

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
Институт Высшей Нервной Деятельности и Нейрофизиологии
Российской академии наук

На правах рукописи

Ситникова Евгения Юрьевна

**Структурно-функциональная организация
соматосенсорной системы
в норме и при абсанс-эпилепсии**

03.03.01 – физиология

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой степени
доктора биологических наук

Москва - 2014

Основная работа выполнена в лаборатории нейроонтогенеза Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН (директор – член-корреспондент РАН, доктор биологических наук, профессор *Павел Милославович Балабан*), часть работы выполнена в NICI/Nijmegen Institute for Cognition and Information, Radboud University Nijmegen, Нидерланды (2001-2005 гг).

Научный консультант:

Владимир Вячеславович Раевский - доктор биологических наук, профессор.

Официальные оппоненты:

Евгений Антонович Юматов - доктор медицинских наук, профессор кафедры нормальной физиологии 1-ого медицинского университета им. И.М. Сеченова.

Иван Николаевич Пигарёв - доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института проблем передачи информации им. А.А. Харкевича Российской академии наук.

Анна Борисовна Вольнова - доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник кафедры общей физиологии биологического факультета Санкт-Петербургского государственного университета.

Ведущая организация:

НИИ нормальной физиологии имени П.К.Анохина РАМН

Защита состоится 22 октября 2014 г. в 14 ч.00 мин. на заседании Диссертационного совета Д 002.044.01 при Федеральном государственном бюджетном учреждении науки Института высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН по адресу: 117485, Москва, ул. Бутлерова, д.5а

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН

Автореферат размещён на сайте www.vak.ed.gov.ru

Автореферат разослан «__» _____ 2014 г

Ученый секретарь Диссертационного совета

Доктор биологических наук



В.Н. Иерусалимский

Введение

Работа развивает представления о роли сенсорного притока в формировании функций головного мозга [Шулейкина, 1985; Раевский и др., 1997; Erzurumlu & Gaspar, 2012] и сенсорных системах, обеспечивающих связь организма с окружающей средой. Процесс индивидуального развития представлен последовательностью стадий [Хаютин & Дмитриева, 1991; Раевский и др., 2002], каждая из которых характеризуется приобретением нового сенсорного опыта и формированием новых функциональных систем, обеспечивающих выживание на последующих этапах. Иначе говоря, сенсорный опыт, приобретенный на ранних стадиях развития, и сформировавшиеся на его основе функциональные системы оказываются востребованным на поздних стадиях. Таким образом, особенности раннего онтогенеза могут повлиять на продолжительность и качество дальнейшей жизни, поэтому изучение структурной организации и функционирования сенсорных систем представляет актуальную задачу, решение которой существенно для понимания этиологии и патогенеза целого ряда заболеваний.

В организации адаптивного поведения грызунов важную роль играет информация, поступающая от подвижных чувствительных волосков, расположенных над верхней губой (система вибрисс, вибротактильный анализатор). Высшим отделом вибротактильного анализатора является проекционное представительство вибрисс в соматосенсорной коре (SmI); эта область получает афференты лемнисковой и паралемнисковой проекционных систем, переключательные звенья которых локализованы в разных ядрах таламуса [Diamond, 2000]. Представительство вибрисс в SmI имеет четкую соматотопическую организацию, где обособленные клеточные кластеры ("бочонки") сгруппированы в строгом соответствии с расположением вибрисс на морде [Сухов, 1992; Fox, 2008]. Известно, что сенсорный приток от вибрисс модулирует процесс созревания структуры и функций нейронов этой области [Fox, 2008; Erzurumlu & Gaspar, 2012; Diamond & Arabzadeh, 2013]. Согласно проведенным ранее исследованиям [Ситникова, 2000], крысы, подвергавшиеся

удалению вибрисс в раннем онтогенезе, демонстрируют повышенный уровень активационных реакций в SmI на фоне дефицита торможения. Дисбаланс процессов активации и торможения, сформировавшийся вследствие деафферентации в раннем возрасте, может быть причиной нарушения когнитивных функций у взрослых особей [Шишелова & Раевский, 2009; Grubb & Thompson, 2004] и/или повлечь за собой развитие различных патологий. Одной из патологий, характеризующихся дефицитом механизмов торможения в неокортексе, является абсанс-эпилепсия [Timofeev & Steriade, 2004; Leresche et al., 2012].

Абсанс-эпилепсия - это генетически детерминированное заболевание [Crunelli & Leresche, 2002; Gauguier et al. 2004], и долгое время считалось, что индивидуальный опыт и факторы среды не оказывают существенного влияния на реализацию «генетической программы» этой болезни [Coenen & van Luijtelaar, 2003; Schridde & van Luijtelaar, 2005]. Однако, усиление возбудимости неокортекса и дефицит торможения, возникающие вследствие ограничения сенсорного притока в раннем онтогенезе [Simons & Land, 1989; Keller & Carlson, 1999; Ситникова, 2000], могут способствовать формированию абсанс-эпилепсии. В силу вышесказанного, особый интерес представляет исследование сенсорных факторов формирования абсанс-эпилепсии у животных с генетической предрасположенностью к этому заболеванию.

В качестве модели абсанс-эпилепсии широко используются крысы линии WAG/Rij [van Luijtelaar & Coenen, 1986; Coenen & van Luijtelaar, 2003]. Приступы эпилепсии у этих животных формируются спонтанно (естественным образом, не требует фармакологических вмешательств), имеют четкую возрастную динамику, не сопровождаются моторными расстройствами и характеризуются наличием пик-волновых разрядов (*'spike-wave discharges'*, SWD) на ЭЭГ.

Общепризнанно, что патогенез абсанс-эпилепсии связан с функциональными изменениями таламо-кортикальной системы. Ряд авторов [Avanzini et al., 1992; 1993; 2003; Blumenfeld, 2002] отводят таламусу ключевую роль в формировании эпилептических пик-волновых разрядов. Широкою

известность получила кортико-ретикулярная теория абсанс-эпилепсии [Gloor, 1968; 1969; Kostopoulos, 2000], согласно которой в основе про-эпилептической активности таламуса лежат два взаимосвязанных процесса: синхронизация нейронов таламуса в состоянии медленного сна (при снижении уровня бодрствования), которое характеризуется появлением сонных веретен на ЭЭГ, и патологический процесс трансформации сонных веретен в пик-волновые разряды. Описанная схема, предусматривающая общность таламо-кортикальных механизмов сонных веретен и пик-волновых разрядов, подверглась серьезной критике [Pinault et al., 2006; Meeren et al., 2009; Leresche et al., 2012]. Существует другая точка зрения, согласно которой соматосенсорная кора играет ключевую роль в патогенезе абсанс-эпилепсии. Наиболее полно эту роль раскрывает 'теория кортикального очага', которая была сформулирована по результатам математического анализа ЭЭГ у крыс линии WAG/Rij [Meeren et al, 2002] и нуждалась в экспериментальной проверке. Выявление роли отдельных частей соматосенсорной системы, включая соответствующие области коры и таламуса, может приблизить нас к пониманию механизмов абсанс-эпилепсии.

Известно, что в раннем онтогенезе катехоламинергические механизмы играют ключевую роль в развитии сенсорных систем [Раевский, 1991]. Например, нарушение катехоламинергической иннервации препятствует формированию рецептивных полей нейронов зрительной коры [Kasamatsu et al., 1979]. В то же время известно, что катехоламинергические системы, включая норадренергическую [Buzsaki, 1990; McCormick et al., 1991] и дофаминергическую [de Bruin et al., 2000], модулируют проявления абсанс-эпилепсии у крыс WAG/Rij. Обнаружено, что генетическая предрасположенность к абсанс-эпилепсии сопряжена с изменениями свойств дофаминовых рецепторов D1 и D2 [Birjoukova et al., 2005; Калимуллина и др., 2012]. Вопрос о роли дофаминергической системы в патогенезе абсанс-эпилепсии остается дискуссионным. С одной стороны, известно, что концентрация дофамина у крыс WAG/Rij крыс не отличается от контроля (крысы Wistar) [Мидзяновская и др., 2004]. С другой стороны, известно о пониженном уровне норадреналина,

дофамина и его метаболитов в мезолимбической дофаминергической системе мозга у крыс WAG/Rij по сравнению с крысами Wistar [Саркисова и др., 2013]. Существует представление о том, что дофаминергический дефицит у крыс WAG/Rij является не причиной абсанс-эпилепсии, а её следствием [Bazuian & van Luijtelaar, 2013]. Противоречия относительно участия дофаминергической системы в развитии абсанс-эпилепсии диктуют необходимость проведения дополнительных исследований.

