



Check for updates

Экспериментальные статьи

УДК 616.831.4 + 612.8 + 612.67

EDN QDSEQA

<https://doi.org/10.33910/2687-1270-2025-6-2-198-211>

Спайковая активность нейронов вентромедиального ядра гипоталамуса при старении

А. А. Спиричев¹, П. М. Маслюков^{✉1}, Е. В. Сальников¹, К. Ю. Моисеев¹

¹ Ярославский государственный медицинский университет Министерства здравоохранения Российской Федерации, 150000, Россия, г. Ярославль, Революционная ул., д. 5

Сведения об авторах

Андрей Андреевич Спиричев, Scopus AuthorID: 57216282207, e-mail: andrey.spirichev@yandex.ru

Петр Михайлович Маслюков, SPIN-код: 7676-0849, Scopus AuthorID: 6602102222, ORCID: 0000-0002-6230-5024, e-mail: mpm@ysmu.ru

Евгений Валентинович Сальников, SPIN-код: 3755-9279, Scopus AuthorID: 14013431800, e-mail: salnikov_evgeny@mail.ru

Константин Юрьевич Моисеев, SPIN-код: 8506-3356, Scopus AuthorID: 55934994400, ORCID: 0000-0002-4561-4001, e-mail: mky_uma@mail.ru

Для цитирования: Спиричев, А. А., Маслюков, П. М., Сальников, Е. В., Моисеев, К. Ю. (2025) Спайковая активность нейронов вентромедиального ядра гипоталамуса при старении. *Интегративная физиология*, т. 6, № 2, с. 198–211. <https://doi.org/10.33910/2687-1270-2025-6-2-198-211> EDN QDSEQA

Получена 28 июля 2025; прошла рецензирование 1 сентября 2025; принята 4 сентября 2025.

Финансирование: Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 25-25-00302*.

Права: © А. А. Спиричев, П. М. Маслюков, Е. В. Сальников, К. Ю. Моисеев (2025). Опубликовано Российским государственным педагогическим университетом им. А. И. Герцена. Открытый доступ на условиях [лицензии CC BY 4.0](#).

Аннотация. Медиобазальный гипоталамус, включая вентромедиальное ядро (ВМЯ), играет важную роль в регуляции старения. При старении во ВМЯ медианная частота импульсов уменьшается у взрослых (0,71 спайка/с) и старых (0,84 спайка/с) по сравнению с молодыми животными (1,32 спайка/с). Распределение частот спайков в каждой возрастной группе было унимодальным. У молодых животных преобладающее число нейронов имело импульсацию 0,5–1,5 спайка/с, у взрослых — до 1 спайка/с, у старых — до 0,5 спайка/с. Нейроны ВМЯ сортировались в соответствии с формой их межспайковых интервальных гистограмм и нормализованной функции риска, статистическим анализом их межспайковых интервалов. Всего было выделено шесть групп нейронов: 1) нейроны со случайнym характером разрядов, 2) нейроны с широким распределением межспайковых интервалов, 3) ритмично разряжающиеся нейроны, 4) нейроны, характеризующиеся длинным хвостом на интервальной гистограмме, 5) нейроны с короткими залпами разрядов и 6) нейроны с короткими залпами разрядов и с широким распределением межспайковых интервалов. У молодых крыс наибольшее число нейронов имело случайное распределение разрядов. У старых крыс доля этой группы снижалась в два раза, и при этом возрастал процент нейронов, характеризующихся длинным хвостом на интервальной гистограмме. Средние значения коэффициента вариации, перекоса и эксцесса были достоверно выше у старых крыс по сравнению с молодыми животными, что позволяет предположить появление скрытых паттернов более высокого порядка в разрядах нейронов старых крыс.

Ключевые слова: гипоталамус, вентромедиальное ядро, нейрофизиология, спайковая активность, старение

* <https://rscf.ru/project/25-25-00302/>

Age-related changes in the spiking activity of neurons in the hypothalamic ventromedial nucleus

A. A. Spirichev¹, P. M. Masliukov^{✉1}, E. V. Salnikov¹, K. Yu. Moiseev¹

¹ Yaroslavl State Medical University, 5 Revolutionsnaya Str., Yaroslavl 150000, Russia

Authors

Andrey A. Spirichev, Scopus AuthorID: 57216282207, e-mail: andrey.spirichev@yandex.ru

Petr M. Masliukov, SPIN: 7676-0849, Scopus AuthorID: 6602102222, ORCID: 0000-0002-6230-5024, e-mail: mpm@ysmu.ru

Eugeniy V. Salnikov, SPIN: 3755-9279, Scopus AuthorID: 14013431800, e-mail: salnikov_evgeny@mail.ru

Konstantin Yu. Moiseev, SPIN: 8506-3356, Scopus AuthorID: 55934994400, ORCID: 0000-0002-4561-4001, e-mail: mky_yma@mail.ru

For citation: Spirichev, A. A., Masliukov, P. M., Salnikov, E. V., Moiseev, K. Yu. (2025) Age-related changes in the spiking activity of neurons in the hypothalamic ventromedial nucleus. *Integrative Physiology*, vol. 6, no. 2, pp. 198–211. <https://doi.org/10.33910/2687-1270-2025-6-2-198-211> EDN QDSEQA

Received 28 July 2025; reviewed 1 September 2025; accepted 4 September 2025.

Funding: The work was supported by Russian Science Foundation, grant No. 25-25-00302*.

Copyright: © A. A. Spirichev, P. M. Masliukov, E. V. Salnikov, K. Yu. Moiseev (2025). Published by Herzen State Pedagogical University of Russia. Open access under CC BY License 4.0.

Abstract. The mediobasal hypothalamus, including the ventromedial nucleus (VMN), is integral to the regulation of aging. This study demonstrates a significant decline in the median spike rate within the VMN across age groups, decreasing from 1.32 spikes/s in young rats to 0.71 spikes/s in adults and 0.84 spikes/s in aged animals. The distribution of firing rates was unimodal in all cohorts, with the predominant rate being 0.5–1.5 spikes/s in young animals, up to 1 spike/s in adults, and up to 0.5 spikes/s in aged rats. Neuronal classification based on interspike interval histograms, normalized risk functions, and statistical analysis revealed six distinct discharge patterns: 1) random discharge, 2) wide interspike interval distribution, 3) rhythmic discharge, 4) long-tail interval histogram, 5) short burst discharges, and 6) short bursts with a wide interval distribution. While young rats exhibited a predominance of neurons with random discharge, the proportion of this group decreased by half in aged animals, accompanied by a concurrent increase in neurons displaying a long-tail interval histogram. Furthermore, aged rats showed significantly elevated coefficients of variation, skewness, and kurtosis, indicating the emergence of complex, higher-order patterns in neuronal firing with advancing age.

Keywords: hypothalamus, ventromedial nucleus, neurophysiology, spike activity, aging

Введение

Гипоталамус — филогенетически старый отдел промежуточного мозга, который играет важную роль в поддержании постоянства внутренней среды и обеспечении интеграции функций автономной нервной, эндокринной, соматической систем. Функционально гипоталамус включает в себя несколько групп ядер. Срединные ядра гипоталамуса, включая аркуатное, дорсомедиальное и вентромедиальное (ВМЯ), участвуют в контроле метаболизма, половых функций, температуры и роста организма.

К функциям ВМЯ относят регуляцию сексуального и пищевого поведения, хотя оно также регулирует кровяное давление и пути проведения болевой информации (Hirschberg et al. 2020; Kammel, Correa 2020). Повреждения во ВМЯ изменяют пищевое поведение и связаны с гиперфагией и развитием ожирения (Mobbs

et al. 2013). Вентромедиальное ядро функционирует как центр насыщения и, как было показано, также реагирует на гипогликемию путем ингибирования производства инсулина и стимулирования высвобождения глюкагона и катехоламинов. Внутренние часы ВМЯ играют роль в контроле периферических циркадных ритмов (Orozco-Solis et al. 2016).

