

## ЗМІНИ ЕКСПРЕСІЇ *c-fos* У СПИННОМУ МОЗКУ ПІСЛЯ ПРИГНІЧЕННЯ АКТИВНОСТІ ЦЕРЕБРАЛЬНИХ МОНОАМІНЕРГІЧНИХ СИСТЕМ МОЗКУ У ЩУРІВ

Надійшла 28.02.14

У спинному мозку щурів порівнювали зміни експресії гена *c-fos*, викликані активацією м'язових аферентів, після системного введення необоротного пригнічувача везикулярного переносника моноамінів резерпіну (1.5 мг/кг, внутрішньоочеревинно) та без застосування даного агента. Fos-імунореактивні (Fos-ір-) нейрони підраховували в сірій речовині поперекового відділу спинного мозку після унілатеральної вібраційної стимуляції (ВС) ахіллової сухожилки *mm. gastrocnemius + soleus*. У мозку тварин, яким попередньо вводили резерпін, після ВС спостерігалася більша кількість Fos-ір-нейронів переважно в шарах 4–7 та інтермедіолатеральному ядрі ( $35.4 \pm 1.6$  та  $16.7 \pm 0.9$  активованого нейрона відповідно) сегментів *L1* і *L2*, а також у шарах 4–7 і шарі 9 (Fos-ір-мотонейрони) сегментів *L4* та *L5* ( $51.7 \pm 3.6$  і  $11.4 \pm 1.5$  міченої клітини відповідно). Кількість активованих клітин у даних структурах спинного мозку тварин після ВС, але без попереднього введення резерпіну складала в середньому  $25.6 \pm 1.4$  і  $3.5 \pm 0.5$  та  $27.8 \pm 0.9$  і  $6.9 \pm 0.3$  одиниці відповідно. Переважна більшість іпсилатеральних Fos-ір-мотонейронів (160 одиниць, 86 % підрахованих у всіх зрізах) локалізувалися в латеральних пулах шару 9, і тільки 26 мічених мотонейронів (13 %) знаходилися в його медіальних ядрах. Отримані дані вказують на те, що в умовах послаблення моноамінергічних впливів у результаті застосування резерпіну активність інтраспінальних мереж, активованих пропріоцептивними впливами при стимуляції м'язових аферентів, збільшується, а впливи вказаних входів на спінальні мотонейрони та симпатичні прегангліонарні нейрони посилюються. Послаблення гальмівного контролю, що реалізується гальмівними інтернейронами, в шляхах передачі збуджуючих впливів від м'язових аферентів до мотонейронів у результаті супресії моноамінергічних модуляторних систем може розглядатись як один із факторів розвитку ригідності/спастичності м'язів кінцівок у разі нейродегенеративних хвороб та після травми спинного мозку.

**КЛЮЧОВІ СЛОВА:** експресія *c-fos*, активація нейронних мереж, пропріоцептивні впливи, моноамінергічні системи, резерпін.

### ВСТУП

Впливи від церебральних моноамінергічних систем є важливим компонентом низхідного контролю діяльності спінальних локомоторних центрів. Успішна локомоція відбувається лише за умов узгодженого вивільнення дофаміну, норадреналіну та серотоніну в різних регіонах спинного мозку [1–3]; те саме, очевидно, стосується й інших складних моторних феноменів. Впливи різних моноамінів опосередковуються специфічними рецепторами, причому моноамінергічні рецептори того або ін-

шого класу модулюють відносно широкий, але в той же час специфічний спектр кінематичних, кінетичних та міографічних характеристик руху [4–6]. Заслугує на увагу те, що дія деяких моноамінів може прискорювати відновлення порушеної локомоторної функції після травми спинного мозку [7–9]. Впливи окремих моноамінів на сегментарно-рівні супроводжуються істотними змінами активності спінальних нейронів, причетних до передачі інформації від сегментарних пропріоцепторів [10–14].

Як відомо, виключення або модуляція впливів тих або інших низхідних шляхів призводить до змін балансу збуджуючих та гальмівних впливів периферичних аферентів у спінальних нейронних мере-

<sup>1</sup> Інститут фізіології ім. О. О. Богомольця НАН України, Київ (Україна).  
Ел. пошта: maznychenko@biph.kiev.ua (А. В. Мазниченко).

жах та розладів взаємодії різних м'язових груп, що проявляється в порушеннях пози та руху [5]. Послаблення функції дофамінергічної системи є однією з основних причин розвитку порушень моторної активності, які виникають при хворобі Паркінсона [15].

Пропріоцептори скелетних м'язів, зокрема рецептори інтрафузальних веретен, є важливим джерелом сигналів до сегментарних систем моторного контролю. Такі сигнали ініціюють генерацію інтраспінальних та надсегментарних команд, спрямованих на контроль пози та локомоції [16–18]. Відповідні ефекти зазнають впливів з боку ряду модуляторних систем. Нещодавно було показано, що після системної аплікації 7-нітроіндазолу (блокатора нейронної синтази оксиду азоту) посилюється експресія с-Fos, викликана впливами низькопорогових м'язових аферентів [19]. Після застосування резерпіну зростає рівень с-Fos-експресії в надсегментарних катехол- і некатехоламінергічних нейронах, розташованих у різних ділянках мозку, та збільшується активність ноцицептивних нейронів у спинному мозку [20, 21]. Однак питання, як саме реагують на зміни інтенсивності впливів моноамінергічних церебральних систем сегментарні нейронні мережі, причетні до передачі інформації від м'язових веретенних рецепторів, залишається значною мірою нез'ясованим.

Встановлено, що застосування резерпіну – необоротного супресора везикулярного переносника моноамінів – призводить до швидкого вивільнення серотоніну, норадреналіну та дофаміну із пресинаптичних закінчень у локусах проєкцій амінергічних волокон, виснаження запасів зазначених амінів на периферії ЦНС та наступного пригнічення синтезу даних моноамінів у нейронах відповідних церебральних моноамінергічних систем [22, 23]. Це зумовлює зменшення концентрації біогенних амінів у головному та спинному мозку, що проявляється в розвитку симптомів фіброміалгії, м'язової ригідності, треморі та акінезії. Поява таких симптомів спостерігається при паркінсонізмі у людей; аналогічні патологічні зрушення відбуваються при моделюванні даної хвороби на тваринах [15, 24–26]. Було зроблено припущення, що розвиток резерпініндукованих порушень моторних функцій може бути пов'язаним не тільки зі змінами в супраспінальних структурах, але й із резерпінзалежною дисрегуляцією процесів моторного контролю на сегментарному рівні.

