

УДК 612.826.4

DOI 10.23648/UMBJ.2018.29.11371

РОЛЬ АРГИНИН-ВАЗОПРЕССИНА В РЕГУЛЯЦИИ АКТИВНОСТИ НЕЙРОНОВ ЦИРКАДИАНЫХ ЧАСОВ СУПРАХИАЗМАТИЧЕСКОГО ЯДРА ГИПОТАЛАМУСА*

М.А. Ткачева, Е.М. Инюшкина, С.Д. Карян, А.Н. Инюшкин

ФГАОУ ВО «Самарский национальный исследовательский университет
им. академика С.П. Королева», г. Самара, Россия

e-mail: tkachevara@mail.ru

Аргинин-вазопрессин является наиболее распространенным нейропептидом в нейронах супрахиазматического ядра млекопитающих, выполняющим роль главного циркадианного осциллятора. Существует суточный ритм количества вазопрессинергических нейронов в супрахиазматическом ядре с ростом в дневные часы и увеличением продукции вазопрессина в утренние часы. Этот ритм важен для циклической суточной регуляции активности гормональных гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой и гипоталамо-гипофизарно-гонадальной осей, а также тонуса вегетативной нервной системы. Вазопрессинергические нейроны супрахиазматического ядра оказались вовлеченными в патогенез ряда заболеваний, в частности первичной артериальной гипертензии, депрессивных состояний.

Цель исследования состояла в изучении влияния аргинин-вазопрессина на параметры электрической активности нейронов циркадианного осциллятора.

Материалы и методы. Эксперименты выполнены in vitro на переживающих срезах гипоталамуса крыс-самцов линии Вистар. С помощью электрофизиологической техники микроэлектродной регистрации изучали влияние аппликаций 20 нМ вазопрессина в перфузионный раствор на параметры спайковой активности нейронов супрахиазматического ядра.

Результаты. В супрахиазматическом ядре обнаружены нейроны с четырьмя различными типами спайковой активности: нерегулярным, регулярным, низким и залповым. Эти типы активности различались по частоте генерации потенциалов действия, энтропии распределения межспайковых интервалов, являющейся мерой нерегулярности генерации спайков, и обоюдной информации между сопряженными межспайковыми интервалами, отражающей степень паттернирования спайкового кода. Аппликации вазопрессина вызывали рост уровня активности у 52,3 % исследованных нейронов, сопровождавшийся снижением энтропии распределения межспайковых интервалов и ростом обоюдной информации между сопряженными межспайковыми интервалами, что свидетельствует о влиянии вазопрессина на параметры спайкового кодирования информации. Описанный тип реакций обнаружен у 88,8 % нейронов с низкой активностью, 64,3 % нейронов с нерегулярной активностью, 60,0 % нейронов с залповой активностью и 21,7 % нейронов с регулярной активностью. Лишь в 4,6 % случаев реакции на воздействие вазопрессина характеризовались снижением уровня спайковой активности.

Заключение. Представленные данные свидетельствуют о том, что вазопрессин, занимая одно из центральных мест в регуляции осмотического давления и тонуса кровеносных сосудов человека и млекопитающих, способен также оказывать влияние на биологические ритмы. Это влияние объясняется непосредственными эффектами данного пептида на уровне нейронов супрахиазматического ядра.

Ключевые слова: вазопрессин, супрахиазматическое ядро гипоталамуса, реабсорбция, иммуннотоксичность, осморорецепторы, биологические ритмы, спайковое кодирование информации.

* Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ и Правительства Самарской области в рамках научного проекта № 16-44-630632-р_а.

Введение. Супрахиазматическое ядро гипоталамуса (СХЯ) является главным циркадианным осциллятором у млекопитающих и человека, оно отвечает за многочисленные суточные биологические ритмы сна и бодрствования, пищевого поведения, гормональной секреции. Настройка СХЯ происходит фотически и нефотически. Нефотическая настройка осуществляется при участии нейропептидов. Нейропептиды, оказывающие влияние на функциональную активность нейронов СХЯ, различаются степенью участия в синхронизации циркадианного осциллятора. Среди нейропептидов клеток супрахиазматического ядра млекопитающих и человека наиболее распространенным является аргинин-вазопрессин. Данное вещество характеризуется полифункциональностью, плейотропностью. В спектре его функциональной активности наиболее изучены стимуляция реабсорбции воды в почках, тонуса кровеносных сосудов, регуляция агрессивного поведения и памяти млекопитающих [1]. Главными местами продукции вазопрессина являются супраоптическое и паравентрикулярное ядра гипоталамуса, откуда пептид транспортируется по аксонам в заднюю долю гипофиза и далее секретировается в кровь. Первые нейроны, продуцирующие вазопрессин, были выявлены в дорсомедиальном отделе СХЯ человека, при этом пространственное распределение вазопрессинергических клеток в этом ядре соответствовало их локализации у грызунов [2–5]. Впоследствии аналогичные особенности были описаны у мРНК аргинин-вазопрессина в нейронах СХЯ человека [6, 7]. Дальнейшие исследования показали существование выраженного ритма продукции вазопрессина нейронами СХЯ в пределах 24-часового суточного цикла [8]. Благодаря иммунохимическому анализу тканей мозга, проведенному Нидерландским институтом неврологии, удалось выявить максимальное и минимальное количество нейронов, иммунореактивных к вазопрессину, в мозге человека в разное время суток. Оказалось, что если доноры умирали в дневные часы (10.00–18.00), то СХЯ содержало в 1,8 раза больше иммунореактивных к вазопрессину нейронов, чем у доноров, умерших в ночное время

(22.00–06.00). Пиковые значения продукции вазопрессина наблюдались ранним утром (06.00–10.00). Кроме данных о количестве вазопрессинергических нейронов в различные периоды дня и ночи, была также получена информация о сезонных изменениях их значений. Было показано, что наличие вазопрессинергических нейронов в СХЯ максимально в начале осени и минимально в конце весны и начале лета. При этом межиндивидуальные различия в количестве вазопрессин-иммунореактивных нейронов в осеннем периоде были в три раза выше, чем в весеннем и летнем.

В исследованиях *in vivo*, выполненных на животных, установлено, что вазопрессинергические структуры СХЯ имеют выраженный суточный ритм, проявляющийся в ритмическом синтезе и ритмическом высвобождении вазопрессина, а также в суточных колебаниях количества нейронов, экспрессирующих вазопрессин. Одним из важнейших физиологических результатов этих изменений являются суточные колебания концентрации производных кортикостерона в плазме. Причиной последнего является непосредственная связь между высвобождением вазопрессина из окончаний нейронов СХЯ, расположенных в дорсомедиальном гипоталамусе, и механизмами контроля суточного ритма активности гипоталамо-гипофизарной оси надпочечников [9]. Ритм продукции вазопрессина у крыс в СХЯ обеспечивает низкие уровни циркуляции кортикостерона в течение первой половины светового периода [10]. Циклическое снижение продукции вазопрессина в СХЯ служит предпосылкой для ежедневного роста кортикостерона плазмы в периоде до начала ночной локомоторной активности у крыс [11]. Продукция кортикостероидов в надпочечниках непосредственно регулируется кортикотропин-рилизинг гормоном, образующимся в паравентрикулярном ядре, однако индукции системного высвобождения адренкортикотропного гормона в плазму при прямом воздействии вазопрессина *in vitro* не происходит [12]. Интересно, что у дневных и ночных животных наблюдается приблизительно 12-часовая разница в моменте максимума концентрации кортикостерона в суточном цикле, несмотря на аналогичный

рост активности нейронов СХЯ и продукции вазопрессина у обеих групп животных в дневное время. Противоположный характер суточной динамики концентрации кортикостерона объясняют различиями в нейрохимическом фенотипе нейронов паравентрикулярного и дорсомедиального ядер, получающих эфферентные проекции из СХЯ: ГАМКергических – у ночных животных и глутаматергических – у дневных [13–15].

