

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

Ситникова Евгения Юрьевна

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

03.03.01 – физиология

диссертация на соискание ученой степени
доктора биологических наук

Научный консультант:
Доктор биологических наук, профессор
Владимир Вячеславович Раевский

Москва 2014

Оглавление

Введение	5
Цель работы	8
Задачи исследования	8
Основные положения, выносимые на защиту	8
Научная новизна исследования	8
Теоретическая ценность и практическая значимость	9
Список сокращений	11
ГЛАВА 1 Соматосенсорная кора: принципы организации и сенсорные факторы развития..12	
1.1. Общий план строения соматосенсорной области неокортекса	12
1.2. Морфо-функциональная организация вибротактильной системы у крыс	14
1.2.1. Организация рецептивных полей нейронов проекционной области вибрисс	15
1.2.2. Цитоархитектоника проекционной области вибрисс в SmI	17
1.2.3. Параллели между морфометрическими характеристиками и физиологическими свойствами нейронов проекционной области вибрисс	20
1.3. Сенсорные факторы формирования микроструктуры соматосенсорной коры у крыс	23
1.3.1. Морфометрические параметры нейронов у крыс, подвергшихся сенсорной депривации	24
1.3.2. Морфологические основы компенсации дефицита сенсорного притока в раннем онтогенезе	27
1.4. Интеграция коры и таламуса	28
1.4.1. Сенсорные области коры и таламуса	28
1.4.2. Иерархическая организация таламо-кортикальной системы	30
1.5. Интеграция "лемнисковых" и "паралемнисковых" проекционных путей в соматосенсорной коре	31
<i>Особенности процедуры исследований</i>	33
1.5.1. Характеристики "лемнисковых" и "паралемнисковых" ответов нейронов неокортекса	34
1.5.2. Торможение как фактор, модифицирующий форму нейронного ответа проекционной области вибрисс в SmI	34
<i>Заключение</i>	36
1.6. Сенсорные факторы развития "лемнисковых" и "паралемнисковых" реакций	36
<i>Особенности процедуры исследований</i>	37
1.6.1. Возрастная динамика «лемнисковых» и «паралемнисковых» ответов	38
1.6.2. Влияние удаления вибрисс на возрастную динамику "лемнисковых" и "паралемнисковых" ответов	40
<i>Заключение</i>	43
ГЛАВА 2 Феномен абсанс-эпилепсии у крыс WAG/Rij: роль неокортекса в развитии пик-волновой активности	45
2.1. Абсанс-эпилепсия - клинические аспекты	45
2.2. Абсанс-эпилепсия - электроэнцефалографические признаки	48
2.3. Патогенез абсанс-эпилепсии	49
2.4. Экспериментальные и генетические модели абсанс-эпилепсии	53
2.4.1. Экспериментальные модели	53
2.4.2. Генетические модели	54
2.5. Электроэнцефалографические характеристики пик-волновых разрядов у крыс WAG/Rij в коре и таламусе	56
<i>Особенности процедуры исследований</i>	57
2.5.1. Форма пик-волновых разрядов у крыс WAG/Rij	58
2.5.2. Компоненты пик-волновых разрядов у крыс WAG/Rij	61
SWD 1-ого типа	61
SWD 2-го типа	64
<i>Различия между SWD 1-го и 2-го типов</i>	65

<i>Заключение</i>	65
2.6. Роль соматосенсорной коры в инициации пик-волновых разрядов у крыс WAG/Rij _____	66
<i>Особенности процедуры исследований</i>	67
2.6.1. Активность неокортекса на фоне локального введения лидокаина	68
2.6.2. Изменения пик-волновой активности после инактивации SmI	69
2.6.3. Предпосылки для формирования эпилептических разрядов в соматосенсорной коре у грызунов	72
<i>Заключение</i>	75
2.7. Нарушения цитоструктуры неокортекса при абсанс-эпилепсии _____	75
<i>Особенности процедуры исследований</i>	76
2.7.1. Популяция нейронов	78
2.7.2. Популяция глиальных клеток и нейро-глиальные соотношения	79
2.7.3. Цитоструктура неокортекса при абсанс-эпилепсии: возможные причины и следствия	79
<i>Заключение</i>	82
ГЛАВА 3 Таламо-кортикальные механизмы абсанс-эпилепсии	83
3.1. Общий план строения таламуса _____	83
3.2. Роль таламуса в формировании пик-волновых разрядов (нейронные механизмы) _____	86
3.3. Роль неокортекса и нейросетевые механизмы формирования пик-волновых разрядов _____	90
3.4. Ритмическая активность таламуса и коры перед началом пик-волновых разрядов (1-ого типа) у крыс WAG/Rij _____	93
<i>Особенности процедуры исследований</i>	94
3.4.1. Классификация предшественников пик-волновых разрядов на лобной ЭЭГ	95
3.4.2. Частотные характеристики предшественников пик-волновых разрядов в коре и в таламусе	99
3.4.3. Изменение частотных характеристик ЭЭГ при переходе от предшественников к пик-волновым разрядам	101
3.4.4. Синхронизация таламо-кортикальной сети при появлении пик-волновых разрядов с разными типами предшественников	103
3.4.5. Частотно-временная структура пик-волновых разрядов и их предшественников в коре и в таламусе (вейвлетный анализ)	105
<i>Заключение</i>	110
3.5. Природа про-эпилептической активности перед началом пик-волновых разрядов _____	110
3.5.1. Медленно-волновый предшественник (дельта)	110
3.5.2. Тета/альфа-предшественник	113
3.6. Синхронизация таламо-кортикальной сети при инициации пик-волновых разрядов _____	114
<i>Особенности процедуры исследований</i>	115
3.6.1. Внутрикорткальные взаимодействия	117
3.6.2. Межполушарные кортико-кортикальные взаимодействия	120
3.6.3. Таламо-кортикальные и внутриталамические взаимодействия	121
3.6.4. Процесс интеграции частей таламо-кортикальной системы при развитии гиперсинхронной эпилептической активности	123
<i>Заключение</i>	125
3.7. Направленность и динамика таламо-кортикальных взаимодействий при развитии пик-волновых разрядов _____	126
<i>Особенности процедуры исследований</i>	127
3.7.1. Двухсторонние взаимодействия между корой и таламусом в течение пик-волновых разрядов (анализ "причинности по Грейнджеру")	130
3.7.2. Таламо-кортикальные нейросетевые механизмы поддержания и прекращения пик-волновых разрядов	132
<i>Заключение</i>	134
ГЛАВА 4 Системные механизмы развития абсанс-эпилепсии у крыс линии WAG/Rij	136
4.1. Развитие пик-волновых разрядов в норме и при ограничении сенсорного притока в раннем онтогенезе _____	136
<i>Особенности процедуры исследований</i>	136
4.1.1. Возрастные изменения пик-волновых разрядов	137
4.1.2. Развитие абсанс-эпилепсии у взрослых животных, подвергшихся удалению вибрисс в раннем онтогенезе	138
4.1.3. Критический период формирования эпилептических разрядов у крыс WAG/Rij	140
<i>Заключение</i>	141

4.2. Связь между механизмами сна и абсанс-эпилепсии у крыс, подвергшихся деафферентации в раннем онтогенезе	142
<i>Особенности процедуры исследований</i>	144
4.2.1. Распределение пик-волновых разрядов в цикле сон-бодрствование	145
4.2.2. Параметры промежуточной фазы сна	148
Заключение	150
4.3. Дофаминергические механизмы развития абсанс-эпилепсии	151
<i>Особенности процедуры исследований</i>	152
4.3.1. Возрастные изменения клеточного состава черной субстанции (компактная часть) у крыс WAG/Rij	153
4.3.2. Корреляция между интенсивностью судорожной активности и плотностью нейронов в черной субстанции	156
Заключение	158
4.4. Адренергическая модуляция пик-волновой активности	158
4.4.1. Особенности процедуры исследований	159
4.4.2. Влияние клонидина на динамику SWD и уровень бодрствования	160
4.4.3. Влияние клонидина на спектральные характеристики SWD	162
Заключение	165
ГЛАВА 5 Сонные веретена и пик-волновые разряды - нормальный и пароксизмальный ритм таламо-кортикальной системы	168
5.1. Сонные веретена	168
5.1.2. Сонные веретена у человека	169
5.1.3. Сонные веретена у животных	171
5.2. Сходства и различия сонных веретен и пик-волновых разрядов	172
<i>Особенности процедуры исследований</i>	175
5.2.1. Частотные характеристики сонных веретен и пик-волновых разрядов в лобной и затылочной коре	177
5.2.2. Частотные характеристики сонных веретен и пик-волновых разрядов в коре и таламусе	179
5.2.3. Параметры мощности сонных веретен и пик-волновых разрядов в коре и таламусе	182
5.2.4. Особенности синхронизации коры и таламуса во время сонных веретен и пик-волновых разрядов	184
Заключение	187
5.3. Вейвлетный анализ сонных веретен и пик-волновых разрядов (лобная кора)	189
<i>Особенности процедуры исследований</i>	189
5.3.1. Выбор оптимального вейвлетного базиса для исследования сонных веретен	190
5.3.2. Частотно-временные параметры пик-волновых разрядов	192
5.3.3. Сравнительный вейвлетный анализ сонных веретен и пик-волновых разрядов	194
Заключение	199
5.4. Изменение частотно-временной структуры сонных веретен при прогрессирующем развитии абсанс-эпилепсии	201
<i>Особенности процедуры исследований</i>	202
5.4.1. Динамика мгновенной частоты внутри сонного веретена	202
5.4.2. Возрастные изменения частотно-временных параметров сонных веретен	206
5.4.3. Связь частотно-временных параметров сонных веретен с интенсивностью абсанс-эпилепсии	206
Заключение	209
5.5. Временная динамика таламо-кортикальных осцилляций	210
<i>Особенности процедуры исследований</i>	212
5.5.1. Особенности частотно-временной структуры сонных веретен, 5-9 Гц колебаний и SWD	213
5.5.2. Нелинейная динамика сонных веретен, 5-9 Гц колебаний и SWD	214
5.5.3. Законы on-off перемежаемости в таламо-кортикальной системе	218
Заключение	219
ГЛАВА 6 Общее обсуждение и выводы	220
Соматосенсорная кора	220
Организация проекционной области вибрисс в соматосенсорной коре у крыс	220
Сенсорные факторы развития соматосенсорной коры в раннем онтогенезе	221
Критический период структурно-функционального развития коры	222
Особенности абсанс-эпилепсии у крыс	224
Электроэнцефалографический паттерн пик-волновых разрядов	224
Нейронные механизмы формирования структуры комплексов пик-волна на ЭЭГ у крыс WAG/Rij	225

<i>Факторы, способствующие формированию эпилептической активности в соматосенсорной коре у крыс</i>	228
<i>Экспериментальное обоснование 'теории кортикального очага'</i>	229
<i>Цитоархитектоника неокортекса при абсанс-эпилепсии и нарушения нейро-глиальных соотношений</i>	229
Ритмическая активность, предшествующая началу пик-волновых разрядов в коре и таламусе	230
<i>Частотно-временные характеристики</i>	230
<i>Феноменология явления и нейрофизиологические механизмы</i>	232
Роль таламуса в формировании пик-волновых разрядов	234
<i>Форма таламического потенциала пик-волновых разрядов</i>	234
<i>Внутриталамические механизмы пик-волновых разрядов</i>	235
Таламо-кортикальные механизмы абсанс-эпилепсии (пик-волновые разряды)	237
<i>Характер пред-эпилептической активности и особенности таламо-кортикальной синхронизации при инициации пик-волновых разрядов</i>	237
<i>Динамика двухсторонних таламо-кортикальных взаимодействий до, во время и после пик-волновых разрядов (расчет "причинности по Грейнджеру")</i>	238
<i>Динамика частоты ритмической активности в коре и таламусе на начальной и финальной фазе пик-волновых разрядов</i>	239
<i>Локальная и глобальная синхронизация в таламо-кортикальной системе при формировании пик-волновых разрядов</i>	240
Системные механизмы развития абсанс-эпилепсии	242
<i>Онтогенез пик-волновой активности, «критический период» развития абсанс-эпилепсии</i>	242
<i>Развитие абсанс-эпилепсии и особенности сна у крыс WAG/Rij</i>	243
<i>Цитоархитектоника центра дофаминергической регуляции головного мозга в компактной части черной субстанции при абсанс-эпилепсии</i>	244
Сонные веретена и пик-волновые разряды - нормальная и пароксизмальная формы ритмической активности таламо-кортикальной системы	245
<i>Сравнение сонных веретен и пик-волновых разрядов</i>	245
<i>Системные механизмы сонных веретен и пик-волновых разрядов</i>	248
<i>Особенности сонных веретен у крыс с генетической предрасположенностью к абсанс-эпилепсии</i>	249
<i>Пик-волновые разряды 2-ого типа</i>	251
Междисциплинарный подход к анализу ЭЭГ	253
Выводы	255
Список использованной литературы	256

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 [Хяутин & 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; Egzurumlu & 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 Luijtelaaar, 2003; Schridde & van Luijtelaaar, 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 Luijtelaaar & Coenen, 1986; Coenen & van Luijtelaaar, 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. Широкую 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 [Birioukova 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 [Bazyan & 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 искомым 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.

