

РАСПРЕДЕЛЕНИЕ ПОПУЛЯЦИЙ ПАРВАЛЬБУМИН-ЭКСПРЕССИРУЮЩИХ НЕЙРОНОВ В СЕГМЕНТАХ ШЕЙНОГО И ПОЯСНИЧНОГО ОТДЕЛОВ СПИННОГО МОЗГА КОШКИ

© 2023 г. А. А. Вещицкий¹, П. Е. Мусиенко¹, Н. С. Меркулева^{1,*}

¹Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН, Санкт-Петербург, Россия

*e-mail: mer-natalia@yandex.ru

Поступила в редакцию 27.04.2023 г.

После доработки 19.06.2023 г.

Принята к публикации 21.06.2023 г.

Парвальбумин — классический маркер интернейронных популяций центральной нервной системы. При анализе шейных и поясничных отделов спинного мозга кошки (*Felis catus*) в большинстве пластин серого вещества были выявлены как единичные парвальбумин-иммунопозитивные нейроны, так и целые популяции, имеющие строгую ламинарную/ядерную локализацию. Наиболее выраженные скопления нейронов локализованы в медиальной части пластин V–VI и в пластине VII сегментов шейного и поясничного утолщения. Полагаем, что первое скопление в сегментах C4–C8 и L4–L7 участвует в механизмах модуляции локомоторной активности посредством конвергенции кожной и проприоцептивной афферентации от конечностей. Скопления нейронов в пластине VII представляют собой Ia-интернейроны и интернейроны Реншоу, участвующие в процессах торможения мотонейронов. Менее выраженными популяциями парвальбумин-иммунопозитивных нейронов являются: скопления в пластине III, предположительно связанные с регуляцией кожной чувствительности; скопления в пластине VIII, локализация и морфология которых сходны с нейронами, формирующими комиссуральные и проприоспинальные связи и участвующие в модуляции активности мотонейронов. Иммунопозитивные нейроны также выявлены в прецеребеллярных ядрах: центральном цервикальном и ядре Кларка; в отличие от доминирующих популяций проекционных клеток этих ядер, выявленные нейроны предположительно относятся к интернейронам. Единичные клетки представлены в пластине I сегментов L6–L7, а также в пластинах II, IV, X всех исследованных сегментов. На настоящий момент это самое полное описание популяций парвальбумин-иммунопозитивных нейронов спинного мозга хищных.

Ключевые слова: кальций-связывающий белок, парвальбумин, спинной мозг, шейное и поясничное утолщение, кошка

DOI: 10.31857/S0044452923040071, **EDN:** XZPDBL

ВВЕДЕНИЕ

Кальций-связывающие белки представляют собой группу гомологичных цитозольных белков, обеспечивающих захват свободного Ca^{2+} [1], внутриклеточные избытки которого могут приводить к апоптозу [2], что проявляется в ходе многих нейродегенеративных заболеваний [3]. Одним из наиболее изученных кальций-связывающих белков является парвальбумин (PV), сначала выявленный в мышечных волокнах примитивных позвоночных [4], а затем и в нейронах центральной нервной системы млекопитающих [5].

В головном мозге PV маркирует специфические популяции интернейронов, характеризующиеся высокой частотой разрядки, и формирующих функциональные системы в пределах сенсорных [6], моторных [7] и интегративных структур [8]. На спинальном уровне данный белок ассоциируют

преимущественно с проприоцептивной системой, в пределах которой он экспрессируется в первичных афферентных нейронах дорзальных ганглиев [9], иннервирующих проприорецепторы мышц, и образуемых ими волокнах в белом [10] и сером веществе спинного мозга [11]. В сером веществе спинного мозга грызунов выявлено несколько типов парвальбумин-иммунопозитивных (PV+) нейронов. В дорзальных рогах тормозные PV+ интернейроны принимают участие в модуляции кожной чувствительности [12]. В медиальной части промежуточного серого вещества, на уровне спинальных утолщений, PV+ нейроны, ответственные за конвергенцию информации кожной и проприоцептивной модальностей, поступающей от конечностей, модулируют локомоторную активность [13]. Кроме того, PV экспрессируется Ia-интернейронами и клетками Реншоу, являющимися элементами локомоторных сетей [14].

При этом информация о паттерне распределения нейронов, экспрессирующих PV, в спинном мозге иных животных моделей крайне скудна. Например, для кошки — классической модели для изучения сенсомоторной системы, подробное морфологическое описание представлено лишь в одной работе на единственном поясничном сегменте [15], что, очевидно, существенно сужает возможность интерпретации получаемых на этой модели данных. Ранее нами был опубликован нейрoхимический атлас спинного мозга кошки [16], в котором представлены изображения срезов всех спинальных сегментов с выявленными с помощью иммуногистохимического метода разнообразными нейрональными популяциями, в том числе — популяциями PV+ нейронов. Целью настоящего исследования было морфологическое описание выявленных популяций PV+ нейронов спинного мозга кошки. Областью интереса являлись шейное и поясничное утолщения, содержащие наибольший объем спинальных нейрональных сетей, ответственных за контроль моторики передних и задних конечностей.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследование проведено на девяти нормально пигментированных взрослых кошках обоего пола (*Felis catus*) массой тела 2.5–3.5 кг. Использованы образцы первого-восьмого (C1–C8) шейных и первого-седьмого (L1–L7) поясничных сегментов спинного мозга. Согласно принципу “3R” образцы головного мозга некоторых животных были ранее использованы для нейроморфологического анализа зрительных структур [17–19].

Подготовка гистологического материала. Под глубоким наркозом (ингаляционным: 5%-ном изофлюраном или внутримышечным: смесью зоветила (Virbac, France; 20 мг/кг) и ксилазина (Interchemie werken “De Adelaar” BV, Netherlands; 2 мг/кг)) проводили транскардиальную перфузию. Для предупреждения свертываемости крови и образования тромбов за 10 мин до начала перфузии внутримышечно вводили гепарин (0.5 мл/кг). Промывку сосудов от форменных элементов крови осуществляли физиологическим раствором (0.9%-ный раствор натрия хлорида, 700–800 мл/кг, pH 7.4, 25°C), фиксацию тканей — 4%-ным раствором параформальдегида на 0.01 М фосфатном буфере (pH 7.4, 600–700 мл/кг, 25°C). После перфузии спинной мозг извлекали из позвоночного канала и последовательно выдерживали в 10-, 20- и 30-ном% растворах сахарозы до полного погружения. Деление спинного мозга на сегменты проводили, ориентируясь на дорзальные корешки [20]. На замораживающем микротоме (Reichert, Австрия) изготавливали поперечные срезы толщиной 50 мкм.

