

**Министерство науки и высшего образования Российской Федерации**  
**Федеральное государственное бюджетное учреждение науки**  
**Институт физиологии им. И.П. Павлова Российской академии наук**

*На правах рукописи*

**Вещицкий Александр Александрович**

**Исследование морфофункциональной архитектуры  
сенсомоторных нейронных сетей спинного мозга кошки,  
обеспечивающих ходьбу в разных направлениях**

03.03.01 – физиология

03.03.04 – клеточная биология, цитология, гистология

Диссертация на соискание ученой степени  
кандидата биологических наук

**Научные руководители: к.б.н. Меркульева Н.С.**  
**д.м.н. Мусиенко П.Е.**

**Санкт-Петербург**

**2019**

## ОГЛАВЛЕНИЕ

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ .....	5
ВВЕДЕНИЕ .....	6
Актуальность темы исследования .....	6
Цели и задачи исследования .....	8
Научная новизна работы .....	8
Основные положения, выносимые на защиту .....	9
Теоретическая и практическая значимость работы .....	9
Апробация работы .....	10
Вклад автора .....	11
Структура и объем диссертации .....	11
Публикации по теме диссертации .....	11
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ .....	16
1.1 Развитие представлений о механизмах, лежащих в основе локомоторной активности .....	16
1.2 Анатомия спинного мозга .....	22
1.3 Классификация нейронов спинного мозга .....	25
1.4 Цитоархитектоника серого вещества спинного мозга .....	27
1.5 Модели локомоторного центрального генератора паттернов .....	39
1.6 Кальций-связывающие белки, как маркеры интернейронов в ЦНС .....	49
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ .....	55
2.1. Экспериментальная модель .....	55
2.2. Операция и эпидуральная стимуляция .....	55
2.3. Методы регистрации и анализ полученных данных .....	59
2.4. Перфузия и обработка гистологического материала .....	61
2.5. Иммуногистохимическое выявление антигенов .....	65
2.6. Цифровая обработка и анализ гистологического материала .....	68
2.7. Статистический анализ данных .....	71
Приложение. Исследование активированных нейронов с помощью метода иммуногистохимического выявления продукта раннего гена <i>c-fos</i> .....	73

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ .....	75
Часть 1. Локомоция, вызванная эпидуральной стимуляцией спинного мозга	75
1.1 Вызов локомоции в направлении вперед и назад при эпидуральной стимуляции различных пояснично-крестцовых сегментов спинного мозга	75
1.2 Особенности кинематики локомоторных движений при ходьбе в разных направлениях, вызванной эпидуральной стимуляцией различных пояснично-крестцовых сегментов спинного мозга .....	78
Часть 2. Распределение активированных нейронов в сером веществе спинного мозга при локомоции, вызванной эпидуральной стимуляцией .....	82
2.1 Ламинарное распределение c-Fos-иммунопозитивных нейронов в сером веществе спинного мозга кошки при вызванной ходьбе в разных направлениях .....	82
2.2 Алгоритм регионального деления серого вещества спинного мозга.....	86
2.3 Распределение c-Fos-иммунопозитивных нейронов по функциональным областям серого вещества при вызванной ходьбе в разных направлениях .	90
2.4 Специфичность метода выявления белка c-Fos в нейронах, активированных вызванной ходьбой .....	94
Часть 3. Распределение нейронов, иммунопозитивных к кальций-связывающим белкам .....	100
3.1 Кальбиндин.....	100
3.1.1 Особенности общего распределения кальбиндин-иммунопозитивных нейронов в сером веществе сегментов L1-S1 спинного мозга .....	100
3.1.2 Ламинарное распределение кальбиндин-иммунопозитивных нейронов .....	103
3.1.3 Региональное распределение кальбиндин-иммунопозитивных нейронов .....	115
3.1.4 Сравнительный анализ распределений нейронов, иммунопозитивных к кальбиндину и c-Fos .....	117
3.2 Парвальбумин.....	119

3.2.1 Особенности общего распределения парвальбумин-иммунопозитивных нейронов в сером веществе сегментов L1-S1 спинного мозга .....	119
3.2.2 Ламинарное распределение парвальбумин-иммунопозитивных нейронов .....	122
3.2.3 Региональное распределение парвальбумин-иммунопозитивных нейронов .....	129
3.2.4 Сравнительный анализ распределений нейронов, иммунопозитивных к парвальбумину и c-Fos .....	131
ГЛАВА 4. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ .....	133
Часть 1. Особенности ходьбы, вызываемой эпидуральной стимуляцией разных сегментов пояснично-крестцового утолщения спинного мозга кошки .....	133
Часть 2. Распределение локомоторных сетей в спинном мозге кошки .....	135
Часть 3. Популяции интернейронов спинного мозга кошки: распределение, свойства и функциональные особенности .....	140
Часть 4. Предполагаемые маркеры клеточных элементов спинальных локомоторных сетей.....	152
ВЫВОДЫ .....	158
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	159

**СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ**

FOS+	– с-Fos-иммунопозитивный
ВЛ	– вентролатеральный
ВМ	– вентромедиальный
ГАМК	– гамма-аминомасляная кислота
ДЛ	– дорзолатеральный
ДМ	– дорзомедиальный
ИМЛ	– интермедиолатеральное ядро
КЛБ+	– кальбиндин-иммунопозитивный
кХВ	– ходьба вперед в течение короткого периода времени
МЛО	– мезэнцефалическая локомоторная область
ПРВ+	– парвальбумин-иммунопозитивный
ХВ	– ходьба вперед
ХН	– ходьба назад
ЦЛ	– центролатеральный
ЦМ	– центромедиальный
ЦГП	– центральный генератор паттернов
ЦНС	– центральная нервная система
ЭМГ	– электромиография
ЭС	– эпидуральная стимуляция

## ВВЕДЕНИЕ

### Актуальность темы исследования

Передвижение в пространстве является неотъемлемой частью успешного существования животного в окружающей его среде. Активное перемещение сопровождается выполнением сложнейших двигательных задач, таких как координированная ходьба, контроль скорости и направления передвижения (Gerasimenko et al., 2005, 2006; Edgerton et al., 2008; Musienko et al., 2009, 2010). Большинство позвоночных способны к локомоции в разных направлениях. Однако, исторически так сложилось, что основной акцент при изучении в сфере локомоции был направлен на всестороннее исследование ходьбы вперед (ХВ), как наиболее типичного, выученного и эволюционно закрепленного типа перемещения. Локомоция в других направлениях, в частности ходьба назад (ХН), используемая для уникальных эволюционно значимых двигательных актов (избегание опасности, необходимость развернуться или пятиться и др.), практически не изучена. При этом существует ряд работ, в которых доказывается, что ходьба назад увеличивает способность животных и пациентов с различного рода моторными нарушениями к восстановлению локомоторных функций (Neptune, Kautz, 2000; Yang et al., 2005; Takami, Wakayama, 2010; Kim et al., 2013; Moriello et al., 2013; Foster et al., 2016). Таким образом, изучение механизмов локомоции в направлении назад имеют не только фундаментальное, но и прикладное значение.

Известно, что инициация ходьбы в направлении вперед может быть вызвана не только активацией супраспинальных локомоторных структур, но и эпидуральной стимуляцией (ЭС) спинного мозга (Iwahara et al., 1991; Gerasimenko et al., 2003). Недавно выявлено, что у децеребрированных животных ходьба назад также может быть вызвана ЭС области поясничных сегментов спинного мозга, но не при воздействии электрическим током на

супраспинальные локомоторные области (Musienko et al., 2007; Musienko et al., 2012).

Запуск ходьбы при стимуляции спинного мозга возможен за счет активации специфических спинальных локомоторных сетей, называемых центральным генератором паттернов (ЦГП) (Cazalets et al., 1995; Dimitrijevic et al., 1998; Duysens, Crommert, 1998; Bogacheva et al., 2009; Musienko et al., 2012; Frigon, 2011; Kiehn et al., 2017). В основе формирования данного понятия лежат работы С.С. Sherrington о цепном рефлексе (Sherrington, 1910) и Т.Г. Brown, предложившего основную концепцию ЦГП – так называемую «модель полуцентров» (Brown, 1914), позже получившую свое развитие в трудах советских ученых М.Л. Шика и Г.Н. Орловского (Shik, Orlovsky, 1976; Orlovsky et al., 1999) и ряда выдающихся зарубежных исследователей – G. Székely, S. Grillner, V.R. Edgerton, K.G. Pearson и др. (Székely, 1965; Kling, Székely, 1968; Grillner, 1975, 1981; Pearson, Duysens, 1976; Edgerton et al., 1976; Pearson, 1995).

Согласно современным представлениям, ЦГП имеет двухуровневую структуру: первый уровень отвечает за формирование ритма чередований движений конечностями при ходьбе, второй – за образование конкретного моторного паттерна, т.е. последовательности активации мышц, обеспечивающих направление движения конечности в зависимости от сенсорного входа (Lafreniere-Roula, McCrea, 2005; Rybak et al., 2006 а, б; Brownstone, Wilson, 2008; McCrea, Rybak, 2008; Guertin, 2009; Rybak et al., 2015). Однако, морфофункциональная организация сенсомоторных нейронных сетей, формирующих компоненты ЦГП, во многом неясна. Существует целый ряд вопросов относительно клеточного состава и функционального значения отдельных элементов спинальных сетей, их распределения в спинном мозге, связей между нейронами, возможного влияния на нейронные сети при заболеваниях и травмах нервной системы.

## **Цели и задачи исследования**

Целью настоящего исследования является изучение морфофункциональной организации сенсомоторных нейронных сетей спинного мозга кошки, контролирующей ходьбу в направлении вперед и назад.

Для достижения данной цели были поставлены следующие задачи:

1. Определить сегменты пояснично-крестцового утолщения спинного мозга кошки, электрическая эпидуральная стимуляция которых вызывает ходьбу задних конечностей в направлении вперед и назад.

2. Выявить распределение маркера c-Fos в пояснично-крестцовом утолщении спинного мозга кошки после локомоции задних конечностей в направлении вперед и назад, вызванной электрической эпидуральной стимуляцией.

3. Исследовать паттерны распределения интернейронов, маркированных разными кальций-связывающими белками.

## **Научная новизна работы**

Проведено подробное картирование спинного мозга кошки, позволившее выявить границы пояснично-крестцового утолщения, в пределах которых посредством электрической эпидуральной стимуляции возможен вызов ходьбы в направлении вперед и назад. В сером веществе пояснично-крестцовых сегментов впервые описано распределение локомоторных нейронных сетей, активируемых электрической эпидуральной стимуляцией и обеспечивающих ходьбу задних конечностей в направлении вперед и назад. На основе полученных данных и для их анализа был разработан новый метод деления серого вещества спинного мозга на функциональные зоны, алгоритм построения карт плотности иммунопозитивных нейронов и способ визуализации областей колокализации нейронов, выявленных разными маркерами. Впервые подробно описано ламинарное и региональное распределение нейронов, иммунопозитивных к



кальций-связывающим белкам (кальбиндину и парвальбумину) в сегментах L1-S1 спинного мозга кошки.

### **Основные положения, выносимые на защиту**

1. Триггерные зоны, стимуляция которых вызывает активность нейронных сетей, обеспечивающих ходьбу задних конечностей в направлении вперед и назад, по-разному распределены вдоль рострокаудальной оси пояснично-крестцового утолщения спинного мозга.

2. Паттерн распределения интернейронов, экспрессирующих ген раннего ответа *c-fos* после эпидуральной стимуляции, определяется направлением вызванной локомоции.

3. Области серого вещества спинного мозга, характеризующиеся наибольшим числом нейронов, активируемых при локомоции, содержат кластеры интернейронов, иммунопозитивных к кальций-связывающим белкам (кальбиндину и парвальбумину).

### **Теоретическая и практическая значимость работы**

Картирование пояснично-крестцового утолщения спинного мозга (сегменты L3-S1) посредством эпидуральной электрической стимуляции, позволило определить зоны, электрическое воздействие на которые вызывает ходьбу в разных направлениях (вперед и назад), а также опосредует качество вызываемой ходьбы. Полученные данные могут быть использованы для создания наиболее оптимальной пространственной конфигурации расположения электродов в спинальных имплантах. Данная задача является актуальной, так как небольшие по размеру импланты обладают ограниченным пространством для размещения проводящих дорожек и точек стимуляции.

С помощью иммуногистохимического метода выявления продукта экспрессии раннего гена *c-fos* визуализированы нейронные сети спинного мозга, участвующие в одном случае в реализации ходьбы вперед, а в другом – назад.

Полученные данные расширяют имеющиеся представления об организации спинальных локомоторных сетей и в совокупности с основными принципами локомоторного контроля могут быть перенесены и использованы в области современной робототехники и протезирования.

Подробным образом описано распределение в пояснично-крестцовом отделе спинного мозга двух наиболее изучаемых кальций-связывающих белков (кальбиндина и парвальбумина), тем самым выявлена посегментная и ламинарная локализация различных функциональных типов нейронов. Настоящая работа может быть использована в качестве отправной точки для определения основных морфологических свойств интересующих популяций спинальных нейронов.

### **Апробация работы**

Основные положения и результаты диссертации были представлены на 12 российских и международных конференциях: I научной конференции с международным участием, посвященной 70-летию Ярославской государственной медицинской академии (Ярославль, 2014); Neuronus 2015 IBRO & IRUN Neuroscience Forum (Poland, Kragow, 2015); всероссийской конференции с международным участием, посвященной 90-летию со дня основания Института физиологии им. И.П. Павлова РАН, (Санкт-Петербург – Колтуши, 2015); международной научной конференции Научного Парка СПбГУ «Трансляционная биомедицина: современные методы междисциплинарных исследований в аспекте внедрения в практическую медицину», (Санкт-Петербург, 2015); XII международной междисциплинарном конгрессе «Нейронаука для медицины и психологии» (Судак, 2016); VI всероссийской с международным участием конференции по управлению движениями «Motor Control-2016» (Казань, 2016); II научной конференции с международным участием, посвященной 70-летию Ярославской государственной медицинской академии (Ярославль, 2016); FENS Regional Meeting (Hungary, Pécs, 2017); the

XIX international conference on neuroinformatics «Advances in neural computation, machine learning, and cognitive research, studies in computational intelligence» (Russia, Moscow, 2017); XIII международной междисциплинарном конгрессе «Нейронаука для медицины и психологии» (Судак, 2017); XXIII съезде физиологического общества им. И.П. Павлова (Воронеж, 2017), всероссийской молодежной конференции с международным участием «Современные аспекты интегративной физиологии» (Санкт-Петербург, 2018).

### **Вклад автора**

Материалы, вошедшие в данную работу, обсуждались и публиковались совместно с соавторами и научными руководителями. Лично автор принимал участие в разработке и постановке экспериментов по выявлению локомоторных спинальных нейронных сетей, анализе электромиограмм и кинематических характеристик конечностей, анатомическом анализе посмертного материала, иммуногистохимическом выявлении антигенов на срезах спинного мозга, морфологическом анализе срезов посредством световой микроскопии, разработке цифровых методов обработки и анализа морфологических данных.

### **Структура и объем диссертации**

Диссертация состоит из введения, четырех глав (обзор литературы, материалы и методы, результаты, обсуждение), выводов и списка литературы. Работа изложена на 214 страницах печатного текста, содержит 6 таблиц и иллюстрирована 52 рисунками. В списке литературы приведено 532 источника.

### **Публикации по теме диссертации**

Основное содержание диссертации отражено в 24 публикациях, из них 6 научные статьи в рецензируемых журналах.

## Статьи:

1. Меркульева Н.С., Михалкин А.А., **Вещицкий А.А.** Особенности распределения ацетилхолинэстеразы в заднелатеральном ядре таламуса кошки // Морфология. – 2015. – Т. 148. – №. 4. – С. 46-48.
2. Merkulyeva N., **Veshchitskii A.**, Makarov F., Gerasimenko Y., Musienko P. Distribution of 28 kDa calbindin-immunopositive neurons in the cat spinal cord // *Frontiers in Neuroanatomy*. – 2016. – Vol. 9. – №. 166. – P. 1-13.
3. Ляховецкий В.А. Меркульева Н.С., **Вещицкий А.А.**, Герасименко Ю.П., Мусиенко П.Е. Математическая модель управления задними конечностями кошки при ходьбе назад // *Биофизика*. – 2016. – Т. 61. – №. 5. – С. 1001-1009.
4. Меркульева Н.С., **Вещицкий А.А.**, Шкорбатова П.Ю., Шенкман Б.С., Мусиенко П.Е., Макаров Ф.Н. Морфометрические особенности ядра Кларка в ростральных сегментах поясничного отдела спинного мозга кошки // *Морфология*. – 2016. – Т. 150. – №. 5. – С. 18-23.
5. Merkulyeva N., **Veshchitskii A.**, Gorsky O., Pavlova N., Zelenin P., Gerasimenko Y., Deliagina T., Musienko P. Distribution of spinal neuronal networks controlling forward and backward locomotion // *Journal of Neuroscience*. – 2018. – Vol. 38. – №. 20. – P. 4695-4707.
6. Shkorbatova P.Y., Lyakhovetskii V.A., Merkulyeva N.S., **Veshchitskii A.A.**, Bazhenova E.Y., Laurens J., Pavlova N.V., Musienko P.E. Prediction algorithm of the cat spinal segments lengths and positions in relation to the vertebrae // *The Anatomical Record*. – 2018. – P. 1-10.

## Тезисы:

1. **Вещицкий А.А.**, Михалкин А.А. Экспрессия ацетилхолинэстеразы в LP ядрах таламуса мозга 2-недельных котят. Современные проблемы нейробиологии // *Материалы I научной конференции с международным участием, посвященной 70-летию Ярославской государственной медицинской академии, Ярославль*. – 2014. – С. 11.

2. Mikhalkin A., Nikitina N., **Veschitskiy A.**, Merkulyeva N. Expression of the heavy-chain neurofilament proteins in the lateral geniculate nucleus of the cat // Neuronus 2015 IBRO & IRUN neuroscience forum, Poland, Krarow. – 2015. – P. 116.

3. **Вещицкий А.А.**, Меркульева Н.С., Мусиенко П. Е. Популяция кальбиндиновых интернейронов серого вещества спинного мозга кошки // Современные проблемы физиологии высшей нервной деятельности, сенсорных и висцеральных систем. Материалы всероссийской конференции с международным участием, посвященная 90-летию со дня основания Института физиологии им. И.П. Павлова РАН, Санкт-Петербург – Колтуши. – 2015. – С. 42.

4. **Вещицкий А.А.**, Меркульева Н. С., Мусиенко П. Е. Распределение кальбиндин-иммунопозитивных нейронов в спинном мозге кошки // Материалы международной научной конференции Научного Парка СПбГУ «Трансляционная биомедицина: современные методы междисциплинарных исследований в аспекте внедрения в практическую медицину», Санкт-Петербург. – 2015. – С. 29.

5. **Вещицкий А.А.**, Меркульева Н. С., Мусиенко П. Е. Кластерная организация кальбиндин-иммунопозитивных нейронов спинного мозга кошки. Материалы XII международного междисциплинарного конгресса «Нейронаука для медицины и психологии», Судак. – 2016. – С. 111.

6. Меркульева Н.С., **Вещицкий А.А.**, Герасименко Ю. П., Мусиенко П.Е. Локализация нейронов спинного мозга кошки, активирующихся при вызванной локомоции // Материалы XII международного междисциплинарного конгресса «Нейронаука для медицины и психологии», Судак. – 2016. – С. 276.

7. Меркульева Н.С., **Вещицкий А.А.**, Герасименко Ю. П., Мусиенко П.Е. Распределение c-fos-иммунопозитивных нейронов в спинном мозге децеребрированных кошек при вызванной локомоции // Материалы VI всероссийской с международным участием конференции по управлению движениями «Motor Control-2016», Казань. – 2016. – С. 61.

8. Меркульева Н.С., **Вещицкий А.А.**, Мусиенко П.Е. Иммуногистохимическое исследование локализации кальбиндиновых интернейронов в люмбосакральном отделе спинного мозга кошки // Материалы II научной конференции с международным участием, посвященной 70-летию Ярославской государственной медицинской академии, Ярославль. – 2016. – С. 31.

9. Павлова Н.В., Баженова Е.Ю., Меркульева Н.С., **Вещицкий А.А.**, Шкорбатова П.Ю., Мусиенко П.Е. Цитохимические особенности нейронов ядра Кларка спинного мозга кошки // Материалы II научной конференции с международным участием, посвященной 70-летию Ярославской государственной медицинской академии, Ярославль. – 2016. – С. 38.

10. Merkulyeva N., **Veshchitskii A.**, Lyakhovetskii V., Musienko P. Relationships between the pattern of the c-fos-positive neurons and locomotion hindquarters properties in cats // FENS Regional Meeting, Hungary, Pécs. – 2017.

11. Fomin I., Mikhailov V., Bakhshiev A., Merkulyeva N., **Veshchitskii A.**, Musienko P. Detection of neurons on images of the histological slices using convolutional neural network // Selected papers from the XIX international conference on neuroinformatics «Advances in neural computation, machine learning, and cognitive research, studies in computational intelligence», Russia, Moscow. – 2017. – P. 85.

12. **Veshchitskii A.**, Merkulyeva N., Gorsky O., Musienko P. Analysis of spinal neuronal networks controlling forward and backward locomotion // FENS Regional Meeting, Hungary, Pécs. – 2017.

13. Баженова Е.Ю., Меркульева Н.С., **Вещицкий А.А.**, Горский О.В., Павлова Н.С., Мусиенко П.Е. Исследование спинальных механизмов соматовисцеральной интеграции локомоторной и мочевыделительной систем // Материалы XIII международного междисциплинарного конгресса «Нейронаука для медицины и психологии», Судак. – 2017. – С. 78.

14. Баженова Е.У., Меркульева Н.С., **Вещицкий А.А.**, Горский О.В., Павлова Н.В., Мусиенко П.Е. Distribution of c-fos positive neurons in the sacral

spinal segments of the cat stepping in different directions // Материалы XXIII съезда физиологического общества им. И.П. Павлова, Воронеж. – 2017. – С. 1628.

15. Попов А.А., Меркульева Н.С., **Вещицкий А.А.**, Горский О.В., Туртикова О.В., Тыганов С.А., Шенкман Б.С., Мусиенко П.Е. Влияние опорного стимула на кинематику локомоторных движений в условиях моделируемой микрогравитации // Материалы XXIII съезда физиологического общества им. И.П. Павлова, Воронеж. – 2017. – С. 286.

16. Баженова Е.Ю., Меркульева Н.С., **Вещицкий А.А.**, Горский О.В., Павлова Н.С., Мусиенко П.Е. Исследование влияния локомоторной активности на работу мочевыделительной системы // Материалы всероссийской молодежной конференции с международным участием «Современные аспекты интегративной физиологии», Санкт-Петербург. – 2018. – С. 13-14.

17. **Вещицкий А.А.**, Меркульева Н.С., Мусиенко П.Е. Спинальные нейроны, экспрессирующие парвальбумин: паттерн распределения и онтогенез // Материалы всероссийской молодежной конференции с международным участием «Современные аспекты интегративной физиологии», Санкт-Петербург. – 2018. – С. 31-32.

18. Шкорбатова П.Ю., Ляховецкий В.А., Меркульева Н.С., **Вещицкий А.А.**, Баженова Е.Ю., Павлова Н.В., Мусиенко П.Е. Скелетотопия и прогнозирование положения поясничных и крестцовых сегментов спинного мозга кошки относительно позвонков // Материалы всероссийской молодежной конференции с международным участием «Современные аспекты интегративной физиологии», Санкт-Петербург. – 2018. – С. 119-120.

## ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

### 1.1 Развитие представлений о механизмах, лежащих в основе локомоторной активности

Понимание механизмов, лежащих в основе двигательной активности организма, началось с появления представлений о рефлексе как об общем принципе нервной деятельности. Первые идеи о реализации рефлекторной деятельности были высказаны еще в XVII веке французским философом, математиком, физиком и физиологом R. Descartes, английским анатомом T. Willis и итальянским физиологом и физиком G. Borelli (Clarac, 2008). Так, согласно R. Descartes, организм человека подобен машине, которая контролируется «духом», локализованным в шишковидном теле (Boes, 2014). Рефлекторная деятельность в таком организме реализуется за счет поступления сенсорной информации в шишковидное тело, открывающее нервные трубки, посредством которых «дух» («*spiritus animus*») далее поступает к мышцам, приводя их в движение (Prochazka et al., 2000). T. Willis различал три вида рефлекторных движений, активируемых разной силой стимуляции: 1) продолжительная легкая стимуляция приводит к автоматическим движениям (биению сердца или дыхательному ритму), находящимся под контролем витального центра – мозжечка; 2) более сильные стимулы обеспечивают поступление сенсорной информации в полосатое тело, контролирующее произвольные движения; 3) стимуляция максимальной интенсивности индуцирует произвольную реакцию, которая реализуется мозолистым телом, функционально аналогичным шишковидному телу в работах R. Descartes (Molnár, 2004; Clarac, 2005 a). Первым, кто применил принципы механики для изучения локомоторных движений животных, был G. Borelli – «отец биомеханики» (Ashley-Ross, Gillis, 2002). Он опроверг мнение, что работа мышц обеспечивается внутренними газообразными духами, дал научное описание работы конечностей в различных суставах, рассчитал силы, реализуемые при



передвижении животного (Clarac, 2008).

Более физиологическое объяснение «рефлекса» было дано в XVIII веке немецким профессором и врачом J.A. Unzer и чешским профессором анатомии и офтальмологии J. Prochaska (Yaprak, 2008). В своей книге 1775 года «Principles of Physiology» J.A. Unzer заявил, что движения животных не могут быть сведены к механическим законам физики, и предоставил описание некоторых сенсорных и моторных путей, участвующих в реализации рефлекса (Clarac, 2005 a). Также он впервые показал, что птицы и млекопитающие, спинной мозг которых был отделен от головного посредством перерезки (спинализированные), способны локомотировать практически в нормальном режиме. На основе данного открытия J.A. Unzer выдвинул предположение о доминирующей роли спинного мозга в контроле локомоции, реализуемом при наличии периферической обратной связи (Clarac, 2008). G. Prochaska в своей работе 1784 года «De functionibus systematis nervosi» помимо объяснения основных известных на тот момент принципов, лежащих в основе рефлекторной деятельности, выдвинул понятие о нервной силе («*vis nervosa*»), передаваемой по нервным волокнам при возникновении возбуждающих стимулов, и описал точку соединения сенсорных и моторных нервов («*secorium commune*»), представленную в различных областях центральной нервной системы (ЦНС) (Clarac, 2005 a).

В конце XVIII века свое развитие получили электрофизиологические методы исследований, у истоков которых стоял итальянский врач, анатом, физиолог и физик L. Galvani (Larson, 1963). Им впервые было продемонстрировано сокращение мышцы при воздействии на нее или на соответствующий нерв внешних электрических стимулов (Geddes, Hof, 1971). Данное открытие позволило L. Galvani выдвинуть теорию о существовании в мышцах и нервах «биоэлектричества», за счет которого в организме и реализуются мышечные сокращения (Ashley-Ross, Gillis, 2002). В дальнейшем благодаря исследованиям английского хирурга и физиолога С. Bell и французского физиолога F. Magendie независимо друг от друга были открыты функциональные различия между передними и задними корешками спинного

мозга (Clarac, 2005 а). Они экспериментально доказали, что передние корешки несут моторные сигналы от мозга к мышцам, а задние – передают сенсорные импульсы из внешней среды в ЦНС (Naderi et al., 2004). Это открытие намечало анатомическую основу рефлекторной дуги и вошло в науку как «закон Бэлла-Мажанди» (Jorgensen, 2003). Само понятие «рефлекторная дуга» было предложено английским врачом и физиологом М. Hall (Fye, 1997; Eadie, 2008). На основе ряда предпосылок и собственных экспериментальных данных М. Hall и немецкий физиолог J. Müller описали основные компоненты рефлекторной дуги (афферентное, эфферентное и вставочное звенья), чем обеспечили дальнейшее становление современных представлений о регуляции рефлекторной деятельности (Pearce, 1997; Lohff, 2001; Clarac, 2005 а).

В XIX веке И.М. Сеченов сделал выдающееся открытие явления центрального торможения в нервной системе. Тем самым он не только расширил представления о координации рефлекторной деятельности, но и определил дальнейший ход развития учения о функциях ЦНС. Дальнейшее развитие своих представлений о регуляции рефлекторной деятельности И.М. Сеченов описал в труде «Рефлексы головного мозга», где заключил, что все двигательные акты человека и животных являются результатом реализации цепочек элементарных рефлексов (Сеченов, 1863).

Важным этапом в понимании механизмов рефлекторной деятельности стало появление учения о клеточной организации нервной системы, получившего свое развитие благодаря работам испанского врача, анатома и гистолога S. Ramón y Cajal (Clarac, 2005 б). Он первым обосновал представление о нервной клетке как о структурной единице нервной системы (Francis, Tang, 2006), связанной с другими нейронами посредством отростков – дендритов и аксонов (Bullock, 1959; Llinás, 2003). Тем самым опроверг представления J. Gerlach о нервной системе как о единой непрерывной сети («ретикулярная теория») (De Carlos, Borrell, 2007).

В контексте «нейронной доктрины» S. Ramón y Cajal, свое развитие получила гипотеза британского физиолога C.S. Sherrington о существовании

контактных соединений между нервными клетками (López-Muñoz, 2006). Основываясь на данных своих исследований, С.С. Sherrington понял, что ряд принципов реализации рефлексов может быть объяснен с позиции передачи возбуждения через контакты между нейронами (Bennett, 1999). Для обозначения такого контакта С.С. Sherrington ввел термин «синапс» (Sherrington, 1906), существование которого было подтверждено только в 50-е годы XX века с появлением электронной микроскопии (Eccles, 1990). В работе 1906 года «The integrative action of the nervous system» он собрал результаты своих двадцатилетних исследовательских поисков в области изучения рефлекторной деятельности (Sherrington, 1906). Работа на спинальных и децеребрированных кошках позволила выявить ряд важных принципов реализации рефлекторного акта. Так, С.С. Sherrington впервые описал принцип «общего конечного пути», как способ реализации множества разных рефлексов через одни и те же моторные нейроны спинного мозга, ввел понятие «проприоцепции» — запускающего элемента цепи локомоторных рефлексов, выявил такие особенности передачи возбуждения через синапс как односторонность направления и задержка проведения (Clarac, 2005 б; Hultborn, 2006; Burke, 2007; Levine, 2007).

Бельгийский физиолог М. Philippson в своих исследованиях на спинальных собаках продемонстрировал возможность таких животных к проявлению локомоторной деятельности и пришел к выводу, что спинной мозг обеспечивает контроль за локомоцией, используя как центральные, так и рефлекторные механизмы (Clarac, 2008). Также он провел анализ видеозаписей ходьбы животных и дал подробное описание фаз локомоторного цикла, используемое в физиологии движения до сих пор (подробнее см. главу 2.3) (Stuart et al., 1973).

В первой четверти XX века благодаря работе немецкого фармаколога и физиолога R. Magnus и его коллег большое развитие получило исследование позных рефлексов, обеспечивающих распределение мышечного тонуса и поддержание определенного положения тела в пространстве. Данные рефлексy R. Magnus поделил на статические, контролирующие положение тела и его

установку, и статокINETические, обусловленные движением тела – его вращением или линейным ускорением (Магнус, 1962). R. Magnus экспериментально доказал, что ствол мозга является местом, где сосредоточена сложная система рефлекторных центров, обеспечивающих механизмы равновесия, выпрямления и нормального положения тела в пространстве (Brunnstrom, 1953).

XX век характеризуется значительным развитием взглядов на механизмы формирования локомоторных движений. Первым, кто пошатнул рефлекторную интерпретацию, стал физиолог T.G. Brown, работавший в лаборатории C.S. Sherrington (Arshavsky et al., 2016). T.G. Brown акцентировал свое внимание на «внутреннем факторе», состоящем из нейронных цепей в ЦНС, способных формировать паттерн моторной активности без участия нисходящих или сенсорных входов (Prochazka et al., 2001). Свою гипотезу T.G. Brown строил на результатах экспериментов, в которых у спинальных кошек с перерезанными дорзальными корешками сохранялась способность к чередующимся сокращениям мышц сгибателей и разгибателей лодыжки (подробнее см. главу 1.5) (Duysens, Crommert, 1998).

Фундаментальные открытия, необходимые для дальнейшего развития представлений о локомоторных механизмах, были сделаны австралийским нейрофизиологом J.C. Eccles. Он вел исследования, посвященные процессам пресинаптического торможения в спинном мозге (Eccles et al., 1962, 1963; Willis, 2006), активно развивал методы внутриклеточного отведения (Brock et al., 1952, 1953; Curtis et al., 1958; Eccles et al., 1961), установил существование двух типов моторных волокон: мелко- и крупнокалиберных (скелетомоторных) (Clarac, 2005 б). Позже шведский нейрохирург L. Leksell выявил, что мелкокалиберные волокна представляют собой аксоны  $\gamma$ -мотонейронов, обеспечивающих иннервацию мышечных веретен, и назвал их фузимоторными (Matsushita, 1970; Bryan, 1972). Во второй четверти XX века благодаря работам ряда ученых (J. Erlanger, H.S. Gasser, G.H. Bishop, D.P.C. Lloyd и др.) по определению скорости проведения возбуждения в изолированных нервах была создана

современная классификация афферентных и эфферентных волокон (подробнее см. главу 1.2) (Manzano et al., 2008).

Параллельно вышеописанным исследованиям велась работа по изучению внутренних структурных элементов спинного мозга. Американский нейрофизиолог В. Renshaw, исследуя интернейроны вентральных рогов спинного мозга (позже названные в его честь), в 1940 году описал явление обратного торможения мотонейронов (Sarikcioglu, Utuk, 2009). Шведский анатом В. Rexed, основываясь на цитоархитектонике серого вещества спинного мозга, поделил его на 9 последовательно расположенных слоев (пластины I-IX) и область вокруг центрального канала (позже называемую пластиной X) (Rexed, 1952, 1954) (подробнее см. главу 1.4). С развитием электрофизиологических, гистологических, иммуногистологических и фармакологических методов появилась возможность детального описания клеточных популяций и отдельных нейронов в их составе. Так, шведский профессор Е. Jankowska в своих работах представила подробную классификацию интернейронов (Jankowska et al., 1967 б; Jankowska, Lindström, 1970; Jankowska, 2013) (подробнее см. главу 1.3), используемую нейробиологами и сегодня.

В 60-е годы XX века советскими учеными М. Шиком, Г. Орловским и Ф. Севериным была описана принципиально новая модель для изучения локомоторных механизмов (Grillner, 1975). Им удалось посредством электростимуляции в районе клиновидного ядра среднего мозга (позже названной мезэнцефалической локомоторной областью (МЛО)) вызвать ходьбу у кошек с перерезкой ствола на уровне сосцевидных тел (Grillner, 1975). При этом в зависимости от силы стимулирующего тока, существенно менялся характер движений: от медленной ходьбы до галопа (Grillner, 1975). Позже в 90-е годы японским ученым Т. Iwahara с коллегами удалось показать возможность вызова локомоторных движений у децеребрированных кошек эпидуральной и субдуральной электрической стимуляцией шейных и поясничных сегментов спинного мозга (Iwahara et al., 1992).

Таким образом, данные экспериментов последнего столетия привели к

формированию современной точки зрения, согласно которой, реализация механизмов локомоторного контроля обеспечивается нейронными сетями, локализованными в спинном мозге.

## **1.2 Анатомия спинного мозга**

Спинной мозг – это наиболее древний и просто организованный отдел центральной нервной системы (Nieuwenhuys, 1964), обеспечивающий движение мышц конечностей и туловища и контролирующей активность большей части внутренних органов и кровеносных сосудов (Watson, Kayalioglu, 2009). Структурно он представляет собой длинный тяж цилиндрической формы, уплощенный в дорзовентральном направлении (Watson, Kayalioglu, 2009). Спинной мозг имеет метамерное строение и состоит из сегментов, каждый из которых определен парой корешков: входящих дорзальных и выходящих вентральных (Murray, 2003), которые вблизи спинного мозга объединяются, формируя спинальные нервы (Nieuwenhuys, 1964). У млекопитающих сегменты спинного мозга объединены в пять отделов: шейный, грудной, поясничный, крестцовый и копчиковый (Nógrádi, Vrbová, 2006). Число сегментов в каждом отделе варьирует в зависимости от вида и соответствует числу позвонков (Nieuwenhuys, 1964). В период раннего эмбриогенеза спинной мозг занимает почти всю длину позвоночного канала, а его сегменты локализованы в одноименном позвонке (Maierl, Liebic, 1998; Canbay et al., 2013). По мере развития организма позвоночный столб растет гораздо быстрее спинного мозга, в результате чего появляется несоответствие между номерами позвонков и локализуемых под ними сегментов: так называемое «восхождение спинного мозга» (Streeter, 1919). В итоге, спинной мозг взрослых особей разных видов млекопитающих заканчивается в поясничном отделе позвоночника: у человека на уровне позвонков L1-L2 (Demiryürek et al., 2002; Soleiman et al., 2005; Canbay et al., 2013), у крысы – в L3 (Gelder, Chopin, 1977), у кошки – в L6 (Eldridge, 1984; Maierl, Liebic, 1998). Отнесение сегмента к тому или иному отделу

спинного мозга зависит не от реального его расположения, а от того, в каком отделе выходящие из него нервы покидают позвоночный канал (Cramer, Darby, 2013). Нервы наиболее ростральных сегментов отходят от спинного мозга под прямым углом, однако в каудальном отделе они искривляются в сторону выходных межпозвонковых отверстий и в, конечном итоге, образуют пучки волокон, а у человека так называемый «конский хвост» (Murray, 2003).

Как было сказано выше, спинномозговые нервы состоят из дорзальных и вентральных корешков. Дорзальные корешки состоят из афферентных волокон и образованы аксонами псевдоуниполярных клеток, локализованных в спинномозговых узлах. Вентральные корешки образованы аксонами мотонейронов вентральных рогов и симпатических нейронов боковых рогов серого вещества спинного мозга (Heimer, 1983). Согласно классификации D.P.C. Lloyd и H. Chang, афферентные волокна в зависимости от толщины и скорости проведения делятся на три группы (Lloyd, Chang, 1948). В первую группу относят волокна Ia – от мышечных веретен и Ib – от рецепторов Гольджи, в группу II – от вторичных окончаний мышечных веретен, в группу III – от рецепторов связок и свободных нервных окончаний. Более полная классификация H.S. Gasser и H. Grundfest характеризует волокна не только афферентных, но эфферентных путей (Gasser, Grundfest 1939). Так, авторы определяют А, В и С группы волокон, при этом выделяя внутри группы А еще четыре подтипа:  $\alpha$  – от мышечных веретён и сухожильных органов к скелетным мышцам;  $\beta$  – от тактильных рецепторов к интрафузальным мышечным волокнам;  $\gamma$  – к мышечным веретенам;  $\delta$  – от болевых и температурных рецепторов. Волокна группы С участвуют в передаче болевой, а также, вместе с волокнами группы В, висцеральной информации.

Спинной мозг состоит из внутреннего серого и внешнего белого вещества (Sengul, Watson, 2012). Белое вещество сформировано плотно лежащими аксонами (преимущественно миелинизированными) и нейроглиальными клетками (Cramer, Darby, 2013). Основная его функция – проводниковая (Weber et al., 2017). Белое вещество состоит из трех основных частей: дорзальных,

латеральных и вентральных столбов или канатиков (Heimer, 1983). В них сосредоточены множественные восходящие (сенсорные) и нисходящие (моторные) тракты, соединяющие разные отделы спинного мозга с головным и наоборот (Murray, 2003). Дорзальные столбы содержат только восходящие тракты (тонкий пучок Голля и клиновидный пучок Бурдаха), латеральные – восходящие (вентральный и латеральный спинноталамические пути, дорзальный спинномозжечковый путь Флексинга и вентральный спинномозжечковый путь Говерта) и нисходящие (латеральный кортикоспинальный, руброспинальный и латеральный ретикулоспинальный путь), а вентральные – только нисходящие (передний кортикоспинальный, тектоспинальный и вестибулоспинальный пути и задний продольный пучок) (Purves et al., 2004). Аксоны, формирующие восходящие пути, берут свое начало от клеток дорзальных ганглиев и нейронов серого вещества. Нисходящие же пути сформированы длинными отростками нейронов разных отделов головного мозга (Murray, 2003). Помимо длинных путей, в белом веществе имеются локальные волокна, связывающие нейроны разных сегментов (проприоспинальные связи) и нейроны противоположных сторон спинного мозга (комиссуральные связи) (Cramer, Darby, 2013).

Под белым веществом находится серое, имеющее на поперечном срезе вид бабочки или буквы «Н» (Murray, 2003). Каждая половина серого вещества состоит из дорзального и вентрального рогов и промежуточной области между ними, которая в грудном отделе (и частично в поясничном) формирует боковой рог (Cramer, Darby, 2013). В середине серого вещества находится центральный спинномозговой канал (Nógrádi, Vrbová, 2006), представляющий собой остаток просвета нервной трубки и продолжение четвертого желудочка ствола (Cramer, Darby, 2013). В спинном мозге различают два утолщения серого вещества (шейное и поясничное), формирование которых связано с наличием в них множества крупных мотонейронов, аксоны которых участвуют в формировании нервов, поступающих к передним или задним конечностям (Standring, 2016). Серое вещество образовано телами и отростками нейронов, а также глиальными клетками (Sengul, Watson, 2012).



### 1.3 Классификация нейронов спинного мозга

В сером веществе спинного мозга выделяют четыре крупных класса нейронов: вставочные, пучковые, проприоспинальные и моторные (Jankowska, 1992).<sup>1</sup> При этом в зависимости от длины аксонов, нейроны данных классов относят к I или II типу клеток Гольджи (Heimer, 1983). Аксоны крупных пучковых и моторных нейронов могут достигать длины в 1 метр и более (клетки Гольджи I типа), более мелкие проприоспинальные и вставочные нейроны имеют короткие нейроны и множество сильно ветвящихся дендритов (клетки Гольджи II типа) (Cramer, Darby, 2013).

**Вставочные нейроны** (интернейроны) локализованы в сером веществе повсеместно и составляют до 90% от всей популяции нервных клеток спинного мозга (Jankowska, Lundberg, 1981). С помощью своих достаточно коротких отростков они формируют сложную систему связей внутри серого вещества. Их аксоны тянутся относительно небольшое расстояние и заканчиваются на ипси- и контралатеральных нейронах. В свою очередь, к ним подходят афференты от других вставочных и проприоспинальных нейронов спинного мозга. Преобразуя множественную поступающую информацию, интернейроны передают ее на другие клетки, включая моторные. Так, интернейроны играют важную роль в осуществлении моторной рефлекторной деятельности (Heimer, 1983), обеспечивают возвратное торможение мотонейронов (клетки Реншоу), участвуя в координации сокращений мышц антагонистов в ходе локомоторного цикла

---

<sup>1</sup> *Важно отметить, что в литературе понятие «вставочный нейрон» часто используют в широком смысле для обозначения всех типов клеток, чьи отростки не выходят за пределы ЦНС. В данной работе используется более узкое значение термина и выделены три класса вставочных нейронов: собственно вставочные (далее по тексту просто вставочные или интернейроны), пучковые и проприоспинальные нейроны.*

(Noga et al., 1987), модифицируют поступающие от болевых рецепторов сигналы (Bernardi et al., 1995) и др.

**Пучковые нейроны** по большей части локализованы в дорзальных рогах и промежуточном сером веществе спинного мозга (Paxinos, 2015). Аксоны пучковых нейронов выходят за пределы серого вещества в белое, где участвуют в формировании восходящих проводящих трактов (Cramer, Darby, 2013), посредством которых сенсорная информация поступает в супраспинальные структуры (Jankowska, 1992). Пучковые нейроны классифицируют в соответствии с формируемыми ими проводящими путями и передаваемым типом информации (Anelli, Heckman, 2005).

**Проприоспинальные нейроны** локализованы преимущественно в вентральных рогах и промежуточном сером веществе, в меньшей – в дорзальных рогах (Cramer, Darby, 2013). Аксоны propriospinalных нейронов не выходят за пределы спинного мозга и обеспечивают связь между клетками серого вещества разных сегментов и отделов (Chung, Coggeshall, 1983; Weidner et al., 2017). В связи с этим propriospinalные аксоны входят в состав восходящих и нисходящих трактов, в составе которых достигают своих проекционных зон в пределах спинного мозга (Conta, Stelzner, 2009). Выделяют три типа propriospinalных нейронов: с длинными, средними и короткими аксонами (Cramer, Darby, 2013). За счет формирования внутренних связей спинного мозга осуществляются функции модуляции восходящей и нисходящей локомоторной, респираторной, болевой и висцеральной информации, обеспечивается координация работы скелетных мышц левой и правой, передних и задних конечностей (Matsushita et al., 1979; Conta, Stelzner, 2009).

**Моторные нейроны** (мотонейроны) локализованы в вентральных рогах и промежуточном сером веществе, формируя в данных областях скопления в виде ядер (Vanderhorst, Holstege, 1997; Vizzard, 2000). Выделяют два класса мотонейронов: висцеральные (автономные) и соматические (Bayer, Altman, 2002). Висцеральные мотонейроны локализованы в промежуточном сером веществе и функционально делятся на симпатические и парасимпатические.

Симпатические преганглионарные мотонейроны, расположенные в грудных и верхних поясничных сегментах, обеспечивают иннервацию желез, кровеносных сосудов (в частности, их вазодилатацию) и гладкой мускулатуры внутренних органов. Парасимпатические преганглионарные мотонейроны, локализованные в крестцовом отделе, иннервируют работу тазовых органов и регулируют процессы мочеиспускания и дефекации (McHanwell, Watson, 2009). Среди соматических мотонейронов выделяют три типа:  $\alpha$ ,  $\gamma$  и  $\beta$  (Chang, Martin, 2011).  $\alpha$ -мотонейроны являются самыми крупными клетками спинного мозга и имеют характерную звездчатую форму (Nógrádi, Vrbová, 2006). Своими аксонами  $\alpha$ -мотонейроны иннервируют быстрые и медленные экстрафузальные мышечные волокна, на основе чего делятся, соответственно, на фазические и статические (Cramer, Darby, 2013). Более мелкие  $\gamma$ -мотонейроны иннервируют интрафузальные мышечные волокна (Boyd, 1962) и могут быть поделены на два типа: статические и динамические (Perret, Berthoz, 1973). Немногочисленные  $\beta$ -мотонейроны участвуют в иннервации обоих типов мышечных волокон – экстра- и интрафузальных (Chang, Martin, 2011). Аксоны всех типов моторных нейронов, покидают спинной мозг в составе вентральных корешков и, объединяясь с дорзальными, формируют смешанные спинальные нервы, в составе которых и направляются к органам-мишеням (Nieuwenhuys, 1964; Murray, 2003). Активность мотонейронов находится под контролем вставочных нейронов спинного мозга (в частности, клеток Реншоу) и супраспинальных структур (Cramer, Darby, 2013).

#### **1.4 Цитоархитектоника серого вещества спинного мозга**

Несмотря на достаточно малое число типов нейронов, обозначенных выше, серое вещество спинного мозга морфологически разнообразно. Клетки, его образующие, существенно отличаются по размеру, форме, плотности их расположения и особенностям связи между собой (Heise, Kayalioglu, 2009). Основываясь на этих характеристиках нейронов, с помощью различных

гистохимических методик В. Rexed (1952, 1954) идентифицировал в сером веществе спинного мозга кошки 10 цитоархитектонических областей и назвал их пластинами (рис. 1). Позже данные В. Rexed были перенесены на спинной мозг землероек (Shriver, Noback, 1967), мышей (Wolman, 1970), крыс (Achencach, Goodman, 1968; Heimer, Wall, 1968) собак (Buxton, Goodman, 1967), обезьян (Carpenter et al., 1968; Shriver et al., 1968), человека (Schoenen, 1982 а, б) и других млекопитающих, тем самым существенно дополнены и расширены как с морфологической, так и с функциональной точки зрения. Внутри пластин многие нейроны организованы в функциональные кластеры, называемые ядрами (Murray, 2003), некоторые из которых локализованы во всех отделах спинного мозга, другие – ограничены определенными сегментами (Cramer, Darby, 2013).

*Пластина I* представляет собой тонкий слой серого вещества, покрывающий дорзальный рог сверху и частично с латеральной поверхности (Rexed, 1954). Дорзолатеральная область пластины характеризуется большим числом нервных волокон, формирующих тракт Лиссауэра (Willis, Coggeshall, 1991). Саму пластину пронизывает множество по большей части миелинизированных аксонов, создающих её ретикулярную структуру, что в свою очередь является причиной трудности в четком определении ее границы с белым веществом (Willis, Coggeshall, 1991). Данная пластина впервые описана Н Waldeyer в 1888 году как маргинальная зона, состоящая из крупных вытянутых вдоль кривизны дорзального рога клеток (Wolman, 1970; Mytakhir, 2015). Позже в исследованиях на крысе и кошке в пластине I выявили 4 морфотипа по большей части пучковых нейронов: веретеновидные, мультиполярные, пирамидные и плоские (Lima, Coimbra, 1986; Zhang et al., 1996).

Веретеновидные клетки локализованы в латеральной части пластины и характеризуются продольно ориентированной веретенообразной формой сомы. При этом различают два подтипа веретеновидных нейронов: А и В. От противоположных полюсов клеток подтипа А отходят два продольно ориентированных дендрита. Для клеток подтипа В характерно наличие дополнительного дендрита, ориентированного вентрально. Мультиполярные

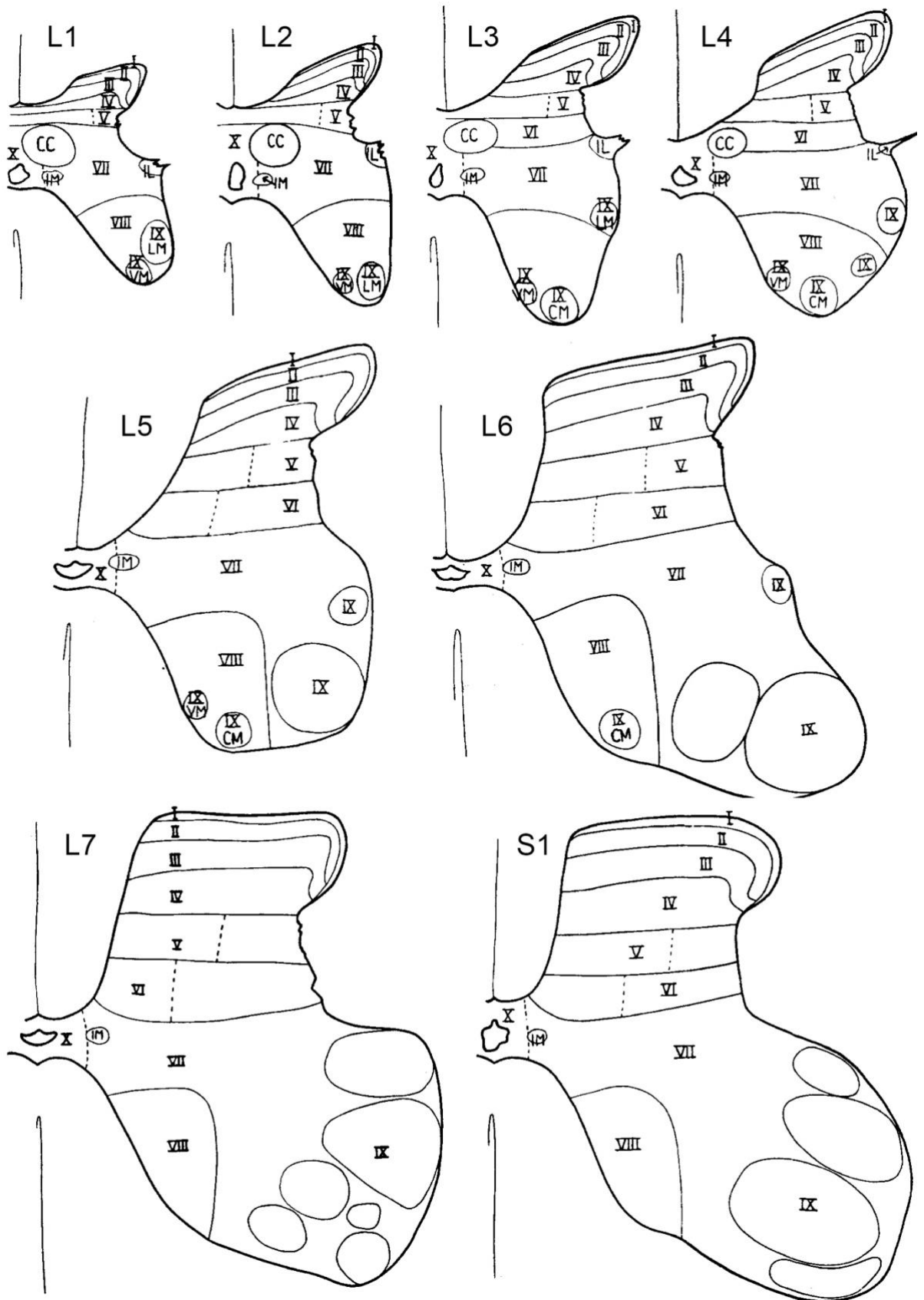


Рисунок 1. Схематичные изображения распределения цитоархитектонических пластин серого вещества сегментов L1-S1 спинного мозга кошки (Rexed, 1954). Представлены правые половины серого вещества спинного мозга. Номера пластин обозначены римскими цифрами.

клетки обычно локализованы в центральной части пластины I и имеют овальную сому, от которой во все стороны отходит несколько дендритов. Подтип А мультиполярных нейронов характеризуется множеством шипиков на ориентированных преимущественно в ростокаудальной направлении сильно ветвящихся дендритах. Клетки подтипа В несколько крупнее, но обладают значительно меньшим ветвлением дендритов и числом шипиков на них. Пирамидные нейроны имеют вид треугольника, от каждого угла которого отходит по дендриту, ориентированному преимущественно в ростокаудальном направлении. Плоские нейроны локализованы в центральной части пластины и характеризуются дисковидной формой сомы, от которой отходят мелкие и слабо ветвящиеся дендриты (Lima, Coimbra, 1986; Nagy et al., 1994; Zhang et al., 1996; Zhang, Craig, 1997; Galhardo, Lima, 1999).

На нейронах пластины I сходятся множество афферентной информации, поступающей 1) по Аδ- и С-волокам от мышечных, сухожильных, висцеральных, кожных температурных и болевых рецепторов и 2) по волокнам нисходящих трактов от супраспинальных центров – гипоталамуса и ствола мозга (Heise, Kayalioglu, 2009). Позже с помощью внутриклеточных отведений нейронам каждого морфотипа была найдена своя функция. Так, обработка специфической болевой информации осуществляется клетками веретеновидного типа, полимодальной болевой – клетками мультиполярного типа и температурной – клетками пирамидного типа (Han et al., 1998). Аксоны всех типов нейронов пластины I принимают участие в формировании восходящих трактов, направленных в таламус, средний мозг и ретикулярную формацию (Willis, Coggeshall, 1991). Такие нейроны относятся к классу пучковых, но в пластине I выявлены также и более мелкие по размерам вставочные нейроны, аксоны которых не выходят за пределы серого вещества (Ghamdi et al., 2009).

**Пластина II**, локализованная вентральнее пластины I, имеет вид узкой полосы, идущей от медиальной границы дорзального рога вдоль его кривизны, резко загибаясь вниз у латеральной границы (Rexed, 1954; Brown, 1981). Данная пластина описана L Rolando в 1824 году как желатинозная субстанция (Cramer,

Darby, 2013). Такое название она получила за счет полного отсутствия в ней миелинизированных аксонов и большого количества мелких нейронов и их отростков, что в совокупности придает данной области желатинозный вид (Willis, Coggeshall, 1991). У многих видов млекопитающих, но не у человека, пластина II состоит из внешней дорзальной (IIo) и внутренней вентральной (Ii) зон (Schoenen, Faull, 2004; Heise, Kayalioglu, 2009). Данные зоны отличаются по ширине и плотности нейронов, так, внешняя занимает четверть от пластины и состоит из более плотно расположенных друг к другу клеток (Molander et al., 1984).

Все нервные клетки пластины II представлены интернейронами, среди которых выделяют два основных морфотипа (Willis, Coggeshall, 1991; Nógrádi, Vrbová, 2006; Cramer, Darby, 2013). Первый тип представлен стеблевидными мелкими нейронами, локализованными ближе к дорзальной поверхности пластины. Типичным для клеток данного типа является униполярное отхождение дендритов в вентральном направлении к пластине III, реже – в rostroкаудальном вдоль дорзальной границы серого вещества. Дендриты отличаются наличием множества шипиков. Аксон, как правило, отходит латерально и направлен в пластину I. Второй тип представлен островковыми нейронами, диффузно раскиданными внутри пластины. Дендритное дерево данных клеток имеет характерное rostroкаудальное направление и возвратную ориентацию отдельных отростков. Дендриты характеризуются малым числом шипиков. Аксоны ориентированы в rostroкаудальном направлении и заканчиваются либо внутри пластины II, либо, выходя за ее границы, на нейронах пластины III (Gobel, 1975, 1978; Todd, Lewis, 1986).

Интернейроны пластины II обеспечивают модуляцию болевых, тактильных и температурных сигналов (Heise, Kayalioglu, 2009), поступающих от кожи по афферентным A $\delta$ - и C-волокам (Bernardi et al., 1995). При этом островковые клетки выступают тормозными, а стеблевидные – возбуждающими нейронами (Gobel, 1978; Todd, McKenzie, 1989). Позже на основе морфологических и физиологических данных классификация нейронов

пластины II была несколько расширена и дополнена, выделив четыре типа нейронов: островковые, центральные, радиальные и вертикальные (Grudt, Perl, 2002; Todd, 2010; Yasaka et al., 2010).

**Пластина III** представлена широкой полосой серого вещества, лежащей параллельно более дорзальным пластинам I и II (Brown, 1981), и отличима от пластины II меньшей плотностью нейронов, более крупным их размером и наличием миелинизированных волокон (Maxwell et al., 1983; Molander et al., 1984; Baseer, 2014).

Нервные клетки пластины III в большей степени представлены вставочными и в значительно меньшей – пучковыми нейронами (Maxwell et al., 1983; Cramer, Darby, 2013). Вся совокупность данных клеток представлена двумя морфотипами нейронов мелких и средних размеров. Клетки первого типа отличаются дендритами, ориентированным в rostrocaudальном направлении, не выходящим за пределы пластины III. Дендриты нейронов второго типа ориентированы в dorsoventральном направлении и тянутся в пластины I, II и IV (Mannen, Sugiura, 1976; Maxwell et al., 1983).

Большинство клеток представленных морфотипов имеют аксоны, не выходящие за пределы серого вещества и заканчивающиеся в пластинах дорзального рога (Beal et al., 1988; Maxwell et al., 1983). Значительно меньшая часть нейронов участвует в формировании спиноцервикального тракта и дорзального канатика (Brown, 1982). Рядом авторов выявлены нервные клетки пластины III, чьи аксоны участвуют в образовании спиноталамического и спиноретикулярного трактов (Villanueva et al., 1991; Kayalioglu et al., 1999).

В пластину III в большей степени приходят афферентные A $\beta$ -волокна от тактильных рецепторов кожи и в меньшей A $\delta$ -волокна от рецепторов волосяного фолликула (Willis, Coggeshall, 1991).

**Пластина IV**, представленная в виде широкой полосы серого вещества, лежит в основании головки дорзального рога и ограничена с медиальной стороны белым веществом, а с латеральной – резко загибающейся пластиной III (Brown, 1981; Heise, Kayalioglu, 2009). Отличается значительной



вариабельностью размеров нейронов, в том числе наличием крупных, меньшей плотностью их расположения и большим числом миелинизированных нервных волокон (Brown, 1981; Schoenen, Faull, 2004).

Большая часть нервных клеток пластины IV представлена вставочными нейронами, меньшая – пучковыми (Cramer, Darby, 2013). Несмотря на большое разнообразие нейронов по размерам, все они имеют дендриты с антенно-подобным типом ветвления, ориентированные в дорзальные пластины II-III, реже – пластину I (Szentágothai, Réthelyi, 1973). Аксоны некоторых нейронов участвуют в формировании спиноцервикального, спиноталамического и спинно-мозжечкового трактов (Edgley, Gallimore, 1988; Nieuwenhuys et al., 1998; Nógrádi, Vrbová, 2006).

В пластину IV приходят афферентные A $\beta$ -волокна от механорецепторов кожи (Cramer, Darby, 2013). За счет формирования аксон-дендрических синапсов в пластинах II и III, нейроны пластины IV отвечают также на достаточно обширный диапазон болевых стимулов (Heise, Kayalioglu, 2009).

**Пластина V** соответствует положению шейки дорзального рога (Brown, 1981) и состоит из медальной и латеральной части (Rexed, 1954). Отличительной особенностью данной пластины является множество миелинизированных волокон, которые формируют ретикулярный вид латеральной области, в связи с чем она не имеет четкой границы с прилегающим белым веществом (Willis, Coggeshall, 1991; Nógrádi, Vrbová, 2006).

Пластина V характеризуется наличием пучковых, проприоспинальных и вставочных нейронов (Cramer, Darby, 2013). В медиальной части пластины локализованы плотно расположенные средние по размеру нейроны веретеновидной или треугольной формы. В латеральной, напротив, преобладают более крупные и менее плотно лежащие мультиполярные клетки (Schoenen, Faull, 2004).

Все типы нейронов характеризуются наличием дендритов, ориентированных преимущественно в дорзовентральном направлении и достигающих пластин II-III и VI-VII (Heise, Kayalioglu, 2009). Большинство

пучковых нейронов, чьи аксоны участвуют в образовании спиноталамического и спиноцервикального трактов (Willis, Coggeshall, 1991), локализовано в медиальной части пластины (Molenaar, Kuypers, 1978).

Функционально в пластине выделяют болевые, тактильные и мультирецепторные нейроны (Ritz, Greenspan, 1985). На них в составе миелинизированных волокон Аβ- и Аδ-типа сходится прямая афферентная информация от кожных болевых рецепторов, мышечных веретен и сухожильных органов (Cramer, Darby, 2013).

*Пластина VI* лежит в основании дорзального рога (Rexed, 1954) шейных, поясничных и крестцовых сегментов спинного мозга (Willis, Coggeshall, 1991). Представляет собой наиболее толстую пластину дорзального рога (Rexed, 1954), отличимую от соседних более плотным расположением нейронов (Molander et al., 1989).

В пластине VI, так же, как и в пластине V, выделяют медиальную и латеральную зоны (Brown, 1981). Медиальная часть занимает одну треть от пластины (Heise, Kayalioglu, 2009) и состоит преимущественно из мелких и средних клеток веретенообразной формы, лежащих относительно компактными группами (Rexed, 1954; Brown, 1981). Латеральная часть состоит из более крупных нейронов, имеющих треугольную или звездчатую форму (Rexed, 1954; Willis, Coggeshall, 1991). Данные клетки представлены по большей части вставочными и проприоспинальными нейронами и в значительно меньшей – пучковыми (Cramer, Darby, 2013).

Дендриты всех представленных типов нейронов по большей части ориентированы в дорзовентральном и медиолатеральном направлении (Scheibel, Scheibel, 1968) и достигают пластин IV-V и VII (Brown, 1981). Аксоны проприоспинальных и вставочных нейронов также оканчиваются в пластинах IV, V, VI и VII (Willis, Coggeshall, 1991). Значительно меньшая часть нейронов участвует в формировании спиноцервикального, спиноталамического, спинно-мозжечкового и спиноретикулярного трактов (Villanueva et al., 1991; Willis, Coggeshall, 1991; Heise, Kayalioglu, 2009).

Посредством нисходящих руброспинального и кортикоспинального трактов в пластину VI поступает супраспинальная афферентная информация (Tredict et al., 1985), тем самым определяя ее участие в реализации рефлекторной деятельности (Heise, Kayalioglu, 2009).

**Пластина VII**, достаточно вариабельная в размерах в зависимости от сегмента (Rexed, 1954), по своей локализации соответствует крупной промежуточной части серого вещества (Nógrádi, Vrbová, 2006). С медиальной стороны ограничена пластиной X, с дорзальной – пластиной VI, с вентральной – пластиной VIII и с латеральной – белым веществом. В грудном отделе включает в себя боковые рога (Standring, 2016). В шейном и поясничном утолщениях пластина VII увеличена в вентролатеральном направлении и, проходя между пластинами VIII и IX, достигает границы вентрального рога (Rexed, 1954).

Пластина VII содержит в себе пучковые, проприоспинальные и вставочные нейроны, представленные средними по размеру клетками треугольной и веретенообразной формы (Heise, Kayalioglu, 2009) и крупными клетками звездчатой формы (Rexed, 1954; Molander et al., 1984).

Дендриты представленных морфотипов нейронов имеют слабое ветвление (Matsushita, 1970) и ориентацию преимущественно в медиолатеральном направлении (Heise, Kayalioglu, 2009).

Аксоны части клеток заканчиваются на мотонейронах пластины IX, другие участвуют в формировании связей с супраспинальными структурами, а именно амигдалой и гипоталамусом (Menétrey, De Pommery, 1991), мозжечком (Matsushita, 1999), парабрахияльным ядром моста (Kitamura et al., 1993), околосредством серым веществом покрышки среднего мозга (Liu, 1983; Keay, Bandler, 1993) и ретикулярной формацией продолговатого мозга (Chaouch et al., 1983). Нейроны средней части пластины представлены вставочными и проприоспинальными нейронами, которые обеспечивают связь с соседними пластинами и сегментами. На вентральной границе пластины локализованы тормозные интернейроны – клетки Реншоу (Cramer, Darby, 2013).

В медиальную часть пластины VII приходят прямые афференты от проприорецепторов (Heise, Kayalioglu, 2009; Cramer, Darby, 2013). Латеральная часть (за исключением боковых рогов в грудном отделе) вовлечена в процессы регуляции за позой и локомоцией. Сюда же приходят супраспинальные афферентные импульсы от среднего мозга и мозжечка (Cramer, Darby, 2013). В грудном отделе к нейронам боковых рогов сходится афферентная висцеральная информация (Kuo et al., 1983; Morgan et al., 1986).

Нейроны пластины VII участвуют в регуляции деятельности мотонейронов. Через них проходит большая часть нисходящей информации, направленной к мотонейронам (Heise, Kayalioglu, 2009).

*Пластина VIII* значительно варьирует по размеру и форме в зависимости от сегмента спинного мозга (Heise, Kayalioglu, 2009). В шейном и поясничном утолщениях она занимает лишь медиальную часть вентрального рога, в остальных отделах – большую его часть от медиальной до латеральной границы серого вещества (Rexed, 1954; Molander et al., 1984).

Пластина VIII содержит множество разнообразных по своей форме и размерам нейронов (Molander et al., 1984; Heise, Kayalioglu, 2009), некоторые крупные клетки трудноотличимы от мотонейронов пластины IX (Schoenen, Faull, 2004). Большая их часть представлена проприоспинальными и вставочными нейронами, значительно меньшая – пучковыми (Cramer, Darby, 2013).

Дендриты большинства нервных клеток, ориентированы в дорзомедиальном направлении (Sterling, Kuypers, 1968). Дорзально направленные отростки идут в пластину VII или к вентральной комиссуре серого вещества в области пластины X, где могут ее пересекать и заканчиваться на контралатеральной стороне спинного мозга (Matsushita, 1970; Schoenen, Faull, 2004). Вентрально отходящие от клетки дендриты ориентированы к вентромедиальной границе рога (Schoenen, Faull, 2004). Ряд авторов отмечают также у некоторых нейронов пластины VIII продольное направление дендритов (Matsushita, 1970; Dekker et al., 1973).

Большинство нейронов пластины VIII относят к комиссуральным, так как их аксоны проецируются в пластины VII, VIII и IX контралатеральной половины спинного мозга (Matsushita, 1970; Harrison et al., 1986). Аксоны некоторых клеток направлены к  $\gamma$ - или  $\alpha$ -мотонейронам (Cramer, Darby, 2013). Также здесь локализованы проприоспинальные нейроны, аксоны которых идут в составе восходящих и нисходящих пучков белого вещества и заканчиваются в пластинках V, VI и VII серого вещества соседних сегментов. Таким образом реализованы длинные проприоспинальные связи между шейным и поясничным отделом спинного мозга (Heise, Kayalioglu, 2009). Также в пластине VIII представлены пучковые нейроны, аксоны которых в составе восходящих путей идут в околотоводопроводное серое вещество покрышки среднего мозга (Kayalioglu et al., 1996, 1999), ретикулярную формацию продолговатого мозга (Chaouch et al., 1983; Villanueva et al., 1991), таламус (Craig et al., 1989), мозжечок (Matsushita et al., 1979) и верхние холмы (Morrell, Pfaff, 1983).