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.

ГЛАВА 1

Соматосенсорная кора: принципы организации и сенсорные факторы развития

1.1. Общий план строения соматосенсорной области неокортекса

Неокортекс с его шестислойной структурой является одним из наиболее поздних эволюционных приобретений млекопитающих, формирование которого происходило по мере совершенствования функций восприятия, с развитием познавательных способностей и высших психических функций. У всех млекопитающих неокортекс имеет общий план строения. У человека традиционно выделяют около полусотни цитоархитектонически обособленных полей: 52 – по классификации Бродмана, 47 – по классификации Филиппова и Саркисова, у млекопитающих число полей неокортекса значительно ниже. В соответствии с выполняемыми функциями, выделяют сенсорные, моторные и ассоциативные области неокортекса (Рис.1.1, Табл.1.1).

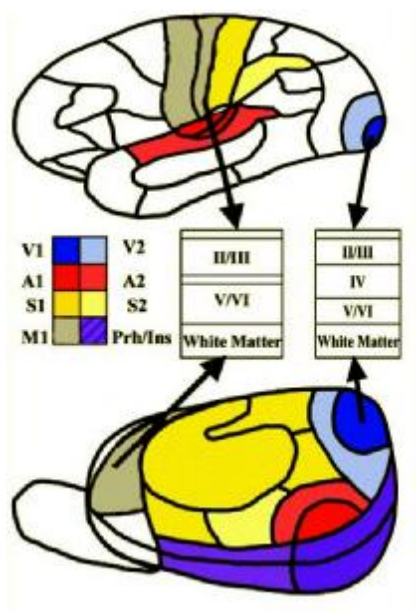


Рисунок 1.1. Схема расположения сенсорных и моторных областей в неокортексе человека (вверху) и мыши (внизу). Показаны первичная и вторичная зрительные области (соответственно, V1 и V2), слуховая (A1 и A2) и соматосенсорная (S1 и S2). Сенсорные области имеют хорошо развитый гранулярный слой (IV). Первичные моторные области (M1) содержат мощный инфрагранулярный слой (V/VI) [с изменениями, Job & Tan, 2003].

Первичные сенсорные области включают зрительную (V1), слуховую (A1) и соматосенсорную (S1 или SmI), которые имеют хорошо развитый гранулярный слой IV, куда адресованы таламические афференты релейных ядер 1-ого порядка. Вторичные сенсорные области (V2, A2 и S2) получают афференты из первичных областей неокортекса и ядер таламуса

высших порядков. В моторной коре плохо развит гранулярный слой IV. Первичные моторные области (M1) формируют прямые контакты с сенсорными областями. Аксоны нейронов M1 образуют пирамидный тракт, а также контактируют с клетками неспецифических ядер таламуса и базальных ганглиев. Вторичная моторная (премоторная) кора дифференцируется только у человека и высших приматов, эта область отвечает за контроль сложных движений и формирует контакты с M1, мозжечком и базальными ганглиями.

Главным объектом нашего исследования являются крысы, поэтому ниже сделан акцент на особенностях организации неокортекса у этих животных. Для обозначения областей коры головного мозга у крыс Криг (Krieg) использовал номенклатуру цитоархитектонических полей человека по Бродманну (Табл. 1.1), подчеркнув тем самым анатомические сходства и общность функциональной организации неокортекса у крыс и человека. Позднее была предложена современная классификация, учитывающая особенности топографии разных областей неокортекса крыс (лобная, затылочная, височная и т.д.) и их функции (сенсорные и моторные).

Таблица 1.1. Номенклатура основных областей дорсального неокортекса у крыс

	обозначения полей новой коры человека по Бродманну	обозначения по Krieg	функциональная и анатомическая номенклатура	главный источник афферентов в таламусе
Зрение		затылочная		
первичная область	17	17, 18, 18a	V1, Oc1	LGN
вторичная область	18, 19, 20, 21, 37		V2, Oc2	Pulvinar
Слух		височная		
первичная область	41	41, 20, 36	A1, Te1	MGN ventral
вторичная область	22, 42		A2, Te2	MGN dorsal
Соматическая чувств.		париетальная		
первичная область	1, 2, 3	2, 3, 1, 7, 40, 39	Par1, Sm1	VPM/VPL
вторичная область	5, 7		Par2, Sm2	Posterior nucleus
третичная область	7, 22, 37, 39, 40			
Моторная функция		лобная		
первичная область	4	10, 6, 4, 8, 11	Fr1, M1	VM, VL, PO
вторичная область	6		Fr2, M2	
движение глаз	8			
речь	44			
третичная	9, 10, 11, 45, 46, 47			

Соматосенсорная кора (SmI) у крыс достигает высокого уровня развития и дифференцировки по сравнению с другими областями неокортекса (Рис.1.2). SmI расположена в центральной и теменной области неокортекса (Рис.1.2А) и имеет соматотопический план строения, благодаря чему поверхность тела крысы представлена в виде *rattusculus* (аналога "гомункулуса" человека), в первичной и вторичной областях SmI (Рис.1.2Б). Проекционная

область вибрисс в SmI имеет непропорционально большие размеры, что связано с исключительно важной ролью системы вибрисс (вибротактильной чувствительности) в организации адаптивного поведения.

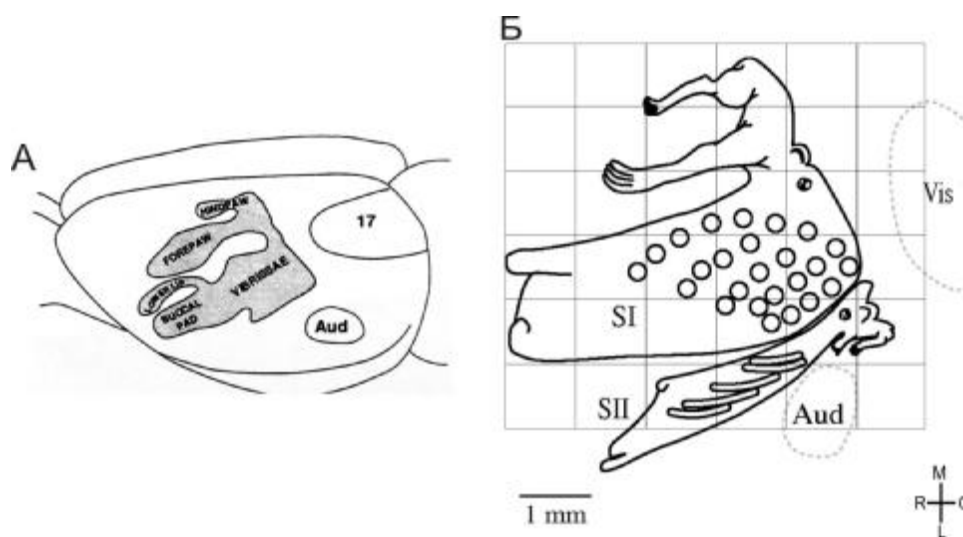


Рисунок 1.2. Схема соматосенсорной области неокортекса у крысы. А. Проекционное представление поверхности тела крысы имеет соматотопическую организацию. Б. Реконструкция "гомункулуса" крысы (*rattusculus*) в первичной и вторичной области соматосенсорной коры (SI и SII) по данным электрофизиологического картирования [Benison et al., 2006].

1.2. Морфо-функциональная организация вибротактильной системы у крыс

Область вибрисс в SmI крыс является высшим отделом особого органа тактильной чувствительности - вибротактильного анализатора. Механическая часть этого анализатора - вибриссы (от *vibrate* дрожать) - длинные и подвижные чувствительные волоски, расположенные над верхней губой (Рис. 1.3а). Наиболее крупные вибриссы расположены рядами (А - Е) над губой по 5-7 вибрисс в каждом ряду и на щеках (α , β , γ , δ).

Длина вибрисс в области щек составляет 30–50 мм и уменьшается до 4–5 мм у самого носа. Благодаря этому градиенту длины кончики большинства вибрисс при ощупывании одновременно контактируют с исследуемым предметом. Основание вибриссы погружено в соединительно-тканый фолликул, где находится густая сеть кровеносных сосудов, продольные и кольцевые мышечные волокна, обширные кровеносные синусы, которые гасят излишние механические колебания [Сухов, 1992].

Сигналы от клеток-рецепторов, расположенных в фолликулах вибрисс (Рис. 1.3б), поступают к ядрам тройничного комплекса, который содержит главное сенсорное ядро (Pr5), оральное (Sp5o), интерполярное (Sp5i) и каудальное (Sp5c) ядра [Fox, 2008]. В тройничном комплексе ядер происходит первичная обработка поступившей сенсорной информации. Большинство нейронов ядер Pr5 и Sp5i передают сенсорную информацию в таламус, а от него

сигналы поступают в кору головного мозга. Ядра Sp5o и Sp5c не имеют функционально значимых проекций в таламусе, взаимодействуют друг с другом посредством нейронной межъядерной сети.

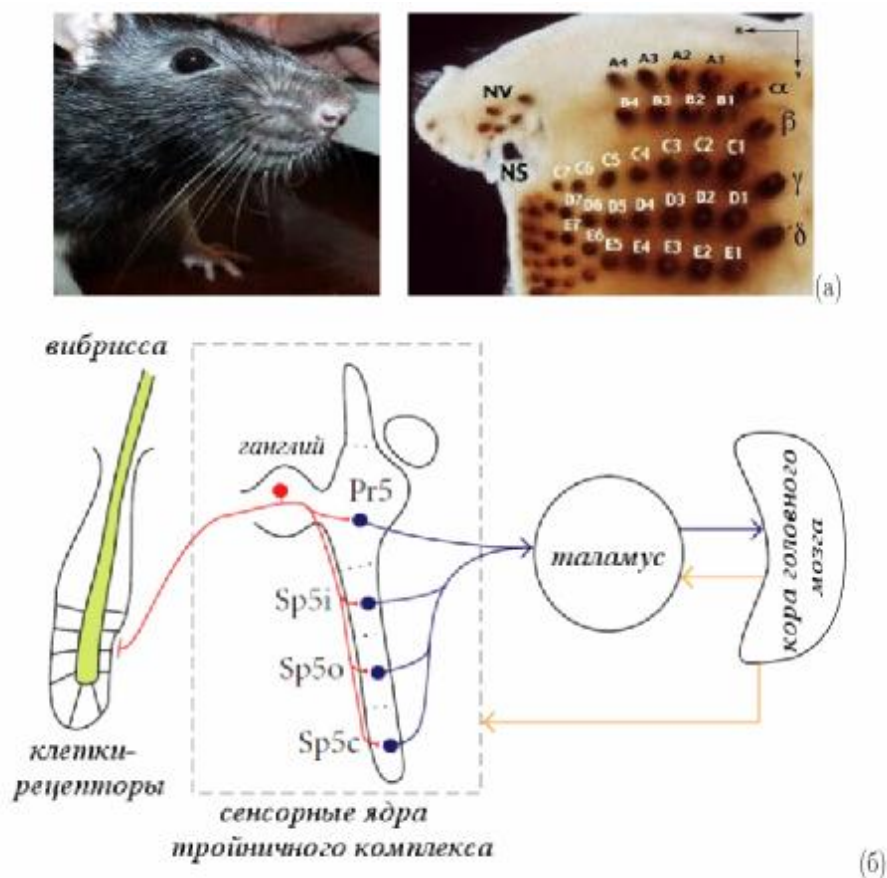


Рис. 1.3. Организация вибротактильного анализатора у крысы. (а) Расположение вибрисс и волосяных фолликул вибрисс на морде. (б) Афферентный путь от механорецепторов в фолликулах вибрисс к SmI [из монографии Павлов и др., 2013].

1.2.1. Организация рецептивных полей нейронов проекционной области вибрисс

Система вибрисс у грызунов является частью вибротактильного анализатора, играющего важнейшую роль в организации адаптивного поведения [Diamond & Arabzadeh, 2013]. Удаление вибрисс путем состригания или выщипывания исключает поступление специфической афферентации, при этом рецепторный аппарат и проводящие пути анализатора остаются неповрежденными. Известно, что состригание вибрисс на протяжении критического периода развития (первые недели жизни) не влияет на формирование характерной цитоархитектоники проекционной вибрисс области в коре [Machin et al., 2004], но вызывает необратимые функциональные изменения проекционной области вибрисс в коре [обзор Fox, 2008]. Известно, что у сенсорно-депривированных животных нарушены детекторные функции анализатора, что было продемонстрировано в поведенческих тестах, связанных с различением тонких параметров стимула [Carvell & Simons, 1996; Chu et al., 2013]. Крысы, подвергавшиеся выщипыванию

вибрисс с рождения и до 45 дня жизни, утрачивали способность различить разницу между гладкой и шероховатой поверхностями, и эта способность не восстанавливалась спустя 60-70 дней после прекращения деафферентации [Carvell & Simons, 1996]. Выщипывание вибрисс у крыс на протяжении первых 3 дней после рождения нарушает сенсорно-направленное поведение во взрослом возрасте [Chu et al., 2013]. Этот факт был установлен в эксперименте, где крысы должны были пересечь промежуток между двумя платформами, ширину которого животные оценивали с помощью вибрисс (*gap-crossing task*). У взрослых крыс, деафферентированных в раннем онтогенезе, результаты выполнения теста не отличались от таковых у крыс, подвергшихся удалению вибрисс непосредственно перед выполнением теста. Контрольная группа выполняла этот тест группа значительно лучше.

