

Вплив продукції NO на fos-імунореактивність у катехоламінергічних нейронах стовбура мозку щурів при реалізації мотивованих оперантних рухів

О.П. Маньківська¹, О.В. Власенко², В.О. Майський¹, А.В. Мазниченко¹

¹Інститут фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України, Київ;²Вінницький національний медичний університет ім. М.І. Пирогова МОЗ України; e-mail: etankovskaya@biph.kiev.ua

Досліджувалися зміни рівня Fos-імунореактивності у зонах локалізації катехоламінергічних (КА) нейронних груп стовбура мозку щурів при реалізації оперантних їждобувних рухів за умов нормального функціонування системи нейрональної синтази оксиду азоту (nNOS) та її пригнічення селективним блокатором 7-нітроіндазолом (7-NI). Слід відмітити посилення c-Fos-експресії переважно у КА-нейронах груп А1 довгастого мозку, А5 і А6 варолієвого моста та А7 середнього мозку. У клітинних групах А5, А6 та А7 була зареєстрована найбільша кількість Fos-імунореактивних (Fos-ir) нейронів порівняно з контрольними значеннями з домінуванням Fos-імунореактивності на контралатеральному боці мозку. Припускається, що активація КА-нейронів стовбура мозку за умов реалізації моторної програми може бути пов'язана з посиленням гальмівних симпатoadреналових впливів на м'язові веретена та пропріоцептори та змінами периферичного судинного тонуусу. Це свідчить про пряме включення вегетативних механізмів у модуляцію моторики під час реалізації твариною оперантних рухів. Попереднє введення селективного блокатора nNOS 7-NI призводило до подальшого росту Fos-імунореактивності у нейронах вищезазначених КА-груп. Найбільша кількість Fos-ір-клітин була зареєстрована у групі А5 з вираженим контралатеральним домінуванням. Така тенденція була характерною і для нейронних груп А6 та А7. Отже, за допомогою імуногістохімічного дослідження експресії ядерного білка c-Fos показано, що модуляція продукції NO може впливати на активність нейронних мереж стовбура мозку та спинного мозку, задіяних у регуляції рухових актів. Ключові слова: оперантний рефлекс; c-Fos-експресія; катехоламінергічні нейрони; 7-нітроіндазол.

ВСТУП

Автономна нервова система впливає на процеси утворення і реалізації рухових актів через зміну характеристик пропріоцепції та динаміки м'язових скорочень, що може зменшувати стомлення м'язів та запобігати порушенню рухової координації [1, 2]. Формування моторних програм під час напрацювання і виконання оперантних рефлексів супроводжується синтезом специфічних білків у головному і спинному мозку, який кодується «ранніми» генами, в першу чергу c-fos. Експресія білка c-Fos у ядрах нейронів змінює функціональний стан (активація) самих нейронів та навколишньої глії на певний проміжок часу, що відіграє

важливу нейрорегуляторну роль у нейронних системах, задіяних у соматосенсорну, моторну та автономну функції мозку [3]. Зокрема, до них належить низхідна гіпоталамоспінальна нейронна система, а також катехоламінергічні (КА) нейронні угруповання середнього мозку (А7), варолієвого моста (А5 і А6) та довгастого мозку (А1–А4), які і утворюють прямі проєкції до спинного мозку [4, 5]. Слід зазначити, що низхідні супраспінальні КА-нейронні системи мозку тварин модулюють активність симпатичних прегангліонарних нейронів спинного мозку [4, 6]. Крім того, клітинні групи А5 та А6 активно задіяні у контролі артеріального тиску, особливо при реалізації тваринами мотивованих

© О.П. Маньківська, О.В. Власенко, В.О. Майський, А.В. Мазниченко

рухових команд [7]. При цьому виникає цілий комплекс автономних рефлексів, які включаються у регуляцію серцевого ритму та артеріального тиску [8, 9]. У наших попередніх дослідженнях за допомогою імуногістохімічної методики ідентифікації ядерного білка c-Fos були виявлені характерні патерни активації нейронів у лімбічній, моторній корі, гіпоталамусі та медулярних центрах автономної нервової системи у щурів, які реалізували оперантні їждобувні рухи передньою кінцівкою [10–12]. Припускається, що під час рухової активності активуються КА-нейрони стовбура мозку, оскільки вони утворюють прямі проєкції до симпатичних ядер спинного мозку [13, 14], які, у свою чергу, задіяні в реалізації рухової програми.