Щоб з'ясувати можливі зміни у функціонуванні сегментарних мереж, контролюючих м'язову активність, після послаблення функції моноамінергічних систем, ми провели порівняльний аналіз патернів розподілу Fos-імунореактивних (Fos-ір-) нейронів у поперековому відділі спинного мозку щурів при активації рецепторів м'язів задньої кінцівки. Така активація забезпечувалася тривалою вібраційною стимуляцією (BC) сухожилка триголового м'яза литки (*mm. gastrocnemius+soleus* – GS). Згадані патерни визначались у тварин після ізольованої дії BC та в тому разі, коли такої стимуляції передувало системне введення резерпіну.

## МЕТОДИКА

Імуногістохімічне виявлення активованих нейронів у поперековому відділі спинного мозку було проведено на п'ятьох групах щурів-самців лінії Вістар. Дві групи були контрольними. До першої групи були включені інтактні тварини ( $n = 4$ ); щурів другої групи ( $n = 4$ ) наркотизували хлоралгідратом (400 мг/кг, внутрішньоочеревинно; „Sigma”, США) і також внутрішньоочеревинно їм вводили 1 мл 0.9 %-вого розчину хлористого натрію. Тварин третьої групи ( $n = 4$ ) також наркотизували хлоралгідратом (400 мг/кг), після чого для активації спінальних нейронів піддавали BC відпрепарований ахіллів сухожилок триголового м'яза литки (*mm. gastrocnemius+soleus*). Застосовували 30-хвилинну синусоїдальну BC; однохвилинні періоди вібрації чергувалися з однохвилинними інтервалами відпочинку. Частота BC складала  $100\text{ с}^{-1}$ , амплітуда – 0.5 мм. У тварин четвертої групи ( $n = 4$ ) визначали ламінарний розподіл активованих (Fos-імунореактивних, Fos-ір-) нейронів спинного мозку через 4 год після дворазового введення резерпіну (1.5 мг/кг, внутрішньоочеревинно). Щурів п'ятої групи ( $n = 4$ ) через 4 год після введення резерпіну наркотизували хлоралгідратом, після чого застосовували BC сухожилка GS. Після проведених маніпуляцій тварин груп 2, 3 та 5 залишали в стані спокою протягом 2 год. Вважається, що цього часу достатньо для синтезу та накопичення Fos-протеїну в активованих нейронах.

Після завершення експериментів щурів усіх груп під глибоким наркозом (пентобарбітал натрію, 90 мг/кг, внутрішньоочеревинно; „Sigma”, США) перфузували інтракардіально через висхідну аорту

спочатку сольовим фосфатним буфером (ФБ) із доданням 0.2 % нітриту натрію та 25000 од/л гепарину. Далі перфузію продовжували 4 %-вим розчином параформальдегіду в 0.1 М ФБ (рН 7.3). Сегменти поперекового відділу спинного мозку (*L1–L5*) кожної тварини швидко виділяли і фіксували протягом 12 год, а потім з метою кріопротекції витримували 48 год при 4 °С у 30 %-вому розчині сахарози на 0.1 М ФБ. На заморожуючому мікротомі виготовляли зрізи (40 мкм завтовшки), які збирали в лунки з 0.1 М ФБ для подальшого імуногістохімічного забарвлення.

Виявлення Fos-ір-ядер активованих нейронів проводили за допомогою авідин-біотин-пероксидазної методики [27, 28] з використанням кролячих антитіл, специфічних щодо ядерного білка *c-Fos* (Ab-5; „Oncogene Research”, США) та стандартного набору ABC („Vector”, РК 4001, США). Підрахунок Fos-ір-нейронів у шарах сірої речовини спинного мозку здійснювали із застосуванням оптичного мікроскопа при збільшеннях  $\times 250$  та  $\times 400$ , а їх локалізацію визначали за атласом [29].

Середню кількість Fos-ір-нейронів на зріз  $\pm$  похибка середнього підраховували в шарах 1–10 сірої речовини спинного мозку білатерально. Можлива помилка подвійного підрахунку одних і тих самих мічених нейронів у сусідніх зрізах корегувалася за допомогою рівняння Аберкромбі [30]. Одержані дані аналізували з використанням двопараметричного дисперсійного аналізу варіацій ANOVA; додатково застосовували апостеріорний критерій Ньюмена – Кеулса.