Иммуногистохимия. Выявление антигена PV проводили с помощью непрямого иммуногистохимического метода на свободно плавающих срезах. В начале выполнения протокола и между всеми

ключевыми этапами срезы промывали в 0.01 М фосфатно-солевом буфере 3 раза по 10 мин. Демаскировку антигенов проводили в 1%-ном NaBH_4 в течение 15 мин. Активность эндогенной пероксидазы блокировали путем получасовой инкубации в 0.3%-ной H_2O_2 . Неспецифическую реакцию антигенов подавляли 3%-ной нормальной сывороткой козы (NGS, Vector Labs, Великобритания) в течение 90 мин. Затем, не промывая, срезы инкубировали в течение 72 ч при +4°C в растворе первичных поликлональных антител кролика к PV (ab11427, Abcam, Кембридж, Великобритания, разведение 1:10000), 3%-ной нормальной сыворотки козы и консерванта 0.1%-ного NaN_3 . Затем срезы инкубировали в растворе биотинилированных вторичных антител анти-кролик (1:600, Vector Laboratories, Великобритания) в течение 24 ч. К раствору вторичных антител добавляли 3%-ную нормальную сыворотку козы. Затем срезы инкубировали в авидин-биотин-комплекс с пероксидазой (ABC Elite system, Vector Labs, Великобритания) в течение 1 ч. Визуализацию пероксидазной реакции осуществляли с помощью раствора, содержащего 1% DAB (хромоген 3,3'-диаминобензидин), 10% NiNH_4SO_4 и 0.03% H_2O_2 . После промывки в дистиллированной воде срезы монтировали на желатинизированные предметные стекла, высушивали, подвергали обезвоживанию в спиртах восходящей концентрации ($2 \times 70\%$, $2 \times 96\%$, $2 \times 100\%$) и просветлению в ксилоле, после чего заключали в монтирующую среду (Bio Mount NM, Италия).

Цифровая обработка и анализ гистологического материала. Получение цифровых изображений срезов с выявленными антигенами проводили на компьютерной установке, оснащенной световым микроскопом Olympus CX33 (Olympus Corporation, Япония; увеличение объектива $\times 10$), свободно распространяемым программным комплексом digiCamControl и камерой Nikon (D3200, Nikon Corporation, Япония). Для каждого животного в анализ взято по 5 срезов от каждого из сегментов.

В зависимости от формы сомы и от типа отхождения иммунопозитивных отростков были определены три морфотипа иммунопозитивных клеток — овальные (без иммунопозитивных отростков), веретеновидные (клетки с двумя полярными PV+ отростками) и мультиполярные (клетки с тремя и более PV+ отростками). К нейронам мелкого размера относили клетки с площадью сомы до 200 μm^2 , среднего — 200–450 μm^2 , крупного — более 450 μm^2 в соответствии с делением, представленным в работе [15]. Данные представлены как среднее $\pm$ стандартное отклонение.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В сером веществе шейного и поясничного отделов спинного мозга кошки выявлено два типа PV мечения: клеточное (сoma нейронов и иногда их

Таблица 1. Типы парвальбумин-иммунопозитивных нейронов спинного мозга кошки

Пластины	Сегменты	Особенности локализации	Тип	Площадь, мкм ²	Рисунок
I	L6–L7	—	мелкие овальные	41 ± 14	1a
II–III	C1–C8 L1–L7	преимущественно в пластине III	мелкие овальные	39 ± 14	1b
V–VI	C4–C8	медиальная область пластин V–VI	мелкие овальные	100 ± 44	1c
			средние мультиполярные	276 ± 92	
			крупные мультиполярные	582 ± 93	
	L5–L7	медиальная область пластин V–VI	мелкие овальные	93 ± 40	1d
			средние мультиполярные	283 ± 91	
VII	C1–C4	центральное цервикальное ядро	мелкие овальные и средние мультиполярные	233 ± 139	1e
	C5–C6	медиальная область пластин VI–VII			
	L1–L4	ядро Кларка	мелкие овальные	66 ± 33	1f
	C6–C7 L5–L7	дорзально относительно мотонейронных пулов	крупные мультиполярные	689 ± 227	1g
		вентральная зона между пластинами VIII и IX	средние овальные или мультиполярные	354 ± 102	1h
VIII	C1–C8 L1–L7	латеральная часть пластины VIII	средние и крупные веретеновидные	469 ± 207	1i
		—	средние мультиполярные	409 ± 165	
		центральная часть пластины VIII	крупные мультиполярные	911 ± 304	

проксимальные отростки) и нейропилия. Иммунопозитивные клетки и нейропиле имеют четкую локализацию и могут быть описаны по пластинам и ядрам серого вещества (табл. 1 и рис. 1).

Пластина I

В пластине I выявлены единичные мелкие PV+ нейроны, имеющие овальную соматическую площадь 41 ± 14 мкм²; отростки этих нейронов являются иммунонегативными (рис. 1a). Данные нейроны были обнаружены только в сегментах L6–L7 у 5 из 9 исследованных животных.

Пластины II–III

В пластине III и, реже, в пластине II, выявлены мелкие овальные нейроны площадью 39 ± 14 мкм² (рис. 1b). Данные клетки лишены иммунопозитивных отростков.

Пластины V–VI

Латеральная половина пластин V–VI во всех исследованных сегментах практически лишена PV+ нейронов, и содержит лишь единичные клетки овальной или мультиполярной формы. В медиаль-

ной половине пластин V–VI, на уровне шейного и поясничного утолщений, обнаружена популяция PV+ нейронов, окруженная слабопозитивным нейропилем. В шейном отделе этот иммунопозитивный кластер наиболее выражен в сегментах C5–C8 и содержит мелкие овальные (100 ± 44 мкм²), средние (276 ± 92 мкм²) и крупные (582 ± 93 мкм²) мультиполярные PV+ нейроны (рис. 1c). В поясничном отделе иммунопозитивный кластер локализован в сегментах L5–L7 и представлен множеством мелких овальных (93 ± 40 мкм²) и средних мультиполярных (283 ± 91 мкм²) PV+ клеток (рис. 1d).

Пластина VII

Паттерн распределения PV+ нейронов в пластине VII зависит от сегмента. В ростральных шейных сегментах (C1–C4) в основании дорзальных рогов на уровне центрального канала локализуется центральное цервикальное ядро (CCN). В зависимости от сегмента, оно или полностью залегает в пластине VII, на границе с пластинами V–VI (сегменты C1–C3), или, как в сегменте C4, наполовину заходит в медиальную часть пластины VI [16]. CCN содержит ярко выраженный PV+ нейропиле, а также мелкие и средние мультиполярные нейроны

