

Регуляция потребления пищи в период беременности и лактации у мышей со сниженной активностью меланокортиновой системы

Е.Н. Макарова¹✉, И.В. Романова², Н.М. Бажан^{1, 3}

¹ Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук», Новосибирск, Россия

² Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова Российской академии наук, Санкт-Петербург, Россия

³ Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Новосибирский национальный исследовательский государственный университет», Новосибирск, Россия

Активация меланокортиновых рецепторов (МКР) в гипоталамусе подавляет аппетит. Белок, родственник агутти (AgRP), и нейропептид Y (NPY) коэкспрессируются в нейронах гипоталамуса и повышают аппетит: NPY – через свои рецепторы на МКР-нейронах, AgRP связывается с МКР и вызывает их инактивацию. У неразмножающихся мышей генетическая блокада МКР (мутация *yellow* в локусе *agouti* *A^y*) повышает потребление пищи. Остается невыясненной роль МКР в регуляции аппетита в период беременности и лактации, когда потребление пищи значительно возрастает. В этой работе у мышей линии C57Bl/6J *a/a* (контроль) и *A^y/a* генотипов изучали экспрессию AgRP (меланокортиновая регуляция) и NPY (немеланокортиновая регуляция) в гипоталамусе в период беременности (7, 13, 18-й дни) и лактации (10-й и 21-й дни) и сопоставили ее с потреблением пищи. У виргинных *A^y/a* (блокада МКР) самок по сравнению с *a/a* самками потребление пищи было повышено, уровень мРНК и иммунореактивность AgRP понижены. Динамика возрастания потребления пищи по ходу беременности различалась у *A^y/a* и *a/a* мышей. Уровень мРНК NPY возрастал только у *a/a* самок, а уровень мРНК AgRP – у самок обоих генотипов, но у *A^y/a* был ниже, чем у контрольных. После родов потребление пищи, уровни мРНК нейропептидов и иммунореактивность AgRP в гипоталамусе не различались у *A^y/a* и *a/a* самок, экспрессия AgRP у лактирующих *A^y/a* самок была выше, чем у виргинных. Полученные результаты показывают, что блокада МКР снижает экспрессию AgRP у неразмножающихся самок мышей, беременность уменьшает, а лактация устраняет этот эффект. Повышение потребления пищи во время беременности связано с активацией синтеза NPY и AgRP и проведением орексигенного сигнала через МКР. Гиперфагия лактации не зависит от инактивации МК-рецепторов.

Ключевые слова: *A^y* мыши; потребление пищи; беременность; лактация; меланокортиновые рецепторы; NPY; AgRP.

КАК ЦИТИРОВАТЬ ЭТУ СТАТЬЮ:

Макарова Е.Н., Романова И.В., Бажан Н.М. Регуляция потребления пищи в период беременности и лактации у мышей со сниженной активностью меланокортиновой системы. Вавиловский журнал генетики и селекции. 2016;20(2):138-144. DOI 10.18699/VJ16.124

HOW TO CITE THIS ARTICLE:

Makarova E.N., Romanova I.V., Bazhan N.M. Food intake regulation during pregnancy and lactation in mice with reduced activity of the melanocortin system. Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Selektcii = Vavilov Journal of Genetics and Breeding. 2016;20(2):138-144. DOI 10.18699/VJ16.124

ORIGINAL ARTICLE

Received 15.10.2015 г.

Accepted for publication 30.11.2015 г.

© AUTHORS, 2016

Food intake regulation during pregnancy and lactation in mice with reduced activity of the melanocortin system

E.N. Makarova¹✉, I.V. Romanova², N.M. Bazhan^{1, 3}

¹ Institute of Cytology and Genetics SB RAS, Novosibirsk, Russia

² I.M. Sechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry, RAS, St. Petersburg, Russia

³ Novosibirsk State University, Novosibirsk, Russia

Hypothalamic melanocortin receptor (MCR) activation inhibits appetite. Neuropeptide Y (NPY) and Agouti Related Protein (AgRP) are coexpressed in some hypothalamic neurons and stimulate feeding, NPY via inhibition of MCR-expressing neurons, and AgRP via MCR4 antagonism. Mutation *yellow* at the mouse *agouti* locus (*A^y*) evokes MCR blockage and stimulates appetite in nulliparous females. The role of MCRs in food intake regulation during pregnancy and lactation is unclear. In this study we measured hypothalamic AgRP and NPY mRNA levels in virgin and mated C57Bl/6J *a/a* (control) and *A^y/a* females on days 7, 13, 18 of pregnancy, 10, 21 of lactation, and after offspring separation, AgRP immunoreactivity in virgin and lactating females, and correlated gene expression with food intake (FI). Virgin *A^y/a* compared to *a/a* females had higher FI and lower AgRP expression. Pregnant *A^y/a* and *a/a* mice showed different patterns of food intake and neuropeptide expressions. NPY mRNA levels increased during pregnancy only in *a/a* mice, while AgRP mRNA levels increased in both genotypes being lower in *A^y/a* than in *a/a* mice. In lactating *A^y/a* and *a/a* mice, AgRP expression and NPY mRNA level were similar. AgRP expression was higher in lactating than in virgin *A^y/a* mice. The results obtained demonstrate that in non-breeding female mice, MCR blockage is associated with AgRP expression inhibition which vanishes in lactation. In lactation, hyperphagia is independent of MCR blockage. In pregnancy, food intake regulation involves MCR signaling and activation of NPY and AgRP expression.