На нейронах пластины VIII заканчиваются аксоны проприоспинальных нейронов соседних пластин и контралатеральной пластины VIII (Sterling, Kuypers, 1968; Matsushita, 1969; Cramer, Darby, 2013), а также вестибуло- и ретикулоспинальные волокна (Schoenen, Faull, 2004).

Таким образом, благодаря множественным комиссуральным и проприоспинальным связям и возможности взаимодействовать с мотонейронами, нейроны пластины VIII обеспечивают координацию локомоторной активности между левой и правой, передними и задними конечностями (Heise, Kayalioglu, 2009).

**Пластина IX** находится в основании вентрального рога и соответствует положению мотонейронных пулов, локализация и выраженность которых существенно варьирует в зависимости от отдела спинного мозга (Brown, 1981; Heise, Kayalioglu, 2009; Cramer, Darby, 2013).

Пластина IX содержит в большей степени моторные и в меньшей – вставочные и проприоспинальные нейроны (Cramer, Darby, 2013; Standring, 2016). Среди моторных нейронов различают три типа:  $\alpha$ ,  $\gamma$  и  $\beta$  (подробнее см.

главу 1.3) (Heise, Kayalioglu, 2009). Дендриты мотонейронов сильно развиты и направлены в дорзовентральном, медиолатеральном и рострокаудальном направлениях (Cook, Woolf, 1985). Особенности их ветвления и направления существенно варьируют в разных ядрах пластины IX (Schoenen, Faull, 2004).

Аксоны мотонейронов, выходя за пределы серого вещества, формируют вентральные корешки спинного мозга (Heise, Kayalioglu, 2009). Аксоны пучковых нейронов участвуют в формировании спинно-мозжечкового тракта (Brown, 1981).

Активность мотонейронов находится под контролем интернейронов Реншоу, реализующих возвратное торможение (Nógrádi, Vrbová, 2006). Кроме того, свое влияние оказывают супраспинальные структуры посредством прямого кортикоспинального и ретикулоспинального путей (Standring, 2016).

**Пластина X** представляет собой небольшую область вокруг центрального канала (Molander et al., 1984). В ней различают дорзальную и вентральную комиссуры серого вещества (Standring, 2016).

Данная пластина характеризуется низкой плотностью нейронов и высокой – нейропиля (Schoenen, Faull, 2004). Пластина X состоит из относительно мелких вставочных, пучковых и проприоспинальных нейронов (Schoenen, Faull, 2004; Cramer, Darby, 2013) треугольной, звездчатой и веретенообразной формы (Heise, Kayalioglu, 2009).

В зависимости от особенностей дендритного дерева, в пластине X выделяют два типа клеток (Nógrádi, Vrbová, 2006). Нейроны первого типа расположены более дорзально и имеют билатерально отходящие дендриты, ориентированные в дорзовентральном направлении к пластинам VI и VIII. Клетки второго типа локализованы более вентрально и имеют дендриты направленные рострокаудально (Heise, Kayalioglu, 2009).

Аксоны вставочных нейронов формируют комиссуры с контралатеральной стороной спинного мозга (Heise, Kayalioglu, 2009), аксоны проприоспинальных нейронов формируют связи с клетками пластины X других сегментов (Matsushita, 1998). Аксоны пучковых нейронов обеспечивают проекции в

супраспинальные отделы ЦНС, а именно в ретикулярную формацию продолговатого мозга и моста, околотоводопроводное серое вещество, таламус и гипоталамус (Nahin et al., 1983; Menétrey et al., 1989; Villanueva et al., 1991; Kayalioglu et al., 1999).

В пластине X сходятся информация от болевых рецепторов, поступающая через Ad-волокна, и от висцеральных рецепторов через волокна группы C (Willis, Coggeshall, 1991).

Таким образом, пластина X получает соматические и висцеральные афференты и тем самым участвует в передаче ноцицептивной и висцероцептивной информации, что подтверждается анатомическими и физиологическими исследованиями (Honda, Perl, 1985).

### **1.5 Модели локомоторного центрального генератора паттернов**

Под термином «локомоция» (по Prilutsky, Edwards, 2015) у млекопитающих понимают сложное моторное поведение, связанное с активным перемещением в пространстве и реализуемое в ходе сенсомоторной интеграции на разных уровнях ЦНС. Ключевым звеном в реализации локомоции являются специфические нейронные сети спинного мозга – так называемый центральный генератор паттернов (ЦГП) (Duysens, Crommert, 1998), где под паттерном понимают согласованное последовательное сокращение и расслабление мышц (Балабан, 2013). Термин ЦГП был впервые введен в 60-х годах D.M. Wilson и R.J. Wyman (Wilson, Wyman, 1965), для описания ансамбля интернейронов, совместная работа которых порождает моторную программу (упорядоченную по времени и мишеням выходную импульсную активность), лежащую в основе автоматизированных движений. В некоторых работах такие сети также называют «осцилляторами» (Stuart, 2007). Осцилляторы делятся на постоянно (например, дыхательный генератор) и эпизодически действующие (например, локомоция, жевание, глотание) (Arshavsky et al., 2016). В спинном мозге выделяют несколько ЦГП (чесательный, мочеиспускательный, эякуляционный)

(Guertin, Steuer, 2009), в том числе и локомоторный, передача паттернов возбуждения которого на мотонейроны обеспечивает двигательную активность мышц (Guertin, 2013).

Первые предпосылки для формированию представлений об устройстве локомоторного ЦГП были в работах С.S. Sherrington, в которых он показал способность спинальных кошек и собак после небольшого периода спинального шока выдавать ходьбу задних конечностей, похожую на нормальную, но ошибочно объяснял ее рефлекторными механизмами, запускаемыми проприорецепторами (Sherrington, 1910). Согласно представлениям С.S. Sherrington, автоматическая локомоция реализуется за счет циклического движения импульсной активности по классической рефлекторной дуге (рис. 2). При раздражении проприорецепторов мышц конечностей (например, сгибателей) возбуждение через афферентные пути поступает на интернейроны спинного мозга, которые, в свою очередь, активируют мотонейроны антагонистичных мышц (разгибателей). При сокращении данных мышц происходит возбуждение их проприорецепторов и проведение импульсной активности по рефлекторной дуге до мышц антагонистов (сгибателей), в результате чего движение импульсов зацикливается.

Позже эксперименты С.S. Sherrington были модифицированы Т.G. Brown (Brown, 1911, 1913), в которых он перерезал дорзальные корешки спинальным животным или с помощью наркоза блокировал входы от проприо- и экстерорецепторов, при этом паттерн моторной активности задних конечностей не изменялся. На основе этих данных Т.G. Brown предположил, что локомоторная активность обеспечивается внутренними структурами спинного мозга и для объяснения механизма работы данных структур предложил модель «*полуцентров*» («*half-center*») (Brown, 1914). Согласно данной модели (рис. 3), движения любой конечности находятся под контролем отдельного центра, каждый из которых образован двумя группами возбуждающих интернейронов (полуцентров), имеющих прямые связи с «разгибательными» и «сгибательными» мотонейронами, соответственно. При этом взаимные тормозные (реципрокные)



связи между полуцентрами обеспечивают возможность активности в каждый момент времени только одного из них. Постепенно активный полуцентр «утомляется» (данный механизм на тот момент не был выявлен и объяснен), что приводит к снижению его возбудимости до критического уровня, вследствие чего противоположный полуцентр освобождается от тормозного влияния и мгновенно активируется (McCrea, Rybak, 2008).

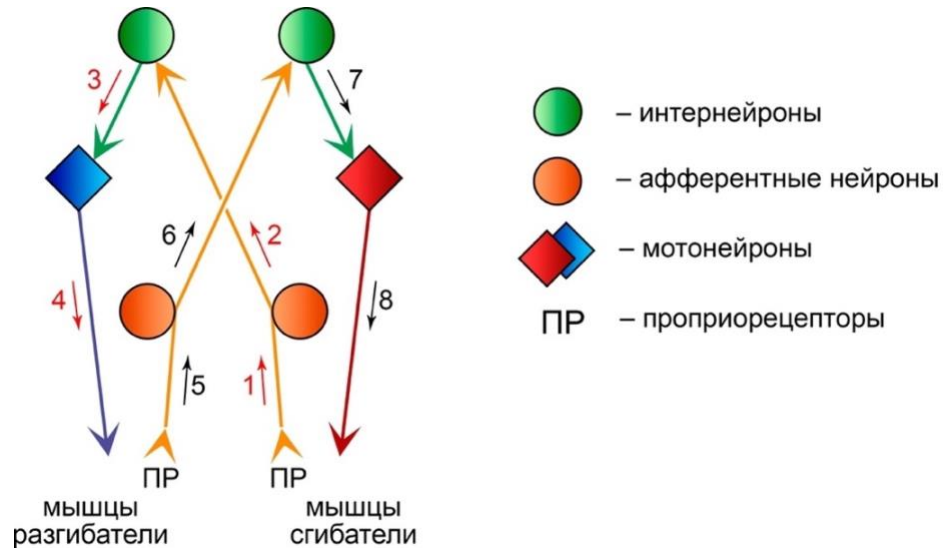


Рисунок 2. Схема реализации автоматической локомоции по C.S. Sherrington (1910). Красными и черными стрелками с номерами обозначено направление циркулирующего возбуждения по рефлекторной дуге спинного мозга. Подробнее в тексте.

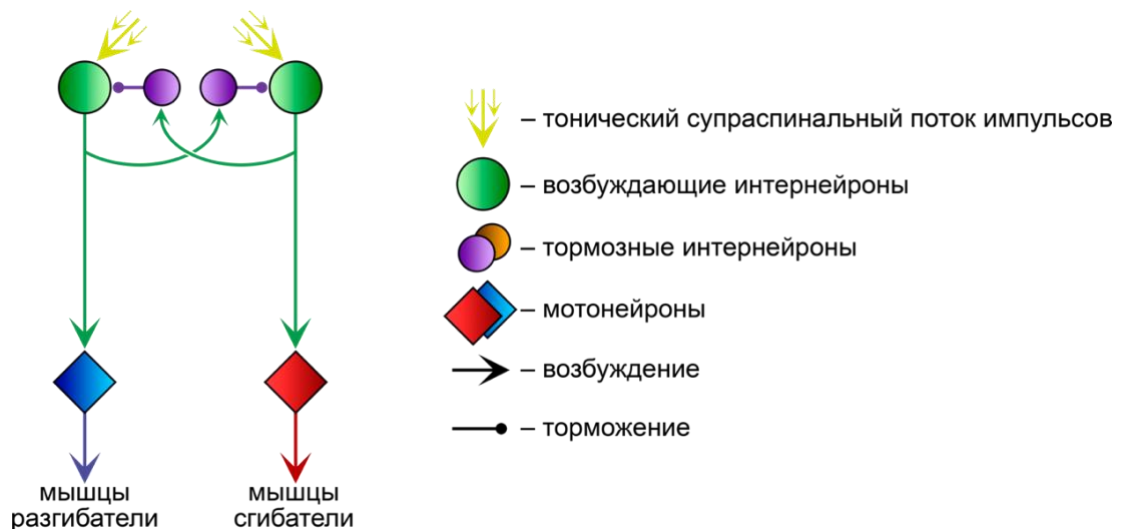


Рисунок 3. Схематичная «half-center» модель работы локомоторного ЦПП по T.G. Brown (1914) (адаптировано из Grillner, 1975).

Позже данная идея получила развитие в экспериментах E. Jankowska и A. Lundberg (Jankowska et al., 1967 а, б), с использованием на спинальных кошках предшественника катехоламинов дигидроксифенилаланина. Авторы установили, что после внутривенного введения дигидроксифенилаланина, афферентная стимуляция сгибательного рефлекса вызывает поздние длительные разряды в ипсилатеральных сгибательных и контралатеральных разгибательных мотонейронах, сопровождаемые реципрокным торможением между двумя выявленными в латеральной части промежуточного вещества группами интернейронов. В связи с особенностями активации регистрируемых интернейронов, авторы предположили, что данные клетки могут являться паттерн-образующими элементами модели «полуцентров» T.G. Brown.

Благодаря выше представленным работам существование в спинном мозге локомоторного ЦГП на сегодняшний день не вызывает сомнений (MacKay-Lyons, 2002), однако, описывающая ее модель «полуцентров» в первоначальном своем виде впоследствии подверглась критике. К основным замечаниям относят необходимость постулирования процесса «утомления» в активном полуцентре (Шик, 1976; Miller, Scott, 1977), невозможность объяснения фактов коактивации некоторых мышц-антагонистов (Gurfinkel, Shik, 1973; Rossignol, 1996), существование нормального чередования всплеск импульсной активности в мотонейронах антагонистах при блокировке работы тормозных интернейронов (McCrea, Rybak, 2008); невозможность объяснения делеций – спонтанных «выпадений» активности отдельных мышц (McCrea, Rybak, 2008).

Учитывая проблемы первичной модели T.G. Brown, впоследствии были разработаны более сложные концепции организации ЦГП. Одной из таких стала модель «кольца» («ring»), предложенная венгерским ученым G. Székely в 1965 году и развитая им в соавторстве с U. Kling в 1968 (рис. 4) (Kling, Székely, 1968; Gurfinkel, Shik, 1973). Модель представляет собой зацикленную цепь из тормозных интернейронов, получающих тонический возбуждающий приток импульсов. При поступлении возбуждения на кольцевой интернейрон, он через терминали аксонов обеспечивает торможение связанных с ним мотонейрона и

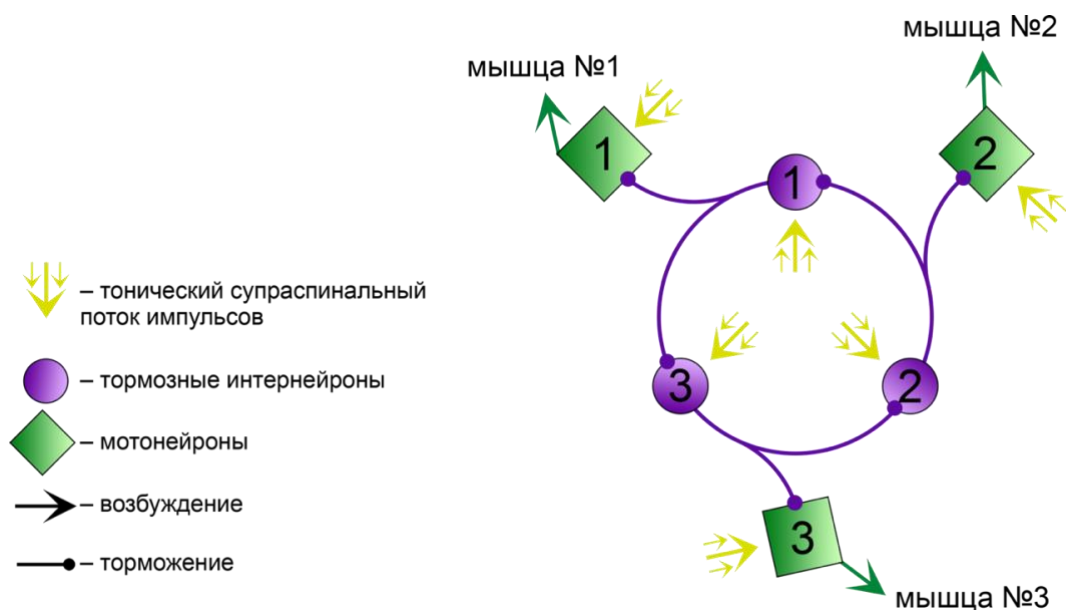


Рисунок 4. Схематичная «ring» модель работы локомоторного ЦПП по G. Székely (1965) (адаптировано из Шик, 1976). Пояснения в тексте.

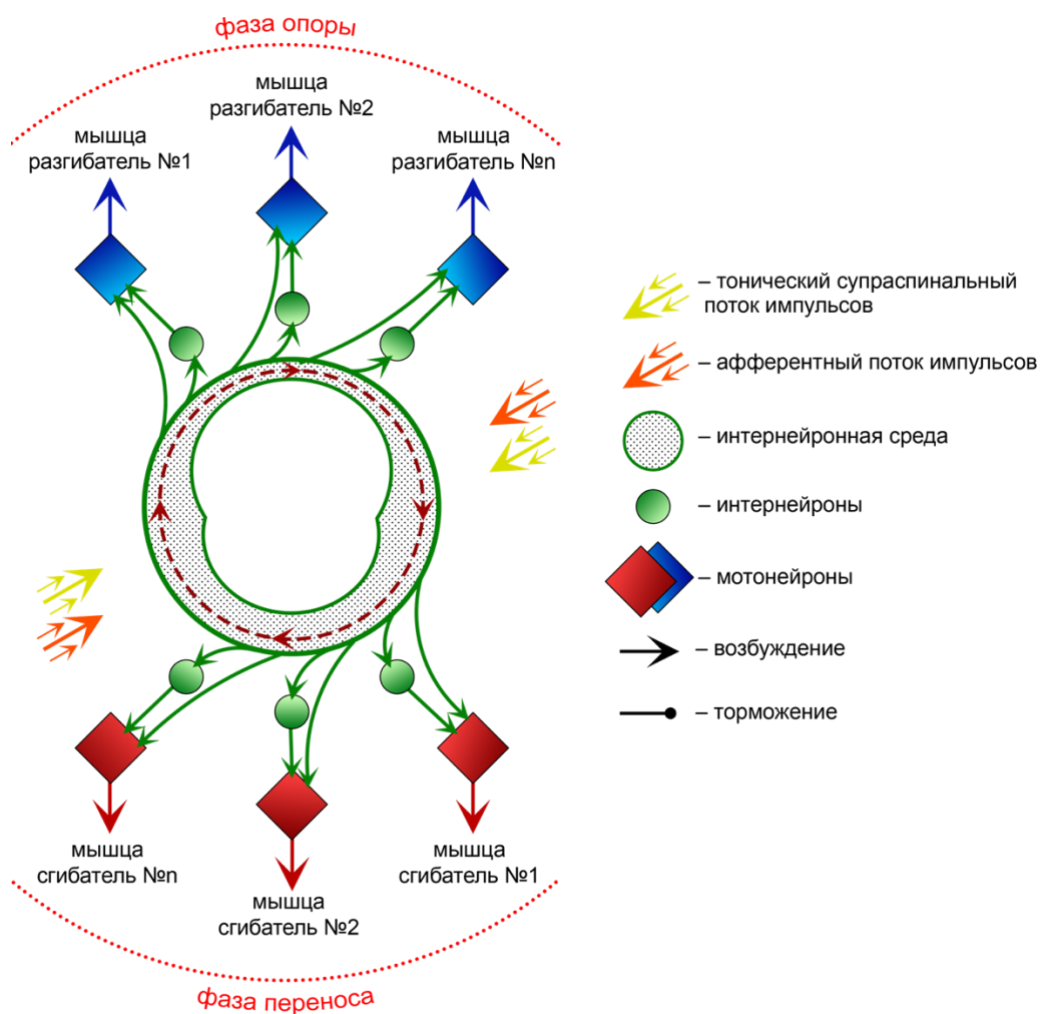


Рисунок 5. Модель многоядного многослойного кольца по V.S. Gurfinkel, M.L. Shik (1973) (адаптировано из Шик, 1976). Пояснения в тексте.

соседнего интернейрона. Заторможенный интернейрон, в свою очередь, высвобождает от своего влияния тонически возбуждаемый мотонейрон и следующий кольцевой интернейрон. Последовательность передачи возбуждения по сформированным проекциям определяет нормальный порядок активации мышц конечности в ходе локомоторного цикла (Шик, 1976).

В своей работе 1973 года советские физиологи В.С. Гурфинкель и М.Л. Шик отмечают, что кольцевая модель G. Székely не способна объяснить непропорциональное изменение длительности фаз опоры и переноса (подробнее см. главу 2.3) при изменении скорости локомоции, и предлагают свою модель *«многорядного многослойного кольца»*, лишенную данного недостатка (Gurfinkel, Shik, 1973). Согласно данной модели, локомоция реализуется за счет поочередного включения мышц, которое имеет циклический характер (рис. 5). Запуск соответствующих мотонейронов осуществляется напрямую или через интернейроны. В отличие от представлений G. Székely, в данной модели кольцо состоит не из отдельных интернейронов, а скорее из их множеств, формирующих слои (интернейронная среда). Все характеристики и особенности локомоции объясняются взаимодействием нейронов внутри слоя и между слоями. Так, чем больше число возбужденных клеток в слое, тем меньше время (из-за пространственной суммации) потребуется для активации следующего слоя. Если возбуждение слоя не произошло – цикл прекращается. Среднее число активных нейронов регулируется нисходящим тоническим притоком. При этом авторы отмечают, что «многорядное кольцо» не является генератором автономным от афферентного притока. Кроме того, модель «многорядного кольца» совместима с механизмом реципрокности, но отводит ему вспомогательную роль (Шик, 1976). Согласно авторам, модель «полуцентров» T.G. Brown, является лишь частным случаем модели «многорядного многослойного кольца». В дальнейшем данная концепция своего развития в научном сообществе не получила (Guertin, 2009).

В 80-е годы XX века К. Pearson с коллегами представили асимметричную модель устройства локомоторного ЦПП под названием *«flexor burst generator»*

(генератор паттерна для сгибателей) или «*swing generator*» (генератор фазы переноса): сначала для таракана (Pearson et al., 1973), а затем и для кошки (Pearson, Duysens, 1976). Данная модель не является автономной от афферентного потока импульсов и была предложена на основе данных по исследованию механизмов инициации перехода от фазы опоры (обеспечиваемой в основном мышцами сгибателями) к фазе переноса (обеспечиваемой в основном мышцами разгибателями) (подробнее см. главу 2.3). Авторы выделяют два механизма данного перехода: 1) активность в рецепторах, сигнализирующих о положении конечности, в точке перехода вызывает переключение фазы опоры на перенос (участвуют рецепторы бедра по Grillner, 1981); 2) по мере разгибания конечности груз, переносимый ею, уменьшается, тем самым снижается активность в рецепторах (вероятно, сухожильные рецепторы Гольджи и афференты группы III по Grillner, 1981), детектирующих нагрузку, вызывая инициацию фазы переноса.

Асимметричность данной модели объясняется существованием генератора пачек импульсов только для мотонейронов мышц сгибателей (рис. 6). Мотонейроны мышц разгибателей тонически возбуждаются потоком супраспинальных импульсов без какого-либо ритма. Торможение данных «разгибательных» мотонейронов обеспечивается тормозными интернейронами, на которых заканчиваются проекции сгибательного генератора, тем самым, обеспечивая реципрокное взаимодействие между антагонистичными мотонейронами.

Авторы выделяют три основных пункта, на основе которых строят свою модель работы локомоторных сетей:

1. Существует четкая асимметрия в циклической природе движений конечностей: длительность фазы переноса относительно постоянная, а фаза опоры варьирует в зависимости от скорости ходьбы. Эта асимметрия отражает асимметрию в центральной организации, поскольку после деафферентации время локомоторного цикла меняется, при этом длительность «сгибательных» разрядов остается относительно постоянной.

2. У таракана при деафферентации в мотонейронах наблюдается «сгибательная» импульсная активность при отсутствии «разгибательной», но наоборот – никогда. При определенных условиях тоже самое наблюдается и у кошки.

3. Основой для объяснения того, что «разгибательная» импульсная активность возникает в результате освобождения от тормозного влияния, является факт активации «разгибательных» мотонейронов сразу после импульсной активности в «сгибательных» мотонейронах, но обратное никогда не наблюдается. Подобный феномен был получен и при деафферентации кошек.

Позже К. Pearson пересмотрел свои взгляды по поводу такой радикальной асимметрии в ЦГП (Pearson, 1995). Это связано с развитием представлений о механизмах взаимодействия локомоторных сетей с проприоцептивной системой. Однако, свое развитие идеи асимметричной структуры ЦГП нашли в некоторых моделях двухуровневой организации локомоторного генератора (см. ниже) (Brownstone, Wilson, 2008).

Афферентный вход оказывает существенное влияние на локомоторный паттерн (Grillner, Wallen, 1985), однако известно, что спинной мозг способен генерировать специфические виды мотонейронной активности и при отсутствии сенсорного ответа (Brown, 1911; Székely et al., 1969; Grillner, Zangger, 1979, 1984). Данный принцип отражен в модульной «*unit burst generator*» модели ЦГП, предложенной шведским физиологом S. Grillner в 1981 году (рис. 7) (Grillner, 1981). Согласно данной концепции, в ЦГП каждой конечности отдельные модули интернейронов (единицы, генерирующие импульсы) обеспечивают активность конкретной группы мотонейронов, иннервирующих близкие мышцы синергисты (например, все сгибатели бедра). Моторный паттерн реализуется за счет стабильной активности (процессов торможения/возбуждения) между данными единицами, при этом изменение режима взаимодействия между отдельными модулями, контролируемое супраспинальными входами, опосредует специфику локомоции (Grillner, 2006).

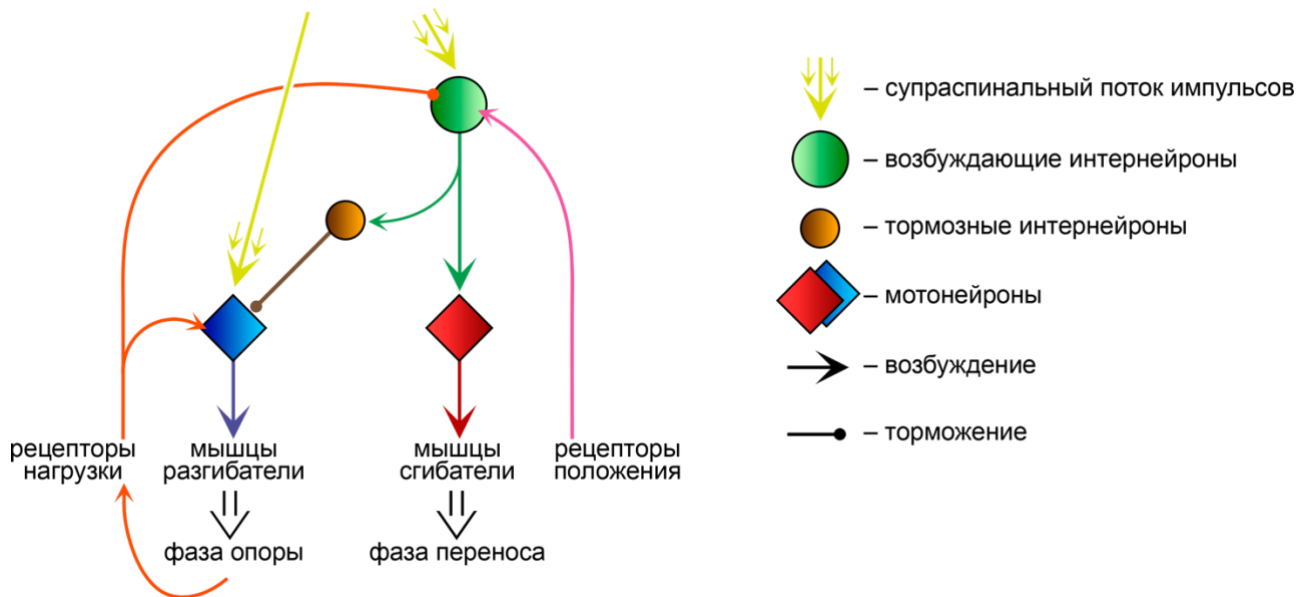


Рисунок 6. Схематичная «asymmetric flexor burst generator» модель работы локомоторного ЦПП по K.G. Pearson и J. Duysens (1976) (адаптировано из Pearson, Duysens, 1976). Пояснения в тексте.

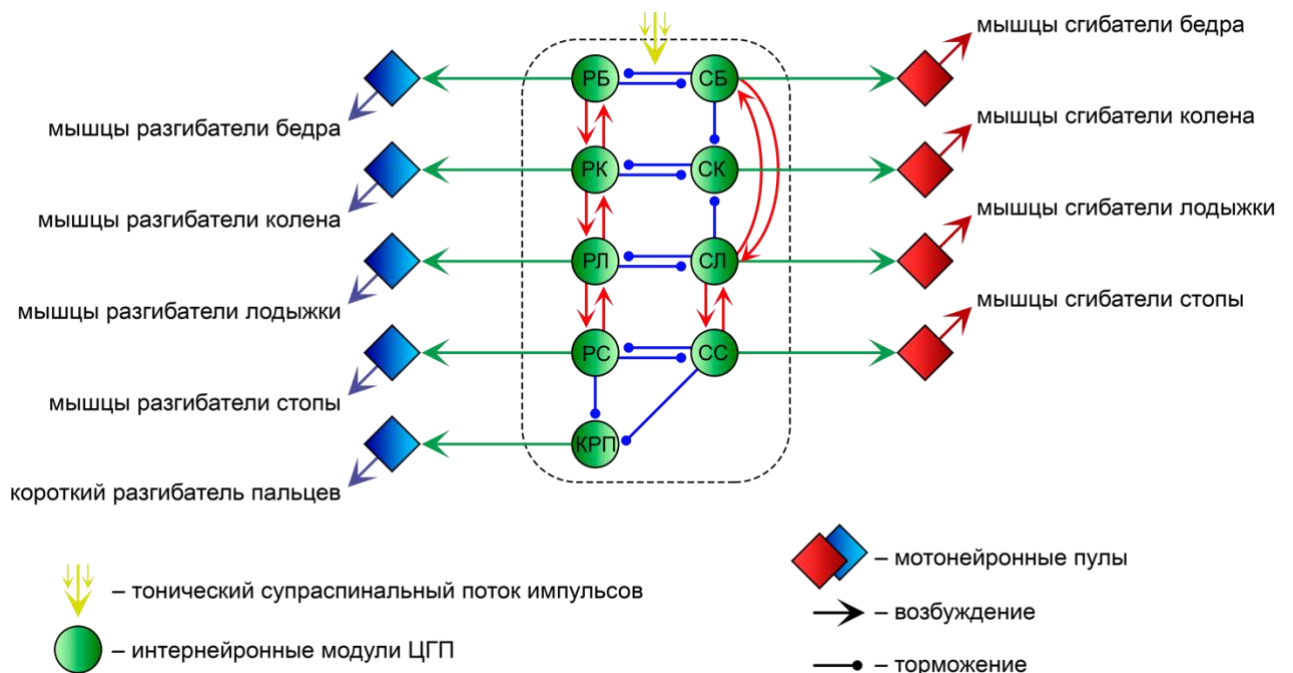


Рисунок 7. Схематичная «unit burst generator» модель устройства локомоторного ЦПП по S. Grillner (1981) (адаптировано из Grillner, 2006). Интернейронные модули ЦПП: РБ – разгибателя бедра, РК – разгибателя колена, РЛ – разгибателя лодыжки, РС – разгибателя стопы; КРП – короткого разгибателя пальцев; СБ – сгибателя бедра; СК – сгибателя колена; СЛ – сгибателя лодыжки; СС – сгибателя стопы. Пояснения в тексте.

Авторы отмечают, что данная модель способна объяснить разные виды локомоторных движений, в том числе ходьбу вперед, назад, вбок, рысь, галоп.

Все представленные модели локомоторного ЦГП предполагают, что интернейроны, образующие их, отвечают как за ритмогенез (тайминг), так и за паттерн-образование (активацию мотонейронов) (Lafreniere-Roula, McCrea, 2005). Принцип функционального разделения ЦГП был впервые предложен в работе 1994 года D. Kriellaars с соавторами для объяснения того, каким образом сенсорная стимуляция может менять время локомоторного цикла при сохранении того же уровня активности мотонейронов. Позже свое развитие данная концепция получила в работах R.E. Burke с соавторами (2001) и M. Lafreniere-Roula и D.A. McCrea (2005) в виде двухуровневой модели организации ЦГП. Наиболее комплексной на данный момент моделью ЦГП является двухуровневая модель («*two-level half-center*») I. Rybak с соавторами (2006 а, б), согласно которой, в каждом полуцентре нейроны первого уровня ответственны за генерацию ритмической активности и формируют прямые контакты с интернейронами второго уровня, которые, в свою очередь, преобразуют первичные ритмы в соответствии с вне- и внутримозговыми модулирующими влияниями (рис. 8). При этом между полуцентрами на всех уровнях наблюдаются реципрокные взаимоотношения. В данной модели также учтено сенсорное влияние, реализуемое посредством афферентных проекций от проприорецепторов моносинаптически оканчивающихся на интернейронах первого и второго уровня и через переключение на мотонейронах.

Таким образом, механизмы локомоторного контроля обеспечиваются принципиально иным способом организации нервных клеток по сравнению с рефлекторными представлениями. Центральное место в этом процессе занимает спинной мозг, в котором локализован свой для каждой конечности ЦГП. Все представленные модели локомоторного ЦГП имеют свои плюсы и минусы, а также точки соприкосновения. Однако, все авторы сходятся на том, что ключевое место в нем занимают интернейроны, генерирующие ритм и паттерн пачек импульсов, сходящихся на мотонейронах.



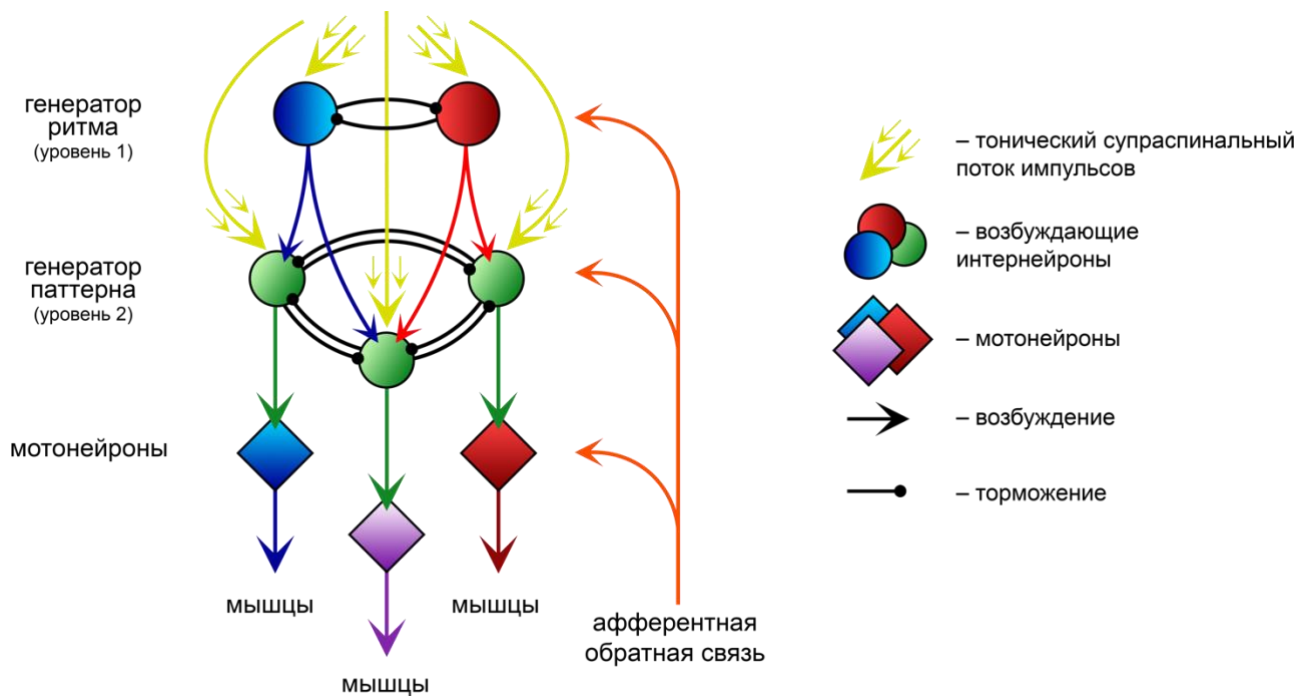


Рисунок 8. Общая концепция «two-level half-center» модели устройства локомоторного ЦПП по I.A. Rybak с соавторами (2006 б) (адаптировано из Rybak et al., 2006 б). Пояснения в тексте.

### 1.6 Кальций-связывающие белки, как маркеры интернейронов в ЦНС

Согласно накопленным данным, локомоторный ЦПП представлен разнородной популяцией интернейронов, отличающихся своими связями, особенностями электрической активности, экспрессией различных медиаторов и т.д. (Guertin, 2009). Эффективным инструментом для изучения разных популяций интернейронов ЦНС является иммуногистохимический метод визуализации кальций-связывающих белков (Fournet et al., 1986; Antal et al., 1990, 1991; Celio, 1990; Ince et al., 1993; Ren et al., 1993; Megías et al., 2003; Anelli, Neckman, 2005; Morona et al., 2006 а, б).

В живой эукариотической клетке ионы кальция выступают в качестве вторичного мессенджера, обеспечивающего регуляцию важнейших внутриклеточных процессов: контроля метаболизма (посредством фосфорилирования/дефосфорилирования ферментов), двигательной активности клетки и элементов ее цитоскелета, секреции различных молекул (экзоцитоз), транскрипции генов, реализации апоптоза (запрограммированной смерти

клетки) и др. (Ikura et al., 2002; Annunziato et al., 2003; Brini et al., 2014; Lai et al., 2017; Denesyuk et al., 2017; Samanta et al., 2018). Особенное значение ионы кальция имеют для нервной системы: они опосредуют передачу сигналов между нейронами с помощью синапсов (Baker, 1972; Chen et al., 2017). Реализация данных функций возможна за счет наличия в клетке множества кальций-связывающих белков, способных к модулированию деятельности ионов кальция (Vaimbridge et al., 1992). Кальций-связывающие белки представляют собой группу гомологичных протеинов, которые имеют молекулярную структуру, обеспечивающую возможность захвата ионов кальция (Andressen et al., 1993).

Наиболее изученным является EF-hand семейство кальций-связывающих белков. Данное семейство в организме человека насчитывает более 240 представителей (Lander et al., 2001). В общей совокупности открыто около 600 представителей данного семейства белков, формирующих 66 подсемейств (Carafoli et al., 2001). Сам EF-hand домен представляет собой аминокислотную последовательность с характерной трехмерной спираль-петля-спираль структурой (Heizmann, Braun, 1992). Участок молекулы из 12 аминокислот, соединяющий две перпендикулярные друг другу  $\alpha$ -спирали (E и F), называется петлей, и именно он обладает высоким сродством с ионами кальция (Schwaller, 2009). Впервые EF-hand домен был выявлен в структуре белка парвальбумина и описан в работе R.H. Kretsinger в 1972 году (Kretsinger, 1972).

Кальций-связывающие белки по-разному экспрессируются в определенных популяциях клеток нервной системы и могут выступать в качестве специфических маркеров функциональных типов нейронов (Celio, 1990; Ren, Ruda, 1994; Hof et al., 1999; Zhang, 2017). Наиболее изученными представителями таких белков в нервной системе являются кальбиндин 28 кДа и парвальбумин (Vaimbridge et al., 1992).

**Кальбиндин 28 кДа** (далее по тексту кальбиндин) представляет собой витамин-D-зависимый белок, впервые выявленный R.H. Wasserman и A.N. Taylor в клетках кишечника цыпленка в 1966 году (Wasserman, Taylor, 1966). В названии белка отражена его способность к связыванию ионов кальция

и молекулярная масса, равная 28 кДа (что отличает его от другого представителя кальций-связывающих белков – кальбиндина 9 кДа) (Schwaller, 2009).

Кальбиндин имеет глобулярную структуру и состоит из шести EF-hand доменов, четыре из которых способны с высокой или средней аффинностью связывать ионы кальция (Hunziker, 1986; Kojetin et al., 2006). В человеческом геноме кальбиндин кодируется геном CALB1 (Parmentier et al., 1991) локализованным в 8 хромосоме (Ritzler et al., 1992), и относится к CLBN подсемейству EF-hand белков (Schwaller, 2014; Kawasaki, Kretsinger, 2017).

Изначально кальбиндин относили к буферным белкам, защищающим клетку от избытка ионов кальция (Andressen et al., 1993). Позже при исследованиях кальций-контролирующих механизмов выявили дополнительные транспортную и сенсорную функции данного белка (Berggård et al., 2002; Lambers et al., 2006).

Кальбиндин выявлен в клетках некоторых органов позвоночных животных: кишечнике (Walters et al., 1993), почках (Armbrecht et al., 1989; Steiner et al., 1996; Sooy et al., 2000), зубах (Magloire et al., 1988), костях (Bellido et al., 2000) и поджелудочной железе (Rabinovich et al., 2001), однако, наиболее широко белок представлен в центральной и периферической нервной системе: разных отделах коры головного мозга (Demeulemeester et al., 1989; Wallace et al., 1991; DeFelipe, Jones, 1992), обонятельных луковицах (Brinon et al., 1992), гипоталамусе (Tousson, 2009), гиппокампе (Sloviter, 1989; Tóth, Freund, 1992), мозжечке (Winsky, Kuznicki, 1995), таламусе (Arai et al., 1994; Münkle et al., 2000; Jones, 2001), спинном мозге (Ren, Ruda, 1994; Anelli, Heckman, 2005; Floyd et al., 2018) и чувствительных ганглиях (Philippe, Drow, 1988; Carr et al., 1989 а, б; Antal et al., 1990).

Кальбиндин экспрессируется преимущественно в клетках Гольджи первого типа, характеризующихся длинными аксонами (Ince et al., 1993). Примерами таких клеток являются таламические проекционные нейроны (Rausell et al., 1992; Jones, 2001), клетки базального ядра Мейнерта (Celio, Norman, 1985), мозжечковые клетки Пуркинье (Scotti, Nitsch, 1992; Bastianelli,

2003; Whitney et al., 2008), крупные спинальные (Philippe, Drow, 1988; Carr et al., 1989 а, б; Antal et al., 1990), ретиальные (Hamano et al., 1990; Pasteels et al., 1990; Pochet et al., 1991; Cuenca et al., 2002; Gu et al., 2016), кохлеарные (Spatz, Lohle, 1995; Liu, Davis, 2014), вестибулярные (Demêmes et al., 1992; Dechesne et al., 1988) и ганглиозные клетки. При этом кальбиндин выявлен также и в клетках Гольджи второго типа, обладающих короткими аксонами (Celio, 1990). К таким клеткам относятся корковые (DeFelipe, 1997) и спинальные (Antal et al., 1990; Anelli, Heckman, 2005; Todd, 2017) интернейроны, в том числе тормозные клетки Реншоу (Carr et al., 1998).

В центральной нервной системе кальбиндин коэкспрессируется с рядом нейромедиаторов и нейромодуляторов. Так, в коре больших полушарий (Demeulemeester et al., 1991; Hendy, Jones, 1991; Kubota et al., 1994; Del Río, DeFelipe, 1996; Gonchar, Burkhalter, 1997; Kawaguchi, Kubota, 1997), мозжечке (Batini, 1990; Bastianelli, 2003) и гиппокампе (Tóth, Freund, 1992) кальбиндин выявлен в некоторых тормозных интернейронах, содержащих гамма-аминомасляную кислоту (ГАМК). Некоторые кальбиндиновые клетки коры больших полушарий и гиппокампа экспрессируют регуляторный пептид соматостатин (Rogers, 1992; Kubota et al., 1994; Kawaguchi, Kubota, 1997). Также в некоторых нейронах коры больших полушарий выявлена колокализация кальбиндина с нейромодулятором нейропептидом Y (Kubota et al., 1994). Некоторые кальбиндиновые клетки в гипоталамусе экспрессируют вазоактивный интерстициальный белок (Rogers, 1992), в таламусе – возбуждающий медиатор глутамат (Palestini et al., 1993).

**Парвальбумин** представляет собой кальций-связывающий белок, аминокислотная последовательность которого была впервые описана С.Е. Nockolds и коллегами в 1972 году (Nockolds et al., 1972). Изначально был обнаружен в мышечных волокнах низших, а затем и высших позвоночных (Moews, Kretsinger, 1975). Свое название парвальбумин получил за малую молекулярную массу (parva – лат. маленький) равную приблизительно 12 кДа и

хорошую растворимость в воде, присущую всем альбуминам (Blum et al., 1977; Schwaller, 2009).

Белок имеет глобулярную структуру и состоит из трех EF-hand доменов, только два из которых обеспечивают связывание ионов кальция (с высокой аффинностью) и магния (с умеренной аффинностью) (Reid, Hodges, 1980; Ulfig, 2002). В человеческом геноме парвальбумин кодируется геном PVALB (Ritzler et al., 1992), локализованным в 22 хромосоме (Berchtold et al., 1987), и относится к PARV подсемейству EF-hand белков (Kawasaki, Kretsinger, 2017).

Из-за наличия конкуренции между ионами кальция и магния за одни те же связывающие участки молекулы, парвальбумин относят в медленным буферным системам (Eggermann, Jonas, 2011). Низкая скорость захвата ионов кальция связана с необходимостью открытия активных участков EF-hand доменов в ходе разрушения их связи с ионами магния (Schwaller, 2009).

Вне нервной системы парвальбумин экспрессируется в большом количестве только в скелетной мускулатуре позвоночных животных (Baron et al., 1975), где участвует в процессах расслабления быстрых мышечных волокон (Heizmann, 1984). В значительно меньшем количестве представлен в других органах: сердце (Vongvatcharanon, Vongvatcharanon, 2003; Day et al., 2008), печени (Lagoudakis et al., 2010), почках (Schneeberger, Heizmann, 1986), эндокринных железах (Endo et al., 1985), зубах и костях (Celio et al., 1984), коже (Rinaldi et al., 1982; Hawley-Nelson et al., 1986) и органах половой системы (Berchtold et al., 1984). В центральной и периферической нервной системе парвальбумин выявлен в различных отделах коры головного мозга, (Ohshima et al., 1991; Runyan et al., 2010; Moore, Wehr, 2013), обонятельных луковицах (Ohm et al., 1990, 1991; Kosaka et al., 1994), гиппокампе (Sloviter, 1989; Braak et al., 1991), мозжечке (Ohshima et al., 1991; Winsky, Kuznicki, 1995), таламусе (Arai et al., 1994; Mönkle et al., 2000; Jones, 2001; Merkulyeva et al., 2018), спинном мозге (Ren, Ruda, 1994; Anelli, Heckman, 2005; Floyd et al., 2018) и чувствительных ганглиях (Carr et al., 1989 а, б; Antal et al., 1990).

Парвальбумин в центральной нервной системе представлен преимущественно в клетках Гольджи второго типа (Ince et al., 1993). К таким клеткам относятся канделябровидные и крупные корзинчатые интернейроны коры больших полушарий (DeFelipe, 1997; Wonders, Anderson, 2006), корзинчатые и звездчатые интернейроны мозжечка (Scotti, Nitsch, 1992; Kosaka et al., 1993), интернейроны гиппокампа (Sloviter, 1989) и спинного мозга (Antal et al., 1990; Anelli, Heckman, 2005; Todd, 2017). Реже парвальбумин экспрессируется в клетках Гольджи первого типа: мозжечковых клетках Пуркинье (Scotti, Nitsch, 1992; Kosaka et al., 1993; Bastianelli, 2003), проекционных нейронах таламуса (Rausell et al., 1992; Jones, 2001), бледного шара (Kita, 1994), черной субстанции (Gerfen et al., 1985) и крупных спинальных (Carr et al., 1989 а, б; Antal et al., 1990), ретинальных (Hamano et al., 1990; Sanna et al., 1990, 1993; Cuenca et al., 2002), кохлеарных (Spatz, Lohle, 1995; Kaur et al., 2017) и вестибулярных (Demêmes et al., 1993) ганглиозных клетках.

В целом, парвальбумин связывают с клетками, обладающими быстрой разрядкой (Kawaguchi et al., 1987; Celio, 1990; Hu et al., 2014) и высоким уровнем метаболизма (Braun et al., 1985; Karmy et al., 1991). Он экспрессируется в ГАМКергических тормозных интернейронах коры больших полушарий (Celio, 1986; Kosaka et al., 1987; Demeulemeester et al., 1991; Hendy, Jones, 1991; Kubota et al., 1994; Gonchar, Burkhalter, 1997), таламуса (Stichel et al., 1988; Palestini et al., 1993; Amadeo et al., 2001), мозжечка (Bastianelli, 2003) и гиппокампа (Kosaka et al., 1987; Katsumaru et al., 1988; Aika et al., 1994). В некоторых ядрах ствола мозга крыс парвальбумин коэкспрессируется также с тормозным медиатором глицином (Aoki et al., 1990).

Таким образом, кальбиндин и парвальбумин экспрессируются многими вставочными и проекционными нейронами и тем самым выступают маркерами непересекающихся или слабо пересекающихся популяций клеток в разных отделах центральной и периферической нервной системы (Arai et al., 1994; Andressen et al., 1993).

## ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

### 2.1. Экспериментальная модель

Исследование проведено на 20 нормально пигментированных беспородных взрослых кошках (табл. 1). Постановка опытов проводилась на острой модели взрослого децеребрированного животного. Все экспериментальные процедуры проводились согласно Директиве Совета Европейского Парламента по защите животных, используемых для экспериментальных и других научных целей (2010/63EU) и с разрешения Комиссии по этике Института физиологии им. И.П. Павлова РАН.

### 2.2. Операция и эпидуральная стимуляция

**Операция.** Все экспериментальные процедуры проводили под общим наркозом (смесь изофлюрана (2-4%) и кислорода). Степень анестезии контролировали в зависимости от реакционной способности зрачков и ответной реакции на механическое давление на кожу лап. Затем интубировали трахею, уровень анестезии поддерживали ингаляционно. Голову, позвоночник и таз фиксировали на жесткой раме стереотаксической установки (рис. 9 А). Посредством трепанации черепа и последующего удаления коры открывали доступ к четверохолмиям среднего мозга, после чего производили перерезку ствола на преколликкулярно-постмамиллярном уровне (рис. 10). При такой децеребрации удаляется источник спонтанной локомоции – субталамическое ядро и сохраняются структуры, обеспечивающие нормальное распределение мышечного тонуса (вестибулярные ядра, красное ядро, черная субстанция) (Carr et al., 1995; Noga et al., 1995; Huang et al., 2000; Dai et al., 2005; Musienko et al., 2007; Duru et al., 2015). Для остановки кровотечения после децеребрации в черепной коробке устанавливали плотную тампонаду. Для последующей эпидуральной стимуляции (ЭС) спинного мозга производили ламинэктомию на уровне 4-5 поясничных позвонков.

Таблица 1. Животные, используемые для картирования спинного мозга и выявления нейронов, иммунопозитивных к c-Fos, кальбиндину и парвальбумину.

	Картирование	c-Fos	Кальбиндин	Парвальбумин
K7		+ (XB1)	+	
K8			+	
K10	+			
K11	+			
K12	+		+	
K14	+			
K15	+	+ (XB2)	+	
K16	+			
K17	+	+ (XB3)		
K18	+		+	
K23	+	+ (XH1)	+	+
K26		+ (XH2)	+	+
K27	+		+	+
K29	+		+	+
K31	+	+ (XH3)	+	+
K32	+			
K35	+			
K36	+			
K37	+			
K38	+			



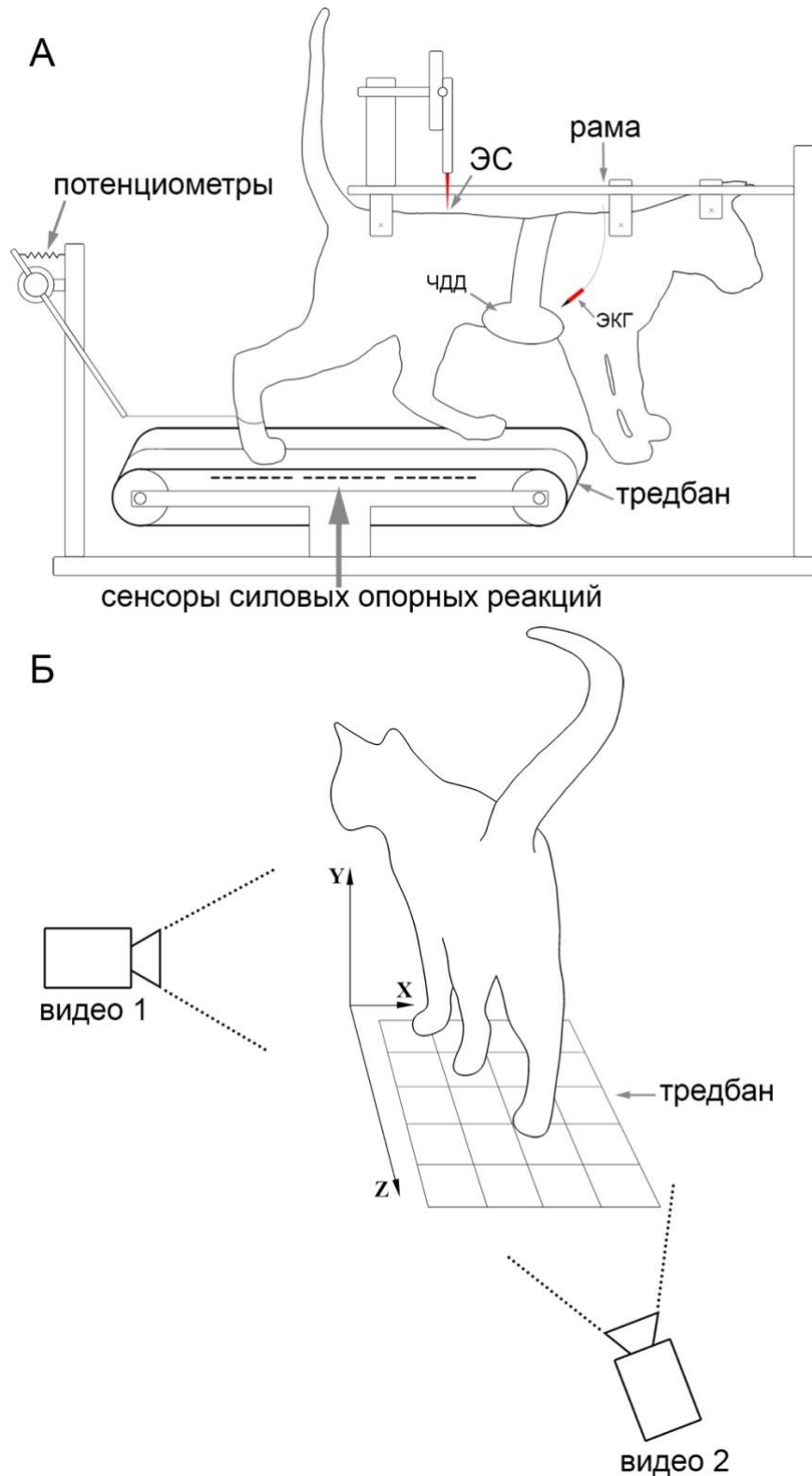


Рисунок 9. Схема экспериментальной установки. (А) Голова, позвоночник и таз закреплены на раме стереотакса. Эпидуральный электрод подведен к дорзальной поверхности спинного мозга. Задние лапы расположены на ленте тредбана, под которой находятся сенсоры силовых нагрузок. Потенциометры прикреплены к лодыжкам задних конечностей. В области груди расположены датчики, снимающие показания частоты дыхательных движений и электрокардиограммы. (Б) Видеокамеры снимают паттерн ходьбы по ленте тредбана сбоку и сзади.

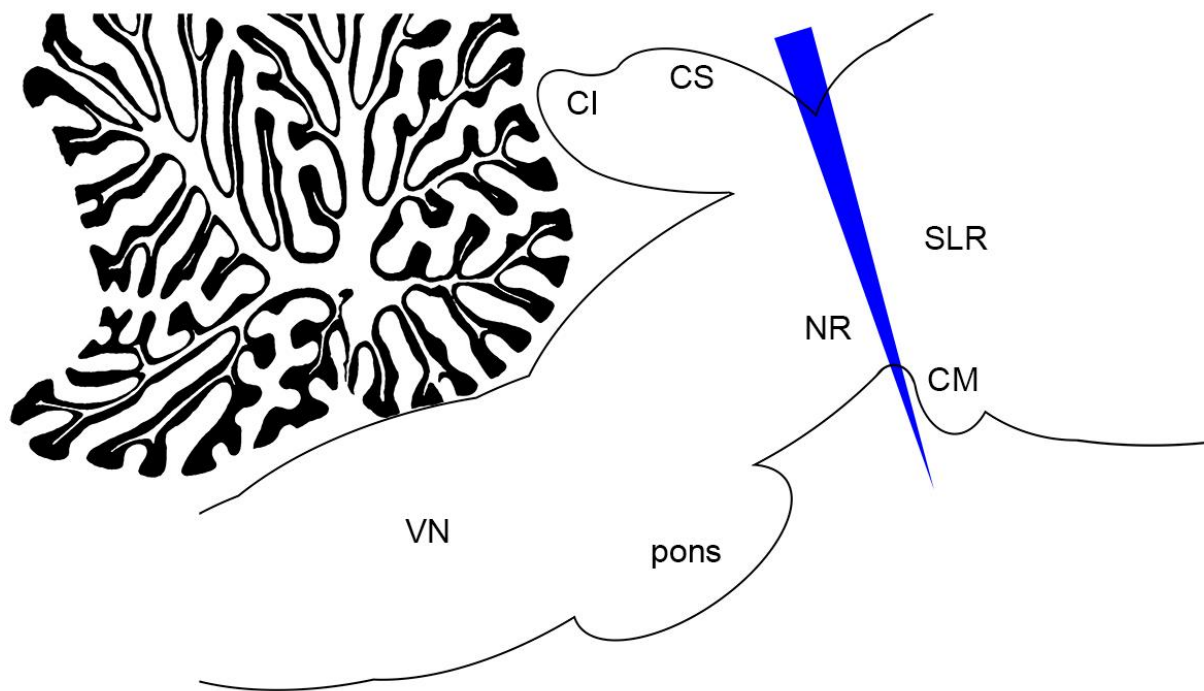


Рисунок 10. Место перерезки ствола мозга кошки при преколликкулярно-постмаммилярной децеребрации (адаптировано из Orlovsky et al., 1999). Разрез обозначен синей стрелкой, CI – Colliculus Inferior, CS – Colliculus Superior, NR – Nucleus Ruber, CM – Corpora Mamillaria, SLR – Subthalamic Locomotor Region, VN – Vestibular Nuclei.

Так как после проведения децеребрации наркотизация животного больше не требуется, по окончании всех хирургических процедур останавливали поступление наркоза. Последующие эксперименты начинали через 2-3 часа. Во время эксперимента для поддержания стабильного состояния животного непрерывно отслеживали ритм сердечных сокращений (100-130 уд/мин), частоту дыхательных движений (20-35 циклов вдох-выдох/мин) и ректальную температуру (38-38,5°C). Для предотвращения развития отека и воспалительных процессов, в течение всего эксперимента каждые 60 минут внутримышечно вводили по 0,5 мл преднизолона.

**Эпидуральная стимуляция.** Вызов локомоции экспериментального животного осуществляли с помощью закрепленного на микроманипуляторе шарикового электрода (диаметр 0,5 мм), подключенного к стимулятору (A-M Systems, model 2100). Электрод устанавливали на твердую оболочку спинного мозга в область ламинэктомии. На уровне с пятого по седьмой поясничный

сегмент находили точку приложения электрода, при оптимальных параметрах стимуляции которым (частота стимуляции 5 Гц, длительность стимула 0,2-0,5 мс, сила тока 220-300 мкА) у животного вызывали поочередные шагательные движения задних конечностей по ленте тредбана (скорость 0,5 м/с) в направлении вперед или назад.

***Исследование спинальных нейронных сетей, задействованных в контроле локомоции в разных направлениях.*** Одним из широко используемых способов выявления активированных нейронов является иммуногистохимический метод визуализации продукта экспрессии раннего гена *c-fos* (подробнее см. приложение к методам исследования). В связи с тем, что стресс и болевые ощущения являются сильнейшими стимулами, вызывающими синтез белка c-Fos, после проведения всех подготовительных и хирургических процедур следовал период покоя (2-3 часа), необходимый для возвращения концентрации белка к своему базальному уровню. Экспериментальный протокол состоял из 18-22 стимуляционных сессий по 1-2 минуты, во время которых животное осуществляло шагательные движения по ленте тредбана. Так как длительная стимуляция приводила к развитию утомления и ухудшению паттерна ходьбы, между сессиями следовал период отдыха длительностью 2-4 минуты. Общее время всех стимуляционных сессий и периодов между ними составляло 1,5-2 часа – оптимальное для достижения максимальной концентрации белка c-Fos в ядрах активных нейронов (подробнее см. приложение к методам исследования).

### **2.3. Методы регистрации и анализ полученных данных**

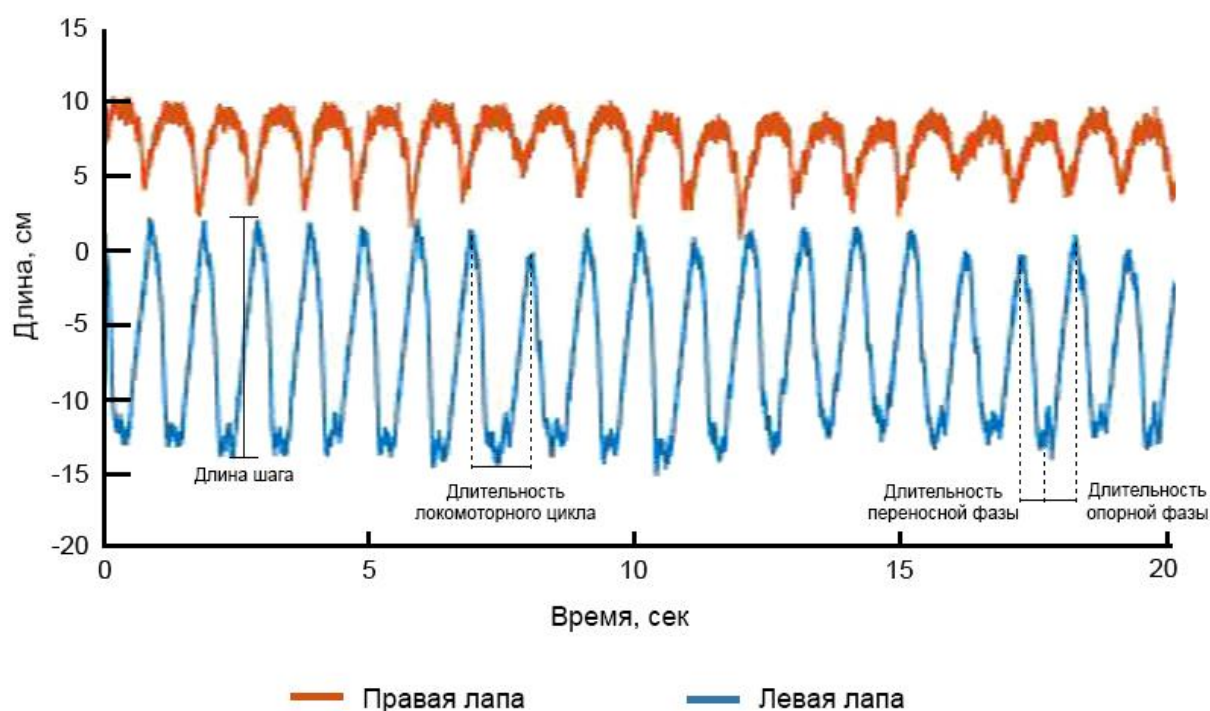
Регистрацию электрической активности мышц задних конечностей проводили после имплантации биполярных электромиографических (ЭМГ) электродов билатерально в икроножную мышцу (*m. gastrocnemius lateralis*, разгибательная мышца голеностопного сустава) и большеберцовую мышцу (*m. tibialis*, сгибательная мышца голеностопного сустава). Сигналы от ЭМГ

электродов были дифференциально усилены (A-M Systems, model 1700, с частотой пропускания 30 Гц—5 кГц), их дальнейший анализ проводили в программном комплексе MATLAB R2017b.

Регистрацию силовых опорных реакций осуществляли с помощью сенсоров силовых нагрузок (1002K, VISHAY), располагаемых под лентой тредбана (рис. 9).

Регистрацию кинематики движений проводили: 1) с помощью потенциометров, прикрепленных к лодыжке экспериментального животного, 2) посредством двусторонней видеорегистрации (25 кадр/сек, видеокамеры располагались сзади и сбоку) (рис. 9 А, Б).

В первом случае, выявляли следующие особенности локомоторного цикла для каждой из лап: длину шага, длительность опорной фазы, длительность фазы переноса, длительность локомоторного цикла и частоту шага (рис. 11).



*Рисунок 11. Анализ графика кривых, полученных с потенциометров. Длина каждого шага определяется амплитудой отдельной кривой. Длительность локомоторного цикла равна времени между двумя верхними пиками кривой. Длительность фазы переноса определяется временем между верхним пиком и последующим нижним, длительность фазы опоры – между нижним пиком и последующим верхним. Частота шага равна количеству локомоторных циклов деленных на время, за которое они были осуществлены.*

Во втором случае, для оценки особенностей ходьбы по видео с камеры сбоку, были установлены светоотражающие маркеры на гребень подвздошной кости (таз), большой вертел (бедро), наружный мыщелок (колени), латеральную лодыжку (голень), дистальный конец пятой плюсневой кости (плюсна) и на кончик левой лапы (пальцы) (рис. 12 А, Б). С помощью видеозаписей с камеры заднего вида, были получены данные об отклонении конечностей в медиально-латеральном направлении от оси, проходящей через жестко закрепленный позвоночный столб экспериментального животного. Анализ полученных видеозаписей осуществляли покадрово в программном комплексе VirtualDubMod 1.5.10.1, позволяющему выявлять угловые изменения в суставах задней конечности, возникающие при сгибании и разгибании бедра, колена и лодыжки в различные моменты локомоторного цикла – периоды переносы и опоры (подробнее см. рис. 13).

#### **2.4. Перфузия и обработка гистологического материала**

*Перфузия.* Через 15-20 минут после окончания эксперимента под глубоким наркозом (5% изофлюран) проводили транскардиальную перфузию. Для предупреждения свертываемости крови и образования тромбов за 10 минут до начала перфузии внутримышечно вводили гепарин (0,5 мл/кг). Промывку сосудов от форменных элементов крови осуществляли физиологическим раствором (0,9% натрия хлорид, 700-800 мл/кг, рН 7,4, 25°C), фиксацию – 4% раствором параформальдегида на 0,01 М фосфатном буфере (рН 7,4, 600-700 мл/кг, 25°C).