Проблема ранней диагностики является существенной для выявления любого заболевания. Важно отметить, что приступы абсанс-эпилепсии начинаются внезапно, без видимых причин и предшествующей клинической картины [Panayiotopoulos, 1998; 2005; 2008]. Мы предполагаем, что перед началом пик-волновых разрядов существуют тонкие изменения на ЭЭГ, которые трудно обнаружить с помощью традиционных методов анализа. Это послужило основанием для поиска и внедрения новых методов математического анализа ЭЭГ с целью выявить устойчивые изменения на ЭЭГ перед началом эпилептических разрядов, имеющие диагностическое и прогностическое значение.

Цель работы

Исследовать структурные и функциональные свойства соматосенсорной системы, создающие предпосылки для развития абсанс-эпилепсии.

Задачи исследования

1. Исследовать функциональные свойства нейронов разных слоев проекционного представительства вибрисс в соматосенсорной коре у крыс.
2. Изучить роль соматосенсорной коры в развитии абсанс-эпилепсии у крыс с врожденной предрасположенностью к этому заболеванию (линия WAG/Rij). Установить влияние раннего сенсорного опыта на развитие генетически детерминированной абсанс-эпилепсии.

3. Определить степень участия таламуса и неокортекса в процессе инициации, поддержания и прекращения эпилептической активности (пик-волновых разрядов).
4. Выявить характерные изменения на ЭЭГ, предшествующие началу эпилептических пик-волновых разрядов у крыс WAG/Rij.
5. Исследовать участие катехоламинов в модуляции абсанс-эпилепсии.

Основные положения, выносимые на защиту

1. Соматосенсорная кора играет ключевую роль в развитии генетически детерминированной абсанс-эпилепсии у крыс. Ранний сенсорный опыт влияет на развитие этой патологии.
2. Кортико-ретикулярная теория абсанс-эпилепсии несостоятельна: сонные веретена не являются предшественниками пик-волновых разрядов.
3. Одновременное появление ритмической активности в диапазоне *дельта*- и *тета/альфа* на ЭЭГ перед началом пик-волновых разрядов характеризует состояние "судорожной готовности" при абсанс-эпилепсии.

Научная новизна исследования

В работе сформулированы новые представления о структурно-функциональном развитии соматосенсорной области неокортекса и таламо-кортикальной системы в норме и при патологии, обусловленной врожденной склонностью к абсанс-эпилепсии.

Впервые показано, что развитие генетически детерминированной формы абсанс-эпилепсии подвержено влиянию сенсорных (эпигенетических) факторов раннего онтогенеза. Обнаружено, что критический период развития вибро-тактильной чувствительности у крыс WAG/Rij является критическим и для формирования эпилептических разрядов в позднем онтогенезе, что ставит под сомнение точку зрения об отсутствии влияния внешних факторов на реализацию «генетической программы» абсанс-эпилепсии [Schridde & van Luijtelaar, 2005].

Результаты исследования таламо-кортикальных механизмов абсанс-эпилепсии свидетельствуют о правомерности 'теории кортикального очага' [Meeren et al., 2002; 2005] и несостоятельности 'кортико-ретикулярной теории' [Gloor, 1968; 1969; Kostopoulos, 2000]. По нашим данным, соматосенсорная кора играет ведущую роль в формировании генерализованных пик-волновых разрядов. Спонтанная пик-волновая активность имеет локальную природу (эпилептическая зона расположена в соматосенсорной коре), следовательно, абсанс-эпилепсия имеет вторично-генерализованный характер. Это противоречит принципам международной лиги против эпилепсии (ILAE), которая относит абсанс-эпилепсию к группе первично-генерализованных эпилепсий [Engel, 2006] и является основанием к пересмотру существующей системы.

Принципиально новыми являются данные о микроструктурных изменениях в неокортексе при абсанс-эпилепсии. Согласно проведенным исследованиям, патогенез абсанс-эпилепсии связан не только с функциональными изменениями нейронов неокортекса (гипервозбудимость), как считали ранее, но и с нарушениями нейро-глиальных соотношений в цингулярной, моторной и соматосенсорной областях коры.

Представлена новая концепция, касающаяся взаимодействий в таламо-кортикальной системе при формировании абсанс-эпилепсии, согласно которой пик-волновые разряды являются результатом "локальной" синхронизации эпилептогенной области в соматосенсорной коре с близлежащими областями неокортекса, а также "глобальной" синхронизации коры и таламуса. Выявлены особенности взаимного влияния неокортекса и таламуса в процессе поддержания и прекращения пик-волновых разрядов с использованием метода расчета "причинности по Грейнджеру".

Впервые установлено, что началу пик-волновых разрядов у крыс WAG/Rij предшествуют короткие эпизоды ритмической активности в диапазоне дельта- и тета/альфа частот, которое характеризует состояние "судорожной готовности" при абсанс-эпилепсии.

Теоретическая ценность и практическая значимость

В работе использован междисциплинарный подход к анализу данных ЭЭГ, в основу которого лег математический аппарат современной физики и радиофизики, нелинейной динамики и теории колебаний, и этот подход имеет не только теоретическую ценность, но и прикладное значение. Например, исследования "причинности по Грейнджеру", выполненные с использованием аппарата математического моделирования сигналов, позволили выявить особенности взаимодействий между неокортексом и таламусом по мере развития эпилептической активности (пик-волновые разряды). Благодаря использованию теории динамического хаоса (*on-off* перемежаемость) был установлен характер долговременной динамики сонных веретен и пик-волновых разрядов на ЭЭГ.

Усовершенствован процесс цифровой обработки сигналов нестационарной природы (короткие интервалы ЭЭГ, частотно-временные характеристики которых быстро изменяются во времени) с использованием непрерывного вейвлетного преобразования и его модификаций. Практическую значимость имеет принципиально новый метод распознавания разных типов ритмической активности на ЭЭГ посредством выбранной шаблонной функции - *адаптивный вейвлетный анализ*. Этот метод, позволивший выделить и описать два типа сонных веретен на ЭЭГ у крыс, является универсальным и может быть использован для решения широкого круга задач.

Практическую значимость имеет система автоматического выделения определенных форм ритмической активности на ЭЭГ на основе непрерывного вейвлетного преобразования. Разработан подход, позволивший снизить влияние фактора субъективной оценки и долю рутинного труда в процессе идентификации и классификации искомых паттернов на ЭЭГ. Использование данной системы в аппаратно-программных комплексах в режиме реального времени может способствовать успешной реализации интерфейсов "мозг-компьютер".

Отдельный интерес представляет состояние "судорожной готовности" обнаруженное у крыс WAG/Rij перед началом абсанс-эпилепсии и

характеризующееся появлением на ЭЭГ коротких эпизодов ритмической активности в диапазоне *дельта*- и *тета/альфа* частот. Подобное состояние может быть обнаружено и у пациентов, имеющих предрасположенность к абсанс-эпилепсии, поэтому клинические исследования в данном направлении могут дать ценную прогностическую информацию.

Работа подчеркивает важность модулирующего влияния сенсорного притока на формирование структурно-функциональных свойств соматосенсорной системы, особенно в течение "критических периодов" развития. Сенсорный дефицит в это время (критический период) может вызвать необратимые изменения в нервной системе, и это необходимо учитывать в возрастной физиологии. Существование "критического периода" развития генетически обусловленных патологий (например, абсанс-эпилепсия) может оказаться важным для принятия превентивных мер у лиц со склонностью к наследуемым заболеваниям или для облегчения прогрессирующей симптоматики без использования медикаментов.

Возможную ценность для клинической практики представляет тот факт, что особи с минимальными проявлениями абсанс-эпилепсии отличались низкой плотностью нейронов в центральной структуре нигростриатной дофаминергической системы (компактной части черной субстанции). Не исключено, что снижение числа нейронов в черной субстанции у лиц с минимальными проявлениями абсанс-эпилепсии может спровоцировать другое грозное заболевание - болезнь Паркинсона.

