

УДК 616-092.4/.9+611.814.1+591.1+613.62+519.7+681.3+57.084+59.085
DOI: 10.56871/RBR.2023.74.35.003

ХАРАКТЕРИСТИКА ПРОЕКЦИЙ НЕЙРОНОВ ОТ АРКУАТНОГО ЯДРА К СУПРАХИЗМАТИЧЕСКОМУ ЯДРУ ГИПОТАЛАМУСА КРЫС *IN VITRO*

© Ольга Валерьевна Ледяева, Алексей Николаевич Инюшкин

Самарский национальный исследовательский университет имени академика С.П. Королева, биологический факультет. 443086, г. Самара, ул. Московское шоссе, 34

Контактная информация: Ольга Валерьевна Ледяева — преподаватель биологии. E-mail: monsoom@rambler.ru ORCID ID: 0009-0001-7852-8476

Для цитирования: Ледяева О.В., Инюшкин А.Н. Характеристика проекций нейронов от аркуатного ядра к супрахизматическому ядру гипоталамуса крыс *in vitro* // Российские биомедицинские исследования. 2023. Т. 8. № 1. С. 21–26. DOI: <https://doi.org/10.56871/RBR.2023.74.35.003>

Поступила: 09.11.2022

Одобрена: 15.01.2023

Принята к печати: 27.02.2023

Резюме. В настоящее время в электрофизиологии мозга существует точка зрения о наличии физиологической связи между супрахизматическим (СХЯ) и аркуатным (АРК) ядрами. Полностью обоснованного подтверждения этой связи получено не было, однако ряд опытов, проведенных учеными различных стран, подтверждает существование определенного рода взаимодействия между работой СХЯ и АРК ядер. Взаимодействие СХЯ и АРК регулирует ритмичность метаболических функций. СХЯ передает связанную со временем информацию в АРК для выполнения метаболических функций в нужное время. В то же время СХЯ влияет на чувствительность АРК к циркулирующим молекулам, таким образом позволяя ему реагировать в зависимости от времени суток. Поскольку АРК воспринимает гормоны и метаболиты из периферии, оно передает эту информацию обратно в СХЯ, позволяя СХЯ адаптировать свой вывод и завершая обратную связь, которая необходима СХЯ для корректировки физиологии. Это взаимодействие между СХЯ и АРК необходимо для поддержания ритмов приема пищи, двигательной активности, температуры и циркулирования кортикостеронов и глюкозы. Цель работы — охарактеризовать проекции нейронов от аркуатного ядра к супрахизматическому ядру гипоталамуса крыс *in vitro* с помощью электрофизиологической техники построения перистимульной временной гистограммы (PSTH). На основании полученных результатов сделать заключение об интенсивности и характере (возбуждающем, тормозном или комплексном) аксонных проекций из аркуатного в супрахизматическое ядро, тем самым дополнить теоретические представления о функциональной организации СХЯ гипоталамуса. В работе применялись современные методы электрофизиологических исследований (внеклеточная микроэлектродная запись активности нейронов). Все полученные результаты свидетельствуют о том, что нейроны АРК способны оказывать как возбуждающее, так и тормозное влияние на функциональное состояние клеток циркадианного осциллятора СХЯ. Эти влияния могут лежать в основе настройки осциллятора в соответствии с уровнем активности центра регуляции аппетита, метаболизма и режима питания, расположенного в аркуатном ядре гипоталамуса.

Ключевые слова: супрахизматическое ядро (СХЯ); аркуатное ядро (АРК); циркадианность; спайк; нейрон; перистимульная временная гистограмма (PSTH); гипоталамус; афферентный выход.

CHARACTERISTICS OF NEURON PROJECTIONS FROM THE ARCUATE NUCLEUS TO THE SUPRACHISMATIC NUCLEUS OF THE HYPOTHALAMUS IN RATS *IN VITRO*

© Olga V. Ledyeva, Alexey N. Inyushkin

Samara National Research University named after Academician S.P. Koroleva, Department of Biology. St. Moscow highway 34, Samara, Russian Federation, 443086

Contact information: Olga V. Ledyeva — biology teacher. E-mail: monsoom@rambler.ru ORCID ID: 0009-0001-7852-8476