Key words: *A^y* mice; food intake; pregnancy; lactation; melanocortin receptors; NPY; AgRP.

Исследования механизмов поддержания энергетического гомеостаза приобрели особую актуальность в связи с широким распространением метаболических заболеваний, таких как ожирение и диабет. Как правило, ожирение развивается на фоне повышенного потребления пищи (гиперфагия) и сниженного расхода энергии (Konturek et al., 2005). Беременность и особенно лактация характеризуются выраженной гиперфагией, что может служить фактором, провоцирующим развитие ожирения. В период лактации потребление пищи возрастает в несколько раз по сравнению с нормой (Макарова et al., 2010). Регуляторные механизмы повышения аппетита у беременных и кормящих самок изучены недостаточно (Woodside et al., 2012). Исследования в этой области направлены в основном на изучение функции меланокортиновой системы.

Меланокортиновая система мозга считается одной из основных (если не основной) системой, задействованной в регуляции потребления и расхода энергии (Mountjoy, 2015). Она включает в себя нейроны, экспрессирующие меланокортиновые рецепторы 3-го и 4-го типа (МКР3, МКР4), представленные в различных областях мозга (Mountjoy et al., 1994), а также две субпопуляции нейронов, локализованные в аркуатном ядре гипоталамуса (АРК), которые секретируют лиганды этих рецепторов. Одна субпопуляция нейронов синтезирует меланоцитстимулирующий гормон (МСГ), предшественником которого является проопиомеланокортин (ПОМК), другая – белок, родственный агуту (Agouti gene Related Protein, AgRP), и нейропептид Y (NPY). МСГ и AgRP конкурируют за связывание с МКР и оказывают противоположное действие на баланс энергии: связывание МСГ с МКР4 активирует нейрональные пути, приводящие к снижению потребления пищи и увеличению расхода энергии, тогда как связывание AgRP с этим рецептором, напротив, увеличивает потребление пищи и снижает расход энергии (Mountjoy, 2015). NPY через собственные рецепторы ингибирует МКР4-экспрессирующие нейроны, что также увеличивает аппетит (Sternson, Atasoy, 2014).

Показано, что у кормящих самок крыс (Mann et al., 1997; Suzuki et al., 2014) снижена экспрессия ПОМК и повышена экспрессия AgRP и NPY в нейронах гипоталамуса, что, по мнению авторов, и вызывает гиперфагию, поскольку это приводит к инактивации МКР и повышению аппетита. Однако генетическая блокада МКР, которую вызывает мутация *yellow* в локусе *aguti* (A^y) у мышей, не оказывает влияния на потребление пищи в период лактации (Макарова et al., 2010). Это говорит о том, что у лактирующих самок повышение аппетита не связано с проведением сигнала через МКР.

Оптогенетические исследования меланокортиновой системы продемонстрировали, что снижение потребления пищи, вызванное фотостимуляцией ПОМК нейронов, связано с проведением сигнала через МКР, тогда как увеличение в потреблении пищи, вызванное фотостимуляцией AgRP/NPY-синтезирующих нейронов, не зависит от меланокортиновых рецепторов (Aronte et al., 2011). Возможно, отсутствие влияния генетической блокады МКР на потребление пищи в период лактации связано с независимой от МКР активностью AgRP/NPY нейронов гипоталамуса.

Целью настоящей работы было изучение гипоталамической экспрессии AgRP и NPY и сопоставление ее с потреблением пищи у мышей с мутацией A^y в период беременности и лактации.

Материалы и методы

Экспериментальные животные. Эксперименты проводились в соответствии с российскими (Приказ МЗ СССР от 12.08.1977 г. № 755 «О мерах по дальнейшему совершенствованию организационных форм работы с использованием экспериментальных животных») и Международными европейскими биоэтическими стандартами (86/609-ЕЕС) по содержанию и обращению с лабораторными животными.

В работе использовали мышей линии C57Bl/6J, несущих мутацию *yellow* в локусе *aguti* (A^y/a генотип) из вивария Института цитологии и генетики СО РАН (г. Новосибирск). Контролем служили мыши стандартного линейного *aguti* генотипа (a/a) этой линии. Животных кормили гранулированным кормом для конвенционального содержания и разведения (ЗАО «Ассортимент – Агро», Москва, Сергиев Посад, Россия), содержали при режиме освещения 12 ч свет : 12 ч темнота и свободном доступе к воде и пище.