Апробация работы

Основные результаты работы были представлены на отечественных и зарубежных научных мероприятиях. Среди наиболее значимых следует выделить: «Нелинейная динамика в когнитивных исследованиях - 2011» Нижний Новгород, ИПФ РАН, 2009 и 2011; «Нейроинформатика», Москва, МИФИ, 2008 и 2011; совместная конференция общества электроэнцефалографии и клинической нейронауки (ECBS, EEG and Clinical Neuroscience Society), ISBET и ISNIP, 2010, Стамбул, Турция, 2010; всероссийская конференция с международным участием

«Механизмы регуляции физиологических систем организма в процессе адаптации к условиям среды», Санкт-Петербург, декабрь 2010; 6-ая школа-конференция по сомнологии, Ростов-на-Дону; 2009; 3-я международная конференция по когнитивной науке, Москва, 2008; 10-ая международная конференция по нейронауке (ICONX, Xth International conference on cognitive neuroscience), г. Бодрум, Турция, 2008 г; 7th Dutch Endo-Neuro-Psycho Meeting (ENP2008), Doorwerth, Нидерланды, 2008; 12-ый всемирный конгресс по психофизиологии (12-th World Congress of Psychophysiology), Порто-Каррас, Греция, 2004; 25-ый международный конгресс по эпилепсии (25-th International Epilepsy Congress), Лиссабон, Португалия, 2003.

Публикации

По теме диссертации опубликовано 78 печатных работ, в том числе 34 статьи в журналах, рекомендованных ВАК РФ, из них 16 статей в отечественных рецензируемых журналах и 18 статей в зарубежных рецензируемых журналах, входящих в системы цитирования Web of Science, Scopus, PubMed.

Структура и объем диссертации

Диссертация состоит из следующих разделов: Введения, Глав 1-5, где представлен экспериментальный материал, Главы 6, содержащей общее обсуждение и выводы, а также библиографического списка. Материалы диссертации изложены на 280 страницах текста, иллюстрированы 86 рисунками и 23 таблицами.

Библиографический список содержит 523 источника, из которых 46 российских и 477 иностранных публикаций.

Материалы и методы исследования

В экспериментальной работе были использованы крысы линий Wistar, ACI и WAG/Rij обоих полов.

Микроскопические исследования срезов головного мозга проведены с использованием стандартного метода окраски крезил-виолетом по Нисслю. Исследование компактной части черной субстанции выполнено на 11 крысах

WAG/Rij; исследование неокортекса - на 5 крысах WAG/Rij и 5 крысах ACI. Для цитоструктурного анализа окрашенных срезов была использована цифровая микрофотосъемка.

Ограничение сенсорного притока у крыс проводили в определенный период постнатального онтогенеза путём состригания усовых вибрисс с помощью маникюрных ножниц (безболезненная процедура, которую проводили ежедневно). У крыс линии Wistar вибриссы удаляли в период с 1 по 20 день (11 крыс), у крыс линии WAG/Rij с 2 по 21 день (7 крыс) и с 9 по 20 день (5 крыс).

Электрофизиологические исследования импульсной активности одиночных нейронов проекционной области вибрисс в соматосенсорной коре проводили в условиях острого эксперимента под общей уретановой анестезией (i.p., доза 1.5 г/кг). Для регистрации импульсной активности нейронов использовали стеклянные электроды, заполненные 2М раствором *NaCl*. Первая серия опытов была выполнена на 8 крысах Wistar в возрасте 27 - 38 дней. Вторая серия - на 11 крысах Wistar в возрасте 27-40-дней (6 вибриссэктомированных и 5 контрольных) и 10 крысах Wistar в возрасте 41-57 дней (5 вибриссэктомированных и 5 контрольных). Анализировали активность нейронов в слоях *IV* и *V* в ответ на механическую стимуляцию отдельных вибрисс. Стимуляцию проводили с использованием стандартного метода "отклонения и удерживания" ("*ramp-and-hold*"), который заключался в резком отклонении вибриссы (*On*-стимул), удерживании её в отклоненном состоянии в течение 1 с и возвращении в исходное положение (*Off*-стимул).

Электроэнцефалографическое (ЭЭГ) исследование у крыс WAG/Rij проводили с помощью вживленных электродов, имплантированных в разные области головного мозга: эпидурально в кору (лобную, соматосенсорную и затылочную области), интракраниально в ядра таламуса (ретикулярное, RTN и вентропостеромедиальное, VPm) и гиппокампа. Для уточнения локализации глубоких электродов было проведено гистологическое исследование срезов головного мозга. Регистрацию многоканальной ЭЭГ проводили в свободном поведении на протяжении нескольких часов или круглосуточно. В общей

сложности было использовано 18 интактных самцов крыс WAG/Rij в возрасте 11-12 месяцев.

Помимо этого, исследования ЭЭГ проводили у крыс WAG/Rij, подвергшихся удалению вибрисс в раннем онтогенезе (7 контрольных и 12 вибриссэктомированных крыс), у которых ЭЭГ регистрировали ежемесячно с 5-ого по 8-ой месяц жизни. Кроме того, у 6 самцов крыс WAG/Rij исследовали возрастную динамику эпилептической активности на ЭЭГ в возрасте 5 и 9 месяцев, и в возрасте 10 месяцев эти животные подверглись микроструктурному анализу черной субстанции.

У 8 крыс WAG/Rij в возрасте 11-12 месяцев исследовали изменения электрической активности неокортекса и таламуса в ответ на системные инъекции антагониста альфа-2 адренорецепторов клонидина (i.p. в дозе 0,00325 мг/кг). У 13 крыс WAG/Rij в возрасте 6-9 месяцев исследовали роль соматосенсорной коры в эпилептической активности путём инактивации этой области с помощью микроинъекций 2% раствора лидокаина, всем животным предварительно имплантировали канюли для введения растворов (лидокаина и физраствора, микроинъекции которого были использованы в качестве контроля).

Анализ данных ЭЭГ осуществляли с помощью пакетов программ Brain Vision Analyzer ©BrainProducts GmbH, Spike2 ©Cambridge Electronic Design Ltd, а также специального программного обеспечения, разработанного в университете Радбоуд г.Наймеген, Нидерланды (P.L.C van den Broek), в Саратовском государственном университете, в Саратовском государственном техническом университете (под рук. проф. А.Е. Храмова и проф. А.А. Короновского), а также в Саратовском филиале Института радиотехники и электроники РАН (под рук. проф. Б.П. Безручко).

Основные результаты исследований и обсуждение

Проведены исследования функциональных свойств одиночных нейронов проекционного представительства вибрисс в соматосенсорной коре у крыс Wistar. В качестве специфического стимула использовали процедуру отклонения отдельных вибрисс с помощью механостимулятора. Ответы нейронов были

разделены на два типа с учётом длительности и латентного периода: фазические и тонические. Было обнаружено, что фазические ответы преобладали в слоях *VI* и *Vb*, а тонические - в слое *Va*. Известно, что фазические реакции характерны для лемнисковой проекционной системы, а тонические - для паралемнисковой [Diamond, 2000]. На основании анализа собственных данных и литературных источников было сделано заключение, что проекционная область вибрисс в соматосенсорной коре у крыс объединяет информацию, поступающую параллельно по системам лемнисковых и паралемнисковых проекций. Дальнейший анализ показал, что преобладание "лемнисковых" ответов в слоях *IV* и *Vb* соматосенсорной коры и "паралемнисковых" реакций - в слое *Va* обусловлено не только функциональными и анатомическими особенностями таламических входов в кору, но и различной организацией внутрикортикальных тормозных механизмов.

Установлена гетерохрония фазических и тонических ответов проекционной области вибрисс в SmI у крыс Wistar. Показано, что тоническая форма ответов в "лемнисковых" слоях (*IV* и *Vb*) предшествовала фазической. Обнаружено, что созревание фазических реакций происходило в возрасте около 1.5 месяцев параллельно с развитием механизмов торможения и подавлением поздних активационных компонентов вызванной активности нейронов. Установлено, что удаление вибрисс в течение критического периода развития (первые 3 недели постнатального онтогенеза) способствует формированию ответов, не типичных для исследованных слоев коры: избыток возбудительных реакций фазического типа в "паралемнисковом" слое *Va* и реакций тонического типа в "лемнисковом" слое *IV*. У интактных крыс фазические реакции в слое *IV* были результатом трансформации незрелого тонического ответа. У вибриссэктомированных крыс фазические реакции появлялись раньше, чем у интактных животных, в несвойственном для них "паралемнисковом" слое, и им не предшествовали тонические реакции. Таким образом, удаление вибрисс в раннем онтогенезе нарушает последовательность формирования восходящих активирующих влияний на нейроны соматосенсорной коры.