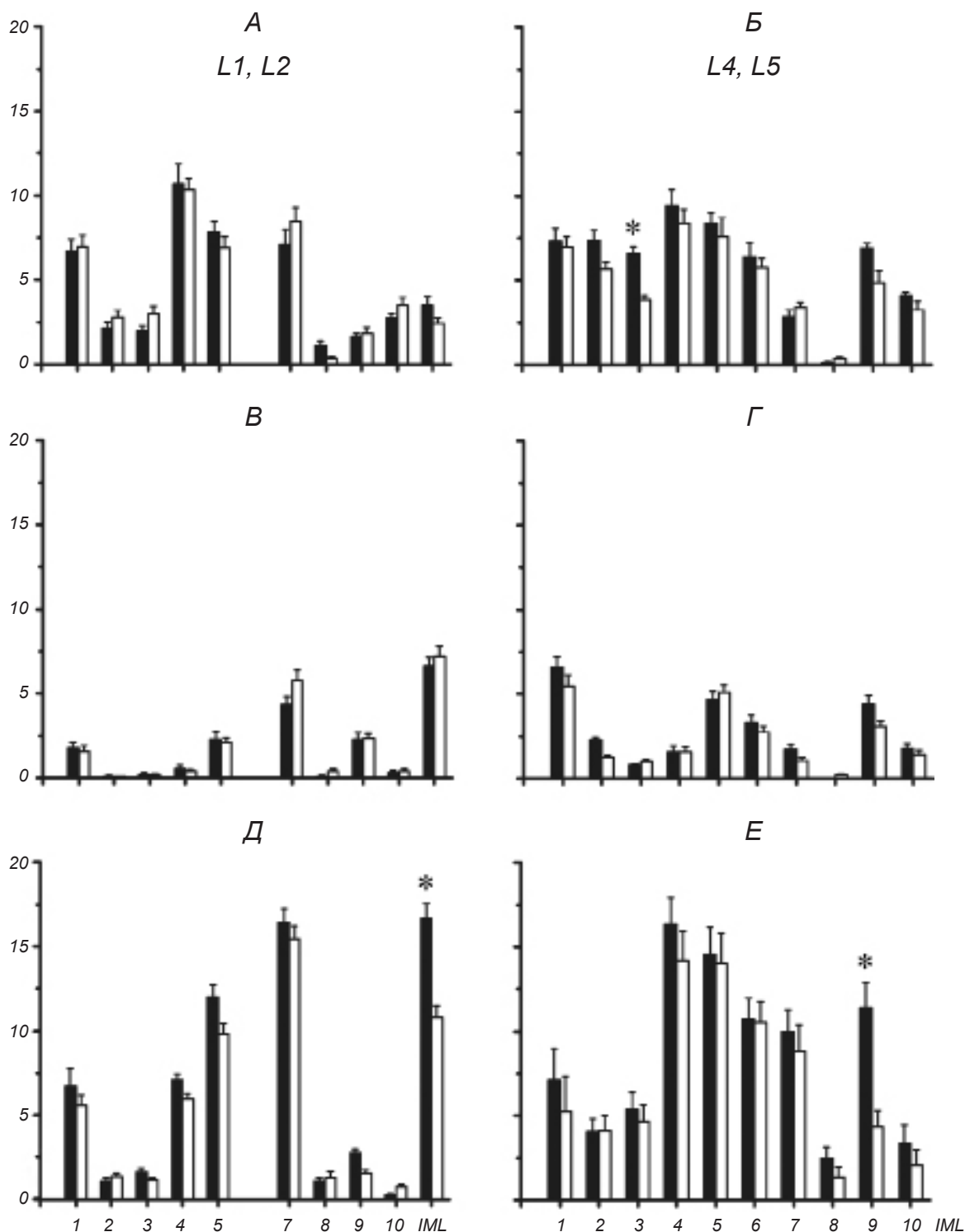
## РЕЗУЛЬТАТИ

У зрізах поперекових сегментів спинного мозку щурів контрольних груп 1 та 2 відмічались лише поодинокі Fos-ір-нейрони (три–шість активованих клітин на зріз), причому виключно в дорсальному розі. Кількості Fos-ір-нейронів у даних спінальних сегментах щурів груп 1 та 2 практично не розрізнялися. Цей факт свідчить про те, що наркотизація хлоргідратом не впливає істотно на експресію гена *c-fos* за відсутності якихось спеціальних аферентних та/або модуляторних впливів на нейронні мережі вказаного відділу. Після ВС сухожилка *GS* у тварин групи 3 активовані нейрони були виявлені в різних шарах сірої речовини як на іпси-, так і на контралатеральному боці щодо місця стимуляції. Середні кількості Fos-ір-нейронів на зріз у різних

сегментах помітно розрізнялися, але взагалі ці показники збільшувались у ростро-каудальному напрямку. Найбільша концентрація мічених нейронів відмічалася в шарах 4 і 5 сегментів *L1* і *L2* та шарах 4–6 сегментів *L4* і *L5* сірої речовини спинного мозку. Fos-ір-нейрони спостерігалися також в інтермедіолатеральних ядрах (*IML*) даних сегментів. У сегментах *L4* і *L5* помітна кількість мічених мотонейронів ( $6.9 \pm 0.3$  одиниці) виявлялася в шарі 9 (рис. 1, *A, B*; 2, *B, B*; 3, *B*). Треба зауважити, що, відповідно до атласу [29], шар 6 у сірій речовині сегментів *L1* та *L2* не визначається.

Після ізольованого системного введення резерпіну у вказаній вище дозі у щурів групи 4 проявлялися характерні модифікації пози та рухової активності. У таких тварин спостерігалася “флексорна поза”, описана раніше [31]. Ця поза, очевидно, зумовлювалася посиленням скорочень м’язів-згиначів шийного і грудного відділів тулуба, а також флексорних м’язів передніх кінцівок. Для задніх кінцівок була характерна протракція в ростральному напрямку за рахунок згинання в кульшових та розгинання в колінних та гомілковостопних суглобах. Такі постуральні зміни супроводжувалися помітним зменшенням спонтанної і викликанної рухової активності тварин (дискінезією). У мозку щурів цієї групи інтенсивність Fos-імунореактивності в сірій речовині спинного мозку була дещо більшою, ніж така в контролі (групах тварин 1 та 2), проте помітно меншою, ніж після ізольованої ВС сухожилка у щурів групи 3 (порівн. рис. 1, *A, B* та *B, Г*). Більшість Fos-ір-нейронів у тварин групи 4 локалізувалися в каудальних сегментах поперекового відділу спинного мозку, де відмічались також активовані мотонейрони (*B, Г*). Треба зазначити, що порівняно з патерном Fos-імунореактивності в групі 3 в сегментах *L1* і *L2* щурів групи 4 була виявлена удвічі більша середня кількість мічених симпатичних прегангліонарних нейронів (СПН) в іпси- та контралатеральному *IML* ( $6.6 \pm 0.5$  та  $7.2 \pm 0.6$  одиниці відповідно) (рис. 1, *B*; 2, *Д*).