Последние литературные данные свидетельствуют, что срединные ядра гипоталамуса, в том числе ВМЯ, участвуют не только в регуляции потребления пищи и расхода энергии, но и играют роль в контроле старения (Cai, Khor 2021; Masliukov, Nozdrachev 2021). С возрастом наблюдаются многочисленные отклонения в работе нейронов гипоталамуса, сопровождающиеся дисбалансом возбуждения и торможения, нарушениями внутриклеточной сигнализации и развитием микровоспаления (Kim, Choe 2019; Masliukov 2023).

В ряде исследований нейроны ВМЯ были классифицированы в соответствии с распределением их межспайковых интервалов и функции риска (отображает отношение частоты спайков к размеру остаточного хвоста распределения межспайковых интервалов и показывает, как меняется возбудимость клетки со временем, прошедшим с момента последнего спайка), дающими представление о возбудимости, скорости проведения, склонности к регулярности или случайности для каждой клетки (Sabatier, Leng 2008). В зависимости от особенностей паттерна возбуждения описано несколько субпопуляций нейронов, включая ритмично разряжающиеся нейроны, нейроны со случайным характером импульсов, а также несколько групп нейронов на основе особенностей интервальной гистограммы спайков. Частота разрядов нейронов варьировала от 0,24 до 19,7 Гц и составила в среднем $3,3 \pm 0,18$ Гц, при этом большинство разрядов происходило на частоте от 1 до 2 Гц, и лишь немногие — на частоте выше 6 Гц (Sabatier, Leng 2008). Тем не менее литературные данные относительно функциональных особенностей нейронов вентромедиального ядра гипоталамуса при старении в литературе отсутствуют.

Целью исследования явился комплексный анализ электрической активности нейронов с выделением отдельных функциональных популяций нейронов ВМЯ гипоталамуса при старении.

Методы исследования

Животные и наркоз

Исследование проведено на 2–3-месячных (молодые, $n = 37$, масса тела 160–180 г), 12-месячных (взрослые, $n = 41$, масса тела 320–340 г) и 24-месячных (старые, $n = 35$, масса тела 450–500 г) самцах крыс Вистар. От одной крысы проводилась регистрация 1–3 нейронов. Животные находились в стандартных условиях содержания. Эксперименты выполняли под уретановым наркозом в дозировке 1,3 г/кг i. p. По окончании эксперимента производилась эвтаназия животных передозировкой уретана (3 мг/кг массы).

Введение электродов и регистрация электрической активности

Аnestезированных крыс фиксировали в стереотаксисе (RWD, Китай) и производили трепанацию черепа в области проекции ВМЯ. Нейронную активность регистрировали внеклеточно с помощью вольфрамового микроэлектрода (диаметр кончика 2–3 мкм, импеданс 1 МОм, Microprobe, США), который вводили

вертикально в правое ВМЯ. Координаты введения в соответствии с атласом мозга крысы (Paxinos, Watson 2013) составляли: ростро-каудально 3,0–3,3 мм от брегмы, медиально-латерально 0,3–0,5 мм; дорсально-вентрально: 9,2–9,4 мм (молодые), 9,4–9,6 мм (взрослые и старые) (Moiseev et al. 2021b). 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. Оцифровку сигнала осуществляли программно-аппаратным комплексом Micro1401 с использованием компьютерной программы Spike2 (все Cambridge Electronic Design, Великобритания).

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-процентном забуференном формалине и выделяли головной мозг, который дофиксировали в течение суток в этом же растворе. С помощью криотома делали серийные коронарные срезы медиобазальной области гипоталамуса толщиной 50 мкм, которые помещали на предметные стекла, а затем окрашивали тионином. Области повреждения определяли при помощи стереомикроскопа. Данные были исключены, если зарегистрированные нейроны не были расположены во ВМЯ.

Регистрацию нейронной активности осуществляли через 1 час после введения микроэлектрода. В анализ были включены только нейроны со стабильным паттерном разряда на протяжении всего периода регистрации.

Обработка данных и расчеты

Сортировку спайков с дальнейшим кластерным анализом проводили с использованием программного обеспечения Spike2 (Cambridge Electronic Design, Великобритания). По записям активности строили интервальные гистограммы (ширина бина — 10 мс, длительность — 1 с).

В программе NeuroExplorer (Nex Technologies, США) определяли медиальную частоту импульсации, средний межспайковый интервал, стандартное отклонение (SD) интервалов, коэффициент вариации (CV = стандартное отклонение / средний интервал), перекос (skew), эксцесс (kurtosis) и функцию риска (hazard).

Одним из показателей вариабельности паттерна спайков является среднее квадратичное

отклонение (SD) длительности межспайкового интервала. Коэффициент вариации (CV) изменяет дисперсию распределения интервалов. Для полностью случайного процесса CV равен 1; более низкие CV указывают на большую регулярность, а более высокие CV отражают паттернинг более высокого порядка (дисперсия интервалов больше, чем ожидается от случайного процесса) (Bibikov 2017; Ponce-Alvarez et al. 2010). Поскольку все нейроны рефрактерны после спайка, CV для клетки, которая разряжается случайно, будет меньше 1 на величину, отражающую относительный рефрактерный период.

Перекос измеряет асимметрию распределения, показывая, сосредоточены ли данные больше по одну сторону от среднего значения, чем по другую. Эксцесс измеряет «хвост» распределения, показывая, какая часть данных находится в хвосте распределения относительно нормального распределения. Функция риска показывает, как возбудимость клетки изменяется со временем с момента последнего спайка и отображает частоту спайков как долю размера остаточного хвоста распределения межспайкового интервала (Bibikov 2017; Sabatier, Leng 2008). При отрицательном экспоненциальном распределении, характерном для случайных событий, функция риска постоянна. Отклонение от этого постоянного уровня затем становится интерпретируемым как периоды повышенной или пониженной возбудимости (Bibikov 2017; Perkinson et al. 2021; Sabatier, Leng 2008).

Нейроны ВМЯ сортировали в соответствии с формой их межспайковых интервальных гистограмм и нормализованной функции риска, а также статистическим анализом их межспайковых интервалов. При этом анализировали частоту разрядов, склонность к регулярности или случайности, а также то, как возбудимость влияет на спайковую активность на основании CV, перекоса (skew), эксцесса (kurtosis) и функции риска (hazard).

Статистический анализ

Для статистического анализа данных электрофизиологических исследований 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. Определяли медиану и коэффициент корреляции r^2 . Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты исследования

Всего была зарегистрирована импульсная активность от 144 нейронов, по 48 в каждой возрастной группе.

Частота импульсации нейронов

Частота возбуждения анализируемых клеток варьировалась от 0,09 до 6,3 спайков/с у молодых, от 0,02 до 4,4 спайков/с у взрослых и от 0,02 до 4,7 спайков/с у старых крыс. При этом максимальная медианная частота наблюдалась у молодых животных (1,32 спайка/с), которая достоверно снижалась у взрослых (0,71 спайка/с) и старых (0,84 спайка/с) ($p < 0,05$, рис. 1).

Распределение частот спайков в каждой возрастной группе было унимодальным. Тем не менее у молодых животных преобладающее число нейронов имело импульсацию 0,5–1,5 спайка/с, у взрослых — до 1 спайка/с, у старых — до 0,5 спайка/с (рис. 2).

