

**МОДУЛИРУЮЩЕЕ ВЛИЯНИЕ НЕЙРОПЕПТИДА Y  
НА БИОЭЛЕКТРИЧЕСКУЮ АКТИВНОСТЬ НЕЙРОНОВ  
СУПРАХИАЗМАТИЧЕСКОГО ЯДРА ГИПОТАЛАМУСА КРЫС**

*А.А. Петрова\*, А.Н. Инюшкин\**

\*Самарский национальный исследовательский университет имени академика С.П. Королева (г. Самара)

Нейропептид Y играет важную роль в настройке нейронов супрахиазматического ядра гипоталамуса – главного циркадианного осциллятора в организме человека и млекопитающих. Изучено влияние аппликаций 10 нМ нейропептида Y на спайковую активность и параметры спайкового кода нейронов супрахиазматического ядра гипоталамуса крыс *in vitro*. Использован авторский подход к анализу спайковой активности, заключающийся в расчете энтропии распределения межспайковых интервалов и обоюдной информации между сопряженными межспайковыми интервалами наряду с определением средней частоты генерации спайков. Это позволило исследовать воздействие нейропептида Y не только на уровень активности клеток, но и на степень нерегулярности генерации потенциалов действия и паттернирование спайковой информации. При анализе эффектов нейропептида Y выявлены реакции двух типов: снижение (43,2 % нейронов) и повышение (9,9 %) частоты генерации потенциалов действия. У оставшихся нейронов (46,9 %) изменений данного показателя активности не обнаружено. В целом во всей группе исследованных нейронов ( $n = 81$ ) выявлены статистически значимые уменьшение уровня активности и рост обоюдной информации между сопряженными межспайковыми интервалами. Полученные результаты показывают, что нейропептид Y способен оказывать влияние на уровень спайковой активности и параметры спайкового кода нейронов супрахиазматического ядра гипоталамуса.

**Ключевые слова:** *нейропептид Y, циркадианные ритмы, нейроны головного мозга, спайковая активность, супрахиазматическое ядро.*

Наибольший интерес среди биологических ритмов человека и млекопитающих представляют циркадианные ритмы, имеющие период около 24 ч. Они генерируются главным циркадианным осциллятором супрахиазматиче-

ского ядра (СХЯ) гипоталамуса. Для точной настройки этого осциллятора на 24-часовой ритм необходима его синхронизация с событиями внешнего мира. Синхронизация осуществляется двумя основными путями: фотическая

---

**Ответственный за переписку:** Инюшкин Алексей Николаевич, адрес: 443011, г. Самара, ул. Академика Павлова, д. 1; e-mail: ainyushkin@mail.ru

**Для цитирования:** Петрова А.А., Инюшкин А.Н. Модулирующее влияние нейропептида Y на биоэлектрическую активность нейронов супрахиазматического ядра гипоталамуса крыс // Журн. мед.-биол. исследований. 2017. Т. 5, № 3. С. 79–86. DOI: 10.17238/issn2542-1298.2017.5.3.79

настройка – посредством поступления фотической информации по ретиногипоталамическому тракту; нефотическая настройка – по геникулогипоталамическому пути из межколленчатой пластинки таламуса и серотонинергическому пути от ядер шва. Важная интегрированная афферентная информация (фотическая и нефотическая) для настройки СХЯ приходит из области межколленчатой пластинки. Расположенные там нейроны передают информацию на супрахиазматические клетки с помощью нейропептида  $Y$  (НПУ). Таким образом, это вещество во многом определяет функцию циркадианного осциллятора.

НПУ представляет собой линейный полипептид, содержащий 36 аминокислот. Он принадлежит к семейству панкреатического полипептида и впервые был выделен из мозга свиней [1]. Установлено, что он является одним из наиболее структурно консервативных пептидов, имеющих у представителей животного царства [2].

НПУ распространен в центральной и периферической нервной системе [3]. В наиболее высокой концентрации НПУ образуется в нейронах аркуатного ядра гипоталамуса, где он сосуществует с агути-родственным пептидом (AgRP), и в стволе мозга, откуда по системе аксонного транспорта поступает в паравентрикулярное ядро (как правило, к нейронам, продуцирующим кортикотропин-рилизинг-фактор) и в прилегающие области [4]. На периферии обнаружено три основных пула НПУ: в симпатических нервных волокнах, в мозговом веществе надпочечников и в тромбоцитах [5, 6].

