

УДК 612.81+51-76+57.089

ВОЗРАСТНАЯ ДИНАМИКА ЧАСТОТНО-ВРЕМЕННЫХ ОСОБЕННОСТЕЙ СОННЫХ ВЕРЕТЕН НА ЭЭГ КРЫС С ГЕНЕТИЧЕСКОЙ ПРЕДРАСПОЛОЖЕННОСТЬЮ К ЭПИЛЕПСИИ

© В.В. Грубов, Е.Ю. Ситникова, А.И. Назимов,
А.Е. Руннова, А.Е. Храмов, М.В. Храмова

Ключевые слова: частотно-временной анализ ЭЭГ; абсанс-эпилепсия; сонное веретено; линия крыс WAG/Rij; непрерывное вейвлетное преобразование.

Проведено исследование возрастных изменений частотно-временной структуры сонных веретен на ЭЭГ крыс по мере развития у них абсанс-эпилепсии. Сонные веретена были разделены на три класса по критерию средней частоты: «медленные», «переходные» и «быстрые». Показано, что развитие абсанс-эпилепсии у крыс линии WAG/Rij сопряжено со значительными изменениями «переходных» веретен и менее выраженными изменениями «медленных» и «быстрых» веретен.

Сонное веретено – это один из наиболее типичных паттернов ритмической активности головного мозга, появляющийся на ЭЭГ во время медленного сна, с характерной веретенообразной формой и частотой 9–16 Гц. Хорошо известно, что сонные веретена являются результатом ритмической активности таламо-кортикальной сети в состоянии сна, их частотно-временные характеристики могут служить важным критерием функциональных свойств таламо-кортикальной системы и могут быть использованы для ранней диагностики неврологических заболеваний, таких как абсанс-эпилепсия.

Функциональные нарушения таламо-кортикальной системы являются основной причиной формирования абсанс-эпилепсии [1–3]. Считается, что в ходе развития абсанс-эпилепсии сонные веретена трансформируются в характерные для эпилепсии пик-волновые разряды [1], однако у этой концепции есть веские контраргументы [2, 3]. Цель настоящей работы – проследить возрастные изменения в частотно-временной структуре сонных веретен по мере прогрессирующего развития абсанс-эпилепсии у крыс линии WAG/Rij с генетической предрасположенностью к этому заболеванию [4, 5]). У большинства особей этой линии интенсивность эпилептических разрядов появляется в возрасте 3–5 мес. и значительно увеличивается с возрастом [4], но у некоторых особей судорожная активность не развивается [6].

Экспериментальная часть работы была выполнена на шести самцах крыс линии WAG/Rij в ИВНД и НФ РАН. Регистрация ЭЭГ проводилась при помощи живленных электродов. Сигнал ЭЭГ регистрировался на протяжении 20 часов в полосе частот 0,5–200 Гц с частотой дискретизации 576 с⁻¹.

Частотно-временной анализ сонных веретен был выполнен с использованием непрерывного вейвлетного преобразования $W(s, \tau)$, которое представляет собой свертку исследуемого экспериментального сигнала

ЭЭГ $x(t)$ и некоторой ограниченной (локальной) во времени базисной функции $\varphi_{s,\tau}(t)$ [7]:

$$W(s, \tau) = \int_{-\infty}^{+\infty} x(t) \varphi_{s,\tau}^*(t) dt, \quad (1)$$

где * означает комплексное сопряжение. Базисная функция $\varphi_{s,\tau}(t)$ формируется из материнского вейвлета с помощью следующего преобразования:

$$\varphi_{s,\tau}(t) = \frac{1}{\sqrt{s}} \varphi_0\left(\frac{t-\tau}{s}\right), \quad (2)$$

где s – временной масштаб, определяющий растяжение или сжатие материнской функции; τ – временной сдвиг вейвлетного преобразования и φ_0 – материнский вейвлет. Вместо временного масштаба s удобно рассматривать частоту $f_s = 1/s$, которая вводится по аналогии с частотами Фурье-спектра.

