

СТИМУЛЯЦИЯ СПИННОГО МОЗГА ДЕЦЕРЕБРИРОВАННОЙ КРЫСЫ ДВОЙНЫМИ ИМПУЛЬСАМИ

© 2024 г. В. А. Ляховецкий¹, П. Ю. Шкорбатова¹, О. В. Горский^{1, 2}, Н. В. Павлова¹,
Е. Ю. Баженова¹, П. Е. Мусиенко^{1, 2, †, *}, Н. С. Меркульева^{1, †, *}

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

² Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия

* e-mail: mer-natalia@yandex.ru, pol-spb@mail.ru

† авторы с равным вкладом

Поступила в редакцию 22.11.2023

После доработки 06.03.2024

Принята к публикации 07.06.2024

Анализ ответов, обусловленных электрической стимуляцией, — одна из экспериментальных парадигм изучения возбудимости нервной системы. В частности, широко используется методика регистрации ответов мышц на электрическую эпидуральную стимуляцию (ЭС) спинного мозга (СМ) человека и животных. У крыс, децеребрированных на преколликулярном уровне, анализировали ответы *mm. tibialis anterior* (TA) и *gastrocnemius medialis* (GM) при ЭС спинальных сегментов L2, L4, L6 и трансвертебральной стимуляции (ТС) на уровне позвонков VL2, VL4, VL6 одиночными и двойными импульсами. Находили токи, при которых амплитуда сенсорного компонента ответа для одиночного импульса и одного из импульсов пары была максимальна. На минимальном из этих токов анализировали отношение амплитуд сенсорного компонента ответа на первый и второй импульсы к амплитуде сенсорного компонента ответа на одиночный импульс. Для обеих мышц было получено ослабление ответа на оба импульса пары при ТС VL2 и VL4, при этом при стимуляции VL2 ответ TA на второй импульс был ниже, чем на первый. Напротив, при ЭС всех сегментов интереса для обеих мышц было получено облегчение ответа на второй импульс. Подобный эффект облегчения качественно наблюдался и для двух других мышц, *mm. iliacus* и *vastus lateralis*. Таким образом, использование двойных импульсов при стимуляции позволило выявить зависимость отклика нейронных сетей СМ от способа их активации (ТС или ЭС). Облегчение ответа на второй импульс при ЭС предположительно объясняется уменьшением пресинаптического торможения вследствие децеребрации.

Ключевые слова: децеребрированная крыса, эпидуральная стимуляция, трансвертебральная стимуляция, вызванный потенциал, облегчение ответа на парные импульсы

DOI: 10.31857/S0044452924020051, EDN: XANEMU

ВВЕДЕНИЕ

Анализ ответов, вызванных электрической стимуляцией, — одна из экспериментальных парадигм исследования нервной системы. Сравнение ответов мышц при электрической стимуляции спинного мозга (СМ) или спинномозговых нервов в норме и при спинальной травме позволяет выявить природу нарушений работы нейрональных спинальных сетей и наблюдать за процессом их восстановления в клинической и экспериментальной практике [1–4].

В ответе мышц на электрическую стимуляцию СМ различают коротколатентный моторный компонент, связанный с непосредственным электрическим раздражением моторных волокон нерва, и более длиннолатентный сенсорный компонент, связанный с реакцией спинальных нейронных сетей

на воздействие. В свою очередь, сенсорный компонент можно подразделить на подкомпоненты, обладающие различной латентностью, обусловленные реакцией моно-, олиго- и полисинаптических нейронных циклов на воздействие [5]. Электрическая стимуляция может осуществляться как одиночными, так и двойными (парными) импульсами или же пачками импульсов. При стимуляции двойными импульсами, как правило, наблюдается угасание сенсорного компонента ответа на второй импульс пары [5–7].

Наряду с кошкой крыса используется для исследования локомоции, в частности, широко распространена хроническая модель спинальной травмы вследствие контузии или перерезки СМ [2, 8]. Важной составляющей методик восстановления локомоции является электрическое воздействие на СМ —

эпидуральное [2], подкожное [9] или накожное [10]. Прежде нами также предлагался трансвертебральный способ крепления стимулирующего электрода, пригодный как для хронических, так и острых экспериментов [11]. Этот способ менее инвазивен, чем эпидуральная стимуляция (ЭС) и в то же время, в отличие от накожной стимуляции, обеспечивает возможность прицельной стимуляции определенных корешков СМ.

В острых экспериментах возможно использовать модель децеребрированных грызунов, у которых отсечена часть головного мозга выше передних холмов. Данная модель способна как к спонтанной локомоции [12, 13], так и к локомоции, вызванной стимуляцией мезэнцефалической локомоторной области [12, 14] или ЭС [15].

Прежде при ЭС децеребрированной крысы в исследованиях вызванных ответов мышц использовались лишь одиночные импульсы. Двойные импульсы использовались нами ранее как вспомогательное средство для определения латентностей сенсорного и моторного компонента ответа мышцы при трансвертебральной стимуляции (ТС) децеребрированной крысы [11].

Цель настоящей работы — сравнительный анализ вызванных ответов мышц задних конечностей децеребрированной крысы на одиночные и двойные импульсы при ТС и ЭС поясничных сегментов. Поскольку ТС и ЭС приводят к сходным паттернам мышечных ответов на одиночные импульсы, подобным кривым рекрутирования при стимуляции большеберцового или седалищного нерва [5], мы предполагали, что ответ на двойные импульсы не будет зависеть от способа электрической стимуляции: ответ на второй импульс пары будет ниже, чем на первый. Между тем ответ мышц зависит от положения сайта стимуляции: чем он ближе к дорсальным и вентральным корешкам сегментов СМ, содержащих мотонейронные пулы определенной мышцы, тем большими будут ее сенсорный и моторный компонент ответа на стимуляцию [11, 16]. Поэтому в данной работе мы использовали ТС трех позвонков: VL2, VL4 и VL6, и ЭС трех сегментов СМ: L2, L4 и L6.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Выборка. Опыты были выполнены на 9 децеребрированных крысах, самцах линии Вистар весом 250–300 г. Экспериментальные процедуры проводились в соответствии с требованиями Директивы Совета Европы 2010 / 63EU Европейского парламента о защите животных, используемых в экспериментальных и других научных целях. Протокол исследования № 131-03-06 от 12 декабря 2022 г. был одобрен Этическим комитетом в области исследований на животных СПбГУ.

Хирургические процедуры. Животных наркотизировали смесью изофлурана (Laboratories Karizoo, S.A., Испания) на кислороде (4–5% для индукции и 1–2% для поддержания анестезии, скорость 0.8 л/мин, наркозно-дыхательный аппарат Зоомед, Россия). Производили билатеральную имплантацию биполярных миографических электродов в мышцы голени: переднюю большеберцовую (*m. tibialis anterior*, ТА, флексор стопы) и медиальную икроножную (*m. gastrocnemius medialis*, GM, экстензор стопы). У одного животного электроды также имплантировали слева в подвздошную мышцу (*m. iliacus*, IL, флексор бедра) и в латеральную широкую мышцу (*m. vastus lateralis*, VL, экстензор колена). Электроды представляли собой пару проводов из нержавеющей стали в тефлоновой изоляции (AS632, Cooner Wire, Chatsworth, CA, США) диаметром 0.3 мм с участками без изоляции длиной 0.5 мм.

После лигирования сонных артерий голову крысы закрепляли в стереотаксе и проводили децеребрацию на преколликулярном уровне при помощи вертикально опускаемого лезвия, закрепленного в держателе стереотаксиса; оставшуюся рострально от разреза кору головного мозга удаляли при помощи кюретки. Методика проведения процедуры децеребрации была подробно описана ранее [15].

Для проведения ТС животное помещали в специальную стереотаксическую раму, где голова жестко фиксировалась ушными и челюстными зажимами, а тело в области груди, живота и таза поддерживали несколько полосок мягкой ткани. Задние конечности находились в безопорном состоянии. Ручной дрелью горизонтально просверливали сквозные отверстия (диаметр 1 мм) в остистых отростках позвонков VL2, VL4, VL6 вблизи их основания. Для проведения ЭС, в стереотаксической раме позвоночник закрепляли зажимами в области поперечных отростков позвонков VT11–VT12 и VL4–VL5. Производили интерламинэктомию в позвонках VT13–VL2, чтобы открыть доступ к сегментам L2–L6 СМ (рис. 1а, б). За 20–30 мин до начала эксперимента анестезию отключали, а температуру тела животного повышали до 37°C [17]. Эксперимент начинали через 40–50 мин после проведения децеребрации.

