


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

Влияние введения лептина беременным самкам мышей на развитие ожирения, вкусовые предпочтения и экспрессию генов в печени и мышцах у потомства разного пола

Е.И. Денисова¹ , М.М. Савинкова², Е.Н. Макарова¹

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

² Новосибирский национальный исследовательский государственный университет, Новосибирск, Россия

 melomande91@gmail.com

Аннотация. Потребление сладкой и жирной пищи способствует развитию ожирения. Условия пренатального развития влияют на вкусовые предпочтения и метаболизм в зрелости, и это может по-разному проявляться в зависимости от пола. Показано, что повышение уровня лептина в крови беременных самок снижает риск развития ожирения и инсулинорезистентности у потомства, однако механизмы его действия на чувствительность к инсулину у потомства не установлены. Неизвестно также, влияет ли материнский лептин на вкусовые предпочтения. Задачей настоящего исследования было изучение влияния введения лептина беременным самкам мышей на развитие ожирения, индуцированного диетой, вкусовые предпочтения и экспрессию генов в печени и мышцах у потомства в зависимости от пола. Оценивали влияние введения лептина самкам мышей на 11, 12 и 13-й день беременности на рост и потребление пищи в стандартных условиях, развитие ожирения, выбор компонентов пищи и экспрессию генов в печени и мышцах при содержании на высококалорийной диете (стандартный корм, свиное сало, сладкое печенье) у потомства разного пола. Введение лептина беременным самкам снижало вес тела у женского потомства на стандартной диете. При содержании потомства на высококалорийной диете введение лептина тормозило развитие ожирения и снижало потребление печенья только у самцов, а также повышало потребление стандартного корма и уровень мРНК генов инсулинового рецептора и переносчика глюкозы четвертого типа в мышцах у потомства обоего пола. Результаты демонстрируют, что повышение лептина в крови беременных самок оказывает зависящее от пола влияние на метаболизм потомства, увеличивает устойчивость к развитию ожирения только у потомства мужского пола и механизм этого влияния включает в себя смещение вкусовых предпочтений в пользу сбалансированного корма и поддержание чувствительности мышц к инсулину. Ключевые слова: лептин; вкусовые предпочтения; ожирение; программирование развития.


Для цитирования: Денисова Е.И., Савинкова М.М., Макарова Е.Н. Влияние введения лептина беременным самкам мышей на развитие ожирения, вкусовые предпочтения и экспрессию генов в печени и мышцах у потомства разного пола. *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2021;25(6):669-676. DOI 10.18699/VJ21.076

Influence of leptin administration to pregnant female mice on obesity development, taste preferences, and gene expression in the liver and muscles of their male and female offspring

E.I. Denisova¹ , M.M. Savinkova², E.N. Makarova¹

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

² Novosibirsk State University, Novosibirsk, Russia

 melomande91@gmail.com

Abstract. The consumption of food rich in sugar and fat provokes obesity. Prenatal conditions have an impact on taste preferences and metabolism in the adult offspring, and this impact may manifest differently in different sexes. An increase in blood leptin level in pregnant females reduces the risk of obesity and insulin resistance in the offspring, although the mechanisms mediating this effect are unknown. Neither is it known whether maternal leptin affects taste preferences. In this study, we investigated the effect of leptin administration to pregnant mice on the development of diet-induced obesity, food choice, and gene expression in the liver and muscles of the offspring with regard to sex. Leptin was administered to female mice on days 11, 12, and 13 of pregnancy. In male and female offspring, growth rate and intake of standard chow after weaning, obesity development, gene expression in the liver and muscles, and food choice when kept on a high-calorie diet (standard chow, lard, sweet cookies) were recorded. Leptin administration to pregnant females reduced body weight in the female offspring fed on the standard diet. When the offspring were given a high-calorie diet, leptin administration inhibited obesity development and reduced the consumption of cookies only in males. It also increased the consumption of standard chow

and the mRNA levels of genes for the insulin receptor and glucose transporter type 4 in the muscles of both male and female offspring. The results demonstrate that an increase in blood leptin levels in pregnant females has a sex-specific effect on the metabolism of the offspring increasing resistance to obesity only in male offspring. The mechanism underlying this effect includes a shift in food preference in favor of a balanced diet and maintenance of insulin sensitivity in muscle tissues.

Key words: leptin; taste preferences; obesity; developmental programming.

For citation: Denisova E.I., Savinkova M.M., Makarova E.N. Influence of leptin administration to pregnant female mice on obesity development, taste preferences, and gene expression in the liver and muscles of their male and female offspring. *Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Selekcii = Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2021;25(6):669-676. DOI 10.18699/VJ21.076

Введение

В настоящее время одна из основных причин широкого распространения ожирения и связанных с ним заболеваний – потребление высококалорийной пищи (Astrup et al., 2008). Выбор продуктов в значительной степени определяется вкусовыми предпочтениями (Duffy et al., 2009), и склонность к потреблению «вкусной» жирной и сладкой пищи вносит свой вклад в эпидемическое распространение ожирения (May, Dus, 2021; Spinelli, Monteleone, 2021).

Вкусовые предпочтения и предрасположенность к развитию метаболических нарушений определяются генотипом (Chmurzynska, Mlodzik, 2017; Diószegi et al., 2019) и условиями раннего развития особей (Mezei et al., 2020). Недоедание, переизбыток, ожирение и диета матерей в период беременности и лактации могут оказывать отсроченное воздействие на выбор пищи и метаболический фенотип особей в зрелости и, таким образом, повышать или уменьшать риск развития ожирения (Barker, Osmond, 1986; Ong et al., 2012; Gabory et al., 2013; Bale, 2015). Изучение факторов материнской среды, программирующих развитие потомства, и молекулярно-физиологических механизмов, которые служат мишенью для действия этих факторов, – актуальная задача, решение которой может способствовать разработке методов коррекции развития для снижения риска возникновения метаболических нарушений.

