

ИЗМЕНЕНИЯ ТАНИЦИТОВ И АССОЦИИРОВАННЫХ С НИМИ КЛЕТОЧНЫХ ПОПУЛЯЦИЙ АРКУАТНОГО ЯДРА В СТРЕПТОЗОЦИНОВОЙ МОДЕЛИ БОЛЕЗНИ АЛЬЦГЕЙМЕРА

Д. Н. Воронков , А. В. Ставровская, А. С. Гущина, А. С. Ольшанский

Научный центр неврологии, Москва, Россия

Предполагается, что дисфункция таницитов может быть одним из звеньев патогенеза как болезни Альцгеймера, так и диабета 2-го типа. Целью работы было охарактеризовать морфологические изменения таницитов при моделировании болезни Альцгеймера. Крысам линии Вистар вводили стрептозоцин в дозе 3 мг/кг в латеральные желудочки мозга для моделирования болезни Альцгеймера. Оценивали изменения таницитов гипоталамуса через 2, 4 недели, 3 и 6 месяцев после введения токсина. Иммуногистохимическим методом выявляли маркерные белки таницитов (виментин, нестин), астроглии (GFAP, глутаминсинтетазы) и нейронов (HuC/D), а также оценивали пролиферацию клеток (по белку Ki67) и митохондриальные изменения (митохондриальный комплекс IV, PGC1a). Введение стрептозоцина привело к накоплению β -амилоидного пептида в гипоталамусе и увеличению размеров желудочков ($p < 0,001$). Стрептозоцин повреждал как $\alpha 1/\alpha 2$, так и $\beta 1$ -танициты. Интенсивность окрашивания на виментин $\alpha 1/\alpha 2$ таницитов снижалась к 4-й неделе ($p = 0,003$), а $\beta 1$ -таницитов — через три месяца ($p < 0,001$). Ту же направленность изменений наблюдали и для нестина. Снижалось число Ki67+ ядер ($p < 0,05$) и менялась экспрессия белков, связанных с митохондриями. К 4-й неделе после введения токсина плотность таницитов гипоталамуса снижалась. Кроме того, выявили активацию астроглии, однако выраженного повреждения как астроцитов, так и нейронов до четырех недель после введения стрептозоцина не наблюдали. Выявленная повышенная уязвимость таницитов к действию стрептозоцина согласуется с предположением о роли повреждения структур гипоталамуса в развитии как локальных, так и системных метаболических нарушений при моделировании болезни Альцгеймера.

Ключевые слова: гипоталамус, танициты, стрептозоцин, болезнь Альцгеймера

Вклад авторов: Д. Н. Воронков — иммуногистохимическое исследование, морфометрический анализ, анализ и интерпретация данных, написание рукописи; А. В. Ставровская — планирование исследования, стереотаксические операции, анализ и интерпретация данных, написание и редактирование рукописи; А. С. Гущина, А. С. Ольшанский — стереотаксические операции, подготовка материала для морфологического исследования.

Соблюдение этических стандартов: исследование одобрено локальным этическим комитетом (решение № 2-5/19 от 20 февраля 2019 г.). Манипуляции с животными проводили в соответствии с требованиями European Convention for the Protection of Vertebral Animals Used for Experimental and Other Scientific Purposes (CETS № 170) и директивой Совета европейских сообществ 2010/63/ЕС, Приказом МЗ РФ № 119Н от 1 апреля 2016 г. «Об утверждении Правил лабораторной практики», а также «Правилами работы с лабораторными грызунами и кроликами» (ГОСТ 33216-2014).

 **Для корреспонденции:** Дмитрий Николаевич Воронков
пер. Обуха, д. 5, г. Москва, 105064, Россия; voronkov@neurology.ru

Статья получена: 07.10.2021 **Статья принята к печати:** 21.10.2021 **Опубликована онлайн:** 29.10.2021

DOI: 10.24075/vrgmu.2021.050

ALTERATIONS IN TANYCYTES AND RELATED CELL POPULATIONS OF ARCUATE NUCLEUS IN STREPTOZOTOCIN-INDUCED ALZHEIMER DISEASE MODEL

Voronkov DN , Stavrovskaya AV, Gushchina AS, Olshanskiy AS


Research Center of Neurology, Moscow, Russia

It is assumed that dysfunction of tanyocytes could be one of the components of pathogenesis of both Alzheimer disease and type 2 diabetes mellitus. The study was aimed to assess alterations in the tanyocyte morphology in the Alzheimer disease model. The 3 mg/kg streptozotocin dose was injected in the lateral ventricles of Wistar rats in order to model the Alzheimer disease. Alterations in hypothalamic tanyocytes were assessed 2 weeks, 4 weeks, 3 months and 6 months after administration of the toxin. Immunohistochemistry was used to identify the protein markers of tanyocytes (vimentin, nestin), astrocytes (GFAP, glutamine synthetase) and neurons (HuC/D), as well as to assess cell proliferation (with the use of Ki67 protein) and mitochondrial alterations (mitochondrial complex IV, PGC1a). Administration of streptozotocin lead to β -amyloid accumulation in hypothalamus and ventricular enlargement ($p < 0.001$). Streptozotocin damaged both $\alpha 1/\alpha 2$ tanyocytes and $\beta 1$ tanyocytes. The intensity of vimentin staining in $\alpha 1/\alpha 2$ tanyocytes decreased by week 4 ($p = 0.003$), and in $\beta 1$ tanyocytes it decreased in three months ($p < 0.001$). The same trend was observed for nestin. The number of Ki67+ nuclei decreased ($p < 0.05$), and the expression of proteins associated with mitochondria changed. The density of hypothalamic tanyocytes decreased by week 4 after administration of the toxin. Moreover, astrocyte activation was revealed. However, no prominent damage to both astrocytes and neurons was observed within four weeks after administration of streptozotocin. The revealed high tanyocyte vulnerability to streptozotocin is in line with the hypothesis of the role of damage to hypothalamic structures in both local and systemic metabolic disorders occurring in the Alzheimer disease models.

Keywords: hypothalamus, tanyocytes, streptozocine, Alzheimer disease

Author contribution: Voronkov DN — immunohistochemical study, morphometric study, data analysis and interpretation, manuscript writing; Stavrovskaya AV — study planning, stereotactic surgery, data analysis and interpretation, manuscript writing and editing; Gushchina AS, Olshanskiy AS — stereotactic surgery, specimens preparation for morphological study.

Compliance with ethical standards: the study was approved by the local Ethics Committee (protocol № 2–5/19 dated February 20, 2019). The animals were manipulated in accordance with the requirements of the European Convention for the Protection of Vertebral Animals Used for Experimental and Other Scientific Purposes (CETS № 170) and the Council of the European Communities Directive 2010/63/EU, order of the Ministry of Health of the Russian Federation № 119H "On Approval of Rules of Good Laboratory Practice" dated April 1, and GOST 33216-2014 "Rules for Working with Laboratory Rodents and Rabbits".

 **Correspondence should be addressed:** Dmitry N. Voronkov
per. Obukha, 5, Moscow, 105064, Russia; voronkov@neurology.ru

Received: 07.10.2021 **Accepted:** 21.10.2021 **Published online:** 29.10.2021

DOI: 10.24075/brsmu.2021.050

Производное глюкозамина и нитромочевинны стрептозоцин (СТЗ) является алкилирующим агентом и вызывает повреждение ДНК, приводя к снижению пролиферативной активности и гибели клеток. Благодаря химическому сходству с глюкозой СТЗ имеет высокое сродство к транспортеру глюкозы (GLUT2), избирательно захватывается β -клетками островков поджелудочной железы, что используют в терапии рака поджелудочной железы и при системном введении — для моделирования диабета у экспериментальных животных [1]. На клетках островков поджелудочной железы показано, что стрептозоцин приводит к разрывам ДНК и активации поли-(АДФ-рибоза)-полимераз (PARP), что в свою очередь вызывает снижение уровня НАД (выступающего в качестве субстрата для PARP) и гибели клеток [2].