Нітратна система забезпечує синтез оксиду азоту (NO), вона відіграє важливу регуляторну роль у головному та спинному мозку [15]. У стовбурі мозку розташовані численні нейрони, які містять нейрональну синтазу оксиду азоту (nNOS), вони активно задіяні у регуляції симпатичних і парасимпатичних низхідних впливів на вегетативні центри спинного мозку [16]. Показано, що функціональне відключення NOS-утримуючих нейронів призводить до розгальмування в кіркових та спінальних нейронних мережах [17, 18]. Модуляція продукції NO за допомогою селективних блокаторів nNOS може певним чином впливати на активність нейронних мереж, які беруть участь у регуляції рухових актів.

Метою нашої роботи було виявлення змін рівня Fos-імунореактивності (Fos-ir) у зонах локалізації КА-нейронних груп стовбура мозку щурів в умовах нормального функціонування системи nNOS та пригнічення синтезу NO під дією селективного блокатора 7-нітроіндазолу (7-NI) при реалізації оперантних їждобувних рухів.

МЕТОДИКА

Експериментальні групи. В експериментах було використано чотири групи щурів-самців

лінії Вістар масою 250–300 г (по 4 тварини в групі). До 1-ї групи (контрольної) ввійшли інтактні тварини з вільним доступом до води та їжі; до 2-ї – інтактні щури, яким за 60 хв до перфузії вводили 30 мг/кг 7-NI («Sigma», США, внутрішньоочеревинно), до 3-ї і 4-ї – щури, мотивовані 24-годинним голодуванням, котрі у послідовних сесіях (12 тренувальних сесій по 30 хв) виробляли стійкі стереотипні рухи передньою кінцівкою для захоплення харчових кульок з годівниці (150–300 кульок за одну сесію, 5–10 за 1 хв). Тваринам 4-ї групи за 30 хв до початку останнього тренувального сеансу вводили 30 мг/кг 7-NI. Усі експериментальні процедури проводили згідно з Європейською Директивою Ради Громад від 24 листопада 1986 р (86/609/ЕЕС), а також у повній відповідності до Закону України від 21.02.2006, № 3447-IV «Про захист тварин від жорстокого поводження».

Перфузія. Тварин 1-ї і 2-ї груп та дослідних щурів 3-ї і 4-ї груп (через 2 год після закінчення останньої тренувальної сесії) під глибоким наркозом (пентобарбітал натрію, 90 мг/кг, «Sigma», США, внутрішньоочеревинно) перфузували інтракардіально через висхідну аорту спочатку сольовим фосфатним буфером (рН 7,3), який містив 0,2 % нітриту натрію та 2500 од/л гепарину. Далі перфузію продовжували 4 %-м параформальдегідом, розчиненим у 0,1 моль/л фосфатному буфері (рН 7,3). Головний мозок кожної тварини виділяли і додатково фіксували, а потім для кріопротекції витримували у 30 %-му розчині сахарози протягом 48 год. На заморожуючому мікромомі були зроблені фронтальні зрізи мозку товщиною 40 мкм для подальшого імуногістохімічного та гістохімічного забарвлення.

Fos-імуногістохімія. Виявлення Fos-ir-нейронів у зрізах довгастого, середнього мозку та мосту щурів проводили за допомогою стандартної авідін-біотин-пероксидазної методики з використанням поліклональних кролячих антитіл, спрямованих проти ядер-

ного білка c-Fos («Oncogene Research», АВ-5, США) і комерційного набору (АВС «Vector», РК 4001, США) [19]. Позитивно мічені Fos-ір-нейрони у різних структурах стовбура мозку ідентифікували у фронтальних зрізах мозку за темно-коричневим забарвленням ядер. Мічені нейрони у зрізах мозку підраховували за допомогою оптичного мікроскопа при збільшеннях у 100 та 250 разів, а їх локалізацію визначали за атласом [20].

