

О. В. ВЛАСЕНКО¹, Т. В. БУЗЫКА², В. А. МАЙСКИЙ³,
А. И. ПИЛЯВСКИЙ³, А. В. МАЗНИЧЕНКО³

АКТИВАЦИЯ НЕЙРОНОВ МЕДУЛЛЯРНЫХ ЦЕНТРОВ АВТОНОМНОЙ НЕРВНОЙ СИСТЕМЫ КРЫС ПРИ РЕАЛИЗАЦИИ ИМИ МОТИВИРОВАННЫХ ОПЕРАНТНЫХ ДВИЖЕНИЙ

Поступила 29.09.10

С использованием соответствующих методик выявляли Fos-иммунореактивные (Fos-ир) и НАДФН-диафоразореактивные (НАДФН-др) нейроны в медуллярных центрах автономной нервной системы (АНС) крыс, выполнявших повторные оперантные движения (захват левой передней конечностью пищевого шарика из кормушки) в условиях высокой пищевой мотивации. Животных тренировали производить оперантные движения в течение 12 дней по 30 мин ежедневно. Длительность выполнения одного пищедобывательного движения составляла около 600 мс. Реализация оперантного рефлекса была связана с выраженными мотивационно-аффективными реакциями. Частота сердечных сокращений (ЧСС) во время реализации каждого оперантного движения резко снижалась (на 10-й день тренировки – в среднем на 12 %) с последующим восстановлением этого параметра за 3–4 с. В ходе 30-минутных тренировочных сессий обнаруживалось постепенное снижение средних значений ЧСС (в среднем по группе на 7 %) в интервале от 5-й до 20-й мин с последующим восстановлением к концу тренировочной сессии. Среднее количество Fos-ир-нейронов в медуллярных ядрах АНС (*Sol*, *IRt*, *CVL*, *RVL*, *Amb*, *10* и *MdD*) крыс, осуществлявших пищедобывательные движения ($n = 4$), было достоверно ($P < 0.05$) бóльшим по сравнению с контролем ($n = 4$), причем интенсивность *c-fos*-экспрессии в различных структурах соответствовала следующей последовательности: $Sol > IRt > CVL+RVL/CVL > RVL$. Крупные Fos-ир-нейроны наблюдались в дорсальном моторном ядре блуждающего нерва (*10*) и ядрах *Amb/RAmb*. В значительной части нейронов *Sol* и единичных клетках ядер *10* и *Amb* было обнаружено двойное мечение (Fos-ир + НАДФН-др). Таким образом, в ходе оперантных пищедобывательных движений у животных регистрируются эпизоды брадикардии, связанные с каждой реализацией; кроме того, происходит длительное тоническое снижение ЧСС. Эти вегетативные реакции опосредуются упомянутыми выше медуллярными ядрами АНС. Предполагается, что соответствующее ослабление тормозных симпатических влияний на веретенные рецепторы мышц, задействованных в выполнении оперантных движений, может обеспечивать облегчение генерации проприоцептивной импульсации, усиление моносинаптических спинальных рефлексов и, в конечном счете, повышение эффективности целевых движений конечности, направленных на захват пищи.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: *c-fos*, NOS, оперантные рефлексy, пищевая мотивация, сердечно-сосудистые рефлексy, крыса.

¹ Винницкий национальный медицинский университет им. М. И. Пирогова МЗ Украины (Украина).

² Одесский национальный университет им. И. И. Мечникова (Украина).

³ Институт физиологии им. А. А. Богомольца НАН Украины, Киев (Украина).

Эл. почта: vlasenko@vsmu.vinnica.ua (О. В. Власенко).

ВВЕДЕНИЕ

Больше столетия назад Руффини [1] высказал предположение о существовании симпатической иннервации мышечных веретен как одного из дополнительных источников модуляции афферентных сигналов, поступающих от проприорецепторов. В настоящее время установлено, что симпатическая нервная система может оказывать значительные влияния на динамику формирования и реализации двигательных актов через изменение характеристик проприоцептивной информации и интенсивности мышечных сокращений. Соответствующие изменения симпатических эффектов могут быть существенными компонентами процессов развития усталости и нарушения координации движений [2–4]. Недавно были получены данные об усилении симпатических влияний в ходе реализации статического напряжения скелетных мышц и их последующего утомления в условиях электрической стимуляции вентральных поясничных корешков у анестезированных крыс. Эти эффекты выражались в заметном увеличении частоты сердечных сокращений (ЧСС) и кровяного давления, а также усилении экспрессии белка быстрого реагирования *c-fos* в структурах продолговатого и спинного мозга, имеющих отношение к регуляции сердечно-сосудистой системы и к процессам ноцицепции [5, 6]. Следует, однако, подчеркнуть, что у животных и человека симпатические и парасимпатические сигналы, регистрируемые в отсутствие наркоза, чрезвычайно изменчивы [4, 7]. Угнетение активности мышечных веретен под воздействием симпатических влияний и, как результат, некоторое понижение чувствительности соответствующих рецепторов к растяжению могут быть одним из механизмов, препятствующим успешной реализации моторных программ в условиях изменения концентрации внимания или эмоционального стресса. Снижение эффективности отрицательной обратной связи от интрафузальных мышечных волокон особенно существенно при реализации таких двигательных актов, как борьба или быстрый бег, которые неизбежно ассоциируются с повышенной активностью симпатической нервной системы [4].

Регуляция симпатического и парасимпатического тонуса в значительной мере инициируется импульсацией, поступающей от барорецепторов, с последующей активацией нейронных систем ядра одиночного тракта (*Sol*), а также ростровентролатерального (*RVL*) и каудовентролатерального (*CVL*) ретикулярных ядер [8]. В регуляции барорецепторного рефлекса

участвуют также нейроны группы *A5*, парабрахимальные ядра, голубое пятно [9], а также нейронные пути, позволяющие интегрировать информацию от барорецепторов и сигналы от других центров нервной системы (в первую очередь, от сенсомоторной коры, гипоталамуса и центрального ядра миндалевидного комплекса) [10, 11]. Центры автономной нервной системы (АНС), расположенные в продолговатом мозгу, включают в себя клетки-источники эфферентных симпатических и парасимпатических путей. К таким клеткам относятся возбуждающие нейроны *RVL*, а также тормозные нейроны *CVL*, двойного ядра блуждающего нерва (*Amb/RAmb*), дорсального моторного ядра блуждающего нерва (*10*) и *Sol*. Двойное ядро участвует в регуляции сердечно-сосудистой и дыхательной деятельности, а упомянутое моторное ядро (*10*) обеспечивает парасимпатическую (преганглионарную) и соматическую моторную иннервацию внутренних органов [12].

Данные нейроанатомических исследований указывают на наличие в стволе мозга пяти больших групп клеток, которые образуют прямые проекции к симпатическим преганглионарным нейронам, локализованным в интермедиолатеральном клеточном столбе (*IML*) на уровне грудного и поясничного отделов спинного мозга. Такие стволовые группы включают в себя нейроны *RVL*, ядер шва, голубого пятна (*LC/SC*), а также группы клеток *A5* и мелкоклеточной части паравентрикулярного ядра гипоталамуса (*Pa*) [13, 14].

Ранее было показано [15–17], что содержащие синтазу оксида азота (NO-генерирующие, или НАДФН-диафоразо-реактивные, НАДФН-др-) нейроны широко распространены на всех уровнях продолговатого мозга. Большая их часть локализована в *Sol*, интермедиальном ретикулярном ядре (*IRt*) и латеральном парагигантоклеточном ядре (*LPGi*). Было также обнаружено, что небольшое количество NO-генерирующих клеток локализованы в ядрах *CVL*, *RVL*, *10* и *Amb*. Эти нейроны, расположенные в дорсо- и вентромедиальных областях продолговатого мозга, прямо вовлечены в регуляцию симпатических и парасимпатических эфферентных влияний [18].

В последнее время у животных, реализующих оперантные пищедобывательные движения, с использованием иммуногистохимической идентификации продукта экспрессии «раннего» гена *c-fos* выявлены характерные паттерны активации нейронов в лимбической и моторной коре [19], лимбических структурах основания переднего мозга и гипоталамусе [20]. Однако до настоящего време-

ни остаются невыясненными вопросы, связанные с динамикой развития автономных (симпатических и парасимпатических) рефлекторных реакций в условиях реализации животными оперантных рефлексов, а также с возможностью прямого бульбо-спинального симпатического контроля моторных механизмов на уровне спинного мозга.