Потребление пищи. Самок в возрасте 8–9 нед спаривали с самцами, покрытие регистрировали по вагинальной пробке, день обнаружения пробки считали нулевым днем беременности. Покрытых самок содержали поодиночке и ежедневно измеряли потребление пищи в течение всей беременности и первых десяти дней после родов. Детенышей отсаживали в возрасте 4 нед, у самок после отсадки детенышей измеряли недельное потребление пищи в течение 3 нед.

Измерение уровня мРНК AgRP и NPY и иммунореактивности AgRP в гипоталамусе. Покрытых самок умерщвляли декапитацией на 7-, 13-, 18-й дни беременности, 10- и 21-й дни после родов и через три недели после отсадки детенышей. Извлекали гипоталамусы и помещали в жидкий азот. Для сравнения использовали виргинных самок в возрасте 8–10 нед. В каждую контрольную или экспериментальную группу входило не менее шести особей.

Уровень мРНК NPY и AgRP оценивали методом обратной транскрипции и полимеразной цепной реакции (ОТ-ПЦР) как отношение количества мРНК исследуемого гена к количеству мРНК β -актина мыши.

Проведение ОТ-ПЦР. Из гипоталамуса выделяли общую РНК, используя TRI реагент (Sigma, США), согласно инструкции. Для обратной транскрипции использовали M-MuLV обратную транскриптазу (НПО «СибЭнзим») и олиго-dT в качестве праймера, в пробу вносили один мкг общей РНК.

С помощью электрофореза в агарозном геле оценивали количество амплифицированных фрагментов кДНК NPY и AgRP по отношению к фрагменту мышиного β -актина. Электрофорез продуктов ПЦР для обоих нейропептидов и β -актина проводили в одном геле в стандартных условиях, окрашивали гели бромистым этидием, детекцию свечения в УФ проводили в стандартных условиях, для оценки оптической плотности бэндов использовали про-

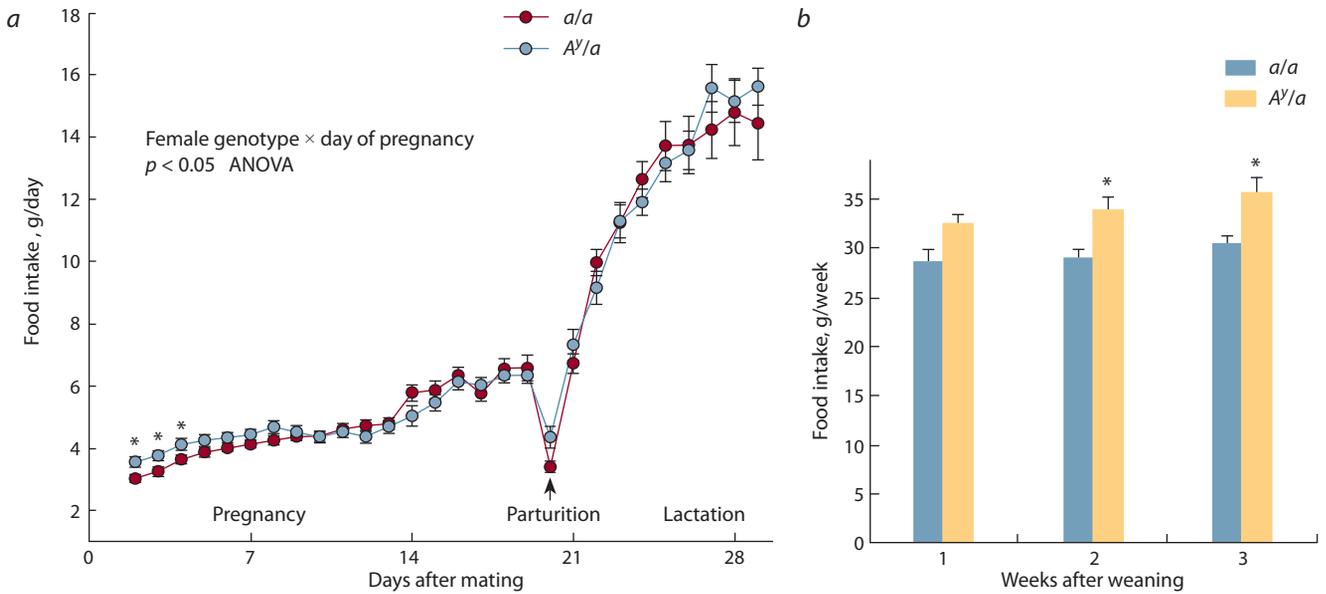


Fig. 1. Food intake by *a/a* and *A^y/a* female mice: (a) daily food intake (g/day) during pregnancy and 10 days of lactation; (b) weekly food intake (g/week) during 3 weeks after weaning.

