
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

**ВОЗРАСТНЫЕ ОСОБЕННОСТИ ВЛИЯНИЯ ХОЛЕЦИСТОКИНИНА
НА ИМПУЛЬСНУЮ АКТИВНОСТЬ НЕЙРОНОВ ДОРСОМЕДИАЛЬНОГО
И ВЕНТРОМЕДИАЛЬНОГО ЯДЕР ГИПОТАЛАМУСА КРЫС**

© 2023 г. А. А. Спиричев¹, К. Ю. Моисеев¹, П. А. Анфимова¹,
Г. А. Тарасова¹, П. М. Маслюков^{1, *}

¹Ярославский государственный медицинский университет, Ярославль, Россия

*E-mail: mpm@ysmu.ru

Поступила в редакцию 11.05.2023 г.

После доработки 14.06.2023 г.

Принята к публикации 21.06.2023 г.

Целью работы являлся анализ фоновой и вызванной внутривенным введением сульфатированного октапептида холецистокинина (ССК), а также антагониста холецистокинина проглумида импульсной нейронной электрической активности в дорсомедиальном (ДМЯ) и вентромедиальном (ВМЯ) ядрах гипоталамуса у самцов молодых (2–3 мес.), взрослых (12 мес.) и старых (24 мес.) крыс под уретановым наркозом. Средняя частота фоновой импульсации нейронов при внутривенном введении ССК у молодых крыс в ДМЯ достоверно снижалась с 1.5 ± 0.4 до 0.2 ± 0.1 имп./с, в ВМЯ – с 2.0 ± 0.4 до 0.9 ± 0.2 имп./с. Одновременное введение ССК и проглумида не приводило к изменению характера нейронной активности в данной возрастной группе. У взрослых и старых крыс средняя фоновая частота разрядов нейронов ДМЯ и ВМЯ была ниже в сравнении с молодыми крысами и под влиянием ССК и проглумида достоверно не менялась. В ДМЯ и ВМЯ большая часть нейронов ингибировалась ССК, при этом в ДМЯ процент ингибируемых ССК нейронов был выше по сравнению с ВМЯ. В ДМЯ молодых животных отсутствовали нейроны, активируемые ССК, которые появлялись у взрослых и старых животных.

Ключевые слова: гипоталамус, холецистокинин, импульсная активность, электрофизиология, старение

DOI: 10.31857/S0869813923080101, EDN: GKKVLT

ВВЕДЕНИЕ

Дорсомедиальное (ДМЯ) и вентромедиальное (ВМЯ) ядра гипоталамуса играют важную роль в регуляции метаболических процессов, энергетического обмена, модуляции различных поведенческих и физиологических ритмов, включая контроль времени питания, двигательной активности, секреции кортикостерона и циклов сна–бодрствования [1–4]. Активность нейронов гипоталамуса, в том числе нейронов ДМЯ и ВМЯ, помимо контроля со стороны других нервных центров, находится под влиянием гормонов. К числу гормонов, регулирующих потребление пищи, относится холецистокинин (ССК) [5].

ССК является также очень распространенным нейропептидом, экспрессирующимся как в центральной, так и в периферической нервной системе. ССК участвует в контроле приема пищи, подавляя аппетит, а также регулирует опорожнение желудка, желчного пузыря и экзокринную секрецию поджелудочной железы [6].

Рецепторы к ССК подразделяются на ССК1 и ССК2 [6], при этом в ДМЯ преобладают ССК2. ССК оказывает тормозящее влияние на нейроны ДМЯ в экспериментах *in vitro* на срезах мозга [7], а также на нейроны ВМЯ в опытах *in vivo* [8]. В то же время ССК способствует увеличению частоты импульсации нейронов ВМЯ *in vitro* [9].

Данные наших предыдущих исследований свидетельствуют, что при старении изменяется нейронная организация ДМЯ и ВМЯ [10, 11], а также функциональные особенности нейронов, в том числе наблюдается уменьшение частоты их импульсации [12, 13]. Старение сопровождается развитием возраст-зависимой патологии, в том числе ожирением и развитием метаболического синдрома [14]. При этом может снижаться чувствительность нейронов гипоталамуса к гормонам, регулирующим обмен веществ, например, к лептину и инсулину [15]. Тем не менее отсутствуют литературные данные относительно влияния на гипоталамус других гормонов, влияющих на пищевое поведение, в том числе ССК при старении. Целью настоящей работы был анализ фоновой и вызванной внутривенным введением сульфатированного октапептида холецистокинина (ССК), а также антагониста холецистокинина проглумида, импульсной нейронной электрической активности в дорсомедиальном (ДМЯ) и вентромедиальном (ВМЯ) ядрах гипоталамуса у самцов молодых (2–3 мес.), взрослых (12 мес.) и старых (24 мес.) крыс под уретановым наркозом.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследование проведено на 2–3-месячных (молодые, $n = 42$, масса тела 160–180 г), 12-месячных (взрослые, $n = 49$, масса тела 320–340 г) и 24-месячных (старые, $n = 46$, масса тела 450–500 г) самцах крыс Вистар. Животные находились в стандартных условиях содержания, пищевая депривация перед экспериментом не проводилась, т.к. при таком состоянии эффекты ССК менее выражены [16]. Эксперименты выполнялись под уретановым наркозом в дозировке 1.3 г/кг *i.p.* По окончании эксперимента животных умерщвляли передозировкой уретана (3 г/кг).