НПУ-ергическая система является одной из самых сложных, т. к. включает в себя необычайно разнообразие подтипов специфических рецепторов, составляющих семейство  $Y$ -рецепторов [7]. На данный момент у млекопитающих выявлено 5 видов рецепторов данного семейства –  $Y_1$ -,  $Y_2$ -,  $Y_4$ -,  $Y_5$ - и  $Y_6$ -рецепторы [8]. НПУ связывается преимущественно с  $Y_1$ -,  $Y_2$ - и  $Y_5$ -рецепторами [9]. В СХЯ обнаружено по меньшей мере два подтипа рецепторов к НПУ:  $Y_1$ - и  $Y_2$ -рецепторы [10], причем каждый из них является участником различных физиологических эффектов в ответ

на аппликацию НПУ. Согласно существующим представлениям, НПУ принимает участие в регуляции многих физиологических функций организма человека и животных. Ранние исследования функций НПУ позволили установить, что он вовлечен в процессы энергетического обмена и водного баланса [11]. Стоит отдельно отметить роль НПУ в регуляции пищевого поведения в качестве нейрхимического стимулятора приема пищи: ряд исследований показал, что НПУ – наиболее мощный орексигенный пептид из идентифицированных на сегодняшний день [12].

НПУ играет важную регулируемую роль в циркадианной системе млекопитающих, участвуя в механизмах опосредованной передачи информации от фоторецепторов сетчатки в СХЯ гипоталамуса, являясь главным нейротрансммиттером геникулогипоталамического пути. Известно, что около 60 % аксонов нейронов данного пути от общего числа являются иммунореактивными к НПУ [13].

В исследованиях [14] показано, что уровень НПУ в СХЯ колеблется с бимодальным ритмом: пики возникают через 2 ч после переходов от света к темноте и в обратном направлении. В естественных условиях смены дня и ночи пик НПУ следует после каждого перехода от дня к ночи, или наоборот: возможно, НПУ служит гуморальным сигналом ступенчатого изменения уровня освещенности окружающей среды.

В ходе использования фармакологических агентов с различной аффинностью к  $Y_1$ -,  $Y_2$ - и  $Y_5$ -рецепторам было выявлено, что  $Y_2$ -рецепторы играют основную роль в опосредовании фазового сдвига, вызванного введением НПУ [15], а  $Y_5$ -рецепторы – в ингибировании уровня спайковой активности нейронов СХЯ [16].

Целью настоящего исследования был анализ характера изменений параметров спайковой активности при аппликациях НПУ к нейронам СХЯ крыс *in vitro*.

**Материалы и методы.** Экспериментальный протокол был согласован с комиссией по биологической этике Самарского национального исследовательского университета имени

академика С.П. Королева. Эксперименты выполнены на крысах-самцах Вистар массой 70–160 г, наркотизированных уретаном (1,2 г/кг массы тела) внутрибрюшинно. Животных декапитировали, с помощью вибратора готовили сагиттальные срезы гипоталамуса толщиной 300 мкм, включающие исследуемую область. Срезы перфузировали насыщенным кислородом искусственной цереброспинальной жидкостью (124 мМ NaCl, 25 мМ NaHCO<sub>3</sub>, 3 мМ KCl, 1,5 мМ CaCl<sub>2</sub>, 1 мМ MgSO<sub>4</sub>, 0,5 мМ NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 30 мМ глюкозы) при температуре 37 °С.

Спайковую активность нейронов СХЯ регистрировали внеклеточно, с использованием стеклянных микроэлектродов с диаметром кончика около 1 мкм при температуре 27–30 °С. Визуализацию сигнала, хранение и первичную обработку данных осуществляли при помощи персонального компьютера. После появления спайковой активности наблюдали за ее стабильностью в исходном состоянии не менее 10 мин, затем перфузию меняли на раствор того же состава с добавлением 10 нМ НПУ на 10 мин, после чего возвращались к исходному раствору для «отмывания» среза от пептида в течение 15 мин. На каждый срез производили однократную аппликацию НПУ, чтобы исключить возможность десенситизации.

Обработка полученных данных включала в себя расчет средней частоты генерации спайков, энтропии распределения межспайковых интервалов и обоюдной информации между сопряженными межспайковыми интервалами. Последние два параметра характеризуют спайковое кодирование информации [17–21]. Для выявления возможных влияний НПУ на параметры спайковой активности сравнивали значения двух 5-минутных записей: в исходном состоянии (непосредственно перед аппликацией пептида) и в конце периода аппликации.

Полученные экспериментальные данные подвергали статистической обработке. Сравнение исследуемых показателей с исходным состоянием производили с помощью парного *t*-теста или рангового теста Уилкоксона (в случае несоответствия распределения данных в выборках

нормальному). Статистические данные о параметрах спайковой активности нейронов в выборках с нормальным распределением представлены в виде среднего арифметического и стандартной ошибки среднего. Изменения исследуемых параметров считали статистически значимыми при  $p < 0,05$ .

**Результаты.** Всего была зарегистрирована активность 81 нейрона СХЯ. В исходном состоянии частота генерации спайков равнялась  $(2,62 \pm 0,29) \text{ с}^{-1}$ , энтропия распределения межспайковых интервалов составляла  $(6,62 \pm 0,11)$  бит, а обоюдная информация между сопряженными межспайковыми интервалами –  $(0,056 \pm 0,013)$  бит.

