

УДК: 612.76:612.88

## **ИССЛЕДОВАНИЕ РЕФЛЕКТОРНЫХ ОТВЕТОВ МЫШЦ ЗАДНИХ КОНЕЧНОСТЕЙ НАРКОТИЗИРОВАННЫХ КРЫС НА ЭЛЕКТРОМАГНИТНУЮ СТИМУЛЯЦИЮ СПИННОГО МОЗГА\***

**Н.А. Щербакова, И.Н. Богачева, Н.М. Зеленкова,  
А.А. Савохин, Т.Р. Мошонкина, Ю.П. Герасименко**

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

Описаны эксперименты с использованием метода электромагнитной стимуляции спинного мозга наркотизированной крысы для вызова двигательных реакций. Анализируются особенности рефлекторных ЭМГ ответов мышц задних конечностей крыс при стимуляции электромагнитными импульсами с частотой 1, 5, 12 и 20 Гц в области шейных и поясничных сегментов спинного мозга. Результаты исследования позволили выявить роль выбора места и частоты электромагнитной стимуляции для вызова поздних компонентов рефлекторных мышечных ответов.

**Ключевые слова:** *спинной мозг, локомоторная активность, генератор шагательных движений, электромагнитная стимуляция, ЭМГ ответы, наркотизированные крысы.*

**Введение.** Нами показано, что неинвазивная электромагнитная стимуляция (ЭМС) определенных сегментов спинного мозга способна вызывать произвольные шагательные движения в условиях внешней поддержки ног у здоровых людей [2; 5], а также вызвать локомоции у децеребрированных кошек [1]. Основным элементом регуляции двигательной активности являются генераторы шагательных движений (ГШД) – нейрональные сети интернейронов спинного мозга, локализованные в шейном и поясничном утолщениях, способные продуцировать шагательный паттерн. Большинство исследователей считает, что ГШД имеются у всех млекопитающих, включая человека. Стимуляция импульсным магнитным полем центральной нервной системы применяется в клинике в качестве диагностического и лечебного воздействия на моторные зоны коры головного мозга, спинной мозг и периферические нервы [4; 6]. Импульсное магнитное поле не вызывает болевых эффектов и способно возбуждать структуры, глубоко расположенные в центральной нервной системе. Специфика действия ЭМС основана на эффекте Фарадея – возникновении электрического тока в проводнике, помещенном в магнитное поле.

---

\* Работа выполнена при поддержке РФФИ (грант № 11-04-12073-офи-м-2011 и грант № 11-04-12074-офи-м-2011)

Индуктивно наведенные магнитным импульсом электрические токи стимулируют проводниковые структуры мозга, вызывая деполяризацию волокон, которые в свою очередь возбуждают нервные клетки.