For citation: Ledyeva OV, Inyushkin AN. Characteristics of neuron projections from the arcuate nucleus to the suprachiasmatic nucleus of the hypothalamus in rats *in vitro*. Russian biomedical research (St. Petersburg). 2023;8(1):21-26. DOI: <https://doi.org/10.56871/RBR.2023.74.35.003>

Received: 09.11.2022

Revised: 15.01.2023

Accepted: 27.02.2023

Abstract. Currently, in the electrophysiology of the brain, there is a point of view about the presence of a physiological connection between the suprachiasmatic and arcuate nuclei. A fully substantiated confirmation of this connection has not been received, however, a number of experiments conducted by scientists from various countries confirm the existence of a certain kind of interaction between the work of the SCN and the ARC of nuclei. The interaction of SCN and ARC regulates the rhythm of metabolic functions. The SCN transmits time-related information to the ARC to perform metabolic functions at the right time. At the same time, SCN affects the sensitivity of ARC to circulating molecules, thus allowing it to respond in a time-of-day manner. As the ARC senses hormones and metabolites from the periphery, it relays this information back to the SCN, allowing the SCN to adapt its output and completing the feedback that the SCN needs to correct the physiology. This interaction between SCN and ARC is necessary to maintain rhythms of food intake, motor activity, temperature, and circulation of corticosterones and glucose. The aim of this work is to characterize the projections of neurons from the arcuate nucleus to the suprachiasmatic nucleus of the rat hypothalamus in vitro using the electrophysiological technique for constructing a peristimulus temporal histogram (PSTH). Based on the results obtained, make a conclusion about the intensity and nature (excitatory, inhibitory or complex) of axon projections from the arcuate to the suprachiasmatic nucleus, thereby supplementing the theoretical understanding of the functional organization of the SCN of the hypothalamus. Modern methods of electrophysiological studies (extracellular microelectrode recording of neuron activity) were used in the work. All the obtained results indicate that ARC neurons are able to have both excitatory and inhibitory effects on the functional state of the cells of the circadian oscillator of the SCN. These influences may underlie the adjustment of the oscillator in accordance with the level of activity of the center for regulating appetite, metabolism, and diet, located in the arcuate nucleus of the hypothalamus.

Key words: suprachiasmatic nucleus (SCN); arcuate nucleus (ARC); circadian; spike; neuron; peristimulus temporal histogram (PSTH); hypothalamus; afferent output.

ВВЕДЕНИЕ

К настоящему времени накоплено множество доказательств того, что супрахиазматическое ядро (СХЯ) гипоталамуса является основными циркадианными часами у млекопитающих, ответственными за управление большинством, если не всеми, биохимическими, физиологическими и поведенческими процессами. Отдельные клетки СХЯ составляют самоподдерживающиеся молекулярные часы, но их синхронизация, точность и стабильность циркадного ритма являются производными от межклеточных взаимодействий, опосредованных сетевыми механизмами [8]. Период эндогенного свободного ритма СХЯ необходимо синхронизировать с периодом окружающей среды (ровно 24 часа), согласовывая фазу внутренних часов с соответствующим солнечным временем. Помимо наиболее физиологически важного фотического вовлечения часов СХЯ в цикл свет–темнота, который опосредуется прямым входом на сетчатку через ретино-гипоталамический тракт, также могут вносить свой вклад соответствующие несветовые сигналы [11].

СХЯ имеет широкий спектр реципрокных нейронных связей (например, с аркуатным ядром (АРК), дорсомедиальным гипоталамусом, межгеникулярной створкой, дорсальным швом), обеспечивающих несветовую обратную связь от этих ядер к СХЯ, чтобы увлечь за собой основные циркадные часы.

Среди нейронных связей СХЯ особый интерес представляют реципрокные связи с АРК. Аркуатное ядро имеет решающее значение для поддержания энергетического гомеостаза и метаболического баланса, являясь интегратором сигналов голода и сытости, которые могут быть вовлечены в механизмы неспе-

циальной настройки часов СХЯ [14]. Проекция СХЯ на АРК была продемонстрирована в автордиографических и электрофизиологических исследованиях, однако мало что известно о вовлеченных передатчиках.