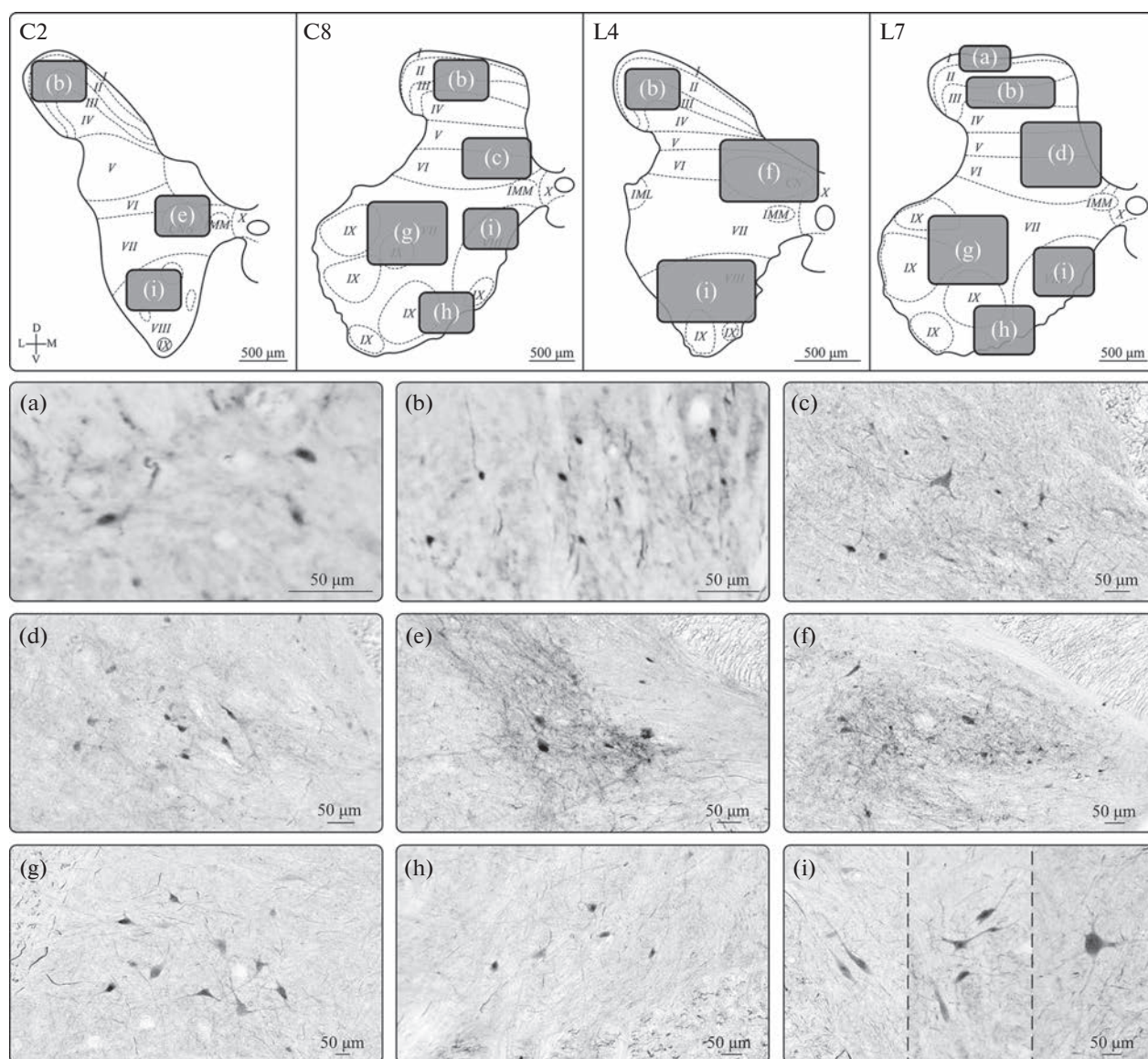


Рис. 1. Распределение парвальбумин-иммунопозитивных нейронов в сером веществе шейных (на примере C2 и C8) и поясничных (на примере L4 и L7) сегментов спинного мозга кошки. (a) – PV+ нейроны пластины I, (b) – PV+ нейроны пластин II–III, (c) – PV+ нейроны медиальной части пластин V–VI в сегментах C4–C8, (d) – PV+ нейроны медиальной части пластин V–VI в сегментах L5–L7, (e) – PV+ нейроны центрального цервикального ядра, (f) – PV+ нейроны ядра Кларка, (g) – PV+ нейроны пластины VII (на границе с мотонейронными пулами), (h) – PV+ нейроны пластины VII (вентральная зона между пластинами VIII и IX), (i) – PV+ нейроны пластины VIII. I–X – номера пластин серого вещества, CCN – центральное цервикальное ядро, CN – ядро Кларка, IML – интермедиолатеральное ядро, IMM – интермедиомедиальное ядро.

(233 ± 139 мкм²) (рис. 1e). Несмотря на то что анатомически, согласно [21], каудальная граница CCN проходит в сегменте C4, сходный паттерн распределения PV наблюдается в аналогичной зоне вплоть до сегмента C6. При этом площадь иммунопозитивного нейрона градуально уменьшается в каудальном направлении и исчезает в конце сегмента C6.

В вентролатеральной части основания дорзальных рогов первых поясничных сегментов (L1–L4) локализуется ядро Кларка (CN). В сегментах L1–L2 CN располагается в пластине VII и лишь грани-

чит с пластинами V–VI, тогда как в сегментах L3–L4 практически полностью смещается в медиальную часть пластин V–VI [16]. CN характеризуются ярко выраженным PV+ нейропилем, а также немногочисленной популяцией мелких овальных нейронов (66 ± 33 мкм²) (рис. 1f).

Помимо описанных выше ядер, в пластине VII сегментов C6–C8 и L5–L7 выявлено две популяции PV+ нейронов: (1) мультиполярные клетки крупного размера (689 ± 227 мкм²), локализованные дорсальнее мотонейронных пулов (рис. 1g);

(2) овальные или мультиполярные клетки среднего размера (354 ± 102 мкм²), локализованные в вентромедиальной области на границе пластин VIII и IX (рис. 1h). Помимо перечисленных, единичные разноразмерные мультиполярные PV+ клетки пластины VII разбросаны по остальным сегментам.

Пластина VIII

Во всех исследованных сегментах в пластине VIII выявлены три типа единичных PV+ нейронов: (1) средние или крупные (469 ± 207 мкм²) веретеновидные; (2) средние (409 ± 165 мкм²) мультиполярные; (3) крупные (911 ± 304 мкм²) мультиполярные (рис. 1i). Веретеновидные клетки предпочтительно локализируются в латеральной части пластины VIII, преимущественно в шейных сегментах, крупные мультиполярные — в центральной области пластины VIII, преимущественно в первых шейных и поясничных сегментах, и средние мультиполярные — по всему объему пластины VIII, во всех сегментах.

В пластинах IV, IX и X и в преганглионарных симпатических ядрах: интермедиолатеральном (IML) и интермедиомедиальном (IMM), PV+ нейронов или нейропиля не обнаружено, за исключением случайных единичных клеток.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Возможное функциональное значение выявленных популяций PV+ нейронов косвенно следует из анализа морфологических и физиологических свойств нейронов соответствующих пластин и ядер.