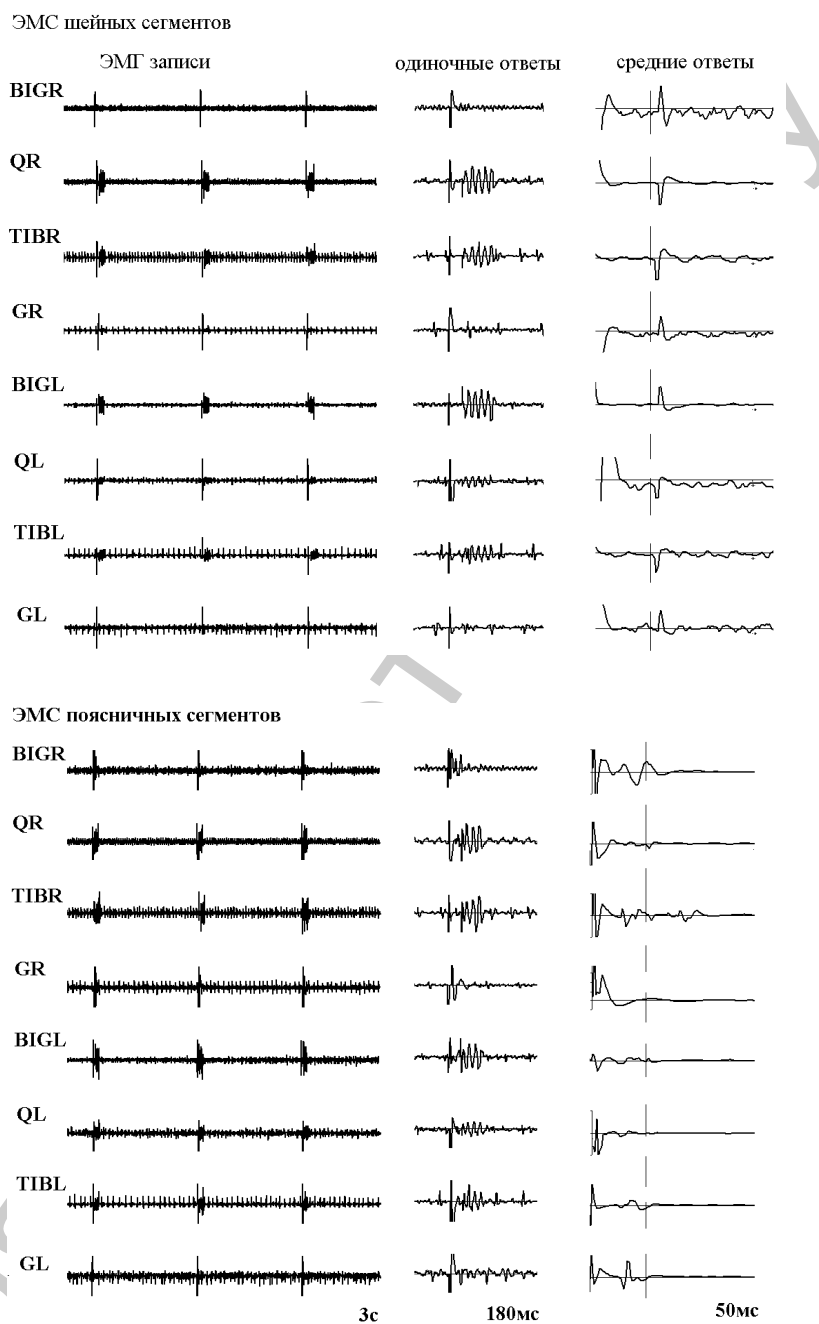
Детальные исследования механизмов воздействия электромагнитной стимуляции спинного мозга на ГШД актуальны и необходимы для перспективы их возможного клинического применения в двигательной реабилитации людей с заболеванием или травмами спинного мозга, поскольку ЭМС является неинвазивным способом активации ГШД и может использоваться в лечебных методиках.

В предыдущих работах мы проводили детальный анализ эффективности способа электромагнитной стимуляции спинного мозга в инициации и регуляции локомоции у здоровых испытуемых. В ходе исследований были выявлены ограничения возможности ЭМС спинного мозга для инициации ГШД. Условия проведения исследований ограничены техническими возможностями стимулирующего устройства, предполагающего возможность только короткой экспозиции стимуляции (до 15 секунд). Детальное исследование механизмов организации движений, вызванных магнитной стимуляцией спинного мозга у здоровых испытуемых, затрудняются также низкой воспроизводимостью эффекта инициации ГШД, так как непровольное шагание вызывалось только у 10% обследованных испытуемых. Одной из причин такой низкой воспроизводимости, очевидно, является ментальный контроль. Представляется необходимым продолжение исследований эффектов магнитной стимуляции спинного мозга на лабораторных животных. Ранее нами проводились эксперименты с применением ЭМС на поясничное и шейное утолщения спинного мозга децеребрированной кошки. ЭМС трудно фокусируется, поэтому локальное воздействие на мотонейронные пулы отдельных групп мышц невозможно. Однако нами было показано, что магнитное воздействие способно активировать популяцию интернейронов спинного мозга, ответственных за регуляцию локомоторного поведения. Нами были впервые получены экспериментальные данные, показывающие возможность инициации шагательных движений децеребрированной кошки с помощью ЭМС поясничного или шейного утолщения спинного мозга [1]. Механизмы воздействия ЭМС на нейрональные локомоторные сети спинного мозга до настоящего времени недостаточно изучены. В данной работе исследования эффектов ЭМС на двигательную активность спинного мозга продолжены на взрослых наркотизированных крысах. Эксперименты направлены на изучение особенностей рефлекторных ЭМГ ответов мышц задних конечностей крыс при стимуляции электромагнитными импульсами с различной частотой в области шейных и поясничных сегментов спинного мозга.