Дополнительные сведения о функциональной значимости суточных биоритмов СХЯ, в частности ритма продукции вазопрессина нейронами этого ядра, получены в наблюдениях за функциями вегетативной нервной системы, периферическими органами и тканями. Примером может служить важная роль симпатического отдела вегетативной нервной системы в контроле суточных ритмов высвобождения мелатонина из шишковидной железы [16, 17]. Еще одним примером являются случаи несоответствия между содержанием в плазме адренкортикотропного гормона и концентрацией кортикостерона, свидетельствующие о том, что вегетативная нервная система также может принимать участие в регуляции чувствительности коры надпочечников к адренкортикотропному гормону (АКТГ). Данное предположение подтверждается морфологическими исследованиями с применением метода трассировки вирусных маркеров из надпочечников в паравентрикулярное ядро и маркировки нейронов третьего порядка в СХЯ [18]. Функциональное значение этой мультисинаптической связи между СХЯ и корой надпочечников в формировании ежедневного биологического ритма высвобождения кортикостерона установлено при помощи комбинированного микродиализа [19]. Исходя из полученных данных сделано заключение о том, что СХЯ использует механизм контроля суточных гормональных ритмов посредством воздействия на нейроэндокринные нейроны и ткани-мишени через вегетативную нервную систему с целью модуляции их чувствительности.

Ритм продукции вазопрессина в СХЯ важен не только для контроля суточных ритмов активности гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой оси, но и для регуляции гипота-

ламо-гипофизарно-гонадальной оси. Очевидно, что существует четкая связь между биологическими часами млекопитающих и некоторыми аспектами сексуального поведения. Оказалось, что ритмические изменения активности гипоталамо-гипофизарно-гонадальной оси необходимы для успешного воспроизводства потомства в определенные периоды суток. Готовность к воспроизводству потомства зависит от преовуляторного выброса лютеинизирующего гормона (ЛГ), а медиальная преоптическая область (МПО) содержит высокую концентрацию эстрогеновых рецепторов, необходимых для положительной обратной связи из СХЯ. Исходя из этих данных можно предположить, что СХЯ обеспечивает синхронизацию репродуктивных сигналов с циркадианным ритмом. Предыдущие анатомические исследования указывают на участие вазопрессина в иннервации в МПО; эта иннервация, по всей вероятности, происходит из СХЯ, структуры которого не обладают непосредственной чувствительностью к половым гормонам [20, 21]. Установлено, что аксоны нейронов СХЯ, по-видимому, использующие вазопрессин в качестве нейротрансмиттера, образуют синаптические контакты с клетками МПО, имеющими рецепторы эстрогенов [22, 23]. Кроме этого, в некоторых работах описана взаимосвязь между женским сексуальным поведением и наличием производных вазопрессина в СХЯ. Имеется предположение, что МПО функционирует как промежуточная область мозга для передачи суточной информации от СХЯ к гипоталамо-гипофизарно-гонадальной оси [24–26]. В исследованиях с использованием метода обратного микродиализа продемонстрировано, что увеличение уровня внеклеточной концентрации вазопрессина в МПО у животных может стимулировать выброс ЛГ [27]. Характерной особенностью вазопрессина является совпадение времени его экспрессии в СХЯ с ежедневным сигналом, получаемым от нейронов, стимулирующих выброс ЛГ [28]. Доказательства функциональной значимости циркадианной регуляции СХЯ традиционно добываются в экспериментах с локальным разрушением этого ядра у животных. Исчезновение у таких жи-

вотных каких-либо признаков суточных ритмов сопровождается снижением концентрации ЛГ до базального уровня и исчезновением физиологических флуктуаций уровня ЛГ. В этих условиях двухчасовое введение вазопрессина в МПО является достаточным для восстановления полного выброса ЛГ, сопоставимого с эстроген-индуцированным выбросом ЛГ у СХЯ-интактных животных как по форме, так и по амплитуде [29]. Поэтому высокая секреция вазопрессина в СХЯ и терминалях МПО, возникающая во время готовности к выбросу ЛГ, является циркадианным сигналом, необходимым для генерации биологических ритмов в репродуктивной системе [30, 31]. Еще одной группой клеток, получающих прямые и опосредованные проекции из СХЯ, является совокупность нейронов, продуцирующих гонадотропин-рилизинг-гормон (ГнРГ) [32, 33]. Циркадианная вариация интенсивности выделения вазопрессина из терминалей СХЯ, очевидно, является важным регуляторным сигналом для этих нейронов в отношении контроля нейроэндокринных ритмов. Структуры мозга, такие как дорсомедиальное ядро и МПО, отличающиеся богатством афферентных путей, позволяют интегрировать информацию, поступающую из различных систем организма, с целью окончательного формирования сигнала и отправки его к исполнительным нейронам. Кроме того, одновременное высвобождение вазопрессина из окончаний нейронов СХЯ в различных областях мозга может, например, уменьшить выраженность реакции стресса через нейроны одной области (паравентрикулярное ядро и дорсомедиальное ядро) и одновременно простимулировать сексуальную активность через нейроны другой области (МПО). Стимулирующее влияние вазопрессина СХЯ на функциональное состояние гипоталамо-гипофизарно-гонадальной оси проявляется параллельно с его ингибирующим влиянием на секрецию гормонов стресса. Для дальнейшего понимания физиологической роли и механизмов действия вазопрессина, образующегося в нейронах СХЯ, большой интерес представляют результаты отдельных работ, в которых показано его участие в регуляции продукции мелатонина в эпифизе и

образование глюкозы в печени, реализующиеся через структуры вегетативной нервной системы [34, 35].

В литературе имеются сведения о том, что вазопрессинергические структуры СХЯ подвержены значительным возрастным изменениям. Так, у людей в возрасте от 80 до 100 лет выявлено заметное снижение количества вазопрессинсодержащих нейронов в СХЯ; аналогичные изменения обнаружены у субъектов с некоторыми нарушениями психики [5]. Подобное снижение количества вазопрессина в СХЯ было отмечено также у стареющих экспериментальных животных [36, 37]. У пациентов с болезнью Альцгеймера уровень экспрессии вазопрессина в СХЯ также оказался сниженным [38]. В то же время для субъектов моложе 50 лет, как правило, характерен нормальный уровень продукции вазопрессина в СХЯ [39]. Проведенные недавно посмертные исследования демонстрируют, что снижение экспрессии вазопрессина в СХЯ человека статистически значимо коррелирует с нарушением суточных ритмов его активности [40]. Получены данные о том, что снижение иммунореактивности к вазопрессину при старении скорее является результатом снижения активности вазопрессинергических нейронов в СХЯ, чем результатом уменьшения их количества. Нейроны СХЯ могут быть реактивированы путем воздействия на них различными раздражителями. Восстановление амплитуды ритма активности нейронов при помощи циркадианного впрыска гормонов приводит к корректировке параметров поведенческих ритмов. Исследователям удалось увеличить количество клеток в СХЯ, продуцирующих вазопрессин, у очень старых крыс при помощи удлинения светового периода, а также предотвратить ухудшения, связанные с нарушениями поведенческих ритмов [41, 42]. Более того, в рандомизированном исследовании, выполненном на 189 пожилых людях, находившихся в 12 различных учреждениях по уходу за престарелыми людьми, долгосрочное лечение ярким светом (увеличение продолжительности светового периода суток) позволило в значительной степени купировать симптомы деменции и улучшить когнитивные показатели [43].