В качестве программирующего фактора материнской среды рассматривается гормон жировой ткани лептин. На лабораторных моделях продемонстрировано, что повышенный уровень лептина у матерей во время беременности снижает вес тела, повышает чувствительность к инсулину и улучшает метаболические показатели у потомства в зрелости как при сбалансированной, так и при высококалорийной диете, причем это влияние может по-разному проявляться у особей разного пола (Pennington et al., 2012; Makarova et al., 2013; Pollok et al., 2015; Talton et al., 2016; Denisova et al., 2020). Однако молекулярные механизмы программирующего действия материнского лептина остаются неизвестными.

Возможно, материнский лептин оказывает отсроченное влияние на метаболические процессы в печени и мышцах у потомства. Программирование развития связывают с изменением экспрессии генов у потомства под влиянием эпигенетических модификаций, вызванных факторами материнской среды (Laker et al., 2014). Не установлено, влияет ли материнский лептин на экспрессию генов, кодирующих регуляторные факторы и ферменты углеводного и жирового обмена в печени и мышцах у потомства. Кроме того, материнский лептин может вносить свой вклад в

снижение склонности к развитию алиментарного ожирения у потомства через влияние на выбор пищи (Pollock et al., 2015), но этот вопрос мало изучен. Неизвестно, на потребление каких компонентов пищи (жиры, белки, сахара) может влиять материнский лептин, зависит ли программирующее влияние материнского лептина от пола потомства и каковы механизмы, опосредующие программирующее влияние материнского лептина на выбор пищи у потомства.

Задачей нашего исследования было изучение влияния введения лептина беременным самкам мышей на метаболические показатели, вкусовые предпочтения и экспрессию генов в печени и мышцах у потомства в зависимости от пола.

Материалы и методы

Животные. Эксперименты проводили в соответствии с международными европейскими биоэтическими стандартами (DIRECTIVE 2004/10/EC) и российскими этическими стандартами по содержанию и обращению с лабораторными животными (ГОСТ 33215-2014).

Настоящая работа выполнена на мышах линии C57BL/6J из вивария Института цитологии и генетики СО РАН (Новосибирск, Россия). Животных содержали в условиях 12-часового светового дня и свободного доступа к воде и специализированному корму для грызунов для конвенционального содержания и разведения (АО «БиоПро», Новосибирск, Россия). Половозрелых самок скрещивали с самцами той же линии, покрытие регистрировали по наличию вагинальной пробки. День обнаружения пробки считали днем 0 беременности. На 11, 12 и 13-й день беременности самкам мышей вводили рекомбинантный мышинный лептин (recombinant murine leptin, Reprotech, Великобритания) подкожно в область холки в дозе 2 мг/кг либо физиологический раствор в соответствующем объеме. Самок ежедневно взвешивали и оценивали количество съеденного корма. Регистрировали дату родов и размер помета. В больших пометах (больше 7 особей) количество детенышей доводили до 7 в первый день после рождения (день 0), из пометов выводили новорожденных мышат наименьшего веса. Самку и детенышей взвешивали в день 0, 7, 14, 21, 28 после родов. На 28-й день жизни потомство отсаживали от матерей.

Для оценки влияния материнского лептина на метаболические показатели потомства в постнатальный период жизни одного самца и одну самку из каждого помета переводили на одиночное содержание. Женское потомство самок, получавших физиологический раствор, составляло 6, мужское потомство – 5 мышей, женское

потомство самок, получавших лептин, – 8, мужское потомство – 8 мышей. Животных еженедельно взвешивали, определяли количество съеденного за неделю корма. По достижении 10-недельного возраста в рацион мышей была введена сладко-жирная пища: к стандартному корму добавили сладкое сдобное печенье и свиное сало. Мышей содержали на такой диете в течение 10 нед, еженедельно взвешивали, меняли в неделю: стандартный корм один раз, сало и печенье – три раза. Подсчитывали: количество съеденных за сутки стандартного корма, сала и печенья, количество потребленной с этими видами пищи энергии (сало – 8 ккал/г, стандартный корм – 2.5 ккал/г, печенье – 4.58 ккал/г), общее количество энергии, отнесенное к весу тела, долю энергии, потребленную с каждым видом пищи, от общей энергии в процентах.

По окончании эксперимента мышей умерщвляли декапитацией, образцы мышц и печени помещали в жидкий азот для дальнейшей оценки экспрессии генов в этих тканях.

Диета. Стандартный корм АО «БиоПро» (Новосибирск, Россия). Состав: двухкомпонентная зерновая смесь, молочные компоненты, высокобелковые компоненты (растительные и животные белки), масло растительное, аминокислоты, органические кислоты, витаминно-минеральный комплекс, клетчатка. Сырой протеин – 22 %. Энергетическая ценность – 2500 ккал.

Свиное сало и печенье были куплены в продуктовом магазине. Пищевая ценность печенья на 100 г продукта: белки – 6.9 г, жиры – 18.4 г, углеводы – 71.8 г, энергетическая ценность – 458 ккал. Свиное сало – подкожный слой жира – на 100 г продукта: жиры – 94.2 г, белки – 1.8 г, углеводы – 0 г, энергетическая ценность продукта – 800 ккал.

Оценка уровня мРНК генов. Уровень мРНК генов оценивали методом относительной оценки с помощью обратной транскрипции и полимеразно-цепной реакции в реальном времени. Из образцов тканей выделяли РНК с использованием реагента для выделения суммарной РНК ExtractRNA («Евроген», Москва, Россия) согласно инструкции производителя. Обратную транскрипцию проводили с использованием MMLV обратной транскриптазы («Евроген») и олиго(dT) праймера по протоколу производителя.

Полимеразно-цепную реакцию осуществляли согласно инструкции с использованием готовой реакционной смеси qPCRmix-HS LowROX («Евроген») и реагентов фирмы Applied Biosystems: TaqMan Gene Expression Assay для генов мыши: *Insr*, Mm01211875_m1; *Fgf21*, Mm00840165_g1; *G6pc*, Mm00839363_m1; *Gck*, Mm00439129_m1; *Ppargc1a*, Mm01208835_m1; *Pklr*, Mm00443090_m1; *Acaca*, Mm01304257_m1; *Pnpla2*, Mm00503040_m1; *Igf*, Mm00439560_m1; *Slc2a4*, Mm00436615_m1; *Actb*, Mm00607939_s1.