Data are presented as means ± SE. * $p < 0.01$, Student's *t*-test, *a/a* vs. *A^y/a*.

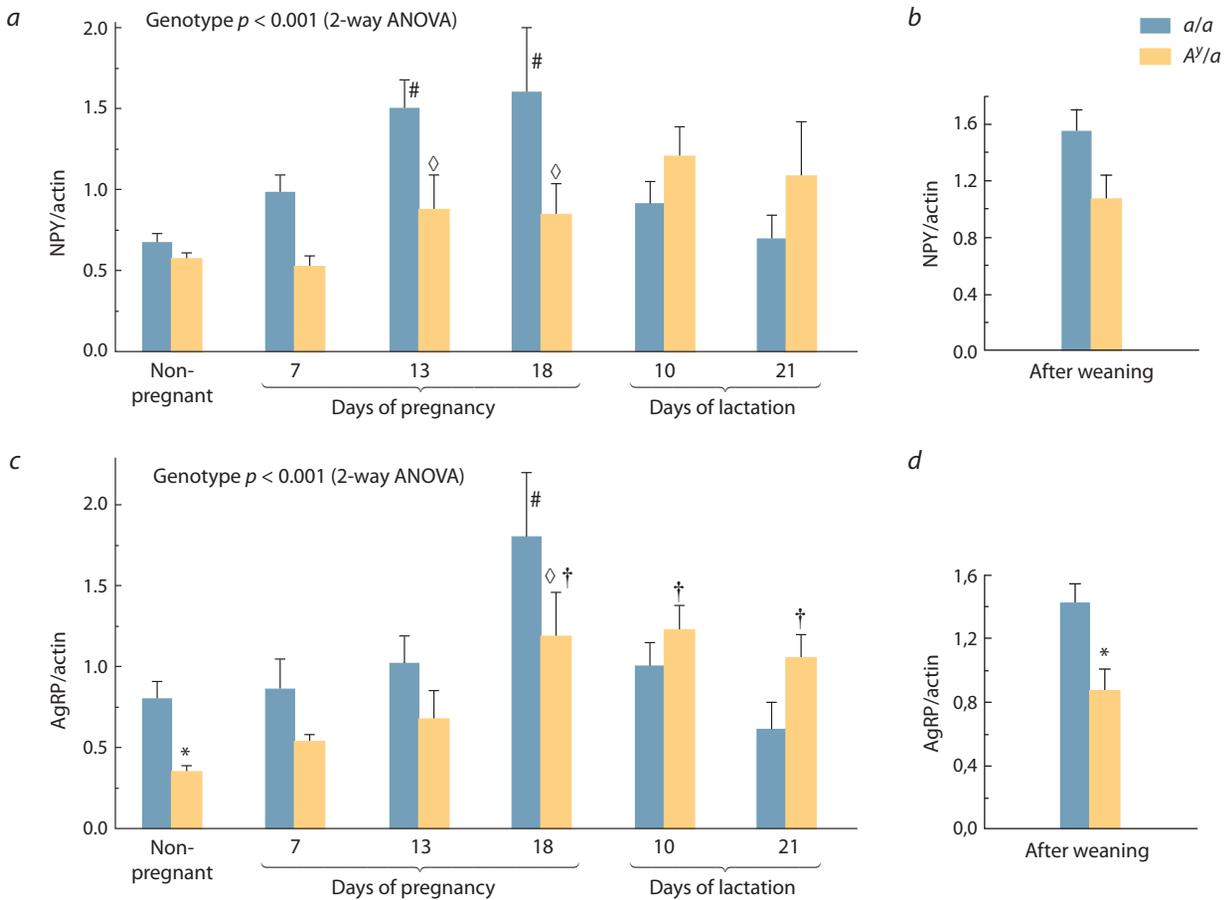


Fig. 2. Levels of (a, b) NPY and (c, d) AgRP mRNA in *a/a* and *A^y/a* female mice: (a, c) during pregnancy and lactation; (b, d) after weaning.

The X-axis shows days of pregnancy (p.d) and days of lactation. The Y-axis shows relative gene expression (arbitrary units) calculated as cDNA signals of NPY or AgRP normalized to β -actin cDNA signals. Data are presented as means ± SE. * $p < 0.05$, Student's *t*-test, *a/a* vs. *A^y/a*; † $p < 0.05$, post-hoc Duncan, *a/a* vs. *A^y/a*; # $p < 0.05$, post-hoc Duncan, between day 13 or 18 of pregnancy and other indicated points for *a/a* female mice (a, c); † $p < 0.05$, post-hoc Duncan, between day 10 or 21 of lactation and nonpregnant females for *A^y/a* mice (c).

