

Перевод на английский язык <https://vavilov.elpub.ru/jour>

Зависимые и независимые от уровня эстрадиола эффекты FGF21 у самок мышей с ожирением

Т.В. Яковлева¹✉, А.Ю. Казанцева¹, А.Д. Дубинина¹, Н.Ю. Балыбина¹, К.О. Баранов², Е.Н. Макарова¹, Н.М. Бажан^{1,3}

¹ Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск, Россия

² Институт молекулярной и клеточной биологии Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск, Россия

³ Новосибирский национальный исследовательский государственный университет, Новосибирск, Россия

✉ tatyajakovleva@yandex.ru

Аннотация. Синтезируемый в печени фактор роста фибробластов 21 (FGF21), действуя как гормон, повышает чувствительность к инсулину и расход энергии. Введение FGF21 оказывает мощное благотворное воздействие у людей, обезьян и грызунов с ожирением и диабетом второго типа. Терапевтические эффекты FGF21 исследованы главным образом на самцах, они не всегда проявляются у самок и сопровождаются поло-специфической активацией экспрессии генов в тканях. Мы предположили, что одной из причин полового диморфизма в ответе на FGF21 является действие эстрадиола (E2). В настоящее время неизвестно, как эстрадиол влияет на проявление фармакологических эффектов FGF21. Задачей данного исследования было изучение влияния FGF21 на метаболические характеристики, потребление пищи и экспрессию генов углеводного и жирового обмена в печени, жировой ткани и гипоталамусе у самок мышей с алиментарным ожирением на фоне низкого (овариэктомия) и высокого (овариэктомия + E2) уровня эстрадиола в крови. У овариэктомированных самок развитие ожирения индуцировали потреблением сладко-жирной диеты (стандартный корм, сало, печенье) в течение 8 недель. Мы оценили эффекты FGF21 на массу тела, показатели крови, выбор компонентов диеты, экспрессию генов в тканях при раздельном и совместном введении с E2 в течение 13 дней. У овариэктомированных самок с ожирением FGF21, независимо от введения E2, не влиял на массу тела и жировой ткани, толерантность к глюкозе, повышал потребление стандартного корма, снижал уровень глюкозы в крови, подавлял в печени собственную экспрессию (*Fgf21*), а также экспрессию генов *Gbpc* и *Acaca*. Впервые показано влияние эстрадиола на эффекты FGF21: ингибирование FGF21-влияния на экспрессию *Irs2* и *Pklr* в печени и потенцирование FGF21-стимулированной экспрессии *LepR* и *Klb* в гипоталамусе. Кроме того, на фоне введения эстрадиола не проявлялось ингибирующее влияние FGF21 на уровень инсулина в крови, а в подкожной белой жировой ткани проявлялось ингибирующее влияние FGF21 на экспрессию *Cpt1a* и не проявлялось активирующее влияние FGF21 на экспрессию генов *Insr* и *Acacβ*. Полученные данные позволяют заключить, что у овариэктомированных самок с ожирением отсутствие эффектов FGF21 на массу тела и жировой ткани и его благотворное влияние на потребление пищи и уровень глюкозы в крови не связаны с действием эстрадиола. Однако эстрадиол влияет на транскрипционные эффекты FGF21 в печени, белом жире и гипоталамусе, что может лежать в основе половых различий в его действии на экспрессию метаболических генов и, возможно, половых различий его фармакологических эффектов. Ключевые слова: FGF21; эстрадиол; печень; жировая ткань; пищевое предпочтение; экспрессия генов; половые различия.

Для цитирования: Яковлева Т.В., Казанцева А.Ю., Дубинина А.Д., Балыбина Н.Ю., Баранов К.О., Макарова Е.Н., Бажан Н.М. Зависимые и независимые от уровня эстрадиола эффекты FGF21 у самок мышей с ожирением. *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2022;26(2):159-168. DOI 10.18699/VJGB-22-20

Estradiol-dependent and independent effects of FGF21 in obese female mice

T.V. Jakovleva¹✉, A.Yu. Kazantseva¹, A.D. Dubinina¹, N.Yu. Balybina¹, K.O. Baranov², E.N. Makarova¹, N.M. Bazhan^{1,3}

¹ Institute of Cytology and Genetics of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russia

² Institute of Molecular and Cellular Biology of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russia

³ Novosibirsk State University, Novosibirsk, Russia

✉ tatyajakovleva@yandex.ru

Abstract. The fibroblast growth factor 21 (FGF21) synthesized in the liver, acting as a hormone, increases insulin sensitivity and energy expenditure. FGF21 administration has potent beneficial effects on obesity and diabetes in humans, cynomolgus monkey, and rodents. The therapeutic effects of FGF21 have been studied mainly in males. They are not always manifested in females, and they are accompanied by sex-specific activation of gene expression in tissues. We have suggested that one of the causes of sexual dimorphism in response to FGF21 is the effect of estradiol (E2). Currently, it is not known how estradiol modifies the pharmacological effects of FGF21. The objec-

tive of this study was to study the influence of FGF21 on metabolic characteristics, food intake, and the expression of carbohydrate and fat metabolism genes in the liver, adipose tissue, and hypothalamus in female mice with alimentary obesity and low (ovariectomy) or high (ovariectomy + E2) blood estradiol level. In ovariectomized (OVX) females, the development of obesity was induced by the consumption of a high sweet-fat diet (standard chow, lard, and cookies) for 8 weeks. We investigated the effects of FGF21 on body weight, blood levels, food preferences and gene expression in tissues when FGF21 was administered separately or in combination with E2 for 13 days. In OVX obese females, FGF21, regardless of E2-treatment, did not affect body weight, and adipose tissue weight, or glucose tolerance but increased the consumption of standard chow, reduced blood glucose levels, and suppressed its own expression in the liver (*Fgf21*), as well as the expression of the *G6pc* and *Acaca* genes. This study is the first to show the modification of FGF21 effects by estradiol: inhibition of FGF21-influence on the expression of *Irs2* and *Pklr* in the liver and potentiation of the FGF21-stimulated expression of *Lepr* and *Klb* in the hypothalamus. In addition, when administered together with estradiol, FGF21 exerted an inhibitory effect on the expression of *Cpt1a* in subcutaneous white adipose tissue (scWAT), whereas no stimulating FGF21 effects on the expression of *Insr* and *Acacβ* in scWAT or inhibitory FGF21 effect on the plasma insulin level were observed. The results suggest that the absence of FGF21 effects on body and adipose tissue weights in OVX obese females and its beneficial effect on food intake and blood glucose levels are not associated with the action of estradiol. However, estradiol affects the transcriptional effects of FGF21 in the liver, white adipose tissue, and hypothalamus, which may underlie sex differences in the FGF21 effect on the expression of metabolic genes and, possibly, in pharmacological FGF21 effects.

Key words: FGF21; estradiol; liver; adipose tissue; food preference; gene expression; sex differences.

For citation: Jakovleva T.V., Kazantseva A.Yu., Dubinina A.D., Balybina N.Yu., Baranov K.O., Makarova E.N., Bazhan N.M. Estradiol-dependent and independent effects of FGF21 in obese female mice. *Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Selektcii* = *Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2022;26(2):159-168. DOI 10.18699/VJGB-22-20

Введение

Фактор роста фибробластов 21 (FGF21), синтезируемый в печени, секретируется в кровь и действует как гормон (Kharitonov et al., 2005). Его уровень существенно возрастает в условиях метаболического стресса, а именно в условиях холода, при голодании и при ожирении (Fisher et al., 2011). Было показано, что FGF21 вовлечен в регуляцию углеводно-жирового метаболизма. В фармакологических дозах FGF21 улучшает метаболические показатели у животных и у людей с ожирением: повышает расход энергии и чувствительность к инсулину, снижает уровень глюкозы в крови (Kharitonov et al., 2005; Coskun et al., 2008). Кроме того, FGF21 влияет на вкусовые предпочтения: снижает потребление сладкого и алкоголя, повышает потребление белка (Talukdar et al., 2016; Allard et al., 2019; Larson et al., 2019).