*Диссекция.* По окончании перфузии проводили анатомическое препарирование. После удаления мягких тканей спины вместе с поперечными и остистыми отростками снимали дужки позвонков T12-L7 (рис. 14 А). Затем удаляли твердую мозговую оболочку с дорзальной поверхности спинного мозга так, чтобы обеспечить доступ к дорзальным корешкам и спинномозговым ганглиям. Ганглии отпрепаровывали и извлекали из позвоночного канала для

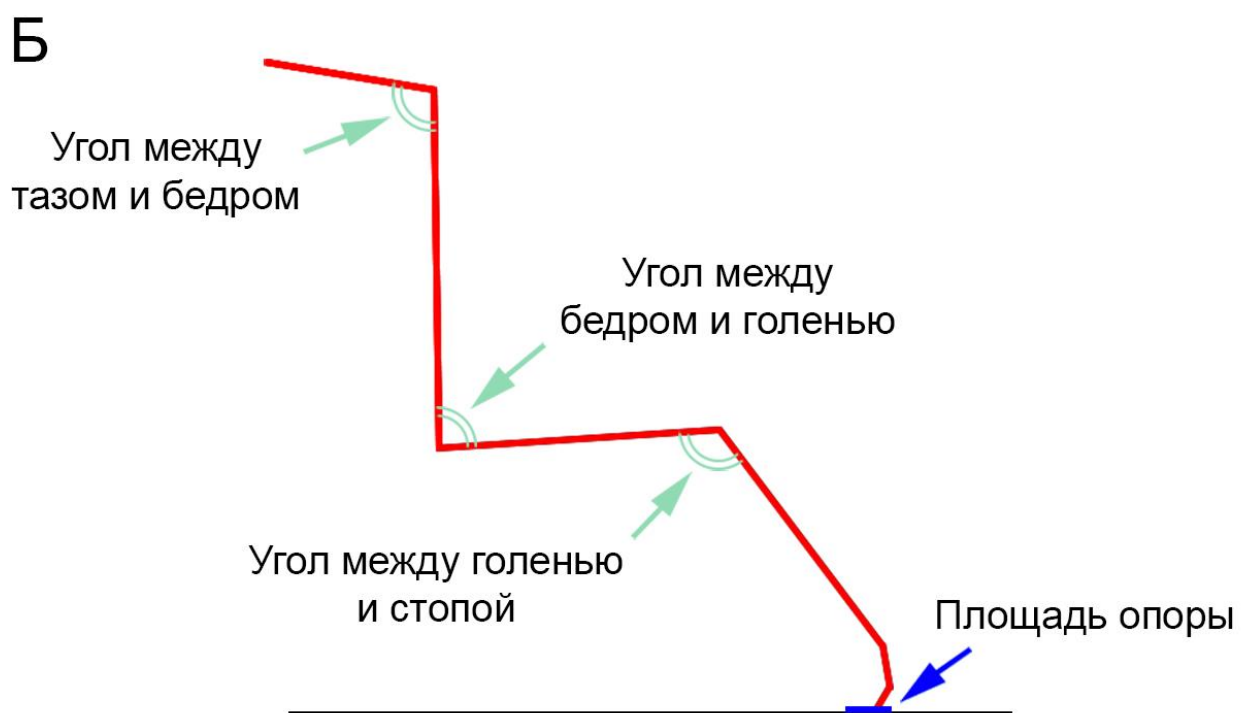
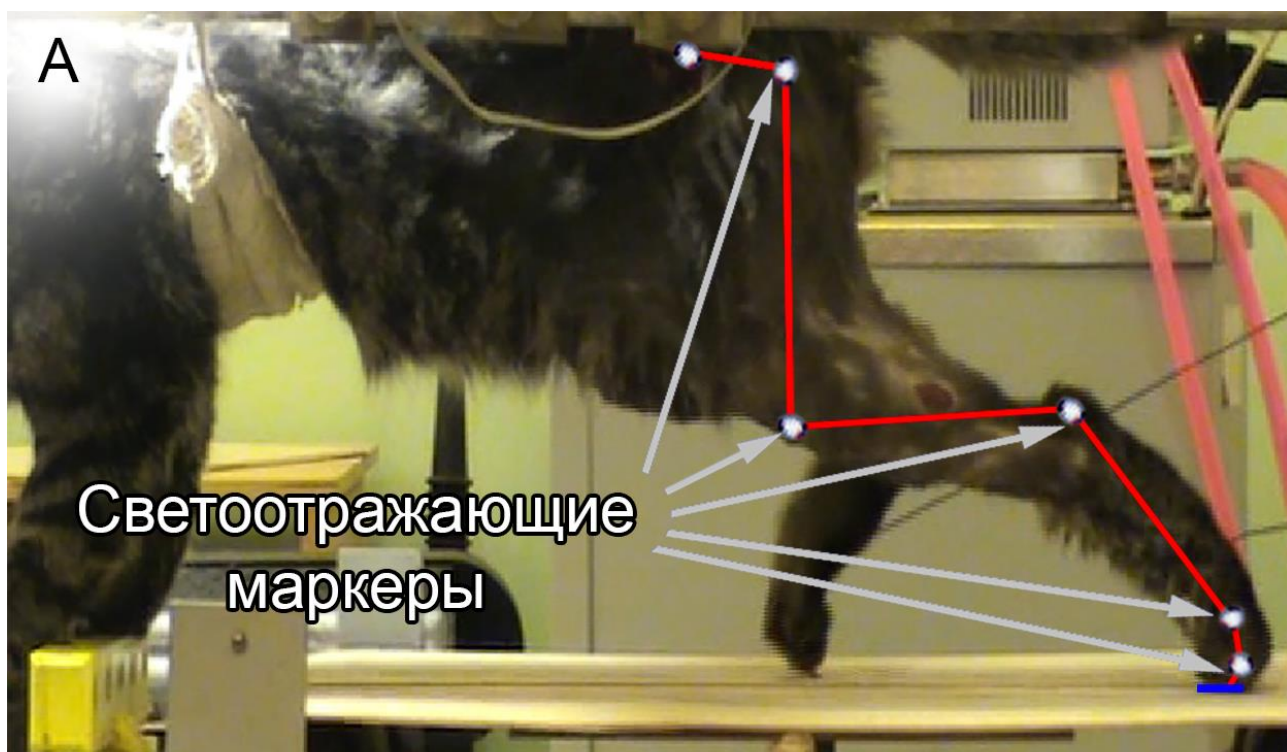


Рисунок 12. Анализ кинематики движений. А – положение светоотражающих маркеров. Б – измерение значений углов в суставах задних конечностей при ходьбе. На каждом кадре видеозаписи светоотражающие маркеры на конечности животного соединяли прямыми линиями. Между ними определяли углы, по которым оценивали качество ходьбы.

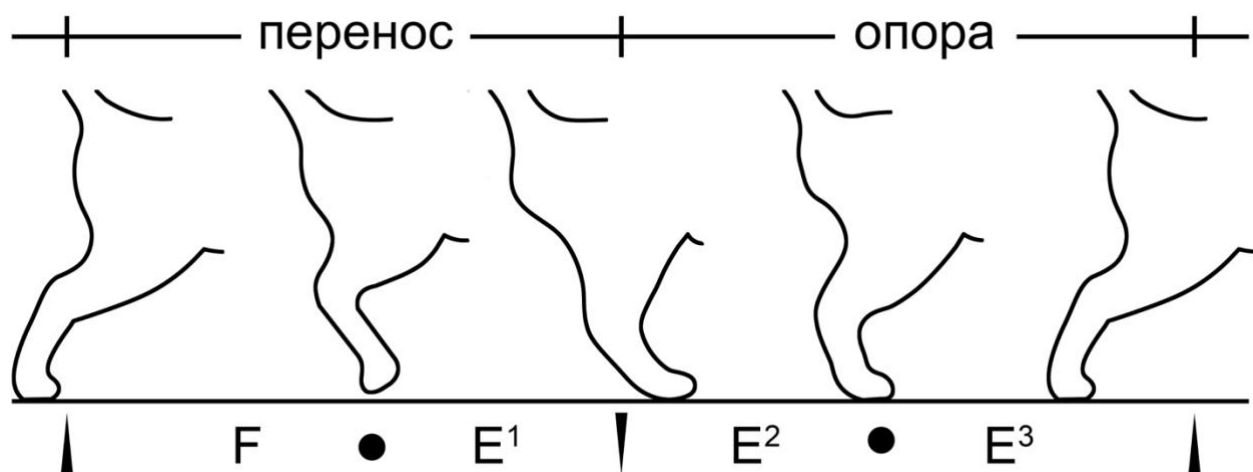


Рисунок 13. Схематичное изображение локомоторного цикла для одной конечности (адаптировано по Stuart et al., 1973). Выделяют четыре фазы шагательного цикла: F, E1, E2 и E3. Фаза F (от англ. flexion – сгибание) начинается в момент отталкивания конечности от опорной поверхности, сопровождаемое сгибанием бедра, колена и лодыжки. Затем следует фаза E1 (от англ. extension – разгибание), начинающаяся с разгибания колена и лодыжки. Эти две фазы обеспечивают перенос (swing) конечности над локомоторной поверхностью. После чего следует период опоры (stance), характеризующийся на всем своем протяжении постепенным разгибанием бедра. Данный период включает в себя фазу E2, в ходе которой происходит разгибание колена, лодыжки и плюсне-фалангового сустава с поддержкой веса тела, и фазу E3, характеризующуюся полным разгибанием всех суставов конечности. Разнонаправленными стрелками обозначены переключения между периодами переноса и опоры, черными точками локомоторный цикл поделен на фазы.

лучшей визуализации областей входа дорзальных корешков в спинной мозг (рис. 14 Б), маркирующих границы сегментов.

В литературе описаны различные способы определения границ сегментов. Одни авторы полагают, что сегмент включает корешковую часть и прилежащую к ней рострально бескорешковую (Ko et al., 2004), другие – наоборот (Thomas, Combs, 1962, 1965; Farag, 2012; Canbay et al., 2013). В данном исследовании мы использовали первую модель (рис. 14 В). На основе данных о границах сегментов определяли точное положение ламинэктомии и точки приложения эпидурального электрода.

По выявленным границам сегментов производили транссекцию спинного мозга и отдельные его элементы последовательно перемещали в 20% и 30% растворы сахарозы (на 0,1М фосфатном буфере) до насыщения (1-3 дня).

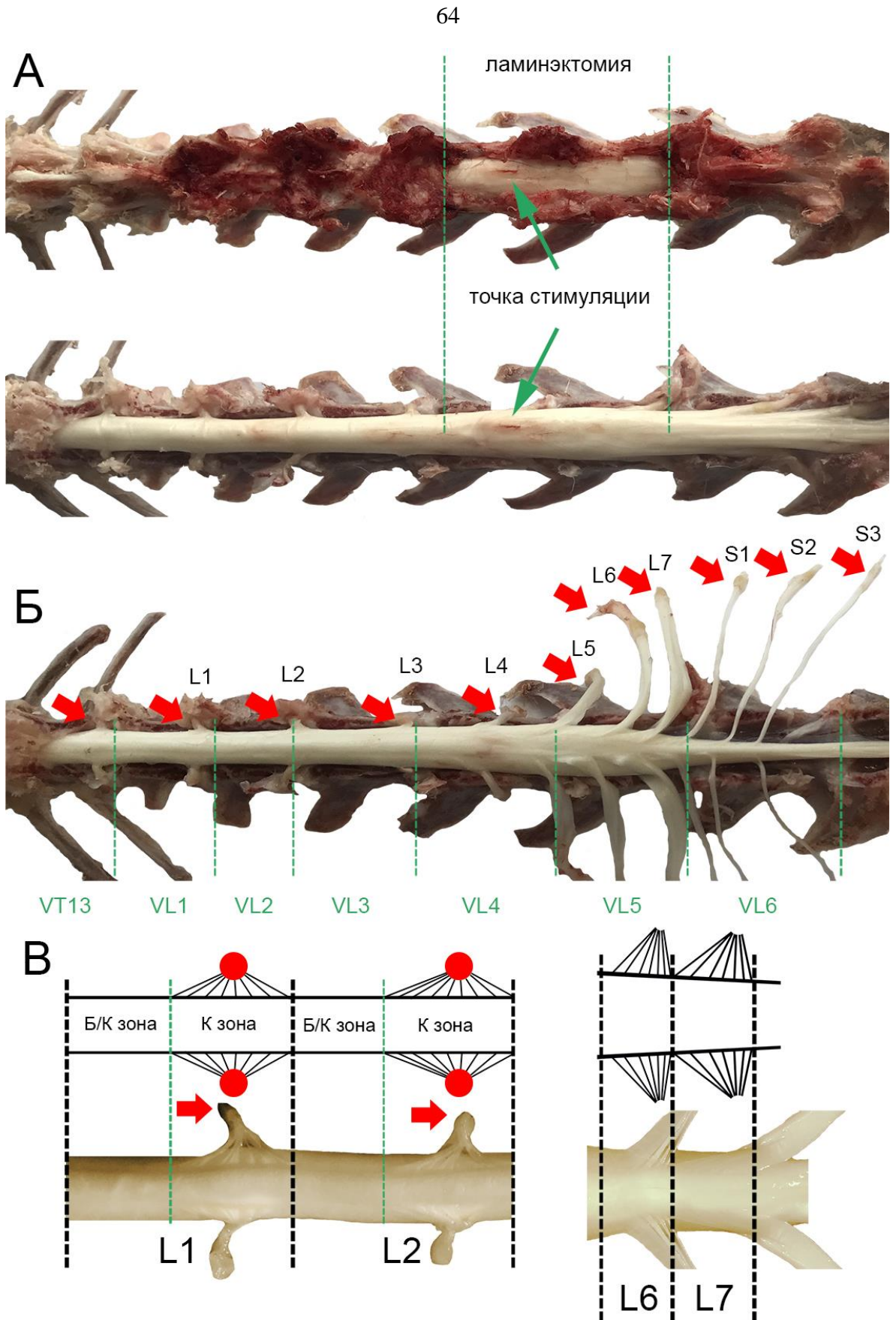


Рисунок 14. Диссекция спинного мозга. А – удаление дужек позвонков; Б – отпрепаровывание ганглиев (обозначены красными стрелками), определение границ сегментов спинного мозга по областям входа корешков; В – алгоритм определения границ сегментов (Б/К – бескорешковая зона, К – корешковая зона).



Данные растворы обеспечивают криопротекцию спинного мозга при получении на замораживающем микротоме (Reichert, Германия) 50 мкм поперечных и горизонтальных срезов (рис. 17), на которых осуществлялось дальнейшее иммуногистохимическое исследование. Полученные срезы хранили в 0,01 М фосфатном буфере (рН 7,4) с 1% NaN<sub>3</sub> при температуре +4°C.

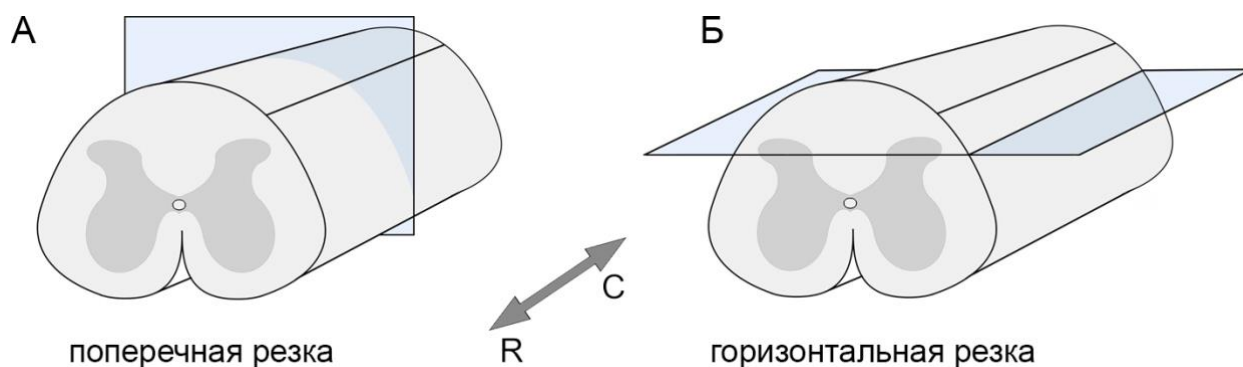


Рисунок 15. Плоскости резки спинного мозга. А – получение поперечных срезов; Б – получение горизонтальных срезов. Стрелками обозначены роstralный (R) и каудальный (C) концы спинного мозга.

## 2.5. Иммуногистохимическое выявление антигенов

Выявление продукта экспрессии гена *c-fos* и кальций-связывающих белков (кальбиндина и парвальбумина) осуществляли с помощью непрямого иммуногистохимического метода на поперечных и горизонтальных свободноплавающих срезах сегментов L1-S1.

В начале выполнения протокола и между всеми процедурами срезы промывали в 0,01 М фосфатно-солевом буфере 3 раза по 10 минут. Демаскировку антигенов проводили в 1% NaBH<sub>4</sub> в течение 15 минут. Активность эндогенной пероксидазы блокировали путем получасовой инкубации в 0,3% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Неспецифическую реакцию антител подавляли 1,5% нормальной сывороткой козы (NGS, Vector Labs, Великобритания) с 0,3% тритоном X-100 (90 минут). Затем, не промывая, срезы инкубировали в течение 72 часов при +4°C в растворе первичных антител: поликлональных антител кролика к *c-Fos* (1:10000, Millipore, США), моноклональных антител мыши к кальбиндину 28 кДа (1:2000, Sigma-

Aldrich, США) или поликлональных антител кролика к парвальбумину (1:3000, Abcam, США) (табл. 2). К раствору первичных антител добавляли 1,5% нормальную сыворотку козы и консервант 0,1%  $\text{NaN}_3$ . Затем срезы инкубировали в растворах биотинилированных вторичных антител: анти-кролик (1:600, Vector Laboratories, Великобритания) или анти-мышь (1:600, Vector Laboratories, Великобритания) в течение 24 часов (табл. 2). К раствору вторичных антител также добавляли 1,5% нормальную сыворотку козы и 0,1%  $\text{NaN}_3$ . Затем срезы инкубировали в авидин-биотиновом комплексе с пероксидазой (ABC Elite system, Vector Labs, Великобритания) в течение часа. Визуализацию пероксидазной реакции осуществляли с помощью хромогена диаминобензидина с  $\text{NiCl}$  и 0,03%  $\text{H}_2\text{O}_2$ . После промывки в дистиллированной воде срезы монтировали на желатинизированные предметные стекла, высушивали, подвергали обезвоживанию в спиртах восходящей концентрации (2 x 70%, 2 x 96%, 2 x 100%) и просветлению в ксилоле, после чего заключали в монтирующую среду (Bio Mount HM, Italy).

*Таблица 2. Используемые первичные и вторичные антитела, их характеристики.*

<b>Антитело</b>	<b>Источник</b>	<b>Разведение</b>	<b>Производитель, № по каталогу</b>
Anti-c-Fos	Кролик (поликлональные)	1:10000	Millipore, ABE457
Anti-Calbindin-D-28K	Мышь (моноклональные)	1:2000	Sigma, 063M4760
Anti-Parvalbumin	Кролик (поликлональные)	1:3000	Abcam, ab11427
Anti-Rabbit IgG	Овца	1:600	Vector Laboratories, BA-1000
Anti-Mouse IgG	Лошадь	1:600	Vector Laboratories, BA-2000

Для выявления специфичности антител несколько срезов спинного мозга подвергали стандартному иммуногистохимическому протоколу, но исключали этап добавления первичных или вторичных антител. В таком случае, срезы спинного мозга были лишены иммунопозитивной метки (рис. 16).

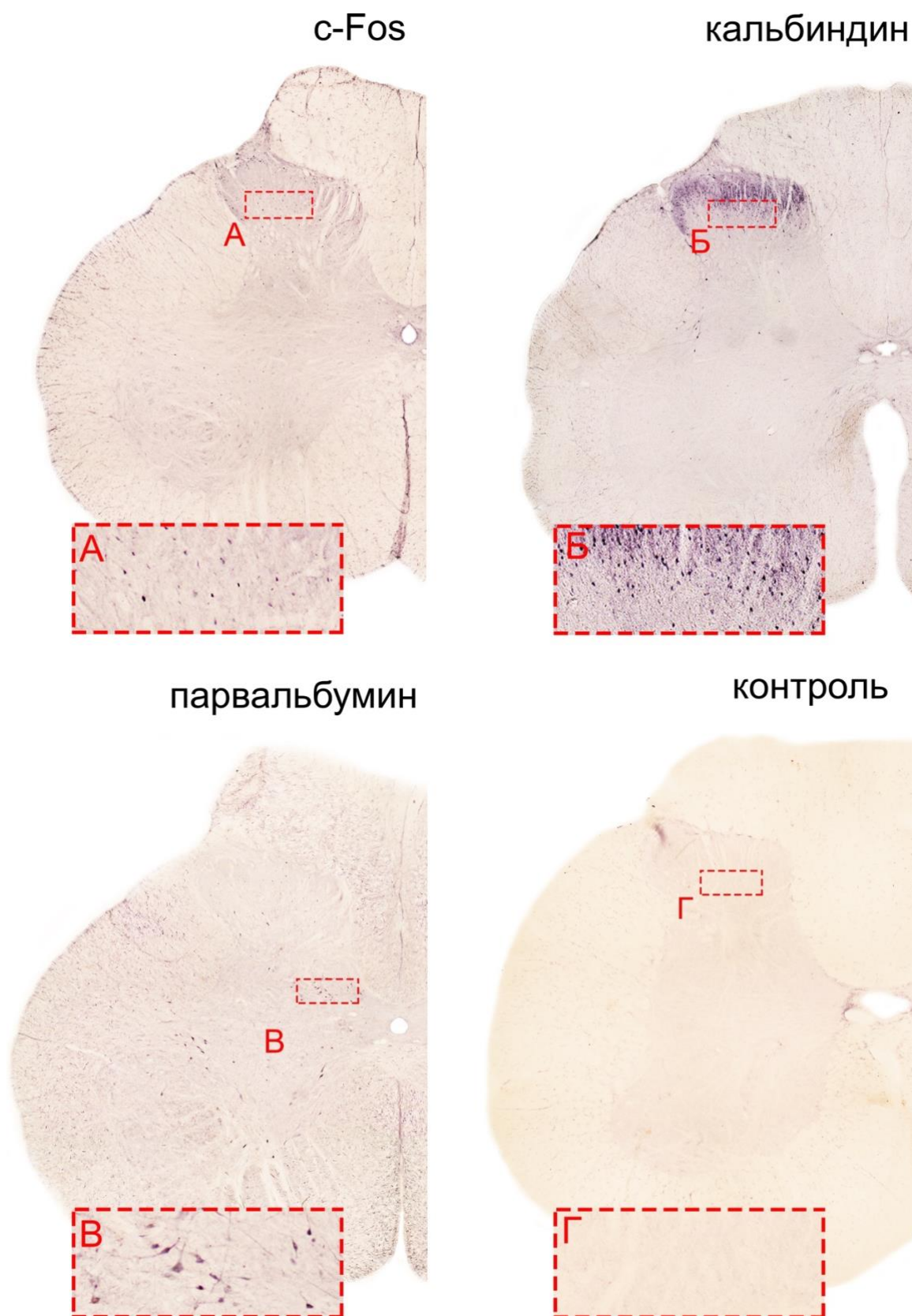


Рисунок 16. Проверка специфичности иммуногистохимического окрашивания. Представлены срезы с выявленными антигенами (c-Fos, кальбиндин и парвальбумин) и увеличенные изображения иммунопозитивных нейронов (А, Б, В). Контрольные срезы подвергали стандартному иммуногистохимическому протоколу с исключением этапа добавления первичных антител. Г – увеличенное изображение среза с отсутствием меченных нейронов.

## 2.6. Цифровая обработка и анализ гистологического материала

**Цифровая обработка.** Получение цифровых изображений срезов с выявленными антигенами проводили на компьютерной установке, оснащенной световым микроскопом Olympus CX31 (Olympus Corporation, Japan), программным комплексом digiCamControl и камерой Nikon (D3200, Nikon Corporation, Japan). Морфологический анализ оцифрованных изображений срезов производили в программной среде ImageJ Fiji (Schindelin et al., 2012).

**Построение изображений, отражающих суммарный паттерн распределения иммунопозитивных нейронов.** В каждом сегменте подсчитывали число иммунопозитивных нейронов в 5 равноудаленных друг от друга поперечных срезах спинного мозга. В среде ImageJ Fiji каждый иммунопозитивный нейрон метили точкой фиксированного размера (20 пикселей), а границу между серым и белым веществом обрисовывали контуром. В дальнейшем, на основе положения реперных точек (области протрузии белого вещества в серое), оконтуренные изображения объединяли в одно (Total-изображение), получая суммарный паттерн сегментарного распределения иммунопозитивных нейронов (рис. 17).

**Формирование карт плотности иммунопозитивных нейронов.** В программном комплексе ImageJ Fiji на Total-изображениях точки, маркирующие иммунопозитивные нейроны, размывали по методу Гаусса (диаметр 125 пикселей) (рис. 18) (Меркульева, Никитина, 2010). Полученные черно-белые изображения переводили в псевдоцвет, где градиент зелено-красного маркировал плотность распределения нейронов, от минимального к максимальному, соответственно. Итоговый цветовой градиент был индивидуальным для каждого животного.

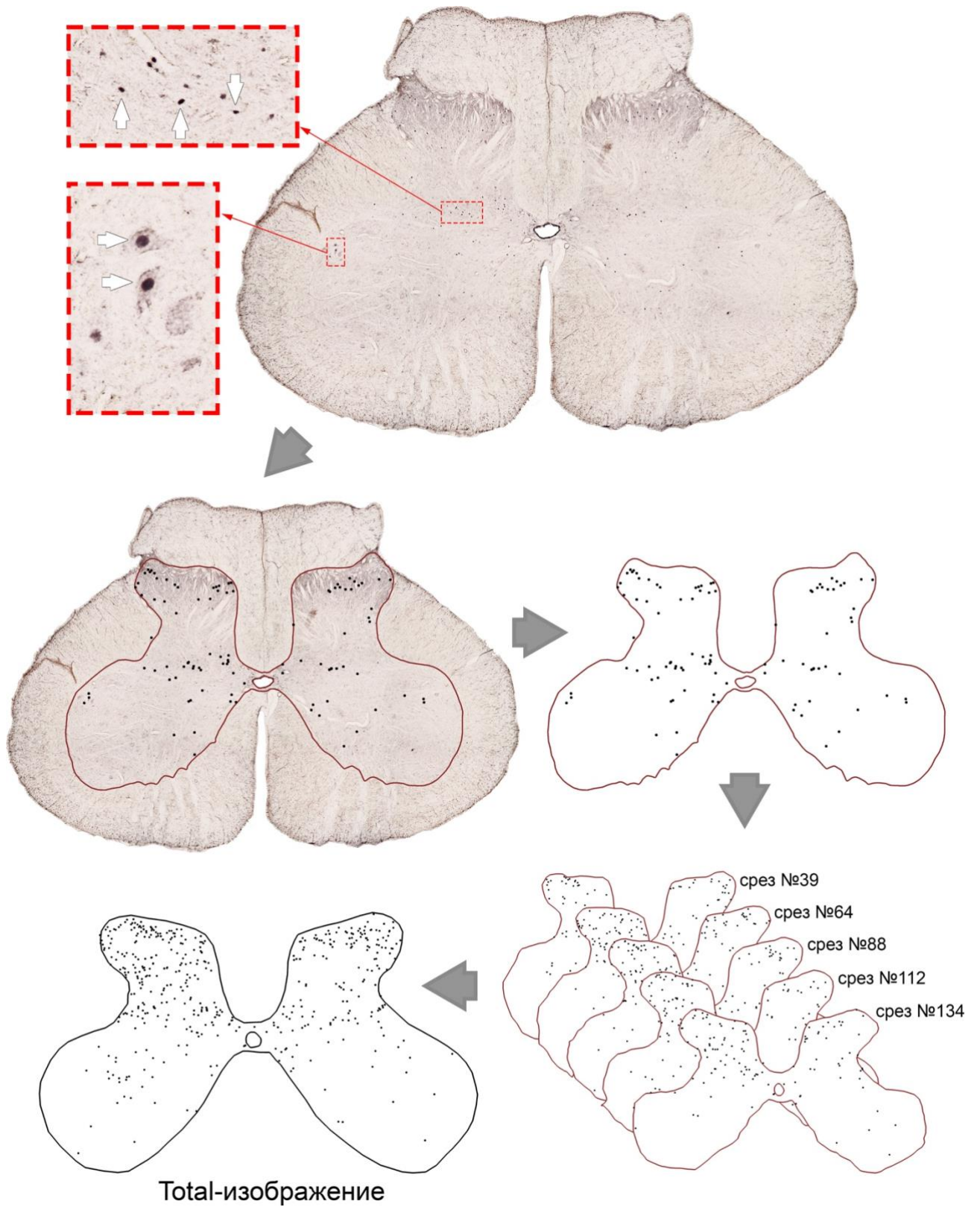


Рисунок 17. Алгоритм формирования Total-изображений, отражающих суммарный паттерн сегментарного распределения иммунопозитивных нейронов (пояснения в тексте).

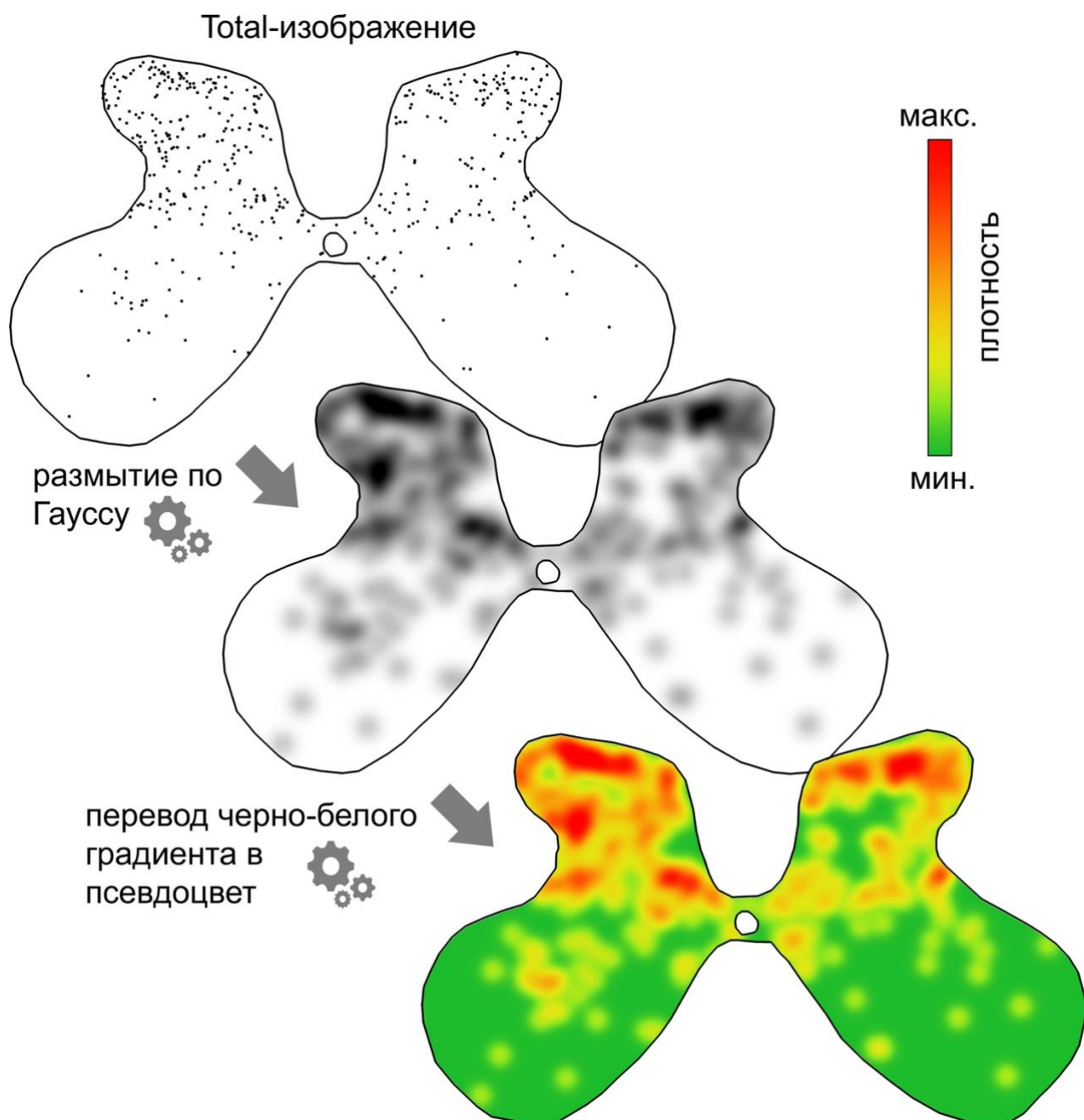


Рисунок 18. Алгоритм формирования карт плотности иммунопозитивных клеток на Total-изображении (пояснения в тексте).

**Выявление в сером веществе областей колокализации нейронов, иммунопозитивных к разным маркерам.** Как описано ранее, Total-изображения с точками размывали по методу Гаусса, тем самым для каждого типа маркера получали изображения с черно-белым градиентом. Затем на изображениях инвертировали цвета и придавали бело-черному градиенту разные значения: красный – для c-Fos-иммунопозитивных клеток, зеленый – для нейронов, иммунопозитивных к кальций-связывающим белкам (рис. 19). Далее, на основе

реперных точек (см. выше) два Total-изображения (черно-красное и черно-зеленое) объединяли в одно, используя режим «перекрывтия» слоев. Получаемые таким образом черно-желтые градиентные изображения отражают только те зоны серого вещества, в которых наблюдается пересечение двух градиентов (красного и зеленого). Для получения зелено-красного градиента, отражающего степень перекрытия двух меток, черно-желтое изображение обесцвечивали, инвертировали цвета и придавали полученному черно-белому градиенту конкретные значения, как это описано в предыдущем пункте по формированию карт плотности нейронов.

## **2.7. Статистический анализ данных**

Обработку данных проводили с использованием пакета статистических программ Prism7 (GraphPad Software, Inc.). Для сравнения средних значений иммунопозитивных нейронов в зонах интереса между животными с разным направлением вызванной ходьбы был использован непараметрический U-критерий Манна-Уитни; для сравнения средних значений кинематических характеристик задних конечностей (углов в суставах, длины шага, коэффициента асимметрии, стабильности движений) при локомоции, вызванной ЭС различных уровней пояснично-крестцового утолщения спинного мозга был использован критерий иерархической линейной модели (Aarts et al., 2014).

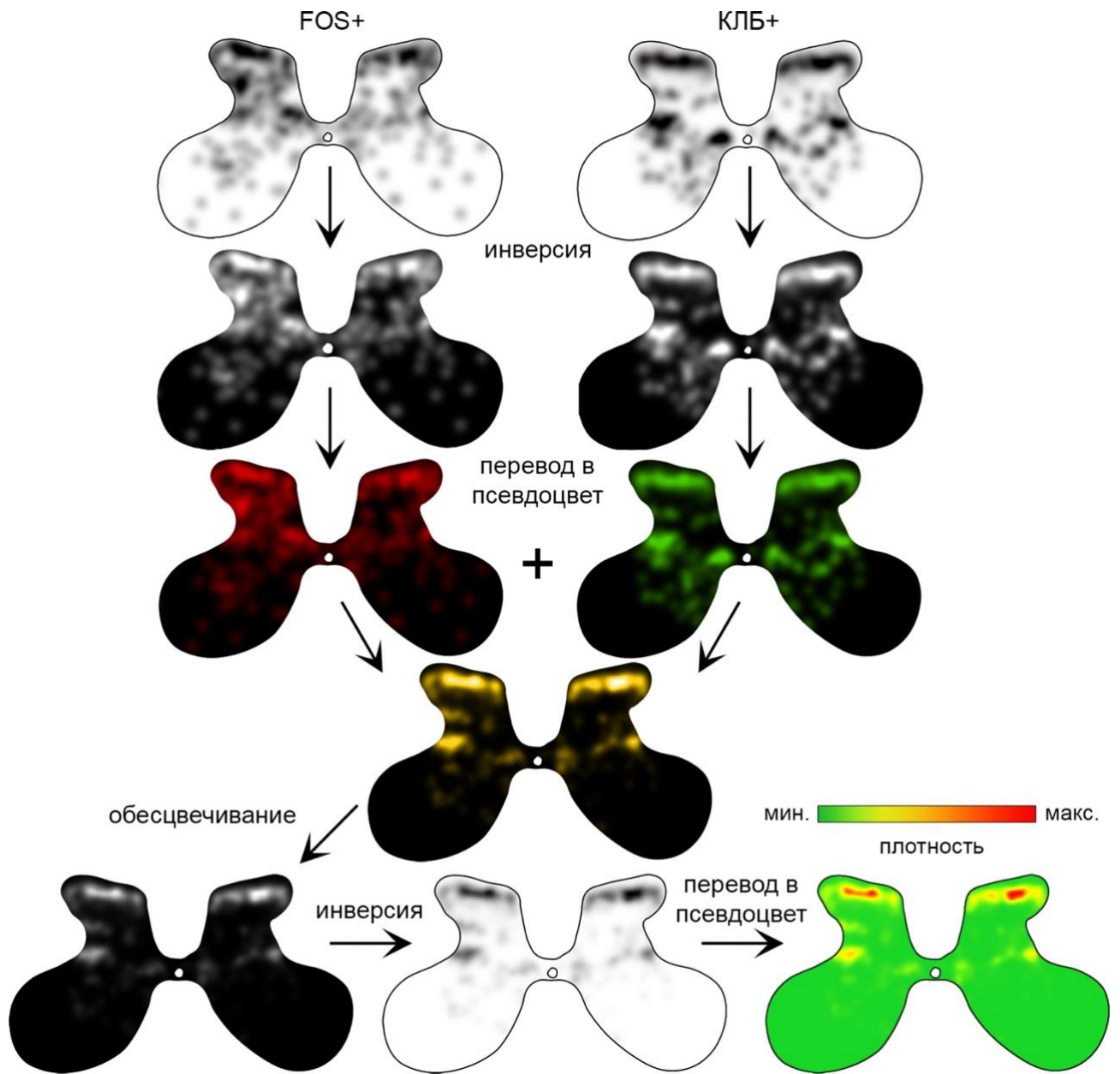


Рисунок 19. Алгоритм выявления зон колокализации нейронов, иммунопозитивных к разным антигенам (пояснения в тексте).



## **Приложение. Исследование активированных нейронов с помощью метода иммуногистохимического выявления продукта раннего гена *c-fos***

Гены раннего ответа (ранние гены) – класс генов, индукция которых происходит чрезвычайно быстро в ответ на внеклеточные (Herrera, Robertson, 1996), а также ряд внутриклеточных стимулов (Karin et al., 1997). Они принимают участие во множестве процессов, в том числе обмене веществ, дифференцировке и пролиферации клеток (Healy et al., 2013). Продуктами экспрессии данных генов являются в первую очередь транскрипционные факторы (Greenberg, Ziff, 1984), а также ряд цитоплазматических ферментов и других секретируемых белков (Healy et al., 2013). Наиболее изученные продукты, кодируемые ранними генами, относятся к семействам Fos, Jun, Myc и Egr.

Основными представителями Fos семейства транскрипционных факторов выступают белки c-Fos, FosB, Fra-1 (Fos-related antigen) и Fra-2 (Greenberg, Ziff, 1984; Zerial et al., 1989; Cohen, Curran, 1988; Nishina et al., 1990). В своей структуре данные белки обладают *leucin zipper* мотивом (лейциновая «застежка»), благодаря которому обеспечивается их гетеродимеризация с представителем белков семейства Jun, результатом чего является образование транскрипционного фактора, называемого активаторным белком (AP-1) (Hughes, Dragunow, 1995). В свою очередь, AP-1 участвует в активации генов позднего ответа (генов отсроченного ответа или фенотип специфических генов), которые и обеспечивают регуляцию дифференцировки и пролиферации клеток (Morgan, Curran, 1991).

Вероятно, одним из первых и наиболее изученных ранних генов Fos семейства является ген *c-fos* и, соответственно, продукт его экспрессии белок c-Fos (Healy et al., 2013). c-Fos является гомологом белка v-Fos, открытие которого дало начало исследованию ранних генов (Curran et al., 1982). Структурный состав этих белков очень схож за исключением участка из 48 аминокислот C-терминали (Van Beveren et al., 1983).

Экспрессия с-Fos белка проходит очень быстро и имеет временный характер. Синтез соответствующей мРНК осуществляется в течение нескольких минут после предъявления стимула (Greenberg, Ziff, 1984). Максимальная концентрация готового белка в ядре клетки достигается приблизительно через 1 час (Morgan, Curran, 1991). Спустя 4-6 часов после окончания стимуляции концентрация белка постепенно падает до следового уровня (Ding et al., 1994; Ikeda et al., 1994; Cullinan et al., 1995; Kovacs, Sawchenko, 1996).

Синтез белка с-Fos в ядрах нейронов индуцируется широким спектром воздействий. Исследования на клеточном уровне позволили выявить, что выработка с-Fos стимулируется влиянием нейромедиаторов (Arenander et al., 1989) и факторов роста (Bartel et al., 1989; Marconcini et al., 1999). Позже применение метода визуализации белка с-Fos было осуществлено в работах по изучению воздействия на ЦНС ионизирующего (Pruschy et al., 1997) и ультрафиолетового излучения (Shah et al., 1993; Garmyn, Degree, 1997), электромагнитного поля (Rao, Henderson, 1996; Snyder et al., 2000), лекарств (Robertson, Fibiger, 1992; Singewald et al., 2003) и наркотических препаратов (Graybiel et al., 1990; Snyder-Keller, 1991; Uslaner et al., 2001; Wang et al., 2018). Кроме того, данный метод позволяет маркировать элементы нервной системы, активируемые одорантами (Onoda, 1992; Guthrie et al., 1993; Wei et al., 2016), световыми (Kaczmarek, Chaudhuri, 1997), звуковыми (Shizuki et al., 2002; Campeau, Watson, 2003; Burow et al., 2005; Sugimoto et al., 2015) и болевыми стимулами (Coggeshall, 2005). Метод выявления с-Fos-позитивных (FOS+) нейронов также применяют для оценки степени воздействия на нервную систему таких факторов, как иммобилизация (Keshavarzy et al., 2014), депривация сна (Gong et al., 2004), интенсивная физическая нагрузка (Lee et al., 2003).

Таким образом, благодаря низкому базальному уровню белка с-Fos и высокой степени чувствительности к широкому спектру стимулов, иммуногистохимический метод его визуализации широко используется в качестве маркера нейрональной активности в экспериментальной нейроморфологии.

## ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ

### Часть 1. Локомоция, вызванная эпидуральной стимуляцией спинного мозга

#### 1.1 Вызов локомоции в направлении вперед и назад при эпидуральной стимуляции различных пояснично-крестцовых сегментов спинного мозга

Для оценки способности вызова локомоции в направлениях вперед и назад при ЭС разных сегментов поясничного и крестцового отделов, провели картирование спинного мозга. Для этого, стимулирующий электрод размещали на сегменте L5 и выявляли минимальную силу, при которой наблюдался вызов стабильной ходьбы вперед (по крайней мере 10 шагов с хорошей постановкой конечности). Затем с той же силой тока стимулировали другие сегменты (L2-S1) спинного мозга, оценивая возможность запуска ходьбы вперед и назад. Изменение направления локомоции обеспечивали переключением направления движения ленты тредбана. Значение оптимальной силы тока при ЭС, индивидуальное для каждого животного, варьировало от 80 до 250 мкА. При отсутствии ответной реакции на ЭС с оптимальными параметрами, силу тока повышали до 300-500 мкА, при этом ни у одного из животных в таком случае инициации локомоторных движений не наблюдалось.

Результаты картирования пояснично-крестцовых сегментов спинного мозга представлены на рисунке 20. При ЭС сегмента L2 у всех исследуемых животных (n=3) не наблюдалось инициации ходьбы ни в одном из направлений. ЭС сегмента L3 у 67% животных (у 2 из 3) вызывала локомоцию вперед, но ни у одного – ходьбу назад. ЭС сегментов L4 (n=8), L5 (n=15), L6 (n=15), L7 (n=12) и S1 (n=5) вызывала локомоцию вперед у всех тестируемых кошек. Однако, стимуляция сегментов L4 и S1 не инициировала локомоцию назад ни у одного из животных (соответственно, n=8 и n=6). Ходьба назад была выявлена только при ЭС сегментов L5-L7. В сегменте L5 стимуляция только каудальной части вызывала ходьбу назад: у 38% животных (у 3 из 8). Стимуляция роstralной

части сегмента L6 вызывала ходьбу назад у 50% животных (4 из 8), средней – у 50% (5 из 10) и каудальной – у 80% (8 из 10). Стимуляция роstralной части сегмента L7 вызывала ходьбу назад у 44% кошек (4 из 9), средней – у 33% (2 из 6) и каудальной – у 33% (2 из 6). Таким образом, область спинного мозга, ЭС которой вызывает оба вида ходьбы, занимает достаточно узкую часть пояснично-крестцового отдела (сегменты L5-L7).

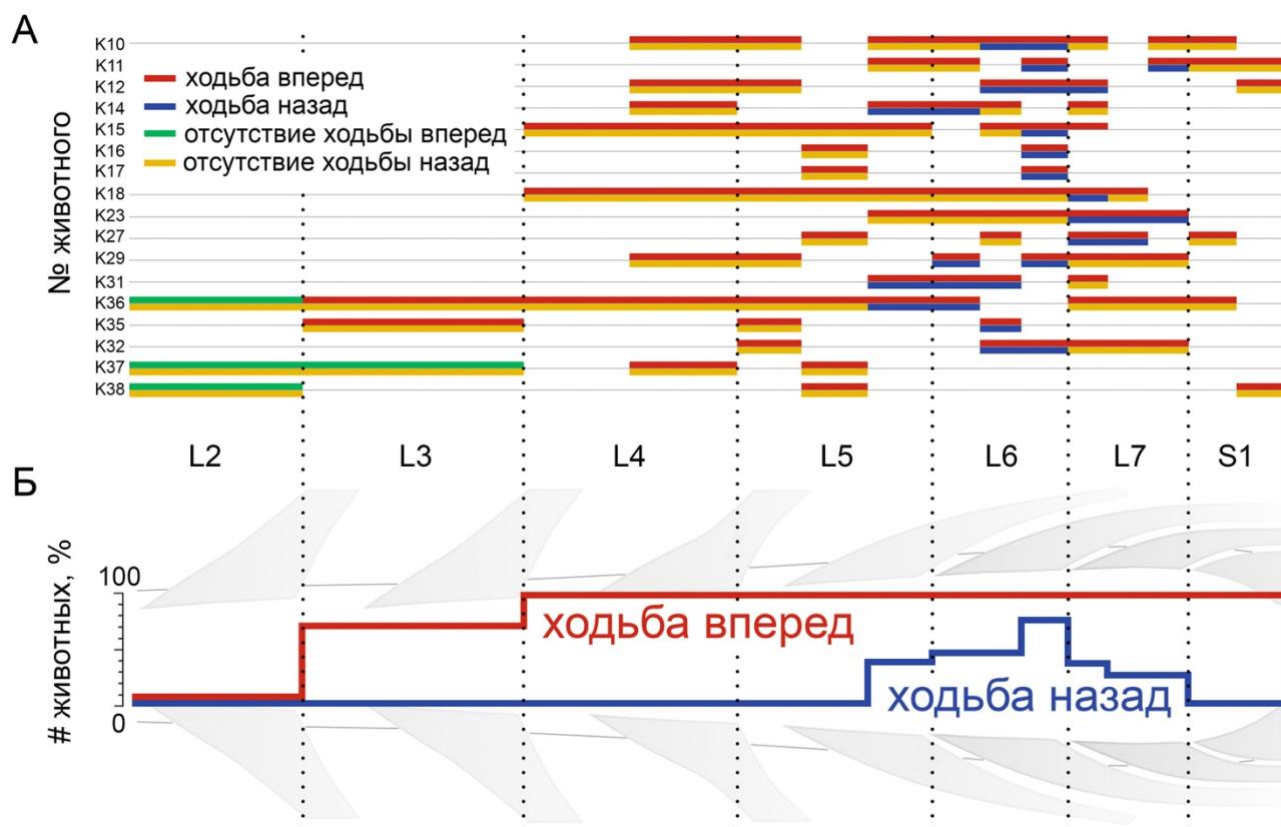
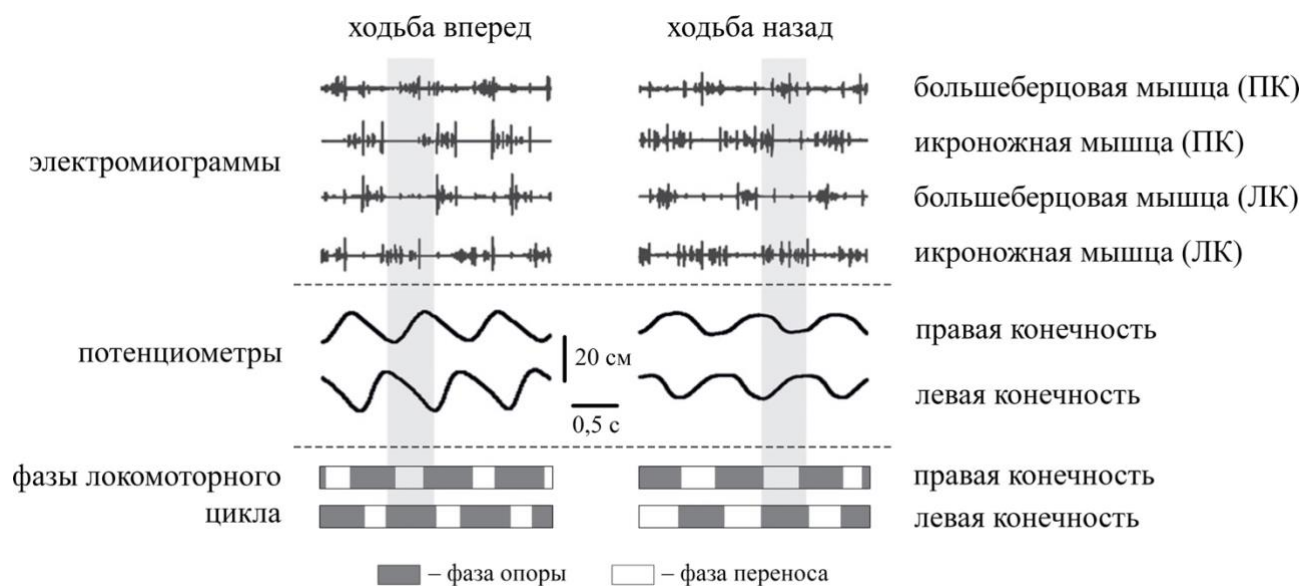


Рисунок 20. Картирование спинного мозга. А – горизонтальные линии соответствуют данным отдельного животного, пунктирными линиями обозначены границы между сегментами спинного мозга; тонкие серые линии соответствуют сегментам, на которых не проверяли действие ЭС; толстые линии отображают сегменты спинного мозга (и его части), к которым была применена ЭС; результат стимуляции кодируется цветом толстых линий (красный – ходьба вперед, синий – ходьба назад, зеленый – отсутствие ходьбы вперед, желтый – отсутствие ходьбы назад). Б – процентное выражение числа животных, ЭС спинного мозга которых в обозначенном сегменте вызывала ходьбу вперед (красная линия) и назад (синяя линия). По оси ординат – номера животных (А), процентное число животных (Б), по оси абсцисс – номера сегментов спинного мозга.

На рисунке 21 представлен пример кинематических особенностей и ЭМГ задних конечностей при ходьбе вперед (ХВ) и ходьбе назад (ХН), вызванных ЭС одной и той же точки сегмента L6. При обоих видах ходьбы наблюдается чередование электрической активности в мышцах, сходное для всех исследуемых кошек и соответствующее ЭМГ данным для интактных локомотирующих животных (Buford, Smith, 1993; Pratt et al., 1996).



*Рисунок 21. Электромиограммы и кинематические особенности правой (ПК) и левой (ЛК) конечностей при ходьбе вперед и ходьбе назад.*

## **1.2 Особенности кинематики локомоторных движений при ходьбе в разных направлениях, вызванной эпидуральной стимуляцией различных пояснично-крестцовых сегментов спинного мозга**

*Ходьба вперед.* Мы провели сравнение кинематических особенностей локомоторных движений при ХВ, вызванной ЭС на трех уровнях спинного мозга: сегментах L4-L5, L6 и L7-S1. Исследование проведено на 4 децеребрированных кошках, у которых ЭС всех трех уровней пояснично-крестцового отдела спинного мозга вызывала ХВ.

В таблице 3 отображены средние значения углов в тазобедренном, коленном и голеностопном суставах при максимальном сгибании задней конечности во время фазы переноса и максимальном разгибании во время фазы опоры. Так, было выявлено, что в зависимости от точки стимуляции спинного мозга кинематические характеристики ходьбы значительно варьируют. Наименьшие значения углов во всех трех суставах наблюдаются при ЭС сегментов L4-L5. При стимуляции сегмента L6 исследуемые показатели несколько выше. Наибольшая амплитуда движений конечности была выявлена при ЭС сегментов L7-S1. Полученные данные позволяют предположить, что при ЭС роstralных сегментов (L4-L5) преобладает активность мышц сгибателей, а при стимуляции каудальных (L7-S1) – активность мышц разгибателей. При этом выявлено, что вне зависимости от уровня ЭС средние значения длины шага при вызванной ХВ одинаковы (рис. 22 А). При стимуляции сегментов L7-S1 средние значения углов в суставах значительно больше, чем при стимуляции сегментов L4-L5 (рис. 22 В). Стабильность локомоторных движений задних конечностей при ЭС сегментов L4-S1 достаточно высока, однако при стимуляции сегмента L6 она достоверно ниже ( $p=0,04$ ) (рис. 22 Б). Среднее значение коэффициента асимметрии для длины шага низкое при ЭС каждого уровня спинного мозга, что говорит об одинаковой длине шага левой и правой конечностей и симметричности локомоторных движений в целом (рис. 22 Г).

*Ходьба назад.* Анализ кинематики локомоторных движений при ХН проводили только при стимуляции L6 сегмента (оптимального для вызова ХН). При ХН во время фаз переноса и опоры задние конечности выполняли движения в противоположном направлении относительно ХВ (рис. 23). Так, во время фазы опоры, конечность двигалась из крайней постериорной позиции (E1) в крайнюю anteriорную (E3). Во время фазы переноса конечность возвращалась в крайнюю постериорную позицию (E1). В отличие от ХВ, при ХН локомоторные движения выполнялись задними конечностями в более ростральной позиции относительно тела.

Сравнение величин суставных углов при ХВ и ХН, вызванных из одного сегмента (L6), показало, что средние значения углов в тазобедренном и голеностопном суставах в фазе переноса одинаковы для ХВ и ХН при стимуляции сегмента L6, в коленном – значительно выше ( $p=0,002$ ) для ХН (рис. 22 Д). Во время фазы опоры средние значения углов в тазобедренном и голеностопном суставах при ХН значительно ниже, чем при ХВ ( $p=0,002$ ), а в коленном – выше (рис. 22 Е).

Также было показано, что при ХН диапазон значений углов в суставах в ходе локомоторного цикла значительно ниже ( $p=0,0001$ ) и, как результат, длина шага значительно короче ( $p=0,036$ ) по сравнению с ХВ при ЭС L6 (рис. 22 А, В). Стабильность локомоторных движений и симметричность в длине шага между левой и правой лапами при ХН ниже, чем при ХВ (рис. 22 Б, Г).

Таблица 3. Значения углов в суставах задних конечностей при максимальном сгибании во время фазы переноса и максимальном разгибании во время фазы опоры. Представлены средние значения углов ( $^{\circ}$ )  $\pm$  стандартная ошибка. Звездочками обозначена значимость различий между параметрами ХВ при ЭС сегментов L4-L5 и L7-S1: \* –  $p < 0,05$ ; \*\* –  $p < 0,01$ ; \*\*\* –  $p < 0,001$ .

Фаза	Сустав	ЭС	К1	К2	К3	К4
Перенос	Тазобедренный сустав	L4-L5	36,6 $\pm$ 0,4	32,2 $\pm$ 0,3	53,4 $\pm$ 0,6	32,8 $\pm$ 0,9
		L6	43,5 $\pm$ 0,2	37,1 $\pm$ 0,5	57,5 $\pm$ 1	38,9 $\pm$ 0,8
		L7-S1	41,5 $\pm$ 0,6***	40,8 $\pm$ 0,3***	61,4 $\pm$ 1***	40,9 $\pm$ 0,7***
	Коленный сустав	L4-L5	35,9 $\pm$ 0,6	36,4 $\pm$ 1,1	55,4 $\pm$ 0,9	37,9 $\pm$ 0,4
		L6	38,8 $\pm$ 0,9	38,2 $\pm$ 0,4	56,1 $\pm$ 0,3	47 $\pm$ 1
		L7-S1	40,3 $\pm$ 0,5***	40,8 $\pm$ 0,2**	60,6 $\pm$ 2*	50 $\pm$ 1,4***
	Голеностопный сустав	L4-L5	42,5 $\pm$ 1,2	44,7 $\pm$ 1	73,4 $\pm$ 0,7	34,6 $\pm$ 0,4
		L6	58 $\pm$ 1,4	46,7 $\pm$ 0,7	76,3 $\pm$ 1,8	42,4 $\pm$ 0,6
		L7-S1	45,6 $\pm$ 1,1*	52,3 $\pm$ 1,3***	82,7 $\pm$ 1,5***	44,2 $\pm$ 0,3***
Опора	Тазобедренный сустав	L4-L5	85,7 $\pm$ 0,4	94,8 $\pm$ 0,6	102,1 $\pm$ 0,8	74,2 $\pm$ 0,4
		L6	93,7 $\pm$ 0,7	105,4 $\pm$ 0,8	112,3 $\pm$ 1	80,1 $\pm$ 0,7
		L7-S1	100,4 $\pm$ 0,3***	122,3 $\pm$ 1***	118,7 $\pm$ 0,8***	107,5 $\pm$ 1,2***
	Коленный сустав	L4-L5	87 $\pm$ 0,4	96,4 $\pm$ 0,3	107,9 $\pm$ 0,7	64,8 $\pm$ 0,3
		L6	92,7 $\pm$ 1,7	117,3 $\pm$ 0,5	120,1 $\pm$ 0,7	80,9 $\pm$ 0,5
		L7-S1	105,2 $\pm$ 0,7***	126,2 $\pm$ 0,4***	121,8 $\pm$ 0,8***	104,9 $\pm$ 0,5***
	Голеностопный сустав	L4-L5	133,2 $\pm$ 1,2	155,3 $\pm$ 2,7	124 $\pm$ 0,6	122 $\pm$ 0,5
		L6	138,7 $\pm$ 1,5	172 $\pm$ 0,7	135,6 $\pm$ 1	126 $\pm$ 1,4
		L7-S1	138,2 $\pm$ 0,4***	179,4 $\pm$ 2,7***	143,9 $\pm$ 0,8***	134,7 $\pm$ 0,7***



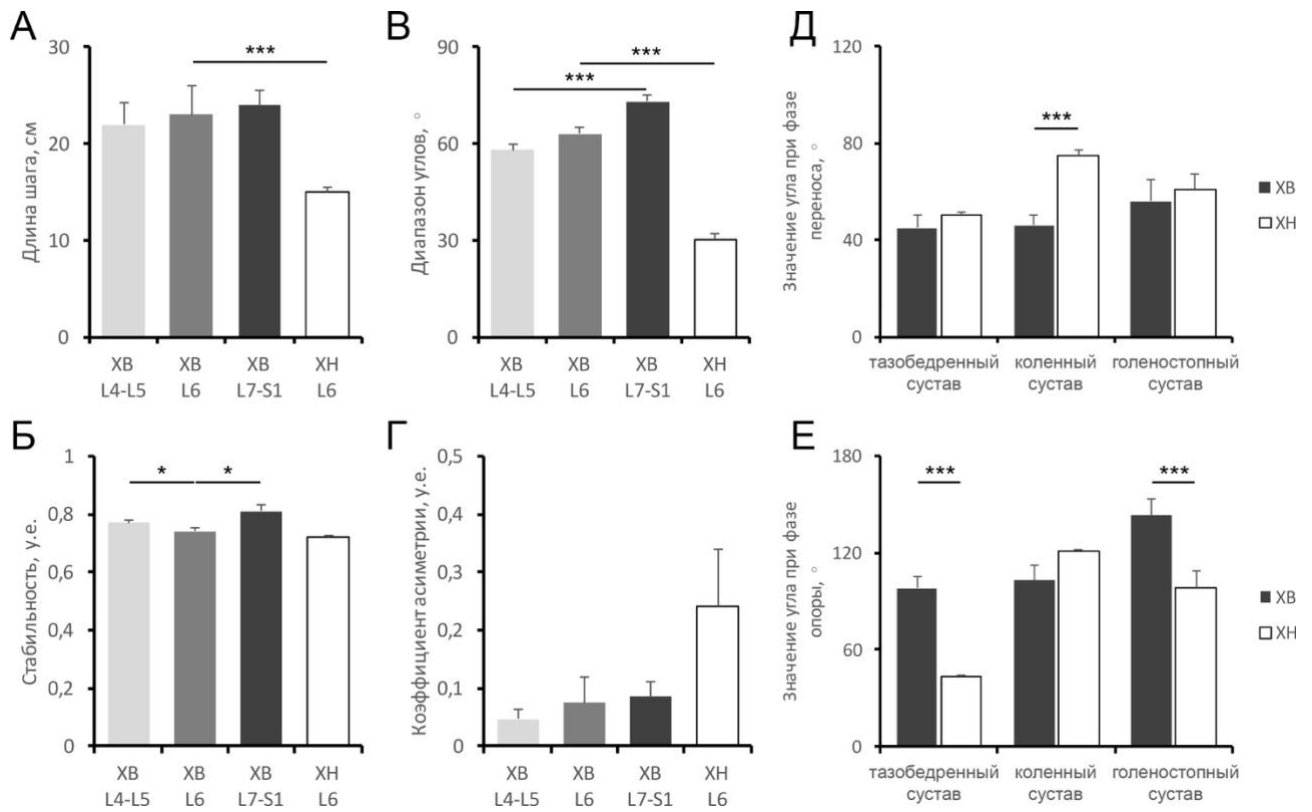


Рисунок 22. Сравнение кинематических характеристик между ХВ, вызванной ЭС разных уровней спинного мозга (L4-L5, L6, L7-S1), и ХН. А – длина шага; Б – стабильность локомоторного паттерна конечности (коэффициент самоподобия); В – диапазон углов в суставах задних конечностей во время локомоторного цикла; Г – асимметрия в длине шага между правой и левой конечностью (коэффициент асимметрии); Д – значения углов в тазобедренном, коленном и голеностопном суставах при максимальном сгибании задней конечности во время фазы переноса; Е – значения углов в тазобедренном, коленном и голеностопном суставах при максимальном разгибании во время фазы опоры. Представлены средние значения + стандартная ошибка. \* –  $p < 0,05$ ; \*\*\* –  $p < 0,001$ .

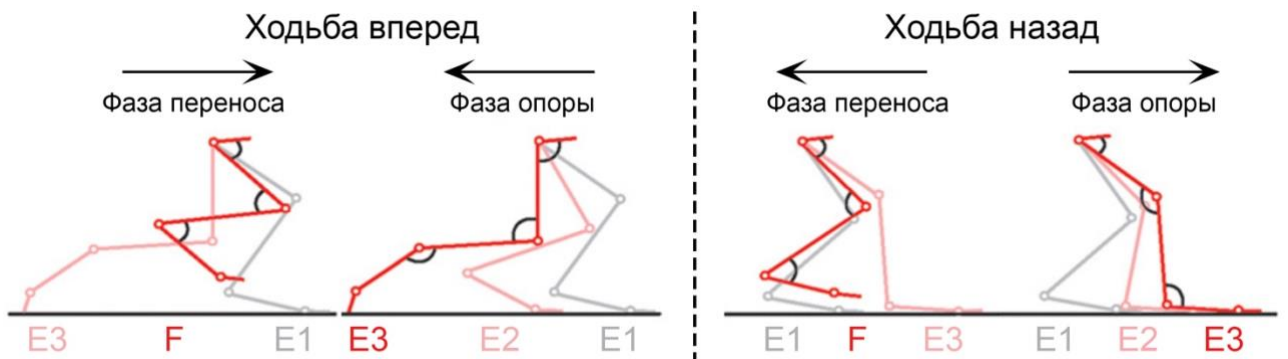


Рисунок 23. Положения суставов задних конечностей в разные фазы локомоторного цикла при ХВ и ХН (подробнее фазы локомоторного цикла см. рис. 13). Стрелками обозначено направление движения конечности.

## Часть 2. Распределение активированных нейронов в сером веществе спинного мозга при локомоции, вызванной эпидуральной стимуляцией

### 2.1 Ламинарное распределение c-Fos-иммунопозитивных нейронов в сером веществе спинного мозга кошки при вызванной ходьбе в разных направлениях

С помощью иммуногистохимического метода визуализации ядерного белка c-Fos выявлены особенности ламинарного распределения спинальных нейронных сетей, активированных вызванной ходьбой вперед (группа ХВ, n=3) и назад (группа ХН, n=3) (табл. 1). У животных обеих групп иммунопозитивная ядерная метка локализуется в пределах нейронов, неоднородно локализованных в разных частях серого вещества спинного мозга (рис. 24 А).

Наибольшая плотность FOS+ нейронов *дорзальных рогов* у обеих групп животных выявлена в латеральной части пластин I-III сегментов L1-S1 (рис. 24 А, л), а также в медиальной части данных пластин в сегментах L6-S1 (рис. 24 А, к). У животных группы ХВ в пластинах I-III сосредоточено  $24 \pm 7\%$  FOS+ нейронов на срез, у группы ХН –  $17 \pm 7\%$  (рис. 24 Б). При этом у животных с ХВ в наиболее каудальных сегментах (L5-S1) в дорзальных рогах наблюдается увеличение относительного числа FOS+ нейронов (рис. 24 В), чего не выявлено в группе с ХН (рис. 24 Г). Распределение FOS+ нейронов между левой и правой половиной спинного мозга в пластинах I-III симметрично для каждого животного обеих групп (рис. 24 Д).

В *промежуточной зоне* серого вещества в большинстве случаев FOS+ нейроны распределены неравномерно и формируют два кластера: (1) на границе пластин VII и X и (2) на латеральной границе пластин VI и VII (рис. 24 А, м, н). Относительное число FOS+ нейронов данной зоны для животных групп ХВ и ХН составляет, соответственно,  $32 \pm 9\%$  и  $29 \pm 7\%$  (рис. 24 Б). У животных ХВ2, ХН1 и ХН3 наблюдается асимметрия процентного числа FOS+ нейронов

промежуточной зоны серого вещества между левой и правой половиной спинного мозга (рис. 24 Е).

В *вентральных рогах*, особенно в медиальной части, также обнаружено множество FOS+ нейронов (рис. 24 А, о, п, р, с). В пластинках VII-VIII их количество составляет  $42 \pm 11\%$  для животных группы ХВ и  $50 \pm 9\%$  – для группы ХН (рис. 24 Б). Таким образом, в обеих группах животных на вентральные рога приходится большая часть FOS+ нейронов, однако, при ХВ в наиболее каудальных сегментах (L5-S1) число меченных нейронов в промежуточном сером веществе, дорзальных и вентральных рогах практически одинаково (рис. 24 В), чего не наблюдается при вызванной ХН (рис. 24 Г).

В латеральной части вентральных рогов в сегментах L4-S1 FOS+ нейроны также выявлены в крупных ядрах, локализация которых соответствует положению мотонейронных пулов (рис. 24 А, с). Их количество незначительно и составляет 1-2,5%. Как правило, эти немногочисленные крупные иммунопозитивные ядра расположены внутри хорошо различимых на срезе (благодаря фоновому окрашиванию цитозоля; рис. 24 А, р) крупных клеток, площадь которых достигает  $2600 \pm 80$  мкм<sup>2</sup> (рис. 24 А, р, с). Это позволяет полагать, что данные FOS+ ядра локализованы в мотонейронах. Информация о способности мотонейронов экспрессировать белок c-Fos в ответ на локомоторную стимуляцию ранее была представлена в работах X. Dai и коллег (2005), S.N. Ahn и коллег (2006) и B. Noga и коллег (2009). Таким образом, выявленная в мотонейронах FOS+ метка не является артефактивной, а параметры и длительность вызванной ходьбы достаточны для индукции в них раннего гена *c-fos*.

В *пластине X*, локализованной вокруг центрального канала, выявлено незначительное количество FOS+ нейронов для обеих групп животных. При этом наибольшее их число наблюдается в самых каудальных сегментах (L7 и S1) и составляет 2,8-3,5% (рис. 24 В, Г).

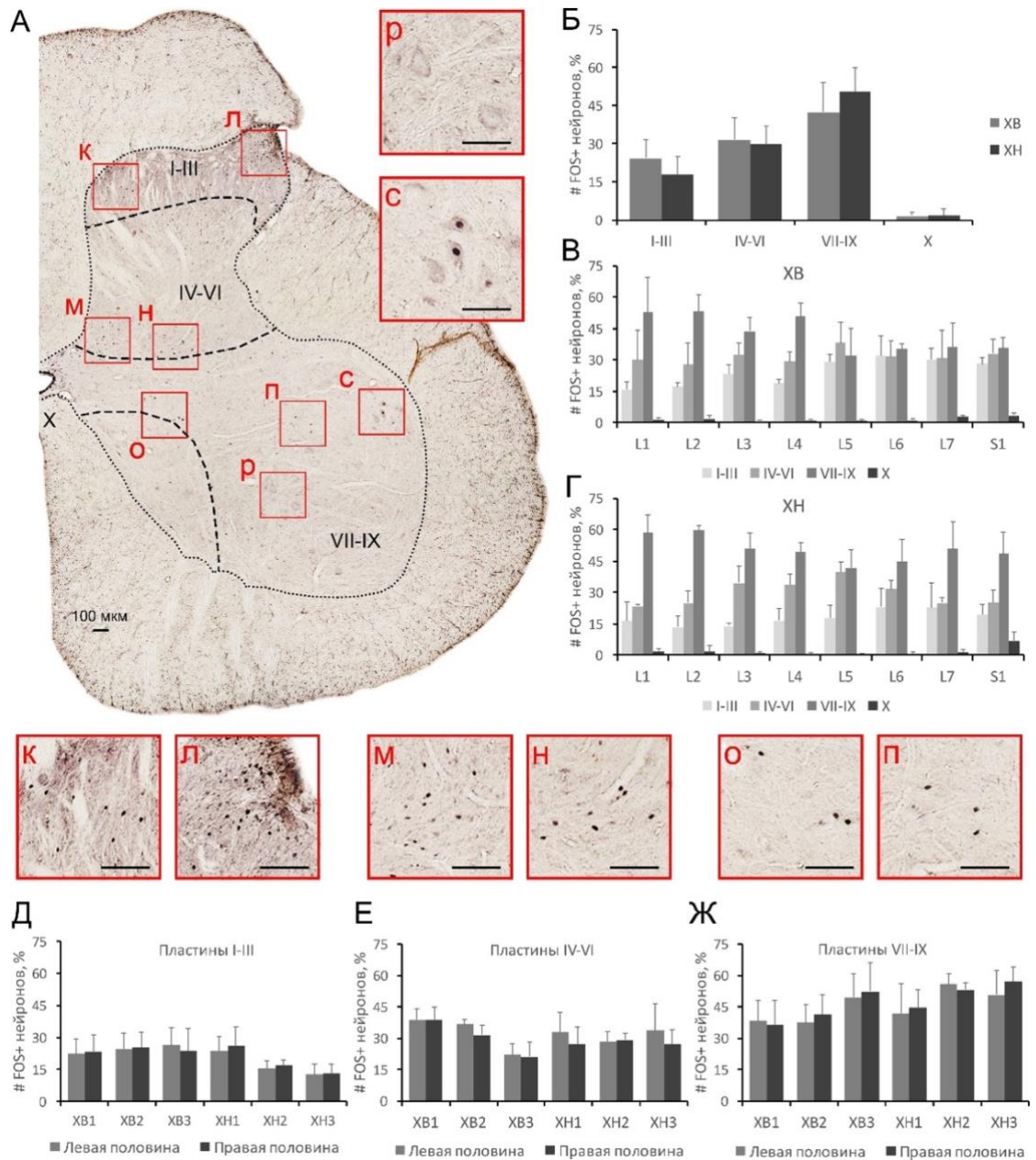


Рисунок 24. Ламинарное распределение  $FOS^+$  нейронов в сером веществе спинного мозга кошки при вызванной ходьбе в разных направлениях. А - основные зоны локализации  $FOS^+$  нейронов: к, л – ядра  $FOS^+$  нейронов дорзальных рогов; м, н – соответственно, медиальный и латеральный кластер ядер  $FOS^+$  нейронов промежуточного серого вещества; о, п – ядра  $FOS^+$  нейронов вентральных рогов; р – сома  $FOS$ -негативных мотонейронов; с – ядра  $FOS^+$  мотонейронов. Б – усредненные по группе животных (XB и XH) значения процентного распределения  $FOS^+$  нейронов в пластинах I-III, IV-VI и VII-IX; В, Г – усредненные значения процентного распределения  $FOS^+$  нейронов в группах пластин серого вещества каждого исследуемого сегмента (L1-S1) спинного мозга животных (соответственно, групп XB и XH); Д, Е, Ж – усредненные значения процентного распределения  $FOS^+$  нейронов по пластинам I-III, IV-VI и VIII-IX, соответственно. На диаграммах представлены средние значения + стандартное отклонение, по оси ординат – процентное число  $FOS^+$  нейронов, по оси абсцисс – номера пластин (Б), сегментов (В, Г) и животных (Д, Е, Ж).