**Материал и методика.** Эксперименты проведены на взрослых крысах (самках) линии Sprague-Dawley (250–280 г). Все эксперименты проведены согласно «правилам проведения работ с использованием экспериментальных животных», утвержденным приказом МЗ СССР № 775 от 12.08.1977 г., и в соответствии с законом «О защите животных от жестокого обращения» гл. IV, ст. 10, 4679/11 ГК от 1.12.1999 г.. Животных наркотизировали и мягко фиксировали в положении лежа спиной вверх. Для магнитной стимуляции использовали магнитный стимулятор Нейро-МС (Иваново) с выносным индуктором в виде плоской катушки, в режиме ритмической стимуляции с частотой 1, 5, 12 и 20 Гц, импульсами интенсивностью 1,2 Тл, без контакта индуктора с животным. Регистрировали ЭМГ активность *musculus quadriceps femoris*, *m. biceps femoris*, *m. tibialis anterior* и *m. gastrocnemius* на обеих конечностях. Использовали игольчатые электроды; электромиографические сигналы усиливались с помощью дифференциального усилителя сигналов А-М-System (USA), в диапазоне от 30 Гц до 10 кГц и оцифровывались с частотой 2 кГц аналого-цифровым преобразователем фирмы National Instrument. Обработка данных и последующий анализ проводился с использованием программ LabView и стандартного пакета MS Office.

В структуре ЭМГ ответов на каждый импульс выделялись М-ответы, ранние и поздние ответы (рис. 1, 2). Первое двухфазное колебание в ЭМГ ответах всех мышц является артефактом, наведенным за счет облучения проводов, идущих к усилителю от имплантированных мышечных электродов. За артефактом следуют М-ответы и ранние ответы, которые возникают с коротким латентным периодом, 4-8 мс. Ранние ответы обусловлены рефлекторным проведением волны возбуждения по быстро проводящим путям спинного мозга от места стимуляции возбудимых структур к мотонейронам сгибательных и разгибательных двигательных центров. Поздние ответы, с латентностью 18–25 мс, возникают в результате активации полисинаптических сетей генератора паттернов локомоторных движений конечностей.