В печени оценивали экспрессию генов инсулинового рецептора (*InsR*), глюкокиназы (*Gck*), пируваткиназы (*Pklr*), глюкозо-6-фосфатазы (*G6pc*), липазы триглицеридов (ATGL – *Pnpla2*), ацетил-Ко-А-карбоксилазы (*Acaca*), коактиватора 1-альфа-рецептора, активируемого пролифераторами пероксисом, гамма (PPARGC1A) (*Pgc1*), фактора роста фибробластов 21 (*Fgf21*), инсулиноподобного фактора роста 1 (*Igf1*), в мышцах – переносчика глюкозы

GLUT4 (*Slc2a4*) и *InsR*. В качестве референсного гена был бета-актин (*Actb*).

Статистическую обработку данных проводили с помощью программы Statistica 10.0. Для определения групповых средних и ошибки среднего использовали описательную статистику. Данные по весу тела и потреблению пищи у беременных самок и их потомства изучали с применением дисперсионного анализа с повторными измерениями (repeated measures ANOVA) с оценкой влияния факторов «экспериментальное воздействие» (введение лептина или физиологического раствора) и «день беременности» для беременных самок; факторов «пол» (самцы или самки), «эксперимент» (введение беременным матерям лептина или физиологического раствора) и «возраст» (с 4-й по 10-ю нед) для потомства при содержании на стандартной диете, факторов «пол», «эксперимент» и «возраст» (с 10-й по 20-ю нед) – для потомства при содержании на сладко-жирной диете с последующей оценкой межгрупповых различий с помощью апостериорного критерия (post-hoc) Newman–Keuls. Для оценки влияния пола и пренатального воздействия на экспрессию генов в печени и мышцах использовали двухфакторный дисперсионный анализ с градациями факторов «пол» и «эксперимент». Межгрупповые различия оценивали с помощью *t*-критерия Стьюдента. Результат на графиках представлен в виде средних значений ± ошибка среднего.

Результаты

Влияние введения лептина на потребление пищи и вес тела самок в период беременности

Введение лептина самкам мышей на 11, 12 и 13-й день беременности не оказало достоверного влияния на вес их тела (рис. 1, а), но снизило потребление пищи на 20 % ($p < 0.001$, repeated measures ANOVA, взаимодействие факторов «эксперимент» × «день беременности») (см. рис. 1, б). Анорексигенное действие лептина длилось не более суток, так как на вторые сутки после последнего введения потребление пищи у самок, получавших лептин или физиологический раствор, выровнялось.

Влияние введения лептина самкам мышей на вес тела и потребление стандартного корма у потомства разного пола

В период лактации потомки мужского и женского пола не отличались друг от друга по весу, введение лептина беременным самкам не оказало достоверного влияния на вес потомства (данные не приведены).

Динамика изменения веса после отъема от матерей в период содержания на стандартном корме различалась у самцов и самок. За первую неделю содержания на стандартном корме самцы обогнали самок по весу тела и весили больше на протяжении всего эксперимента ($p < 0.0001$, $F_{1,24} = 30.32$, «пол», «пол» × «возраст» $p < 0.00001$, $F_{6,144} = 8.23$, repeated measures ANOVA). В связи с этим был проведен анализ repeated measures ANOVA с градациями факторов «эксперимент» и «возраст» (недели 4–10) по отдельности у самцов и самок. У самцов анализ не выявил влияния фактора «эксперимент», тогда как у самок установлено достоверное взаимодействие факторов

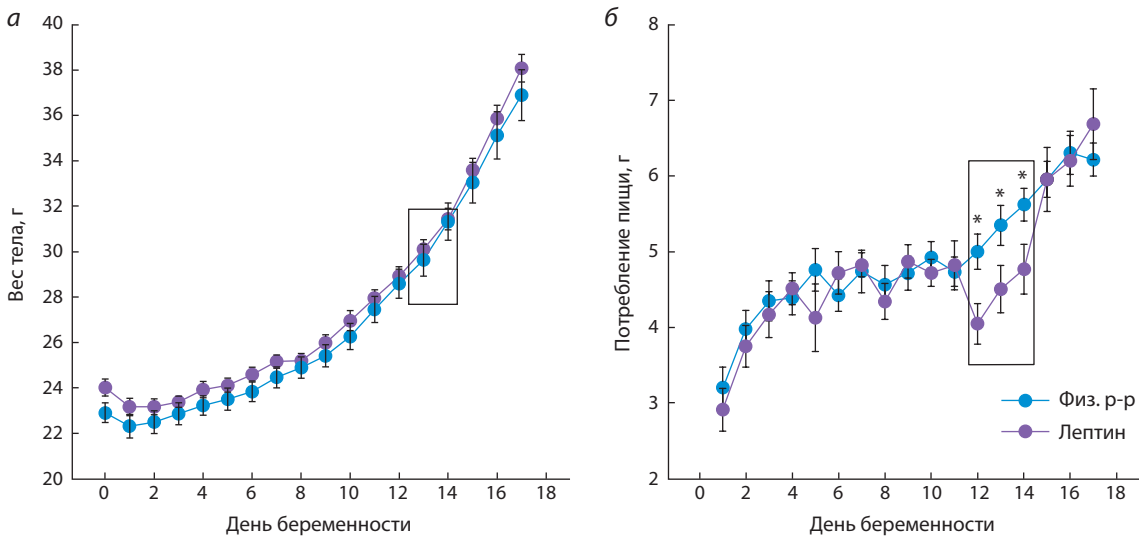


Рис. 1. Влияние введения лептина самкам мышей на 11, 12 и 13-й день беременности на вес тела (а) и потребление пищи (б). Здесь и далее данные представлены как среднее \pm ошибка среднего. * $p < 0.05$, *t*-тест Стьюдента.