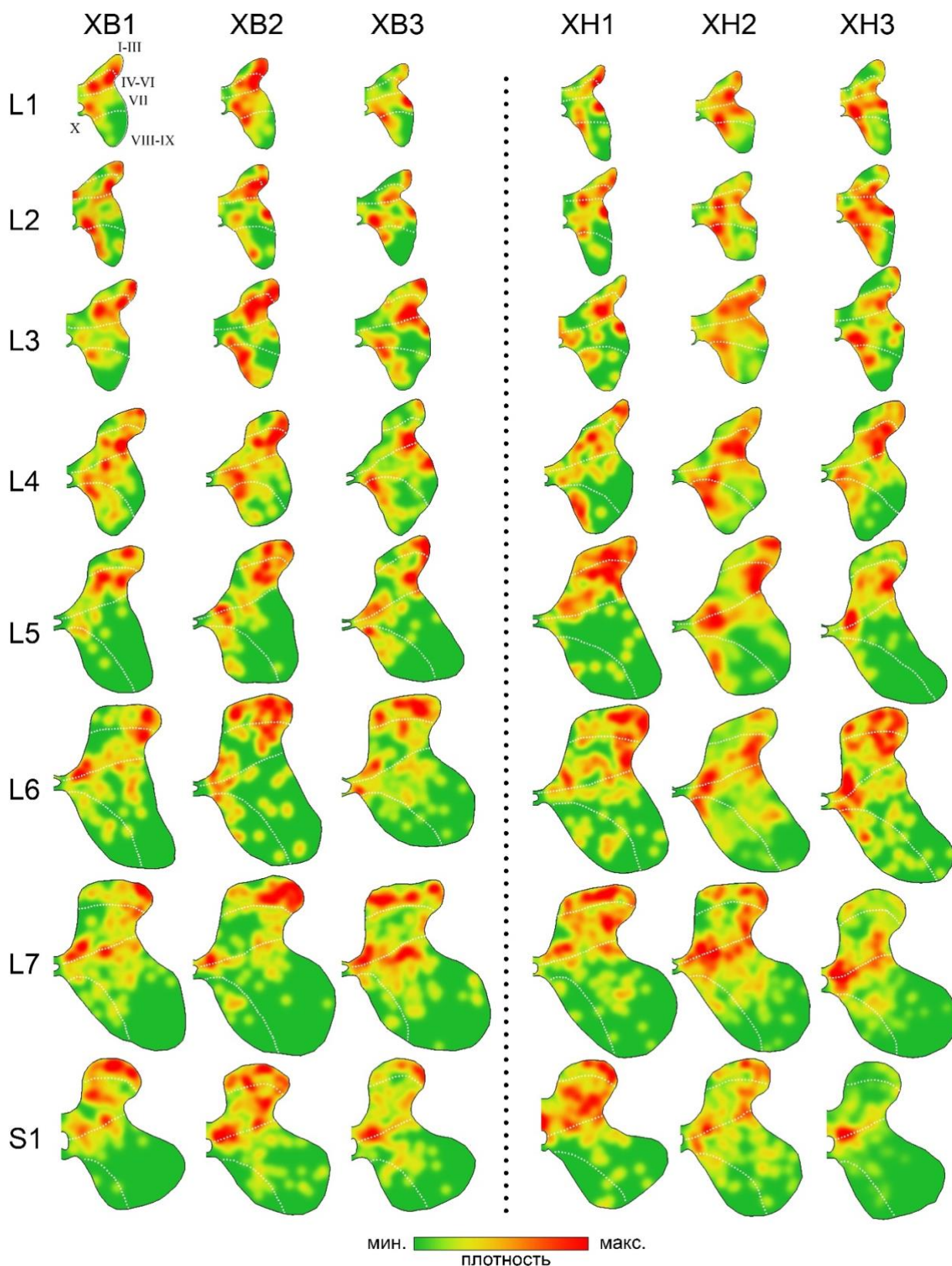


Рисунок 25. Плотность  $FOS+$  нейронов в сером веществе сегментов L1-S1 спинного мозга животных групп XB и XH. Представлены правые половины серого вещества спинного мозга, поделенные штриховыми линиями на пластины. Зелено-красный градиент (индивидуальный для каждого сегмента) отражает плотность  $FOS+$  нейронов от минимального до максимального значения.

Таким образом, преобладающая часть активированных клеток представлена интернейронами, распределенными в большинстве пластин. Общая картина ламинарного распределения FOS+ нейронов сходна у всех животных (рис. 25). При этом области с наибольшей плотностью FOS+ нейронов не определены границами одной пластины серого вещества, а скорее локализованы в определенных частях нескольких. Так, были выявлены 3 основные зоны локализации FOS+метки: 1) латеральная часть дорзальных рогов (пластины II-III), 2) промежуточная область серого вещества (на границе пластин VI и VII), 3) медиальная часть вентральных рогов (пластина VIII).

## **2.2 Алгоритм регионального деления серого вещества спинного мозга**

При анализе распределения FOS+ нейронов мы ориентировались на классическое дорзовентральное деление серого вещества на пластины, предложенное В. Rexed в 1952 году. В своих работах Rexed (1952, 1954) описал цитоархитектонику и топографию серого вещества сегментов всех отделов нормального спинного мозга кошки. Используя множество гистохимических методик окрашивания (толлуидиновым синим, крезил-виолетом, галлоцианином по Эйнарсону, по Кульчицкому, Вейлу, Бодиэну, Дэвенпорту, Пылгрэну) разных по толщине поперечных срезов (5-100 мкм), В. Rexed выявил 10 цитоархитектонических областей, следующих друг за другом от дорзальной до вентральной поверхности серого вещества и назвал их пластинами (подробнее см. главу 1.4).

В данной работе выявлено, что локализация FOS+ нейронов не определяется границами цитоархитектонических пластин. Чаще области наибольшей плотности FOS+ метки занимают определённую лишь часть пластины, охватывают сразу несколько пластин или локализуются на границе между двумя или тремя пластинами (рис. 26 А). В. Rexed в своей работе (1952) писал, что в предложенном им методе деления серого вещества есть определенная степень схематизации, пластины являются областями с

характерными свойствами, но их границы – зонами перехода, где характерные черты иногда меняются резко, а иногда более плавно. В связи с этим, при анализе полученных данных подсчет FOS+ нейронов проводили не в каждой отдельной пластине, а в группе из нескольких: 1) пластины I-III – первичная сенсорная область серого вещества, 2) пластины IV-VI – рефлексогенные зоны с преобладанием корковых влияний, 3) пластины VII-IX – рефлексогенные зоны с бульбо- и проприоспинальными связями, а также функциональными группами мотонейронов, 4) пластина X – область, нейроны которой формируют комиссуральные связи (Rexed, 1952).

Но даже при таком подходе, области кластеризации FOS+ нейронов локализованы на границе между группами пластин или в конкретной части данных групп (рис. 26 Б, В). Таким образом, несмотря на то, что ламинарный подход, предложенный В. Rexed, обоснован цитоархитектонически, он не позволяет оценить функциональные области серого вещества, чаще не привязанные к границам пластин. В связи с этим возникла необходимость иного метода деления серого вещества, позволяющего анализировать его функциональные области.

Для выполнения поставленной цели был адаптирован алгоритм деления серого вещества, предложенный М. Matsushita (1970) при изучении интернейронов спинного мозга (рис. 26 Е). В своей работе М. Matsushita, поделил серое вещество горизонтальными, вертикальными и наклонными линиями на 14 зон интереса. При этом реперными точками выступили места наибольшей протрузии серого вещества в белое.

В нашем исследовании, основываясь на полученных данных по распределению FOS+ нейронов, мы модифицировали алгоритм М. Matsushita. Его особенности представлены на рисунке 26 Д. В качестве реперных точек, через которые проводили линии, формирующие зоны интереса, выступали области протрузии белого вещества в серое, вентральная и дорзальная срединные борозды и центральная точка спинномозгового канала. Через них проводили вертикальные (v1, v2, v3), горизонтальные (h1, h2, h3) и наклонные

(o1, o2, o3, o4) линии, делящие все пространство серого вещества на шесть областей. Линию v1 проводили через точки протрузии белого вещества в латеральные зоны серого (точки С) параллельно линии, проходящей через вентральную и дорзальную срединные борозды; линии h1 и h2 — перпендикулярно v1 через наиболее дорзальные и наиболее вентральные точки окологанального серого вещества, соответственно (точки А и В). Линией o1 соединяли точку В с местом пересечения линии v1 с поверхностью вентрального рога (точка D). Через середину линии o1 (точка E) проводили линию v2 (параллельно v1); которая, пересекаясь с h2, формирует точку F. Через точку С параллельно h1 и h2 проводили линию h3, пересекающую v2 в точке G. Параллельно v1 и v2 через срединную точку отрезка CG (точка H) проводили линию v3. Линии o2, o3 и o4 получали, соответственно, при соединении образовавшихся точек I и F, А и В, D и F. Таким образом, всю площадь серого вещества поделили на 6 областей интереса: две в дорзальных рогах (медиальная и латеральная дорзальные зоны, ДМ и ДЛ), две в вентральных рогах (медиальная и латеральная вентральные зоны, ВМ и ВЛ) и две в центральной зоне (медиальная и латеральная центральные зоны, ЦМ и ЦЛ).

На рисунке 26 Г изображено, как соотносятся между собой два вышеописанных метода деления серого вещества. Локализация зон ДМ и ДЛ соответствует местоположению пластин I-IV. Зоны ЦМ и ЦЛ полностью захватывают пластины V, VI, X, дорзальную и дорзомедиальную часть пластины VII. Остальная часть пластины VII, а также пластины VIII и IX, сосредоточены в зонах ВМ и ВЛ.

Несмотря на то, что в настоящей работе анализу подвергались все сегменты от L1 до S1, метод регионального деления был применен только к сегментам пояснично-крестцового утолщения (L4-S1), ЭС которых приводит к активации локомоторных сетей (см. главу 3.1.1.). Кроме того, геометрия серого вещества более ростральных сегментов (L1-L3) существенно отличается от остальных, в результате чего стандартизированный метод его деления приводит к формированию искаженных непропорциональных областей серого вещества.



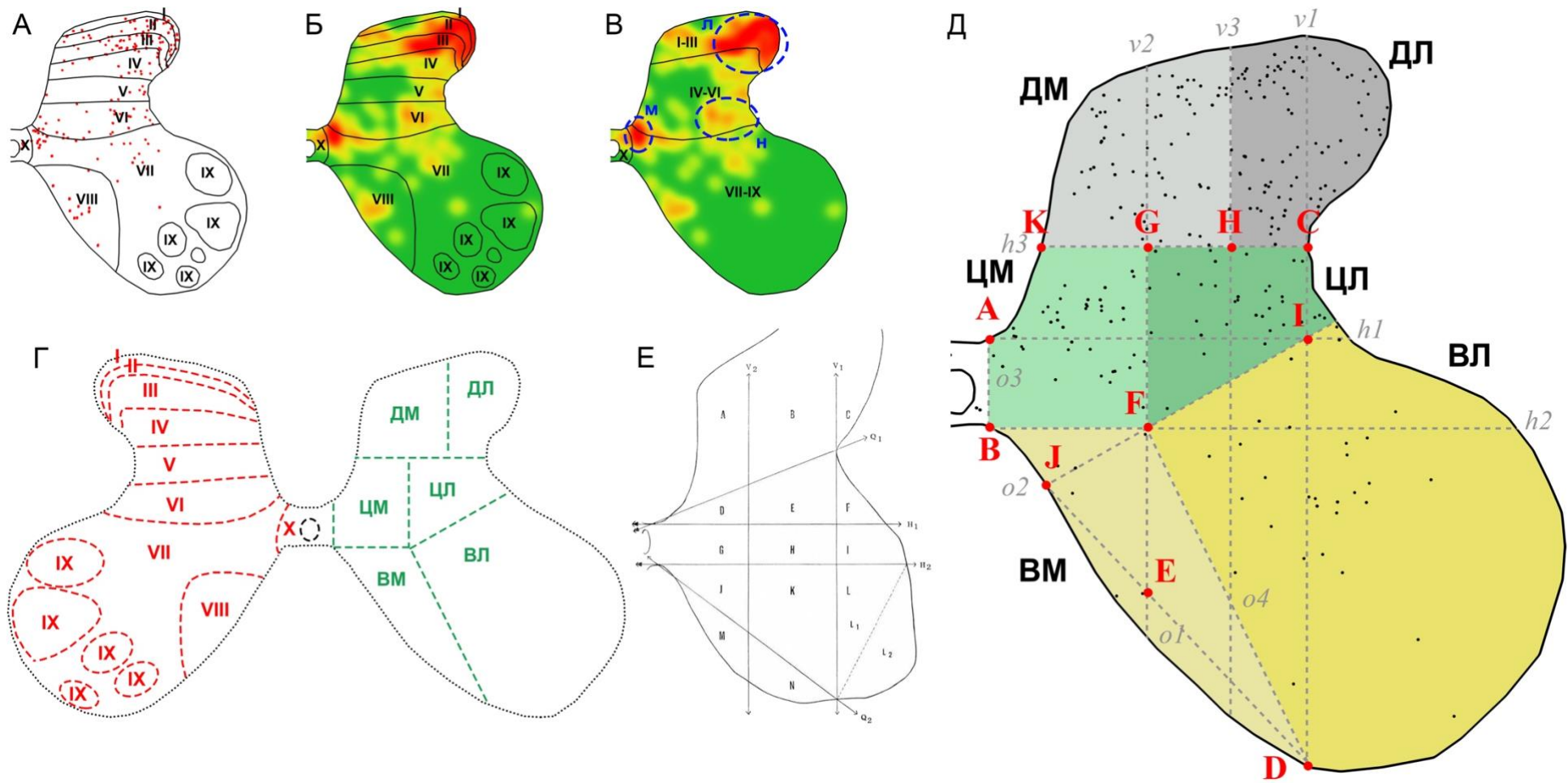


Рисунок 26. Схемы деления серого вещества спинного мозга кошки. А, Б, В – правые половины Total-изображений поперечных срезов L7 сегмента с отмеченными FOS+ ядрами (красные точки на А) и картами плотности (зелено-красный градиент на Б и В), римскими цифрами пронумерованы пластины серого вещества по Rexed (1952, 1954); л – дорзолатеральный кластер FOS+ нейронов дорзальных рогов, м, н – медиальный и латеральный кластеры FOS+ нейронов промежуточного серого вещества; Г – соотношение между положением областей серого вещества при разных видах его деления; Д – адаптированный алгоритм деления серого вещества на зоны интереса (пояснения в тексте); Е – алгоритм деления серого вещества по М. Matsushita (1970).

### 2.3 Распределение c-Fos-иммунопозитивных нейронов по функциональным областям серого вещества при вызванной ходьбе в разных направлениях

С помощью модифицированного метода геометрического деления серого вещества были проанализированы поперечные срезы спинного мозга животных с вызванной ХВ (n=3) и ХН (n=3) после иммуногистохимического выявления белка c-Fos (рис. 27 А). Подсчет FOS+ нейронов осуществляли в каждой из 6 зон интереса (ДЛ, ДМ, ЦЛ, ЦМ, ВЛ и ВМ) с левой и правой половины серого вещества.

В целом, процентное распределение FOS+ нейронов в каждой из 6 зон интереса по сегментам L4-S1 у животных обеих групп схоже (рис. 27 Б). Наибольшая доля FOS+ нейронов приходится на зоны их кластеризации – ДЛ и ЦМ (соответственно,  $31\pm 9\%$  и  $21\pm 4\%$  для ХВ,  $28\pm 7\%$  и  $23\pm 8\%$  для ХН). Зоны ДМ и ЦЛ содержат несколько меньшее количество FOS+ нейронов – соответственно,  $18\pm 9\%$  и  $21\pm 4\%$  для ХВ и  $13\pm 6\%$  и  $23\pm 8\%$  для ХН. Меньше всего клеток представлено в вентральной части серого вещества – ВМ и ВЛ (соответственно,  $7\pm 4\%$  и  $9\pm 5\%$  для ХВ,  $7\pm 4\%$  и  $11\pm 5\%$  для ХН). Подобная картина относительного распределения FOS+ нейронов по зонам интереса представлена во всех исследуемых сегментах (L4-S1) обеих групп животных, за исключением зон ВМ и ВЛ (рис. 27 В, Г). В наиболее роstralных сегментах (L4-L5) на ВМ приходится несколько больший процент FOS+ нейронов, чем на ВЛ. Число FOS+ нейронов в этих двух зонах уравнивается в L6 сегменте, а в самых каудальных (L7-S1) происходит полная инверсия в распределении метки.

Среднее число FOS+ нейронов в каждой из зон спинного мозга обеих групп представлено на рисунке 28 А (FOS+ нейроны с левой и правой половины серого вещества одной и той же зоны суммировались). У животных группы ХН в сегментах L6 и L7 количество FOS+ нейронов в зонах ЦЛ ( $p=0,019$ ;  $p=0,036$ ), ЦМ ( $p=0,042$ ;  $p=0,002$ ) и ВЛ ( $p=0,031$ ;  $p=0,007$ ) значительно выше, чем у кошек группы ХВ. Также, у ХН животных значительно больше FOS+ нейронов в зонах ДЛ ( $p=0,001$ ) и ВМ ( $p=0,005$ ) в сегменте L6. Таким образом, было выявлено, что

участок спинного мозга (L6-L7), с которого ЭС вызывается ходьба назад, содержит значительно больше FOS+ нейронов. Это могло быть объяснено прямой активацией электрическим током нейронов, локализованных под эпидуральным электродом. Чтобы проверить данную гипотезу, мы сравнили количественное распределение FOS+ нейронов у животных XB2 и ХН2, у которых ходьба вызывалась ЭС одинаковых сегментов, а параметры тока имели схожие характеристики (196 мкА и 219 мкА, соответственно) (рис. 28 Б). Среднее число всех FOS+ нейронов, выявленных на поперечных срезах сегмента L6 у животного ХН2 в три раза больше, чем у XB2; сегмента L7 – в два раза (рис. 28 В). Между остальными сегментами такой разницы не наблюдается. Разница между животными XB2 и ХН2 в количестве FOS+ нейронов в исследуемых зонах интереса серого вещества L4-S1 сегментов подобна той, которая была выявлена при сравнении средних значений по группам. Так, наибольшие различия выявлены в центральной (ЦМ и ЦЛ) и вентральной (ВМ и ВЛ) зонах сегментов L6-L7 (рис. 28 В). Тем самым доказано, что количественные различия в распределении FOS+ нейронов между животными групп XB и ХН связаны с направлением локомоции, а не местом приложения эпидурального стимулирующего электрода.

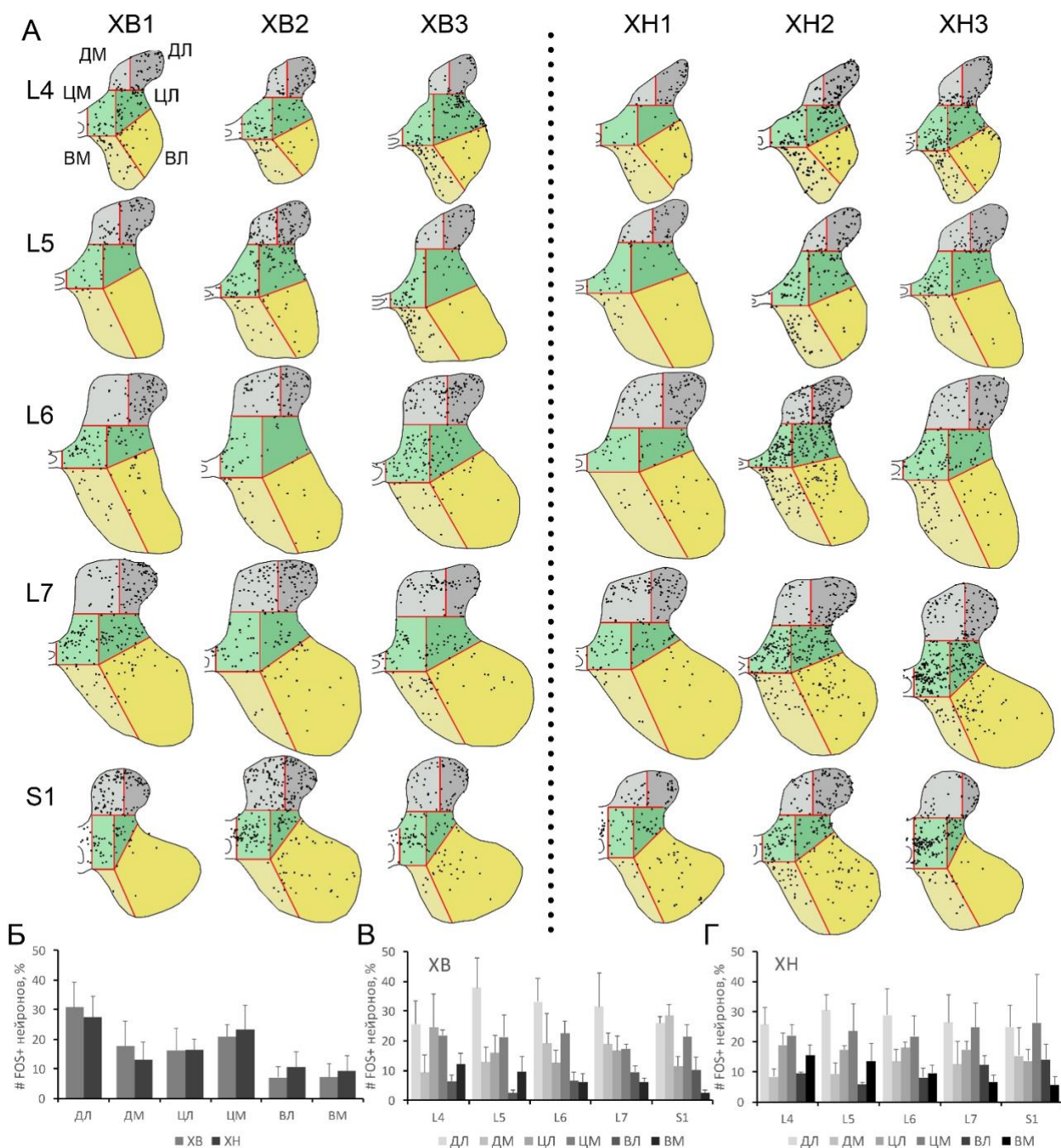
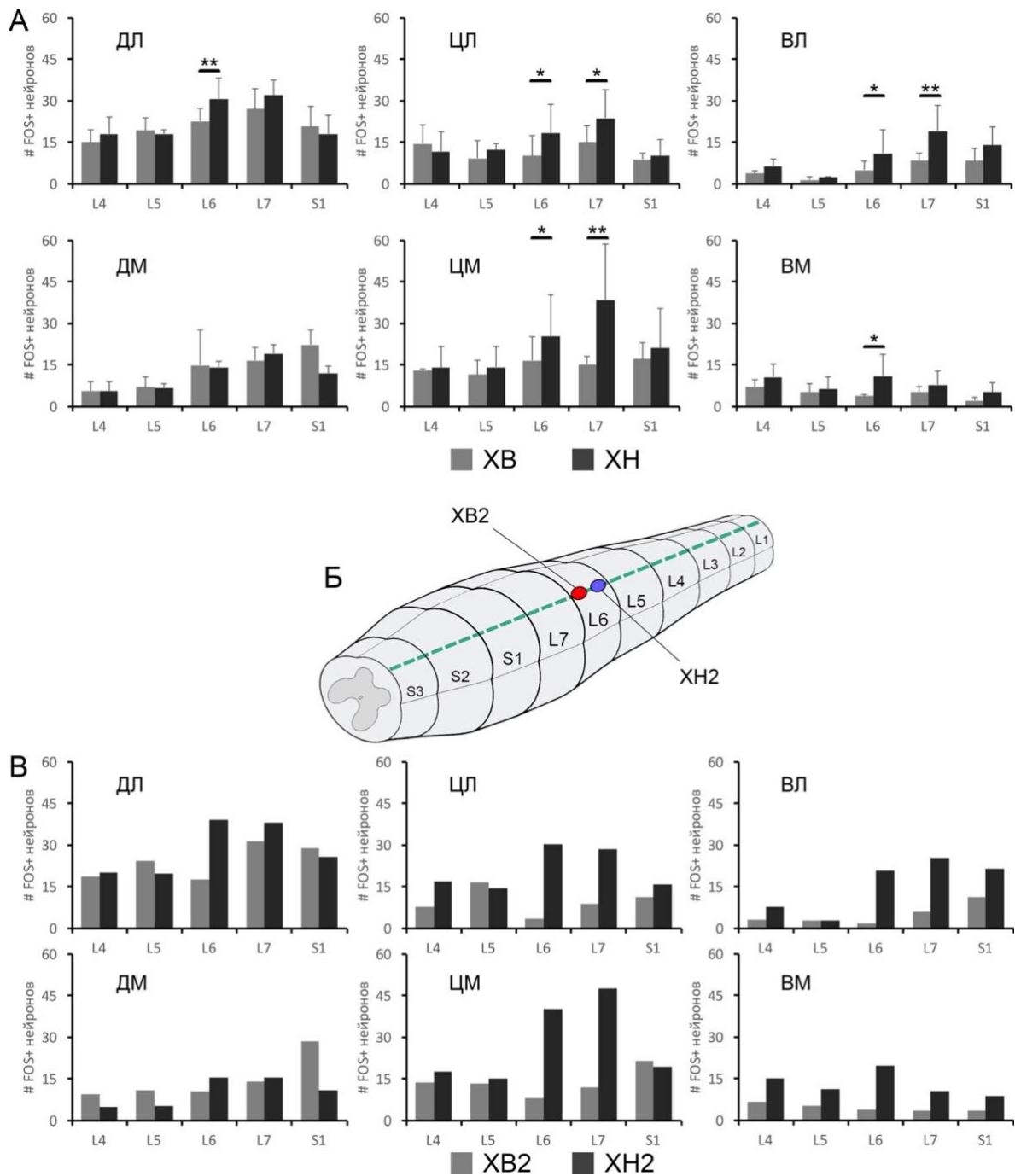


Рисунок 27. Распределение *FOS*+ нейронов по зонам интереса (ДЛ, ДМ, ЦЛ, ЦМ, ВЛ и ВМ) серого вещества сегментов L4-S1 спинного мозга животных групп XB и XH. А – правые половины серого вещества спинного мозга, поделенные красными линиями на зоны интереса; Б – среднее число *FOS*+ нейронов в каждой из зон интереса у животных групп XB и XH; В, Г – усредненное по животным каждой группы (соответственно, XB и XH) число *FOS*+ нейронов в зонах интереса сегментов L4-S1. По оси ординат – процентное число *FOS*+ нейронов, по оси абсцисс – названия зон интереса серого вещества (Б), номера сегментов спинного мозга (В, Г). На всех диаграммах представлены средние значения + стандартное отклонение.



**Рисунок 28.** Сравнение распределений *FOS*+ нейронов в зонах интереса (ДЛ, ДМ, ЦЛ, ЦМ, ВЛ и ВМ) серого вещества спинного мозга у животных групп XB и XH. А – среднее число *FOS*+ нейронов в каждой зоне интереса серого вещества (среднее значение + стандартное отклонение); Б – точки приложения эпидурального стимулирующего электрода у животных XB2 и XH2; В – число *FOS*+ нейронов в каждой зоне интереса серого вещества спинного мозга животных, у которых ходьба вызывалась ЭС сегмента L6 (XB2 и XH2). На всех представленных диаграммах по оси ординат – абсолютное число *FOS*+ нейронов, по оси абсцисс – номера сегментов спинного мозга. \* –  $p < 0,05$ ; \*\* –  $p < 0,01$ ; \*\*\* –  $p < 0,001$ .

## 2.4 Специфичность метода выявления белка c-Fos в нейронах, активированных вызванной ходьбой

Для того, чтобы доказать специфичность FOS+ метки, мы сопоставили особенности распределения иммунопозитивных нейронов в сером веществе спинного мозга у животных с разным временем ЭС (временной фактор) и различным паттерном вызванной ходьбы (искусственно измененной). В первом случае мы сравнили животных с коротким периодом ходьбы и оптимальным для накопления наибольшей концентрации c-Fos белка в активированных нейронах (подробнее см. приложение к методам исследования). Во втором случае мы проверили, как смещение положения эпидурального стимулирующего электрода влияет на особенности кинематики задних конечностей и распределение FOS+ нейронов в спинном мозге при вызванной ходьбе.

**Временной фактор.** Для исследования данного фактора мы сравнили животное, двигательная активность которого составляла 30 минут (кХВ), с кошками (ХВ1, ХВ2, ХВ3), локомотивующими в течение 1,5-2 часов (группа ХВ) (рис. 29 А). Несмотря на короткий период локомоции, на поперечных срезах спинного мозга животного кХВ были выявлены FOS+ нейроны. Полученные данные согласуются с результатами исследования S. Ahn и коллег (2006), которые показали наличие FOS+ метки в сером веществе спинного мозга крыс после короткого периода ходьбы. На Total-изображениях срезов сегментов L1-S1 у кХВ выявлено 577 FOS+ нейронов, что значительно меньше, чем у животных с длительной ходьбой вперед (ХВ1 – 2046, ХВ2 – 2088, ХВ3 – 2215) (рис. 29 Б). Та же картина наблюдается для каждого исследуемого сегмента по отдельности (рис. 29 В).

Региональный паттерн распределения FOS+ нейронов на поперечных срезах сегментов L1-S1 у всех животных с вызванной ходьбой вперед схож независимо от времени ЭС (рис. 30). Так, наибольшая плотность FOS+ нейронов наблюдается в латеральной части пластин II-IV (ДЛ зона), на границе пластин VI, VII и X (ЦМ и ЦЛ зоны) и в медиальной части пластин VII-VIII (ВМ зона)

(рис. 30). При этом, в отличие от животных с длительной ходьбой, у кХВ на дорзальную область (особенно зону ДЛ) в процентном выражении приходится значительно большее количество FOS+ нейронов (рис. 29 Г). Несмотря на этот факт, абсолютное число FOS+ нейронов данной зоны в каждом сегменте спинного мозга остается значительно ниже, чем у любого представителя группы ХВ (рис. 29 Д).

Таким образом, полученные данные свидетельствуют о том, что при коротком периоде вызванной ходьбы активируются нейроны тех же областей серого вещества спинного мозга, что и при длительном.

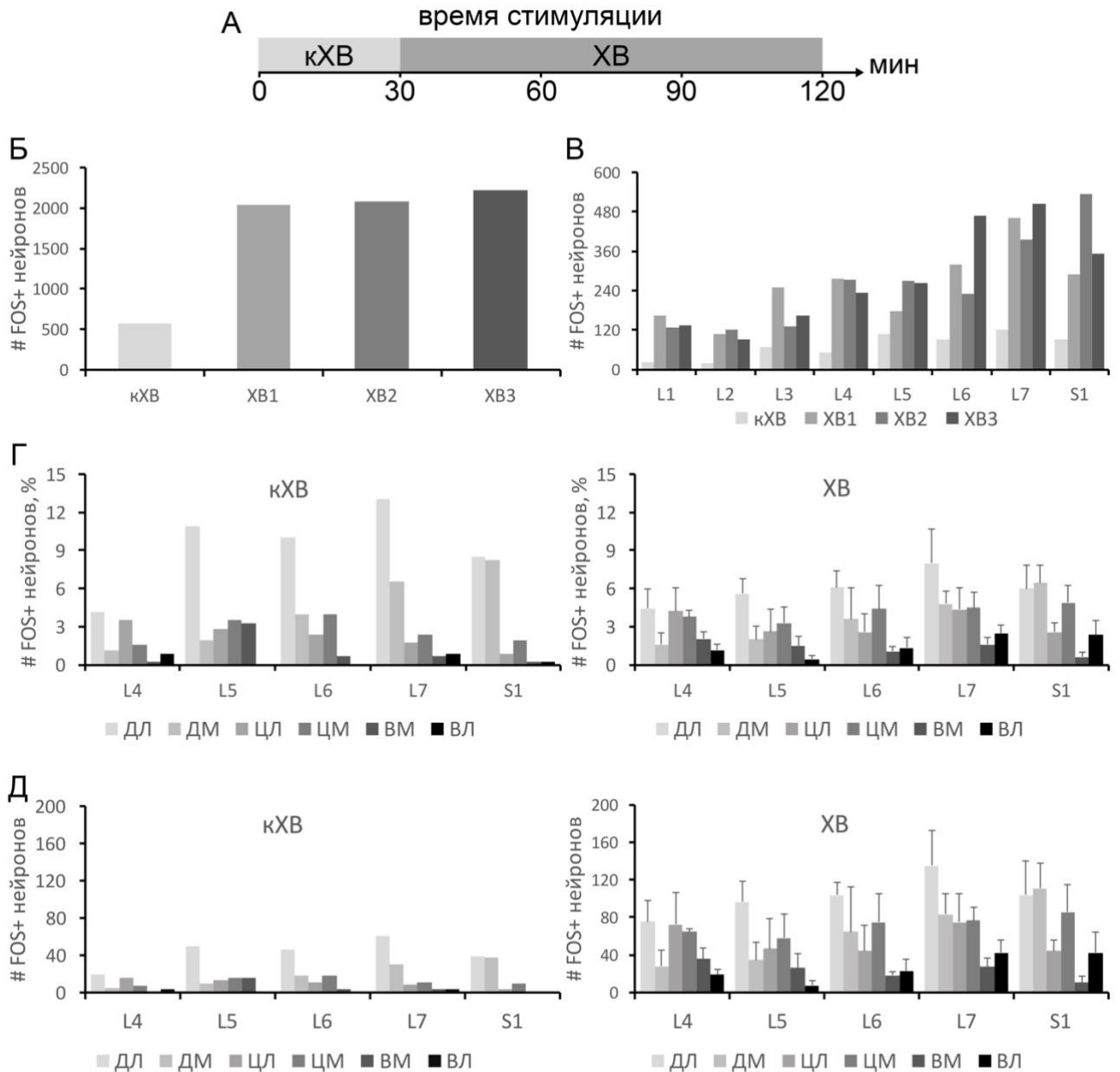
***Искусственно измененный паттерн ходьбы.*** В данной части работы оценили количественное соотношение иммунопозитивных клеток в левой и правой частях серого вещества сегментов L4-S1 у животных с разным паттерном вызванной ходьбы назад: симметричной (ХН2) и асимметричной (ХН1) (рис. 31 В). Асимметрию ходьбы у животного ХН1 провоцировали смещенным на 1 мм в левую половину спинного мозга эпидуральным электродом (рис. 31 Б). В результате такой стимуляции наблюдалось ухудшение локомоторных движений на контралатеральной относительно электрода (правой) конечности, а именно укорочение фазы опоры и удлинение фазы переноса в ходе локомоторного цикла (рис. 31 В). При этом амплитуда горизонтального компонента шага назад при движении правой конечности была значительно ниже, чем при движении левой (рис. 31 А).

На рисунке 31 Г изображено количество FOS+ нейронов в правой и левой половинах серого вещества сегментов L4-S1 у животных ХН1 и ХН2. У ХН2 с симметричной ходьбой количество FOS+ нейронов в разных половинах серого вещества различается, за исключением сегмента L7. Однако, у животного ХН1 (с асимметричным паттерном шагания) на правой стороне серого вещества всех сегментов L5-S1 наблюдается значительно меньшее количество иммунопозитивных ядер, чем на левой. Полагаем, при такой локомоции, в правой половине серого вещества спинного мозга вовлекается меньшее

количество нейронов, принимающих участие в контроле ХН. Наиболее очевидны различия в зонах ДЛ, ДМ и ЦМ (рис. 31 Е).

Таким образом, полученные данные свидетельствуют о том, что особенности кинематики локомоторных движений существенно влияют на активность нейронов, участвующих в контроле за ходьбой. Этот факт, вкпе с первым, подтверждают специфичность FOS+ метки в сером веществе спинного мозга при вызванной ходьбе.





*Рисунок 29. Особенности распределения FOS+ нейронов в сером веществе спинного мозга у животных с разным временем ЭС. А – время стимуляции у животных с вызванной ходьбой вперед; Б – абсолютное число FOS+ нейронов на Total-изображениях срезов сегментов L1-S1 всех животных с вызванной ходьбой вперед; В – абсолютное число FOS+ нейронов в каждом исследуемом сегменте спинного мозга всех животных с вызванной ходьбой вперед; Г – процентное распределение FOS+ нейронов по зонам интереса серого вещества в каждом исследуемом сегменте спинного мозга у животного кХВ и представителей группы ХВ (среднее значение + стандартное отклонение); Д – абсолютное число FOS+ нейронов в зонах интереса серого вещества в каждом исследуемом сегменте у животного кХВ и представителей группы ХВ (среднее значение + стандартное отклонение). По оси ординат – абсолютное (Б, В, Д) и процентное число (Г) FOS+ нейронов, по оси абсцисс – номера животных (Б) и сегментов (В, Г, Д).*

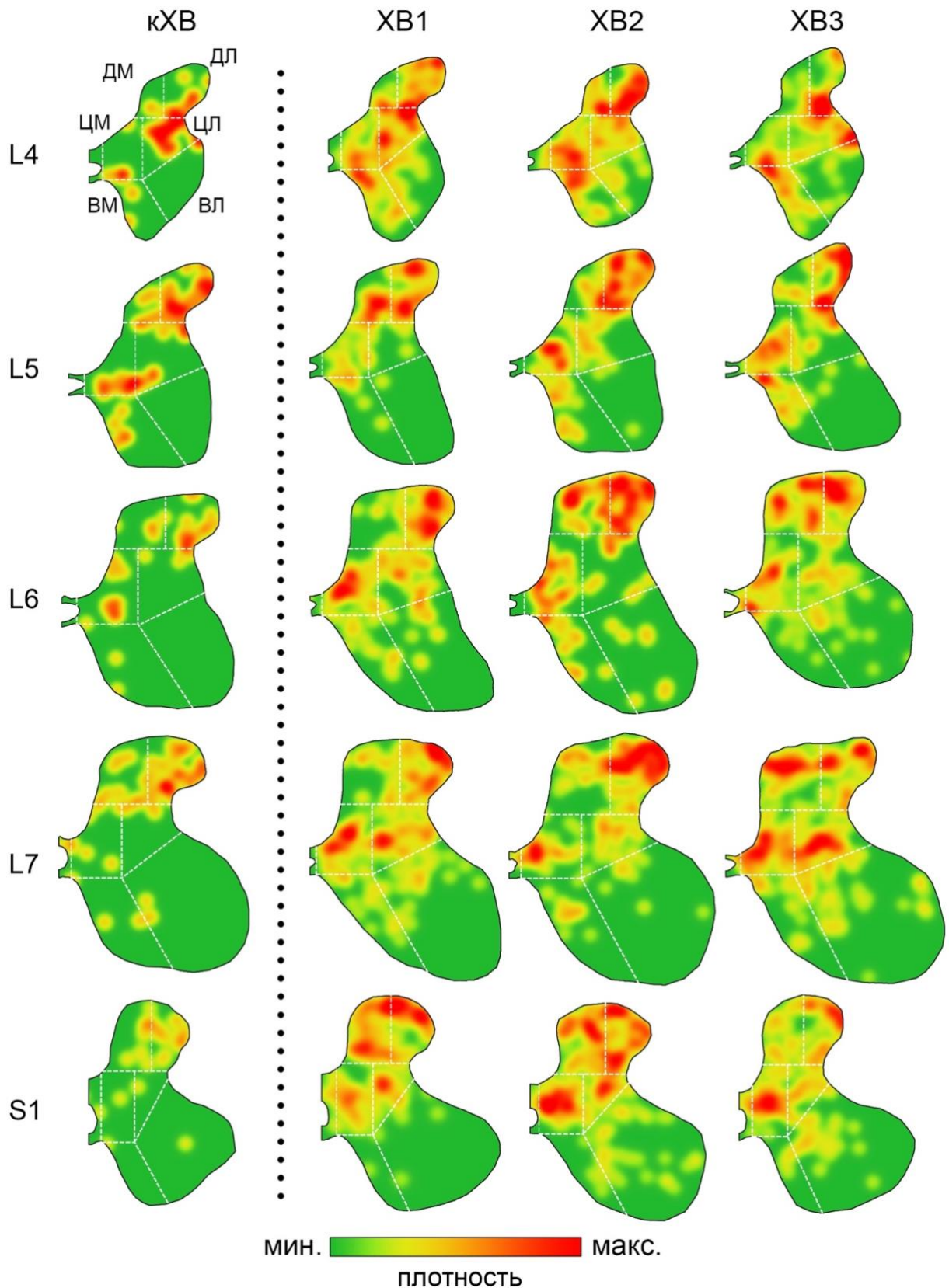


Рисунок 30. Плотность *FOS+* нейронов в зонах интереса серого вещества сегментов L4-S1 спинного мозга у животного кХВ и представителей группы ХВ. Представлены правые половины серого вещества спинного мозга, поделенные на 6 зон интереса. Зелено-красный градиент (индивидуальный для каждого сегмента) отражает плотность *FOS+* нейронов.

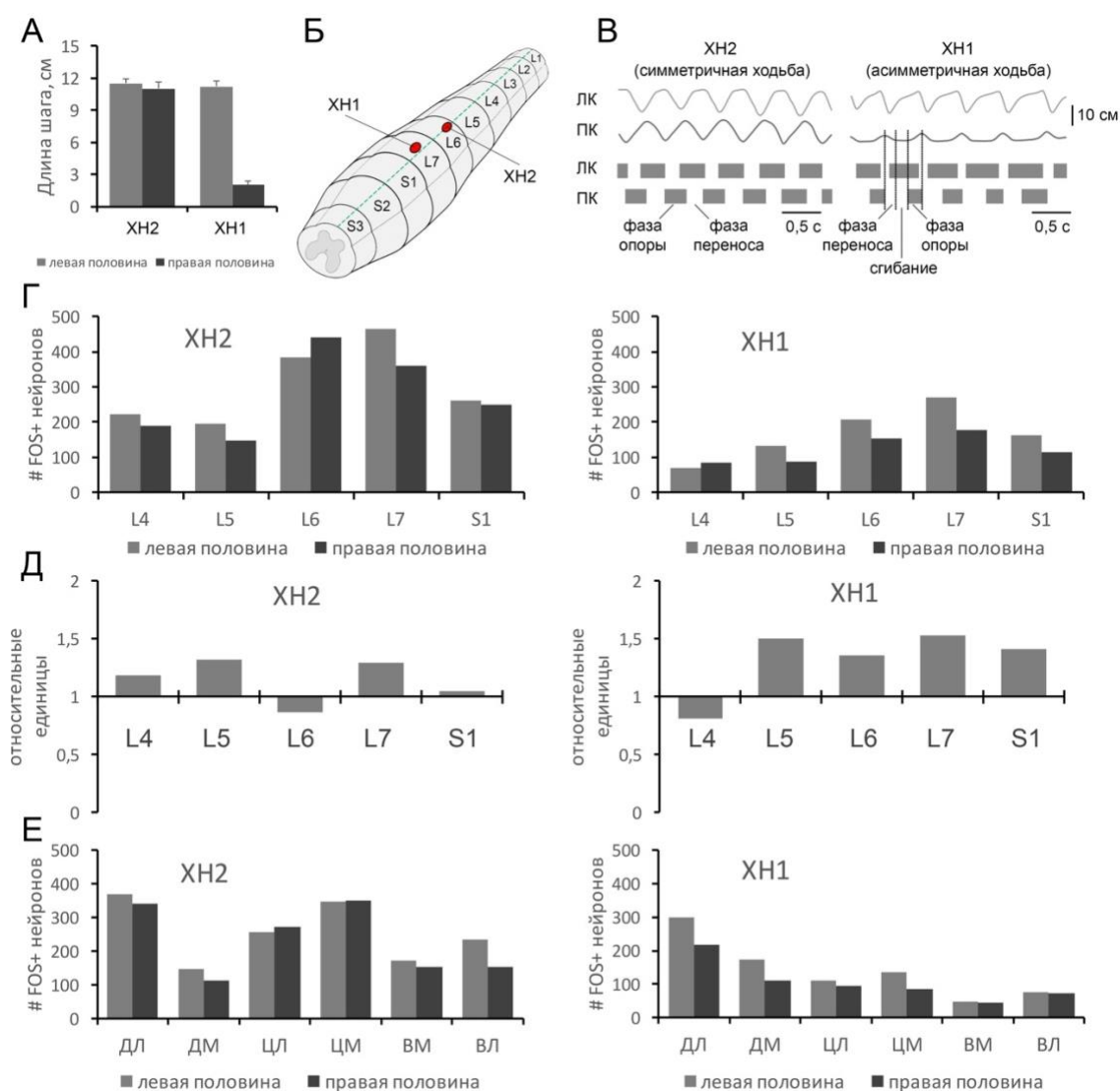


Рисунок 31. Особенности кинематики локомоторных движений задних конечностей и распределения FOS+ нейронов при разном положении эпидурального электрода относительно центральной линии спинного мозга. А – длина шага левой и правой конечностей у животных XH2 и XH1 (среднее значение + стандартное отклонение); Б – точки приложения эпидурального стимулирующего электрода у животных XH1 и XH2; В – запись локомоторных движений для правой (ПК) и левой конечности (ЛК) у животных XH2 и XH1, представлены фазы локомоторного цикла – фаза опоры (серые прямоугольники), и фаза переноса (расстояния между прямоугольниками); Г – число FOS+ нейронов в левой и правой половинах серого вещества каждого исследуемого сегмента спинного мозга у животных группы XH1 и XH2; Д – коэффициент асимметрии числа FOS+ нейронов между левой и правой половинами спинного мозга животных XH2 и XH1; Е – число FOS+ нейронов в зонах интереса серого вещества сегментов L4-S1 левой и правой половины спинного мозга у животных XH2 и XH1. По оси ординат – длина шага в см (А), относительные единицы коэффициента асимметрии числа FOS+ нейронов (Г) и абсолютное число FOS+ нейронов (Д, Е); по оси абсцисс – номера животных (А) и сегментов (Г, Д), названия зон интереса (Е).

### **Часть 3. Распределение нейронов, иммунопозитивных к кальций-связывающим белкам**

#### **3.1 Кальбиндин**

##### **3.1.1 Особенности общего распределения кальбиндин-иммунопозитивных нейронов в сером веществе сегментов L1-S1 спинного мозга**

Сети нейронов, иммунопозитивных к кальций-связывающему белку кальбиндину, были визуализированы на поперечных (n=4: K7, K8, K12 и K15) и горизонтальных (n=1: K18) срезах спинного мозга. Анализ общего распределения кальбиндин-иммунопозитивных (КЛБ+) нейронов (средние значения по сегментам L1-S1) (рис. 32 А), позволил выявить, что преобладающее их число представлено в поверхностных пластинах дорзальных рогов (пластины I-III) –  $82\pm 9\%$ . Значительно меньше КЛБ+ нейронов выявлено в пластинах IV-VI ( $14\pm 6\%$ ) и VII-VIII ( $4\pm 1\%$ ), в пластине X обнаружено менее 1%. Данные подсчеты наглядно подтверждаются картами плотности, представленными на рисунке 33. Так, наибольшая концентрация КЛБ+ нейронов представлена в дорзальных рогах и несколько меньше на границе пластин V и VI.

Между двумя половинами спинного мозга у всех животных в разных группах пластин значительной асимметрии в числе КЛБ+ нейронов выявлено не было (рис. 32 Б).

Общее количество КЛБ+ нейронов существенно зависит от сегмента, в котором они локализованы: их число градуально увеличивается от сегмента L1 к сегменту L7, в сегменте S1 наблюдается спад (рис. 32 В). Такая картина наблюдается для каждого животного, и наиболее выражена у K8 (рис. 32 Г).

С помощью карт плотности, были выявлены три основные области серого вещества с максимальной концентрацией КЛБ+ нейронов: 1) пластины II и III, 2) медиальная часть на границе пластин VII и VIII и 3) латеральная часть на границе пластин VII и VIII (рис. 33). В остальных частях серого вещества обнаружены лишь единичные КЛБ+ нейроны.

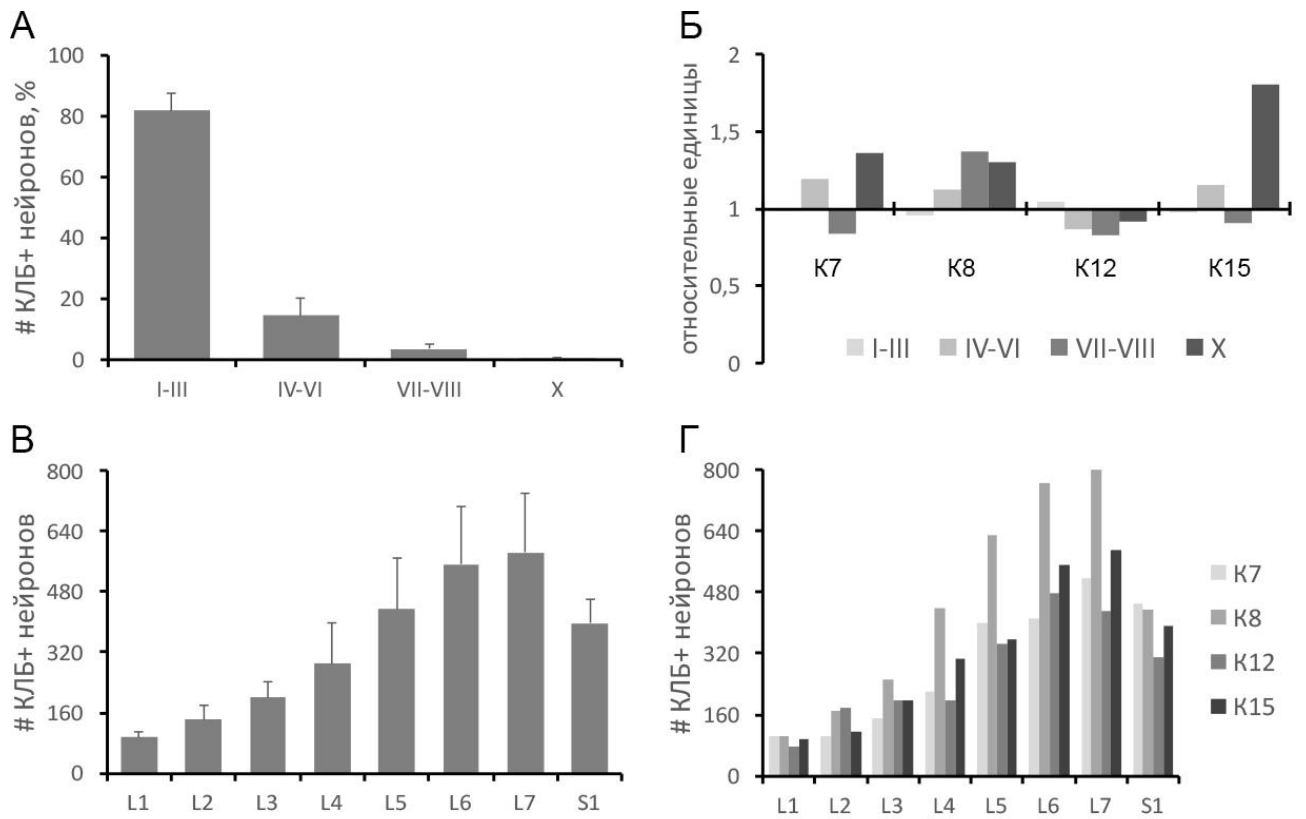


Рисунок 32. Ламинарное и сегментарное распределение КЛБ+ нейронов в сером веществе спинного мозга животных K7, K8, K12 и K15. А – усредненное по всем животным и сегментам процентное число КЛБ+ нейронов в пластинах серого вещества спинного мозга (среднее значение + стандартное отклонение); Б – отношение числа КЛБ+ нейронов в группах пластин серого вещества между левой и правой половинами спинного мозга; В – усредненное по всем животным число КЛБ+ нейронов в каждом исследуемом сегменте спинного мозга (среднее значение + стандартное отклонение); Г – усредненное по 5 срезам число КЛБ+ нейронов в каждом исследуемом сегменте спинного мозга всех животных. По оси ординат – относительные единицы (Б), процентное (А) и абсолютное (В и Г) число КЛБ+ нейронов, по оси абсцисс – номера пластин (А), животных (Б) и сегментов (В и Г).

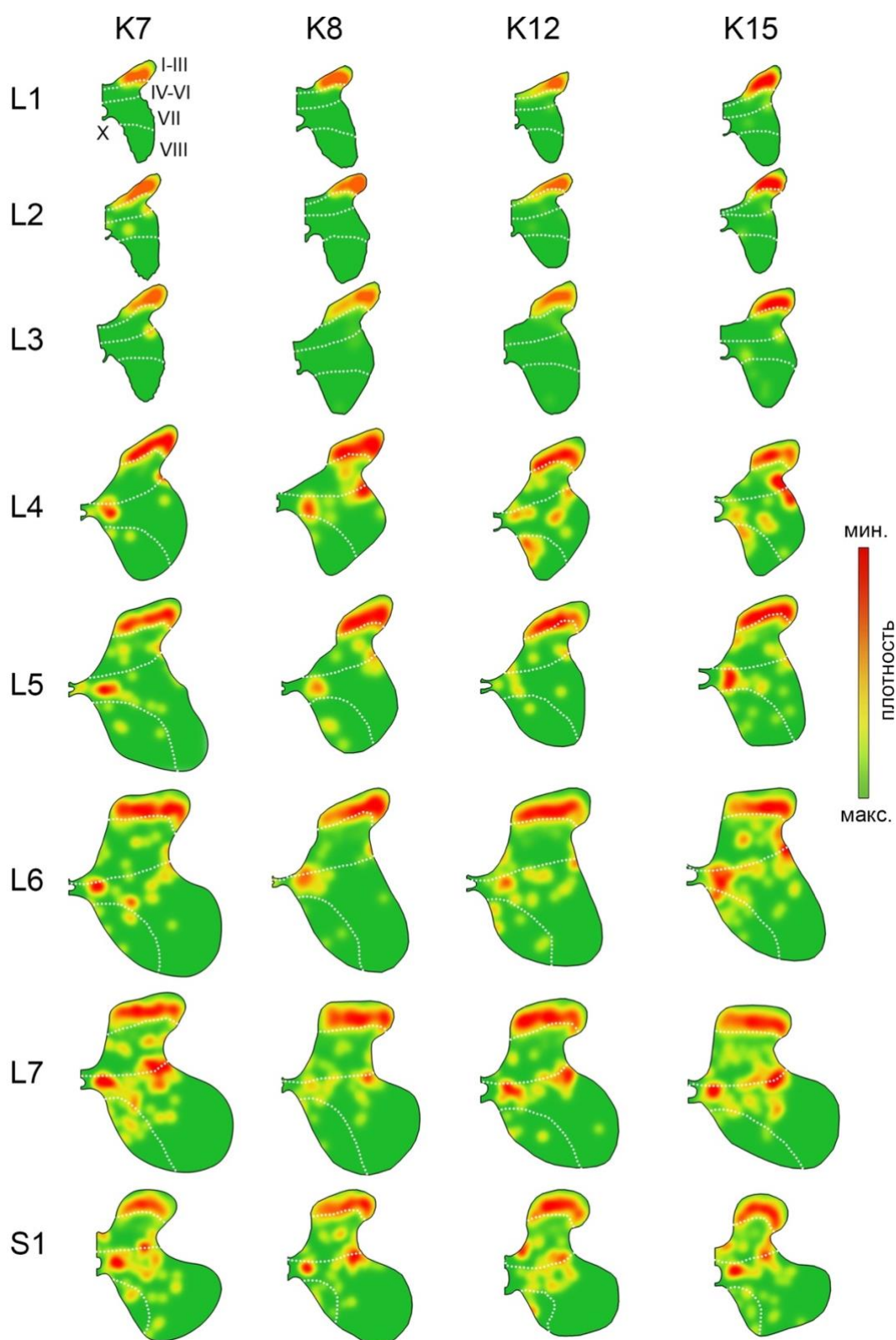


Рисунок 33. Плотность КЛБ+ нейронов в сером веществе сегментов L1-S1 спинного мозга животных K7, K8, K12 и K15. Представлены правые половины серого вещества спинного мозга, поделенные белой штриховой линией на пластины и группы пластин (I-III, IV-VI, VII, VIII, X). Зелено-красный градиент (индивидуальный для каждого сегмента) отражает плотность КЛБ+ нейронов.

### 3.1.2 Ламинарное распределение кальбиндин-иммунопозитивных нейронов

**Пластина I.** Поскольку на поперечных срезах спинного мозга узкую пластину I трудно отличить от соседнего с ней белого вещества, мы отнесли к ней нейроны, локализованные выше чётко видимой границы ярко окрашенных пластин II-III (рис. 34 А, Б). В пластине I выявлено три типа мелких клеток (площадь сомы  $172 \pm 55$  мкм<sup>2</sup>, n=56, табл. 4), имеющих овально-треугольную (рис. 34 Б) или вытянутую форму (рис. 34 А). На поперечных срезах вытянутые клетки имеют два биполярно отходящих отростка, ориентированных параллельно кривизне дорзального рога (рис. 34 А). На горизонтальных срезах (рис. 34 Е) отростки таких клеток ориентированы медиолатерально (рис. 34 В). Другие два типа КЛБ+ нейронов пластины I различимы только на горизонтальных срезах спинного мозга. Так, представители одного типа имеют вытянутую сому с отходящими длинными дендритами (в среднем 650 мкм), ориентированными в rostroкаудальном направлении (рис. 34 Д). Нейроны последнего типа имеют множество дендритов, отходящих от сомы без какой-либо конкретной направленности (рис. 34 Г). Очень редко в пластине I визуализируются бледно-окрашенные мелкие нейроны, подобные по своей морфологии тем, что представлены в пластинах II-III. В общем, число нейронов данной пластины очень мало (не более 1-6 клетки на поперечный срез), и основная их масса представлена в поясничном утолщении (L6-S1).

**Пластины II-III.** На поперечных срезах спинного мозга пластины II и III визуализируются как темноокрашенные полосы, содержащие сому мелких КЛБ+ нейронов ( $28 \pm 14$  мкм<sup>2</sup>, n=2920, табл. 4) (рис. 35). Меченные клетки данной области имеют веретеновидную форму, а их отростки ориентированы перпендикулярно кривизне дорзального рога (рис. 35 А, Б, В). Локализация КЛБ+ нейронов в пределах пластин II-III существенно зависит от сегмента. Так, в сегментах L1-L2 меченные клетки (с площадью сомы  $27 \pm 5$  мкм<sup>2</sup>, n=178) выявлены только в нижней части окрашенной зоны, вероятно, в пластине III (рис. 35 А). В L3 сегменте КЛБ+ нейроны в незначительной степени встречаются

и выше, вероятно, в пластине II, при этом площадь данных клеток несколько больше, чем у лежащих ниже ( $54 \pm 12$  мкм<sup>2</sup>, n=98). В сегментах L4-L5 КЛБ+ нейроны формируют дорзальную и вентральную полосу клеток, между которыми находится область с более светлыми нейронами (рис. 35 Б). В сегментах L6-S1 данных полос из клеток не наблюдается, КЛБ+ нейроны скорее распределены в пластинах равномерно (рис. 35 В).

Нами впервые было выявлено группирование мелких КЛБ+ нейронов в характерные кластеры клеток. Так, на некоторых поперечных срезах спинного мозга сегментов L3-L6 в пластинах II-III (иногда в II-IV) было обнаружено 3-6 кластеров КЛБ+ нейронов (рис. 36 А). Медиальные кластеры клеток, разделены между собой афферентными волокнами дорзальных корешков, чего не наблюдается для латеральных кластеров. Наиболее четко кластеры КЛБ+ нейронов заметны на горизонтальных срезах (рис. 36 В), где можно определить периодичность их проявления вдоль длинной оси спинного мозга. Среднее расстояние между кластерами составляет  $166 \pm 14$  мкм. Иногда меченные клетки пластин II-III организованы в колончатые структуры, ориентированные перпендикулярно кривизне дорзального рога (рис. 36 Б, м, н). Таким образом, КЛБ+ веретеновидные нейроны пластин II-III распределены в сером веществе не однородно, но организованы в трехмерную сеть.

Общее число КЛБ+ нейронов в пластинах II-III зависит от сегмента, в котором они локализованы: их количество градуально увеличивается от сегмента L1 к сегментам L6 и L7 (рис. 36 Г).

**Пластины IV-VI.** Значительная часть КЛБ+ нейронов данной группы пластин представлена мелкими веретеновидными клетками, локализованными на дорзальной границе пластины IV и по своим морфологии и размерам схожими с нейронами пластин II-III (рис. 37 А). Общее число таких нейронов значительно варьирует между животными, при этом существенно зависит от сегмента спинного мозга, в котором они локализованы, достигая наибольшего своего количества в сегментах L6 и L7 (рис. 37 Б).



Остальные КЛБ+ нейроны пластин IV-VI имеют значительно более крупные размеры ( $138\pm 65$ ,  $n=188$ , табл. 4), мультиполярную форму и сильное ветвление дендритов (рис. 38 А). Наибольшее число крупных КЛБ+ нейронов выявлено в сегментах L6 и L7 (рис. 38 Б). Часть нейронов локализуется на границе серого и белого вещества в латеральной и реже в медиальной области дорзальных рогов (рис. 38 А, м, о). Сомы и дендриты таких клеток направлены вдоль обозначенных границ. На границе пластин IV-V на уровне сегментов L5-L7 выявлены средние по размеру мультиполярные клетки (рис. 38 А, н). Остальные КЛБ+ нейроны пластин IV-VI распределены в сером веществе без какого-либо определенного порядка.

**Пластины VII-VIII.** В пластинках VII-VIII выявлены средние ( $159\pm 81$ ,  $n=194$ , табл. 4) мультиполярные и пирамидные КЛБ+ нейроны. Наибольшее их число локализовано в сегментах L6-S1 (рис. 39 Е). Некоторые из клеток распределены в сером веществе беспорядочно, однако многие нейроны формируют симметричные относительно центрального канала группы (рис. 39 А, Г).

Первая область локализации КЛБ+ нейронов состоит из близко расположенных друг к другу клеток и находится на дорзолатеральной границе пластины VII (рис. 39 А). На поперечных срезах клетки данной области имеют веретеновидную форму (рис. 39 А, м). Однако, при горизонтальной резке видно, что эти нейроны относятся к мультиполярным (рис. 39 А, н). Данная группа КЛБ+ нейронов (с площадью сомы  $147\pm 56$   $\mu\text{м}^2$ , табл. 4) встречается исключительно в сегментах L1-L4.

Вторая область кластеризации КЛБ+ нейронов находится на дорзальной границе пластины VII сегментов L5-S1 (рис. 39 Г). Здесь выявлено два кластера клеток: медиальный (на границе пластин VII и X) и латеральный (на границе пластин VI и VII). Медиальный кластер состоит из средних по размеру КЛБ+ нейронов ( $126\pm 36$   $\mu\text{м}^2$ ,  $n=45$ , табл. 4), у которых наблюдается слабое ветвление дендритов (рис. 39 Г, о). Латеральный кластер сформирован более крупными клетками ( $184\pm 60$   $\mu\text{м}^2$ ,  $n=56$ , табл. 4), обладающими длинными дендритами

(рис. 39 Г, п). На рисунке 39 Д представлена реконструкция данной области интереса у животного К7, полученная путем переноса координат, построенных относительно центрального канала, КЛБ+ нейронов с трех поперечных срезов на одно изображение. Размер точки на рисунке отражает относительный размер сомы нейрона. Таким образом, на данной реконструкции четко видно, что два кластера клеток на дорзальной границе пластины VII, имеют чёткие различия по площади сомы.

В пластине VII также выявлены одиночные иммунопозитивные нейроны. Наиболее часто такие нейроны встречаются в вентральной части пластины VII – на границе между пластиной VIII и мотонейронными пулами (рис. 39 Г, с).

Третья область локализации кластеров КЛБ+ нейронов выявлена в пластине VIII наиболее каудальных сегментов (L5-S1) (рис. 40 А). Клетки данной области имеют веретеновидную или мультиполярную сому (рис. 40 н, о). Некоторые нейроны в сегментах L7-S1 выявлены за пределами серого вещества (рис. 40 м). Площадь сомы нейронов пластины VIII составляет  $238 \pm 46$  мкм<sup>2</sup> (n=32, табл. 4).

**Пластина X.** В пластине X у разных животных обнаружено незначительное число мелких и средних по размеру нейронов, при этом большая их часть у каждой кошки локализована в сегменте L7 (рис. 40 А, м). Так как в пластине X выявлено незначительное число КЛБ+ нейронов статистических данных получено не было.

Таблица 4. Усредненная по всем животным и сегментам площадь сомы КЛБ+ нейронов ( $\text{мкм}^2 \pm$  стандартное отклонение).

Пластины	Сегменты	Особенности локализации	Тип нейронов	Площадь, $\text{мкм}^2$	№ рисунка
		—	Мелкие треугольные		34 Г
Пластина I	L1-S1	—	Мелкие овальные	172±55 (n=56)	34 Д
		—	Мелкие веретеновидные		34 А, В
Пластины II-III	L1-S1	Вдоль кривизны дорзального рога	Мелкие веретеновидные	28±14 (n=2920)	35, 36
		Дорзальная часть пластины IV	Мелкие веретеновидные	30±20 (n=400)	37 А
Пластины IV-VI	L1-S1	Вдоль медиальной границы дорзального рога			38 А, о
		Вдоль латеральной границы дорзального рога	Мелкие мультиполярные	138±65 (n=175)	38 А, м
		В центральной части серого вещества на границе пластин IV-V			38 А, н
	L1-L4	Дорзолатеральная граница пластины VII	Мелкие и средние мультиполярные	147±56 (n=97)	39 А, м, Б, н
Пластины VII	L1-S1	На границе пластин VI, VII и X	Мелкие мультиполярные	126±36 (n=45)	39 Г, о
		В латеральной части на границе пластин VI и VII	Средние мультиполярные	184±60 (n=56)	39 Г, п
	L5-L7	Вентральная часть пластины VII	Средние веретеновидные и мультиполярные	157±36 (n=17)	39 Г, с
		В пластине VIII			40 н
Пластина VIII	L5-S1	На медиальной границе с белым веществом	Средние веретеновидные и мультиполярные	238±46 (n=32)	40 о
		В вентральной комиссуре			40 м
Пластина X	L7-S1	—	Мелкие веретеновидные	—	40 п

Мелкие нейроны – площадь сомы  $<200 \text{ мкм}^2$ , средние нейроны – площадь сомы  $200-450 \text{ мкм}^2$ , крупные нейроны – площадь сомы  $>450 \text{ мкм}^2$ .