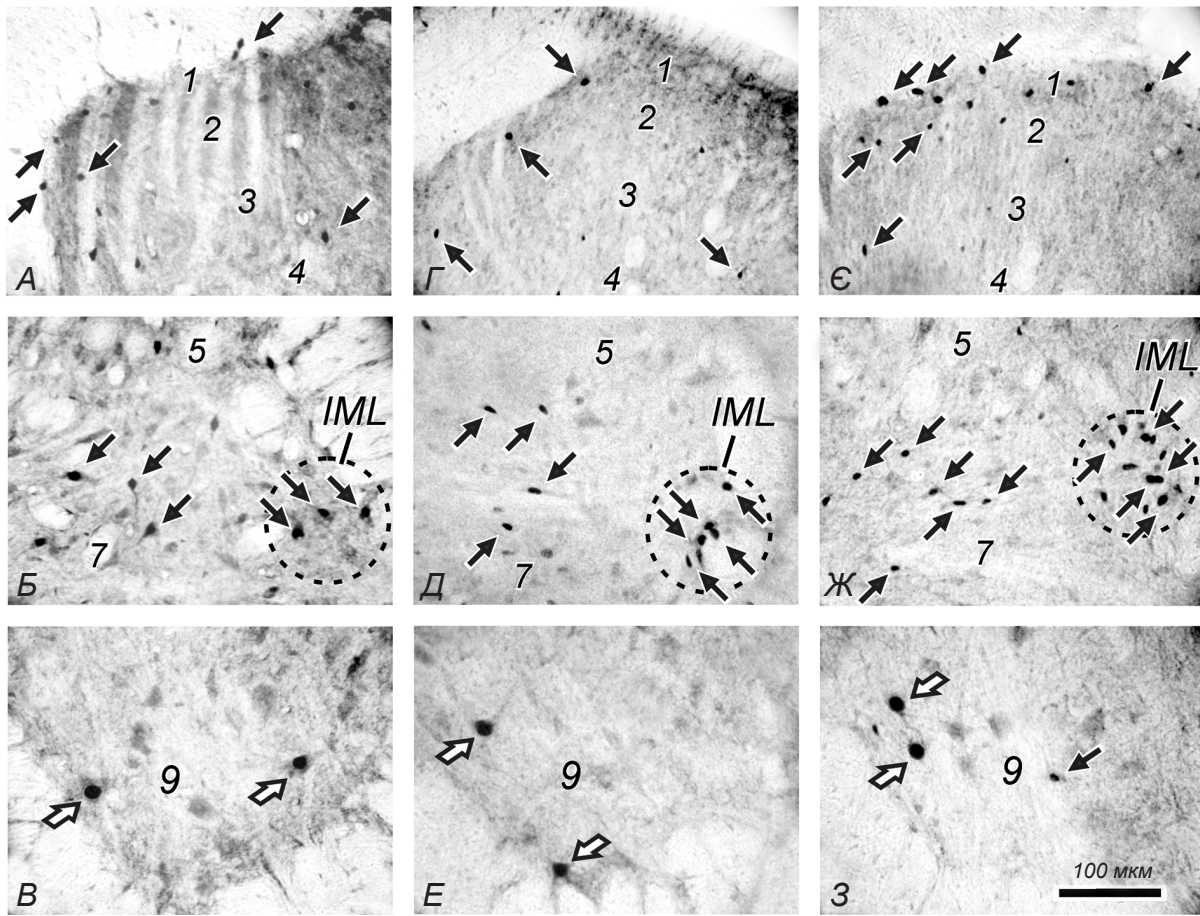
Вібрація сухожилка у щурів групи 5 через 4 год після попереднього введення резерпіну зумовлювала більшу інтенсивність Fos-імунореактивності в поперекових спінальних сегментах. Значення середньої кількості активованих спінальних нейронів помітно перевищували ті, які спостерігались у вказаних сегментах тварин груп 3 та 4 (рис. 1). Необхідно звернути увагу на те, що в попередньо резерпінізованих щурів великі скупчення Fos-ір-нейронів відмічались білатерально в шарах 4–7 та



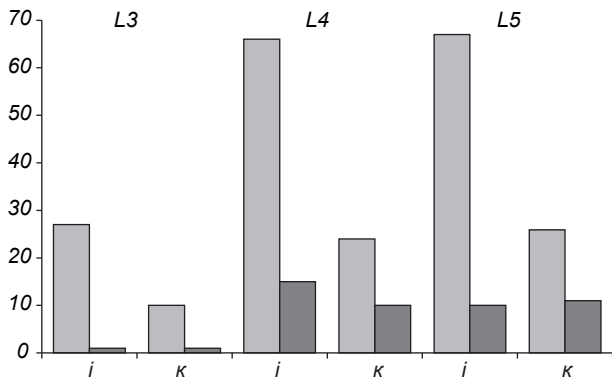
**Р и с. 1.** Діаграми середніх значень ( $\pm$  похибка середнього) кількості Fos-імунореактивних (Fos-ір-) нейронів з іпси- (чорні колонки) та контралатеральних (білі колонки) половин зрізів у шарах 1–10 та в інтермедіолатеральному ядрі (IML) сегментів L1 і L2 та L4 і L5.

A, B – середні кількості мічених нейронів після вібраційної стимуляції (BC) сухожилка *mm. gastrocnemius + soleus*; B, Г – після внутрішньоочеревинного введення резерпіну; Д, Е – після BC сухожилка з попередньою ін'єкцією резерпіну. Зірочками над колонками вказані випадки вірогідної різниці кількостей Fos-ір-нейронів у шарі на іпси- та контралатеральних половин зрізу ( $P < 0.01$ ).