Статистика. Середні кількості мічених клітин \pm стандартна похибка середнього на зріз підраховували у різних структурах на іпси- та контралатеральному боках стовбура мозку щодо робочої кінцівки на рівнях від $-8,80$ до $-14,80$ мм від брегми (за атласом [20]). Для цього використовували 6–8 зрізів на досліджуваних рівнях стовбура мозку кожної тварини у всіх групах. Значення середніх кількостей мічених клітин у структурах мозку на гістологічних зрізах порівнювали за допомогою двопараметричного статистичного дисперсійного аналізу варіацій (ANOVA). Якщо міжгрупові відмінності були знайдені,

застосовували апостеріорний критерій Ньюмена-Кеулса. Міжгрупові різниці та відмінності між значеннями вважали статистично вірогідними при $P < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

У стовбурі мозку контрольних щурів у місця локалізації КА-нейронів довгастого мозку (групи А1, А2 і А3), мосту (групи А4, А5 і А6) та середнього мозку (група А7) була виявлена невелика кількість Fos-ір-нейронів (від 1 до 7 од. на зріз; див. рис. 1). Найбільша кількість мічених нейронів була зареєстрована у місці локалізації КА-нейронів А5 і становила $6,85 \pm 1,85$ од. на зріз, унілатерально. У інтактних щурів 2-ї групи, котрим попередньо вводили блокатор 7-NI, середня кількість мічених клітин у всіх досліджуваних КА-нейронних групах достовірно не відрізнялася від контрольних значень.

У зрізах мозку тварин, які реалізовували оперантні рухи (3-тя група), спостерігався високий рівень експресії c-Fos білатерально

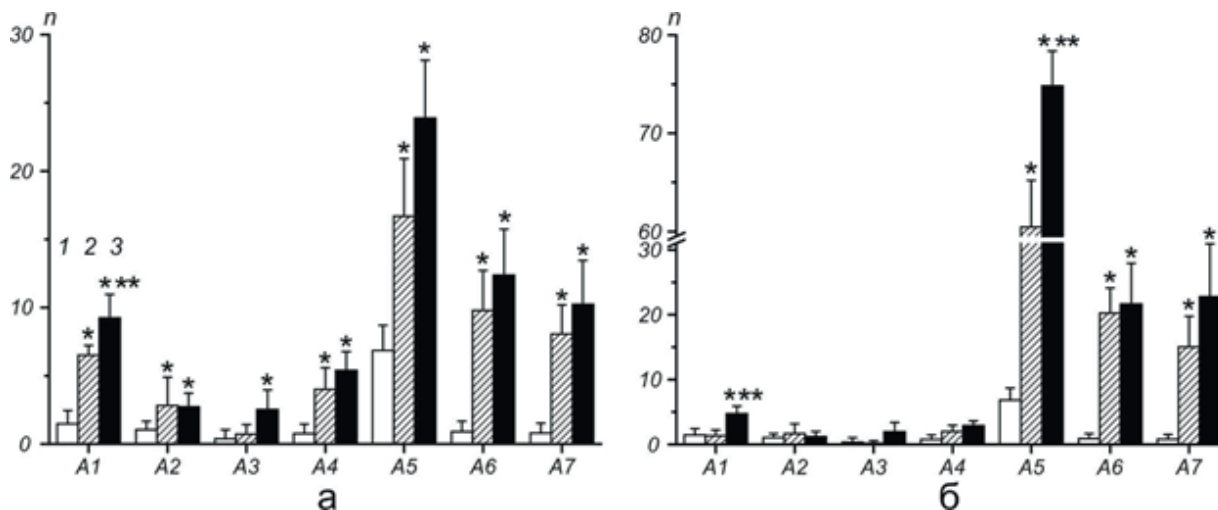


Рис. 1. Діаграма розподілу Fos-імунореактивних нейронів у катехоламінергічних нейронних групах А1 – А7 стовбура мозку щурів контрольної групи унілатерально (1), після реалізації оперантних їждобувних рухів (2), а також щурів з попередньою ін'єкцією 7-нітроіндазолу (3) на іпси- (а) та контралатеральному (б) боках мозку. * $P < 0,05$ – випадки вірогідної різниці кількості мічених нейронів у 3-й або 4-й дослідних групах порівняно з контролем; ** $P < 0,05$ – порівняно між групами 3 та 4