Циркадианные ритмы функциональной активности млекопитающих, проявляющиеся на уровне как отдельных клеток, так и целостного организма, формируются под влиянием нейронных пейсмекеров, локализованных в СХЯ гипоталамуса [10, 13]. Пейсмекеры играют роль биологических часов, с помощью которых организм способен контролировать различные ритмы таких процессов, как метаболизм, клеточная пролиферация, поведенческие реакции (сон, бодрствование, прием пищи и воды, локомоторная активность и др.). В нервной системе на уровне отдельных нейронов это проявляется в ритмических колебаниях выработки и выделения физиологически активных веществ, а также уровня экспрессии рецепторов к этим веществам, например, к серотонину, норадреналину, ацетилхолину, мелатонину [10, 16, 17].

Проведенные ранее исследования показали, что нейронные связи между СХЯ и АРК необходимы для циркадной функции. Эти связи интегрируют метаболическую информацию в циркадную систему и, таким образом, адаптируют циркадные ритмы поведения, потребление пищи, температуру тела и уровень циркулирующих кортикостерона и глюкозы. Было продемонстрировано, что вентромедиальный АРК может модулировать активность СХЯ. Супрахиазматическое ядро, в свою очередь, может индуцировать ритм в АРК [7]. Поражение специфической (лептин-чувствительной) популяции нейронов в АРК приводит к нарушению ритмов сна, температуры тела и приема пищи. Изоляция АРК от СХЯ у крыс с ножевыми порезами приводила к

полной аритмичности двигательной активности, температуры тела и секреции кортикостерона в условиях постоянной темноты, несмотря на ритмичность СХЯ и персистентную ритмичную секрецию мелатонина. Был сделан вывод, что взаимодействие между СХЯ и АРК имеет решающее значение для выражения циркадных ритмов [5, 6, 12].

ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Охарактеризовать проекции нейронов от аркуатного ядра (АРК) к супрахиазматическому ядру (СХЯ) гипоталамуса крыс *in vitro* с помощью электрофизиологической техники построения перистимульной временной гистограммы (PSTH).

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В экспериментах использовали 48 крыс-самцов линии Вистар массой от 75 до 170 г. В начале эксперимента животных наркотизировали уретаном (1,2 г/кг массы тела внутривенно) и декапитировали. Мозг вырезали и с помощью вибратора (Vibroslice NVSL, WPI, США) использовали для разрезания сагиттальных срезов 500 мкм через супрахиазматическое и аркуатное ядра. Срезы предварительно инкубировали в искусственной спинномозговой жидкости (aCSF), оксигенированной 95% кислородом и 5% углекислым газом, в течение не менее 1 часа при физиологической температуре (37 °C). Состав aCSF был (в мМ): 124 мМ NaCl, 25 мМ NaHCO₃, 3 мМ KCl, 1,5 мМ CaCl₂, 1 мМ MgSO₄, 0,5 мМ NaH₂PO₄, 30 мМ глюкозы. Затем срезы переносили в регистрационную камеру и перфузировали aCSF. Регистрационная камера поддерживалась при комнатной температуре 24–26 °C. Поток aCSF через регистрационную камеру поддерживали с помощью перистальтического насоса (Minipuls 3, Gilson, Франция) с постоянной скоростью 1,5–2,0 мл/мин.

Внеклеточные записи были сделаны из нейронов СХЯ с использованием стеклянных электродов с диаметром наконечника приблизительно 0,5 мкм, заполненных aCSF, чтобы дать сопротивление наконечника приблизительно 10 МОм.

Записанные сигналы были усилены (2400 А, Даган, США), пропущены через шумоподаватель 50 Гц (Hum Bug; Quest Scientific, Канада) и интерфейсное устройство (Micro 1401; CED, Кембридж, Великобритания) к ПК. Для сбора данных использовалось программное обеспечение Spike 2 (CED, Кембридж, Великобритания). Необработанная форма сигнала была отобрана на частоте 20 кГц, и с помощью специального программного обеспечения для последующего анализа данных было проведено автономное различение пиковых событий и артефактов стимула [1, 2]. АРК стимулировали двухфазными прямоугольными стимулирующими импульсами интенсивностью 8 × 8 В (что соответствует 0,2 × 0,2 мА). Протокол стимулирования состоял из одиночных двухфазных импульсов длительностью 1 × 1 мс, подаваемых с частотой 1 Гц с помощью стимулятора модели 2100 (AM Systems, США). Расстояние между стимулирующим электродом и зоной регистрации в СХЯ составляло 2,5–3 мм.

В экспериментах проводилось изучение спайковой активности нейронов СХЯ *in vitro* и ее модуляция, возникающая при электростимуляции АРК с целью электрофизиологической характеристики состояния аксонных проекций к супрахиазматическим нейронам. При этом применялись методы построения и анализа перистимульной временной гистограммы (PSTH).