Электрофизиологическое исследование. Стимуляцию осуществляли прямоугольными бифазными импульсами монополярно (Model 2100, A-M Systems, Sequim, WA, США). Для ТС проволочный электрод, тефлоновая изоляция которого была удалена полосой 2 мм, на расстоянии 2 см от кончика провода, поочередно помещали в отверстие каждого из остистых отростков и фиксировали на входе и выходе. Вызванные потенциалы мышц регистрировали при ТС позвонков VL2, VL4, VL6 одиночными (длительность импульса 0.2–0.3 мс, сила тока 100–3000 мкА, шаг 100 мкА) и двойными (межстимульный

интервал 20 мс, длительность импульса 0.2–0.3 мс, 100–3000 мкА, шаг 100 мкА) импульсами. Сила тока при подаче обоих импульсов была одинакова, оба импульса подавались на один позвонок.

ЭС проводили при помощи серебряного шарикового электрода диаметром 0.5 мм, которым касались твердой мозговой оболочки над сегментами L2–L6 в области средней линии СМ. Индифферентный электрод, изготовленный из иглы 21G, располагался под кожей живота в области белой линии. Вызванные потенциалы мышц регистрировали при ЭС сегментов L2, L4 и L6 одиночными (длительность импульса 0.2–0.3 мс, сила тока 10–300 мкА, шаг 10 мкА) и двойными (межстимульный интервал 20 мс, длительность импульса 0.2–0.3 мс, сила тока 10–200 мкА, шаг 10 мкА) импульсами. Для нескольких животных при ЭС одного из сегментов использовали межстимульный интервал в 50 мс. Сила тока при подаче обоих импульсов была одинакова, оба импульса подавались на один сегмент.

Как одиночные, так и двойные импульсы подавались 1 раз в сек (частота 1 Гц), при каждой амплитуде тока подавалось 10 импульсов. При ЭС верхнепоясничных сегментов токи для вызова моторного компонента мышечного ответа достаточно высоки [16], поэтому в данной работе анализ ограничен исследованием сенсорного компонента мышечного

ответа, выделенного на основе латентности (более 6 мс). Для анализа вызванных потенциалов использовали среднюю амплитуду сенсорного компонента ответов ТА и GM на одиночные импульсы (H), а также на первый (H1) и второй (H2) импульс пары (рис. 1с).

Сигналы от ЭМГ электродов усиливались (Model 1700, A-M Systems, Sequim, WA, USA) и оцифровывались с частотой дискретизации 20 кГц (LTR-EU-16, АЦП LTR11, L-Card, Москва, Россия). Обработку ЭМГ проводили в пакете прикладных программ для решения задач технических вычислений MATLAB (Mathworks, Natick, MA, USA) с помощью специализированных скриптов, разработанных авторами статьи.

Точное определение стимулируемого при ЭС сегмента производили *post-mortem* у каждого животного на основании положения дорсальных корешков, так как положение поясничных и крестцовых сегментов СМ крысы относительно позвонков варьирует (см. различия положений сегментов в [18], рис. 1 и [19], рис. 1b Supplement), поэтому у некоторых животных вызванные потенциалы были зарегистрированы не во всех сегментах интереса.

Эксперимент прекращали при ухудшении состояния животного; при этом в анализ вошли файлы, полученные до этого ухудшения. Данное

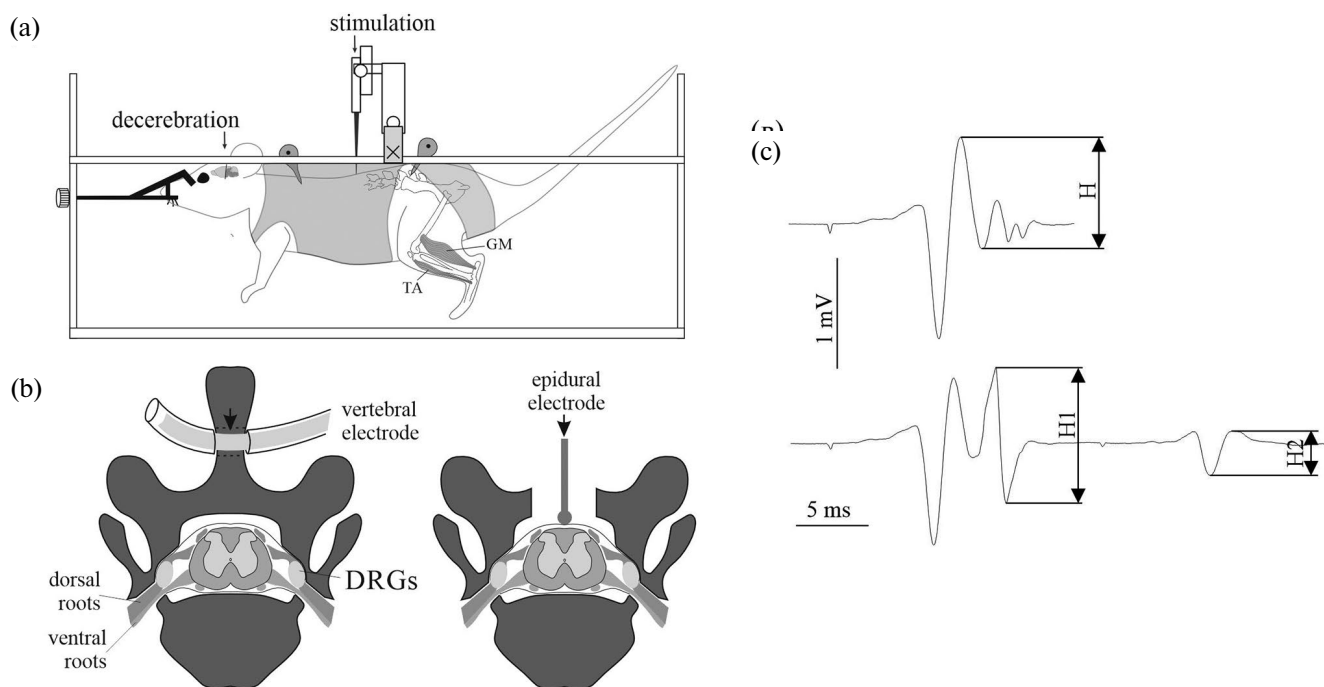


Рис. 1. Схема эксперимента по трансвертебральной и эпидуральной стимуляции спинного мозга крысы. (a) – схема экспериментальной установки. Decerebration – зона децеребрации, stimulation – зона фиксации стимулирующего электрода, TA – *m. tibialis anterior*, GM – *m. gastrocnemius medialis*; (b) – положение вертебрального (vertebral) и эпидурального (epidural) стимулирующих электродов относительно позвонка и спинного мозга, dorsal roots – дорсальные корешки спинного мозга, ventral roots – вентральные корешки спинного мозга, DRG – дорсальный корешковый ганглий; (c) Определение амплитуд сенсорного компонента одиночного (H) импульса и первого (H1) и второго (H2) импульса при парной стимуляции. На примере среднего вызванного ответа правого GM при трансвертебральной стимуляции VL2 крысы #9 на токе 900 мкА.

обстоятельство также уменьшало количество зарегистрированных значений в какой-либо экспериментальной точке. Длительность эксперимента не превышала 9 ч.

Статистический анализ. Статистической обработке подвергались данные, полученные при исследовании ответов мышц TA и GM на ТС и ЭС одиночными и двойными (с межстимульным интервалом 20 мс) импульсами. Данные представлены как среднее значение $\pm$ стандартное отклонение. В случае, если исследуемые параметры были распределены нормально по критерию д'Агостини – Пирсона, использовались параметрические критерии анализа (критерий Стьюдента для одной выборки или же парный критерий (t), одномерная ANOVA (F) с пост-хок тестом Тьюки), в противном случае использовались непараметрические критерии (критерий Уилкоксона для одной выборки или же парный критерий (W), критерий Краскела – Уоллиса (KW) с пост-хок тестом Данна). Статистическую значимость оценивали на уровне $p < 0.05$ (объектом исследования являлась мышца животного) с помощью программного обеспечения для статистической обработки данных Prism 7.0 (GraphPadSoftware, La Jolla, CA, США).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Типичная картина изменения ответов на двойные импульсы при ТС и ЭС по мере увеличения амплитуды тока стимуляции для мышц TA и GM, вызванные потенциалы которых подвергались статистической обработке, приведена на рис. 2а. При ТС в первую очередь появляются более длиннолатентные сенсорные компоненты ответа, предположительно имеющие моносинаптическую природу (MR). Затем, по мере увеличения амплитуды стимуляционного тока, возникают коротколатентные компоненты ответа, по-видимому, связанные с непосредственной стимуляцией вентральных корешков СМ (ER) [11]. Видно, что при ТС сенсорный компонент ответа на второй импульс имеет меньшую амплитуду, чем при ответе на первый импульс ($H2 < H1$). Напротив, при ЭС сегмента L2 наблюдаются только сенсорные компоненты ответа, имеющие моносинаптическую природу (MR) [5], причем сенсорный компонент ответа на второй импульс имеет большую амплитуду, чем при ответе на первый импульс ($H2 > H1$).