Уровень концентрации вазопрессина в СХЯ оказался сниженным более чем на половину у пациентов с первичной гипертензией, что свидетельствует о существенных изменениях на уровне циркадианных биологических часов при данной патологии [44]. У этих пациентов также выявлен двукратный рост количества нейронов паравентрикулярного ядра, продуцирующих кортикотропин-рилизинг гормон, и пятикратное увеличение в этом ядре мРНК этого гормона [45]. Повышенная активность нейронов паравентрикулярного ядра, продуцирующих кортикотропин-рилизинг гормон и непосредственно регулирующих активность гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой оси, а также активность симпатической нервной системы, может служить ключевой причиной развития гипертензии. Один из механизмов, лежащих в основе повышенной активности ГнРГ у пациентов с гипертонической болезнью, может заключаться в снижении ингибирующего влияния СХЯ. В пользу данного предположения свидетельствуют результаты модельных исследований, выполненных на спонтанно гипертонивных крысах, у которых наблюдались изменения уровня электрической активности нейронов СХЯ и повышение в этом ядре продукции вазоактивного интестинального полипептида [46, 47]. В исследовании на 16 мужчинах с гипертонической болезнью изучали эффекты перорального приема мелатонина в количестве 2,5 мг в день за 1 ч до сна в течение 3 нед. В данных условиях зарегистрировано умеренное гипотензивное влияние мелатонина: систолическое и диастолическое артериальное давление снижалось на 6 и 4 мм рт. ст. соответственно. Данный эффект мелатонина был краткосрочным, и после отмены лечения уровень артериального давления возвращался к исходным значениям [48]. Подобные исследования, однако, служат доказательством принципиальной возможности целенаправленного влияния на различные системы организма, а также модулирования суточных биоритмов и поведения через СХЯ.

Большой практический интерес для клиницистов представляют данные об увеличении числа нейронов СХЯ, иммунореактив-

ных к вазопрессину, уменьшении мРНК аргинин-вазопрессина и амплитуды ее суточной флуктуации, а также снижении продукции и высвобождения вазопрессина при депрессивных расстройствах [49]. Эти изменения происходят на фоне увеличения активности нейронов гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой оси. Некоторыми исследователями в качестве возможного подхода к лечению депрессивных состояний предлагается целенаправленное изменение активности вазопрессинергических нейронов СХЯ у пациентов с такими расстройствами [50, 51].

Для понимания первостепенной функциональной значимости вазопрессинергических механизмов СХЯ для генерации и экспрессии циркадианных ритмов особую важность представляют результаты электрофизиологических и цитохимических исследований. Установлено, что почти одна треть нейронов СХЯ синтезирует вазопрессин, среди них существует доля нейронов (менее 40 %), которые могут локально воздействовать на активность соседних вазопрессинергических нейронов через специфические рецепторы вазопрессина V1a [52–55]. Исследования с применением микродиализа демонстрируют, что вазопрессин высвобождается внутри СХЯ из нервных окончаний расположенных здесь нейронов [56, 57]. Таким образом, в СХЯ существует плотная сеть пептидергических, в т.ч. вазопрессинергических синаптических контактов с клетками, содержащими тот же или другие пептидергические нейротрансмиттеры [58–61]. В ряде исследований было установлено, что в супраоптическом и паравентрикулярном ядре вазопрессин высвобождается из дендритов и крупноклеточных нейронов, аналогичный механизм может существовать для мелкоклеточных нейронов СХЯ [62, 63]. Вазопрессин, высвобождающийся из окончаний нейронов СХЯ, как правило, обладает возбуждающим действием, при этом реакции клеток-мишеней являются фазозависимыми и опосредуются рецепторами V1a. Большинство клеток реагируют на воздействие вазопрессина в течение субъективной ночи, меньшинство – во время субъективного дня. Получены данные о том, что вазопрессин усиливает амплитуду суточного

ритма в СХЯ. Напротив, в экспериментах *in vitro* на крысах Brattleboro с генетическим дефицитом вазопрессина выявлено уменьшение амплитуды ритма активности нейронов СХЯ [64]. По некоторым данным, вазопрессин не вызывает существенных фазовых сдвигов при прямом воздействии на СХЯ у крыс *in vitro* [65] или *in vivo* [66]. В целом эти данные указывают на то, что вазопрессин не является «единственным» выходным нейрохимическим сигналом СХЯ, но тем не менее играет важную роль в амплификации и синхронизации эндогенной ритмичности биологических часов.

Цель исследования. Изучение *in vitro* влияния аргинин-вазопрессина на параметры спайковой активности нейронов циркадианного осциллятора СХЯ.

Материалы и методы. Эксперименты выполнены на 28 крысах-самцах линии Вистар массой тела 80–140 г. Экспериментальный протокол был согласован с комиссией по биологической этике Самарского национального исследовательского университета им. академика С.П. Королева. Крыс анестезировали уретаном (1,2 г/кг массы тела внутривенно) и декапитировали. С помощью вибратора готовили сагиттальные срезы гипоталамуса толщиной 300 мкм, включающие супрахиазматическое ядро. Во время регистрации срезы перфузировали искусственной цереброспинальной жидкостью с постоянной скоростью 1,5 мл/мин, регистрацию производили при температуре 27–30 °С. Спайковую активность нейронов регистрировали внеклеточно с помощью стеклянных микроэлектродов с диаметром кончика около 1 мкм. Сигнал от микроэлектрода усиливали, оцифровывали и подавали на персональный компьютер. Визуализацию сигнала, хранение и первичную обработку данных осуществляли с помощью программного пакета Spike 2 (CED, Великобритания).

Полученные данные подвергали статистической обработке. Для сравнения значений исследуемых показателей в ходе экспериментальных воздействий с исходным состоянием использовали парный *t*-тест или ранговый тест Уилкоксона (в случае несоответствия распределения данных в выборках

нормальному). Нормальность распределения данных в выборках проверяли с помощью теста Шапиро–Уилка, однородность дисперсий – с помощью теста Левена. Статистические данные, соответствующие нормальному распределению, представлены как средние арифметические \pm стандартные ошибки среднего. Изменения исследуемых параметров считались статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение. В СХЯ крыс линии Вистар *in vitro* выявлено 4 наиболее часто встречающихся типа активности: регулярный, нерегулярный, низкий и залповый [67]. На примере выборки из 65 нейронов СХЯ изучено влияние аппликаций 20 нМ аргинин-вазопрессина на частоту генерации спайков и параметры спайкового кодирования информации. Полученные результаты свидетельствуют о стимулирующем влиянии вазопрессина на уровень активности значительного процента нейронов СХЯ. В целом такой тип реакций выявлен в 52,3 % случаев (34 нейрона из 65). У 35,4 % зарегистрированных нейронов (23 нейрона из 65) установлен регулярный тип активности. Характерным признаком данного типа активности была высокая частота генерации спайков, тогда как продолжительность межспайковых интервалов, напротив, была стабильно короткой. Аппликации вазопрессина привели к статистически значимому росту частоты генерации спайков у 5 из 23 нейронов данного типа. Наиболее часто встречающимся типом активности среди зарегистрированных клеток СХЯ был нерегулярный тип активности – 43,1 % нейронов (28 нейронов из 65). Данный тип нейронов характеризовался непостоянством межспайковых интервалов, многочисленными периодами высокочастотной активности с короткими паузами. Среди нейронов данного типа наблюдалось значительное количество стимулирующих реакций на воздействие вазопрессина – 18 из 28, в то же время в 3 случаях вазопрессин вызвал снижение частоты генерации спайков у клеток с нерегулярной активностью. Низкая активность была зарегистрирована в 13,8 % случаев (9 нейронов из 65). Основным признаком активности таких нейронов была низкая час-

тота генерации потенциалов действия (<0,35 спайков в секунду); кроме того, их активность характеризовалась наивысшей степенью нерегулярности продолжительности межспайковых интервалов. Среди нейронов с низким типом активности обнаружен наивысший процент стимулирующих ответов на воздействие вазопрессина – 8 из 9 нейронов. Самыми малочисленными оказались нейроны с залповой активностью, их количество составило всего 7,7 % (5 из 65). Данный тип активности определялся характерным чередованием периодов высокочастотных залпов и продолжительных пауз, длительность которых колебалась от нескольких секунд до минуты. При этом указанный тип активности характеризовался относительным постоянством продолжительности межспайкового интервала и наивысшим значением обоюдной информации, отражающей степень встречаемости повторяющихся деталей спайкового кода (дуплетов, триплетов, залпов и пр.). Среди 5 зарегистрированных нейронов с залповой активностью у 3 клеток зарегистрирован рост частоты генерации спайков в ответ на аппликацию вазопрессина.