Интрацеребральное однократное введение СТЗ вызывает нейродегенеративные изменения. Предполагается, что СТЗ снижает локальный метаболизм глюкозы и энергетический обмен в мозге [3–5]. При внутрижелудочковом введении СТЗ происходит прогрессирующая гибель нейронов в гиппокампе и неокортексе, повреждение белого вещества мозга, дисфункция холинергической системы, что приводит к когнитивным нарушениям у животных [3]. Нейрохимические изменения, вызываемые СТЗ, включают накопление β -амилоида, гиперфосфорилирование тау-белка и дисфункцию рецепторов инсулина [6–8]. Эти эффекты интрацеребрального введения СТЗ воспроизводят черты спорадической болезни Альцгеймера (БА), и находятся в соответствии с гипотезой диабета 3-го типа, связывающей нейродегенерацию при БА и локальную инсулинрезистентность [9–11]. Вместе с тем, точный механизм действия СТЗ в мозге не изучен, а гипотезу о прямой необратимой десенситизации инсулиновых рецепторов под действием СТЗ критикуют некоторые авторы [5].

Предполагается, что одной из причин развития БА служит дисрегуляция систем гипоталамуса, вовлеченных в обеспечение энергетического гомеостаза. В нейровизуализационных исследованиях показаны изменения ядер гипоталамуса у пациентов с БА. По некоторым данным, инсулинрезистентность и диабет повышают риск развития БА [12]. Вместе с тем, патоморфологические изменения клеточных популяций гипоталамуса на стрептозоциновой модели БА охарактеризованы недостаточно. В частности, интерес представляют изменения таницитов стенки третьего желудочка. Танициты — хемочувствительные глиозпендимные клетки. Выделяют несколько подтипов таницитов $\alpha 1$, $\alpha 2$, $\beta 1$, $\beta 2$ [13], различающихся своим нейрохимическим профилем, локализацией в стенке третьего желудочка и связями с ядрами гипоталамуса. Танициты участвуют в регуляции гомеостаза, являются сенсорами глюкозы и жирных кислот и других нутриентов, а также гормонов лептина, грелина и инсулина, регулирующих метаболические процессы [14, 15]. Описано влияние направленного повреждения таницитов на ожирение, показана их роль в контроле пищевого поведения и связь с орексигенными нейронами аркуатного ядра [16; 17]. Из-за участия таницитов в системной регуляции энергетического обмена предполагается, что их дисфункция может быть одним из звеньев патогенеза как БА, так и диабета 2-го типа [15, 18]. Реакция таницитов на внутрижелудочковое введение СТЗ подробно не описана. Детализация изменений структур гипоталамуса на этой популярной модели БА позволит приблизиться к

пониманию вклада повреждения клеточных популяций гипоталамуса в патогенетические процессы при БА и диабете 2-го типа.

Цель настоящей работы — охарактеризовать динамику морфологических изменений таницитов гипоталамуса при стрептозоцин-индуцированной модели болезни Альцгеймера.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Животные

В исследовании использовали 20 крыс линии Вистар (самцы, 320–350 г, возраст к началу эксперимента — 3 месяца), содержащихся в условиях вивария, при постоянном доступе к воде и пище. Животным ($n = 16$) делали интрацеребровентрикулярные инъекции СТЗ (Abcam; UK), а контрольной группе ($n = 4$) вводили 0,9%-й раствор NaCl. После введения токсина животных, получавших СТЗ, разделили случайным образом на четыре группы (по четыре особи в группе) и выводили из эксперимента декапитацией с помощью гильотины (OpenScience; Россия) через 2 недели, 4 недели, 3 месяца и 6 месяцев после инъекции.

Стереотаксическая операция

СТЗ растворяли в 0,9%-м NaCl в дозе 3 мг/кг, и при помощи стереотаксического манипулятора (Stoelting; США) вводили по 5 мкл раствора в оба боковых желудочка мозга. Для введения использовали следующие координаты: AP = -0,8; L = 1,5; V = 3,5 (по атласу G. Paxinos и C. Watson "The rat brain in stereotaxic coordinates"). В качестве анестезии применяли комбинированный препарат золазепам и тилетамин в дозе 3 мг/100 г и ксилазин в дозе 3 мг/кг внутримышечно, для премедикации использовали атропин в дозе 0,04 мг/кг подкожно за 10–15 мин до введения ксилазина гидрохлорида.

Иммуногистохимический анализ

Для иммуногистохимического исследования образцы мозга фиксировали 24 ч в 4%-м формалине, пропитывали 30%-й сахарозой и готовили замороженные фронтальные срезы толщиной 10 мкм в области гипоталамуса. Для демаскировки антигенов срезы нагревали 20 мин в пароварке в цитратном буфере (antigen retrieval buffer, pH = 6,0; Sigma; Германия). В работе использовали мышиные моноклональные антитела (Abcam; Великобритания) к маркерам таницитов — нестину (Nes) и виментину (Vim), кроличьи поликлональные антитела (Sigma; Германия) к белкам астроглии — кислому глиофибрилярному белку (GFAP) и глутаминсинтетазе (GS). Для выявления нейронов применяли мышиные антитела (Invitrogen; США) к РНК-связывающему белку HuC/D. Для оценки митохондриальных изменений использовали кроличьи антитела (Invitrogen; США) к PGC1 α (коактиватор транскрипции, регулятор биогенеза митохондрий) и MT-CO1 (субъединица I цитохром-С-оксидазы, комплекс IV дыхательной цепи митохондрий). Проллиферацию клеток оценивали с помощью кроличьих антител к Ki67 (Dako; Дания), а накопление β -амилоида выявляли с помощью кроличьих антител к β -амилоидному пептиду 1–42 (Sigma; Германия). Срезы инкубировали с первичными антителами 24 ч при комнатной температуре, разведение

антител выбирали в соответствии с рекомендациями производителя. Для визуализации связывания использовали соответствующие пары вторичных антител к иммуноглобулинам мыши или кролика, конъюгированных с флуорохромами Alexa 488 или Alexa 555 (Invitrogen; США). Срезы заключали под покровные стекла в среду FluoroShield (Abcam; Великобритания), содержащую диамидинофенилиндола для мечения ядер клеток (DAPI).

Морфометрия и статистическая обработка данных

Препараты исследовали с помощью флуоресцентного микроскопа Nikon Eclipse NiU (Nikon; Япония), оснащенного камерой Nikon DS-Qi (Nikon; Япония) и программным обеспечением NIS Elements (Nikon; Япония). Измерения проводили на 12-битных изображениях, полученных при одинаковых настройках осветительной системы микроскопа, при увеличении объектива $\times 20$ или $\times 40$. На изображениях вручную при помощи графического планшета (Wacom; Япония) выделяли области интереса (просвет желудочка, ядра или сому клеток). Плотность клеток и интенсивность иммунофлуоресцентного окрашивания в областях интереса (результаты выражали в % от максимальной яркости — 4096 градаций серого) оценивали не менее чем в 25 полях зрения, на серии 6–8 фронтальных срезов, на разных уровнях гипоталамуса. Для оценки интенсивности иммунофлуоресцентного окрашивания на MT-СO1 и PGC1 α на изображениях выделяли по 150–300 клеток для каждого животного. Данные по каждому животному усредняли. Данные по группе представляли в виде медианы и интерквартильного

размаха — Me [LQ; HQ]. Для статистического анализа использовали программы Statistica 12.0 (StatSoft; США) и GraphPad Prism (GraphPad software; США). Различия между группами оценивали при помощи непараметрического критерия Краскелла–Уоллиса и последующего теста Данна для парных межгрупповых сравнений. Статистически значимыми считали различия при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Внутрижелудочковое введение СТЗ вызвало нарастающее со временем повреждение стенки третьего желудочка и структур гипоталамуса. Макроанатомически обнаружили увеличение просвета третьего желудочка (рис. 1А, Г), уже на второй неделе после введения СТЗ его площадь на срезе была статистически значимо ($p < 0,001$) выше, по сравнению с контрольными животными — более чем в два раза, а на более поздних сроках продолжала увеличиваться. К шестому месяцу после введения площадь третьего желудочка на срезе увеличилась более чем в 20 раз, а в прилежащих ядрах гипоталамуса были выявлены некротические изменения. Воспроизведение характерных для болезни Альцгеймера патоморфологических признаков под введением СТЗ было подтверждено накоплением β -амилоидного пептида 1–42 в структурах гипоталамуса (рис. 1Б).