Можно предполагать, что на относительно низких частотах стимуляции (менее 0.2 Гц) ответы на одиночные импульсы и на первый импульс парной стимуляции будут идентичны, в этом гипотетическом случае можно ограничиться анализом ответов на двойные импульсы. Однако при выбранной нами из практических соображений, связанных с ограниченным временем опыта и из-

менением функционального состояния животного в ходе опыта, частоте стимуляции 1 Гц ответы на одиночный импульс и первый импульс пары не были одинаковы, поэтому для оценки степени изменения сенсорного компонента ответа мышц на двойную стимуляцию была использована следующая вычислительная процедура. Было проведено сравнение амплитуд ответов на первый и второй импульс пары (межстимульный интервал 20 мс), а также их отношений к ответу на одиночный импульс. При этом надо учитывать, что кривая рекрутирования сенсорного компонента ответа как при ЭС [4, 16], так и при ТС [15] по мере увеличения тока стимуляции выходит на плато или снижается; в таком случае наблюдаемые эффекты могут теряться. Поэтому для дальнейшего анализа особенностей ответов на двойные импульсы была использована следующая процедура (рис. 2б). По кривой рекрутирования для ТС определяли ток I_H , при котором сенсорный компонент ответа на одиночный импульс достигал максимального значения (выделен жирным), и ток I_{H1} , при котором сенсорный компонент ответа на первый импульс пары достигал максимального значения. На рис. 2б (слева) показан пример, когда токи I_H и I_{H1} совпадают, что наблюдается не всегда. Если эти два тока были различны, то на минимальном из них определяли отношения амплитуд сенсорных компонентов ответа на первый и второй импульсы пары к ответу на одиночный импульс ($H1/H$ и $H2/H$, соответственно). По кривой рекрутирования для ЭС определяли ток I_H , при котором сенсорный компонент ответа на одиночный импульс достигал максимального значения (выделен жирным), и ток I_{H2} , при котором сенсорный компонент ответа на второй импульс пары достигал максимального значения. На рис. 2б (справа) ток I_H меньше тока I_{H2} . На минимальном из этих двух токов определяли отношения амплитуд сенсорных компонентов ответа на первый и второй импульсы пары к ответу на одиночный импульс ($H1/H$ и $H2/H$ соответственно). Токи интереса отмечены на рис. 2б пунктирными прямоугольниками. У каждого животного для каждой точки стимуляции были получены ответы как на двойные, так и на одиночные импульсы, поэтому все индивидуальные отношения $H1/H$ и $H2/H$ содержат в знаменателе одну и ту же амплитуду одиночного импульса H . Сравнивая эти отношения между собой, можно судить о том, какой импульс, первый или второй, вызывает больший ответ.

При ТС одного и того же позвонка токи I_H и I_{H1} не отличались друг от друга (рис. 3а). Между тем, при ТС позвонка VL6 токи I_H и I_{H1} для TA и GM выше, чем при ТС позвонков VL2 и VL4 (рис. 3а). Для токов I_H у TA $KW(3) = 17.2$, $p < 0.0002$; пост-хок тест Данна показывает, что отличия между I_H в трех

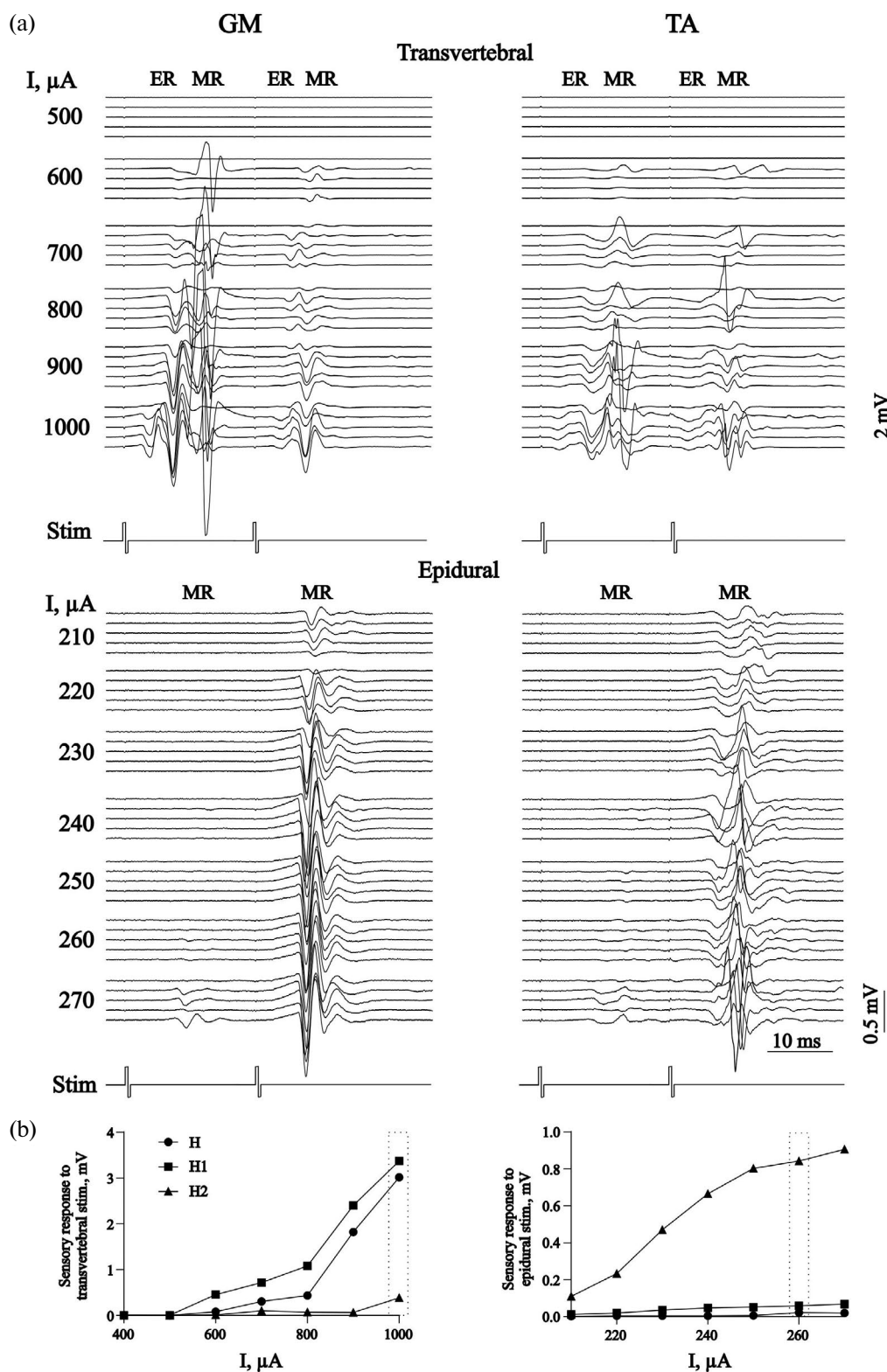


Рис. 2. Зависимость вызванных потенциалов от тока стимуляции: (a) — изменение вызванных ответов мышц на двойные импульсы по мере роста тока при трансвертебральной (transvertebral) (TC) и эпидуральной (epidural) стимуляции (ЭС). На каждом токе показано пять индивидуальных ответов мышцы. На примере правых *m. gastrocnemius medialis* (GM) и *m. tibialis anterior* (TA) при TC VL2 и ЭС L2 крысы #9. Stim — стимуляционный канал. ER — ранние, моторные компоненты ответа мышцы, MR — средние, сенсорные моносинаптические компоненты ответа мышцы; (b) — кривые рекрутирования при TC (слева) и ЭС (справа). H, H1, H2 — амплитуды сенсорного компонента ответа на одиночный импульс и на первый и второй импульсы пары соответственно. Пунктирным прямоугольником выделены значения, используемые в дальнейшем анализе. На примере GM при TC VL2 и ЭС L2 крысы #9.