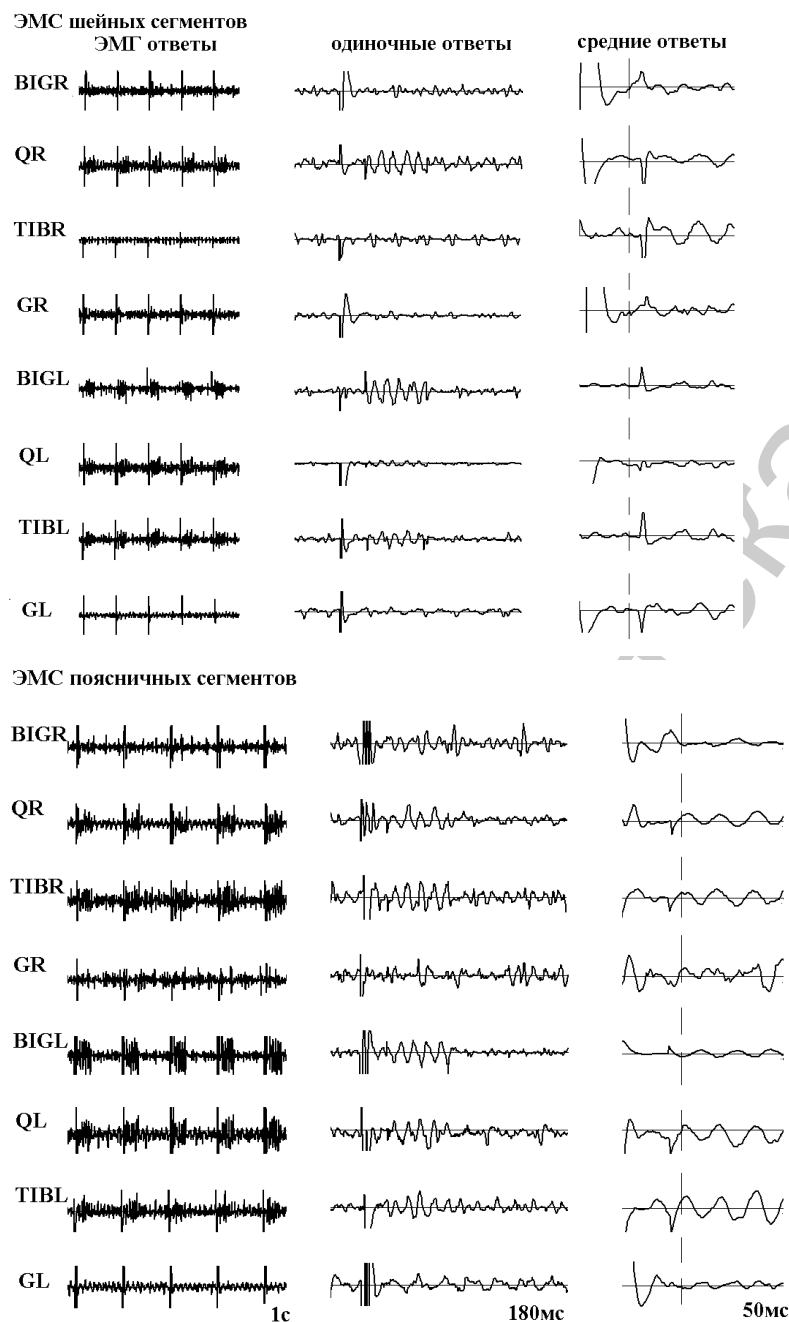
**Результаты и обсуждение.** Сравнительный анализ ЭМГ ответов на стимуляцию шейных и поясничных сегментов спинного мозга наркотизированных крыс выявил качественные структурные различия. Результаты анализа показали, что при стимуляции шейных сегментов магнитными импульсами с частотами 1 Гц или 5 Гц в основном наблюдались поздние ответы, а М-ответов и ранних практически не было (таблица).



Р и с . 1 . ЭМГ-ответы мышц задних конечностей наркотизированной крысы на ЭМС спинного мозга в области поясничных и шейных отделов с частотой стимуляции 1 Гц:

слева: ЭМГ активность мышц *musculus biceps femoris* (BIC), *m. quadriceps femoris* (QR), *m. tibialis anterior* (TIB) и *m. gastrocnemius* (G) на правой (R) и левой (L) конечностях;

в центре: примеры одиночных ответов; справа: усредненные ответы (N=20)



Р и с . 2 . ЭМГ-ответы мышц задних конечностей наркотизированной крысы на ЭМС спинного мозга в области поясничных и шейных отделов с частотой стимуляции 5 Гц:

слева: ЭМГ активность мышц *musculus biceps femoris* (BIC), *m. quadriceps femoris* (QR), *m. tibialis anterior* (TIB) и *m. gastrocnemius* (G) на правой (R) и левой (L) конечностях;  
в центре: примеры одиночных ответов; справа: усредненные ответы (N=20)

В таблице приведены обобщенные результаты по всем экспериментам, проведенным на пяти крысах. Преобладание поздних полисинаптических ответов при стимуляции шейных сегментов может быть следствием активации проприоспинальных структур спинного мозга. При стимуляции поясничного отдела в структуре ответов, напротив, особенно часто наблюдались ранние составляющие, и к 16–20 мс весь ответ заканчивался.