Так как распределение частот спайков нейронов ВМЯ было унимодальным, то субпопуляции нейронов ВМЯ не могли быть выделены только на основании средней частоты спайков. Поэтому дальнейший анализ был основан на особенностях паттернов спайков.

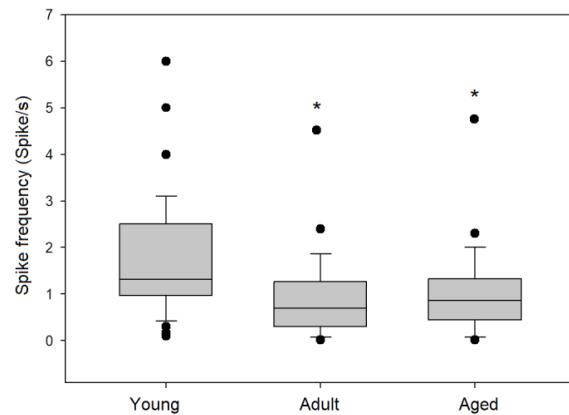


Рис. 1. Частота импульсации (спайк/с) у молодых, взрослых и старых крыс. Верхняя и нижняя границы каждого прямоугольника — первый и третий квартили (25-й и 75-й процентили соответственно), горизонтальная линия внутри — медиана (50-й процентиль); концы отрезков — 10-й и 90-й процентили, точки — выбросы.
* — $p < 0,05$, различия достоверны по сравнению с молодыми крысами

Fig. 1. Firing frequency (spikes/s) in young, adult, and aged rats. The upper and lower boundaries of each box plot are the first and third quartiles (25th and 75th percentiles, respectively), the internal line is the median (50th percentile); whiskers indicate the 10th and 90th percentiles; the dots are outliers.

* — $p < 0.05$ indicates significant differences compared to young rats

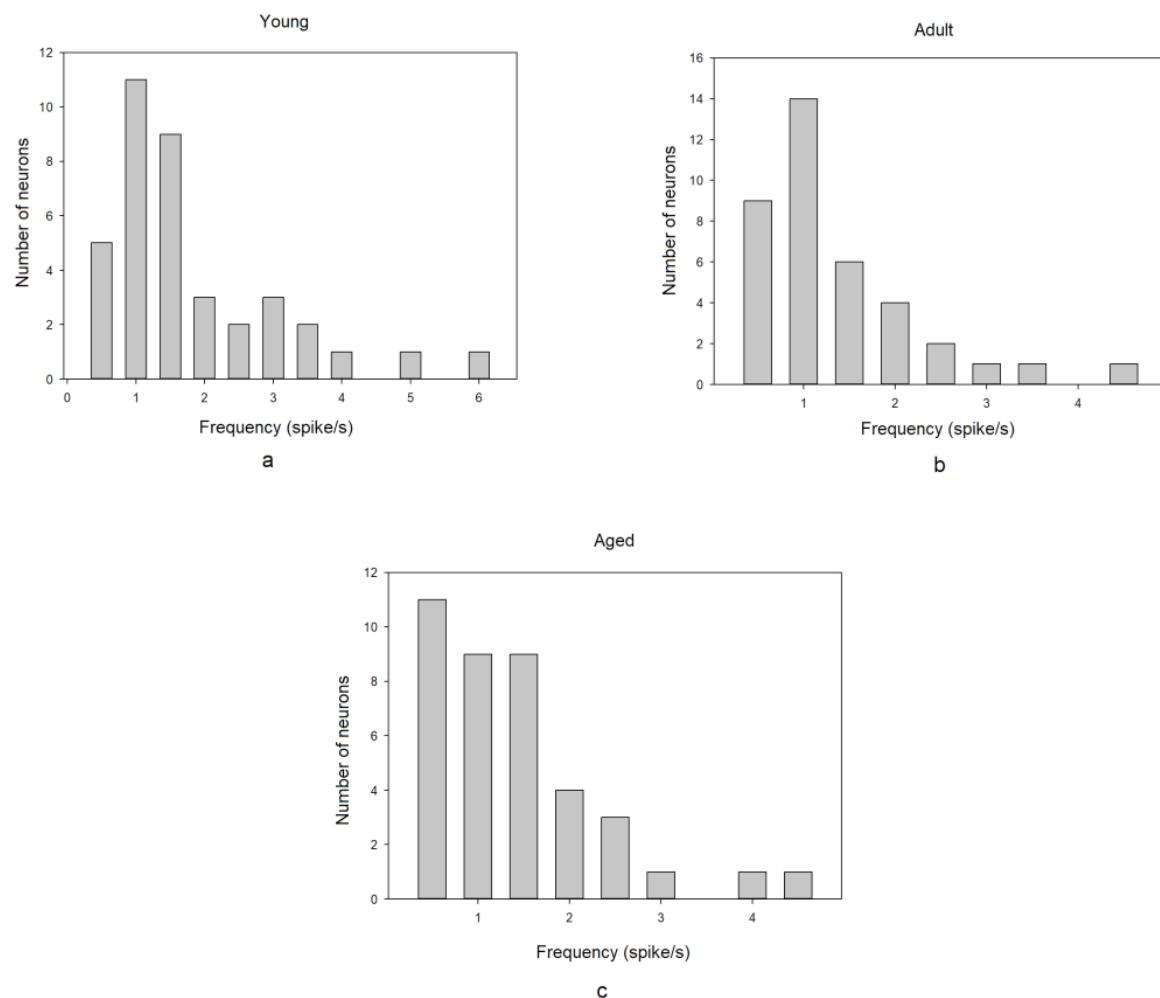


Рис. 2. Распределение нейронов ВМЯ в зависимости от средних частот импульсации у молодых (а), взрослых (б) и старых (с) крыс

Fig. 2. Distribution of VMN neurons by mean firing frequencies in (a) young, (b) adult, and (c) aged rats

Оценка вариабельности паттерна спайков

Одним из показателей вариабельности паттерна спайков является среднее квадратичное отклонение (SD) длительности межспайкового интервала. Для случайного процесса он пропорционален среднему значению, что и наблюдалось в каждой возрастной группе. При этом график зависимости SD от среднего значения межспайкового интервала в целом показывает сильную положительную корреляцию (коэффициент корреляции $r^2 = 0,69$ в группе молодых крыс; 0,90 — для взрослых и 0,92 — для старых) (рис. 3).

Подавляющее большинство нейронов имело показатели CV в диапазоне 0,4–1,2, что говорит о случайном характере разрядов. У молодых крыс среднее значение CV составило $0,83 \pm 0,44$, у взрослых — $1,01 \pm 0,61$, у старых — $1,14 \pm 0,75$. Очень широкий разброс показателей не позво-

ляет говорить о достоверных различиях между группами ($p > 0,05$). В отличие от SD CV показывает слабую зависимость от величины среднего значения межспайкового интервала (коэффициент корреляции $r^2 = 0,10$ в группе молодых крыс; 0,35 — для взрослых и 0,24 — для старых) (рис. 4).

Субпопуляции нейронов ВМЯ на основе характеристик электрической активности

Всего было выделено шесть групп нейронов:

- 1) нейроны со случайным характером разрядов,
- 2) нейроны с широким распределением межспайковых интервалов,
- 3) ритмично разряжающиеся нейроны,
- 4) нейроны, характеризующиеся длинным хвостом на интервальной гистограмме,
- 5) нейроны с короткими залпами разрядов и
- 6) нейроны с короткими залпами разрядов и с широким распределением межспайковых интервалов (табл. 1).