стимулируемых позвонках выражаются в том, что I_H VL2 (1245 ± 624 мкА) и I_H VL4 (1389 ± 154 мкА) ниже, чем I_H VL6 (2042 ± 313 мкА), $p < 0.01$. Для токов I_{H1} у ТА $KW(3) = 16.1$, $p < 0.0003$; пост-хок тест Данна показывает, что отличия между I_{H1} в трех стимулируемых позвонках выражаются в том, что I_{H1} VL2 (1285 ± 654 мкА) и I_{H1} VL4 (1311 ± 203 мкА) ниже, чем I_{H1} VL6 (2000 ± 245 мкА), $p < 0.01$. Для токов I_H у ГМ $F(3) = 6.63$, $p < 0.0045$; пост-хок тест Тьюки показывает, что отличия между I_H в трех стимулируемых позвонках выражаются в том, что I_H VL2 (1305 ± 703 мкА) и I_H VL4 (1278 ± 222 мкА) ниже, чем I_H VL6 (1936 ± 323 мкА), $p < 0.05$. Для токов I_{H1} у ГМ $F(3) = 5.63$, $p < 0.009$; пост-хок тест Тьюки показывает, что отличия между I_{H1} в трех стимулируемых позвонках выражаются в том, что I_{H1} VL2 (1285 ± 694 мкА) и I_{H1} VL4 (1289 ± 203 мкА) ниже, чем I_{H1} VL6 (1859 ± 282 мкА), $p < 0.01$.

Ответы при ТС VL2 и VL4 двойными импульсами (рис. 3b) ниже, чем при стимуляции одиночными. Эффект несколько более выражен для ТА: отношение амплитуды ответа на второй и первый импульс к амплитуде одиночного импульса ниже 1 при ТС VL2 ($H2/H = 0.56 \pm 0.27$, $t(9) = 5.1$, $p < 0.0001$) и при ТС VL4 ($H1/H = 0.72 \pm 0.29$, $t(8) = 2.8$, $p < 0.02$ и $H2/H = 0.62 \pm 0.37$, $t(8) = 3.0$, $p < 0.02$). При этом для ГМ отношение к амплитуде одиночного импульса ниже 1 только при ТС VL4 ($H2/H = 0.46 \pm 0.41$, $t(8) = 3.87$, $p < 0.005$). Отметим, что при ТС VL2 для ТА уменьшение амплитуды ответа более выражено для второго импульса пары: $H1/H$ выше, чем $H2/H$ (0.79 ± 0.38 и 0.56 ± 0.27 , $t(9) = 2.3$, $p < 0.05$). При стимуляции VL6 выявлены значительные разбросы данных, поэтому отличия между отношениями ответов на первый и второй импульс к ответу на одиночный импульс не были получены.

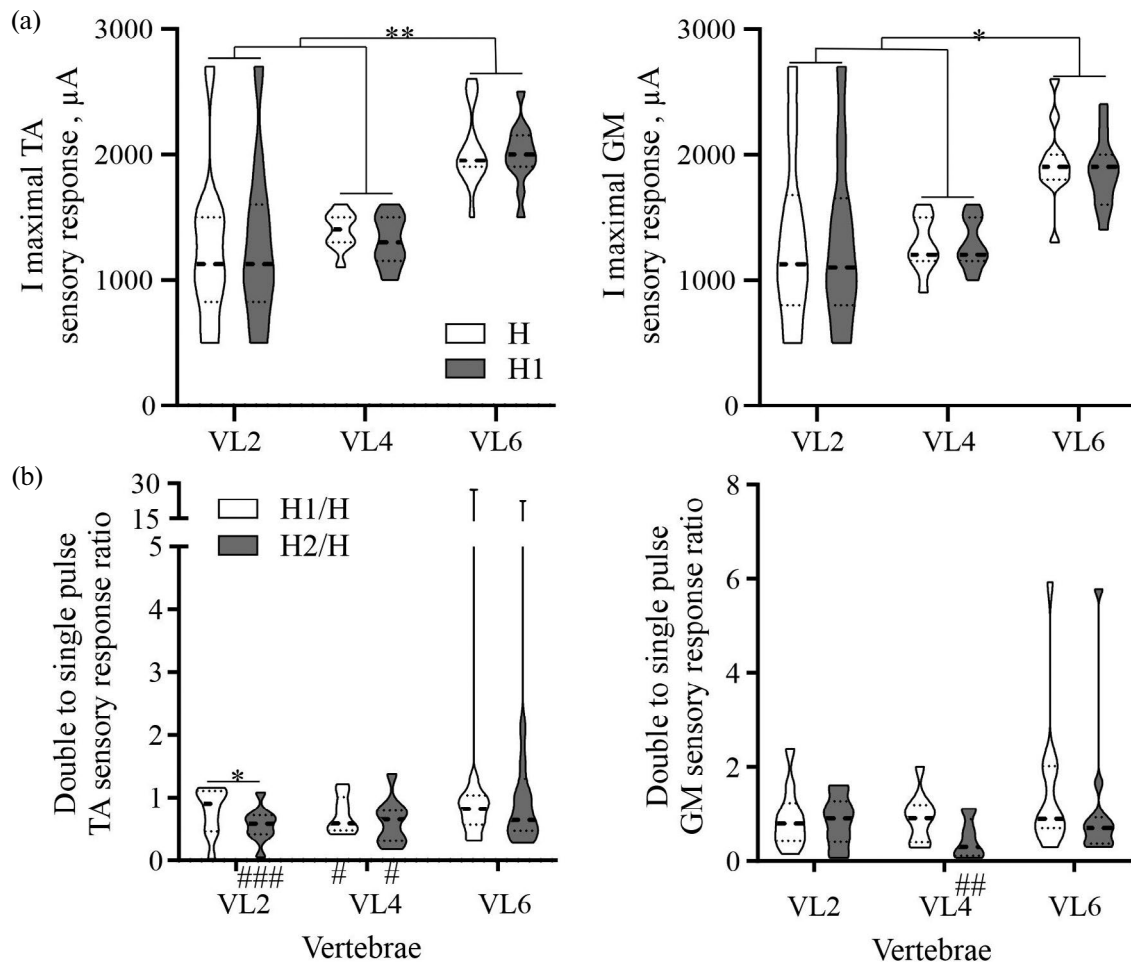


Рис. 3. Характеристики сенсорного компонента ответа *m. tibialis anterior* (ТА) и *m. gastrocnemius medialis* (ГМ) при трансвертебральной стимуляции с межстимульным интервалом 20 мс: (а) — токи, при которых регистрировался максимальный сенсорный ответ на одиночный (Н) и первый из пары (Н1) импульс при стимуляции позвонков (Vertebrae) VL2, VL4, VL6. *, ** — $p < 0.05$, $p < 0.01$ отличия между токами стимуляции; (б) Отношения амплитуд сенсорных компонентов ответа на первый и второй импульсы пары к ответу на одиночный импульс ($H1/H$ и $H2/H$ соответственно). #, ##, ### — $p < 0.05$, $p < 0.01$, $p < 0.001$ отличия от ответа на одиночный импульс, *, ** — $p < 0.05$, $p < 0.01$ отличия между ответами на первый и второй импульс пары.