При анализе воздействия НПУ на уровень спайковой активности нейронов СХЯ выявлены реакции двух типов: снижение ( $n = 35$ ) и повышение ( $n = 8$ ) частоты генерации потенциалов действия. У оставшихся нейронов ( $n = 38$ ) изменений данного показателя активности не обнаружено.

В группе нейронов, у которых было отмечено снижение частоты генерации спайков, медиана данного показателя изменилась с 1,33 до  $0,95 \text{ с}^{-1}$  ( $p < 0,001$ : ранговый тест Уилкоксона). Кроме этого, в данной группе клеток наблюдалось увеличение энтропии распределения межспайковых интервалов (медиана) с 6,92 до 7,16 бит ( $p = 0,005$ : ранговый тест Уилкоксона), что указывает на повышение степени нерегулярности генерации спайков в нейронном коде под влиянием НПУ. Вместе с тем был зарегистрирован статистически значимый рост обоюдной информации между сопряженными межспайковыми интервалами ( $p = 0,020$ : ранговый тест Уилкоксона), свидетельствующий об увеличении степени паттернирования информации в спайковом коде.

У нейронов с ростом уровня спайковой активности в ответ на аппликацию НПУ зафиксировано повышение частоты генерации спайков (медиана) с 0,76 до  $1,71 \text{ с}^{-1}$  ( $p = 0,008$ : ранговый тест Уилкоксона). Изменений двух других параметров в данной группе нейронов обнаружено не было.

У оставшихся нейронов изменений частоты генерации спайков в ответ на аппликацию 10 нМ НПУ не выявлено: медиана этого показателя в исходном состоянии была равна  $2,56 \text{ с}^{-1}$ , а при воздействии НПУ –  $2,59 \text{ с}^{-1}$  ( $p = 0,331$ : ранговый тест Уилкоксона). В этой группе нейронов также не выявлено изменений энтропии распределения межспайковых интервалов и обоюдной информации между сопряженными межспайковыми интервалами.

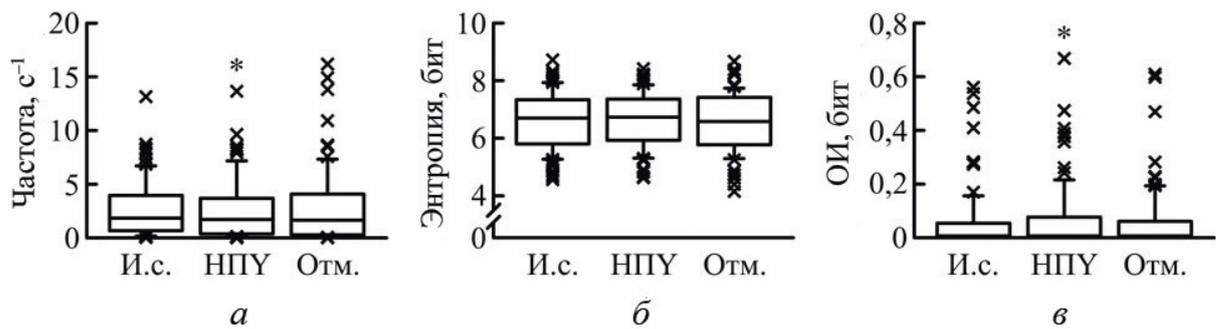
При анализе изучаемых параметров в целом для всей группы исследуемых клеток (см. рисунок) установлено, что средняя частота генерации спайков снижалась, о чем можно судить по уменьшению медианы данного показателя с  $1,85$  до  $1,72 \text{ с}^{-1}$  ( $p = 0,011$ : ранговый тест Уилкоксона). При этом также выявлен рост обоюдной информации между сопряженными межспайковыми интервалами ( $p = 0,037$ : ранговый тест Уилкоксона). Изменений энтропии распределения межспайковых интервалов в целом для группы не произошло ( $p = 0,237$ : ранговый тест Уилкоксона).

Реакции на воздействие НПУ характеризовались обратимостью: после 15-минутного «отмывания» среза искусственной cerebrospinalной жидкостью значения всех исследуемых показателей не отличались от исходных.

**Обсуждение.** В ходе настоящего исследования на переживающих срезах гипоталамуса

крыс установлено, что НПУ вызывает изменения параметров спайковой активности популяции нейронов СХЯ, при этом наблюдается преимущественно ингибирующий эффект. Механизмы активности данного пептида на уровне клеток циркадианного осциллятора изучаются. В частности, известно, что НПУ способен модулировать эффективность афферентной глутаматергической синаптической передачи от ретиногипоталамического тракта, а также вызывать депрессию ГАМК-зависимого кальциевого тока в нейронах СХЯ, этот эффект инициировался воздействием агонистов  $Y_1$ - и  $Y_2$ -рецепторов [22].