у зонах локалізації КА-груп А5, А6 та А7 на фронтальних рівнях стовбура мозку від $-8,80$ до $-10,04$ мм від брегми з домінуванням на контралатеральному боці мозку (див. рис. 1). Так, у клітинній групі А5 середня кількість Fos-ір-нейронів становила $16,69 \pm 4,22$ та $60,45 \pm 4,75$ од. на зріз на іпси- та контралатеральному боках мозку відповідно. У групі А6, що знаходиться у блакитній плямі (locus coeruleus, LC), реактивні нейрони виявлялись у середній і каудальній частинах ядра. Середня кількість Fos-ір-нейронів у LC була вірогідно більшою у тварин, які реалізовували оперантні рухи ($9,77 \pm 2,94$ та $20,24 \pm 3,87$ од. на іпси- та контралатеральному боках відповідно) порівняно з контролем ($0,90 \pm 0,77$ од., унілатерально). У групі А7 найбільшу кількість мічених нейронів реєстрували на фронтальному рівні $-8,80$ мм і їх кількість була $8,05 \pm 2,14$ та $15,04 \pm 4,69$ од. на зріз на іпси- та контралатеральному боках середнього мозку відповідно. Слід відзначити, що у зонах локалізації КА-груп А1, А2 та А4 рівень експресії c-Fos був вищим на іпсилатеральному боці мозку відносно робочої кінцівки, де кількість реактивних нейронів була вірогідно більшою, ніж у контролі ($6,50 \pm 0,72$ щодо $1,48 \pm 0,98$ од. на зріз для групи А1; див. рис. 1).

Введення блокатора nNOS 7-NI щурам (4-та група), які виконували оперантні рухи, призводило до білатерального зростання рівня експресії c-Fos у межах локалізації усіх досліджуваних КА-груп нейронів (окрім А2) порівняно зі значеннями у тварин інших груп (див. рис. 1). Найбільша середня кількість Fos-ір-нейронів за цих умов була зареєстрована в А5 з виразним контралатеральним домінуванням Fos-імунореактивності ($23,87 \pm 4,25$ та $74,81 \pm 6,99$ од. на зріз на іпси- та контралатеральному боках мозку відповідно). Така тенденція була характерною і для клітинних груп А6 та А7. Для групи А1, навпаки, кількість мічених клітин була більшою на іпсилатеральному боці мозку щодо робочої кінцівки ($9,24 \pm$

$1,73$ та $4,71 \pm 1,23$ од. на зріз на іпси- та контралатеральному боках відповідно). На рис. 2 представлено мікрофотографії Fos-ір-нейронів у КА-клітинних групах А1, А5, А6 та А7 у фронтальних зрізах мозку щурів 3-ї та 4-ї груп.

У нашому дослідженні показано, що реалізація тваринами оперантних їждобувних рухів призводила до білатерального посилення c-Fos експресії в нейронах КА-груп А1, А5, А6 та А7. Відомо, що вказані угруповання включають у себе головним чином норадренергічні нейрони [21]. Дія різних умовних та безумовних стимулів, в тому числі стресорних, призводить до активації нейронів саме груп А5, А6, А7 та А1 [22]. Крім того, групи А5 та А6 беруть активну участь у контролі артеріального тиску [7, 8]. Раніше було показано, що за умов реалізації оперантних рухів у тварин реєструються зміни судинного тонусу та частоти серцевих скорочень [10, 11]. Також відомо, що нейрони А1, А5 та А6 КА-груп посилають гальмівні норадренергічні проекції до грудних і поперекових інтермедіолатеральних симпатичних ядер спинного мозку [5, 13, 14]. Таким чином, активація КА-нейронів стовбура мозку в умовах реалізації моторної програми може бути пов'язана з посиленням гальмівних симпатoadреналових впливів на м'язові веретена та пропріоцептори та змінами периферичного судинного тонусу. Це свідчить про пряме включення вегетативних механізмів у модуляцію моторики під час реалізації твариною оперантних рухів. Попереднє введення селективного блокатора синтази оксиду азоту 7-NI щурам, які реалізували оперантні рухи, призводило до збільшення рівня Fos-імунореактивності в нейронах вищезгаданих КА-груп. У стовбурі мозку широко розповсюджені NOS-утримуючі нейрони, які продукують сигнал NO [16]. До них належать нейрони-джерела серотонін-ергічних, норадреналін-ергічних та ГАМК-ергічних спінальних проекцій [5]. Оксид азоту, в свою чергу, потенціює ГАМК-ергічні