При выявлении виментина обнаружили повреждение глиоэпендимных элементов стенки третьего желудочка (рис. 1А). К четвертой неделе после введения СТЗ интенсивность окрашивания статистически значимо снижалась ($p = 0,003$) в области локализации $\alpha 1$ - и

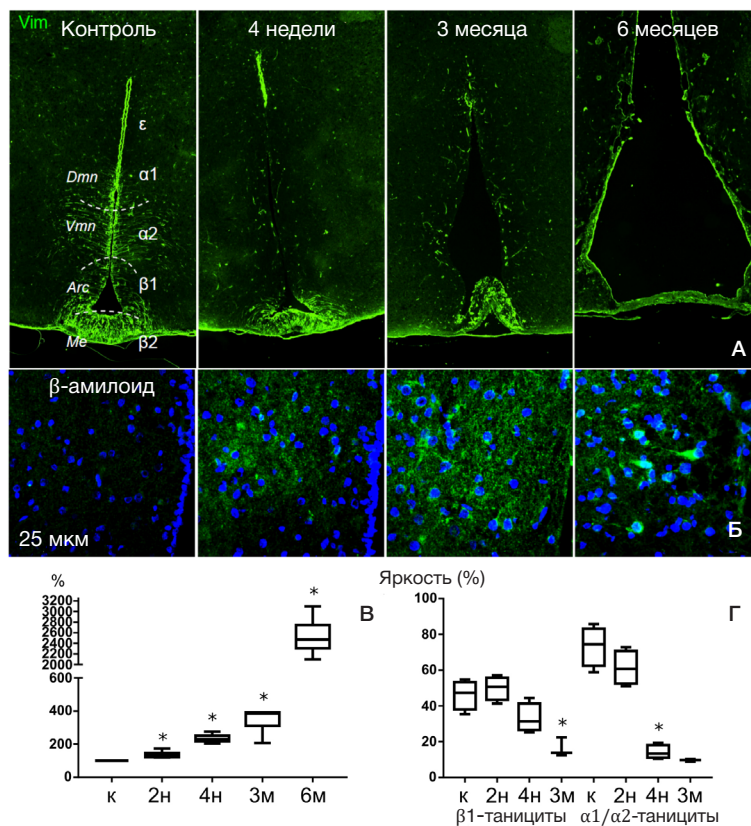


Рис. 1. Изменения третьего желудочка и прилежащих структур под действием стрептозоцина. **А.** Выявление виментина (Vim). **Б.** Выявление β -амилоида в аркуатном ядре гипоталамуса. **В.** Изменение площади третьего желудочка в процентах от контроля (к). **Г.** Изменение интенсивности окрашивания (яркость, в % от максимальной) на виментин в области локализации $\beta 1$ -таницитов и $\alpha 1/\alpha 2$ -таницитов. к — контроль; 2н, 4н, 3м, 6м — группы 2 и 4 недели, 3 и 6 месяцев после введения стрептозоцина; * — $p < 0,05$; греческими буквами обозначены популяции таницитов ($\alpha 1$, $\alpha 2$, $\beta 1$, $\beta 2$) и эпэндимоцитов (ϵ); Dmn — дорсомедиальное ядро гипоталамуса; Vmn — вентромедиальное ядро гипоталамуса; Arc — аркуатное ядро гипоталамуса; Me — срединное возвышение гипоталамуса

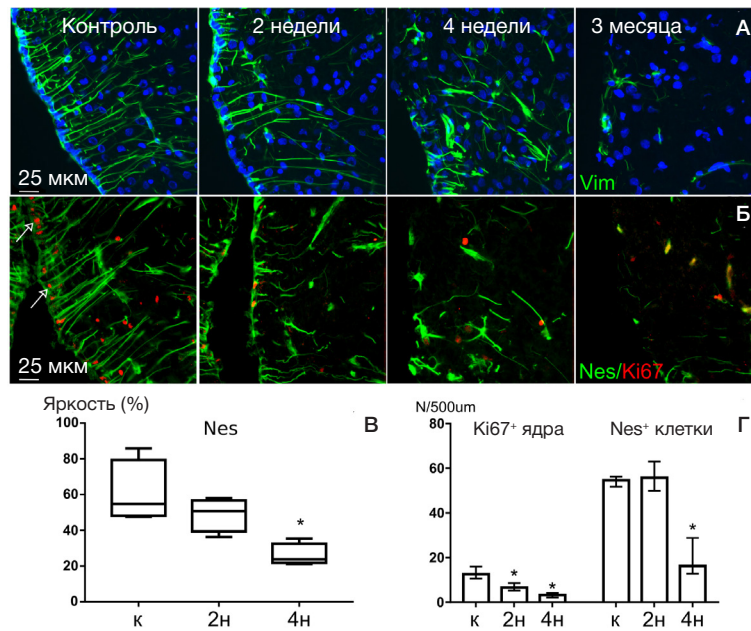


Рис. 2. Морфологические изменения таницитов под действием стрептозоцина. **А.** Выявление виментина (показано зеленым), ядра докрашены DAPI (синий). **Б.** Выявление нестина (зеленый) и Ki67 (красный); стрелки указывают на Ki67-позитивные ядра. **В.** Изменение интенсивности окрашивания на нестин (яркость, в % от максимальной). **Г.** Изменение числа Nes⁺ и Ki67⁺ глиоэпендимных клеток (число на ед. длины стенки желудочка). Обозначения см. на рис. 1

α2-таницитов (формирующих связи, соответственно с дорсо-медиальным и вентро-медиальным ядрами гипоталамуса), по сравнению с контролем. В области локализации β1-таницитов (проецирующихся в аркуатное ядро) снижение окрашивания на виментин было менее выраженным, и статистически значимые изменения ($p < 0,001$) выявили только через три месяца после введения СТЗ. Эпендимоциты дорсальных отделов стенки третьего желудочка оставались сохранными до четвертой недели

после введения СТЗ. Отдельные Vim⁺-танициты срединного возвышения гипоталамуса сохранялись и после трех месяцев, тогда как в других зонах стенки третьего желудочка к шестому месяцу Vim⁺ глиоэпендимных клеток уже не выявляли. В связи с быстро нарастающим повреждением таницитов в настоящем исследовании мы сосредоточились преимущественно на оценке изменений стенки третьего желудочка на сроках 2 и 4 недели после введения СТЗ.