Состригание вибрисс - процесс обратимый. Вибриссы отрастают со скоростью около 2 мм в день, и животные могут использовать вибриссы примерно через неделю после прекращения процедуры состригания, а через месяц волосяная часть аппарата вибрисс полностью восстанавливается. Однако при внешней сохранности механической части вибротактильного анализатора у животных, подвергавшихся состриганию вибрисс в раннем онтогенезе, нарушаются функциональные свойства нейронов неокортекса. Как известно, эти нарушения сопровождаются повышенным уровнем активационных реакций на фоне дефицита торможения [Ситникова, 2000; Shoykhet et al., 2005; Lee et al., 2009], а избыточная возбудимость нейронов является главной причиной эпилепсии. В связи с этим, нарушения, наблюдавшиеся в соматосенсорной коре у вибриссэктомированных крыс, могли способствовать развитию эпилептического очага в данной области. Это предположение было исследовано с использованием крыс линии WAG/Rij, имеющих генетическую склонность к абсанс-эпилепсии.

Анализ энцефалографических данных показал, что пик-волновые разряды у крыс WAG/Rij состоят из последовательности эпилептиформных компонентов,

аналогичных компонентам пик-волнового комплекса человека: негативные пик 1 и 2, позитивный компонент и волна (Рис. 1). Близость энцефалографических характеристик пик-волновых разрядов у крыс WAG/Rij и человека служит основанием для использования этой линии крыс в качестве адекватной модели абсанс-эпилепсии, отдавая приоритет использованию

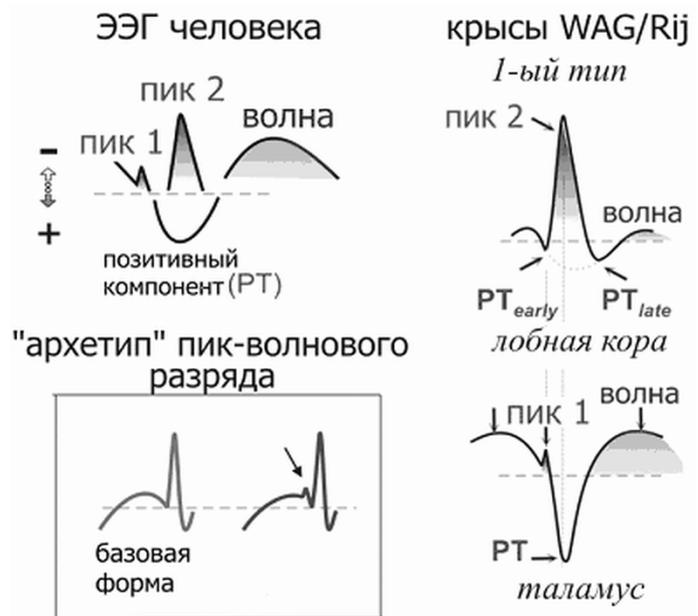


Рис. 1. Основные элементы пик-волнового комплекса на ЭЭГ у человека и крысы WAG/Rij

энцефалографических методов анализа в исследовании природы пик-волновой активности.

Нами установлено, что соматосенсорная кора играет важную роль в формировании генерализованных эпилептических пик-волновых разрядов (SWD) у крыс WAG/Rij. Обнаружено, что временная инактивация соматосенсорной коры путём однократной микроинъекции 2% раствора лидокаина вызывала снижение числа эпилептических разрядов. Эпилептическая активность восстанавливалась до начального уровня спустя 1.5 часа после инъекции, что соответствует длительности действия лидокаина при локальном применении. Контрольные микроинъекции физраствора в эту область соматосенсорной коры не изменяли количественные и качественные параметры SWD. Таким образом, подтверждена правомерность 'теории кортикального очага', согласно которой у крыс, склонных к абсанс-эпилепсии, очаг эпилептической активности локализован в соматосенсорной коре.

Проведен анализ клеточного состава в соматосенсорной, моторной и цингулярной областях неокортекса у крыс WAG/Rij и у контрольной линии крыс ACI (без признаков эпилепсии). Обнаружены следующие отличия микроструктуры неокортекса у крыс WAG/Rij по сравнению с крысами ACI: низкая плотность нейронов и высокая плотность глии в моторной коре (слои II/III); низкая плотность глии в Sml (слои V и VI) и цингулярной коре (слои V и VI). В целом, цитоморфологические изменения неокортекса у крыс WAG/Rij в значительной степени затрагивали популяцию глиальных клеток, и в меньшей степени - популяцию нейронов.

Исследованы частотно-временные характеристики электрической активности лобной коры и таламуса перед началом пик-волновых разрядов у крыс WAG/Rij. Результаты спектрального анализа ЭЭГ, выполненного с использованием быстрого преобразования Фурье, свидетельствуют о том, что началу пик-волновых разрядов предшествуют медленноволновые компоненты на ЭЭГ в диапазоне от 1 до 14 Гц. По критерию спектральной составляющей, преобладавшей на ЭЭГ в лобной коре, "предшественники SWD" (preSWD) были разделены на 4 типа. PreSWD Δ (22% от общего числа), у которых доминировал *дельта*-компонент (1-4 Гц), preSWD θ (38%), у которых преобладал *тета*-

компонент (4—8 Гц), preSWD α (35%) с преобладающим *альфа*-компонентом (8-14 Гц) и preSWD δ (5%), у которых ритмические составляющие отсутствовали. Аналогичная низкочастотная ритмическая активность перед началом SWD была обнаружена и в таламусе.

Более тщательный анализ ЭЭГ, выполненный с использованием непрерывного вейвлетного преобразования, позволил описать свойства двух низкочастотных ритмических компонентов в диапазоне 2-4 Гц и 7-11 Гц, предшествующих появлению эпилептических разрядов (Рис. 2). Установлено, что

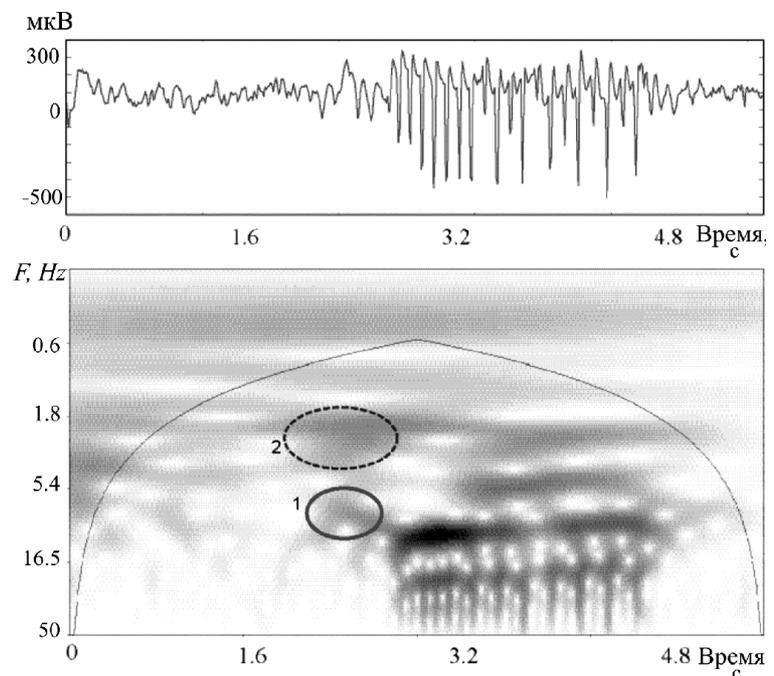


Рис. 2. Вейвлетный спектр пик-волнового разряда, зарегистрированного на лобной ЭЭГ у крысы WAG/Rij. Началу разряда предшествуют два ритмических компонента с частотой 7-11 Гц (1, тета/альфа) и 2-4 Гц (2, дельта).

одновременное появление двух вышеупомянутых низкочастотных компонентов нетипично для фоновой (интериктальной) ЭЭГ. Таким образом, сочетанное появление *дельта*- и *тета/альфа*-компонентов на ЭЭГ перед началом эпилептического разряда характеризует особое состояние "судорожной готовности".