Пластина I

Нейроны пластины I связаны с обработкой и передачей болевой и температурной чувствительности [22]. В большинстве известных работ отмечено полное отсутствие экспрессии PV в нейронах пластины I лабораторных животных (мышей: [23]; крыс: [11, 24]; кроликов: [25]; обезьян: [26]). Однако есть и указание на единичные PV+ клетки этой пластины в сегментах поясничного расширения у мышей [27] и крыс [28]. В проведенном исследовании мы также обнаружили редкие PV+ нейроны в пластине I у 5 из 9 кошек; все эти нейроны располагались только в наиболее крупных сегментах поясничного расширения — L6 и L7, но не в шейных сегментах. Эти данные свидетельствуют о крайней малочисленности популяции PV+ нейронов пластины I и о ее привязанности к конкретным сегментам спинного мозга. Мы не можем отнести выявленные нами PV+ нейроны ни к одному из 4 известных морфотипов пластины I, выявленных у грызунов [22]. Полагаем, что для полного описания элементов этой популяции необходимо ис-

пользовать непрерывную серию срезов и множественное иммуномечение.

Пластины II–III

Нейроны пластин II–III участвуют в передаче и обработке механо- и ноцицептивной информации на уровне спинного мозга [29]. Распределение PV+ клеток в данных пластинах наиболее полно изучено на грызунах. Мелкие по размеру PV+ нейроны локализуются главным образом во внутренней части пластины II (IIi) и по всей пластине III [11, 27, 30–32]. В этой зоне дорзальных рогов в зависимости от локализации, формы и размера сомы, типа ветвления и направления волокон, выделяют 4 типа PV+ нейронов [24, 30, 33]. Помимо иммунопозитивных нейронов, авторы также отмечают наличие в пластинах II–III PV+ нейропиля, четко очерчивающего границы подпластины IIi и пластины III [24, 33].

Паттерн иммуномечения, выявленный нами в пластинах II–III спинного мозга кошки, существенно отличается от такового у грызунов: (1) все PV+ нейроны имеют овальную сому, (2) все отростки нейронов являются иммунонегативными, (3) большая часть клеток обнаруживается в пластине III, и только единичные — в пластине II, (4) полоска иммунопозитивного нейропиля отсутствует. Подобное описание распределения PV в пластинах II–III известно у кролика [25, 34], обезьяны [35] и человека [36]. В единственной известной нам работе на кошке, в которой был проанализирован только сегмент L7, в принципе не выделяют PV+ нейроны в пластине II, определяя принадлежность мелких иммунопозитивных клеток дорзальных рогов к единой популяции нейронов пластин III–IV [15]. Таким образом, очевидно, что распределение иммунопозитивной реакции в пластинах II–III у грызунов и не-грызунов значительно отличается, что следует иметь в виду при проведении сравнительных исследований функций спинного мозга и трансляции данных, получаемых на грызунах, в клиническую практику.

Известно, что большинство PV+ нейронов пластин II–III являются тормозными, составляя 60–75% от общей популяции нейронов пластин II–III — у крыс [28, 33] и 47–64% — у мышей [37, 38]. На этих животных моделях показано, что PV+ нейроны контролируют возбудимость нейронов, отвечающих за обработку тактильной информации [39]. Ко-экспрессия некоторым числом PV+ нейронов ноцицептивных маркеров [40–42] также указывает на их связь с ноцицепцией.

Пластины V–VI

Нейроны пластин V–VI участвуют в интеграции разномодальной афферентной информации [43]. Эти пластины анатомически подразделяют на медиальную и латеральную (ретикулярную) зоны

[21]. В медиальной части пластин V–VI в обоих расширениях спинного мозга кошки нами выявлено 2 популяции PV+ нейронов, окруженных слабоиммунопозитивным нейропилем: мелкие овальные и средние мультиполярные. Выявленные морфотипы соответствуют таковым в медиальной зоне пластин V–VI спинного мозга крысы [11, 24], однако в этих работах данные по размерам соммы нейронов отсутствуют. В недавней работе на трансгенных мышцах было выявлено, что в каудальной части поясничного отдела (сегменты L4–L6) PV+ нейроны медиальной части основания дорзальных рогов участвуют в конвергенции кожной и проприоцептивной афферентации от задних конечностей, что является одним из механизмов модуляции локомоторной активности [13]. Мы не нашли данных по функциям PV+ нейронов, расположенных в медиальной части пластин V–VI шейных сегментов спинного мозга. Однако, учитывая морфологическое и пространственное сходство между популяциями клеток медиальной зоны пластин V–VI, расположенными в шейном и поясничном отделах, мы предполагаем и сходство их функций: модуляцию моторной активности. Отдельно отметим, что в шейных сегментах мы выявили популяцию крупных мультиполярных нейронов, отсутствующих в поясничных сегментах. Возможной ролью этих клеток полагаем контроль за моторикой передних конечностей, которая в ряде задач отлична от моторики задних конечностей. Отметим, что ранее в медиальной зоне пластин V–VI у кошки были выявлены только мелкие округлые клетки с множеством отростков [15], однако, как мы уже писали выше, в этой работе проанализирован лишь один сегмент, что не позволяет делать полноценные выводы о структуре популяции PV+ нейронов.

В латеральной части пластин V–VI нами выявлены лишь единичные овальные или мультиполярные PV+ нейроны, однако, в большинстве случаев данная область полностью лишена иммунопозитивного мечения. В спинном мозге крысы в этой области также выявлены редкие иммунопозитивные клетки [24], имеющие, однако, иную форму соммы: треугольную или прямоугольную, определяемую числомходящих отростков. До сих пор функции данной малочисленной популяции не известны.

Пластина VII

В дорзомедиальной части пластины VII шейного и поясничного отделов локализуется два элемента системы прецеребеллярных ядер: CCN и CN [44]. Нейроны CCN формируют особую часть восходящих проекций спинного мозга – CCN-спинно-мозжечковый путь [45, 46], а также спинно-вестибулярный тракт [47], передающие афферентную информацию от проприорецепторов мышц шеи и рецепторов лабиринта в мозжечок и вестибулярные ядра продолговатого мозга соответственно [48]. По-

ясничная часть CN является основным источником дорзального спинно-мозжечкового тракта, несущего информацию от проприорецепторов нижней части туловища и нижних конечностей в мозжечок [49]. Известно, что в CCN мышей 74% нейронов, имеющих связи с мозжечком, являются PV+ [44]. Как и в исследованиях на крысах [11, 24] и приматах [35, 36], мы показали, что оба ядра характеризуются ярко выраженным PV+ нейропилем, который представляет собой множественные окончания аксонов проприоцептивных нейронов дорзальных ганглиев [24]. Помимо PV+ нейропиля, в обоих ядрах выявлены иммунопозитивные нейроны.

В CCN мы обнаружили PV+ нейропиле и нейроны не только в пределах анатомических границ ядра – сегментах C1–C4, но и в более каудальных сегментах C5–C6. Мы также выявили негативный ростокаудальный градиент площади иммунопозитивного нейропиля и числа PV+ клеток. Отметим, что при трейсировании большое скопление клеток, иницирующих связи с мозжечком, выявлено у кошки не только в самом CCN, но и в аналогичной области серого вещества сегмента C5 [50]. Также у кошки активность нейронов вестибулярных ядер регистрировали при стимуляции не только CCN, но и аналогичной зоны в сегменте C5 [48]. Таким образом, полагаем, что CCN охватывает и сегменты C5–C6, в которых оно постепенно теряет свою ядерную структуру и значительно уменьшается в размерах. Как итог, при использовании классических методов анализа цитоархитектоники серого вещества: окрашивании по методу Ниссля или Гольджи, оно перестает визуально отделяться от прилегающих популяций нейронов. В связи с чем PV может выступать полезным инструментом для точного определения локализации определенных популяций нейронов CCN. Ранее PV+ нейроны и нейропиле в CCN упоминались в работах на крысах [11, 51], однако подробных данных о морфологических особенностях таких клеток и их посегментном распределении в этих работах не представлено.