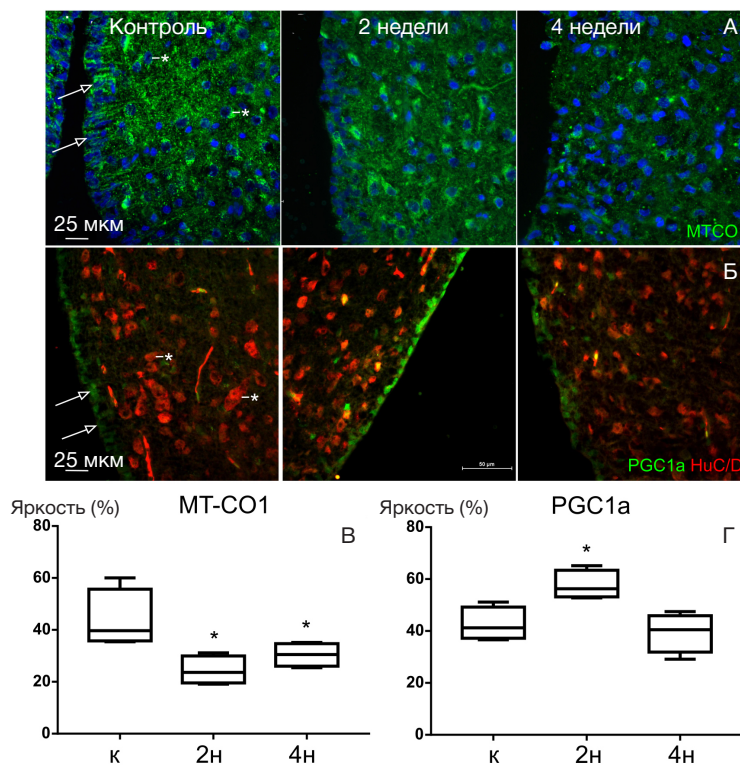


Рис. 3. Выявление ассоциированных с митохондриальными функциями белков таницитов. **А.** Выявление MT-CO1 (комплекс IV дыхательной цепи митохондрий); ядра докрашены DAPI (показано синим). **Б.** Выявление PGC1a (зеленый); нейроны (красный) выявляли при помощи антител к Hu C/D. **В.** Изменение интенсивности окрашивания тел таницитов на MT-CO1 (яркость, в % от максимальной). **Г.** Изменение интенсивности окрашивания ядер таницитов на PGC1a (яркость, в % от максимальной). Стрелки указывают на танициты, звездочки — на нейроны. Обозначения см. на рис. 1

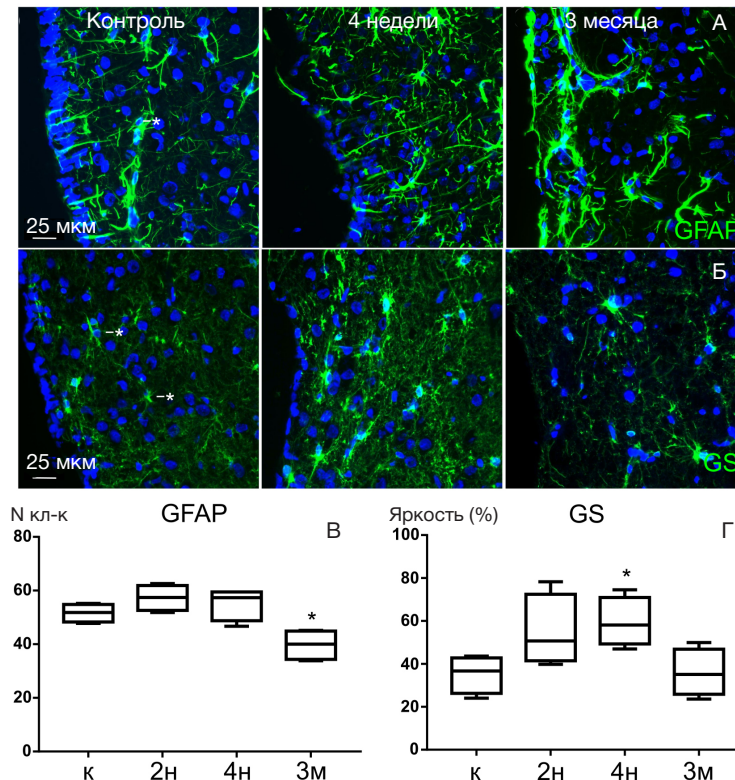


Рис. 4. Изменения астроглии в области аркуатного ядра (вблизи стенки третьего желудочка) гипоталамуса под действием стрептозоцина. **А.** Выявление GFAP (показано зеленым); ядра докрасены DAPI (синий). **Б.** Выявление глутаминсинтетазы (GS, зеленый); ядра докрасены DAPI (синий). **В.** Изменение числа GFAP-позитивных клеток в поле зрения. **Г.** Изменение интенсивности окрашивания на глутаминсинтетазу (яркость, в % от максимальной). Звездочками показаны астроциты. Обозначения как на рис. 1.

Выявление как нестина, так и виментина позволило продемонстрировать морфологические изменения таницитов. Визуально, в области локализации $\beta 1$ -таницитов и переходной зоне ($\beta 1/\alpha 2$ -танициты) на 2-й неделе после введения СТЗ отмечали утолщение Vim+ отростков и деформацию эпендимального слоя стенки желудочка (рис. 2А). Аналогичные изменения обнаруживали и при выявлении нестина (рис. 2А). Интенсивность окрашивания на нестин снижалась к 4-й неделе после введения СТЗ, по сравнению с контролем ($p = 0,024$), как и плотность Nes+ $\beta 1$ -таницитов ($p < 0,001$) (рис. 2В, Г). При этом число Ki-67 позитивных ядер таницитов статистически значимо снизилось ($p = 0,049$; рис. 2Г) уже ко 2-й неделе, что подтверждает влияние СТЗ на пролиферативную активность клеток.

Повреждению таницитов предшествовали изменения экспрессии белков, ассоциированных с митохондриальными функциями. Снижение по сравнению с контролем ($p = 0,013$) интенсивности окрашивания цитоплазмы таницитов в реакции с антителами к МТ-СО1 (комплекс IV дыхательной цепи) выявляли со 2-й недели после введения СТЗ, до снижения плотности таницитов и уменьшения экспрессии нестина (рис. 3А, Б). При этом окрашивание на МТ-СО1 в телах нейронов прилежащего аркуатного ядра сохранялось, а подсчет нейронов аркуатного ядра на 2-й и 4-й неделях после введения СТЗ не выявил значимого снижения их плотности по сравнению с контролем. Выявление коактиватора транскрипции PGC1 α (регулятора ряда митохондриальных функций) показало ко 2-й неделе статистически значимое ($p = 0,048$) повышение интенсивности окрашивания ядер таницитов (рис. 3Б, В), тогда как на 4-й неделе после введения СТЗ интенсивность окрашивания на PGC1 α снизилась до контрольных значений.

Для оценки изменений астроглии использовали иммуногистохимическое выявление GFAP и глутаминсинтетазы (GS). У интактных животных GFAP выявляли в значительной части глиоэпендимных клеток, тогда как уровень экспрессии GS в таницитах, по сравнению с астроглией, по-видимому, незначителен. Морфологические изменения GFAP-позитивных астроцитов в аркуатном ядре свидетельствовали о развитии реактивного глиоза под действием СТЗ уже ко 2-й неделе: наблюдали утолщение, деформацию отростков, усиление окрашивания на глиальные маркеры (рис. 4А, Б). Интенсивность окрашивания на GS возросла к 4-й неделе ($p = 0,03$), что, по-видимому, связано с увеличением площади астроцитов на срезе (рис. 4Б, Г). Вместе с тем, число (плотность) астроцитов не увеличивалось на ранних сроках после введения СТЗ, а к третьему месяцу — статистически значимо снизилось относительно контроля ($p = 0,019$; рис. 4В). В целом, изменения астроглии свидетельствовали о нарастающей нейровоспалительной реакции в прилежащих к третьему желудочку структурах гипоталамуса. Хотя СТЗ и вызвал повреждение астроцитов, они оказались более устойчивыми к действию токсина, по сравнению с таницитами.

