
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

**ВЛИЯНИЕ ЭСТРАДИОЛА НА УГЛЕВОДНО-ЖИРОВОЙ ОБМЕН
И АКТИВНОСТЬ СИСТЕМЫ FGF21 У САМОК МЫШЕЙ C57BL/6
ПРИ КРАТКОСРОЧНОМ СОДЕРЖАНИИ НА ДИЕТЕ КАФЕТЕРИЯ**

© 2024 г. Т. В. Яковлева^{1,*}, А. Ю. Казанцева¹, К. Ю. Мамонтова^{1,2}, Н. М. Бажан^{1,2}

¹Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия

²Новосибирский государственный университет, Новосибирск, Россия

*E-mail: tatyana.jakovleva@yandex.ru

Поступила в редакцию 18.11.2023 г.

После доработки 22.02.2024 г.

Принята к публикации 28.02.2024 г.

Диета кафетерия провоцирует развитие ожирения и метаболического синдрома, снижает чувствительность к инсулину и толерантность к глюкозе. Фактор роста фибробластов 21 (FGF21), гормон печени, способствует адаптации к потреблению сладкой и жирной пищи. Самки мышей менее чувствительны к повреждающему действию диеты кафетерия, чем самцы, что может быть связано с влиянием эстрадиола на активность системы FGF21: на экспрессию гена *Fgf21* в печени, на уровень гормона в крови или на уровень рецепторов и корецепторов бета-клото, которые определяют чувствительность тканей к FGF21. Проверка этого предположения явилась целью данной работы. Влияние эстрадиола (10 мкг/животное раз в три дня) оценивали у овариэктомированных самок мышей C57BL/6, потреблявших диету кафетерия (стандартный корм, сало и печенья) в течение двух недель. Определяли показатели углеводно-жирового обмена, вкусовые предпочтения и активность системы FGF21. Овариэктомия повышала массу тела и подкожного жира, потребление сала, экспрессию гена *Pomc* в гипоталамусе, снижала экспрессию рецепторов эстрадиола в печени и потребление печенья. Эстрадиол существенного влияния на данные показатели не оказывал. У овариэктомированных самок с недостаточностью эстрадиола уровень в крови холестерина и экспрессия в печени гена глюкоза-6-фосфатазы были ниже, чем у ложнопериовариэктомированных самок, и эстрадиол нормализовал данные показатели. Овариэктомия понижала, а введение эстрадиола повышало уровень мРНК корецептора бета-клото (*Klb*) в печени и в гипоталамусе. Эти результаты предполагают, что на начальных этапах потребления сладкой и жирной пищи эстрадиол повышает чувствительность печени и гипоталамуса к FGF21 и усиливает тем самым вклад системы FGF21 в процессы адаптации к диете кафетерия.

Ключевые слова: диета кафетерия, овариэктомия, эстрадиол, FGF21, вкусовые предпочтения, корецептор бета-клото

DOI: 10.31857/S0869813924040054, **EDN:** CNRTPT

ВВЕДЕНИЕ

В последнее время доступность и привлекательность сладкой и жирной пищи существенно увеличила долю этих продуктов в рационе человека. Диета с повышенным содержанием жиров и быстрых углеводов (диета кафетерия) при продол-

жительном воздействии провоцирует развитие ожирения, которое не только снижает качество жизни людей, но и является причиной тяжелых метаболических нарушений: способствует развитию стеатоза печени, инсулиновой резистентности, системных воспалительных процессов, сахарного диабета 2-го типа и артериальной гипертензии [1]. Диета кафетерия влияет на метаболические показатели у животных обоих полов: у самцов и самок повышаются масса тела и белого жира, уровни глюкозы, инсулина и холестерина в крови [2]. Однако особи женского пола более устойчивы к повреждающему действию высококалорийных диет. У самок мышей, в отличие от самцов, менее выражены увеличение массы тела, инсулиновая резистентность, гипергликемия и нарушение липидного профиля крови [3]. При длительном потреблении диеты кафетерия у самок мышей в печени снижается экспрессия генов глюконеогенеза, гликолиза и синтеза жирных кислот, а у самцов экспрессия этих генов повышается, и только у самцов развивается гипергликемия [4]. У людей с ожирением сахарный диабет 2-го типа у женщин развивается реже, чем у мужчин [5]. Реакция на потребление высококалорийной пищи различается у самцов и самок уже на ранних этапах изменения типа питания: после кратковременного (не более двух недель) потребления высококалорийной пищи у самцов увеличивается масса тела и жировой ткани, повышаются уровни в крови глюкозы и инсулина, снижаются толерантность к глюкозе и чувствительность к инсулину, тогда как у самок данные показатели не изменяются [6, 7]. Более того, на начальных этапах адаптации к диете с высоким содержанием жиров у самок повышается расход энергии в результате увеличения двигательной активности в светлое время суток [7].

Регулятором адаптации к метаболическим стрессам, в том числе к высококалорийным диетам, которые провоцируют развитие ожирения, называют гормон печени – фактор роста фибробластов 21 (FGF21). В отличие от других факторов роста FGF21 не имеет гепаран-связывающего домена, не оказывает влияния на рост и дифференцировку клеток, может секретироваться в кровотоки и действовать как гормон или в окологлобальное пространство и действовать ауто- или паракринно. Белок FGF21 экспрессируется в печени [8], в жировой ткани [9, 10], в поджелудочной железе [11], в желудочно-кишечном тракте и в скелетных мышцах [12, 13]. FGF21, синтезируемый в печени, секретируется в кровь и действует как гормон [14]. Свое действие FGF21 оказывает через рецепторы факторов роста фибробластов, расположенные на мембране клеток – Fibroblast growth factor receptor (FGFR1c, FGFR2c, FGFR3c), причем аффинность связывания с FGFR1 существенно выше, чем с другими типами рецепторов. FGF21 активирует рецепторы только в том случае, если они находятся в комплексе с трансмембранным белком корецептором бета-клото (KLB) [15, 16]. Таким образом, только ткани, в которых экспрессируется KLB, являются мишенями действия FGF21, и чувствительность ткани к FGF21 зависит от уровня экспрессии рецепторов и корецепторов. Комплексы KLB-FGFR1 обнаружены в буром, белом жире и некоторых отделах ЦНС, включая гипоталамус и задний мозг [10, 17, 18]. В печени KLB тоже экспрессируется, однако экспрессия FGFR1 в печени очень низкая, поэтому основным является комплекс KLB-FGFR4, и в физиологических концентрациях прямое действие FGF21 в печени маловероятно [19]. Тем не менее фармакологическое введение FGF21 подавляет продукцию глюкозы печенью, и это его действие, как предполагают, обусловлено центральными эффектами FGF21 [20].

У животных без ожирения уровень FGF21 в крови очень низкий, потребление сладкой и жирной пищи активирует его экспрессию в печени и в десятки раз повышает его уровень в крови [4]. При фармакологическом введении FGF21 снижает массу тела, уровни глюкозы и триглицеридов в крови, повышает чувствительность к инсулину, модулирует метаболизм глюкозы в печени, повышает потребление белка и подавляет

потребление сладкого и алкоголя у мышей [14, 21–23]. Показано, что у мышей уровни мРНК и белка FGF21 в печени, а также уровни циркулирующего FGF21 претерпевают циклические изменения в течение эстрального цикла, причем самый высокий уровень FGF21 наблюдается в проэструсе, тогда же, когда максимален и уровень циркулирующего эстрадиола (E2) [24]. Более того, экзогенный E2, действуя через рецепторы эстрадиола первого типа, увеличивает экспрессию и продукцию FGF21 в печени [24, 25]. Влияние эстрадиола на активность системы FGF21 показано у мышей при содержании на стандартном корме, тогда как влияние эстрадиола на активность системы FGF21 в условиях метаболического стресса не изучали. Известно только, что у мышей с ожирением экзогенный эстрадиол влияет на фармакологические эффекты FGF21 [26]. Можно предположить, что большая устойчивость самок к повреждающему действию диеты обусловлена стимулирующим влиянием эстрадиола на систему FGF21. Проверка этого предположения явилась целью данной работы. Об активации системы FGF21 может свидетельствовать повышение уровня FGF21 в крови, а также повышение уровня мРНК *Fgf21* в печени и мРНК *Klb* в тканях-мишенях. Мы исследовали влияние эстрадиола на активность системы FGF21, а также на массу тела, печени и жировых депо, биохимические показатели крови, вкусовые предпочтения, экспрессию генов белков, участвующих в регуляции потребления пищи, в гипоталамусе и экспрессию генов, влияющих на чувствительность к инсулину и метаболизм глюкозы, в печени у самок мышей C57BL/6 при краткосрочном потреблении пищи с высоким содержанием жиров и быстрых углеводов (диета кафетерия) в модели экспериментального подавления функции яичников (оваризектомия) и последующего введения гормона (эстрадиола).