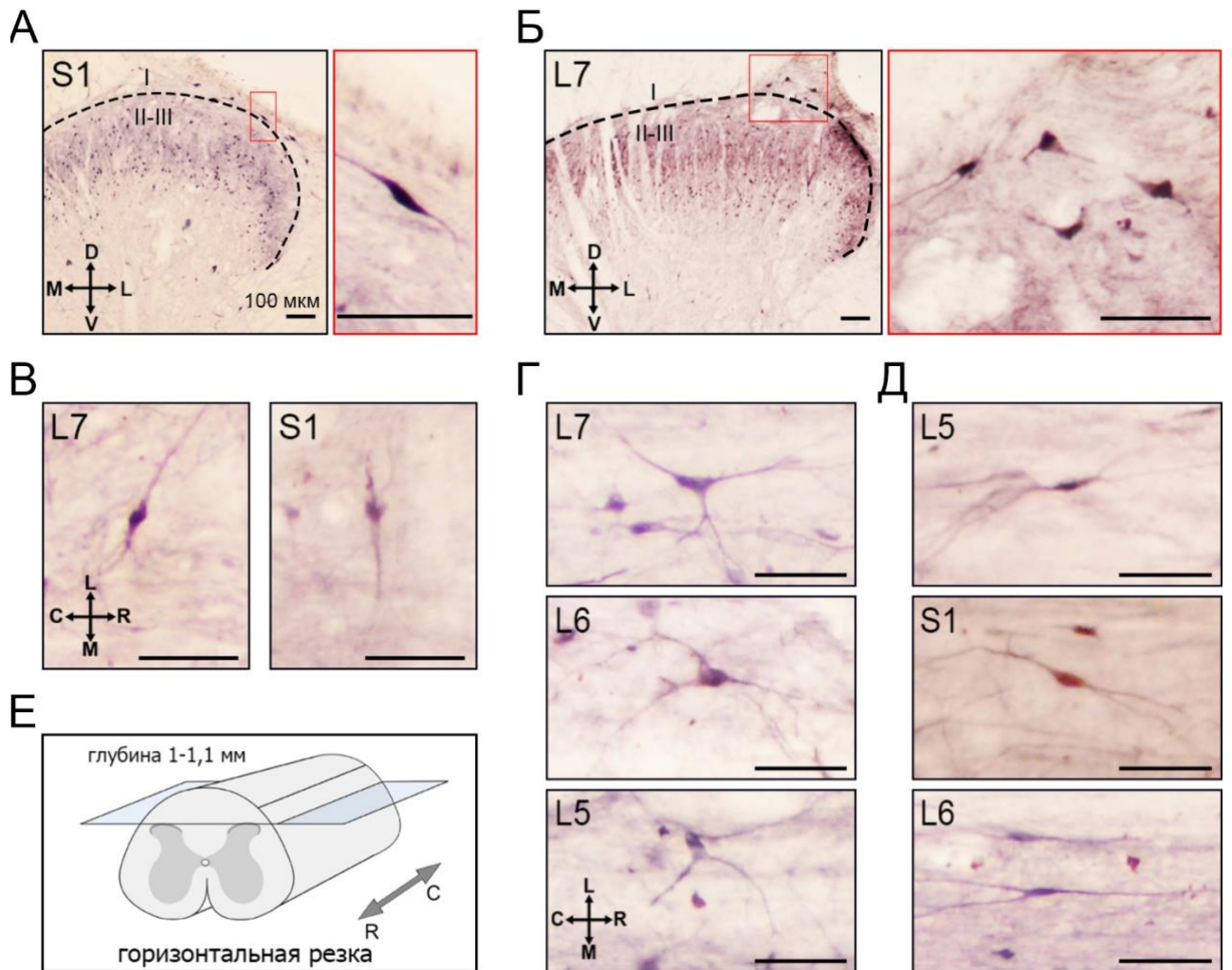


Рисунок 34. Типы КЛБ+ нейронов пластины I. Черной штриховой линией обозначена граница между пластинами I и II. Вид веретеновидных (А), треугольных и овальных (Б) нейронов на поперечном срезе спинного мозга (в красных прямоугольниках увеличенное изображение клеток); вид веретеновидных (В) треугольных (Г) и овальных (Д) нейронов на горизонтальном срезе спинного мозга; Е – горизонтальный тип резки, ее глубина. Латинскими буквами D (dorsal), L (lateral), V (ventral), M (medial), R (rostral) и C (caudal) обозначены направления.

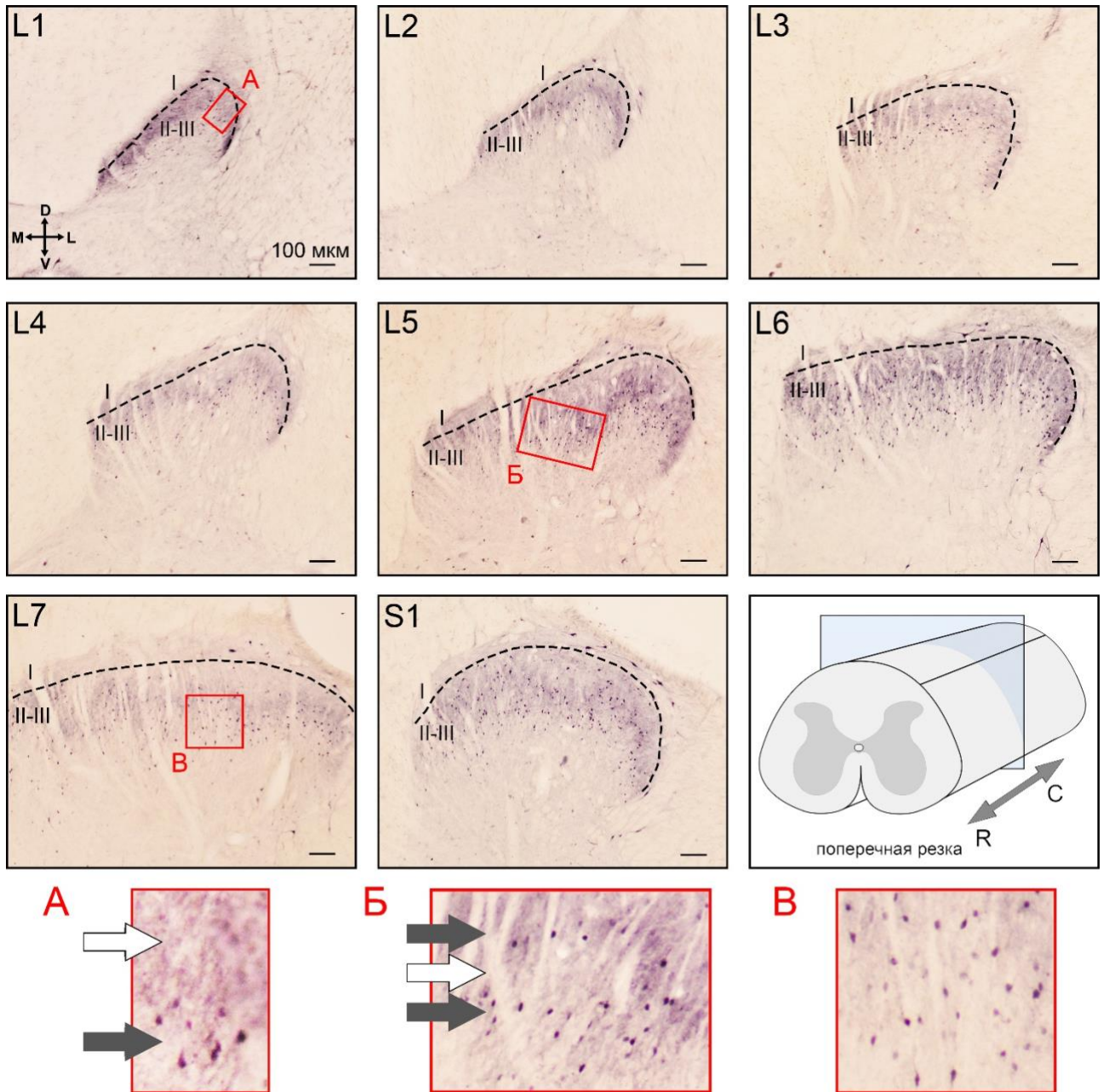
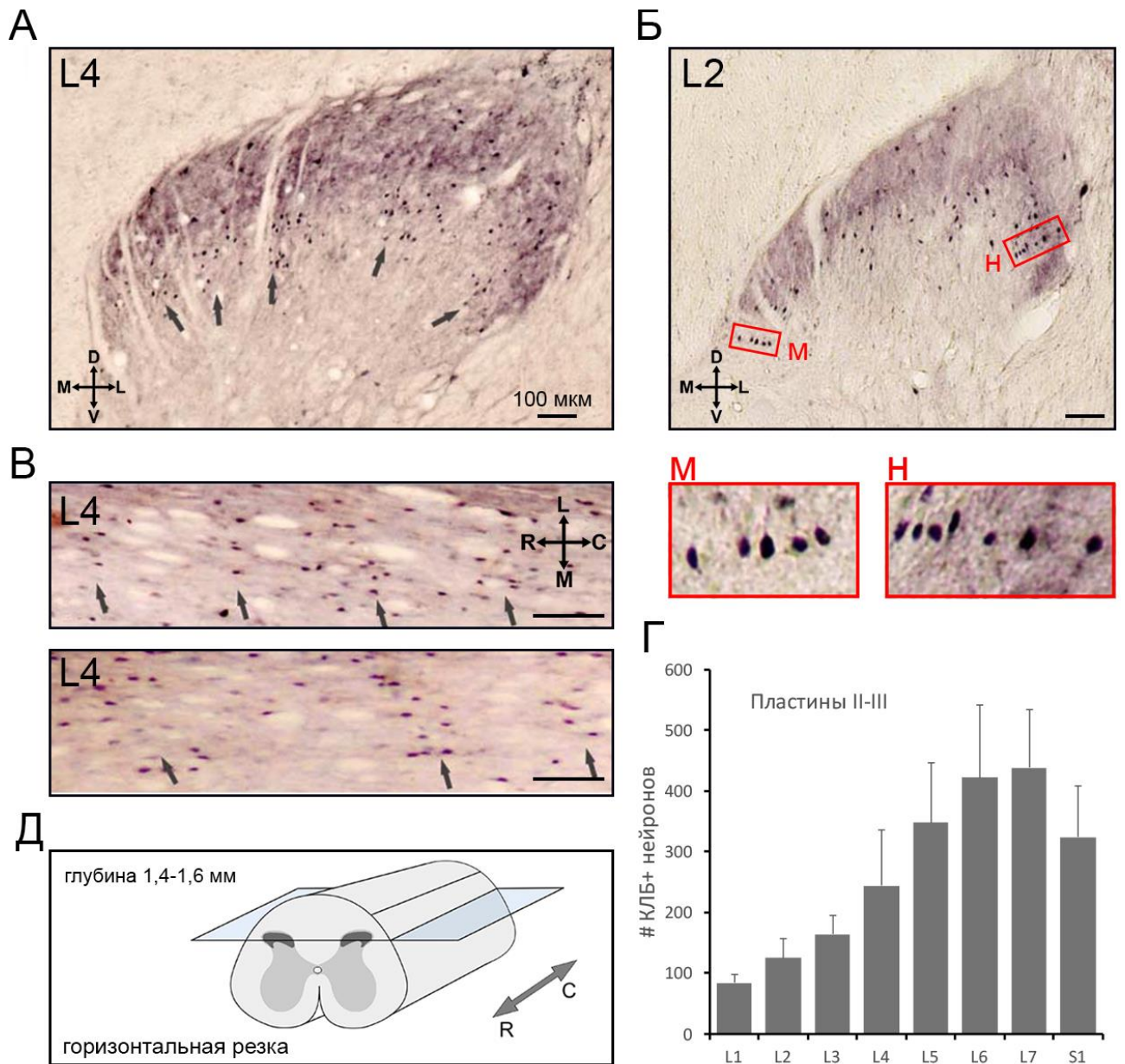
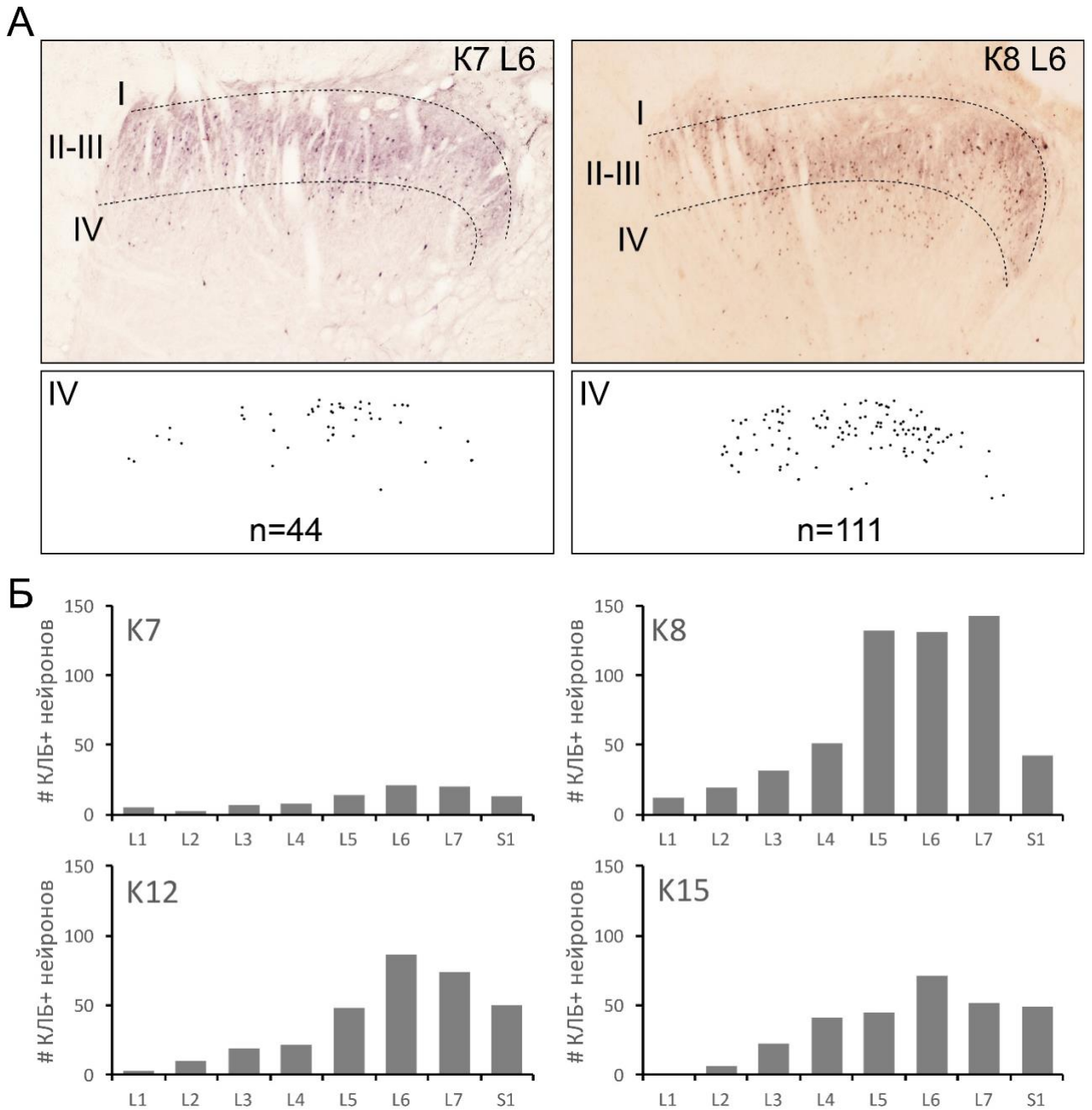


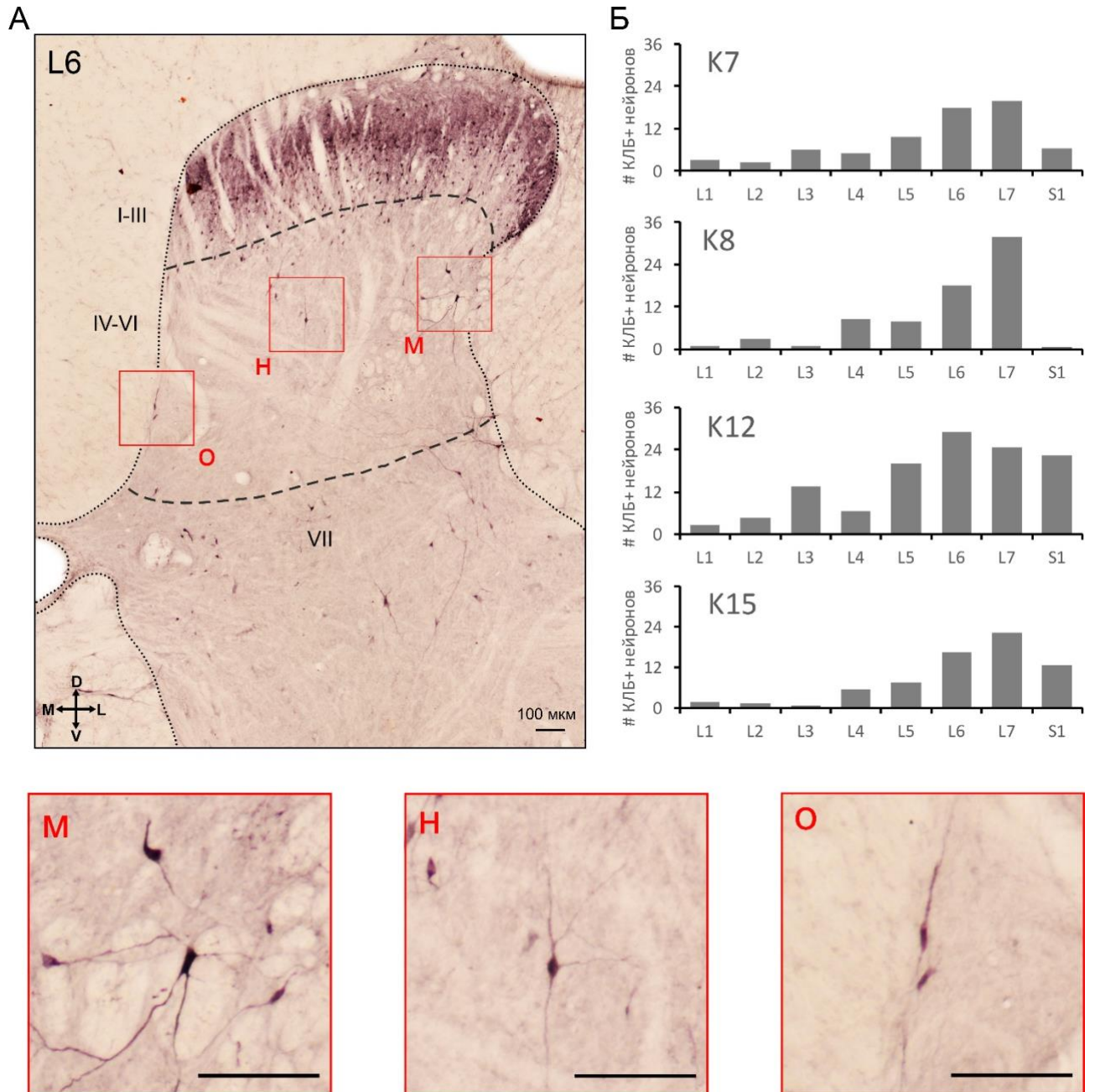
Рисунок 35. Распределение КЛБ+ нейронов в дорзальных рогах серого вещества спинного мозга. Черной штриховой линией обозначена граница между пластинами I и II. А, Б, В – увеличенные изображения КЛБ+ нейронов (черными стрелками обозначено наличие КЛБ+ нейронов в данной зоне, белыми стрелками – их отсутствие). Латинскими буквами D (dorsal), L (lateral), V (ventral), M (medial), R (rostral) и C (caudal) обозначены направления.



*Рисунок 36. Распределение КЛБ+ нейронов в дорзальных рогах серого вещества спинного мозга. А – кластеры КЛБ+ нейронов пластин II-III на поперечном срезе спинного мозга (обозначены черными стрелками); Б – колонки КЛБ+ нейронов пластин II-III на поперечном срезе спинного мозга (м, н – увеличенные изображения клеток); В – кластеры КЛБ+ нейронов пластин II-III на горизонтальном срезе спинного мозга; Г – усредненное по всем животным число КЛБ+ нейронов пластин II-III в каждом исследуемом сегменте (среднее значение + стандартное отклонение); Д – горизонтальный тип резки на глубине 1,4-1,6 мм. Латинскими буквами D (dorsal), L (lateral), V (ventral), M (medial), R (rostral) и C (caudal) обозначены направления. По оси ординат – абсолютное число КЛБ+ нейронов, по оси абсцисс – номера сегментов спинного мозга.*



*Рисунок 37. Распределение мелких КЛБ+ нейронов в пластине IV. А – сравнение числа мелких КЛБ+ нейронов в пластине IV у К7 и К8 (штриховыми линиями обозначены границы между пластинами); Б – усредненное по 5 срезам число мелких КЛБ+ нейронов пластины IV в каждом исследуемом сегменте животных К7, К8, К12 и К15. По оси ординат – абсолютное число КЛБ+ нейронов, по оси абсцисс – номера сегментов спинного мозга.*



*Рисунок 38. Распределение КЛБ+ нейронов в пластинах IV-VI (на примере L6). А – локализация КЛБ+ нейронов в пластинах IV-VI (м, н, о – увеличенные изображения клеток); Б – усредненное по 5 срезам число КЛБ+ нейронов пластин IV-VI в каждом исследуемом сегменте животных К7, К8, К12 и К15. Латинскими буквами D (dorsal), L (lateral), V (ventral) и М (medial) обозначены направления. По оси ординат – абсолютное число КЛБ+ нейронов, по оси абсцисс – номера сегментов спинного мозга.*



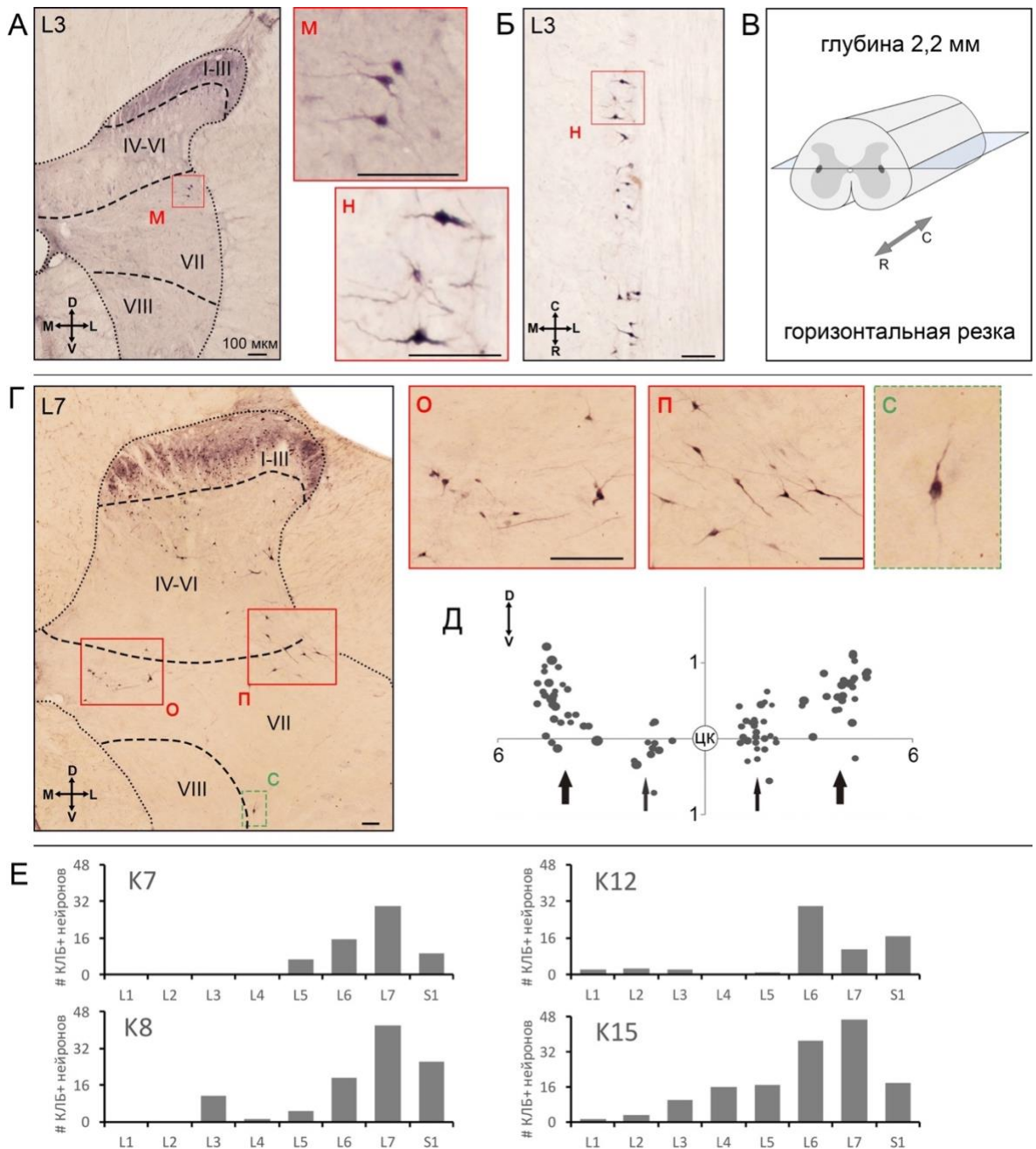
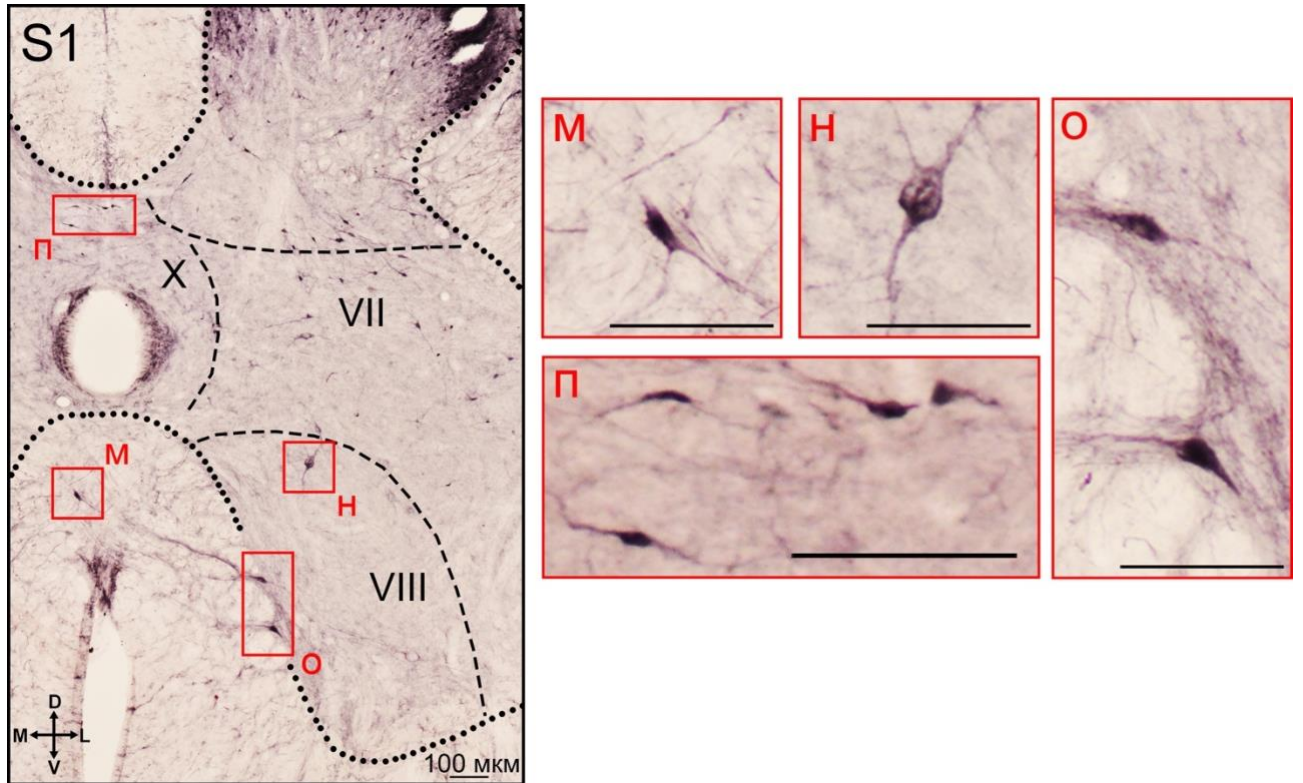


Рисунок 39. Распределение КЛБ+ нейронов в пластине VII. А – локализация КЛБ+ нейронов пластины VII на поперечном срезе спинного мозга сегментов L1-L4 (на примере L3, м – увеличенное изображение клеток); Б – КЛБ+ нейроны пластины VII на горизонтальном срезе (на примере L3, н – увеличенное изображения клеток); В – горизонтальный тип резки на глубине 2,2 мм; Г – локализация КЛБ+ нейронов пластины VII на поперечном срезе спинного мозга сегментов L5-L7 (на примере L7, о – медиальный кластер, п – латеральный кластер, с – одиночные вентрально расположенные клетки); Д – пузырьчатая гистограмма КЛБ+ нейронов пластины VII (подробнее в тексте); Е – усредненное по 5 срезам число КЛБ+ нейронов пластин VII-VIII в каждом исследуемом сегменте животных K7, K8, K12 и K15. Латинскими буквами D (dorsal), L (lateral), V (ventral), M (medial), R (rostral) и C (caudal) обозначены направления. По оси ординат – абсолютное число КЛБ+ нейронов, по оси абсцисс – номера сегментов спинного мозга.



*Рисунок 40. Распределение КЛБ+ нейронов в пластинках VIII и IX. Мультиполярные (н) и веретеновидные (п) нейроны пластинки VIII; м – нейроны вентральной комиссуры; п – нейроны пластинки X. Латинскими буквами D (dorsal), L (lateral), V (ventral) и M (medial) обозначены направления.*

### 3.1.3 Региональное распределение кальбиндин-иммунопозитивных нейронов

Используя модифицированный метод геометрического деления серого вещества спинного мозга, мы выявили зоны интереса (ДЛ, ДМ, ЦЛ, ЦМ, ВЛ и ВМ) для сегментов L4-S1 (рис. 41 А), в которых анализировали количественное распределение КЛБ+ нейронов. В связи с тем, что существенной асимметрии между двумя половинами спинного мозга в числе КЛБ+ нейронов выявлено не было (рис. 41 Б), значения с левой и правой половины серого вещества для каждой из зон суммировались.

Преимущественное большинство КЛБ+ нейронов представлено в зонах ДЛ и ДМ –  $51\pm 8\%$  и  $38\pm 6\%$ , соответственно (рис. 41 В). При этом наиболее выраженная разница между этими двумя зонами представлена в сегментах L4 и L5, в сегментах L7 и S1 отличий в числе КЛБ+ нейронов между зонами ДЛ и ДМ не наблюдается (рис. 41 Г). На остальные области интереса в каждом из исследуемых сегментов спинного мозга (L4-S1) приходится не более 2-3% КЛБ+ клеток (рис. 41 В, Г).

Абсолютное число КЛБ+ нейронов существенно зависит от сегмента спинного мозга. Особенно это очевидно для зон ДЛ и ДМ, наибольшее число клеток в которых представлено в сегментах L6-L7. В связи с малым числом КЛБ+ нейронов в других зонах, подобная зависимость в них представлена слабее: в зонах ЦЛ и ЦМ наибольшее число иммунопозитивных клеток выявлено в сегментах L6-S1, в ВЛ – в L7-S1 и в ВМ – в L6 (рис. 41 Д).

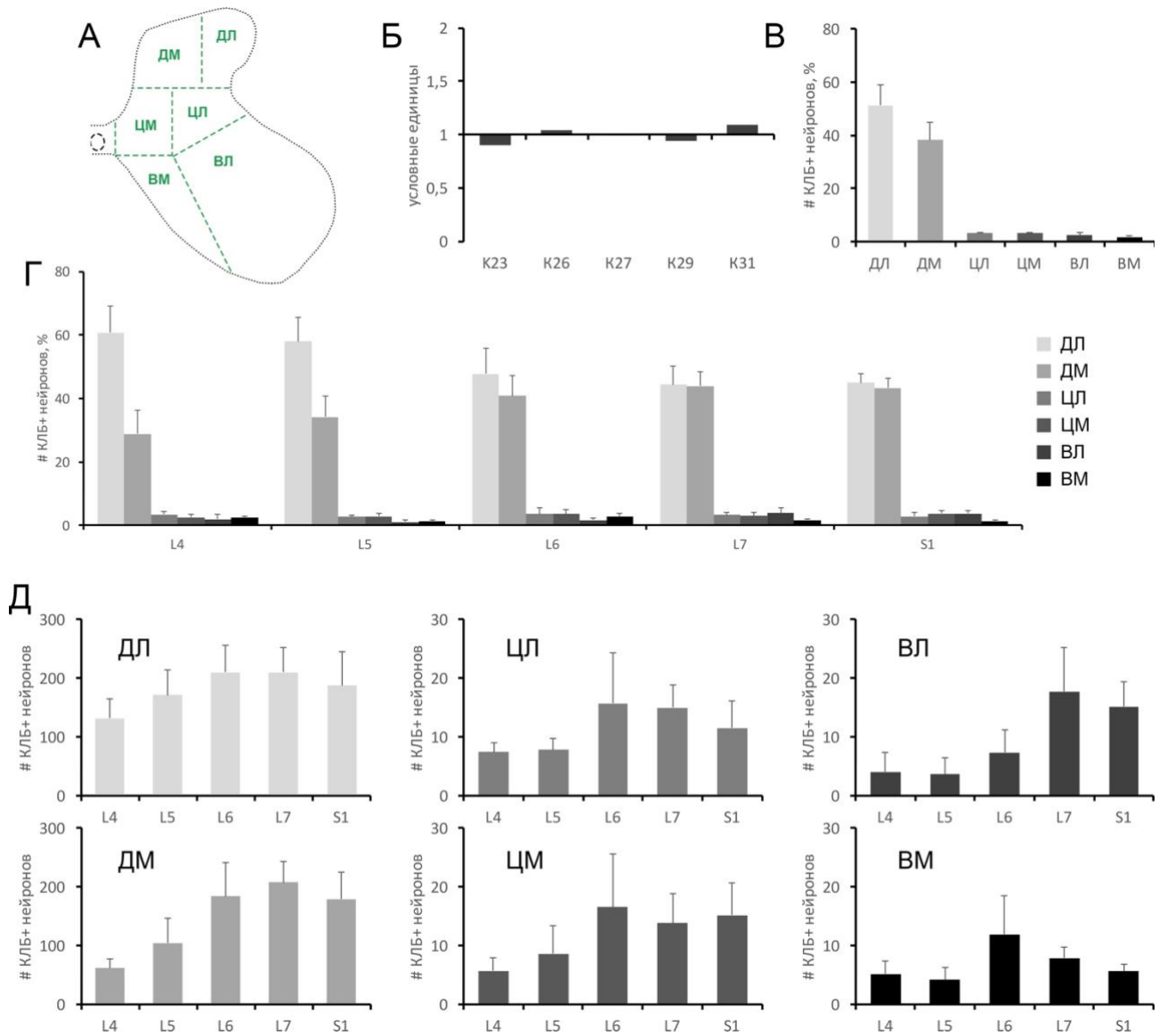
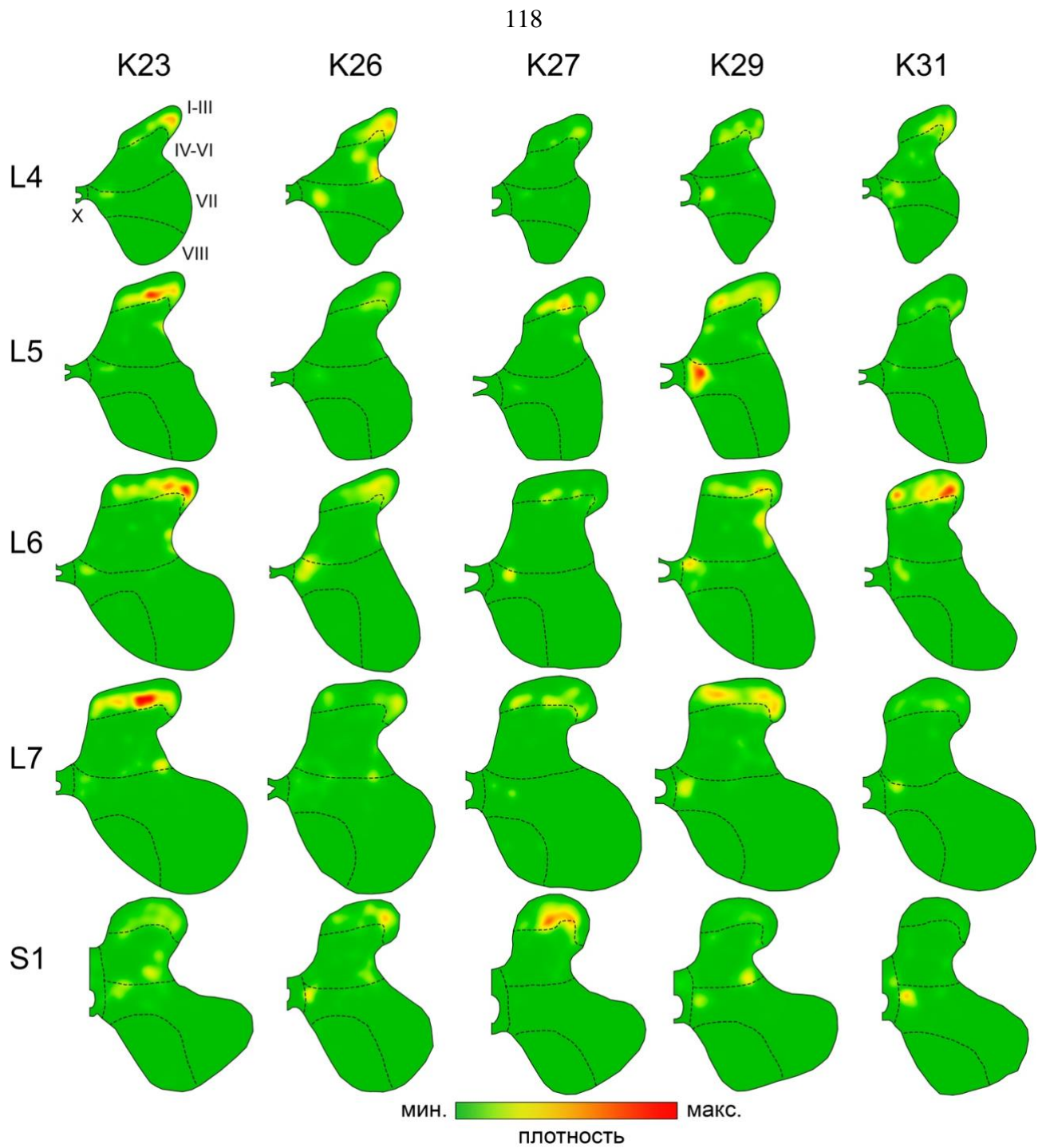


Рисунок 41. Региональное распределение КЛБ+ нейронов в сером веществе сегментов L4-S1 спинного мозга. А – положение зон интереса в сером веществе; Б – отношение общего числа нейронов между левой и правой половиной спинного мозга; В – среднее по всем животным и сегментам относительное число КЛБ+ нейронов в каждой из зон интереса; Г – среднее по всем животным относительное число КЛБ+ нейронов в каждой из зон интереса в сегментах L4-S1; Д – среднее по всем животным число КЛБ+ нейронов в каждой из зон интереса в сегментах L4-S1. По оси ординат – условные единицы (Б), процентное (В и Г) и абсолютное (Д) число КЛБ+ нейронов, по оси абсцисс – номера животных (Б), названия зон интереса (В), номера сегментов спинного мозга (Г и Д). На диаграммах В-Д представлены средние значения + стандартное отклонение.

### **3.1.4 Сравнительный анализ распределений нейронов, иммунопозитивных к кальбиндину и c-Fos**

Для выявления зон возможной колокализации популяций нейронов, иммунопозитивных к белку c-Fos, с популяциями нейронов, иммунопозитивных к кальбиндину, провели сопоставление полученных паттернов распределения. Для этого объединяли Total-изображения карт плотности, построенные для FOS+ нейронов и для клеток, иммунопозитивных к кальбиндину, по алгоритму, описанному в главе 2.6. Так как, качественный паттерн распределения FOS+ нейронов в сером веществе спинного мозга при ХВ и ХН в целом сходен (см. главу 3 часть 2.1 и 2.3), разделения на две соответствующие группы в данном сопоставлении не проводили.

На картах плотности КЛБ+ нейронов (рис. 33) выявлены три основные области локализации клеток (пластины II-III, медиальная и латеральная области промежуточного серого вещества на границе пластин VI-VII), образующих обособленные кластеры (подробнее см. главу 3 часть 3.1.2). При сопоставлении этих карт с картами плотности FOS+ нейронов, было выявлено, что высокая степень колокализации между КЛБ+ и FOS+ нейронами во всех анализируемых сегментах (L4-S1) наблюдается только в двух зонах – пластинах II-III (чаще в латеральной половине дорзальных рогов) и на границе между пластинами VI и VII в наиболее медиальной части промежуточного серого вещества (рис. 42). У некоторых животных (K23, K26 и K29) в наиболее каудальных сегментах (L7 и S1) FOS+ нейроны сконцентрированы и в латеральном кластере КЛБ+ клеток (на границе пластин VI и VII).



*Рисунок 42. Сопоставление карт плотности КЛБ+ и FOS+ нейронов. Зелено-красный градиент отражает степень колокализации разных маркеров от минимального к максимальному, соответственно.*

## 3.2 Парвальбумин

### 3.2.1 Особенности общего распределения парвальбумин-иммунопозитивных нейронов в сером веществе сегментов L1-S1 спинного мозга

Анализ выявленных парвальбумин-иммунопозитивных нейронов (ПРВ+) проводили на выборке из пяти поперечных срезов каждого исследуемого сегмента (L1-S1) спинного мозга пяти животных (K23, K26, K27, K29 и K31). Наибольшее число меченных клеток локализовано в пластинах IV-VI ( $51\pm 9\%$ ) и VII-VIII ( $41\pm 11\%$ ). Значительно меньше иммунопозитивных нейронов выявлено в пластинах I-III ( $7\pm 4\%$ ) и X (около 1%) (рис. 43 А).

У некоторых животных наблюдается незначительная асимметрия в количестве ПРВ+ нейронов между левой и правой половиной спинного мозга в пластинах I-III (наиболее выражено у K26 и K31) и X (у всех, кроме K29) (рис. 43 Б). Однако, в пластинах IV-VIII, где сосредоточена почти вся масса меченных нейронов ( $92\pm 4\%$ ), такой асимметрии не наблюдается.

Среднее по 5 срезам число ПРВ+ нейронов зависит от исследуемого сегмента, в котором они локализованы, и градуально растет от L1 к L7 с максимумом в L7 (рис. 43 В). Из рисунка 43 Г видно, что несмотря на одинаковый у всех животных сегментарный паттерн распределения меченных нейронов, у K23 в каждом из сегментов и K26 в L6-L7 общее число меченных нейронов больше, чем у остальных кошек.

С помощью карт плотности, составленных отдельно для мелких и крупных нейронов, были выявлены четыре основные области серого вещества с максимальной концентрацией ПРВ+ нейронов: 1) в районе границ пластин II и III, 2) в районе границ пластин VI, VII и X, 3) в наиболее медиальной части по границе пластин VII и VIII и 4) вокруг мотонейронных пулов (пластины VII-IX) (рис. 44). В остальных частях серого вещества обнаружены лишь единичные ПРВ+ нейроны.

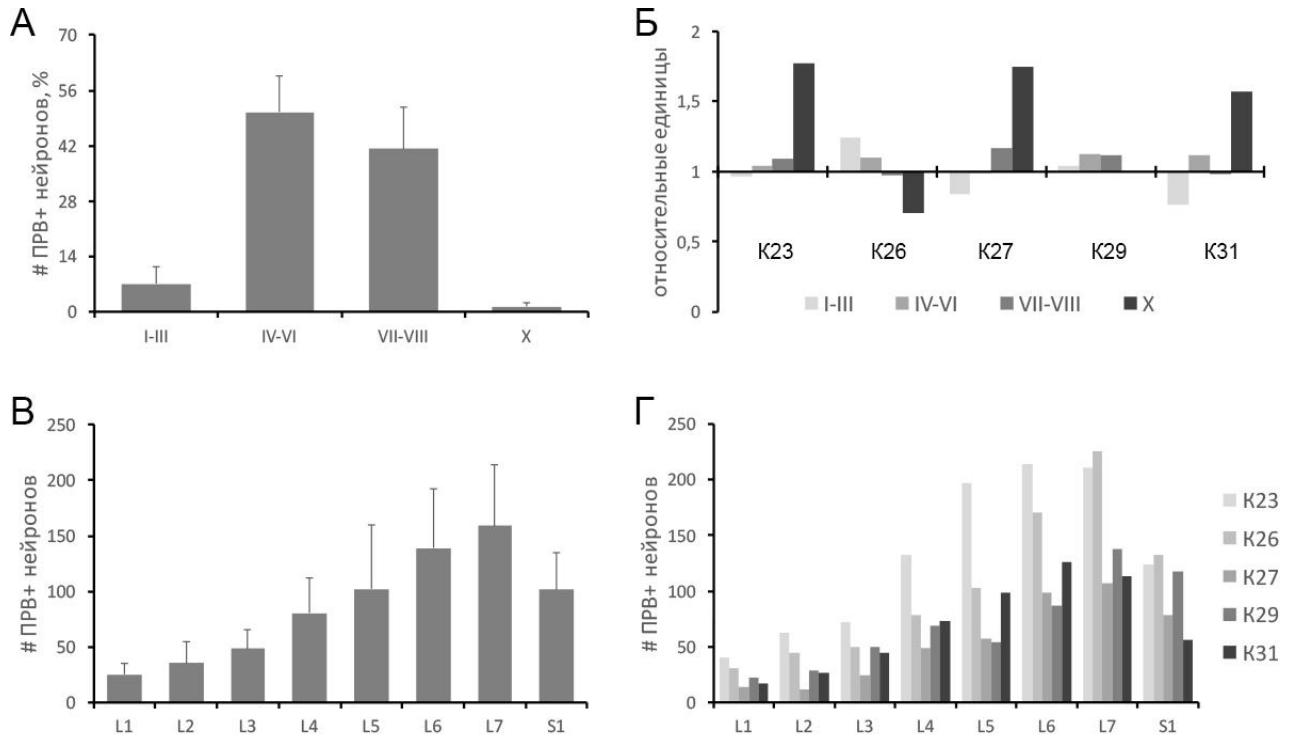
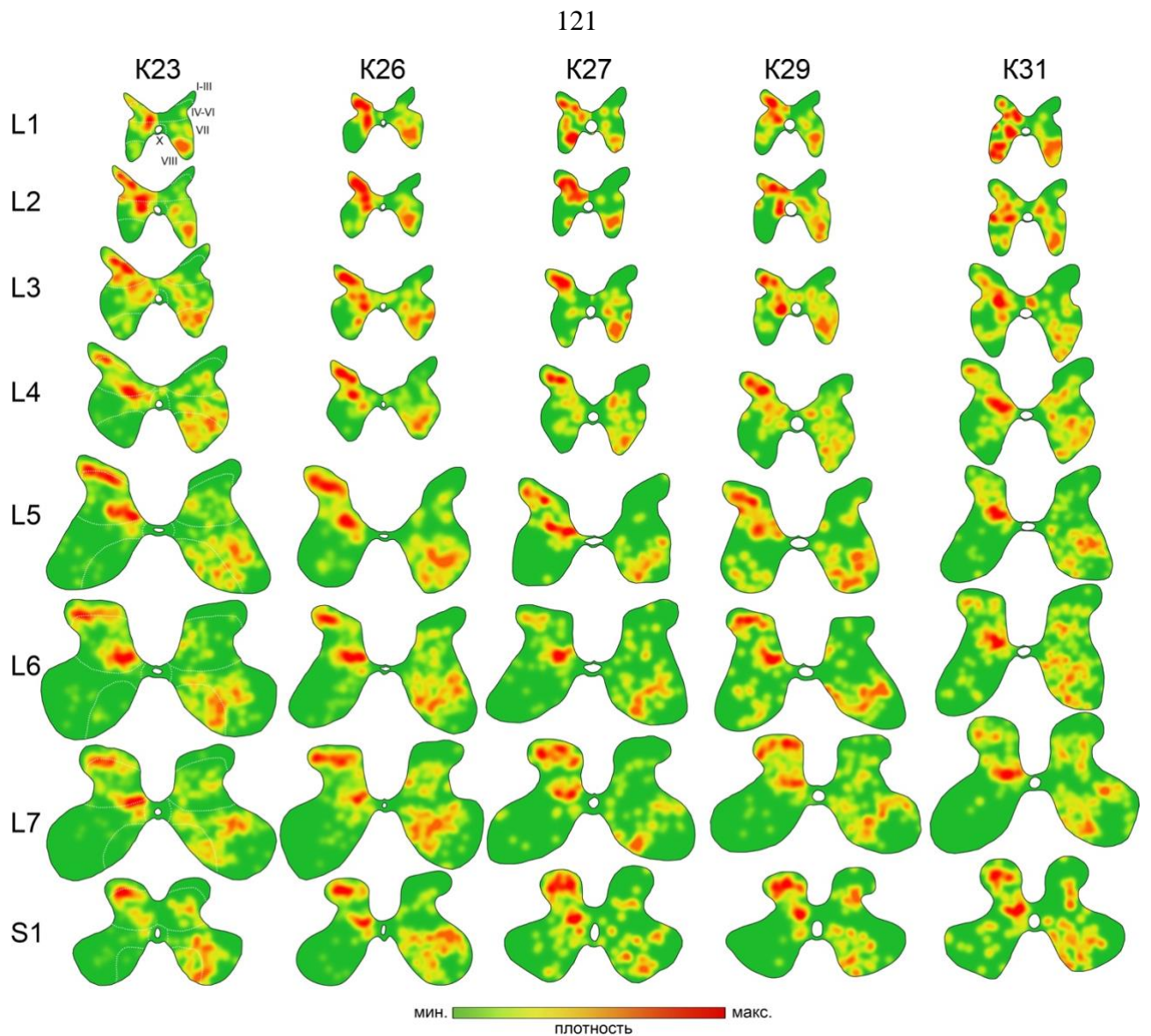


Рисунок 43. Ламинарное и сегментарное распределение ПРВ+ нейронов в сером веществе спинного мозга животных K23, K26, K27, K29 и K31. А – усредненное по всем животным и сегментам процентное число ПРВ+ нейронов в пластинах серого вещества спинного мозга (среднее значение + стандартное отклонение); В – усредненное по всем животным число ПРВ+ нейронов в каждом исследуемом сегменте спинного мозга (среднее значение + стандартное отклонение); Г – усредненное по 5 срезам число ПРВ+ нейронов в каждом исследуемом сегменте спинного мозга всех исследуемых животных. По оси ординат – относительные единицы (Б), процентное (А) и абсолютное (В и Г) число ПРВ+ нейронов, по оси абсцисс – номера пластин (А), животных (Б) и сегментов (В и Г).





*Рисунок 44. Плотность ПРВ+ нейронов в сером веществе сегментов L1-S1 спинного мозга животных K23, K26, K27, K29, K31. Представлены схематичные изображения серого вещества каждого сегмента всех животных, где на левой половине отображена плотность мелких ПРВ+ нейронов, а на правой – средних и крупных. Белой штриховой линией обозначены границы групп пластин (I-III, IV-VI, VII, VIII, X). Зелено-красный градиент (индивидуальный для каждого сегмента) отражает плотность ПРВ+ нейронов от минимальной до максимальной, соответственно.*

### 3.2.2 Ламинарное распределение парвальбумин-иммунопозитивных нейронов

**Пластина I.** В пластине I ПРВ+ нейроны выявлены только в наиболее каудальных сегментах спинного мозга (L6-S1). В среднем в каждой половине серого вещества выявлено 1-3 иммунопозитивные клетки. Число нейронов не зависит от сегмента, в котором они локализованы (рис. 45 Б). Данные нейроны имеют овальную форму и лишены дендритной метки (рис. 45 А, м). Площадь сомы в разных сегментах варьирует незначительно (рис. 45 В) и составляет  $42 \pm 4$  мкм<sup>2</sup> (n=124, табл. 5).

**Пластинки II-III.** В пластинках II-III выявлены мелкие ( $28 \pm 10$  мкм<sup>2</sup>, n=1479, табл. 5) лишенные дендритной метки ПРВ+ нейроны, круглой или овальной (вытянутой перпендикулярно кривизне дорзального рога) формы (рис. 45 Г, н). Площадь сомы данных нейронов от сегмента к сегменту варьирует незначительно (рис. 45 Е). Наибольшее их число представлено в сегментах L6-S1 (рис. 45 Д).

**Пластинки IV-VI.** На границе пластин VI, VII и X выявлены симметричные относительно центрального канала группы мелких и средних ПРВ+ нейронов, окруженных темно-окрашенным нейропилем (рис. 46 А, зеленая штриховая линия). В сегментах L1-L4 в данных областях обнаружено от 1 до 4 мелких клеток ( $61 \pm 24$  мкм<sup>2</sup>, n=151, табл. 5) овальной формы без видимых дендритов (рис. 46 А, м). Площадь сомы данных нейронов слегка увеличивается в более каудальных сегментах (рис. 46 Б). В сегментах L5-S1 зоны по бокам от центрального канала не имеют выраженной темной окраски, как в более ростральных сегментах, и содержат скопления ПРВ+ нейронов, формирующих основную массу иммунопозитивных клеток пластин IV-VI (рис. 46 В). В данных областях выявлены вытянутые мультиполярные нейроны (рис. 46 В, н) мелкого ( $93 \pm 40$  мкм<sup>2</sup>, n=1018, табл. 5) и среднего ( $283 \pm 91$  мкм<sup>2</sup>, n=114, табл. 5) размера, длина дендритов которых составляет, соответственно,  $17 \pm 6$  мкм (n=51) и  $38 \pm 13$  мкм (n=53). Число нейронов обоих типов градуально нарастает в

рострокаудальном направлении, достигая максимума в сегментах L6 и L7 (рис. 46 Д, Ж), при этом средняя площадь сомы ПРВ+ клеток значительно не меняется (рис. 46 Г, Е).

На основе локализации вышеописанного меченного нейропиля дорзомедиальной области промежуточного серого вещества в сегментах L1-L4, мы предположили, что иммунопозитивные к парвальбумину клетки данной зоны относятся к ядрам Кларка – основному источнику дорзального спинномозжечкового тракта (Clarke, 1859; Mann, 1973; Petras, Cummings, 1977). Однако, согласно ряду исследований, большое число нейронов, принадлежащих этому тракту, обнаруживается и за пределами исторических границ ядер Кларка, в частности, в более каудальных сегментах (Aoyama et al., 1988; Matsushita, Yaginuma, 1989; Stecina et al., 2013). В настоящем исследовании в медиальной части промежуточного серого вещества более каудальных сегментов (L5-S1) были выявлены кластеры ПРВ+ нейронов, которые, полагаем, будучи гомологичными ядрам Кларка, также могут являться элементами общей спинальной проприоцептивной системы.

**Пластины VII-VIII.** В сегментах L1-L4 в пластине VII локализованы симметричные относительно центрального канала области, содержащие темноокрашенный нейропиль и единичные ПРВ+ нейроны (рис. 47 А, м). В аналогичных зонах серого вещества сегментов L5-S1 (медиальная граница между пластинами VII и VIII) также выявлены иммунопозитивные клетки (рис. 47 Б, н). Данные нейроны мультиполярного типа имеют мелкую или среднюю площадь сомы ( $168 \pm 111$  мкм<sup>2</sup>, n=254, табл. 5) (рис. 47 В) и дендриты длиной  $19 \pm 7$  мкм.

В остальной части вентральных рогов выявлено два типа мультиполярных ПРВ+ нейронов: мелкие клетки ( $154 \pm 32$  мкм<sup>2</sup>, n=539, табл. 5) (рис. 48 Г), лишенные дендритной метки и средне-крупные нейроны ( $379 \pm 149$  мкм<sup>2</sup>, n=1305, табл. 5) (рис. 48 Д) с дендритами длиной  $53 \pm 21$  мкм. Среднее число нейронов обоих типов зависит от сегмента, в котором они локализованы и достигает максимума в L6-L7 (рис. 48 Е, Ж). При этом паттерн распределения данных

нейронов в пластинах VII и VIII в разных сегментах неодинаков. В сегментах L1-L4 и S1 ПРВ+ клетки локализованы неупорядоченно (рис. 48 А). В сегментах L5-L7 нейроны занимают место вокруг мотонейронов пластин IX (рис. 48 Б). При этом в вентральных рогах сегментов L6-L7 можно выделить два кластера иммунопозитивных клеток: медиальный и латеральный (рис. 48 В). Оба кластера состоят из мелких и средне-крупных мультиполярных ПРВ+ нейронов (рис. 48 В, м, н). При этом средняя площадь сомы средне-крупных нейронов в медиальном кластере меньше, чем в латеральном – соответственно,  $319 \pm 98$  мкм<sup>2</sup> (n=142) и  $353 \pm 121$  мкм<sup>2</sup> (n=153) (рис. 48 И). Площадь мелких нейронов в кластерах одинакова ( $156 \pm 31$  мкм<sup>2</sup>, n=69 и  $161 \pm 27$  мкм<sup>2</sup>, n=26) (рис. 48 З).

**Пластина X.** В пластине X выявлено незначительное число ПРВ+ нейронов, поэтому статистических данных получено не было.

*Таблица 5. Усредненная по всем животным и сегментам площадь сомы ПРВ+ нейронов (мкм<sup>2</sup> ± стандартное отклонение).*

Пластины	Сегменты	Особенности локализации	Тип нейронов	Площадь, мкм <sup>2</sup>	№ рисунка
Пластина I	L6-S1	—	Мелкие овальные	42±4 (n=124)	45 А, м
Пластины II-III	L1-S1	—	Мелкие овальные	28±10 (n=1479)	45 Г, н
	L1-L4	На границе пластин VI, VII и X	Мелкие овальные	61±24 (n=151)	46 А, м
Пластины IV-VI	L5-S1	На границе пластин VI, VII и X	Мелкие мультиполярные	93±40 (n=1018)	46 В, н
			Средние мультиполярные	283±91 (n=114)	
Пластина VII	L1-S1	Вентральная часть пластины VII	Мелкие/средние мультиполярные	168±111 (n=254)	47 А, м, Б, н
		—	Мелкие мультиполярные	154±32 (n=539)	48 В, м
Пластины VIII	L1-S1	—	Средние мультиполярные	379±149 (n=1305)	48 В, н

*Мелкие нейроны – площадь сомы <200 мкм<sup>2</sup>, средние нейроны – площадь сомы 200-450 мкм<sup>2</sup>, крупные нейроны – площадь сомы >450 мкм<sup>2</sup>*

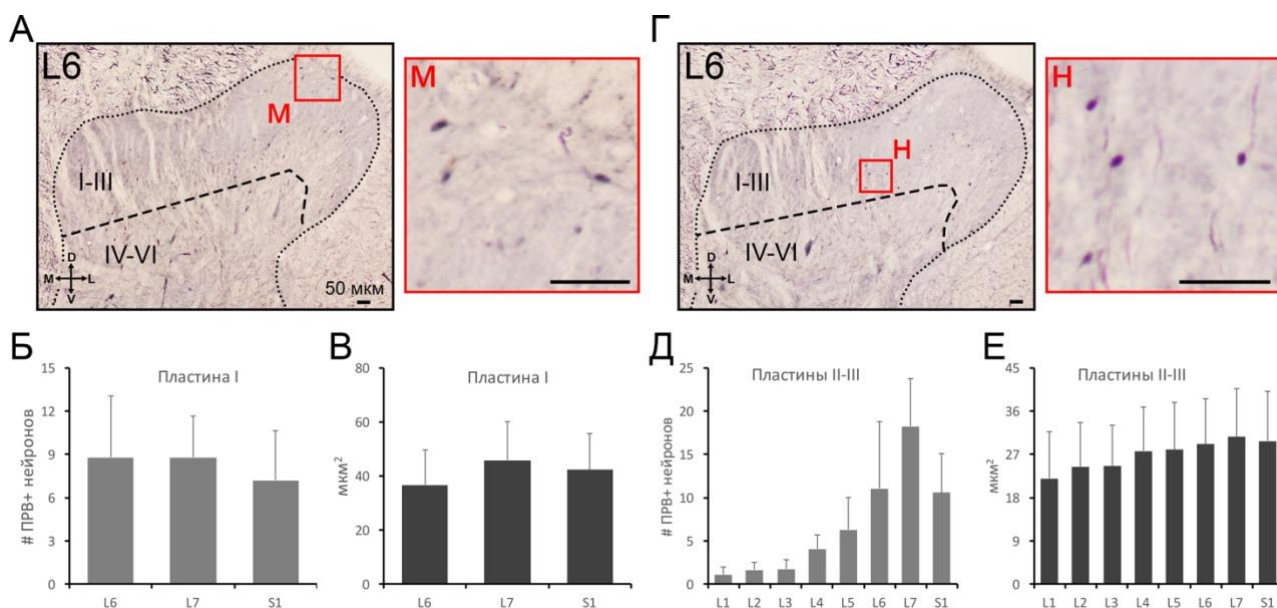


Рисунок 45. Распределение ПРВ+ нейронов в дорзальных рогах спинного мозга. А – ПРВ+ нейроны пластины I (м – увеличенное изображение клеток); Б – усредненное по всем животным число ПРВ+ нейронов пластины I в сегментах L6-S1; В – усредненная по всем животным площадь сомы ПРВ+ нейронов пластины I в сегментах L6-S1; Г – ПРВ+ нейроны пластин II-III (н – увеличенное изображение клеток); Д – усредненное по всем животным число ПРВ+ нейронов пластин II-III в каждом исследуемом сегменте; Е – усредненная по всем животным площадь сомы ПРВ+ нейронов пластин II-III в сегментах L6-S1. Латинскими буквами D (dorsal), L (lateral), V (ventral) и M (medial) обозначены направления. По оси ординат – абсолютное число (Б, Д) и площадь (В, Е) ПРВ+ нейронов, по оси абсцисс – номера сегментов спинного мозга. На всех диаграммах представлены средние значения + стандартное отклонение.

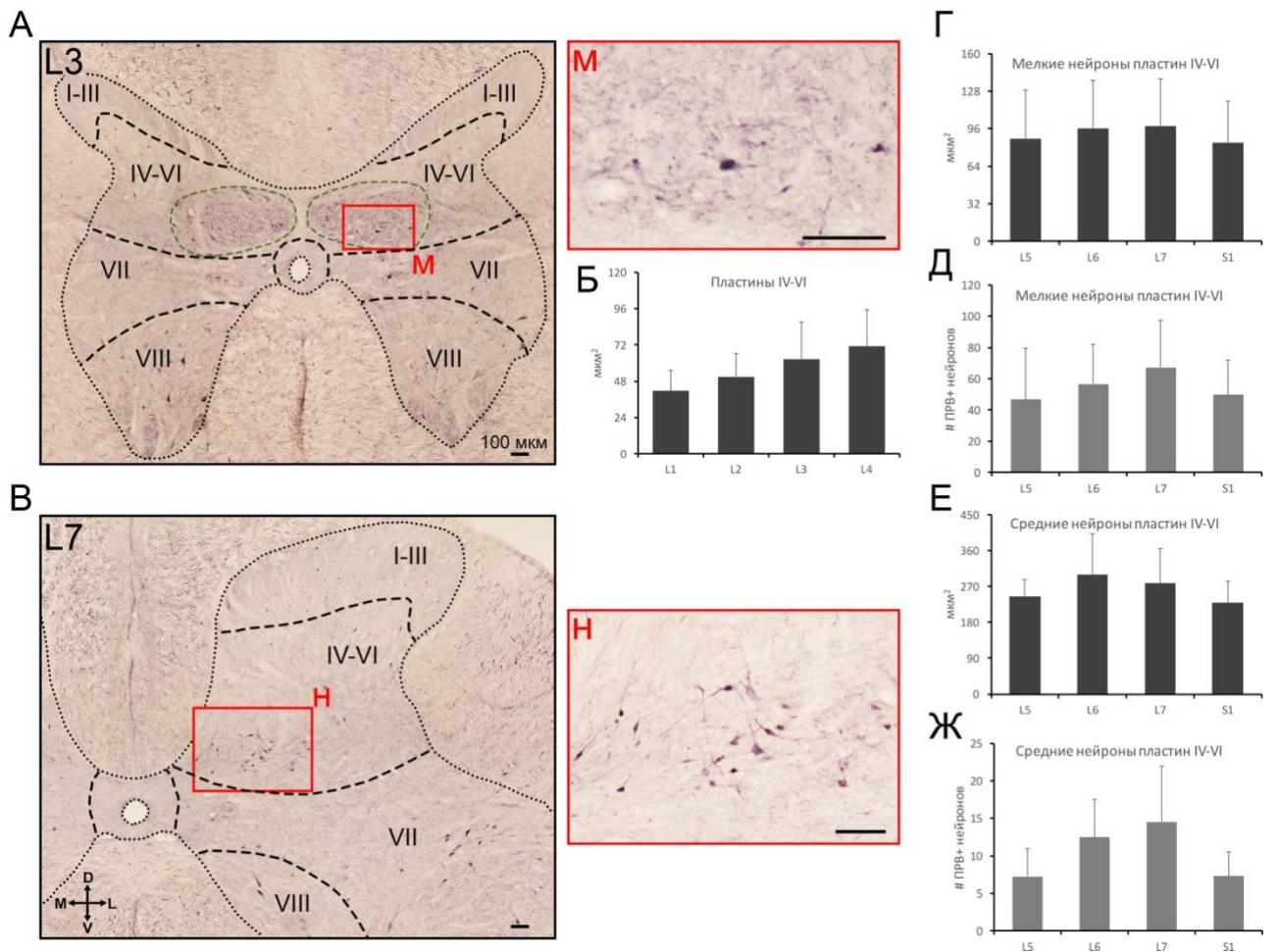


Рисунок 46. Распределение ПРВ+ нейронов в пластинах IV-VI. А – ПРВ+ нейроны, локализованные в медальной области пластин V-VI (окрашенный нейропилль обозначен зеленой штриховой линией, м – увеличенное изображение клеток); Б – усредненная по всем животным площадь сомы ПРВ+ нейронов медальной области пластин V-VI в сегментах L1-L4; В – ПРВ+ нейроны вентромедиальной области пластин IV-VI (н – увеличенное изображение клеток); Г – усредненная по всем животным площадь сомы мелких ПРВ+ нейронов вентромедиальной области пластин IV-VI в сегментах L5-S1; Д – усредненное по всем животным число мелких ПРВ+ нейронов вентромедиальной области пластин IV-VI в сегментах L5-S1; Е – усредненная по всем животным площадь сомы средних ПРВ+ нейронов вентромедиальной области пластин IV-VI в сегментах L5-S1; Ж – усредненное по всем животным число средних ПРВ+ нейронов вентромедиальной области пластин IV-VI в сегментах L5-S1. Латинскими буквами D (dorsal), L (lateral), V (ventral) и M (medial) обозначены направления. По оси ординат – абсолютное число (Д, Ж) и площадь (Б, Г, Е) ПРВ+ нейронов, по оси абсцисс – номера сегментов спинного мозга. На всех диаграммах представлены средние значения + стандартное отклонение.