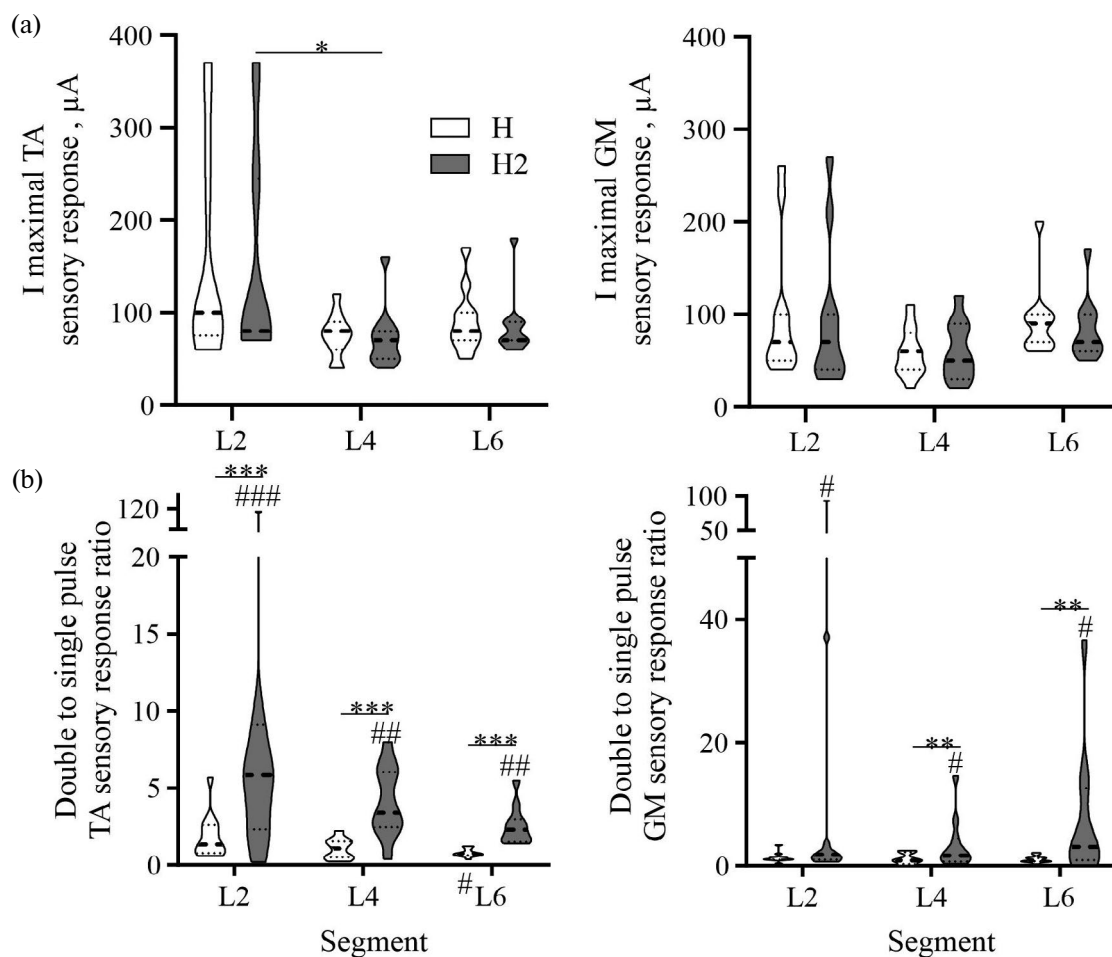


Рис. 4. Характеристики сенсорного компонента ответа *m. tibialis anterior* (ТА) и *m. gastrocnemius medialis* (GM) при эпидуральной стимуляции с межстимульным интервалом 20 мс: (а) Токи, при которых регистрировался максимальный сенсорный ответ на одиночный (Н) и второй из пары (Н2) импульс при стимуляции сегментов (Segment) L2, L4, L6. * – $p < 0.05$ отличия между токами стимуляции; (б) Отношения амплитуд сенсорных компонентов ответа на первый и второй импульсы пары к ответу на одиночный импульс (Н1/Н и Н2/Н соответственно). #, ##, ### – $p < 0.05$, $p < 0.01$, $p < 0.001$ отличия от ответа на одиночный импульс, **, *** – $p < 0.01$, $p < 0.001$ отличия между ответами на первый и второй импульс пары.

При ЭС токи I_H и I_{H2} не отличались друг от друга при стимуляции одного и того же сегмента (рис. 4а). Между тем при ЭС сегмента L2 токи I_{H2} для ТА выше, чем при ЭС сегмента L4: KW(3) = 6.6, $p < 0.04$, пост-хок тест Данна показывает, что отличия между I_{H2} в трех стимулируемых сегментах выражаются в том, что I_{H2} L2 (149 ± 114 мкА) выше, чем I_{H2} L4 (73 ± 33 мкА), $p < 0.04$. Для GM наблюдается значительная тенденция отличия токов I_H между сегментами: KW(3) = 5.9, $p = 0.053$.

Ответ на второй импульс пары при ЭС L2, L4 и L6 (рис. 4б) выше, чем при стимуляции одиночными импульсами. Для ТА отношения H2/Н выше 1 при ЭС L2 (15.87 ± 30.89 , W(13) = 89, $p < 0.001$), L4 (4.10 ± 2.28 , t(10) = 4.5, $p < 0.01$) и L6 (2.52 ± 1.24 , t(10) = 4.1, $p < 0.01$). Для GM отношение H2/Н выше 1 при ЭС L2 (13.14 ± 28.60 , W(11) = 52, $p < 0.02$), L4 (3.41 ± 4.23 , W(11) = 48, $p < 0.04$) и L6 (7.48 ± 10.85 , W(11) = 50, $p < 0.03$). Ответ на первый импульс пары достоверно ниже, чем ответ при стимуляции оди-

ночными импульсами, только для ТА при ЭС L6 ($H1/H = 0.78 \pm 0.25$, t(10) = 4.1, $p < 0.02$).

Для всех сегментов интереса ответ на первый импульс пары у ТА ниже, чем на второй ($H1/H < H2/H$) (L2: 1.83 ± 1.41 и 15.87 ± 30.89 , W(13) = 89, $p < 0.001$, L4: 1.05 ± 0.66 и 4.10 ± 2.28 , t(10) = 5.0, $p < 0.001$, L6: 0.78 ± 0.25 и 2.52 ± 1.24 , W(11) = 66, $p < 0.01$). Для GM ответ на первый импульс пары ниже, чем на второй при ЭС L4 и L6 ($H1/H < H2/H$) (L4: 1.09 ± 0.89 и 3.41 ± 4.23 , W(11) = 60, $p < 0.005$, L6: 1.07 ± 0.54 и 7.49 ± 10.85 , W(11) = 58, $p < 0.007$).

У одного животного были зафиксированы ответы IL и VL на ЭС всех сегментов интереса с межстимульным интервалом 20 мс; также у нескольких животных были зафиксированы ответы ТА и GM на ЭС некоторых сегментов интереса с межстимульным интервалом 50 мс (рис. 5). Из рисунка видно, что во всех случаях ответ на второй импульс был выше, чем на первый. При этом величины H1/Н и H2/Н

