода, разведенной PBS. После промывки в PBS с 0.1%-ным Triton X-100 (PBST) срезы инкубировали 1 ч при комнатной температуре в блокирующем растворе (2 % сыворотки быка и 2 % сыворотки козы в PBST) для предотвращения неспецифического связывания. Для иммуногистохимических реакций использовали первичные антитела кролика к орексину-А (Sigma, США) в разведении 1:1000. Стекла со срезами инкубировали 48 ч при 4 °C, тщательно промывали и инкубировали в течение 1 ч при комнатной температуре с вторичными антителами козы против кролика, конъюгированными с биотином («VectorLab», Англия) в разведении 1:300 в PBST. Стекла промывали и наносили на них раствор стрептавидин-пероксидазы (Sigma, США) в разведении 1:1000 в PBS. Визуализацию проводили с помощью 0.05%-ного раствора диаминобензидина (Sigma, США) и 0.015%-ного раствора перекиси водорода. Реакцию останавливали дистиллированной водой. После тщательной промывки и стандартной гистологической обработки срезы заключали под покровное стекло и высушивали. Изображения структур на препаратах мозга получали с помощью микроскопа «Zeiss» (Германия) со встроенной телевизионной камерой и программой Axio-Vision 4.8. Из перифорникальной области было сделано 10—12 снимков для каждой реакции. С помощью программы Photo-M на каждом из снимков в нейронах была определена оптическая плотность ОР-А в иммунопозитивных нейронах.

Для оценки экспрессии генов использовали количественную ПЦР, как описано ранее [16]. Тотальную РНК выделяли из гипоталамических структур крыс, ис-

пользуя наборы «РИБО-золь-В» (Россия). Полученные образцы, содержащие 1 мкг РНК, обратнo транскрибировали с помощью набора «RevertAid H Minus First Strand cDNA Synthesis Kit» (Thermo Fisher Scientific Inc., США). Амплификацию проводили в смеси (25 мкл), содержащей 10 нг ПЦР-продукта, 0,4 мкМ прямого и обратного праймеров, qPCRmix-HS SYBR+LowROX (Евроген, Россия), и оценивали с помощью прибора «7500 Real-Time PCR System» (Life Technologies, Thermo Fisher Scientific Inc., США). Экспрессию генов белков ПОМК, АПП, НPY и пре-проорексина детектировали с помощью следующих праймеров: *Pomc* — AGGACCTCACCACGGAAAG (For) и GTCAAGGGCTGTTCATCTCC (Rev), *Agrp* — TGAAGAAGACAGCAGCAGACC (For) и TGAAGAAGCGGCAGTAGCAC, *Npy* — ACCAGGCAGAGATATGGCAAGA (For) и GGACATTTCTGTGCTTTCTCTCATTA (Rev), *Orx* — GTTCCTGCCGTCTCTACGA (For) и GCTTTCCAGAGTGTGAGGATG (Rev). В качестве контроля использовали гены глицеральдегид 3-фосфат-дегидрогеназы и β -актина. Для количественной оценки экспрессии использовали метод delta-delta C_t .

Статистическую обработку данных проводили с помощью программного обеспечения «GraphPad Prism 7» (GraphPad Software, США). Оценку нормальности распределения данных проводили с помощью теста D'Agostino—Pearson. В случае нормального распределения ($\alpha = 0.05$) различия между группами оценивали с помощью непарного *t*-теста и рассматривали как статистически значимые при $p < 0.05$. Данные представлены как $M \pm SEM$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

У крыс, находившихся на кафетерий-диете, развивались признаки метаболического синдрома. У них отмечали достоверное повышение массы тела и жировой ткани, повышение уровней инсулина и лептина в крови, что свидетельствует о развитии гиперинсулинемии и гиперлептинемии, а также повышался как базальный, так и стимулированный глюкозной нагрузкой уровень глюкозы (см. таблицу). В пользу нарушения толерантности к глюкозе свидетельствуют данные о повышении значения AUC_{0-120} , которое соответствует интегрированной площади под концентрационной кривой для глюкозы в ГТТ. На развитие в группе ОЖ инсулиновой резистентности наряду с гиперинсулинемией указывают повышенный индекс инсулиновой резистентности, представляющий собой произведение концентраций глюкозы и инсулина натошак, а также повышение значений

Масса тела, жировой ткани, уровни глюкозы, инсулина, лептина, а также уровни глюкозы через 120 мин после нагрузки и значения AUC_{0-120} для глюкозной и инсулиновой кривых в ГТТ и ИГТТ у крыс с ожирением в сравнении с контрольными животными