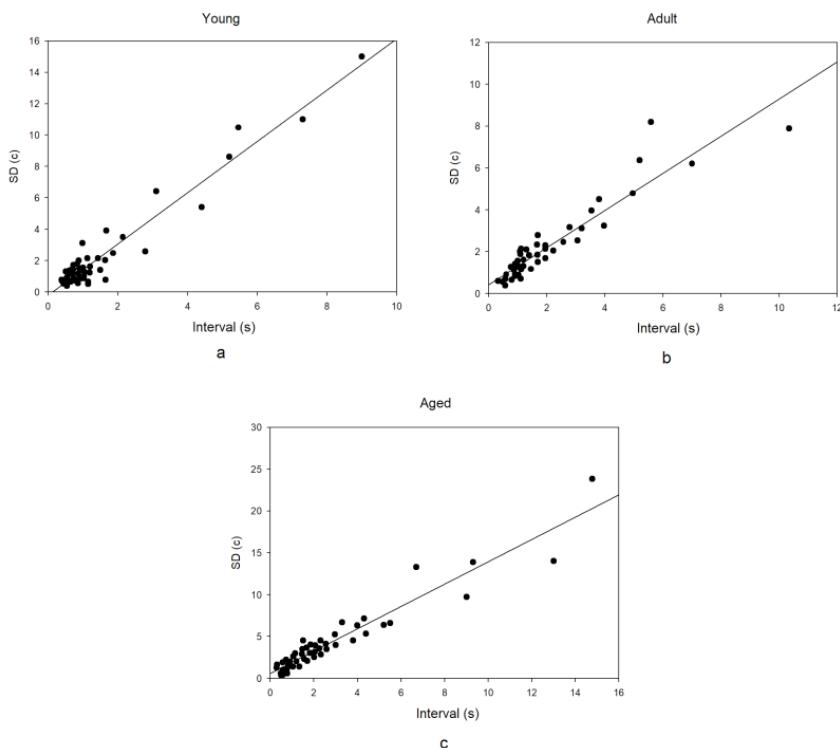


Рис. 3. График зависимости SD от среднего значения межспайкового интервала у молодых (а), взрослых (б) и старых (с) крыс

Fig. 3. Scatter plot of the dependence of SD on the mean interspike interval for VMN neurons in (a) young, (b) adult, and (c) aged rats

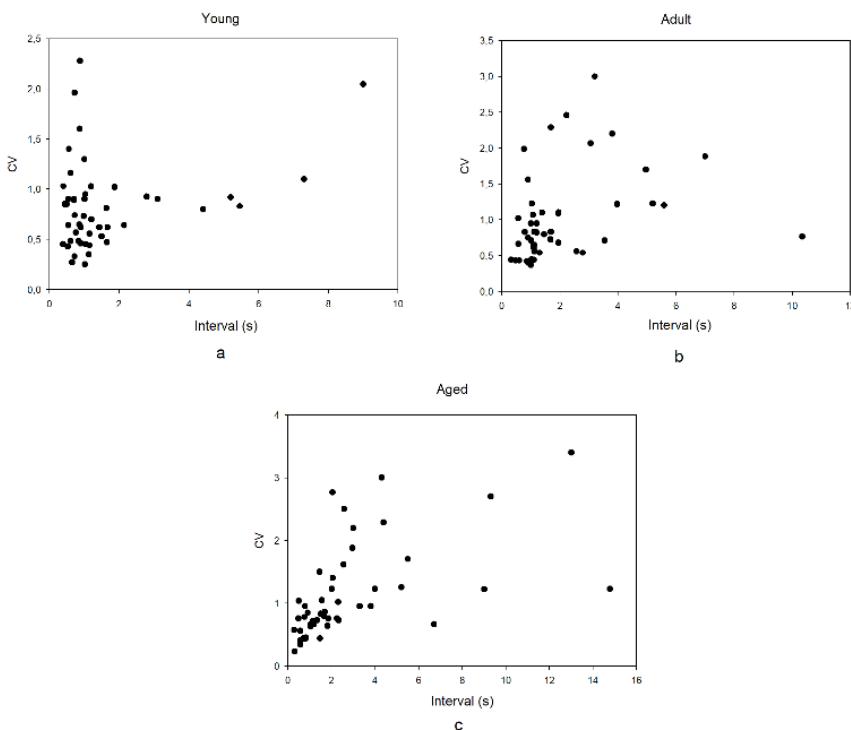


Рис. 4. График зависимости CV от среднего значения межспайкового интервала у молодых (а), взрослых (б) и старых (с) крыс

Fig. 4. Scatter plot of the dependence of CV on the mean interspike interval for VMN neurons in (a) young, (b) adult, and (c) aged rats

Табл. 1. Статистические характеристики межспайковых интервалов основных типов нейронов ВМЯ

Тип нейрона/параметры	Молодые	Взрослые	Старые
Нейроны со случайным характером разрядов			
CV	1,05 ± 0,12	1,20 ± 0,11	1,55 ± 0,18*
Функция риска	0,018 ± 0,003	0,021 ± 0,002	0,013 ± 0,002
Перекос	3,46 ± 0,27	3,64 ± 0,35	6,69 ± 0,38*
Эксцесс	31,79 ± 3,52	21,62 ± 3,23	76,23 ± 7,47*
Нейроны с широким распределением межспайковых интервалов			
CV	1,31 ± 0,11	1,23 ± 0,07	1,81 ± 0,08*
Функция риска	0,031 ± 0,002	0,015 ± 0,001	0,018 ± 0,002*
Перекос	2,83 ± 0,13	2,82 ± 0,08	6,05 ± 0,34*
Эксцесс	11,85 ± 1,99	13,76 ± 2,07	55,64 ± 4,56*
Ритмично разряжающиеся нейроны			
CV	0,51 ± 0,03	0,37 ± 0,02	0,43 ± 0,03
Функция риска	0,068 ± 0,004	0,063 ± 0,005	0,057 ± 0,006
Перекос	1,01 ± 0,06	0,95 ± 0,07	0,78 ± 0,09
Эксцесс	6,16 ± 0,68	5,19 ± 0,45	7,22 ± 0,61
Нейроны, характеризующиеся длинным хвостом на интервальной гистограмме			
CV	1,99 ± 0,08	2,47 ± 0,15*	2,68 ± 0,13*
Функция риска	0,014 ± 0,002	0,015 ± 0,002	0,017 ± 0,003
Перекос	2,53 ± 0,16	1,94 ± 0,09	2,05 ± 0,23
Эксцесс	7,34 ± 0,85	6,74 ± 0,76	9,55 ± 0,56
Нейроны с короткими залпами разрядов			
CV	1,31 ± 0,08	1,65 ± 0,12*	1,76 ± 0,09*
Функция риска	0,025 ± 0,003	0,033 ± 0,003	0,036 ± 0,004
Перекос	1,77 ± 0,13	1,61 ± 0,14	1,92 ± 0,08
Эксцесс	7,20 ± 0,72	8,53 ± 0,63	9,15 ± 0,76*
Нейроны с короткими залпами разрядов и с широким распределением межспайковых интервалов			
CV	1,43 ± 0,09	1,60 ± 0,08*	2,11 ± 0,13*
Функция риска	0,025 ± 0,003	0,021 ± 0,003	0,030 ± 0,004
Перекос	1,80 ± 0,11	1,76 ± 0,16	2,18 ± 0,21
Эксцесс	18,47 ± 2,12	15,57 ± 1,48	24,22 ± 3,18
Среднее			
CV	1,32 ± 0,08	1,78 ± 0,11	2,00 ± 0,12*
Функция риска	0,023 ± 0,002	0,019 ± 0,002	0,022 ± 0,002
Перекос	2,72 ± 0,15	2,65 ± 0,13	3,73 ± 0,19*
Эксцесс	19,94 ± 1,38	13,66 ± 1,56	36,35 ± 2,89*

Примечание: * — $p < 0,05$, различия достоверны по сравнению с молодыми крысами.