Для выявления особенностей частотной динамики сигнала в некоторый фиксированный момент времени $t_{\text{фикс}}$ использовались мгновенные распределения амплитуды сигнала по вейвлетному спектру, что является аналогией спектра, получаемого при оконном преобразовании Фурье:

$$E(f_s) = \left| W(f_s, t = t_{\text{фикс}}) \right|. \quad (3)$$

Ранее в работе [8] было показано, что для проведения частотно-временного анализа сонных веретен оптимальным является комплексный вейвлет Морле

$$\varphi(\eta) = \frac{1}{\sqrt[4]{\pi}} e^{j\omega_0 \eta} e^{-\frac{\eta^2}{2}} \quad (4)$$

с центральной частотой $\omega_0 = 2\pi$, который обеспечивает максимально сбалансированное частотно-временное представление сигналов.

В основу метода автоматического выделения сонных веретен на ЭЭГ лег анализ распределения энергии вейвлетного спектра, описанный в работах [9, 10]. Исследуемый временной ряд (ЭЭГ) подвергался вейвлетному преобразованию, затем проводился расчет мгновенной энергии преобразования $w(\tau)$ в характерном частотном диапазоне F_s :

$$w(\tau) = \int_{F_s} |W_{s,\tau}| ds. \quad (5)$$

С учетом особенностей частотного состава сонных веретен, для их выделения были использованы два частотных диапазона $F_{s1} \in [5-9]$ Гц и $F_{s2} \in [10-16]$ Гц. Вывод о наличии на ЭЭГ сонного веретена делался на основе анализа энергий $w_1(\tau)$ и $w_2(\tau)$ в каждом из диапазонов F_{s1} и F_{s2} , когда величины $w_1(\tau)$ и $w_2(\tau)$ превышали некоторые пороговые значения $w_{1кр}$ и $w_{2кр}$ (для первого и второго диапазонов соответственно) и интегральное значение энергии во втором диапазоне частот превышало энергию первого частотного диапазона:

$$w_1(\tau) < w_{1\epsilon\delta} \wedge w_2(\tau) < w_{2\epsilon\delta} \wedge w_2(\tau) < w_1(\tau). \quad (6)$$

Отличительной чертой вейвлетного преобразования сигнала ЭЭГ, содержащего сонное веретено, являлась сильная изрезанность функции энергии вейвлетного преобразования $w(\tau)$ (5). Поэтому для повышения точности автоматического распознавания веретен в соотношениях (5) и (6) при сравнении величин $w_1(\tau)$ и $w_2(\tau)$ с пороговыми значениями $w_{1кр}$ и $w_{2кр}$ использовались не мгновенные значения энергии преобразования (5), а значения, усредненные по некоторому интервалу времени:

$$\langle w(t) \rangle = \frac{1}{T} \int_T w(t) dt. \quad (7)$$

Численный анализ показал, что оптимальная ширина окна, позволяющая снизить влияние коротких артефактов на качество распознавания веретен, равна $T = 0,5$ с.

Также следует учесть сложную динамику частоты в течение сонного веретена. Такое поведение частоты усложняет диагностику и приводит к ошибкам (например, дробление одного паттерна на несколько). Поэтому в метод распознавания сонных веретен было внесено изменение. Если в какой-либо момент времени выполняется $w_{1,2}(t) > w_{1,2cr}$ в одном из диапазонов, то для последующих моментов времени значение $w_{1,2cr}$ в соответствующем диапазоне понижается на 40 %: $w'_{1,2cr} = 0,4w_{1,2cr}$. Первоначальное значение $w_{1,2cr}$ возвращается в момент времени, для которого выполняется условие $w_{1,2}(t) < w'_{1,2cr}$. Такое понижение порога позволяет ослабить влияние сложной динамики частоты в течение сонного веретена на качество детектирования.

Для автоматического распознавания и дальнейшего анализа сонных веретен были использованы интервалы ЭЭГ длительностью от 3 до 10 мин., зарегистрированной во время медленноволнового сна с сонными веретенами.