В настоящее время FGF21 и его синтетические аналоги используются для создания препаратов для лечения метаболического синдрома при ожирении. Однако большая часть преclinical исследований фармакологических эффектов FGF21 выполнена на самцах. Исследуя эффекты FGF21 у мышей, мы обнаружили, что его фармакологические эффекты могут различаться у самок и самцов. У самок мышей C57Bl с ожирением, индуцированным диетой с высоким содержанием сахара и жиров, FGF21 снижал массу тела, но, в отличие от самцов, не влиял на толерантность к глюкозе и экспрессию метаболических генов в печени и в бурой жировой ткани (Bazhan et al., 2019). У мышей C57Bl с ожирением, потреблявших смешанную диету (стандартный корм и корм с высоким содержанием жиров), введение FGF21 улучшало ряд метаболических показателей у животных обоих полов, но повышало экспрессию генов в абдоминальной жировой ткани только у самок (Makarova et al., 2021). У самок мышей *A^y* с генетически-детерминированным ожирением, в отличие от самцов, FGF21 не влиял на массу тела, уровень инсулина в крови и экспрессию гена проопиомеланокортина в гипоталамусе, но повышал потребление пищи, массу печени

и модифицировал экспрессию метаболических генов в печени и в белом жире (Makarova et al., 2020).

Причины половых различий фармакологических эффектов FGF21 в настоящее время не известны. Мы предположили, что различия в реакции на FGF21 связаны с влиянием эстрогенов. Эстрадиол и FGF21 оказывают однонаправленное (схожее) действие на метаболические показатели. Эстрадиол, подобно FGF21, снижает потребление пищи и массу тела, уровни в крови глюкозы и инсулина, повышает толерантность к глюкозе у овариэктомизированных и интактных самок мышей с ожирением (Gao et al., 2006; Thammacharoen et al., 2009). Согласно имеющимся данным, эстрадиол и FGF21 имеют разные рецепторы и одинаковые сигнальные пути (Fisher et al., 2011; Vrtačnik et al., 2014). Кроме того, эстрадиол может влиять на уровень в крови FGF21. Было показано, что экспрессия *Fgf21* в печени, которая определяет уровень гормона в крови, зависит от стадии эстрального цикла и положительно коррелирует с уровнем эстрадиола в крови (Hua et al., 2018). Экзогенный эстрадиол также способен стимулировать экспрессию *Fgf21* в печени и повышать уровень FGF21 в крови (Allard et al., 2019).

Мы предположили, что FGF21 и эстрадиол могут взаимодействовать в регуляции углеводно-жирового обмена и фармакологические эффекты FGF21 могут зависеть от уровня эстрадиола в крови. Поэтому задачей данного исследования было изучение влияния FGF21 на метаболические характеристики, выбор пищи и экспрессию генов углеводного и жирового обмена в печени, жировой ткани и гипоталамусе у самок мышей с алиментарным ожирением и разным уровнем эстрогеновой активности.

Материалы и методы

Животные. Все эксперименты проводили в соответствии с Руководством по уходу и использованию лабораторных животных (1996 г.) и российскими национальными инструкциями по уходу и использованию лабораторных животных.

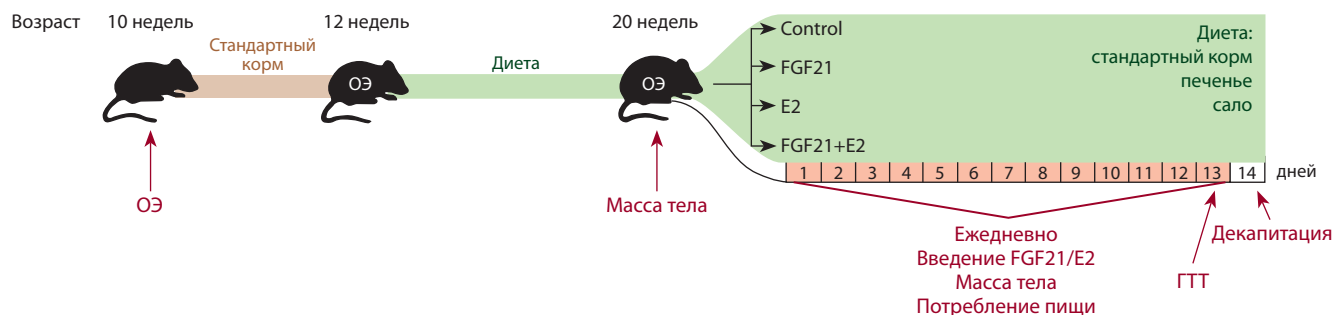


Рис. 1. Схема эксперимента.

ОЭ – овариэктомия; ГТТ – тест толерантности к глюкозе; диета – *ad libitum* стандартный корм, сало, печень; введение – овариэктомированные самки с диет-индуцированным ожирением получали фактор роста фибробластов 21 (FGF21) в дозе 1 мг/1 кг массы тела подкожно и эстрадиол (E2) в дозе 20 мг/животное перорально раздельно или совместно в течение 13 дней ежедневно. Control-самки получали фосфатный буферный раствор (PBS) подкожно и масло перорально.

Работа выполнена на самках мышей линии C57BL/6J (виварий конвенциональных животных Института цитологии и генетики СО РАН). Животных содержали в условиях 12 ч : 12 ч светового режима (световая фаза 07:30–19:30) при температуре 22–24 °C и свободном доступе к воде и пище. В возрасте 10 недель все самки были овариэктомированы. Для индукции развития ожирения через две недели после операции животных переводили на смешанную диету, состоящую из стандартного корма, печени и сала. Животные находились на этой диете в течение 8 недель до начала введения препаратов и на протяжении всего периода (2 недели) введения препаратов (рис. 1).

Мышиный рекомбинантный FGF21 (в дозе 1 мг/кг массы тела), растворенный в фосфатном буферном растворе (PBS), или PBS вводили подкожно (в объеме 200 мкл) в конце светового периода (17:00–19:00) в течение 13 дней. Экспрессию и очистку мышинового FGF21 выполнил доктор Баранов, как описано ранее (Makarova et al., 2021). Эстрадиол (E2 Sigma, США, 20 мкг/животное), растворенный в масле, или масло вводили перорально (100 мкл) одновременно с FGF21.

Овариэктомированные (ОЭ) самки мышей с диет-индуцированным ожирением были случайным образом разделены на четыре экспериментальные группы (по 6–8 животных в группе): 1) Control-самки, которые получали растворители (масло и PBS); 2) FGF21-самки, которые получали FGF21 и масло; 3) E2-самки, которые получали E2 и PBS; 4) FGF21+E2-самки, которые получали FGF21 и E2 одновременно.

Тест толерантности к глюкозе (ГТТ) проводили на 13-й день эксперимента, после чего самки получали последнюю инъекцию препаратов или растворителей соответственно экспериментальной группе. Через сутки после последней инъекции самки были декапитированы (14:00–16:00). Эстрадиол увеличил массу матки (43.5 ± 6.5 мг у самок, получавших масло ($n = 15$), и 114.0 ± 8.6 мг ($n = 12$) у самок, получавших E2, $p < 0.001$ по критерию Стьюдента), что указывает на эффективность выбранной дозы гормона. Перед декапитацией животных взвешивали. После декапитации печень, подкожный (scWAT), абдоминальный (abWAT) белый жир и бурый жир (BAT) были вырезаны и немедленно взвешены. Взятые образцы крови и тканей. Образцы тканей для оценки экспрессии

генов немедленно помещали в жидкий азот и хранили до выделения РНК.

Диета. Энергетическая ценность стандартного корма («БиоПро», Новосибирск, Россия) составляла 250 ккал/100 г, энергетическая ценность печени («Шоколадная страна», Бердск, Россия) – 458 ккал/100 г, а энергетическая ценность сала (свиной подкожный жир) – 800 ккал/100 г. Количество калорий, потребляемых с каждым компонентом диеты, рассчитывали как массу компонента в граммах, умноженную на энергетическую ценность компонента. Долю калорий, потребленных с каждым компонентом диеты, рассчитывали как количество калорий, поступивших с данным компонентом, деленное на общее количество калорий, потребленных самкой, умноженное на 100, и представляли в процентах.

Овариэктомия. Анестезию проводили путем внутрибрюшинной инъекции 2.5 % авертина (смесь 2,2,2-трибромэтанола (Sigma-Aldrich Inc., США) и 2-метил-2-бутанола (Sigma-Aldrich Inc.) в объеме 400 мкл. Билатеральную овариэктомию выполняли через разрез кожи в области поясницы.