В качестве метода деафферентации состригание вибрисс является лучшей альтернативой выщипывания, поскольку, во-первых, эта процедура безболезненна, а, во-вторых, она вызывает обратимые изменения механической части вибротактильного анализатора. Вибриссы быстро отрастают, что дает возможность достичь эффекта временного лишения специфического сенсорного притока от вибрисс, не повреждая при этом мягкие ткани волосяных фолликул. Ранее мы провели исследования рецептивных полей нейронов проекционной области вибрисс в SmI у крыс линии Wistar в возрасте 1-2 месяцев [Ситникова, 2000]. У интактных крыс центром рецептивного поля нейронов проекционной области вибрисс в SmI являлась одна-две вибриссы, отклонение которых вызывало устойчивый активационный ответ с коротким латентным периодом. Стимуляция соседних вибрисс вызывала менее устойчивые активационные реакции с большим латентным периодом, тормозные реакции, либо ответ мог отсутствовать (Рис. 1.4).

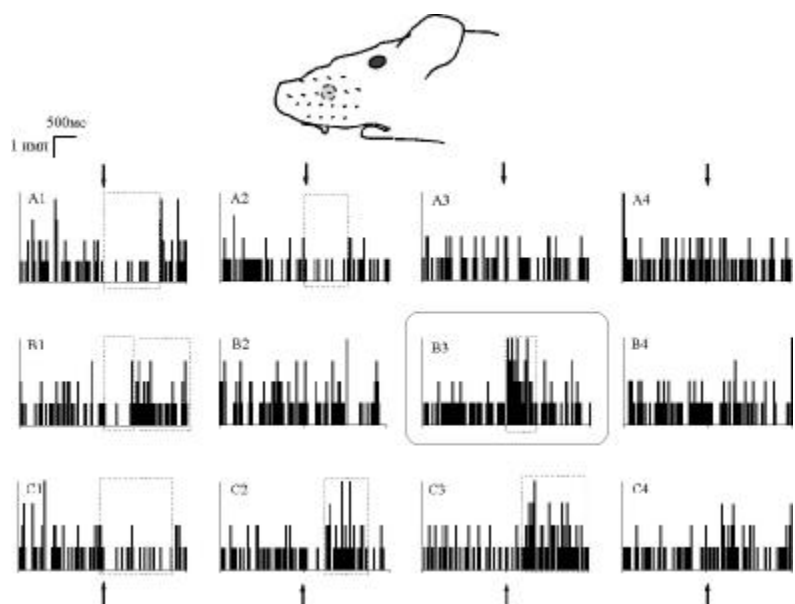


Рисунок 1.4. Реакции нейрона проекционной области соматосенсорной коры у интактной крысы Wistar в ответ на механическую стимуляцию одиночных вибрисс (пристимульные гистограммы построены с бином 20 мс по сумме 10 предъявлений стимула, рамками обозначены статистически значимые ответы по критерию Вилкксона, стрелочками - момент предъявления стимула). Характерный коротколатентный активационный ответ был получен в ответ на стимуляцию центра рецептивного поля данного нейрона - вибриссы В3 [Ситникова, 2000].

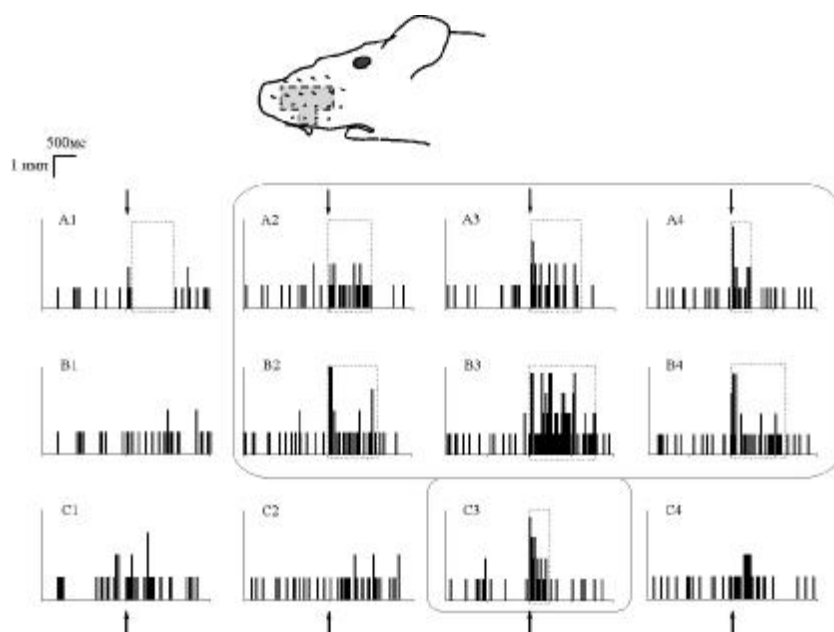


Рисунок 1.5. Реакции нейрона проекционной области вибрисс в соматосенсорной коре у крысы, подвергавшейся состриганию вибрисс в раннем онтогенезе. Обозначения аналогичны предыдущему Рис. Активационные реакции с коротким латентным периодом зафиксированы в ответ на стимуляцию нескольких вибрисс: A2-4, B2-4 и C3 [Ситникова, 2000].

У крыс, подвергшихся состриганию вибрисс с 1 по 20 день постнатального онтогенеза, в возрасте 1-2 месяцев наблюдали значимое расширение активационных рецептивных полей нейронов и сужение тормозных полей в соответствующей первичной проекционной области в SmI. Рецептивное поле нейрона было представлено несколькими вибриссами, отклонение которых вызывало устойчивый активационный ответ с коротким латентным периодом (Рис. 1.5).

Таким образом, удаление вибрисс на протяжении критического периода раннего онтогенеза вызывает расширение возбуждательных рецептивных полей и нарушает процессы торможения [Ситникова, 2000; Shoykhet et al., 2005].

1.2.2. Цитоархитектоника проекционной области вибрисс в SmI

Известно, что первичная проекционная область вибрисс в SmI у крыс имеет четкую соматотопическую организацию, где каждой вибриссе соответствует отдельное скопление нервных клеток, имеющих вид "бочонков" (*barrels*) на тангенциальных срезах. "Бочонки" локализованы в нижней части слоя III и в слое IV, отделены друг от друга межклеточным веществом и расположены в геометрическом порядке, соответствующем расположению вибрисс на морде крысы [Welker, 1971]. Большой интерес для исследователей представляют функциональные свойства нейронов из области "бочонков" [Ito, 1981; Simons, 1985; Armstrong-James et al., 1992; Shoykhet et al., 2005; Fox, 2008; Erzurumlu & Gaspar, 2012], в то время как морфометрические характеристики этих нейронов мало изучены. Наши ранние работы

[Ситникова, 2001; Ситникова и Раевский, 2005] в некоторой степени восполнили этот пробел. Мы провели исследование отдельных классов нейронов у крыс Wistar в проекционной области вибрисс в SmI, включая гранулярный, супрагранулярный и инфрагранулярный слои с использованием метода импрегнации серебром по Гольджи, который позволил полностью окрасить нейрон и все его отростки. Был проведен анализ нейронов разных слоев коры, принадлежащих к разным морфологическим типам.

Пирамидные нейроны. Форма тела этих клеток напоминала пирамиду (или вытянутый кверху овал), от вершины которого в направлении поверхности коры отходил прямой апикальный дендрит, утолщенный у основания и дающий по ходу боковые ветви (Рис. 1.6). Конец апикального дендрита интенсивно ветвился, образуя густую сеть концевых ответвлений или так называемые «кисти». Наиболее густые концевые ветвления наблюдали у апикальных дендритов пирамид поверхностных слоев II и III (Рис.1.6). От нижних и боковых частей тела клетки отходили базальные дендриты. От основания тела типичных пирамид отходили два-три ствола базальных дендритов, отходящих в противоположных направлениях, с системой широко разветвленных «косых» (*oblique*) ветвей. Аксоны пирамидных клеток отходили от основания тела клетки (в центре) и были ориентированы вниз, перпендикулярно основанию. В слое IV (Рис. 1.6, 1.7) пирамиды имели звездчатую форму (звездчатые пирамиды) и, в отличие от типичных пирамид, имели округлое тело, апикальный дендрит с многочисленными боковыми отростками в IV слое, который был практически лишен концевых ответвлений. В слое V (Рис.1.6) большинство пирамидных клеток обладали всеми признаками типичных пирамид и составляли самую многочисленную группу.

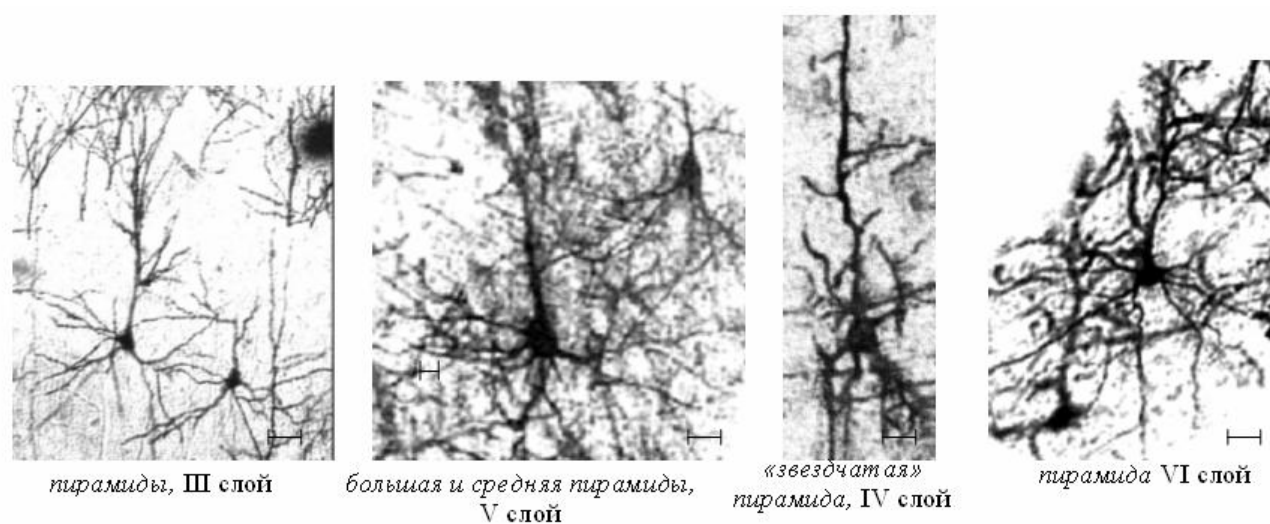


Рис. 1.6. Микрофотографии пирамидных клеток в разных слоях SmI (проекция вибрисс) у крыс Wistar. Импрегнация серебром по Гольджи, 25 мкм [Ситникова, 2001].

Крупные пирамиды располагались преимущественно в нижней части слоя V. Пирамиды средних размеров были распределены по всей толще этого слоя, но их количество в верхней

части слоя (*Va*) оказывалось несколько выше, чем в нижней части (*Vb*). Это, по-видимому, связано с особенностями иннервации слоя *V*: верхняя часть этого слоя (*Va*) получает афференты от постериорного ядра (РО), принадлежащего к паралемнисковому тракту, а нижняя, *Vb* - от вентропостеромедиального ядра (VPm), относящегося к системе лемнисковых проекций (Раздел 1.5, [Ситникова & Раевский, 2010]).