Понимание механизмов адаптации к потреблению высококалорийной пищи может способствовать выявлению и оценке индивидуальных факторов риска развития метаболических заболеваний.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Экспериментальные животные. Эксперимент был выполнен на самках мышей линии C57BL/6J, которых содержали в условиях вивария конвенциональных животных Института цитологии и генетики СО РАН при постоянном световом режиме (12 ч : 12 ч, световая фаза – с 7:30 до 19:30), температуре 22–24 °C и свободном доступе к пище и воде.

Схема эксперимента. В возрасте 15 недель все самки были прооперированы (ложная операция либо оваризектомия) и рассажены в клетки по одной особи. Через две недели после операции животным начинали давать эстрадиол, растворенный в масле, или только масло (растительное масло промышленного производства). Были сформированы три экспериментальные группы: (i) ложнооперированные (ЛО, $n = 6$), которые получали масло, (ii) оваризектомизированные (ОЭ, $n = 7$), получавшие масло, и (iii) оваризектомизированные, которые получали эстрадиол в масле (ОЭ+E2, $n = 8$). Эстрадиол (E2, Sigma, США) давали перорально в 16.00 – 16.30, один раз в три дня, в дозе 10 мкг/животное в объеме 100 мкл. Эффективность выбранной дозы эстрадиола была подтверждена изменением массы матки (74.3 ± 9.6 мг – ЛО; 12.3 ± 0.9 мг – ОЭ; 41.0 ± 2.3 мг – ОЭ+E2). Самок всех экспериментальных групп через 5 дней после начала введения эстрадиола переводили со стандартного корма на диету кафетерия: помимо гранулированного корма (BioPro, Новосибирск, Россия), животные получали также свиное сало (подкожный жир) и сладкое печенье (Шоколадная страна, Бердск, Россия). Массу тела и количество потребленных компонентов пищи в граммах измеряли один раз в три дня. Через две недели диеты, через сутки после последней инъекции E2 эксперимент завершали, животных декапитировали (16.00 – 18.00), измеряли массу печени и жировой ткани различной локализации. Были взяты образцы крови для определения уровня гормонов и метаболитов, образцы печени и гипоталамуса

для оценки уровня экспрессии генов. Взятые образцы тканей немедленно помещали в жидкий азот и хранили при температуре -80°C до выделения РНК. Образцы крови для определения концентрации гормонов и метаболитов центрифугировали 10 мин при 4000 об/мин ($\text{RCF} = 1306\text{ g}$), полученную плазму хранили при -20°C до проведения биохимического анализа.

Энергетическая ценность (калорийность) компонентов диеты составляла: стандартный корм – 2.5 ккал/г, печень – 4.58 ккал/г, сало – 8.0 ккал/г. Количество энергии (ккал), потребленной с данным компонентом за время эксперимента, рассчитывали по формуле «количество съеденного за время эксперимента компонента диеты (г) $\times$ калорийность компонента (ккал/г)». Среднее суточное потребление энергии с данным компонентом диеты рассчитывали как количество калорий, потребленных с данным компонентом за время эксперимента/количество дней эксперимента. Среднее суточное потребление энергии рассчитывали как суммарное количество энергии (ккал), потребленной со всеми компонентами диеты/количество дней эксперимента.

Образцы печени для определения гликогена гомогенизировали в фосфатно-солевом буфере (ФСБ) и центрифугировали 5 мин при 13000 об/мин ($\text{RCF} = 13793\text{ g}$), супернатант хранили при -80°C до начала анализа. На каждый миллиграмм образца ткани печени брали 20 мкл буфера для гомогенизации. Образцы печени для оценки содержания в ней триглицеридов гомогенизировали в ФСБ (400 мкл буфера на 50 мг ткани) и центрифугировали дважды по 10 минут при 1000 об/мин ($\text{RCF} = 82\text{ g}$), полученный после второго центрифугирования супернатант хранили при температуре -20°C до определения.

Биохимические показатели плазмы крови. Концентрации инсулина, лептина, FGF21, кортикостерона, эстрадиола в плазме крови были измерены с помощью коммерческих наборов для иммуноферментного анализа Rat/Mouse Insulin ELISA Kit и Mouse Leptin ELISA Kit (EMD Millipore, St. Louis, MI, США), Mouse/Rat FGF-21 Quantikine ELISA Kit (R&D Systems, Minneapolis, США), Кортикостерон-ИФА (ООО Хема-Медика, Москва, Россия), Эстрадиол-ИФА (ООО Хема-Медика, Москва, Россия) соответственно. Концентрации глюкозы, общего холестерина, триглицеридов (в крови и в гомогенатах печени) были измерены с помощью коммерческих наборов для флуориметрического анализа Глюкоза-Ново, Холестерин-Ново, Триглицериды-Ново (Вектор-Бест, Новосибирск, Россия) соответственно.

Содержание гликогена в печени. Содержание гликогена в печени определяли ферментативным колориметрическим методом путем оценки концентрации глюкозы после гидролиза гликогена с помощью ферментов альфа-амилазы и глюкоамилазы (ферментные препараты АмилоЛюкс А и ГлюкоЛюкс А ООО ПО Сиббиофарм, Бердск, Россия). Содержание глюкозы в образцах измеряли с помощью коммерческого набора Глюкоза-Ново (Вектор-Бест, Новосибирск, Россия) согласно инструкции производителя.

Оценка активности экспрессии генов методом ОТ-ПЦР в реальном времени. Экспрессию генов 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, Москва, Россия) и олиго (dT) в качестве праймера. Для проведения ПЦР в реальном времени использовали праймеры и зонды TaqMan (Applied Biosystems, Foster City, California, США): fibroblast growth factor 21 (*Fgf21*, Mm00840165_g1), insulin receptor (*Insr*, Mm01211875_m1), insulin receptor substrate 2 (*Irs2*, Mm03038438_m1), glucose-6-phosphatase (*G6pc*, Mm00839363_m1), estrogen receptor 1 (*Esr1*, Mm00433149_m1), signal transducer and activator of transcription 3 (*Stat3*, Mm01219775_m1), corticotropin releasing

hormone (*Crh*, Mm01293920_s1), agouti related neuropeptide (*AgRP*, Mm00475829_g1), proopiomelanocortin (*Pomc*, Mm00435874_m1), leptin receptor (*Lepr*, Mm00440181_m1), klotho beta (*Klb*, Mm00473122_m1), protein-tyrosine phosphatase 1B (*Ptpn1*, Mm00448427_m1), G protein-coupled estrogen receptor 1 (*Gper*, Mm02620446_s1), beta-actin (*Actb*, Mm00607939_s1). В качестве эндогенного контроля использовали β -актин. Амплификацию последовательности и детекцию флуоресценции проводили на системе Real-time PCR Quant Studio 5 (Applied Biosystems, Foster City, California, США) согласно инструкции производителя. Относительную количественную оценку уровня мРНК данного гена в пробе производили методом $\Delta\Delta CT$.

Статистическая обработка полученных результатов. Для статистической обработки полученных данных использовали программный пакет STATISTICA 10.0 (StatSoft Россия, Москва, Россия). Результаты представлены в виде: среднее арифметическое $\pm$ стандартная ошибка среднего. Для оценки межгрупповых различий проводили попарные сравнения групповых средних с помощью *t*-критерия Стьюдента. Для анализа влияния овариэктомии и эстрадиола на изменение массы тела во время эксперимента использовали repeated measures ANOVA с факторами: “ЛО”, “ОЭ” и “день диеты”; “ЛО”, “ОЭ+E2” и “день диеты” или «ОЭ», «ОЭ+E2» и «день диеты». Во всех случаях различия считали достоверными при $p < 0.05$. Для оценки взаимосвязи между исследованными показателями проводили корреляционный анализ с применением коэффициента корреляции Пирсона.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Весовые показатели и потребление пищи

У самок всех экспериментальных групп, независимо от эстрогенного статуса, суточное потребление энергии было одинаковым как при содержании на стандартном корме, так и при содержании на диете (стандартный корм + сало + печенье) (рис. 1а). Однако овариэктомированные самки, получавшие только масло без эстрадиола (ОЭ), отличались от ложнооперированных (ЛО) самок по вкусовым предпочтениям: доля калорий, которую самки потребили со стандартным кормом за эксперимент (две недели диеты кафетерия), была одинаковой у самок всех экспериментальных групп, но доля калорий, которую ОЭ самки потребили с салом, была выше ($p < 0.05$), а доля калорий, которую ОЭ самки потребили с печеньем, была ниже ($p < 0.05$), чем данные показатели у ЛО самок (рис. 1б). Экзогенный эстрадиол не влиял на вкусовые предпочтения овариэктомированных самок: доля калорий, которую ОЭ самки, получавшие эстрадиол (ОЭ+E2), потребляли с печеньем и салом, не отличалась от данных показателей у ОЭ самок.