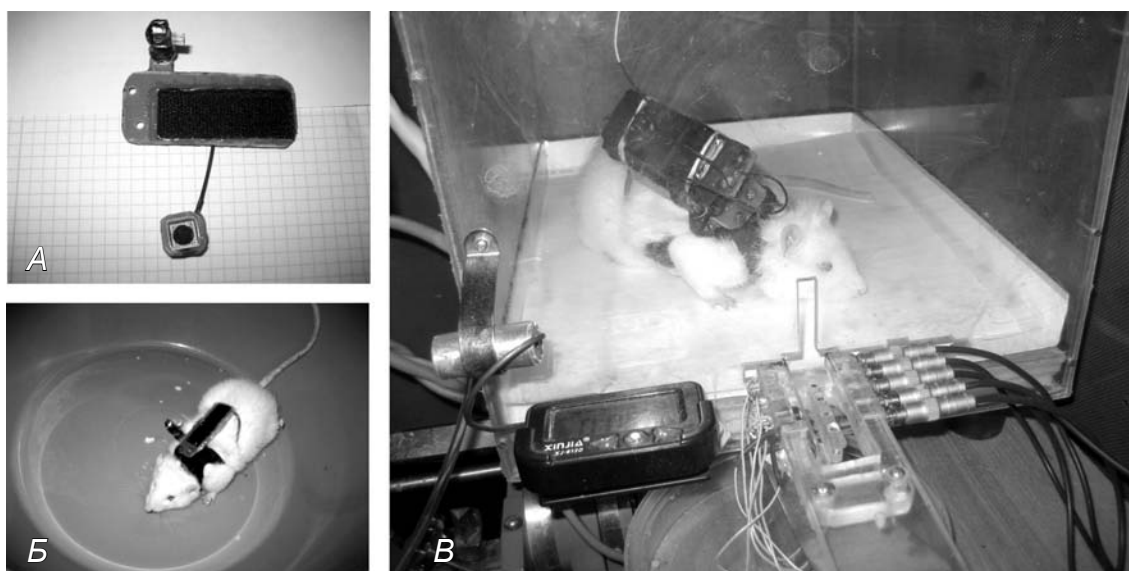
В наших экспериментах мы исследовали динамику изменений функции сердечно-сосудистой системы (измеряя ЧСС) в ходе реализации унилатеральных оперантных пищедобывательных движений и выявляли Fos-иммунореактивные (Fos-ир-) и НАДФН-др-нейроны в медуллярных центрах АНС после выполнения животными таких движений. Предполагалось, что подобный анализ Fos-иммунореактивности позволит обнаружить ключевые ядра продолговатого мозга, которые вовлечены в формирование вегетативного компонента, сопровождающего реализацию моторной программы оперантных рефлексов.

МЕТОДИКА

Экспериментальные группы. В опытах были использованы три группы крыс-самцов линии Вистар массой 250–300 г. Группа 1 ($n = 4$) была контрольной,

группы 2 и 3 составляли животные, которые выполняли пищедобывательные движения ($n = 4$ и 5 соответственно). У животных группы 3 во время таких реализации измеряли ЧСС. За сутки до начала эксперимента крыс групп 2 и 3 ограничивали в еде при свободном доступе к воде. Животные с высоким уровнем пищевой мотивации осуществляли стереотипные произвольные движения – захват пищевых шариков из кормушки передней левой конечностью. Проводилось 12 ежедневных тренировочных сеансов длительностью около 30 мин. Животные осуществляли четыре и более захватов пищевых шариков за 1 мин, т. е. приблизительно 150–200 захватов за один сеанс. Полного насыщения животного за время сеанса, очевидно, не происходило, так что повышенная пищевая мотивация сохранялась на протяжении всего эксперимента. Все экспериментальные процедуры были выполнены в соответствии с Европейской директивой Совета сообществ от 24 ноября 1986 г. (86/609/ЕЕС).

Регистрация фонокардиограммы (ФКГ). Определение ЧСС проводили у крыс группы 3 посредством регистрации ФКГ. Миниатюрный микрофон помещали под платформой рюкзака с телеметрической аппаратурой, надеваемого на экспериментальное животное (рис. 1, А). Фиксация рюкзака на теле животного производилась в условиях кет-



Р и с. 1. Регистрация фонокардиограммы крысы во время обучения выполнению пищедобывательных оперантных движений и их реализации.

А – микрофон и платформа рюкзака для фиксации телеметрического передатчика. Б – животное с передатчиком в рюкзаке. В – животное с передатчиком в экспериментальной камере; на переднем плане – кормушка, из которой крыса, реализуя оперантное движение, извлекает пищевой шарик.

Р и с. 1. Реєстрація фонокардіограми щура під час навчання виконанню їждобувних оперантних рухів та їх реалізації.

аминового наркоза (100 мг/кг, внутрибрюшинно) (Б). ФКГ регистрировали во время обучения пищеводобывательным движениям в экспериментальной камере (В). Перед каждым тренировочным сеансом в рюкзачок животного помещали беспроводный мобильный передатчик параметров ФКГ [21, 22]. Кормушка экспериментальной камеры была оснащена фотоэлектронной системой регистрации наличия пищевого шарика в кормушке и движений передней конечности (В). Сигналы датчиков регистрировали в каждой реализации в пределах отрезков по 500 мс с интервалами 500 мс, оцифровывали и записывали на магнитный носитель персонального компьютера.

Гистология. Крыс групп 1 и 2 (последних через 2 ч после окончания последней тренировки) под глубоким наркозом (пентобарбитал натрия, 90 мг/кг, внутрибрюшинно; „Sigma”, США) перфузировали интракардиально через восходящую аорту сначала солевым фосфатным буфером – ФБ (250 мл), который содержал в себе 0.2 % нитрита натрия и 25000 ед/л гепарина, а затем 4 %-ным параформальдегидом, растворенным в ФБ (0.1 М, 500 мл, pH 7.3). Продолговатый мозг каждого животного выделяли и дополнительно фиксировали на протяжении 12 ч. Затем мозг для обеспечения криопротекции выдерживали 48 ч при 4 °С в 30 %-ном растворе сахарозы, который готовили на ФБ. На замораживающем микротоме изготавливали срезы мозга толщиной 40 мкм, которые собирали в лунки с солевым ФБ для дальнейшего иммуногистохимического и гистохимического окрашивания.

Выявление меченых нейронов с ядрами (Fos-ир-клеток) проводили при помощи стандартной авидин-биотин-пероксидазной методики с использованием поликлональных антител кролика к данному ядерному белку с-Fos (Ab-5; „Oncogene Research”, США) и коммерческого набора ABC (PK 4001; „Vector”, США) [23].

Для выявления НАДФН-др-нейронов срезы, окрашенные для определения с-Fos, дополнительно выдерживали 1 ч при 37 °С в ФБ (0.1 М, pH 7.3), который содержал в себе 0.3 % детергента Triton X-100, 0.2 мг/мл нитроголубого тетразолия и 0.5 мг/мл восстановленного β-НАДФН („Sigma”, США) [25]. НАДФН-др-нейроны идентифицировали в срезах продолговатого мозга по голубой окраске цитоплазмы, а Fos-ир-нейроны – по темно-коричневой окраске их ядер. Меченые нейроны в структурах продолговатого мозга подсчитывали под оптическим микроскопом, а локализацию таких клеток в

пределах фронтальных сечений определяли по атласу мозга крысы [24].

Статистика. Оценку изменений ЧСС производили, измеряя длительность сердечного цикла соответственно ФКГ в пределах 5–10 с после начала реализации отдельного оперантного двигательного движения, а также измеряя усредненную ЧСС на протяжении всего тренировочного сеанса. Для определения среднего количества Fos-ир- и НАДФН-др-нейронов использовали три-четыре среза исследуемых уровней продолговатого мозга каждого животного. Для всех измеряемых показателей рассчитывали средние значения (M), ошибки среднего (m) и 95 %-ный доверительный интервал вариаций ($M \pm 1.96 m$). Количество Fos-ир-нейронов подсчитывали в ядре одиночного тракта (*Sol*), дорсальном моторном ядре блуждающего нерва (*10*), росто-вентролатеральном и каудовентролатеральном ретикулярном ядрах (*RVL* и *CVL*), двояком и заднем двояком ядрах (*Amb/Ramb*), интермедиатном ретикулярном ядре (*IRt*), латеральном парагигантоклеточном ядре (*LPGi*), интерполярной и каудальной частях спинального тройничного ядра (*Sp5I* и *Sp5C*), парвицеллюлярном ретикулярном ядре (*PCRt*), дорсальной части ретикулярного ядра продолговатого мозга (*MdD*) и ядре подъязычного нерва (*12*) на уровнях от –12.3 до –14.3 мм каудальнее брегмы [24]. Значения средних количеств меченых клеток в сечениях различных структур продолговатого мозга на срезах толщиной 40 мкм (индексы плотности) сравнивали при помощи однопараметрического статистического дисперсионного анализа вариаций (ANOVA). Если выявлялось межгрупповое различие, дополнительно применяли апостериорный критерий Ньюмена – Кеулса.

РЕЗУЛЬТАТЫ

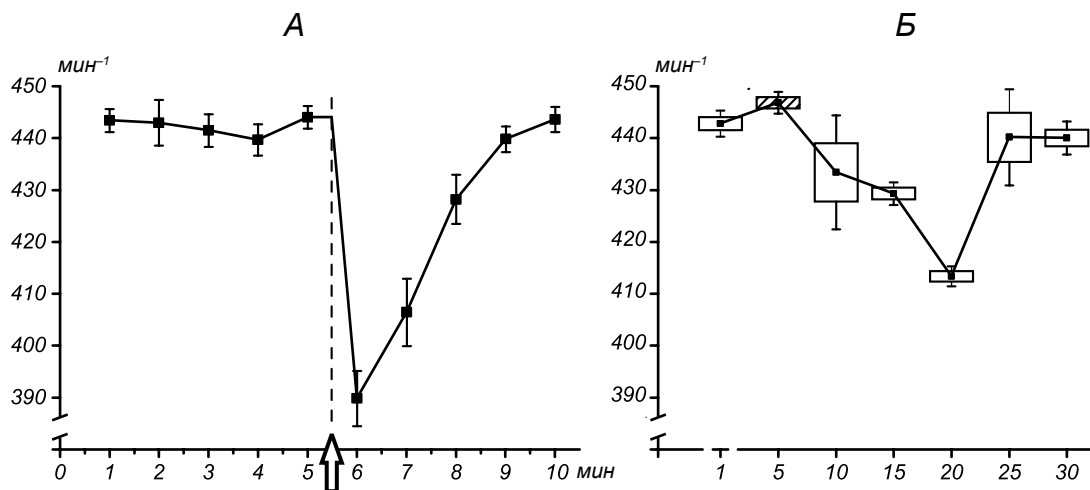
Изменения ЧСС при реализации оперантных пищеводобывательных рефлексов. Как уже упоминалось (см. Методику), формирование стойкой центральной моторной программы, реализация которой обеспечивала захват передней конечностью пищевого шарика из кормушки и поедание его животным, происходило в ходе ежедневных тренировочных сессий на протяжении 12 дней. Длительность единичной реализации оперантного движения конечности составляла около 500–600 мс. Выполнение таких движений голодным животным (тренировочному сеансу предшествовала пищевая депривация,

а потребление пищи в ходе такой сессии не приводило к полному насыщению) было связано с проявлениями выраженных мотивационно-аффективных реакций. В этом состоянии у крысы наблюдались интенсивные сопровождающие движения головы, глаз, челюстей и языка.