Исследований с упоминанием PV в CN значительно больше, чем для CCN. Группы иммунопозитивных клеток в данном ядре описаны у мышей [44], крыс [51, 52], собак [10], приматов [26, 35, 36, 53]. Известно, что CN содержит гетерогенную популяцию нейронов, различающихся по размеру соммы и числу отростков [54, 55]. Также, в CN выявлена зависимость между морфотипом нейрона и выполняемой им функцией: популяцию крупных и средних клеток отнесли к проекционными, а мелких – к интернейронам с локальными связями [56]. В настоящем исследовании в CN спинного мозга кошки были выявлены нейроны исключительно мелкого размера, что позволяет отнести их к интернейронам, но не к клеткам, организующим связи с супраспинальными структурами. Однако в работе на мышцах было показано, что среди нейронов, формирующих проекции к мозжечку, 77% являют-

ся PV+ [44]. Возможно, полученные отличия отражают видовые особенности организации ядра.

В пластине VII сегментов C6–C8 и L5–L7, близости от дорзальной границы мотонейронных пулов, выявлена популяция мультиполярных клеток крупного размера. Эти данные соответствуют другой работе, проведенной на L7 сегменте спинного мозга кошки, в которой в вентральной области пластины VII также описаны подобного рода PV+ нейроны [15]. Сходные скопления PV+ нейронов также известны у мышей и крыс [24, 51, 57]. Исследования эмбриональных классов нейронов спинного мозга позволили выявить принадлежность данной популяции PV+ клеток к Ia тормозным интернейронам [14, 58] – группе премоторных нейронов, обеспечивающих торможение мотонейронов антагонистических мышц [59].

Другой обособленной популяцией PV+ нейронов в сегментах C6–C8 и L5–L7 является скопление округлых или мультиполярных клеток среднего размера, локализованное в вентромедиальной области на границе пластин VIII и IX. Такие же группы клеток были показаны в работе [15] на кошке и в ряде исследований на крысах [24, 51, 60]. Авторы онтогенетических исследований спинного мозга мыши полагают, что PV+ клетки данной области являются интернейронами Реншоу [14, 58, 61], обеспечивающие механизм возвратного торможения α -мотонейронов [62].

Пластина VIII

Нейроны пластины VIII относятся преимущественно к типу проприоспинальных клеток, координирующих деятельность нейронных сетей разных уровней [49]. Во всех исследуемых сегментах в пластине VIII нами выявлены немногочисленные нейроны трех морфотипов, имеющие характерные особенности локализации в пределах пластины. Веретеновидные нейроны имеют сому среднего размера и локализуются преимущественно в латеральной части пластины. Сомы этих нейронов вытянута либо вдоль границы вентрального рога, т.е. дорзовентрально, либо медиолатерально – в случае залегания клетки на границе с белым веществом. Веретеновидные PV+ клетки ранее были описаны в работе на крысах [24]. По всей видимости отростки таких нейронов выходят в белое вещество вентрального канатика и формируют комиссуральные связи и восходящие тракты [63]. Другие 2 типа PV+ нейронов – разноразмерные мультиполярные клетки, ранее также описанные у кошки [15]. Имеются свидетельства, что PV+ нейроны такого типа, получая нисходящие импульсы от ствола мозга, могут участвовать в торможении спинальных мотонейронов во время парадоксальной фазы сна [49, 64].

PV+ нейроны полностью отсутствуют в пластине IX, представленной мотонейронными пулами, и в симпатических преганглионарных ядрах IML и IMM. Известно, что у грызунов на некоторых эта-

пах эмбриогенеза временная экспрессия PV может наблюдаться в мотонейронах [65]. Однако для взрослых особей экспрессия PV мотонейронами не свойственна [66, 67]. Среди работ, посвященных распределению PV+ нейронов в спинном мозге разных видов млекопитающих, нами не было выявлено упоминаний об экспрессии PV в каких-либо висцеральных ядрах, включая IML и IMM.

Таким образом, PV может рассматриваться как маркер не только проприоцептивной системы и связанных с ней прецереbellарных ядер, но и десятка иных функциональных групп спинальных нейронов. Для более полного понимания их роли необходимы сравнительные исследования в ряду млекопитающих.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Все применимые международные, национальные и/или институциональные принципы ухода и использования животных были соблюдены. Все процедуры, выполненные в исследованиях с участием животных, соответствовали этическим стандартам, утвержденным правовыми актами РФ, принципам Базельской декларации и рекомендациям биоэтического комитета Института физиологии им. И.П. Павлова РАН (протокол № 30/01/2020).

ИСТОЧНИКИ ФИНАНСИРОВАНИЯ

Работа выполнена при поддержке гранта Российского научного фонда (проект № 21-15-00235).

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией данной статьи.

ВКЛАД АВТОРОВ

Планирование эксперимента: Н.С.М. и А.А.В.; подготовка гистологического материала: Н.С.М. и А.А.В.; сбор и обработка данных: А.А.В.; написание и редактирование манускрипта А.А.В., Н.С.М., П.Е.М.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Andressen C, Blümcke I, Celio MR* (1993) Calcium-binding proteins: selective markers of nerve cells. *Cell Tissue Res* 271:181–208. <https://doi.org/10.1007/BF00318606>
2. *Martin LJ, Al-Abdulla NA, Brambrink AM, Kirsch JR, Sieber FE, Portera-Cailliau C* (1998) Neurodegeneration in excitotoxicity, global cerebral ischemia, and target deprivation: A perspective on the contributions of apoptosis and necrosis. *Brain Res Bull* 46:281–309. [https://doi.org/10.1016/s0361-9230\(98\)00024-0](https://doi.org/10.1016/s0361-9230(98)00024-0)
3. *Leist M, Nicotera P* (1998) Apoptosis, excitotoxicity, and neuropathology. *Exp Cell Res* 239:183–201. <https://doi.org/10.1006/excr.1997.4026>