На рисунках 1 и 2 приведены примеры ЭМГ записей ответов одной из крыс, показаны быстрые развертки одиночных ответов и средние ответы. В тех случаях, когда при стимуляции поясничных сегментов встречались поздние ответы, они всегда наблюдались вместе с М- и/или ранними ответами, и выглядели как их продолжение, при этом амплитуда ЭМГ в ходе ответов постепенно снижалась. На рис.1 показаны ЭМГ записи, одиночные и усредненные ответы на ЭМС при частоте 1 Гц, на рис. 2 при частоте 5 Гц. Пунктирная линия проведена на отметке времени 20мс от момента подачи стимула, соответствующей латентности позднего ответа.

Из таблицы видно, что, при частотах стимуляции 1 и 5 Гц, частота не влияла на структуру ответов, но можно отметить, что при стимуляции шейных отделов с частотой 5 Гц реже наблюдались поздние ответы, чем при частоте 1 Гц, а при стимуляции поясничных отделов М-ответы и поздние ответы наблюдались чаще при частоте 5 Гц, а ранние при частоте 1 Гц.

Т а б л и ц а

Статистика наблюдений М, ранних и поздних составляющих рефлекторных ответов крыс на стимуляцию электромагнитными импульсами с частотой 1 и 5 Гц в областях шейных (С) и поясничных (L) сегментов спинного мозга

Мышцы	BIGR	QR	TIBR	GR	BIGL	QL	TIBL	GL
С С 1 Гц	П(2)	П(5)	П(3)	П(2)	П(5)	П(2)	П(3)	П(2)
С 5 Гц	П(1)	П(2)	П(3)	П(1)	П(4)	П(2)	П(3)	П(1)
L 1 Гц	М(1) Р(4) П(1)	М(1) Р(3)	М(1) Р(4) П(3)	М(1) Р(4) П(2)	М(3) Р(5) П(4)	М(1) Р(4) П(1)	М(1) Р(4) П(1)	М(3) Р(3)
L 5 Гц	М(5) Р(4) П(1)	М(4) Р(3) П(1)	М(3) Р(3) П(3)	М(3) Р(3) П(3)	М(3) Р(5) П(4)	М(4) Р(2) П(2)	М(3) Р(3) П(1)	М(3) Р(2) П(1)

*Прмечание.* В скобках указано количество крыс, у которых наблюдались указанные составляющие ответов (N=5).

При больших частотах (12 и 20 Гц) ответы не содержали выраженных составляющих, наблюдалась непрерывная повышенная активность.

Особенностей в ответах отдельных мышц при всех вариантах

стимуляции не отмечалось.

При магнитной стимуляции шейного и поясничного отделов спинного мозга крыс шагательные движения не были зарегистрированы, как это было зарегистрировано при аналогичной стимуляции спинного мозга децеребрированной кошки [1]. Это объясняется отличием экспериментальных моделей. Они заключаются прежде всего в том, что конечности кошки опирались на движущуюся ленту тредбана, и локомоторные нейронные сети получали дополнительный сигнал от опорных поверхностей стоп. Установлено, что афферентный сигнал со стороны рецепторов опоры играет значительную роль в контроле локомоции и позы [3].

**Заключение.** Возникновение поздних ответов является необходимым условием для запуска локомоции, поэтому существенным результатом работы является выявление условий стимуляции, при которых наблюдаются поздние ответы. Исследования позволили установить роль выбора места и частоты электромагнитной стимуляции для вызова поздних компонентов рефлекторных мышечных ответов.