Table 1. Statistical characteristics of interspike intervals across principal neuronal types in the ventromedial hypothalamic nucleus

Neuron type/parameters	Young	Adult	Aged
Neurons with a random discharge pattern			
CV	1.05 ± 0.12	1.20 ± 0.11	1.55 ± 0.18*
Hazard	0.018 ± 0.003	0.021 ± 0.002	0.013 ± 0.002
Skew	3.46 ± 0.27	3.64 ± 0.35	6.69 ± 0.38*
Kurtosis	31.79 ± 3.52	21.62 ± 3.23	76.23 ± 7.47*
Neurons with a wide interspike interval distribution			
CV	1.31 ± 0.11	1.23 ± 0.07	1.81 ± 0.08*
Hazard	0.031 ± 0.002	0.015 ± 0.001	0.018 ± 0.002*
Skew	2.83 ± 0.13	2.82 ± 0.08	6.05 ± 0.34*
Kurtosis	11.85 ± 1.99	13.76 ± 2.07	55.64 ± 4.56*
Neurons with rhythmic discharge			
CV	0.51 ± 0.03	0.37 ± 0.02	0.43 ± 0.03
Hazard	0.068 ± 0.004	0.063 ± 0.005	0.057 ± 0.006
Skew	1.01 ± 0.06	0.95 ± 0.07	0.78 ± 0.09
Kurtosis	6.16 ± 0.68	5.19 ± 0.45	7.22 ± 0.61
Neurons with a long-tail interval histogram			
CV	1.99 ± 0.08	2.47 ± 0.15*	2.68 ± 0.13*
Hazard	0.014 ± 0.002	0.015 ± 0.002	0.017 ± 0.003
Skew	2.53 ± 0.16	1.94 ± 0.09	2.05 ± 0.23
Kurtosis	7.34 ± 0.85	6.74 ± 0.76	9.55 ± 0.56
Neurons with short burst discharges			
CV	1.31 ± 0.08	1.65 ± 0.12*	1.76 ± 0.09*
Hazard	0.025 ± 0.003	0.033 ± 0.003	0.036 ± 0.004
Skew	1.77 ± 0.13	1.61 ± 0.14	1.92 ± 0.08
Kurtosis	7.20 ± 0.72	8.53 ± 0.63	9.15 ± 0.76*
Neurons with short bursts and a wide interval distribution			
CV	1.43 ± 0.09	1.60 ± 0.08*	2.11 ± 0.13*
Hazard	0.025 ± 0.003	0.021 ± 0.003	0.030 ± 0.004
Skew	1.80 ± 0.11	1.76 ± 0.16	2.18 ± 0.21
Kurtosis	18.47 ± 2.12	15.57 ± 1.48	24.22 ± 3.18
Mean			
CV	1.32 ± 0.08	1.78 ± 0.11	2.00 ± 0.12*
Hazard	0.023 ± 0.002	0.019 ± 0.002	0.022 ± 0.002
Skew	2.72 ± 0.15	2.65 ± 0.13	3.73 ± 0.19*
Kurtosis	19.94 ± 1.38	13.66 ± 1.56	36.35 ± 2.89*

Note: * — $p < 0.05$ indicates significant differences compared to young rats.

Средние значения CV, перекоса и эксцесса были достоверно выше у старых крыс по сравнению с молодыми животными ($p < 0,01$), что позволяет предположить появление скрытых паттернов более высокого порядка в разрядах нейронов старых крыс.

Нейроны со случайным характером разрядов

Эта субпопуляция имела очень асимметричное распределение межспайковых интервалов с относительно небольшим количеством интервалов короче моды (рис. 5.1), а нисходящие хвосты распределений, составляющие подавляющее большинство интервалов, хорошо укладывались в одну отрицательную экспоненту (рис. 5.1 c). Функция риска при этом принимает приблизительно постоянное значение примерно через 50–100 мс. Как видно из функции риска, возбудимость после спайка быстро возрастает, затем стабилизируется на плато к 50–100 мс (рис. 5.1 d). Таким образом, после этого отно-

сительного рефрактерного периода отдельные спайки не оказывают заметного влияния на возбудимость клеток, а последующие спайки возникают случайным образом.

В этой группе у молодых крыс межспайковые интервалы имели CV, относительно близкий к 1, но достоверно возрастали у взрослых и старых крыс ($p < 0,05$). При этом среднее значение CV в этой популяции было меньше по сравнению со средним CV для данного возраста ($p < 0,05$). Средний эксцесс этих клеток был достоверно выше, чем в среднем у нейронов в каждой возрастной группе ($p < 0,05$) (табл. 1).

Нейроны с широким распределением межспайковых интервалов

Эта субпопуляция имела широкое распределение межспайковых интервалов с поздней модой (диапазон 100–700 мс; рис. 5.2 a–c). У молодых и взрослых крыс межспайковые интервалы имели CV, относительно близкий к 1, что

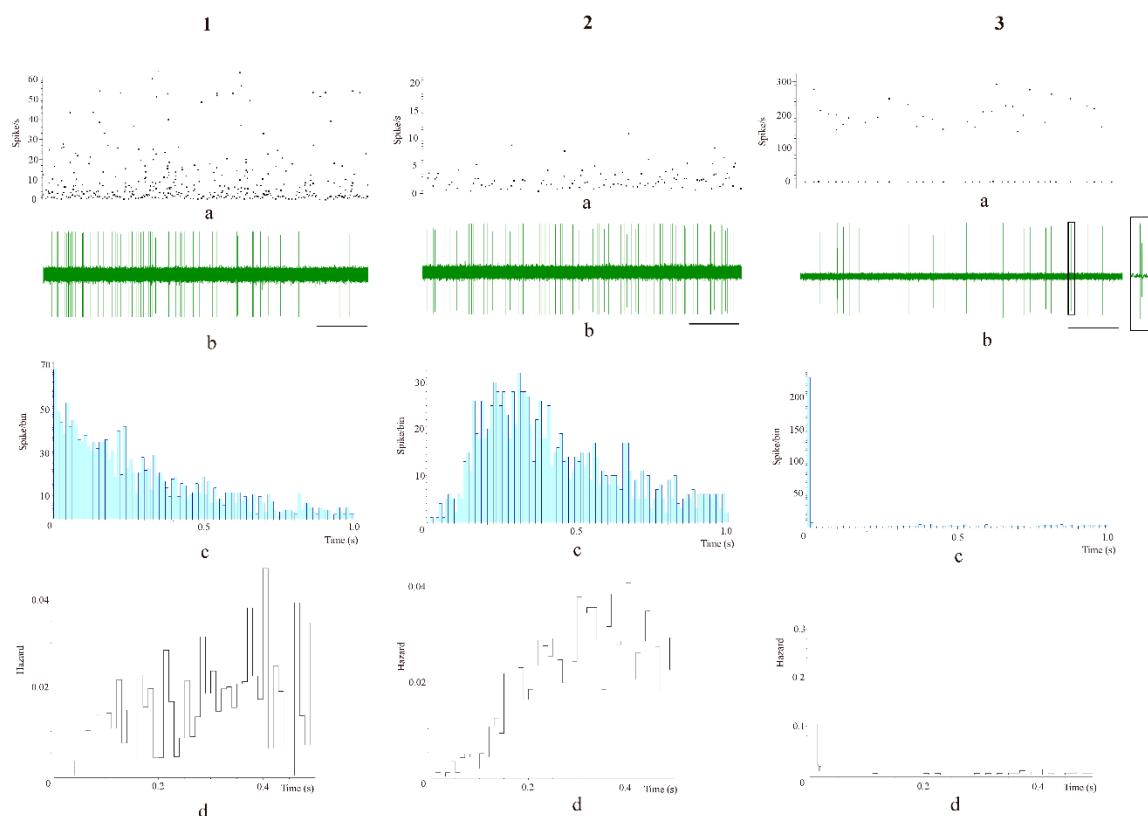


Рис. 5. Особенности электрической активности нейронов ВМЯ гипоталамуса молодой крысы со случайным характером разрядов (1), с широким распределением межспайковых интервалов (2) и с короткими залпами разрядов (3). Показаны а) изменения средней частоты разрядов (имп/с), б) нативная спайковая активность (масштаб — 10 с, для 3б в прямоугольнике показана увеличенная область с масштабом в 1 с), в) интервальная гистограмма, д) график функции риска. Для в) и д) бин — 10 мс