Тест толерантности к глюкозе (ГТТ). В 08:00 у животных убирали корм, тестирование начинали в 15:00. Глюкозу (АО «РЕАХИМ», Москва, Россия) вводили внутривенно в дозе 1 г/кг массы тела. Уровень глюкозы в крови определяли с помощью глюкометра Lifescan One Touch Basic Plus (LifeScan Inc., Швейцария) до и через 15, 30, 60 и 120 мин после введения глюкозы. Площадь под кривой изменения уровня глюкозы в крови (AUC) представляли в виде ммоль/л·ч.

Гормоны и метаболиты крови. Концентрацию в плазме крови инсулина, лептина, адипонектина и кортикостерона определяли, используя коммерческие наборы Rat/Mouse Insulin ELISA Kit, Mouse Leptin ELISA Kit (EMD Millipore, США), Mouse Adiponectin/Acrp30 Quantikine ELISA Kit (R&D Systems, США) и CORTICOSTERONE rat/mouse ELISA Kits (Xema Co. Ltd., Москва, Россия) соответственно. Концентрации глюкозы, триглицеридов, холестерина и свободных жирных кислот в плазме крови измеряли калориметрическим методом с помощью коммерческих наборов Fluitest GLU, Fluitest TG, Fluitest CHOL (Analyticon Biotechnologies GmbH, Германия) и NEFA FS DiaSys kits (DiaSys Diagnostic Systems GmbH, Германия)

соответственно. Для изучения влияния хронического введения FGF21 биохимические показатели определяли у животных в сытом состоянии, поскольку голодание вызывает резкое повышение эндогенной продукции FGF21.

Концентрация триглицеридов в печени. Образцы печени гомогенизировали в PBS (50 мг в 400 мкл) и центрифугировали при 1000 об/мин. Супернатант хранили при -20°C . Уровень триглицеридов определяли с помощью коммерческого набора Fluitest TG (Analyticon Biotechnologies GmbH, Германия), согласно инструкции.

Уровень экспрессии генов (Q-PCR) оценивали по уровню мРНК методом относительной оценки с проведением обратной транскрипции и ПЦР в реальном времени (relative quantitation real-time PCR). Общую РНК выделяли из образцов тканей с помощью набора ExtractRNA («Евроген», Москва, Россия) в соответствии с инструкциями производителя. кДНК первой цепи синтезировали с использованием обратной транскриптазы вируса лейкоза мыши Молони (MMLV) («Евроген») и олиго (dT) в качестве праймера. Для проведения ПЦР в реальном времени использовали праймеры и зонды TaqMan (Applied Biosystems, США): fibroblast growth factor 21 (*Fgf21*, Mm00840165_g1), peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator (*Ppargc1a*, Mm01208835_m1), carnitine palmitoyltransferase 1A/1B (*Cpt1a/b*, Mm01231183_m1/Mm00487191_g1), acetyl-CoA carboxylase alpha/beta (*Acaca/b*, Mm01304257_m1/Mm01204671_m1), insulin receptor (*Insr*, Mm01211875_m1), insulin receptor substrate 1/2 (*Irs1/2*, Mm01278327_m1/Mm03038438_m1), protein-tyrosine phosphatase 1B (*Ptpn1*, Mm00448427_m1), pyruvate kinase (*Pklr*, Mm00443090_m1), glucokinase (*Gck*, Mm00439129_m1), glucose-6-phosphatase (*G6pc*, Mm00839363_m1), phosphoenolpyruvate carboxykinase (*Pck*, Mm01247058_m1), solute carrier family 2 member 2 (*Slc2a2*, Mm00446229_m1), solute carrier family 2 member 4 (*Slc2a4*, Mm00436615_m1), estrogen receptor 1 (*Esr1*, Mm00433149_m1), signal transducer and activator of transcription 3 (*Stat3*, Mm01219775_m1), peroxisome proliferator-activated receptor alpha/gamma (*Ppara/g*, Mm00440939_m1/Mm00440940_m1), hormone-sensitive lipase (*Lipe*, Mm00495359_m1), adipose triglyceride lipase (*Atgl*, Mm00503040_m1), fatty acid synthase (*Fasn*, Mm00662319_m1), uncoupling protein 1 (*Ucp1*, Mm01244861_m1), deiodonase-2 (*Dio2*, Mm00515664_m1), corticotropin releasing hormone (*Crh*, Mm01293920_s1), agouti related neuropeptide (*Agrp*, Mm00475829_g1), neuropeptide Y (*Npy*, Mm01410146_m1), proopiomelanocortin (*Pomc*, Mm00435874_m1), leptin receptor (*Lepr*, Mm00440181_m1), klotho beta (*Klb*, Mm00473122_m1), cyclophilin A (*Ppia*, Mm02342430_g1), beta-actin (*Actb*, Mm00607939_s1). Циклофелин или β -актин использовали в качестве эндогенного контроля. Амплификацию последовательности и детекцию флуоресценции проводили на системе ПЦР в реальном времени Applied Biosystems VIIA 7. Относительную количественную оценку выполняли методом сравнительного порогового цикла (СТ-метод).

Статистический анализ. Результаты представлены в виде среднего арифметического \pm ошибка среднего. Для анализа влияния FGF21 и E2 на метаболические параметры применяли двухфакторный анализ ANOVA с фак-

торами “FGF21” (PBS или FGF21) и “E2” (масло или E2) с последующим сравнением с помощью post-hoc теста Tukey или U-теста Mann–Whitney в случае неравенства дисперсий. Для анализа влияния FGF21 и E2 на толерантность к глюкозе использовали repeated measures ANOVA с факторами “FGF21”, “E2” и “время” (время после введения глюкозы). Различия считали достоверными при $p < 0.05$. Анализ выполнен в программном пакете STATISTICA 10.0 (StatSoft Russia, Москва, Россия).

Результаты

Потребление пищи, масса тела, печени и жировой ткани

В конце эксперимента у ОЭ самок с ожирением, получавших E2, масса тела, abWAT и scWAT были меньше, чем у самок, получавших масло ($p < 0.05$, $p < 0.05$ и $p < 0.01$ соответственно) (рис. 2, а). FGF21 не влиял на массу тела и белой жировой ткани при введении отдельно или совместно с эстрадиолом. Не выявлено достоверного влияния раздельного или совместного введения E2 и FGF21 на массу бурой жировой ткани, печени и уровень триглицеридов в печени (см. рис. 2, а, рис. 3, а).

Эстрадиол снижал потребление сала и общее количество потребленных калорий ($p < 0.01$ и $p < 0.05$ соответственно), но не оказывал влияния на соотношение различных компонентов диеты (рис. 4, а). FGF21 независимо от введения E2 увеличивал количество и долю калорий, потребленных со стандартным кормом ($p < 0.001$ и $p < 0.05$ соответственно), но не влиял на общее количество поступивших калорий.

Таким образом, у ОЭ самок с ожирением эстрадиол снижал массу тела, по-видимому за счет уменьшения жировой массы. Оба препарата оказывали влияние на выбор компонентов пищи, и их действие не зависело друг от друга.

Чувствительность к инсулину и уровни в крови гормонов и метаболитов

У ОЭ самок с ожирением не выявлено влияния раздельного или совместного введения препаратов на уровни в плазме крови кортикостерона, свободных жирных кислот, триглицеридов и холестерина (рис. 5). FGF21 не влиял, а эстрадиол снижал уровни в плазме крови лептина и адипонектина ($p < 0.001$ в обоих случаях). Эстрадиол снижал уровень инсулина в плазме крови и уровень глюкозы в крови в состоянии натощак и повышал толерантность к глюкозе ($p < 0.001$ во всех случаях) (рис. 6, а, б). При введении раздельно FGF21 тоже снижал уровень инсулина в плазме крови ($p < 0.05$, post-hoc Tukey-тест). У самок, получавших препараты совместно, уровни инсулина не отличались от показателей у FGF21- и E2-самок и были достоверно ниже, чем у Control-самок ($p < 0.05$, post-hoc Tukey-тест). Независимо от введения эстрадиола, у самок, получавших FGF21, толерантность к глюкозе не отличалась, а уровень глюкозы в плазме крови в сытом состоянии был ниже по сравнению с Control-самками, хотя различия не достигали уровня значимости ($p = 0.07$).