По данным литературы, НПУ оказывает два основных эффекта на синаптическую передачу и все три типа рецепторов нейронов СХЯ к НПУ ( $Y_1$ ,  $Y_2$  и  $Y_3$ ) опосредуют эти эффекты. Первым типом реакции является пресинаптическое торможение. Данный тип выявлен во многих нейроэффektorных соединениях, а также в некоторых центральных синапсах [23]. Способность НПУ участвовать в механизме пресинаптического торможения является основным типом его воздействия на уровне центральной и периферической нервной системы [24]. Существует предположение, что данное пресинаптическое действие НПУ может быть вызвано способностью пептида ингибировать кальциевые каналы, вовлеченные в механизмы высвобождения



Влияние 10 нМ нейропептида Y на параметры спайкового кодирования всей совокупности зарегистрированных нейронов ( $n = 81$ ): а – частоту генерации потенциалов действия; б – энтропию распределения межспайковых интервалов; в – обоюдную информацию (ОИ) между сопряженными межспайковыми интервалами (И.с. – исходное состояние; НПУ – на фоне действия нейропептида Y; Отм. – после «отмывания» среза искусственной cerebrospinalной жидкостью; \* – статистически значимые различия с исходным состоянием,  $p < 0,05$  по ранговому тесту Уилкоксона)

нейромедиаторов. К примеру, было установлено, что НПУ может производить пресинаптическое торможение высвобождения глутамата и ГАМК в нейронах аркуатного ядра [25]. Вторым эффектом – способность НПУ активировать  $K^+$ -ток в нейронах. Активация калиевых каналов связана с воздействием НПУ на G-белок-связанные рецепторы на нейронах [26]. По всей видимости, данный эффект НПУ реализуется посредством сопряженных с G-протеинами калиевых каналов входящего выпрямления (GIRK) [27–29]. Активация рецептора калиевого тока типа GIRK и кальциевого тока опосредованы действием  $\beta/\gamma$ -субъединиц G-белка [30]. Предыдущие исследования показали, что постсинаптические действия НПУ могут быть связаны с активацией  $Y_1$ -рецептора [31]. Коаппликация антагонистов  $Y_1$ - и  $Y_2$ -рецепторов полностью устраняет НПУ-индуцированную гиперполяризацию, что указывает на роль постсинаптических рецепто-

ров  $Y_2$ . В некоторых областях мозга, таких как гиппокамп,  $Y_2$ -рецепторы в основном вовлечены в процесс пресинаптического торможения с наибольшим постсинаптическим эффектом [32].

Способность НПУ ингибировать высвобождение нейротрансмиттеров, предположительно, может быть результатом нескольких типов эффектов, вызванных пресинаптическим торможением [33, 34]: 1) пресинаптическая активация калиевой проводимости, приводящая к шунтированию потенциала действия и снижению высвобождения нейротрансмиттеров; 2) прямое торможение кальциевых каналов в нервных окончаниях, связанных с высвобождением нейротрансмиттеров, которое, предположительно, также вызывает снижение высвобождения; 3) активация некоторых G-белок-связанных рецепторов, которая может приводить к прямым эффектам, влияющим на высвобождение нейротрансмиттеров.

## Список литературы

1. *Tatemoto K., Calquist M., Mutt V.* Neuropeptide Y – A Novel Brain Peptide with Structural Similarities to Peptide YY and Pancreatic Polypeptide // *Nature*. 1982. Vol. 296, № 5858. P. 659–660.
2. *Larsson T.A., Olsson F., Sundstrom G., Lundin L.G., Brenner S., Venkatesh B., Larhammar D.* Early Vertebrate Chromosome Duplications and the Evolution of the Neuropeptide Y Receptor Gene Regions // *BMC Evol. Biol.* 2008. Vol. 8. Art. № 184.
3. *Wahlestedt C., Reis D.J.* Neuropeptide Y-Related Peptides and Their Receptors – Are the Receptors Potential Therapeutic Drug Targets? // *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 1993. Vol. 33. P. 309–352.
4. *Pu S., Jain M.R., Horvath T.L., Diano S., Kalra P.S., Kalra S.P.* Interactions Between Neuropeptide Y and Gamma-Aminobutyric Acid in Stimulation of Feeding: A Morphological and Pharmacological Analysis // *Endocrinology*. 1999. Vol. 140, № 2. P. 933–940.
5. *Hexum T.D., Majane E.A., Russett L.R., Yang H.Y.* Neuropeptide Y Release from the Adrenal Medulla After Cholinergic Receptor Stimulation // *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 1987. Vol. 243, № 3. P. 927–930.
6. *Myers A.K., Torres Duarte A.P., Zukowska-Grojec Z.* Immunoreactive Neuropeptide Y (NPY) in Plasma and Platelets of Rat and Mouse Strains and Human Volunteers // *Regul. Pept.* 1993. Vol. 47, № 3. P. 239–245.
7. *Larhammar D., Fredriksson R., Larson E.T., Salaneck E.* Phylogeny of NPY-Family Peptides and Their Receptors // *Neuropeptide Y and Related Peptides*. Berlin, 2004. P. 75–100.
8. *Larhammar D., Wraith A., Berglund M.M., Holmberg S.K.S., Lundell I.* Origins of the Many NPY-Family Receptors in Mammals // *Peptides*. 2001. Vol. 22, № 3. P. 295–307.
9. *Redrobe J.P., Dumont Y., Quirion R.* Neuropeptide Y (NPY) and Depression: From Animal Studies to the Human Condition // *Life Sci.* 2002. Vol. 71, № 25. P. 2921–2937.
10. *McDermott B.J., Bell D.* NPY and Cardiac Diseases // *Curr. Top. Med. Chem.* 2007. Vol. 7, № 17. P. 1692–1703.
11. *Leibowitz S.F.* Hypothalamic Neuropeptide Y in Relation to Energy Balance // *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 1990. Vol. 611. P. 284–301.
12. *Edelstein K., Amir S.* The Role of the Intergeniculate Leaflet in Entrainment of Circadian Rhythms to a Skeleton Photoperiod // *J. Neurosci.* 1999. Vol. 19, № 1. P. 372–380.
13. *Card J.P., Moore R.Y.* Organization of Lateral Geniculate-Hypothalamic Connections in the Rat // *J. Comp. Neurol.* 1989. Vol. 284, № 1. P. 135–147.