Fig. 5. Electrophysiological profiles of VMN neurons in a young rat: (1) random discharge pattern, (2) wide interspike interval distribution, (3) short burst discharges. Each panel shows: (a) mean firing frequency (impulses/s), (b) raw spike trace (10 s scale; inset in 3b shows 1 s expanded trace), (c) interspike interval histogram, (d) risk function. Bin width for (c) and (d): 10 ms

указывает на то, что большинство спайков происходят случайно после длительного относительного рефрактерного периода (табл. 1). У старых крыс данный показатель достоверно возрастал ($p < 0,05$). При этом у старых крыс показатели эксцесса и перекоса были также выше, чем в среднем в этом возрасте ($p < 0,05$).

Значение функции риска достоверно уменьшалось у взрослых и старых крыс по сравнению с молодыми (табл. 1). График функции риска показывает постоянное возрастание после спайка в течение 200–300 мс и далее достигает плато (рис. 5.2 d).

Нейроны с короткими залпами разрядов

Эта субпопуляция представлена очень прерывистыми кластерами из нескольких спайков, от двух до пяти, чаще двух или трех, разделенных короткими интервалами, несмотря на относительно низкую частоту разрядов (рис. 5.3 a–c). В среднем в этих клетках большое число всех интервалов ($18 \pm 2,1\%$ у молодых, $16 \pm 2,2\%$ у взрослых и $14 \pm 1,8\%$ у старых особей) были

менее 40 мс, и такие короткие интервалы были редкостью в любой другой группе.

Среднее значение CV не отличалось от средних значений во ВМЯ ($p > 0,05$). Средний перекос и эксцесс при этом были достоверно ниже, чем в среднем в данном возрасте ($p > 0,05$). При этом по вышеназванным параметрам не было отмечено возрастных отличий ($p > 0,05$) (табл. 1).

Графики функции риска показывают очень короткую постспайковую рефрактерность менее 10 мс, за которой следует повышенная возбудимость, достигающая пика при 10 мс (рис. 5.3 d), и которая затем затухает до очень низких значений примерно к 80 мс.

Ритмично разряжающиеся нейроны

В отличие от нейронов со случайным характером разрядов, ритмично разряжающиеся клетки имели относительно симметричное распределение межспайковых интервалов, с интервалами, плотно распределенными вокруг моды по типу гауссовой кривой (рис. 6.1 a–c). Средний перекос и CV были значительно ниже,

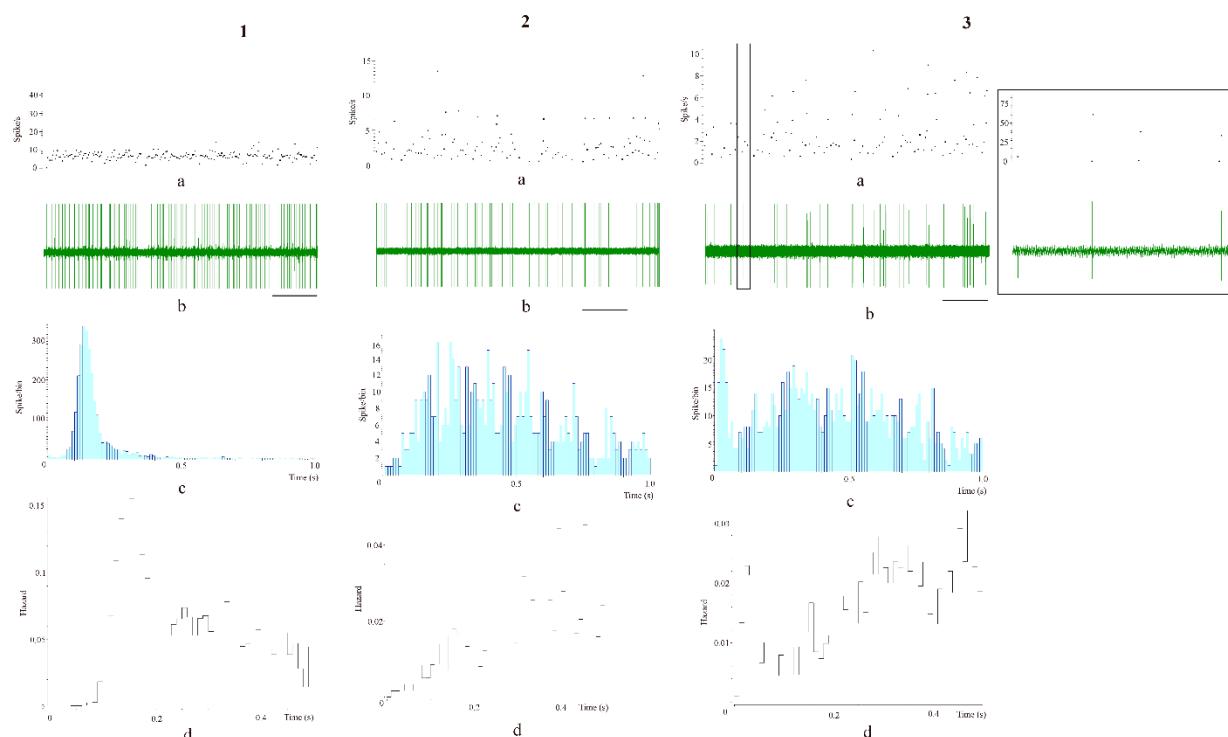


Рис. 6. Особенности электрической активности нейронов ВМЯ гипоталамуса молодой крысы с ритмичной импульсацией (1), с длинным хвостом на интервальной гистограмме (2) и с короткими залпами разрядов, а также с широким распределением межспайковых интервалов (3). Показаны а) изменения средней частоты разрядов (имп/с), б) нативная спайковая активность (масштаб — 10 с, для 3б в прямоугольнике показана увеличенная область с масштабом в 1 с), в) интервальная гистограмма, д) график функции риска. Для в) и д) бин — 10 мс

Fig. 6. Electrophysiological profiles of VMN neurons in a young rat: (1) rhythmic discharge, (2) long-tail interval histogram, (3) short bursts with wide interval distribution. Each panel shows: (a) mean firing frequency (impulses/s), (b) raw spike trace (10 s scale; inset in 3b shows 1 s expanded trace), (c) interspike interval histogram, (d) normalized risk function. Bin width for (c) and (d): 10 ms

чем в популяции в целом, а также ниже, чем для любой другой субпопуляции в данном возрасте ($p < 0,05$). Среднее значение эксцесса было также ниже, чем у большинства нейронов ВМЯ (табл. 1), ($p < 0,05$).

Среднее значение функции риска, напротив, было наибольшим у данной группы нейронов в сравнении с другими популяциями ($p < 0,05$). При этом возрастных изменений функции риска не наблюдалось ($p > 0,05$).