РЕЗУЛЬТАТЫ

Всего из СХЯ было сделано 65 стабильных единичных записей реакций нейронов. После того, как спонтанная активность каждой клетки была зарегистрирована в течение не менее 5 минут в нормальном aCSF, клетки были протестированы на эффекты стимуляции АРК, и 42 из 65 клеток (64,6%) ответили и показали простые возбуждающие, простые тормозные или сложные ответы на PSTH. Рисунок 1 иллюстрирует процедуру создания PSTH двух клеток СХЯ, демонстрирующих простое короткое латентное возбуждение (рис. 1, а) и простое короткое латентное торможение (рис. 1, б) после стимуляции АРК. Одиннадцать клеток (16,9%) демонстрировали простое коротколатентное (< 14 мс) возбуждение, тринадцать (20,0%) — простое коротколатентное (< 14 мс) торможение, две (3,1%) — простое длиннолатентное (> 40 мс) возбуждение, у двух (3,1%) было простое торможение с длительной латентностью (> 25 мс), двадцать три (35,4%) не реагировали. Остальные четырнадцать клеток (21,5%) показали сложные ответы.

Девять клеток (13,8%) давали комплексную реакцию, состоящую из кратковременного латентного торможения с последующим возбуждением, две клетки (3,1%) давали комплексную реакцию, состоящую из антидромного возбуждения с последующим торможением, одна клетка (1,5%) проявляла комплексную реакцию, состоящую из коротколатентного возбуждения с последующим торможением, а у двух клеток (3,1%) — комплексный ответ, состоящий из трех компонентов: коротколатентного возбуждения с последующим торможением и замедленного возбуждения.

Большинство клеток (38 из 42; 90,5%), реагирующих на стимуляцию, проявляли короткий латентный ответ (включая ранний компонент сложного ответа) с началом $5,8 \pm 0,9$ мс импульса стимула. Остальные четыре клетки (9,5%) показали отсроченный ответ с началом импульса стимула > 25 мс.

ОБСУЖДЕНИЕ

В настоящем электрофизиологическом исследовании *in vitro* на сагиттальных срезах толщиной 500 мкм перистимульные временные гистограммы (PSTH) использовались для оценки ответов нейронов СХЯ на стимуляцию АРК. 65% ортодромно идентифицированных нейронов СХЯ реагировали на стимуляцию АРК простыми монофазными или сложными реакциями, что указывает на существование богатых нейронных проекций от АРК в СХЯ. В более раннем электрофизиологическом исследовании *in vivo* простые или сложные ответы на стимуляцию АРК были обнаружены у 86% нейронов СХЯ [15]. Меньшая доля нейронов, отвечающих на стимуляцию *in vitro*, может быть объяснена уменьшением числа интактных отростков аксонов из