14. Shinohara K., Tominaga K., Isobe Y., Inouye S-I.T. Photic Regulation of Peptides Located in the Ventrolateral Subdivision of the Suprachiasmatic Nucleus of the Rat: Daily Variations of Vasoactive Intestinal Polypeptide, Gastrin-Releasing Peptide and Neuropeptide Y // *J. Neurosci.* 1993. Vol. 13, № 2. P. 793–800.
15. Golombek D.A., Biello S.M., Rendon R.A., Harrington M.E. Neuropeptide Y Phase Shifts the Circadian Clock *in vitro* via a Y2 Receptor // *Neuroreport.* 1996. Vol. 7, № 7. P. 1315–1319.
16. Gribkoff V.K., Pieschl R.L., Wisialowski T.A., van den Pol A.N., Yocca F.D. Phase Shifting of Circadian Rhythms and Depression of Neuronal Activity in the Rat Suprachiasmatic Nucleus by Neuropeptide Y: Mediation by Different Receptor Subtypes // *J. Neurosci.* 1998. Vol. 18, № 8. P. 3014–3022.
17. Bhumbra G.S., Dyball R.E.D. Spike Coding from Perspective of a Neurone // *Cogn. Process.* 2005. Vol. 6, № 3. P. 157–176.
18. Bhumbra G.S., Inyushkin A.N., Dyball R.E.D. Assessment of Spike Activity in the Supraoptic Nucleus // *J. Neuroendocrinol.* 2004. Vol. 16, № 4. P. 390–397.
19. Bhumbra G.S., Inyushkin A.N., Saeb-Parsy K., Hon A., Dyball R.E.D. Rhythmic Changes in Spike Coding in the Rat Suprachiasmatic Nucleus // *J. Physiol.* 2005. Vol. 653, № 1. P. 291–307.
20. Inyushkin A.N., Bhumbra G.S., Dyball R.E.D. Leptin Modulates Spike Coding in the Rat Suprachiasmatic Nucleus // *J. Neuroendocrinol.* 2009. Vol. 21, № 8. P. 705–714.
21. Inyushkin A.N., Bhumbra G.S., Gonzalez J.A., Dyball R.E.D. Melatonin Modulates Spike Coding in the Rat Suprachiasmatic Nucleus // *J. Neuroendocrinol.* 2007. Vol. 19, № 9. P. 671–681.
22. Obrietan K., van den Pol A.N. Neuropeptide Y Depresses GABA-Mediated Calcium Transients in Developing Suprachiasmatic Nucleus Neurons: A Novel Form of Calcium Long-Term Depression // *J. Neurosci.* 1996. Vol. 16, № 10. P. 3521–3533.
23. Toth P.T., Bindokas V.P., Bleakman D., Colmers W.F., Miller R.J. Mechanism of Presynaptic Inhibition by Neuropeptide Y at Sympathetic Nerve Terminals // *Nature.* 1993. № 364. P. 635–639.
24. Colmers W.F., Bleakman D. Effects of Neuropeptide Y on the Electrical Properties of Neurons // *Trends Neurosci.* 1994. Vol. 17, № 9. P. 373–379.
25. Rhim H., Kinney G.A., Emmerson P.J., Miller R.J. Regulation of Neurotransmission in the Arcuate Nucleus of the Rat by Different Neuropeptide Y Receptors // *J. Neurosci.* 1997. Vol. 17, № 9. P. 2980–2989.
26. Židichouski J.A., Chen H., Smith P.A. Neuropeptide Y Activates Inwardly-Rectifying K<sup>+</sup>-Channels in C-Cells of Amphibian Sympathetic Ganglia // *Neurosci. Lett.* 1990. Vol. 117, № 1–2. P. 123–128.
27. Acuna-Goycolea C., Tamamaki N., Yanagawa Y., Obata K., van den Pol A.N. Mechanisms of Neuropeptide Y, Peptide YY, and Pancreatic Polypeptide Inhibition of Identified Green Fluorescent Protein-Expressing GABA Neurons in the Hypothalamic Neuroendocrine Arcuate Nucleus // *J. Neurosci.* 2005. Vol. 25, № 32. P. 7406–7419.
28. Paredes M.F., Greenwood J., Baraban S.C. Neuropeptide Y Modulates a G Protein-Coupled Inwardly Rectifying Potassium Current in the Mouse Hippocampus // *Neurosci. Lett.* 2003. Vol. 340, № 1. P. 9–12.
29. Sosulina L., Schwesig G., Seifert G., Pape H.C. Neuropeptide Y Activates a G-Protein-Coupled Inwardly Rectifying Potassium Current and Dampens Excitability in the Lateral Amygdala // *Mol. Cell. Neurosci.* 2008. Vol. 39, № 3. P. 491–498.
30. Huang C.-L., Slesinger P.A., Casey P.J., Jan Y.N., Jan L.Y. Evidence That Direct Binding of G<sub>βγ</sub> to the GIRK1 G Protein-Gated Inwardly Rectifying K<sup>+</sup> Channel Is Important for Channel Activation // *Neuron.* 1995. Vol. 15, № 5. P. 1133–1143.
31. Sun Q.Q., Baraban S.C., Prince D.A., Huguenard J.R. Target-Specific Neuropeptide Y-Ergic Synaptic Inhibition and Its Network Consequences Within the Mammalian Thalamus // *J. Neurosci.* 2003. Vol. 23, № 29. P. 9639–9649.
32. Colmers W.F., Klapstein G.J., Fournier A., St.-Pierre S., Treherne K.A. Presynaptic Inhibition by Neuropeptide Y in Rat Hippocampal Slice *in vitro* Is Mediated by a Y2 Receptor // *Br. J. Pharmacol.* 1991. Vol. 102, № 1. P. 41–44.
33. Ikeda S.R. Voltage-Dependent Modulation of N-Type Calcium Channels by G-Protein βγ Subunits // *Nature.* 1996. Vol. 380, № 6571. P. 255–258.
34. Scholz K.P., Miller R.J. Inhibition of Quantal Transmitter Release in the Absence of Calcium Influx by a G Protein-Linked Adenosine Receptor at Hippocampal Synapses // *Neuron.* 1992. Vol. 8, № 6. P. 1139–1150.