Отведение ФКГ показало, что реализация мотивированных пищедобывательных движений сопровождается существенными изменениями такого интегрального показателя состояния системы автономной регуляции, как ЧСС. Измерения этого параметра в данных экспериментах осуществлялись с помощью телеметрии у крыс группы 3 во время ежедневных тренировок. Выполнение каждого пищедобывательного движения передней конечностью сопровождалось заметным преходящим снижением ЧСС (в большинстве случаев на 9–14 % относительно исходного значения). Пример таких фазных падений ЧСС у одного из животных упомянутой группы приведен на рис. 2, А. Начало движения передней конечности к кормушке и захват пальцами пищевого шарика сопровождалось резким снижением ЧСС с последующим восстановлением до прежнего уровня в течение 3–4 с. В иллюстрируемом случае в пределах единичной сессии

реализации оперентного рефлекса среднее значение ЧСС, измеряемое до начала движения, составляло $441 \pm 2.2 \text{ мин}^{-1}$, а в ходе такого движения ЧСС снижалась до $389.9 \pm 5.3 \text{ мин}^{-1}$, т. е. более чем на 12 % относительно исходного уровня ($P < 0.01$).

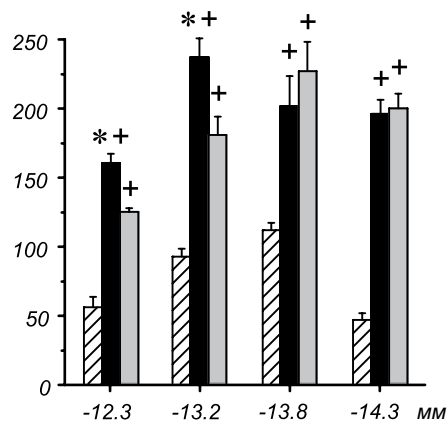
Помимо этого, на протяжении всего тренировочного сеанса заметно изменялась и усредненная частота сокращений сердца. Уменьшение данного показателя начиналось с первых минут сеанса и после 5-й мин было уже достаточно существенным ($P < 0.05$). Расчеты динамики усредненных значений ЧСС для крыс группы 3 показали, что этот параметр достигал минимума примерно на 20-й мин тренировочного сеанса, но к его завершению (к 30-й мин) усредненная ЧСС почти возвращалась к исходному уровню. В интервалах времени, в пределах которых происходили уменьшение усредненной ЧСС и ее восстановление, отмечалось значительное возрастание дисперсии данного показателя. В целом по группе 3 на 10-й день тренировок среднее значение ЧСС до начала сеанса на 10-й день тренировок равнялось $446.8 \pm 1.9 \text{ мин}^{-1}$, а на 20-й мин реализации оперантных движений оно снижалось до $413.4 \pm 1.9 \text{ мин}^{-1}$, т. е. более чем на 7 % (рис. 2, Б). Таким образом, длительность кар-



Р и с. 2. Динамика фазных и тонических изменений частоты сердечных сокращений (ЧСС) у экспериментальных животных при реализации ими оперантных пищедобывательных движений.

А – изменение ЧСС в ходе отдельной реализации у одной из крыс. По оси абсцисс – время, с; по оси ординат – среднее значение ЧСС \pm \pm ошибка среднего, мин^{-1} (данные усреднения на 5-й мин по 20 реализациям в тренировочных сессиях на 10-й день тренировок). Стрелкой и пунктирной линией указан момент инициации оперантного движения. Б – изменения усредненных значений ЧСС (мин^{-1}) у крыс группы 3 ($n = 5$). По оси абсцисс – время регистрации ЧСС и оперантных движений в ходе тренировочной сессии, мин; по оси ординат – значения ЧСС, мин^{-1} . Показаны средние значения (M , черные квадратики), значения средних \pm ошибка среднего ($M \pm m$, белые прямоугольники) и 95 %-ные доверительные интервалы вариации среднего ($M \pm 1.96 m$). Данные усреднены в каждом интервале времени по 20 реализациям тренировочных сессий.

Р и с. 2. Динаміка фазних і тонічних змін частоти серцевих скорочень в експериментальних тварин при реалізації ними оперантних їждобувних рухів.



Р и с. 3. Диаграмма значений плотности Fos-иммунореактивных (Fos-ир-) нейронов в ядре солитарного тракта (*Sol*) на различных фронтальных уровнях продолговатого мозга (мм) каудальнее брегмы, согласно атласу мозга крыс [24].

Заштрихованные, черные и серые столбики соответствуют средним значениям количества Fos-ир-нейронов в пределах данного ядра на срезах толщиной 40 мкм у контрольных крыс и экспериментальных животных, которые выполняли оперантные пищедобывательные движения левой конечностью, ипси- и контралатерально этой конечности соответственно. Крестиками указаны случаи достоверных различий средних значений количества Fos-ир-нейронов в ядре у животных, которые выполняли оперантные движения, и у контрольных крыс, звездочками – различий количества таких нейронов в ипси- и контралатеральном ядрах мозга крыс, выполнявших пищедобывательные движения ($P < 0.05$).

Р и с. 3. Діаграма значень щільності Fos-імунореактивних нейронів в ядрі солітарного тракту (*Sol*) на різних фронтальних рівнях довгастого мозку (мм) каудальніше брегми, згідно з атласом мозку шурів [24].

диоцикла при осуществлении повторных оперантных пищедобывательных движений подвергалась как фазным, так и тоническим изменениям в сторону увеличения.

Экспрессия c-fos в структурах продолговатого мозга в контроле и после осуществления оперантных пищедобывательных рефлексов. У контрольных животных базовый уровень экспрессии гена *c-fos* в дорсомедиальных и вентролатеральных участках продолговатого мозга по всей его длине был достаточно высоким. Fos-иммунореактивность регистрировалась в автономных (*Sol*, *Pa5*, *CVL* и *RVL*), ретикулярных (*MdD*, *Irt*) и сенсорном (*Sp5C*) медуллярных ядрах. Наибольшее количество Fos-ир-нейронов было обнаружено в *Sol* (50–125 единиц на срез унилатерально) (рис. 3). Среднее значение индекса плотности таких клеток в *Sp5C* составляло 95.2 ± 4.3 , а в *RVL* и *CVL* (на уровнях $-12.3 \dots -14.3$ мм

каудальнее брегмы) максимальные значения равнялись 31.7 ± 1.4 и 21.4 ± 1.3 соответственно. Необходимо отметить, что в норме среднее количество меченых нейронов в *RVL* превышало таковое в *CVL*. Иными словами, уровень нейронной активности в прессорных структурах продолговатого мозга был более высоким, чем в депрессорных. В ретикулярных ядрах *MdD* и *Irt* на разных уровнях продолговатого мозга число Fos-ир-нейронов не превышало 25 единиц на срез, а в парасимпатических моторных ядрах (*10*, *Amb*, *RAmb*) были зарегистрированы лишь единичные меченые клетки.

У животных, реализующих оперантные рефлекс, интенсивная экспрессия *c-fos* наблюдалась в дорсомедиальных и вентромедиальных участках продолговатого мозга. В *Sol* Fos-ир-нейроны после реализации крысами оперантных движений регистрировались билатерально, и общее количество таких клеток более чем в два раза превышало контрольные значения (рис. 3). На роstralном уровне *Sol* (-13.2 мм) число Fos-ир-нейронов на ипсилатеральной относительно «рабочей» конечности стороне мозга было заметно бóльшим, чем на контралатеральной (235.7 ± 13.6 и 179.5 ± 13.5 соответственно, $P < 0.05$) (рис. 3).