Таким образом, у ОЭ самок с ожирением эстрадиол повышал чувствительность к инсулину. FGF21 независимо от введения эстрадиола не влиял на толерантность к

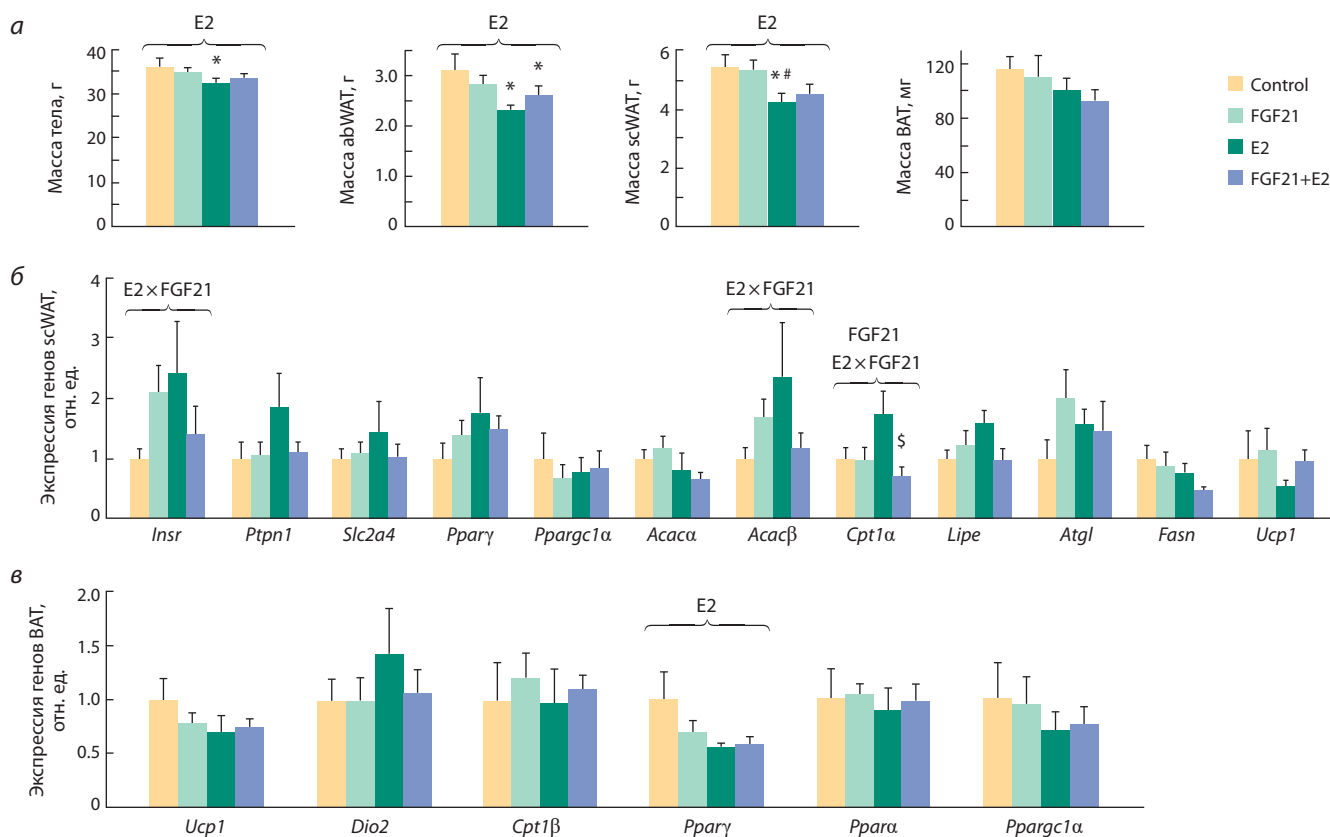


Рис. 2. Масса тела, масса абдоминальной и подкожной белой жировой ткани, масса бурой жировой ткани (а) и уровень мРНК генов регуляции метаболизма жиров и углеводов в подкожной белой жировой ткани (б) и в бурой жировой ткани (в).

Здесь и на рис. 3–6: факторы ANOVA, влияние которых на параметр является достоверным, показаны над скобками (E2, FGF21 или E2×FGF21).

* vs Control, # vs FGF21, post-hoc Tukey-тест; \$ vs E2, post-hoc Tukey-тест. abWAT – абдоминальная белая жировая ткань; scWAT – подкожная белая жировая ткань; BAT – бурая жировая ткань; *Insr* – insulin receptor; *Ptpn1* – protein-tyrosine phosphatase 1B; *Slc2a4* – solute carrier family 2 member 4; *Pparγ* – peroxisome proliferator-activated nuclear receptor gamma; *Ppargc1α* – peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator; *Acaca* – acetyl-coenzyme A carboxylase alpha; *Acacβ* – acetyl-CoA carboxylase beta; *Cpt1α* – carnitine palmitoyltransferase 1A; *Lipe* – hormone-sensitive lipase; *Atgl* – adipose triglyceride lipase; *Fasn* – fatty acid synthase; *Ucp1* – uncoupling protein 1; *Dio2* – deiodonase-2; *Cpt1β* – carnitine palmitoyltransferase 1B; *Ppara* – peroxisome proliferator-activated receptor alpha coactivator.

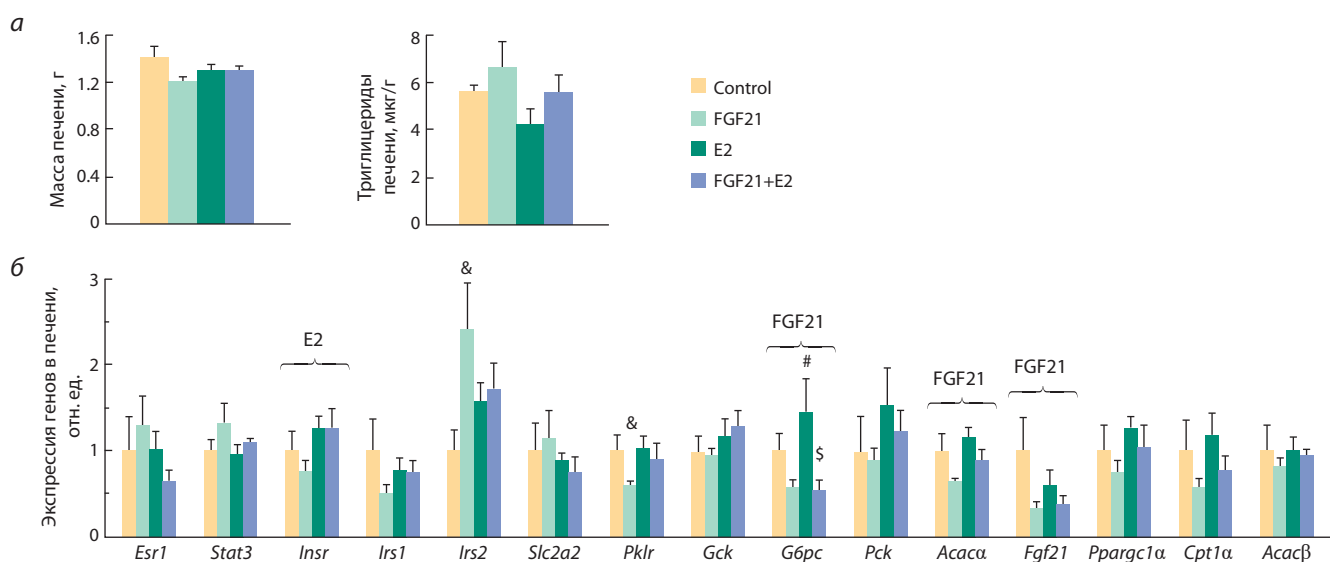


Рис. 3. Масса печени и уровни триглицеридов в печени (а); уровни мРНК генов, регулирующих метаболизм глюкозы и липидов (б).

vs FGF21; \$ vs E2, post-hoc Tukey-тест; & vs Control, Mann-Whitney U-тест.