## References

1. Tatemoto K., Calquist M., Mutt V. Neuropeptide Y – a Novel Brain Peptide with Structural Similarities to Peptide YY and Pancreatic Polypeptide. *Nature*, 1982, vol. 296, no. 5858, pp. 659–660.
2. Larsson T.A., Olsson F., Sundstrom G., Lundin L.G., Brenner S., Venkatesh B., Larhammar D. Early Vertebrate Chromosome Duplications and the Evolution of the Neuropeptide Y Receptor Gene Regions. *BMC Evol. Biol.*, 2008, vol. 8. Art. no. 184.

3. Wahlestedt C., Reis D.J. Neuropeptide Y-Related Peptides and Their Receptors – Are the Receptors Potential Therapeutic Drug Targets? *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, 1993, vol. 33, pp. 309–352.
4. Pu S., Jain M.R., Horvath T.L., Diano S., Kalra P.S., Kalra S.P. Interactions Between Neuropeptide Y and Gamma-Aminobutyric Acid in Stimulation of Feeding: A Morphological and Pharmacological Analysis. *Endocrinology*, 1999, vol. 140, no. 2, pp. 933–940.
5. Hexum T.D., Majane E.A., Russett L.R., Yang H.Y. Neuropeptide Y Release from the Adrenal Medulla After Cholinergic Receptor Stimulation. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 1987, vol. 243, no. 3, pp. 927–930.
6. Myers A.K., Torres Duarte A.P., Zukowska-Grojec Z. Immunoreactive Neuropeptide Y (NPY) in Plasma and Platelets of Rat and Mouse Strains and Human Volunteers. *Regul. Pept.*, 1993, vol. 47, no. 3, pp. 239–245.
7. Larhammar D., Fredriksson R., Larson E.T., Salaneck E. Phylogeny of NPY-Family Peptides and Their Receptors. *Neuropeptide Y and Related Peptides*. Berlin, 2004, pp. 75–100.
8. Larhammar D., Wraith A., Berglund M.M., Holmberg S.K.S., Lundell I. Origins of the Many NPY-Family Receptors in Mammals. *Peptides*, 2001, vol. 22, no. 3, pp. 295–307.
9. Redrobe J.P., Dumont Y., Quirion R. Neuropeptide Y (NPY) and Depression: From Animal Studies to the Human Condition. *Life Sci.*, 2002, vol. 71, no. 25, pp. 2921–2937.
10. McDermott B.J., Bell D. NPY and Cardiac Diseases. *Curr. Top. Med. Chem.*, 2007, vol. 7, no. 17, pp. 1692–1703.
11. Leibowitz S.F. Hypothalamic Neuropeptide Y in Relation to Energy Balance. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 1990, vol. 611, pp. 284–301.
12. Edelstein K., Amir S. The Role of the Intergeniculate Leaflet in Entrainment of Circadian Rhythms to a Skeleton Photoperiod. *J. Neurosci.*, 1999, vol. 19, no. 1, pp. 372–380.
13. Card J.P., Moore R.Y. Organization of Lateral Geniculate-Hypothalamic Connections in the Rat. *J. Comp. Neurol.*, 1989, vol. 284, no. 1, pp. 135–147.