Дельта-компонент, предшествующий началу SWD, был обнаружен в лобной коре на 100 мс раньше, чем в таламусе. Сопоставление собственных и литературных данных привело нас к заключению о том, что этот *дельта*-компонент имеет кортикальное происхождение и может служить триггером эпилептических разрядов. Возможные механизмы формирования про-эпилептической *дельта*- и *тета/альфа* активности перед началом пик-волновых разрядов были исследованы более подробно.

Для исследования процесса синхронизации таламо-кортикальной сети при инициации пик-волновых разрядов был проведен расчет функции когерентности. Обнаружено, что появление пик-волновых разрядов сопровождалось усилением когерентных взаимодействий между всеми частями таламо-кортикальной системы в диапазоне частот, характерных для SWD (9.5-10.2 Гц) и соответствующей гармонической составляющей (16-21.5 Гц). Это явление характеризует процесс глобальной синхронизации при развитии SWD.

Кроме того, были описаны особенности взаимодействий между разными частями таламо-кортикальной системы:

Локальные внутрикортикальные взаимодействия между соматосенсорной и лобной корой характеризуются высокими значениями функции когерентности в диапазоне 8-35.5 Гц и низкими - в диапазоне 1-4 Гц. Увеличение когерентности между соматосенсорной корой (проекционные представления конечностей) и лобным отделом обнаружено в максимально широком диапазоне частот, включая *гамма* полосу (5-60 Гц). Описанные особенности синхронизации области эпилептического очага в соматосенсорной коре с близлежащими областями неокортекса могут быть проявлением процесса локальной внутрикортикальной инициации SWD.

Нелокальные внутрикортикальные взаимодействия между удаленными областями неокортекса, которые напрямую не связаны с эпилептическим очагом, характеризовались самым низким уровнем когерентности. Появление SWD сопровождалось небольшим увеличением синхронизации между этими областями в диапазоне от 8 до 28 Гц.

Межполушарные взаимодействия между симметричными областями соматосенсорной и лобной коры отличались максимальными значениями когерентности и дополнительным пиком на частоте ~16 Гц. Высокий уровень межполушарной синхронизации, по-видимому, способствует билатеральному распространению судорожной активности за счет мощных каллозальных связей.

Таламо-кортикальные взаимодействия были исследованы между таламусом (вентропостеромедиальное и ретикулярное ядра, VPm и RTN соответственно) и

корой (лобная и затылочная). Значения функции когерентности между ядрами таламуса и лобной корой были значительно выше по сравнению с затылочной корой и достигали максимума в диапазоне 8-11.5 Гц (главная частота SWD). Эта особенность, по-видимому, характеризует процесс поддержания и распространения основного ритма SWD в таламо-кортикальной системе, где важную роль играют взаимодействия между лобной корой и таламусом.

Внутри-таламические взаимодействия между VPM и RTN характеризовались высокими значений функции когерентности в основной частоты SWD - 8-11.5 Гц (пик ~9.5 Гц) и низкими - в диапазоне 1-7 Гц и 36-60 Гц. Снижение внутриталамической синхронизации в частотных диапазонах, не характерных для SWD, возможно, облегчает синхронизацию активности таламических ядер в диапазоне основного ритма.

В целом, инициацию пик-волновых разрядов можно представить как совокупность процессов локальной и глобальной синхронизации в таламо-кортикальной системе. Процесс локальной синхронизации может являться ключевым моментом инициации SWD и обуславливать интеграцию ритмической активности эпилептогенной области (соматосенсорная кора) с близлежащими областями некортекса. Процесс глобальной синхронизации обеспечивает распространение и поддержание эпилептического ритма в таламо-кортикальной системе (генерализация SWD).

Исследованы двухсторонние взаимодействия между специфическим ядром таламуса (VPM) и лобной корой до, во время и после пик-волновых разрядов с использованием математических расчетов "причинности по Грейнджеру. Обнаружено, что взаимодействия между лобной корой и таламусом (VPM), описываемые линейной моделью, оставались на низком уровне до момента появления пик-волновой активности на ЭЭГ. По-видимому, изменения в таламо-кортикальной системе, предшествующие началу SWD, имеют нелинейную природу, поэтому для прогнозирования начала судорожной активности с использованием "причинности по Грейнджеру" необходима нелинейная модель. Во-вторых, начало SWD характеризовалось резким ростом влияний 'таламус →

кора' и в обратном направлении 'кора → таламус'. При этом влияние таламуса на лобную кору оставалось высоким до конца SWD и после прекращения SWD превышало исходный уровень. Влияние лобной коры на таламус постепенно снижалось в течение SWD и к концу эпилептического разряда вернулось к начальному уровню.

Показано, что дебют эпилептической активности у крыс линии WAG/Rij из популяции ИВНД и НФ РАН наблюдался в возрасте 5 месяцев и старше, то есть позднее, чем в исходной популяции крыс университета г.Наймеген, Нидерланды, где дебют эпилептической активности наблюдали в возрасте 2-4 месяцев [Coenen & van Luijtelaaar, 1987]. Число и длительность SWD у крыс WAG/Rij (ИВНД и НФ РАН) постепенно увеличивались в период с 5 до 9 месяцев жизни. Также отмечена высокая вариативность количественных характеристик SWD у разных индивидуумов генетически однородной линии, следовательно, фенотипическое проявление наследственной предрасположенности к абсанс-эпилепсии находится под влиянием внешних (эпигенетических) факторов. Обнаружено, что удаление вибрисс у крыс WAG/Rij в течение первых трёх недель жизни приводит к более раннему и более бурному появлению эпилептических разрядов в позднем онтогенезе (в возрасте 5-9 месяцев). Сделан вывод о том, что критический период развития вибро-тактильной чувствительности у крыс с генетической предрасположенностью к абсанс-эпилепсии является критическим и для формирования эпилептических разрядов в позднем онтогенезе. Это заключение подтверждает ранее обнаруженный факт, что патогенетический механизм абсанс-эпилепсии связан с дисфункцией соматосенсорной коры. В целом, полученные экспериментальные данные ставят под сомнение точку зрения о том, что внешние факторы не влияют на реализацию «генетической программы» абсанс-эпилепсии.

Установлено, что удаление вибрисс на протяжении первых 3-х недель жизни крыс WAG/Rij усиливает пик-волновую активность в состоянии дремоты и способствует увеличению продолжительности промежуточной фазы сна на поздних этапах развития.

Один из механизмов, обуславливающий более интенсивное проявление абсанс-эпилепсии в позднем онтогенезе у сенсорно-депривированных животных, может быть связан с дефицитом модулирующего влияния катехоламинергических медиаторных систем. Известно, что в течение первого месяца жизни катехоламины (норадреналин, дофамин) оказывают мощное модулирующее на формирование структуры и функций головного мозга и, в частности, на формирование соматосенсорной коры [Раевский, 1991]. В связи с этим, исследована микроструктура центра nigro-стриатной дофаминергической системы - компактная часть черной субстанции (SN) у крыс WAG/Rij в возрасте 1-ого и 10-и месяцев.

У крыс WAG/Rij обнаружено снижение числа нейронов в компактной части SN и увеличение плотности глиальных клеток в период с 1 по 10 месяц постнатального онтогенеза. Наименьшая плотность нейронов в компактной части SN была зафиксирована у животных с минимальными проявлениями абсанс-эпилепсии. Возможно, что низкий уровень дофаминергической иннервации в nigro-стриатной системе препятствует формированию судорожной активности у крыс с генетической склонностью к этой болезни.

Исследован норадренергический механизм модуляции эпилептической пик-волновой активности у крыс WAG/Rij с использованием системных инъекций агониста $\alpha 2$ -адренорецепторов клонидина в низкой дозе (0.00625 мг/кг). Обнаружено, что инъекции клонидина провоцировали состояние, близкое к эпилептическому статусу. При этом наблюдали увеличение числа и длительности генерализованных SWD, снижение длительности состояния бодрствования (общая продолжительность сна не изменилось). Результаты спектрального анализа ЭЭГ показали увеличение мощности 9-14 Гц (основная частота SWD) в RTN. Таким образом, адренергический механизм усиления эпилептической активности в таламо-кортикальной системе, опосредованный клонидином, может быть обусловлен усилением пачечной активности нейронов RTN.