Обобщая полученные результаты, можно отметить, что введение СТЗ привело к накоплению β -амилоида в структурах гипоталамуса, в том числе нейронах аркуатного ядра, вызвало увеличение размеров желудочков, что, очевидно, связано с повреждением глиоэпендимных элементов. Танициты разных типов отличались чувствительностью к СТЗ, однако как $\alpha 1/\alpha 2$, так и $\beta 1$ -танициты, повреждались на ранних сроках после введения СТЗ, что проявилось снижением их пролиферативной активности и изменением экспрессии белков, ассоциированных с митохондриями. Эти

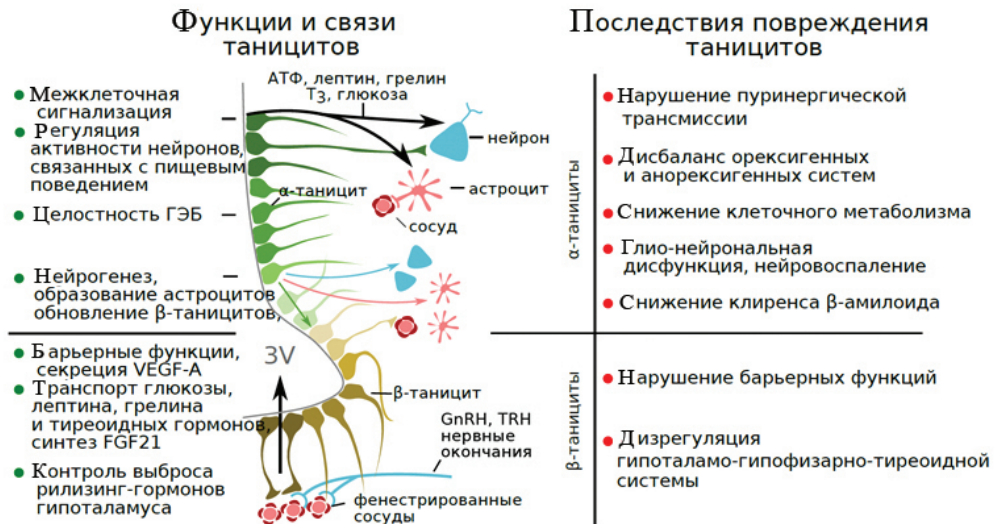


Рис. 5. Схема взаимодействия таницитов со структурами гипоталамуса и возможные последствия их повреждения. ГЭБ — гематоэнцефалический барьер; VEGF-A — фактор роста эндотелия сосудов A; FGF21 — ростовой фактор фибробластов 21; T3 — трийодтиронин; GnRH — гонадолиберин; TRH — тиреолиберин

изменения возникли до выявления выраженных нарушений морфологии таницитов. К 4-й неделе после введения СТЗ плотность β 1-таницитов третьего желудочка снизилась. Кроме того, СТЗ вызвал реактивные изменения и повреждение астроглии, однако плотность как астроцитов, так и нейронов аркуатного ядра до 4-х недель после введения токсина осталась неизменной, что указывает на большую уязвимость таницитов к СТЗ, по сравнению с другими клеточными популяциями гипоталамуса.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Большая часть работ по оценке морфологических и нейрохимических изменений на стрептозоциновой модели посвящена исследованиям гиппокампа в связи с его ролью в когнитивных нарушениях при БА. Эти данные согласуются с наблюдавшимися в нашей работе изменениями. Так, в экспериментах с внутрижелудочковым или интрацистернальным введением СТЗ показаны накопление β -амилоида в гиппокампе через три месяца после введения токсина, нарушение экспрессии синаптических белков, а также гибель нейронов и снижение объема гиппокампа [3, 19]. Выявлено влияние СТЗ и на астроциты гиппокампа: показано снижение количества и изменение структуры их отростков [20]. При введении СТЗ обнаружено снижение экспрессии рецепторов инсулина в гиппокампе [21]. Поскольку астроциты, предположительно, являются мишенью инсулина и нокаут инсулиновых рецепторов астроцитов вызывает когнитивные нарушения у животных [22], можно предположить что дисфункция глиальных элементов имеет ведущую роль в вызываемых СТЗ локальных метаболических нарушениях.

Данные по изменениям таницитов у человека при БА в литературе не представлены. Охарактеризованы лишь возраст-зависимые нарушения организации отростков таницитов [23]. Вместе с тем, в патоморфологических исследованиях обнаруживают дегенеративные изменения, накопление β -амилоида и митохондриальные нарушения в ядрах гипоталамуса [24].

Механизмы, лежащие в основе дисфункции гипоталамуса при БА у человека, не выяснены. Многие исследователи помимо нейродегенерации отводят значительную роль изменениям синтеза, секреции и

транспорта гипоталамических гормонов и факторов [18, 24], участвующих в гомеостатической регуляции гипоталамо-гипофизарной системы, что может быть опосредовано нарушением функции таницитов. Например, танициты вовлечены в регуляцию высвобождения тиреолиберина и служат основным источником трийодтиронина в мозге. Причем, как для тиреолиберина, так и для трийодтиронина, показано нейропротекторное действие на моделях БА [25, 26].

Танициты экспрессируют GLUT2-транспортер [13, 27] и, соответственно, являются одной из клеточных мишеней СТЗ, и их повреждение, выявленное в нашей работе, — ожидаемый эффект введения токсина. Причины более выраженного повреждения α -таницитов в нашей работе могут быть связаны с неодинаковым уровнем экспрессии глюкозного транспортера и частотой обновления разных популяций таницитов, а также их метаболическими особенностями, для уточнения которых необходимы дальнейшие исследования. Наблюдавшиеся различия динамики изменений нестина и виментина могут быть объяснены тем, что хотя танициты всех типов экспрессируют эти белки, содержание виментина отличается для α и β -таницитов [18]. Кроме того, имеются данные о разнонаправленных изменениях регуляции белков цитоскелета в таницитах [28].

Важно, что изменения таницитов под действием СТЗ предшествовали другим нейродегенеративным и нейровоспалительным изменениям в гипоталамусе. В целом, учитывая, что танициты модулируют функции нейронов вентро-медиального, дорсо-медиального и аркуатного ядер гипоталамуса и вовлечены в механизмы регуляции как локального, так и системного энергетического обмена и в контроль пищевого поведения [15, 18, 29], их повреждение, вероятно, приводит к наблюдающимся на данной модели БА нарушениям углеводного обмена [30, 31]. Вместе с тем, дисфункцию структур гипоталамуса при введении СТЗ и показанные ранее нейродегенеративные изменения в гипоталамусе на поздних сроках [31] может провоцировать и нейровоспалительная реакция, затрагивающая помимо таницитов прочие клеточные популяции.

Выявленное нами снижение интенсивности окрашивания таницитов на MT-CO1 (субъединица 1 цитохром-С-оксидазы) согласуется со снижением активности цитохром-С-оксидазы на стрептозоциновой

модели диабета [32]. При исследовании коры и гиппокампа животных, которым вводили СТЗ, было показано снижение активности пируватдегидрогеназы, α -кетоглутаратдегидрогеназы, и цитохром-С-оксидазы в митохондриях как неокортекса, так и гиппокампа [33]. При внутривенном введении СТЗ помимо этого было показано снижение активности комплексов I-III митохондрий [34]. Эти данные подчеркивают ранее охарактеризованную *in vitro* чувствительность митохондрий к СТЗ [35]. Наблюдавшееся увеличение экспрессии PGC1 α (регулятора митохондриального биогенеза) на раннем сроке после введения СТЗ, по-видимому, можно рассматривать как компенсаторную реакцию в ответ на развивающиеся нарушения. Возвращение к исходному уровню PGC1 α , возможно, свидетельствует о частичной нормализации функций сохранных таницитов. В свою очередь, дисрегуляция PGC1 α связана с нейровоспалительными процессами и может быть одним из факторов, вносящих вклад в повреждение нейронов при БА [36,37]. Динамику выявляемых митохондриальных нарушений в разных структурах под действием СТЗ еще предстоит оценить.

Обнаруженное снижение пролиферации таницитов под действием СТЗ интересно сопоставить с ранее выявленным влиянием этого токсина на нейральные стволовые клетки в гиппокампе [38], а также его высокой токсичностью по отношению к незрелым нейронам [39]. Поскольку танициты, по-видимому, имеют нейрогенный потенциал [40], нарушение пролиферации и гибель нейральных стволовых клеток гипоталамуса под действием

СТЗ может иметь отсроченные эффекты, связанные с нарушением пластичности нейронных сетей гипоталамуса, контролирующими гомеостатические процессы.

На рис. 5 (по данным [14, 15, 17, 18]) обобщены некоторые функции α - и β - таницитов, предположительно вовлекаемые в патологические изменения на стрептозоцин-индуцированной модели БА. Вероятное вовлечение таницитов в патогенез БА предполагает возможность разработки фармакологических методов коррекции их функции. Ряд авторов считает возможной регуляцию пролиферации таницитов путем воздействия ростовых факторов [18].