14. Shinohara K., Tominaga K., Isobe Y. Inouye, S-I.T. Photic Regulation of Peptides Located in the Ventrolateral Subdivision of the Suprachiasmatic Nucleus of the Rat: Daily Variations of Vasoactive Intestinal Polypeptide, Gastrin-Releasing Peptide and Neuropeptide Y. *J. Neurosci.*, 1993, vol. 13, no. 2, pp. 793–800.
15. Golombek D.A., Biello S.M., Rendon R.A., Harrington M.E. Neuropeptide Y Phase Shifts the Circadian Clock *in vitro* via a Y2 Receptor. *Neuroreport*, 1996, vol. 7, no. 7, pp. 1315–1319.
16. Gribkoff V.K., Pieschl R.L., Wisialowski T.A., van den Pol A.N., Yocca F.D. Phase Shifting of Circadian Rhythms and Depression of Neuronal Activity in the Rat Suprachiasmatic Nucleus by Neuropeptide Y: Mediation by Different Receptor Subtypes. *J. Neurosci.*, 1998, vol. 18, no. 8, pp. 3014–3022.
17. Bhumbra G.S., Dyball R.E.D. Spike Coding from Perspective of a Neurone. *Cogn. Process.*, 2005, vol. 6, no. 3, pp. 157–176.
18. Bhumbra G.S., Inyushkin A.N., Dyball R.E.D. Assessment of Spike Activity in the Supraoptic Nucleus. *J. Neuroendocrinol.*, 2004, vol. 16, no. 4, pp. 390–397.
19. Bhumbra G.S., Inyushkin A.N., Saeb-Parsy K., Hon A., Dyball R.E.D. Rhythmic Changes in Spike Coding in the Rat Suprachiasmatic Nucleus. *J. Physiol.*, 2005, vol. 563, no. 1, pp. 291–307.
20. Inyushkin A.N., Bhumbra G.S., Dyball R.E.D. Leptin Modulates Spike Coding in the Rat Suprachiasmatic Nucleus. *J. Neuroendocrinol.*, 2009, vol. 21, no. 8, pp. 705–714.
21. Inyushkin A.N., Bhumbra G.S., Gonzalez J.A., Dyball R.E.D. Melatonin Modulates Spike Coding in the Rat Suprachiasmatic Nucleus. *J. Neuroendocrinol.*, 2007, vol. 19, no. 9, pp. 671–681.
22. Obrietan K., van den Pol A.N. Neuropeptide Y Depresses GABA-Mediated Calcium Transients in Developing Suprachiasmatic Nucleus Neurons: A Novel Form of Calcium Long-Term Depression. *J. Neurosci.*, 1996, vol. 16, no. 10, pp. 3521–3533.
23. Toth P.T., Bindokas V.P., Bleakman D., Colmers W.F., Miller R.J. Mechanism of Presynaptic Inhibition by Neuropeptide Y at Sympathetic Nerve Terminals. *Nature*, 1993, vol. 364, pp. 635–639.
24. Colmers W.F., Bleakman D. Effects of Neuropeptide Y on the Electrical Properties of Neurons. *Trends Neurosci.*, 1994, no. 17, no. 9, pp. 373–379.
25. Rhim H., Kinney G.A., Emmerson P.J., Miller R.J. Regulation of Neurotransmission in the Arcuate Nucleus of the Rat by Different Neuropeptide Y Receptors. *J. Neurosci.*, 1997, vol. 17, no. 9, pp. 2980–2989.
26. Zidichouski J.A., Chen H., Smith P.A. Neuropeptide Y Activates Inwardly-Rectifying K<sup>+</sup>-Channels in C-Cells of Amphibian Sympathetic Ganglia. *Neurosci. Lett.*, 1990, vol. 117, no. 1–2, pp. 123–128.