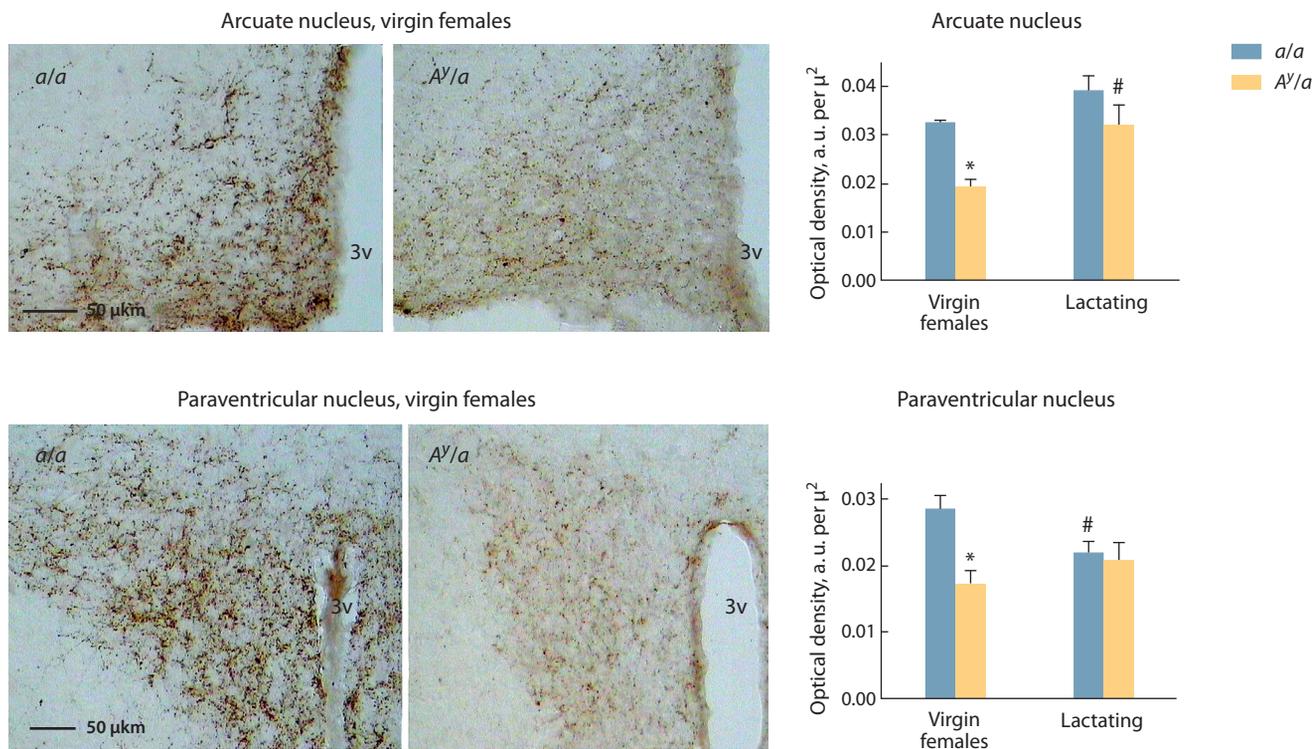


Fig. 3. AgRP immunoreactivity in hypothalamic arcuate and paraventricular nuclei in virgin and lactating *a/a* and *A^y/a* female mice.

The Y axis represents relative optical density in arbitrary units per μ^2 . Data are presented as $M \pm SE$. * $p < 0.05$, post-hoc Duncan, *a/a* vs. *A^y/a*; # $p < 0.05$, post-hoc Duncan, virgin vs. lactating females for *A^y/a* mice in the arcuate nucleus and for *a/a* mice in the paraventricular nucleus.

лактации не имел достоверных различий с таковым у небеременных самок.

У *A^y/a* мышей однофакторный дисперсионный анализ не выявил влияния беременности и лактации на уровень мРНК NPY. Уровень мРНК AgRP возрастал по ходу беременности и затем не менялся (1-way ANOVA, $F_{5,38} = 3,8$, $p < 0,01$). У лактирующих *A^y/a* мышей уровень мРНК AgRP был выше, чем у небеременных самок (рис. 2).

Уровень мРНК NPY у *A^y/a* мышей по сравнению с *a/a* мышами был снижен в период беременности и не различался в период лактации, после отъема детенышей и у небеременных самок (рис. 2). Уровень мРНК AgRP у *A^y/a* мышей по сравнению с *a/a* мышами был снижен в период беременности, после отъема детенышей и у небеременных самок и не различался только в период лактации (рис. 2).

Анализ содержания AgRP в ядрах гипоталамуса. Иммуногистохимическое выявление AgRP на срезах гипоталамуса показало, что в АРК уровень белка зависел как от *агути* генотипа самок ($p < 0,01$, $F_{1,16} = 13$, 2-way ANOVA), так и от их репродуктивного статуса ($p < 0,01$, $F_{1,16} = 11$, 2-way ANOVA). При этом достоверные генотипические отличия наблюдались только у небеременных самок: у *A^y/a* мышей уровень белка был снижен по сравнению с *a/a* мышами на 40 % ($p < 0,05$), (рис. 3).