ВЫВОДЫ

Полученные данные демонстрируют повышенную уязвимость таницитов гипоталамуса к СТЗ, снижение их пролиферативной активности и сопутствующие митохондриальные изменения. Изменения таницитов предшествовали активации астроглии и повреждению нейронов. Выявленные изменения в медио-базальном гипоталамусе позволяют предположить существенную роль повреждения таницитов в развитии локальных и системных метаболических нарушений при моделировании болезни Альцгеймера. Среди возможных функциональных последствий повреждения таницитов можно выделить: нарушение барьерных функций и снижение клеточного метаболизма в структурах гипоталамуса, дисбаланс оксигенных и анорексигенных эффектов, дисрегуляцию гипоталамо-гипофизарно-тиреоидной системы.

Литература

1. Elsner M, Guldbakke B, Tiedge M, Munday R, Lenzen S. Relative importance of transport and alkylation for pancreatic beta-cell toxicity of streptozotocin. *Diabetologia*. 2000; 43 (12): 1528–33.
2. Guzyk MM, Dyakun KO, Yanytska LV, Pryvrotska IB, Krynytska IY, Pishel IM, et al. Inhibitors of Poly(ADP-Ribose) Polymerase-1 as Agents Providing Correction of Brain Dysfunctions Induced by Experimental Diabetes. *Neurophysiology*. 2017; 49 (3): 183–93.
3. Knezovic A, Osmanovic-Barilar J, Curlin M, Hof PR, Simic G, Riederer P, et al. Staging of cognitive deficits and neuropathological and ultrastructural changes in streptozotocin-induced rat model of Alzheimer's disease. *Journal of Neural Transmission*. 2015; 122 (4): 577–92.
4. Osmanovic-Barilar J, Knezovic A, Grünblatt E, Riederer P, Salkovic-Petrisic, M. Nine-month follow-up of the insulin receptor signalling cascade in the brain of streptozotocin rat model of sporadic Alzheimer's disease. *Journal of Neural Transmission*. 2015; 122 (4): 565–76.
5. Grieb P. Intracerebroventricular Streptozotocin Injections as a Model of Alzheimer's Disease: in Search of a Relevant Mechanism. *Molecular Neurobiology*. 2016; 53 (3): 1741–52.
6. Grünblatt E, Salkovic-Petrisic M, Osmanovic J, Riederer P, Hoyer S. Brain insulin system dysfunction in streptozotocin intracerebroventricularly treated rats generates hyperphosphorylated tau protein. *Journal of Neurochemistry*. 2007; 101 (3): 757–70.
7. Rajasekar N, Dwivedi S, Nath C, Hanif K, Shukla R. Protection of streptozotocin induced insulin receptor dysfunction, neuroinflammation and amyloidogenesis in astrocytes by insulin. *Neuropharmacology*. 2014; 86: 337–52.
8. Ravelli KG, Rosário B dos A, Camarini R, Hernandez MS, Britto LR. Intracerebroventricular Streptozotocin as a Model of Alzheimer's Disease: Neurochemical and Behavioral Characterization in Mice. *Neurotoxicity Research*. 2017; 31 (3): 327–33.
9. Kandimalla R, Thirumala V, Reddy PH. Is Alzheimer's disease a Type 3 Diabetes? A critical appraisal. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Basis of Disease*. 2017; 1863 (5): 1078–89.
10. Gupta S, Yadav K, Mantri SS, Singhal NK, Ganesh S, Sandhir R. Evidence for Compromised Insulin Signaling and Neuronal Vulnerability in Experimental Model of Sporadic Alzheimer's Disease. *Molecular Neurobiology*. 2018; 55 (12): 8916–35.
11. Горина Я. В., Комлева Ю. К., Лопатина О. Л., Черных А. И., Салмина А. Б. Экспрессия молекул — компонентов инсулин-опосредованной сигнальной трансдукции в клетках головного мозга при экспериментальной болезни Альцгеймера. *Анналы клинической и экспериментальной неврологии*. 2019; 13 (4): 28–37. DOI: 10.25692/ACEN.2019.4.5.
12. Verduyck P, Vieau D, Blum D, Petersen A, Dupuis L. Hypothalamic Alterations in Neurodegenerative Diseases and Their Relation to Abnormal Energy Metabolism. *Front Mol Neurosci*. 2018; 11: 2. DOI: 10.3389/fnmol.2018.00002.
13. Rizzoti K, Lovell-Badge R. Pivotal role of median eminence tanycytes for hypothalamic function and neurogenesis. *Molecular and Cellular Endocrinology*. 2017; 445: 7–13.
14. Geller S, Arribat Y, Netzahualcoyotzi C, Lagarrigue S, Carneiro L, Zhang L, et al. Tanycytes Regulate Lipid Homeostasis by Sensing Free Fatty Acids and Signaling to Key Hypothalamic Neuronal Populations via FGF21 Secretion. *Cell Metabolism*. 2019; 30 (4): 833–44.
15. Bolborea M, Langlet F. What is the physiological role of hypothalamic tanycytes in metabolism? *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*. 2001; 320 (6): R994–R1003.
16. Yoo S, Cha D, Kim S, Jiang L, Cooke P, Adebesein M, et al. Tanycyte ablation in the arcuate nucleus and median eminence increases obesity susceptibility by increasing body fat content in male mice. *Glia*. 2020; 68 (10): 1987–2000.
17. Bolborea M, Pollatzek E, Benford H, Sotelo-Hitschfeld T, Dale N. Hypothalamic tanycytes generate acute hyperphagia through