27. Acuna-Goycolea C., Tamamaki N., Yanagawa Y., Obata K., van den Pol A.N. Mechanisms of Neuropeptide Y, Peptide YY, and Pancreatic Polypeptide Inhibition of Identified Green Fluorescent Protein-Expressing GABA Neurons in the Hypothalamic Neuroendocrine Arcuate Nucleus. *J. Neurosci.*, 2005, vol. 25, no. 32, pp. 7406–7419.
28. Paredes M.F., Greenwood J., Baraban S.C. Neuropeptide Y Modulates a G Protein-Coupled Inwardly Rectifying Potassium Current in the Mouse Hippocampus. *Neurosci. Lett.*, 2003, vol. 340, no. 1, pp. 9–12.
29. Sosulina L., Schwesig G., Seifert G., Pape H.C. Neuropeptide Y Activates a G-Protein-Coupled Inwardly Rectifying Potassium Current and Dampens Excitability in the Lateral Amygdala. *Mol. Cell. Neurosci.*, 2008, vol. 39, no. 3, pp. 491–498.
30. Huang C.-L., Slesinger P.A., Casey P.J., Jan Y.N., Jan L.Y. Evidence That Direct Binding of  $G_{\beta\gamma}$  to the GIRK1 G Protein-Gated Inwardly Rectifying  $K^+$  Channel Is Important for Channel Activation. *Neuron*, 1995, vol. 15, no. 5, pp. 1133–1143.
31. Sun Q.Q., Baraban S.C., Prince D.A., Huguenard J.R. Target-Specific Neuropeptide Y-Ergic Synaptic Inhibition and Its Network Consequences Within the Mammalian Thalamus. *J. Neurosci.*, 2003, vol. 23, no. 29, pp. 9639–9649.
32. Colmers W.F., Klapstein G.J., Fournier A., St.-Pierre S., Treherne K.A. Presynaptic Inhibition by Neuropeptide Y in Rat Hippocampal Slice *in vitro* Is Mediated by a Y2 Receptor. *Br. J. Pharmacol.*, 1991, vol. 102, no. 1, pp. 41–44.
33. Ikeda S.R. Voltage-Dependent Modulation of N-Type Calcium Channels by G-Protein  $\beta\gamma$  Subunits. *Nature*, 1996, vol. 380, no. 6571, pp. 255–258.
34. Scholz K.P., Miller R.J. Inhibition of Quantal Transmitter Release in the Absence of Calcium Influx by a G Protein-Linked Adenosine Receptor at Hippocampal Synapses. *Neuron*, 1992, vol. 8, no. 6, pp. 1139–1150.

DOI: 10.17238/issn2542-1298.2017.5.3.79

*Al'bina A. Petrova\**, *Aleksey N. Inyushkin\**

\*Samara National Research University (Samara, Russian Federation)

#### MODULATORY EFFECT OF NEUROPEPTIDE Y ON THE BIOELECTRIC ACTIVITY OF NEURONS IN RAT HYPOTHALAMIC SUPRACHIASMATIC NUCLEUS

This paper assessed the role of neuropeptide Y as an entraining factor for neurons in the hypothalamic suprachiasmatic nucleus – the main circadian oscillator in humans and mammals. We studied the effect of 10 nM neuropeptide Y applications on spike activity and spike code parameters of neurons in rat suprachiasmatic nucleus *in vitro*. We used our own approach to the analysis of spike activity, which consists in calculating the distribution entropy of interspike intervals and mutual information between adjacent interspike intervals along with the determination of mean spike frequency. This allowed us to investigate the effect produced by neuropeptide Y not only on the level of cell activity, but also on the degree of irregularity in the generation of action potentials and on the patterning of spike activity. The analysis of the effect of neuropeptide Y revealed two types of response: a decrease (in 43.2 % of neurons) and an increase (in 9.9 % of neurons) in mean spike frequency. The rest of the neurons (46.9 %) had no changes in this activity parameter. In all recorded cells, treated as a single group ( $n = 81$ ), a statistically significant decrease in the level of activity and an increase in mutual information between adjacent interspike intervals were revealed. The results obtained show that neuropeptide Y can influence the level of spike activity and spike code parameters of neurons in the hypothalamic suprachiasmatic nucleus.

**Keywords:** *neuropeptide Y, circadian rhythms, brain neurons, spike activity, suprachiasmatic nucleus.*

Поступила 17.07.2016

Received 17 July 2016

---

**Corresponding author:** Aleksey Inyushkin; *address:* ul. Akademika Pavlova 1, Samara, 443011, Russian Federation; *e-mail:* ainyushkin@mail.ru

**For citation:** Petrova A.A., Inyushkin A.N. Modulatory Effect of Neuropeptide Y on the Bioelectric Activity of Neurons in Rat Hypothalamic Suprachiasmatic Nucleus. *Journal of Medical and Biological Research*, 2017, vol. 5, no. 3, pp. 79–86. DOI: 10.17238/issn2542-1298.2017.5.3.79