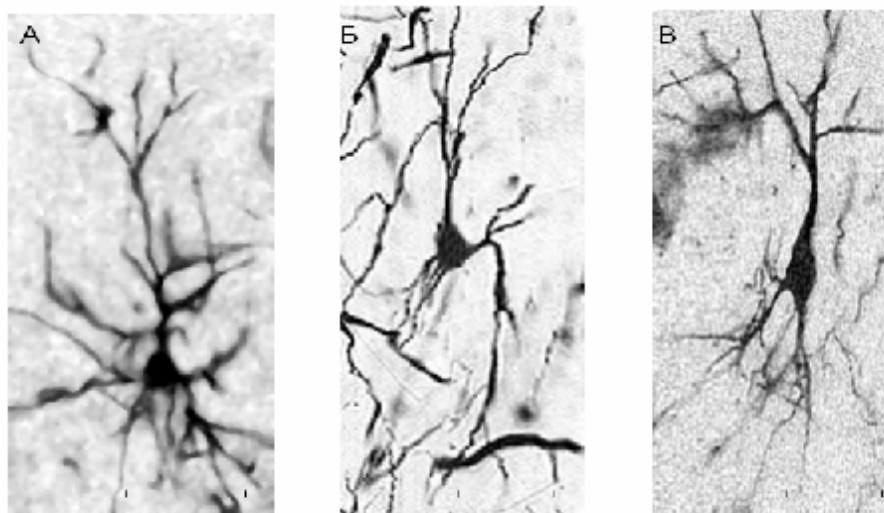


Рисунок 1.7. Три типа шипиковых звездчатых нейронов слоя IV. А – «звездчатая» пирамида (*star pyramid cell*), Б – звездчатая клетка (*spiny stellate cell*), В – клетка «переходного» типа (*cell of intermediary form*). 50 мкм. [Ситникова, 2001]

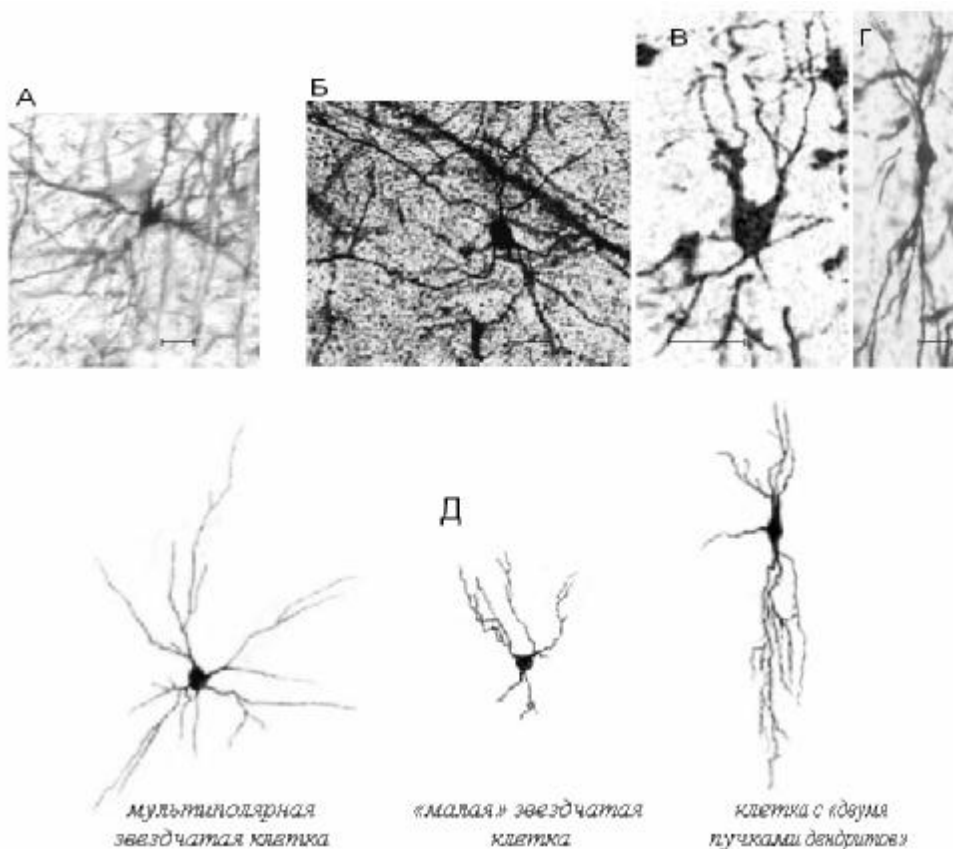


Рисунок 1.8. Редко- и бесшипиковые звездчатые клетки слоя V. Метод Гольджи, 25 мкм. А, Б – крупные мультиполярные звездчатые клетки; В – малая звездчатая клетка; Г – клетка с двойным пучком дендритов. Д – графическое изображение трех типов звездчатых клеток.

«Релейные» нейроны располагались в гранулярном слое *IV*, нижней части слоя *III* и отсутствовали в других слоях. Помимо мощного шипикового аппарата, эти клетки характеризовались уникальной микроструктурой. В соответствии с классификацией Lorente de No (1938) и Lund (1984), "релейные" нейроны были разделены на три группы с учетом строения дендритов и очертаний тел (Рис.1.7). А именно, типичные мультиполярные шипиковые звезды (*spiny stellate cells*, Рис.1.7Б), особые «звездчатые» пирамиды (*star pyramids*), которые, согласно описанию Lorente de No, были локализованы исключительно в слое *IV* и выполняли функции первично-чувствующих нейронов (Рис.1.7А) и клетки «переходной» формы (*intermediary forms*, Рис.1.7В).

Редко- и бесшипиковые звездчатые нейроны были представлены крупными мультиполярными клетками (Рис. 1.8 А,Б), мелкими звездчатыми клетками (с менее разветвленным и асимметричным полем дендритов, Рис 1.8В) и нейронами с двойным пучком радиально ориентированных дендритов (*bitufted cells*) (Рис. 1.8Г).

1.2.3. Параллели между морфометрическими характеристиками и физиологическими свойствами нейронов проекционной области вибрисс

Согласно современным взглядам, проекционная область неокортекса у крыс отличается сложной структурно-функциональной организацией. На Рис.1.9 представлена схема, составленная по результатам анализ цитоморфологических и физиологических свойств отдельных нейронов неокортекса и их связей с таламическими афферентами [Фох, 2008]. В области "бочонков" в слое *IV* находятся два типа нейронов, получающих прямые афференты от вентропостеромедиального ядра (VPm) таламуса: гранулярные нейроны (глутамат-эргические шипиковые нейроны, St) и интернейроны (ГАМК-эргические корзинчатые клетки, В). Активность гранулярных нейронов контролируют ГАМК-эргические нейроны "локальных цепей" (Its), которые не связаны с таламическими афферентами.

Главными клеточными элементами слоя *II/III* являются пирамидные нейроны, которые контактируют между собой и с двумя типами интернейронов: корзинчатыми интернейронами, которые обеспечивают прямое торможение и формируют синапсы на соме пирамидных нейронов (эффективность контактов на соме выше, чем на дендритах) и с нейронами "локальных цепей", которые обеспечивают возвратное торможение и формируют синаптические контакты на базальных дендритах пирамид. Здесь же расположены ГАМК-эргические клетки-канделябры (*Chandelier cells*, Ch), которые являются мишенями гранулярных нейронов слоя *IV* и формируют тормозные синапсы на начальных сегментах аксонов пирамидных нейронов.

Слои *V/VI* представлены на этой схеме в упрощенном виде. Пирамидные нейроны, расположенные в слоях *Va*, *Vb* и *VI*, отличаются по структуре и функциям. Пирамиды слоя *Vb* служат мишенями для таламических афферентов и гранулярных клеток слоя *IV* (синапсы

локализованы, главным образом, на базальных дендритах). Пирамиды слоев *Vb* и *VI* являются источником кортико-таламических проекций, адресованных к нейронам ядра *VPm*, их апикальные дендриты не достигают слоя *I* и заканчиваются концевыми ветвлениями в полости "бочонков" слоя *IV*. Корзинчатые интернейроны в слоях *V/VI* также, как и в слое *II/III*, обеспечивают прямое торможение пирамидных нейронов, клетки-канделябры формируют аксональные ГАМК-эргические контакты. В инфрагранулярной области можно выделить два класса тормозных нейронов - биполярные нейроны (*Bi*), которые формируют сеть ГАМК-эргических синапсов на некотором протяжении апикальных дендритов пирамид; клетки Мартиногги (*M*), которые иннервируют дистальные ответвления апикальных дендритов пирамидных нейронов.

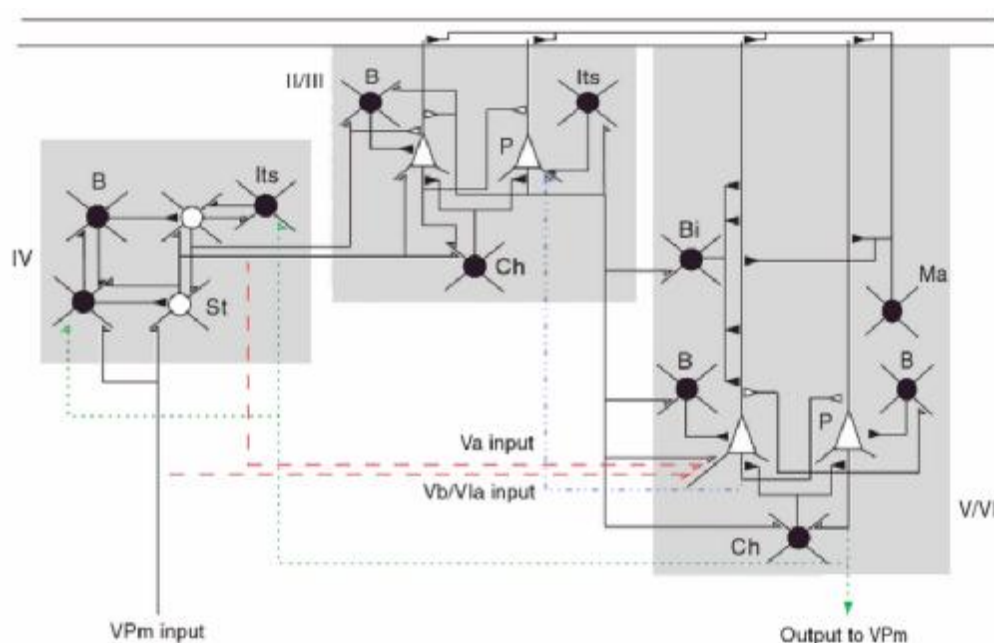


Рисунок 1.9. Морфо-функциональная схема проекционной области вибрисс в *SmI*. ГАМК-эргические нейроны показаны черным цветом, глутамат-эргические нейроны - белым. В области "бочонков" в слое *IV* находятся глутамат-эргические шипиковые звездчатые нейроны - гранулярные клетки (*St*, *stellate*) и ГАМК-эргические корзинчатые клетки (*B*, *basket*), оба типа нейронов получают прямые афференты от вентропостеромедиального ядра (*VPm*) таламуса. Там же локализованы интернейроны *Its*, которые не связаны с таламическим входом и формируют тормозные контакты с гранулярными клетками (*St*). Нейроны слоев *II/III* и *V/VI* образуют прямые и обратные связи с нейронами "бочонков". В слоях *II/III* и *V/VI* выделяют пирамидные нейроны (*P*), клетки-канделябры (*Ch*), биполярные нейроны (*Bi*, *bitufted*) и клетки Мартиногги (*M*). [Fox, 2008, p.49 © Cambridge University Press].

Суммируя результаты исследования микроструктуры и функций нейронов проекционной области вибрисс в *SmI* можно определить отличительные черты отдельных групп нейронов.

Пирамидные нейроны - глутаматергические клетки, которые располагаются в каждом слое коры и составляют около 80 % от числа всех нейронов коры. Пирамиды слоя *II/III* формируют широкую сеть внутрикортикальных контактов с удалёнными областями коры. Пирамиды слоя *IV* контактируют с соседними нейронами нижележащего и вышележащего слоёв в пределах одной

колонки. Аксоны пирамид слоя V направляются в моторные центры, неспецифические ядра таламуса и другие области коры. Пирамиды слоя VI имеют проекции в специфических ядрах таламуса и обеспечивают реципроктные таламо-кортико-таламические взаимодействия, которые необходимы для формирования ритмической активности в таламо-кортикальной сети.

По форме импульсной активности пирамидные клетки делятся на три типа [обзор Contreras, 2004]. Нейроны первого типа (большинство пирамидных нейронов среднего калибра) генерируют одиночные импульсы с относительно постоянной частотой, *regular spiking*, RS. Нейроны второго типа имеют небольшие, располагаются в слоях II/III и IV и генерируют пачки импульсов по 2–5 разряда в каждой с частотой от 200 до 600 Гц (нейроны с высокочастотными ритмичными разрядами, *fast rhythmic bursting*, FRB)¹. Нейроны третьего типа чаще встречаются в слое V, отличаются крупными размерами тела и мощным дендритным деревом, их аксоны густо ветвятся в нижележащих слоях, они характеризуются спонтанной пачечной активностью (*intrinsically bursting cells*, IB). В ответ на стимуляцию IB-нейроны реагируют короткой серией импульсов, состоящей из 3-5 потенциалов действия с частотой ~ 200 Гц на волне деполяризации. При длительной и устойчивой стимуляции эти нейроны могут генерировать пачки импульсов, следующие друг за другом с частотой 5-15 Гц. Спонтанная ритмическая активность у нейронов 'IB'-типа в слое V неокортекса может формироваться на фоне повышения проводимости мембраны для натрия и кальция вследствие облегчения NMDA-зависимой синаптической передачи. Популяция нейронов 'IB'-типа представляет особый интерес, поскольку они способны работать синхронно и генерировать ритмическую активность с частотой около 10 Гц, и, таким образом, служить источником внутрикортикальных ритмов в диапазоне альфа частот [Ahissar & Kleinfeld, 2003; Nicolelis, 2005], а также эпилептической активности [Pinault, 2003; Polack et al., 2007].