- activation of the arcuate neuronal network. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2020; 117 (25): 14473–81.
18. Raikwar SP, Bhagavan SM, Ramaswamy SB, Thangavel R, Dubova I, Selvakumar GP, et al. Are Tanycytes the Missing Link Between Type 2 Diabetes and Alzheimer's Disease? *Molecular Neurobiology*. 2019; 56 (2): 833–43.
 19. Ahn Y, Seo J, Park J, Won J, Yeo HG, Kim K, et al. Synaptic loss and amyloid beta alterations in the rodent hippocampus induced by streptozotocin injection into the cisterna magna. *Lab Anim Res*. 2020; 36: 17.
 20. Zappa Villar MF, López Hanotte J, Falomir Lockhart E, Trípodí LS, Morel GR, Reggiani PC. Intracerebroventricular streptozotocin induces impaired Barnes maze spatial memory and reduces astrocyte branching in the CA1 and CA3 hippocampal regions. *J Neural Transm (Vienna)*. 2018; 125 (12): 1787–803. DOI: 10.1007/s00702-018-1928-7.
 21. Agrawal R, Tyagi E, Shukla R, Nath C. Insulin receptor signaling in rat hippocampus: a study in STZ (ICV) induced memory deficit model. *Eur Neuropsychopharmacol*. 2011; 21 (3): 261–73. DOI: 10.1016/j.euroneuro.2010.11.009.
 22. González-García I, Gruber T, García-Cáceres, C. Insulin action on astrocytes: From energy homeostasis to behaviour. *J Neuroendocrinol*. 2021; 33 (4): e12953. DOI: 10.1111/jne.12953.
 23. Koopman ACM, Taziaux M, Bakker J. Age-related changes in the morphology of tanycytes in the human female infundibular nucleus/median eminence. *J Neuroendocrinol*. 2017; 29 (5). DOI: 10.1111/jne.12467.
 24. Ishii M, Iadecola C. Metabolic and Non-Cognitive Manifestations of Alzheimer's Disease: The Hypothalamus as Both Culprit and Target of Pathology. *Cell Metab*. 2015; 22 (5): 761–76. DOI: 10.1016/j.cmet.2015.08.016
 25. Daimon CM, Chirdon P, Maudsley S, Martin B. The role of Thyrotropin Releasing Hormone in aging and neurodegenerative diseases. *Am J Alzheimers Dis (Columbia)*. 2013; 1 (1). DOI: 10.7726/ajad.2013.1003
 26. Rodríguez-Rodríguez A, Lazcano I, Sánchez-Jaramillo E, Uribe RM, Jaimes-Hoy L, Joseph-Bravo P, et al. Tanycytes and the Control of Thyrotropin-Releasing Hormone Flux Into Portal Capillaries. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2019; 10: 401. DOI: 10.3389/fendo.2019.00401.
 27. García M de los A, Millán C, Balmaceda-Aguilera C, Castro T, Pastor P, Montecinos H, et al. Hypothalamic ependymal-gial cells express the glucose transporter GLUT2, a protein involved in glucose sensing. *Journal of Neurochemistry*. 2003; 86 (3): 709–24.
 28. Lewis JE, Ebling FJ. Tanycytes As Regulators of Seasonal Cycles in Neuroendocrine Function. *Front Neurol*. 2017; 8: 79. DOI: 10.3389/fneur.2017.00079. PMID: 28344570; PMCID: PMC5344904.
 29. Uranga RM, Millán C, Barahona MJ, Recabal A, Salgado M, Martínez F, et al. Adenovirus-mediated suppression of hypothalamic glucokinase affects feeding behavior. *Scientific Reports*. 2017; 7 (1): 3697.
 30. Bloch K, Gil-Ad I, Vanichkin A, Hornfeld SH, Koroukhov N, Taler M, et al. Intracerebroventricular Streptozotocin Induces Obesity and Dementia in Lewis Rats. *Journal of Alzheimer's Disease*. 2017; 60 (1): 121–36.
 31. Ставровская А. В., Воронков Д. Н., Шестакова Е. А., Гущина А. С., Ольшанский А. С., Ямщикова Н. Г. Стрептозоцин-индуцированная болезнь Альцгеймера как самостоятельный фактор риска развития гипергликемии у крыс линии Вистар. *Проблемы эндокринологии*. 2019; 65 (5): 351–61.
 32. Raza H, Prabu SK, John A, Avadhani NG. Impaired Mitochondrial Respiratory Functions and Oxidative Stress in Streptozotocin-Induced Diabetic Rats. *International Journal of Molecular Sciences*. 2011; 12 (5): 3133–47.
 33. Correia SC, Santos RX, Santos MS, Casadesus G, LaManna JC, Perry G, et al. Mitochondrial Abnormalities in a Streptozotocin-Induced Rat Model of Sporadic Alzheimer's Disease. *Current Alzheimer Research*. 2013; 10 (4). Available from: <https://DOI.org/10.2174/1567205011310040006>
 34. Poddar J, Singh S, Kumar P, Bali S, Gupta S, Chakrabarti S. Inhibition of complex I-III activity of brain mitochondria after intracerebroventricular administration of streptozotocin in rats is possibly related to loss of body weight. *Heliyon*. 2020; 6 (7): e04490.24.
 35. Genrikhs EE, Stelmashook EV, Golyshev SA, Aleksandrova OP, Isaev NK. Streptozotocin causes neurotoxic effect in cultured cerebellar granule neurons. *Brain Research Bulletin*. 2017; 130: 90–94. ht
 36. Sweeney G, Song J. The association between PGC-1 α and Alzheimer's disease. *Anatomy and Cell Biology*. 2016; 49 (1): 1.
 37. Rius-Pérez S, Torres-Cuevas I, Millán I, Ortega ÁL, Pérez S. PGC-1 α , Inflammation, and Oxidative Stress: An Integrative View in Metabolism. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 2020; 1–20.
 38. Sun P, Ortega G, Tan Y, Hua Q, Riederer PF, Deckert J, et al. Streptozotocin Impairs Proliferation and Differentiation of Adult Hippocampal Neural Stem Cells in Vitro-Correlation With Alterations in the Expression of Proteins Associated With the Insulin System. *Frontiers in Aging Neuroscience*. 2018; 10. Available from: <https://DOI.org/10.3389/fnagi.2018.00145>.
 39. Isaev NK, Genrikhs EE, Voronkov DN, Kapkaeva MR, Stelmashook EV. Streptozotocin toxicity in vitro depends on maturity of neurons. *Toxicology and Applied Pharmacology*. 2018; 348: 99–104.
 40. Yoo S, Kim J, Lyu P, Hoang TV, Ma A, Trinh V, et al. Control of neurogenic competence in mammalian hypothalamic tanycytes. *Science Advances*. 2021; 7 (22): eabg3777. Available from: <https://DOI.org/10.1126/sciadv.abg3777>.

References

1. Elsner M, Guldbakke B, Tiedge M, Munday R, Lenzen S. Relative importance of transport and alkylation for pancreatic beta-cell toxicity of streptozotocin. *Diabetologia*. 2000; 43 (12): 1528–33.
2. Guzyk MM, Dyakun KO, Yanytska LV, Pryvotska IB, Krynytska IY, Pishel IM, et al. Inhibitors of Poly(ADP-Ribose)Polymerase-1 as Agents Providing Correction of Brain Dysfunctions Induced by Experimental Diabetes. *Neurophysiology*. 2017; 49 (3): 183–93.
3. Knezovic A, Osmanovic-Barilar J, Curlin M, Hof PR, Simic G, Riederer P, et al. Staging of cognitive deficits and neuropathological and ultrastructural changes in streptozotocin-induced rat model of Alzheimer's disease. *Journal of Neural Transmission*. 2015; 122 (4): 577–92.
4. Osmanovic-Barilar J, Knezovic A, Grünblatt E, Riederer P, Salkovic-Petrisic, M. Nine-month follow-up of the insulin receptor signalling cascade in the brain of streptozotocin rat model of sporadic Alzheimer's disease. *Journal of Neural Transmission*. 2015; 122 (4): 565–76.
5. Grieb P. Intracerebroventricular Streptozotocin Injections as a Model of Alzheimer's Disease: in Search of a Relevant Mechanism. *Molecular Neurobiology*. 2016; 53 (3): 1741–52.
6. Grünblatt E, Salkovic-Petrisic M, Osmanovic J, Riederer P, Hoyer S. Brain insulin system dysfunction in streptozotocin intracerebroventricularly treated rats generates hyperphosphorylated tau protein. *Journal of Neurochemistry*. 2007; 101 (3): 757–70.
7. Rajasekar N, Dwivedi S, Nath C, Hanif K, Shukla R. Protection of streptozotocin induced insulin receptor dysfunction, neuroinflammation and amyloidogenesis in astrocytes by insulin. *Neuropharmacology*. 2014; 86: 337–52.
8. Ravelli KG, Rosário B dos A, Camarini R, Hernandez MS, Britto LR. Intracerebroventricular Streptozotocin as a Model of Alzheimer's Disease: Neurochemical and Behavioral Characterization in Mice. *Neurotoxicity Research*. 2017; 31 (3): 327–33.
9. Kandimalla R, Thirumala V, Reddy PH. Is Alzheimer's disease a Type 3 Diabetes? A critical appraisal. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Basis of Disease*. 2017; 1863 (5): 1078–89.
10. Gupta S, Yadav K, Mantri SS, Singhal NK, Ganesh S, Sandhir R. Evidence for Compromised Insulin Signaling and Neuronal Vulnerability in Experimental Model of Sporadic Alzheimer's Disease. *Molecular Neurobiology*. 2018; 55 (12): 8916–35.