Уровень белка возрастал у лактирующих самок обоих генотипов по сравнению с виргинными, но различия достигали статистической значимости только у *A^y/a* мышей,

у которых уровень белка возрастал на 66 % ($p < 0,05$), (рис. 3).

В ПВЯ, как и в АРК, уровень AgRP зависел от *агути* генотипа самок ($p < 0,01$, $F_{1,16} = 8,64$, 2-way ANOVA), кроме того, было выявлено достоверное взаимодействие факторов генотипа и репродуктивного статуса ($p < 0,05$, $F_{1,16} = 5,58$, 2-way ANOVA). Как и в АРК, в ПВЯ статистически достоверные генотипические различия были обнаружены только у виргинных самок (у *A^y/a* на 39 % ниже, чем у *a/a*, $p < 0,05$), (рис. 3). Однако, в отличие от АРК, в ПВЯ уровень AgRP у лактирующих *a/a* самок достоверно снизился по сравнению с виргинными, а у *A^y/a* самок несколько возрос, хотя различия между виргинными и лактирующими самками не достигли статистической значимости.

Таким образом, в обоих ядрах представление AgRP было снижено у виргинных самок *A^y/a* генотипа по сравнению с *a/a* генотипом. Во время лактации эти различия в обоих ядрах исчезали, но по разным причинам: в аркуатном ядре в основном за счет повышения уровня AgRP у *A^y/a* мышей, а в паравентрикулярном ядре главным образом за счет снижения уровня AgRP у *a/a* мышей (рис. 3).

Обсуждение

Мы проследили за изменением потребления пищи и гипоталамической экспрессией орексигенных нейропептидов

NPY и AgRP в ходе беременности, лактации и после отъема детенышей у самок с нормальной функцией меланокортиновой системы и блокадой МКР.

Прежде всего, было обнаружено, что у *A^{y/a}* самок в периоды, не связанные с увеличением энергозатрат на размножение (виргинные и после отъема детенышей), потребление пищи было повышено (из-за блокады МКР) (Miltenberger et al., 1997), а экспрессия AgRP понижена по сравнению с *a/a* контролем, что совпадает с результатами, полученными ранее на самцах *A^{y/a}* мышей (Tsututa et al., 2002). Количество самого белка как в АРК, где он синтезируется, так и в ПВЯ, куда транспортируются гранулы с нейропептидами, также было снижено. Эти результаты свидетельствуют о том, что генетическая блокада меланокортиновых рецепторов приводит к компенсаторному снижению активности AgRP/NPY продуцирующих нейронов. Однако мы, как и другие авторы ранее (Kesterson et al., 1997), не обнаружили разницы по экспрессии мРНК NPY в гипоталамусе у виргинных *a/a* и *A^{y/a}* самок, что позволяет высказать предположение о возможности специфического подавления синтеза AgRP в AgRP/NPY-продуцирующих нейронах у *A^{y/a}* мышей. Опто- и фармакогенетические исследования показали, что секретируемые AgRP-позитивными нейронами медиаторы (AgRP, NPY и гамма-аминомасляная кислота (ГАМК)) различаются по характеру своего воздействия на аппетит (Sternson, Atasoy, 2014). AgRP через МКР4 оказывает долгосрочное активирующее влияние на потребление пищи, а NPY и ГАМК через собственные рецепторы повышают потребление пищи непосредственно после активации нейронов, при этом каждый из медиаторов способен заместить действие двух остальных при генетическом нокауте последних (Krashes et al., 2013). Возможно, каждый медиатор имеет собственные пути внутриклеточной регуляции синтеза и деградации.

Сопоставление профилей экспрессии NPY и AgRP с потреблением пищи у нормальных (*a/a*) самок в ходе репродуктивного процесса показывает, что на начальных этапах беременности гиперфагия ассоциирована с ростом уровня мРНК NPY, в конце беременности – с повышенным уровнем мРНК обоих нейропептидов. Возможно, в первой половине беременности аппетит повышается за счет преимущественного действия NPY, которое во второй половине беременности усиливается связыванием AgRP с МКР4. Вовлеченность AgRP нейронов и меланокортиновых рецепторов в регуляцию аппетита в период беременности подтверждается и тем, что у *A^{y/a}* самок прирост в потреблении пищи по ходу беременности был менее выражен, чем у *a/a* самок, при этом у них была снижена экспрессия NPY и AgRP в течение всей беременности.