Шипиковые звездчатые нейроны - глутаматергические нейроны, которые располагаются в гранулярных слоях (IV и низ III) и являются главными мишенями для специфических афферентов таламуса. Эти клетки формируют локальные контакты с близлежащими нейронами II/III и V слоёв. Для нейронов этого типа характерны регулярные импульсы с постоянной частотой (объединены с пирамидными клетками в класс RS); синаптическое возбуждение этих клеток вызывает резкий короткий всплеск импульсной активности, которая быстро возвращается к исходному виду.

Корзинчатые интернейроны - ГАМК-эргические клетки, имеющие крупное округлое тело и тонкие длинные дендриты. Нейроны этого типа, располагающиеся в слоях IV, V и VI,

¹ Речь идёт о типах спонтанной импульсной активности согласно классификации Connors и Gutnick [1990] в авторской терминологии, *regular spiking* (RS), *fast rhythmic bursting* (FRB) и *intrinsically bursting* (IB). Авторы рассматривали не только частоту и форму следования импульсов, но и степень адаптации к внешним синаптическим влияниям. Благодаря исследованиям Connors & Gutnick [1990], укрепились точка зрения о тесной взаимосвязи между фенотипом нервной клетки и формой её импульсной активности.

формируют локальные контакты с клетками своего слоя. Нейроны, локализованные в слое II/III, иннервируют более широкую область в пределах нескольких слоев. Импульсы, генерируемые корзинчатыми интернейронами при деполяризации, следуют с большой частотой (*fast spiking, FS*) и коротким периодом задержки (0.4-0.6 мс). Период следовой гиперполяризации у этих нейронов в 5-7 раз короче, чем у других клеток и они способны воспроизводить высокочастотные разряды благодаря наличию в их мембранах особых K^+ каналов (Kv3.1 и Kv3.2).

Не-корзинчатые интернейроны - бесшипиковые ГАМК-эргические нейроны, к которым относят биполярные клетки с двойным пучком дендритов (*Bitufted cells, Bi*) и клетки Мартинотти (*Martinotti cells, M*). Эти клетки немногочисленны и располагаются в разных слоях неокортекса, их аксоны широко ветвятся в пределах нескольких слоев.

Важно подчеркнуть, что каждый из вышеперечисленных классов нервных клеток прямо или косвенно взаимодействует с таламическими афферентами, а форма импульсной активности нейронов может видоизменяться под влиянием модулирующих входов или при устойчивом изменении мембранного потенциала [обзор Steriade, 2004]. Исследования *in vivo* показали, что во время медленноволнового сна нейроны 'IV'-типа коры демонстрируют пачечную активность, когда их мембранный потенциал составляет около -60 мВ, но эти же нейроны в состоянии REM-сна, когда их мембранный потенциал оказывается выше -57 мВ, генерируют одиночные импульсы, характерные для 'RS'. У бодрствующих животных процент 'IV'-нейронов составляет менее 5%, тогда как во время сна под анестезией, а также *in vitro* на срезах мозга этот процент составляет 40–60%.

1.3. Сенсорные факторы формирования микроструктуры соматосенсорной коры у крыс

Волосная часть вибрисс у крыс формируется в эмбриогенезе [Ahl, 1986], однако проводящие структуры, кора и подкорковые отделы вибротактильного анализатора остаются незрелыми на протяжении первой недели жизни. Первые таламические афференты из VPm вырастают в соматосенсорную кору на 17 день эмбрионального развития, в это время волокна пересекают глубокие слои коры (преимущественно будущий слой VI, а позднее и V) и формируют боковые ответвления. К моменту рождения в нижних слоях SmI обнаруживают уже достаточно плотную сеть таламических волокон и синаптические контакты [Erzurumlu & Jhaveri, 1990; Catalano et al., 1996]. В 1-ый день жизни аксоны таламуса начинают ветвиться в непосредственной близости от нейронов слоя IV, на 2-ой день их ветви занимают всю область "бочонка". В отличие от довольно хаотично организованной сети таламических волокон в нижних слоях, афференты в слое IV формируют не перекрывающиеся сплетения в области будущих "бочонков" [Schlaggar & O'Leary, 1994]. Окрашивание с использованием маркеров

метаболической активности цитохромоксидазы и сукцинатдегидрогеназы позволил выявить "бочонки" в SmI у крыс на 3 день постнатальной жизни [Killackey, 1983]. Эксперименты по изучению критического периода, в течение которого центральное представительство в коре реагирует на повреждение рецепторов вибрисс, подтвердили предположение о ведущей роли таламических афферентных волокон в формировании citoархитектоники области "бочонки" в SmI [Belford & Killackey, 1980; Rhoades et al., 1997].

Известно, что разрушение нервных окончаний фолликул вибрисс или иссечение чувствительных нервов в течение первой недели постнатального онтогенеза нарушает морфо-структурную организацию "бочонков" в SmI [Belford & Killackey, 1980; Jeanmonod et al., 1981; Killackey, 1981]. Однако, после 7 дня постнатального онтогенеза структура "бочонков" оказывается нечувствительной к ограничению сенсорного притока от вибрисс независимо от способа его проведения. Был сделан вывод о том, что проекционная область вибрисс достигает структурной зрелости к концу первой недели жизни.

Суммируя данные литературы, можно заключить, что, во-первых, вибротактильный анализатор у крыс обладает уникальной citoархитектонической организацией: его представительство в SmI и в таламусе имеет вид отдельных клеточных кластеров, которые получают афферентацию преимущественно от одной вибриссы. Во-вторых, в течение первой недели постнатальной жизни происходит последовательное созревание клеточных ансамблей последовательно от периферии к центру: сначала формируются "баррелоиты" (*barrelettes*) в тригеминальном комплексе, затем "баррелоиды" (*barreloids*) в релейных ядрах таламуса, а "бочонки" в SmI достигают структурной зрелости в последнюю очередь. В-третьих, в течение первых 6-и дней жизни нарушение целостности проводящих путей вибротактильного анализатора препятствует формированию клеточных кластеров на всех уровнях анализатора и приводит к глубоким citoархитектоническим перестройкам в проекционной области вибрисс в SmI.

1.3.1. Морфометрические параметры нейронов у крыс, подвергшихся сенсорной депривации

По мнению большинства исследователей [Keller & Carlson, 1999; Jensen & Killackey, 1987; Schlaggar & O'Leary, 1994], состригание вибрисс, в отличие от иссечения нервов, не нарушает микроструктуру коры и не препятствует формированию "бочонков". Ранее мы провели анализ морфометрических характеристик нейронов SmI в области "бочонков" у крыс, подвергшихся удалению механической части вибрисс [Ситникова, 2001; Ситникова и Раевский, 2005], который показал следующее (Рис. 1.10).

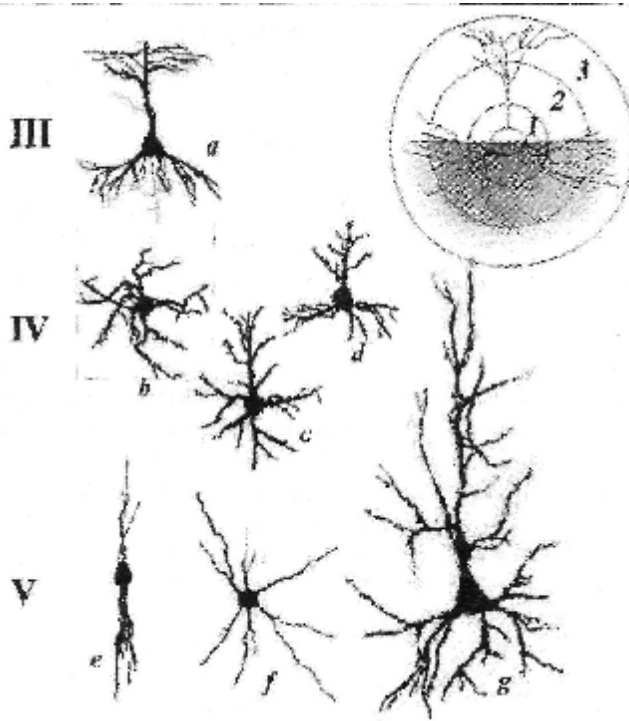


Рисунок 1.10. Группы исследованных нервных клеток в SmI. III, IV и V — слои коры, а, г — пирамидные клетки; b-d - густошиповые релейные нейроны (*granular cells*, b - звездчатая клетка, c - клетка "переходного" типа; d - "звездчатая" пирамида); e - биполярная клетка с двойным пучком дендритов (*bitufted*) и f - бесшиповая корзинчатая клетка (*basket cell*). Окраска по методу Гольджи, изображения сделаны с помощью цифровой фотокамеры. Справа показано схематичное изображение нейрона, где concentрические окружности очерчивают проксимальную (1), среднюю (2) и дистальную (3) зоны дендритного поля [из работы Ситникова & Раевский, 2005].

В III слое коры у крыс, подвергшихся удалению вибрисс с 1-го дня жизни, нейроны отличались малыми размерами сомы, меньшей длиной дендритов и числом фокусов ветвления, низкой разветвленностью базальных дендритов. Сходные изменения были обнаружены у крыс, перенесших удаление вибрисс с 9-го дня.

В IV слое коры были исследованы гранулярные (густошиповые релейные) нейроны трех типов: звездчатые клетки, звездчатые пирамиды и "переходные" формы.

Звездчатые клетки у крыс, подвергшихся удалению вибрисс, отличались меньшими размерами сомы. У крыс, вибриссэктомированных с 9 дня, клетки этого типа продемонстрировали усиление степени асимметрии в направлении нижних слоев коры по критериям длины дендритов и свободных окончаний, что свидетельствует о переориентации дендритного поля.

Звездчатые пирамиды у крыс, перенесших удаление вибрисс с 1 дня, имели меньшие размеры сомы и отличались меньшей разветвленностью базальных дендритов. В дистальной части поля, занятого ветвями апикального дендрита, число узлов ветвления и длина дендритов были значимо выше, чем в контроле, тогда как в проксимальном отделе длина дендритов была ниже. Удаление вибрисс с 9 дня вызывало снижение как максимальной, так и общей длины дендритов, структура базальных дендритов также подверглась перестройкам: сегменты 2 порядка

стали короче, однако суммарная длина отростков увеличилась; фокусы и узлы ветвления клеток были в большей степени ориентированны к верхним слоям коры. Для дендритного дерева в целом были характерны изменения пространственного распределения узлов ветвления и длины дендритов так, что в проксимальной области их значения оказывались ниже, чем в контроле, а в средней – выше.

Клетки «переходного» типа у сенсорнодепривированных с рождения крыс не претерпели структурных изменений. Удаление вибрисс с 9 дня вызвало снижение максимального радиуса дендритного поля и длины дендритов высших порядков. Дендриты, расположенные в проксимальной части дендритного дерева, отличались от контроля меньшей длиной и количеством узлов ветвления. А у дендритов, локализованных в средней части дендритного поля, наоборот, значениями этих показателей были выше.

В слое V исследовали пирамиды крупного и среднего калибра. Пирамиды среднего калибра располагались преимущественно в верхней части слоя V, их апикальные дендриты достигали поверхностных слоев и давали большую часть боковых ветвей за пределами своего слоя. Удаление вибрисс с 1 дня жизни вызывало снижение суммарной длины дендритов, при этом возросло количество фокусных ветвлений; у крыс, вибриссэктомированных после 9 дня, наблюдали большее число фокусных ветвлений и большую разветвленность клетки по сравнению с контролем. Анализ геометрии дендритного поля, проведенный по отдельности для апикальных и базальных дендритов, показал, что у крыс, подвергавшихся вибриссэктомии с рождения, базальные дендриты характеризовались меньшей суммарной длиной, при этом структура апикальных дендритов достоверно не изменилась. У деафферентированных после 9 дня животных ветви апикальных дендритов в дистальной части были короче, имели меньшее число узлов ветвления. Система базальных дендритов отличалась от контроля большей разветвленностью и большим числом фокусных ветвлений, при этом в дистальном отделе дендритного поля увеличилось количество узлов ветвления.

Пирамидные нейроны крупного калибра были расположены в нижней части слоя V, имели очень разветвленную систему базальных дендритов. Удаление вибрисс с 1 дня вызывало тенденции к снижению размеров сомы пирамид крупного калибра и суммарной длины дендритов. Значимое снижение длины базальных дендритов происходило за счет укорочения сегментов первого (первичные отростки) и второго порядков. Изменений структуры и ориентации дендритного дерева обнаружено не было.

Среди звездчатых интернейронов слоя V, крупные звездчатые интернейроны (*basket cells*) у крыс экспериментальных групп значимо не отличались от контроля по всем исследованным параметрам. Мелкие интернейроны у крыс, вибриссэктомированных с 1 дня, также не отличались от контрольных. Удаление вибрисс после 9 дня вызывало в этой группе клеток снижение общей длины дендритов и максимального радиуса дендритного поля, более выраженную ориентацию

дендритов в направлении верхних слоев коры по критериям распределения их длины и свободных окончаний.