Таким образом, реакции на аппликацию 20 нМ аргинин-вазопрессина в перфузионный раствор в основном заключались в повышении частоты генерации потенциалов действия. Данные реакции были выявлены у 52,3 % всех зарегистрированных нейронов. Противоположные реакции, проявляющиеся в виде снижения частоты генерации потенциалов действия, встречались редко, лишь в 4,6 % от общего числа зарегистрированных

нейронов. При этом такие реакции обнаруживались исключительно у клеток с нерегулярным типом активности. У 43,1 % нейронов СХЯ в условиях воздействия вазопрессина существенных изменений уровня спайковой активности выявлено не было.

В целом, при анализе реакций 65 нейронов СХЯ на 20 нМ вазопрессина зарегистрирован статистически значимый рост частоты генерации потенциалов действия – на $0,70 \pm 0,18$ Гц ($p < 0,001$), снижение степени нерегулярности генерации спайков, выразившееся в снижении энтропии распределения межспайковых интервалов на $0,13 \pm 0,05$ бит ($p = 0,011$), а также рост паттернинга спайкового кода, проявившийся в увеличении обоюдной информации между сопряженными межспайковыми интервалами, на $0,035 \pm 0,017$ Гц ($p = 0,031$).

Заключение. Таким образом, кроме хорошо известной гормональной активности, аргинин-вазопрессин обладает широким набором негормональных центральных эффектов, в механизмах реализации которых данный пептид, как правило, участвует в качестве нейромедиатора или нейромодулятора. Одной из важнейших сторон центральной негормональной активности вазопрессина является его непосредственное участие в регуляции функции циркадианных часов СХЯ. Полученные нами данные показывают, что аргинин-вазопрессин не только повышает уровень электрической активности нейронов биологических часов СХЯ, но и оказывает влияние на параметры спайкового кодирования информации, во многом определяющего особенности взаимодействия между нейронами.

Литература

1. Moore R.Y., Lenn N.J. A retinohypothalamic projection in the rat. *J. Comp. Neurol.* 1972; 146: 1–9.
2. Gai W.P., Geffen L.B., Blessing W.W. Galanin immunoreactive neurons in the human hypothalamus: colocalization with vasopressin-containing neurons. *J. Comp. Neurol.* 1990; 298: 265–280.
3. Mai J.K., Kedziora O., Teckhaus L., Sofroniew M.V. Evidence for subdivisions in the human supra-chiasmatic nucleus. *J. Comp. Neurol.* 1991; 305: 508–525.
4. Moore R.Y. The organization of the human circadian rhythm. *Prog. Brain Res.* 1992; 93: 101–117.
5. Swaab D.F., Fliers E., Partiman T.S. The supra-chiasmatic nucleus of the human brain in relation to sex, age and senile dementia. *Brain Res.* 1985; 342: 37–44.
6. Sukhov R.R., Walker L.C., Rance N.E., Price D.L., Young W.S. Vasopressin and oxytocin gene expression in the human hypothalamus. *J. Comp. Neurol.* 1993; 337: 295–306.

7. *Dai J.P., Swaab D.F., Buijs R.M.* Distribution of vasopressin and vasoactive intestinal polypeptide (VIP) fibers in the human hypothalamus with special emphasis on suprachiasmatic nucleus efferent projections. *J. Comp. Neurol.* 1997; 383: 397–414.
8. *Hofman M.A., Swaab D.F.* Diurnal and seasonal rhythms of neuronal activity in the suprachiasmatic nucleus of humans. *J. Biol. Rhythms.* 1993; 8: 283–295.
9. *Kalsbeek A., Buijs R.M., Van Heerikhuizen J.J., Arts M., Van Der Woude T.P.* Vasopressin-containing neurons of the suprachiasmatic nuclei inhibit corticosterone release. *Brain Res.* 1992; 580: 62–67.
10. *Kalsbeek A., Van Heerikhuizen J.J., Wortel J., Buijs R.M.* A diurnal rhythm of stimulatory input to the hypothalamo-pituitary-adrenal system as revealed by timed intrahypothalamic administration of the vasopressin V1 antagonist. *J. Neurosci.* 1996; 16: 5555–5565.
11. *Kalsbeek A., Van Der Vliet J., Buijs R.M.* Decrease of endogenous vasopressin release necessary for expression of the circadian rise in plasma corticosterone: a reverse microdialysis study. *J. Neuroendocrinol.* 1996; 8: 299–307.
12. *Buijs R.M., Van Eden C.G.* The integration of stress by the hypothalamus, amygdala and prefrontal cortex: balance between the autonomic nervous system and the neuroendocrine system. *Prog. Brain Res.* 2000; 126: 117–132.
13. *Kalsbeek A., Verhagen L.A., Scholij I., Foppen E., Saboureau M., Bothorel B., Buijs R.M., Pevet P.* Opposite actions of hypothalamic vasopressin on circadian corticosterone rhythm in nocturnal versus diurnal species. *Eur. J. Neurosci.* 2008; 27: 818–827.
14. *Cuesta M., Clesse D., Pevet P., Challet E.* From daily behavior to hormonal and neurotransmitters rhythms: comparison between diurnal and nocturnal rat species. *Horm. Behav.* 2009; 55: 338–347.
15. *Dardente H., Menet J.S., Challet E., Tournier B.B., Pevet P., Masson-Pe'vet M.* Daily and circadian expression of neuropeptides in the suprachiasmatic nuclei of nocturnal and diurnal rodents. *Brain Res. Mol. Brain Res.* 2004; 124: 143–151.
16. *Moore R.Y., Klein D.C.* Visual pathways and the central neural control of a circadian rhythm in pineal serotonin N-acetyltransferase activity. *Brain Res.* 1974; 71: 17–33.
17. *Moore R.Y.* Neural control of the pineal gland. *Behav. Brain Res.* 1996; 73: 125–130.
18. *Buijs R.M., Wortel J., Van Heerikhuizen J.J., Feenstra M.G.P., Ter Horst G.J., Romijn H.J., Kalsbeek A.* Anatomical and functional demonstration of a multisynaptic suprachiasmatic nucleus adrenal (cortex) pathway. *Eur. J. Neurosci.* 1999; 11: 1535–1544.
19. *Jasper M.S., Engeland W.C.* Splanchnic neural activity modulates ultradian and circadian rhythms in adrenocortical secretion in awake rats. *Neuroendocrinology.* 1994; 59: 97–109.
20. *Hoorneman E.M.D., Buijs R.M.* Vasopressin fiber pathways in the rat brain following suprachiasmatic nucleus lesioning. *Brain Res.* 1982; 243: 235–241.
21. *De Vries G.J., Buijs R.M., Sluiter A.A.* Gonadal hormone actions on the morphology of the vasopressinergic innervation of the adult rat brain. *Brain Res.* 1984; 298: 141–145.
22. *De La Iglesia H.O., Blaustein J.D., Bittman E.L.* The suprachiasmatic area in the female hamster projects to neurons containing estrogen receptors and GnRH. *Neuroreport.* 1995; 6: 1715–1722.
23. *Watson R.E., Langub M.C., Engle M.G., Maley B.E.* Estrogen-receptive neurons in the anteroventral periventricular nucleus are synaptic targets of the suprachiasmatic nucleus and peri-suprachiasmatic region. *Brain Res.* 1995; 689: 254–264.
24. *Sodersten P., Henning M., Melin P., Ludin S.* Vasopressin alters female sexual behaviour by acting on the brain independently of alterations in blood pressure. *Nature.* 1983; 301: 608–610.
25. *Sodersten P., De Vries G.J., Buijs R.M., Melin P.* A daily rhythm in behavioral vasopressin sensitivity and brain vasopressin concentrations. *Neurosci. Lett.* 1985; 58: 37–41.
26. *Sodersten P., Boer G.J., De Vries G.J., Buijs R.M., Melin P.* Effects of vasopressin on female sexual behavior in male rat. *Neurosci. Lett.* 1986; 69: 188–191.
27. *Palm I.F., Van Der Beek E.M., Wiegant V.M., Buijs R.M., Kalsbeek A.* The stimulatory effect of vasopressin on the luteinizing hormone surge in ovariectomized, estradiol-treated rats is time-dependent. *Brain Res.* 2001; 901: 109–116.
28. *Everett J.W., Sawyer C.H.* A 24-hour periodicity in the 'LH release apparatus' of female rats, disclosed by barbiturate sedation. *Endocrinology.* 1950; 47: 198–218.
29. *Palm I.F., Van Der Beek E.M., Wiegant V.M., Buijs R.M., Kalsbeek A.* Vasopressin induces an LH surge in ovariectomized, estradiol-treated rats with lesion of the suprachiasmatic nucleus. *Neuroscience.* 1999; 93: 659–666.