Масса тела во время эксперимента и прирост массы тела за время содержания на диете кафетерия у ОЭ самок был больше, чем у ЛО самок независимо от того, получали самки эстрадиол или растворитель ($p < 0.05$) (рис. 2а, б).

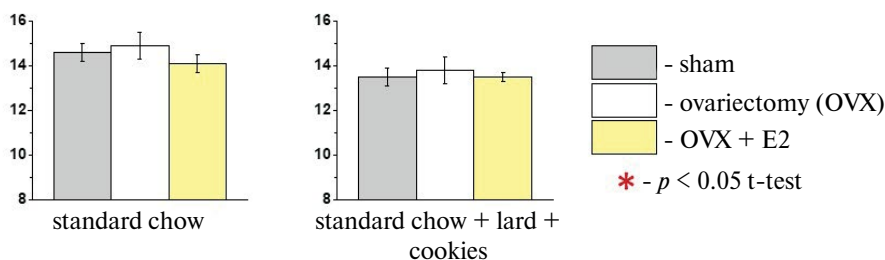
Овариэктомия не повлияла на массу печени, белого висцерального и бурого жира (рис. 3б, с, е). В то же время в конце эксперимента ОЭ самки (ОЭ и ОЭ+E2) отличались от ЛО самок большей массой тела ($p < 0.05$ – ОЭ+E2 самки по сравнению с ЛО самками) и подкожного белого жира ($p < 0.05$ – ОЭ самки и ОЭ+E2 самки по сравнению с ЛО самками) (рис. 3а, д), причем экзогенный эстрадиол не нормализовал данные показатели.

Биохимические показатели крови

Содержание триглицеридов и гликогена в печени

У самок всех экспериментальных групп, независимо от эстрогенного статуса, уровни в крови лептина, триглицеридов и инсулина, а также содержание триглицери-

(a) Energy consumption, kcal/day



(b) The share of energy consumed with the component per experiment, %

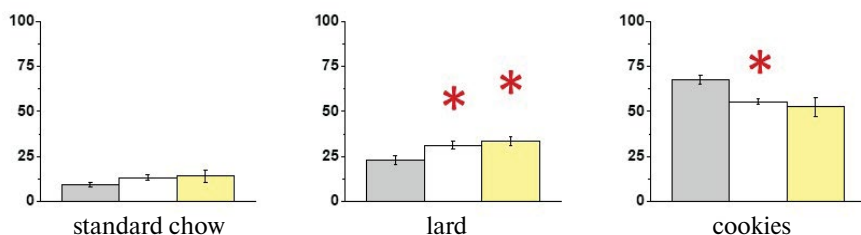


Рис. 1. Среднесуточное потребление энергии при содержании на стандартном корме и диете кафетерия (a) и доля энергии, потребленной с каждым компонентом диеты за время эксперимента, (b) у самок мышей линии C57Bl/6J. Самки были ложно оперированы или овариэктомированы, потребляли стандартный корм, сало и печенье (диета кафетерия), получали перорально раз в три дня в 16.00 – 16.30 эстрадиол (OVX+E2) в дозе 10 мкг/животное или только растворитель (sham и OVX). Эстрадиол начинали вводить за неделю до и вводили в течение двух недель содержания на диете кафетерия. * – $p < 0.05$ по сравнению с ложнооперированными самками (sham), t -test.

дов и гликогена в печени были одинаковыми (рис. 4a, c, d, g, i). У ОЭ самок уровень холестерина в крови был достоверно ниже, чем у ЛО самок ($p < 0.05$), тогда как экзогенный эстрадиол его нормализовал: уровень в крови холестерина у ОЭ+E2 самок не отличался от такового у ЛО самок (рис. 4b). Уровень в крови FGF21 у ОЭ самок был более чем в 2 раза выше, чем у ЛО самок, хотя различия не достигали уровня значимости, при этом экзогенный эстрадиол не оказал значимого влияния на уровень FGF21 в крови (рис. 4f). В то же время самки, получавшие эстрадиол (ОЭ+E2), отличались от ЛО самок сниженным уровнем в крови кортикостерона и глюкозы ($p < 0.05$ в обоих случаях) (рис. 4e, h).

Экспрессия генов в гипоталамусе

У самок, которых содержали на диете кафетерия две недели, экспрессия в гипоталамусе генов, участвующих в регуляции потребления пищи, а именно: рецепторов эстрадиола первого типа (*Esr1*), мембранных G-белок-связанных рецепторов эстрадиола (*Gper*), рецепторов лептина (*Lepr*) и инсулина (*Insr*), была одинаковой у животных всех экспериментальных групп (рис. 5a). Экспрессия генов нейропептидов, орексигенного белка родственного агуту (*Agrp*) и анорексигенного кортикотропин-рилизинг гормона (*Crh*) также не различалась у самок всех экспериментальных групп, тогда как экспрессия гена анорексигенного нейропептида проопиомеланокортина (*Pomc*) у овариэктомированных самок была повышена по сравнению с ЛО самками более чем в 2.5

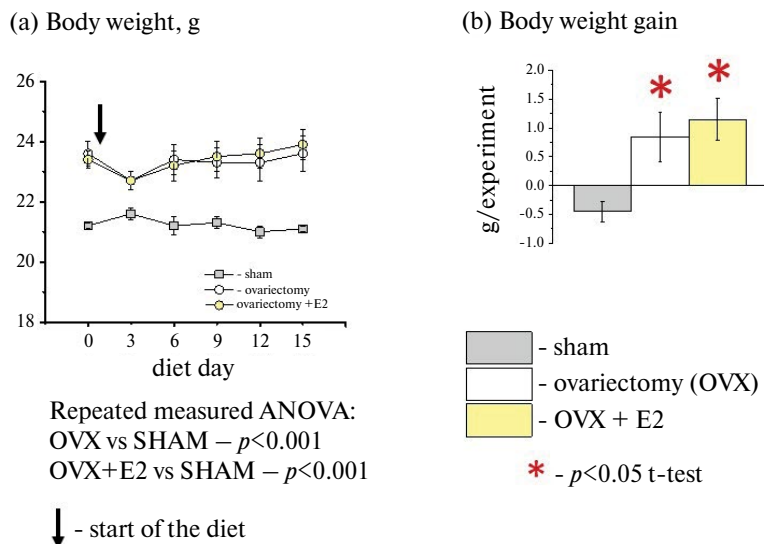


Рис. 2. Динамика массы тела (а) и прирост массы тела (б) за время содержания на диете кафетерия у самок мышей линии C57Bl/6J. Самки были ложно оперированы или овариэктомизированы, потребляли стандартный корм, сало и печень (диета кафетерия), получали перорально один раз в три дня в 16.00 – 16.30 эстрадиол (OVX+E2) в дозе 10 мкг/животное или только растворитель (sham и OVX). Эстрадиол начинали вводить за неделю до и вводили в течение двух недель содержания на диете кафетерия. * – $p < 0.05$ по сравнению с ложнооперированными самками (sham), t -test.

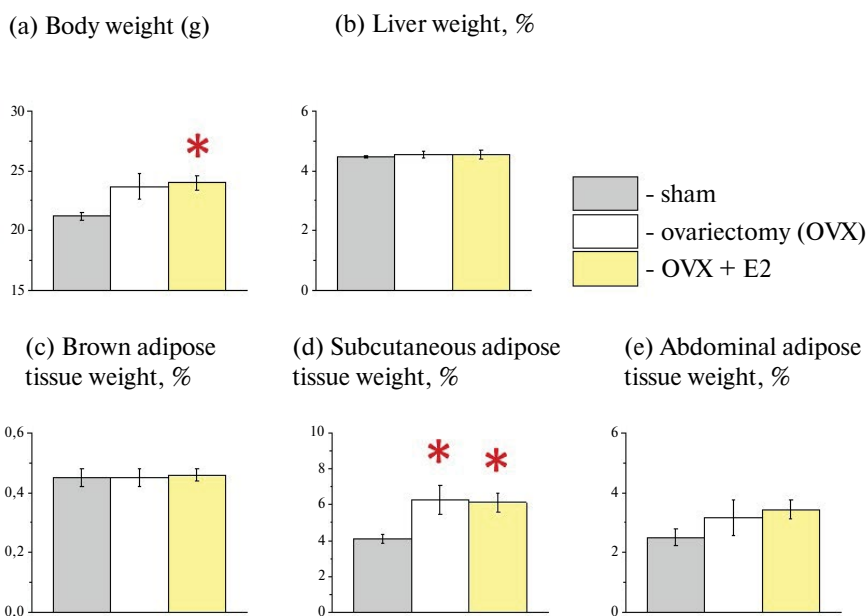


Рис. 3. Масса тела (а), индекс массы печени (б), бурого (с), белого подкожного (д) и висцерального (е) жира у самок мышей линии C57Bl/6J. Самки были ложно оперированы или овариэктомизированы, потребляли стандартный корм, сало и печень (диета кафетерия), получали перорально один раз в три дня в 16.00 – 16.30 эстрадиол (OVX+E2) в дозе 10 мкг/животное или только растворитель (sham и OVX). Эстрадиол начинали вводить за неделю до и вводили в течение двух недель содержания на диете кафетерия. * – $p < 0.05$ по сравнению с ложнооперированными самками (sham), t -test.