### Список литературы

1. Авелев В.Д., Матур Р., Бихари Д., Щербакова Н.А., Дорофеев И.Ю., Савохин А.А., Герасименко Ю.П. Инициация локомоции децеребрированной кошки импульсным магнитным полем, спроецированным на сегменты спинного мозга // Рос. физиол. журн. им. И.М.Сеченова. 2009. Т. 95, № 11. С. 1216–1224.
2. Городничев Р.М., Мачуева Е.М., Пивоварова Е.А., Семенов Д.В., Иванов С.М., Савохин А.А., Герасименко Ю.П. Новый способ активации генераторов шагательных движений у человека // Физиология человека. 2010. Т. 36, № 6. С. 95–103.
3. Григорьев А.И., Козловская И.Б., Шенкман Б.С. Роль опорной афферентации в организации тонической мышечной системы. // Рос. физиол. журн. им. И.М. Сеченова. 2004. Т. 90, № 5. С. 50–521.
4. Никитин С.С., Куренков А.Л. Магнитная стимуляция в диагностике и лечении болезней нервной системы. М.: Научный мир. 2003. 387 с.
5. Патент RU 23933885 С1. Способ стимуляции спинного мозга / Герасименко Ю.П., Городничев Р.М., Авелев В.Д., Щербакова Н.А., Иванов С.М., Мусиенко П.Е., Мошонкина Т.Р., Эджертон Р.; заявитель и патентообладатель Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН; заявл. 03.10.2008, опубл. 10.07.2010.
6. Magnetic stimulation in clinical neurophysiology / eds. M. Hallett, S. Chokroverty. 2nd ed. Philadelphia. Elsevier. Butterworth. Heinman. 2005. 580 p.

**INVESTIGATION OF EFFECTS  
OF THE ELECTROMAGNETIC SPINAL CORD STIMULATION  
ON THE HINDLIMBS MUSCLES REFLEXES IN NARCOTIZED RATS**

**N.A. Scherbakova, I.N. Bogacheva, N.M. Zelenkova,  
A.A. Savohin, T.R. Moshonkina, Yu.P. Gerasimenko**

Pavlov Institute of Physiology RAS, Saint-Petersburg

Movement reactions were evoked by electromagnetic spinal cord stimulation in the narcotized rats. Characteristics of hindlimbs EMG responses on electromagnetic stimulation with frequencies 1, 5, 12 and 20 Hz in cervical and lumbar segments of the spinal cord were analysed. The results of study revealed the role of stimulation frequency and spinal cord locus for formation of the late responses components of the hindlimbs muscles reflexes.

**Keywords:** *spinal cord, locomotory activity, central pattern generator, electromagnetic stimulation, EMG responses, narcotized rats.*

*Об авторах:*

ЩЕРБАКОВА Наталия Александровна—кандидат технических наук, научный сотрудник лаборатории физиологии движений, ФГБУ Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН, 188680, Ленинградская обл., Всеволожский р-н, пос. Колтуши, ул. Быкова, д. 36, e-mail: chsh\_na@pavlov.infran.ru

БОГАЧЕВА Ирина Николаевна—кандидат биологических наук, научный сотрудник лаборатории физиологии движений, ФГБУ Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН, 188680, Ленинградская обл., Всеволожский р-н, пос. Колтуши, ул. Быкова, д. 36, e-mail: chsh\_na@pavlov.infran.ru

ЗЕЛЕНКОВА Нина Михайловна—младший научный сотрудник лаборатории физиологии движений, ФГБУ Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН, 188680, Ленинградская обл., Всеволожский р-н, пос. Колтуши, ул. Быкова, д. 36, e-mail: tm@pavlov.infran.ru

САВОХИН Александр Анатольевич—младший научный сотрудник лаборатории физиологии движений, ФГБУ Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН, 188680, Ленинградская обл., Всеволожский р-н, пос. Колтуши, ул. Быкова, д. 36, e-mail: chsh\_na@pavlov.infran.ru

МОШОНКИНА Татьяна Ромульевна—кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории физиологии движений, ФГБУ Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН, 188680, Ленинградская обл., Всеволожский р-н, пос. Колтуши, ул. Быкова, д. 36, e-mail: tmoshonkina@gmail.com

ГЕРАСИМЕНКО Юрий Петрович—доктор биологических наук, профессор, заведующий лабораторией физиологии движений, ФГБУ Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН, 188680, Ленинградская обл., Всеволожский р-н, пос. Колтуши, ул. Быкова, д. 36, e-mail: yuryg@ucla.edu



Научная библиотека ТвГУ