30. *Funabashi T., Shinohara K., Mitsushima D., Kimura F.* Gonadotropin-releasing hormone exhibits circadian rhythm in phase with arginine-vasopressin in co-cultures of the female rat preoptic area and supra-chiasmatic nucleus. *J. Neuroendocrinol.* 2000; 12: 521–528.
31. *Miller B.H., Olson S.L., Levine J.E., Turek F.W., Horton T.H., Takahashi J.S.* Vasopressin regulation of the proestrous luteinizing hormone surge in wildtype and clock mutant mice. *Biol. Reprod.* 2006; 75: 778–784.
32. *Van Der Beek E.M., Horvath T.L., Wiegant V.M., Van Den Hurk R., Buijs R.M.* Evidence for a direct neuronal pathway from the suprachiasmatic nucleus to the gonadotropin-releasing hormone system: combined tracing and light and electron microscopic immunocytochemical studies. *J. Comp. Neurol.* 1997; 384: 569–579.
33. *Van Der Beek E.M., Wiegant V.M., Van Der Donk H.A., Van Den Hurk R., Buijs R.M.* Lesions of the suprachiasmatic nucleus indicate the presence of a direct vasoactive intestinal polypeptide-containing projection to gonadotrophin-releasing hormone neurons in the female rat. *J. Neuroendocrinol.* 1993; 5: 137–144.
34. *Kalsbeek A., Garidou M.L., Palm I.F., Van Der Vliet J., Simonneaux V., Pevet P., Buijs R.M.* Melatonin sees the light: blocking GABA-ergic transmission in the paraventricular nucleus induces daytime secretion of melatonin. *Eur. J. Neurosci.* 2000; 12: 3146–3154.
35. *Kalsbeek A., Rijkers M., Vivien-Roels B., Pevet P.* Vasopressin and vasoactive intestinal peptide infused in the paraventricular nucleus of the hypothalamus elevate plasma melatonin levels. *J. Pineal. Res.* 1993; 15: 46–52.
36. *Rooszendaal B., Van Gool W.A., Swaab D.F., Hoogendijk J.E., Mirmiran M.* Changes in vasopressin cells of the rat suprachiasmatic nucleus with aging. *Brain Res.* 1987; 409: 259–264.
37. *Cayatanot F., Bentivoglio M., Aujard F.* Arginine-vasopressin and vasoactive intestinal polypeptide rhythms in the suprachiasmatic nucleus of the mouse lemur reveal aging-related alterations of circadian pacemaker neurons in a non-human primate. *Eur. J. Neurosci.* 2005; 22: 902–910.
38. *Liu R.Y., Zhou J.N., Hoogendijk W.J.G., Van Heerikhuizen J., Kamphorst W., Unmehopa U.A., Hofman M.A., Swaab D.F.* Decreased vasopressin gene expression in the biological clock of Alzheimer disease patients with and without depression. *J. Neuropathol. Exp. Neurol.* 2000; 59: 314–322.
39. *Hofman M.A., Swaab D.F.* Alterations in circadian rhythmicity of the vasopressin-producing neurons of the human suprachiasmatic nucleus (SCN) with aging. *Brain Res.* 1994; 651: 134–142.
40. *Harper D.G., Stopa E.G., Kuo-Leblanc V., McKee A.C., Asayama K., Volicer L., Kowall N., Satlin A.* Dorsomedial SCN neuronal subpopulations subserve different functions in human dementia. *Brain.* 2008; 131: 1609–1617.
41. *Witting W., Mirmiran M., Bos N.P.A., Swaab D.F.* Effect of light intensity on diurnal sleep-wake distribution in young and old rats. *Brain Res. Bull.* 1993; 30: 157–162.
42. *Lucassen P.J., Hofman M.A., Swaab D.F.* Increased light intensity prevents the age related loss of vasopressin-expressing neurons in the rat suprachiasmatic nucleus. *Brain Res.* 1995; 693: 261–266.
43. *Riemersma-van der Lek R.F., Swaab D.F., Twisk J., Hol E.M., Hoogendijk W.J., Van Someren E.J.* Effect of bright light and melatonin on cognitive and noncognitive function in elderly residents of group care facilities: a randomized controlled trial. *JAMA.* 2008; 299: 2642–2655.
44. *Goncharuk V.D., Van Heerikhuizen J.J., Dai J.P., Swaab D.F., Buijs R.M.* Neuropeptide changes in the suprachiasmatic nucleus in primary hypertension indicate functional impairment of the biological clock. *J. Comp. Neurol.* 2001; 431: 320–330.
45. *Goncharuk V.D., van Heerikhuizen J., Swaab D.F., Buijs R.M.* Paraventricular nucleus of the human hypothalamus in primary hypertension: activation of corticotropin-releasing hormone neurons. *J. Comp. Neurol.* 2002; 443: 321–331.
46. *Peters R.V., Zoeller R.T., Hennessey A.C., Stopa E.G., Anderson G., Albers H.E.* The control of circadian rhythms and the levels of vasoactive intestinal peptide messenger RNA in the suprachiasmatic nucleus are altered in spontaneously hypertensive rats. *Brain Res.* 1994; 639: 217–227.
47. *Avidor R., Eilam R., Malach R., Gozes I.* VIP-mRNA is increased in hypertensive rats. *Brain Res.* 1989; 503: 304–307.
48. *Scheer F.A., Van Montfrans G.A., Van Someren E.J., Mairuhu G., Buijs R.M.* Daily nighttime melatonin reduces blood pressure in male patients with essential hypertension. *Hypertension.* 2004; 43: 192–197.