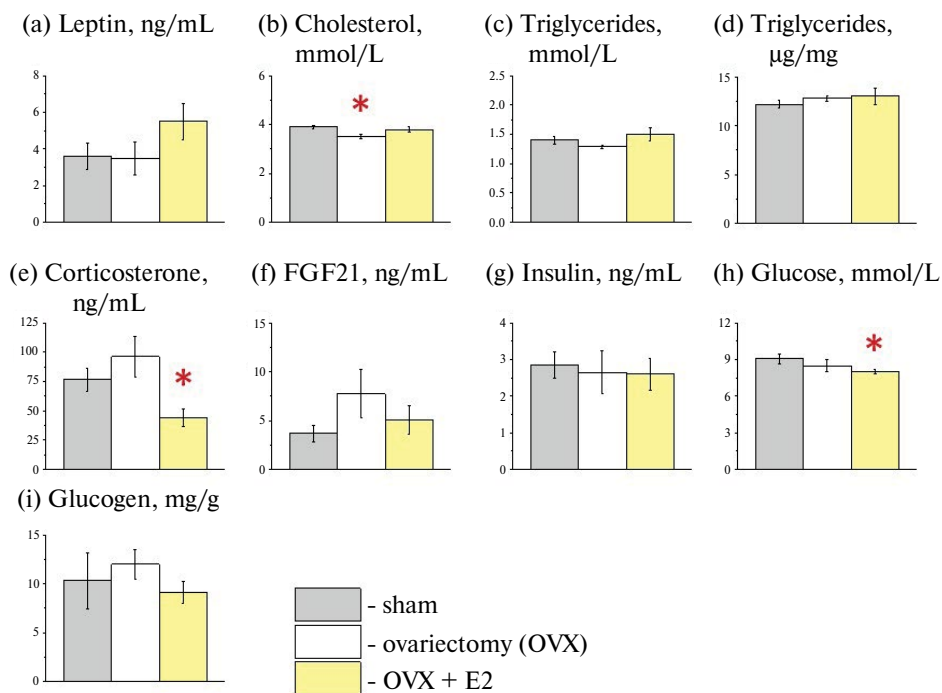


Рис. 4. Уровни в крови лептина (а), холестерина (б), триглицеридов (с), кортикостерона (е), FGF21 (ф), инсулина (г) и глюкозы (h), содержание триглицеридов (d) и гликогена (i) в печени у самок мышей линии C57Bl/6J. Самки были ложно оперированы или овариэктомированы, потребляли стандартный корм, сало и печень (диета кафетерия), получали перорально один раз в три дня в 16.00 – 16.30 эстрадиол (OVX+E2) в дозе 10 мкг/животное или только растворитель (sham и OVX). Эстрадиол начинали вводить за неделю до и вводили в течение двух недель содержания на диете кафетерия. * – $p < 0.05$ по сравнению с ложнооперированными самками (sham), t -test.

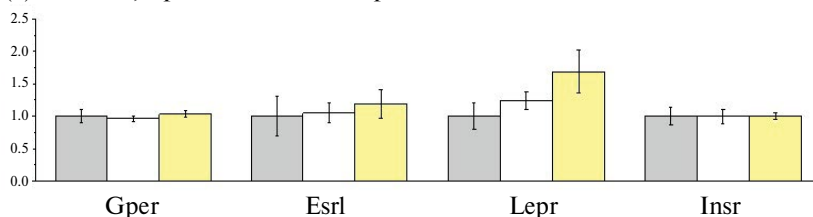
раза, причем эстрадиол не влиял на его экспрессию ($p < 0.05$, ОЭ+Е2 самки по сравнению с ЛО самками) (рис. 5б).

Эстрогенный статус самки влиял на систему FGF21 в гипоталамусе, а именно на сигналинг FGF21. У ОЭ самок активность экспрессии гена корцептора бета-клото (*Klb*), белковый продукт которого необходим для проведения сигнала FGF21, была ниже, чем у ложнооперированных: у ОЭ самок уровень мРНК *Klb* был в семь раз ниже, чем у ЛО самок ($p < 0.05$) (рис. 5с). Экзогенный эстрадиол повышал экспрессию *Klb*, и у ОЭ+Е2 самок уровень мРНК *Klb* был в три раза выше, чем у ОЭ самок, получавших масло ($p < 0.05$).

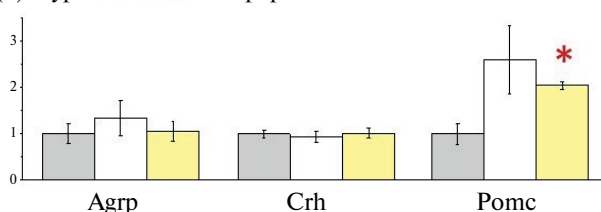
Экспрессия генов в печени

Овариэктомия сопровождалась снижением уровня экспрессии рецепторов эстрадиола в печени: уровень мРНК гена мембранного рецептора эстрадиола (*Gper*) был в три раза ниже, чем у ЛО самок ($p < 0.05$), уровень мРНК гена рецептора эстрадиола первого типа (*Esr1*) был снижен почти в два раза, но изменения не достигали уровня значимости (рис. 6а). Эстрадиол частично восстанавливал экспрессию мембранного рецептора, но не влиял на экспрессию рецептора эстрадиола первого типа: у ОЭ+Е2 самок уровень мРНК *Gper* был выше, чем у ОЭ самок, и не отличался от такового у ЛО самок, уровень мРНК *Esr1* был одинаковым у ОЭ и ОЭ+Е2 са-

(a) Estradiol, leptin and insulin receptors



(b) Hypothalamic neuropeptides



(c) Coreceptor beta-klotho

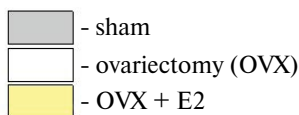
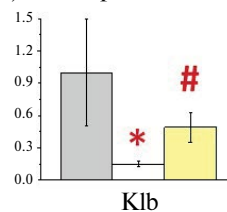


Рис. 5. Уровни мРНК генов рецепторов эстрадиола (*Gper*, *Esr1*), лептина (*Lepr*), инсулина (*Insr*) (a), нейропептидов (*Agrp*, *Crh*, *Pomc*) (b) и корецептора бета-клоото (*Klb*) (c) в гипоталамусе самок мышей линии C57Bl/6J. Самки были ложно оперированы или овариэктомированы, потребляли стандартный корм, сало и печень (диета кафетерия), получали перорально один раз в три дня в 16.00 – 16.30 эстрадиол (OVX+E2) в дозе 10 мкг/животное или только растворитель (sham и OVX). Эстрадиол начинали вводить за неделю до и вводили в течение двух недель содержания на диете кафетерия. * – $p < 0.05$ по сравнению с ложнооперированными самками (sham), # – $p < 0.05$ по сравнению с овариэктомированными (OVX), *t*-test.

мок. У самок всех экспериментальных групп экспрессия генов, участвующих в передаче и модулировании сигнала инсулина, а именно: рецептора инсулина (*Insr*), субстрата рецептора инсулина 2 (*Irs2*), транскрипционного фактора STAT3 (*Stat3*) и ингибитора рецептора инсулина – протеинфосфотирозинфосфатазы 1B (*Ptpn1*), была одинаковой (рис. 6a, c).

Эстрогенный статус самки влиял на систему FGF21 в печени. У ОЭ самок активность экспрессии гена корецептора бета-клоото (*Klb*), как и в гипоталамусе, была ниже, чем у ЛО самок ($p < 0.05$) (рис. 6b). Экзогенный эстрадиол нормализовал экспрессию *Klb*, и у ОЭ+E2 самок уровень мРНК *Klb* не отличался от такового у ЛО самок. Достоверных различий по уровню экспрессии в печени фактора роста фибробластов 21 (*Fgf21*) между экспериментальными группами не было обнаружено, хотя уровень мРНК *Fgf21* у овариэктомированных самок, независимо от того, получали они эстрадиол или масло, был выше, чем у ЛО самок более чем в 2 раза.