Esr1 – estrogen receptor 1; *Stat3* – signal transducer and activator of transcription 3; *Insr* – insulin receptor; *Irs1/2* – insulin receptor substrate 1/2; *Slc2a2* – solute carrier family 2 member 2; *Pklr* – pyruvate kinase; *Gck* – glucokinase; *G6pc* – glucose-6-phosphatase; *Pck* – phosphoenolpyruvate carboxykinase; *Acaca* – acetyl-coenzyme A carboxylase alpha; *Fgf21* – fibroblast growth factor 21; *Ppargc1α* – peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator; *Cpt1α* – carnitine palmitoyltransferase 1A; *Acacβ* – acetyl-CoA carboxylase beta.

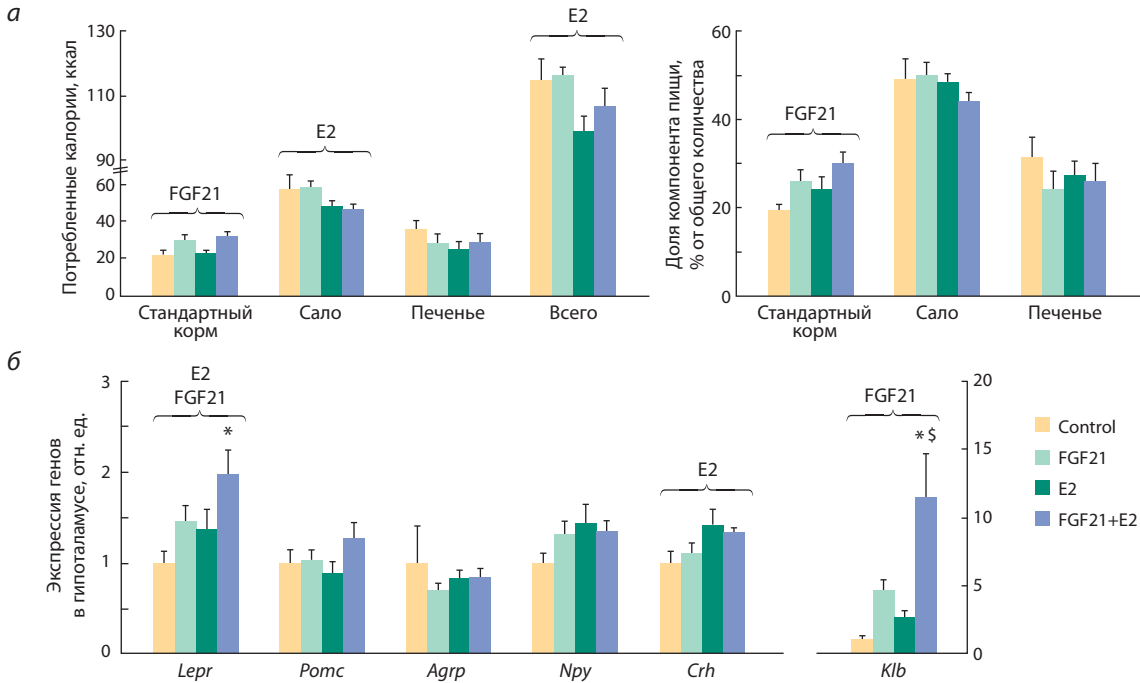


Рис. 4. Количество калорий, потребленных в ходе эксперимента (каждый компонент и общее количество), доля каждого компонента (%) (а) и уровень мРНК генов, связанных с контролем потребления пищи, в гипоталамусе (б).

* vs Control; § vs E2, post-hoc Tukey-тест.

Lepr – leptin receptor; *Pomc* – proopiomelanocortin; *AgRP* – agouti related peptide; *NPY* – neuropeptide Y; *Crh* – corticotropin releasing hormone; *Klb* – klotho beta.

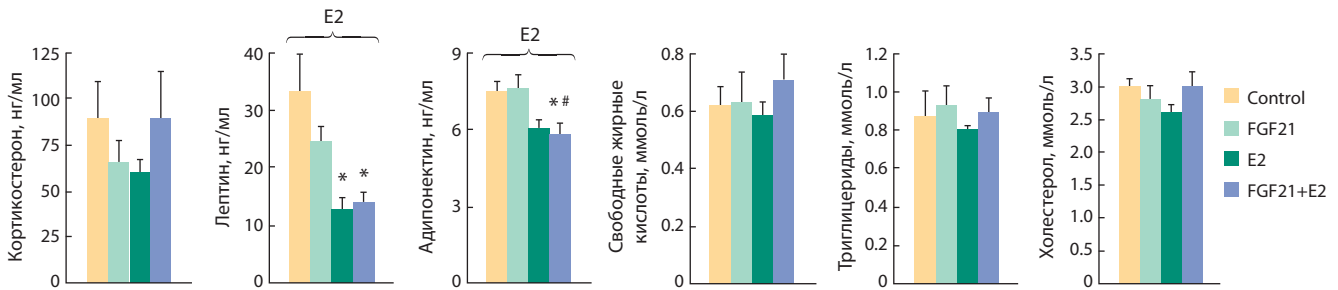


Рис. 5. Уровень гормонов и метаболитов в плазме крови.

* vs Control; # vs FGF21, post-hoc Tukey-тест.

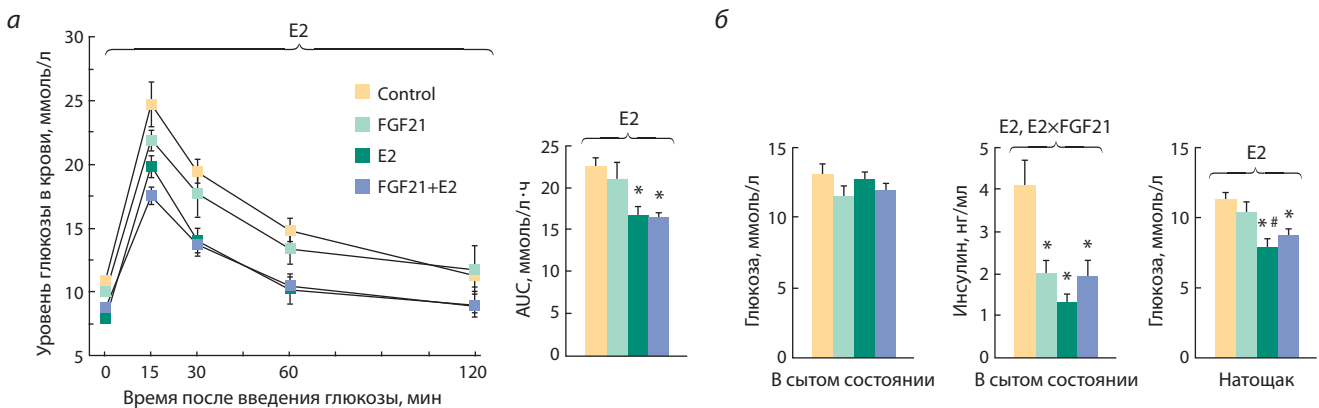


Рис. 6. Изменение уровня глюкозы в крови и площадь под кривой изменения уровня глюкозы в крови (AUC) в тесте толерантности к глюкозе (а); уровни глюкозы и инсулина в плазме крови в сытом состоянии и уровень глюкозы в крови в состоянии натощак (б).

* vs Control, # vs FGF21, post-hoc Tukey-тест.

глюкозе и уровень глюкозы натошак, но понижал уровень глюкозы в сытом состоянии. FGF21 оказывал также благотворное влияние на уровень инсулина в крови, однако данный эффект проявлялся только у самок без эстрадиола.

Экспрессия метаболических генов

В scWAT у ОЭ самок с ожирением FGF21 и эстрадиол при раздельном введении увеличивали экспрессию гена рецептора инсулина (*Insr*) и гена ацетил-КоА карбоксилазы бета (*Acacβ*, подавление окисления жирных кислот) (см. рис. 2, б). У самок, которые получали оба препарата, экспрессия этих генов в scWAT была ниже, чем у животных, получавших препараты раздельно, и не отличалась от таковой у Control-самок (влияние взаимодействия факторов – $p < 0.05$ в обоих случаях). Кроме того, в scWAT при раздельном введении FGF21 не влиял на экспрессию гена карнитинпальмитоилтрансферазы 1α (*Cpt1α*, активация окисления жирных кислот), но на фоне введения эстрадиола подавлял его экспрессию (влияние взаимодействия факторов – $p < 0.05$). У самок, получавших оба препарата, уровень мРНК этого гена был значительно ниже, чем у E2-самок ($p < 0.05$, post-hoc Tukey-тест), и не отличался от значений у Control-самок.