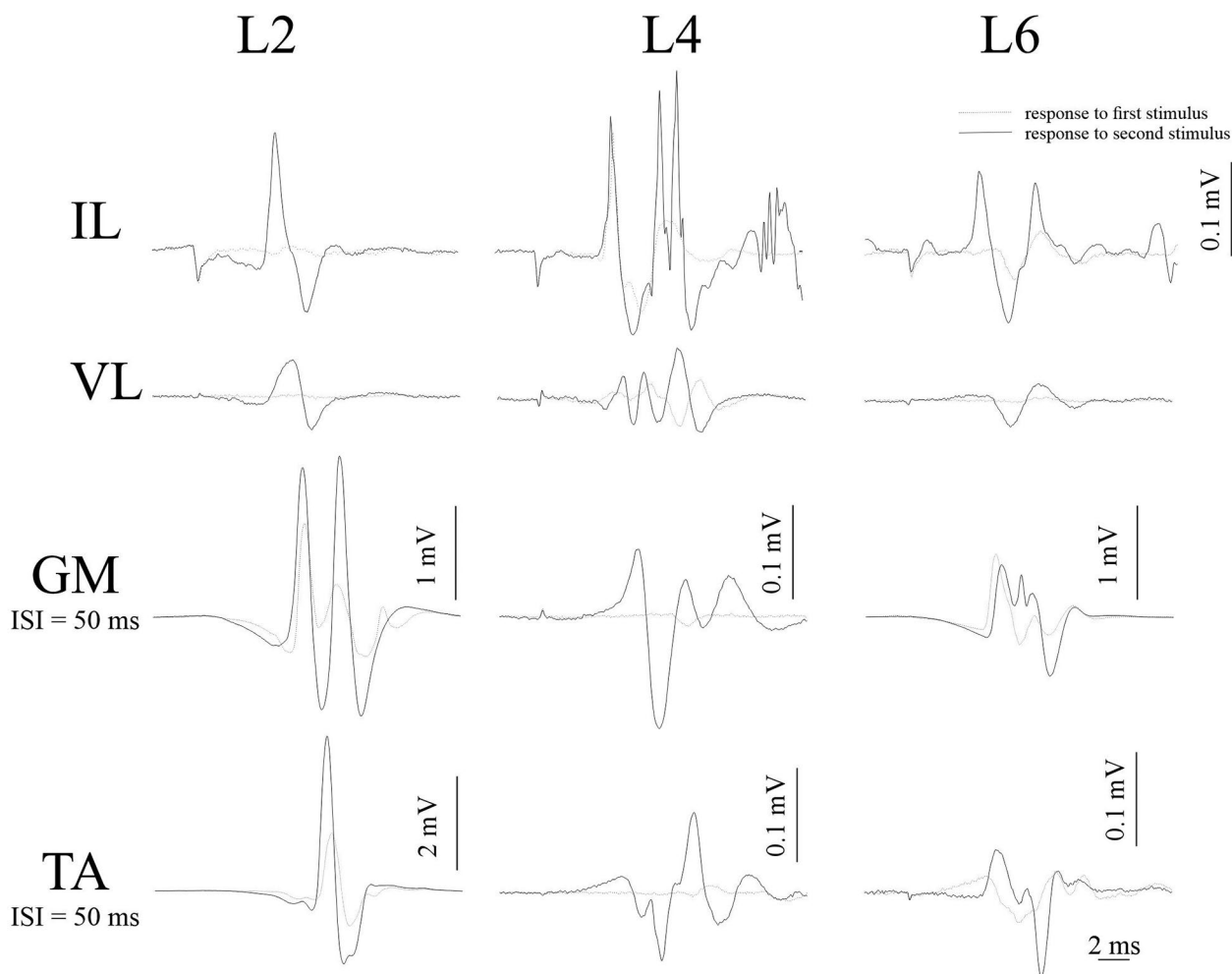


Рис. 5. Примеры средних вызванных ответов, обусловленных эпидуральной стимуляцией двойными импульсами, *m. iliacus* (IL) и *m. vastus lateralis* (VL) (межстимульный интервал 20 мс; крыса #11, сегмент L2 – ответы при амплитуде тока 120 мкА, сегменты L4 и L6 – ответы при амплитуде тока 60 мкА); *m. gastrocnemius medialis* (GM) и *m. tibialis anterior* (TA) (межстимульный интервал 50 мс; крыса #45, сегмент L2 – ответы при амплитуде тока 120 мкА, крыса #11, сегмент L4 – ответы при амплитуде тока 50 мкА, крыса #10, сегмент L6 – ответы при амплитуде тока 70 мкА), штрих – ответ на первый стимул, сплошная линия – ответ на второй стимул.

составляют для TA при ЭС L2–3.23 и 8.20, L4–0.26 и 1.27, L6–0.46 и 1.13 соответственно, а для GM при ЭС L2–0.68 и 1.34, L4–0.06 и 0.78, L6–1.46 и 2.01 соответственно (рис. 5).

ОБСУЖДЕНИЕ

Моносинаптический и нервно-мышечный ответ на второй импульс у млекопитающих – результат суперпозиции менее длительного процесса возбуждения и более длительного процесса торможения (депрессии) [20]. Паттерны ответов на двойные импульсы при ТС и ЭС поясничных сегментов децеребрированной крысы различались, что лишь частично подтвердило нашу первоначальную гипотезу. При ТС амплитуда импульсов пары по отношению к одиночному импульсу уменьшалась, при этом для TA при ТС VL2 ответ на второй импульс

пары был ниже, чем на первый. При ЭС ответ на второй импульс пары превышал ответ как на первый импульс, так и ответ на одиночный импульс для всех исследованных мышц. Качественно показано, что эффект облегчения сохранялся и при увеличении межстимульного интервала с 20 до 50 мс. Амплитуда первого импульса пары уменьшалась лишь для TA при ЭС L6.

Выбор токов стимуляции. Угасание ответа на второй импульс более выражено на субмаксимальных токах, при которых сенсорный компонент ответа составляет 50–75 % от максимального (см. [21], рис. 5; [22], рис. 10; [23], рис. 3). Между тем облегчение ответа на второй импульс, наблюдаемое при ЭС, представлялось целесообразным изучать при больших токах, на которых максимально выражен сенсорный компонент ответа, и менее значимы флюктуации его амплитуды [21], в связи с чем была

разработана вышеупомянутая вычислительная процедура. Сила тока, при которой был получен максимальный компонент сенсорного ответа на одиночный и двойной импульс, достоверно не отличается в рамках стимулируемого позвонка или сегмента, что хорошо согласуется с вычислительной моделью афферентной стимуляции популяции мотонейронов [24], согласно которой сила токов I_{H1} и I_{H2} подобна друг другу. Между тем сила токов I_{H1} и I_{H2} для ТА и GM выше при ТС VL6, чем при ТС VL2 и VL4, что может быть связано с достоверным ростокаудальным увеличением высоты остистых отростков позвоночника крысы [25]. Напротив, сила тока выше при ЭС L2, чем при ЭС L4, что согласуется с вычислительной моделью ЭС [16], согласно которой сила тока, необходимая для вызова сенсорного компонента ответа мышцы, уменьшается в каудальном направлении.

Топичность эффектов угасания и облегчения. Наблюдаемые эффекты угасания и облегчения ответа на второй импульс присутствуют при стимуляции как более ростральных, так и более каудальных локусов. Подобная генерализованность угасания ответов на второй импульс была показана прежде на хронических крысах с интактным СМ — степень депрессии при ЭС двойными стимулами сегментов L2 и S1 не различалась [5].

Следует отметить, что пулы мотонейронов ТА и GM частично расположены в одних и тех же сегментах: мотонейроны, иннервирующие ТА, находятся в зоне от середины сегмента L3 до начала сегмента L5, а мотонейроны, иннервирующие GM, — в зоне от середины сегмента L4 до начала сегмента S1 [26]. Это неизбежно приводит к одновременной активации ТА и GM как при ЭС, так и при ТС. При этом, согласно литературным данным, селективность при вызове сенсорного компонента ответа ниже, чем при вызове моторного компонента. Значительная селективность в сенсорных компонентах ответов ТА и GM показана лишь при ЭС сегмента L2 в острых экспериментах на наркотизированных крысах [16]. При ТС децеребрированных крыс зоны вызова сенсорного компонента ответа ТА и GM более широки (в ростокаудальном направлении) по сравнению с зоной вызова моторного компонента их ответа [11]. Более широкие зоны вызова сенсорного компонента ответа по сравнению с моторным были также показаны у человека при накожной стимуляции в различных локусах вдоль позвоночника (например, для VL) [7]. Таким образом, стимуляция СМ одновременно (хотя, быть может, в несколько различной степени, зависящей от положения электрода) вызывает ответы в обеих вышеуказанных мышцах-антагонистах. Известно, однако, что для данной пары мышц кондиционирующая стимуляция нерва, содержащего моторные волокна GM, не изменяет ответ ТА, а кондицио-

нирующая стимуляция нерва, содержащего моторные волокна ТА, облегчает ответ GM [27]. Таким образом, одновременная стимуляция и ТА, и GM, скорее всего, не является причиной как депрессии ответа на второй стимул при ТС, так и облегчения ответа ТА при ЭС.

Дополнительным аргументом в пользу того, что одновременная стимуляция антагонистов не является причиной наблюдаемых нами эффектов, является наблюдаемое в данной работе облегчение ответа IL на второй импульс при ЭС — моторные пулы этой мышцы, флексора бедра, расположены наиболее рострально, и, вероятно, в наименьшей степени занимают те же сегменты, что мотонейронные пулы ее антагониста, средней ягодичной мышцы, *m. gluteus medius* [19].

Отличия в ответах ТА и GM проявляются при ТС VL2 и VL4, но не VL6, что может быть связано с меньшей выраженностью моторного компонента ответа этих мышц при стимуляции данных позвонков [11]. При увеличении частоты стимуляции тормозные интернейроны вентральных рогов поясничного утолщения СМ крысы увеличивают степень торможения [28]. Вероятно, ЭС более каудальных сегментов (L6) в большей степени, при тех же токах стимуляции, активирует не только дорсальные, но и вентральные корешки [16], что увеличивает вклад тормозных процессов в формирование ответа мышцы и ведет к достоверному уменьшению ответа на первый импульс пары для ТА.

Угасание ответа на второй импульс при ТС. Увеличение частоты импульсов при стимуляции пачками импульсов, как правило, ведет к угасанию сенсорного компонента ответа [2, 29]. При этом степень угасания зависит от статуса нервной системы как человека (спинальная травма [30], глубокая стимуляция мозга при болезни Паркинсона [31]), так и лабораторных животных (спинализация крысы [2], введение анестетиков крысе [32]). Уменьшение ответа ТА на первый импульс пары при ТС VL4 может быть связано с увеличением средней частоты стимуляции (два импульса в секунду вместо одного). Известный эффект подавления сенсорного компонента ответа на второй импульс пары [3, 16, 21, 23] выражается в уменьшении ответа на второй импульс как по сравнению с первым импульсом пары (у ТА при ТС VL2), так и по сравнению с ответом на одиночный импульс (у ТА при ТС VL2, VL4, у GM при ТС VL4). Возможно, моторный компонент ответа, возникающий при ТС при относительно низком токе стимуляции [11], несколько препятствует облегчению сенсорного компонента мышечного ответа на второй импульс.