Показатель	Контрольные крысы	Крысы с ожирением
Масса тела, г	332 ± 8	385 ± 13*
Масса жировой ткани, г	10.0 ± 1.1	18.1 ± 1.7*
Глюкоза, мМ	3.9 ± 0.1	5.1 ± 0.3*
Инсулин, нг/мл	0.43 ± 0.07	0.76 ± 0.09*
Лептин, нг/мл	0.60 ± 0.07	2.88 ± 0.40*
ГТТ, глюкоза (120 мин), мМ	4.9 ± 0.2	6.9 ± 0.4*
ГТТ, глюкозная кривая, AUC_{0-120}	955 ± 30	1317 ± 42*
ГТТ, инсулиновая кривая, AUC_{0-120}	119 ± 13	222 ± 17*
ИГТТ, глюкозная кривая, AUC_{0-120}	540 ± 16	818 ± 30*

Примечание. Все значения представлены как $M \pm SEM$. * $p < 0.05$.

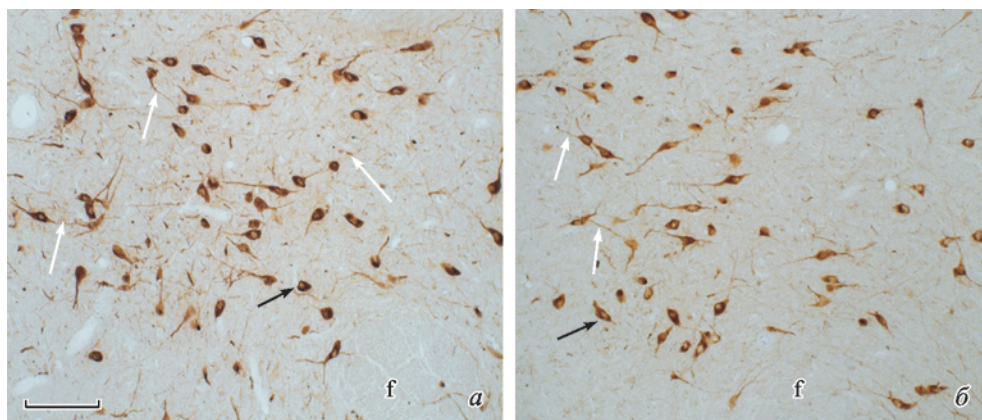


Рис. 1. Распределение орексина А в нейронах перифорникальной области гипоталамуса контрольных крыс (а) и животных с ожирением (б).

f — fornix; черные стрелки указывают на тела ОР-А-иммунопозитивных нейронов, белые стрелки — на отростки этих нейронов. Масштаб: 100 мкм.

AUC_{0-120} для концентрационной кривой для эндогенного инсулина в ГТТ, а также AUC_{0-120} для концентрационной кривой для глюкозы в ИГТТ (см. таблицу). Таким образом, вследствие 12-недельной кафетерий-диеты у крыс происходят значительные метаболические и гормональные изменения, вызванные потреблением большого количества калорий, что должно существенно влиять на экспрессию и соотношение гипоталамических орексигенных и анорексигенных факторов.

Для проверки этого была изучена экспрессия мРНК и оптическая плотность для ОР-А, а также экспрессия генов, кодирующих АПП, НПУ и ПОМК в гипоталамических структурах крыс с ожирением. С помощью антител к ОР-А было установлено, что в перифорникальной области гипоталамуса крыс с ожирением уровень ОР-А был снижен на 28 %. Так оптическая плотность в контроле составила 0.65 ± 0.02 , в то время как в группе ОЖ — 0.47 ± 0.04 ($p < 0.05$) (рис. 1). Эти результаты находились в хорошем соответствии с данными количественной ПЦР, согласно которым экспрессия гена пре-проорексина, предшественника ОР-А, в группе ОЖ была снижена на 54 % (рис. 2). В АРК гипоталамуса было обнаружено снижение экспрессии гена *Agrp*, кодирующего АПП, и повышение экспрессии гена *Pomc*, кодирующего ПОМК. В то же время экспрессия гена *Npy*, кодирующего НПУ, существенно не менялась (рис. 2).