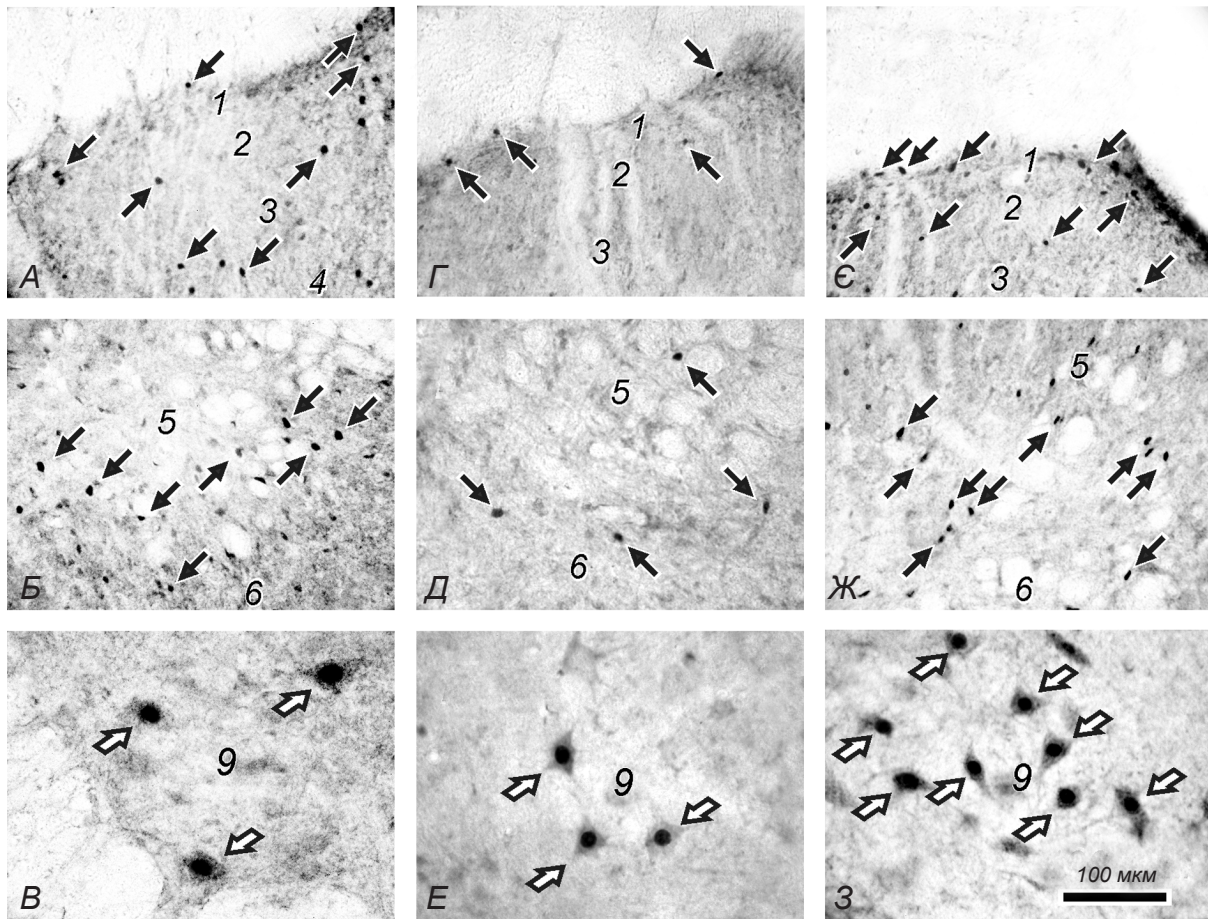




**Р и с. 2.** Мікрофотографії фронтальних зрізів сегмента *L1* спинного мозку щурів після вібраційної стимуляції (ВС) сухожилка *mm. gastrocnemius + soleus* (A–B), ін'єкції резерпіну (Г–Е) та ВС сухожилка, проведеної після попередньої ін'єкції резерпіну (Є–З). Чорними стрілками вказані мічені ядра інтернейронів, білими – мотонейронів. Пунктирною лінією на Б, Д, Ж окреслено інтермедіолатеральне ядро (IML). Калібрівка 100 мкм на 3 відповідає усім фрагментам.



**Р и с. 3.** Розподіл Fos-імунореактивних (Fos-ір-) мотонейронів, розташованих у різних ядрах шару 9. Мічені нейрони білі виявлені у 15 зрізах кожного із сегментів спинного мозку сегментів *L3–L5* у щурів після ін'єкції резерпіну та вібраційної стимуляції сухожилка *mm. gastrocnemius + soleus*. Світлі та темні стовпчики – кількість Fos-ір- мотонейронів у латеральних та медіальних моторних ядрах відповідно на іпсилатеральному (*i* та *к*) боці щодо місця стимуляції.



**Р и с. 4.** Мікрофотографії фронтальних зрізів сегмента *L4* спинного мозку щурів після вібраційної стимуляції (BC) сухожилка *mm. gastrocnemius + soleus* (А–В), ін’єкції резерпіну (Г–Е) та BC сухожилка після попередньої ін’єкції резерпіну (Є–З). Позначення ті ж самі, що й на рис. 2.

іпсилатерально в *IML* сегментів *L1* і *L2* ( $35.4 \pm 1.6$  та  $16.7 \pm 0.9$  одиниці), а в сегментах *L4* та *L5* – у шарах 4–7 і додатково в моторних ядрах шару 9 ( $51.7 \pm 3.6$  і  $11.4 \pm 1.5$  міченої одиниці відповідно) (рис. 1, Д, Е; 2, Ж; 4, 3). Розподіл Fos-ір-мотонейронів, підрахованих у 15 фронтальних зрізах (40 мкм) сегментів *L3*, *L4* та *L5* на іпси- та контралатеральному боках щодо місця BC, показаний на рис. 3. Основна кількість зареєстрованих Fos-ір-мотонейронів локалізувалися в сегментах *L4* та *L5*. Із 268 активованих (відповідно до експресії *c-fos*) мотонейронів 186 клітин (69.4 %) були розташовані іпсилатерально, а 82 клітини (30.6 %) – контралатерально. Переважна більшість іпсилатеральних Fos-ір-мотонейронів (160 клітин, 86 %) розміщува-

лися в латеральних і тільки 26 одиниць (13 %) – у медіальних ядрах шару 9. На контралатеральному боці у вказаних областях спостерігалися 60 (73.2 %) та 22 (26.8 % загальної кількості “контралатеральних” клітин) мічені мотонейрони відповідно.

### ОБГОВОРЕННЯ

Результати проведених порівняльних імуногістохімічних досліджень вперше засвідчили, що викликане BC сухожилка *GS* збільшення рівня Fos-імунореактивності в низці популяцій сегментарних нейронів поперекового відділу спинного мозку (тобто збільшений ступінь активації відповідних

нейронних мереж) ще додатково зростає в умовах системного застосування резерпіну. Найбільш виражені зміни були виявлені переважно в премоторних нейронах (шари 4–7) та мотонейронах (шар 9), тобто серед клітин, котрі є прямими реципієнтами імпульсації аферентів груп I та II від м'язових рецепторів розтягнення, а також в СПН інтермедіолатеральних ядер. Раніше було встановлено, що системне введення резерпіну – необоротного пригнічувача везикулярного переносника моноамінів – викликає швидко та значне (до 30 % початкового рівня) зниження рівнів біогенних амінів (дофаміну, норадреналіну та серотоніну) в структурах головного мозку та в спинному мозку [23, 32].