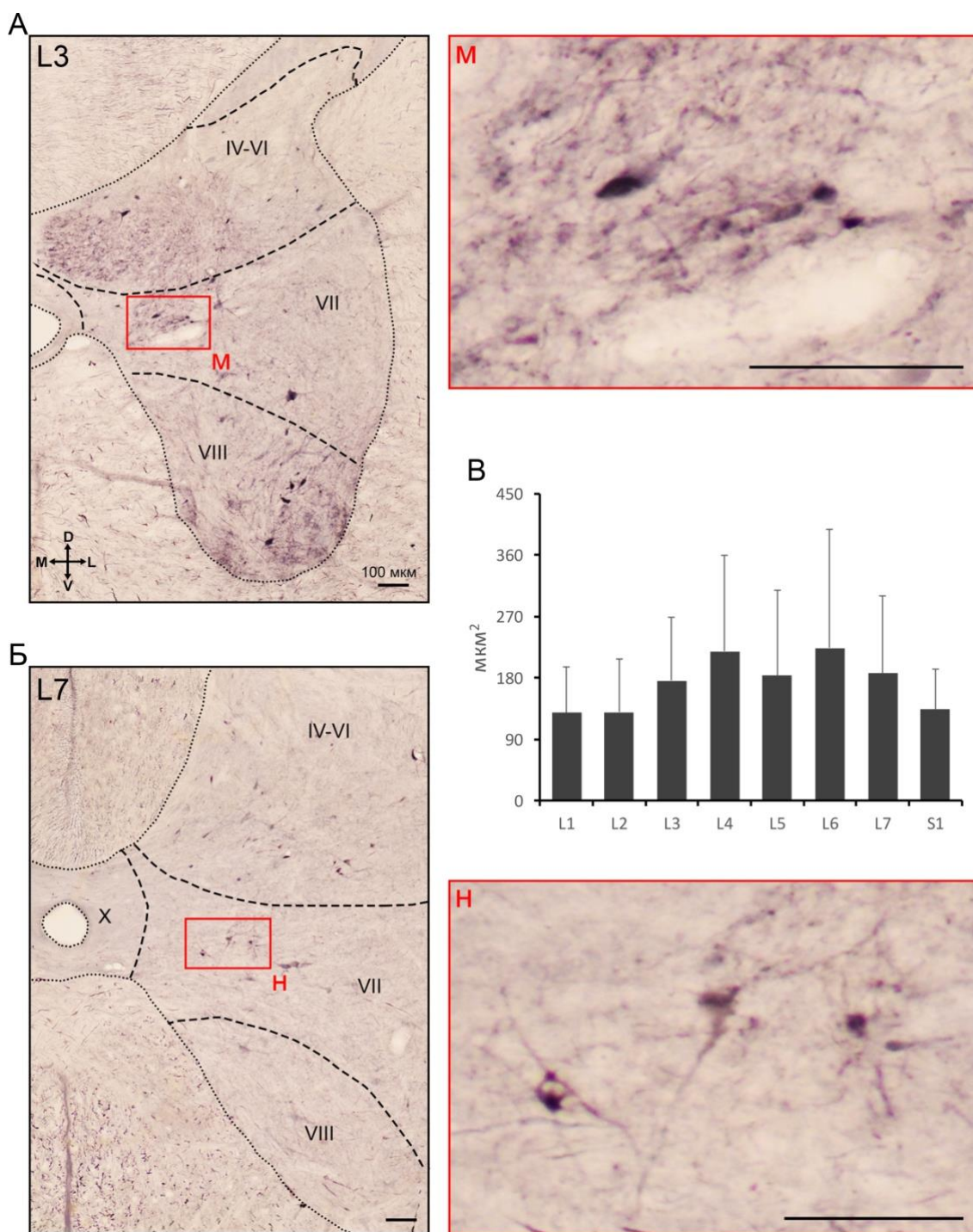
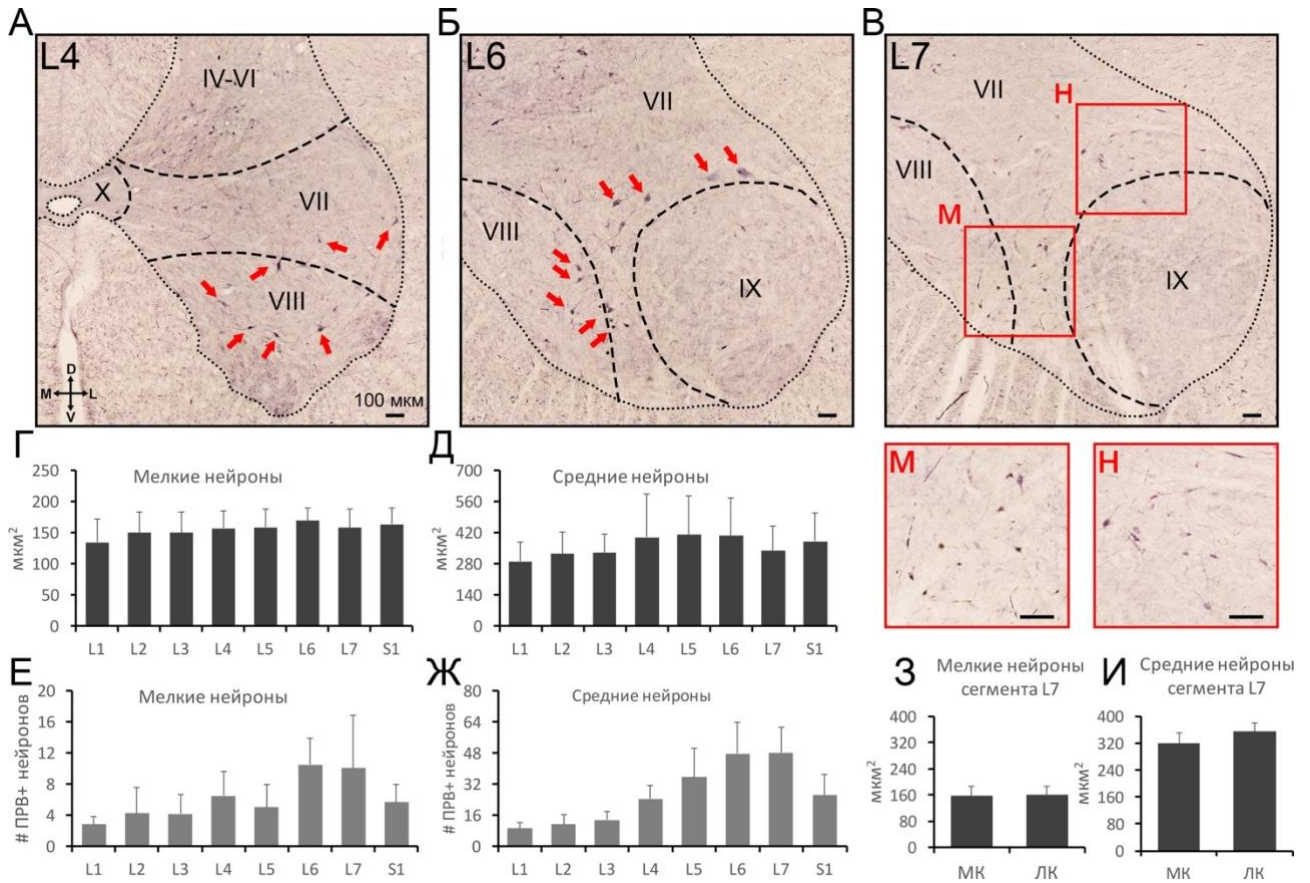


Рисунок 47. Распределение ПРВ+ нейронов в вентромедиальной области пластины VII. А – темно-окрашенный нейротиль и ПРВ+ нейроны, локализованные в вентромедиальной области пластины VII в сегментах L1-L4 (на примере L3, м – увеличенное изображение клеток); Б – ПРВ+ нейроны, локализованные в вентромедиальной области пластины VII в сегментах L5-S1 (на примере L7; н – увеличенное изображение клеток); В – усредненная по всем животным площадь сомы ПРВ+ нейронов в каждом исследуемом сегменте (среднее значение + стандартное отклонение). Латинскими буквами D (dorsal), L (lateral), V (ventral) и M (medial) обозначены направления. По оси ординат – площадь ПРВ+ нейронов, по оси абсцисс – номера сегментов спинного мозга.



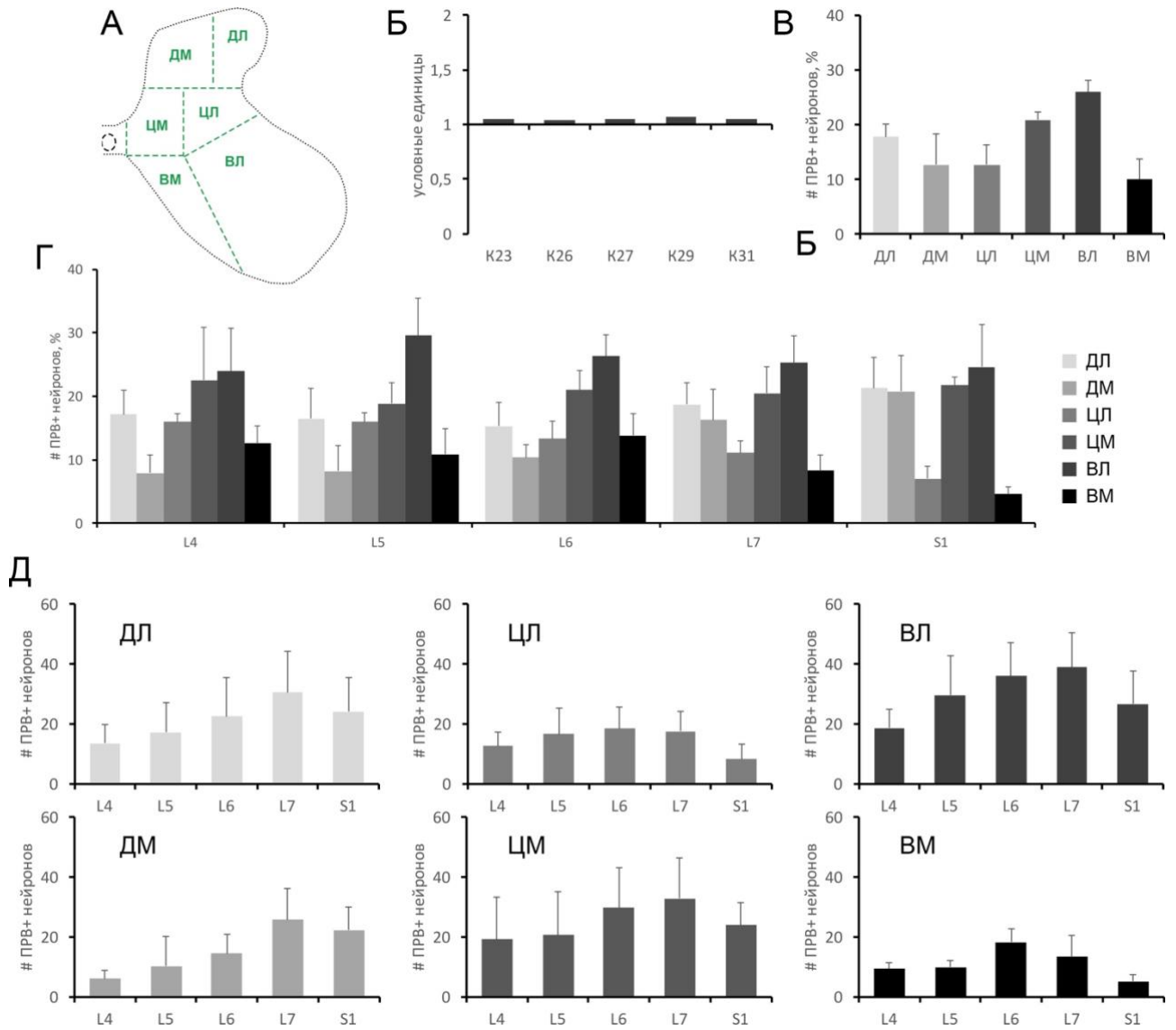
**Рисунок 48.** Распределение PRV+ нейронов в пластинах VII-VIII. А – локализация PRV+ нейронов (обозначены красными стрелками) в пластинах VII-VIII в сегментах L1-L4 (на примере L4); Б – локализация PRV+ нейронов (обозначены красными стрелками) в пластинах VII-VIII вокруг мотонейронов в сегментах L5, L6 и S1 (на примере L6); В – локализация медиального (МК) и латерального (ЛК) кластера PRV+ нейронов вокруг мотонейронов в пластинах VII-VIII сегмента L7 (м, н – увеличенные изображения клеток, соответственно, медиального и латерального кластера); Г – усредненная по всем животным площадь сомы мелких PRV+ нейронов пластин VII-VIII в каждом исследуемом сегменте; Д – усредненная по всем животным площадь сомы средних и крупных PRV+ нейронов пластин VII-VIII в каждом исследуемом сегменте; Е – усредненное по всем животным число мелких PRV+ нейронов пластин VII-VIII в каждом исследуемом сегменте; Ж – усредненное по всем животным число средних и крупных PRV+ нейронов пластин VII-VIII в каждом исследуемом сегменте; З – усредненная по всем животным площадь сомы мелких PRV+ нейронов медиального кластера пластин VII-VIII сегмента L7; И – усредненная по всем животным площадь сомы средних и крупных PRV+ нейронов пластин VII-VIII сегмента L7. Латинскими буквами D (dorsal), L (lateral), V (ventral) и M (medial) обозначены направления. По оси ординат – абсолютное число (Е, Ж) и площадь (Г, Д, З, И) PRV+ нейронов, по оси абсцисс – номера сегментов спинного мозга (Г, Д, Е, Ж) и обозначения кластеров (З, И). На всех диаграммах представлены средние значения + стандартное отклонение.



### 3.2.3 Региональное распределение парвальбумин-иммунопозитивных нейронов

Используя модифицированный метод геометрического деления серого вещества спинного мозга, мы выявили зоны интереса (ДЛ, ДМ, ЦЛ, ЦМ, ВЛ и ВМ) для сегментов L4-S1 (рис. 49 А), в которых анализировали количественное распределение ПРВ+ нейронов. В связи с тем, что асимметрии между двумя половинами спинного мозга в числе ПРВ+ нейронов выявлено не было (рис. 49 Б), значения с левой и правой половины серого вещества для каждой из зон суммировались.

Наибольшее процентное число ПРВ+ нейронов выявлено в зоне ВЛ –  $26\pm 2\%$  (рис. 49 В), которое, в зависимости от сегмента спинного мозга, варьирует незначительно (рис. 49 Г). Абсолютное число клеток данной области увеличивается от сегмента L4 к L7 и падает в S1 (рис. 49 Д). Немного меньше ПРВ+ нейронов выявлено в зонах ЦМ и ДЛ –  $21\pm 1$  и  $18\pm 2\%$ , соответственно (рис. 49 В). При этом в зоне ЦМ абсолютное число клеток немного больше только в сегментах L6-L7, а в ДЛ наблюдается их градуальное увеличение от L4 до L7 и падение в S1 (рис. 49 Д). Примерно одинаковое число ПРВ+ нейронов выявлено в зонах ДМ, ЦЛ и ВМ –  $13\pm 6$ ,  $13\pm 4$  и  $10\pm 4\%$  (рис. 49 В) Только в зоне ДМ наблюдается зависимость абсолютного числа клеток от сегмента (рис. 49 Д).



*Рисунок 49. Региональное распределение ПРВ+ нейронов в сером веществе сегментов L4-S1 спинного мозга. А – положение зон интереса в сером веществе; Б – отношение общего числа нейронов между левой и правой половиной спинного мозга; В – среднее по всем животным и сегментам относительное число ПРВ+ нейронов в каждой из зон интереса; Г – среднее по всем животным относительное число ПРВ+ нейронов в каждой из зон интереса в сегментах L4-S1; Д – среднее по всем животным число ПРВ+ нейронов в каждой из зон интереса в сегментах L4-S1. По оси ординат – условные единицы (Б), процентное (В и Г) и абсолютное (Д) число ПРВ+ нейронов, по оси абсцисс – номера животных (Б), названия зон интереса (В), номера сегментов спинного мозга (Г и Д). На диаграммах В-Д представлены средние значения + стандартное отклонение.*

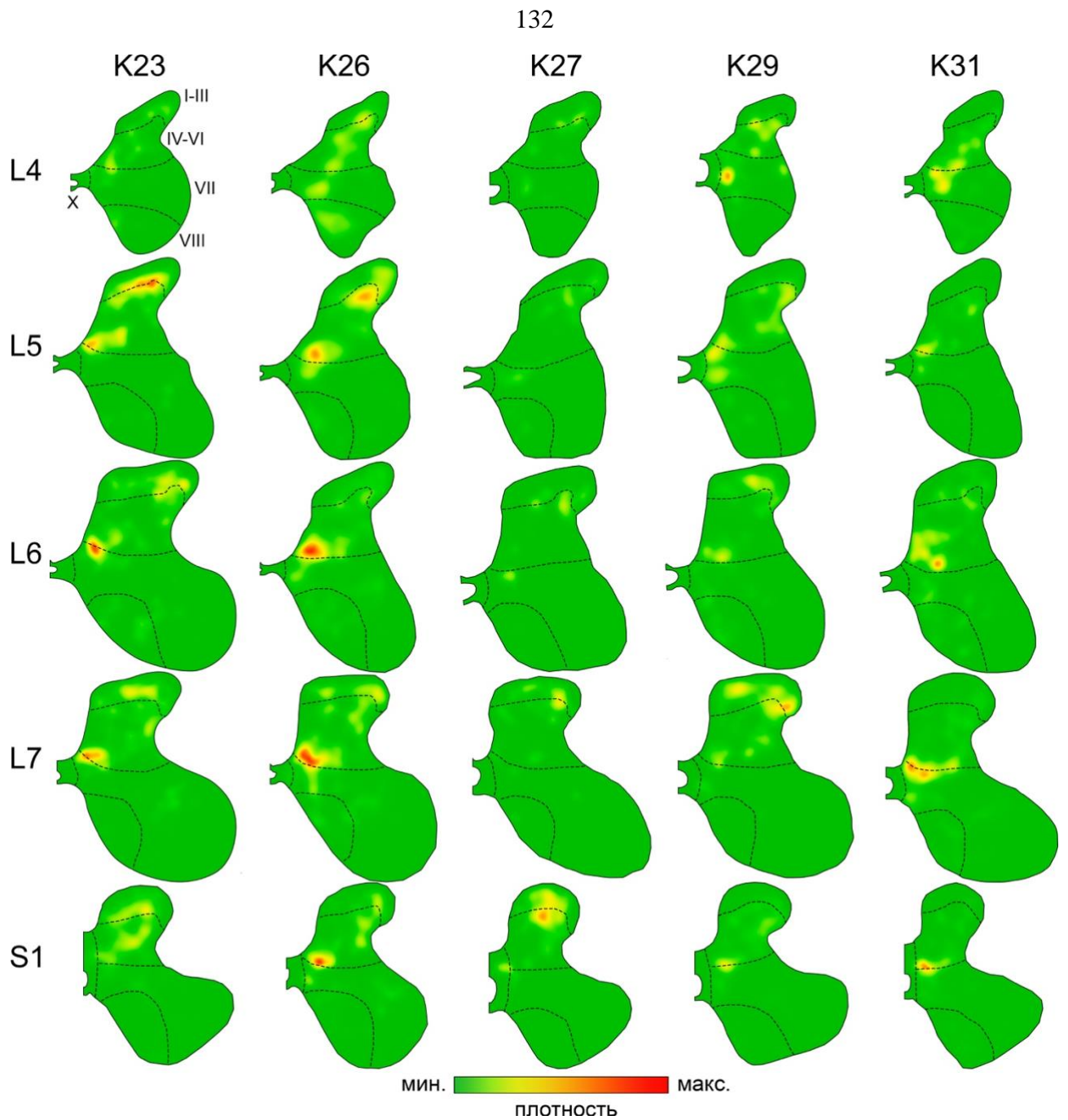
### **3.2.4 Сравнительный анализ распределений нейронов, иммунопозитивных к парвальбумину и c-Fos**

Для выявления зон возможной колокализации популяций нейронов, иммунопозитивных к белку c-Fos с популяциями нейронов, иммунопозитивных к парвальбумину провели сопоставление полученных паттернов распределения. Для этого объединяли Total-изображения карт плотности, построенные для FOS+ нейронов и для клеток, иммунопозитивных к парвальбумину по алгоритму описанному в главе 2.6. Так как, качественный паттерн распределения FOS+ нейронов в сером веществе спинного мозга при ХВ и ХН в целом сходен (см. главу 3 часть 2.1 и 2.3), разделения на две соответствующие группы в данном сопоставлении не проводили.

Наибольшая плотность ПРВ+ нейронов была выявлена в двух зонах: 1) пластины II-IV и 2) медиальная часть пластины VI (рис. 44). Области высокой плотности FOS+ нейронов наблюдаются в обеих зонах (рис. 50).

В пластинках II-IV представлены мелкие веретеновидные нейроны, число которых значительно меньше, чем КЛБ+. Кроме того, данные клетки локализованы в дорзальных рогах более вентрально, и их основная масса приходится на пластину III. Основная зона пересечения ПРВ+ и FOS+ метки приходится на латеральную части границы между пластинками III и IV.

Медиальная часть пластины VI характеризуется наличием симметричных относительно центрального канала скоплений ПРВ+ нейронов. Данные группы меченных клеток локализованы дорзальнее рядом расположенных кластеров КЛБ+ нейронов и соответствуют положению скоплений FOS+ нейронов.



*Рисунок 50. Сопоставление карт плотности ПРВ+ и FOS+ нейронов. Зелено-красный градиент отражает степень колокализации разных маркеров от минимального к максимальному, соответственно.*

## ГЛАВА 4. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

### **Часть 1. Особенности ходьбы, вызываемой эпидуральной стимуляцией разных сегментов пояснично-крестцового утолщения спинного мозга кошки**

Ранее в работах на животных (Barthélemy et al., 2007; Courtine et al., 2009) и людях (Dimitrijevic et al., 1998; Shapkov, Shapkova, 1998) было показано, что ЭС спинного мозга приводит к активации спинальных локомоторных сетей. Предполагается, что эффект, вызываемый ЭС, основан на стимуляции миелинизированных сенсорных волокон дорзальных корешков, в итоге приводящей к активации спинальных локомоторных сетей (Carogrosso et al., 2013).

Впервые инициация ходьбы у кошки, вызванная посредством ЭС спинного мозга, была продемонстрирована Т. Iwahara с коллегами в 1992. В своей работе они описывают возможность запуска ХВ задних конечностей стимуляцией любого из сегментов L1-S1, но не более каудальных. В нашей работе мы определили, что у децеребрированной кошки активация ХВ возникает при стимуляции сходного, но более узкого участка спинного мозга – сегментов L3-S1. Полученные результаты могут быть объяснены особенностями стимуляции.

В нашем исследовании мы также выявили, что работа мышц и кинематика локомоторных движений при ХВ существенно зависят от точки стимуляции. Так, при ЭС ростральных сегментов поясничного отдела диапазон движения суставов более низкий, чем при ЭС каудальных сегментов, что говорит о преобладании работы мышц сгибателей в такой модели вызова ходьбы. Аналогично, при стимуляции более каудальных сегментов в системе локомоции преобладает работа мышц разгибателей. Поскольку в ростральных и каудальных сегментах поясничного утолщения преобладают мотонейронные пулы, иннервирующие мышцы сгибатели и разгибатели, соответственно (Vanderhorst, Holstege, 1997), вероятно, ЭС определенного сегмента не только активировывает

локомоторные сети, но и повышает возбудимость мотонейронов, локализованных вблизи точки стимуляции. Полученные результаты частично согласуются с данными Y.P. Gerasimenko и коллег (2005), которые с помощью метода ЭМГ показали зависимость активности мышц от стимулируемого сегмента спинного мозга (L2-L7). Однако, согласно их данным, после короткого периода тонической активности локомоция наиболее оптимально запускается при ЭС сегментов L4-L5 и менее эффективно – сегмента L3, но не остальных сегментов (L2, L6, L7). Стимуляция сегментов L2, L6, L7 не приводила к возникновению локомоторного паттерна, но вызывала тоническую активность в мышцах.

Способность животных к ХН при ЭС спинного мозга впервые была продемонстрирована в работе П.Е. Мусиенко и коллег в 2005 году (Мусиенко и др., 2005). В этой же работе авторы отмечают, что электрическая стимуляция МЛЮ, которая способствует вызову локомоции вперед даже в отсутствие тредбана, не вызывает ХН при движении ленты тредбана вперед. Полученными данными авторы подтверждают свою гипотезу о том, что нейронные сети, обеспечивающие генерацию различных локомоторных паттернов, сосредоточены в спинном мозге и реализуют свою деятельность на основе сенсорной информации от рецепторов конечностей. В нашей работе мы выявили, что область спинного мозга кошки, ЭС которой вызывает ХН, локализована в достаточно узкой зоне – как правило, в сегменте L6, реже в L7 или в каудальной части L5.

Главным отличием в кинематике локомоторных движений при ХН является обратная последовательность работы тазобедренного сустава: сгибание во время фазы опоры и разгибание во время фазы переноса (Buford et al., 1990). Одним из важнейших афферентных сигналов, участвующих в запуске фазы переноса во время ХВ, является активация мышечных веретен мышц сгибателей бедра во время фазы опоры (Rossignol et al., 2006). Полагаем, что во время ХН афферентные сигналы о сгибании бедра (от мышечных веретен разгибателей бедра) в конце фазы опоры могут участвовать в инициации фазы переноса. Таким

образом, мотонейронные пулы, иннервирующие мышцы разгибатели, и афференты от них могут представлять собой элементы сетей, определяющих движение шага в горизонтальной плоскости (горизонтальный компонент) при ХН (Musienko et al., 2012). Данные элементы содержатся в сегментах L6-L7, стимуляция которых вызывает ХН (Hamm et al., 1985; Vanderhorst, Holstege, 1997).

**Заключение.** Кинематические особенности задних конечностей при ходьбе вперед, вызываемой ЭС разных сегментов существенно различаются: при каудальном смещении электрода длина шага, диапазон углов конечностей и коэффициент асимметрии градуально увеличивается. Данный факт может быть связан с особенностями локомоторных интернейронных сетей, локализованных в стимулируемом сегменте, и изменением возбудимости мотонейронных пулов в зависимости от локализации стимулирующего электрода. По тем же кинематическим характеристикам ходьба назад существенно отличается от ходьбы вперед: имеет более короткий шаг, намного меньший объём движений в суставах и нарушение симметричного чередования конечностями. Данные результаты с одной стороны могут быть объяснены спецификой мышечного аппарата, для которого не характерны формируемые паттерны, с другой – слабым развитием локомоторных сетей, контролирующих ходьбу назад.

## **Часть 2. Распределение локомоторных сетей в спинном мозге кошки**

Ранее было выдвинуто предположение, что ходьба в разных направлениях реализуется за счет работы одного и того же ЦПП (Duysens, Crommert, 1998). Наше исследование выявило, что ХВ активируется при стимуляции значительно более широкого участка спинного мозга (сегменты L3-S1), чем ХН (сегменты L5-L7). Данные результаты могут быть объяснены существованием различий в rostroкаудальном распределении локомоторных сетей для каждого вида ходьбы. Для того, чтобы проверить данную гипотезу, мы сравнили распределение спинальных нейронов, активированных при ХВ и ХН, используя

метод иммуногистохимического выявления белка c-Fos. Следует отметить, что некоторые нейроны, даже будучи активированными, могут не изменять свой нормальный уровень экспрессии белка (Hunt et al., 1987; Dragunow, Faull, 1989). В связи с этим, вероятно, только определенная часть нейронов, формирующих спинальные локомоторные сети, была определена в данном исследовании.

Нами было обнаружено, что качественное распределение FOS+ нейронов при ХВ и ХН схоже. У обеих групп животных FOS+ нейроны были выявлены в сегментах L4-S1. Наибольшая плотность FOS+ нейронов выявлена в трех областях серого вещества: 1) в дорзальных рогах – латеральная часть пластин I-IV (зона ДЛ), 2) в промежуточном сером веществе – на границе пластин VI и VII (зона ЦЛ) и VII и X (зона ЦМ), 3) вентромедиальная область – пластина VIII (зона ВМ). Подобное распределение FOS+ нейронов было выявлено у кошек, ходьба которых вызывалась электрической стимуляцией МЛО (Dai et al., 2005). Известно, что одни и те же спинальные нейроны ритмически активны при ХВ, вызванной как электрической стимуляцией спинного мозга, так и МЛО (Zelenin et al., 2015). Также известно, что интернейроны, ритмически активные при вызванной ЭС ХВ и ХН, локализованы во всех областях серого вещества сегментов L4-L6 (Zelenin et al., 2016).

Вероятно, активация большей части FOS+ нейронов зон ДЛ и ДМ опосредована сенсорными импульсами от рецепторов двигающихся конечностей, так как при фиктивной локомоции (т.е. при блокаде выхода импульсной активности мотонейронов на иннервируемые мышцы) число таких нейронов значительно меньше (Carr et al., 1995; Dai et al., 2005). FOS+ нейроны, локализованные в зонах ЦЛ и ЦМ, могут являться Ia тормозными интернейронами, интернейронами группы II и нейронами восходящих трактов (в частности, спинно-мозжечкового и спиноретикулярного). Описанные группы нейронов имеют ритмическую активность во время локомоции, вызванной электрической стимуляцией МЛО (McCrea et al., 1980; Noga et al., 1987; Pratt, Jordan, 1987; Shefchyk et al., 1990; Stecina et al., 2013). FOS+ нейроны зоны ЦМ могут являться комиссуральными интернейронами, принимающими участие в



координации между левой и правой конечностями во время локомоции (Kjaerulff, Kiehn, 1996; Kiehn, Butt, 2003; Matsuyama et al., 2004).

Несмотря на то, что общий вид распределения FOS+ нейронов при ХВ и ХН схож, количественные показатели существенно разнятся. В некоторых областях серого вещества сегментов L6-L7 у животных с ХН число FOS+ нейронов значительно больше, чем у группы кошек с ХВ (рис. 51 Б). При этом мы доказали, что полученные данные не являются результатом прямой неспецифической активации нейронов, расположенных вблизи от точки стимуляции. Таким образом, выраженное отличие в числе FOS+ нейронов для ХВ и ХН отражает активацию специфических сетей для представленных видов ходьбы.

Ранее (Musienko et al., 2012) была предложена гипотеза о контроле направления шага: локомоторная система включает в себя два основных механизма, один генерирует вертикальный компонент шага (поднятие и опускание конечности), другой – горизонтальный компонент (перенос конечности от одной точки к другой) (рис. 51 А). Последний включает в себя сети, управляющие направлением шага в разные стороны (вперед, назад, влево, вправо). Данные сети получают сенсорную информацию о движении конечности во время фазы опоры – при достижении конечностью крайней точки запускается фаза переноса (Pearson, Duysens, 1976).

В рамках двухуровневой модели локомоторного ЦГП (Rybak et al., 2015), можно предположить, что часть вертикального компонента включает в себя ритм-генерирующий уровень, в то время как сети горизонтального компонента принадлежат к паттерн-образующему слою.

Мы полагаем, что сети, генерирующие горизонтальный компонент для ХВ распределены по всему пояснично-крестцовому утолщению спинного мозга, в то время, как для ХН – только в сегментах L6-L7 (рис. 51 В). Таким образом, для активации ХН, ЭС должна быть приложена к сегментам L6-L7, в то время как широко распространенные сети, генерирующие вертикальный и горизонтальный компонент ХВ могут быть активированы ЭС любого сегмента от L3 до S1. При

этом сети, генерирующие вертикальный компонент для обоих видов ходьбы, распространены в пояснично-крестцовом утолщении достаточно широко. Данное предположение может объяснить схожий паттерн распределения FOS+ нейронов при ХВ и ХН. Так, FOS+ нейроны, генерирующие горизонтальный компонент для ХВ, распределены по всему пояснично-крестцовому отделу спинного мозга, а совокупность нейронов, генерирующих горизонтальный компонент для ХН, сконцентрирована только в L6-L7, в связи с чем число FOS+ нейронов в этих сегментах значительно выше, чем у животных с ХВ.

**Заключение.** Таким образом, выявленные активируемые при ЭС нейроны могут являться элементами двухуровневого локомоторного ЦПП: ритмогенного и паттерн-образующего. Элементы обоих уровней для наиболее типичного и необходимого вида ходьбы (в направлении вперед) распределены широко вдоль rostrocaudальной оси пояснично-крестцового отдела. Элементы, генерирующие ходьбу назад, как крайне специфичный и редко-используемый для позвоночных вид передвижения, осуществляемый только под контролем супраспинальных структур ЦНС, вероятно, в ходе онто- и филогенетического развития сохраняются в незначительном участке спинного мозга.

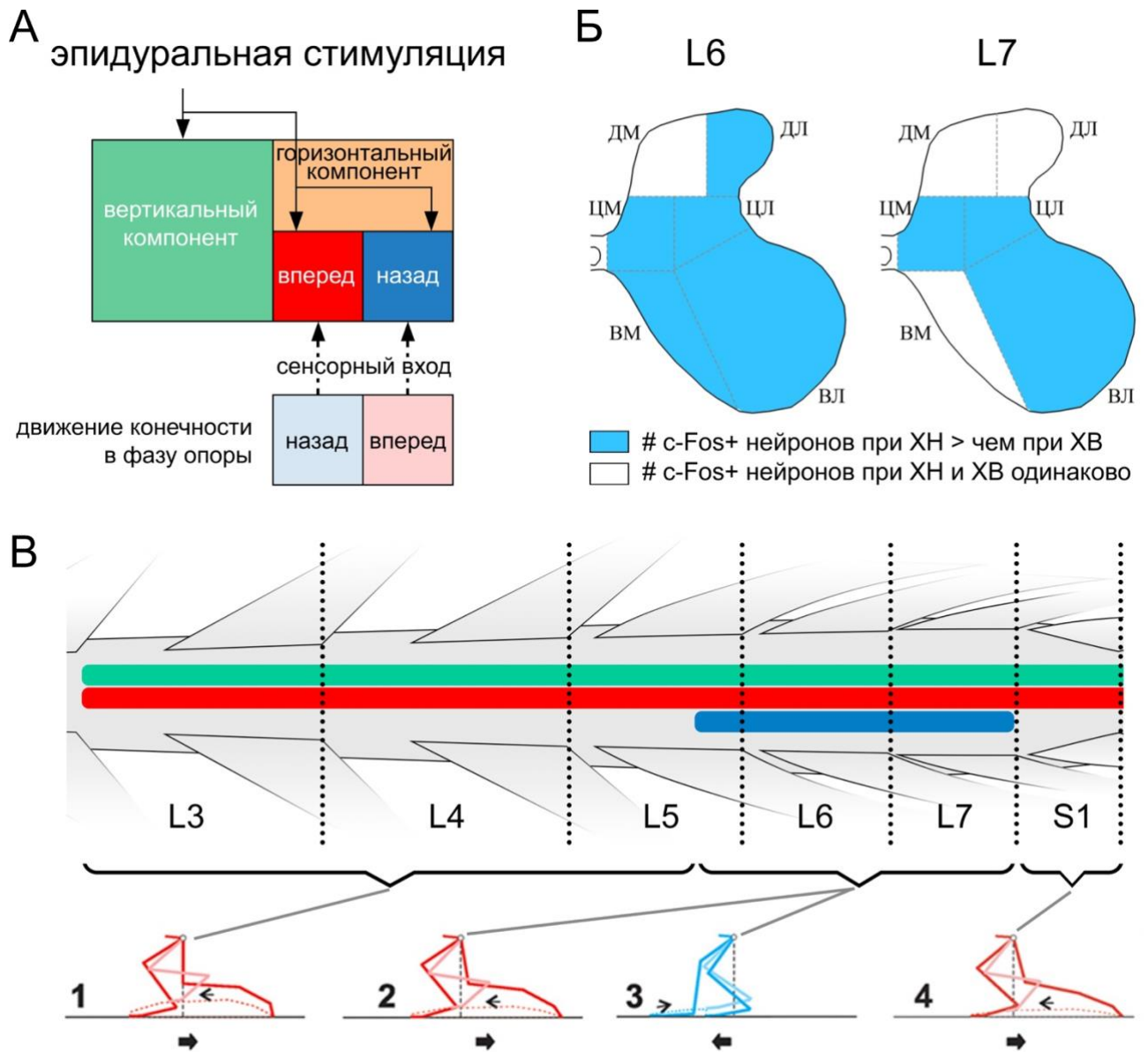


Рисунок 51. Распределение нейронных сетей, обеспечивающих ХВ и ХН. А – схема контроля за направлением ходьбы (адаптировано из Musienko et al., 2012). Б – области серого вещества сегментов L6 и L7, нейроны которых генерируют горизонтальный компонент для ХВ (обозначены голубым). В – схема rostrocaudalного распределения в пояснично-крестцовом утолщении спинного мозга сетей, генерирующих вертикальный компонент для ХВ и ХН (обозначен зеленой полосой), горизонтальный компонент для ХВ (обозначен красной полосой) и горизонтальный компонент для ХН (обозначен голубой полосой). 1-4 – изменение конфигурации положения задних конечностей в разные фазы локомоторного цикла: розовые и светло-голубые линии – середина фазы переноса, красные и темно-голубые – крайние положения фаз переноса и опоры. Тонкие стрелки – направление движения конечностей во время фазы переноса, толстые стрелки – направление движения ленты тредбана.

### **Часть 3. Популяции интернейронов спинного мозга кошки: распределение, свойства и функциональные особенности**

Спинальный контроль локомоции обеспечивается разнородной популяцией интернейронов серого вещества (Kiehn, 2006). В нашем исследовании по выявлению FOS+ нейронов было установлено, что при локомоции, вызванной ЭС, специфические сети нейронов активируются во всех областях серого вещества. Однако, вопрос о том, какие именно типы интернейронов формируют сети, способные обеспечивать локомоторную активность и ее модуляцию, остается открытым. Интернейроны, экспрессирующие специфические кальций-связывающие белки, имеют разные паттерны электрической активности (Hof, Nimchinsky, 1992; Heizmann, 1993; Baizer, Baker, 2005), что определяет их функциональные особенности, поэтому иммуногистохимический метод может быть использован для визуализации функционально разных типов интернейронов. В связи с этим, мы провели выявление нейронов, иммунопозитивных к кальбиндину и парвальбумину, и дали детальное описание ламинарного и регионального распределения КЛБ+ и ПРВ+ нейронов серого вещества спинного мозга (сегменты L1-S1).

#### ***Пластина I.***

Иммунопозитивные к кальбиндину нейроны пластины I ранее были выявлены в сером веществе спинного мозга мышей (Mantyh et al., 1997), крыс (Celio, 1990; Yoshida et al., 1990; Ren, Ruda, 1994; Gamboa-Esteves et al., 2001), кошек (Anelli, Heckman, 2005), макак (Craig et al., 2002) и человека (Ince et al., 1993). Однако описание морфологических особенностей таких нейронов представлены только в работах, проведенных на крысах и кошках. Так, у крыс одни авторы описывают только крупные нейроны, вероятно, относящиеся к веретеновидным (Ren, Ruda, 1994), другие отмечают наличие четырех типов клеток, соответствующим классификации D. Lima и A. Coimbra (Gamboa-Esteves et al., 2001). У кошки выделяют только мультиполярный тип нейронов (Anelli, Heckman, 2005). Исследования на макаках, проведенные A.D. Craig и коллегами

(1994, 2002), привели к выводу о том, что большая часть КЛБ+ нейронов пластины I, вне зависимости от своего морфотипа, проецируются в вентромедиальное таламическое ядро и отвечают за проведение болевых и температурных сигналов.

В настоящем исследовании впервые описаны нейроны пластины I, иммунопозитивные к парвальбумину. Ряд авторов в своих работах обращают внимание на то, что при выявлении парвальбумина, пластина I полностью лишена иммунопозитивных клеток (Antal et al., 1990; Ren, Ruda, 1994; Anelli, Heckman, 2005). Стоит отметить, что в настоящем исследовании ПРВ+ нейроны выявлены только в некоторых сегментах (L6-S1) пояснично-крестцового отдела спинного мозга и имеют овальную форму, подобную пирамидным клеткам, иммунопозитивным к кальбиндину. Таким образом, полагаем, наличие данных нейронов в спинном мозге локально.

### ***Пластины II-III.***

В настоящей работе при иммуногистохимическом выявлении кальций-связывающих белков в пластинах II-III были визуализированы мелкие овальные нейроны, чаще ориентированные в дорзовентральном направлении (рис. 35; рис. 45 Г, н). Оба кальций-связывающих белка в данных пластинах не маркируют длинные дендриты, чаще видны 1-2 слабоокрашенных коротких отростка, ориентированных по длинной оси сомы. Таким образом, представляется затруднительным определить морфотип данных нейронов по классификации Т.Ж. Grudt и Е.Р. Perl (2002), хотя описанный вид отхождения дендритов от сомы характерен, скорее, для радиальных или вертикальных нейронов. Исключением, вероятно, являются ПРВ+ нейроны, которые скорее относятся к островковым, так как являются тормозными (Polgár et al., 2013; Smith et al., 2015, 2016).

Размеры КЛБ+ и ПРВ+ нейронов в пластинах II-III совпадают ( $28 \pm 14$  мкм<sup>2</sup> и  $28 \pm 10$  мкм<sup>2</sup>, соответственно), однако, несмотря на это, их среднее число на срезе отличается более чем на порядок (рис. 36 Г и рис. 45 Д). Кроме того, в работах на кошках (Anelli, Heckman, 2005) и крысах (Yoshida et al., 1990) с помощью метода двойного иммуномечения было показано, что популяции

мелких КЛБ+ и ПРВ+ нейронов дорзальных рогов не пересекаются. Полагаем, нейроны пластин II-III, иммунопозитивные к кальбиндину и парвальбумину, формируют непересекающиеся популяции нервных клеток, выполняющие в дорзальных рогах разные функции.

В настоящей работе было впервые установлено, что мелкие КЛБ+ нейроны пластин II-III формируют кластеры клеток, локализованные преимущественно в сегментах L3-L5 (рис. 36). M. Scheibel и A. Scheibel (1968), используя метод Гольджи, показали, что для нейронов данных пластин характерна тенденция к колончатому расположению. В работах C. Rivero-Melián и G. Grant (1990) и Y. Takahashi с коллегами (2007) было показано, что центральные проекции от дорзальных ганглиев поясничного отдела в дорзальных рогах формируют патчи, ориентированные в медиолатеральном и рострокаудальном направлениях. Локализация, размер и число данных патчей позволяют предположить, что кластеры КЛБ+ нейронов пластин II-III могут иметь связи с дерматомами задних конечностей и являться элементами кожной соматотопической организации в дорзальных рогах.

При иммуногистохимическом выявлении парвальбумина на срезах спинного мозга крыс в дорзальных рогах авторы ряда работ описывают окрашенную полосу нейропиля, очерчивающую внутреннюю часть пластины II (Pi) (Yamamoto et al., 1989; Antal et al., 1990, 1991; Celio, 1990) При этом ПРВ+ нейроны локализованы преимущественно в ней или на границе пластин II и III. В нашем исследовании на кошке, как и в работе R. Anelli и C.J. Heckman (2005), настолько четкого вида окрашивания нейропиля не наблюдается, однако, иммунопозитивные клетки локализуются примерно в той же области или немного глубже в пластине III (рис. 45 Г). В исследованиях E. Polgár с коллегами (2013) на крысах ПРВ+ нейроны пластин II-III были отнесены к одному из четырех классов тормозных интернейронов. Однако, авторы указали, что, в отличие от остальных трех классов клеток, ПРВ+ интернейроны не активируются механическими, температурными или химическими болевыми импульсами. Позже H. Petitejean с коллегами (2015) на мышах определили, что

ПРВ+ интернейроны в пластинах II-III отвечают за обработку и модуляцию сенсорной информации, поступающей от болевых, но не температурных рецепторов.

#### ***Пластины IV-V.***

В пластине IV кальбиндином и парвальбумином маркируются только мелкие веретеновидные нейроны, локализованные в дорзальной части пластины. Вероятно, данные кальций-связывающие белки могут быть колокализованы в одних и тех же нейронах. В работе R. Anelli и C.J. Heckman (2005) наличие в пластине IV мелких веретеновидных клеток, иммунопозитивных к кальбиндину и парвальбумину, не вынесено в результаты исследования, однако, визуализируется на представленных ими рисунках. В своих работах A.G. Brown и коллеги (1977, 1980) показали, что в пластине IV локализованы нейроны, активируемые при механическом воздействии на кожные рецепторы. Используя метод ретроградного трейсирования, авторы определили, что данные нейроны своими аксонами формируют спиноцервикальный тракт, передающий неболевые тактильные импульсы в супраспинальные структуры (Brown et al., 1977, 1980; Abraira, Ginty, 2013). Однако, по своему морфотипу (мультиполярные) и локализации данные нейроны несколько отличаются от выявленных в настоящем исследовании КЛБ+ и ПРВ+ нейронов.

В наиболее латеральной части пластины IV и частично V (на границе с белым веществом) была определена отдельная группа средних по размеру мультиполярных нейронов, иммунопозитивных к кальбиндину (рис. 38 А, м). С.С. Сао с коллегами (1993), используя методы ретроградного трейсирования и регистрации активности нейронов, показали, что плотной зоной локализации нервных клеток, чьи аксоны участвуют в формировании спиноцервикального тракта, является именно латеральная область пластин IV-V. Авторы отмечают, что активность данных нейронов в сегментах L5-S1 возникает при механическом воздействии на кожу и волосы на пальцах ипсилатеральной задней конечности. В исследованиях A.G. Brown и коллег (1977, 1980) нейронную активность латеральной части пластин IV-V в сегментах L6-S1 регистрировали при

раздражении рецепторов волосяных фолликулов и кожи в области бедра и пальцев ипсилатеральной задней конечности.

### ***Пластины VI-VII.***

В своей работе на взрослых мышах Y. Fu и коллеги (2012) с помощью метода ретроградного трейсирования показали, что по длине всего спинного мозга тянутся так называемые прецеребеллярные ядра, нейроны которых иммунопозитивны к некоторым кальций-связывающим белкам и в преобладающей степени к парвальбумину. По ходу спинного мозга данные ядра последовательно сменяются: шейные сегменты включают центральное цервикальное ядро, грудные сегменты и ростральные поясничные – дорзальное ядро (ядро Кларка), каудальные поясничные – поясничное прецеребеллярное ядро и крестцовые сегменты – крестцовое прецеребеллярное ядро (ядро Стиллинга). Схожая анатомия прецеребеллярных ядер описана для других грызунов (Olude et al., 2015; Snyder et al., 1978) и некоторых приматов (Snyder et al., 1978; Watson et al., 2015). В настоящем исследовании локализация меченной парвальбумином области в сегментах L1-L4 (рис. 46 А) совпадает с положением ядер Кларка – основным источником дорзального спинно-мозжечкового тракта (Clarke, 1859; Mann, 1973; Petras, Cummings, 1977). Однако, окрашенный нейропиль обозначенной зоны выходит далеко за пределы каудальной анатомической границы данных ядер – сегмента L4 (Rexed, 1954). Так, степень окраски нейропиля градуально падает вдоль ростокаудальной оси от сегмента L5 к S1. Параллельно этому в данной области наблюдается увеличение числа мелких и крупных мультиполярных ПРВ+ нейронов. Мы предположили, что данные иммунопозитивные нейроны могут быть элементами общей спинальной проприоцептивной системы, локализованные за пределами ядер Кларка в более каудальных сегментах, но в пределах той же области серого вещества.

В сегментах L5-S1 КЛБ+ нейроны медиальной части промежуточного серого вещества существенно отличаются по своему морфотипу от ПРВ+ клеток и локализуются вентральнее – в пластине VII (рис. 39 Г, о). Стоит отметить, что на данную область также приходится выявленная парвальбумином группа



мультиполярных клеток, отходящая в сегментах L1-L4 от ядер Кларка в составе вентрального выроста меченного нейропиля (рис. 47 А, м) и обособляющаяся в виде отдельного кластера в сегментах L5-S1 (рис. 47 Б, н). Полученные данные согласуются с работой R. Anelli и С. J. Heckman (2005), которые с помощью метода двойного иммуномечения показали, что в дорзомедиальной части пластины VII сегмента L7 спинного мозга кошки локализованы мультиполярные нейроны, иммунопозитивные как к парвальбумину, так и к кальбиндину. Описанная зона серого вещества характеризуется большим разнообразием функциональных типов нейронов. Так, среди пучковых нейронов выделяют спиноталамические (Trevino, Carstens, 1975; Carstens, Trevino, 1978; Meyers, Snow, 1982 а, б), спинно-оливарные (Armstrong, Schild, 1979), и спиноретикулярные (Fields et al., 1977; Maunz et al., 1978); среди вставочных – нейроны, на которых сходится информация от мышечных афферентов групп I (Czarkowska et al., 1981; Hongo et al., 1987; Jankowska, 1992; Bannatyne et al., 2009; Jankowska, Edgley, 2010) и II (Jankowska, 1992; Bannatyne et al., 2009; Jankowska, Edgley, 2010).

Еще один обособленный кластер нейронов, иммунопозитивных к кальбиндину, выявлен в сегментах L5-S1 в латеральной части промежуточного серого вещества на границе пластин VI-VII (рис. 39 Г, п). В работах Е. Jankowska с коллегами (1967 а, б), выполненных на спинальных кошках, в данной зоне были выявлены скопления интернейронов, по-разному активируемых в ответ на стимуляцию афферентов сгибательного рефлекса. Авторы полагают, данные типы интернейронов могут быть элементами локомоторного ЦГП, обеспечивающими реципрокные взаимодействия между мотонейронами антагонистами (Jankowska et al., 1967 б). В работе J.S. Riddell и M. Hadian (2000), в обозначенной области серого вещества сегментов L6-L7 спинного мозга кошки были выявлены скопления интернейронов, на которых сходится афферентная информация от мышечных афферентов группы II.

В наиболее латеральной области промежуточного серого вещества на границе пластин VI-VII сегментов L1-L4 выявлена группа нейронов

иммунопозитивных к кальбиндину (рис. 39 А, м, Б, н). Особенности rostrocaudального распределения описанной группы нейронов (сегменты L1-L4) и их локализация в промежуточном сером веществе (наиболее латеральная область на границе пластин VI-VII) совпадают с положением в спинном мозге интермедиолатерального ядра (*nucleus intermediolateralis*, ИМЛ), состоящего из преганглионарных симпатических нейронов (Rexed, 1954; Deuschl, Illert, 1981; Ryner, Coote, 1995). Согласно работе G. Deuschl и M. Illert (1981), в зависимости от локализации нервных клеток, ИМЛ делят на две зоны: 1) *nucleus intermediolateralis pars principalis* – в сером веществе и 2) *nucleus intermediolateralis pars funicularis* – в белом веществе. КЛБ+ клетки всегда локализованы только в сером веществе. Полагаем, кальбиндин метит функционально специфичную малочисленную популяцию нейронов наиболее дорзальной части внутренней зоны ИМЛ. Ранее, КЛБ+ нейроны ИМЛ были описаны в исследованиях на крысах (Ren, Ruda, 1994; Grkovic, Anderson, 1997).

В вентромедиальной части пластины VII пояснично-крестцового утолщения спинного мозга локализованы мультиполярные и веретенновидные нервные клетки, называемые интернейронами Реншоу (Willis, Willis, 1964; Thomas, Wilson, 1965; Jankowska, Lindström, 1971; Fyffe, 1990; Alvarez, Fyffe, 2007). Данные клетки посредством возвратного торможения участвуют в механизме стабилизации частоты разрядки  $\alpha$ -мотонейронов (Renshaw, 1946; Eccles et al., 1954; Windhorst, 2007; Alvarez et al., 2013). Сoma и дендриты описанных интернейронов содержат большое количество гефрина – белка, ответственного за постсинаптическую кластеризацию глициновых рецепторов (Alvarez et al., 1997). В следствие этого, иммуногистохимическое выявление гефрина используется в качестве способа визуализации клеток Реншоу (Alvarez et al., 1997; Geiman et al., 2000; Sapir et al., 2004; Perry et al., 2015). В настоящем исследовании в вентромедиальной части пластины VII выявлены скопления ПРВ+ (рис. 48 В, м) нейронов, а также одиночные клетки, иммунопозитивные к кальбиндину (рис. 39 Г, с). На основе анатомического положения и морфологических особенностей КЛБ+ нейронов, выявленных в спинном мозге

крыс (Antal et al., 1990) и макак (Arvidsson et al., 1992), было выдвинуто предположение о том, что кальбиндин может маркировать клетки Реншоу. Позже данное предположение было подтверждено путем выявления кальбиндина в нейронах, маркированных геффирином, т.е. в собственно клетках Реншоу (Carr et al., 1998, 1999). Так, в исследовании Р.А. Carr и коллег (1998) все геффирин-иммунопозитивные нейроны маркировались кальбиндином в спинном мозге крысы и только 47% в спинном мозге кошки. В связи с этим кальбиндин в исследованиях на кошке может быть использован в качестве маркера интернейронов Реншоу только отчасти, в то время как для грызунов данный метод широко распространен (Sanna et al., 1993; Alvarez et al., 1999; Geiman et al., 2000; Lim et al., 2000; Sapir et al., 2004; Gonzalez-Forero et al., 2005; Mentis et al., 2006; Song et al., 2006; Kim et al., 2008; Stepien et al., 2010; Perry et al., 2015; Porseva, 2015). В некоторых работах на крысах на основе данных о локализации и морфологии выявленных нейронов было выдвинуто предположение о том, что интернейроны Реншоу могут быть ПРВ+ (Antal et al., 1990; Celio, 1990). В нашем исследовании было выявлено, что в сегментах L6-L7 ПРВ+ нейроны пластины VII формируют две локальные популяции клеток, расположенные медиально и латерально (рис. 48 В, м, н). Локализация медиального кластера схожа с положением клеток Реншоу. Таким образом, полагаем, у кошки оба кальций-связывающих белка могут выступать в качестве маркера клеток Реншоу или отдельных представителей их разных классов (Fyffe, 1990).

К другому типу интернейронов пластины VII относится популяция тормозных клеток (далее по тексту Ia интернейроны), передающих сенсорную информацию от рецепторов группы Ia к мотонейронам (Jankowska, Lindstrom, 1972). Благодаря данным нейронам обеспечивается реципрокное торможение мышц антагонистов (Hultborn et al., 1971; Jankowska, 1992; Jankowska, 2013; Côté et al., 2018). В пластине VII для них характерно дорзомедиальное положение по отношению к мотонейронным пулам (Jankowska, Lindstrom, 1972; Jankowska, 2013). В исследованиях на мышах было выявлено, что некоторые Ia интернейроны иммунопозитивны к парвальбумину (Alvarez et al., 2005; Siembab

et al., 2010). Вероятно, выявленная в настоящем исследовании популяция ПРВ+ нейронов, локализованная в латеральной части пластины VII, может относиться к группе Ia интернейронов (рис. 48 В, н).

### ***Пластина VIII.***

ПРВ+ нейроны пластины VIII представлены неупорядоченными мультиполярными клетками в толще пластины и веретеновидными клетками, локализованными на медиальной границе пластины VIII в пределах всех исследуемых сегментов (L1-S1), при этом КЛБ+ нейроны представлены только в сегментах L4-S1 одиночными клетками, локализованными 1) в толще пластины (мультиполярные клетки) (рис. 40 н), 2) на медиальной границе пластины VIII (веретеновидные клетки) (рис. 40 о) и 3) за пределами серого вещества в вентральной комиссуре (характерно только для сегментов L7-S1) (рис. 40 м).

Пластина VIII характеризуется большим разнообразием так называемых комиссуральных нейронов, чьи аксоны переходят на противоположную сторону спинного мозга (Scheibel, Scheibel, 1969; Matsushita, 1970). Некоторые из них являются пучковыми и участвуют в формировании спиноталамического (Trevino, Carstens, 1975; Meyers, Snow, 1982 a), спинно-оливарного (Armstrong, Schild, 1979; Molinari, 1985) и спиноретикулярного (Corvaja et al., 1977; Maunz et al., 1978) трактов, другие – вставочными (Aoyama et al., 1971; Grillner, Hongo, 1972; Skinner, Rempel, 1978). Такие вставочные нейроны представлены четырьмя популяциями клеток: двумя возбуждающими и двумя тормозными (Jankowska, 2013). Одна популяция возбуждающих интернейронов и одна тормозных принимают информацию от мышечных рецепторов группы II. Две оставшиеся популяции клеток активируются импульсами, идущими по нисходящим трактам (ретикулоспинальному, вестибулоспинальному и кортикоспинальному) и от главных афферентов (Ia рецепторов). Благодаря работе данных популяций нейронов обеспечивается координация между движениями левой и правой конечностями и связь с позными рефлексам (Harrison et al., 1986; Jankowska, Noga, 1990; Bannatyne et al., 2003; Matsuyama et al., 2004; Jankowska et al., 2005; Jankowska, 2008, 2013). Меньшая часть нейронов

пластины VIII представлена интернейронами, аксоны которых направлены к мотонейронным пулам ипсилатеральной стороны спинного мозга (McCrea et al., 1980; Davies, Edgley, 1994). Вероятно, разные популяции нейронов пластины VIII характеризуются экспрессией разных видов кальций-связывающих белков.

### ***Пластина IX.***

Пластина IX представляет собой отдельные области вентральных рогов, в которых локализованы мотонейронные пулы (Rexed, 1954). В настоящем исследовании ни один из исследуемых кальций-связывающих белков не маркирует крупные мультиполярные мотонейроны, что согласуется с литературными данными (Celio, 1990; Ren, Ruda, 1994; Anelli, Heckman, 2005). Однако, в исследованиях на крысах было выявлено, что кальбиндин и парвальбумин экспрессируются в мотонейронах спинного мозга в пренатальном и раннем постнатальном периодах онтогенеза (Zhang et al., 1990). В возрасте 5-8 недель КЛБ+ и ПРВ+ мотонейроны в спинном мозге крыс не выявляются. Также, в исследованиях на грызунах (Elliott, Snider, 1995; Dekkers et al., 2004; Spruill, Kunci, 2015) и приматах (Fahandejsaadi et al., 2004), в том числе человеке (Alexianu et al., 1994; Fahandejsaadi et al., 2004), было выявлено, что кальций-связывающие белки могут экспрессироваться мотонейронами спинного мозга при нейродегенеративных заболеваниях, тем самым обеспечивая нормальный уровень ионов кальция в клетке при патологических изменениях (Ho et al., 1996; Paizs et al., 2010; Meszlényi et al., 2017; Patai et al., 2017).

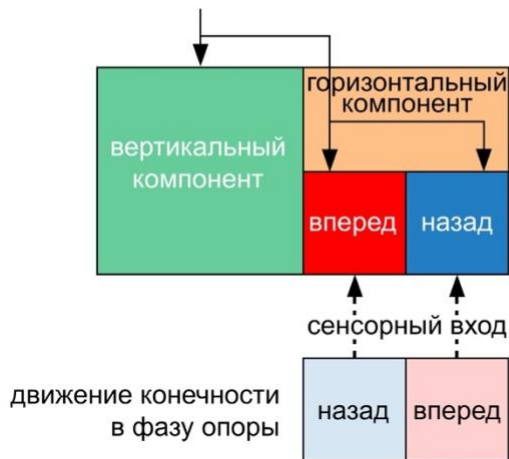
### ***Пластина X.***

В пластине X выделяют разные по форме сомы типы нейронов: овальные, веретеновидные, пирамидные, звездчатые и мультиполярные (Nahin et al., 1983; Порсева, Шилкин, 2016). На основе выполняемой функции определены по меньшей мере три класса нервных клеток: преганглионарные симпатические (Strack et al., 1989; Deuchars, Lall, 2015), пучковые (Nahin et al., 1983; Menétrey et al., 1989; Villanueva et al., 1991; Kayalioglu et al., 1999) и участвующие в локомоторном контроле (в частности, модуляции работы мотонейронов) (Bertrand, Cazalets, 2011). Однако, соответствия между морфотипом нейронов и

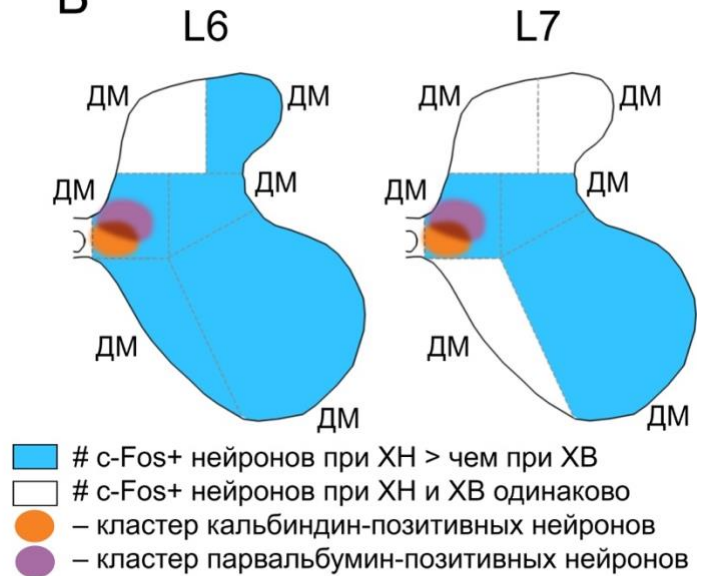
выполняемой ими функции в литературе не описано. В нашем исследовании в пластине X выявлено достаточно малое число мелких овальных нейронов, иммунопозитивных только к кальбиндину (рис. 40 А, м).

**Заключение.** Таким образом, подробно проанализировав распределение нейронов, иммунопозитивных к кальций-связывающим белкам, мы полагаем, что те интернейроны спинного мозга, которые являются элементами ЦГП, вероятно, образуют сходный паттерн распределения и, по-видимому, данный паттерн сходен с распределением FOS+ нейронов. Так, было замечено, что только в медиальной части промежуточного серого вещества спинного мозга выявлены близко расположенные скопления интернейронов нескольких типов, экспрессирующих кальбиндин и парвальбумин (рис. 52 Б). При этом пространственная локализация этих скоплений сходна с локусом промежуточного серого вещества, содержащим наибольшее число нейронов, активируемых в ходе вызванной локомоции вне зависимости от направления ходьбы (рис. 42 и 50). На основе данных результатов, полагаем нейроны промежуточного серого вещества, иммунопозитивные к кальций-связывающим белкам, могут являться разнородными элементами ЦГП (рис. 52).

### А эпидуральная стимуляция



### Б



### В

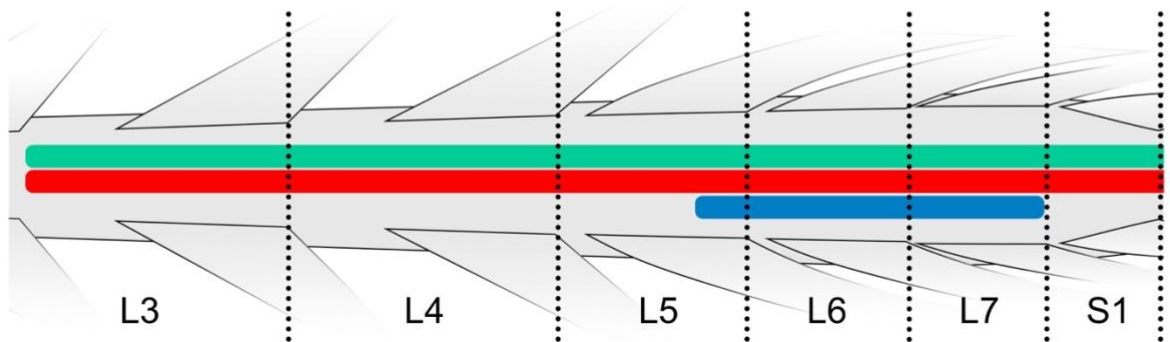


Рисунок 52. Распределение нейронных сетей, обеспечивающих ходьбу в разных направлениях (дополненная схема). А – схема контроля за направлением ходьбы (адаптировано из Musienko et al., 2012). Б – области серого вещества сегментов L6 и L7, нейроны которых генерируют горизонтальный компонент для ХВ (обозначены синим) и зоны кластеризации КЛБ+ и ПРВ+ нейронов (оранжевый и фиолетовый овалы, соответственно). В – схема rostrocaudalного распределения в пояснично-крестцовом утолщении спинного мозга сетей, генерирующих вертикальный компонент для ХВ и ХН (обозначен зеленой полосой), горизонтальный компонент для ХВ (обозначен красной полосой) и горизонтальный компонент для ХН (обозначен синей полосой).

#### Часть 4. Предполагаемые маркеры клеточных элементов спинальных локомоторных сетей

При имеющемся разнообразии моделей работы ЦГП, клеточный состав его элементов во многом остается неизвестным. Большой вклад в понимание структуры локомоторных сетей был сделан при использовании эмбриологических и молекулярно-генетических методов исследования трансгенных модельных животных. Более 20 классов эмбриональных нейронов описано в спинном мозге грызунов (Lu et al., 2015), из них по крайней мере 5 классов интернейронов вентральных рогов участвуют в формировании локомоторного ЦГП: V0, V1, V2, V3 и Hb9 (Guertin, 2009; Аршавский и др., 2015; Ramírez-Jarquín, Tapia, 2018). Интернейроны каждого класса развиваются из разных клеток-предшественников, подразделяются на подклассы, характеризуются рядом морфологических особенностей, экспрессией определенных транскрипционных факторов и локализацией в сером веществе (Alaynick et al., 2011) (табл. 6). Учитывая результаты настоящей работы и данные полученные в исследованиях на трансгенных животных, мы определили клеточные популяции иммунопозитивных к кальций-связывающим белкам нейронов, вероятно, участвующих в локомоторном контроле.

В промежуточном сером веществе значительное пересечение FOS+ нейронов с кальций-связывающими белками выявлено *в области на границе пластин VI, VII и X* (область ЦМ) (рис. 42 и рис. 50). Как было описано ранее, данная зона характеризуется множеством функционально разнородных нейронов, включая пучковые и вставочные. Интернейроны данной зоны могут быть элементами локомоторного ЦГП (Guertin, 2009). В исследованиях на мышцах установлено, что в описанной области серого вещества локализована популяция интернейронов одного из подклассов клеток V0, а именно тормозные комиссуральные V0<sub>д</sub> (dorsal) интернейроны (Griener et al., 2015). Данные нейроны имеют моносинаптические контакты с мотонейронами контралатеральной половины спинного мозга, благодаря чему участвуют в



координации движений между левой и правой конечностью (Lanuza et al., 2004). Стоит отметить, что у мышей популяция  $V0_D$  клеток не ограничена областью на границе пластин VI, VII и X, а распространяется также и в пластину VIII. Мы можем только предполагать, что у кошки генетически гомологичные  $V0_D$  популяции нейронов локализованы в пределах кластеров КЛБ+ и ПРВ+ нейронов обозначенной зоны.

*Таблица 6. Классы спинальных интернейронов вентральных рогов и их характеристики (по Rybak et al., 2015). ТФ – экспрессируемые нейронами данного класса транскрипционные факторы.*

<b>Класс</b>	<b>ТФ</b>	<b>Проекции</b>	<b>Эффект</b>
V0	Dbx1	коммиссуральные	торможение ( $V0_D$ ) возбуждение ( $V0_V$ )
V1	En1	ипсилатеральные	торможение
V2	Lhx3	ипсилатеральные	возбуждение (V2a) торможение (V2b)
V3	Sim1	коммиссуральные (85%) ипсилатеральные (15%)	возбуждение
Hb9	Hb9	ипсилатеральные	возбуждение

Другим классом преимущественно комиссуральных нейронов (80-85% по Zhang et al., 2008) является популяция V3 клеток. Представители данного класса широко распределены в сером веществе (пластины IV-VIII): популяция подкласса  $V3_D$  локализована более дорзально,  $V3_V$  – более вентрально (преимущественно в пластине VIII) (Borowska et al., 2013; Côté et al., 2018). V3 нейроны отличаются своими связями: 24% клеток проецируется на Ia интернейроны, 27% – на клетки Реншоу, 22% – на мотонейроны, остальные – на клетки классов V0 и V2 (Zhang et al., 2008). В исследовании Borowska и коллег (2013) установлено, что  $V3_V$  клетки в поясничных сегментах занимают преимущественно пластину VIII, но отдельный кластер данных нейронов

выявлен и в наиболее медиальной части промежуточного вещества даже у взрослых животных (21 день). При ходьбе животных на тредбане наибольшее число активированных нейронов класса V3, определенных посредством выявления белка c-Fos, было обнаружено именно в медиальном кластере промежуточного серого вещества (Bogowska et al., 2013). Данный тип нейронов связывают с формированием устойчивого и сбалансированного моторного ритма, обеспечивающего симметричность движения левой и правой конечностей (Zhang et al., 2008). Полагаем, кальций-связывающие белки могут метить данные популяции нейронов медиальной части промежуточного серого вещества.

В остальных зонах промежуточного серого вещества и вентральных рогах явного пересечения между кластерами FOS+ нейронов и клеток иммунопозитивных к кальбиндину или парвальбумину выявлено не было (рис. 42 и рис. 50). Однако, колокализация разных маркеров может быть на уровне отдельных клеток, что невозможно визуализировать при сопоставления карт плотности. В связи с этим, на основе морфологии и локализации отдельных клеточных популяций и сопоставлении этой информации с известными в литературе данными, мы полагаем их возможные функции.

**Пластина VIII** практически полностью соответствует зоне VM, на которую приходится  $7\pm 4\%$  FOS+ нейронов для обеих групп животных (XB и XH). Как описано ранее, данная зона характеризуется большим разнообразием типов нейронов, включая вставочные, проприоспинальные и пучковые (Cramer, Darby, 2013). В исследованиях на мышах в пластине VIII установлено 2 эмбриональных класса комиссуральных интернейронов (V0, V3) и один, с проекциями к нейронам ипсилатеральной половины спинного мозга (Hb9), принимающих участие в реализации локомоторных движений конечностями (Rybak et al., 2015).