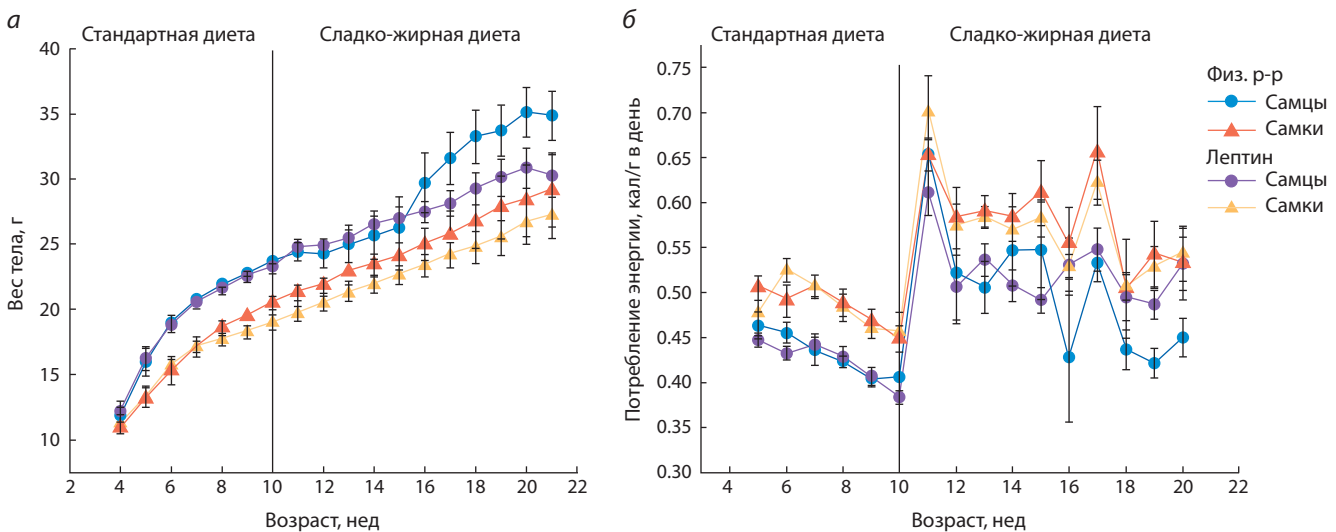


Рис. 2. Влияние введения лептина беременным самкам мышей на вес тела (а) и отношение потребленной энергии к весу тела (б) у потомства мужского и женского пола при содержании на стандартной и сладко-жирной диете.

«возраст» \times «эксперимент» ($p < 0.05$, $F_{6,72} = 2.35$, repeated measures ANOVA).

Потомство мужского пола, матерям которых вводили лептин, не отличалось по весу от потомков мужского пола контрольных матерей при одиночном содержании на стандартной диете (в возрасте 4–10 нед). Самки, матерям которых вводили лептин, не отличались по весу от потомства женского пола контрольных матерей вплоть до возраста достижения половой зрелости (8 нед), а затем начали отставать по весу от самок, рожденных в контрольной группе, и эта тенденция сохранялась на протяжении всего эксперимента (рис. 2, а). Самки потребляли с пищей больше энергии на единицу массы тела, чем самцы ($p < 0.0001$, $F_{1,24} = 34.1$, фактор «пол», repeated measures ANOVA), введение лептина матерям в период беременности не оказало влияния на этот показатель (см. рис. 2, б).

Вес тела и потребление пищи у потомства разного пола при содержании на сладко-жирной пище

При анализе данных по весу тела по отдельности у самцов и самок, получавших сладко-жирную пищу в течение 10 нед, repeated measures ANOVA не выявляет влияния фактора «эксперимент» у женского потомства, но показывает достоверное взаимодействие факторов «возраст» \times «эксперимент» ($p < 0.01$, $F_{9,90} = 2.82$, repeated measures ANOVA) у мужского потомства. В течение первых пяти недель содержания на сладко-жирной пище мужское потомство самок, получавших физиологический раствор либо лептин, не различалось по весу тела, но затем самцы, рожденные в контрольной группе, стали резко набирать вес и обогнали по весу тела самцов, рожденных в группе самок, получавших лептин во время беременности (см. рис. 2, а). У самок, рожденных в группах контрольных и

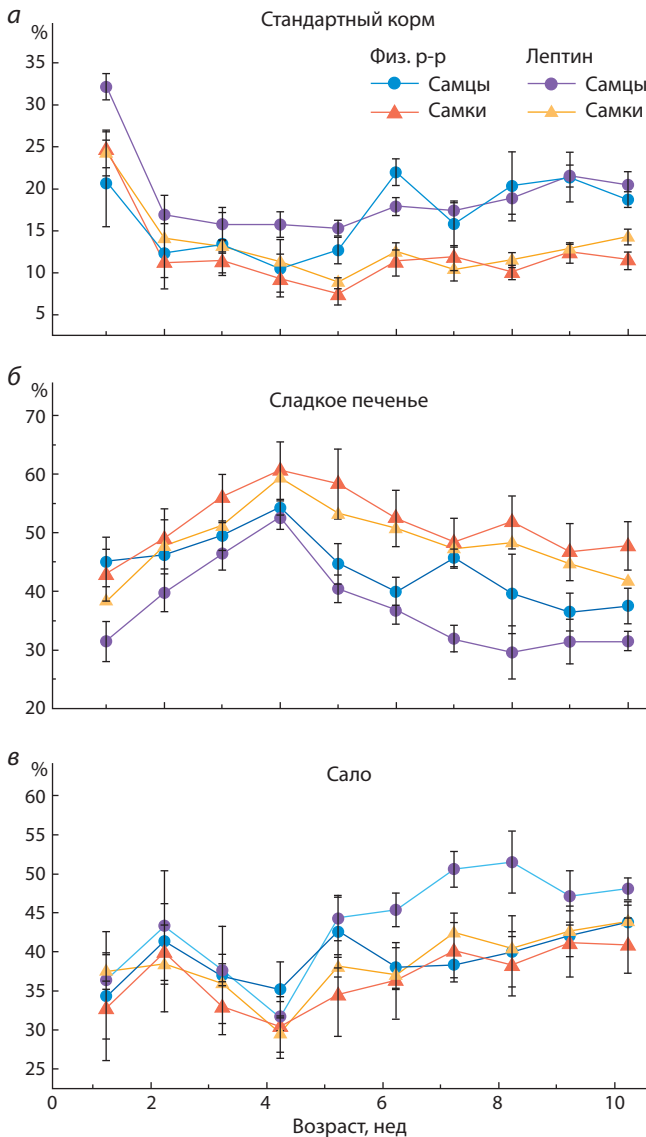


Рис. 3. Влияние введения лептина беременным самкам мышей на долю энергии (%), потребленной со стандартным кормом, печеньем и салом, у потомства мужского и женского пола при содержании на сладко-жирной диете.