Помимо системы FGF21, эстрогенный статус самки влиял на уровень экспрессии в печени гена глюкоза-6-фосфатазы (*G6pc*): у ОЭ самок уровень мРНК *G6pc* был ниже, чем у ЛО самок (рис. 6c). Экзогенный эстрадиол нормализовал экспрессию *G6pc*, и у ОЭ+E2 самок уровень мРНК *G6pc* не отличался от такового у ЛО самок. Наряду с этим мы обнаружили достоверную отрицательную корреляцию между уровнем мРНК *G6pc* и уровнем FGF21 в плазме крови ($r = -0.55$, $p < 0.05$).

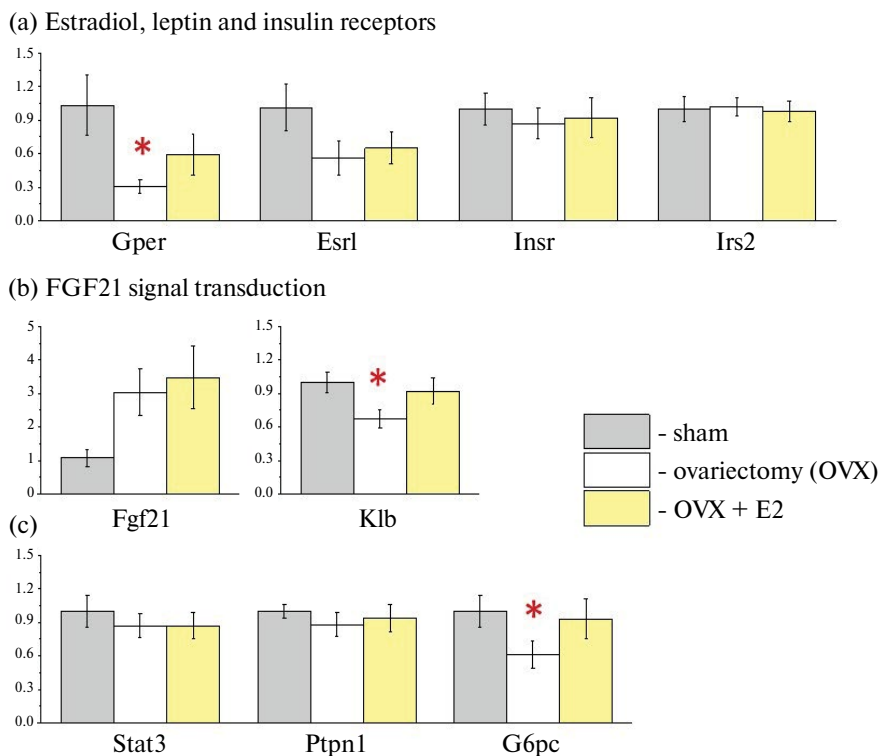


Рис. 6. Уровни мРНК генов рецепторов эстрадиола (*Gper*, *Esr1*), трансдукции сигнала инсулина (*Insr*, *Irs2*) (а), трансдукции сигнала FGF21 (*Fgf21*, *Klb*) (б), транскрипционного фактора STAT3 (*Stat3*), протенинфосфотирозинфосфатазы 1В (*Ptpn1*) и глюкоза-6-фосфатазы (*G6pc*) в печени у самок мышей линии C57Bl/6J. Самки были ложно оперированы или овариэктомированы, потребляли стандартный корм, сало и печень (диета кафетерия), получали перорально один раз в три дня в 16.00 – 16.30 эстрадиол (OVX+E2) в дозе 10 мкг/животное или только растворитель (sham и OVX). Эстрадиол начинали вводить за неделю до и вводили в течение двух недель содержания на диете кафетерия. * – $p < 0.05$ по сравнению с ложнооперированными самками (sham), *t*-test.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Увеличение доли жиров и углеводов в потребляемой пище повышает ее калорийность. Пути адаптации к высококалорийной пище включают снижение ее потребления, повышение расхода энергии, запасание излишне потребленных калорий в виде жира. К факторам, влияющим на выбор пути адаптации, относятся, в том числе тип диеты и пол животного [4, 27]. Задачей нашего исследования было оценить роль эстрадиола на ранних этапах адаптации к диете кафетерия.

Благотворное влияние эстрадиола на углеводно-жировой обмен при ожирении хорошо известно: он снижает потребление пищи, массу тела, повышает чувствительность к инсулину [28–31]. С этим хорошо согласуются полученные нами данные о том, что накопление жировой массы и увеличение массы тела при содержании в течение двух недель на диете кафетерия было менее выражено у ЛО самок с нормальным уровнем эстрадиола по сравнению с ОЭ самками с недостаточностью эстрадиола. При этом самки не различались по количеству потребленной энергии. В совокупности эти результаты (ОЭ и ЛО самки потребляли одинаковое количество энергии, но ОЭ самки имели большую массу тела и жировой ткани) дают основание предположить снижение

расхода энергии у ОЭ самок по сравнению с ЛО самками. Кроме того, ОЭ и ЛО самки различались по вкусовым предпочтениям (ОЭ самки потребляли печенья меньше, а сала больше, чем ЛО самки), и это не было связано с различиями в чувствительности гипоталамуса к факторам, регулирующим потребление пищи: овариэктомия не повлияла на экспрессию в гипоталамусе генов рецепторов лептина, инсулина и эстрадиола. В то же время ОЭ самки отличались от ЛО самок более высоким уровнем мРНК *Pomc*. ПОМК является анорексигенным нейропептидом, однако на ранних этапах адаптации к потреблению сладкой и жирной пищи изменение вкусовых предпочтений, в том числе уменьшение потребления печенья ОЭ самками, по-видимому, не связано с активацией его экспрессии в гипоталамусе, поскольку мы не обнаружили корреляции между уровнем мРНК *Pomc* и долей энергии, потребленной с печеньем за время содержания на диете. Тем не менее активация экспрессии гипоталамического анорексигенного фактора, возможно, является компенсаторным ответом на снижение расхода энергии у ОЭ самок и может способствовать сохранению массы тела при более длительном содержании на диете.

У животных с ожирением важными антидиабетогенными эффектами эстрадиола являются повышение чувствительности к инсулину, подавление глюконеогенеза и продукции глюкозы в печени, снижение уровня в крови глюкозы и холестерина. Ключевым ферментом глюконеогенеза является глюкоза-6-фосфатаза – повышение ее уровня сопряжено с увеличением уровня глюкозы в крови. Показано, что у самок мышей с ожирением, вызванным содержанием на диете с высоким содержанием жиров, эстрадиол подавляет экспрессию в печени гена глюкоза-6-фосфатазы (*G6pc*) [32]. В нашем эксперименте уровень холестерина в крови и активность экспрессии глюкоза-6-фосфатазы действительно зависели от эстрогенного статуса, однако снижение этих показателей было ассоциировано с недостаточностью эстрадиола – уровень холестерина в крови и мРНК *G6pc* в печени были ниже у ОЭ самок по сравнению с ЛО самками. В чем причина данного феномена? Известно, что введение FGF21 животным с ожирением приводит к снижению у них уровня глюкозы и холестерина в крови [33–35]. Поэтому мы предполагаем, что при содержании на диете кафетерия сниженный уровень холестерина в крови и мРНК *G6pc* в печени у ОЭ самок по сравнению с ЛО самками объясняются более высокой активностью системы FGF21 у ОЭ самок. В пользу данного предположения говорит обнаруженная тенденция к повышению уровня FGF21 в крови у ОЭ самок по сравнению с ЛО самками и отрицательная корреляция уровня мРНК *G6pc* в печени и уровня FGF21 в крови.

Как бы ни изменялись экспрессия *G6pc* в печени и уровень FGF21 в крови, уровень глюкозы в крови был минимальным у ОЭ самок, которые получали эстрадиол (ОЭ+E2). Животных декапитировали в сытом состоянии, поэтому уровень глюкозы в крови зависел не только от ее продукции в печени, но и от ее метаболизма в жировой и мышечной тканях, в том числе от уровня в крови кортикостерона, который способствует выходу глюкозы из периферических тканей, тем самым повышая ее уровень в крови. ОЭ+E2 самки отличались от животных других экспериментальных групп, помимо глюкозы, сниженным уровнем кортикостерона в крови, и мы предполагаем, что это связано со способностью эстрадиола уменьшать тревожное и депрессивноподобное поведение у мышей [36], а значит, уменьшать стресс, вызванный процедурой введения гормона. Таким образом, низкий уровень глюкозы в крови у ОЭ+E2 самок, возможно, обусловлен низким уровнем их стрессированности и низким уровнем кортикостерона в крови.