Облегчение ответа на второй импульс при ЭС. При ЭС для ТА и GM при стимуляции всех сегментов интереса наблюдался эффект облегчения

сенсорного ответа на второй импульс пары. В ряде работ показано крайне изменчивое облегчение ответа при парной или пачечной стимуляции: стимуляция нерва наркотизированной кошки (средний межстимульный интервал 15 мс, максимальное облегчение на 20 %, [20]; межстимульный интервал от 6 до 22 мс, максимальное облегчение на 723 %, [1]), ЭС шейного утолщения СМ наркотизированной обезьяны (частота пачечной стимуляции — 90–110 Гц, максимальное облегчение на второй импульс на 80 %, [33]), ЭС верхнегрудного отдела СМ человека, находящегося под анестезией (межстимульный интервал до 10 мс, ответ наблюдается лишь на второй импульс, [34]), накожная стимуляция лучевого нерва человека (частота пачечной стимуляции — 100 Гц, максимальное облегчение на второй и третий импульс до 30 %, [24]). Это облегчение, как правило, объясняется временной суммацией возбуждающих постсинаптических потенциалов на первый и второй импульсы [1, 24]. Интервал облегчения удлиняется при интактной нервно-мышечной передаче за счет того, что разряды мышечных веретен при сокращении мышцы в ответ на первый импульс могут облегчить последующий мышечный ответ [1, 21]. Однако в вышеприведенных литературных данных интервал облегчения не достигает используемого в нашей работе межстимульного интервала в 50 мс.

Ответы интернейронов дорсальных рогов СМ грызунов при увеличении частоты стимуляции имеют сложную картину: возбуждающие интернейроны дорсальных рогов СМ хомяка снижают степень возбуждения, в то время как тормозные интернейроны дорсальных рогов поясничного утолщения могут как увеличивать, так и снижать степень торможения [35]. Это позволяет предположить, что наблюдаемый нами феномен облегчения ответа на второй импульс при ЭС может быть обусловлен снижением тормозных влияний со стороны интернейронов дорсальных рогов СМ.

Зеркальный паттерн ответов при ЭС и ТС показывает, что временная суммация лишь частично объясняет полученные нами данные: в рамках одной экспериментальной модели децеребрированной крысы различные сайты стимуляции значительно влияют на баланс возбуждающих и тормозных процессов. Возможно, децеребрация является причиной повышенной возбудимости спинальных нейронных сетей. Длительная фаза возбуждения (до 200 мс) наблюдается при стимуляции медиального продольного пучка *in vitro* у препарата СМ новорожденных крысят, очевидно лишенного тормозных влияний со стороны головного мозга, — ответ на второй импульс пары облегчается в 1.5–2 раза [36]. Можно предположить, что ЭС в большей степени, чем ТС, влияет на тормозные интернейронные сети дорсальных рогов СМ, опосредованно снижая степень пресинаптического торможения.

ИСТОЧНИКИ ФИНАНСИРОВАНИЯ

Работа выполнена в рамках проекта СПбГУ № 93022925 (оплата работы О.В.Г., Н.В.П.), поддержана грантами РНФ 21-15-00235 (анализ данных); РНФ 22-15-00092 (проведение нейрофизиологических экспериментов).

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 Этического комитета в области исследований на животных СПбГУ, протокол № 131-03-06 от 12 декабря 2022 г.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

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

ВКЛАД АВТОРОВ

Идея работы и планирование эксперимента (В.А.Л., П.Е.М., Н.С.М.), сбор данных (П.Ю.Ш., О.В.Г., Е.Ю.Б., Н.В.П., В.А.Л., Н.С.М.), обработка данных (В.А.Л.), написание и редактирование манускрипта (П.Ю.Ш., В.А.Л., О.В.Г., Н.С.М., П.Е.М.).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. McLeod JG, Van der Meulen JP (1967) Effect of cerebellar ablation on the H reflex in the cat. *Arch Neurol* 16: 421–432.
<https://doi.org/10.1001/archneur.1967.00470220085010>
2. Lavrov I, Gerasimenko YP, Ichiyama RM, Courtine G, Zhong H, Roy RR, Edgerton VR (2006) Plasticity of spinal cord reflexes after a complete transection in adult rats: relationship to stepping ability. *J Neurophysiol* 96: 1699–1710.
<https://doi.org/10.1152/jn.00325.2006>
3. Hofstoetter US, Freundl B, Binder H, Minassian K (2019) Recovery cycles of posterior root-muscle reflexes evoked by transcutaneous spinal cord stimulation and of the H reflex in individuals with intact and injured spinal cord. *PLoS One* 14: e0227057.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0227057>
4. Sharma P, Shah PK (2021) *In vivo* electrophysiological mechanisms underlying cervical epidural stimulation in adult rats. *J Physiol* 599: 3121–3150.
<https://doi.org/10.1113/JP281146>
5. Gerasimenko YP, Lavrov IA, Courtine G, Ichiyama RM, Dy CJ, Zhong H, Roy RR, Edgerton VR (2006) Spinal cord reflexes induced by epidural spinal cord stimulation in normal awake rats. *J Neurosci Methods* 157: 253–263.
<https://doi.org/10.1016/j.jneumeth.2006.05.004>
6. Courtine G, Harkema SJ, Dy CJ, Gerasimenko YP, Dyhre-Poulsen P (2007) Modulation of multisegmental monosynaptic responses in a variety of leg muscles during walking and running in humans. *J Physiol* 582(Pt 3): 1125–1139.
<https://doi.org/10.1113/jphysiol.2007.128447>
7. Roy FD, Gibbon G, Stein RB (2012) Effect of percutaneous stimulation at different spinal levels on the activation of sensory and motor roots. *Exp Brain Res* 223: 281–289.
<https://doi.org/10.1007/s00221-012-3258-6>
8. Verma R, Viridi JK, Singh N, Jaggi AS (2019) Animals models of spinal cord contusion injury. *Korean J Pain* 32: 12–21.
<https://doi.org/10.3344/kjp.2019.32.1.12>
9. Павлова НВ, Богачева ИН, Баженова ЕЮ, Горский ОВ, Мошонкина ТР, Герасименко ЮП (2019) Восстановление двигательных функций у спинализированных крыс при электрической стимуляции спинного мозга и локомоторной тренировке. *Росс физиол журн им ИМ Сеченова* 105: 565–577. [Pavlova NV, Bogacheva IN, Bazhenova EYu, Gorskiy OV, Moshonkina TR, Gerasimenko YuP (2019) Restoration of motor functions in spinal rats by electrical stimulation of the spinal cord and locomotor training. *Russ Fiziol Zh Im I M Sechenova* 105: 565–577. (In Russ)].
<https://doi.org/10.1134/S086981391905008X>
10. Malloy DC, Knikou M, Côté M-P (2022) Adapting human-based transcutaneous spinal cord stimulation to develop a clinically relevant animal model. *J Clinical Medicine* 11: 2023.
<https://doi.org/10.3390/jcm11072023>
11. Shkorbatova P, Lyakhovetskii V, Pavlova N, Popov A, Bazhenova E, Kalinina D, Gorskiy O, Musienko P (2020) Mapping of the spinal sensorimotor network by transvertebral and transcutaneous spinal cord stimulation. *Frontiers in systems neuroscience* 14: 555593.
<https://doi.org/10.3389/fnsys.2020.555593>
12. Nicolopoulos-Stournaras S, Iles JF (1984) Hindlimb muscle activity during locomotion in the rat (*Rattus norvegicus*) (Rodentia: Muridae). *J Zool Lond* 203: 427–440.
<https://doi.org/10.1111/j.1469-7998.1984.tb02342.x>
13. Nakanishi ST, Whelan PJ (2012) A decerebrate adult mouse model for examining the sensorimotor control of locomotion. *J Neurophysiol* 107: 500–515.
<https://doi.org/10.1152/jn.00699.2011>
14. Skinner RD, Garcia-Rill E (1984) The mesencephalic locomotor region (MLR) in the rat. *Brain Res* 323: 385–389.
[https://doi.org/10.1016/0006-8993\(84\)90319-6](https://doi.org/10.1016/0006-8993(84)90319-6)
15. Шкорбатова ПЮ, Ляховецкий ВА, Горский ОВ, Павлова НВ, Баженова ЕЮ, Калинина ДС, Мусиенко ПЕ, Меркульева НС (2023) Электрическая эпидуральная стимуляция спинного мозга децеребрированной крысы. *Росс физиол журн им ИМ Сеченова* 109: 798–816. [Shkorbatova PYu, Lyakhovetskii VA, Gorskiy OV, Pavlova NV, Bazhenova EYu, Kalinina DS, Musienko PE, Merkul'yeva NS (2023) Electric epidural stimulation of the spinal cord of the decerebrated rat. *Russ Fiziol Zh Im I M Sechenova* 109: 798–816. (In Russ)].
<https://doi.org/10.31857/S0869813923060092>
16. Capogrosso M, Wenger N, Raspopovic S, Musienko P, Beauparlant J, Bassi Luciani L, Courtine G, Micera S (2013) A computational model for epidural electrical stimulation of spinal sensorimotor circuits. *J Neurosci* 33: 19326–19340.
<https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1688-13.2013>
17. Ghali GZ, Ghali MGZ (2020) Microneurosurgical techniques and perioperative strategies utilized to optimize experimental supracollicular decerebration in rats. *J integrative neurosci* 19: 137–177.
<https://doi.org/10.31083/j.jin.2020.01.1153>
18. Gilerovich EG, Moshonkina TR, Fedorova EA, Shishko TT, Pavlova NV, Gerasimenko YP, Otellin VA (2008) Morphofunctional characteristics of the lumbar enlargement of the spinal cord in rats. *Neurosci Behav Physiol* 38: 855–860.
<https://doi.org/10.1007/s11055-008-9056-8>
19. Wenger N, Moraud EM, Gandar J, Musienko P, Capogrosso M, Baud L, Le Goff CG, Barraud Q, Pavlova N, Dominici N, Minev IR, Asboth L, Hirsch A, Duis S, Kreider J, Mortera A, Haverbeck O, Kraus S, Schmitz F, DiGiovanna J, van den Brand R, Bloch J, Detemple P, Lacour SP, Bézard E, Micera S, Courtine G. (2016) Spatiotemporal neuromodulation therapies engaging muscle synergies improve motor control after spinal cord injury. *Nat Med* 22: 138–145.
<https://doi.org/10.1038/nm.4025>
20. Curtis DR, Eccles JC (1960) Synaptic action during and after repetitive stimulation. *J Physiol* 150: 374–398.
<https://doi.org/10.1113/jphysiol.1960.sp006393>
21. Granit R (1950) Reflex self-regulation of muscle contraction and autogenetic inhibition. *J Neurophysiol* 13: 351–372.
<https://doi.org/10.1152/jn.1950.13.5.351>
22. Lloyd DP, Wilson VJ (1957) Reflex depression in rhythmically active monosynaptic reflex pathways. *J Gen Physiol* 40: 409–426.
<https://doi.org/10.1085/jgp.40.3.409>
23. Minassian K, Gilje B, Rattay F, Pinter MM, Binder H, Gerstenbrand F, Dimitrijevic MR (2004) Stepping-like movements in humans with complete spinal cord injury induced