Графики функции риска у всех таких нейронов демонстрируют постспайковую рефрактерность, за которой следует выраженный пик транзиторной возбудимости (рис. 6.1d). Однако чем медленнее скорость проведения, тем дольше постспайковая рефрактерность, тем медленнее нарастает возбудимость и тем позже и шире пик повышенной возбудимости. Таким образом, в зависимости от частоты разрядов постспайковая рефрактерность варьирует от 10 до 170 мс, а длительность возбуждения — от 30 до 350 мс.

Нейроны, характеризующиеся длинным хвостом на интервальной гистограмме

Данная группа характеризовалась распределением межспайковых интервалов, которые были относительно симметричны вокруг моды, но имели очень длинные хвосты и поэтому не могли быть описаны гауссовой функцией (рис. 6.2 a–c). Их CV был наиболее высоким по сравнению с другими группами и достоверно выше, чем в среднем в данном возрасте ($p < 0,05$). Среднее значение эксцесса было ниже, чем в среднем во ВМЯ ($p < 0,05$). При этом значение CV было достоверно выше, а перекоса ниже у взрослых и старых крыс по сравнению с молодыми ($p < 0,05$) (табл. 1). На графиках функция риска начинает расти с 20–50 мс после спайка, достигает пика на 250–300 мс и затем снова падает (рис. 6.2 d), что свидетельствует о более длительной гиповозбудимости после импульса.

Нейроны с короткими залпами разрядов и с широким распределением межспайковых интервалов

У данной группы нейронов распределение межспайковых интервалов имело две моды — 10–40 мс (как и у клеток с короткими залпами разрядов) и 100–800 мс (сходно с нейронами с широким распределением межспайковых интервалов). Ранний пик в распределении межспайковых интервалов отражал частое появление коротких высокочастотных скоплений спайков (в основном дублетов и триплетов; рис. 6.3 a–c). Нейроны данной группы отличались

от клеток с короткими залпами разрядов главным образом тем, что доля залпов разрядов была низкой (лишь $6,1 \pm 0,3\%$ интервалов у молодых, $4,3 \pm 0,4\%$ у взрослых, $5,2 \pm 0,4\%$ интервалов у старых были менее 30 мс), а большинство интервалов находилось в пределах широко распространенного распределения с модой 200–400 мс.

Эта группа по значениям CV и перекоса не отличалась от средних значений в каждой возрастной группе ($p > 0,05$). При этом данные параметры были достоверно выше у старых животных по сравнению с молодыми ($p < 0,05$) (табл. 1).

Как видно из графиков функций риска, рефрактерность после спайка длится менее 10 мс, после чего клетка становится гиповозбудимой на 10–20 мс. Затем значение функции падает в течение следующих 50 мс, а далее медленно и неуклонно возрастает, достигая плато через 300 мс (рис. 6.3 d). Основное различие между данной группой и группой нейронов с широким распределением межспайковых интервалов заключается в значении функции риска в течение первых 50–60 мс; в группе с короткими залпами разрядов и с широким распределением межспайковых интервалов она значительно выше.

Процентное соотношение различных популяций нейронов ВМЯ

В популяции ВМЯ наибольшее число нейронов было представлено четырьмя группами: нейроны со случайным характером разрядов, с широким распределением межспайковых интервалов, характеризующиеся длинным хвостом на интервальной гистограмме, а также с короткими залпами разрядов и с длинным хвостом на интервальной гистограмме. Лишь небольшое число клеток было отнесено к двум группам: нейроны с короткими залпами разрядов и ритмично разряжающиеся нейроны (табл. 2).

У молодых крыс наибольшее число нейронов имело случайное распределение разрядов. У старых крыс доля этой группы снижалась в два раза и при этом возрастал процент нейронов, характеризующихся длинным хвостом на интервальной гистограмме.

Обсуждение результатов

Полученные данные подтверждают ранее обнаруженное нами уменьшение средней частоты импульсации нейронов туберальной группы гипоталамуса при старении (Moiseev et al. 2021a; 2021b). При анализе распределения нейронов по группам во ВМЯ преобладали нейроны

Табл. 2. Распределение различных популяций нейронов ВМЯ (в %)

Тип нейрона	Молодые	Взрослые	Старые
Нейроны со случайным характером разрядов	41	25	20
Нейроны с широким распределением межспайковых интервалов	14	25	20
Нейроны, характеризующиеся длинным хвостом на интервальной гистограмме	18	25	30
Нейроны с короткими залпами разрядов и с длинным хвостом на интервальной гистограмме	18	16	20
Нейроны с короткими залпами разрядов	5	5	5
Ритмично разряжающиеся нейроны	4	4	5

Table 2. Distribution of different populations of neurons in the VMN (in %)

Neuron type	Young	Adult	Aged
Neurons with a random discharge pattern	41	25	20
Neurons with a wide distribution of interspike intervals	14	25	20
Neurons with a long tail on the interval histogram	18	25	30
Neurons with short bursts of discharges, as well as with a wide distribution of interspike intervals	18	16	20
Neurons with short bursts of discharges	5	5	5
Neurons with rhythmic impulses	4	4	5

четырех популяций: нейроны со случайным характером разрядов, с широким распределением межспайковых интервалов, характеризующиеся длинным хвостом на интервальной гистограмме, а также с короткими залпами разрядов и с длинным хвостом на интервальной гистограмме, что соответствует ранее полученным данным на взрослых крысах (Sabatier, Leng 2008). При этом у молодых крыс наибольшее число нейронов имело случайное распределение разрядов. При старении доля этой группы уменьшалась, но при этом возрастал процент нейронов, характеризующихся длинным хвостом на интервальной гистограмме.

Ритмично разряжающиеся нейроны характеризовались самым низким CV и узким, симметричным распределением межспайковых интервалов. Нейроны со случайным характером разрядов были распознаны по их плоским, постоянным уровням фактора риска после гиповозбудимости после спайка. Нейроны со случайным характером разрядов, с короткими залпами разрядов достигали постоянного уровня фактора риска в течение 100 мс, что указывает на относительно кратковременный характер изменений возбудимости, зависящих от активности. Примерно к 350 мс большинство нейронов достигали постоянного уровня фактора риска, за исключением ритмично разряжающихся нейронов и нейронов с длинным хвостом на интервальной гистограмме, у ко-

торых этот параметр постепенно снижался после пика. Это говорит о том, что эти клетки могут отличаться от всех остальных очень длительной постспайковой деполяризацией. Также эти нейроны характеризовались наибольшим значением CV среди всех остальных групп. На основании фактора риска можно отметить, что нейроны с широким распределением межспайковых интервалов демонстрировали непрерывно возрастающую возбудимость после спайка, но лишь кратковременную постспайковую паузу.

Средние значения CV, перекоса и эксцесса были достоверно выше у старых крыс по сравнению с молодыми животными, что позволяет предположить появление скрытых паттернов более высокого порядка в разрядах нейронов старых крыс (Perkinson et al. 2021; Sabatier et al. 2004; Sabatier, Leng 2008).

Паттерн импульсации в клетке во многом определяется изменениями возбудимости, следующими за спайковой активностью. В большинстве нейронов за спайком следует следовая гиперполяризация, а в некоторых нейронах за ней следует следовая деполяризация (Lin et al. 2022). Функции риска дают моментальную картину изменений постспайковой возбудимости, обусловленных этими событиями (Perkinson et al. 2021; Sabatier, Leng 2008). Достоверных различий по значению фактора риска между животными различных возрастных групп мы не выявили. Тем

не менее у старых крыс наибольший процент нейронов характеризовался длинным хвостом на интервальной гистограмме, что сопровождается более длительной гиповозбудимостью после каждого импульса. Это в какой-то степени может служить объяснением сниженной частоты импульсации нейронов в данном возрасте. Также сниженная частота разрядов у старых крыс может быть следствием гиперактивации ГАМК-ergicической системы в срединных ядрах гипоталамуса в этом возрасте (Anfimova et al. 2023), а также изменениями со стороны нейронального кальциевого сигналинга (Vishnyakova et al. 2021).