У каждого из шести экспериментальных животных были исследованы частотно-временные параметры 20 сонных веретен в возрасте 5, 7 и 9 мес. Для статистической обработки материала были использованы непараметрические методы анализа: парный критерий Вилкоксона (для связанных выборок) и Манна-Уитни для несвязанных выборок, факторный анализ на базе обобщенной линейной модели (general linear model, GLM), позволяющий проследить наличие индивидуальных трендов в развитии сонных веретен, а также тест Шапиро-Уилка на нормальность.

В исследовании были использованы записи ЭЭГ, зарегистрированной от лобной коры, поскольку известно, что у крыс амплитуда сонных веретен в этой области максимальна [11, 12]. Мгновенная частота сонных веретен колебалась в пределах от 7,5 до 17 Гц. На рис. 1 представлен фрагмент ЭЭГ и «скелетон» вейвлетного спектра (1), построенного с помощью базового вейвлета Морле. Скелетон строился путем поиска локальных экстремумов функции $E(f)$ (3) для фиксированных t при варьировании частоты f , т. е. путем поиска локальных максимумов на вейвлетной поверхности $|W(t, f)|$. На рис. 1 можно проследить динамику локальных максимумов вейвлетного спектра, соответствующего сонным веретенам. Видно, что в течение каждого веретена частота изменяется, и в большинстве случаев она возрастает от начала к концу веретена (рис. 1, слева). В то же время существуют веретена, для которых с течением времени частота снижается (рис. 1, справа).

Для статистического анализа частотного состава сонных веретен определялись значения мгновенных частот в начале и в конце веретена (f_1 и f_2), а также значения средней частоты (f). Частоты f_1 и f_2 соответствовали наиболее интенсивным частотам на вейвлетном

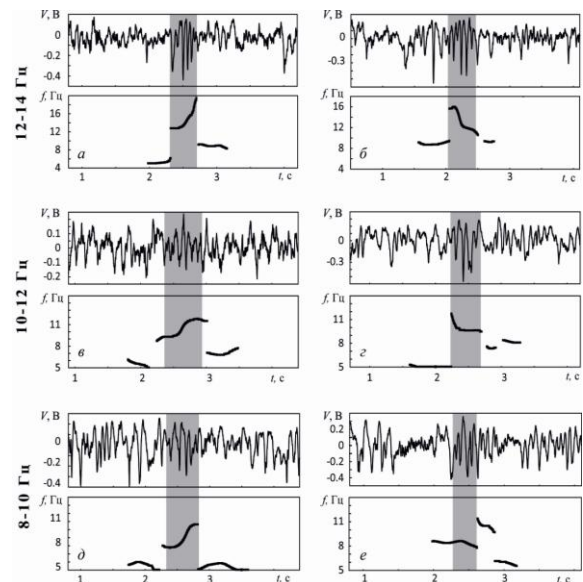


Рис. 1. Сонные веретена ЭЭГ и соответствующие им «скелетоны» вейвлетной поверхности: а, б – «быстрые» веретена (12–14 Гц), демонстрирующие рост (а) и уменьшение (б) частоты в течение веретена; в, г – «переходные» веретена (10–12 Гц); д, е – «медленные» веретена (8–10 Гц). Каждая точка на «скелетоне» вейвлетной поверхности соответствует максимуму на вейвлетном спектре