Клетки с двойным пучком дендритов (*bitufted cells*) в слое V у крыс обеих экспериментальных групп продемонстрировали увеличение разветвленности клеток (единственное отличие от контроля).

В слое VI статистический анализ оказался невозможным из-за небольшого числа окрашенных нейронов. Этот недостаток был восполнен данными из литературы. В последней работе Chen et al. (2012) описали результаты избирательного анализа морфометрических параметров нейронов слоя VI проекционной области вибрисс в SmI. Авторы использовали окраску срезов по методу Гольджи и экспериментальную парадигму, аналогичную нашей - состригание вибрисс на протяжении первого месяца жизни. Они обнаружили, что результатом удаления вибрисс явилось расширение поля дендритов у непиримидных нейронов слоя VI. В свою очередь пирамидные нейроны продемонстрировали увеличение размеров сомы и разветвленности базальных дендритов, но снижение разветвленности апикальных дендритов.

Таким образом, литературные данные [Ситникова, 2001; Ситникова и Раевский, 2005; Chen et al., 2012] противоречат широко распространенному представлению о том, что "бочонки" коры представляют собой жестко закрепленную в онтогенезе структуру [Schlaggar & O'Leary, 1994; Erzurumlu & Gaspar, 2012] и после 7 дня, т.е. по истечении критического периода, практически утрачивают способность к пластическим изменениям.

1.3.2. Морфологические основы компенсации дефицита сенсорного притока в раннем онтогенезе

Изменения микроструктуры разных групп нейронов у сенсорнодепривированных крыс, описанные в предыдущем разделе, носят двоякий характер. Это, во-первых, конструктивные изменения, к которым относятся увеличение длины и разветвленности дендритов, переориентация и изменение геометрии дендритного поля. Во-вторых, изменения противоположного характера: малые размеры сомы, низкая разветвленность и суммарная длина дендритов, которые, по-видимому, являются свидетельством структурного недоразвития нейронов. Как известно, сенсорный приток оказывает модулирующее и координирующее влияние на формирование структурно-функциональных особенностей сенсорных систем на протяжении короткого «критического периода» (чаще всего это - первые недели жизни) [Fox, 1994; O'Leary et al., 1994; Шулейкина, 1985; Раевский и др., 1996]. С возрастом эффективность такого влияния снижается, так что у более взрослых животных дефицит афферентации не приводит к столь значительным нарушениям нервных структур [O'Leary et al., 1994; Killackey et al. 1994].

Состригание вибрисс снижает уровень активности аксонов таламуса, при этом существенно меняются свойства устанавливаемых ими синаптических контактов с нейронами проекционной области коры, и в первую очередь с нейронами слоя *IV*. Это вызывает компенсаторный спраунтинг дендритов, направленный на поиск дополнительных источников афферентации. По нашим данным [Ситникова и Раевский, 2005] звездчатые пирамиды слоя *IV* у крыс, деафферентированных с 1 дня, имеют более длинные дистальные ветви апикального дендрита, которые формируют больше узлов ветвлений, тогда как в проксимальном отделе длина их меньше. У крыс, вибриссэктомированных с 9 дня, все гранулярные нейроны слоя *IV* имеют более короткие дендриты в проксимальной области, с меньшим числом узлов ветвления, а в средней области дендритного поля эти параметры достоверно выше. То есть, лишение сенсорного притока на более ранних стадиях приводит к интенсивному разрастанию дистального отдела, куда в норме адресуются специфические афференты. В более поздний период деафферентация вызывает спраунтинг в средней части дендритного поля, что происходит, по-видимому, за счет перераспределения части отростков из проксимальной области.

Подводя итог, можно заключить, что микроструктура нейронов области "бочонков" в SmI чувствительна к дефициту афферентации по крайней мере до 9 дня и не ограничивается рамками «критического» периода (первые 6 дней жизни), когда происходит формирование цитоархитектоники "бочонков". Перестройки отдельных нейронов в ответ на удаление вибрисс с 1 дня жизни носили значительно менее конструктивный характер, чем при аналогичной операции, проводимой после 9 дня [Ситникова, 2001; Ситникова и Раевский, 2005].

Соматосенсорная область неокортекса является последним звеном в ряду последовательных переключений афферентного притока, она получает прямые афференты от ядер таламуса (VPm) и широко взаимодействует с другими таламическими ядрами. Дальнейшие исследования функций SmI окажется неполным без учёта функциональных взаимодействий между SmI и таламусом и особенностей передачи афферентной информации от переключательных звеньев анализатора к SmI. Это послужило отправной точкой для начала следующего этапа работ, посвященных исследованию процессов интеграции в соматосенсорной системе.

1.4. Интеграция коры и таламуса

1.4.1. Сенсорные области коры и таламуса

В процессе эволюции увеличение размеров неокортекса происходило пропорционально с увеличением соответствующих областей в таламусе (Рис. 1.11). Каждая функционально и анатомически дифференцируемая область коры получает иннервацию от одного ядра или

нескольких ядер таламуса [Jones, 1985]. Разные области неокортекса связаны с ядрами таламуса в единую таламо-кортикальную систему². У человека и высших приматов таламо-кортикальная система имеет наиболее сложную структуру и обеспечивает когнитивную деятельность и высшие психические функции [Angevine & Cotman, 1981].

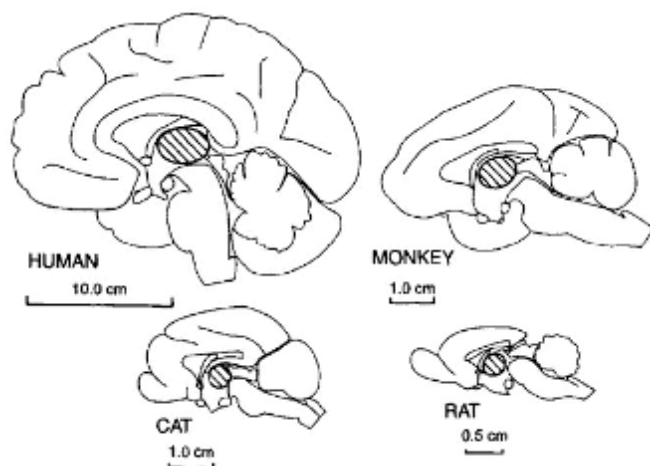


Рисунок 1.11. Относительные размеры таламуса (заштриховано) и неокортекса у разных видов млекопитающих и человека [Angevine & Cotman, 1981].

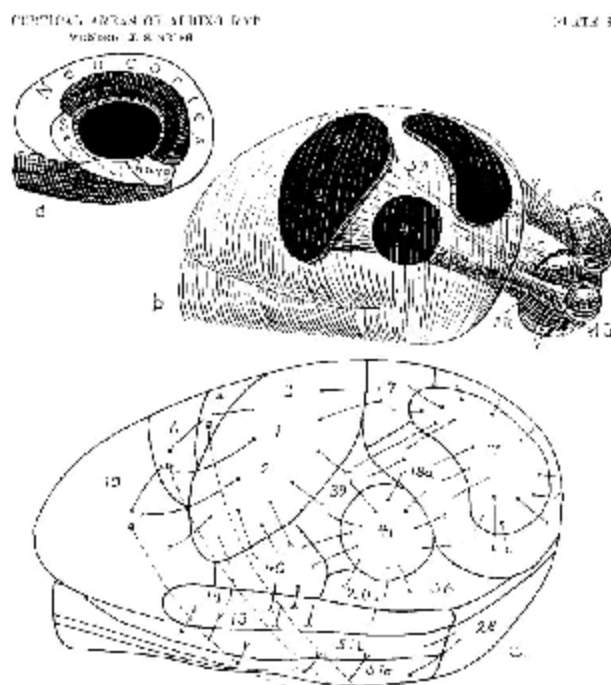


Рисунок 1.12. Иллюстрация из работы Крига [1946], где показан общий план эволюции головного мозга крысы (a), расположение проекционных областей неокортекса по отношению к соответствующим ядрам таламуса (b), дорсальная поверхность коры с указанием номеров полей (по классификации Бродмана) и отображением связей между соседними полями (c).

Обозначения: MG - медиальное коленчатое тело, LG - латеральное коленчатое тело, V - вентральный таламус, таламо-кортикальные пути разной модальности: SR (somesthetic radiation) - соматической, AR - (auditory radiation) - слуховой и VR - (visual radiation) - зрительной.

² гиппокампальная и обонятельная кора не получают афферентов от таламуса и не входят в таламо-кортикальную систему

В ходе эволюции параллельно с развитием неокортекса у млекопитающих совершенствовались механизмы зрительной, соматической и слуховой чувствительности. Этот процесс сопровождался увеличением размеров специфических ядер таламуса (коленчатые тела и вентробазальный комплекс ядер таламуса), обособлением специфических проекционных областей в коре и совершенствованием таламо-кортикальной системы. Эту закономерность отметил выдающийся американский нейроанатом Уэнделл Криг [Krieg, 1946] и схематично отобразил её в одной из иллюстраций (Рис 1.12). На Рис. 1.12с показано, что дорсальная часть неокортекса у крыс (до 90% поверхности) обеспечивает обработку сенсорной информации и организацию моторных актов при тесном взаимодействии с таламусом.

Специфические ядра таламуса – «сенсорные» ворота головного мозга - главный интегративный центр, куда поступает афферентация всех модальностей (за исключением обоняния). Они осуществляют первичную обработку информации и направляют её в соответствующие проекционные области коры больших полушарий. Ассоциативные ядра таламуса контролирует состояние сознания, отвечают за готовность к восприятию и концентрацию внимания и за формирование шкалы ощущений (болевое воздействие – нейтральное - приятное).

1.4.2. Иерархическая организация таламо-кортикальной системы

Все области коры больших полушарий головного мозга получают восходящие таламические афференты. Согласно классификации таламических ядер, предложенной Sherman и Guillery [2006], релейные ядра (LGN, VPm и VPl т.п.) относятся к ядрам 1-ого порядка. Ядра высших порядков – это ассоциативные и неспецифические ядра, к которым стекается информация от проекционных областей сенсорной коры (задняя группа ядер, *pulvinar* и т.п.). Ядра 1-ого порядка иннервируют первичные сенсорные области коры, моторную и цингулярную кору. Ядра высших порядков иннервируют ассоциативные зоны коры. Другие области коры получают смешанную афферентацию от ядер первого и высшего порядков.

Релейные ядра 1-ого порядка формируют прямые контакты с проекционными областями коры, и их основными мишенями являются гранулярные клетки слоя IV (Рис.1.13, область А). Пирамидные нейроны слоя V той же области (область А) отдают прямые афференты таламическим ядрам высших порядков, а пирамиды слоя VI, в свою очередь, служат источником обратных афферентов для ядер 1-ого порядка и модулируют активность таламических нейронов (т.н. «модулирующий» вход). Модулирующее влияние оказывают также локальные ГАМК-эргические контакты в пределах таламуса и нейромодуляторные системы ствола мозга, которые не показаны на данном рисунке. Ядра высших порядков получают прямые входы от пирамид слоя V проекционных и ассоциативных областей коры (А и Б на Рис.1.13) и являются источником

прямых афферентов для высших ассоциативных областей коры (В на Рис.1.13). Таким образом, таламо-кортикальная система имеет сложную многомерную конфигурацию.

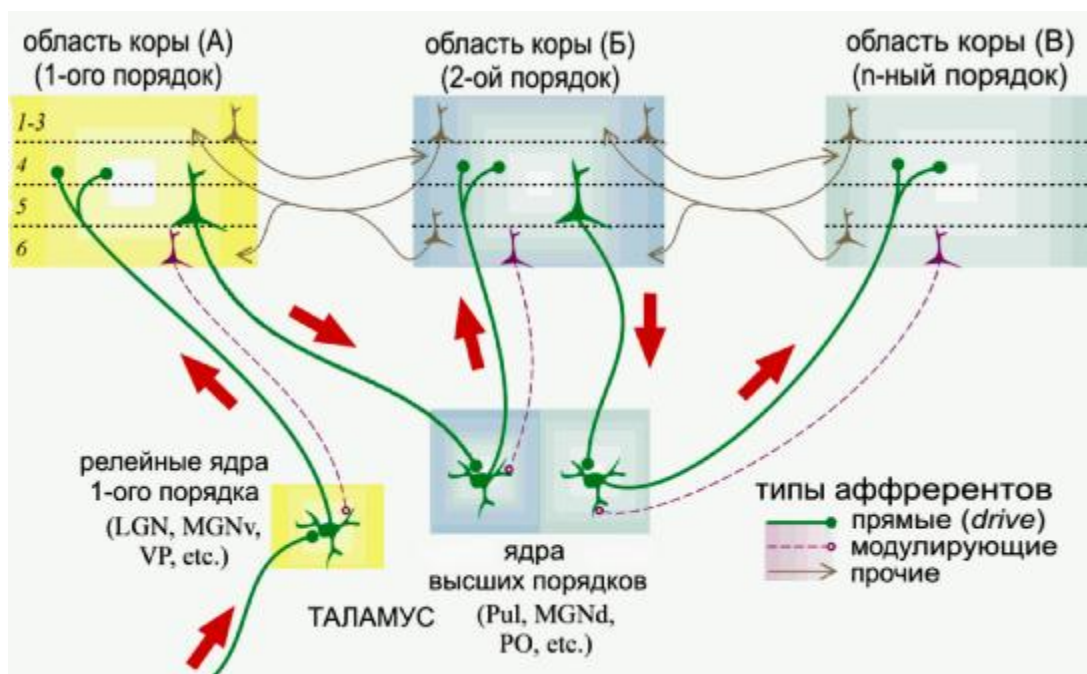


Рисунок 1.13. Иерархическая организация таламо-кортикальной системы. К структурам 1-ого порядка относятся сенсорные переключательные ядра таламуса (MGNv - медиальное коленчатое тело, LGN - латеральное коленчатое тело, VP - вентральное постериорное ядро) и первичные проекционные области коры (область А). Эти структуры получают прямые афференты (управляющие, *drive*, показаны зеленым) от периферии. Таламические ядра высших порядков являются ассоциативными и получают иннервацию от областей коры младшего порядка. Таламические нейроны отсылают прямые "управляющие" афференты к слою IV в коре (большие красные стрелки) и получают обратные "модулирующие" афференты от пирамидных нейронов слоя VI (показаны пунктиром) [Sherman, 2006].