Заключение

Функционально нейроны ВМЯ на основе параметров их спайковой активности можно классифицировать на несколько популяций, которые наблюдаются в различных возрастных группах. При старении наблюдается снижение частоты спайков нейронов, что можно объяснить увеличением доли нейронов с длительной гиповозбудимостью после каждого импульса. Тем не менее нейротрансмиттерная принадлежность нейронов различных функциональных групп до сих пор остается неясной, что может стать предметом дальнейших исследований.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии потенциального или явного конфликта интересов.

Conflict of Interest

The authors declare that there is no conflict of interest, either existing or potential.

Соответствие принципам этики

Программа и протокол исследования одобрены Этическим комитетом Ярославского государственного медицинского университета, протокол № 60 от 16.02.2023 г.

Ethics Approval

The study program and protocol were approved by the Ethics Committee of the Yaroslavl State Medical University, protocol No. 60 dated 16 February 2023.

Вклад авторов

- а. Спиричев Андрей Андреевич — сбор данных, обработка данных;
- б. Маслюков Петр Михайлович — идея работы и планирование эксперимента, обработка данных, написание и редактирование статьи;
- в. Сальников Евгений Валентинович — сбор данных, обработка данных;
- г. Моисеев Константин Юрьевич — сбор данных, обработка данных.

Author Contributions

- a. Andrey A. Spirichev — data collection, data processing;
- b. Petr M. Masliukov — conceptualization and experimental design, data collection, data processing, manuscript writing and critical revision;
- c. Eugenyi V. Salnikov — data collection, data processing;
- d. Konstantin Yu. Moiseev — data collection, data processing.

References

- Anfimova, P. A., Pankrasheva, L. G., Emanuilov, A. I. et al. (2023) Expression of GAD65/67 and VGLUT2 in mediobasal nuclei of rat hypothalamus during aging. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*, vol. 176, no. 2, pp. 232–234. <https://doi.org/10.1007/s10517-024-06001-6> (In English)
- Bibikov, N. G. (2017) Background firing in the auditory midbrain of the frog. *IBRO Reports*, vol. 2, pp. 54–62. <https://doi.org/10.1016/j.ibror.2017.03.003> (In English)
- Cai, D., Khor, S. (2021) Hypothalamic microinflammation. *Handbook of Clinical Neurology*, vol. 181, pp. 311–322. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-820683-6.00023-3> (In English)
- Hirschberg, P. R., Sarkar, P., Teegala, S. B., Routh, V. H. (2020) Ventromedial hypothalamus glucose-inhibited neurones: A role in glucose and energy homeostasis? *Journal of Neuroendocrinology*, vol. 32, no. 1, article e12773. <https://doi.org/10.1111/jne.12773> (In English)
- Kammel, L. G., Correa, S. M. (2020) Selective sexual differentiation of neurone populations may contribute to sex-specific outputs of the ventromedial nucleus of the hypothalamus. *Journal of Neuroendocrinology*, vol. 32, no. 1, article e12801. <https://doi.org/10.1111/jne.12801> (In English)
- Kim, K., Choe, H. K. (2019) Role of hypothalamus in aging and its underlying cellular mechanisms. *Mechanisms of Ageing and Development*, vol. 177, pp. 74–79. <https://doi.org/10.1016/j.mad.2018.04.008> (In English)

- Lin, C., Oh, M. M., Disterhoft, J. F. (2022) Aging-related alterations to persistent firing in the lateral entorhinal cortex contribute to deficits in temporal associative memory. *Frontiers in Aging Neuroscience*, vol. 14, article 838513. <https://doi.org/10.3389/fnagi.2022.838513> (In English)
- Masliukov, P. M. (2023) Changes of signaling pathways in hypothalamic neurons with aging. *Current Issues in Molecular Biology*, vol. 45, no. 10, pp. 8289–8308. <https://doi.org/10.3390/cimb45100523> (In English)
- Masliukov, P. M., Nozdrachev, A. D. (2021) Hypothalamic regulatory mechanisms of aging. *Journal of Evolutionary Biochemistry and Physiology*, vol. 57, no. 3, pp. 473–491. <https://doi.org/10.1134/S0022093021030030> (In English)
- Mobbs, C. V., Moreno, C. L., Poplawski, M. (2013) Metabolic mystery: aging, obesity, diabetes, and the ventromedial hypothalamus. *Trends in Endocrinology and Metabolism*, vol. 24, no. 10, pp. 488–494. <https://doi.org/10.1016/j.tem.2013.05.007> (In English)
- Moiseev, K. Y., Spirichev, A. A., Vishnyakova, P. A. et al. (2021a) Changes of discharge properties of neurons from dorsomedial hypothalamic nuclei during aging in rats. *Neuroscience Letters*, vol. 762, article 136168. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2021.136168> (In English)
- Moiseev, K. Y., Spirichev, A. A., Pankrasheva, L. G. et al. (2021b) Spike activity in the ventromedial nucleus of rat hypothalamus during aging. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*, vol. 171, no. 2, pp. 251–253. <https://doi.org/10.1007/s10517-021-05205-4> (In English)
- Orozco-Solis, R., Aguilar-Arnal, L., Murakami, M. et al. (2016) The circadian clock in the ventromedial hypothalamus controls cyclic energy expenditure. *Cell Metabolism*, vol. 23, no. 3, pp. 467–478. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2016.02.003> (In English)
- Paxinos, G., Watson, C. (2013) *The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates*. 7th ed. Cambridge: Elsevier Academic Press, 480 p. (In English)
- Perkinson, M. R., Augustine, R. A., Bouwer, G. T. et al. (2021) Plasticity in intrinsic excitability of hypothalamic magnocellular neurosecretory neurons in late-pregnant and lactating rats. *International Journal of Molecular Sciences*, vol. 22, no. 13, article 7140. <https://doi.org/10.3390/ijms22137140> (In English)
- Ponce-Alvarez, A., Kilavik, B. E., Riehle, A. (2010) Comparison of local measures of spike time irregularity and relating variability to firing rate in motor cortical neurons. *Journal of Computational Neuroscience*, vol. 29, no. 1–2, pp. 351–365. <https://doi.org/10.1007/s10827-009-0158-2> (In English)
- Sabatier, N., Brown, C. H., Ludwig, M. et al. (2004) Phasic spike patterning in rat supraoptic neurones in vivo and *in vitro*. *Journal of Physiology*, vol. 558, pp. 161–180. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2004.063982> (In English)
- Sabatier, N., Leng, G. (2008) Spontaneous discharge characteristic of neurons in the ventromedial nucleus of the rat hypothalamus *in vivo*. *European Journal of Neuroscience*, vol. 28, no. 4, pp. 693–706. <https://doi.org/10.1111/j.1460-9568.2008.06389.x> (In English)
- Vishnyakova, P. A., Moiseev, K. Y., Spirichev, A. A. et al. (2021) Expression of calbindin and calretinin in the dorsomedial and ventromedial hypothalamic nuclei during aging. *Anatomical Record (Hoboken)*, vol. 304, no. 5, pp. 1094–1104. <https://doi.org/10.1002/ar.24536> (In English)