В *RVL* индексы плотности Fos-ир-клеток на ипси- и контралатеральной сторонах мозга составляли 56.7 ± 3.5 и 44.8 ± 3.4 ; эти значения достоверно не различались ($P > 0.05$). Более сложный профиль *c-fos*-экспрессии был обнаружен в *CVL*. Как и в *RVL*, общее количество Fos-ир-нейронов в *CVL* после реализации оперантных движений превышало число таких клеток в мозгу крыс контрольной группы ($P < 0.05$) (рис. 4, А; 5; 6). На средних уровнях продолговатого мозга индексы плотности меченых клеток в *RVL/CVL* на контралатеральной стороне достоверно превышали соответствующие значения в пределах ипсилатеральных ядер ($P < 0.05$). Необходимо подчеркнуть, что меченые нейроны были зарегистрированы также в ядрах *10* и *Amb*. Максимальное количество Fos-ир-нейронов было обнаружено на роstralных уровнях этих ядер (14.9 ± 2.8 в ядре *10* и 17.1 ± 1.6 – в *Amb*) (рис. 4, А). Высокий уровень экспрессии *c-fos* являлся и в ретикулярных ядрах *Irt* и *MdD*, в каудальной части продолговатого мозга – самом заднем поле (*AP*) и задвижке (*obex*), причем как ипси-, так и контралатерально рабочей конечности (рис. 4, А, Б). В *Irt* и *MdD* на уровне *AP* контралатерально было зарегистрировано в среднем 71.8 ± 7.5 и 73.1 ± 6.6 Fos-ир-нейронов на срез соот-

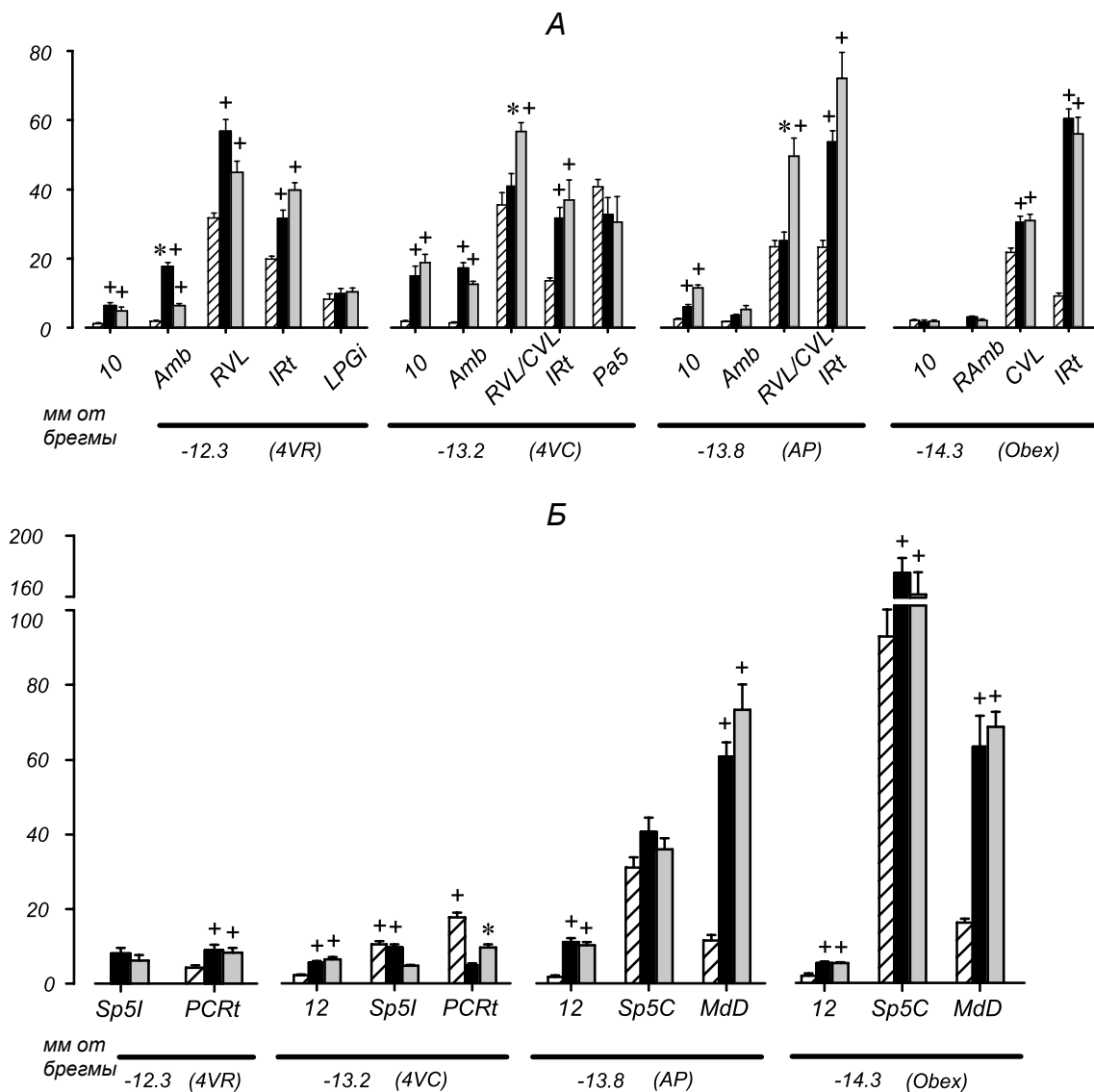


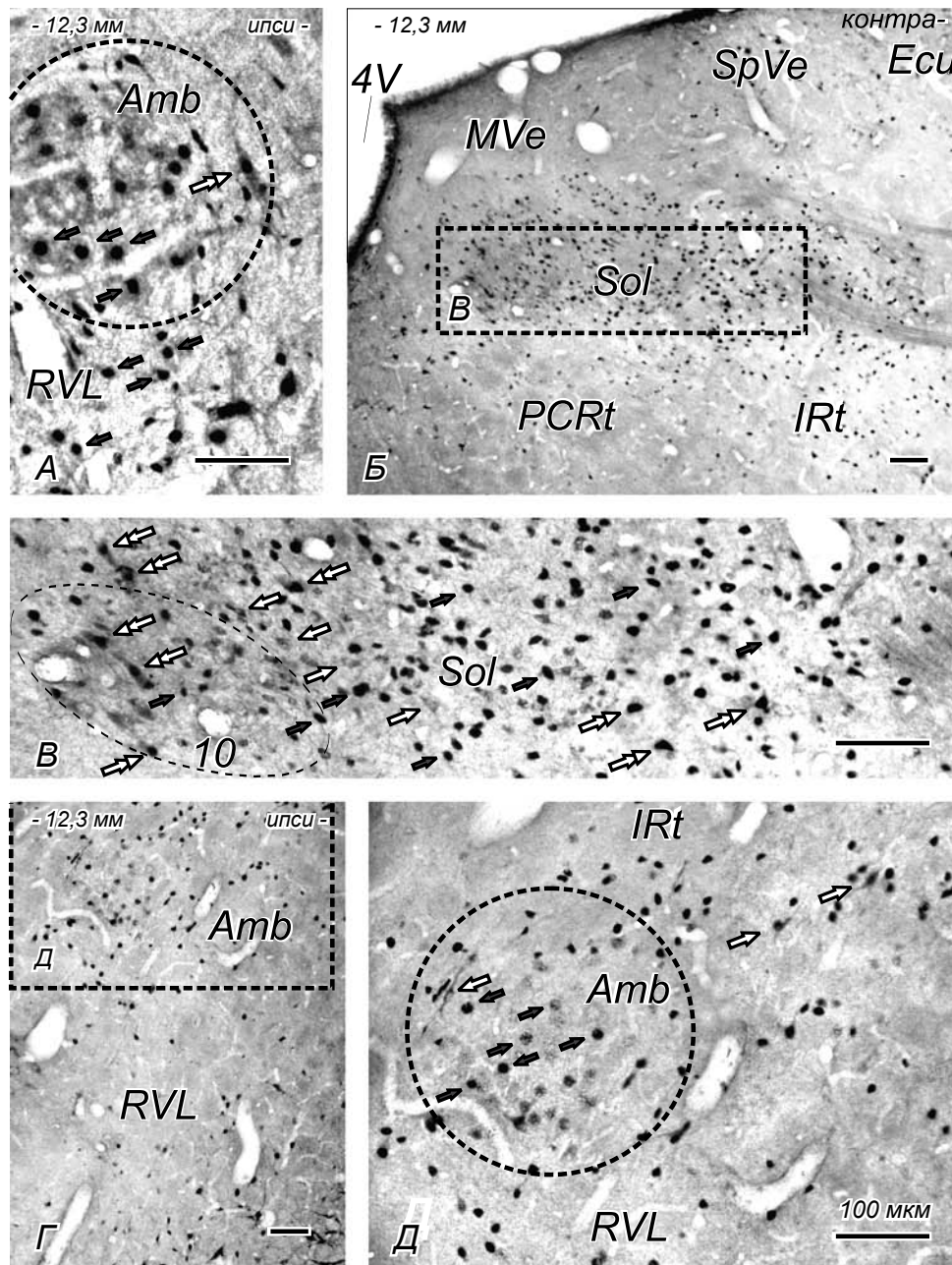
Рис. 4. Диаграммы значений плотности Fos-иммунореактивных нейронов в автономных (А) и сенсорных (Б) центрах продолговатого мозга контрольных экспериментальных крыс на различных уровнях каудальнее брегмы (мм, указаны под диаграммами согласно атласу [24]).

4VC и 4VR – четвертый желудочек, каудальный и роstralный уровни; 10 – дорсальное моторное ядро блуждающего нерва; 12 – подъязычное ядро; Amb и RAmb – двоякое и заднее двоякое ядра; AP – самое заднее поле; CVL и RVL – каудовентролатеральное и ростровентролатеральное ретикулярные ядра; IRt – интермедиатное ретикулярное ядро; LPGi – латеральное парагигантоклеточное ядро; MdD – дорсальная часть ретикулярного ядра продолговатого мозга; obex – задвижка; PCrT – парвицеллюлярное ретикулярное ядро; Sp5I и Sp5C – спинальное тройничное ядро, интерполярная и каудальная части. Остальные обозначения те же, что и на рис. 3.

Рис. 4. Діаграми значень щільності Fos-імунореактивних нейронів у автономних (А) і сенсорних (Б) центрах довгастого мозку у контрольних і експериментальних шурів на різних рівнях каудальніше брегми (мм, вказані під діаграмами згідно з атласом [24]).