Класс V0 представлен 4 подклассами (V0<sub>v</sub>, V0<sub>d</sub>, V0<sub>c</sub>, V0<sub>g</sub>) преимущественно комиссуральных проприоспинальных тормозных и возбуждающих нейронов (Moran-Rivard et al., 2001). В исследованиях на мышах, с выключенным геном, который отвечает за развитие популяции V0 нейронов,

было выявлено нарушение координации поочередных движений задних конечностей во время локомоции (Lanuza et al., 2004; Griener et al., 2015). Вероятно, данный тип нейронов является элементом ЦГП, который обеспечивает реципрокное взаимодействие между левой и правой конечностями при локомоции. Второй класс комиссуральных нейронов пластины VIII, тоже обеспечивающих согласование работы противоположных конечностей, представлен описанными ранее V3 клетками.

Кальций-связывающие белки широко распространены в пластине VIII и, вероятно, могут маркировать нейроны, гомологически соответствующие представителям разных эмбриональных классов и их подклассов. КЛБ+ нейроны часто выявляются в дорзальной комиссуре и могут соответствовать популяциям клеток с контралатеральными проекциями к интернейронам ( $V0_v$ ,  $V0_c$ ,  $V3_v$ ) и мотонейронам ( $V0_v$ ,  $V0_d$ ,  $V0_c$ ,  $V3_v$ ) (Alaynick et al., 2011).

В пластине VIII локализована еще одна популяция нейронов, которая характеризуется только ипсилатеральными проекциями – клетки класса Hb9 ( $Vx$ ). Они представляют собой возбуждающие интернейроны, выявленные у грызунов только в грудных и верхних поясничных сегментах спинного мозга (Lu et al., 2015). Данный класс назван в соответствии с экспрессируемым транскрипционным фактором Hb9. Hb9 интернейроны локализуются в медиальной части вентрального рога, характеризуются ритмической активностью, связанной с моторным ритмом, и, вероятно, имеют проекции к ипсилатеральным мотонейронам (Hinckley et al., 2005; Wilson et al., 2005; Hinckley, Ziskind-Conhaim, 2006). Благодаря данным свойствам Hb9 нейроны рассматривают в качестве ритм-образующего компонента локомоторного ЦГП (Brownstone, Wilson, 2008; Kwan et al., 2009; Caldeira et al., 2017). В исследованиях на кошке, связанных с частичным нарушением спинного мозга, было выявлено, что ритм-образующие элементы ЦГП локализованы в более роstralных сегментах пояснично-крестцового утолщения (L3-L4) (Orlovsky et al., 1999). Большая часть данных нейронов описана в промежуточном сером веществе и частично в пластине VIII (Baev et al., 1981; Berkinblit et al., 1978).

Среди кальций-связывающих белков, вероятно, только парвальбумин может маркировать данную популяцию интернейронов, так как кальбиндин выявляется только в одиночных клетках пластины VIII более каудально расположенных сегментов пояснично-крестцового утолщения (L4-S1).

В настоящем исследовании FOS<sup>+</sup> нейроны вентролатеральной зоны серого вещества представлены в незначительном объеме –  $9\pm 5\%$  при вызванной ХВ и  $11\pm 5\%$  при ХН. Однако, данная зона содержит в себе хорошо изученные предполагаемые элементы ЦГП – клетки Реншоу и Ia интернейроны (Jankowska, Lindström, 1971; Fyffe, 1990; Alvarez et al., 2005). У грызунов обе популяции нейронов развиваются из одного эмбрионального класса V1 клеток (Benito-Gonzalez, Alvarez, 2012) и, несмотря на общего предшественника, существенно различаются по морфологии, локализации, экспрессии кальций-связывающих белков и функции (Lu et al., 2015). Стоит отметить, что описанные два подкласса нейронов составляют около 25% всех клеток V1 класса. Функция остальных типов нейронов на данный момент неизвестна (Goulding, 2009). Клетки V1 класса выступают тормозными элементами ЦГП, обеспечивающими согласованную работу мышц антагонистов в ходе локомоторного цикла (Zhang et al., 2014). Кроме того, они участвуют в процессе ритм образования, что было продемонстрировано на трансгенных мышцах, лишенных в спинном мозге популяции V1 клеток (Gosgnach et al., 2006). У таких животных существенно менялась длительность локомоторного цикла и, как следствие, скорость локомоции. Как описано ранее, полагаем, оба кальций-связывающих белка могут выступать в качестве маркера клеток Реншоу или отдельных представителей их разных классов. При этом, вероятно, маркером Ia интернейронов может выступать только парвальбумин (подробнее см. главу 4.3).

**Заключение.** Как описано ранее, в зоне предполагаемой локализации ключевых элементов локомоторного ЦГП (вентральные рога и промежуточное серое вещество) выявлена только одна область серого вещества (ЦМ), в которой наблюдается пересечение популяции активированных при ЭС ходьбе нейронов (FOS<sup>+</sup>) и нейронов, иммунопозитивных к каждому исследуемому кальций-

связывающему белку (кальбиндину и парвальбумину). Согласно многочисленным исследованиям на трансгенных животных, данная зона характеризуется многообразием функциональных типов нейронов, участвующих в работе ЦГП, обеспечивая ритмическую активность локомоторного паттерна и согласование его для каждой конечности.

## ВЫВОДЫ

1. Триггерная зона спинного мозга, стимуляция которой вызывает ходьбу задних конечностей вперёд, локализуется в сегментах L3-S1. При этом область вызова ходьбы назад более локальна и соответствует преимущественно сегментам L6-L7.

2. Исследование паттернов распределения активированных нейронов, экспрессирующих ген раннего ответа *c-fos*, выявило большее число клеток в промежуточном сером веществе сегментов L6 и L7 во время вызванной ходьбы назад, по сравнению с ходьбой вперед.

3. Нейроны, экспрессирующие кальбиндин, формируют в сером веществе спинного мозга несколько кластеров: мелкие колончатые структуры в дорзальных рогах сегментов L3-L6 и крупные кластеры в промежуточном сером веществе сегментов L5-S1. Оба типа кластеров, вероятно, участвуют в интеграции сенсомоторной информации.

4. В спинном мозге парвальбумин выступает маркером элементов проприоцептивной системы. Выявлены две основные области локализации парвальбумин-позитивных нейронов: ядра Кларка в сегментах L1-L4; кластер в промежуточной части серого вещества и цепочка крупных нейронов в вентральном роге по границе мотонейронных пулов в сегментах L5-L7.

5. Выявленные в промежуточном сером веществе спинного мозга кластеры интернейронов двух типов, экспрессирующие кальбиндин и парвальбумин, пространственно совпадают с локусом, содержащим наибольшее число *c-Fos*-иммунопозитивных нейронов, и могут представлять из себя функционально разные нейронные популяции, задействованные в контроле направления при ходьбе.

**СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ**

1. Аршавский Ю.И., Делягина Т.Г., Орловский Г.Н. Центральные генераторы: механизм работы и их роль в управлении автоматизированными движениями // Журнал высшей нервной деятельности им. И.П. Павлова. – 2015. – Vol. 65. – №. 2. – P. 156-156.
2. Балабан П.М., Воронцов Д.Д., Дьяконова В.Е., Дьяконова Т.Л., Захаров И.Р., Коршунова Т.А., Орлов О.Ю., Павлова Г.А., Панчин Ю.В., Сахаров Д.А., Фаликман М.В. Центральные генераторы паттерна // Журнал высшей нервной деятельности им. И.П. Павлова. – 2013. – Vol. 63. – №. 5. – P. 1-21.
3. Магнус Р. Установка тела. – М.: Изд-во АН СССР. – 1962. – P. 183.
4. Меркульева Н.С., Никитина Н.И. Методика построения 2-мерных паттернов распределения в коре меченых нейронов и их количественного анализа // Морфология. – 2010. – Т. 138. – №. 5. – С. 11-17.
5. Мусиенко П.Е., Богачева И.Н., Герасименко Ю.П. Значение периферической обратной связи в генерации шагательных движений при эпидуральной стимуляции спинного мозга // Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова. – 2005. – Т. 91. – №. 12. – С. 1407-1420.
6. Порсева В.В., Шилкин В.В. Нейроны пластинки X спинного мозга // Тихоокеанский медицинский журнал. – 2016. – №. 4. – P. 5-10
7. Сеченов И.М. Рефлексы головного мозга. – 1863. – P. 57.
8. Шик М.Л. Управление наземной локомоцией млекопитающих животных // В кн.: Физиология движения. – Л. Наука. – 1976. – P. 234-275.
9. Aarts E., Verhage M., Veenvliet J.V., Dolan C.V., Van Der Sluis S. A solution to dependency: using multilevel analysis to accommodate nested data // Nature Neuroscience. – 2014. – Vol. 17. – №. 4. – P. 491-496.
10. Abaira V.E., Ginty D.D. The sensory neurons of touch // Neuron. – 2013. – Vol. 79. – №. 4. – P. 618-639.

11. Achencach K.E., Goodman D.C. Cerebellar projections to pons, medulla and spinal cord in the albino rat // *Brain, Behavior and Evolution*. – 1968. – Vol. 1 – №. 1. – P. 43-57.
12. Ahn S.N., Guu J.J., Tobin A.J., Edgerton V.R., Tillakaratne N.J.K. Use of c-fos to identify activity-dependent spinal neurons after stepping in intact adult rats // *Spinal Cord*. – 2006. – Vol. 44. – №. 9. – P. 547-559.
13. Aika Y., Ren J.Q., Kosaka K., Kosaka T. Quantitative analysis of GABA-like-immunoreactive and parvalbumin-containing neurons in the CA1 region of the rat hippocampus using a stereological method, the disector // *Experimental Brain Research*. – 1994. – Vol. 99. – №. 2. – P. 267-276.
14. Alaynick W.A., Jessell T.M., Pfaff S.L. SnapShot: spinal cord development // *Cell*. – 2011. – Vol. 146. – №. 1. – P. 178.
15. Alexianu M.E., Ho B.K., Mohamed A.H., La Bella V., Smith R.G., Appel S.H. The role of calcium-binding proteins in selective motoneuron vulnerability in amyotrophic lateral sclerosis // *Annals of Neurology: Official Journal of the American Neurological Association and the Child Neurology Society*. – 1994. – Vol. 36. – №. 6. – P. 846-858.
16. Alvarez F.J., Dewey D.E., Harrington D.A., Fyffe R.E. Cell-type specific organization of glycine receptor clusters in the mammalian spinal cord // *Journal of Comparative Neurology*. – 1997. – Vol. 379. – №. 1. – P. 150-169.
17. Alvarez F., Dewey D.E., McMillin P., Fyffe R.E. Distribution of cholinergic contacts on Renshaw cells in the rat spinal cord: a light microscopic study // *The Journal of Physiology*. – 1999. – Vol. 515. – №. 3. – P. 787-797.
18. Alvarez F.J., Jonas P.C., Sapir T., Hartley R., Berrocal M.C., Geiman E.J., Todd A.J., Goulding M. Postnatal phenotype and localization of spinal cord V1 derived interneurons // *Journal of Comparative Neurology*. – 2005. – Vol. 493. – №. 2. – P. 177-192.
19. Alvarez F.J., Benito-Gonzalez A., Siembab V.C. Principles of interneuron development learned from Renshaw cells and the motoneuron recurrent inhibitory



- circuit // *Annals of the New York Academy of Sciences*. – 2013. – Vol. 1279. – №. 1. – P. 22-31.
20. Alvarez F.J., Fyffe R.E.W. The continuing case for the Renshaw cell // *The Journal of Physiology*. – 2007. – Vol. 584. – №. 1. – P. 31-45.
21. Amadeo A., Ortino B., Frassoni C. Parvalbumin and GABA in the developing somatosensory thalamus of the rat: an immunocytochemical ultrastructural correlation // *Anatomy and Embryology*. – 2001. – Vol. 203. – №. 2. – P. 109-119.
22. Andressen C., Blumcke I., Celio M.R. Calcium-binding proteins: selective markers of nerve cells // *Cell and Tissue Research*. – 1993. – Vol. 271 – №. 2 – P. 181-208.
23. Anelli R., Heckman C.J. The calcium binding proteins calbindin, parvalbumin, and calretinin have specific patterns of expression in the gray matter of cat spinal cord // *Journal of Neurocytology*. – 2006. – Vol. 34. – №. 6. – P. 369-385.
24. Annunziato L., Amoroso S., Pannaccione A., Cataldi M., Pignataro G., D'Alessio A., Sirabella R., Secondo A., Sibaud L., Di Renzo G.F. Apoptosis induced in neuronal cells by oxidative stress: role played by caspases and intracellular calcium ions // *Toxicology Letters*. – 2003. – Vol. 139. – №. 2–3. – P. 125-133.
25. Antal M., Freund T.F., Polgár E. Calcium-binding proteins, parvalbumin- and calbindin-D 28k-immunoreactive neurons in the rat spinal cord and dorsal root ganglia: A light and electron microscopic study // *Journal of Comparative Neurology*. – 1990. – Vol. 295. – №. 3. – P. 467-484.
26. Antal M., Polgar E., Chalmers J., Minson J.B., Llewellyn-Smith I., Heizmann C.W., Somogyi P. Different populations of parvalbumin-and calbindin-D28k-immunoreactive neurons contain GABA and accumulate 3H-D-aspartate in the dorsal horn of the rat spinal cord // *Journal of Comparative Neurology*. – 1991. – Vol. 314. – №. 1. – P. 114-124.
27. Aoki E., Semba R., Seto-Ohshima A., Heizmann C.W., Kashiwamata, S. Coexistence of parvalbumin and glycine in the rat brainstem // *Brain Research*. – 1990. – Vol. 525. – №. 1. – P. 140-143.

28. Aoyama M., Hongo T., Kudo N., Tanaka R. Convergent effects from bilateral vestibulospinal tracts on spinal interneurons // *Brain Research*. – 1971. – Vol. 35. – №. 1. – P. 250-253.
29. Aoyama M., Hongo T., Kudo N. Sensory input to cells of origin of uncrossed spinocerebellar tract located below Clarke's column in the cat // *The Journal of Physiology*. – 1988. – V. 398. – №. 1. – P. 233-257.
30. Arai R., Jacobowitz D.M., Deura S. Distribution of calretinin, calbindin-D28k and parvalbumin in the rat thalamus // *Brain Research Bulletin*. – 1994. – Vol. 33. – №. 5. – P. 595-614.
31. Arenander A.T., De Vellis J., Herschman H.R. Induction of c-fos and TIS genes in cultured rat astrocytes by neurotransmitters // *Journal of Neuroscience Research*. – 1989. – Vol. 24. – №. 1. – P. 107-114.
32. Armbrrecht H.J., Boltz M., Strong R., Richardson A., Bruns M.E.H., Christakos S. Expression of calbindin-D decrease with age in intestine and kidney // *Endocrinology*. – 1989. – Vol. 125. – №. 6. – P. 2950-2956.
33. Armstrong D.M., Schild R.F. Spino-olivary neurones in the lumbo-sacral cord of the cat demonstrated by retrograde transport of horseradish peroxidase // *Brain Research*. – 1979. – Vol. 168. – №. 1. – P. 176-179.
34. Arshavsky Y.I., Deliagina T.G., Orlovsky G.N. Central pattern generators – mechanisms of operation and their role in controlling automatic movements // *Neuroscience and Behavioral Physiology*. – 2016. – Vol. 46. – №. 6. – P. 696-718.
35. Arvidsson U., Ulfhake B., Cullheim S., Ramirez V., Shupliakov O., Hokfelt T. Distribution of calbindin D28k-like immunoreactivity (LI) in the monkey ventral horn: do Renshaw cells contain calbindin D28k-LI? // *Journal of Neuroscience*. – 1992. – Vol. 12. – №. 3. – P. 718-728.
36. Ashley-Ross M.A., Gillis G.B. A brief history of vertebrate functional morphology // *Integrative and Comparative Biology*. – 2002. – Vol. 42. – №. 2. – P. 183-189.

37. Baev K.V., Degtyarenko A.M., Zavadskaya T.V., Kostyuk P.G. Activity of lumbosacral interneurons during fictitious scratching // *Neurophysiology*. – 1981. – V. 13. – №. 1. – P. 45-52.
38. Baimbridge K.G., Celio M.R., Rogers J.H. Calcium-binding proteins in the nervous system // *Trends in Neurosciences*. – 1992. – Vol. 15. – №. 8. – P. 303-308.
39. Baizer J.S., Baker J.F. Immunoreactivity for calcium-binding proteins defines subregions of the vestibular nuclear complex of the cat // *Experimental Brain Research*. – 2005. – Vol. 164. – №. 1. – P. 78-91.
40. Baker P.F. Transport and metabolism of calcium ions in nerve // *Progress in Biophysics and Molecular Biology*. – 1972. – Vol. 24. – P. 177-223.
41. Bannatyne B.A., Edgley S.A., Hammar I., Jankowska E., Maxwell D.J. Networks of inhibitory and excitatory commissural interneurons mediating crossed reticulospinal actions // *European Journal of Neuroscience*. – 2003. – Vol. 18. – №. 8. – P. 2273-2284.
42. Bannatyne B.A., Liu T.T., Hammar I., Stecina K., Jankowska E., Maxwell D.J. Excitatory and inhibitory intermediate zone interneurons in pathways from feline group I and II afferents: differences in axonal projections and input // *The Journal of Physiology*. – 2009. – Vol. 587. – №. 2. – P. 379-399.
43. Baron G., Demaille J., Dutruge E. The distribution of parvalbumin in muscle and in other tissues // *FEBS letters*. – 1975. – Vol. 56. – №. 1. – P. 156-160.
44. Bartel D.P., Sheng M., Lau L.F., Greenberg M.E. Growth factors and membrane depolarization activate distinct programs of early response gene expression: dissociation of fos and jun induction // *Genes & Development*. – 1989. – Vol. 3. – №. 3. – P. 304-313.
45. Barthélemy D., Leblond H., Rossignol S. Characteristics and mechanisms of locomotion induced by intraspinal microstimulation and dorsal root stimulation in spinal cats // *Journal of Neurophysiology*. – 2007. – Vol. 97. – №. 3. – P. 1986-2000.
46. Baseer N. Spinal cord neuronal circuitry involving dorsal horn projection cells. Thesis submitted in fulfilment of the requirements for the Degree of Doctor of Philosophy, Glasgow, 2014. – P. 1-198.

47. Bastianelli E. Distribution of calcium-binding proteins in the cerebellum // *Cerebellum*. – 2003. – Vol. 2. – №. 4. – P. 242-262.
48. Batini C. Cerebellar localization and colocalization of GABA and calcium binding protein-D28K // *Archives Italiennes de Biologie*. – 1990. – Vol. 128. – №. 2-4. – P. 127-149.
49. Bayer A., Altman J. The spinal cord from gestational week 4 the 4th postnatal month. – Boca Raton: CRC Press. – 2002. – P. 287.
50. Beal J.A., Russell C.T., Knight D.S. Morphological and developmental characterization of local-circuit neurons in lamina III of the rat spinal cord // *Neuroscience Letters*. – 1988. – Vol. 86. – №. 1. – P. 1-5.
51. Bellido T., Huening M., Raval-Pandya M., Manolagas S.C., Christakos S. Calbindin-D28k is expressed in osteoblastic cells and suppresses their apoptosis by inhibiting caspase-3 activity // *Journal of Biological Chemistry*. – 2000. – Vol. 275. – №. 34. – P. 26328-26332.
52. Benito-Gonzalez A., Alvarez F.J. Renshaw cells and Ia inhibitory interneurons are generated at different times from p1 progenitors and differentiate shortly after exiting the cell cycle // *Journal of Neuroscience*. – 2012. – Vol. 32. – №. 4. – P. 1156-1170.
53. Bennett M.R. The early history of the synapse – from plato to Sherrington // *Brain Research Bulletin*. – 1999. – Vol. 50. – №. 2. – P. 95-118.
54. Berchtold M.W., Celio M.R., Heizmann C.W. Parvalbumin in non-muscle tissues of the rat // *Journal of Biological Chemistry*. – 1984. – Vol. 259. – №. 8. – P. 5189-5196.
55. Berchtold M.W., Berchtold M.W., Epstein P., Beaudet A.L., Payne M.E., Heizmann C.W., Means A.R. Structural organization and chromosomal assignment of the parvalbumin gene // *Journal of Biological Chemistry*. – 1987. – Vol. 262. – №. 18. – P. 8696-8701.
56. Berggård T., Miron S., Önerfjord P., Thulin E., Akerfeldt K.S., Enghild J.J., Akke M., Linse S. Calbindin D28k exhibits properties characteristic of a Ca<sup>2+</sup> sensor // *Journal of Biological Chemistry*. – 2002. – Vol. 277. – №. 19. – P. 16662-16672.

57. Berkinblit M.B., Deliagina T.G., Feldman A.G., Gelfand I.M., Orlovsky G.N. Generation of scratching. I. Activity of spinal interneurons during scratching // *Journal of Neurophysiology*. – 1978. – V. 41. – №. 4. – P. 1040-1057.
58. Bernardi P.S., Valtschanoff J.G., Weinberg R.J., Schmidt H.H., Rustioni A. Synaptic interactions between primary afferent terminals and GABA and nitric oxide-synthesizing neurons in superficial laminae of the rat spinal cord. // *Journal of Neuroscience*. – 1995. – Vol. 15. – №. 2. – P. 1363-1371.
59. Bertrand S.S., Cazalets J.R. Cholinergic partition cells and lamina x neurons induce a muscarinic-dependent short-term potentiation of commissural glutamatergic inputs in lumbar motoneurons // *Frontiers in Neural Circuits*. – 2011. – Vol. 5. – P. 1-15.
60. Blum H.E., Lehky P., Kohler L., Stein E.A., Fischer E.H. Comparative properties of vertebrate parvalbumins // *Journal of Biological Chemistry*. – 1977. – Vol. 252. – №. 9. – P. 2834-2838.
61. Boes C.J. The history of examination of reflexes // *Journal of Neurology*. – 2014. – Vol. 261. – №. 12. – P. 2264-2274.
62. Bogacheva I.N., Nikitin O.A., Musienko P.E., Savokhin A.A., Gerasimenko Y.P. Mechanisms of stepping rhythm formation in decerebrated and chronic spinal cats under epidural stimulation // *Biophysics*. – 2009. – Vol. 54. – №. 3. – P. 370-374.
63. Borowska J., Jones C.T., Zhang H., Blacklaws J., Goulding M., Zhang Y. Functional subpopulations of V3 interneurons in the mature mouse spinal cord // *Journal of Neuroscience*. – 2013. – Vol. 33. – №. 47. – P. 18553-18565.
64. Boyd I.A. The structure and innervation of the nuclear bag muscle fiber system and the nuclear chain muscle fibre system in mammalian muscle spindles // *Philosophical Transactions of the Royal Society B*. – 1962. – Vol. 245. – P. 81-136.
65. Braak E., Strotkamp B., Braak H. Parvalbumin-immunoreactive structures in the hippocampus of the human adult // *Cell and Tissue Research*. – 1991. – Vol. 264. – P. 33-48.
66. Braun K., Scheich H., Schachner M., Heizmann C.W. Distribution of parvalbumin, cytochrome oxidase activity and <sup>14</sup>C-2-deoxyglucose uptake in the brain

- of the zebra finch // *Cell and Tissue Research*. – 1985. – Vol. 240. – №. 1. – P. 101-115.
67. Brini M., Calì T., Ottolini D., Carafoli E. Neuronal calcium signaling: function and dysfunction // *Cellular and Molecular Life Sciences*. – 2014. – Vol. 71. – №. 15. – P. 2787-2814.
68. Brinon J.G., Brinon J.G., Alonso J.R., Arévalo R., Garcia-Ojeda E., Lara J., Aijón J. Calbindin D-28k-positive neurons in the rat olfactory bulb // *Cell and tissue Research*. – 1992. – Vol. 269. – №. 2. – P. 289-297.
69. Brock L.G., Coombs J.S., Eccles J.C. The recording of potentials from motoneurons with an intracellular electrode // *The Journal of Physiology*. – 1952. – Vol. 117. – №. 4. – P. 431-460.
70. Brock L.G., Coombs J.S., Eccles J.C. Intracellular recording from antidromically activated motoneurons // *The Journal of Physiology*. – 1953. – Vol. 122. – №. 3. – P. 429-461.
71. Brown A.G., Rose P.K., Snow P.J. The morphology of spinocervical tract neurones revealed by intracellular injection of horseradish peroxidase (cat) // *The Journal of Physiology*. – 1977. – Vol. 270. – №. 3. – P. 747-764.
72. Brown A.G., Fyffe R.E.W., Noble R., Rose P.K., Snow P.J. The density, distribution and topographical organization of spinocervical tract neurones in the cat // *The Journal of Physiology*. – 1980. – Vol. 300. – №. 1. – P. 409-428.
73. Brown T.G. The intrinsic factors in the act of progression in the mammal // *Philosophical Transactions of the Royal Society B*. – 1911. – Vol. 84. – №. 572. – P. 308-319.
74. Brown T.G. The phenomenon of "narcosis progression" in mammals // *Philosophical Transactions of the Royal Society B*. – 1913. – Vol. 86. – №. 586. – P. 140-164.
75. Brown T.G. On the nature of the fundamental activity of the nervous centres; together with an analysis of the conditioning of rhythmic activity in progression, and a theory of the evolution of function in the nervous system // *The Journal of Physiology*. – 1914. – Vol. 48. – №. 1. – P. 18-46.

76. Brown A.G. Organization in the spinal cord. The anatomy and physiology of identified neurones. – Berlin: Springer. – 1981. – P. 240.
77. Brown A.G. The dorsal horn of the spinal cord // *Experimental Physiology*. – 1982. – Vol. 67. – №. 2. – P. 193-212.
78. Brownstone R.M., Wilson J.M. Strategies for delineating spinal locomotor rhythm-generating networks and the possible role of Hb9 interneurons in rhythmogenesis // *Brain Research Reviews*. – 2008. – Vol. 57. – №. 1. – P. 64-76.
79. Brunnstrom S. "Haltung". Chapter III of *Korperstellung (Body Posture)* by Rudolph Magnus // *Physical Therapy*. – 1953. – Vol. 33. – №. 6. – P. 281-290.
80. Bryan R.N., Trevino D.L., Willis W.D. Evidence for a common location of alpha and gamma motoneurons // *Brain Research*. – 1972. – Vol. 38. – №. 1. – P. 193-196.
81. Buford J.A., Zernicke R F., Smith J.L. Adaptive control for backward quadrupedal walking. I. Posture and hindlimb kinematics // *Journal of Neurophysiology*. – 1990. – Vol. 64. – №. 3. – P. 745-755
82. Buford J.A., Smith J.L. Adaptive control for backward quadrupedal walking. III. Stumbling corrective reactions and cutaneous reflex sensitivity // *Journal of Neurophysiology*. – 1993. – V. 70. – №. 3. – P. 1102-1114.
83. Bullock T.H. Neuron doctrine and electrophysiology // *Science*. – 1959. – Vol. 129. – №. 3355. – P. 997-1002.
84. Burke R.E., Degtyarenko A.M., Simon E.S. Patterns of locomotor drive to motoneurons and last-order interneurons: clues to the structure of the CPG // *Journal of Neurophysiology*. – 2001. – Vol. 86. – №. 1. – P. 447-462.
85. Burke R.E. Sir Charles Sherrington's *The integrative action of the nervous system* – a centenary appreciation // *Brain*. – 2007. – Vol. 130. – P. 887-894.
86. Burow A., Day H.E.W., Campeau S. A detailed characterization of loud noise stress: Intensity analysis of hypothalamo–pituitary–adrenocortical axis and brain activation // *Brain Research*. – 2005. – Vol. 1062. – №. 1-2. – P. 63-73.
87. Buxton D.F., Goodman D.C. Motor function and the corticospinal tracts in the dog and raccoon // *Journal of Comparative Neurology*. – 1967. – Vol. 129. – №. 4. – P. 341-360.

88. Caldeira V., Dougherty K.J., Borgius L., Kiehn O. Spinal Hb9::Cre-derived excitatory interneurons contribute to rhythm generation in the mouse // *Scientific Reports*. – 2017. – Vol. 7. – P. 1-12
89. Campeau S., Watson S.J. Neuroendocrine and behavioral responses and brain pattern of c-fos induction associated with audiogenic stress // *Journal of Neuroendocrinology*. – 1997. – Vol. 9. – №. 8. – P. 577-588.
90. Canbay S., Güreş B., Bozkurt M., Comert A., Izci Y., Başkaya M.K. Anatomical relationship and positions of the lumbar and sacral segments of the spinal cord according to the vertebral bodies and the spinal roots // *Clinical Anatomy*. – 2013. – Vol. 27. – №. 2. – P. 227-233.
91. Cao C.Q., Djouhri L., Brown A.G. Lumbosacral spinal neurons in the cat that are candidates for being activated by collaterals from the spinocervical tract // *Neuroscience*. – 1993. – Vol. 57. – №. 1. – P. 153-165.
92. Capogrosso M., Wenger N., Raspopovic S., Musienko P., Beauparlant J., Luciani L.B., Courtine G., Micera S. A computational model for epidural electrical stimulation of spinal sensorimotor circuits // *Journal of Neuroscience*. – 2013. – Vol. 33. – №. 49. – P. 19326-19340.
93. Carafoli E., Santella L., Branca D., Brini M. Generation, control, and processing of cellular calcium signals // *Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology*. – 2001. – Vol. 36. – №. 2. – P. 107-260.
94. Carpenter M.B., Stein B.M., Shriver J.E. Central projections of spinal dorsal roots in the monkey. II. Lower thoracic, lumbosacral and coccygeal dorsal roots // *Developmental Dynamics*. – 1968. – Vol. 123. – №. 1. – P. 75-117.
95. Carr P.A., Yamamoto T., Karmy G., Baimbridge K.G., Nagy J.I. Analysis of parvalbumin and calbindin D28k-immunoreactive neurons in dorsal root ganglia of rat in relation to their cytochrome oxidase and carbonic anhydrase content // *Neuroscience*. – 1989 a. – Vol. 33. – №. 2. – P. 363-371.
96. Carr P.A., Yamamoto T., Karmy G., Baimbridge K.G., Nagy J.I. Parvalbumin is highly colocalized with calbindin D28k and rarely with calcitonin gene-related peptide



- in dorsal root ganglia neurons of rat // *Brain Research*. – 1989 б. – Vol. 497. – №. 1. – P. 163-170.
97. Carr P.A., Huang A., Noga B.R., Jordan L.M. Cytochemical characteristics of cat spinal neurons activated during fictive locomotion // *Brain Research Bulletin*. – 1995. – Vol. 37. – №. 2. – P. 213-218.
98. Carr P.A., Alvarez F.J., Leman E.A., Fyffe R.E.W. Calbindin D28k expression in immunohistochemically identified Renshaw cells // *Neuroreport*. – 1998. – Vol. 9. – №. 11. – P. 2657-2661.
99. Carr P.A., Pearson J.C., Fyffe R.E.W. Distribution of 5-hydroxytryptamine-immunoreactive boutons on immunohistochemically-identified Renshaw cells in cat and rat lumbar spinal cord // *Brain Research*. – 1999. – Vol. 823. – №. 1-2. – P. 198-201.
100. Carstens E., Trevino D.L. Laminar origins of spinothalamic projections in the cat as determined by the retrograde transport of horseradish peroxidase // *Journal of Comparative Neurology*. – 1978. – Vol. 182. – №. 1. – P. 151-165.
101. Cazalets J.R., Borde M., Clarac F. Localization and organization of the central pattern generator for hindlimb locomotion in newborn rat // *Journal of Neuroscience*. – 1995. – Vol. 15. – №. 7. – P. 4943-4951.
102. Celio M.R., Norman A.W., Heizmann C.W. Vitamin-D-dependent calcium-binding-protein and parvalbumin occur in bones and teeth // *Calcified Tissue International*. – 1984. – Vol. 36. – №. 1. – P. 129-130.
103. Celio M.R., Norman A.W. Nucleus basalis Meynert neurons contain the vitamin D-induced calcium-binding protein (Calbindin-D 28k) // *Anatomy and Embryology*. – 1985. – Vol. 173. – №. 2. – P. 143-148.
104. Celio M.R. Parvalbumin in most gamma-aminobutyric acid-containing neurons of the rat cerebral cortex // *Science*. – 1986. – Vol. 231. – №. 4741. – P. 995-997.
105. Celio M. Calbindin D-28k and parvalbumin nervous system // *Neuroscience*. – 1990. – Vol. 35. – №. 2. – P. 375-475.

106. Chang Q., Martin L.J. Motoneuron subtypes show specificity in glycine receptor channel abnormalities in a transgenic mouse model of amyotrophic lateral sclerosis // *Channels (Austin)*. – 2011. – Vol. 5. – №. 4. – P. 299-303.
107. Chaouch A., Menetrey D., Binder D., Besson J.M. Neurons at the origin of the medial component of the bulbopontine spinoreticular tract in the rat: An anatomical study using horseradish peroxidase retrograde transport // *Journal of Comparative Neurology*. – 1983. – Vol. 214. – №. 3. P. 309-320.
108. Chen R.H.C., Li Q., Snidal C.A., Gardezi S.R., Stanley E.F. The calcium channel C-terminal and synaptic vesicle tethering: Analysis by immuno-nanogold localization // *Frontiers in Cellular Neuroscience*. 2017. – Vol. 11. – №. 85 – P. 1-15.
109. Chung K., Coggeshall R.E. Propriospinal fibers in the rat // *Journal of Comparative Neurology*. – 1983. – Vol. 217. – №. 1. – P. 47-53.
110. Clarac F. The history of reflexes. Part 1: From descartes to Pavlov // *IBRO History of Neuroscience*. – 2005 a.
111. Clarac F. The history of reflexes. Part 2: From Sherrington to 2004 // *IBRO History of Neuroscience* – 2005 б.
112. Clarac F. Some historical reflections on the neural control of locomotion // *Brain Research Reviews*. – 2008. – Vol. 57. – №. 1. – P. 13-21.
113. Clarke J.A.L. XXII. Further researches on the grey substance of the spinal cord // *Philosophical Transactions of the Royal Society of London*. – 1859. – Vol. 149. – P. 437-467.
114. Coggeshall R.E. Fos, nociception and the dorsal horn // *Progress in Neurobiology*. – 2005. – Vol. 77. – №. 5. – P. 299-352.
115. Cohen D.R., Curran T. fra-1: a serum-inducible, cellular immediate-early gene that encodes a fos-related antigen // *Molecular and Cellular Biology*. – 1988. – Vol. 8. – №. 5. – P. 2063-2069.
116. Conta A., Stelzner D. The propriospinal system. In: *The spinal cord*. Edited by Watson C., Paxinos G., Kayalioglu G. – New York: Academic Press. – 2009. – P. 180-190.

117. Cook A.J., Woolf C.J. Cutaneous receptive field and morphological properties of hamstring flexor alpha-motoneurons in the rat // *The Journal of Physiology*. – 1985. – Vol. 364. – №. 1. – P. 249-263.
118. Corvaja N., Grofova I., Pompeiano O., Walberg F. The lateral reticular nucleus in the cat—I. An experimental anatomical study of its spinal and supraspinal afferent connections // *Neuroscience*. – 1977. – Vol. 2. – №. 4. – P. 537-553.
119. Côté M.P., Murray L.M., Knikou M. Spinal control of locomotion: Individual neurons, their circuits and functions // *Frontiers in Physiology*. – 2018. – Vol. 9. – P.1-27.
120. Courtine G., Gerasimenko Y., Van Den Brand R., Yew A., Musienko P., Zhong H., Song B., Ao Y., Ichiyama R.M., Lavrov I., Roy R.R., Sofroniew M.V., Edgerton V.R. Transformation of nonfunctional spinal circuits into functional states after the loss of brain input // *Nature Neuroscience*. – 2009. – Vol. 12. – №. 10. – P. 1333-1344.
121. Craig A.D., Linington A.J., Kniffki K.D. Significant differences in the retrograde labeling of spinothalamic tract cells by horseradish peroxidase and the fluorescent tracers fast blue and diamidino yellow // *Experimental Brain Research*. – 1989. – Vol. 74. – №. 2. – P. 431-436.
122. Craig A.D., Bushnell M.C., Zhang E.T., Blomqvist A. A thalamic nucleus specific for pain and temperature sensation // *Nature*. – 1994. – Vol. 372. – №. 6508. – P. 770-773.
123. Craig A.D., Zhang E.T., Blomqvist A. Association of spinothalamic lamina I neurons and their ascending axons with calbindin-immunoreactivity in monkey and human // *Pain*. – 2002. – Vol. 97. – №. 1-2. – P. 105-115.
124. Cramer G.D., Darby S.A. *Clinical anatomy of the spine, spinal cord, and ANS*. – St. Louis: Elsevier Mosby. – 2014. – P. 672.
125. Cuenca N., Deng P., Linberg K.A., Lewis G.P., Fisher S.K., Kolb H. The neurons of the ground squirrel retina as revealed by immunostains for calcium binding proteins and neurotransmitters // *Journal of Neurocytology*. – 2002. – Vol. 31. – №. 8-9. – P. 649-666.

126. Cullinan W.E., Herman J.P., Battaglia D.F., Akil H., Watson S.J. Pattern and time course of immediate early gene expression in rat brain following acute stress // *Neuroscience*. – 1995. – Vol. 64. – №. 2. – P. 477-505.
127. Curran T., Peters G., Van Beveren C.H., Teich N.M., Verma I.M. FBJ murine osteosarcoma virus: identification and molecular cloning of biologically active proviral DNA // *Journal of Virology*. – 1982. – Vol. 44. – №. 2. – P. 674-682.
128. Curtis D.R., Eccles J.C., Lundberg A. Intracellular recording from cells in Clarke's column // *Acta Physiologica*. – 1958. – Vol. 43. – №. 3-4. – P. 303-314.
129. Czarkowska J., Jankowska E., Sybirska E. Common interneurons in reflex pathways from group 1a and 1b afferents of knee flexors and extensors in the cat // *The Journal of Physiology*. – 1981. – Vol. 310. – №. 1. – P. 367-380.
130. Dai X., Noga B.R., Douglas J.R., Jordan L.M. Localization of spinal neurons activated during locomotion using the c-fos immunohistochemical method // *Journal of Neurophysiology*. – 2005. – Vol. 93. – №. 6. – P. 3442-3452.
131. Davies H.E., Edgley S.A. Inputs to group II-activated midlumbar interneurons from descending motor pathways in the cat // *The Journal of Physiology*. – 1994. – Vol. 479. – №. 3. – P. 463-473.
132. Day S.M., Coutu P., Wang W., Herron T., Turner I., Shillingford M., LaCross N.C., Converso K.L., Piao L., Li J., Lopatin A.N., Metzger J.M. Cardiac-directed parvalbumin transgene expression in mice shows marked heart rate dependence of delayed Ca<sup>2+</sup> buffering action // *Physiological Genomics*. – 2008. – Vol. 33. – №. 3. – P. 312-322.
133. De Carlos J.A., Borrell J.A historical reflection of the contributions of Cajal and Golgi to the foundations of neuroscience // *Brain Research Reviews*. – 2007. – Vol. 55. – №. 1. – P. 8-16.
134. Dechesne C.J., Thomasset M., Brehier A., Sans A. Calbindin (CaBP 28 kDa) localization in the peripheral vestibular system of various vertebrates // *Hearing Research*. – 1988. – Vol. 33. – №. 3. – P. 273-278.

135. DeFelipe J. Types of neurons, synaptic connections and chemical characteristics of cells immunoreactive for calbindin-D28K, parvalbumin and calretinin in the neocortex // *Journal of Chemical Neuroanatomy*. – 1997. – Vol. 14. – №. 1. – P. 1-19.
136. DeFelipe J., Jones E.G. High-resolution light and electron microscopic immunocytochemistry of colocalized GABA and calbindin D-28k in somata and double bouquet cell axons of monkey somatosensory cortex // *European Journal of Neuroscience*. – 1992. – Vol. 4. – №. 1. – P. 46-60.
137. Dekker J.J., Lawrence D.G., Kuypers H.G.J.M. The location of longitudinally dendrites in the ventral horn of the cat spinal cord // *Brain Research*. – 1973. – Vol. 51. – P. 319-325.
138. Dekkers J., Dekkers J., Bayley P., Dick J.R. T., Schwaller B., Berchtold M.W., Greensmith L. Over-expression of parvalbumin in transgenic mice rescues motoneurons from injury-induced cell death // *Neuroscience*. – 2004. – Vol. 123. – №. 2. – P. 459-466.
139. Del Río M.R., DeFelipe J. Colocalization of calbindin D-28k, calretinin, and GABA immunoreactivities in neurons of the human temporal cortex // *Journal of Comparative Neurology*. – 1996. – Vol. 369. – №. 3. – P. 472-482.
140. Demêmes D., Raymond J., Atger P., Grill C., Winsky L., Dechesne C.J. Identification of neuron subpopulations in the rat vestibular ganglion by calbindin-D 28K, calretinin and neurofilament proteins immunoreactivity // *Brain Research*. – 1992. – Vol. 582. – №. 1. – P. 168-172.
141. Demêmes D., Eybalin M., Renard N. Cellular distribution of parvalbumin immunoreactivity in the peripheral vestibular system of three rodents // *Cell and Tissue Research*. – 1993. – Vol. 274. – №. 3 – P. 487-492.
142. Demeulemeester H. Vandesande F., Orban G.A., Heizmann C.W., Pochet R. Calbindin D-28K and parvalbumin immunoreactivity is confined to two separate neuronal subpopulations in the cat visual cortex, whereas partial coexistence is shown in the dorsal lateral geniculate nucleus // *Neuroscience Letters*. – 1989. – Vol. 99. – №. 1-2. – P. 6-11.

143. Demeulemeester H., Arckens L., Vandesande F., Orban G.A., Heizmann C.W., Pochet R. Calcium binding proteins and neuropeptides as molecular markers of GABAergic interneurons in the cat visual cortex // *Experimental Brain Research*. – 1991. – Vol. 84. – №. 3. – P. 538-544.
144. Demiryürek D., Aydingöz Ü., Akşit M.D., Yener N., Geyik P.Ö. MR imaging determination of the normal level of conus medullaris // *Clinical Imaging*. – 2002. – Vol. 26. – №. 6. – P. 375-377.
145. Denesyuk A.I., Permyakov S.E., Johnson M.S., Permyakov E.A., Denessiouk K. Building kit for metal cation binding sites in proteins // *Biochemical and Biophysical Research Communications*. – 2017. – Vol. 494. – №. 1. – P. 311-317.
146. Deuchars S.A., Lall V.K. Sympathetic preganglionic neurons: properties and inputs // *Comparative Physiology*. – 2015. – Vol. 5. – №. 2. – P. 829-869.
147. Deuschl G., Illert M. Cytoarchitectonic organization of lumbar preganglionic sympathetic neurons in the cat // *Journal of the Autonomic Nervous System*. – 1981. – Vol. 3. – №. 2-4. – P. 193-213.
148. Dimitrijevic M.R., Gerasimenko Y., Pinter M.M. Evidence for a spinal central pattern generator in humans // *Annals of the New York Academy of Sciences*. – 1998. – Vol. 860. – №. 1. – P. 360-376.
149. Ding J.M., Carver W.C., Terracio L. Buggy J. Proto-oncogene c-fos and the regulation of vasopressin gene expression during dehydration // *Molecular Brain Research*. – 1994. – Vol. 21. – №. 3-4. – P. 247-255.
150. Dragunow M., Faull R. The use of c-fos as a metabolic marker in neuronal pathway tracing // *Journal of Neuroscience Methods*. – 1989. – Vol. 29. – №. 3. – P. 261-265.
151. Duru P.O., Tillakaratne N.J., Kim J.A., Zhong H., Stauber S.M., Pham T. T., Xiao M.S., Edgerton V.R., Roy R.R. Spinal neuronal activation during locomotor-like activity enabled by epidural stimulation and 5-hydroxytryptamine agonists in spinal rats // *Journal of Neuroscience Research*. – 2015. – Vol. 93. – №. 8. – P. 1229-1239.

152. Duysens J., Van de Crommert H.W.A.A. Neural control of locomotion; Part 1: The central pattern generator from cats to humans // *Gait & Posture*. – 1998. – Vol. 7. – №. 2. – P. 131-141.
153. Eadie M.J. Marshall Hall, the reflex arc and epilepsy // *The Journal of the Royal College of Physicians of Edinburgh*. – 2008. – Vol. 38. – №. 2. – P. 167-171.
154. Eccles J.C., Fatt P., Koketsu K. Cholinergic and inhibitory synapses in a pathway from motor-axon collaterals to motoneurons // *The Journal of Physiology*. – 1954. – Vol. 126. – №. 3. – P. 524-562.
155. Eccles J.C., Hubbard J.I., Oscarsson O. Intracellular recording from cells of the ventral spinocerebellar tract // *The Journal of Physiology*. – 1961. – Vol. 158. – №. 3. – P. 486-516.
156. Eccles J.C., Schmidt R.F., Willis W.D. Presynaptic inhibition of the spinal monosynaptic reflex pathway // *The Journal of Physiology*. – 1962. – Vol. 161. – №. 2. – P. 282-297.
157. Eccles J.C., Schmidt R., Willis W.D. Pharmacological studies on presynaptic inhibition // *The Journal of Physiology*. – 1963. – Vol. 168. – №. 3. – P. 500-530.
158. Eccles J.C. Developing concepts of the synapses // *Journal of Neuroscience*. – 1990. – Vol. 10. – №. 12. – P. 3769-3781.
159. Edgerton V.R., Grillner S., Sjöström A., Zangger P. Central generation of locomotion in vertebrates // *Neural Control of Locomotion*. – Springer, Boston, MA, 1976. – P. 439-464.
160. Edgerton V.R., Courtine G., Gerasimenko Y.P., Lavrova I., Ichiyama R.M., Fong A.J., Caie L.L., Oshib C.K., Tillakaratne N.J.K., Burdick J.W., Roy R.R. Training locomotor networks // *Brain Research Reviews*. – 2008. – Vol. 57. – №. 1. – P. 241-254.
161. Edgley S.A., Gallimore C.M. The morphology and projections of dorsal horn spinocerebellar tract neurones in the cat // *The Journal of Physiology*. – 1988. – Vol. 397. – P. 99-111.

162. Eggermann E., Jonas P. How the «slow» Ca<sup>2+</sup> buffer parvalbumin affects transmitter release in nanodomain-coupling regimes // *Nature Neuroscience*. – 2012. – Vol. 15. – №. 1. – P. 20-22.
163. Eldridge L. Vertebral location of cord segments innervating cat hind limb musculature // *Experimental Neurology*. – 1984. – Vol. 83. – №. 1. – P. 193-198.
164. Elliott J.L., Snider W.D. Parvalbumin is a marker of ALS-resistant motor neurons // *Neuroreport*. – 1995. – Vol. 6. – №. 3. – P. 449-452.
165. Endo T., Takazawa K., Onaya T. Parvalbumin exists in rat endocrine glands // *Endocrinology*. – 1985. – Vol. 117. – №. 2. – P. 527-531.
166. Fahandejsaadi A., Leung E., Rahaii R., Bu J., Geula C. Calbindin-D28K, parvalbumin and calretinin in primate lower motor neurons // *Neuroreport*. – 2004. – Vol. 15. – №. 3. – P. 443-448.
167. Farag F.M., Elayat M.A., Wally Y.R., ElKarmoty A.F. Morphometric studies on the spinal cord segments of the domestic rabbit (*Oryctolagus cuniculus*) // *Journal of Veterinary Anatomy*. – 2012. – Vol. 2. – P. 33-47.
168. Fields H.L., Clanton C.H., Anderson S.D. Somatosensory properties of spinoreticular neurons in the cat // *Brain Research*. – 1977. – Vol. 120. – №. 1. – P. 49-66.
169. Floyd T L., Dai Y., Ladle D.R. Characterization of calbindin D28k expressing interneurons in the ventral horn of the mouse spinal cord // *Developmental Dynamics*. – 2018. – Vol. 247. – №. 1. – P. 185-193.
170. Foster H., DeMark L., Spigel P.M., Rose D.K., Fox E.J. The effects of backward walking training on balance and mobility in an individual with chronic incomplete spinal cord injury: A case report // *Physiotherapy Theory and Practice*. – 2016. – Vol. 32. – №. 7. – P. 536-545.
171. Fournet N., Garcia-Segura L.M., Norman A.W., Orci L. Selective localization of calcium-binding protein in human brainstem, cerebellum and spinal cord // *Brain Research*. – 1986. – Vol. 399. – №. 2. – P. 310-316.



172. Francis G.S., Tang W.H.W. Autonomic biology: From beheaded animals to a spate of nobel prizes // *Dialogues in Cardiovascular Medicine*. – 2006. – Vol. 11. – №. 2. – P. 133-140.
173. Frigon A. Central pattern generators of the mammalian spinal cord // *The Neuroscientist*. – 2012. – Vol. 18. – №. 1. – P. 56-69.
174. Fu Y.H., Sengul G., Paxinos G., Watson C. The spinal precerebellar nuclei: calcium binding proteins and gene expression profile in the mouse // *Neuroscience Letters*. – 2012. – Vol. 518. – №. 2. – P. 161-166.
175. Fye W.B. Marshall Hall // *Clinical Cardiology*. – 1997. – Vol. 20. – №. 10. – P. 904-905.
176. Fyffe R.E.W. Evidence for separate morphological classes of Renshaw cells in the cat's spinal cord // *Brain Research*. – 1990. – Vol. 536. – №. 1-2. – P. 301-304.
177. Galhardo V., Lima D. Structural characterization of marginal (lamina I) spinal cord neurons in the cat: a Golgi study // *Journal of Comparative Neurology*. – 1999. – Vol. 414. – №. 3. – P. 315-333.
178. Gamboa-Esteves F.O., Lima D., Batten T.F.C. Neurochemistry of superficial spinal neurones projecting to nucleus of the solitary tract that express c-fos on chemical somatic and visceral nociceptive input in the rat // *Metabolic Brain Disease*. – 2001. – Vol. 16. – №. 3-4. – P. 151-164.
179. Garmyn M., Degreef H. Suppression of UVB-induced c-fos and c-jun expression in human keratinocytes by N-acetylcysteine // *Journal of Photochemistry and Photobiology*. – 1997. – Vol. 37. – №. 1-2. – P. 125-130.
180. Gasser H.S., Grundfest H. Axon diameters in relation to the spike dimensions and the conduction velocity in mammalian A fibers // *American Journal of Physiology*. – 1939. – Vol. 127. – №. 2. – P. 393-414.
181. Geddes L.A., Hoff H.E. The discovery of bioelectricity and current electricity The Galvani-Volta controversy // *IEEE Spectrum*. – 1971. – Vol. 8. – №. 12. – P. 38-46.

182. Geiman E.J., Knox M.C., Alvarez F.J. Postnatal maturation of gephyrin/glycine receptor clusters on developing Renshaw cells // *Journal of Comparative Neurology*. – 2000. – Vol. 426. – №. 1. – P. 130-142.
183. Gelderd J.B., Chopin S.F. The vertebral level of origin of spinal nerves in the rat // *The Anatomical Record*. – 1977. – Vol. 188. – №. 1. – P. 45-47.
184. Gerasimenko Y.P., Avelev V.D., Nikitin O.A., Lavrov I.A. Initiation of locomotor activity in spinal cats by epidural stimulation of the spinal cord // *Neuroscience and Behavioral Physiology*. – 2003. – Vol. 33. – №. 3. – P. 247-254.
185. Gerasimenko Y.P., Lavrov I.A., Bogacheva I.N., Shcherbakova N.A., Kucher V.I., Musienko P.E. Formation of locomotor patterns in decerebrate cats in conditions of epidural stimulation of the spinal cord // *Neuroscience and Behavioral Physiology*. – 2005. – Vol. 35. – №. 3. – P. 291-298.
186. Gerasimenko Y.P., Lavrov I.A., Courtine G., Ichiyama R.M., Dy C.J., Zhong H., Roy R.R., Edgerton V.R. Spinal cord reflexes induced by epidural spinal cord stimulation in normal awake rats // *Journal of Neuroscience Methods*. – 2006. – Vol. 157. – №. 2. – P. 253-263.
187. Gerfen C.R., Baimbridge K.G., Miller J.J. The neostriatal mosaic: compartmental distribution of calcium-binding protein and parvalbumin in the basal ganglia of the rat and monkey // *Proceedings of the National Academy of Sciences*. – 1985. – Vol. 82. – №. 24. – P. 8780-8784.
188. Ghamdi K.S. Al, Polgár E., Todd A.J. Soma size distinguishes projection neurons from neurokinin 1 receptor-expressing interneurons in lamina I of the rat lumbar spinal dorsal horn // *Neuroscience*. – 2009. – Vol. 164. – №. 4. – P. 1794-1804.
189. Gobel S. Golgi studies in the substantia gelatinosa neurons in the spinal trigeminal nucleus // *Journal of Comparative Neurology*. – 1975. – Vol. 162. – №. 3. – P. 397-415.
190. Gobel S. Golgi studies of the neurons in layer I of the dorsal horn of the medulla (trigeminal nucleus caudalis) // *Journal of Comparative Neurology*. – 1978. – Vol. 180. – №. 2. – P. 375-393.

191. Gonchar Y., Burkhalter A. Three distinct families of GABAergic neurons in rat visual cortex // *Cerebral Cortex (New York)*. – 1997. – Vol. 7. – №. 4. – P. 347-358.
192. Gong H., McGinty D., Guzman-Marin R., Chew K.T., Stewart D., Szymusiak R. Activation of c-fos in GABAergic neurones in the preoptic area during sleep and in response to sleep deprivation // *The Journal of Physiology*. – 2004. – Vol. 556. – №. 3. – P. 935-946.
193. Gonzalez-Forero D., Pastor A.M., Geiman E.J., Benítez-Temiño B., Alvarez F.J. Regulation of gephyrin cluster size and inhibitory synaptic currents on Renshaw cells by motor axon excitatory inputs // *Journal of Neuroscience*. – 2005. – Vol. 25. – №. 2. – P. 417-429.
194. Gosgnach S., Lanuza G.M., Butt S.J., Saueressig H., Zhang Y., Velasquez T., Riethmacher D., Callaway E.M., Kiehn O., Goulding M. V1 spinal neurons regulate the speed of vertebrate locomotor outputs // *Nature*. – 2006. – Vol. 440. – №. 7081. – P. 215-219.
195. Goulding M. Circuits controlling vertebrate locomotion: moving in a new direction // *Nature Reviews Neuroscience*. – 2009. – Vol. 10. – №. 7. – P. 507-518.
196. Graybiel A.M., Moratalla R., Robertson H.A. Amphetamine and cocaine induce drug-specific activation of the c-fos gene in striosome-matrix compartments and limbic subdivisions of the striatum // *Proceedings of the National Academy of Sciences*. – 1990. – Vol. 87. – №. 17. – P. 6912-6916.
197. Greenberg M.E., Ziff E.B. Stimulation of 3T3 cells induces transcription of the c-fos proto-oncogene // *Nature*. – 1984. – Vol. 311. – №. 5985. – P. 433-438.
198. Griener A., Zhang W., Kao H., Wagner C., Gosgnach S. Probing diversity within subpopulations of locomotor-related V0 interneurons // *Developmental Neurobiology*. – 2015. – Vol. 75. – №. 11. – P. 1189-1203.
199. Grillner S., Hongo T. Vestibulospinal effects on motoneurons and interneurons in the lumbosacral cord // *Progress in Brain Research*. – Elsevier, 1972. – Vol. 37. – P. 243-262.
200. Grillner S. Locomotion in vertebrates: central mechanisms and reflex interaction // *Physiological Reviews*. – 1975. – Vol. 55. – №. 2. – P. 247-304.

201. Grillner S., Zangger P. On the central generation of locomotion in the low spinal cat // *Experimental Brain Research*. – 1979. – Vol. 34. – №. 2. – P. 241-261.
202. Grillner S. Control of locomotion in bipeds, tetrapods, and fish. In: *Handbook of Physiology*. Edited by Brookhart J.E., Mountcastle V.B., Brooks V.B., Geiger S.R. – 1981. – P. 1127-1236.
203. Grillner S., Zangger P. The effect of dorsal root transection on the efferent motor pattern in the cat's hindlimb during locomotion // *Acta Physiologica*. – 1984. – Vol. 120. – №. 3. – P. 393-405.
204. Grillner S., Wallen P. Central pattern generators for locomotion, with special reference to vertebrates // *Annual Review of Neuroscience*. – 1985. – Vol. 8. – №. 1. – P. 233-261.
205. Grillner S. Biological pattern generation: the cellular and computational logic of networks in motion // *Neuron*. – 2006. – Vol. 52. – №. 5. – P. 751-766.
206. Grkovic I., Anderson C.R. Calbindin D28K-immunoreactivity identifies distinct subpopulations of sympathetic pre-and postganglionic neurons in the rat // *Journal of Comparative Neurology*. – 1997. – Vol. 386. – №. 2. – P. 245-259.
207. Grudt T., Perl E.R. Correlations between neuronal morphology and electrophysiological features in the rodent superficial dorsal horn // *The Journal of Physiology*. – 2002. – Vol. 540. – №. 1. – P. 189-207.
208. Gu Y.N., Lee E.S., Jeon C.J. Types and density of calbindin D28k-immunoreactive ganglion cells in mouse retina // *Experimental Eye Research*. – 2016. – Vol. 145. – P. 327-336.
209. Guertin P.A. The mammalian central pattern generator for locomotion // *Brain Research Reviews*. – 2009. – Vol. 62. – №. 1. – P. 45-56.
210. Guertin P.A., Steuer I. Key central pattern generators of the spinal cord // *Journal of Neuroscience Research*. – 2009. – Vol. 87. – №. 11. – P. 2399-2405.
211. Guertin P.A. Central pattern generator for locomotion: anatomical, physiological, and pathophysiological considerations // *Frontiers in Neurology*. – 2013. – Vol. 3. – №. 183. – P. 1-15.

212. Gurfinkel V.S., Shik M.L. The control of posture and locomotion // *Motor control*. – Springer, Boston, MA, 1973. – P. 217-234.
213. Guthrie K.M., Anderson A.J., Leon M., Gall C. Odor-induced increases in c-fos mRNA expression reveal an anatomical "unit" for odor processing in olfactory bulb // *Proceedings of the National Academy of Sciences*. – 1993. – Vol. 90. – №. 8. – P. 3329-3333.
214. Hamano K., Kiyama H., Emson P.C., Manabe R., Nakauchi M. Localization of two calcium binding proteins, calbindin (28 kD) and parvalbumin (12kD), in the vertebrate retina // *Journal of Comparative Neurology*. – 1990. – Vol. 302. – №. 2. – P. 417-424.
215. Hamm T.M., Koehler W., Stuart D.G., Noven S.V. Partitioning of monosynaptic Ia excitatory post-synaptic potentials in the motor nucleus of the cat semimembranosus muscle // *The Journal of Physiology*. – 1985. – Vol. 369. – №. 1. – P. 379-398.
216. Han Z., Zhang E., Craig A.D. Nociceptive and thermoreceptive lamina I neurons are anatomically distinct // *Nature Neuroscience*. – 1998. – Vol. 1. – №. 3. – P. 218-225.
217. Harrison P.J., Jankowska E., Zytnicki D. Lamina VIII interneurons interposed in crossed reflex pathways in the cat // *The Journal of Physiology*. – 1986. – Vol. 371. – №. 1. – P. 147-166.
218. Hawley-Nelson P., Berchtold M.W., Huitfeldt H., Spiegel J., Yuspa S.H. Skin calcium-binding protein is a parvalbumin of the panniculus carnosus // *Journal of Investigative Dermatology*. – 1986. – Vol. 86. – №. 2. – P. 157-162.
219. Healy S., Khan P., Davie J.R. Immediate early response genes and cell transformation // *Pharmacology & Therapeutics*. – 2013. – Vol. 137. – №. 1. – P. 64-77.
220. Heimer L. *The human brain and spinal cord: functional neuroanatomy and dissection guide*. – Springer Science & Business Media. – 1983. – P. 402.
221. Heimer L., Wall P.D. The dorsal root distribution to the substantia gelatinosa of the rat with a note on the distribution in the cat // *Experimental Brain Research*. – 1968. – Vol. 6. – №. 2. – P. 89-99.

222. Heise C., Kayalioglu G. Cytoarchitecture of the spinal cord. In: The spinal cord. Edited by Watson C., Paxinos G., Kayalioglu G. – New York: Academic Press. – 2009. – P. 64-93.
223. Heizmann C.W. Parvalbumin, an intracellular calcium-binding protein; distribution, properties and possible roles in mammalian cells // *Experientia*. – 1984. – Vol. 40. – №. 9. – P. 910-921.
224. Heizman C.W. Calcium signaling in the brain // *Acta Neurobiologiae Experimentalis*. – 1993. – Vol. 53. – P. 15-15.
225. Heizmann C.W., Braun K. Changes in Ca<sup>2+</sup>-binding proteins in human neurodegenerative disorders // *Trends in Neurosciences*. – 1992. – Vol. 15. – №. 7. – P. 259-264.
226. Hendry S.H.C., Jones E.G. GABA neuronal subpopulations in cat primary auditory cortex: co-localization with calcium binding proteins // *Brain Research*. – 1991. – Vol. 543. – №. 1. – P. 45-55.
227. Herrera D.G., Robertson H.A. Activation of c-fos in the brain // *Progress in Neurobiology*. – 1996. – Vol. 50. – №. 2-3. – P. 83-107.
228. Hinckley C.A., Hartley R., Wu L., Todd A., Ziskind-Conhaim L. Locomotor-like rhythms in a genetically distinct cluster of interneurons in the mammalian spinal cord // *Journal of Neurophysiology*. – 2005. – Vol. 93. – №. 3. – P. 1439-1449.
229. Hinckley C.A., Ziskind-Conhaim L. Electrical coupling between locomotor-related excitatory interneurons in the mammalian spinal cord // *Journal of Neuroscience*. – 2006. – Vol. 26. – №. 33. – P. 8477-8483.
230. Ho B.K., Alexianu M.E., Colom L.V., Mohamed A.H., Serrano F., Appel S.H. Expression of calbindin-D28K in motoneuron hybrid cells after retroviral infection with calbindin-D28K cDNA prevents amyotrophic lateral sclerosis IgG-mediated cytotoxicity // *Proceedings of the National Academy of Sciences*. – 1996. – Vol. 93. – №. 13. – P. 6796-6801.
231. Hof P.R., Nimchinsky E.A. Regional distribution of neurofilament and calcium-binding proteins in the cingulate cortex of the macaque monkey // *Cerebral Cortex*. – 1992. – Vol. 2. – №. 6. – P. 456-467.

232. Hof P.R., Glezer I.I., Condé F., Flagg R.A., Rubin M.B., Nimchinsky E.A., Vogt Weisenhorn D.M. Cellular distribution of the calcium-binding proteins parvalbumin, calbindin, and calretinin in the neocortex of mammals: Phylogenetic and developmental patterns // *Journal of Chemical Neuroanatomy*. – 1999. – Vol. 16. – №. 2. – P. 77-116.
233. Honda C.N., Perl E.R. Functional and morphological features of neurons in the midline region of the caudal spinal cord of the cat // *Brain Research*. – 1985. – Vol. 340. – №. 2. – P. 285-295.
234. Hongo T., Kudo N., Sasaki S., Yamashita M., Yoshida K., Ishizuka N., Mannen H Trajectory of group Ia and Ib fibers from the hind-limb muscles at the L3 and L4 segments of the spinal cord of the cat // *Journal of Comparative Neurology*. – 1987. – Vol. 262. – №. 2. – P. 159-194.
235. Hu H., Gan J., Jonas P. Fast-spiking, parvalbumin+ GABAergic interneurons: From cellular design to microcircuit function // *Science*. – 2014. – Vol. 345. – №. 6196. – P. 1-13.
236. Huang A., Noga B.R., Carr P.A., Fedirchuk B., Jordan L.M. Spinal cholinergic neurons activated during locomotion: localization and electrophysiological characterization // *Journal of Neurophysiology*. – 2000. – Vol. 83. – №. 6. – P. 3537-3547.
237. Hughes P., Dragunow M. Induction of immediate-early genes and the control of neurotransmitter-regulated gene expression within the nervous system // *Pharmacological Reviews*. – 1995. – Vol. 47. – №. 1. – P. 133-178.
238. Hultborn H., Jankowska E., Lindström S. Relative contribution from different nerves to recurrent depression of Ia IPSPs in motoneurons // *The Journal of Physiology*. – 1971. – Vol. 215. – №. 3. – P. 637-664.
239. Hultborn H. Spinal reflexes, mechanisms and concepts – from Eccles to Lundberg and beyond // *Progress in Neurobiology*. – 2006. – Vol. 78. – №. 3-5. – P. 215-232.
240. Hunt S. P., Pini A., Evan G. Induction of c-fos-like protein in spinal cord neurons following sensory stimulation // *Nature*. – 1987. – Vol. 328. – №. 6131. – P. 632.

241. Hunziker W. The 28-kDa vitamin D-dependent calcium-binding protein has a six-domain structure // *Proceedings of the National Academy of Sciences*. – 1986. – Vol. 83. – №. 20. – P. 7578-7582.
242. Ikeda J., Nakajima T., Osborne O.C., Mies G., Nowak T.S. Coexpression of c-fos and hsp70 mRNAs in gerbil brain after ischemia: induction threshold, distribution and time course evaluated by in situ hybridization // *Molecular Brain Research*. – 1994. – Vol. 26. – №. 1-2. – P. 249-258.
243. Ikura M., Osawa M., Ames J.B. The role of calcium-binding proteins in the control of transcription: Structure to function // *Bioessays*. – 2002. – Vol. 24. – №. 7. – P. 625-636.
244. Ince P., Stout N., Shaw P., Slade J., Hunziker W., Heizmann C.W., Baimbridge K.G. Parvalbumin and calbindin D-28k in the human motor system and in motor neuron disease // *Neuropathology and Applied Neurobiology*. – 1993. – Vol. 19. – №. 4. – P. 291-299.
245. Iwahara T., Atsuta Y., Garcia-Rill E., Skinner R.D. Spinal cord stimulation-induced locomotion in the adult cat // *Brain Research Bulletin*. – 1991. – Vol. 28. – №. 1. – P. 99-105.
246. Jankowska E., Jukes M.G.M., Lund S., Lundberg A. The effect of DOPA on the spinal cord. 6. Half-centre organization of interneurons transmitting effects from the flexor reflex afferents // *Acta Physiologica*. – 1967 a. – Vol. 70. – №. 3-4. – P. 389-402.
247. Jankowska E., Jukes M.G.M., Lund S., Lundberg A. The effect of DOPA on the spinal cord. 5. Reciprocal organization of pathways transmitting excitatory action to alpha motoneurons of flexors and extensors // *Acta Physiologica*. – 1967 б. – Vol. 70. – №. 3-4. – P. 369-388.
248. Jankowska E., Lindström S. Morphological identification of physiologically defined neurones in the cat spinal cord // *Brain Research*. – 1970. – Vol. 20. – №. 2. – P. 323-326.
249. Jankowska E., Lindström S. Morphological identification of Renshaw cells // *Acta Physiologica Scandinavica*. – 1971. – Vol. 81. – №. 3. – P. 428-430.



250. Jankowska E., Lindström S. Morphology of interneurons mediating Ia reciprocal inhibition of motoneurons in the spinal cord of the cat // *The Journal of Physiology*. – 1972. – Vol. 226. – №. 3. – P. 805-823.
251. Jankowska E., Lundberg A. Interneurons in the spinal cord // *Trends in Neurosciences*. – 1981. – Vol. 4. – P. 230-233.
252. Jankowska E., Noga B.R. Contralaterally projecting lamina VIII interneurons in middle lumbar segments in the cat // *Brain Research*. – 1990. – Vol. 535. – №. 2. – P. 327-330.
253. Jankowska E. Interneuronal relay in spinal pathways from proprioceptors // *Progress in Neurobiology*. – 1992. – Vol. 38. – №. 4. – P. 335-378.
254. Jankowska E., Edgley S.A., Krutki P., Hammar I. Functional differentiation and organization of feline midlumbar commissural interneurons // *The Journal of Physiology*. – 2005. – Vol. 565. – №. 2. – P. 645-658.
255. Jankowska E. Spinal interneuronal networks in the cat: elementary components // *Brain Research Reviews*. – 2008. – Vol. 57. – №. 1. – P. 46-55.
256. Jankowska E., Edgley S.A. Functional subdivision of feline spinal interneurons in reflex pathways from group Ib and II muscle afferents; an update // *European Journal of Neuroscience*. – 2010. – Vol. 32. – №. 6. – P. 881-893.
257. Jankowska E. Spinal interneurons. In: *Neuroscience in the 21st Century*. Edited by Magistretti P.J., Allaman I. – New York: Springer. – 2013. – P. 1063-1099.
258. Jones E.G. The thalamic matrix and thalamocortical synchrony // *Trends in Neurosciences*. – 2001. – Vol. 24. – №. 10. – P. 595-601.
259. Jorgensen C.B. Aspects of the history of the nerves: Bell's theory, the Bell-Magendie law and controversy, and two forgotten works by PW Lund and DF Eschricht // *Journal of the History of the Neurosciences*. – 2003. – Vol. 12. – №. 3. – P. 229-249.
260. Kaczmarek L., Chaudhuri A. Sensory regulation of immediate-early gene expression in mammalian visual cortex: implications for functional mapping and neural plasticity // *Brain Research reviews*. – 1997. – Vol. 23. – №. 3. – P. 237-256.