Як відомо, низхідні моноамінергічні входи до мотонейронів спинного мозку є дифузними; вони одночасно можуть впливати на моторні пули як агоністів, так і антагоністів та викликати коактивацію таких м'язових груп [33]. Формування специфічних рухових патернів (компонентів моторного репертуару) відбувається з обов'язковою участю спінальних гальмівних механізмів, у тому числі реципрокного гальмування. Важливо відмітити, що встановлення зв'язків між моноамінергічними системами та спинним мозком в онтогенезі ссавців співпадає із збільшенням інтенсивності реципрокного гальмування та зміною синхронного типу активації м'язів кінцівок на альтернуючий [34].

Результати фармакологічних досліджень показали, що активація серотонін- та норадренергічної систем викликає пригнічення активної поведінки, а пошкодження таких систем призводить до рухової гіперактивності [35, 36]. На рівні спинного мозку моноаміни полегшують синаптичну передачу між аферентами групи I та інтернейронами Ia, які опосередковують реципрокне гальмування, та інтернейронами Ia та Ib, причетними до нерципрокного гальмування. Одночасно ці модулятори пригнічують передачу впливів від м'язових аферентів групи II [37]. Моноамінергічний контроль передачі сигналів від м'язових аферентів також здійснюється за допомогою регуляції пресинаптичної дії ГАМК-ергічних інтернейронів [38] та безпосереднього впливу моноамінів на гамма-мотонейрони [39]. Як нещодавно було виявлено, збуджуючий чи гальмівний характер дії деяких моноамінів на один і той самий нейрон може істотно залежати не тільки від типу активованих моноамінергічних рецепторів, але і від того, на яких частинах мембрани (соматичній або дендритній) вони розташовані [40]. Наприклад, серотонін може збільшувати збудливість

мотонейронів при активації серотонінергічних рецепторів 5-НТ<sub>2</sub>, а також пригнічувати передачу сенсорних впливів на них через рецептори 5-НТ<sub>1</sub>; рецептори вказаних типів мають різний просторовий розподіл на мембранах клітин-цілей [41, 42].

Таким чином, можна припустити, що в проведених нами дослідженнях посилення експресії гена *c-fos*, виявлене в премоторних інтернейронах та мотонейронах спинного мозку після застосування резерпіну, значною мірою пов'язано з послабленням гальмівного контролю передачі збуджуючих впливів від м'язових аферентів у результаті модуляції активності низхідних моноамінергічних систем. Послаблення гальмівного контролю інтернейронів у шляхах передачі збуджуючих впливів від м'язових аферентів до мотонейронів може розглядатись як один із факторів, який призводить до посилення збудливості мотонейронів та наступного розвитку ригідності/спастичності м'язів кінцівок при нейродегенеративних хворобах та після травми спинного мозку [14, 15, 43]. В останній час велику увагу в розвитку спастичності м'язів приділяють ролі моноамінів у регуляції стійкого кальційзалежного вхідного струму в мотонейронах спинного мозку [8, 14, 44].

Симпатичні прегангліонарні нейрони інтегрують активність низхідних і сенсорних систем автономного контролю та є важливими центрами формування еферентних сигналів симпатичної нервової системи [45]. Вони розташовуються переважно в інтермедіолатеральних ядрах тораколюмбального відділу спинного мозку. СПН отримують основні входи від спінальних інтернейронів та надсегментарних популяцій симпатичних премоторних нейронів, включаючи велику групу нейронів у роstralній вентролатеральній ділянці довгастого мозку. Прямі синаптичні зв'язки первинних аферентів із СПН є нечисленними. Однак певна кількість сегментарних симпатичних інтернейронів, задіяних у контроль активності СПН, були виявлені в шарах 5 та 7 спинного мозку, тобто в зонах проекції м'язових аферентів [46, 47]. Характерно, що в інтактному спинному мозку трансегментарні зв'язки із СПН є здебільшого неактивними; їх активність проявляється лише після порушення низхідних (у тому числі моноамінергічних) шляхів внаслідок травми спинного мозку [48].

Результати попередніх досліджень свідчать про те, що моноаміни різноспрямовано впливають на збудливість СПН; при цьому серотонін та норадреналін збільшують частоту розрядів у більшості та-



ких нейронів, але норадреналін та дофамін можуть і пригнічувати активність останніх [49]. Відмінності модуляторної дії вказаних моноамінів пов'язують із активацією моноамінергічних рецепторів різних типів та різних підгруп СПН, які мають специфічні властивості клітинних мембран [50]. Отримані нами дані про збільшення кількості Fos-ір-СПН в інтермедіолатеральних спінальних ядрах у резерпінізованих щурів вказують на посилення прегангліонарної симпатичної активності в умовах проведених досліджень. Такі дані узгоджуються із свідченнями того, що внутрішньовенне застосування резерпіну може посилювати фонову активність СПН. Можливо, що такі зміни відбуваються за рахунок пригнічення супраспінального та/або сегментарного ГАМК-ергічного контролю активності СПН [51, 52]. Зниження артеріального тиску під впливом резерпіну, навіть після застосування відносно великих (5 мг/кг) доз, спостерігалось здебільшого у тварин з початковим високим артеріальним тиском і проявлялося лише протягом короткого часу після застосування даного агента [25, 53, 54]. Таким чином, можна заключити, що в умовах послаблення моноамінергічних впливів на спінальні механізми при застосуванні резерпіну активність інтраспінальних мереж, активованих через пропріоцептивні входи в умовах стимуляції м'язових аферентів, може помітно збільшуватись, а їх впливи на мотонейрони та СПН – посилюватися.

Всі експериментальні процедури було виконано відповідно до Європейської директиви Ради співтовариств від 24 листопада 1986 р. (86/609/ЕЕС), а також положень Комітету з біотики Інституту фізіології ім. О. О. Богомольця НАН України.

## СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. C. Gerin, D. Becquet, and A. Privat, "Direct evidence for the link between monoaminergic descending pathways and motor activity. I. A study with microdialysis probes implanted in the ventral funiculus of the spinal cord," *Brain Res.*, **704**, 191-201 (1995).
2. L. M. Jordan, J. Liu, P. B. Hedlund, et al., "Descending command systems for the initiation of locomotion in mammals," *Brain Res. Rev.*, **57**, 183-191 (2008).
3. B. R. Noga, D. M. Johnson, M. I. Riesgo, and A. Pinzon, "Locomotor-activated neurons of the cat. 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," *J. Neurophysiol.*, **102**, 1560-1576 (2009).
4. H. Barbeau and S. Rossignol, "Initiation and modulation of the locomotor pattern in the adult chronic spinal cat by noradrenergic, serotonergic and dopaminergic drugs," *Brain*

- Res.*, **546**, 250-260 (1991).
5. P. Musienko, R. van den Brand, O. Märzendorfer, et al., "Controlling specific locomotor behaviors through multidimensional monoaminergic modulation of spinal circuitries," *J. Neurosci.*, **31**, 9264-9278 (2011).
6. U. Siawicska, H. Majczyński, Y. Dai, and L. M. Jordan, "The upright posture improves plantar stepping and alters responses to serotonergic drugs in spinal rats," *J. Physiol.*, **590**, 1721-1736 (2012).
7. V. F. Lyalka, P. E. Musienko, G. N. Orlovsky, et al., "Effect of intrathecal administration of serotonergic and noradrenergic drugs on postural performance in rabbits with spinal cord lesions," *J. Neurophysiol.*, **100**, 723-732 (2008).
8. K. C. Murray, A. Nakae, M. J. Stephens, et al., "Recovery of motoneuron and locomotor function after spinal cord injury depends on constitutive activity in 5-HT<sub>2C</sub> receptors," *Nat. Med.*, **16**, 694-700 (2010).
9. S. Rossignol and A. Frigon, "Recovery of locomotion after spinal cord injury: some facts and mechanisms," *Annu. Rev. Neurosci.*, **34**, 413-440 (2011).
10. H. Bras, P. Cavallari, E. Jankowska, and D. McCrea, "Comparison of effects of monoamines on transmission in spinal pathways from group I and II muscle afferents in the cat," *Exp. Brain Res.*, **76**, 27-37 (1989).
11. E. Jankowska, "Spinal interneuronal systems: identification, multifunctional character and reconfigurations in mammals," *J. Physiol.*, **533**, 31-40 (2001).
12. I. Hammar, B. A. Bannatyne, D. J. Maxwell, et al., "The actions of monoamines and distribution of noradrenergic and serotonergic contacts on different subpopulations of commissural interneurons in the cat spinal cord," *Eur. J. Neurosci.*, **19**, 1305-1316 (2004).
13. B. A. Bannatyne, T. T. Liu, I. Hammar, et al., "Excitatory and inhibitory intermediate zone interneurons in pathways from feline group I and II afferents: differences in axonal projections and input," *J. Physiol.*, **587**, 379-399 (2009).
14. M. M. Rank, K. C. Murray, M. J. Stephens, et al., "Adrenergic receptors modulate motoneuron excitability, sensory synaptic transmission and muscle spasms after chronic spinal cord injury," *J. Neurophysiol.*, **105**, 410-422 (2011).
15. V. S. Fernandes, J. R. Santos, A. H. Leão, et al., "Repeated treatment with a low dose of reserpine as a progressive model of Parkinson's disease," *Behav. Brain Res.*, **231**, 154-163 (2012).
16. U. Proske, A. K. Wise, and J. E. Gregory, "The role of muscle receptors in the detection of movements," *Prog. Neurobiol.*, **60**, 85-96 (2000).
17. U. Windhorst, "Muscle proprioceptive feedback and spinal networks," *Brain Res. Bull.*, **73**, 155-202 (2007).
18. P. J. Cordo, J. L. Horn, D. Künster, et al., "Contributions of skin and muscle afferent input to movement sense in the human hand," *J. Neurophysiol.*, **105**, 1879-1888 (2011).
19. A. I. Pilyavskii, V. A. Maisky, A. V. Maznychenko, and A. I. Kostyukov, "7-nitroindazole potentiates *c-fos* expression induced by muscle tendon vibration in the spinal cord," *Muscle Nerve*, **45**, 597-602 (2012).
20. X. Dai, B. R. Noga, J. R. Douglas, and L. M. Jordan, "Localization of spinal neurons activated during locomotion using the *c-fos* immunohistochemical method," *J. Neurophysiol.*, **93**, 3442-3452 (2005).
21. Y. Nagakura, M. Takahashi, T. Noto, et al., "Different pathophysiology underlying animal models of fibromyalgia