49. Zhou J.N., Riemersma R.F., Unmehopa U.A., Hoogendijk W.J., Van Heerikhuizen J.J., Hofman M.A., Swaab D.F. Alterations in arginine vasopressin neurons in the suprachiasmatic nucleus in depression. *Arch. Gen. Psychiatry*. 2001; 58: 655–662.
50. Bakker J., Brand T., Van Ophemert J., Slob A.K. Hormonal regulation of adult partner preference behavior in neonatally ATD-treated male rats. *Behav. Neurosci.* 1993; 107: 480–487.
51. Swaab D.F., Slob A.K., Houtsmuller E.J., Brand T., Zhou J.N. Increased number of vasopressin neurons in the suprachiasmatic nucleus (SCN) of ‘bisexual’ adult male rats following perinatal treatment with the aromatase blocker ATD. *Brain Res. Dev. Brain Res.* 1995; 85: 273–279.
52. Ingram C.D., Ciobanu R., Coculescu I.L., Tanasescu R., Coculescu M., Mihai R. Vasopressin neurotransmission and the control of circadian rhythms in the suprachiasmatic nucleus. *Prog. Brain Res.* 1998; 119: 351–364.
53. Sofroniew M.V., Weindl A. Identification of parvocellular vasopressin and neurophysin neurons in the suprachiasmatic nucleus of a variety of mammals including primates. *J. Comp. Neurol.* 1980; 193: 659–675.
54. Moore R.Y., Speh J.C. GABA is the principal neurotransmitter of the circadian system. *Neurosci. Lett.* 1993; 150: 112–116.
55. Madeira M.D., Andrade J.P., Lieberman A.R., Sousa N., Almeida O.F.X., Paula-Barbosa M.M. Chronic alcohol consumption and withdrawal do not induce cell death in the suprachiasmatic nucleus, but lead to irreversible depression of peptide immunoreactivity and mRNA levels. *J. Neurosci.* 1997; 17: 1302–1319.
56. Kalsbeek A., Buijs R.M., Engelmann M., Wotjak C.T., Landgraf R. In vivo measurement of a diurnal variation in vasopressin release in the rat suprachiasmatic nucleus. *Brain Res.* 1995; 682: 75–82.
57. Kubota M., Landgraf R., Wotjak C.T. Release of vasopressin within the rat suprachiasmatic nucleus: no effect of a V1/V2 antagonist. *Neuroreport*. 1996; 7: 1933–1936.
58. Van den Pol A.N., Gorcs T. Synaptic relationships between neurons containing vasopressin, gastrin-releasing peptide, vasoactive intestinal polypeptide, and glutamate decarboxylase immunoreactivity in the suprachiasmatic nucleus: dual ultrastructural immunocytochemistry with gold-substituted silver peroxidase. *J. Comp. Neurol.* 1986; 252: 507–521.
59. Castel M., Feinstein N., Cohen S., Harari N. Vasopressinergic innervation of the mouse suprachiasmatic nucleus: an immuno-electron microscopic analysis. *J. Comp. Neurol.* 1990; 298: 172–187.
60. Buijs R.M., Wortel J., Hou Y.X. Colocalization of gamma-aminobutyric acid with vasopressin, vasoactive intestinal peptide, and somatostatin in the rat suprachiasmatic nucleus. *J. Comp. Neurol.* 1995; 358: 343–352.
61. Romijn H.J., Sluiter A.A., Pool C.W., Wortel J., Buijs R.M. Evidence from confocal fluorescence microscopy for a dense, reciprocal innervation between AVP-, somatostatin-, VIP/PHI-, GRP-, and VIP/PHI/GRP-immunoreactive neurons in the rat suprachiasmatic nucleus. *Eur. J. Neurosci.* 1997; 9: 2613–2623.
62. Ludwig M., Leng G. Dendritic peptide release and peptide-dependent behaviours. *Nat. Rev. Neurosci.* 2006; 7: 126–136.
63. Castel M., Morris J., Belenky M. Non-synaptic and dendritic exocytosis from dense-cored vesicles in the suprachiasmatic nucleus. *Neuroreport*. 1996; 7: 543–547.
64. Ingram C.D., Snowball R.K., Mihai R. Circadian rhythm of neuronal activity in suprachiasmatic nucleus slices from the vasopressin-deficient Brattleboro rat. *Neuroscience*. 1996; 75: 635–641.
65. Hamada T., Shibata S., Tsuneyoshi A., Tominaga K., Watanabe S. Effect of somatostatin on circadian rhythms of firing and 2-deoxyglucose uptake in rat suprachiasmatic slices. *Am. J. Physiol.* 1993; 65: 1199–1204.
66. Albers H.E., Ferris C.F., Leeman S.E., Goldman B.D. Avian pancreatic polypeptide phase shifts hamster circadian rhythms when microinjected into the suprachiasmatic region. *Science*. 1984; 223: 833–835.
67. Инюшкин А.Н., Петрова А.А., Ткачева М.А., Инюшкина Е.М. Влияние нейропептида Y на спайковую активность нейронов супрахиазматического ядра крыс in vitro. *Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова*. 2015; 101 (11): 1257–1269.

ROLE OF ARGININE-VAZOPRESSIN IN REGULATION OF CIRCADIAN RHYTHM NEURONS OF SUPRACHIASMATIC HYPOTHALAMUS NUCLEUS

M.A. Tkacheva, E.M. Inyushkina, S.D. Karyan, A.N. Inyushkin

Samara National Research University, Samara, Russia

e-mail: tkachevara@mail.ru

Arginine-vasopressin is the most common neuropeptide in neurons of the suprachiasmatic nucleus of mammals, which acts as the main circadian oscillator. Vasopressinergic neurons of the suprachiasmatic nucleus undergo a daily rhythm: they grow in the daytime, but vasopressin production increases in the morning. This rhythm is important for cyclical daily regulation of hormonal hypothalamic-pituitary-adrenal and hypothalamic-pituitary-gonadal axes, and for the autonomic nervous system tonus. Vasopressinergic neurons of the suprachiasmatic nucleus are involved in the pathogenesis of various diseases, namely, arterial hypertension, and depressive states.

The objective of the study was to analyze the effect of arginine-vasopressin on neuronal electrical activity in a circadian oscillator.

Materials and Methods. The experiments were conducted *in vitro* on dead-end sections of male Wistar rats' hypothalamus. Electrophysiological method for microelectrode registration was used to study the effect of 20 nM vasopressin applications in the perfused solution on the parameters of the spike activity of suprachiasmatic nucleus neurons.

Results. Neurons with four different types of spike activity were found in the suprachiasmatic nucleus: irregular, regular, low and volatile. These types of activity differed in the frequency of action potentials, entropy distribution of inter-spike intervals, which is a measure of spike generation irregularity, and information between adjacent interspike intervals, reflecting the degree of spike code patterning. Vasopressin application caused an increase in neuronal activity (52.3 %). It was accompanied by a decrease in the entropy of inter-spike interval distribution and an increase in information between the adjacent interspike intervals. The obtained data indicate vasopressin influence on the parameters of spike information coding. The abovementioned reactions were found in 88.8% of neurons with low activity, 64.3 % of neurons with irregular activity, 60.0% of neurons with volatile activity and 21.7 % of neurons with regular activity. Only in 4.6 %, the reactions to vasopressin effects were accompanied by a decrease in the spike activity level.

Conclusion. The data obtained indicate that vasopressin, being one of the main regulators of osmotic pressure and blood vessel tonus in humans and mammals, is also able to influence biological rhythms. This influence is explained by the short-range effects of this peptide at the level of suprachiasmatic nucleus neurons.

Keywords: vasopressin, suprachiasmatic hypothalamus nucleus, reabsorption, immunocytochemistry, osmoreceptors, biological rhythms, spike information coding.

References

1. Moore R.Y., Lenn N.J. A retinohypothalamic projection in the rat. *J. Comp. Neurol.* 1972; 146: 1–9.
2. Gai W.P., Geffen L.B., Blessing W.W. Galanin immunoreactive neurons in the human hypothalamus: colocalization with vasopressin-containing neurons. *J. Comp. Neurol.* 1990; 298: 265–280.
3. Mai J.K., Kedziora O., Teckhaus L., Sofroniew M.V. Evidence for subdivisions in the human suprachiasmatic nucleus. *J. Comp. Neurol.* 1991; 305: 508–525.
4. Moore R.Y. The organization of the human circadian rhythm. *Prog. Brain Res.* 1992; 93: 101–117.
5. Swaab D.F., Fliers E., Partiman T.S. The suprachiasmatic nucleus of the human brain in relation to sex, age and senile dementia. *Brain. Res.* 1985; 342: 37–44.
6. Sukhov R.R., Walker L.C., Rance N.E., Price D.L., Young W.S. Vasopressin and oxytocin gene expression in the human hypothalamus. *J. Comp. Neurol.* 1993; 337: 295–306.
7. Dai J.P., Swaab D.F., Buijs R.M. Distribution of vasopressin and vasoactive intestinal polypeptide (VIP) fibers in the human hypothalamus with special emphasis on suprachiasmatic nucleus efferent projections. *J. Comp. Neurol.* 1997; 383: 397–414.