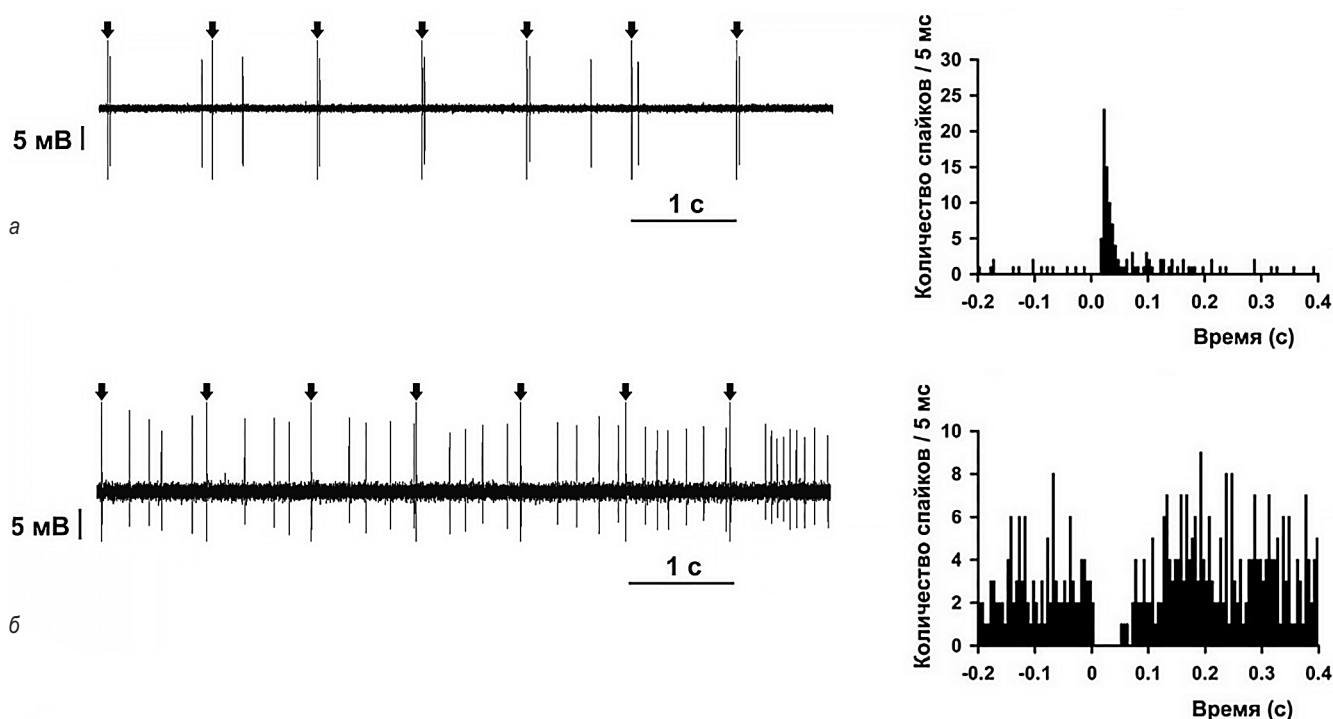


Рис. 1. Примеры реакции нейронов супрахиазматического ядра на стимуляцию аркуатного ядра в виде коротколатентного возбуждения (а) и торможения (б). В верхней части рисунка представлены фрагменты нейронограмм, стрелками помечены артефакты стимуляции. В нижней — три перистимульные временные гистограммы активности этих нейронов, построенные на основании данных о распределении моментов генерации спайков при действии, соответственно, 325 и 150 последовательных стимулов. По оси абсцисс — время (мс) (отметка «0» соответствует моменту стимула); по оси ординат — суммарное количество спайков за каждый 5 мс интервал времени

зоны стимуляции в СХЯ из-за повреждения отростка при приготвлении среза. В нашем более раннем исследовании *in vitro*, проведенном на сагиттальных срезах 300 мкм, только 48% протестированных нейронов СХЯ реагировали на стимуляцию АРК [9]. Уменьшенное количество отреагировавших клеток в более тонком срезе по сравнению с настоящим исследованием можно объяснить возможной траекторией некоторых волокон, соединяющих АРК и СХЯ, которые первоначально могли проходить латерально и выходить из среза.

Стимуляция АРК вызывала как простые (монофазные) возбуждающие, простые тормозные, так и сложные ответы в СХЯ. Простые возбуждающие и тормозные ответы наблюдались соответственно у 20 и 23,1% протестированных супрахиазматических нейронов. Сложные ответы, состоящие из нескольких компонентов (возбуждающего, тормозного или обоих), наблюдались у 21,5% нейронов. Такое значительное количество сложных ответов может указывать на то, что существенная часть клеток СХЯ получает два или более различных входных сигнала от клеток в АРК или путей, проходящих через АРК.

Таким образом, в настоящем исследовании электрофизиологическим методом были показаны реципрокные связи между АРК и СХЯ. Данные подтверждают более ранние электрофизиологические и анатомические исследования,

демонстрирующие взаимные нейронные связи АРК с СХЯ [3, 4]. Проекция от АРК предположительно передает периферическую метаболическую информацию в СХЯ. Было высказано предположение, что СХЯ участвует в качестве важного компонента в более крупной сети, контролирующей гомеостаз путем ежедневного изменения установок физиологических параметров.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В настоящем исследовании электрофизиологическим методом были показаны реципрокные связи между АРК и СХЯ. Данные подтверждают более ранние электрофизиологические и анатомические исследования, демонстрирующие взаимные нейронные связи АРК с СХЯ. Проекция от АРК предположительно передает периферическую метаболическую информацию в СХЯ.