В период лактации меланокортиновая система уступает ведущую роль в регуляции энергетического гомеостаза другим, пока еще мало исследованным регуляторным механизмам. Об этом свидетельствуют снижение уровня мРНК NPY и AgRP у родивших *a/a* самок до значений, присущих виргинным самкам, а также отсутствие разницы в потреблении пищи у лактирующих *A^{y/a}* и *a/a* мышей. Стимуляция аппетита во время лактации может зависеть от немеланокортиновых сигнальных путей, которые активируются AgRP-нейронами через ГАМК, о чем свиде-

тельствуют результаты, представленные Phillips и Palmiter (2008). Авторы показали, что специфическое разрушение AgRP-нейронов на седьмой и девятый дни после родов как у нормальных мышей, так и у мышей с двойным нокаутом по генам *npy* и *agrp* приводило к резкому уменьшению в потреблении пищи. Современные исследования функции AgRP-нейронов показали, что их орексигенное действие опосредуется через взаимодействие AgRP с МКР4 в ядрах гипоталамуса и через МКР независимые пути в других структурах мозга (Wu, Palmiter, 2011). Снижение иммунореактивности AgRP в ПВЯ гипоталамуса у лактирующих *a/a* самок по сравнению с виргинными говорит о возможном перераспределении активности AgRP нейронов в пользу МКР-независимых сигнальных путей.

Изменение экспрессии мРНК AgRP у *A^{y/a}* мышей в процессе беременности, лактации и после отъема детенышей и отсутствие отличий как по уровню мРНК, так и по иммунореактивности белка в АРК во время лактации, говорят о том, что ингибирующее действие блокады МКР на экспрессию AgRP снимается в ходе репродуктивного процесса и вновь восстанавливается после его окончания. Активация синтеза AgRP в конце беременности как у *a/a*, так и у *A^{y/a}* самок может происходить под действием метаболических стимулов (например, снижения концентраций глюкозы в ходе беременности (Makarova et al., 2010) либо специфичных для беременности гормональных сигналов; в период лактации – под действием факторов, связанных с синтезом, сосанием и отдачей молока. Однако остается неизвестным, какие именно метаболические и гормональные сигналы влияют на активность AgRP-нейронов у беременных и кормящих самок (Woodside et al., 2012).

Неясно, имеет ли влияние на потребление пищи в период беременности и лактации изменение экспрессии AgRP у мышей с генетической блокадой меланокортиновых рецепторов, поскольку наличие МКР4 необходимо и достаточно для реализации орексигенного действия AgRP (Krashes et al., 2013). Нельзя исключить другие, непрямые, пути регуляторного влияния AgRP на аппетит, например, через влияние на активность других нейромедиаторов в AgRP-нейронах. О возможности таких взаимовлияний свидетельствуют эксперименты, которые показали, что нокаут гена *npy* не влияет на потребление пищи при активации AgRP-нейронов, но сопровождается при этом значительной интенсификацией передачи сигнала через ГАМК (Sternson, Atasoy, 2014).

Представленные в данной работе результаты указывают на возможную вовлеченность AgRP-нейронов гипоталамуса в не связанную с передачей сигнала через МКР регуляцию потребления пищи в период беременности и лактации, что не исключает и других путей регуляции. Стимулирующий эффект на аппетит в период беременности может оказывать возрастание уровня глюкокортикоидов по ходу беременности (Makarova et al., 2010), поскольку кортикотропин-релизинг фактор (КРФ) снижает аппетит (Drescher et al., 1994), а глюкокортикоиды по системе отрицательной обратной связи подавляют экспрессию КРФ в гипоталамусе (Brunton et al., 2008; da Costa et al., 2001). В период лактации значительное влияние на потребление пищи могут оказывать пролактин

и сосательные стимулы (Woodside et al., 2012). Регуляция энергетического гомеостаза в период беременности и лактации требует дальнейшего изучения с привлечением современных генетических и физиологических методов исследования.

Суммируя полученные результаты, можно заключить, что блокада меланокортиновых рецепторов оказывает ингибирующее влияние на экспрессию AgRP в аркуатном ядре гипоталамуса, но только у самок, не вовлеченных в репродуктивный процесс: во время беременности это ингибирующее влияние ослабевает и полностью исчезает при лактации. Регуляция потребления пищи различается у беременных и лактирующих самок. Регуляторные механизмы, повышающие потребление пищи в период беременности, включают в себя активацию синтеза NPY и AgRP в APK и проведение орексигенного сигнала через МКР. Ведущую роль в регуляции потребления пищи во время лактации берут на себя сигнальные пути, не связанные с функционированием меланокортиновых рецепторов.

Acknowledgments

This study was supported by State Budgeted Project 0324-2015-0004 and the Russian Foundation for Basic Research, projects 06-04-48517 and 07-04-01258.

Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest.