4. *Deuticke HJ* (1934) Über die sedimentationskonstante von muskelpoteinen. *Hoppe-Seyler's Z Für Physiol Chem* 224:216–228.
<https://doi.org/10.1515/bchm2.1934.224.5-6.216>
5. *Celio MR, Heizmann CW* (1981) Calcium-binding protein parvalbumin as a neuronal marker. *Nature* 293:300–302.
<https://doi.org/10.1038/293300a0>
6. *Atallah BV, Bruns W, Carandini M, Scanziani M* (2012) Parvalbumin-expressing interneurons linearly transform cortical responses to visual stimuli. *Neuron* 73:159–170.
<https://doi.org/10.1016/j.neuron.2011.12.013>
7. *Ince P, Stout N, Shaw P, Slade J, Hunziker W, Heizmann CW, Baimbridge KG* (1993) Parvalbumin and calbindin D-28k in the human motor system and in motor neuron disease. *Neuropathol Appl Neurobiol* 19:291–299.
<https://doi.org/10.1111/j.1365-2990.1993.tb00443.x>
8. *Jones EG* (2009) Synchrony in the interconnected circuitry of the thalamus and cerebral cortex. *Ann N Y Acad Sci* 1157:10–23.
<https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.2009.04534.x>
9. *Arber S, Ladle DR, Lin JH, Frank E, Jessell TM* (2000) ETS gene *Er81* controls the formation of functional connections between group Ia sensory afferents and motor neurons. *Cell* 101:485–498.
[https://doi.org/10.1016/S0092-8674\(00\)80859-4](https://doi.org/10.1016/S0092-8674(00)80859-4)
10. *Marsala J, Lukáčová N, Kolesár D, Sulla I, Gálik J, Marsala M* (2007) The distribution of primary nitric oxide synthase- and parvalbumin- immunoreactive afferents in the dorsal funiculus of the lumbosacral spinal cord in a dog. *Cell Mol Neurobiol* 27:475–504.
<https://doi.org/10.1007/s10571-007-9140-6>
11. *Ren K, Ruda MA* (1994) A comparative study of the calcium-binding proteins calbindin-D28K, calretinin, calmodulin and parvalbumin in the rat spinal cord. *Brain Res Brain Res Rev* 19:163–179.
[https://doi.org/10.1016/0165-0173\(94\)90010-8](https://doi.org/10.1016/0165-0173(94)90010-8)
12. *Ganugula R, Deng M, Arora M, Pan H-L, Kumar MNVR* (2019) Polyester nanoparticle encapsulation mitigates paclitaxel-induced peripheral neuropathy. *ACS Chem Neurosci* 10:1801–1812.
<https://doi.org/10.1021/acscchemneuro.8b00703>
13. *Ozeri-Engelhard N, Gradwell MA, Laflamme OD, Upadhyay A, Aoki A, Shrier T, Gandhi M, Gonzalez M, Eisdorfer JT, Abbas-Zadeh G, Yusuf N, Imtiaz Z, Alomary SA, Katz J, Haas M, Hernandez Y, Akay T, Abaira V* (2022) Sensory convergence and inhibitory divergence: deep dorsal horn inhibitory interneurons modulate the timing and magnitude of limb coordination during locomotion. *Neuroscience*.
14. *Alvarez FJ, Jonas PC, Sapir T, Hartley R, Berrocal MC, Geiman EJ, Todd AJ, Goulding M* (2005) Postnatal phenotype and localization of spinal cord V1 derived interneurons. *J Comp Neurol* 493:177–192.
<https://doi.org/10.1002/cne.20711>
15. *Anelli R, Heckman CJ* (2005) The calcium binding proteins calbindin, parvalbumin, and calretinin have specific patterns of expression in the gray matter of cat spinal cord. *J Neurocytol* 34:369–385.
<https://doi.org/10.1007/s11068-006-8724-2>
16. *Veshchitskii A, Shkorbatova P, Merkulyeva N* (2022) Neurochemical atlas of the cat spinal cord. *Front Neuroanat* 16:1034395.
<https://doi.org/10.3389/fnana.2022.1034395>
17. *Merkulyeva N, Mikhalkin A, Zykin P* (2018) Early postnatal development of the lamination in the lateral geniculate nucleus A-layers in cats. *Cell Mol Neurobiol* 38:1137–1143.
<https://doi.org/10.1007/s10571-018-0585-6>
18. *Merkulyeva NS, Mikhalkin AA, Nikitina NI* (2020) Characteristics of the neurochemical state of neurons in the mesencephalic nucleus of the trigeminal nerve in cats. *Neurosci Behav Physiol* 50:511–515.
<https://doi.org/10.1007/s11055-020-00927-w>
19. *Mikhalkin AA, Merkulyeva NS* (2021) Peculiarities of age-related dynamics of neurons in the cat lateral geniculate nucleus as revealed in frontal versus sagittal slices. *J Evol Biochem Physiol* 57:1001–1007.
<https://doi.org/10.1134/S0022093021050021>
20. *Shkorbatova PY, Lyakhovetskii VA, Merkulyeva NS, Veshchitskii AA, Bazhenova EY, Laurens J, Pavlova NV, Musienko PE* (2019) Prediction algorithm of the cat spinal segments lengths and positions in relation to the vertebrae. *Anat Rec Hoboken NJ* 2007 302:1628–1637.
<https://doi.org/10.1002/ar.24054>
21. *Rexed B* (1954) A cytoarchitectonic atlas of the spinal cord in the cat. *J Comp Neurol* 100:297–379.
<https://doi.org/10.1002/cne.901000205>
22. *Craig AD, Krout K, Andrew D* (2001) Quantitative response characteristics of thermoreceptive and nociceptive lamina I spinothalamic neurons in the cat. *J Neurophysiol* 86:1459–1480.
<https://doi.org/10.1152/jn.2001.86.3.1459>
23. *Porseva VV, Emanuilov AI, Maslyukov PM* (2020) Subpopulations of calbindin-, calretinin-, and parvalbumin-immunoreactive interneurons in the dorsal horn of the spinal cord in female C57BL/6 mice. *Neurosci Behav Physiol* 50:961–965.
<https://doi.org/10.1007/s11055-020-00991-2>
24. *Antal M, Freund TF, Polgár E* (1990) Calcium-binding proteins, parvalbumin- and calbindin-D 28k-immunoreactive neurons in the rat spinal cord and dorsal root ganglia: a light and electron microscopic study. *J Comp Neurol* 295:467–484.
<https://doi.org/10.1002/cne.902950310>
25. *Lukáčová N, Kisucká A, Pavel J, Hricová L, Kucharíková A, Gálik J, Maršala M, Langfort J, Chalimoniuk M* (2012) Spinal cord transection modifies neuronal nitric oxide synthase expression in medullar reticular nuclei and in the spinal cord and increases parvalbumin immunopositivity in motoneurons below the site of injury in experimental rabbits. *Acta Histochem* 114:518–524.
<https://doi.org/10.1016/j.acthis.2011.09.007>
26. *Torres-da-Silva KR, Da Silva AV, Barioni NO, Tessarin GWL, De Oliveira JA, Ervolino E, Horta-Junior J a. C, Casatti CA* (2016) Neurochemistry study of spinal cord in non-human primate (*Sapajus* spp.). *Eur J Histochem* EJH 60:2623.
<https://doi.org/10.4081/ejh.2016.2623>
27. *Hughes DI, Sikander S, Kinnon CM, Boyle KA, Watanabe M, Callister RJ, Graham BA* (2012) Morphological, neurochemical and electrophysiological features of parvalbumin-expressing cells: a likely source of axo-axonic inputs in the mouse spinal dorsal horn. *J Physiol* 590:3927–3951.
<https://doi.org/10.1113/jphysiol.2012.235655>
28. *Laing I, Todd AJ, Heizmann CW, Schmidt HH* (1994) Subpopulations of GABAergic neurons in laminae I–III