Показано, что у животных без ожирения, потреблявших стандартный корм, эстрадиол активирует систему FGF21: в ходе эстрального цикла изменение уровня FGF21 в крови коррелирует с уровнем эндогенного эстрадиола в крови [24], а экзогенный эстрадиол при фармакологическом введении повышает экспрессию *Fgf21* в печени и уровень FGF21 в крови [25]. Заметим, однако, что у животных без ожирения, кото-

рые потребляют стандартный корм, активность системы FGF21 очень низкая. Потребление сладкой и жирной пищи активирует систему FGF21, повышает уровень FGF21 в крови в сотни раз [13], при этом эстрогенный статус, по-видимому, тоже влияет на активность системы FGF21, но это влияние отличается от такового у животных без ожирения. В нашем эксперименте самки всех экспериментальных групп потребляли сладкую и жирную пищу, при этом более высокий уровень экспрессии *Fgf21* в печени и более высокий уровень гормона в крови мы наблюдали у самок с недостаточностью эстрадиола, у ОЭ самок. Это наблюдение хорошо согласуется с данными, полученными нами ранее, о половых различиях активности системы FGF21 у животных с ожирением при длительном потреблении сладкой и жирной пищи: у самцов экспрессия *Fgf21* в печени, в бурой жировой ткани и уровень FGF21 в крови были выше, чем те же показатели у самок [4, 13].

Таким образом, данные о влиянии овариэктомии на экспрессию в печени и уровень FGF21 в крови наводят на мысль о том, что эстрадиол, возможно, подавляет активность системы FGF21. Однако экзогенный эстрадиол оказался не способен предотвратить влияние овариэктомии на массу тела, массу жира, на вкусовые предпочтения и в том числе на экспрессию *Fgf21* в печени. Отсутствие эффекта эстрадиола на экспрессию *Fgf21* в печени может быть следствием снижения в печени у ОЭ самок уровня рецепторов эстрадиола, мембранных (*Gper*) и ядерных (*Esr1*). Кроме того, отсутствие эффектов экзогенного гормона может объясняться тем, что ряд своих эффектов эстрадиол оказывает только при совместном введении с прогестероном. Например, клетки вкусовых рецепторов являются прямой мишенью эстрадиола [37], но для зависимого от пола выбора рациона питания (female specific diet choice patterns) необходимо действие обоих гормонов (эстрадиола и прогестерона) одновременно [38]. Прогестерон также может способствовать влиянию эстрадиола на экспрессию генов, например, низкие дозы эстрадиола не влияют на экспрессию гена транспортера глюкозы четвертого типа (инсулин-регулируемый транспортер глюкозы, *GLUT4/Slc2a4*) в жировой ткани, тогда как высокие дозы эстрадиола ее подавляют, и прогестерон усиливает его эффект [39]. Помимо этого, отсутствие эффектов эстрадиола может быть обусловлено особенностями экспериментальной модели и выбранной дозой эстрадиола (мы стремились, чтобы доза гормона была физиологичной).

Каков может быть смысл в меньшей активации системы FGF21 у животных с нормальным уровнем эстрадиола при адаптации к потреблению сладкой и жирной пищи? Возможно, у животных с нормальным уровнем эстрадиола, который оказывает нормализующее влияние на углеводно-жировой обмен, адаптация к высококалорийной диете не требует дополнительной активации системы FGF21, тогда как при снижении уровня эстрадиола ее активность компенсаторно возрастает.

Помимо экспрессии в печени и уровня гормона в крови, активность системы FGF21 определяется чувствительностью органов и тканей к действию FGF21, а именно количеством рецепторов (FGFR1) и корецепторов бета-клото (KLB). Еще Fisher и соавт. высказали предположение, что ожирение является состоянием резистентности к действию FGF21 [40], а Hale и соавт. предложили считать ожирение не состоянием полной резистентности к FGF21, а скорее состоянием сниженной чувствительности к FGF21 [41]. Позднее было показано, что гиперэкспрессия корецепторов бета-клото в жировой ткани повышает чувствительность самцов мышей к эндогенному FGF21 и обеспечивает защиту от ожирения, вызванного диетой [42]. Мы обнаружили, что овариэктомия и эстрадиол повлияли на экспрессию корецепторов бета-клото (*Klb*) и в печени, и в гипоталамусе, причем в обоих случаях изменение экспрессии свидетельствовало о стимулирующем влиянии эстрадиола: состояние, характеризующееся недостаточностью эстрадиола, было ассоциировано со сниженным уровнем мРНК *Klb* в гипоталамусе и в печени, тогда как ЛО самки, имеющие нормальный уровень эстрадиола, и ОЭ самки, получавшие эстрадиол, имели одина-

ковый и более высокий, чем у ОЭ самок, уровень мРНК *Klb*. Эта способность эстрадиола повышать уровень *Klb* в печени и в гипоталамусе у самок во время адаптации к содержанию на диете кафетерия на фоне диет-индуцированной активации системы FGF21 отчасти согласуется с данными, полученными нами ранее о том, что у ОЭ самок с ожирением, индуцированным потреблением сладкой и жирной пищи в течение 8 недель, эстрадиол повышает уровень *Klb* в гипоталамусе, причем его эффект существенно более выражен на фоне высокого уровня FGF21 – при совместном введении эстрадиола и FGF21 [26]. Повышение уровня корецепторов бета-клото способствует сенсбилизации тканей к действию FGF21. Следовательно, при адаптации к диете кафетерия эстрадиол может повышать чувствительность к FGF21 в печени и в гипоталамусе. Показано, что центральные эффекты FGF21 опосредуют его влияние на вкусовые предпочтения и углеводный метаболизм в печени [20, 43, 44]. Может ли FGF21 оказывать эффекты непосредственно в печени, единого мнения нет [19, 45], поскольку в норме экспрессия рецептора FGFR1 в печени очень низкая [46]. В печени высокий уровень экспрессии FGFR4, который также способен связываться с FGF21 и с корецептором бета-клото, но аффинность связывания FGF21 и FGFR4 очень низкая [19]. Однако влияние FGF21 в печени, возможно, усиливается в условиях метаболического стресса и многократного увеличения уровня FGF21 в крови. Кроме того, комплекс KLB-FGFR4 опосредует в печени эффекты другого фактора роста фибробластов – FGF15 (ортолог FGF19 у человека), который, как и FGF21, является гормоном, принадлежит к тому же семейству, постпрандиально продуцируется в подвздошной кишке и регулирует метаболизм желчных кислот и глюкозы в печени [20, 47].

Таким образом, при адаптации к содержанию на диете кафетерия эстрогенный статус самки, по-видимому, может влиять на чувствительность печени и гипоталамуса к действию FGF21: в условиях резкого повышения уровня FGF21 в крови, стимулированного потреблением сладкой и жирной пищи, эстрадиол активирует экспрессию корецептора бета-клото, тем самым препятствуя развитию резистентности к FGF21, повышая устойчивость к пролонгированному действию диеты.

ВКЛАДЫ АВТОРОВ

Т. В. Я. – планирование и проведение эксперимента, иммуноферментный анализ показателей крови, обработка данных, написание статьи, А. Ю. К. – RT-ПЦР, К. Ю. М. – флуориметрический анализ показателей крови, определение содержания триглицеридов и гликогена в печени, Н. М. Б. – идея эксперимента, анализ данных.

ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Данная работа финансировалась за счет средств Российского научного фонда (проект № 23-15-00093). Никаких дополнительных грантов на проведение или руководство данным конкретным исследованием получено не было.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Эксперименты с животными проводились в соответствии с международными рекомендациями по проведению биомедицинских исследований с лабораторными животными и были одобрены Комиссией по этике Института цитологии и генетики СО РАН, протокол № 76 от 07.04.2021 г. «Поло-возрастные особенности адаптации к потреблению высокого уровня жиров и углеводов у мышей линии c57BL».