Полученные результаты показывают, что в аркуатном ядре имеется популяция клеток, являющихся источником возбуждающих и тормозных проекций к нейронам супрахиазматического ядра. Благодаря наличию этих проекций может осуществляться синхронизация циркадианного осциллятора, в частности, в соответствии с уровнем метаболизма и выраженностью пищевой мотивации.

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Вклад авторов. Все авторы внесли существенный вклад в разработку концепции, проведение исследования и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию перед публикацией.

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Источник финансирования. Авторы заявляют об отсутствии внешнего финансирования при проведении исследования.

Все процедуры соответствовали этическим стандартам, утвержденным правовыми актами РФ, принципам Базельской декларации и рекомендациям комитета по биоэтике биологического факультета Самарского национального исследовательского университета им. академика С.П. Королева (протокол № 11 от 03.10.2013 г.).

ADDITIONAL INFORMATION

Author contribution. Thereby, all authors made a substantial contribution to the conception of the study, acquisition, analysis, interpretation of data for the work, drafting and revising the article, final approval of the version to be published and agree to be accountable for all aspects of the study.

Competing interests. The authors declare that they have no competing interests.

Funding source. This study was not supported by any external sources of funding.

All procedures complied with ethical standards approved by legal acts of the Russian Federation, the principles of the Basel Declaration, and the recommendations of the bioethics committee of the biological faculty of Samara National Research University (protocol no. 11 from 3.10.2013).

ЛИТЕРАТУРА

- Bhumbra G.S., Orlans H.O. and Dyball R.E.J. Osmotic modulation of stimulus-evoked responses in the rat supraoptic nucleus. *European Journal of Neuroscience*. 2008; 27: 1989–98.
- Bhumbra G.S., Inyushkin A.N., Dyball R.E.J. Assessment of spike activity in the supraoptic nucleus. *J Neuroendocrinol*. 2004; 16: 390–7.
- Blasiak A., Blasiak T., Lewandowski M.H. Electrophysiology and pharmacology of the optic input to the rat intergeniculate leaflet in vitro. *Journal of physiology and pharmacology*. 2009; 60(1): 171–80.
- Chun-Xia Yi, Jan van der Vliet et al. Ventromedial Arcuate Nucleus Communicates Peripheral Metabolic Information to the suprachiasmatic nucleus. *Endocrinology*. 2006; 147(1): 283–94.
- Cononenko N.I., Dudek F.E. Mechanism of irregular firing of suprachiasmatic nucleus neurons in rat hypothalamic slices. *J. Neurophysiol*. 2004; 91: 267–73.
- Cui L.-N., Saeb-Parsy K. and Dyball R. E. J. Neurones in the supraoptic nucleus of the rat are regulated by a projection from the suprachiasmatic nucleus. *Journal of Physiology*. 1997; 502.1: 149–59.
- Guzman-Ruiz M., Saderi N. et al. The suprachiasmatic nucleus changes the daily activity of the arcuate nucleus α -MSH neurons in male rats. *Endocrinology*. 2014; 155(2): 525–35.
- Hastings M.H., Maywood E.S., Brancaccio M. Generation of circadian rhythms in the suprachiasmatic nucleus. *Nat Rev Neurosci*. 2018; 19: 453–69.
- Inyushkin A.N., Petrova A.A., Tkacheva M.A. Effects of neuropeptide Y on the functional state of the afferent inputs from the arcuate nucleus to the suprachiasmatic nucleus in rats in vitro. *Neurosci. Behav. Physiol*. 2018; 48: 511–20.
- Krout K.E., Nguyen X.V., Karpitskiy V. et al. Suprachiasmatic nucleus: a central autonomic clock. *Nat Neurosci*. 1999; 2(12): 1051–3.
- LeGates T.A., Fernandez D.C., Hattar S. Light as a central modulator of circadian rhythms, sleep and affect. *Nat Rev Neurosci*. 2014; 15: 443–54.
- Meijer J.H., Rietveld W.J. Neurophysiology of the fetus and suprachiasmatic circadianpacemaker in rodents. *Physiol. Rev*. 1989; 69: 671–707.
- Moore R.Y. Development of the suprachiasmatic nucleus. *Suprachiasmatic nucleus: Themind's clock*. Ed. D.C. Klein et al. N.Y.: Oxford Univ. press. 1991; 391–404.
- Nakamura K., Nakamura Y. Hunger and satiety signaling: Modeling two hypothalamomedullary pathways for energy homeostasis. *Bio Essays*. 2018; 40: 1700252.
- Saeb-Parsy K., Lombardelli S., Khan F.Z. et al. Neural connections of hypothalamic neuroendocrine nuclei in the rat. *J Neuroendocrinol*. 2000; 12: 635–48.
- Shinohara K., Honma S., Katsuno Y. et al. Circadian release of amino acid-sin the suprachiasmatic nucleus in vitro. *Neuroreport*. 1998; 9: 137–40.
- Shinohara K., Tominaga K., Inouye S.T. Phase dependent response of vasoactive intestinal polypeptide to light and darkness in the suprachiasmatic nucleus. *Neurosci. Res*. 1999; 33(1): 105–10.