8. Hofman M.A., Swaab D.F. Diurnal and seasonal rhythms of neuronal activity in the suprachiasmatic nucleus of humans. *J. Biol. Rhythms*. 1993; 8: 283–295.
9. Kalsbeek A., Buijs R.M., Van Heerikhuizen J.J., Arts M., Van Der Woude T.P. Vasopressin-containing neurons of the suprachiasmatic nuclei inhibit corticosterone release. *Brain Res*. 1992; 580: 62–67.
10. Kalsbeek A., Van Heerikhuizen J.J., Wortel J., Buijs R.M. A diurnal rhythm of stimulatory input to the hypothalamo-pituitary-adrenal system as revealed by timed intrahypothalamic administration of the vasopressin V1 antagonist. *J. Neurosci*. 1996; 16: 5555–5565.
11. Kalsbeek A., Van Der Vliet J., Buijs R.M. Decrease of endogenous vasopressin release necessary for expression of the circadian rise in plasma corticosterone: a reverse microdialysis study. *J. Neuroendocrinol*. 1996; 8: 299–307.
12. Buijs R.M., Van Eden C.G. The integration of stress by the hypothalamus, amygdala and prefrontal cortex: balance between the autonomic nervous system and the neuroendocrine system. *Prog. Brain Res*. 2000; 126: 117–132.
13. Kalsbeek A., Verhagen L.A., Schalij I., Foppen E., Saboureaux M., Bothorel B., Buijs R.M., Pevet P. Opposite actions of hypothalamic vasopressin on circadian corticosterone rhythm in nocturnal versus diurnal species. *Eur. J. Neurosci*. 2008; 27: 818–827.
14. Cuesta M., Clesse D., Pevet P., Challet E. From daily behavior to hormonal and neurotransmitters rhythms: comparison between diurnal and nocturnal rat species. *Horm. Behav*. 2009; 55: 338–347.
15. Dardente H., Menet J.S., Challet E., Tournier B.B., Pevet P., Masson-Pevet M. Daily and circadian expression of neuropeptides in the suprachiasmatic nuclei of nocturnal and diurnal rodents. *Brain Res. Mol. Brain Res*. 2004; 124: 143–151.
16. Moore R.Y., Klein D.C. Visual pathways and the central neural control of a circadian rhythm in pineal serotonin N-acetyltransferase activity. *Brain Res*. 1974; 71: 17–33.
17. Moore R.Y. Neural control of the pineal gland. *Behav. Brain Res*. 1996; 73: 125–130.
18. Buijs R.M., Wortel J., Van Heerikhuizen J.J., Feenstra M.G.P., Ter Horst G.J., Romijn H.J., Kalsbeek A. Anatomical and functional demonstration of a multisynaptic suprachiasmatic nucleus adrenal (cortex) pathway. *Eur. J. Neurosci*. 1999; 11: 1535–1544.
19. Jasper M.S., Engeland W.C. Splanchnic neural activity modulates ultradian and circadian rhythms in adrenocortical secretion in awake rats. *Neuroendocrinology*. 1994; 59: 97–109.
20. Hoorneman E.M.D., Buijs R.M. Vasopressin fiber pathways in the rat brain following suprachiasmatic nucleus lesioning. *Brain Res*. 1982; 243: 235–241.
21. De Vries G.J., Buijs R.M., Sluiter A.A. Gonadal hormone actions on the morphology of the vasopressinergic innervation of the adult rat brain. *Brain Res*. 1984; 298: 141–145.
22. De La Iglesia H.O., Blaustein J.D., Bittman E.L. The suprachiasmatic area in the female hamster projects to neurons containing estrogen receptors and GnRH. *Neuroreport*. 1995; 6: 1715–1722.
23. Watson R.E., Langub M.C., Engle M.G., Maley B.E. Estrogen-receptive neurons in the anteroventral periventricular nucleus are synaptic targets of the suprachiasmatic nucleus and peri-suprachiasmatic region. *Brain Res*. 1995; 689: 254–264.
24. Sodersten P., Henning M., Melin P., Ludin S. Vasopressin alters female sexual behaviour by acting on the brain independently of alterations in blood pressure. *Nature*. 1983; 301: 608–610.
25. Sodersten P., De Vries G.J., Buijs R.M., Melin P. A daily rhythm in behavioral vasopressin sensitivity and brain vasopressin concentrations. *Neurosci. Lett*. 1985; 58: 37–41.
26. Sodersten P., Boer G.J., De Vries G.J., Buijs R.M., Melin P. Effects of vasopressin on female sexual behavior in male rat. *Neurosci. Lett*. 1986; 69: 188–191.
27. Palm I.F., Van Der Beek E.M., Wiegant V.M., Buijs R.M., Kalsbeek A. The stimulatory effect of vasopressin on the luteinizing hormone surge in ovariectomized, estradiol-treated rats is time-dependent. *Brain Res*. 2001; 901: 109–116.
28. Everett J.W., Sawyer C.H. A 24-hour periodicity in the ‘LH release apparatus’ of female rats, disclosed by barbiturate sedation. *Endocrinology*. 1950; 47: 198–218.
29. Palm I.F., Van Der Beek E.M., Wiegant V.M., Buijs R.M., Kalsbeek A. Vasopressin induces an LH surge in ovariectomized, estradiol-treated rats with lesion of the suprachiasmatic nucleus. *Neuroscience*. 1999; 93: 659–666.
30. Funabashi T., Shinohara K., Mitsushima D., Kimura F. Gonadotropin-releasing hormone exhibits circadian rhythm in phase with arginine-vasopressin in co-cultures of the female rat preoptic area and suprachiasmatic nucleus. *J. Neuroendocrinol*. 2000; 12: 521–528.