Анестезированных крыс фиксировали в стереотаксисе (RWD, Китай) и производили трепанацию черепа в области проекции ДМЯ и ВМЯ. Нейронную активность регистрировали внеклеточно с помощью вольфрамового микроэлектрода (диаметр кончика 2–3 мкм, импеданс 1 МОм, Microprobes, США), который вводили вертикально в правое ДМЯ и ВМЯ. Координаты введения в соответствии с атласом мозга крысы [17] составляли (рис. 1): росто-каудально –3.0–3.3 мм от брегмы, медиально-латерально 0.3–0.5 мм (ДМЯ и ВМЯ); дорсально-вентрально: 8.1–8.4 мм (молодые), 8.3–8.6 мм (взрослые и старые) – ДМЯ, 9.2–9.4 мм (молодые), 9.4–9.6 мм (взрослые и старые) – ВМЯ. Вертикальное погружение электрода проводили при помощи одноосного гидравлического микроманипулятора МО-10 (Narishige, Япония). Электрическую активность усиливали и фильтровали с помощью усилителя переменного тока DAM 80 (World Precision Instruments, США) с полосой пропускания 300–10000 Гц. Оцифровка сигнала осуществлялась программно-аппаратным комплексом Micro1401 с использованием компьютерной программы Spike2 (все CED, Великобритания).

Регистрацию нейронной активности осуществляли через 1 ч после введения микроэлектрода. Эксперименты проводили на двух подгруппах крыс в каждой возрастной группе. В первой группе после регистрации фоновой активности спустя 10 мин внутривенно вводился ССК (сульфатированный октапептид, 20 мкг/кг, Tocris Bioscience, Великобритания). Способ введения и дозировка были выбраны с учетом литературных данных, где было показано, что внутривенное введение ССК в такой дозировке является эффективным при исследовании регистрации нейронной активности со стереотаксическим введением электродов в экспериментах *in vivo*

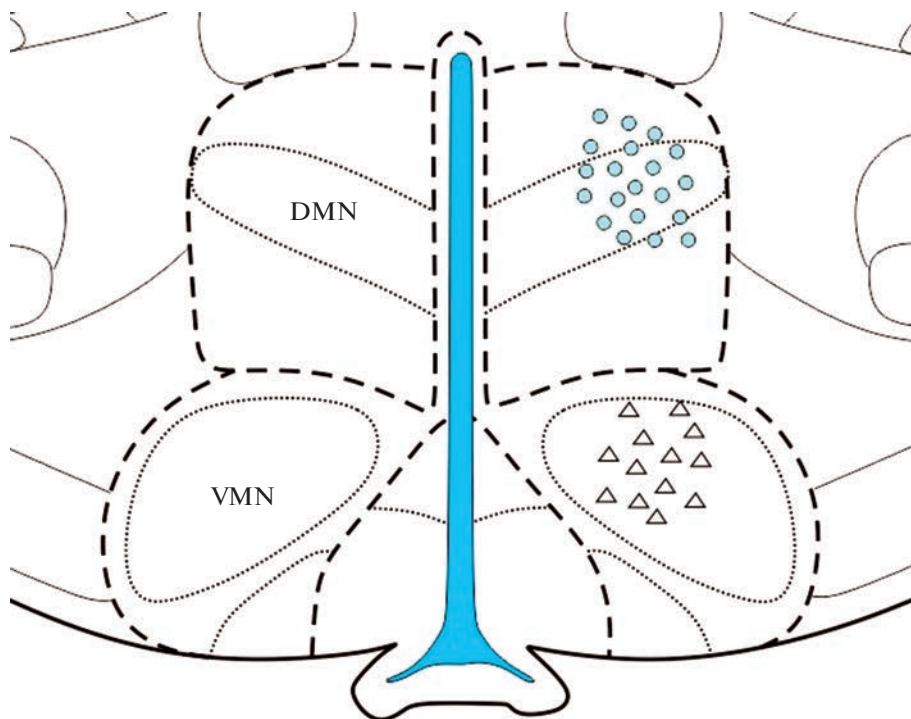


Рис. 1. Схема области регистрации нейронной активности в дорсомедиальном (DMN) и вентромедиальном (VMN) ядрах гипоталамуса (ростро-каудально: -3.12 мм от брегмы) согласно атласу мозга крысы [17]).

[8, 18]. Регистрацию нейронной активности после введения препаратов осуществляли спустя 5 мин после введения. Спустя 1 ч после восстановления характера фоновой активности вводился ССК вместе с антагонистом ССК проглумидом (1 мг/кг, Tocris Bioscience, Великобритания). Время регистрации нейронной активности после введения ССК, а также ССК + проглумид также составляло 10 мин. В контрольной подгруппе вместо ССК и проглумида вводился внутривенно 0.9%-ный раствор NaCl. Вещества вводились в объеме 0.1 мл/100 г массы тела.

В анализ были включены только нейроны со стабильным паттерном разряда на протяжении всего периода регистрации. Сортировку спайков с дальнейшим кластерным анализом проводили с использованием программного обеспечения Spike2 (Cambridge Electronic Design, Великобритания). По записям активности строили гистограммы изменения средней частоты разрядов (имп./с). Рассчитывали среднюю частоту спайков до и после введения ССК, а также после совместного введения ССК вместе с проглумидом.

По характеру изменения частоты импульсации в ответ на ССК, нейроны считались реагирующими на действие гормона, если частота изменялась на 20% по сравнению с фоновым значением. В соответствии с этим выделялись ингибируемые, активируемые и нечувствительные к действию ССК нейроны.