REFERENCES

- Bhumbra G.S., Orlans H.O. and Dyball R.E.J. Osmotic modulation of stimulus-evoked responses in the rat supraoptic nucleus. *European Journal of Neuroscience*. 2008; 27: 1989–98.
- Bhumbra G.S., Inyushkin A.N., Dyball R.E.J. Assessment of spike activity in the supraoptic nucleus. *J Neuroendocrinol*. 2004; 16: 390–7.
- Blasiak A., Blasiak T., Lewandowski M.H. Electrophysiology and pharmacology of the optic input to the rat intergeniculate leaflet in vitro. *Journal of physiology and pharmacology*. 2009; 60(1): 171–80.
- Chun-Xia Yi, Jan van der Vliet et al. Ventromedial Arcuate Nucleus Communicates Peripheral Metabolic Information to the suprachiasmatic nucleus. *Endocrinology*. 2006; 147(1): 283–94.
- Cononenko N.I., Dudek F.E. Mechanism of irregular firing of suprachiasmatic nucleus neurons in rat hypothalamic slices. *J. Neurophysiol*. 2004; 91: 267–73.
- Cui L.-N., Saeb-Parsy K. and Dyball R. E. J. Neurones in the supraoptic nucleus of the rat are regulated by a projection from the suprachiasmatic nucleus. *Journal of Physiology*. 1997; 502.1: 149–59.

7. Guzman-Ruiz M., Saderi N. et al. The suprachiasmatic nucleus changes the daily activity of the arcuate nucleus α -MSH neurons in male rats. *Endocrinology*. 2014; 155(2): 525–35.
8. Hastings M.H., Maywood E.S., Brancaccio M. Generation of circadian rhythms in the suprachiasmatic nucleus. *Nat Rev Neurosci*. 2018; 19: 453–69.
9. Inyushkin A.N., Petrova A.A., Tkacheva M.A. Effects of neuropeptide Y on the functional state of the afferent inputs from the arcuate nucleus to the suprachiasmatic nucleus in rats in vitro. *Neurosci. Behav. Physiol*. 2018; 48: 511–20.
10. Krout K.E., Nguyen X.V., Karpitskiy V. et al. Suprachiasmatic nucleus: a central autonomic clock. *Nat Neurosci*. 1999; 2(12): 1051–3.
11. LeGates T.A., Fernandez D.C., Hattar S. Light as a central modulator of circadian rhythms, sleep and affect. *Nat Rev Neurosci*. 2014; 15: 443–54.
12. Meijer J.H., Rietveld W.J. Neurophysiology of the fetus and suprachiasmatic circadian pacemaker in rodents. *Physiol. Rev*. 1989; 69: 671–707.
13. Moore R.Y. Development of the suprachiasmatic nucleus. *Suprachiasmatic nucleus: Themind's clock*. Ed. D.C. Klein et al. N.Y.: Oxford Univ. press. 1991; 391–404.
14. Nakamura K., Nakamura Y. Hunger and satiety signaling: Modeling two hypothalamomedullary pathways for energy homeostasis. *BioEssays*. 2018; 40: 1700252.
15. Saeb-Parsy K., Lombardelli S., Khan F.Z. et al. Neural connections of hypothalamic neuroendocrine nuclei in the rat. *J Neuroendocrinol*. 2000; 12: 635–48.
16. Shinohara K., Honma S., Katsuno Y. et al. Circadian release of amino acids in the suprachiasmatic nucleus in vitro. *Neuroreport*. 1998; 9: 137–40.
17. Shinohara K., Tominaga K., Inouye S.T. Phase dependent response of vasoactive intestinal polypeptide to light and darkness in the suprachiasmatic nucleus. *Neurosci. Res*. 1999; 33(1): 105–10.