Согласно этой логике, таламокортикальная область 1-ого порядка является частью лемнисковой проекционной системы, а область 2-ого порядка – частью экстралемнисковой системы (у крыс её называют паралемнисковой).

1.5. Интеграция "лемнисковых" и "паралемнисковых" проекционных путей в соматосенсорной коре

Суммируя многочисленные литературные данные [Koralek et al., 1988; Lu & Lin, 1989; Ebner & Armstrong-James, 1990; Armstrong-James et al., 1992; Diamond, 2000; Pierret et al., 2000; Yu, 2006; Bureau et al., 2006], можно составить схему двух параллельных восходящих систем, передающих тактильные импульсы от механорецепторов вибрисс через ядра таламуса двух типов (вентропостеромедиальное ядро - релейное ядро 1-ого порядка и постериорное ядро 2-ого порядка) к двум разным группам нейронов-мишеней в проекционном представительстве неокортекса (Рис. 1.14).

Восходящие проекции тригеминальной системы (проводящие пути аппарата вибрисс)

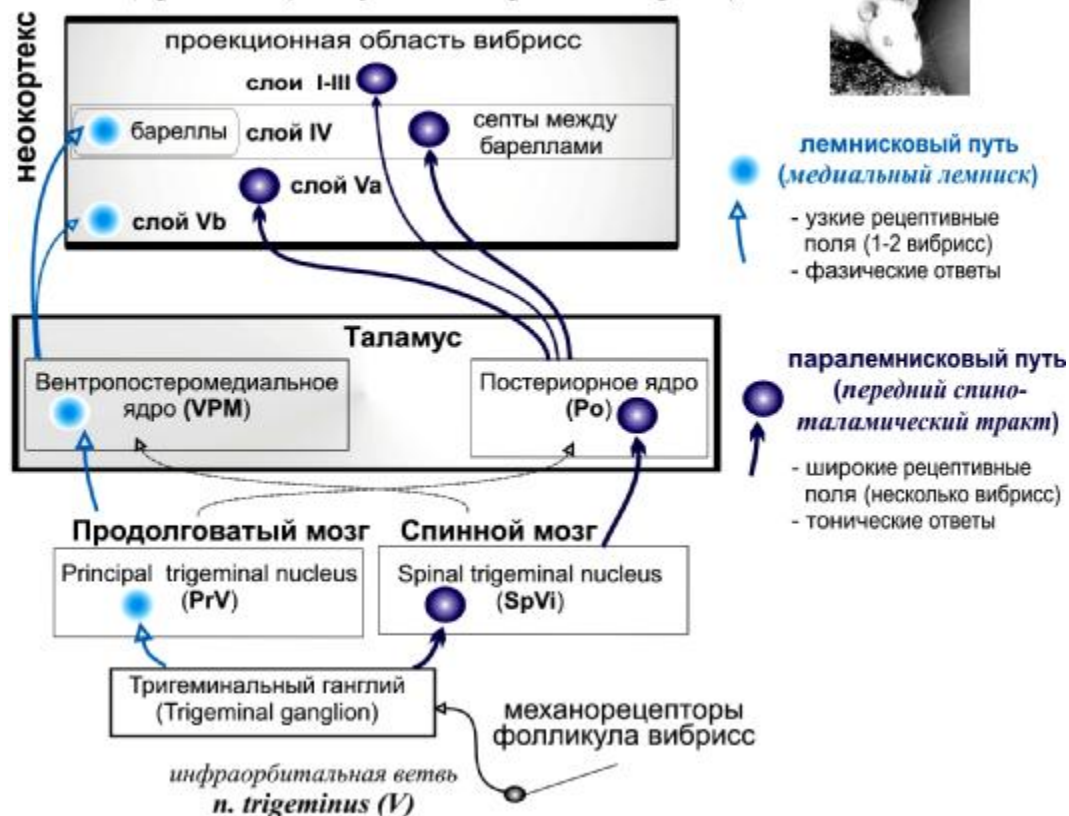


Рисунок 1.14. Схема двух параллельных путей переключения вибротактильной информации, поступающей от механорецепторов вибрисс к соматосенсорной коре (по данным литературы). На нижних этапах лемнисковые и паралемнисковые пути не перекрываются, достигая проекционной области коры, где контактируют с нейронами разных слоев.

Основанием для этого предположения послужили следующие известные факты. Информация о точной локализации предметов, а также силе и длительности стимулов, проводится по каналам лемнисковой системы. Паралемнисковая система играет вспомогательную роль в обработке тактильной информации, а "паралемнисковые" нейроны не обладает способностью к тонкой дискриминации параметров стимула [Diamond, 2000]. Лемнисковый путь проходит через тригеминальный комплекс ядер моста (PrV), вентропостеромедиальный комплекс таламических ядер (VPM) и заканчивается в проекционном неокортексе (область "бочонков" гранулярного слоя IV и частично в слое Vb) [Lu & Lin, 1993; Yu et al., 2006; Fox, 2008; Vosman et al., 2011]. Лемнисковая система имеет соматотопический план строения: скопления нервных клеток, аналогичные "бочонкам" в SmI, локализованы в тригеминальном комплексе ядер (в главном тройничном сенсорном ядре PrV и известны как «бочонковидные колонки», *barrelettes*) и в вентропостеромедиальном ядре таламуса, где клеточные скопления имеют форму изогнутых цилиндров, вытянутых от антеродорсального к постеромедиальному краю вентробазального ядра и носят название баррелоиды, *barreloids* [ссылки в Fox, 2008].

Паралемнисковый путь проходит через ядра спинного мозга (SpVi), постериорное таламическое ядро и заканчивается в той же проекционной области неокортекса, формируя синаптические контакты с нейронами слоя *I*, верхней частью слоя *V* (*Va*), а также клетками слоя *IV*, расположенными между баррелами.

В электрофизиологических исследованиях нейронов коры [Simons et al., 1992; Ito 1981, 1985] было обнаружено, что стимуляция отдельных вибрисс вызывает две формы ответов - фазическую и тоническую. Фазический ответ - короткая вспышка импульсов, жестко привязанная к началу действия стимула или (реже) к его концу, отражает функции лемнисковой системы. Тоническая форма ответа - устойчивая серия импульсов, длящаяся на протяжении действия стимула, характерна для паралемнисковой системы. Цель данного этапа работы - исследовать параметры вызванной активности нейронов разных слоев проекционного представления вибрисс в SmI и определить их принадлежность к системам лемнисковой и паралемнисковой проекций.

Особенности процедуры исследований

Использовали 8 крыс линии Wistar обоего пола. Регистрацию нейронной активности проводили внеклеточно, у крыс в возрасте 27 - 38 дней в условиях острого эксперимента под общей уретановой анестезией (1.5 г/кг). Исследовали импульсную активность одиночных нейронов, расположенных в проекционной области вибрисс в коре (AP от -1 до -3 мм; L от 5 до 6 мм относительно брегмы) в слоях *IV* (500-800 мкм), *Va* (800-1250 мкм) и *Vb* (1250-1500 мкм) (глубина по [Armstrong-James et al., 1992]).

Стимуляцию вибрисс проводили с помощью управляемого компьютером механостимулятора по стандартной схеме "отклонения и удерживания" ("*ramp-and-hold*"). Процедура включала резкое отклонение (*On*-стимул), удерживание вибриссы в течение 1 с и возвращение вибриссы в исходное состояние (*Off*-стимул). Предварительно выбирали такое направление отклонения, при котором нейроны давали максимальный ответ на *On*-стимул. Вибриссы стимулировали по отдельности, последовательно, начиная с центра рецептивного поля каждого нейрона. У каждого нейрона исследовали реакции на однотипную стимуляцию около 50% вибрисс контралатеральной стороны (от 10 до 25 вибрисс, в среднем 15).

Для анализа вызванной активности нейронов строили накопительные гистограммы по предъявлению 10 стандартных стимулов. Фоном служили 2-секундные интервалы, непосредственно предшествующие стимуляции. На основании модифицированного критерия Вилкоксона ($p < 0.05$) выделяли области достоверного снижения и увеличения частоты импульсной активности, соответственно, активационные и тормозные реакции.

1.5.1. Характеристики "лемнисковых" и "паралемнисковых" ответов нейронов неокортекса

В соответствии с представленными в литературе критериями [Simons et al., 1992; Ito 1981, 1985], коротколатентные активационные ответы были разделены на *фазические* и *тонические*. Фазические реакции характеризовались коротким латентным периодом (10-18 мсек), длились от 80 до 180 мсек и соответствовали быстроадаптирующемуся (лемнисковому) типу. Тонические ответы продолжались более 200 сек и могли наблюдаться до конца фазы удерживания, т.е. длились до 1000 мсек и были классифицированы как медленноадаптирующиеся (паралемнисковые) реакции.

Удобным способом представления этих двух типов реакций оказались 2-х мерные гистограммы распределения латентных периодов и длительностей (Рис. 1.15). Короткие фазические ответы имели минимальный латентный период (ЛП) и были представлены на графиках компактной группой. Более продолжительные тонические ответы, латентный период которых не превышал 18 мсек представлены на Рис. 1.15 в виде группы, распределенной вдоль оси «длительность ответа». Реакции нейронов (фазические и тонические) в ответ на *On*-стимул были мощнее, чем на *Off*-стимул. Это может быть связано с общим снижением реактивности нейронов и подавлением активационных компонентов во время *Off*-ответов.

Среднестатистический лемнисковый ответ характеризовался ЛП 14.8 мсек и длительностью 106 мсек. Средний паралемнисковый ответ - ЛП около 20 мсек и длительностью около 800 мсек. Нейроны слоёв *VI* и *Vb* отличались от нейронов слоя *Va* большим процентом фазических реакций и меньшим процентом тонических реакций. Поскольку фазические реакции являются типичными для лемнисковой системы, а тонические – для паралемнисковой, наши данные свидетельствуют о более интенсивной лемнисковой иннервации слоёв *VI* и *Vb*, тогда как паралемнисковые афференты адресованы преимущественно в область слоя *Va*.

1.5.2. Торможение как фактор, модифицирующий форму нейронного ответа проекционной области вибрисс в *SmI*

Мы обнаружили, что лемнисковый ответ отличался от паралемнискового отсутствием позднего активационного компонента, что могло быть результатом пространственно избирательной возбуждательной конвергенции с нижележащего переключательного уровня анализатора (в соответствии со схемой Д.Х. Хьюбела и Т.Н. Визела [Hubel, 1982]), либо результатом пространственно избирательного внутрикоркового торможения в соответствии с концепцией И.А.Шевелева (1984). Первая схема предполагает, что характерная форма нейронных ответов (фазическая/тоническая) может формироваться на нижних переключательных уровнях и проецироваться в неизменном виде в кору. Вторая схема основана на предположении о том, что торможение в пределах коры может модифицировать рецептивные поля нейронов за счет избирательной блокады афферентных входов. Благодаря этому формируются лемнисковые ответы, ранние активационные компоненты которых приобретают более контрастную форму, а поздние активационные компоненты исчезают.