Повышение продукции ОР-А отмечается в период голодания, в то время как при избыточном потреблении пищи или повышении ее калорийности уровень этого пептида, напротив, заметно снижается [8], что и было нами обнаружено у крыс группы ОЖ, потребляющих высококалорийную кафетерий-диету. Поскольку окончания нейронов, экспрессирующих ОР-А, выявляются вблизи ПОМК-нейронов, то это обеспечивает регуляторное влияние ОР-А на ПОМК-нейроны [11]. На чувствительность нейронов АРК, включая ПОМК-нейроны к орексину, указывает высокая плотность на них орексиновых рецепторов [9, 13]. Показано, что усиление экспрессии орексиновых пептидов или введение в мозг ОР-А вызывает подавление функциональной активности ПОМК-нейронов и продукцию ими меланокортиновых пептидов, что и лежит в основе орексигенного влияния ОР-А [13, 14]. В случае снижения экспрессии и содержания ОР-А в орексин-экспрессирующих нейронах или при использовании соединения SB334867, селективного антагониста орексиновых рецепторов 1-го типа, отмечается повышение активности ПОМК-нейронов [7, 9]. Эти данные согласуются с нашими результатами

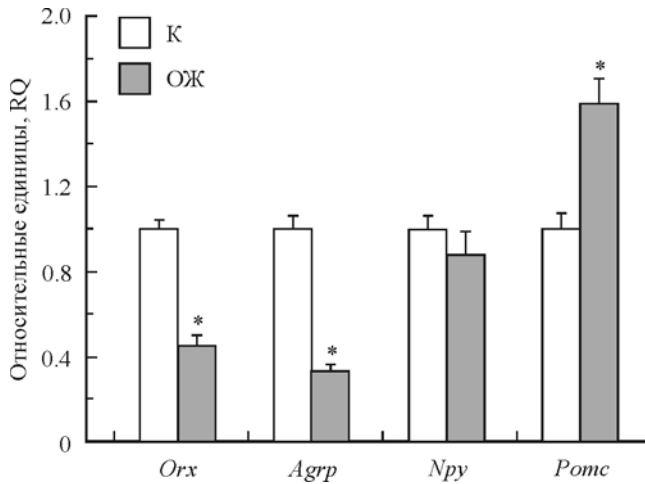


Рис. 2. Экспрессия генов, кодирующих орексигенные и анорексигенные факторы, в гипоталамусе крыс с ожирением (ОЖ) в сравнении с контрольными (К) животными.

Все значения представлены как $M \pm SEM$. * $p < 0.05$.

о том, что на фоне снижения продукции ОР-А орексин-экспрессирующими нейронами, локализованными в перифорникальной области гипоталамуса, отмечалось повышение экспрессии ПОМК в АРК гипоталамуса крыс с ожирением.

К ослаблению аппетита приводит и снижение экспрессии АПП, эндогенного антагониста МКР 4-го типа. АПП снижает расход энергии и повышает накопление жира как запасного питательного вещества, причем этот его эффект даже более выражен, чем стимулирующее влияние на аппетит [3, 18]. Нокаут гена, кодирующего АПП, снижает аппетит и повышает энергетический обмен на периферии [17]. Регуляторные эффекты АПП во многом обусловлены вызываемым этим нейропептидом ингибированием активности МКР 4-го типа, локализованных в паравентрикулярных ядрах гипоталамуса. К сходным результатам приводит генетическое, фармакологическое или аутоиммунное ингибирование активности МКР 4-го типа [2, 3, 5, 15]. При этом экспрессия НPY, который продуцируется теми же нейронами, что и АПП, не менялась. Следует отметить, что НPY отвечает за быстрое, но преходящее повышение аппетита в отличие от АПП, стимулирующее действие которого на аппетит запаздывает, но продолжается длительное время [10]. Полученные данные указывают на то, что у крыс с ожирением нарушается динамика развития мотивации к приему пищи.