31. Miller B.H., Olson S.L., Levine J.E., Turek F.W., Horton T.H., Takahashi J.S. Vasopressin regulation of the proestrous luteinizing hormone surge in wildtype and clock mutant mice. *Biol. Reprod.* 2006; 75: 778–784.
32. Van Der Beek E.M., Horvath T.L., Wiegant V.M., Van Den Hurk R., Buijs R.M. Evidence for a direct neuronal pathway from the suprachiasmatic nucleus to the gonadotropin-releasing hormone system: combined tracing and light and electron microscopic immunocytochemical studies. *J. Comp. Neurol.* 1997; 384: 569–579.
33. Van Der Beek E.M., Wiegant V.M., Van Der Donk H.A., Van Den Hurk R., Buijs R.M. Lesions of the suprachiasmatic nucleus indicate the presence of a direct vasoactive intestinal polypeptide-containing projection to gonadotrophin-releasing hormone neurons in the female rat. *J. Neuroendocrinol.* 1993; 5: 137–144.
34. Kalsbeek A., Garidou M.L., Palm I.F., Van Der Vliet J., Simonneaux V., Pevet P., Buijs R.M. Melatonin sees the light: blocking GABA-ergic transmission in the paraventricular nucleus induces daytime secretion of melatonin. *Eur. J. Neurosci.* 2000; 12: 3146–3154.
35. Kalsbeek A., Rikkers M., Vivien-Roels B., Pevet P. Vasopressin and vasoactive intestinal peptide infused in the paraventricular nucleus of the hypothalamus elevate plasma melatonin levels. *J. Pineal. Res.* 1993; 15: 46–52.
36. Roozendaal B., Van Gool W.A., Swaab D.F., Hoogendijk J.E., Mirmiran M. Changes in vasopressin cells of the rat suprachiasmatic nucleus with aging. *Brain. Res.* 1987; 409: 259–264.
37. Cayetanot F., Bentivoglio M., Aujard F. Arginine-vasopressin and vasointestinal polypeptide rhythms in the suprachiasmatic nucleus of the mouse lemur reveal aging-related alterations of circadian pacemaker neurons in a non-human primate. *Eur. J. Neurosci.* 2005; 22: 902–910.
38. Liu R.Y., Zhou J.N., Hoogendijk W.J.G., Van Heerikhuize J., Kamphorst W., Unmehopa U.A., Hofman M.A., Swaab D.F. Decreased vasopressin gene expression in the biological clock of Alzheimer disease patients with and without depression. *J. Neuropathol. Exp. Neurol.* 2000; 59: 314–322.
39. Hofman M.A., Swaab D.F. Alterations in circadian rhythmicity of the vasopressin-producing neurons of the human suprachiasmatic nucleus (SCN) with aging. *Brain. Res.* 1994; 651: 134–142.
40. Harper D.G., Stopa E.G., Kuo-Leblanc V., McKee A.C., Asayama K., Volicer L., Kowall N., Satlin A. Dorsomedial SCN neuronal subpopulations subserve different functions in human dementia. *Brain.* 2008; 131: 1609–1617.
41. Witting W., Mirmiran M., Bos N.P.A., Swaab D.F. Effect of light intensity on diurnal sleep-wake distribution in young and old rats. *Brain Res. Bull.* 1993; 30: 157–162.
42. Lucassen P.J., Hofman M.A., Swaab D.F. Increased light intensity prevents the age related loss of vasopressin-expressing neurons in the rat suprachiasmatic nucleus. *Brain Res.* 1995; 693: 261–266.
43. Riemersma-van der Lek R.F., Swaab D.F., Twisk J., Hol E.M., Hoogendijk W.J., Van Someren E.J. Effect of bright light and melatonin on cognitive and noncognitive function in elderly residents of group care facilities: a randomized controlled trial. *JAMA.* 2008; 299: 2642–2655.
44. Goncharuk V.D., Van Heerikhuize J.J., Dai J.P., Swaab D.F., Buijs R.M. Neuropeptide changes in the suprachiasmatic nucleus in primary hypertension indicate functional impairment of the biological clock. *J. Comp. Neurol.* 2001; 431: 320–330.
45. Goncharuk V.D., van Heerikhuize J., Swaab D.F., Buijs R.M. Paraventricular nucleus of the human hypothalamus in primary hypertension: activation of corticotropin-releasing hormone neurons. *J. Comp. Neurol.* 2002; 443: 321–331.
46. Peters R.V., Zoeller R.T., Hennessey A.C., Stopa E.G., Anderson G., Albers H.E. The control of circadian rhythms and the levels of vasoactive intestinal peptide messenger RNA in the suprachiasmatic nucleus are altered in spontaneously hypertensive rats. *Brain Res.* 1994; 639: 217–227.
47. Avidor R., Eilam R., Malach R., Gozes I. VIP-mRNA is increased in hypertensive rats. *Brain Res.* 1989; 503: 304–307.
48. Scheer F.A., Van Montfrans G.A., Van Someren E.J., Mairuhu G., Buijs R.M. Daily nighttime melatonin reduces blood pressure in male patients with essential hypertension. *Hypertension.* 2004; 43: 192–197.
49. Zhou J.N., Riemersma R.F., Unmehopa U.A., Hoogendijk W.J., Van Heerikhuize J.J., Hofman M.A., Swaab D.F. Alterations in arginine vasopressin neurons in the suprachiasmatic nucleus in depression. *Arch. Gen. Psychiatry.* 2001; 58: 655–662.
50. Bakker J., Brand T., Van Ophemert J., Slob A.K. Hormonal regulation of adult partner preference behavior in neonatally ATD-treated male rats. *Behav. Neurosci.* 1993; 107: 480–487.

51. Swaab D.F., Slob A.K., Houtsmuller E.J., Brand T., Zhou J.N. Increased number of vasopressin neurons in the suprachiasmatic nucleus (SCN) of 'bisexual' adult male rats following perinatal treatment with the aromatase blocker ATD. *Brain Res. Dev. Brain Res.* 1995; 85: 273–279.
52. Ingram C.D., Ciobanu R., Coculescu I.L., Tanasescu R., Coculescu M., Mihai R. Vasopressin neurotransmission and the control of circadian rhythms in the suprachiasmatic nucleus. *Prog. Brain Res.* 1998; 119: 351–364.
53. Sofroniew M.V., Weindl A. Identification of parvocellular vasopressin and neurophysin neurons in the suprachiasmatic nucleus of a variety of mammals including primates. *J. Comp. Neurol.* 1980; 193: 659–675.
54. Moore R.Y., Speh J.C. GABA Is the principal neurotransmitter of the circadian system. *Neurosci. Lett.* 1993; 150: 112–116.
55. Madeira M.D., Andrade J.P., Lieberman A.R., Sousa N., Almeida O.F.X., Paula-Barbosa M.M. Chronic alcohol consumption and withdrawal do not induce cell death in the suprachiasmatic nucleus, but lead to irreversible depression of peptide immunoreactivity and mRNA levels. *J. Neurosci.* 1997; 17: 1302–1319.
56. Kalsbeek A., Buijs R.M., Engelmann M., Wotjak C.T., Landgraf R. In vivo measurement of a diurnal variation in vasopressin release in the rat suprachiasmatic nucleus. *Brain Res.* 1995; 682: 75–82.
57. Kubota M., Landgraf R., Wotjak C.T. Release of vasopressin within the rat suprachiasmatic nucleus: no effect of a V1/V2 antagonist. *Neuroreport.* 1996; 7: 1933–1936.
58. Van den Pol A.N., Gorcs T. Synaptic relationships between neurons containing vasopressin, gastrin-releasing peptide, vasoactive intestinal polypeptide, and glutamate decarboxylase immunoreactivity in the suprachiasmatic nucleus: dual ultrastructural immunocytochemistry with gold-substituted silver peroxidase. *J. Comp. Neurol.* 1986; 252: 507–521.
59. Castel M., Feinstein N., Cohen S., Harari N. Vasopressinergic innervation of the mouse suprachiasmatic nucleus: an immuno-electron microscopic analysis. *J. Comp. Neurol.* 1990; 298: 172–187.
60. Buijs R.M., Wortel J., Hou Y.X. Colocalization of gamma-aminobutyric acid with vasopressin, vasoactive intestinal peptide, and somatostatin in the rat suprachiasmatic nucleus. *J. Comp. Neurol.* 1995; 358: 343–352.
61. Romijn H.J., Sluiter A.A., Pool C.W., Wortel J., Buijs R.M. Evidence from confocal fluorescence microscopy for a dense, reciprocal innervation between AVP-, somatostatin-, VIP/PHI-, GRP-, and VIP/PHI/GRP-immunoreactive neurons in the rat suprachiasmatic nucleus. *Eur. J. Neurosci.* 1997; 9: 2613–2623.
62. Ludwig M., Leng G. Dendritic peptide release and peptide-dependent behaviours. *Nat. Rev. Neurosci.* 2006; 7: 126–136.
63. Castel M., Morris J., Belenky M. Non-synaptic and dendritic exocytosis from dense-cored vesicles in the suprachiasmatic nucleus. *Neuroreport.* 1996; 7: 543–547.
64. Ingram C.D., Snowball R.K., Mihai R. Circadian rhythm of neuronal activity in suprachiasmatic nucleus slices from the vasopressin-deficient Brattleboro rat. *Neuroscience.* 1996; 75: 635–641.
65. Hamada T., Shibata S., Tsuneyoshi A., Tominaga K., Watanabe S. Effect of somatostatin on circadian rhythms of firing and 2-deoxyglucose uptake in rat suprachiasmatic slices. *Am. J. Physiol.* 1993; 265: 1199–1204.
66. Albers H.E., Ferris C.F., Leeman S.E., Goldman B.D. Avian pancreatic polypeptide phase shifts hamster circadian rhythms when microinjected into the suprachiasmatic region. *Science.* 1984; 223: 833–835.
67. Inyushkin A.N., Petrova A.A., Tkacheva M.A., Inyushkina E.M. Vliyanie neuropeptida Y na spaykovuyu aktivnost' neyronov suprachiazmaticheskogo yadra krysa in vitro [The effect of neuropeptide Y on the neuronal spike activity in the suprachiasmatic rat nucleus in vitro]. *Rossiyskiy fiziologicheskii zhurnal im. I.M. Sechenova.* 2015; 101 (11): 1257–1269 (in Russian).