- by epidural stimulation of the lumbar cord: electromyographic study of compound muscle action potentials. *Spinal Cord* 42:401–416.
<https://doi.org/10.1038/sj.sc.3101615>
24. *Dideriksen JL, Muceli S, Dosen S, Laine CM, Farina D* (2015) Physiological recruitment of motor units by high-frequency electrical stimulation of afferent pathways. *J Appl Physiol* (1985). 118: 365–376.
<https://doi.org/10.1152/japplphysiol.00327.2014>
 25. *Jaumard NV, Leung J, Gokhale AJ, Guarino BB, Welch WC, Winkelstein BA* (2015) Relevant anatomic and morphological measurements of the rat spine. *Spine* 40: E1084–E1092.
<https://doi.org/10.1097/BRS.0000000000001021>
 26. *Mohan R, Tosolini AP, Morris R* (2015) Segmental distribution of the motor neuron columns that supply the rat hindlimb: A muscle/motor neuron tract-tracing analysis targeting the motor end plates. *Neuroscience* 307: 98–108.
<https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2015.08.030>
 27. *Wilson VJ, Talbot WH, Diecke FP* (1960) Distribution of recurrent facilitation and inhibition in cat spinal cord. *J Neurophysiol* 23: 144–153.
 28. *Tanabe M, Kaneko T* (1996) Paired pulse facilitation of GABAergic IPSCs in ventral horn neurons in neonatal rat spinal cord. *Brain Res* 716:101–106.
[https://doi.org/10.1016/0006-8993\(96\)00051-0](https://doi.org/10.1016/0006-8993(96)00051-0)
 29. *Meinck HM* (1976). Occurrence of the H reflex and the F wave in the rat. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 41: 530–533.
[https://doi.org/10.1016/0013-4694\(76\)90064-x](https://doi.org/10.1016/0013-4694(76)90064-x)
 30. *Calancie B, Broton JG, Klose KJ, Traad M, Difini J, Ayyar DR* (1993) Evidence that alterations in presynaptic inhibition contribute to segmental hypo- and hyperexcitability after spinal cord injury in man. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 89: 177–186.
[https://doi.org/10.1016/0168-5597\(93\)90131-8](https://doi.org/10.1016/0168-5597(93)90131-8)
 31. *Andrews JC, Roy FD, Ba F, Sankar T* (2020). Intraoperative changes in the H-reflex pathway during deep brain stimulation surgery for Parkinson's disease: A potential biomarker for optimal electrode placement. *Brain Stimul* 13: 1765–1773.
<https://doi.org/10.1016/j.brs.2020.09.024>
 32. *Ho SM, Waite PM* (2002) Effects of different anesthetics on the paired-pulse depression of the h reflex in adult rat. *Exp Neurol* 177: 494–502.
<https://doi.org/10.1006/exnr.2002.8013>
 33. *Guiho T, Baker SN, Jackson A* (2021) Epidural and transcutaneous spinal cord stimulation facilitates descending inputs to upper-limb motoneurons in monkeys. *J Neural Eng* 18: 046011.
<https://doi.org/10.1088/1741-2552/abe358>
 34. *Taylor BA, Fennelly ME, Taylor A, Farrell J* (1993) Temporal summation – the key to motor evoked potential spinal cord monitoring in humans. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 56: 104–106.
 35. *Zhang W, Schneider SP* (2011). Short-term modulation at synapses between neurons in laminae II–V of the rodent spinal dorsal horn. *J Neurophysiol* 105:2920–2930.
<https://doi.org/10.1152/jn.00684.2010>
 36. *Floeter MK, Lev-Tov A* (1993) Excitation of lumbar motoneurons by the medial longitudinal fasciculus in the in vitro brain stem spinal cord preparation of the neonatal rat. *J Neurophysiol* 70: 2241–2250.
<https://doi.org/10.1152/jn.1993.70.6.2241>
 37. *Lyakhovetskii V, Shkorbatova P, Gorskii O, Musienko P* (2022) Forward stepping evoked by transvertebral stimulation in the decerebrate cat. *Neuromodulation* S1094–7159(22)01373–3.

STIMULATION OF THE SPINAL CORD OF DECEREBRATED RAT WITH DOUBLE PULSES

V. A. Lyakhovetskii^a, P. Yu. Shkorbatova^a, O. V. Gorsky^{a, b}, N. V. Pavlova^a, E. Yu. Bazhenova^a,
P. E. Musienko^{a, b, †}, and N. S. Merkulyeva^{a, †}

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

^b Saint-Petersburg State University, St. Petersburg, Russia

[#] e-mail: mer-natalia@yandex.ru, pol-spb@mail.ru

[†] authors with equal contribution

Analysis of responses on electrical stimulation is one of the experimental paradigms to study the excitability of the nervous system. In particular, the technique of recording muscle responses evoked by electrical epidural stimulation (ES) of the spinal cord (SC) in humans and animals is widely used. In rats decerebrated at the precollicular level, responses of *mm. tibialis anterior* (TA) and *gastrocnemius medialis* (GM) on ES of the L2, L4, L6 spinal segments and transvertebral stimulation (TS) of the VL2, VL4, VL6 vertebrae with single and double pulses were analyzed. The currents at which the amplitude of the sensory component of the response for a single pulse and one of the pulses of the pair was maximum were determined. At the minimum of these currents, the ratio of the amplitudes of the sensory component of the response to the first and second pulses to the amplitude of the sensory component of the response to a single pulse was analyzed. For both muscles, a weakening of the response to both pulses of the pair was obtained with TS VL2 and VL4, while when stimulating VL2, the TA response to the second pulse was lower than to the first. On the contrary, with ES of all segments of interest, a facilitation of the response to the second pulse was obtained for

both muscles. A similar facilitation was qualitatively observed for two other muscles, *mm. iliacus* and *vastus lateralis*. Thus, the use of double pulses during stimulation made it possible to identify the dependence of the response of SC neural networks on the method of their activation (TS or ES). The facilitation of the response to the second pulse during ES is presumably explained by a decrease in presynaptic inhibition due to decerebration.

Keywords: decerebrated rat, epidural stimulation, transvertebral stimulation, evoked potential, paired pulse facilitation