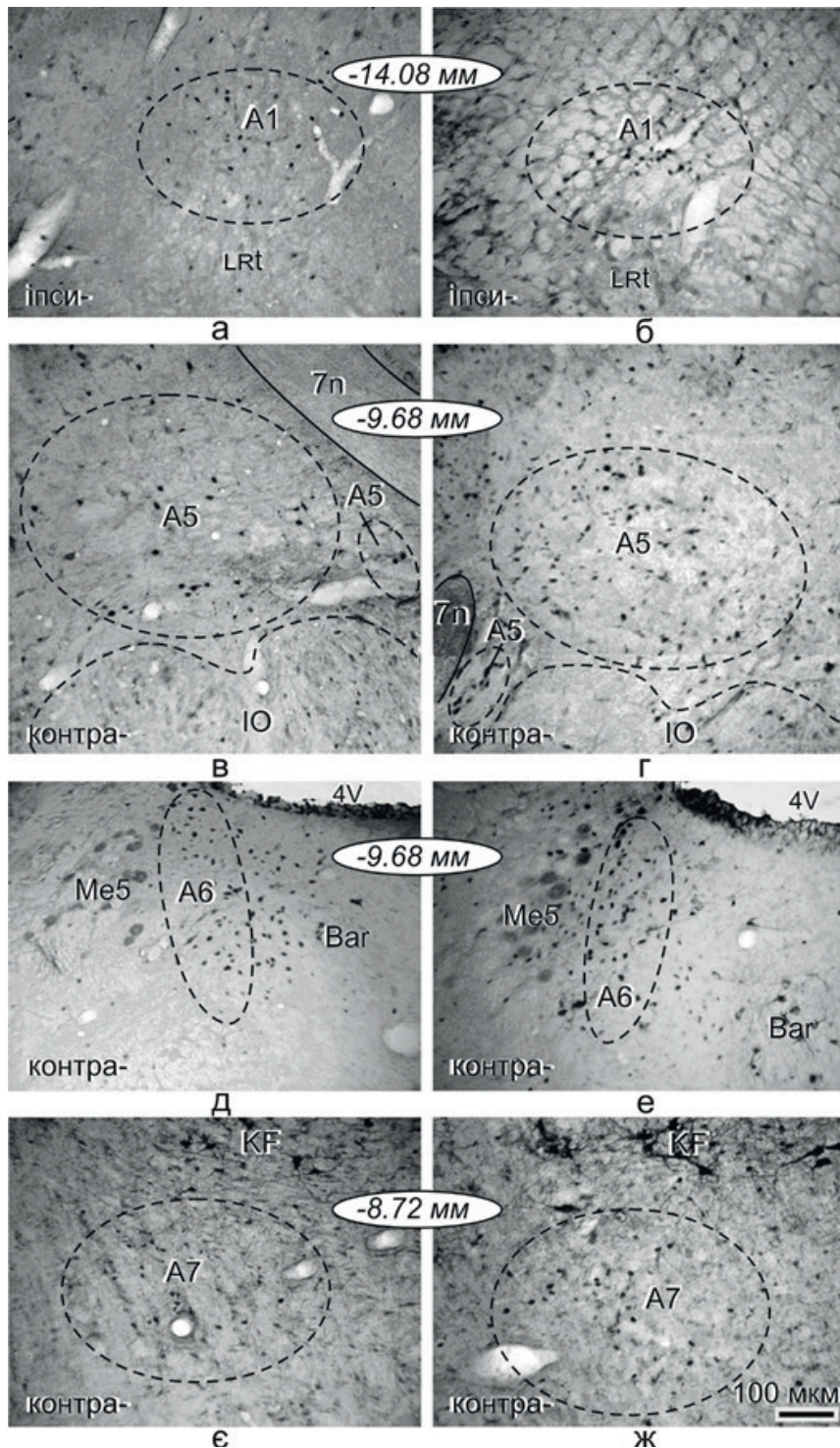


Рис. 2. Мікрофотографії Fos-імунореактивних нейронів у катехоламінергічних нейронних групах A1, A5, A6 та A7 у фронтальних зрізах стовбура мозку щурів за умов реалізації оперантних їждобувних рухів (а, в, д, є) та тварин з попередньою ін'єкцією 7-нітроіндазолу (б, г, е, ж) на різних фронтальних рівнях мозку. Bar – ядро Баррінгтона, IO – нижня олива, KF – ядро Кьоллікера-Ф'юза, LRt – латеральне ретикулярне ядро, Me5 – мезенцефальне ядро трійчастого нерва, 7n – лицьовий нерв, 4V – четвертий шлуночок; масштабна лінія 100 мкм відповідає всім фрагментам

входи на спінальні проєкційні нейрони [23]. Отже, за допомогою імуногістохімічного дослідження експресії ядерного білка c-Fos показано, що модуляція продукції NO при введенні блокатора системи nNOS 7-NI може впливати на активність збуджуючих та гальмівних нейронних мереж стовбура мозку та спинного мозку, прямо задіяних у регуляції рухових актів.

ВИСНОВКИ

За допомогою дослідження рівня експресії ядерного білка c-Fos показано, що під час реалізації тваринами оперантних рухів відбувається активація нейронів у зонах розташування КА-груп A1, A5, A6 та A7 з виразною латералізацією Fos-імунореактивності. Попереднє введення селективного блокатора синтази оксиду азоту 7-NI призводило до достовірного зростання кількості Fos-ір-нейронів у вищезазначених клітинних групах. Припускається, що зростання Fos-імунореактивності у КА-нейронах стовбура мозку відображає активацію цих клітин, що призводить до посиленням гальмівних симпатoadреналових впливів на рухові одиниці та змінами периферичного судинного тону. Модуляція продукції NO за допомогою блокатора nNOS-синтази може впливати на активність збуджуючих та гальмівних нейронних мереж стовбура мозку та спинного мозку, прямо задіяних у регуляцію рухових актів.

Робота виконана при підтримці гранту «Молекулярно-генетичні і біохімічні механізми регуляції клітинних та системних взаємодій за фізіологічних та патологічних станів - 2017-2021» НАН України 0116U004470.