ответственно. Fos-иммунореактивность обнаруживалась также в мелкоклеточном ретикулярном ядре (PCrT), ядре подъязычного нерва (12) (до 10 меченых мотонейронов) и в паратригеминальном ядре Pa5 (до 40 единиц, билатерально). Большое количество Fos-ир-нейронов наблюдалось в Sp5C (ин-

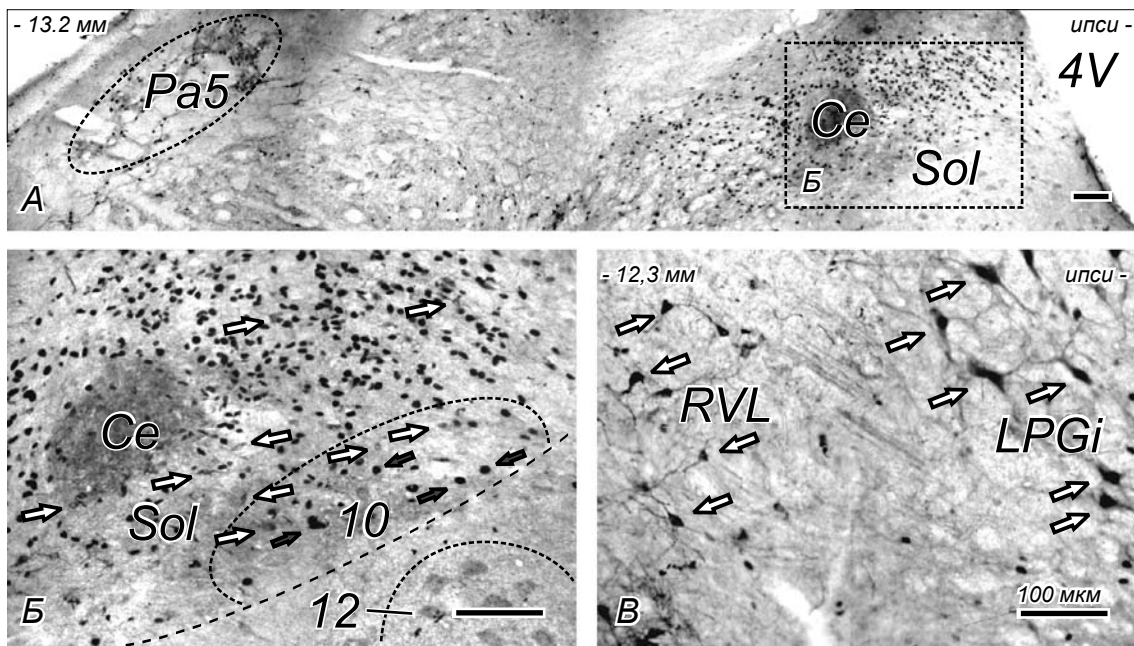
дексы 174.8 ± 10.2 и 161.3 ± 14.2 на ипси- и контралатеральной сторонах мозга соответственно). При сравнении этих показателей на ипси- и контралатеральной сторонах значения индексов плотности в большинстве ядер достоверно не различались (рис. 4, Б; 5; 6).



Р и с. 5. Микрофотографии Fos-иммунореактивных (Fos-ир) и НАДФН-диафоразореактивных (НАДФН-др) нейронов в дорсомедиальных и вентролатеральных структурах продолговатого мозга крысы после реализации животным оперантных пищедобывательных рефлексов левой передней конечностью в течение 30 мин.

Видны крупные Fos-ир-клетки в ипсилатеральном двойном ядре (*Amb*) на *A*, *Г*, *Д* и многочисленные мелкие клетки – в ростровентролатеральном (*RVL*) и интермедиатном (*IRt*) ретикулярных ядрах. Отмечаются интенсивная экспрессия *c-fos* в ядре солитарного тракта (*Sol*), *IRt*, а также незначительная экспрессия в парвицеллюлярном ретикулярном ядре (*PCRt*) на уровне четвертого желудочка (*4V*) на контралатеральной стороне мозга (*Б*, *В*). Прямоугольные участки, выделенные пунктирными линиями на *Б* и *Г*, представлены на *В* и *Д* соответственно с большим увеличением. Черными, белыми и двойными белыми стрелками обозначены Fos-ир-нейроны, НАДФН-др-клетки и клетки с двойным мечением (Fos-ир + НАДФН-др) соответственно. *ECu* – наружное клиновидное ядро, *MVe* – медиальное вестибулярное и *SpVe* – спинальное вестибулярное ядра. Масштаб 100 мкм (для всех фрагментов). Остальные обозначения те же, что и на рис. 1.

Р и с. 5. Микрофотографії Fos-імунореактивних і НАДФН-діафоразореактивних нейронів у дорсомедіальних і вентролатеральних структурах довгастого мозку щура після реалізації твариною оперантних їждобувних рефлексів лівою передньою кінцівкою протягом 30 хв.



Р и с. 6. Микрофотографии Fos-иммунореактивных (Fos-ир) и НАДФН-диафоразореактивных (НАДФН-др) нейронов в структурах продолговатого мозга крысы после реализации животным оперантных рефлексов в течение 30 мин. На *А* видна интенсивная *c-fos*-экспрессия в ядре одиночного тракта (*Sol*) и паратригеминальном ядре (*Pa5*) на каудальном уровне четвертого желудочка (*4V*) ипсилатерально рабочей конечности. Участок, выделенный пунктирной линией на *А*, представлен на *Б* с большим увеличением. На *Б* также обозначены центральное подъядро *Sol* (*Ce*), дорсальное моторное ядро блуждающего нерва (*10*) и подъязычное ядро (*12*). На *В* отмечаются большое количество НАДФН-др-клеток (ипсилатерально) в ростровентролатеральном ядре (*RVL*) и латеральном парагигантоцеллюлярном ядре (*LPGi*), которые перемешаны с Fos-ир-нейронами. Черными стрелками обозначены Fos-ир-нейроны, белыми – НАДФН-др-клетки. Масштаб 100 мкм (для всех фрагментов).

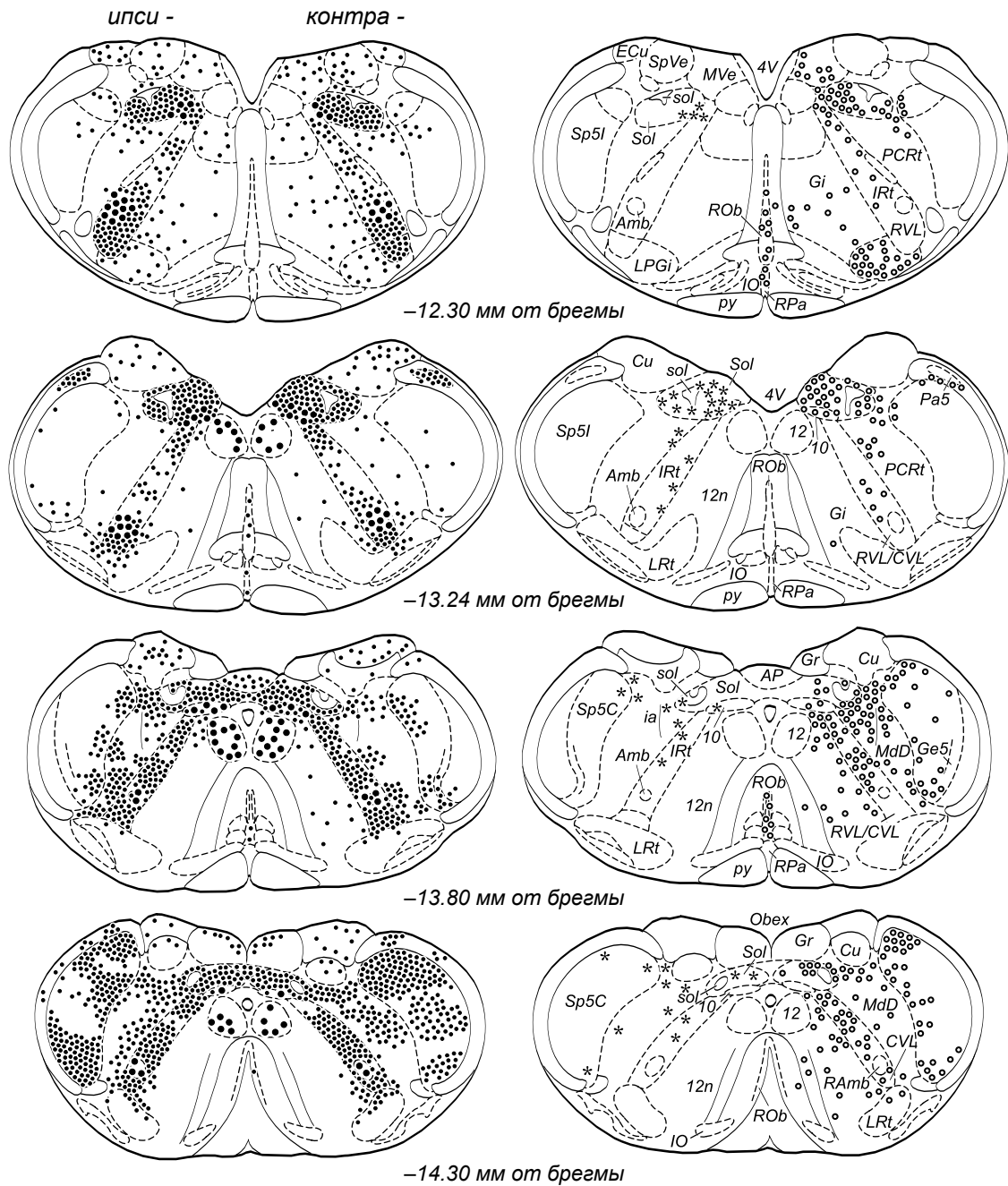
Р и с. 6. Микрофотографії Fos-імунореактивних і НАДФН-діафоразореактивних нейронів у структурах довгастого мозку щура після реалізації твариною оперантних рефлексів протягом 30 хв.