получавших лептин матерей, различия в весе, возникшие при содержании на стандартной диете, сохранились и при содержании на сладко-жирной пище (см. рис. 2, а).

Потребление энергии, отнесенное к весу тела, резко возросло при добавлении сала и печени к стандартному корму (см. рис. 2, б) и оставалось повышенным у самок по сравнению с самцами ($p < 0.01$, $F_{1,22} = 9.06$, фактор «пол», repeated measures ANOVA).

Для оценки влияния материнского лептина на вкусовые предпочтения у потомства оценивали вклад каждого из компонентов потребленной пищи (стандартный корм, сало, печень) в общее потребление энергии. Наблюдались выраженные половые различия по потреблению стандартного корма (у самцов выше, чем у самок, $p < 0.001$, $F_{1,22} = 34$, фактор «пол») и печени (у самцов ниже, чем у самок, $p < 0.01$, $F_{1,22} = 12.2$, фактор «пол»). По потреблению сала самцы и самки достоверно не различались (рис. 3).

Введение лептина беременным самкам мышей оказало влияние на вкусовые предпочтения у потомства, и это влияние было более выражено у самцов. Материнский лептин повысил вклад стандартного корма в общее потребление энергии у мышей обоего пола в первые пять недель содержания на сладко-жирной пище ($p < 0.05$, $F_{1,22} = 4.03$, фактор «эксперимент», repeated measures ANOVA), но у самцов в большей степени, чем у самок (см. рис. 3, а), понизил вклад печени в общее потребление энергии только у самцов в течение всего периода содержания на сладко-жирной пище ($p < 0.05$, $F_{1,22} = 5.3$, фактор «эксперимент», repeated measures ANOVA, см. рис. 3, б), но не оказал влияния на потребление сала вне зависимости от пола (см. рис. 3, в).

Экспрессия генов, участвующих в углеводно-жировом обмене, в печени и мышцах

В печени оценивали экспрессию генов, влияющих на чувствительность к инсулину (*InsR*), генов ферментов гликолиза (*Gck*, *Pklr*), глюконеогенеза (*G6pc*), липолиза (adipose triglyceride lipase – *Pnpla2*), липогенеза (*Acaca*), а также генов, кодирующих регуляторные факторы, влияющие на метаболические процессы в печени (*Pgc1*) или

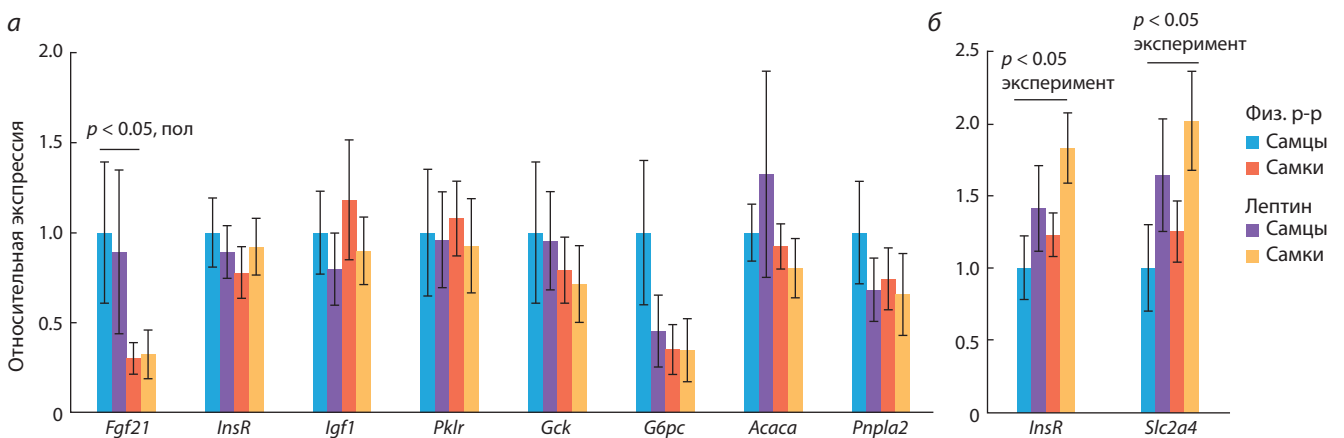


Рис. 4. Влияние введения лептина беременным самкам мышей на экспрессию генов в печени (а) и мышцах (б) у потомства мужского и женского пола при содержании на сладко-жирной диете.

Влияние введения лептина беременным самкам мышей на вес печени и биохимические показатели крови у потомков мужского и женского пола при содержании на сладкой-жирной диете

Показатель	Самцы		Самки	
	Контроль	Лептин	Контроль	Лептин
Холестерин, мМ	8.16 ± 1.18	8.07 ± 0.69	4.27 ± 0.43	3.55 ± 0.19
Глюкоза, мМ	15.47 ± 2.80	11.13 ± 1.23	10.42 ± 1.10	11.99 ± 1.43
Триглицериды, мМ	0.34 ± 0.07	0.50 ± 0.13	0.37 ± 0.07	0.20 ± 0.04
Вес печени, г	1.39 ± 0.03	1.42 ± 0.02	1.35 ± 0.05	1.26 ± 0.05

Холестерин, $p < 0.001$, самцы по сравнению с самками, 2-way ANOVA.

вовлеченные в регуляцию углеводно-жирового обмена на уровне целого организма (*Fgf21*, *Igf1*). Введение лептина беременным самкам мышей не оказало влияния на экспрессию исследованных генов в печени. Обнаружено достоверное влияние пола на экспрессию гена фактора роста фибробластов 21 (*Fgf21*): у самок был более низкий уровень мРНК *Fgf21* по сравнению с самцами ($p < 0.05$, $F_{1,18} = 5.4$, 2-way ANOVA, рис. 4, а).