- and neuropathic pain: comparison of reserpine-induced myalgia and chronic constriction injury rats," *Behav. Brain Res.*, **226**, 242-249 (2012).
22. J. P. Henry, C. Sagné, D. Botton, et al., "Molecular pharmacology of the vesicular monoamine transporter," *Adv. Pharmacol.*, **42**, 236-239 (1998).
  23. T. Yoshitake, S. Yoshitake, K. Fujino, et al., "High-sensitive liquid chromatographic method for determination of neuronal release of serotonin, noradrenaline and dopamine monitored by microdialysis in the rat prefrontal cortex," *J. Neurosci. Methods*, **140**, 163-168 (2004).
  24. M. Gerlach and P. Riederer, "Animal models of Parkinson's disease: an empirical comparison with the phenomenology of the disease in man," *J. Neural Transm.*, **103**, 987-1041 (1996).
  25. Y. Nagakura, T. Oe, T. Aoki, and N. Matsuoka, "Biogenic amine depletion causes chronic muscular pain and tactile allodynia accompanied by depression: A putative animal model of fibromyalgia," *Pain*, **146**, 26-33 (2009).
  26. S. Duty and P. Jenner, "Animal models of Parkinson's disease: a source of novel treatments and clues to the cause of the disease," *Br. J. Pharmacol.*, **164**, 1357-1391 (2011).
  27. S.-M. Hsu, L. Raine, and H. Fanger, "Use of avidin-biotin-peroxidase complex (ABC) in immunoperoxidase techniques: a comparison between ABC and unlabelled antibody (PAP) procedures," *J. Histochem. Cytochem.*, **29**, 577-580 (1981).
  28. S. P. Hunt, A. Pini, and G. Evan, "Induction of *c-fos*-like protein in spinal cord neurons following sensory stimulation," *Nature*, **328**, 632-634 (1987).
  29. G. Paxinos and C. Watson, *The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates*, Acad. Press, San Diego (1997).
  30. M. Abercrombie, "Estimation of nuclear population from microtome section," *Anat. Rec.*, **94**, 239-247 (1946).
  31. R. Ianssek, "The effects of reserpine on motor activity and pallidal discharge in monkeys: implications for the genesis of akinesia," *J. Physiol.*, **301**, 457-466 (1980).
  32. T. Oe, M. Tsukamoto, and Y. Nagakura, "Reserpine causes biphasic nociceptive sensitivity alteration in conjunction with brain biogenic amine tones in rats," *Neuroscience*, **169**, 1860-1871 (2010).
  33. A. Björklund and G. Skagerberg, "Descending monoaminergic projections to the spinal cord," in: *Brain Stem Control of Spinal Mechanisms*, B. Sjölund and A. Björklund (eds.), Elsevier Biomed. Press, Amsterdam (1982), pp. 55-88.
  34. E. Pearlstein, "Role of descending aminergic pathways in the development of locomotion," *Current Pharm. Des.*, **19**, 4332-4340 (2013).
  35. E. A. Stone, Y. Lin, Y. Sarfraz, and D. Quartermain, "The role of the central noradrenergic system in behavioral inhibition," *Brain Res. Rev.*, **67**, 193-208 (2011).
  36. Y. Lin, Y. Sarfraz, A. Jensen, et al., "Participation of brainstem monoaminergic nuclei in behavioral depression," *Pharmacol. Biochem. Behav.*, **100**, 330-339 (2011).
  37. E. Jankowska, I. Hammar, B. Chojnicka, and C. H. Heden, "Effects of monoamines on interneurons in four spinal reflex pathways from group I and/or group II muscle afferents," *Eur. J. Neurosci.*, **12**, 701-714 (2000).
  38. N. C. Aggelopoulos, S. Chakrabarty, and S. A. Edgley, "Presynaptic control of transmission through group II muscle afferents in the midlumbar and sacral segments of the spinal cord is independent of corticospinal control," *Exp. Brain Res.*, **187**, 61-70 (2008).
  39. M. H. Gladden, D. J. Maxwell, A. Sahal, and E. Jankowska, "Coupling between serotonergic and noradrenergic neurones and gamma-motoneurons in the cat," *J. Physiol.*, **527**, 213-223 (2000).
  40. J. F. Perrier and F. Cotel, "Serotonin differentially modulates the intrinsic properties of spinal motoneurons from the adult turtle," *J. Physiol.*, **586**, 1233-1238 (2008).
  41. P. J. Harvey, X. Li, Y. Li, and D. J. Bennett, "5-HT<sub>2</sub> receptor activation facilitates a persistent sodium current and repetitive firing in spinal motoneurons of rats with and without chronic spinal cord injury," *J. Neurophysiol.*, **96**, 1158-1170 (2006).
  42. M. Yoshimura and H. Furue, "Mechanisms for the antinociceptive actions of the descending noradrenergic and serotonergic systems in the spinal cord," *J. Pharmacol. Sci.*, **101**, 107-117 (2006).
  43. E. Jankowska and I. Hammar, "Spinal interneurons; how can studies in animals contribute to the understanding of spinal interneuronal systems in man?" *Brain Res. – Brain Res. Rev.*, **40**, 19-28 (2002).
  44. C. J. Heckman, M. Johnson, C. Mottram, and J. Schuster, "Persistent inward currents in spinal motoneurons and their influence on human motoneuron firing patterns," *Neuroscientist*, **14**, 264-275 (2008).
  45. C. R. Anderson, E. M. McLachlan, and O. Srb-Christie, "Distribution of sympathetic preganglionic neurons and monoaminergic nerve terminals in the spinal cord of the rat," *J. Comp. Neurol.*, **283**, 269-284 (1989).
  46. J. B. Cabot, V. Alessi, J. Carroll, and M. Ligorio, "Spinal cord lamina V and lamina VII interneuronal projections to sympathetic preganglionic neurons," *J. Comp. Neurol.*, **347**, 515-530 (1994).
  47. S. Joshi, M. A. Levatte, G. A. Dekaban, and L. C. Weaver, "Identification of spinal interneurons antecedent to adrenal sympathetic preganglionic neurons using trans-synaptic transport of herpes simplex virus type 1," *Neuroscience*, **65**, 893-903 (1995).
  48. L. P. Schramm, "Spinal sympathetic interneurons: their identification and roles after spinal cord injury," *Prog. Brain Res.*, **152**, 27-37 (2006).
  49. A. L. Zimmerman and S. Hochman, "Heterogeneity of membrane properties in sympathetic preganglionic neurons of neonatal mice: Evidence of four subpopulations in the intermediolateral nucleus," *J. Neurophysiol.*, **103**, 490-498 (2010).
  50. A. L. Zimmerman, M. Sawchuk, and S. Hochman, "Monoaminergic modulation of spinal viscerosympathetic function in the neonatal mouse thoracic spinal cord," *PLoS One*, **7**, e47213 (2012).
  51. I. J. Llewellyn-Smith, "GABA in the control of sympathetic preganglionic neurons," *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.*, **29**, 507-513 (2002).
  52. I. J. Llewellyn-Smith, "Anatomy of synaptic circuits controlling the activity of sympathetic preganglionic neurons," *J. Chem. Neuroanat.*, **38**, 231-239 (2009).
  53. A. Iggo and M. Vogt, "Preganglionic sympathetic activity in normal and in reserpine-treated cats," *J. Physiol.*, **150**, 114-133 (1960).
  54. L. Finch and G. D. Leach, "The contribution of the sympathetic nervous system to the development and maintenance of experimental hypertension in the rat," *Br. J. Pharmacol.*, **39**, 317-324 (1970).