Для идентификации места введения электрода использовали гистологический метод. Место регистрации отмечали пропусканием постоянного тока (0.05 мА в течение 15 мин). После этого крыс перфузировали в 4%-ном забуференном формаль-

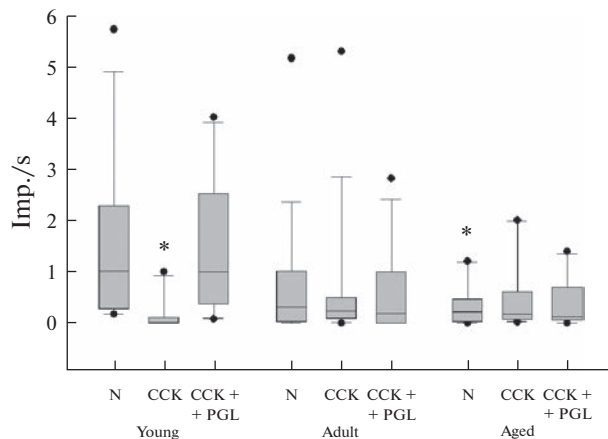


Рис. 2. Частота импульсов (Imp./s) нейронов ДМЯ до (N), после введения холецистокинина (CCK) и после совместного введения холецистокинина и проглумида (CCK + PGL) у молодых (young), взрослых (adult) и старых крыс (aged). Верхняя и нижняя границы каждого прямоугольника — первый и третий квартили (25-й и 75-й процентиля соответственно), горизонтальная линия внутри — медиана (50-й процентиль), концы отрезков — 10-й и 90-й процентиля, точки — индивидуальные значения в выборке. * — $p < 0.05$, различия достоверны по сравнению с фоновой активностью молодых крыс.

лине и выделяли головной мозг, который дофигировали в течение суток в этом же растворе. Делались серийные коронарные срезы медиобазальной области гипоталамуса толщиной 50 мкм с помощью криотома, срезы помещали на предметные стекла, а затем окрашивали тионином. Области повреждения определялись при помощи стереомикроскопа. Данные были исключены, если зарегистрированные нейроны не были расположены в ДМЯ или ВМЯ.

Для статистического анализа использовали программу Sigma Plot 12 (Systat Software, США). При проверке выборки на нормальность с использованием теста Шапиро–Уилка гипотеза о нормальном распределении значений переменной была отвергнута. Поэтому различия между группами анализировали с помощью непараметрического критерия Краскела–Уоллиса для множественных сравнений. Различия считали статистически значимыми при $p < 0.05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Суммарно в ДМЯ была зарегистрирована активность 107 нейронов (30 от молодых, 38 от взрослых и 39 от старых крыс), в ВМЯ — 74 нейронов (28 от молодых, 24 от взрослых и 24 от старых крыс). Большинство нейронов ДМЯ и ВМЯ разряжалось аperiодично, небольшая часть имела строго постоянную частоту, также обнаруживались нейроны с разрядами в виде пачек из нескольких импульсов. У контрольных животных введение 0.9%-ного раствора NaCl вместо CCK и проглумида не изменяло частоту разрядов нейронов ВМЯ и ДМЯ.

Влияние CCK и проглумида на импульсацию нейронов ДМЯ

У молодых крыс при введении CCK средняя частота импульсации достоверно снижалась с 1.5 ± 0.4 до 0.2 ± 0.1 имп./с (рис. 2, 3, $p < 0.05$). После восстановления исходной частоты импульсации спустя 30 мин применение CCK и проглумида достоверно не изменяло частоту разрядов, которая в этой группе равнялась 1.4 ± 0.4 имп./с

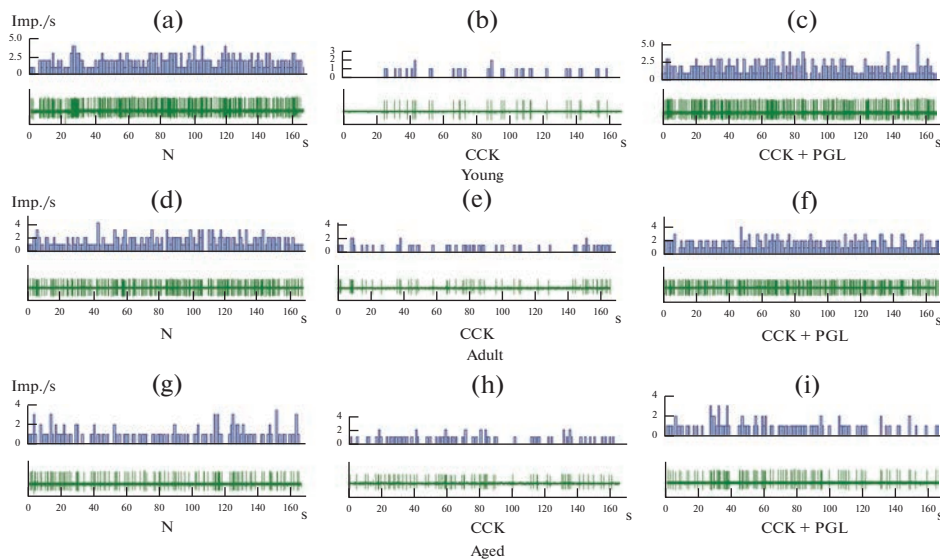


Рис. 3. Примеры фоновой активности отдельных нейронов ДМЯ до (N), после введения холецистокинина (ССК) и после совместного введения холецистокинина и проглумида (ССК + PGL) у молодых (a–c), взрослых (d–f) и старых крыс (g–i). В верхней части каждого примера – гистограмма изменения средней частоты разрядов (имп./с), в нижней – нативная спайковая активность. По оси ординат отложено время (s).

($p > 0.05$). При этом у молодых крыс большая часть нейронов (92%) ингибировалась ССК, 8% были не чувствительны к ССК, и отсутствовали нейроны, активируемые ССК (рис. 4).

У взрослых и старых крыс средняя частота импульсации в контроле была меньше и составляла 0.8 ± 0.3 у взрослых и 0.6 ± 0.1 имп./с у старых крыс (достоверные различия между молодыми и старыми крысами, $p < 0.05$). После введения ССК у взрослых частота импульсации равнялась 0.7 ± 0.3 , после проглумида – 0.7 ± 0.2 имп./с; у старых – 0.5 ± 0.2 и 0.6 ± 0.2 имп./с соответственно. В отличие от молодых крыс, частоты разрядов нейронов после введения ССК, а также ССК и проглумида у взрослых и старых животных достоверно не отличались от фоновых значений ($p > 0.05$).