Не выявлено влияния раздельного или совместного введения препаратов на экспрессию генов в abWAT. В BAT эстрадиол снижал экспрессию транскрипционного фактора рецептора, активируемого пролифераторами пероксисом, типа гамма (*Pparγ*) ($p < 0.05$) (см. рис. 2, в). Независимо от эстрадиолового статуса, в бурой жировой ткани FGF21 не влиял на экспрессию генов, участвующих в термогенезе и бета-окислении жирных кислот.

Таким образом, у ОЭ самок с ожирением катаболический эффект эстрадиола был ассоциирован с его стимулирующим влиянием на экспрессию *Insr*, *Acacβ* в scWAT и *Pparγ* в BAT. Несмотря на отсутствие катаболического действия, FGF21 оказывал транскрипционные эффекты в scWAT: стимулировал экспрессию *Insr* и *Acacβ*, причем на фоне введения эстрадиола стимулирующее действие FGF21 на экспрессию генов не проявлялось.

В гипоталамусе изменения в потреблении пищи, вызванные действием эстрадиола, были ассоциированы с повышенной экспрессией генов рецептора лептина (*Lepr*) и кортикотропин-релизинг гормона (*Crh*) ($p < 0.05$ и $p < 0.01$ соответственно) (см. рис. 4, б). Влияние FGF21 на потребление пищи было ассоциировано с увеличением экспрессии *Lepr* ($p < 0.05$), которое было более выраженным у самок, получавших E2. Помимо этого, FGF21 повышал экспрессию собственного рецептора бета-клото (*Klb*) ($p < 0.01$); эффект также был более выражен у самок, получавших E2.

Следовательно, влияние препаратов на выбор компонентов пищи было ассоциировано с изменением экспрессии в гипоталамусе факторов, участвующих в регуляции потребления пищи, причем эстрадиол усиливал транскрипционные эффекты FGF21.

В печени у ОЭ самок с ожирением эстрадиол повышал экспрессию гена рецептора инсулина (*Insr*) ($p < 0.05$) (см. рис. 3, б). FGF21 независимо от введения эстрадиола подавлял собственную экспрессию (*Fgf21*), экспрес-

сию генов, связанных с синтезом и окислением жирных кислот (ацетил-кофермент а карбоксилаза альфа, *Acaca*, и карнитинпальмитоилтрансфераза 1α, *Cpt1α* (тенденция)) и с глюконеогенезом (глюкозо-6-фосфатаза, *G6pc*) ($p < 0.05$, $p < 0.05$, $p = 0.08$ и $p < 0.01$ соответственно). Кроме того, FGF21 увеличивал экспрессию гена субстрата инсулинового рецептора второго типа (*Irs2*) и подавлял экспрессию пируваткиназы (*Pklr*, ключевого фермента гликолиза) только при раздельном с эстрадиолом введении ($p < 0.05$, FGF21-самки vs Control-самки, Mann–Whitney U-тест в обоих случаях). У самок, получавших одновременно FGF21 и эстрадиол, уровни мРНК *Irs2* и *Pklr* не отличались от таковых у E2- и Control-самок.

Таким образом, в печени показаны независимые друг от друга транскрипционные эффекты FGF21 и эстрадиола: эстрадиола – на экспрессию *Insr*, FGF21 – на экспрессию *G6pc*, *Acaca* и *Fgf21*. В то же время влияние FGF21 на экспрессию *Irs2* и *Pklr* проявлялось только при раздельном введении с эстрадиолом и отсутствовало при совместном, что предполагает E2-ингибирование эффектов FGF21.

Обсуждение

В этой работе мы исследовали, влияет ли уровень эстрадиола в крови на фармакологические эффекты FGF21 у самок с ожирением. Хроническое введение FGF21 самцам мышей с ожирением, как известно, вызывает улучшение многих метаболических параметров, включая нормализацию профиля липопротеинов, уровня в крови глюкозы и триглицеридов, повышение чувствительности к инсулину, увеличение расхода энергии, снижение массы тела и уменьшение глюконеогенеза и стеатоза в печени (Khari-tonenkov et al., 2005; Coskun et al., 2008; Xu et al., 2009; Chau et al., 2010; Véniant et al., 2012; Fisher, Maratos-Flier, 2016; BonDurant, Potthoff, 2018). FGF21 влияет также на вкусовые предпочтения, увеличивая потребление белка и уменьшая потребление сахара у самцов мышей (Talukdar et al., 2016; Hill et al., 2019; Larson et al., 2019).

Согласно полученным нами данным, у ОЭ самок с ожирением эстрадиол снизил массу тела и жировой ткани, общее количество потребленных калорий, уровень инсулина в плазме крови в сытом состоянии и глюкозы в крови в состоянии натошак, а также повысил толерантность к глюкозе, что соответствует общепринятому мнению о влиянии эстрадиола на эти параметры у самок мышей с ожирением (Riant et al., 2009; Yan et al., 2019). Впервые показано, что анорексигенный эффект эстрадиола у ОЭ самок с ожирением обусловлен подавлением потребления компонента диеты с высоким содержанием жира (сало), и этот эффект ассоциирован с активацией экспрессии гена кортикотропин-релизинг гормона в гипоталамусе. Независимо от введения эстрадиола, мы не обнаружили у ОЭ самок с ожирением некоторых эффектов FGF21, наблюдаемых у самцов с ожирением. Например, FGF21 не влиял на массу тела и массу жировых тканей, уровни в крови липидов, лептина, адипонектина, а также на экспрессию генов, связанных с регуляцией термогенеза в BAT, генов, связанных с гипоталамической регуляцией приема пищи, и ряда генов, связанных с липидным обменом в scWAT и в печени. Эти результаты согласуются с

данными о влиянии FGF21 у неовариэктомированных самок с ожирением (Bazhan et al., 2019) и наводят на мысль, что помимо эстрадиола существуют другие факторы, связанные с полом, которые подавляют фармакологические эффекты FGF21 у самок с ожирением.

Мы показали, что влияние FGF21 на потребление пищи у ОЭ самок с ожирением, а именно повышение потребления ими стандартного корма, не зависело от эстрадиола и было, по-видимому, аналогично его влиянию на потребление пищи у самцов, поскольку у самцов FGF21 повышает потребление белка (казеина, обогащенного цистином) (Larson et al., 2019), а в нашей модели эксперимента стандартный корм содержал максимальное количество белка, по сравнению с салом и печеньем. Оба гормона, FGF21 и эстрадиол, влияли на выбор компонентов пищи, влияние каждого было направлено на снижение калорийности потребленной пищи. При этом эстрадиол снизил потребление высокожирного компонента диеты, а FGF21 увеличил потребление стандартного корма. Оба гормона повышали в гипоталамусе экспрессию лептиновых рецепторов. Гены гипоталамических нейропептидов проопиомеланокортина (*Pomc*), агутиподобного пептида (*Agrp*) и нейропептида Y (*Npy*) являются генами-мишенями лептина (Cowley et al., 2001) и связаны с регуляцией потребления пищи. Мы не обнаружили влияния FGF21 и эстрадиола на их экспрессию и можем предположить, что активация гипоталамической экспрессии *Lepr* и, соответственно, повышение чувствительности гипоталамуса к лептину в ответ на введение FGF21 и эстрадиола, по-видимому, не опосредовали их влияние на потребление пищи. В связи с этим механизм воздействия FGF21 на потребление пищи остается неясным и требует дальнейшего изучения, тогда как анорексигенное действие эстрадиола, вероятно, обусловлено повышением экспрессии *Crh* и активацией КРФ-системы. Следует отметить, что помимо экспрессии *Lepr*, FGF21 стимулировал экспрессию в гипоталамусе собственного корцептора *Klb*, причем экспрессия *Lepr* и *Klb* была максимальной при совместном введении препаратов. Полученные результаты свидетельствуют о том, что FGF21 при фармакологическом введении может повышать чувствительность гипоталамуса к регуляторным факторам, а эстрадиол – потенцировать центральные эффекты FGF21.