В мышцах у мышей обоего пола введение лептина матерям сопровождалось повышением экспрессии генов инсулинового рецептора (*Insr*) и инсулин-зависимого переносчика глюкозы *Slc2a4* ($p < 0.05$, 2-way ANOVA, для обоих случаев, см. рис. 4, б), что свидетельствует о повышении чувствительности мышц к инсулину.

Метаболические показатели

Самки, по сравнению с самцами, обладали меньшим весом печени ($p = 0.051$, $F_{1,18} = 4.35$, ANOVA 2-way) и сниженными концентрациями холестерина в крови ($p < 0.001$, $F_{1,18} = 49.82$, ANOVA 2-way) и не отличались от самцов по концентрациям глюкозы и триглицеридов в плазме крови (см. таблицу). Введение лептина матерям в период беременности не оказало влияния на изученные метаболические показатели.

Обсуждение

В исследованиях, проведенных ранее на мышах и крысах, показано, что повышение уровня лептина в крови беременных самок увеличивает устойчивость к развитию алиментарного ожирения у потомства и программирующее действие материнского лептина может зависеть от пола потомства (Stocker et al., 2007; Makarova et al., 2013). В данной работе проверяли предположение о том, не связано ли влияние материнского лептина на склонность к развитию алиментарного ожирения у потомства с его влиянием на вкусовые предпочтения и экспрессию генов в печени и мышечной ткани. Для проверки этого предположения самкам мышей вводили лептин в минимальной дозе, вызывающей физиологический ответ (Enrigi et al., 2007), в период с 11-го по 13-й день беременности и оценивали вкусовые предпочтения, метаболические признаки и экспрессию генов в печени и мышцах у потомства обоего пола. Этот период беременности был выбран потому, что между 11-м и 12-м днями начинается процесс половой дифференцировки у мышей (Hacker et al., 1995) и на 12-й день приходится пик пролиферации

предшественников тех нейронов гипоталамуса, которые в дальнейшем будут регулировать потребление и расход энергии (Ishii, Bouret, 2012).

Ранее мы обнаружили, что однократное введение лептина самкам мышей на 12-й день беременности оказывает программирующее полоспецифическое влияние на метаболизм потомства (Denisova et al., 2020). Результаты работы показывают, что в этот период беременные мыши чувствительны к лептину, о чем свидетельствует снижение в потреблении пищи при введении лептина. На более поздних стадиях беременности чувствительность к лептину у мышей может понижаться в связи со значительным ростом уровня лептина в крови в последней трети беременности (Makarova et al., 2010).

Введение лептина беременным самкам замедлило развитие алиментарного ожирения у потомства мужского пола, что согласуется с предыдущими исследованиями, в которых было продемонстрировано, что введение лептина самкам крыс с 14-го дня беременности и в течение всего периода лактации (Stocker et al., 2007) и самкам мышей – в конце беременности (Makarova et al., 2013) предотвращало у мужского потомства развитие алиментарного ожирения на высококалорийной диете. Однократное введение лептина на 12-й день беременности устраняло наличие гипергликемии у потомков с ожирением и на уровне тенденции снижало темпы развития алиментарного ожирения у мужского потомства (Denisova et al., 2020). Однако, в отличие от данных, полученных в этой работе, однократное введение лептина самкам мышей на 12-й день беременности не оказывало влияния на темпы роста потомства женского пола на стандартной диете. Возможно, при введении лептина только на 12-й день беременности не были захвачены начальные периоды половой дифференцировки, которые могут быть чувствительными к его действию.

Результаты исследования показывают, что материнский лептин может влиять на вкусовые предпочтения у потомства и это влияние может быть одной из причин повышения устойчивости мужского потомства к развитию алиментарного ожирения при свободном выборе между разными компонентами высококалорийной диеты. Это новые, впервые полученные данные. Самки потребляли больше печенья и меньше стандартного корма, чем самцы. Данные согласуются с хорошо установленным на разных видах животных фактом о половых различиях в потреблении сладкого (Valenstein et al., 1967; Zucker et al., 1972;

Buczek et al., 2020). Причины этих различий ищут во влиянии пола на центральные системы регуляции энергетического гомеостаза и на системы вознаграждения (Sinclair et al., 2017; Buczek et al., 2020).

Наши результаты впервые указывают на то, что гормон печени FGF21 может быть вовлечен в зависящую от пола регуляцию вкусовых предпочтений. У самок экспрессия *Fgf21* в печени была существенно ниже, чем у самцов, что совпадает с полученными ранее данными (Bazhan et al., 2019). Уровень FGF21 в крови коррелирует с интенсивностью экспрессии его гена в печени и при ожирении повышен у самцов (Bazhan et al., 2019). Показано, что FGF21 увеличивает потребление белков (Larson et al., 2019) и уменьшает потребление сахаров (Talukdar et al., 2016), и повышенный уровень FGF21 у самцов, по сравнению с самками, может быть причиной возросшего потребления стандартного белкового корма и пониженного потребления сладкого печенья у самцов по отношению к самкам.

Введение лептина беременным самкам снизило потребление печенья и увеличило потребление стандартного корма у потомства. Сходные результаты были получены К.Е. Pollock с коллегами (2015), обнаружившими на мышцах, что гиперлептинемия у матерей в период беременности сдвигает вкусовые предпочтения у потомства в пользу большего потребления стандартной диеты по отношению к сладкой.

Механизмы этих материнских воздействий неизвестны, и наши результаты свидетельствуют, что они не связаны с влиянием на экспрессию *Fgf21* в печени, поскольку введение лептина беременным самкам не повлияло на уровень мРНК FGF21 в печени у потомства. Возможно, механизм программирующего действия материнского лептина связан с влиянием на системы мотивации и вознаграждения, а также системы регуляции пищевого поведения у потомства.