11. Gorina YaV, Komleva YuK, Lopatina OL, Chernyh AI, Salmina AB. Jekspressija molekul — komponentov insulin-oposredovannoj signal'noj transdukcii v kletkah golovnogo mozga pri jeksperimental'noj bolezni Al'cgejmerna. *Annaly klinicheskoj i jeksperimental'noj nevrologii*. 2019; 13 (4): 28–37. DOI: 10.25692/ACEN.2019.4.5. Russian.
12. Vercruyse P, Vieau D, Blum D, Petersen A, Dupuis L. Hypothalamic Alterations in Neurodegenerative Diseases and Their Relation to Abnormal Energy Metabolism. *Front Mol Neurosci*. 2018; 11: 2. DOI: 10.3389/fnmol.2018.00002.
13. Rizzoti K, Lovell-Badge R. Pivotal role of median eminence tanycytes for hypothalamic function and neurogenesis. *Molecular and Cellular Endocrinology*. 2017; 445: 7–13.
14. Geller S, Arribat Y, Netzahualcoyotzi C, Lagarrigue S, Carneiro L, Zhang L, et al. Tanycytes Regulate Lipid Homeostasis by Sensing Free Fatty Acids and Signaling to Key Hypothalamic Neuronal Populations via FGF21 Secretion. *Cell Metabolism*. 2019; 30 (4): 833–44.
15. Bolborea M, Langlet F. What is the physiological role of hypothalamic tanycytes in metabolism? *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*. 2021; 320 (6): R994–R1003.
16. Yoo S, Cha D, Kim S, Jiang L, Cooke P, Adebesein M, et al. Tanycyte ablation in the arcuate nucleus and median eminence increases obesity susceptibility by increasing body fat content in male mice. *Glia*. 2020; 68 (10): 1987–2000.
17. Bolborea M, Pollatzek E, Benford H, Sotelo-Hitschfeld T, Dale N. Hypothalamic tanycytes generate acute hyperphagia through activation of the arcuate neuronal network. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2020; 117 (25): 14473–81.
18. Raikwar SP, Bhagavan SM, Ramaswamy SB, Thangavel R, Dubova I, Selvakumar GP, et al. Are Tanycytes the Missing Link Between Type 2 Diabetes and Alzheimer's Disease? *Molecular Neurobiology*. 2019; 56 (2): 833–43.
19. Ahn Y, Seo J, Park J, Won J, Yeo HG, Kim K, et al. Synaptic loss and amyloid beta alterations in the rodent hippocampus induced by streptozotocin injection into the cisterna magna. *Lab Anim Res*. 2020; 36: 17.
20. Zappa Villar MF, López Hanotte J, Falomir Lockhart E, Trípodí LS, Morel GR, Reggiani PC. Intracerebroventricular streptozotocin induces impaired Barnes maze spatial memory and reduces astrocyte branching in the CA1 and CA3 hippocampal regions. *J Neural Transm (Vienna)*. 2018; 125 (12): 1787–803. DOI: 10.1007/s00702-018-1928-7.
21. Agrawal R, Tyagi E, Shukla R, Nath C. Insulin receptor signaling in rat hippocampus: a study in STZ (ICV) induced memory deficit model. *Eur Neuropsychopharmacol*. 2011; 21 (3): 261–73. DOI: 10.1016/j.euroneuro.2010.11.009.
22. González-García I, Gruber T, García-Cáceres, C. Insulin action on astrocytes: From energy homeostasis to behaviour. *J Neuroendocrinol*. 2021; 33 (4): e12953. DOI: 10.1111/jne.12953.
23. Koopman ACM, Taziaux M, Bakker J. Age-related changes in the morphology of tanycytes in the human female infundibular nucleus/median eminence. *J Neuroendocrinol*. 2017; 29 (5). DOI: 10.1111/jne.12467.
24. Ishii M, Iadecola C. Metabolic and Non-Cognitive Manifestations of Alzheimer's Disease: The Hypothalamus as Both Culprit and Target of Pathology. *Cell Metab*. 2015; 22 (5): 761–76. DOI: 10.1016/j.cmet.2015.08.016
25. Daimon CM, Chirdon P, Maudsley S, Martin B. The role of Thyrotropin Releasing Hormone in aging and neurodegenerative diseases. *Am J Alzheimers Dis (Columbia)*. 2013; 1 (1). DOI: 10.7726/ajad.2013.1003
26. Rodríguez-Rodríguez A, Lazcano I, Sánchez-Jaramillo E, Uribe RM, Jaimes-Hoy L, Joseph-Bravo P, et al. Tanycytes and the Control of Thyrotropin-Releasing Hormone Flux Into Portal Capillaries. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2019; 10: 401. DOI: 10.3389/fendo.2019.00401.
27. García M de los A, Millán C, Balmaceda-Aguilera C, Castro T, Pastor P, Montecinos H, et al. Hypothalamic ependymal-glia cells express the glucose transporter GLUT2, a protein involved in glucose sensing. *Journal of Neurochemistry*. 2003; 86 (3): 709–24.
28. Lewis JE, Ebling FJ. Tanycytes As Regulators of Seasonal Cycles in Neuroendocrine Function. *Front Neurol*. 2017; 8: 79. DOI: 10.3389/fneur.2017.00079. PMID: 28344570; PMCID: PMC5344904.
29. Uranga RM, Millán C, Barahona MJ, Recabal A, Salgado M, Martínez F, et al. Adenovirus-mediated suppression of hypothalamic glucokinase affects feeding behavior. *Scientific Reports*. 2017; 7 (1): 3697.
30. Bloch K, Gil-Ad I, Vanichkin A, Hornfeld SH, Koroukhov N, Taler M, et al. Intracerebroventricular Streptozotocin Induces Obesity and Dementia in Lewis Rats. *Journal of Alzheimer's Disease*. 2017; 60 (1): 121–36.
31. Stavrovskaya AV, Voronkov DN, Shestakova EA, Gushchina AS, Olshansky AS, Yamshikova NG. Streptozotocin-inducirovannaja bolezni' Al'cgejmerna kak samostojatel'nyj faktor riska razvitiya giperglikemii u krysi linii Vistar. *Problemy jendokrinologii*. 2019; 65 (5): 351–61. Russian.
32. Raza H, Prabu SK, John A, Avadhani NG. Impaired Mitochondrial Respiratory Functions and Oxidative Stress in Streptozotocin-Induced Diabetic Rats. *International Journal of Molecular Sciences*. 2011; 12 (5): 3133–47.
33. Correia SC, Santos RX, Santos MS, Casadesus G, LaManna JC, Perry G, et al. Mitochondrial Abnormalities in a Streptozotocin-Induced Rat Model of Sporadic Alzheimer's Disease. *Current Alzheimer Research*. 2013; 10 (4). Available from: <https://DOI.org/10.2174/1567205011310040006>
34. Poddar J, Singh S, Kumar P, Bali S, Gupta S, Chakrabarti S. Inhibition of complex I-III activity of brain mitochondria after intracerebroventricular administration of streptozotocin in rats is possibly related to loss of body weight. *Heliyon*. 2020; 6 (7): e04490.24.
35. Genrikhs EE, Stelmashook EV, Golyshev SA, Aleksandrova OP, Isaev NK. Streptozotocin causes neurotoxic effect in cultured cerebellar granule neurons. *Brain Research Bulletin*. 2017; 130: 90–94. ht
36. Sweeney G, Song J. The association between PGC-1 α and Alzheimer's disease. *Anatomy and Cell Biology*. 2016; 49 (1): 1.
37. Rius-Pérez S, Torres-Cuevas I, Millán I, Ortega ÁL, Pérez S. PGC-1 α , Inflammation, and Oxidative Stress: An Integrative View in Metabolism. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 2020; 1–20.
38. Sun P, Ortega G, Tan Y, Hua Q, Riederer PF, Deckert J, et al. Streptozotocin Impairs Proliferation and Differentiation of Adult Hippocampal Neural Stem Cells in Vitro—Correlation With Alterations in the Expression of Proteins Associated With the Insulin System. *Frontiers in Aging Neuroscience*. 2018; 10. Available from: <https://DOI.org/10.3389/fnagi.2018.00145>.
39. Isaev NK, Genrikhs EE, Voronkov DN, Kapkaeva MR, Stelmashook EV. Streptozotocin toxicity in vitro depends on maturity of neurons. *Toxicology and Applied Pharmacology*. 2018; 348: 99–104.
40. Yoo S, Kim J, Lyu P, Hoang TV, Ma A, Trinh V, et al. Control of neurogenic competence in mammalian hypothalamic tanycytes. *Science Advances*. 2021; 7 (22): eabg3777. Available from: <https://DOI.org/10.1126/sciadv.abg3777>.