НАДФН-д-реактивность в автономных центрах продолговатого мозга. НАДФН-др-нейроны регистрировались в большом количестве в ретикулярных (*IRt*, *MdD*, *Gi*), дорсомедиальных (*Sol*) и вентролатеральных (*RVL*, *RVL/CVL*, *CVL*, *LPGi*) структурах продолговатого мозга. Единичные НАДФН-др-нейроны обнаруживались также в парасимпатических ядрах (*10*, *Amb/RAmb*) (рис. 7). Интенсивность НАДФН-д-реактивности в подъядрах *Sol* соответствовала следующей последовательности: медиальное (*SolM*) > центральное (*SolCe*) > желатинозное (*SolG*) > вентролатеральное (*SolVL*) > комиссуральное (*SolC*); классификация подъядер приведена по атласу мозга крыс [24]. Сомы меченых нейронов имели в основном эллипсоидальную форму, а их больший диаметр равнялся 10–30 мкм. Только в ядрах *10*, *Amb/RAmb*, ретикулярных ядрах (*Gi*, *MdD*) и в *LPGi* реактивные нейроны имели несколько большие размеры (диаметр около 25–35 мкм) (рис. 5; 6). В ядрах шва *ROb* и *RPa* ло-

кализовались небольшие, диаметром до 15 мкм, НАДФН-др-нейроны (рис. 7). Необходимо отметить, что у крыс, выполняющих оперантные пищевые мотивации, были обнаружены нейроны с двойным окрашиванием (Fos-ир + НАДФН-др) в *Sol*, *IRt* и *MdD*, а также подобные крупные нейроны в *Amb* и дорсальном моторном ядре блуждающего нерва (*10*) (рис. 5, *A*, *B*; 7). Максимальное среднее количество таких нейронов выявлялось в *Sol* (более 100 клеток с двойным мечением на срез на уровне –13.2 мм). В ядре *10* регистрировались только единичные нейроны с двойным окрашиванием.

ОБСУЖДЕНИЕ

Формирование моторных программ в ходе реализации и закрепления оперантных рефлексов сопровождается синтезом белков, кодируемых “ранними” и



Р и с. 7. Схемы срезов продолговатого мозга с распределением меченых нейронов и моторных клеток в различных медуллярных структурах (на уровнях -12.30, -13.24, -13.80 и -14.30 мм каудальнее брегмы) у крыс, выполнявших пищедобывательные движения передней левой конечностью.

Черные мелкие и крупные точки соответствуют Fos-иммунореактивным (Fos-ир) нейронам и Fos-ир-моторным клеткам соответственно (левая колонка), кружочки и звездочки – НАДФН-диафоразореактивным (НАДФН-др) клеткам и нейронам с двойным окрашиванием (Fos-ир + НАДФН-др) соответственно (правая колонка). 12n – корешок подъязычного нерва; Cu – клиновидное ядро; Ge5 – желатинозная субстанция спинального ядра; IO – нижняя олива; LRT – латеральное ретикулярное ядро; py – пирамидный тракт; ROb и RPa – ядра шва (темное и бледное соответственно). Остальные обозначения те же, что и на рис. 4 и 5.

Р и с. 7. Схемы зрізів довгастого мозку з розподілом мічених нейронів і моторних клітин у різних медуллярних структурах (на рівнях -12.30, -13.24, -13.80 і -14.30 мм каудальніше брегми) у щурів, що виконували їждобувні рухи передньою лівою кінцівкою.

“поздними” генами. Экспрессия специфических белков в нейронах изменяет не только фенотип, но и функциональные свойства нейронов на длительный период времени. Известно, что в этих условиях наиболее выраженные пластические изменения обнаруживаются в коре мозга [26]. Было, однако, показано, что после длительной физической тренировки подобные изменения возникают и в центрах АНС, расположенных в продолговатом мозгу, преимущественно в *Sol* и *RVL* – источниках бульбо-спинальных парасимпатических проекций [27, 28].

Выявление экспрессии одного из “ранних” генов – протоонкогена *c-fos* – в нейронах позволяет описать характерные паттерны пространственного распределения клеток с высоким уровнем активации в разных отделах мозга после стимуляции специфических рецепторов [5, 29] или реализации сложных двигательных актов [9, 19]. В настоящей работе мы изучали изменения Fos-иммунореактивности и НАДФН-д-активности в центрах продолговатого мозга, ответственных за регуляцию деятельности сердечно-сосудистой системы; эти изменения были связаны с выполнением крысами повторных оперантных пищедобывательных движений. Полученные данные были сопоставлены с изменениями сердечной деятельности, регистрируемыми в процессе реализации сформированных моторных программ.

Результаты исследований показали, что после длительных (10–12 дней) тренировок, обеспечивающих устойчивое многократное выполнение животными оперантных движений, уровень *c-fos*-экспрессии в большинстве ядер продолговатого мозга был достоверно более высоким по сравнению с контролем, причем как в ипси-, так и в контралатеральных по отношению к рабочей передней конечности структурах продолговатого мозга. Крупные (25–30 мкм в диаметре) Fos-ир-нейроны располагались в дорсальном моторном ядре блуждающего нерва (*I0*) и вентромедиальном двояком ядре (*Amb/Ramb*) (рис. 5). Как известно, в состав указанных ядер входят преганглионарные парасимпатические нейроны, а в двояком ядре расположены также мотонейроны, иннервирующие мышцы глотки и гортани [12]. Кроме того, большое количество Fos-ир-нейронов было обнаружено в таких автономных ядрах продолговатого мозга, как *Sol*, *IRt*, *CVL* и *RVL* (рис. 5; 6; 7). Отметим, что у животных, реализующих оперантные рефлекс, высокий уровень *c-fos*-экспрессии наблюдался непосредственно в промежуточной зоне вентролатеральной части

продолговатого мозга, т. е. в *RVL/CVL*, расположенной между *CVL* и *RVL* (согласно атласу [24]). Необходимо особо упомянуть, что ряд нейроанатомов эту часть вентролатеральной медуллярной зоны рассматривают как ростральную часть *CVL* [9, 30]. Выраженная экспрессия *c-fos* в упомянутых ядрах, связанная с реализацией депрессорного рефлекса Бецоляда – Яриша, была выявлена ранее [31]. При выполнении оперантных пищедобывательных движений и развитии депрессорного кардиоваскулярного рефлекса уровни Fos-иммунореактивности в таких автономных центрах продолговатого мозга крыс, как *CVL* (*CVL+RVL/CVL*) и *RVL*, можно охарактеризовать следующими пропорциями: 2.5:1 в первом случае и 4:1 – во втором, хотя последовательности интенсивностей *c-fos*-экспрессии были одинаковыми: *Sol* > *IRt* > *CVL+RVL/CVL* > *RVL*. Можно предполагать, что нейроны *RVL* – источники нисходящих проекций на преганглионарные симпатические нейроны спинного мозга – в процессе оперантных движений подвергаются менее интенсивному угнетающему действию со стороны *CVL*, чем в случае реализации рефлекса Бецоляда – Яриша.

При развитии комплексных автономных реакций происходит активация высших центров управления автономными функциями (лимбических центров переднего мозга и гипоталамуса) *RVL* и групп катехоламинергических нейронов. Эти структуры образуют прямые проекции к симпатическим преганглионарным нейронам интермедиолатеральных ядер (*IML*) грудных и верхних поясничных сегментов спинного мозга [9, 11]. Результаты недавних исследований [32] подтвердили, что около 79 % ретикуло-спинальных адренергических нейронов группы C1, локализованных в *RVL*, обладают везикулярным глутаматным транспортером, т. е. данные нейроны одновременно являются и глутаматергическими. Норадренергические нейроны групп A5, A6 и A7 также являются возбуждающими и локализованы в стволе мозга [33, 34]. Необходимо отметить, что усиление активности нейронов дорсомедиальных моторных ядер, *Amb/Ramb* и *AP* – главных центров, осуществляющих парасимпатический контроль кардиоваскулярных функций и функций желудка, – может играть важную роль в адаптационных механизмах при развитии у крыс мотивационно-аффективных реакций и/или стрессорных состояний. Ранее нами было установлено, что в ходе реализации крысами оперантных движений достоверно повышенный по сравнению с

контролем уровень Fos-иммунореактивности наблюдается в префронтальной коре, лимбических холинергических ядрах, паравентрикулярном (*Pa*) и латеральном (*LH*) ядрах гипоталамуса [19, 20]. В этих структурах также выявлялись активированные NO-генерирующие нейроны.