Установлено, что факторы материнской среды во время беременности и лактации могут воздействовать на системы мотивации и вознаграждения у потомства, представленные эндогенными опиоидами, дофамином и серотонином (Grissom et al., 2014). Характер влияния лептина на становление систем регуляции пищевого поведения требует дальнейшего изучения, и наши результаты указывают на то, что период эмбрионального развития с 11-го по 13-й день представляет собой пластическое окно для воздействия факторов материнской среды на формирование этих систем.

Ранее было выявлено, что повышенный уровень лептина во время беременности у мышшей повышает чувствительность потомства к инсулину, независимо от рациона (Talton et al., 2016). Мы не обнаружили влияния материнского лептина на экспрессию генов печени, участвующих в метаболизме глюкозы (*InsR*, *Igf1*), в окислении жирных кислот (*Fgf21*), гликолизе (*Gck*) и глюконеогенезе (*Pklr*, *G6pc*), а также генов липолиза (*Atgl*) и липогенеза (*Acaca*). Полученные результаты демонстрируют, что сенситизирующее влияние материнского лептина к действию инсулина может осуществляться через воздействие на экспрессию генов, регулирующих метаболизм глюкозы в мышцах у потомства. Экспрессия генов инсулинового рецептора (*Insr*) и инсулинозависимого переносчика

глюкозы (*Slc2a4*) в мышцах была выше у потомства самок, получавших лептин, по сравнению с потомством контрольных самок. По-видимому, материнский лептин способствует поддержанию чувствительности к инсулину при потреблении сладко-жирной пищи у потомства, что также может противодействовать развитию ожирения.

Молекулярные механизмы, опосредующие программирующее действие материнского лептина, не изучены. Неизвестно, проникает ли материнский лептин через плаценту в кровотоки плодов. Однако при значительном повышении уровня лептина в крови беременных самок, он, по-видимому, может попадать через плаценту, поскольку ранее мы обнаружили многократное повышение уровня лептина в плазме крови как у самок, так и у плодов через один час после его введения мышам в конце беременности (Denisova, Makarova, 2018). Кроме того, установлено, что у мышшей введение лептина снижает вес плодов и плацент (Yamashita et al., 2001; Denisova et al., 2020), причем плаценты плодов мужского и женского пола по-разному отвечают на введение лептина: у плодов мужского пола снижается вес плацент, у плодов женского пола – экспрессия переносчиков глюкозы в плацентах (Denisova et al., 2020). Полоспецифическое программирующее влияние материнского лептина на метаболизм потомства может быть опосредовано его неодинаковым воздействием на функцию плацент у плодов разного пола. Механизмы, опосредующие программирующее действие лептина на развитие плодов, требуют дальнейшего изучения.

Заключение

Таким образом, в работе показано, что трехкратное введение лептина матерям на 11, 12 и 13-й день беременности замедлило развитие алиментарного ожирения у самцов, сдвинуло вкусовые предпочтения в пользу потребления сбалансированного корма и повысило экспрессию генов инсулинового рецептора и инсулинозависимого переносчика глюкозы в мышцах у мышшей обоего пола. Полученные результаты позволяют предполагать, что материнский лептин увеличивает устойчивость к развитию алиментарного ожирения у потомства через влияние на вкусовые предпочтения и чувствительность мышц к инсулину.

Список литературы / References

- Astrup A., Dyerberg J., Selleck M., Stender S. Nutrition transition and its relationship to the development of obesity and related chronic diseases. *Obes. Rev.* 2008;9(1):48-52. DOI 10.1111/j.1467-789X.2007.00438.x.
- Bale T.L. Epigenetic and transgenerational reprogramming of brain development. *Nat. Rev. Neurosci.* 2015;16(6):332-344. DOI 10.1038/nrn3818.
- Barker D.J., Osmond C. Infant mortality, childhood nutrition, and ischaemic heart disease in England and Wales. *Lancet.* 1986;1(8489):1077-1081. DOI 10.1016/s0140-6736(86)91340-1.
- Bazhan N., Jakovleva T., Balyibina N., Dubinina A., Denisova E., Feofanova N., Makarova E. Sex dimorphism in the *Fgf21* gene expression in liver and adipose tissues is dependent on the metabolic condition. *OnLine J. Biol. Sci.* 2019;19(1):28-36. DOI 10.3844/ojbsci.2019.28.36.
- Buczek L., Migliaccio J., Petrovich G.D. Hedonic eating: sex differences and characterization of orexin activation and signaling. *Neuroscience.* 2020;436:34-45. DOI 10.1016/j.neuroscience.2020.04.008.