У ОЭ самок с ожирением FGF21 при введении отдельно с эстрадиолом увеличивал экспрессию *Insr* и *Acacβ* в scWAT и *Irs2* в печени и подавлял экспрессию в печени глюкозо-6-фосфатазы (*G6pc*), *Pklr*, *Acaca*, *Cpt1a* и свою собственную экспрессию. У самцов с ожирением хроническое введение FGF21, как известно, активирует экспрессию *Insr*, *Acacβ* и подавляет экспрессию *Cpt1a* в scWAT, а в печени стимулирует экспрессию *Insr* и подавляет собственную экспрессию и экспрессию *Acaca*, *Cpt1a* (Coskun et al., 2008; Fisher et al., 2011). Следовательно, у ОЭ самок с ожирением без эстрадиола транскрипционные эффекты FGF21 были аналогичны таковым у самцов с ожирением: благоприятны и направлены на повышение чувствительности к инсулину в печени и в жировой ткани, снижение уровня глюкозы и жирных кислот в крови. У ОЭ самок с ожирением, которые получали оба препа-

рата, благоприятные транскрипционные эффекты FGF21 сохранялись только в печени: FGF21 подавлял экспрессию в печени *G6pc*, *Acaca*, *Cpt1a* и собственную экспрессию.

При совместном введении с эстрадиолом FGF21 подавил экспрессию *Cpt1a* в scWAT, однако влияние FGF21 на экспрессию *Insr* и *Acacβ* в scWAT и *Irs2* и *Pklr* в печени не проявлялось. Влияние FGF21 на экспрессию в печени *G6pc*, таким образом, не зависело от эстрадиола и было ассоциировано со снижением уровня глюкозы в плазме крови в сытом состоянии. Мы предполагаем, что эти эффекты FGF21 (подавление экспрессии *G6pc* и снижение уровня глюкозы) были опосредованы активацией экспрессии *Lepr* в гипоталамусе, поскольку показана способность лептина, влияя на активность POMC нейронов, нормализовать уровни глюкозы в крови и повышать чувствительность к инсулину в печени (Berglund et al., 2012).

Таким образом, изучение транскрипционных эффектов FGF21 в печени, жировой ткани и гипоталамусе показало, что существуют разные типы взаимодействия FGF21 и эстрадиола в регуляции экспрессии метаболических генов у ОЭ самок с ожирением: 1) FGF21 может оказывать E2-независимые эффекты; 2) эстрадиол может подавлять или усиливать эффекты FGF21; 3) взаимодействие гормонов может приводить к взаимоподавлению их эффектов, наблюдаемых при раздельном введении. Способность FGF21 при фармакологическом применении подавлять эффекты эстрадиола наводит на мысль о возможном негативном влиянии FGF21 у самок, в том числе негативном влиянии на репродуктивную функцию.

Каковы возможные механизмы влияния эстрадиола на фармакологические эффекты FGF21? Показано, что FGF21 связывается с рецепторным комплексом, состоящим из рецептора фактора роста фибробластов первого типа (FGFR1) и корцептора бета-клото (Kurosu et al., 2007). В гипоталамусе, жировой ткани и поджелудочной железе экспрессируются рецептор и корцептор FGF21, а также все типы рецепторов эстрадиола (Kurosu et al., 2007; Nadal et al., 2009; Fisher et al., 2011; Bian et al., 2019; Pan et al., 2019). Эти ткани являются мишенью действия FGF21 и эстрадиола. В печени экспрессируются рецептор эстрадиола типа альфа и G-белок связанный рецептор эстрадиола (Palmisano et al., 2017), поэтому печень является мишенью действия эстрадиола. Уровень FGFR1 в печени очень низкий (Fisher et al., 2011), однако некоторые прямые эффекты FGF21 могут наблюдаться в печени при его фармакологическом введении как следствие большой дозы препарата (Owen et al., 2015). Взаимодействие FGF21 и эстрадиола в регуляции метаболических параметров может зависеть от молекулярного механизма регуляции экспрессии целевых генов, а также от типа и уровня рецепторов в ткани, т.е. может быть тканеспецифичным. Молекулярный механизм данного взаимодействия требует дополнительного изучения.

Заключение

Суммируя вышесказанное, можно сказать, что овариэктомированные самки с ожирением проявляют резистентность к катаболическому действию FGF21, и эта резистентность не связана с действием эстрадиола. Способ-

ность FGF21 повышать потребление стандартного корма и снижать уровень глюкозы в крови также не зависит от эстрадиола. Однако FGF21 и эстрадиол, по-видимому, могут взаимодействовать в регуляции экспрессии генов и уровня инсулина в крови: эстрадиол может подавлять транскрипционные эффекты FGF21 в печени и потенцировать его влияние в гипоталамусе; в жировой ткани взаимодействие FGF21 и эстрадиола может подавлять активирующее влияние каждого из препаратов, наблюдаемое при раздельном введении, или способствовать проявлению ингибирующего влияния FGF21; на фоне эстрадиола не проявляется ингибирующее влияние FGF21 на уровень инсулина в крови.

Эстрадиолзависимые эффекты FGF21 могут по-разному проявляться в мужском и женском организме с различной активностью эстрогенов, определяя половой диморфизм фармакологических эффектов FGF21 у животных с ожирением.