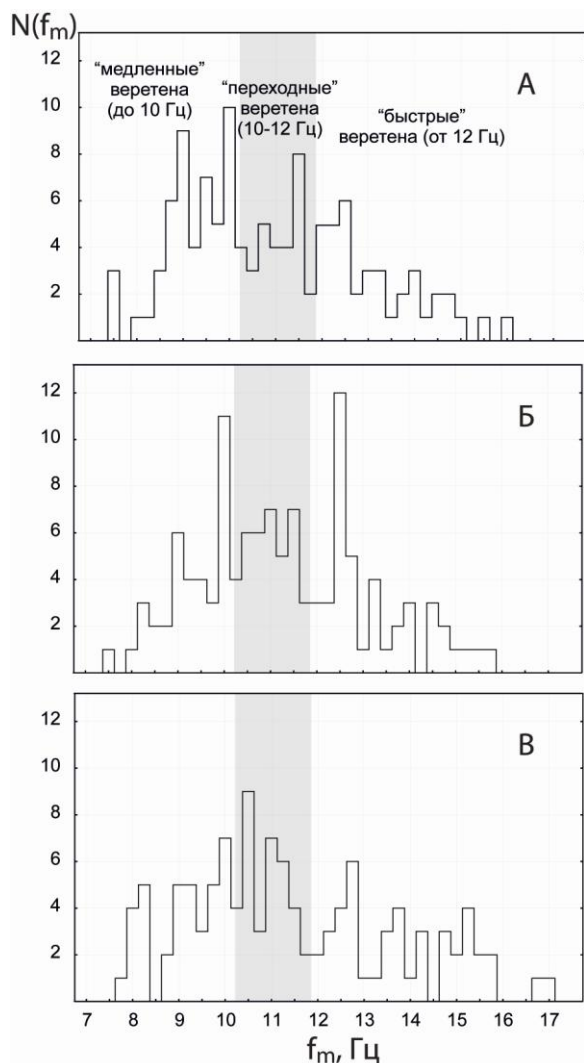


Рис. 2. Соотношение трех типов сонных веретен у крыс WAG/Rij для трех различных возрастов животных (А – 5, Б – 7, В – 9 месяцев)

спектре (показанным на скелетоне на рис. 1), соответственно, в начале и конце анализируемого сонного веретена. Начало и конец сонного веретена определялись в соответствии с энергетическим критерием (6), что давало возможность формализовать определение анализируемых параметров сонного веретена.

Распределение значений средней частоты сонных веретен f в возрасте 5 и 9 месяцев значительно отличалось от нормального (тест Шапиро–Уилка, в обоих случаях $p < 0,01$). Учитывая вариабельность средней частоты и характер ее распределения, сонные веретена были условно разделены на три группы, средние значения частот которых были локализованы в частотных диапазонах: 8–10, 10–12 и 12–14 Гц (рис. 2). Аналогичный критерий, т. е. частота главного спектрального компонента, был использован в работах [13, 14] для разделения сонных веретен на ЭЭГ человека на два класса 12 и 14 Гц и у крыс, у которых сонные веретена были разделены на два типа – с частотой 9–10 Гц и порядка 12 Гц

[12]. В данном случае был выделен третий «переходный» тип веретен с частотой 10–12 Гц, который по критерию частоты значительно отличался от двух других традиционно выделяемых типов сонных веретен. Эта группа сонных веретен характеризовалась наиболее интересной динамикой частоты, которая претерпела изменения в ходе онтогенеза.

Как показано в табл. 1, три типа сонных веретен различались не только по критерию средней частоты (f), но и по значению мгновенных частот в начале и в конце веретена (f_1 и f_2). Различия между «медленными», «переходными» и «быстрыми» веретенами по показателям f , f_1 и f_2 были статистически значимы по критерию Вилкоксона ($p < 0,01$) во всех возрастных категориях.

Половина проанализированных сонных веретен (~50 %) относилась к типу «медленных». «Переходные» и «быстрые» веретена были представлены в приблизительно равных долях, составлявших примерно четверть от общего числа веретен. Соотношение трех типов сонных веретен практически не изменялось с возрастом.

Возрастные изменения затрагивали внутренние параметры веретен. Во-первых, произошло значимое снижение общей длительности сонных веретен. У 5-месячных животных длительность веретен составила в среднем 597 ± 398 мс и значительно сократилась до 382 ± 116 мс к возрасту 7 месяцев (*post-hoc* – тест Фишера, $p < 0,0001$), и до 9-месячного возраста сохраняясь неизменной – 366 ± 86 мс. Длительность трех типов сонных веретен значительно различалась, подчиняясь следующей закономерности (у всех возрастов): длительность «медленных» веретен была значительно выше, чем у «переходных» (*post-hoc*, $p < 0,0001$) и «быстрых» веретен ($p < 0,002$). Последние два типа веретен не различались по критерию длительности.