Согласно результатам описанных экспериментов, у животных, реализующих оперантные пищеводобывательные рефлексы, отмечается большое количество Fos-ир-нейронов в дорсальной (ипсилатерально) и вентральной (контралатерально) частях *MdD* на уровнях обекса и *AP*. Аfferентные и эfferентные связи *MdD* очень обширны, что было установлено ранее в нейроанатомических исследованиях [35]. Так, самое большое ядро продолговатого мозга – спинальное тригеминальное ядро (в частности, его каудальная часть – *Sp5C*) – имеет двусторонние связи с *MdD* [36]. В наших исследованиях у животных контрольной группы основные локусы Fos-иммунореактивности обнаруживались в *Sp5C*, а также *MdD* и *Irt* (рис. 4, Б). Ретикулярные ядра *MdD* и *Irt*, кроме того, имеют реципрокные связи со многими центрами ствола (*Sol*, *CVL*, *RVL*, *LC* и *SC (locus subcoeruleus)*), с центральным серым (околоводопроводным) веществом (*PAG*), парабрахияльными ядрами и гипоталамусом. Эти ретикулярные ядра вовлечены в антиноцицептивный контроль и модуляцию автономных функций [35]. Было также показано, что восходящие прямые пути от *MdD* идут в медиальные неспецифические ядра таламуса и лимбическую кору, образующую прямые проекции в автономные центры продолговатого мозга (*Sol*, *RVL*, *10*). Такая организация центров обеспечивает анатомический базис активных кортикальных влияний на систему барорецепторных рефлексов и симпатические вазомоторные механизмы в ходе реализации двигательной активности, в частности оперантных рефлексов [11, 37].

Как подчеркивалось в Результатах, у тренированных крыс в течение каждой моторной реализации наблюдалось резкое фазное снижение ЧСС с ее последующим восстановлением. Кроме того, было обнаружено, что начиная с 5-й мин 30-минутной сессии оперантных движений происходило постепенное длительное снижение усредненных значений ЧСС, причем минимальное значение частоты отмечалось на 20-й мин (рис. 2, Б). Можно предположить, что длительное снижение ЧСС в таких условиях связано с тоническим угнетением активности надсегментарных центров регуляции симпатических влияний и/или облегчающими влияниями

на центры регуляции парасимпатического тонуса [38, 39]. Как было недавно установлено, при повышении симпатического тонуса частота импульсации мышечных аfferентов группы Ia снижается [4]. Логично полагать, что снижение уровня симпатических влияний должно приводить к облегчению генерации импульсации проприоцепторами, усилению моносинаптических спинальных рефлексов [4] и повышению эффективности и точности движений, направленных на достижение и захват пищи [40].

Экспрессия c-fos в других структурах продолговатого мозга. Мы обнаружили значительное количество Fos-ир-нейронов в сенсорном паратригеминальном ядре (*Pa5*). Меченые нейроны регистрировались на уровне –13.24 мм каудальнее брегмы как ипси-, так и на контралатерально по отношению к рабочей конечности. Достоверной разницы количеств активированных нейронов в этом ядре продолговатого мозга крысы по сравнению с контролем выявлено не было. Результаты предыдущих исследований показали, что нейроны данной структуры передают влияния от первичных сенсорных аfferентов к ядрам, прямо участвующим в реализации кардиоваскулярных и кардиореспираторных рефлексов (*Amb*, *RVL*, *Sol*) [31, 41]. Необходимо отметить, что в подъязычном моторном ядре были зарегистрированы Fos-ир-мотонейроны, количество которых у животных, реализующих оперантные движения, было заметно выше, чем в контроле (рис. 4, Б; 7).

НАДФН-д-активность в автономных центрах продолговатого мозга. NO, рассматриваемый как «газовый объемный» медиатор, играет важную роль в модуляции уровня симпатического тонуса при статическом мышечном напряжении [15]. Паттерны распределения NOS-содержащих нейронов в структурах продолговатого мозга после развития мышечной усталости были описаны нами ранее [5, 17]. В условиях настоящего эксперимента NOS-содержащие (/НАДФН-д-реактивные) нейроны обнаруживались во многих центрах продолговатого мозга, участвующих в сердечно-сосудистой регуляции (*Sol*, *MdD*, *Irt*, *CVL* и *RVL*). Примечательно, что НАДФН-др нейроны были выявлены также в дорсальном ядре блуждающего нерва (*10*) – одном из мощных источников влияний на парасимпатические преганглионарные нейроны; при этом почти в 50 % таких клеток был экспрессирован c-Fos (рис. 5). Единичные мотонейроны и преганглионарные клетки *Amb/Ramb* так же, как и преганглионары

дорсального моторного ядра (*10*), демонстрировали двойное окрашивание (Fos-ир + НАДФН-др). Наибольшее количество таких нейронов наблюдалось в *Sol*, и это ядро является главной структурой, осуществляющей передачу барорецепторной информации к эфферентным центрам регуляции симпатического тонуса (в том числе к *CVL* и *RVL*).

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о том, что при осуществлении повторных оперантных движений, направленных на достижение определенной цели, функциональные и морфологические изменения происходят не только исключительно в двигательных центрах (включая кору больших полушарий) [19, 42–44], но и в медуллярных центрах, ответственных за автономную регуляцию. Одним из функциональных проявлений интеграции соматосенсорной и барорецепторной информации в мозгу крыс, обученных движениям достижения и захвата пищи, могут быть выявленные в настоящем исследовании изменения экспрессии гена *c-fos* в нейронах упомянутых центров при реализации животными оперантных рефлексов. Наблюдаемые изменения являются результатом модуляции процессов симпатической регуляции сердечного цикла, обеспечиваемых медуллярными структурами. Результаты анализа данных, касающихся Fos-иммунореактивности в автономных центрах регуляции симпатического тонуса, согласуются с наблюдениями развития кратковременных депрессорных рефлексов в ходе каждой последовательной реализации оперантного движения и длительных депрессорных эффектов на протяжении почти всей сессии таких движений. Предполагается, что развитие депрессорных рефлексов (снижение симпатического тонуса, обуславливающее падение ЧСС) может приводить к облегчению генерации проприоцептивной импульсации, усилению моносинаптических спинальных рефлексов, повышению эффективности (а возможно, и точности) движений, направленных на достижение и захват пищи во время реализации животными оперантных рефлексов.

Работа выполнена при поддержке гранта “Молекулярные основы функционирования генома – 2009–2010” НАН Украины.

О. В. Власенко¹, Т. В. Бузыка², В. О. Майський³,
О. І. Пілявський³, А. В. Мазниченко³

АКТИВАЦІЯ НЕЙРОНІВ МЕДУЛЯРНИХ ЦЕНТРІВ АВТОНОМНОЇ НЕРВОВОЇ СИСТЕМИ ЩУРІВ ПРИ РЕАЛІЗАЦІЇ НИМИ МОТИВОВАНИХ ОПЕРАНТНИХ РУХІВ

¹Вінницький національний медичний університет ім. М. І. Пирогова МОЗ України (Україна).

²Одеський національний університет ім. І. І. Мечникова (Україна).

³Інститут фізіології ім. О. О. Богомольця НАН України, Київ (Україна).