В исследовании онтогенеза пик-волновых разрядов на ЭЭГ у крыс WAG/Rij были обнаружены переходные (про-эпилептические) формы разрядов, имевшие

веретенообразную форму и пароксизмальные черты. Можно полагать, что эпилептические пик-волновые разряды у взрослых животных являются результатом возрастных изменений нормальной ритмической активности (сонные веретена). Сонные веретена и пик-волновые разряды (Рис. 3) связаны общим таламо-кортикальным механизмом, который наиболее полно раскрыт в 'кортико-ретикулярной теории' абсанс-эпилепсии [Gloor, 1968; 1969; Kandel & Buzsáki, 1997; Kostopoulos, 2000], но, несмотря на это, они имеют ряд принципиальных отличий.



Рис. 3. Эпизоды нормальной и эпилептической активности на лобной ЭЭГ у крысы WAG/Rij.

Нами проведен сравнительный анализ основных характеристик сонных веретен и SWD на ЭЭГ у крыс WAG/Rij (быстрое преобразование Фурье). Обнаружено, что амплитуда сонных веретен и SWD достигает максимальных значений в лобной коре. SWD отличаются от сонных веретен большей длительностью и более высокой спектральной мощностью в диапазонах альфа-бета-гамма частот. Частота SWD в среднем на 2 Гц ниже, чем у сонных веретен. Анализ функции когерентности показал, что SWD формировались на фоне более высокой синхронизации в таламо-кортикальной системе.

Необходимо признать, что сонные веретена и SWD представляют собой сигналы нестационарной природы (то есть, имеют малую длительность и их характеристики изменяются с течением времени), что значительно ограничивает использование преобразования Фурье для спектрального анализа. Этот метод не даёт возможности исследовать форму колебаний, а некоторые особенности сигнала искажают структуру спектра (например, пики на ЭЭГ вызывают

появление гармоник на спектре, кратных основной частоте). Для более тщательного изучения особенностей частотно-временной структуры сонных веретен и SWD был использован аппарат непрерывного вейвлетного преобразования. Обнаружено, что средняя частота SWD в лобной коре составляет 10.1 Гц, в таламусе - 8.5 Гц и снижается к середине SWD до 7.4 Гц в лобной коре и до 6.4 Гц в таламусе.

Частота сонных веретен варьировала, при этом критерий частоты был необходимым, но не достаточным для надежного распознавания сонных веретен на ЭЭГ в автоматическом режиме. В связи с этим, был разработан новый подход к стандартизации ритмической активности на ЭЭГ - *адаптивный вейвлетный анализ*, который предусматривает использование сонных веретен на ЭЭГ для построения вейвлетных базисов

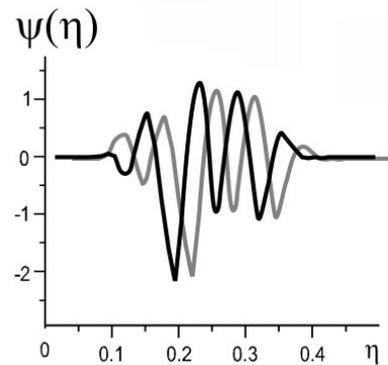


Рис. 4. Вейвлетный базис типичных сонных веретен у крыс WAG/Rij. Это - комплексная функция, где черным цветом обозначена действительная часть, серым - мнимая.

(*spindle wavelet*). Этот подход позволил выделить две формы сонных веретен: типичную (~90% от общего числа веретен) и атипичную (~10% веретен). Типичные сонные веретена у всех исследованных животных обнаружили высокое сродство к соответствующему вейвлетному базису (Рис.4), и этот базис может служить прототипом сонных веретен у крыс WAG/Rij. Атипичные веретена отличались от типичных веретен наличием спектральных компонентов в диапазоне 4-8 Гц и 16-25 Гц и могли быть результатом эпилептической трансформации типичных сонных веретен.

Были исследованы возрастные изменения сонных веретен у крыс WAG/Rij в интервале между 5 и 9 месяцами жизни. Руководствуясь критерием доминантой частоты, сонные веретена были разделены на три группы: 8-10 Гц, 10-12 Гц и 12-14 Гц. Соотношение между этими группами составляло примерно 2:1:1, и оно практически не изменилось с возрастом. Во всех возрастных группах

длительность 10-12 Гц веретен была значимо выше, чем длительность 10-12 Гц и 12-14 Гц веретен. Обнаружено, что снижение длительности сонных веретен всех трёх типов у крыс WAG/Rij происходило между 5 и 7 месяцами жизни на фоне прогрессирующего развития эпилептической активности. Возможно, что эпилептическая активность в таламо-кортикальной системе нарушает способность поддерживать нормальный веретенообразный ритм, что приводит к уменьшению продолжительности сонных веретен. У животных с более интенсивными проявлениями эпилепсии длительность сонных веретен была ниже, чем у остальных животных. При этом высокий эпилептический статус у крыс линии WAG/Rij довольно слабо влиял на структуру сонных веретен, относящихся к двум традиционно выделяемым типам, имеющим частоту 8-10 Гц и 12-14 Гц, но оказывал значительное влияние на количественные и качественные параметры 10-12 Гц веретен. У крыс с высоким эпилептическим статусом процент 10-12 Гц веретен был ниже, чем у животных с низким эпилептическим статусом, и их средняя частота также была ниже.

Прогессирующее развитие абсанс-эпилепсии у крыс WAG/Rij сопровождается не только изменениями сонных веретен, как было продемонстрировано выше, но и нарушением структуры сна [Gandolfo et al., 1990; van Luijtelaar & Vinkbaev, 2007], что свидетельствует о нарушениях системных механизмов регуляции цикла сон-бодрствование. Некоторые исследователи полагают, что патогенез абсанс-эпилепсии связан с нарушением системы контроля состояния бодрствования [Pinault & O'Brien, 2005; Halász & Kelemen, 2009]. Например, у крыс линии GAERS с генетической предрасположенностью к абсанс-эпилепсии (*Genetic Absence Epilepsy Rat from Strasbourg*) перед началом SWD на ЭЭГ наблюдают 5-9 Гц колебания [Pinault et al. 2001], которые характерны для состояния бодрствования и отличаются от сонных веретен [Pinault et al. 2006]. Крысы GAERS до последнего времени являлись единственной линией, у которой описаны про-эпилептические 5-9 Гц колебания на ЭЭГ.

В настоящей работе были исследованы 5-9 Гц колебания на ЭЭГ у крыс линии WAG/Rij, которые не были связаны с началом SWD. Эти колебания имели веретенообразную форму, их частота была ниже, чем у сонных веретен и приближалась к частоте эпилептических пик-волновых разрядов. Обнаружено, что нелинейная динамика SWD и сонных веретен подчиняется закону *on-off* перемежаемости, следовательно, появление этих колебаний имеет детерминированную природу и подконтрольно общему механизму. Динамика 5-9 Гц колебаний не подчиняется ни одному из известных типов нелинейного поведения.

Заключение

Выполненная работа демонстрирует, что соматосенсорная кора, являющаяся интегративным центром вибротактильного анализатора у крыс, играет ключевую роль в развитии абсанс-эпилепсии у животных с соответствующей генетической предрасположенностью. Соматосенсорная часть таламо-кортикальной системы вовлечена в формирование пик-волновых разрядов (электроэнцефалографический коррелят абсанс-эпилепсии). Сенсорные (эпигенетические) факторы раннего онтогенеза, контролирующие формирование центральных механизмов вибротактильной чувствительности, модулируют развитие абсанс-эпилепсии. Катехоламинергические системы головного мозга (дофаминергическая и норадренергическая) также оказывают модулирующее влияние на формирование абсанс-эпилепсии.

Выводы

1. Соматосенсорная кора у крыс объединяет афференты лемнисковой и паралемнисковой проекционных систем. «Лемнисковая» форма ответов обнаружена преимущественно в слоях *IV* и *Vb* соматосенсорной коры, а «паралемнисковая» - в слое *Va*. Это распределение обусловлено как конвергенцией возбуждения от нижележащих таламических структур, так и избирательным внутрикорковым торможением.