Список литературы / References

- Allard C., Bonnet F., Xu B., Coons L., Albarado D., Hill C., Fagherazzi G., Korach K.S., Levin E.R., Lefante J., Morrison C., Mauvais-Jarvis F. Activation of hepatic estrogen receptor- α increases energy expenditure by stimulating the production of fibroblast growth factor 21 in female mice. *Mol. Metab.* 2019;22:62-70. DOI 10.1016/j.molmet.2019.02.002.
- Bazhan N., Yakovleva T., Denisova E., Dubinina A., Makarova E. Antidiabetic FGF21 action depended on sex and exerted only in male mice with diet induced obesity. *Obes. Facts.* 2019;12(Suppl.1):189. DOI 10.1159/000489691.
- Berglund E.D., Vianna C.R., Donato J., Jr., Kim M.H., Chuang J.C., Lee C.E., Lauzon D.A., Lin P., Brule L.J., Scott M.M., Coppari R., Elmquist J.K. Direct leptin action on POMC neurons regulates glucose homeostasis and hepatic insulin sensitivity in mice. *J. Clin. Invest.* 2012;122(3):1000-1009. DOI 10.1172/JCI59816.
- Bian C., Bai B., Gao Q., Li S., Zhao Y. 17 β -estradiol regulates glucose metabolism and insulin secretion in rat islet β cells through GPER and Akt/mTOR/GLUT2 pathway. *Front. Endocrinol. (Lausanne)*. 2019;10:531. DOI 10.3389/fendo.2019.00531.
- BonDurant L.D., Potthoff M.J. Fibroblast growth factor 21: a versatile regulator of metabolic homeostasis. *Annu. Rev. Nutr.* 2018;38:173-196. DOI 10.1146/annurev-nutr-071816-064800.
- Chau M.D., Gao J., Yang Q., Wu Z., Gromada J. Fibroblast growth factor 21 regulates energy metabolism by activating the AMPK-SIRT1-PGC-1 α pathway. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2010;107(28):12553-12558. DOI 10.1073/pnas.1006962107.
- Coskun T., Bina H.A., Schneider M.A., Dunbar J.D., Hu C.C., Chen Y., Moller D.E., Kharitonov A. Fibroblast growth factor 21 corrects obesity in mice. *Endocrinology.* 2008;149(12):6018-6027. DOI 10.1210/en.2008-0816.
- Cowley M.A., Smart J.L., Rubinstein M., Cerdán M.G., Diano S., Horvath T.L., Cone R.D., Low M.J. Leptin activates anorexigenic POMC neurons through a neural network in the arcuate nucleus. *Nature.* 2001;411(6836):480-484. DOI 10.1038/35078085.
- Fisher F.M., Estall J.L., Adams A.C., Antonellis P.J., Bina H.A., Flier J.S., Kharitonov A., Spiegelman B.M., Maratos-Flier E. Integrated regulation of hepatic metabolism by fibroblast growth factor 21 (FGF21) *in vivo*. *Endocrinology.* 2011;152(8):2996-3004. DOI 10.1210/en.2011-0281.
- Fisher F.M., Maratos-Flier E. Understanding the physiology of FGF21. *Annu. Rev. Physiol.* 2016;78:223-241. DOI 10.1146/annurev-physiol-021115-105339.
- Gao H., Bryzgalova G., Hedman E., Khan A., Efendic S., Gustafsson J.A., Dahlman-Wright K. Long-term administration of estradiol decreases expression of hepatic lipogenic genes and improves insulin sensitivity in ob/ob mice: a possible mechanism is through direct regulation of signal transducer and activator of transcription 3. *Mol. Endocrinol.* 2006;20(6):1287-1299. DOI 10.1210/me.2006-0012.
- Hill C.M., Laeger T., Dehner M., Albarado D.C., Clarke B., Wanders D., Burke S.J., Collier J.J., Qualls-Creekmore E., Solon-Biet S.M., Simpson S.J., Berthoud H.R., Münzberg H., Morrison C.D. FGF21 signals protein status to the brain and adaptively regulates food choice and metabolism. *Cell Rep.* 2019;27(10):2934-2947.e3. DOI 10.1016/j.celrep.2019.05.022.
- Hua L., Zhuo Y., Jiang D., Li J., Huang X., Zhu Y., Li Z., Yan L., Jin C., Jiang X., Che L., Fang Z., Lin Y., Xu S., Li J., Feng B., Wu D. Identification of hepatic fibroblast growth factor 21 as a mediator in 17 β -estradiol-induced white adipose tissue browning. *FASEB J.* 2018;32(10):5602-5611. DOI 10.1096/fj.201800240R.
- Kharitonov A., Shiyanova T.L., Koester A., Ford A.M., Micanicovic R., Galbreath E.J., Sandusky G.E., Hammond L.J., Moyers J.S., Owens R.A., Gromada J., Brozinick J.T., Hawkins E.D., Wroblewski V.J., Li D.S., Mehrbod F., Jaskunas S.R., Shanafelt A.B. FGF-21 as a novel metabolic regulator. *J. Clin. Invest.* 2005;115(6):1627-1635. DOI 10.1172/JCI23606.
- Kurosu H., Choi M., Ogawa Y., Dickson A.S., Goetz R., Eliseenkova A.V., Mohammadi M., Rosenblatt K.P., Kliewer S.A., Kuro-O M. Tissue-specific expression of β Klotho and fibroblast growth factor (FGF) receptor isoforms determines metabolic activity of FGF19 and FGF21. *J. Biol. Chem.* 2007;282(37):26687-26695. DOI 10.1074/jbc.M704165200.
- Larson K.R., Chaffin A.T., Goodson M.L., Fang Y., Ryan K.K. Fibroblast growth factor-21 controls dietary protein intake in male mice. *Endocrinology.* 2019;160(5):1069-1080. DOI 10.1210/en.2018-01056.
- Makarova E., Kazantseva A., Dubinina A., Yakovleva T., Balybina N., Baranov K., Bazhan N. The same metabolic response to FGF21 administration in male and female obese mice is accompanied by sex-specific changes in adipose tissue gene expression. *Int. J. Mol. Sci.* 2021;22(19):10561. DOI 10.3390/ijms221910561.
- Makarova E.N., Yakovleva T.V., Balybina N.Y., Baranov K.O., Denisova E.I., Dubinina A.D., Feofanova N.A., Bazhan N.M. Pharmacological effects of fibroblast growth factor 21 are sex-specific in mice with the *lethal yellow (A^y)* mutation. *Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Seleksii = Vavilov Journal of Genetics and Breeding.* 2020; 24(2):200-208. DOI 10.18699/VJ20.40-0.
- Nadal A., Alonso-Magdalena P., Soriano S., Ropero A.B., Quesada I. The role of oestrogens in the adaptation of islets to insulin resistance. *J. Physiol.* 2009;587(Pt.21):5031-5037. DOI 10.1113/jphysiol.2009.177188.
- Owen B.M., Mangelsdorf D.J., Kliewer S.A. Tissue-specific actions of the metabolic hormones FGF15/19 and FGF21. *Trends Endocrinol. Metab.* 2015;26(1):22-29. DOI 10.1016/j.tem.2014.10.002.
- Palmisano B.T., Zhu L., Stafford J.M. Role of estrogens in the regulation of liver lipid metabolism. *Adv. Exp. Med. Biol.* 2017;1043:227-256. DOI 10.1007/978-3-319-70178-3_12.
- Pan Y., Wang B., Zheng J., Xiong R., Fan Z., Ye Y., Zhang S., Li Q., Gong F., Wu C., Lin Z., Li X., Pan X. Pancreatic fibroblast growth factor 21 protects against type 2 diabetes in mice by promoting insulin expression and secretion in a PI3K/Akt signaling-dependent manner. *J. Cell. Mol. Med.* 2019;23(2):1059-1071. DOI 10.1111/jcmm.14007.
- Riant E., Waget A., Cogo H., Arnal J.F., Burcelin R., Gourdy P. Estrogens protect against high-fat diet-induced insulin resistance and glucose intolerance in mice. *Endocrinology.* 2009;150(5):2109-2117. DOI 10.1210/en.2008-0971.
- Talukdar S., Zhou Y., Li D., Rossulek M., Dong J., Somayaji V., Weng Y., Clark R., Lanba A., Owen B.M., Brenner M.B., Trimmer J.K., Gropp K.E., Chabot J.R., Erion D.M., Rolph T.P., Goodwin B., Calle R.A. A long-acting FGF21 molecule, PF-05231023, decreases body weight and improves lipid profile in non-human primates and type 2 diabetic subjects. *Cell Metab.* 2016;23(3):427-440. DOI 10.1016/j.cmet.2016.02.001.

- Thammacharoen S., Geary N., Lutz T.A., Ogawa S., Asarian L. Divergent effects of estradiol and the estrogen receptor- α agonist PPT on eating and activation of PVN CRH neurons in ovariectomized rats and mice. *Brain Res.* 2009;1268:88-96. DOI 10.1016/j.brainres.2009.02.067.
- Véniant M.M., Komorowski R., Chen P., Stanislaus S., Winters K., Hager T., Zhou L., Wada R., Hecht R., Xu J. Long-acting FGF21 has enhanced efficacy in diet-induced obese mice and in obese rhesus monkeys. *Endocrinology.* 2012;153(9):4192-4203. DOI 10.1210/en.2012-1211.
- Vrtačnik P., Ostanek B., Mencej-Bedrač S., Marc J. The many faces of estrogen signaling. *Biochem. Med. (Zagreb).* 2014;24(3):329-342. DOI 10.11613/BM.2014.035.
- Xu J., Stanislaus S., Chinookoswong N., Lau Y.Y., Hager T., Patel J., Ge H., Weiszmann J., Lu S.C., Graham M., Busby J., Hecht R., Li Y.S., Li Y., Lindberg R., Véniant M.M. Acute glucose-lowering and insulin-sensitizing action of FGF21 in insulin-resistant mouse models – association with liver and adipose tissue effects. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 2009;297(5):E1105-E1114. DOI 10.1152/ajpendo.00348.2009.
- Yan H., Yang W., Zhou F., Li X., Pan Q., Shen Z., Han G., Newell-Fugate A., Tian Y., Majeti R., Liu W., Xu Y., Wu C., Allred K., Allred C., Sun Y., Guo S. Estrogen improves insulin sensitivity and suppresses gluconeogenesis via the transcription factor Foxo1. *Diabetes.* 2019;68(2):291-304. DOI 10.2337/db18-0638.

ORCID ID

T.V. Jakovleva orcid.org/0000-0001-7628-5856
A.Yu. Kazantseva orcid.org/0000-0003-4192-2020
A.D. Dubinina orcid.org/0000-0003-3907-3488
N.Yu. Balybina orcid.org/0000-0001-7168-1438
K.O. Baranov orcid.org/0000-0002-4029-6518
E.N. Makarova orcid.org/0000-0002-6417-9893
N.M. Bazhan orcid.org/0000-0002-7246-4758

Благодарности. Работа выполнена при поддержке Российского научного фонда, грант № 17-15-01036-П, с использованием оборудования ЦКП «Центр генетических ресурсов лабораторных животных» ФИЦ ИЦиГ СО РАН, поддержанного Минобрнауки России (уникальный идентификатор проекта RFMEFI62117X0015).

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила в редакцию 29.10.2021. После доработки 23.11.2021. Принята к публикации 24.11.2021.