References

- Aponte Y., Atasoy D., Sternson S.M. AGRP neurons are sufficient to orchestrate feeding behavior rapidly and without training. *Nat. Neurosci.* 2011;14(3):351-355. DOI 10.1038/nn.2739
- da Costa A.P., Ma X., Ingram C.D., Lightman S.L., Aguilera G. Hypothalamic and amygdaloid corticotropin-releasing hormone (CRH) and CRH receptor-1 mRNA expression in the stress-hyporesponsive late pregnant and early lactating rat. *Brain Res. Mol. Brain Res.* 2001;91:119-130.
- Drescher V.S., Chen H.L., Romsos D.R. Corticotropin-releasing hormone decreases feeding, oxygen consumption and activity of genetically obese (ob/ob) and lean mice. *J. Nutr.* 1994;124:524-530.
- Kesterson R.A., Huszar D., Lynch C.A., Simerly R.B., Cone R.D. Induction of neuropeptide Y gene expression in the dorsal medial hypothalamic nucleus in two models of the agouti obesity syndrome. *Mol. Endocrinol.* 1997;11(5):630-637.
- Konturek P.C., Konturek J.W., Cześnikiewicz-Guzik M., Brzozowski T., Sito E., Konturek S.J. Neuro-hormonal control of food intake: basic mechanisms and clinical implications. *J. Physiol. Pharmacol.* 2005;56(Suppl. 6):5-25.
- 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.* 2013;18(4):588-595. DOI 10.1016/j.cmet.2013.09.009
- Makarova E.N., Yakovleva T.V., Shevchenko A.Y., Bazhan N.M. Pregnancy and lactation have anti-obesity and anti-diabetic effects in A^y/a mice. *Acta Physiol. (Oxf).* 2010;198(2):169-177. DOI 10.1111/j.1748-1716.2009.02046.x
- Mann P.E., Rubin B.S., Bridges R.S. Differential proopiomelanocortin gene expression in the medial basal hypothalamus of rats during pregnancy and lactation. *Brain Res. Mol. Brain Res.* 1997;46(1/2):9-16.
- Mikhrina A.L., Romanova I.V. The role of AGRP in regulating dopaminergic neurons in the brain. *Neurosci. Behav. Physiol.* 2015;45(5):536-541.
- Miltenberger R.J., Mynatt R.L., Wilkinson J.E., Woychik R.P. The role of the agouti gene in the yellow obese syndrome. *J. Nutr.* 1997;127:1902S-1907S.
- Mountjoy K.G. Pro-opiomelanocortin (POMC) neurones, POMC-derived peptides, melanocortin receptors and obesity: how understanding of this system has changed over the last decade. *J. Neuroendocrinol.* 2015;27(6):406-418. DOI 10.1111/jne.12285
- Mountjoy K.G., Mortrud M.T., Low M.J., Simerly R.B., Cone R.D. Localization of the melanocortin-4 receptor (MC4-R) in neuroendocrine and autonomic control circuits in the brain. *Mol. Endocrinol.* 1994;8(10):1298-1308.
- Paxinos G.T., Franklin K.B.J. *The Mouse Brain in Stereotaxic Coordinates.* San Diego: Acad. Press., 2001.
- Phillips C.T., Palmiter R.D. Role of agouti-related protein-expressing neurons in lactation. *Endocrinology.* 2008;149(2):544-550.
- Shimokawa T., Kumar M.V., Lane M.D. Effect of a fatty acid synthase inhibitor on food intake and expression of hypothalamic neuropeptides. *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* 2002;99(1):66-71.
- Sternson S.M., Atasoy D. Agouti-related protein neuron circuits that regulate appetite. *Neuroendocrinology.* 2014;100(2/3):95-102. DOI 10.1159/000369072
- Suzuki Y., Nakahara K., Maruyama K., Okame R., Ensho T., Inoue Y., Murakami N. Changes in mRNA expression of arcuate nucleus appetite-regulating peptides during lactation in rats. *J. Mol. Endocrinol.* 2014;52(2):97-109. DOI 10.1530/JME-13-0015
- Tsuruta Y., Yoshimatsu H., Hidaka S., Kondou S., Okamoto K., Sakata T. Hyperleptinemia in A^y/a mice upregulates arcuate cocaine- and amphetamine-regulated transcript expression. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 2002;282(4):E967-973.
- Woodside B., Budin R., Wellman M.K., Abizaid A. Many mouths to feed: the control of food intake during lactation. *Front. Neuroendocrinol.* 2012;33(3):301-314. DOI 10.1016/j.yfrne.2012.09.002
- Wu Q., Palmiter R.D. GABAergic signaling by AgRP neurons prevents anorexia via a melanocortin-independent mechanism. *Eur. J. Pharmacol.* 2011; 660(1):21-27. DOI 10.1016/j.ejphar.2010.10.110
- Ziotopoulou M., Mantzoros C.S., Hileman S.M., Flier J.S. Differential expression of hypothalamic neuropeptides in the early phase of diet-induced obesity in mice. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 2000; 279(4):E838-E845.