The authors of this study confirm that the research and publication of the results were not associated with any conflicts regarding commercial or financial relations, relations with organizations and/or individuals who may have been related to the study, and interrelations of coauthors of the article.

**O.P. Mankivska, O.V. Vlasenko,
A.V. Maznychenko, V.O. Maisky**

EFFECT OF PRODUCTION NO FOS-IMMUNOREACTIVITY IN THE BRAINSTEM CATECHOLAMINERGIC NEURONS OF RATS REALIZED MOTIVATED OPERANT MOVEMENTS

The aim of the study was to reveal the changes of Fos-immunoreactivity in zones of localization of catecholaminergic (CA) groups of brainstem cells in rats realized food-procuring movements in the cases of normal functioning and during inhibition of neuronal nitric oxide synthase (nNOS) system using a selective blocker 7-Nitroindazole (7-NI). A marked increase of c-Fos expression was registered mostly in the neurons of A1, A5, A6, and A7 groups during the performance of operant movements. In the A5, A6 and A7 CA groups, we observed a maximum number of Fos-ir neurons, as compared with the control values, with contralateral predominance of Fos-immunoreactivity. It is supposed that the activation of the brainstem CA neurons during realization of motor program may be associated with an increase of inhibitory sympathoadrenal influences on muscle spindles and proprioceptors and the changes of the peripheral vascular tone. This shows the direct influence of the autonomic nervous system in modulation of motor acts during realization of operant movements in animals. The preliminary injection of a selective blocker of nNOS 7-NI to the rats, that realized food-procuring movements, resulted in the further increase of Fos-immunoreactivity in the neurons of the above-mentioned CA groups. The highest number of Fos-ir-cells was registered in A5 with marked contralateral predominance of Fos-immunoreactivity. A similar trend in the A6 and A7 cell groups was observed. Thus, it has been revealed that the modulation of the level of nitric oxide production can affect on the activity of neuronal networks of the brainstem and spinal cord, which directly involved in the regulation of motor acts.