Резюме

З використанням відповідних методик виявляли Fos-імунореактивні (Fos-ир) і НАДФН-діафоразореактивні (НАДФН-др) нейрони у медулярних центрах автономної нервової системи (АНС) щурів, які виконували повторні оперантні рухи (захоплення лівою передньою кінцівкою харчової кульки з годівниці) в умовах високої харчової мотивації. Тварин тренували здійснювати оперантні рухи протягом 12 днів (30 хв щоденно). Тривалість виконання одного їжодобувного руху складала близько 600 мс. Реалізація оперантного рефлексу була пов'язана з вираженими мотиваційно-афективними реакціями. Частота серцевих скорочень (ЧСС) під час реалізації кожного оперантного руху різко знижувалася (на 10-й день тренування у середньому на 12 %) з наступним відновленням цього параметра за 3–4 с. У перебігу 30-хвилинних тренувальних сесій виявлялося поступове тривале зниження усереднених значень ЧСС (у середньому по групі ($n = 5$) на 7 %) в інтервалі від 5-ї до 20-ї хв з наступним відновленням до закінчення тренувальних сесій. Середня кількість Fos-ир-нейронів у медулярних ядрах АНС (*Sol*, *Irt*, *CVL*, *RVL*, *Amb*, *10* і *MdD*) щурів, які здійснювали їжодобувні рухи ($n = 4$), була вірогідно більшою ($P < 0.05$) порівняно з контролем, причому інтенсивність *c-fos*-експресії в різних структурах відповідала наступній послідовності: $Sol > Irt > CVL + RVL/CVL > RVL$. Великі Fos-ир-нейрони спостерігались у дорсальному моторному ядрі блукаючого нерва (*10*) та ядрах *Amb/Ramb*. У значній частині нейронів *Sol* і поодиноких клітинах ядер *10* та *Amb* було виявлено подвійне мічення (Fos-ир + НАДФН-др). Таким чином, у перебігу сесій оперантних їжодобувних рухів у тварин розвиваються автономні реакції, які пов'язані з кожною реалізацією; крім того, відбувається зниження симпатичного тонуса, що відображується в падінні ЧСС. Ці вегетативні реакції опосередковуються вищезгаданими медулярними ядрами АНС. Робиться припущення, що відповідне послаблення гальмівних симпатичних впливів на веретенні рецептори м'язів, задіяних у виконання оперантних рухів, може забезпечувати полегшення генеративної проприоцептивної імпульсації, посилення моносинаптичних спинальних рефлексів і, врешті-решт, підвищення ефективності цільових рухів, спрямованих на захоплення їжі.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. A. Ruffini, "On the minute anatomy of the neuromuscular spindles of the cat, and on their physiological significance," *J. Physiol.*, **23**, 190-208 (1898).
2. D. Barker and M. Saito, "Autonomic innervation of receptors and muscle fibres in cat skeletal muscle," *Proc. Roy. Soc. Lond., Ser. B*, **212**, 317-332 (1981).
3. R. Matsuo, A. Ikehara, T. Nokubi, and T. Morimoto, "Inhibitory effect of sympathetic stimulation on activities of masseter muscle spindles and the jaw jerk reflex in rats," *J. Physiol.*, **483**, 239-250 (1995).
4. S. Roatta, U. Windhorst, M. Ljubisavljevic, et al., "Sympathetic modulation of muscle spindle afferent sensitivity to stretch in rabbit jaw closing muscles," *J. Physiol.*, **540**, 237-248 (2002).
5. V. A. Maisky, A. I. Pilyavskii, I. Kalezic, et al., "NADPH-diaphorase activity and *c-fos* expression in medullary neurons after fatiguing stimulation of hindlimb muscles in the rat," *Auton. Neurosci.: Bas. Clin.*, **101**, 1-12 (2002).
6. A. J. M. Verberne, M. Saita, and D. M. Sartor, "Chemical stimulation of vagal afferent neurons and sympathetic vasomotor tone," *Brain Res. – Brain Res. Rev.*, **41**, 288-305 (2003).
7. D. R. Seals and R. G. Victor, "Regulation of muscle sympathetic nerve activity during exercise in humans," *Exerc. Sport Sci. Rev.*, **19**, 313-349 (1991).
8. R. K. W. Chan, E. V. Jarvina, and P. E. Sawchenko, "Effects of selective sinoaortic denervations on phenylephrine-induced activational responses in the nucleus of the solitary tract," *Neuroscience*, **101**, No. 1, 165-178 (2000).
9. R. A. Dampney and J. Horiuchi, "Functional organisation of central cardiovascular pathways: studies using *c-fos* gene expression," *Prog. Neurobiol.*, **71**, 359-384 (2003).
10. L. W. Swanson and H. G. Kuypers, "The paraventricular nucleus of the hypothalamus: cytoarchitectonic subdivisions and organization of projections to the pituitary, dorsal vagal complex, and spinal cord as demonstrated by retrograde fluorescence double-labeling methods," *J. Comp. Neurol.*, **194**, 555-570 (1980).
11. H. Sequeira, O. Viltart, S. Ba-M'Hamed, and P. Poulain, "Cortical control of somato-cardiovascular integration: neuroanatomical studies," *Brain Res. Bull.*, **53**, 87-93 (2000).
12. M. Kalia and M. Mesulam, "Brain stem projections of sensory and motor components of the vagus complex in the cat: II. Laryngeal, tracheobronchial, pulmonary, cardiac, and gastrointestinal branches," *J. Comp. Neurol.*, **193**, 435-508 (1980).
13. A. Zagon and A. D. Smith, "Monosynaptic projections from the rostral ventrolateral medulla oblongata to identified sympathetic preganglionic neurons," *Neuroscience*, **265**, G149-G155 (1993).
14. A. D. Loewy, "Rape pallidus and raphe obscurus projections to the intermedialateral cell column in the rat," *Brain Res.*, **222**, 129-133 (1981).
15. J. Zanzinger, J. Czachurski, and H. Seller, "Inhibition of basal and reflex-mediated sympathetic activity in the RVLM by nitric oxide," *Am. J. Physiol.*, **268**, R958-R962 (1995).
16. J. Zanzinger, "Role of nitric oxide in the neural control of cardiovascular function," *Cardiovasc. Res.*, **43**, 639-649 (1999).
17. V. A. Maisky, V. V. Datsenko, A. A. Moibenko, et al., "NO-generating neurons in the medullary cardiovascular centers of rodents and carnivores," *Comp. Biochem. Physiol., Ser. A*, **136**, 605-612 (2003).
18. T. L. Krukoff, "Central actions of nitric oxide in regulation of autonomic functions," *Brain Res. – Brain Res. Rev.*, **30**, 52-65 (1999).
19. О. В. Власенко, А. И. Пилявский, В. А. Майский, А. В. Мазниченко, "Fos-иммунореактивность и НАДФН-д-реактивность в коре больших полушарий крыс, реализующих мотивированные стереотипные движения передней конечностью", *Нейрофизиология / Neurophysiology*, **40**, № 4, 351-361 (2008).
20. О. В. Довгань, О. В. Власенко, В. О. Майський та ін., "Топографія Fos-імунореактивних та НАДФН-д-реактивних нейронів у лімбічних структурах основи переднього мозку та гіпоталамусі при реалізації мотивованих стереотипних рухів у щурів", *Нейрофизиология / Neurophysiology*, **41**, № 1, 32-40 (2009).
21. Деклараційний патент України № 15851, МПК А61В 5/04, Пристрій для телеметричної передачі імпульсної активності нейронів, В. М. Мороз, В. В. Чечель, О. В. Власенко та ін., опубл. 17.07.06, Бюл. № 7.
22. О. В. Власенко, І. Л. Рокунець, В. В. Чечель, "Телеметрична восьмиканальна система передачі фізіологічних параметрів лабораторних тварин", *Актуал. пробл. сучас. медицини*, **10**, № 1, 9-14 (2010).
23. 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).
24. G. Paxinos and C. Watson, *The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates*, Acad. Press, San Diego (1997).
25. S. R. Vincent and H. Kimura, "Histochemical mapping of nitric oxide synthase in the rat brain," *Neuroscience*, **46**, 755-784 (1992).
26. J. N. Sanes and J. P. Donoghue, "Plasticity and primary motor cortex," *Annu. Rev. Neurosci.*, **23**, 393-415 (2000).
27. A. J. Nelson, J. M. Juraska, T. I. Musch, and G. A. Iwamoto, "Neuroplastic adaptations to exercise: neuronal remodeling in cardiorespiratory and locomotor areas," *J. Appl. Physiol.*, **99**, 2312-2322 (2005).
28. P. J. Mueller, "Exercise training attenuates increases in lumbar sympathetic nerve activity produced by stimulation of the rostral ventrolateral medulla," *J. Appl. Physiol.*, **102**, 803-813 (2007).
29. A. I. Pilyavskii, V. A. Maisky, I. Kalezic, et al., "*c-fos* Expression and NADPH-d reactivity in spinal neurons after fatiguing stimulation of hindlimb muscles in the rat," *Brain Res.*, **923**, 91-102 (2001).
30. S. L. Cravo, S. F. Morrison, and D. J. Reis, "Differentiation of two cardiovascular regions within caudal ventrolateral medulla," *Am. J. Physiol.*, **261**, R985-R994 (1991).
31. В. О. Майський, О. І. Пілявський, А. В. Мазниченко та ін., "Центральні нейронні ланцюги рефлексу Бецольда – Яріша у щурів", *Фізіол. журн.*, **51**, № 2, 24-38 (2005).
32. R. L. Stornetta, C. P. Seigny, A. M. Schreihofer, et al., "Vesicular glutamate transporter DNPI/VGLUT2 is expressed by both C1 adrenergic and nonaminergic presympathetic vasomotor neurons of the rat medulla," *J. Comp. Neurol.*, **444**, 207-220 (2002).
33. H. G. Kuypers and V. A. Maisky, "Funicular trajectories of descending brain stem pathways in cat," *Brain Res.*, **136**, 159-165 (1977).

34. V. A. Maisky and N. Z. Doroshenko, "Catecholamine projections to the spinal cord in the rat and their relationship to central cardiovascular neurons," *J. Auton. Nerv. Syst.*, **34**, 119-128 (1991).
35. D. Lima and A. Almeida, "The medullary dorsal reticular nucleus as a pronociceptive centre of the pain control system," *Prog. Neurobiol.*, **66**, 81-108 (2002).
36. M. J. Esser, S. P. Pronych, and G. V. Allen, "Trigeminal-reticular connections: possible pathways for nociception-induced cardiovascular reflex responses in the rat," *J. Comp. Neurol.*, **391**, 526-544 (1998).
37. L. Villanueva, C. Desbois, D. Le Bars, and J. F. Bernard, "Organization of diencephalic projections from the medullary subnucleus reticularis dorsalis and the adjacent cuneate nucleus: a retrograde and anterograde tracer study in the rat," *J. Comp. Neurol.*, **390**, 133-160 (1998).
38. P. F. McCulloch and W. M. Panneton, "Activation of brainstem catecholaminergic neurons during voluntary diving in rats," *Brain Res.*, **984**, 42-53 (2003).
39. Y. Y. Zhang, G. H. Cao, W. X. Zhu, et al., "Comparative study of c-Fos expression in rat dorsal vagal complex and nucleus ambiguus induced by different durations of restraint water-immersion stress," *Chin. J. Physiol.*, **52**, 143-150 (2009).
40. О. В. Власенко, О. В. Довгань, В. О. Майський та ін., "Ламінарний розподіл активних нейронів у спинному мозку при реалізації харчодобувних стереотипних рухів у шурів", *Фізіол. журн.*, **56**, № 4, 86-95 (2010).
41. H. de Sousa Buck, C. A. Caous, and C. J. Lindsey, "Projections of the paratrigeminal nucleus to the ambiguus, rostroventrolateral and lateral reticular nuclei, and the solitary tract," *Auton. Neurosci.*, **87**, 187-200 (2001).
42. D. P. McCloskey, D. S. Adamo, and B. J. Anderson, "Exercise increases metabolic capacity in the motor cortex and striatum, but not in the hippocampus," *Brain Res.*, **891**, 168-175 (2001).
43. J. A. Kleim, N. R. Cooper, and P. M. VandenBerg, "Exercise induces angiogenesis but does not alter movement representations within rat motor cortex," *Brain Res.*, **934**, 1-6 (2002).
44. D. L. Adkins, J. Boychuk, M. S. Remple, and J. A. Kleim, "Motor training induces experience-specific patterns of plasticity across motor cortex and spinal cord," *J. Appl. Physiol.*, **101**, 1776-1782 (2006).