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы данной работы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Gadde KM, Martin CK, Berthoud HR, Heymsfield SB* (2018) Obesity: Pathophysiology and Management. *J Am Coll Cardiol* 71(1): 69–84.
<https://doi.org/10.1016/j.jacc.2017.11.011>
2. *Bruder-Nascimento T, Ekeledo OJ, Anderson R, Le HB, Belin de Chantemèle EJ* (2017) Long Term High Fat Diet Treatment: An Appropriate Approach to Study the Sex-Specificity of the Autonomic and Cardiovascular Responses to Obesity in Mice. *Front Physiol* 8: 32.
<https://doi.org/10.3389/fphys.2017.00032>
3. *Hwang LL, Wang CH, Li TL, Chang SD, Lin LC, Chen CP, Chen CT, Liang KC, Ho IK, Yang WS, Chiou LC* (2010) Sex differences in high-fat diet-induced obesity, metabolic alterations and learning, and synaptic plasticity deficits in mice. *Obesity (Silver Spring)* 18(3): 463–469.
<https://doi.org/10.1038/oby.2009.273>
4. *Bazhan NM, Yakovleva TV, Dubinina AD, Makarova EN* (2020) Impact of sex on the adaptation of adult mice to long consumption of sweet-fat diet. *Vavilov Zhurn Genet Selekt* 24(8): 844–852.
<https://doi.org/10.18699/VJ20.682>
5. *Tramunt B, Smati S, Grandgeorge N, Lenfant F, Arnal JF, Montagner A, Gourdy P* (2020) Sex differences in metabolic regulation and diabetes susceptibility. *Diabetologia* 63(3): 453–461.
<https://doi.org/10.1007/s00125-019-05040-3>
6. *Freire-Regatillo A, Fernández-Gómez MJ, Díaz F, Barrios V, Sánchez-Jabonero I, Frago LM, Argente J, García-Segura LM, Chowen JA* (2020) Sex differences in the peripubertal response to a short-term, high-fat diet intake. *J Neuroendocrinol* 32(1): e12756.
<https://doi.org/10.1111/jne.12756>
7. *Huang KP, Ronveaux CC, Knotts TA, Rutkowski JR, Ramsey JJ, Raybould HE* (2020) Sex differences in response to short-term high fat diet in mice. *Physiol Behav* 221: 112894.
<https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2020.112894>
8. *Nishimura T, Nakatake Y, Konishi M, Itoh N* (2000) Identification of a novel FGF, FGF-21, preferentially expressed in the liver. *Biochim Biophys Acta* 1492(1): 203.
[https://doi.org/10.1016/S0167-4781\(00\)00067-1](https://doi.org/10.1016/S0167-4781(00)00067-1)
9. *Zhang P, Kuang H, He Y, Idiga SO, Li S, Chen Z, Yang Z, Cai X, Zhang K, Potthoff MJ, Xu Y, Lin JD* (2018) NRG1-Fc improves metabolic health via dual hepatic and central action. *JCI Insight* 3(5): e98522.
<https://doi.org/10.1172/jci.insight.98522>
10. *Fon Tacer K, Bookout AL, Ding X, Kurosu H, John GB, Wang L, Goetz R, Mohammadi M, Kuroo M, Mangelsdorf DJ, Kliewer SA* (2010) Research resource: Comprehensive expression atlas of the fibroblast growth factor system in adult mouse. *Mol Endocrinol* 24(10): 2050.
<https://doi.org/10.1210/me.2010-0142>
11. *Johnson CL, Weston JY, Chadi SA, Fazio EN, Huff MW, Kharitononkov A, Köester A, Pin CL* (2009) Fibroblast growth factor 21 reduces the severity of cerulein-induced pancreatitis in mice. *Gastroenterology* 137(5): 1795–1804.
<https://doi.org/10.1053/j.gastro.2009.07.064>
12. *Patel V, Adya R, Chen J, Ramanjaneya M, Bari MF, Bhudia SK, Hillhouse EW, Tan BK, Rande-va HS* (2014) Novel insights into the cardio-protective effects of FGF21 in lean and obese rat hearts. *PLoS One* 9(2): e87102.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0087102>
13. *Bazhan N, Yakovleva T, Balyibina N, Dubinina A, Denisova E, Feofanova N, Makarova E* (2019) Sex Dimorphism in the Fgf21 Gene Expression in Liver and Adipose Tissues is Dependent on the Metabolic Condition. *Online J Biol Sci* 19(1): 28–36.
14. *Kharitononkov A, Shiyanova TL, Koester A, Ford AM, Micanovic R, Galbreath EJ, Sandusky GE, Hammond LJ, Moyers JS, Owens RA, Gromada J, Brozinick JT, Hawkins ED, Wroblewski VJ, Li DS, Mehrbod F, Jaskunas SR, Shanafelt AB* (2005) FGF-21 as a novel metabolic regulator. *J Clin Invest* 115(6): 1627–1635.
<https://doi.org/10.1172/JCI23606>
15. *Kurosu H, Choi M, Ogawa Y, Dickson AS, Goetz R, Eliseenkova AV, Mohammadi M, Rosenblatt KP, Kliewer SA, Kuro-o M* (2007) Tissue-specific expression of betaKlotho and fibroblast growth factor (FGF) receptor isoforms determines metabolic activity of FGF19 and FGF21. *J Biol Chem* 282(37): 26687.
<https://doi.org/10.1074/jbc.M704165200>
16. *Suzuki M, Uehara Y, Motomura-Matsuzaka K, Oki J, Koyama Y, Kimura M, Asada M, Komi-Kuramochi A, Oka S, Imamura T* (2008) betaKlotho is required for fibroblast growth factor (FGF) 21 signaling through FGF receptor (FGFR) 1c and FGFR3c. *Mol Endocrinol* 22(4): 1006.
<https://doi.org/10.1210/me.2007-0313>

17. Bookout AL, de Groot MH, Owen BM, Lee S, Gautron L, Lawrence HL, Ding X, Elmquist JK, Takahashi JS, Mangelsdorf DJ, Kliewer SA (2013) FGF21 regulates metabolism and circadian behavior by acting on the nervous system. *Nat Med* 19(9): 1147.
<https://doi.org/10.1038/nm.3249>
18. Jensen-Cody SO, Flippo KH, Claffin KE, Yavuz Y, Sapouckey SA, Walters GC, Usachev YM, Atasoy D, Gillum MP, Potthoff MJ (2020) FGF21 Signals to Glutamatergic Neurons in the Ventromedial Hypothalamus to Suppress Carbohydrate Intake. *Cell Metab* 32(2): 273–286.e6.
<https://doi.org/10.1016/j.cmet.2020.06.008>
19. Yang ZH, Miyahara H, Takeo J, Katayama M (2012) Diet high in fat and sucrose induces rapid onset of obesity-related metabolic syndrome partly through rapid response of genes involved in lipogenesis, insulin signalling and inflammation in mice. *Diabetol Metab Syndr* 4(1): 32.
<https://doi.org/10.1186/1758-5996-4-32>
20. Lan T, Morgan DA, Rahmouni K, Sonoda J, Fu X, Burgess SC, Holland WL, Kliewer SA, Mangelsdorf DJ (2017) FGF19, FGF21, and an FGFR1/ β -Klotho-Activating Antibody Act on the Nervous System to Regulate Body Weight and Glycemia. *Cell Metab* 26(5): 709–718.e3.
<https://doi.org/10.1016/j.cmet.2017.09.005>
21. Coskun T, Bina HA, Schneider MA, Dunbar JD, Hu CC, Chen Y, Moller DE, Kharitonov A (2008) Fibroblast growth factor 21 corrects obesity in mice. *Endocrinology* 149(12): 6018–6027.
<https://doi.org/10.1210/en.2008-0816>
22. Larson KR, Chaffin AT, Goodson ML, Fang Y, Ryan KK (2019) Fibroblast Growth Factor-21 Controls Dietary Protein Intake in Male Mice. *Endocrinology* 160(5): 1069–1080.
<https://doi.org/10.1210/en.2018-01056>
23. Von Holstein-Rathlou S, Gillum MP (2019) Fibroblast growth factor 21: an endocrine inhibitor of sugar and alcohol appetite. *J Physiol* 597(14): 3539–3548.
<https://doi.org/10.1113/JP277117>
24. 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 (2018) Identification of hepatic fibroblast growth factor 21 as a mediator in 17 β -estradiol-induced white adipose tissue browning. *FASEB J* 32(10): 5602–5611.
<https://doi.org/10.1096/fj.201800240R>
25. Allard C, Bonnet F, Xu B, Coons L, Albarado D, Hill C, Fagherazzi G, Korach KS, Levin ER, Lefante J, Morrison C, Mauvais-Jarvis F (2019) Activation of hepatic estrogen receptor- α increases energy expenditure by stimulating the production of fibroblast growth factor 21 in female mice. *Mol Metab* 22: 62–70.
<https://doi.org/10.1016/j.molmet.2019.02.002>
26. Jakovleva TV, Kazantseva AY, Dubinina AD, Balybina NY, Baranov KO, Makarova EN, Bazhan NM (2022) Estradiol-dependent and independent effects of FGF21 in obese female mice. *Vavilov Zhurn Genet Selekt* 26(2): 159–168.
<https://doi.org/10.18699/VJGB-22-20>
27. Sampey BP, Vanhoose AM, Winfield HM, Freemerman AJ, Muehlbauer MJ, Fueger PT, Newgard CB, Makowski L (2011) Cafeteria diet is a robust model of human metabolic syndrome with liver and adipose inflammation: comparison to high-fat diet. *Obesity* (Silver Spring, Md.) 19(6): 1109–1117.
<https://doi.org/10.1038/oby.2011.18>
28. Gao H, Bryzgalova G, Hedman E, Khan A, Efendic S, Gustafsson JA, Dahlman-Wright K (2006) 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* 20(6): 1287–1299.
<https://doi.org/10.1210/me.2006-0012>
29. Thammacharoen S, Geary N, Lutz TA, Ogawa S, Asarian L (2009) 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* 1268: 88–96.
<https://doi.org/10.1016/j.brainres.2009.02.067>
30. Kim JY, Jo KJ, Kim OS, Kim BJ, Kang DW, Lee KH, Baik HW, Han MS, Lee SK (2010) Parenteral 17 β -estradiol decreases fasting blood glucose levels in non-obese mice with short-term ovariectomy. *Life Sci* 87(11-12): 358–366.
<https://doi.org/10.1016/j.lfs.2010.07.009>
31. Roesch SL, Styer AM, Wood GC, Kosak Z, Seiler J, Benotti P, Petrick AT, Gabrielsen J, Strodel WE, Gerhard GS, Still CD, Argyropoulos G (2015) Perturbations of fibroblast growth factors 19 and 21 in type 2 diabetes. *PloS One* 10(2): e0116928.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0116928>