2. У крыс с врожденной предрасположенностью к абсанс-эпилепсии (линия WAG/Rij) соматосенсорная кора играет ведущую роль в формировании генерализованных пик-волновых разрядов. Патогенез абсанс-эпилепсии связан с нарушениями нейро-глиальных соотношений в цингулярной, моторной и соматосенсорной областях неокортекса.
3. Критический период формирования вибротактильной чувствительности у крыс WAG/Rij (первые недели постнатального онтогенеза) является критическим и для развития абсанс-эпилепсии. Внешние (эпигенетические) факторы контролируют развитие генетически детерминированной абсанс-эпилепсии.
4. Характерные для абсанс-эпилепсии пик-волновые разряды на ЭЭГ у крыс WAG/Rij представлены комплексом эпилептиформных компонентов, которые аналогичны компонентам комплекса "пик-волна" у больных абсанс-эпилепсией.
5. Перед началом пик-волновых разрядов в коре и таламусе у крыс WAG/Rij обнаружены короткие эпизоды дельта- (~4.1 Гц) и тета-активности (~8.6 Гц), что нетипично для фоновой ЭЭГ.
6. Таламо-кортикальный механизм формирования пик-волновых разрядов объединяет два процесса: 1) процесс инициации эпилептических разрядов - локальная синхронизация между эпилептогенной областью в соматосенсорной коре и близлежащими областями неокортекса; 2) процесс глобальной синхронизации, обеспечивающей распространение и поддержание эпилептического ритма в таламо-кортикальной системе (генерализация эпилептических разрядов).
7. В процессе инициации и поддержания пик-волновых разрядов таламус оказывает устойчивое влияние на лобную кору, а конце разрядов наблюдается снижение влияния лобной коры на таламус.
8. Системные инъекции антагониста альфа-2 адренорецепторов вызывают увеличение числа и длительности SWD пик-волновых разрядов и усиливают

ритмическую активность ретикулярного таламического ядра в диапазоне главной частоты разрядов (9-14 Гц).

9. Интенсивность абсанс-эпилепсии коррелирует с микроструктурными изменениями в центре nigro-стриатной дофаминергической системы - компактной части черной субстанции. Животные с минимальными проявлениями абсанс-эпилепсии характеризуются наименьшей плотностью нейронов в этой области мозга.
10. Частотно-временные характеристики сонных веретен и SWD значительно отличаются. Сонные веретена у крыс с генетической склонностью к абсанс-эпилепсии не являются непосредственными предшественниками пик-волновых разрядов.
11. Долговременная динамика пик-волновых разрядов и сонных веретен подчиняется закону *on-off* перемежаемости, следовательно, эти колебания имеют детерминированную природу.

Список сокращений

ACI - *Agouti Copenhagen Irish*, имбредная линия крыс (*black agouti*), не имеющая предрасположенности к эпилептическим расстройствам;

GAERS - *Genetic Absence Epilepsy Rat from Strasbourg*, имбредная линия крыс с генетической предрасположенностью к абсанс-эпилепсии;

RTN - ретикулярное ядро таламуса;

SN - черная субстанция (*substantia nigra*, исследована только компактная часть)

SmI - соматосенсорная кора;

SWD - пик-волновые разряды (*spike-wave discharges*);

VPm - вентропостеромедиальное ядро таламуса;

WAG/Rij - *Wistar Albino Glaxo rats from Rijswijk*, имбредная линия крыс с генетической предрасположенностью к абсанс-эпилепсии.

Основные работы, опубликованные по теме диссертации

Список статей в рецензируемых научных журналах, рекомендованных ВАК РФ

1. Sitnikova E, van Luijtelaar G. Cortical control of generalized absence seizures: effect of lidocaine applied to the somatosensory cortex in WAG/Rij rats. *Brain Res*, 2004; 1012(1-2): 127-137. PubMed PMID: 15158169
2. Sitnikova E, van Luijtelaar G. Reduction of adrenergic neurotransmission with clonidine aggravates spike-wave seizures and alters activity in the cortex and the thalamus in WAG/Rij rats. *Brain Res Bull*, 2005; 64(6): 533-540. PubMed PMID: 15639550
3. Короновский А.А., Кузнецова Г.Д., Мидзяновская И.С., Ситникова Е.Ю., Трубецков Д.И., Храмов А.Е. Закономерности перемежающегося поведения в спонтанной неконвульсивной судорожной активности у крыс. Доклады Академии Наук, 2006; 409(2): 274-276
4. Hramov A, Koronovskii AA, Midzyanovskaya IS, Sitnikova E, van Rijn CM. On-off intermittency in time series of spontaneous paroxysmal activity in rats with genetic absence epilepsy. *Chaos*, 2006; 16(4): 043111. PubMed PMID: 17199389
5. Sitnikova E, van Luijtelaar G. Cortical and thalamic coherence during spike-wave seizures in WAG/Rij rats. *Epilepsy Res*, 2006; 71(2-3): 159-180. PubMed PMID: 16879948
6. van Luijtelaar G, Sitnikova E. Global and focal aspects of absence epilepsy: the contribution of genetic models. *Neurosci Biobehav Rev*. 2006; 30(7): 983-1003. PubMed PMID: 16725200
7. Sitnikova E, van Luijtelaar G. Electroencephalographic characterization of Spike-Wave Discharges in cortex and thalamus in WAG/Rij rats. *Epilepsia*, 2007; 48 (12), 2296–2311. PubMed PMID: 18196621
8. Короновский А.А., Минюхин И.М., Тыщенко А.А., Храмов А.Е., Мидзяновская И.С., Ситникова Е.Ю., van Luijtelaar G., van Rijn С.М. Применение непрерывного вейвлет-преобразования для анализа перемежающегося поведения. Изв. вузов. Прикладная нелинейная динамика. 2007; 15(4): 34-54.

9. Sargsyan A, Sitnikova E, Melkonyan A, Mkrtchian H, van Luijtelaar G. Simulation of sleep spindles and spike and wave discharges using a novel method for the calculation of field potentials in rats. *J Neurosci Methods*, 2007; 164(1): 161-178. PubMed PMID: 17531326
10. Sitnikova E, Dikanev T, Smirnov D, Bezruchko BP, van Luijtelaar G. Granger causality: Cortico-thalamic interdependencies during absence seizures in WAG/Rij rats, *J Neurosci Methods*, 2008; 170(2): 245-254. PubMed PMID: 18313761
11. Sitnikova E, Hramov AE, Koronovskii AA, van Luijtelaar 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; 180: 304-316. PubMed PMID: 19383511
12. Sitnikova E, van Luijtelaar G. Electroencephalographic precursors of spike-wave discharges in a genetic rat model of absence epilepsy: power spectrum and coherence EEG analyses *Epilepsy Res*, 2009; 84(2-3): 159-171. PubMed PMID: 19269137
13. Ситникова Е.Ю., Раевский В.В. Интеграция лемнискового и паралемнискового проводящих путей тригеминальной системы у грызунов осуществляется на уровне соматосенсорной коры. *Журн. высш. нервн. деят.*, 2009; 59(1): 98-106. PubMed PMID: 19338254
14. Куликова С.Н., Ситникова Е.Ю., Раевский В.В. Цитоморфологические особенности коры головного мозга крыс с наследственной предрасположенностью к абсанс-эпилепсии. *Журн. высш. нервн. деят.*, 2009; 59(4): 506-512. PubMed PMID: 19795814
15. Sitnikova E. Thalamo-cortical mechanisms of sleep spindles and spike-wave discharges in rat model of absence epilepsy (a review). *Epilepsy Res.*, 2010; 89(1): 17-26. PubMed PMID: 19828296
16. Ситникова Е.Ю. Влияние раннего сенсорного опыта на формирование функциональных свойств нейронов проекционной области вибрисс в

неокортексе у крыс. Журн. высш. нервн. деят., 2010; 60(6): 719-729. PubMed PMID: 21434408

17. van Luijtelaaar G, Sitnikova E, Littjohann A. On the origin and suddenness of absences in genetic absence models. Clin EEG Neurosci. 2011; 42(2): 83-97. PubMed PMID: 21675598
18. Sitnikova E, Kulikova S, Birioukova L, Raevsky VV. Cellular neuropathology of absence epilepsy in the neocortex: a population of glial cells rather than neurons is impaired in genetic rat model. Acta Neurobiol Exp (Wars). 2011; 71(2): 263-268. PubMed PMID: 21731079
19. Sitnikova E. Neonatal sensory deprivation promotes development of absence seizures in adult rats with genetic predisposition to epilepsy. Brain Res. 2011; 1377: 109-118. PubMed PMID: 21194524
20. van Luijtelaaar G, Hramov A, Sitnikova E, Koronovskii A. Spike-wave discharges in WAG/Rij rats are preceded by delta and theta precursor activity in cortex and thalamus. Clin Neurophysiol. 2011; 122(4): 687-695.
21. Ситникова Е.Ю., Короновский А.А., Храмов А.Е. Анализ электрической активности головного мозга при абсанс-эпилепсии: прикладные аспекты нелинейной динамики. Известия вузов. Прикладная нелинейная динамика, 2011; 19(6): 173-182.
22. 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. Известия вузов. Прикладная нелинейная динамика, 2011; 19(4): 91-108.
23. Короновский А.А., van Luijtelaaar G., Овчинников А.А., Ситникова Е.Ю., Храмов А.Е. Диагностика и анализ осцилляторной нейросетевой активности головного мозга с использованием непрерывного вейвлетного преобразования. Известия вузов. Прикладная нелинейная динамика, 2011; 19(1) 86-108.