- Chmurzynska A., Mlodzik M.A. Genetics of fat intake in the determination of body mass. *Nutr. Res. Rev.* 2017;30(1):106-117. DOI 10.1017/S0954422417000014.
- Denisova E.I., Kozhevnikova V.V., Bazhan N.M., Makarova E.N. Sex-specific effects of leptin administration to pregnant mice on the placenta and the metabolic phenotypes of offspring. *FEBS Open Bio.* 2020;10(1):96-106. DOI 10.1002/2211-5463.12757.
- Denisova E., Makarova E. Sex-specific effect of leptin on gene expression in placentas and fetal tissues in mice. In: Bioinformatics of Genome Regulation and Structure/Systems Biology (BGRS/SB-2018) The Eleventh International Conference (20–25 Aug. 2018, Novosibirsk, Russia); Abstracts/Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch of Russian Academy of Sciences; Novosibirsk State University. Novosibirsk: ICG SB RAS, 2018. DOI 10.18699/BGRSSB-2018-174.
- Diószegi J., Llanaj E., Ádány R. Genetic background of taste perception, taste preferences, and its nutritional implications: a systematic review. *Front. Genet.* 2019;10:1272. DOI 10.3389/fgene.2019.01272.
- Duffy V.B., Hayes J.E., Sullivan B.S., Faghri P. Surveying food and beverage liking: a tool for epidemiological studies to connect chemosensation with health outcomes. *Ann. NY Acad. Sci.* 2009;1170:558-568. DOI 10.1111/j.1749-6632.2009.04593.x.
- Enriori P.J., Evans A.E., Sinnayah P., Jobst E.E., Tonelli-Lemos L., Billes S.K., Glavas M.M., Grayson B.E., Perello M., Nillni E.A., Grove K.L., Cowley M.A. Diet-induced obesity causes severe but reversible leptin resistance in arcuate melanocortin neurons. *Cell Metab.* 2007;5(3):181-194. DOI 10.1016/j.cmet.2007.02.004.
- Gabory A., Roseboom T.J., Moore T., Moore L.G., Junien C. Placental contribution to the origins of sexual dimorphism in health and diseases: sex chromosomes and epigenetics. *Biol. Sex Differ.* 2013;4(1):5. DOI 10.1186/2042-6410-4-5.
- Grissom N.M., Lyde R., Christ L., Sasson I.E., Carlin J., Vitins A.P., Simmons R.A., Reyes T.M. Obesity at conception programs the opioid system in the offspring brain. *Neuropsychopharmacology.* 2014;39(4):801-810. DOI 10.1038/npp.2013.193.
- Hacker A., Capel B., Goodfellow P., Lovell-Badge R. Expression of *Sry*, the mouse sex determining gene. *Development.* 1995;121(6):1603-1614.
- Ishii Y., Bouret S.G. Embryonic birthdate of hypothalamic leptin-activated neurons in mice. *Endocrinology.* 2012;153(8):3657-3667. DOI 10.1210/en.2012-1328.
- Laker R.C., Lillard T.S., Okutsu M., Zhang M., Hoehn K.L., Connelly J.J., Yan Z. Exercise prevents maternal high-fat diet-induced hypermethylation of the *Pgc-1 α* gene and age-dependent metabolic dysfunction in the offspring. *Diabetes.* 2014;63(5):1605-1611. DOI 10.2337/db13-1614.
- 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.N., Chepeleva E.V., Panchenko P.E., Bazhan N.M. Influence of abnormally high leptin levels during pregnancy on metabolic phenotypes in progeny mice. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 2013;305(11):R1268-R1280. DOI 10.1152/ajpregu.00162.2013.
- 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.
- May C.E., Dus M. Confection confusion: interplay between diet, taste, and nutrition. *Trends Endocrinol. Metab.* 2021;32(2):95-105. DOI 10.1016/j.tem.2020.11.011.
- Mezei G.C., Ural S.H., Hajnal A. Differential effects of maternal high fat diet during pregnancy and lactation on taste preferences in rats. *Nutrients.* 2020;12(11):3553. DOI 10.3390/nu12113553.
- Ong Z.Y., Gugusheff J.R., Muhlhausler B.S. Perinatal overnutrition and the programming of food preferences: pathways and mechanisms. *J. Dev. Orig. Health Dis.* 2012;3(5):299-308. DOI 10.1017/S204017441200030X.
- Pennington K.A., Harper J.L., Sigafos A.N., Beffa L.M., Carleton S.M., Phillips C.L., Schulz L.C. Effect of food restriction and leptin supplementation on fetal programming in mice. *Endocrinology.* 2012;153(9):4556-4567. DOI 10.1210/en.2012-1119.
- Pollock K.E., Stevens D., Pennington K.A., Thaisrivongs R., Kaiser J., Ellersieck M.R., Miller D.K., Schulz L.C. Hyperleptinemia during pregnancy decreases adult weight of offspring and is associated with increased offspring locomotor activity in mice. *Endocrinology.* 2015;156(10):3777-3790. DOI 10.1210/en.2015-1247.
- Sinclair E.B., Hildebrandt B.A., Culbert K.M., Klump K.L., Sisk C.L. Preliminary evidence of sex differences in behavioral and neural responses to palatable food reward in rats. *Physiol. Behav.* 2017;176:165-173. DOI 10.1016/j.physbeh.2017.03.042.
- Spinelli S., Monteleone E. Food preferences and obesity. *Endocrinol. Metab. (Seoul).* 2021;36(2):209-219. DOI 10.3803/EnM.2021.105.
- Stocker C.J., Wargent E., O'Dowd J., Cornick C., Speakman J.R., Arch J.R., Cawthorne M.A. Prevention of diet-induced obesity and impaired glucose tolerance in rats following administration of leptin to their mothers. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 2007;292(5):1810-1818. DOI 10.1152/ajpregu.00676.2006.
- Talton O.O., Pennington K.A., Pollock K.E., Batesa K., Mad L., Ellersieck M.R., Schulz L.C. Maternal hyperleptinemia improves offspring insulin sensitivity in mice. *Endocrinology.* 2016;157(7):2636-2648. DOI 10.1210/en.2016-1039.
- Talukdar S., Owen B.M., Song P., Hernandez G., Zhang Y., Zhou Y., Scott W.T., Paratala B., Turner T., Smith A., Bernardo B., Müller C.P., Tang H., Mangelsdorf D.J., Goodwin B., Klierer S.A. FGF21 Regulates sweet and alcohol preference. *Cell Metab.* 2016;23(2):344-349. DOI 10.1016/j.cmet.2015.12.008.
- Valenstein E.S., Cox V.C., Kakolewski J.W. Further studies of sex differences in taste preferences with sweet solutions. *Psychol. Rep.* 1967;20(3):1231-1234. DOI 10.2466/pr0.1967.20.3c.1231.
- Yamashita H., Shao J., Ishizuka T., Klepcyk P.J., Muhlenkamp P., Qiao L., Hoggard N., Friedman J.E. Leptin administration prevents spontaneous gestational diabetes in heterozygous *Lepr(db/+)* mice: effects on placental leptin and fetal growth. *Endocrinology.* 2001;142(7):2888-2897. DOI 10.1210/endo.142.7.8227.
- Zucker I., Wade G.N., Ziegler R. Sexual and hormonal influences on eating, taste preferences, and body weight of hamsters. *Physiol. Behav.* 1972;8(1):101-111. DOI 10.1016/0031-9384(72)90135-7.

ORCID ID

E.I. Denisova orcid.org/0000-0001-8696-8781
M.M. Savinkova orcid.org/0000-0002-6557-553X
E.N. Makarova orcid.org/0000-0002-6417-9893

Благодарности. Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (проект № 20-315-90071) и бюджетного проекта № 0259-2021-0014.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила в редакцию 09.02.2021. После доработки 24.05.2021. Принята к публикации 17.06.2021.