

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<sup>-1</sup>.

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;  $\tau$  – временной сдвиг вейвлетного преобразования и  $\varphi_0$  – 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:

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

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.

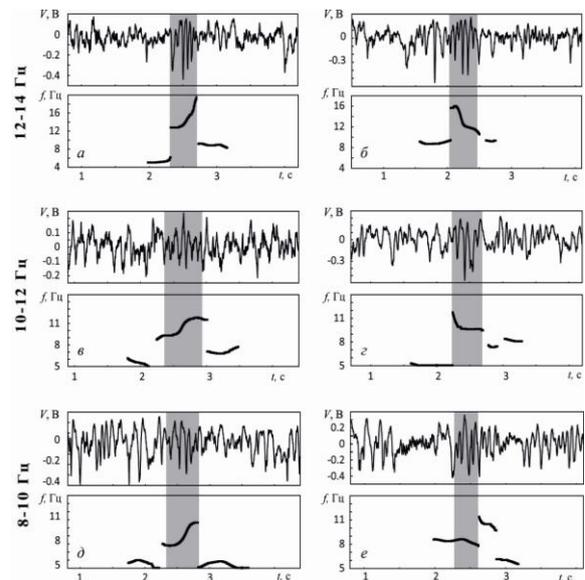
Также следует учесть сложную динамику частоты в течение сонного веретена. Такое поведение частоты усложняет диагностику и приводит к ошибкам (например, дробление одного паттерна на несколько). Поэтому в метод распознавания сонных веретен было внесено изменение. Если в какой-либо момент времени выполняется  $w_{1,2}(t) > w_{1,2cr}$  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

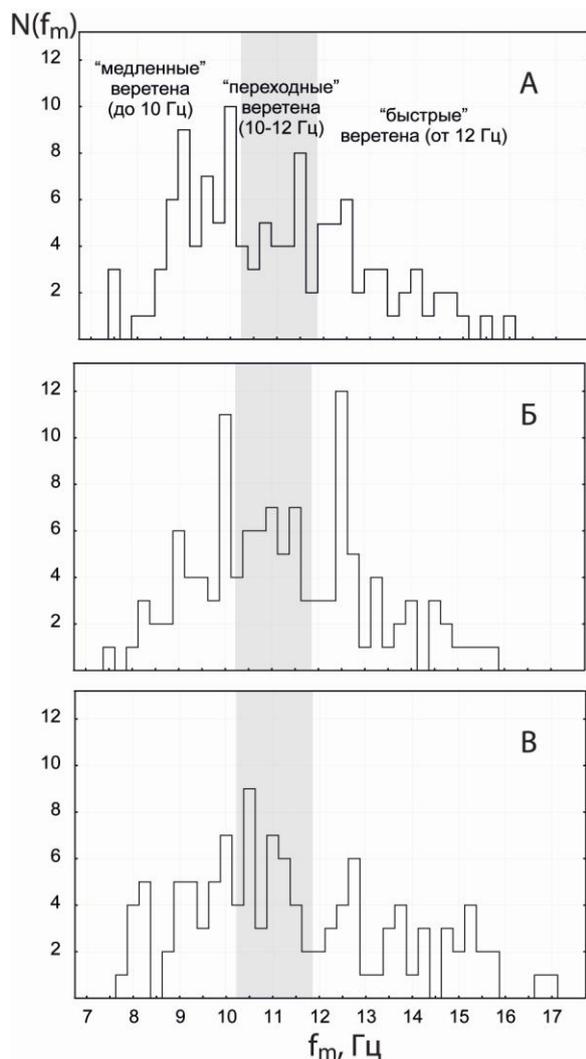


Рис. 2. Соотношение трех типов сонных веретен у крыс WAG/Rij для трех различных возрастов животных (А – 5, Б – 7, В – 9 месяцев)

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  $597 \pm 398$  мс и значительно сократилась до  $382 \pm 116$  мс к возрасту 7 месяцев (*post-hoc* – тест Фишера,  $p < 0,0001$ ), и до 9-месячного возраста сохраняясь неизменной –  $366 \pm 86$  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 ± 13,4	645 ± 432	9,3 ± 0,8	9,1 ± 0,9	9,6 ± 0,9*
«Переходные» (10–12 Гц)	26,5 ± 7,2	627 ± 476	11,4 ± 0,7	10,0 ± 1,4	12,7 ± 1,5*
«Быстрые» (12–14 Гц)	23,3 ± 13,0	441 ± 142	13,5 ± 1,0	13,4 ± 1,2	13,6 ± 1,4
Возраст: 7 месяцев					
«Медленные» (8–10 Гц)	50,0 ± 19,0	403 ± 120	9,7 ± 0,9	9,7 ± 1,1	9,7 ± 0,9
«Переходные» (10–12 Гц)	17,5 ± 9,4	395 ± 107	11,4 ± 0,5	11,5 ± 1,4	11,2 ± 1,5
«Быстрые» (12–14 Гц)	32,9 ± 11,1	338 ± 102	13,3 ± 1,0	13,3 ± 1,2	13,3 ± 1,1
Возраст: 9 месяцев					
«Медленные» (8–10 Гц)	50,4 ± 15,5	396 ± 81	9,5 ± 1,0	9,4 ± 1,1	9,6 ± 1,2
«Переходные» (10–12 Гц)	20,2 ± 5,8	350 ± 80	11,5 ± 0,6	11,7 ± 1,0	11,2 ± 1,0
«Быстрые» (12–14 Гц)	28,3 ± 16,0	320 ± 68	14,1 ± 1,2	13,9 ± 1,5	14,3 ± 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., Khramov A.E., Khramova 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.