Key words: operant reflex; c-Fos expression; catecholaminergic neurons; 7-Nitroindazole.

*Bogomoletz Institute of Physiology, NAS of Ukraine, Kyiv;
Pirogov National Medical University, MPH of Ukraine,
Vinnitsa*

**Е.П. Маньковская, О.В. Власенко,
А.В. Мазниченко, В.А. Майский**

ВЛИЯНИЕ ПРОДУКЦИИ NO НА FOS-ИММУНОРЕАКТИВНОСТЬ В КАТЕХОЛАМИНЕРГИЧЕСКИХ НЕЙРОНАХ СТВОЛА МОЗГА КРЫС ПРИ РЕАЛИЗАЦИИ МОТИВИРОВАННЫХ ОПЕРАНТНЫХ ДВИЖЕНИЙ

Исследовались изменения уровней Fos-иммунореактивности в зонах локализации катехоламинергических

(КА) нейронных групп ствола мозга крыс, реализующих оперантные пищедобывательные движения в условиях нормального функционирования системы нейрональной синтазы оксида азота (nNOS) и ее подавления селективным блокатором 7-нитроиндазолом (7-NI). Необходимо отметить усиление c-Fos экспрессии преимущественно в КА-нейронах А1 группы продолговатого мозга, А5 и А6 варолиевого моста, А7 среднего мозга. В группах А5, А6 и А7 было зарегистрировано наибольшее количество Fos-иммунореактивных (Fos-ir) нейронов относительно контрольных значений с доминированием Fos-иммунореактивности на контралатеральной стороне мозга относительно рабочей конечности. Предполагается, что активация КА нейронов ствола мозга в условиях реализации моторной программы может быть связана с усилением тормозных симптоадреналовых влияний на мышечные веретена и проприоцепторы, а также изменениями периферического тонуса сосудов. Это свидетельствует о прямом включении вегетативных механизмов в модуляцию моторики во время реализации животным оперантных движений. Предварительное введение селективного блокатора nNOS 7-NI приводило к дальнейшему росту Fos-иммунореактивности в нейронах вышеупомянутых КА-групп. Наибольшее количество Fos-ir-клеток было зарегистрировано в группе А5 с выраженным контралатеральным доминированием. Такая тенденция была характерна и для нейронных групп А6 и А7. С помощью иммуногистохимического исследования экспрессии ядерного белка c-Fos показано, что модуляция уровня продукции NO может влиять на активность нейронных сетей ствола мозга и спинного мозга, задействованных в регуляции двигательных актов. Ключевые слова: оперантный рефлекс; c-Fos-экспрессия; катехоламинергические нейроны; 7-нитроиндазол.

REFERENCES

- Hellström F, Roatta S, Thunberg J, Passatore M, Djupsjöbacka M. Responses of muscle spindles in feline dorsal neck muscles to electrical stimulation of the cervical sympathetic nerve. *Exp Brain Res.* 2005;165:328-42.
- Radovanovic D, Peikert K, Lindström M, Domellöf FP. Sympathetic innervation of human muscle spindles. *J Anat.* 2015;226:542-8.
- Sheng M, Greenberg ME. The regulation and function of c-fos and other immediate early genes in the nervous system. *Neuron.* 1990;4:477-85.
- Ungerstedt U. Stereotaxic mapping of the monoamine pathways in the rat brain. *Acta Physiol Scand Suppl.* 1971;367:1-48.
- Maisky VA, Doroshenko NZ. Catecholamine projections to the spinal cord in the rat and their relationship to central cardiovascular neurons. *J Auton Nerv Syst.* 1991;34:119-28.
- Ross CA, Armstrong DM, Ruggiero DR, Pickel VM, Joh