- of rat spinal dorsal horn defined by coexistence with classical transmitters, peptides, nitric oxide synthase or parvalbumin. *Neuroscience* 61:123–132.
[https://doi.org/10.1016/0306-4522\(94\)90065-5](https://doi.org/10.1016/0306-4522(94)90065-5)
29. *Stachowski NJ, Dougherty KJ* (2021) Spinal inhibitory interneurons: gatekeepers of sensorimotor pathways. *Int J Mol Sci* 22:2667.
<https://doi.org/10.3390/ijms22052667>
 30. *Yamamoto T, Carr PA, Bainbridge KG, Nagy JI* (1989) Parvalbumin- and calbindin D28k-immunoreactive neurons in the superficial layers of the spinal cord dorsal horn of rat. *Brain Res Bull* 23:493–508.
[https://doi.org/10.1016/0361-9230\(89\)90195-0](https://doi.org/10.1016/0361-9230(89)90195-0)
 31. *Tiong SYX, Polgár E, van Kralingen JC, Watanabe M, Todd AJ* (2011) Galanin-immunoreactivity identifies a distinct population of inhibitory interneurons in laminae I–III of the rat spinal cord. *Mol Pain* 7:36.
<https://doi.org/10.1186/1744-8069-7-36>
 32. *Molgaard S, Ulrichsen M, Boggild S, Holm M-L, Vaegter C, Nyengaard J, Glerup S* (2014) Immunofluorescent visualization of mouse interneuron subtypes. *F1000Res* 3:242.
<https://doi.org/10.12688/f1000research.5349.2>
 33. *Antal M, Polgár E, Chalmers J, Minson JB, Llewellyn-Smith I, Heizmann CW, Somogyi P* (1991) Different populations of parvalbumin- and calbindin-D28k-immunoreactive neurons contain GABA and accumulate 3H-D-aspartate in the dorsal horn of the rat spinal cord. *J Comp Neurol* 314:114–124.
<https://doi.org/10.1002/cne.903140111>
 34. *Kim YJ, Moon DE, Kim OS, Lee YK* (1995) Morphology and topographic distribution of calbindinergic and parvalbuminergic neurons in the rabbit cervical cord. *Korean J Anesthesiol* 29:329.
<https://doi.org/10.4097/kjae.1995.29.3.329>
 35. *Rausell E, Bae CS, Viñuela A, Huntley GW, Jones EG* (1992) Calbindin and parvalbumin cells in monkey VPL thalamic nucleus: distribution, laminar cortical projections, and relations to spinothalamic terminations. *J Neurosci Off J Soc Neurosci* 12:4088–4111.
<https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.12-10-04088.1992>
 36. *Satoh J, Tabira T, Sano M, Nakayama H, Tateishi J* (1991) Parvalbumin-immunoreactive neurons in the human central nervous system are decreased in Alzheimer's disease. *Acta Neuropathol (Berl)* 81:388–395.
<https://doi.org/10.1007/BF00293459>
 37. *Dougherty KJ, Sawchuk MA, Hochman S* (2009) Phenotypic diversity and expression of GABAergic inhibitory interneurons during postnatal development in lumbar spinal cord of glutamic acid decarboxylase 67-green fluorescent protein mice. *Neuroscience* 163:909–919.
<https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2009.06.055>
 38. *Gradwell MA, Boyle KA, Browne TJ, Bell AM, Leonardo J, Peralta Reyes FS, Dickie AC, Smith KM, Callister RJ, Dayas CV, Hughes DI, Graham BA* (2022) Diversity of inhibitory and excitatory parvalbumin interneuron circuits in the dorsal horn. *Pain* 163:e432–e452.
<https://doi.org/10.1097/j.pain.0000000000002422>
 39. *Petitjean H, Pawlowski SA, Fraine SL, Sharif B, Hamad D, Fatima T, Berg J, Brown CM, Jan L-Y, Ribeiro-da-Silva A, Braz JM, Basbaum AI, Sharif-Naeini R* (2015) Dorsal horn parvalbumin neurons are gate-keepers of touch-evoked pain after nerve injury. *Cell Rep* 13:1246–1257.
<https://doi.org/10.1016/j.celrep.2015.09.080>
 40. *Cui L, Miao X, Liang L, Abdus-Saboor I, Olson W, Fleming MS, Ma M, Tao Y-X, Luo W* (2016) Identification of early RET+ deep dorsal spinal cord interneurons in gating pain. *Neuron* 91:1413.
<https://doi.org/10.1016/j.neuron.2016.09.010>
 41. *Huang J, Chen J, Wang W, Wang W, Koshimizu Y, Wei Y-Y, Kaneko T, Li Y-Q, Wu S-X* (2010) Neurochemical properties of enkephalinergic neurons in lumbar spinal dorsal horn revealed by preproenkephalin-green fluorescent protein transgenic mice. *J Neurochem* 113:1555–1564.
<https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.2010.06715.x>
 42. *Stewart W, Maxwell DJ* (2003) Distribution of and organization of dorsal horn neuronal cell bodies that possess the muscarinic m2 acetylcholine receptor. *Neuroscience* 119:121–135.
[https://doi.org/10.1016/s0306-4522\(03\)00116-7](https://doi.org/10.1016/s0306-4522(03)00116-7)
 43. *Ritz LA, Greenspan JD* (1985) Morphological features of lamina V neurons receiving nociceptive input in cat sacrocaudal spinal cord. *J Comp Neurol* 238:440–452.
<https://doi.org/10.1002/cne.902380408>
 44. *Fu Y, Sengul G, Paxinos G, Watson C* (2012) The spinal precerebellar nuclei: calcium binding proteins and gene expression profile in the mouse. *Neurosci Lett* 518:161–166.
<https://doi.org/10.1016/j.neulet.2012.05.002>
 45. *Hirai N, Hongo T, Sasaki S, Yoshida K* (1979) The neck and labyrinthine influences on cervical spinocerebellar tract neurones of the central cervical nucleus in the cat. *Prog Brain Res* 50:529–536.
[https://doi.org/10.1016/S0079-6123\(08\)60851-1](https://doi.org/10.1016/S0079-6123(08)60851-1)
 46. *Matsushita M, Hosoya Y, Ikeda M* (1979) Anatomical organization of the spinocerebellar system in the cat, as studied by retrograde transport of horseradish peroxidase. *J Comp Neurol* 184:81–106.
<https://doi.org/10.1002/cne.901840106>
 47. *McKelvey-Briggs DK, Saint-Cyr JA, Spence SJ, Partlow GD* (1989) A reinvestigation of the spinovestibular projection in the cat using axonal transport techniques. *Anat Embryol (Berl)* 180:281–291.
<https://doi.org/10.1007/BF00315886>
 48. *Sato H, Ohkawa T, Uchino Y, Wilson VJ* (1997) Excitatory connections between neurons of the central cervical nucleus and vestibular neurons in the cat. *Exp Brain Res* 115:381–386.
<https://doi.org/10.1007/pl00005708>
 49. *Tan S, Faull RLM, Curtis MA* (2023) The tracts, cytoarchitecture, and neurochemistry of the spinal cord. *Anat Rec Hoboken NJ* 2007 306:777–819.
<https://doi.org/10.1002/ar.25079>
 50. *Verburgh CA, Kuypers HG, Voogd J, Stevens HP* (1989) Spinocerebellar neurons and propriospinal neurons in the cervical spinal cord: a fluorescent double-labeling study in the rat and the cat. *Exp Brain Res* 75:73–82.
<https://doi.org/10.1007/BF00248532>
 51. *Celio MR* (1990) Calbindin D-28k and parvalbumin in the rat nervous system. *Neuroscience* 35:375–475.
[https://doi.org/10.1016/0306-4522\(90\)90091-h](https://doi.org/10.1016/0306-4522(90)90091-h)
 52. *Chen S, Yang G, Zhu Y, Liu Z, Wang W, Wei J, Li K, Wu J, Chen Z, Li Y, Mu S, OuYang L, Lei W* (2016) A comparative study of three interneuron types in the rat spinal cord. *PLoS One* 11:e0162969.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0162969>