У взрослых и старых крыс доля не чувствительных к ССК нейронов составляла 11%. При этом, в отличие от молодых, в этих возрастных группах обнаруживались активируемые ССК нейроны, доля которых составляла 7 и 14% соответственно.

Воздействие ССК и проглумида на частоту разрядов нейронов ВМЯ

В ВМЯ молодых крыс при введении ССК средняя частота импульсации достоверно снижалась с 2.0 ± 0.4 до 0.9 ± 0.2 имп./с ($p < 0.05$), хотя и в меньшей степени по сравнению с ДМЯ (рис. 5, 6). Так же, как и в ДМЯ, совместное введение ССК и проглумида достоверно не изменяло частоту разрядов, которая у молодых крыс составляла 1.8 ± 0.4 имп./с ($p > 0.05$).

У взрослых и старых крыс средняя частота импульсации в контроле равнялась 1.3 ± 0.4 у взрослых и 0.9 ± 0.2 имп./с у старых крыс. Так же, как и в ДМЯ, имелись достоверные различия между средней частотой разрядов между молодыми и старыми крысами ($p < 0.05$). После введения ССК у взрослых частота импульсации рав-

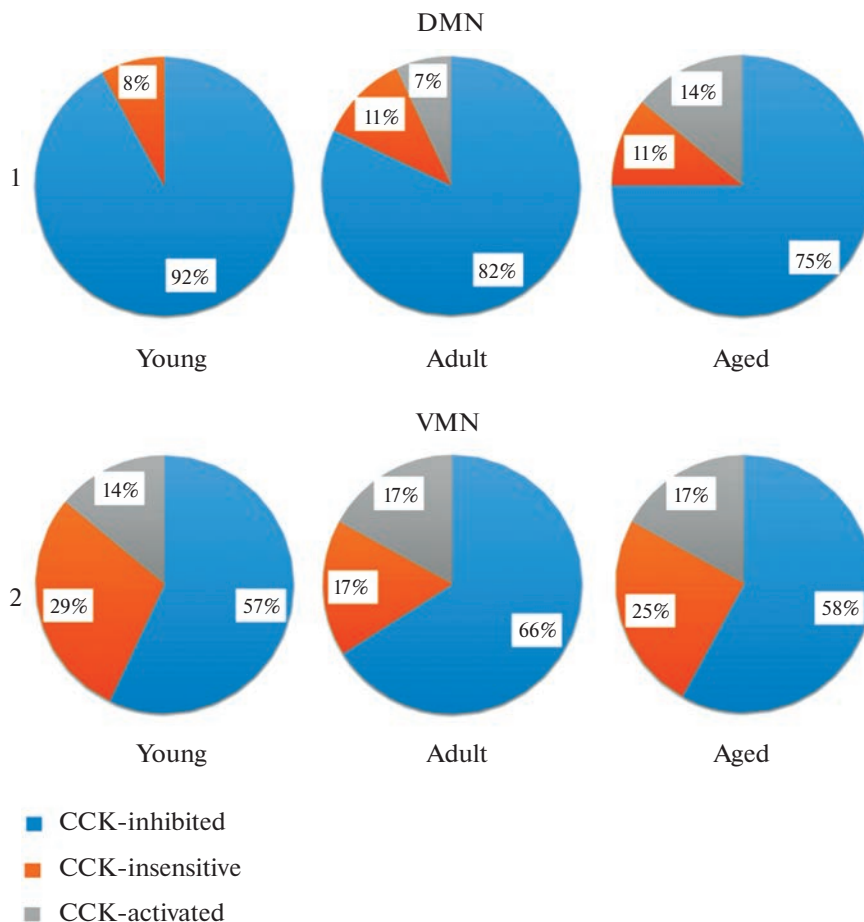


Рис. 4. Секторная диаграмма распределения нейронов, ингибируемых ССК (CCK-inhibited), индифферентных к ССК (CCK-insensitive) и активируемых ССК (CCK-activated) в ДМЯ (1) и ВМЯ (2).

нялась 0.7 ± 0.3 , у старых — 0.6 ± 0.2 имп./с. После введения ССК и проглумида — 1.3 ± 0.4 и 1.0 ± 0.2 имп./с соответственно. При этом средние частоты импульсации нейронов после введения ССК, а также ССК и проглумида у взрослых и старых животных достоверно не отличались от фоновых значений ($p > 0.05$).

Большинство нейронов ВМЯ ингибировались ССК у всех возрастных групп. При этом в отличие от ДМЯ, у всех возрастных групп отмечались нейроны, активируемые ССК, процент которых составлял от 14 до 17%.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Результаты нашей работы впервые позволили установить, что с возрастом происходит ослабление ингибирующих влияний ССК на нейроны ДМЯ и ВМЯ гипоталамуса. В отличие от молодых крыс, у взрослых 12-месячных и старых 24-месячных животных не наблюдались достоверные отличия по частоте импульсации нейронов до и после введения ССК. Частота фоновой импульсации нейронов ДМЯ и