- TH, Reis DJ. Adrenaline neurons in the rostral ventrolateral medulla innervate thoracic spinal cord: a combined immunocytochemical and retrograde transport demonstration. *Neurosci Lett.* 1981;25:257-62.
- Dampney RAL. Functional organization of central pathways regulating cardiovascular system. *Physiol Rev.* 1994;74:323-64.
- McCulloch PF, Panneton WM. Activation of brainstem catecholaminergic neurons during voluntary diving in rats. *Brain Res.* 2003;984:42-53.
- Nauli SM, Pearce WJ, Amer A, Maher TJ, Ally A. Effects of nitric oxide and GABA interaction within ventrolateral medulla on cardiovascular responses during static muscle contraction. *Brain Res.* 2001;922(2):234-42.
- Dovgan' OV, Vlasenko OV, Rokunets IL, Buzyka TV, Maisky VO, Pilyavskii OI, Maznychenko AV. Food-procuring stereotype movements is accompanied by changes of c-fos gene expression in the amygdala and modulation of heart rate in rats. *Intern. J Physiol Pathophysiol.* 2013;4(2):1-15.
- Vlasenko OV, Buzyka TV, Maiskii VA, Pilyavskii AI, Maznychenko AV. Activation of Neurons of the Medullary Centers of the Autonomic Nervous System Related to Motivated Operant Movements Realized by Rats. *Neurophysiology.* 2011;42(5):325-37.
- Vlasenko OV, Man'kovskaya YeP, Maznychenko AV, Piliavskii AI, Maiskii VA. Fos immunoreactivity in the motor cortex of rats realizing operant movements: changes after systemic introduction of a NOS blocker. *Neurophysiology.* 2013;45(1):79-83.
- Loewy AD, McKellar S, Saper CB. Direct projections from the A5 catecholamine cell group to the intermediolateral cell column. *Brain Res.* 1979;174:309-14.
- Zagon A, Sanith AD. Monosynaptic projections from the rostral ventrolateral medulla oblongata to identified sympathetic preganglionic neurons. *Neuroscience.* 1993;265:149-55.
- Nazu M, Thippeswamy T. Nitric oxide signalling system in rat brain stem: immunocytochemical studies. *Anat Histol Embryol.* 2002;31(4):252-6.
- Krukoff TL. Central action of nitric oxide in regulation of autonomic function. *Brain Res Rev.* 1999;30:52-65.
- Shlosberg D, Buskila Y, Abu-Ghanem Y, Amitai Y. Spatiotemporal alterations of cortical network activity by selective loss of NOS-expressing interneurons. *Front Neural Circ.* 2012;6(3):1-11.
- Man'kovskaya YeP, Maisky VA, Vlasenko OV, Maznychenko AV. 7-Nitroindazole enhances c-Fos expression in spinal neurons in rats realizing operant movements. *Acta Histochem.* 2014;116:1427-33.
- Hsu S-M, Raine L, Fanger H. Use of avidin-biotin-peroxidase complex (ABC) in immunoperoxidase techniques: a comparison between ABC and unlabelled antibody (PAP) procedures. *J Histochem Cytochem.* 1981;29:577-80.
- Paxinos G, Watson C. *The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates.* Acad Press New York, 1998.

21. Moore RY, Bloom FE. Central catecholamine neuron systems: anatomy and physiology of the norepinephrine and epinephrine systems. *Annu Rev Neurosci.* 1979;2:113-68.
22. Pezzone MA, Lee WS, Hoffman GE, Pezzone KM, Rabin BS. Activation of brainstem catecholaminergic neurons by conditioned and unconditioned aversive stimuli as revealed by c-Fos immunoreactivity. *Brain Res.* 1993;608(2):310-8.
23. Li DP, Chen SR, Finnegan TF, Pan HL. Signalling pathway of nitric oxide in synaptic GABA release in the rat paraventricular nucleus. *J Physiol.* 2004;554:100-10.

*Матеріал надійшов
до редакції 09.07.2018*