32. *Bryzgalova G, Lundholm L, Portwood N, Gustafsson JA, Khan A, Efendic S, Dahlman-Wright K* (2008) Mechanisms of antidiabetogenic and body weight-lowering effects of estrogen in high-fat diet-fed mice. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 295(4): E904–E912.
<https://doi.org/10.1152/ajpendo.90248.2008>
33. *Fisher FM, Maratos-Flier E* (2016) Understanding the Physiology of FGF21. *Annu Rev Physiol* 78: 223–241.
<https://doi.org/10.1146/annurev-physiol-021115-105339>
34. *Makarova E, Kazantseva A, Dubinina A, et al.* (2021) 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* 22(19): 10561.
<https://doi.org/10.3390/ijms221910561>
35. *Liu C, Schönke M, Zhou E, Li Z, Kooijman S, Boon MR, Larsson M, Wallenius K, Dekker N, Barlind L, Peng XR, Wang Y, Rensen PCN* (2022) Pharmacological treatment with FGF21 strongly improves plasma cholesterol metabolism to reduce atherosclerosis. *Cardiovasc Res* 118(2): 489–502.
<https://doi.org/10.1093/cvr/cvab076>
36. *Walf AA, Frye CA* (2010) Estradiol reduces anxiety- and depression-like behavior of aged female mice. *Physiol Behav* 99(2): 169–174.
<https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2009.09.017>
37. *Dahir NS, Calder AN, McKinley BJ, Liu Y, Gilbertson TA* (2021) Sex differences in fat taste responsiveness are modulated by estradiol. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 320(3): E566–E580.
<https://doi.org/10.1152/ajpendo.00331.2020>
38. *Yang TY, Liang NC* (2018) Ovarian hormones mediate running-induced changes in high fat diet choice patterns in female rats. *Horm Behav* 100: 81–93.
<https://doi.org/10.1016/j.yhbeh.2018.02.010>
39. *Sugaya A, Sugiyama T, Yanase S, Shen XX, Minoura H, Toyoda N* (2000) Expression of glucose transporter 4 mRNA in adipose tissue and skeletal muscle of ovariectomized rats treated with sex steroid hormones. *Life Sci* 66(7): 641–648.
[https://doi.org/10.1016/s0024-3205\(99\)00636-0](https://doi.org/10.1016/s0024-3205(99)00636-0)
40. *Fisher FM, Chui PC, Antonellis PJ, Bina HA, Kharitonov A, Flier JS, Maratos-Flier E* (2010) Obesity is a fibroblast growth factor 21 (FGF21)-resistant state. *Diabetes* 59(11): 2781–2789.
<https://doi.org/10.2337/db10-0193>
41. *Hale C, Chen MM, Stanislaus S, Chinookoswong N, Hager T, Wang M, Véniant MM, Xu J* (2012) Lack of overt FGF21 resistance in two mouse models of obesity and insulin resistance. *Endocrinology* 153(1): 69–80.
<https://doi.org/10.1210/en.2010-1262>
42. *Samms RJ, Cheng CC, Kharitonov A, Gimeno RE, Adams AC* (2016) Overexpression of β -Klotho in Adipose Tissue Sensitizes Male Mice to Endogenous FGF21 and Provides Protection From Diet-Induced Obesity. *Endocrinology* 157(4): 1467–1480.
<https://doi.org/10.1210/en.2015-1722>
43. *Santoso P, Nakata M, Shiizaki K, Boyang Z, Parmila K, Otgon-Uul Z, Hashimoto K, Satoh T, Mori M, Kuro-o M, Yada T* (2017) Fibroblast growth factor 21, assisted by elevated glucose, activates paraventricular nucleus NUCB2/Nesfatin-1 neurons to produce satiety under fed states. *Scient Rep* 7: 45819.
<https://doi.org/10.1038/srep45819>
44. *BonDurant LD, Potthoff MJ* (2018) Fibroblast Growth Factor 21: A Versatile Regulator of Metabolic Homeostasis. *Annu Rev Nutr* 38: 173–196.
<https://doi.org/10.1146/annurev-nutr-071816-064800>
45. *Liang Q, Zhong L, Zhang J, Wang Y, Bornstein SR, Triggie CR, Ding H, Lam KS, Xu A* (2014) FGF21 maintains glucose homeostasis by mediating the cross talk between liver and brain during prolonged fasting. *Diabetes* 63(12): 4064–4075.
<https://doi.org/10.2337/db14-0541>
46. *Ornitz DM, Itoh N* (2015) The Fibroblast Growth Factor signaling pathway. *Wiley Interdiscip Rev Dev Biol* 4(3): 215–266.
<https://doi.org/10.1002/wdev.176>
47. *Potthoff MJ, Boney-Montoya J, Choi M, He T, Sunny NE, Satapati S, Suino-Powell K, Xu HE, Gerard RD, Finck BN, Burgess SC, Mangelsdorf DJ, Kliewer SA* (2011) FGF15/19 regulates hepatic glucose metabolism by inhibiting the CREB-PGC-1 α pathway. *Cell Metab* 13(6): 729–738.
<https://doi.org/10.1016/j.cmet.2011.03.019>

Effect of Estradiol on Carbohydrate-Fat Metabolism and FGF21 System Activity in Female C57BL/6 Mice with Short-Term Consumption of the Cafeteria Diet**T. V. Jakovleva^{a,*}, A. Yu. Kazantseva^a, K. Yu. Mamontova^{a,b}, and N. M. Bazhan^{a,b}**^a*Institute of Cytology and Genetics, Novosibirsk, Russia*^b*Novosibirsk State University, Novosibirsk, Russia*^{*}*e-mail: tatyana.jakovleva@yandex.ru*

The cafeteria diet contributes to the development of obesity and metabolic syndrome, reduces insulin sensitivity and glucose tolerance. Hepatic hormone fibroblast growth factor 21 (FGF21) promotes adaptation to the consumption of sweet and fatty foods. Female mice are less sensitive to the damaging effects of the cafeteria diet than males, which may be due to the effect of estradiol on the activity of the FGF21 system: on the hepatic expression of the *Fgf21* gene, on the blood level of hormone, or on the levels of receptors and coreceptors beta-clotho, which determine the sensitivity of tissues to FGF21. The purpose of this work was to verify this assumption. The effect of estradiol (10 mg/animal once every three days) was evaluated in ovariectomized female C57BL/6 mice who consumed a cafeteria diet (standard food, lard and cookies) for two weeks. Indicators of carbohydrate-fat metabolism, taste preferences, and activity of the FGF21 system were determined. Ovariectomy increased body weight and subcutaneous adipose tissue weight, fat intake, *Pomc* expression in the hypothalamus, decreased expression of estradiol receptors in the liver and cookie consumption. Estradiol did not have a significant effect on these parameters. In ovariectomized females with estradiol deficiency, blood cholesterol levels and liver expression of the glucose-6-phosphatase gene were lower than in sham operated females, and estradiol normalized these parameters. Ovariectomy lowered, and the administration of estradiol increased the level of coreceptor beta-clotho (*Klb*) mRNA in the liver and in the hypothalamus. These results suggest that at the initial stages of consumption of sweet and fatty foods, estradiol increases the sensitivity of the liver and hypothalamus to FGF21 and thereby enhances the contribution of the FGF21 system to the processes of adaptation to the cafeteria diet.

Keywords: cafeteria diet, ovariectomy, estradiol, FGF21, taste preferences, coreceptor beta-clotho