

МОДУЛИРУЮЩЕЕ ВЛИЯНИЕ ИРИСИНА НА ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ АФФЕРЕНТНЫХ ВХОДОВ ИЗ АРКУАТНОГО ЯДРА В СУПРАХИАЗМАТИЧЕСКОЕ ЯДРО IN VITRO

Инюшкин Алексей Николаевич, заведующий кафедрой физиологии человека и животных Самарского национального исследовательского университета имени академика С.П. Королёва;

Исакова Татьяна Сергеевна, аспирант биологического факультета Самарского национального исследовательского университета имени академика С.П. Королёва;

Павленко Снежанна Ивановна, доцент кафедры физиологии человека и животных Самарского национального исследовательского университета имени академика С.П. Королёва;

Конашенкова Анастасия Тарасовна, магистрант биологического факультета Самарского национального исследовательского университета имени академика С.П. Королёва;

Инюшкин Андрей Алексеевич, старший научный сотрудник кафедры физиологии человека и животных Самарского национального исследовательского университета имени академика С.П. Королёва.

В экспериментах на переживающих срезах гипоталамуса крысы выявлена способность миокина ирисина модулировать функциональное состояние афферентных входов к нейронам циркадианного осциллятора супрахиазматического ядра из аркуатного ядра. Учитывая, что ирисин является продуктом работающих скелетных мышц, полученные данные показывают механизм действия этого регулятора в качестве гуморального сигнала нефотической настройки циркадианных часов в соответствии с уровнем и режимом мышечной активности.

Ключевые слова: ирисин, циркадианные часы, супрахиазматическое ядро.

MODULATORY EFFECT OF IRISIN ON THE FUNCTIONAL STATE OF AFFERENT INPUTS FROM THE ARCUATE NUCLEUS TO THE SUPRACHIASMATIC NUCLEUS IN VITRO

Inyushkin Alexey Nikolaevich, Head of Department of Human and Animal Physiology, Samara National Research University;

Isakova Tatiana Sergeevna, PhD student, Samara National Research University;

Pavlenko Snezhanna Ivanovna, Docent, Samara National Research University;

Konashenkova Anastasia Tarasovna, Magistrant, Samara National Research University;

Inyushkin Andrey Alexeevich, Senior researcher, Samara National Research University.

In the experiments on hypothalamic slices of rats, the ability of myokine irisin to modulate a functional state of afferent inputs to neurones of the suprachiasmatic nucleus circadian oscillator from the arcuate nucleus is revealed. Considering that irisin is a product of working skeletal muscles, the data obtained show a mechanism of action for this regulator as a humoral signal of non-photoc entrainment of the circadian clock in accordance with the level and regimen of muscle activity.

В настоящее время миокин ирисин рассматривается в качестве потенциального регулятора активности циркадианных часов супрахиазматического ядра в рамках механизма нефотической настройки [1]. При этом механизмы его влияния на функцию циркадианных часов пока неизвестны. Это во многом связано с отсутствием сведений о специфических рецепторах ирисина в центральной нервной системе и особенностях его активности на уровне нейрона. Важную роль в регуляции активности циркадианного осциллятора супрахиазматического ядра играют каудальные афферентные проекции из аркуатного ядра, передающие информацию о выраженности пищевой мотивации, состоянии энергетического гомеостаза и метаболизме [2, 3]. Существование афферентных проекций из аркуатного ядра к супрахиазматическому, способных оказывать существенное влияние на активность нейронов циркадианного осциллятора, ранее было

продемонстрировано в наших электрофизиологических исследованиях [4, 5]. Целью настоящей работы, выполненной *in vitro* на переживающих срезах гипоталамуса крыс, была проверка гипотезы о способности ирисина модулировать функциональное состояние афферентных входов к нейронам супрахиазматического ядра из гипоталамического аркуатного ядра.

Эксперименты выполнены на 36 сагиттальных срезах гипоталамуса крыс-самцов Вистар толщиной 300 мкм. Экспериментальный протокол был согласован с комиссией по биологической этике Самарского университета. Спайковую активность нейронов супрахиазматического ядра регистрировали внеклеточно стеклянными микроэлектродами. Стимуляцию аркуатного ядра производили в его вентромедиальной области, через биполярный электрод из нержавеющей стали единичными двухфазными прямоугольными импульсами амплитудой 200 мкА и продолжительностью 1 мс (продолжительность положительной и следующей непосредственно за ней отрицательной фазы была одинакова и составляла 0,5 мс). Для электрофизиологической характеристики функционального состояния афферентных входов из аркуатного в супрахиазматическое ядро использовалась техника постороения и анализа перистимульной временной гистограммы (PSTH), по результатам которого определяли характер и выраженность реакций нейронов на стимуляцию [4, 5]. Гистограмма строилась путём суммации данных об индивидуальных моментах генерации спайков в пределах каждого 1 с интервала от момента предыдущего стимула до момента последующего стимула за весь период стимуляции, составлявший, в зависимости от уровня спайковой активности клетки, 100–400 с. Для определения моментов начала 1-секундных циклов при построении гистограмм в качестве триггера использовали информацию, содержащуюся в канале артефактов стимуляции. При обработке перистимульных временных гистограмм применялась процедура кумулятивного суммирования, дающая возможность идентифицировать малые различия в вероятности генерации спайков в постстимульный период относительно контрольного периода,

непосредственно предшествующего стимулу. Статистически значимыми считали лишь те реакции, где уровень p в ранговом тесте Манна-Уитни составлял $p < 0,02$ [6].