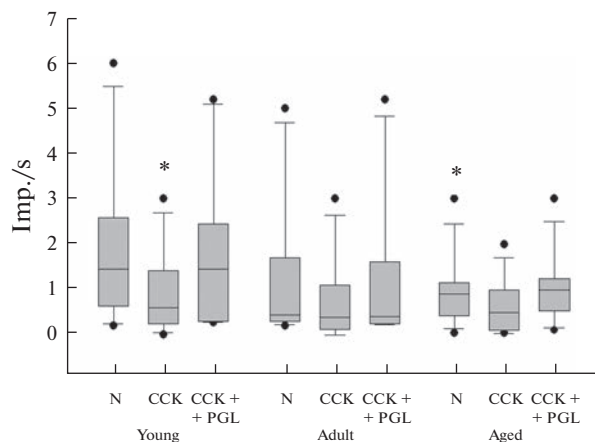


Рис. 5. Частота импульсов (Imp./s) нейронов ДМЯ до (N), после введения холецистокинина (CCK) и после совместного введения холецистокинина и проглумида (CCK + PGL) у молодых (young), взрослых (adult) и старых крыс (aged). Верхняя и нижняя границы каждого прямоугольника — первый и третий квартили (25-й и 75-й процентиля соответственно), горизонтальная линия внутри — медиана (50-й процентиль), концы отрезков — 10-й и 90-й процентиля, точки — индивидуальные значения в выборке. * — $p < 0.05$, различия достоверны по сравнению с фоновой активностью молодых крыс.

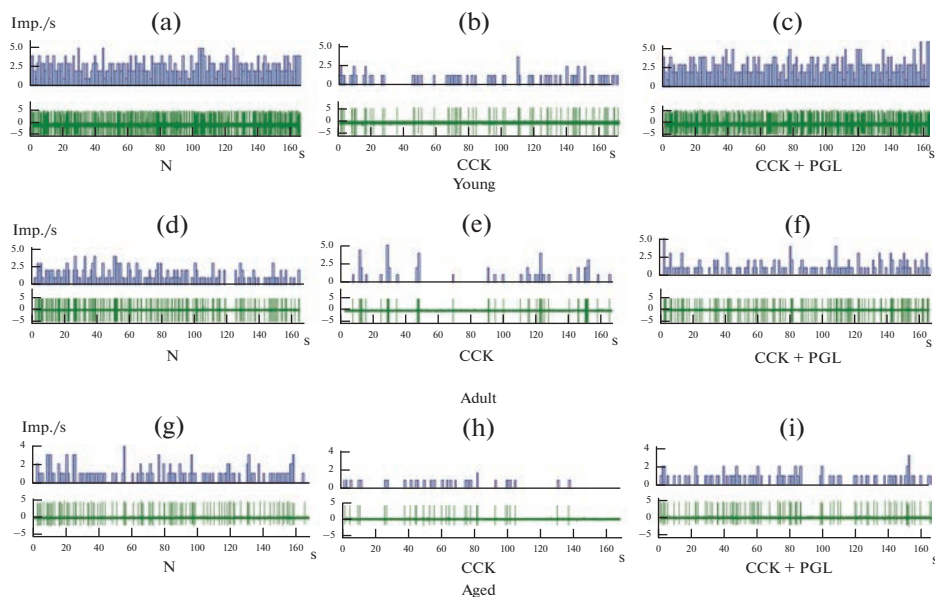


Рис. 6. Примеры фоновой активности отдельных нейронов ВМЯ до (N), после введения холецистокинина (CCK) и после совместного введения холецистокинина и проглумида (CCK + PGL) у молодых (a–c), взрослых (d–f) и старых крыс (g–i). В верхней части каждого примера — гистограмма изменения средней частоты разрядов (имп./с), в нижней — нативная спайковая активность. По оси ординат отложено время (s).

ВМЯ старых крыс была достоверно ниже по сравнению с молодыми животными, что соотносится с нашими ранее полученными данными [12, 13].

В медиобазальном гипоталамусе ССК экспрессируется главным образом в нейронах ДМЯ [19]. Данные литературы свидетельствуют, что ССК-содержащие нейроны ДМЯ колокализуют продинорфин и гастрин-высвобождающий пептид, но не содержат рецепторы к лептину и инсулину [20]. Активация этих нейронов приводит к прекращению приема пищи, вероятно, за счет вовлечения мезолимбической системы. Точные проекции этих нейронов не идентифицированы. В то же время известно, что часть нейронов ДМЯ, например, нейроны, высвобождающие пролактин-рилизинг-пептид, могут проецироваться в ядро одиночного пути, а их удаление ослабляет чувство насыщения, вызванное ССК [21]. Кроме того, NPY-содержащие нейроны ДМЯ могут косвенно влиять на передачу сигналов ССК через проекции к паравентрикулярному ядру гипоталамуса и латеральной гипоталамической области [22].

Введение ССК непосредственно в ДМЯ снижает потребление пищи, уменьшает экспрессию нейропептида NPY в этом ядре, а также увеличивает количество клеток, иммунопозитивных к гену раннего реагирования *c-fos* в паравентрикулярном, дугообразном и супрахиазматическом ядрах и ретрохиазматической области, а также в контрлатеральном ДМЯ. Этот паттерн активности отличается от такового при периферическом введении ССК, который действует короткое время и в первую очередь активирует нейроны в ядрах одиночного пути, *area postrema*, а также паравентрикулярном и дорсомедиальном ядрах [23]. В экспериментах *in vitro* на срезах гипоталамуса аппликация ССК вызывала увеличение амплитуды тормозных постсинаптических потенциалов в ДМЯ [7], а в ВМЯ вызывала увеличение частоты разрядов всех нейронов ядра [9].

При периферическом, в том числе внутривенном введении, ССК воздействует через афференты блуждающего нерва на ядро одиночного пути. Восходящие аксоны катехоламинергических нейронов заднего мозга, направляющиеся затем в паравентрикулярное ядро гипоталамуса и миндалину, опосредуют насыщающий эффект ССК на прием пищи [24–26].