Во-вторых, «медленные» и «переходные» веретена у 5-месячных животных продемонстрировали рост частоты от начала к концу веретена: у «медленных» веретен частота в течение веретена увеличилась в среднем на 0,49 Гц, у «переходных» – на 2,66 Гц (табл. 1, примечание). У 7- и 9-месячных крыс не удалось обнаружить столь четкую динамику частоты внутри сонных веретен, хотя у «переходных» веретен прослеживалась обратная тенденция к снижению частоты от начала к концу веретена. Вероятно, отсутствие статистически значимых изменений частоты в течение веретена у животных 7- и 9-месячного возраста связано с уменьшением общей длительности веретен в этой возрастной категории, вследствие чего изменения частоты на протяжении столь короткого интервала времени оказались менее значимыми.

Проведено исследование возрастных изменений частотно-временной структуры сонных веретен на ЭЭГ крыс по мере развития у них абсанс-эпилепсии. В ходе исследования сонные веретена были разделены на три класса по критерию средней частоты: «медленные», «переходные» и «быстрые». Показано, что развитие абсанс-эпилепсии у крыс линии WAG/Rij сопряжено со значительными изменениями «переходных» веретен и менее выраженными изменениями «медленных» и «быстрых» веретен.

Таблица 1

Основные характеристики трех типов сонных веретен у крыс WAG/Rij
($n = 6$ крыс в каждой возрастной группе)

Тип сонного веретена	Соотношение трех типов веретен, %	Длительность веретена, мс	Частота сонных веретен, Гц		
			средняя, f	в начале веретена, f_1	в конце веретена, f_2
Возраст: 5 месяцев					
«Медленные» (8–10 Гц)	$50,1 \pm 13,4$	645 ± 432	$9,3 \pm 0,8$	$9,1 \pm 0,9$	$9,6 \pm 0,9^*$
«Переходные» (10–12 Гц)	$26,5 \pm 7,2$	627 ± 476	$11,4 \pm 0,7$	$10,0 \pm 1,4$	$12,7 \pm 1,5^*$
«Быстрые» (12–14 Гц)	$23,3 \pm 13,0$	441 ± 142	$13,5 \pm 1,0$	$13,4 \pm 1,2$	$13,6 \pm 1,4$
Возраст: 7 месяцев					
«Медленные» (8–10 Гц)	$50,0 \pm 19,0$	403 ± 120	$9,7 \pm 0,9$	$9,7 \pm 1,1$	$9,7 \pm 0,9$
«Переходные» (10–12 Гц)	$17,5 \pm 9,4$	395 ± 107	$11,4 \pm 0,5$	$11,5 \pm 1,4$	$11,2 \pm 1,5$
«Быстрые» (12–14 Гц)	$32,9 \pm 11,1$	338 ± 102	$13,3 \pm 1,0$	$13,3 \pm 1,2$	$13,3 \pm 1,1$
Возраст: 9 месяцев					
«Медленные» (8–10 Гц)	$50,4 \pm 15,5$	396 ± 81	$9,5 \pm 1,0$	$9,4 \pm 1,1$	$9,6 \pm 1,2$
«Переходные» (10–12 Гц)	$20,2 \pm 5,8$	350 ± 80	$11,5 \pm 0,6$	$11,7 \pm 1,0$	$11,2 \pm 1,0$
«Быстрые» (12–14 Гц)	$28,3 \pm 16,0$	320 ± 68	$14,1 \pm 1,2$	$13,9 \pm 1,5$	$14,3 \pm 1,2$