53. Fahandejsaadi A, Leung E, Rahaii R, Bu J, Geula C (2004) Calbindin-D28K, parvalbumin and calretinin in primate lower motor neurons. *Neuroreport* 15:443–448. <https://doi.org/10.1097/00001756-200403010-00012>
54. Boehme CC (1968) The neural structure of Clarke's nucleus of the spinal cord. *J Comp Neurol* 132:445–461. <https://doi.org/10.1002/cne.901320306>
55. Loewy AD (1970) A study of neuronal types in Clarke's column in the adult cat. *J Comp Neurol* 139:53–79. <https://doi.org/10.1002/cne.901390104>
56. Snyder RL, Faull RL, Mehler WR (1978) A comparative study of the neurons of origin of the spinocerebellar afferents in the rat, cat and squirrel monkey based on the retrograde transport of horseradish peroxidase. *J Comp Neurol* 181:833–852. <https://doi.org/10.1002/cne.901810409>
57. Han Q, Feng J, Qu Y, Ding Y, Wang M, So K-F, Wu W, Zhou L (2013) Spinal cord maturation and locomotion in mice with an isolated cortex. *Neuroscience* 253:235–244. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2013.08.057>
58. Benito-Gonzalez A, Alvarez FJ (2012) Renshaw cells and Ia inhibitory interneurons are generated at different times from p1 progenitors and differentiate shortly after exiting the cell cycle. *J Neurosci Off J Soc Neurosci* 32:1156–1170. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3630-12.2012>
59. Jankowska E (2013) Spinal Interneurons. In: Pfaff DW (ed) *Neuroscience in the 21st Century*. Springer New York, New York, NY, pp 1063–1099.
60. Hughes DI, Boyle KA, Kinnon CM, Bilsland C, Quayle JA, Callister RJ, Graham BA (2013) HCN4 subunit expression in fast-spiking interneurons of the rat spinal cord and hippocampus. *Neuroscience* 237:7–18. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2013.01.028>
61. Siembab VC, Smith CA, Zagoraiou L, Berrocal MC, Mentis GZ, Alvarez FJ (2010) Target selection of proprioceptive and motor axon synapses on neonatal V1-derived Ia inhibitory interneurons and Renshaw cells. *J Comp Neurol* 518:4675–4701. <https://doi.org/10.1002/cne.22441>
62. Renshaw B (1946) Central effects of centripetal impulses in axons of spinal ventral roots. *J Neurophysiol* 9:191–204. <https://doi.org/10.1152/jn.1946.9.3.191>
63. Matsuyama K, Kobayashi S, Aoki M (2006) Projection patterns of lamina VIII commissural neurons in the lumbar spinal cord of the adult cat: an anterograde neural tracing study. *Neuroscience* 140:203–218. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2006.02.005>
64. Lu J, Sherman D, Devor M, Saper CB (2006) A putative flip-flop switch for control of REM sleep. *Nature* 441:589–594. <https://doi.org/10.1038/nature04767>
65. Zhang JH, Morita Y, Hironaka T, Emson PC, Tohyama M (1990) Ontological study of calbindin-D28k-like and parvalbumin-like immunoreactivities in rat spinal cord and dorsal root ganglia. *J Comp Neurol* 302:715–728. <https://doi.org/10.1002/cne.903020404>
66. Kucharíková A, Schreiberová A, Závodská M, Gedrová Š, Hricová L, Pavel J, Gálik J, Maršala M, Lukáčová N (2014) Repeated Baclofen treatment ameliorates motor dysfunction, suppresses reflex activity and decreases the expression of signaling proteins in reticular nuclei and lumbar motoneurons after spinal trauma in rats. *Acta Histochem* 116:344–353. <https://doi.org/10.1016/j.acthis.2013.08.012>
67. Solbach S, Celio MR (1991) Ontogeny of the calcium binding protein parvalbumin in the rat nervous system. *Anat Embryol (Berl)* 184:103–124. <https://doi.org/10.1007/BF00942742>

DISTRIBUTION OF PARVALBUMIN-EXPRESSING NEURONAL POPULATIONS IN THE CAT CERVICAL AND LUMBAR SPINAL CORD GRAY MATTER

A. A. Veshchitskii^a, P. E. Musienko^a, and N. S. Merkulyeva^{a, #}

^a*Pavlov Institute of Physiology of the Russian Academy of Sciences, St. Petersburg, Russia*

[#] *e-mail: mer-natalia@yandex.ru*

Parvalbumin is a classical marker of interneuronal populations in the central nervous system. Analyzing the cervical and lumbar spinal cord segments of cats (*Felis catus*), both individual cells and entire populations of neurons expressing parvalbumin were identified in most of the gray matter laminae. These populations have strict laminar and nuclear localization. Numerous neuronal clusters are located in the medial part of lamina V–VI and in laminae VII of cervical and lumbar enlargements. We believe that the first one located in segments C4–C8 and L4–L7 may participate in the modulatory mechanisms of locomotor activity via the convergence of cutaneous and proprioceptive afferentation from the limbs. Neuronal populations in lamina VII consist of Ia interneurons and Renshaw interneurons that participate in the motoneuron inhibition. Less numerous populations of parvalbumin-immunopositive cells found in laminae III possibly participated in the regulation of cutaneous sensitivity. Another population located in lamina VIII possibly forms commissural and propriospinal connections and participates in modulating the activity of motoneurons. Immunopositive interneurons also revealed in the precerebellar nuclei: central cervical nucleus and Clarke's nucleus; unlike the general population of these nuclei, neurons revealed are interneurons. Scarce immunopositive cells are found in lamina I of L6–L7 segments, as well as in laminae II, IV, and X of all segments investigated.

Keywords: calcium-binding protein, parvalbumin, spinal cord, cervical and lumbar enlargement, cat