261. Karin M., Liu Z., Zandi E. AP-1 function and regulation // *Current Opinion in Cell Biology*. – 1997. – Vol. 9. – №. 2. – P. 240-246.
262. Karmy G., Carr P.A., Yamamoto T., Chan S.H.P., Nagy J.I. Cytochrome oxidase immunohistochemistry in rat brain and dorsal root ganglia: Visualization of enzyme in neuronal perikarya and in parvalbumin-positive neurons // *Neuroscience*. – 1991. – Vol. 40. – №. 3. – P. 825-839.
263. Katsumaru H., Kosaka T., Heizmann C. W., Hama K. Immunocytochemical study of GABAergic neurons containing the calcium-binding protein parvalbumin in the rat hippocampus // *Experimental Brain Research*. – 1988. – Vol. 72. – №. 2. – P. 347-362.
264. Kaur C., Pal I., Saini S., Jacob T.G., Nag T.C., Thakar A., Bhardwaj D.N., Roy T.S. Comparison of unbiased stereological estimation of total number of cresyl violet stained neurons and parvalbumin positive neurons in the adult human spiral ganglion // *Journal of Chemical Neuroanatomy*. – 2017. – P. 1-23.
265. Kawaguchi Y., Katsumaru H., Kosaka T., Heizmann C.W., Hama K. Fast spiking cells in rat hippocampus (CA1 region) contain the calcium-binding protein parvalbumin // *Brain Research*. – 1987. – Vol. 416. – №. 2. – P. 369-374.
266. Kawaguchi Y., Kubota Y. GABAergic cell subtypes and their synaptic connections in rat frontal cortex // *Cerebral Cortex (New York)*. – 1997. – Vol. 7. – №. 6. – P. 476-486.
267. Kawasaki H., Kretsinger R.H. Structural and functional diversity of EF-hand proteins: Evolutionary perspectives // *Protein Science*. – 2017. – Vol. 26. – №. 10. P. – 1898-1920.
268. Kayalioglu G., Hariri N.I., Govsa F., Erdem B., Peker G., Maiskii V.A. Laminar distribution of the cells of origin of the spinocerebral pathways involved in nociceptive transmission and pain modulation in the rat // *Neurophysiology*. – 1996. – Vol. 28. – №. 2/3. – P. 111-118.
269. Kayalioglu G., Robertson B., Kristensson K., Grant G. Nitric oxide synthase and interferon-gamma receptor immunoreactivities in relation to ascending spinal

- pathways to thalamus, hypothalamus, and the periaqueductal grey in the rat // *Somatosensory and Motor Research*. – 1999. – Vol. 16. – №. 4. – P. 280-290.
270. Keay K.A., Bandler R. Deep and superficial noxious stimulation increases Fos-like immunoreactivity in different regions of the midbrain periaqueductal grey of the rat // *Neuroscience Letters*. – 1993. – Vol. 154. – №. 1–2. – P. 23-26.
271. Keshavarzy F., Bonnet C., Bezhadi G., Cespuglio R. Expression patterns of c-Fos early gene and phosphorylated ERK in the rat brain following 1-h immobilization stress: concomitant changes induced in association with stress-related sleep rebound // *Brain Structure and Function*. – 2015. – Vol. 220. – №. 3. – P. 1793-1804.
272. Kita H. Parvalbumin-immunopositive neurons in rat globus pallidus: a light and electron microscopic study // *Brain Research*. – 1994. – Vol. 657. – №. 1–2. – P. 31-41.
273. Kiehn O. Locomotor circuits in the mammalian spinal cord // *The Annual Review of Neuroscience* – 2006. – Vol. 29. – P. 279-306.
274. Kiehn O., Quinlan K.A., Restrepo C.E., Lundfald L., Borgius L., Talpalar A.E., Endo T. Excitatory components of the mammalian locomotor CPG // *Brain Research Reviews*. – 2008. – Vol. 57. – №. 1. – P. 56-63.
275. Kim J.S., Kim J.M., Son J.A., Han S.Y., Kim C.T., Lee N.S., Jeong Y.G. Decreased calbindin-immunoreactive Renshaw cells (RCs) in the lumbar spinal cord of the ataxic pogo mice // *The Korean Journal of Anatomy*. – 2008. – Vol. 41. – №. 4. – P. 255-263.
276. Kim S.G., Ryu Y U., Je H.D., Jeong J.H., Kim H.D. Backward walking treadmill therapy can improve walking ability in children with spastic cerebral palsy: a pilot study // *International Journal of Rehabilitation Research*. – 2013. – Vol. 36. – №. 3. – P. 246-252.
277. Kita H. Parvalbumin-immunopositive neurons in rat globus pallidus: a light and electron microscopic study // *Brain Research*. – 1994. – Vol. 657. – №. 1-2. – P. 31-41.

278. Kitamura T., Yamada J., Sato H., Yamashita K. Cells of origin of the spinoparabrachial fibers in the rat: A study with fast blue and WGA-HRP // *Journal of Comparative Neurology*. – 1993. – Vol. 328. – №. 3. – P. 449-461.
279. Kjaerulff O., Kiehn O. Distribution of networks generating and coordinating locomotor activity in the neonatal rat spinal cord in vitro: a lesion study // *Journal of Neuroscience*. – 1996. – Vol. 16. – №. 18. – P. 5777-5794.
280. Kling U., Székely G. Simulation of rhythmic nervous activities // *Kybernetik*. – 1968. – Vol. 5. – №. 3. – P. 89-103.
281. Ko H.Y., Park J.H., Shin Y.B., Baek S.Y. Gross quantitative measurements of spinal cord segments in human // *Spinal Cord*. – 2004. – Vol. 42. – №. 1. – P. 35-40.
282. Kojetin D.J., Venters R.A., Kordys D.R., Thompson R.J., Kumar R., Cavanagh J. Structure, binding interface and hydrophobic transitions of Ca<sup>2+</sup>-loaded calbindin-D28K // *Nature Structural and Molecular Biology*. – 2006. – Vol. 13. – №. 7. – P. 641-647.
283. Kosaka T., Katsumaru H., Hama K., Wu J.Y., Heizmann C.W. GABAergic neurons containing the Ca<sup>2+</sup>-binding protein parvalbumin in the rat hippocampus and dentate gyrus // *Brain Research*. – 1987. – Vol. 419. – №. 1-2. – P. 119-130.
284. Kosaka T., Kosaka K., Nakayama T., Hunziker W., Heizmann C.W. Axons and axon terminals of cerebellar Purkinje cells and basket cells have higher levels of parvalbumin immunoreactivity than somata and dendrites: quantitative analysis by immunogold labeling // *Experimental Brain Research*. – 1993. – Vol. 93. – №. 3. – P. 483-491.
285. Kosaka K., Heizmann C.W., Kosaka T. Calcium-binding protein parvalbumin-immunoreactive neurons in the rat olfactory bulb. 1. Distribution and structural features in adult rat // *Experimental Brain Research*. – 1994. – Vol. 99. – №. 2 – P. 191-204.
286. Kovacs K.J., Sawchenko P.E. Sequence of stress-induced alterations in indices of synaptic and transcriptional activation in parvocellular neurosecretory neurons // *Journal of Neuroscience*. – 1996. – Vol. 16. – №. 1. – P. 262-273.

287. Kretsinger R.H. Gene triplication deduced from the tertiary structure of a muscle calcium binding protein // *Nature New Biology*. – 1972. – Vol. 240. – №. 98. – P. 85-88.
288. Kubota Y., Hattori R., Yui Y. Three distinct subpopulations of GABAergic neurons in rat frontal agranular cortex // *Brain Research*. – 1994. – Vol. 649. – №. 1-2. – P. 159-173.
289. Kuo D.C., Nadelhaft I., Hisamitsu T., de Groat W.C. Segmental distribution and central projections of renal afferent fibers in the cat studied by transganglionic transport of horseradish peroxidase // *Journal of Comparative Neurology*. – 1983. – Vol. 216. – №. 2. – P. 162-174.
290. Kwan A.C., Dietz S.B., Webb W.W., Harris-Warrick R.M. Activity of Hb9 interneurons during fictive locomotion in mouse spinal cord // *Journal of Neuroscience*. – 2009. – Vol. 29. – №. 37. – P. 11601-11613.
291. Lafreniere-Roula M., McCrea D.A. Deletions of rhythmic motoneuron activity during fictive locomotion and scratch provide clues to the organization of the mammalian central pattern generator // *Journal of Neurophysiology*. – 2005. – Vol. 94. – №. 2. – P. 1120-1132.
292. Lagoudakis L., Garcin I., Julien B., Nahum K., Gomes D.A., Combettes L., Nathanson M.H., Tordjmann T. Cytosolic calcium regulates liver regeneration in the rat // *Hepatology*. – 2010. – Vol. 52. – №. 2. – P. 602-611.
293. Lai Y., Choi U.B., Leitz J., Rhee H.J., Lee C., Altas B., Zhao M., Pfuetzner R., Wang A.L., Brose N., Rhee, J. Molecular Mechanisms of Synaptic Vesicle Priming by Munc13 and Munc18 // *Neuron*. – 2017. – Vol. 95. – №. 3. – P. 591-607.
294. Lambers T.T., Mahieu F., Oancea E., Hoofd L., De Lange F., Mensenkamp A.R., Voets T., Nilius B., Clapman D.E., Hoederop J.G., Bindels, R.J. Calbindin-D28K dynamically controls TRPV5-mediated Ca<sup>2+</sup> transport // *The EMBO Journal*. – 2006. – Vol. 25. – №. 13. – P. 2978-2988.
295. Lander E.S. Initial sequencing and analysis of the human genome. // *Nature*. – 2001. – Vol. 409. – №. 6822. – P. 860-921.

296. Lanuza G.M., Gosgnach S., Pierani A., Jessell T.M., Goulding M. Genetic identification of spinal interneurons that coordinate left-right locomotor activity necessary for walking movements // *Neuron*. – 2004. – Vol. 42. – №. 3. – P. 375-386.
297. Larson B.J. A review of the history of electrophysiology and electroencephalography: Part I // *American Journal of EEG Technology*. – 1963. – Vol. 3. – №. 1. – P. 13-16.
298. Lee T. H., Jang M.H., Shin M.C., Lim B.V., Kim Y.P., Kim H., Choib H.H., Leec K.S., Kim E.H., Kim C.J. Dependence of rat hippocampal c-Fos expression on intensity and duration of exercise // *Life Sciences*. – 2003. – Vol. 72. – №. 12. – P. 1421-1436.
299. Levine D.N. Sherrington's «The Integrative action of the nervous system»: A centennial appraisal // *Journal of the Neurological Sciences*. – 2007. – Vol. 253. – №. 1. – P. 1-6.
300. Lim S.M. C., Guiloff R.J., Navarrete R. Interneuronal survival and calbindin-D28k expression following motoneuron degeneration // *Journal of the Neurological Sciences*. – 2000. – Vol. 180. – №. 1-2. – P. 46-51.
301. Lima D., Coimbra A. A Golgi study of the neuronal population of the marginal zone (lamina I) of the rat spinal cord // *Journal of Comparative Neurology*. – 1986. – Vol. 244. – №. 1. – P. 53-71.
302. Liu R.P.C. Laminar origins of spinal projection neurons to the periaqueductal gray of the rat // *Brain Research*. – 1983. – Vol. 264. – №. 1. – P. 118-122.
303. Liu W., Davis R.L. Calretinin and calbindin distribution patterns specify subpopulations of type I and type II spiral ganglion neurons in postnatal murine cochlea // *Journal of Comparative Neurology*. – 2014. – Vol. 522. – №. 10. – P. 2299-2318.
304. Llinás R.R. The contribution of Santiago Ramon y Cajal to functional neuroscience // *Nature Reviews Neuroscience*. – 2003. – Vol. 4. – №. 1. – P. 77-80.
305. Lloyd D.P.C., Chang H.T. Afferent fibers in muscle nerves // *Journal of Neurophysiology*. – 1948. – Vol. 11. – №. 3. – P. 199-207.

306. Lohff B. Facts and philosophy in Neurophysiology. The 200th anniversary of Johannes Müller (1801–1858) // *Journal of the History of the Neurosciences*. – 2001. – Vol. 10. – №. 3. – P. 277-292.
307. López-Muñoz F., Boya J., Alamo C. Neuron theory, the cornerstone of neuroscience, on the centenary of the Nobel Prize award to Santiago Ramón y Cajal // *Brain Research Bulletin*. – 2006. – Vol. 70. – №. 4-6. – P. 391-405.
308. Lu D.C., Niu T., Alaynick W.A. Molecular and cellular development of spinal cord locomotor circuitry // *Frontiers in Molecular Neuroscience*. – 2015. – Vol. 8. – P. 1-25.
309. MacKay-Lyons M. Central pattern generation of locomotion: a review of the evidence // *Physical Therapy*. – 2002. – Vol. 82. – №. 1. – P. 69-83.
310. Magloire H., Joffre A., Azerad J., Lawson D.E.M. Localization of 28 kDa calbindin in human odontoblasts // *Cell and Tissue Research*. – 1988. – Vol. 254. – №. 2. – P. 341-346.
311. Maierl J., Liebich H.G. Investigations on the postnatal development of the macroscopic proportions and the topographic anatomy of the feline spinal cord // *Anatomia, Histologia, Embryologia*. – 1998. – Vol. 27. – №. 6. – P. 375-379.
312. Mann M.D. Clarke's column and the dorsal spinocerebellar tract: A review // *Brain, Behavior and Evolution*. – 1973. – Vol. 7. – №. 1. – P. 58-83.
313. Mannen H., Sugiura Y. Reconstruction of neurons of dorsal horn proper using Golgi-stained serial sections // *Journal of Comparative Neurology* – 1976. – Vol. 168. – №. 2. – P. 303-312.
314. Mantyh P.W., Rogers S.D., Honore P., Allen B.J., Ghilardi J.R., Li J., Daughters R.S., Lappi D.A., Wiley R.G., Simone D.A. Inhibition of hyperalgesia by ablation of lamina I spinal neurons expressing the substance P receptor // *Science*. – 1997. – Vol. 278. – №. 5336. – P. 275-279.
315. Manzano G.M., Giuliano L.M.P., Nóbrega J.A.M. A brief historical note on the classification of nerve fibers // *Arquivos de Neuro-psiquiatria*. – 2008. – Vol. 66. – №. 1. – P. 117-119.

316. Marconcini L., Marchiò S., Morbidelli L., Cartocci E., Albini A., Ziche M., Bussolino F., Oliviero S. C-fos-induced growth factor/vascular endothelial growth factor D induces angiogenesis in vivo and in vitro // *Proceedings of the National Academy of Sciences*. – 1999. – Vol. 96. – №. 17. – P. 9671-9676.
317. Maršala J., Lukáčová N., Kolesár D., Šulla I., Gálik J., Maršala M. The distribution of primary nitric oxide synthase-and parvalbumin-immunoreactive afferents in the dorsal funiculus of the lumbosacral spinal cord in a dog // *Cellular and Molecular Neurobiology*. – 2007. – V. 27. – №. 4. – P. 475-504.
318. Matsushita M. Some aspects of the interneuronal connections in cat's spinal gray matter // *Journal of Comparative Neurology*. – 1969. – Vol. 136. – №. 1. – P. 57-79.
319. Matsushita M. The axonal pathways of spinal neurons in the cat // *Journal of Comparative Neurology*. – 1970. – Vol. 138. – №. 4. – P. 391-417.
320. Matsushita M., Ikeda M., Hosoya Y. The location of spinal neurons with long descending axons (long descending propriospinal tract neurons) in the cat: A study with the horseradish peroxidase technique // *Journal of Comparative Neurology*. – 1979. – Vol. 184. – №. 1. – P. 63-79.
321. Matsushita M. Ascending propriospinal afferents to area X (substantia grisea centralis) of the spinal cord in the rat // *Experimental Brain Research*. – 1998. – Vol. 119. – №. 3. – P. 356-366.
322. Matsushita M. Projections from the upper lumbar cord to the cerebellar nuclei in the rat, studied by anterograde axonal tracing // *Journal of Comparative Neurology*. – 1999. – Vol. 412. №. 4. – P. 633-648.
323. Matsushita M., Yaginuma H. Spinocerebellar projections from spinal border cells in the cat as studied by anterograde transport of wheat germ agglutinin-horseradish peroxidase // *Journal of Comparative Neurology*. – 1989. – V. 288. – №. 1. – P. 19-38.
324. Matsuyama K., Nakajima K., Mori F., Aoki M., Mori S. Lumbar commissural interneurons with reticulospinal inputs in the cat: morphology and discharge patterns during fictive locomotion // *Journal of Comparative Neurology*. – 2004. – Vol. 474. – №. 4. – P. 546-561.



325. Maunz R.A., Pitts N.G., Peterson B.W. Cat spinoreticular neurons: locations, responses and changes in responses during repetitive stimulation // *Brain Research*. – 1978. – Vol. 148. – №. 2. – P. 365-379.
326. Maxwell D.J., Fyffe R.E.W., Rethelyi M. Morphological properties of physiologically characterized lamina III neurones in the cat spinal cord // *Neuroscience*. – 1983. – Vol. 10. – №. 1. – P. 1-22.
327. McCrea D.A., Pratt C.A., Jordan L.M. Renshaw cell activity and recurrent effects on motoneurons during fictive locomotion // *Journal of Neurophysiology*. – 1980. – Vol. 44. – №. 3. – P. 475-488.
328. McCrea D.A., Rybak I.A. Organization of mammalian locomotor rhythm and pattern generation // *Brain Research Reviews*. – 2008. – Vol. 57. – №. 1. – P. 134-146.
329. McHanwell S., Watson C. Localization of motoneurons in the spinal cord. In: *The spinal cord*. Edited by Watson C., Paxinos G., Kayalioglu G. – New York: Academic Press. – 2009. – P. 94-114.
330. Megías M., Álvarez-Otero R., Pombal M.A. Calbindin and calretinin immunoreactivities identify different types of neurons in the adult lamprey spinal cord // *Journal of Comparative Neurology*. – 2003. – Vol. 455. – №. 1. – P. 72-85.
331. Menétrey D., Gannon A., Levine J.D., Basbaum A.I. Expression of c-fos protein in interneurons and projection neurons of the rat spinal cord in response to noxious somatic, articular, and visceral stimulation // *Journal of Comparative Neurology*. – 1989. – Vol. 285. – №. 2. – P. 177-195.
332. Menétrey D., de Pommery J. Origins of spinal ascending pathways that reach central areas involved in visceroreception and visceronociception in the rat // *European Journal of Neuroscience*. 1991. – Vol. 3. – №. 3. – P. 249-259.
333. Mentis G.Z., Siembab V.C., Zerda R., O'Donovan M.J., Alvarez F.J. Primary afferent synapses on developing and adult Renshaw cells // *Journal of Neuroscience*. – 2006. – Vol. 26. – №. 51. – P. 13297-13310.
334. Merkulyeva N., Mikhalkin A., Zykin P. Early Postnatal Development of the Lamination in the Lateral Geniculate Nucleus A-Layers in Cats // *Cellular and Molecular Neurobiology*. – 2018. – V. 38. – №. 5. – P. 1137-1143.

335. Meszlényi V., Patai R., Nógrádi B., Engelhardt J.I., Siklós L. Commentary: Calcium in the pathomechanism of amyotrophic lateral sclerosis-Taking center stage? // *Journal of Neurology & Neuromedicine*. – 2017. – Vol. 2. – №. 4. – P. 1-4.
336. Meyers D.E.R., Snow P.J. The morphology of physiologically identified deep spinothalamic tract cells in the lumbar spinal cord of the cat // *The Journal of Physiology*. – 1982 a. – Vol. 329. – №. 1. – P. 373-388.
337. Meyers D.E.R., Snow P.J. The responses to somatic stimuli of deep spinothalamic tract cells in the lumbar spinal cord of the cat // *The Journal of Physiology*. – 1982 б. – Vol. 329. – №. 1. – P. 355-371.
338. Miller S., Scott P.D. The spinal locomotor generator // *Experimental Brain Research*. – 1977. – Vol. 30. – №. 2-3. – P. 387-403.
339. Moews P.C., Kretsinger R.H. Refinement of the structure of carp muscle calcium-binding parvalbumin by model building and difference fourier analysis // *Journal of Molecular Biology*. – 1975. – Vol. 91. – №. 2. – P. 201-225.
340. Molander C., Xu. Q., Grant G. The cytoarchitectonic organization of the spinal cord in the rat. I. The lower thoracic and lumbosacral cord // *Journal of Comparative Neurology*. – 1984. – Vol. 230. №. 1. – P. 133-141.
341. Molander C., Xu Q., Rivero-Melian C., Grant G. Cytoarchitectonic organization of the spinal cord in the rat: II. The cervical and upper thoracic cord // *Journal of Comparative Neurology*. – 1989. – Vol. 289. – №. 3. – P. 375-385.
342. Molenaar I., Kuypers H.G.J.M. Cells of origin of propriospinal fibers and of fibers ascending to supraspinal levels. A HRP study in cat and rhesus monkey // *Brain Research*. – 1978. – Vol. 152. – №. 3. – P. 429-450.
343. Molinari H.H. Ascending somatosensory projections to the medial accessory portion of the inferior olive: a retrograde study in cats // *Journal of Comparative Neurology*. – 1985. – Vol. 232. – №. 4. – P. 523-533.
344. Molnár Z. Thomas Willis (1621–1675), the founder of clinical neuroscience // *Nature Reviews Neuroscience*. – 2004. – Vol. 5. – №. 4. – P. 329-335.

345. Moore A.K., Wehr M. Parvalbumin-expressing inhibitory interneurons in auditory cortex are well-tuned for frequency // *Journal of Neuroscience*. – 2013. – Vol. 33. – №. 34. – P. 13713-13723.
346. Moran-Rivard L., Kagawa T., Saueressig H., Gross M.K., Burrill J., Goulding M. *Evx1* is a postmitotic determinant of v0 interneuron identity in the spinal cord // *Neuron*. – 2001. – Vol. 29. – №. 2. – P. 385-399.
347. Morgan C., de Groat W.C., Nadelhaft I. The spinal distribution of sympathetic preganglionic and visceral primary afferent neurons that send axons into the hypogastric nerves of the cat // *Journal of Comparative Neurology*. – 1986. – Vol. 243. – №. 1. – P. 23-40.
348. Morgan J.I., Curran T. Stimulus-transcription coupling in the nervous system: involvement of the inducible proto-oncogenes *fos* and *jun* // *Annual Review of Neuroscience*. – 1991. – Vol. 14. – №. 1. – P. 421-451.
349. Moriello G., Pathare N., Cirone C., Pastore D., Shears D., Sulehri S. Comparison of forward versus backward walking using body weight supported treadmill training in an individual with a spinal cord injury: A single subject design // *Physiotherapy Theory and practice*. – 2014. – Vol. 30. – №. 1. – P. 29-37.
350. Morona R., López J.M., González A. Calbindin-D28k and calretinin immunoreactivity in the spinal cord of the lizard *Gekko gekko*: colocalization with choline acetyltransferase and nitric oxide synthase // *Brain Research Bulletin*. – 2006. – Vol. 69. – №. 5. – P. 519-534.
351. Morona R., Moreno N., López J.M., González A. Immunohistochemical localization of calbindin-D28k and calretinin in the spinal cord of *Xenopus laevis* // *Journal of Comparative Neurology*. – 2006. – Vol. 494. – №. 5. – P. 763-783.
352. Morrell J.I., Pfaff D.W. Retrograde HRP identification of neurons in the rhombencephalon and spinal cord of the rat that project to the dorsal mesencephalon // *Developmental Dynamics*. – 1983. – Vol. 167. – №. 2. – P. 229-240.
353. Mönkle M.C., Waldvogel H.J., Faull R.L.M. The distribution of calbindin, calretinin and parvalbumin immunoreactivity in the human thalamus // *Journal of Chemical Neuroanatomy*. – 2000. – Vol. 19. – №. 3. – P. 155-173.

354. Murray M. Organization of the spinal cord. In: Neuroscience in medicine. Edited by Conn P.M. – Totowa: Human Press Inc. – 2003. – P. 197-211.
355. Musienko P.E., Bogacheva I.N., Gerasimenko Y.P. Significance of peripheral feedback in the generation of stepping movements during epidural stimulation of the spinal cord // Neuroscience and Behavioral Physiology. – 2007. – Vol. 37. – №. 2. – P. 181-190.
356. Musienko P.E., Pavlova N.V., Selionov V.A., Gerasimenko Y.P. Locomotion induced by epidural stimulation in a decerebrated cat after spinal cord injury // Biophysics. – 2009. – Vol. 54. – №. 2. – P. 208-213.
357. Musienko P.E., Zelenin P.V., Orlovsky G.N., Deliagina T.G. Facilitation of postural limb reflexes with epidural stimulation in spinal rabbits // Journal of Neurophysiology. – 2009. – Vol. 103. – №. 2. – P. 1080-1092.
358. Musienko P.E., Zelenin P.V., Lyalka V.F., Gerasimenko Y.P., Orlovsky G.N., Deliagina T.G. Spinal and supraspinal control of the direction of stepping during locomotion // Journal of Neuroscience. – 2012. – Vol. 32. – №. 48. – P. 17442-17453.
359. Mytakhir O. 3-D reconstruction of spinal lamina I neurons: Master's dissertation presented to faculty of sciences of the university of Porto, 2015. – P. 38.
360. Naderi S., Türe U., Pait T.G. History of spinal cord localization // Neurosurgical Focus. – 2004. – Vol. 16. – №. 1. – P. 1-6.
361. Nagy I., Woolf C.J., Dray A., Urbán L. Cobalt accumulation in neurons expressing ionotropic excitatory amino acid receptors in young rat spinal cord: Morphology and distribution // Journal of Comparative Neurology. – 1994. – Vol. 344. – P. 321-335.
362. Nahin R.L., Madsen A.M., Giesler G.J. Anatomical and physiological studies of the gray matter surrounding the spinal cord central canal // Journal of Comparative Neurology. – 1983. – Vol. 220. – №. 3. – P. 321-335.
363. Neptune R.R., Kautz S.A. Knee joint loading in forward versus backward pedaling: implications for rehabilitation strategies // Clinical Biomechanics. – 2000. – Vol. 15. – №. 7. – P. 528-535.

364. Nieuwenhuys R. Comparative anatomy of the spinal cord. In: Progress in Brain Research. Organization of the Spinal Cord. Edited by Eccles J.C., Schade J. P. – Amsterdam: Elsevier. – 1964. – Vol. 11. – P. 1-55.
365. Nieuwenhuys R., ten Donkelaar H.J., Nicholson C. The central nervous system of vertebrates. Verlag Berlin Heidelberg: Springer. – 1998. – P. 2219.
366. Nishina H., Sato H., Suzuki T., Sato M., Iba H. Isolation and characterization of fra-2, an additional member of the fos gene family // Proceedings of the National Academy of Sciences. – 1990. – Vol. 87. – №. 9. – P. 3619-3623.
367. Nockolds C.E., Kretsinger R.H., Coffee C.J., Bradshaw R.A. Structure of a calcium-binding carp myogen // Proceedings of the National Academy of Sciences – 1972. – Vol. 69. – №. 3. – P. 581-584.
368. Noga B.R., Shefchyk S. J., Jamal J., Jordan L.M. The role of Renshaw cells in locomotion: antagonism of their excitation from motor axon collaterals with intravenous mecamylamine // Experimental Brain Research. – 1987. – Vol. 66. – №. 1. – P. 99-105.
369. Noga B.R., Fortier P.A., Kriellaars D.J., Dai X., Detillieux G.R., Jordan L.M. Field potential mapping of neurons in the lumbar spinal cord activated following stimulation of the mesencephalic locomotor region // Journal of Neuroscience. – 1995. – Vol. 15. – №. 3. – P. 2203-2217.
370. Noga B.R., Johnson D.M., Riesgo M.I., Pinzon A. Locomotor-activated neurons of the cat. I. Serotonergic innervation and co-localization of 5-HT<sub>7</sub>, 5-HT<sub>2A</sub>, and 5-HT<sub>1A</sub> receptors in the thoraco-lumbar spinal cord // Journal of Neurophysiology. – 2009. – Vol. 102. – №. 3. – P. 1560-1576.
371. Nógrádi A., Vrbová G. Anatomy and Physiology of the spinal cord. In: Transplantation of neural tissue into the spinal cord. Edited by Nogradi A. – Georgetown: RG Landes Biomedical Publisher. – Vol. 2. – P. 1-18.
372. Ohm T.G., Müller H., Ulfing N., Braak E. Glutamic-acid-decarboxylase- and parvalbumin-like-immunoreactive structures in the olfactory bulb of the human adult // Journal of Comparative Neurology. – 1990. – Vol. 291. – №. 1. – P. 1-8.

373. Ohm T.G., Müller H., Braak E. Calbindin-D-28k-like immunoreactive structures in the olfactory bulb and anterior olfactory nucleus of the human adult: Distribution and cell typology-partial complementarity with parvalbumin // *Neuroscience*. – 1991. – Vol. 42. – №. 3. – P. 823-840.
374. Ohshima T., Endo T., Onaya T. Distribution of parvalbumin immunoreactivity in the human brain // *Journal of neurology*. – 1991. – Vol. 238. – №. 6. – P. 320-322.
375. Olude M.A., Idowu A.O., Mustapha O.A., Olopade J.O., Akinloye A.K. Spinal cord studies in the African Giant Rat (*Cricetomys gambianus*, Waterhouse) // *Nigerian Journal of Physiological Sciences*. – 2015. – Vol. 30. – №. 1-2. – P. 25-32.
376. Onoda N. Odor-induced fos-like immunoreactivity in the rat olfactory bulb // *Neuroscience Letters*. – 1992. – Vol. 137. – №. 2. – P. 157-160.
377. Orlovsky G.N., Deliagina T.G., Grillner S., Dale N. Neuronal control of locomotion: from mollusc to man // Oxford University Press. – 1999. – P. 430.
378. Paizs M., Engelhardt J.I., Katarova Z., Siklós L. Hypoglossal motor neurons display a reduced calcium increase after axotomy in mice with upregulated parvalbumin // *Journal of Comparative Neurology*. – 2010. – Vol. 518. – №. 11. – P. 1946-1961.
379. Palestini M., Guegan M., Saavedra H., Thomasset M., Batini C. Glutamate, GABA, calbindin-D28k and parvalbumin immunoreactivity in the pulvinar-lateralis posterior complex of the cat: relation to the projection to the Clare-Bishop area // *Neuroscience Letters*. – 1993. – Vol. 160. – №. 1. – P. 89-92.
380. Parmentier M., Passage E., Vassart G., Mattei M.G. The human calbindin d28k (CALB1) and calretinin (CALB2) genes are located at 8q21.3→q22.1 and 16q22→q23, respectively, suggesting a common duplication with the carbonic anhydrase isozyme loci // *Cytogenetic and Genome Research*. – 1991. – Vol. 57. – №. 1. – P. 41-43.
381. Pasteels B., Rogers J., Blachier F., Pochet R. Calbindin and calretinin localization in retina from different species // *Visual Neuroscience*. – 1990. – Vol. 5. – №. 1. – P. 1-16.

382. Patai R., Nógrádi B., Engelhardt J.I., Siklós L. Calcium in the pathomechanism of amyotrophic lateral sclerosis – Taking center stage? // *Biochemical and Biophysical Research Communications*. – 2017. – Vol. 483. – №. 4. – P. 1031-1039.
383. Paxinos G. *The rat nervous system*. Elsevier. – 2015. P. 1035.
384. Pearce J.M. Marshall Hall and the concepts of reflex action // *Journal of Neurology, Neurosurgery, and Psychiatry*. – 1997. – Vol. 62. – №. 3. – P. 228.
385. Pearson K.G., Iles J.F. Nervous mechanisms underlying intersegmental coordination of leg movements during walking in the cockroach // *Journal of Experimental Biology*. – 1973. – Vol. 58. – №. 3. – P. 725-744.
386. Pearson K.G., Duysens J. Function of segmental reflexes in the control of stepping in cockroaches and cats. In: *Neural control of locomotion*. Edited by Herman R.M., Grillner S., Stein P.S.G., Stuart D.G. – New York: Springer Science+Business. – 1976. – P. 519-537.
387. Pearson K.G. Proprioceptive regulation of locomotion // *Current Opinion in Neurobiology*. – 1995. – Vol. 5. – №. 6. – P. 786-791.
388. Perret C., Berthoz A. Evidence of static and dynamic fusimotor actions on the spindle response to sinusoidal stretch during locomotor activity in the cat // *Experimental Brain Research*. – 1973. – Vol. 18. – №. 2. – P. 178-188.
389. Perry S. et al. Firing properties of Renshaw cells defined by *Chrna2* are modulated by hyperpolarizing and small conductance ion currents *I<sub>h</sub>* and *ISK* // *European Journal of Neuroscience*. – 2015. – Vol. 41. – №. 7. – P. 889-900.
390. Petitjean H., Pawlowski S.A., Fraine S.L., Sharif B., Hamad D., Fatima T., Berg J., Brown C.M., Jan L.Y., Ribeiro-da-Silva A., Braz J.M., Basbaum A.I., Sharif-Naeini R. Dorsal horn parvalbumin neurons are gate-keepers of touch-evoked pain after nerve injury // *Cell Reports*. – 2015. – Vol. 13. – №. 6. – P. 1246-1257.
391. Perry S., Gezelius H., Larhammar M., Hilscher M.M., Lamotte d'Incamps B., Leao K.E., Kullander K. Firing properties of Renshaw cells defined by *Chrna2* are modulated by hyperpolarizing and small conductance ion currents *I<sub>h</sub>* and *ISK* // *European Journal of Neuroscience*. – 2015. – Vol. 41. – №. 7. – P. 889-900.

392. Philippe E., Droz B. Calbindin D-28k-immunoreactive neurons in chick dorsal root ganglion: Ontogenesis and cytological characteristics of the immunoreactive sensory neurons // *Neuroscience*. – 1988. – Vol. 26. – №. 1. – P. 215-224.
393. Pochet R., Pasteels B., Seto-Ohshima A., Bastianelli E., Kitajima S., Van Eldik L.J. Calmodulin and calbindin localization in retina from six vertebrate species // *Journal of Comparative Neurology*. – 1991. – Vol. 314. – №. 4. – P. 750-762.
394. Polgár E., Sardella T.C., Tiong S.Y., Locke S., Watanabe M., Todd A.J. Functional differences between neurochemically defined populations of inhibitory interneurons in the rat spinal dorsal horn // *Pain*. – 2013. – Vol. 154. – №. 12. – P. 2606-2615.
395. Porseva V.V. Calbindin-immunoreactive interneurons in the intermediate zone and ventral horn of the gray matter of the SC in white rats // *Neuroscience and Behavioral Physiology*. – 2015. – Vol. 45. – №. 9. – P. 974-979.
396. Pratt C. A., Jordan L.M. Ia inhibitory interneurons and Renshaw cells as contributors to the spinal mechanisms of fictive locomotion // *Journal of Neurophysiology*. – 1987. – Vol. 57. – №. 1. – P. 56-71.
397. Pratt C.A., Buford J.A., Smith J.L. Adaptive control for backward quadrupedal walking V. Mutable activation of bifunctional thigh muscles // *Journal of Neurophysiology*. – 1996. – Vol. 75. – №. 2. – P. 832-842.
398. Prilutsky B.I., Edwards D.H. Neuromechanical modeling of posture and locomotion. Springer. – 2015. P. 368.
399. Prochazka A., Clarac F., Loeb G.L., Rothwell J.C., Wolpaw J.R. What do reflex and voluntary mean? Modern views on an ancient debate // *Experimental Brain Research*. – 2000. – Vol. 130. – №. 4. – P. 417-432.
400. Prochazka A., Yakovenko S. Locomotor control: from spring-like reactions of muscles to neural prediction // *The Somatosensory System: Deciphering the Brain's Own Body Image*. – 2001. – P. 141-181.
401. Pruschy M., Shi Y.Q., Crompton N.E., Steinbach J., Aguzzi A., Glanzmann C., Bodis, S. The proto-oncogene c-fos mediates apoptosis in murine T-lymphocytes



- induced by ionizing radiation and dexamethasone // *Biochemical and Biophysical Research Communications*. – 1997. – Vol. 241. – №. 2. – P. 519-524.
402. Purves D., Augustine G.J., Fitzpatrick D., Hall W.C., LaMantia A-S, McNamara J.O., Williams J.O. *Neuroscience*. Massachusetts: Sinauer associates, Inc. – 2004. – P. 773.
403. Pyner S., Coote J.H. Arrangement of dendrites and morphological characteristics of sympathetic preganglionic neurones projecting to the superior cervical ganglion and adrenal medulla in adult cat // *Journal of the Autonomic Nervous System*. – 1995. – Vol. 52. – №. 1. – P. 35-41.
404. Rabinovitch A., Suarez-Pinzon W.L., Sooy K., Strynadka K., Christakos S. Expression of calbindin-D 28k in a pancreatic islet  $\beta$ -cell line protects against cytokine-induced apoptosis and necrosis // *Endocrinology*. – 2001. – Vol. 142. – №. 8. – P. 3649-3655.
405. Ramírez-Jarquín U.N., Tapia R. Excitatory and inhibitory neuronal circuits in the spinal cord and their role in the control of motor neuron function and degeneration // *ACS Chemical Neuroscience*. – 2018. – Vol. 9. – №. 2. – P. 211-216.
406. Rao S., Henderson A.S. Regulation of c-fos is affected by electromagnetic fields // *Journal of Cellular Biochemistry*. – 1996. – Vol. 63. – №. 3. – P. 358-365.
407. Rausell E., Bae C.S., Viñuela A., Huntley G.W., Jones, E.G. Calbindin and parvalbumin cells in monkey VPL thalamic nucleus: distribution, laminar cortical projections, and relations to spinothalamic terminations. // *Journal of Neuroscience*. – 1992. – Vol. 12. – №. 10. – P. 4088-4111.
408. Reid R.E., Hodges R.S. Co-operativity and calcium/magnesium binding to troponin C and muscle calcium binding parvalbumin: An hypothesis // *Journal of Theoretical Biology*. – 1980. – Vol. 84. – №. 3. – P. 401-444.
409. Ren K., Ruda M.A., Jacobowitz D.M. Immunohistochemical localization of calretinin in the dorsal root ganglion and spinal cord of the rat // *Brain Research Bulletin*. – 1993. – Vol. 31. – №. 1-2. – P. 13-22.

410. Ren K., Ruda M.A. A comparative study of the calcium-binding proteins calbindin-D28K, calretinin, calmodulin and parvalbumin in the rat spinal cord // *Brain Research Reviews*. – 1994. – Vol. 19. – №. 2. – P. 163-179.
411. Renshaw B. Central effects of centripetal impulses in axons of spinal ventral roots // *Journal of Neurophysiology*. – 1946. – Vol. 9. – №. 3. – P. 191-204.
412. Rexed B. The cytoarchitectonic organization of the spinal cord in the cat // *Journal of Comparative Neurology*. – 1952. – Vol. 96. – №. 3. – P. 415-495.
413. Rexed B. A cytoarchitectonic atlas of the spinal cord in the cat // *Journal of Comparative Neurology*. – 1954. – Vol. 100. – №. 2. – P. 297-379.
414. Riddell J.S., Hadian M. Interneurons in pathways from group II muscle afferents in the lower-lumbar segments of the feline spinal cord // *The Journal of Physiology*. – 2000. – Vol. 522. – №. 1. – P. 109-123.
415. Rinaldi M.L., Haiech J., Pavlovitch J., Rizk M., Ferraz C., Derancourt J., & Demaille J.G. Isolation and characterization of a rat skin parvalbumin-like calcium-binding protein // *Biochemistry*. – 1982. – Vol. 21. – №. 19. – P. 4805-4810.
416. Ritz L.A., Greenspan J.D. Morphological features of lamina V neurons receiving nociceptive input in cat sacrocaudal spinal cord // *Journal of Comparative Neurology*. – 1985. – Vol. 238. – №. 4. – P. 440-452.
417. Ritzler J.M., Ritzler J.M., Sawhney R., van Kessei A.G., Grzeschik K.H., Schinzel A., Berchtold M.W. The genes for the highly homologous Ca<sup>2+</sup>-binding proteins oncomodulin and parvalbumin are not linked in the human genome // *Genomics*. – 1992. – Vol. 12. – №. 3. – P. 567-572.
418. Rivero-Melián C., Grant G. Distribution of lumbar dorsal root fibers in the lower thoracic and lumbosacral spinal cord of the rat studied with cholera toxin B subunit horseradish peroxidase conjugate // *Journal of Comparative Neurology*. – 1990. – Vol. 299. – №. 4. – P. 470-481.
419. Robertson G.S., Fibiger H.C. Neuroleptics increase c-fos expression in the forebrain: contrasting effects of haloperidol and clozapine // *Neuroscience*. – 1992. – Vol. 46. – №. 2. – P. 315-328.

420. Rogers J.H. Immunohistochemical markers in rat cortex: co-localization of calretinin and calbindin-D28k with neuropeptides and GABA // *Brain Research*. – 1992. – Vol. 587. – №. 1. – P. 147-157.
421. Rossignol S. Neural control of stereotypic limb movements // *Comprehensive Physiology*. – 1996. – P. 173-216.
422. Rossignol S., Dubuc R., Gossard J.P. Dynamic sensorimotor interactions in locomotion // *Physiological Reviews*. – 2006. – Vol. 86. – №. 1. – P. 89-154.
423. Runyan C.A., Schummers J., Van Wart A., Kuhlman S.J., Wilson N.R., Huang Z.J., Sur M. Response features of parvalbumin-expressing interneurons suggest precise roles for subtypes of inhibition in visual cortex // *Neuron*. – 2010. – Vol. 67. – №. 5. – P. 847-857.
424. Rybak I.A., Shevtsova N.A., Lafreniere-Roula M., McCrea D.A. Modelling spinal circuitry involved in locomotor pattern generation: insights from deletions during fictive locomotion // *The Journal of Physiology*. – 2006 a. – Vol. 577. – №. 2. – P. 617-639.
425. Rybak I.A., Stecina K., Shevtsova N.A., McCrea D.A. Modelling spinal circuitry involved in locomotor pattern generation: insights from the effects of afferent stimulation // *The Journal of Physiology*. – 2006 б. – Vol. 577. – №. 2. – P. 641-658.
426. Rybak I.A., Dougherty K.J., Shevtsova N.A. Organization of the mammalian locomotor CPG: review of computational model and circuit architectures based on genetically identified spinal interneurons // *eNeuro*. – 2015. – Vol. 2. – №. 5. – P. 1-20.
427. Samanta K., Mirams G.R., Parekh A.B. Sequential forward and reverse transport of the Na<sup>+</sup> Ca<sup>2+</sup> exchanger generates Ca<sup>2+</sup> oscillations within mitochondria // *Nature Communications*. – 2018. – Vol. 9. – №. 1. – P. 1-10.
428. Sanna P.P., Keyser K.T., Battenberg E., Bloom F.E. Parvalbumin immunoreactivity in the rat retina // *Neuroscience Letters*. – 1990. – Vol. 118. – №. 1. – P. 136-139.

429. Sanna P.P., Celio M.R., Bloom F.E., Rende M. Presumptive Renshaw cells contain decreased calbindin during recovery from sciatic nerve lesions // *Proceedings of the National Academy of Sciences*. – 1993. – Vol. 90. – №. 7. – P. 3048-3052.
430. Sapir T., Geiman E.J., Wang Z., Velasquez T., Mitsui S., Yoshihara Y., Frank E., Alvarez F.J., Goulding M. Pax6 and engrailed 1 regulate two distinct aspects of renschow cell development // *Journal of Neuroscience*. – 2004. – Vol. 24. – №. 5. – P. 1255-1264.
431. Sarikcioglu L., Utuk A. Birdsey Renshaw (1911–1948) and his eponym // *Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry*. – 2009. – Vol. 80. – №. 1. – P. 79.
432. Scheibel M.E., Scheibel A.B. Terminal axonal patterns in cat spinal cord II. The dorsal horn // *Brain Research*. – 1968. – Vol. 9. – №. 1. – P. 32-58.
433. Scheibel M.E., Schiebel A.B. Terminal patterns in cat spinal cord III. Primary afferent collaterals // *Brain Research*. – 1969. – Vol. 13. – №. 3. – P. 417-443.
434. Schneeberger P.R., Heizmann C.W. Parvalbumin in rat kidney. Purification and localization // *FEBS Lett*. – 1986. – Vol. 201. – №. 1. – P. 51-56.
435. Schindelin J., Arganda-Carreras I., Frise E., Kaynig V., Longair M., Pietzsch T., Preibisch S., Rueden C., Saalfeld S., Schmid B., Tinevez J.Y., White D.J., Hartenstein V., Eliceiri K., Tomancak P., Cardona A. Fiji: an open-source platform for biological-image analysis // *Nature Methods*. – 2012. – Vol. 9. – №. 7. – P. 676-682.
436. Schoenen J. Dendritic organization of the human spinal cord: The motoneurons // *Journal of comparative neurology*. – 1982 a. – Vol. 21. – №. 3. – P. 226-247.
437. Schoenen J. The dendritic organization of the human spinal cord: The dorsal horn // *Neuroscience*. – 1982 б. – Vol. 7. – №. 9. – P. 2057-2087.
438. Schoenen J., Faull R.L.M. Spinal cord: Cyto- and chemoarchitecture. In: *The human nervous system*. Edited by Mai J.K., Paxinos G. – Amsterdam: Elsevier. – 2012. – P. 190-232.
439. Schwaller B. The continuing disappearance of «pure» Ca<sup>2+</sup> buffers // *Cellular and Molecular Life Sciences*. – 2009. – Vol. 66. – №. 2. – P. 275-300.

440. Schwaller B. Calretinin: from a “simple” Ca<sup>2+</sup> buffer to a multifunctional protein implicated in many biological processes // *Frontiers in Neuroanatomy*. – 2014. – Vol. 8. – №. 3. – P. 1-7.
441. Scotti A.L., Nitsch C. Differential Ca<sup>2+</sup> binding properties in the human cerebellar cortex: distribution of parvalbumin and calbindin D-28k immunoreactivity // *Anatomy and Embryology*. – 1992. – Vol. 185. – №. 2. – P. 163-167.
442. Sengul G., Watson C. Spinal cord: regional anatomy, cytoarchitecture and chemoarchitecture. In: *The human nervous system*. Edited by Mai J.K., Paxinos G. – Amsterdam: Elsevier. – 2012. – P. 186-232.
443. Shah G., Ghosh R., Amstad P.A., Cerutti P.A. Mechanism of induction of c-fos by ultraviolet B (290–320 nm) in mouse JB6 epidermal cells // *Cancer Research*. – 1993. – Vol. 53. – №. 1. – P. 38-45.
444. Shapkov I.T., Shapkova E.I. Spinal locomotor generators in humans: problems in assessing effectiveness of stimulations // *Meditinskaja Tekhnika*. – 1998. – №. 4. – P. 24-27.
445. Shefchyk S., McCrea D., Kriellaars D., Fortier P., Jordan L. Activity of interneurons within the L4 spinal segment of the cat during brainstem-evoked fictive locomotion // *Experimental Brain Research*. – 1990. – Vol. 80. – №. 2. – P. 290-295.
446. Sherrington C. *The Integrative Action of the Nervous System*. Yale University Press. – 1906. – P. 417.
447. Sherrington C.S. Flexion-reflex of the limb, crossed extension-reflex, and reflex stepping and standing // *The Journal of Physiology*. – 1910. – Vol. 40. – №. 1-2. – P. 28-121.
448. Shik M.L., Orlovsky G.N. Neurophysiology of locomotor automatism // *Physiological Reviews*. – 1976. – Vol. 56. – №. 3. – P. 465-501.
449. Shizuki K., Ogawa K., Matsunobu T., Kanzaki J., Ogita K. Expression of c-Fos after noise-induced temporary threshold shift in the guinea pig cochlea // *Neuroscience Letters*. – 2002. – Vol. 320. – №. 1-2. – P. 73-76.

450. Shriver J.E., Noback C.R. Cortical projections to the lower brain stem and spinal cord in the tree shrew (*Tupaia glis*) // *Journal of Comparative Neurology*. – 1967. – Vol. 130. – №. 1. – P. 25-53.
451. Shriver J.E., Stein B.M., Carpenter M.B. Central projections of spinal dorsal roots in the monkey // *Developmental Dynamics*. – 1968. – Vol. 123. – P. 27-74.
452. Siembab V.C., Smith C.A., Zagoraïou L., Berrocal M.C., Mentis G.Z., Alvarez F.J. Target selection of proprioceptive and motor axon synapses on neonatal V1-derived Ia inhibitory interneurons and Renshaw cells // *Journal of Comparative Neurology*. – 2010. – Vol. 518. – №. 23. – P. 4675-4701.
453. Singewald N., Salchner P., Sharp T. Induction of c-Fos expression in specific areas of the fear circuitry in rat forebrain by anxiogenic drugs // *Biological Psychiatry*. – 2003. – Vol. 53. – №. 4. – P. 275-283.
454. Skinner R.D., Remmel R.S. Monosynaptic inputs to lumbar interneurons from the lateral vestibulospinal tract and the medial longitudinal fasciculus // *Neuroscience Letters*. – 1978. – Vol. 10. – №. 3. – P. 259-264.
455. Sloviter R.S. Calcium-binding protein (calbindin-D28k) and parvalbumin immunocytochemistry: Localization in the rat hippocampus with specific reference to the selective vulnerability of hippocampal neurons to seizure activity // *Journal of Comparative Neurology*. – 1989. – Vol. 280. – №. 2. – P. 183-196.
456. Smith K.M., Boyle K.A., Madden J.F., Dickinson S.A., Jobling P., Callister R.J., Hughes D.I., Graham B.A. Functional heterogeneity of calretinin-expressing neurons in the mouse superficial dorsal horn: implications for spinal pain processing // *The Journal of Physiology*. – 2015. – Vol. 593. – №. 19. – P. 4319-4339.
457. Smith K.M., Boyle K.A., Mustapa M., Jobling P., Callister R.J., Hughes D.I., Graham B.A. Distinct forms of synaptic inhibition and neuromodulation regulate calretinin-positive neuron excitability in the spinal cord dorsal horn // *Neuroscience*. – 2016. – Vol. 326. – P. 10-21.
458. Snyder R.L., Faull R L.M., Mehler W.R. A comparative study of the neurons of origin of the spinocerebellar afferents in the rat, cat and squirrel monkey based on the

- retrograde transport of horseradish peroxidase // *Journal of Comparative Neurology*. – 1978. – V. 181. – №. 4. – P. 833-852.
459. Snyder-Keller A.M. Striatal c-fos induction by drugs and stress in neonatally dopamine-depleted rats given nigral transplants: importance of NMDA activation and relevance to sensitization phenomena // *Experimental Neurology*. – 1991. – Vol. 113. – №. 2. – P. 155-165.
460. Snyder D.J., Jahng J. W., Smith J.C., Houpt T.A. c-Fos induction in visceral and vestibular nuclei of the rat brain stem by a 9.4 T magnetic field // *NeuroReport*. – 2000. – Vol. 11. – №. 12. – P. 2681-2685.
461. Soleiman J., Demaerel P., Rocher S., Maes F., Marchal G. Magnetic resonance imaging study of the level of termination of the conus medullaris and the thecal sac: Influence of age and gender // *Spine*. – 2005. – Vol. 30. – №. 16. – P. 1875-1880.
462. Song Z.M., Hu J., Rudy B., Redman S.J. Developmental changes in the expression of calbindin and potassium-channel subunits Kv3. 1b and Kv3. 2 in mouse Renshaw cells // *Neuroscience*. – 2006. – Vol. 139. – №. 2. – P. 531-538.
463. Sooy K., Kohut J., Christakos S. The role of calbindin and 1,25dihydroxyvitamin D3 in the kidney // *Current Opinion in Nephrology and Hypertension*. – 2000. – Vol. 9. – №. 4. – P. 341-347.
464. Spatz W.B., Löhle E. Calcium-binding proteins in the spiral ganglion of the monkey, *Callithrix jacchus* // *Hearing Research*. – 1995. – Vol. 86. – №. 1-2. – P. 89-99.
465. Spruill M.M., Kuncl R.W. Calbindin-D28K is increased in the ventral horn of spinal cord by neuroprotective factors for motor neurons // *Journal of Neuroscience Research*. – 2015. – Vol. 93. – №. 8. – P. 1184-1191.
466. Standring S. *Anatomy. The anatomical basis of clinical practice*. London: Elsevier. – 2016. – P. 1562.
467. Stecina K., Fedirchuk B., Hultborn H. Information to cerebellum on spinal motor networks mediated by the dorsal spinocerebellar tract // *The Journal of Physiology*. – 2013. – Vol. 591. – №. 22. – P. 5433-5443.

468. Steiner S., Aicher L., Raymackers J., Meheus L., Esquer-Blasco R., Anderson N.L., Cordier A. Cyclosporine a decreases the protein level of the calcium-binding protein calbindin-D 28kDa in rat kidney // *Biochemical Pharmacology*. – 1996. – Vol. 51. – №. 3. – P. 253-258.
469. Stepien A.E., Tripodi M., Arber S. Monosynaptic rabies virus reveals premotor network organization and synaptic specificity of cholinergic partition cells // *Neuron*. – 2010. – Vol. 68. – №. 3. – P. 456-472.
470. Sterling P., Kuypers H.G.J.M. Anatomical organization of the brachial spinal cord of the cat. III. The propriospinal connections // *Brain Research*. – 1968. – Vol. 7. – P. 419-443.
471. Stichel C.C., Singer W., Heizmann C.W. Light and electron microscopic immunocytochemical localization of parvalbumin in the dorsal lateral geniculate nucleus of the cat: evidence for coexistence with GABA // *Journal of Comparative Neurology*. – 1988. – Vol. 268. – №. 1. – P. 29-37.
472. Strack A.M., Sawyer W.B., Hughes J.H., Platt K.B., Loewy A.D. A general pattern of CNS innervation of the sympathetic outflow demonstrated by transneuronal pseudorabies viral infections // *Brain Research*. – 1989. – Vol. 491. – №. 1. – P. 156-162.
473. Streeter G.L. Factors involved in the formation of the filum terminale // *Developmental dynamics*. – 1919. – Vol. 25. – №. 1. P. 1-11.
474. Stuart D.G., Withey T.P., Wetzell M.C., Goslow G.E. Time constraints for inter-limb co-ordination in the cat during unrestrained locomotion. In: *Control of posture and locomotion*. Edited by Stein R.B., Pearson K.G., Smith R.S., Redford J.B. – New York: Plenum press. – 1973. – P. 537-560.
475. Stuart D.G. Reflections on integrative and comparative movement neuroscience // *Integrative and Comparative Biology*. – 2007. – Vol. 47. – №. 4. – P. 482-504.
476. Sugimoto K., Ohmomo H., Shutoh F., Nogami H., Hisano S. Presentation of noise during acute restraint stress attenuates expression of immediate early genes and arginine vasopressin in the hypothalamic paraventricular nucleus but not corticosterone secretion in rats // *Neuroscience Research*. – 2015. – Vol. 96. – P. 20-29.



477. Székely G., Czéh G., Vöeös G. The activity pattern of limb muscles in freely moving normal and deafferented newts // *Experimental Brain Research*. – 1969. – Vol. 9. – №. 1. – P. 53-62.
478. Székely G. Logical network for controlling limb movements in Urodela // *Acta Physiologica Academiae Scientiarum Hungaricae*. – 1965. – Vol. 27. – P. 285.
479. Szentágothai J., Réthelyi M. Cyto- and neuropil architecture of the spinal cord. In: *New developments in electromyography and clinical neurophysiology*. Edited by Desmedt J. – Basel: Karger. – 1973. – P. 20-37.
480. Takiguchi M., Fujioka M., Funakoshi K. Neonatal spinal injury induces de novo projections of primary afferents to the lumbosacral intermediolateral nucleus in rats // *IBRO reports*. – 2018. – Vol. 4. – P. 1-6.
481. Takami A., Wakayama S. Effects of partial body weight support while training acute stroke patients to walk backwards on a treadmill—a controlled clinical trial using randomized allocation // *Journal of Physical Therapy Science*. – 2010. – Vol. 22. – №. 2. – P. 177-187.
482. Thomas C.E., Combs C.M. Spinal cord segments. A. Gross structure in the adult cat // *American Journal of Anatomy*. – 1962. – Vol. 110. – №. 1. – P. 37-47.
483. Thomas C E., Combs C M. Spinal cord segments. B. Gross structure in the adult monkey // *Developmental Dynamics*. – 1965. – Vol. 116. – №. 1. – P. 205-216.
484. Thomas C.E., Combs C.M. Spinal cord segments. B. Gross structure in the adult monkey // *American Journal of Anatomy*. – 1965. – Vol. 116. – №. 1. – P. 205-216.
485. Todd A.J., McKenzie J. GABA-immunoreactive neurons in the dorsal horn of the rat spinal cord // *Neuroscience*. – 1989. – Vol. 31. – №. 3. – P. 799-806.
486. Todd A.J. An electron microscope study of glycine-like immunoreactivity in laminae I–III of the spinal dorsal horn of the rat // *Neuroscience*. – 1990. – Vol. 39. – №. 2. – P. 387-394.
487. Todd A.J. Neuronal circuitry for pain processing in the dorsal horn // *Nature Reviews Neuroscience*. – 2010. – Vol. 11. – №. 12. – P. 823-236.
488. Todd A.J. Identifying functional populations among the interneurons in laminae I-III of the spinal dorsal horn // *Molecular Pain*. – 2017. – Vol. 13. – P. 1-19.

489. Tóth K., Freund T.F. Calbindin D28k-containing nonpyramidal cells in the rat hippocampus: Their immunoreactivity for GABA and projection to the medial septum // *Neuroscience*. – 1992. – Vol. 49. – №. 4. – P. 793-805.
490. Tousson E. Changes in calbindin-D28K immunoreactivity in the organotypic slice culture of mouse hypothalamic suprachiasmatic nucleus // *Journal of Neurological Sciences (Turkish)*. – 2009. – Vol. 26. – №. 3. – P. 318-324.
491. Tredict G., Torri Tarelli G., Cavaletti G., Marmioli P. Ultrastructural organization of lamina VI of the spinal cord of the cat // *Progress in Neurobiology*. – Vol. 24. – №. 4. – P. 293-331.
492. Trevino D.L., Carstens E. Confirmation of the location of spinothalamic neurons in the cat and monkey by the retrograde transport of horseradish peroxidase // *Brain Research*. – 1975. – Vol. 98. – №. 1. – P. 177-182.
493. Ulfig N. Calcium-binding proteins in the human developing brain. – Heidelberg: Springer Science & Business Media, 2012. – Vol. 165. – P. 95.
494. Uslaner J., Badiani A., Norton C.S., Day H.E., Watson S.J., Akil H., Robinson T.E. Amphetamine and cocaine induce different patterns of c-fos mRNA expression in the striatum and subthalamic nucleus depending on environmental context // *European Journal of Neuroscience*. – 2001. – Vol. 13. – №. 10. – P. 1977-1983.
495. Van Beveren C., Van Straaten F., Curran T., Muller R., Verma I.M. Analysis of FBJ-MuSV provirus and c-fos (mouse) gene reveals that viral and cellular fos gene products have different carboxy termini // *Cell*. – 1983. – Vol. 32. – №. 4. – P. 1241-1255.
496. Vanderhorst V.G.J.M., Holstege G. Organization of lumbosacral motoneuronal cell groups innervating hindlimb, pelvic floor, and axial muscles in the cat // *Journal of Comparative Neurology*. – 1997. – Vol. 382. – №. 1. – P. 46-76.
497. Villanueva L., de Pommery J., Menétréy D., Le Bars D. Spinal afferent projections to subnucleus reticularis dorsalis in the rat // *Neuroscience Letters*. – 1991. – Vol. 134. – №. 1. – P. 98-102.

498. Vizzard M.A. Alterations in spinal cord Fos protein expression induced by bladder stimulation following cystitis. // *American Journal of Physiology-regulatory, Integrative and Comparative Physiology*. – 2000. – Vol. 278. – №. 4. – P. 1027-1039.
499. Vongvatcharanon U., Vongvatcharanon S. Localization of parvalbumin calcium binding protein in the rat heart // *Scienceasia*. – 2003. – Vol. 29. – P. 319-325.
500. Wallace M.N., Kitzes L.M., Jones E.G. Chemoarchitectonic organization of the cat primary auditory cortex. // *Experimental Brain Research*. – 1991. – Vol. 86. – №. 3. – P. 518-526.
501. Walters J.R.F., Bishop A.E., Facer P., Lawson D.E.M., Rogers J.H., Polak J.M. Calretinin and calbindin-D28k immunoreactivity in the human gastrointestinal tract // *Gastroenterology*. – 1993. – Vol. 104. – №. 5. – P. 1381-1389.
502. Wang X., Gallegos D.A., Pogorelov V.M., O'Hare J.K., Calakos N., Wetsel W.C., West A.E. Parvalbumin interneurons of the mouse nucleus accumbens are required for amphetamine-induced locomotor sensitization and conditioned place preference // *Neuropsychopharmacology*. – 2018. – Vol. 43. – №. 5. – P. 953.
503. Wasserman R.H., Taylor A.N. Vitamin d3-induced calcium-binding protein in chick intestinal mucosa // *Science*. – 1966. – Vol. 152. – №. 3723. – P. 791-793.
504. Watson C., Kayalioglu G. The organization of the spinal cord. In: *The spinal cord*. Edited by Watson C., Paxinos G., Kayalioglu G. – New York: Academic Press. – 2009. – P. 1-7.
505. Watson C., Sengul G., Tanaka I., Rusznak Z., Tokuno H. The spinal cord of the common marmoset (*Callithrix jacchus*) // *Neuroscience Research*. – 2015. – Vol. 93. – P. 164-175.
506. Weber D., Harris J., Bruns T., Mushahwar V. Anatomy and physiology of the central nervous system. In: *Neuroprosthetics*. – 2017. – P. 40-103.
507. Wei Q., Zhang H., Ma S., Guo D. Sex-and age-related differences in c-fos expression in dog olfactory bulbs // *Acta Zoologica*. – 2017. – Vol. 98. – №. 4. – P. 370-376.
508. Weidner N., Rüdiger R., Tansey K.E. *Neurological aspects of spinal cord injury*. Springer. – 2017. – P. 770.

509. Whitney E.R., Kemper T.L., Rosene D.L., Bauman M.L., Blatt G.J. Calbindin-D28k is a more reliable marker of human Purkinje cells than standard Nissl stains: A stereological experiment // *Journal of Neuroscience Methods*. – 2008. – Vol. 168. – №. 1. – P. 42-47.
510. Willis W.D., Willis J.C. Location of Renshaw cells // *Nature*. – 1964. – Vol. 204. – №. 4964. – P. 1214-1215.
511. Willis W.D., Coggeshall R.E. Sensory mechanisms of the spinal cord. – New York: Springer Science. – 1991. – P. 575.
512. Willis W.D. John Eccles' studies of spinal cord presynaptic inhibition // *Progress in Neurobiology*. – 2006. – Vol. 78. – №. 3-5. – P. 189-214.
513. Wilson D.M., Wyman R.J. Motor output patterns during random and rhythmic stimulation of locust thoracic ganglia // *Biophysical Journal*. – 1965. – Vol. 5. – №. 2. – P. 121-143.
514. Wilson J.M., Hartley R., Maxwell D.J., Todd A.J., Lieberam I., Kaltschmidt J.A., Yoshida Y., Thomas M.J., Brownstone R.M. Conditional rhythmicity of ventral spinal interneurons defined by expression of the Hb9 homeodomain protein // *Journal of Neuroscience*. – 2005. – Vol. 25. – №. 24. – P. 5710-5719.
515. Winsky L., Kuźnicki J. Distribution of calretinin, calbindin D28k, and parvalbumin in subcellular fractions of rat cerebellum: Effects of calcium // *Journal of Neurochemistry*. 1995. – Vol. 65. – №. 1. – P. 381-388.
516. Winsky L., Kuźnicki J. Distribution of calretinin, calbindin D28k, and parvalbumin in subcellular fractions of rat cerebellum: effects of calcium // *Journal of Neurochemistry*. – 1995. – Vol. 65. – №. 1. – P. 381-388.
517. Wolman M. Some histochemical characteristics of the waldeyer cell layer in the substantia gelatinosa of the spinal cord of the mice and rats // *Brain Research*. – 1970. – Vol. 18. – №. 1. – P. 51-59.
518. Wonders C.P., Anderson S.A. The origin and specification of cortical interneurons // *Nature Reviews Neuroscience*. – 2006. – Vol. 7. – №. 9. – P. 687-696.

519. Yamamoto T., Carr P.A., Baimbridge K.G., Nagy J.I. Parvalbumin-and calbindin D28k-immunoreactive neurons in the superficial layers of the spinal cord dorsal horn of rat // *Brain Research Bulletin*. – 1989. – Vol. 23. – №. 6. – P. 493-508.
520. Yang Y.R., Yen J.G., Wang R.Y., Yen L.L., Lieu F.K. Gait outcomes after additional backward walking training in patients with stroke: a randomized controlled trial // *Clinical Rehabilitation*. – 2005. – Vol. 19. – №. 3. – P. 264-273.
521. Yaprak M. The axon reflex // *Neuroanatomy*. – 2008. – Vol. 7. – P. 17-19.
522. Yasaka T., Tiong S.Y., Hughes D.I., Riddell J.S., Todd A.J. Populations of inhibitory and excitatory interneurons in lamina II of the adult rat spinal dorsal horn revealed by a combined electrophysiological and anatomical approach // *Pain*. – 2010. – Vol. 151. – №. 2. – P. 475-488.
523. Yoshida S., Senba E., Kubota Y., Hagihira S., Yoshiya I., Emson P.C., Tohyama M. Calcium-binding proteins calbindin and parvalbumin in the superficial dorsal horn of the rat spinal cord // *Neuroscience*. – 1990. – Vol. 37. – №. 3. – P. 839-848.
524. Zelenin P.V., Musienko P.E., Gorskii O.V., Lyalka V.F., Gerasimenko Y.P., Orlovsky G.N., Deliagina T.G. Activity of individual spinal neurons during locomotion initiated from brainstem and from spinal cord // *Society for Neuroscience*. – 2015. – Vol. 41. – P. 798.
525. Zelenin P.V., Musienko P.E., Gorskii O.V., Lyalka V.F., Merkul'yeva N., Gerasimenko Y.P., Orlovsky G.N., Deliagina T.G. Activity of individual spinal neurons during forward and backward locomotion // *Society for Neuroscience*. – 2016. – Vol. 42. – P. 535.
526. Zerial M., Toschi L., Ryseck R.P., Schuermann M., Müller R., Bravo R. The product of a novel growth factor activated gene, fos B, interacts with JUN proteins enhancing their DNA binding activity // *The EMBO Journal*. – 1989. – Vol. 8. – №. 3. – P. 805-813.
527. Zhang J.H., Morita Y., Hironaka T., Emson P.C., Tohyama M. Ontological study of calbindin-D28k-like and parvalbumin-like immunoreactivities in rat spinal cord and dorsal root ganglia // *Journal of Comparative Neurology*. – 1990. – Vol. 302. – №. 4. – P. 715-728.

528. Zhang E.T., Han Z.S., Craig A.D. Morphological classes of spinothalamic lamina I neurons in the cat // *Journal of Comparative Neurology*. – 1996. – Vol. 367. – №. 4. – P. 537-549.
529. Zhang E.T., Craig A.D. Morphology and distribution of spinothalamic lamina I neurons in the monkey // *Journal of Neuroscience*. – 1997. – Vol. 17. – №. 9. – P. 3274-3284.
530. Zhang Y., Narayan S., Geiman E., Lanuza G.M., Velasquez T., Shanks B., ... & Fan C.M. V3 spinal neurons establish a robust and balanced locomotor rhythm during walking // *Neuron*. – 2008. – Vol. 60. – №. 1. – P. 84-96.
531. Zhang E.T., Craig A.D. Morphology and distribution of spinothalamic lamina I neurons in the monkey // *Journal of Neuroscience*. – 1997. – Vol. 17. – №. 9. – P. 3274-3284.
532. Zheng J., Lu Y., Perl E.R. Inhibitory neurones of the spinal substantia gelatinosa mediate interaction of signals from primary afferents // *The Journal of Physiology*. – 2010. – Vol. 588. – №. 12. – P. 2065-2075.