24. Sitnikova E, Hramov AE, Grubov VV, Ovchinnikov AA, Koronovsky AA. On-off intermittency of thalamo-cortical oscillations in the electroencephalogram of rats with genetic predisposition to absence epilepsy. *Brain Res.* 2012; 1436: 147-156. PubMed PMID: 22197695
25. Ситникова Е.Ю., Грубов В.В., Храмов А.Е., Короновский А.А. Возрастные изменения частотно временной структуры сонных веретен на ЭЭГ у крыс с генетической предрасположенностью к абсанс эпилепсии (линия WAG/Rij). *Журн. высш. нервн. деят.*, 2012; 62(6): 733–744. PubMed PMID: 23530451
26. Грубов В.В., Ситникова Е.Ю., Короновский А.А., Павлов А.Н., Храмов А.Е. Автоматическое выделение и анализ осцилляторных паттернов на нестационарных сигналах ЭЭГ с использованием вейвлетного преобразования и метода эмпирических мод. *Известия РАН. Серия физическая.* 2012, 76(12): 1520–1523.
27. Ситникова Е. Ю., Егорова Т.Н., Раевский В.В. Уменьшение плотности нейронов в компактной части черной субстанции коррелирует с низкой пик волновой активностью у крыс линии WAG/Rij. *Журн. высш. нервн. деят.*, 2012; 62(5): 619-628. PubMed PMID: 23227734
28. Павлов А.Н., Храмов А.Е., Короновский А.А., Ситникова Е.Ю., Макаров В.А., Овчинников А.А. Вейвлет-анализ в нейродинамике. *Успехи физических наук*, 2012; 182(9): 905-939 (<http://ufn.ru/ru/articles/2012/9/a/>)
29. Грубов В.В., Ситникова Е.Ю., Назимов А.И., Руннова А.Е., Храмов А.Е., Храмова М.В. Возрастная динамика частотно-временных особенностей сонных веретен на ЭЭГ крыс с генетической предрасположенностью к эпилепсии. *Вестник ТГУ*; 18(4) 2013; 1288-1291.
30. Грубов В.В., Короновский А.А., Ситникова Е.Ю., Иванов А.В., Храмов А.Е. Аппаратно-программные комплексы для анализа электрической активности головного мозга: мониторинг долговременных процессов в нейрофизиологии и экологии, клиническая практика, создание интерфейсов «мозг-компьютер». *Инновационная деятельность.* 2013; 2(25): 152-161.

31. Назимов А.И., Павлов А.Н., Храмов А.Е., Грубов В.В., Ситникова Е.Ю., Храмова М.В. Распознавание осцилляторных паттернов на электроэнцефалограмме на основе адаптивного вейвлет-анализа. Вестник ТГУ; 18(4) 2013; 1431-1434.
32. Назимов А.И., Павлов А.Н., Храмов А.Е., Грубов В.В., Ситникова Е.Ю., Короновский А.А. Адаптивный метод распознавания характерных осцилляторных паттернов на основе вейвлет-преобразования. Радиотехника и электроника. 2013; 58(8): 789-795.
33. Nazimov AI, Pavlov AN, Nazimova AA, Grubov VV, Koronovskii AA, Sitnikova E, Hramov AE. Serial identification of EEG patterns using adaptive wavelet-based analysis. Eur. Phys. J. Special Topics. 2013; 222(10): 2713–2722.
34. Sitnikova E, Hramov AE, Grubov V, Koronovsky AA. Time-frequency characteristics and dynamics of sleep spindles in WAG/Rij rats with absence epilepsy. Brain Res. 2014; 1543: 290-299. PubMed PMID: 24231550

Монографии и главы в монографиях:

35. van Luijtelaar G, Sitnikova EY, Midzyanovskaya IS. Cortical control of absence seizures: focal initiation, spreading and modulation. In: Generalized seizures: from clinical phenomenology to underlying systems and networks. Eds: E. Hirsch, F. Andermann, P. Chauvel, J. Engel, F. Lopes da Silva, H. Luders. Libbey, 2006; pp. 93-117.
36. Sitnikova E.Yu. Mechanisms of epileptogenesis in the somatosensory cortex in rats with genetic absence epilepsy. В книге: «Somatosensory Cortex: Roles, Interventions and Traumas» под ред. N. Johnsen и R. Agerskov. pp. 121-139. Nova Science Publishers Inc, 2010. 187 p.
37. Короновский А.А., Макаров В.А., Павлов А.Н., Ситникова Е.Ю., Храмов А.Е. Вейвлеты в нейродинамике и нейрофизиологии. М.: Физматлит. 2013, 272с.

Статьи в изданиях, не входящих в системы цитирования

38. Sitnikova E, van Luijtelaar G. Anterior and posterior sleep spindles in rats: a spectral analytical approach. *Sleep-Wake in the Netherlands*, 2003, 14: 76-79
39. Sitnikova E, van Luijtelaar ELJM. Cortical control of generalized absence seizures: effect of lidocaine applied to the somatosensory cortex in WAG/Rij rats. В сборнике под Ред. van Luijtelaar E.L.J.M., Kuznetsova, G.D., Chepurinov SA, Coenen AML. *The WAG/Rij Model for Absence Epilepsy. The Nijmegen - Russian Federation Papers*. Nijmegen University Press, Nijmegen. 2004: 37-54.
40. van Luijtelaar G. Sitnikova E.Y. From generalized to focal absence seizures. *Epilepsi (Journal of the Turkish Epilepsy Society)*. 2004; 10(2), 112-128.
41. Sitnikova E, van Luijtelaar G. Alpha-2 adrenergic mechanisms of spike-wave activity and sleep EEG in rats. *Sleep-Wake in the Netherlands*, 2004; 15: 67-70
42. Sitnikova E, Van Luijtelaar ELJM. Thalamic and cortical correlates of sleep spindles in rats. *Sleep-wake research in the Netherlands*, 2005; 16: 137-140.
43. Sitnikova E, Van Luijtelaar ELJM. Evolution of anterior and posterior sleep spindles in rats. *Sleep-wake research in the Netherlands*, 2005; 16: 133-136.
44. Ситникова Е.Ю. Загадка промежуточной фазы сна. 5-ая российская школа-конференция «Сон – окно в мир бодрствования». Ростов-на-Дону; 2009; стр.71-77.
45. Sitnikova E. The Role of Somatosensory Cortex in Absence Epilepsy (Studies in Genetic Rat Model). *Brain Research Journal*, 2009; 2(4): 281-296.
46. Hramov A.E., Grubov V.V., Pavlov A.N., Sitnikova E.Yu., Koronovskii A.A., Runnova A.E., Shurygina S.A., Ivanov A.V. On-off intermittency of thalamo-cortical neuronal network oscillations in the electroencephalogram of rodents with genetic predisposition to absence epilepsy. *Proc. SPIE*. 8580 (2013) 85801E
47. Nazimov A.I., Pavlov A.N., Hramov A.E., Grubov V.V., Koronovskii A.A., Sitnikova E.Yu. Adaptive wavelet-based recognition of oscillatory patterns on electroencephalograms. *Proc. SPIE*. 8580 (2013) 85801D