Статистически подтвержденные реакции на стимуляцию в исходном состоянии (до аппликации ирисина) зарегистрированы у 20 протестированных клеток (55,5%), у остальных 16 нейронов (44,4%) ответных реакций на стимуляцию не обнаружено. В числе реакций на стимуляцию наблюдались простые монофазные ответы (возбуждение или торможение), и комплексные реакции в форме сочетаний возбуждения и торможения. Аппликации 4 нМ ирисина в 6 случаях приводили к качественным изменениям ответных реакций клеток супрахиазматического ядра на стимуляцию аркуатного ядра. Качественные изменения проявлялись в виде исчезновения исходной реакции (или ее фазы), либо в появлении новой. В частности, ирисин вызвал качественные изменения реакции у 2 из 7 нейронов, отреагировавших на стимуляцию аркуатного ядра коротколатентным ортодромным возбуждением: в одном случае исходная реакция исчезла после аппликации ирисина ($p > 0,05$), в другом – под действием ирисина возникла вторая, тормозная фаза реакции ($p < 0,001$), что привело к трансформации простой реакции в комплексную. У одного из 8 нейронов, отвечавших на стимуляцию аркуатного ядра простой реакцией коротколатентного ортодромного торможения, на фоне действия ирисина непосредственно перед началом торможения появилось орторомное коротколатентное возбуждение.

Четыре нейрона супрахиазматического ядра отвечали на стимуляцию аркуатного ядра комплексной реакцией в виде последовательного сочетания коротколатентного ортодромного возбуждения и ортодромного торможения. У 2 из 4 клеток с таким типом реакции воздействие ирисина привело к качественной трансформации ответа: у одного нейрона аппликация ирисина вызвала исчезновение первой фазы реакции – ортодромного возбуждения, при сохранении второй, тормозной фазы ($p < 0,01$); у другого нейрона, воздействие ирисина привело к исчезновению обоих компонентов реакции.

В 10 случаях после аппликации ирисина возникали количественные изменения реакции на стимуляцию, которые выражались в изменении латентного периода или продолжительности реакции.

У 16 (44,4%) протестированных нейронов супрахиазматического ядра статистически значимых ответных реакций на стимуляцию аркуатного ядра в исходном состоянии обнаружено не было ($p > 0,05$). У 15 из 16 нейронов этой группы признаков ответной реакции не было обнаружено и в присутствии ирисина. Лишь у одного нейрона под влиянием ирисина отчётливо проявилось коротколатентное ортодромное торможение ($p < 0,001$).

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о том, что влияние ирисина на циркадианный осциллятор супрахиазматического ядра может быть обусловлено модулирующим действием этого регулятора на функциональное состояние возбуждающих и тормозных каудальных афферентных входов из аркуатного ядра. Есть все основания предполагать, что данный механизм может лежать в основе нефотической синхронизации циркадианного осциллятора со стороны центра регуляции аппетита и метаболизма, расположенного в аркуатном ядре.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (грант № 23-25-00152).

ЛИТЕРАТУРА:

1. Zsuga J., More C.E., Erdei T., Papp C., Harsanyi S., Gesztelyi R. Blind spot for sedentarism: Redefining the disease of physical inactivity in view of circadian system and the irisin/BDNF axis // *Front. Neurol.* 2018. V. 9. Art. 818.
2. Buijs F.N., Guzman-Ruiz M., Leon-Mercado L., Basualdo M.C., Escobar C., Kalsbeek A., Buijs R.M. Suprachiasmatic nucleus interaction with the arcuate nucleus essential for organizing physiological rhythms // *eNeuro.* 2017. V. 4(2). e0028–17.
3. Wiater M.F., Li A.J., Dinh T.T., Jansen H.T., Ritter S. Leptin-sensitive neurons in the arcuate nucleus integrate activity and temperature circadian rhythms and

anticipatory responses to food restriction // *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 2013. V. 305. R949–R960.

4. Инюшкин А.Н., Петрова А.А., Ткачева М.А. Влияние нейропептида Y на функциональное состояние афферентных входов из аркуатного в супрахиазматическое ядро крыс *in vitro* // *Росс. физиол. ж. им. И.М. Сеченова.* 2017. Т. 103. № 1. С. 45–60.

5. Инюшкин А.Н., Мистрюгов К.А., Ледяева О.В., Романова И.Д., Исакова Т.С., Инюшкина Е.М. Влияние инсулина на спайковую активность нейронов супрахиазматического ядра и функциональное состояние афферентных входов из аркуатного ядра крыс // *Росс. физиол. ж. им. И.М. Сеченова.* 2023. Т. 109. № 2. С. 192–213.

6. Cui L.-N., Saeb-Parsy K., Dyball R.E.J. Neurones in the supraoptic nucleus of the rat are regulated by a projection from the suprachiasmatic nucleus // *J. Physiol.* 1997. V. 502. P. 149–159.