Таким образом, в условиях индуцированного кафетерий-диетой ожирения в различных областях гипоталамуса запускаются компенсаторные процессы, направленные на усиление анорексигенных и подавление орексигенных влияний, что должно обеспечить ослабление гиперфагии и уменьшение негативных последствий избыточного потребления калорий. Показано, что важную роль в этом играет ослабление продукции мощного орексигенного фактора ОР-А в перифорникальной области гипоталамуса и смещение баланса в сторону продукции активаторов МКР 4-го типа в АРК ядрах гипоталамуса.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (проект № 16-15-10388) с использованием оборудования ЦКП ИЭФБ РАН.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- [1] Романова И. В., Михрина А. Л. Участие агути-подобного белка в механизмах регуляции цикла бодрствование—сон. Физиология человека. 39 (6): 24—30. 2013.
- [2] Anderson E. J., Cakir I., Carrington S. J., Cone R. D., Ghamari-Langroudi M., Gillyard T., Gimenez L. E., Litt M. J. 60 years of POMC: Regulation of feeding and energy homeostasis by α -MSH. *J. Mol. Endocrinol.* 56 (4): T157—T174. 2016.
- [3] Biebermann H., Kühnen P., Kleinau G., Krude H. The neuroendocrine circuitry controlled by POMC, MSH, and AGRP. *Handb. Exp. Pharmacol.* 209: 47—75. 2012.
- [4] Derkach K. V., Bondareva V. M., Chistyakova O. V., Berstein L. M., Shpakov A. O. The effect of long-term intranasal serotonin treatment on metabolic parameters and hormonal signaling in rats with high-fat diet/low-dose streptozotocin-induced type 2 diabetes. *Int. J. Endocrinol.* 2015: 245459. 2015.
- [5] Derkach K. V., Shpakova E. A., Zharova O. A., Shpakov A. O. The metabolic changes in rats immunized with BSA conjugate of peptide derived from the N-terminal region of type 4 melanocortin receptor. *Dokl. Biochem. Biophys.* 458: 163—166. 2014.
- [6] Ferrario C. R., Labouebe G., Liu S., Nieh E. H., Routh V. H., Xu S., O'Connor E. C. Homeostasis meets motivation in the battle to control food intake. *J. Neurosci.* 36 (45): 11 469—11 481. 2016.
- [7] Haynes A. C., Jackson B., Chapman H., Tadayyon M., Johns A., Porter R. A., Arch J. R. A selective orexin-1 receptor antagonist reduces food consumption in male and female rats. *Regul. Pept.* 96 (1—2): 45—51. 2000.
- [8] Huang H., Acuna-Goycolea C., Li Y., Cheng H. M., Obrietan K., van den Pol A. N. Cannabinoids excite hypothalamic melanin-concentrating hormone but inhibit hypocretin/orexin neurons: implications for cannabinoid actions on food intake and cognitive arousal. *J. Neurosci.* 27 (18): 4870—4881. 2007.
- [9] Imperatore R., Palomba L., Cristino L. Role of orexin-A in hypertension and obesity. *Curr. Hypertens. Rep.* 19 (4): 34. 2017.
- [10] Krashes M. J., Shah B. P., Koda S., Lowell B. B. Rapid versus delayed stimulation of feeding by the endogenously released AgRP neuron mediators GABA, NPY, and AgRP. *Cell Metab.* 18 (4): 588—595. 2013.
- [11] Morello G., Imperatore R., Palomba L., Finelli C., Labruna G., Pisanisi F., Sacchetti L., Buono L., Piscitelli F., Orlando P., Di Marzo V., Cristino L. Orexin-A represses satiety-inducing POMC neurons and contributes to obesity via stimulation of endocannabinoid signaling. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 113 (17): 4759—4764. 2016.
- [12] Rubinstein M., Low M. J. Molecular and functional genetics of the proopiomelanocortin gene, food intake regulation and obesity. *FEBS Lett.* 591 (17): 2593—2606. 2017.
- [13] Sakurai T., Amemiya A., Ishii M., Matsuzaki I., Chemelli R. M., Tanaka H., Williams S. C., Richardson J. A., Kozlowski G. P., Wilson S. et al. Orexins and orexin receptors: a family of hypothalamic neuropeptides and G protein-coupled receptors that regulate feeding behavior. *Cell.* 92 (4): 573—585. 1998.
- [14] Shiraishi T., Oomura Y., Sasaki K., Wayner M. J. Effects of leptin and orexin-A on food intake and feeding related hypothalamic neurons. *Physiol. Behav.* 71 (3—4): 251—261. 2000.
- [15] Shpakov A. O., Derkach K. V., Berstein L. M. Brain signaling systems in the type 2 diabetes and metabolic syndrome: promising target to treat and prevent these diseases. *Future Science Open.* 1(3): FSO25. 2015.
- [16] Sukhov I. B., Derkach K. V., Chistyakova O. V., Bondareva V. M., Shpakov A. O. Functional state of hypothalamic signaling systems in rats with type 2 diabetes mellitus treated with intranasal insulin. *J. Evol. Biochem. Physiol.* 52 (3): 204—216. 2016.
- [17] Thomas M. A., Tran V., Ryu V., Xue B., Bartness T. J. AgRP knockdown blocks long-term appetitive, but not consummatory, feeding behaviors in Siberian hamsters. *Physiol. Behav.* pii: S0031-9384(17)30346-3. 2017.
- [18] Thomas M. A., Xue B. Mechanisms for AgRP neuron-mediated regulation of appetitive behaviors in rodents. *Physiol. Behav.* pii: S0031-9384(17)30344-X. 2017.
- [19] Toda C., Santoro A., Kim J. D., Diano S. POMC neurons: From birth to death. *Annu. Rev. Physiol.* 79: 209—236. 2017.

Поступила 18 IV 2018