По характеру ответной реакции на ССК, нами были выделены три группы нейронов ДМЯ и ВМЯ: ингибируемые ССК, активируемые ССК и нечувствительные к ССК. В ДМЯ с возрастом распределение функциональных групп между ингибируемыми и активируемыми ССК изменялось. При этом у молодых крыс в ДМЯ отсутствовали нейроны, активируемые ССК, а наибольший процент нейронов, активируемых ССК, наблюдался у старых животных. В ВМЯ с возрастом не наблюдалось выраженных изменений между долями этих групп, а численные значения соответствуют данным литературы, полученным на взрослых крысах [8]. С возрастом у человека содержание ССК в плазме крови увеличивается [27]. Увеличение содержания ССК может вызвать десенситизацию рецепторов [28], что объясняет отсутствие снижения частоты импульсации нейронов гипоталамуса в ответ на ССК при старении. Можно предположить, что при старении уменьшается и плотность рецепторов ССК2, это может приводить с возрастом также к уменьшению ответа на ССК.

Нейроны ВМЯ в меньшей степени ингибировались ССК по сравнению с ДМЯ даже у молодых животных. Также процент нейронов, ингибируемых ССК, был меньше в ВМЯ в сравнении с ДМЯ. В ВМЯ молодых крыс при введении ССК средняя частота импульсации уменьшалась в меньшей степени по сравнению с ДМЯ. Указанные различия по характеру воздействия ССК на нейроны, вероятно, связаны с функциональными особенностями этих двух ядер гипоталамуса. Оба ядра принимают участие в регуляции обмена веществ. При этом нейроны ДМЯ содержат медиаторы глутамат и ГАМК, следует отметить, что доля последнего преобла-

дает [29]. В ВМЯ преобладают глутаматергические нейроны, а доля ГАМК-ергических невелика [30]. Соматодендритное высвобождение ССК в нейронах ДМЯ способствует выделению ГАМК, предположительно, за счет пресинаптических ССК-рецепторов. В экспериментах *in vitro* на срезах гипоталамуса аппликация ССК вызывала увеличение амплитуды тормозных постсинаптических потенциалов в ДМЯ [7]. В то же время ССК *in vitro* при аппликации в ВМЯ вызывала увеличение частоты разрядов всех нейронов ядра [9]. Активация рецепторов ССК₂, в свою очередь, может способствовать активации NMDA-рецепторов, что было показано в нейронах гиппокампа [31].

Снижение частоты импульсации нейронов ДМЯ и ВМЯ гипоталамуса при старении может быть связано с увеличением длительности следовой гиперполяризации, описанной в коре головного мозга и гиппокампе стареющих животных [32]. При этом с возрастом нарушается регуляция содержания Ca^{2+} в нейронах. Изменения Ca^{2+} -буферизации могут вызывать увеличение продолжительности Ca^{2+} -ответа и увеличение Ca^{2+} -зависимого K^{+} -тока [33]. При старении в гипоталамусе отмечается гиперактивация астроцитарного пути IKK β /NF- κ B, что вызывает редукцию тонких дистальных отростков астроцитов. Это вызывает, в свою очередь, уменьшение поглощения ГАМК астроцитами, увеличение уровня ГАМК во внеклеточном пространстве и последующую активацию внесинаптических нейрональных ГАМК_B-рецепторов [34], что также может приводить к торможению активности нейронов и снижению частоты фоновой импульсации у старых животных.

ССК, взаимодействуя с рецептором ССК₂, вызывает выделение оксида азота, который, распространяясь ретроградно, усиливает высвобождение ГАМК из терминалей нейронов, иннервирующих орексигенные нейроны ДМЯ, тем самым угнетая нейронную активность последних [35]. Возрастные изменения на различных уровнях передачи ССК-сигнала также могут способствовать снижению чувствительности гипоталамуса к ССК у старых крыс.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Внутривенное введение ССК приводит к снижению электрической активности нейронов ДМЯ и ВМЯ гипоталамуса у молодых крыс. У взрослых и старых крыс средняя фоновая частота разрядов нейронов ДМЯ и ВМЯ под влиянием ССК достоверно не меняется. Выявление нейрофизиологических механизмов, лежащих в основе этого явления, требует дальнейшего изучения.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Все применимые международные, национальные и/или институциональные принципы ухода и использования животных были соблюдены. Все процедуры, выполненные в исследованиях с участием животных, соответствовали этическим стандартам, утвержденным правовыми актами РФ, принципам Базельской декларации и рекомендациям этического комитета Ярославского государственного медицинского университета, протокол № 60 от 16.02.2023.

ИСТОЧНИКИ ФИНАНСИРОВАНИЯ

Работа выполнена при поддержке Российского научного фонда (грант 19-15-00039).