ЛИТЕРАТУРА

1. *Kostopoulos G.K.* Spike-and-wave discharges of absence seizures as a transformation of sleep spindles: the continuing development of a hypothesis // *Clin Neurophysiol.* 2000. V. 2. P. 27-38.
2. *Sitnikova E.* Thalamo-cortical mechanisms of sleep spindles and spike-wave discharges in rat model of absence epilepsy (a review) // *Epilepsy Res.* 2010. V. 89. № 1. P. 17-26.
3. *van Luijckelaar G., Sitnikova E.* Global and focal aspects of absence epilepsy: the contribution of genetic models // *Neurosci. Biobehav. Rev.* 2006. V. 30. № 7. P. 983-1003.
4. *Coenen A.M.L., van Luijckelaar E.L.J.M.* The WAG/Rij rat model for absence epilepsy: age and sex factors // *Epilepsy Res.* 1987. V. 1. № 5. P. 297-301.
5. *Coenen A.M.L., van Luijckelaar E.L.J.M.* Genetic animal models for absence epilepsy: a review of the WAG/Rij strain of rats // *Behav. Genet.* 2003. V. 33. P. 635-655.
6. *Sitnikova E.* Neonatal sensory deprivation promotes development of absence seizures in adult rats with genetic predisposition to epilepsy // *Brain Res.* 2011. V. 1377. P. 109-118.
7. *Короновский А.А., Храмов А.Е.* Непрерывный вейвлетный анализ и его приложения. М.: Физматлит, 2003. С. 176.
8. *Sitnikova E., Hramov A.E., Koronovskii A.A., van Luijckelaar G.* Sleep spindles and spike-wave discharges in EEG: their generic features, similarities and distinctions disclosed with Fourier transform and continuous wavelet analysis // *J. Neurosci. Methods.* 2009. V. 180. P. 304-316.
9. *Грубов В.В., Овчинников А.А., Ситникова Е.Ю., Короновский А.А., Храмов А.Е.* Вейвлетный анализ сонных веретен на ЭЭГ и разработка метода их автоматической диагностики // *Изв. вузов. Прикладная нелинейная динамика.* 2011. Т. 19. № 4. С. 91-108.
10. *Sitnikova E., Hramov A.E., Grubov V.V., Ovchinnikov A.A., Koronovskii A.A.* On-off intermittency of thalamo-cortical oscillations in the electroencephalogram of rats with genetic predisposition to absence epilepsy // *Brain Res.* 2012. V. 1436. P. 147-156.
11. *De Gennaro L., Ferrara M.* Sleep spindles: an overview // *Sleep Med. Rev.* 2003. V. 7. № 5. P. 423-440.
12. *Gandolfo G., Glin L., Gottesmann C.* Study of sleep spindles in the rat: a new improvement // *Acta Neurobiol. Exp. (Wars).* 1985. V. 45. № 5. P. 151-162.
13. *Jankel W.R., Niedermeyer E.* Sleep spindles // *J. Clin. Neurophysiol.* 1985. V. 2. № 1. P. 1-35.
14. *Jobert M., Poiseau E., Jöhnig P., Schulz H., Kubicki S.* Topographical analysis of sleep spindle activity // *Neuropsychobiology.* 1992. V. 26. № 4. P. 210-217.

БЛАГОДАРНОСТИ: Исследование выполнено при поддержке Министерства образования и науки Российской Федерации, соглашения № 14.B37.21.0569 и № 14.B37.21.0576.

Поступила в редакцию 31 января 2013 г.

Grubov V.V., Sitnikova E.Y., Nazimov A.I., Runnova A.E., Hramov A.E., Hramova M.V. STUDYING OF AGE-RELATED DYNAMICS OF SLEEP SPINDLES TIME-FREQUENCY STRUCTURE ON EEG OF RATS WITH GENETIC PREDISPOSITION TO ABSENCE-EPILEPSY

Age-related changes in time-frequency structure of sleep spindles on EEG of rats during disease evolution are studied. Sleep spindles are divided into three classes: "slow", "transitional" and "fast". It is shown that absence-epilepsy evolution in WAG/Rij rats is associated with considerable alteration of "transitional" spindles and lesser alteration of "slow" and "fast" spindles.

Key words: time-frequency EEG analysis; absence-epilepsy; sleep spindle; WAG/Rij rats; continuous wavelet transform.