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

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

ВКЛАД АВТОРОВ

Идея работы и планирование эксперимента – П.М.М., сбор данных – А.А.С., К.Ю.М., П.А.А., обработка данных – А.А.С., К.Ю.М., П.А.А., Г.А.Т., П.М.М., написание и редактирование статьи – П.М.М.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Ambler M, Hitrec T, Wilson A, Cerri M, Pickering A (2022) Neurons in the Dorsomedial Hypothalamus Promote, Prolong, and Deepen Torpor in the Mouse. *J Neurosci* 42: 4267–4277. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2102-21.2022>
2. Mieda M, Williams SC, Richardson JA, Tanaka K, Yanagisawa M (2006) The dorsomedial hypothalamic nucleus as a putative food-entrainable circadian pacemaker. *Proc Natl Acad Sci U S A* 103: 12150–121505. <https://doi.org/10.1073/pnas.0604189103>
3. Northeast RC, Vyazovskiy VV, Bechtold DA (2020) Eat, sleep, repeat: the role of the circadian system in balancing sleep-wake control with metabolic need. *Curr Opin Physiol* 15: 183–191. <https://doi.org/10.1016/j.cophys.2020.02.003>
4. Sanetra AM, Palus-Chramiec K, Chrobok L, Jeczmierni-Lazur JS, Gawron E, Klich JD, Pradel K, Lewandowski MH (2022) High-Fat-Diet-Evoked Disruption of the Rat Dorsomedial Hypothalamic Clock Can Be Prevented by Restricted Nighttime Feeding. *Nutrients* 14: 5034. <https://doi.org/10.3390/nu14235034>
5. Sayegh AI (2013) The role of cholecystokinin receptors in the short-term control of food intake. *Prog Mol Biol Transl Sci* 114: 277–316. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-386933-3.00008-X>
6. Watts AG, Kanoski SE, Sanchez-Watts G, Langhans W (2022) The physiological control of eating: signals, neurons, and networks. *Physiol Rev* 102: 689–813. <https://doi.org/10.1152/physrev.00028.2020>
7. Crosby KM, Baimoukhametova DV, Bains JS, Pittman QJ (2015) Postsynaptic Depolarization Enhances GABA Drive to Dorsomedial Hypothalamic Neurons through Somatodendritic Cholecystokinin Release. *J Neurosci* 35: 13160–13170. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3123-14.2015>
8. Sabatier N, Leng G (2010) Responses to cholecystokinin in the ventromedial nucleus of the rat hypothalamus *in vivo*. *Eur J Neurosci* 31: 1127–1135. <https://doi.org/10.1111/j.1460-9568.2010.07144.x>
9. Heide E, Davidowa H (1998) Interactive effects of cholecystokinin-8S and serotonin on spontaneously active neurons in ventromedial hypothalamic slices. *Neuropeptides* 32(5): 423–429. [https://doi.org/10.1016/S0143-4179\(98\)90066-X](https://doi.org/10.1016/S0143-4179(98)90066-X)
10. Moiseev KY, Vishnyakova PA, Porseva VV, Masliukov AP, Spirichev AA, Emanuilov AI, Masliukov PM (2020) Changes of nNOS expression in the tuberal hypothalamic nuclei during ageing. *Nitric Oxide* 100–101: 1–6. <https://doi.org/10.1016/j.niox.2020.04.002>
11. Masliukov PM, Nozdrachev AD (2021) Hypothalamic Regulatory Mechanisms of Aging. *J Evol Biochem Phys* 57: 473–491. <https://doi.org/10.1134/S0022093021030030>
12. Moiseev KY, Spirichev AA, Vishnyakova PA, Pankrasheva LG, Masliukov PM (2021) Changes of discharge properties of neurons from dorsomedial hypothalamic nuclei during aging in rats. *Neurosci Lett* 762: 136168. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2021.136168>
13. Moiseev KY, Spirichev AA, Pankrasheva LG, Martyusheva AS, Abramova AY, Maslyukov PM (2021) Spike Activity in the Ventromedial Nucleus of Rat Hypothalamus during Aging. *Bull Exp Biol Med* 171: 251–253. <https://doi.org/10.1007/s10517-021-05205-4>
14. Анисимов ВН (2008) Молекулярные и физиологические механизмы старения. В 2 т. СПб. Наука. [Anisimov VN (2008) Molecular and physiological mechanisms of aging. In 2 v. SPb. Nauka. (In Russ)].
15. Carrascosa JM, Ros M, Andrés A, Fernández-Agulló T, Arribas C (2009) Changes in the neuroendocrine control of energy homeostasis by adiposity signals during aging. *Exp Gerontol* 44: 20–25. <https://doi.org/10.1016/j.exger.2008.05.005>
16. Cawthon CR, de La Serre CB (2021) The critical role of CCK in the regulation of food intake and diet-induced obesity. *Peptides* 138: 170492. <https://doi.org/10.1016/j.peptides.2020.170492>
17. Paxinos G, Watson C (2017) The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates, compact 7th ed. Elsevier. Acad Press.

18. Kendrick K, Leng G, Higuchi T (1991) Noradrenaline, dopamine and serotonin release in the paraventricular and supraoptic nuclei of the rat in response to intravenous cholecystokinin injections. *J Neuroendocrinol* 3(2): 139–144.
<https://doi.org/10.1111/j.1365-2826.1991.tb00255.x>
19. Watts AG, Kanoski SE, Sanchez-Watts G, Langhans W (2022) The physiological control of eating: signals, neurons, and networks. *Physiol Rev* 102(2): 689–813.
<https://doi.org/10.1152/physrev.00028.2020>
20. Imoto D, Yamamoto I, Matsunaga H, Yonekura T, Lee ML, Kato KX, Yamasaki T, Xu S, Ishimoto T, Yamagata S, Otsuguro KI, Horiuchi M, Iijima N, Kimura K, Toda C (2021) Refeeding activates neurons in the dorsomedial hypothalamus to inhibit food intake and promote positive valence. *Mol Metab* 54: 101366.
<https://doi.org/10.1016/j.molmet.2021.101366>
21. Dodd GT, Worth AA, Nunn N, Korpai AK, Bechtold DA, Allison MB, Myers MG Jr, Statnick MA, Luckman SM (2014) The thermogenic effect of leptin is dependent on a distinct population of prolactin-releasing peptide neurons in the dorsomedial hypothalamus. *Cell Metab* 20: 639–649.
<https://doi.org/10.1016/j.cmet.2014.07.022>
22. Blevins JE, Morton GJ, Williams DL, Caldwell DW, Bastian LS, Wisse BE, Schwartz MW, Baskin DG (2009) Forebrain melanocortin signaling enhances the hindbrain satiety response to CCK-8. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 296: R476–R484.
<https://doi.org/10.1152/ajpregu.90544.2008>
23. Chen J, Scott KA, Zhao Z, Moran TH, Bi S (2008) Characterization of the feeding inhibition and neural activation produced by dorsomedial hypothalamic cholecystokinin administration. *Neuroscience* 152(1): 178–188.
<https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2007.12.004>
24. Noetzel S, Stengel A, Inhoff T, Goebel M, Wisser AS, Bannert N, Wiedenmann B, Klapp BF, Taché Y, Mönnikes H, Kobelt P (2009) CCK-8S activates c-Fos in a dose-dependent manner in nesfatin-1 immunoreactive neurons in the paraventricular nucleus of the hypothalamus and in the nucleus of the solitary tract of the brainstem. *Regul Pept* 157(1–3): 84–91.
<https://doi.org/10.1016/j.regpep.2009.06.009>
25. Cai H, Haubensak W, Anthony TE, Anderson DJ (2014) Central amygdala PKC- δ (+) neurons mediate the influence of multiple anorexigenic signals. *Nat Neurosci* 17(9): 1240–1248.
<https://doi.org/10.1038/nn.3767>
26. D'Agostino G, Lyons DJ, Cristiano C, Burke LK, Madara JC, Campbell JN, Garcia AP, Land BB, Lowell BB, Dileone RJ, Heisler LK (2016) Appetite controlled by a cholecystokinin nucleus of the solitary tract to hypothalamus neurocircuit. *Elife* 5: e12225.
<https://doi.org/10.7554/elife.12225>
27. Berthélemy P, Bouisson M, Vellas B, Moreau J, Nicole-Vaysse, Albaredé JL, Ribet A (1992) Postprandial cholecystokinin secretion in elderly with protein-energy undernutrition. *J Am Geriatr Soc* 40: 365–369.
<https://doi.org/10.1111/j.1532-5415.1992.tb02136.x>
28. Covasa M (2010) Deficits in gastrointestinal responses controlling food intake and body weight. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 299: R1423–R1439.
<https://doi.org/10.1152/ajpregu.00126.2010>
29. Vong L, Ye C, Yang Z, Choi B, Chua S Jr, Lowell BB (2011) Leptin action on GABAergic neurons prevents obesity and reduces inhibitory tone to POMC neurons. *Neuron* 71: 142–154.
<https://doi.org/10.1016/j.neuron.2011.05.028>
30. Yamamoto R, Ahmed N, Ito T, Gungor NZ, Pare D (2018) Optogenetic Study of Anterior BNST and Basomedial Amygdala Projections to the Ventromedial Hypothalamus. *eNeuro* 5: ENEURO.0204–18.2018.
<https://doi.org/10.1523/ENEURO.0204-18.2018>
31. Xiao Z, Jaiswal MK, Deng PY, Matsui T, Shin HS, Porter JE, Lei S (2012) Requirement of phospholipase C and protein kinase C in cholecystokinin-mediated facilitation of NMDA channel function and anxiety-like behavior. *Hippocampus* 22: 1438–1450.
<https://doi.org/10.1002/hipo.20984>
32. Moore SJ, Cazares VA, Temme SJ, Murphy GG (2023) Age-related deficits in neuronal physiology and cognitive function are recapitulated in young mice overexpressing the L-type calcium channel, CaV 1.3. *Aging Cell* 22: e13781.
<https://doi.org/10.1111/accel.13781>
33. Sahu G, Turner RW (2021) The Molecular Basis for the Calcium-Dependent Slow Afterhyperpolarization in CA1 Hippocampal Pyramidal Neurons. *Front Physiol* 12: 759707.
<https://doi.org/10.3389/fphys.2021.759707>
34. Sa M, Park MG, Lee CJ (2022) Role of Hypothalamic Reactive Astrocytes in Diet-Induced Obesity. *Mol Cells* 45: 65–75.
<https://doi.org/10.14348/molcells.2022.2044>
35. Rust VA, Crosby KM (2021) Cholecystokinin acts in the dorsomedial hypothalamus of young male rats to suppress appetite in a nitric oxide-dependent manner. *Neurosci Lett* 764: 136295.
<https://doi.org/10.1016/j.neulet.2021.136295>

Age-Dependent Influence of Cholecystokinin on the Impulse Activity of Neurons in the Dorsomedial and Ventromedial Nuclei of the Hypothalamus in Rats

**A. A. Spirichev^a, K. Yu. Moiseev^a, P. A. Anfimova^a,
G. A. Tarasova^a, and P. M. Masliukov^a, ***

^aYaroslavl State Medical University, Yaroslavl, Russia

**e-mail: mpm@ysmu.ru*

The aim of the work was to analyze the background and induced by the intravenous administration of the cholecystokinin sulfated octapeptide (CCK), as well as the cholecystokinin antagonist proglumide impulse neuronal electrical activity in the dorsomedial (DMN) and ventromedial (VMN) nuclei of the hypothalamus in young (2–3 months), adults (12 months) and aged (24 months) male rats under urethane anesthesia. The mean frequency of background discharges after the injection of CCK in young rats in the DMN significantly decreased from 1.5 ± 0.4 to 0.2 ± 0.1 impulse/s, in the VMN from 2.0 ± 0.4 to 0.9 ± 0.2 impulse/s. Simultaneous administration of CCK and proglumide did not lead to change of frequencies of neuronal activity in this age group. In adult and aged rats, the mean of the background frequency of discharges of neurons in the DMN and VMN was lower than in young rats and did not change significantly under the influence of CCK and proglumide. In DMN and VMN, the most of the neurons were inhibited by CCK, while in DMN the percentage of neurons inhibited by CCK was higher compared to VMN. The DMN of young animals lacked the CCK-activated neurons that appeared in adult and old animals. Thus, this study confirms the elevation theory of aging, which consists in a decrease in the sensitivity of the hypothalamus to homeostatic signals, in particular, hormones that regulate eating behavior.

Keywords: hypothalamus, cholecystokinin, impulse activity, electrophysiology, aging