Активационные компоненты

тонические реакции
 фазические реакции

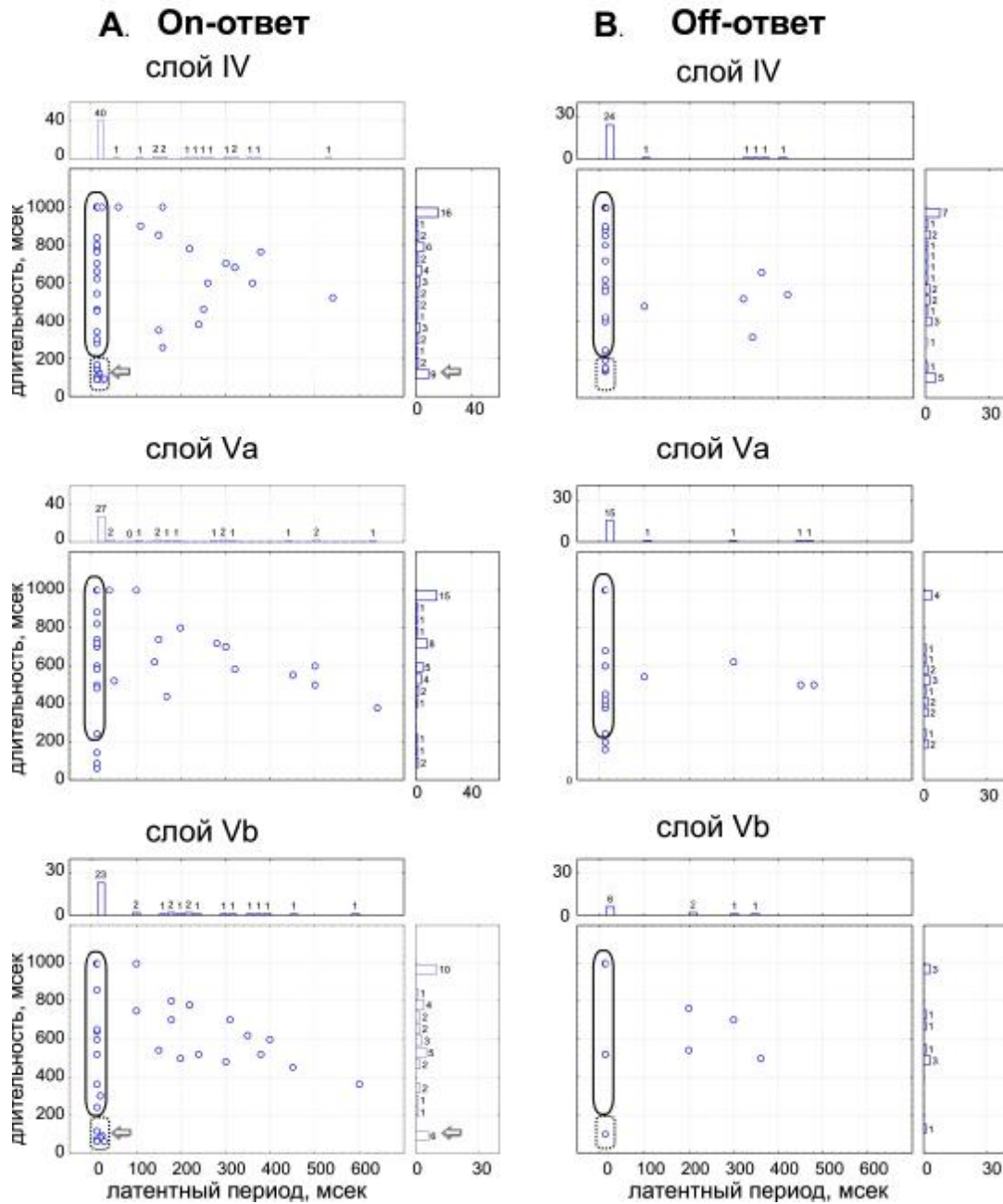


Рисунок 1.15. Распределение латентного периода и длительности вызванных ответов нейронов проекционной области вибрисс в SmI. Накопительные гистограммы для каждого графика демонстрируют распределение латентных периодов (сверху, бин = 20 мсек) и длительности (справа, бин = 56 мсек). Фазические ответы - короткие реакции с минимальным латентным периодом представлены на графиках в виде компактной группы в левом нижнем углу и обведены пунктирной рамкой. Тонические ответы, имевшие минимальный латентный период и отличающиеся от фазических ответов большей длительностью, распределены вдоль «оси длительности» и обведены сплошной рамкой. Стрелками показаны группы фазических ответов в слое IV и Vb [Ситникова & Раевский, 2009].

В пользу первой схемы свидетельствуют литературные данные. Так, предъявление устойчивого стимула вызывает два типа ответов у нейронов тригеминального ганглия - быстро адаптирующиеся (*rapidly adapting*) и медленно адаптирующиеся (*slowly adapting*) [Zucker &

Welker, 1969]. Для первой группы характерны лемнисковые ответы, а для второй – паралемнисковые. Согласно нашим данным *Off*-ответ нейронов коры отличается от *On*-ответа меньшим количеством активационных реакций и более узкими активационными РП. Сходную трансформацию нейронных реакций наблюдали Kyriazi et al. (1994). По их данным, *On*-стимул вызывает в проекционной коре центральное торможение, состоящее из двух фаз - быстрой (десятки миллисекунд) и медленной (сотни и даже тысячи миллисекунд). В результате активационные реакции *Off*-ответа подавляются медленной фазой торможения, вызванной предшествующим *On*-стимулом. Указывая на существенную роль центрального торможения в организации рецептивных полей нейронов соматосенсорной коры, данные литературы и наши собственные исследования свидетельствуют в пользу теории тормозного формирования детекторных свойств нейронов коры [Шевелев, 1984].

Таким образом, преобладание «лемнисковых» ответов в слоях *IV* и *Vb* и «паралемнисковых» реакций в слое *Va* обусловлено не только функциональными и анатомическими особенностями таламических входов в кору, но и различной организацией внутрикортикальных тормозных механизмов.

Заключение

Были исследованы реакции нейронов проекционного представительства вибрисс в соматосенсорной коре в ответ на предъявление специфического стимула. Обнаружено, что нейроны в слоях *VI* и *Vb* чаще демонстрировали фазические реакции, а нейроны слоя *Va* - тонические реакции. Поскольку известно, что фазическая форма ответов типична для лемнисковой проекционной системы, а тоническая форма - для паралемнисковой [Diamond, 2000], сделан вывод о том, что соматосенсорная кора объединяет информацию, поступающую параллельно по системам лемнисковых и паралемнисковых проекций.

Преобладание «лемнисковых» ответов в слоях *VI* и *Vb* и «паралемнисковых» реакций в слое *Va* определяется функциональными и анатомическими особенностями таламических входов в кору (схема Хьюбела и Визила), а также особенностями организации внутрикортикального торможения (концепция Шевелева).

1.6. Сенсорные факторы развития "лемнисковых" и "паралемнисковых" реакций³

В предыдущем разделе показано, что фазическая и тоническая формы ответов нейронов коры связаны с возбуждением таламических афферентов, принадлежащих двум параллельным проекционным системам - лемнисковой и паралемнисковой.

³ по материалам статьи: Ситникова Е.Ю. Влияние раннего сенсорного опыта на формирование функциональных свойств нейронов проекционной области вибрисс в неокортексе у крыс. ЖВНД. 2010; 60(6): 719-728.

Закономерности онтогенеза лемнисковой и паралемнисковой систем остаются малоизученными; и это касается не только вибро-тактильного анализатора, но и других сенсорных систем. Согласно литературным данным, волокна от VPm (лемнисковая часть таламуса) и PO (паралемнисковая часть) прорастают в кору в пренатальный период и формируют дефинитивную сеть ветвлений к 10-14 дням жизни, но формируют полноценные синаптические контакты с клетками-мишенями значительно позднее [Catalano et al., 1996; Kichula & Huntley, 2008]. Известно, что в онтогенезе тоническая форма ответа появляется одной из первых. Однако характер ответа нейрона может существенно изменяться по мере созревания механизмов латерального торможения. Как известно, совершенствование процессов торможения приводит к подавлению поздних активационных компонентов реакций, и тонический ответ приобретает форму фазического [Раевский, 1991]. С другой стороны, тонические и фазические ответы нейронов соматосенсорной коры могут формироваться независимо друг от друга по мере вставания в кору афферентов паралемнискового и лемнискового трактов и установления соответствующих синаптических контактов.

С целью проследить особенности онтогенеза функциональных свойств нейронов, связанных с афферентами лемнисковой и паралемнисковой систем, было проведено исследование характера ответов нейронов «лемнискового» и «паралемнискового» слоев у крыс Wistar двух возрастных групп - 27-40 и 41-57 дней.

Как было сказано выше, сенсорный опыт играет существенную роль в развитии вибро-тактильной чувствительности у крыс. Щадящие способы деафферентации (состригание вибрисс) в течение первых недель жизни не приводят к грубым нарушениям морфологии проекционной области в SmI [Fox, 1994]. Наиболее значимые изменения происходят на уровне функциональных свойств нейронов неокортекса: расширяются возбуждающие рецептивные поля нейронов, а эффективность торможения снижается [Simons & Land, 1989; Keller & Carlson, 1999; Ситникова, 2000]. В предыдущем разделе мы показали, что созревание механизмов торможения может оказаться важным онтогенетическим фактором, способным модифицировать форму фазических и тонических ответов нейронов, локализованных в лемнисковых и паралемнисковом слоях SmI. Снижение эффективности торможения и усиление реакций возбуждения вследствие ограничения сенсорного притока способны нарушить процесс созревания дефинитивных форм ответов нейронов SmI. На настоящем этапе было исследовано влияние специфической афферентации на созревание функциональных свойств нейронов «лемнисковых» и «паралемнискового» слоев проекционного представительства вибрисс в неокортексе.

Особенности процедуры исследований

Использовали 21 крысу линии Wistar. В контрольной группе (10 крыс) ежедневно проводили процедуру хэндлинга и имитировали процесс состригания вибрисс (механическая стимуляция усовых подушечек тупым концом ножниц). Животным экспериментальной группы (11 крыс) с 1-го по 20-й день жизни ежедневно состригали все усовые вибриссы. В электрофизиологическом эксперименте использовали крыс в возрасте 27-дней и старше, когда

вибриссы у животных вибриссэктомированной группы отрастали до длины, достаточной для стимуляции. Крысят изолировали от матери в возрасте 27 дней. Младшая группа объединила 27-40-дневных животных: 6 вибриссэктомированных и 5 контрольных. Старшую группу составили крысы в возрасте 41-57 дней: 5 вибриссэктомированных и 5 контрольных.

Исследование нейронной активности проводили в слоях *VI*, *Va* и *Vb* согласно протоколу, описанному в методической части Раздела 1.5.

Коротколатентные активационные ответы были разделены на фазические и тонические в соответствии с данными литературы [Ito, 1985; Bureau et al., 2006] и результатами собственных исследований [Ситникова и Раевский, 2009]:

1. Фазические реакции - короткие активационные реакции (длительность от 60 до 240 мс) с минимальным ЛП (12-24 мс).

2. Тонические ответы, имевшие ЛП = 12-24 мс и продолжительность более 240 мс. Отдельно выделяли устойчивые тонические ответы, продолжавшиеся до конца фазы удерживания вибриссы (длительность от 900 до 988 мс).

3. Длиннолатентные (поздние) активационные ответы с ЛП более 24 мс.

4. Коротколатентные тормозные ответы с ЛП менее 24 мс.

5. Длиннолатентные тормозные ответы с ЛП более 24 мс.

Для перечисленных выше реакций вычисляли ширину рецептивного поля (РП), т.е. долю вибрисс, стимуляция которых вызывала реакцию определенной формы, от общего числа протестированных вибрисс.

1.6.1. Возрастная динамика «лемнисковых» и «паралемнисковых» ответов

Слой IV и Vb (область лемнисковых контактов). У крыс в возрасте до 40 дней в слоях *IV* и *Va* наблюдали тонические и поздние активационные ответы; *фазические* ответы были развиты слабо. В старшей возрастной группе, наоборот, преобладали *фазические* ответы, а *тонические* ответы отсутствовали (Рис. 1.16). Как известно, контакты клеток коры с терминалями VPm (лемнисковый вход) приобретают дефинитивную форму к возрасту 8-10 дней [Kichula & Huntley, 2008], и к 41-дневному возрасту сеть таламических афферентов оказывается достаточно зрелой. Маловероятно, что исчезновение *тонических* и появление *фазических* реакций в слоях *IV* и *Vb* связано с перестройкой таламических афферентов. Наиболее вероятной причиной трансформации формы нейронных ответов является совершенствование механизмов латерального торможения внутри коры.

Доля вибрисс, стимуляция которых вызывала поздние активационные ответы в этом слое у животных младшего возраста, составила 15% и снизилась до 4% у старших животных ($p < 0.05$). Устойчивые *тонические* реакции были обнаружены в слое *IV* только у животных младшего возраста, а у старших животных эта форма ответа отсутствовала (Рис. 1.16).

Слой Va (область паралемнисковых контактов). Стимуляция вибрисс у крыс младшего возраста вызывала преимущественно поздние активационные ответы, *тонические* реакции были

единичными (Рис. 1.16). *Фазические* ответы отсутствовали в обеих возрастных группах. Доля вибрисс, стимуляция которых вызывала *тонические* реакции, резко возросла с 6% (молодые животные) до 23% у старших. Доля «молчащих» вибрисс в возрасте до 40 дней была выше (62%), чем у крыс более старшего возраста (49%, $p < 0.05$). Параллельно с этим наблюдали значимое увеличение доли *тонических* реакций с 5.5% у молодых до 22.5% у крыс старшего возраста ($F_{1,22}=3.4, p < 0.05$).

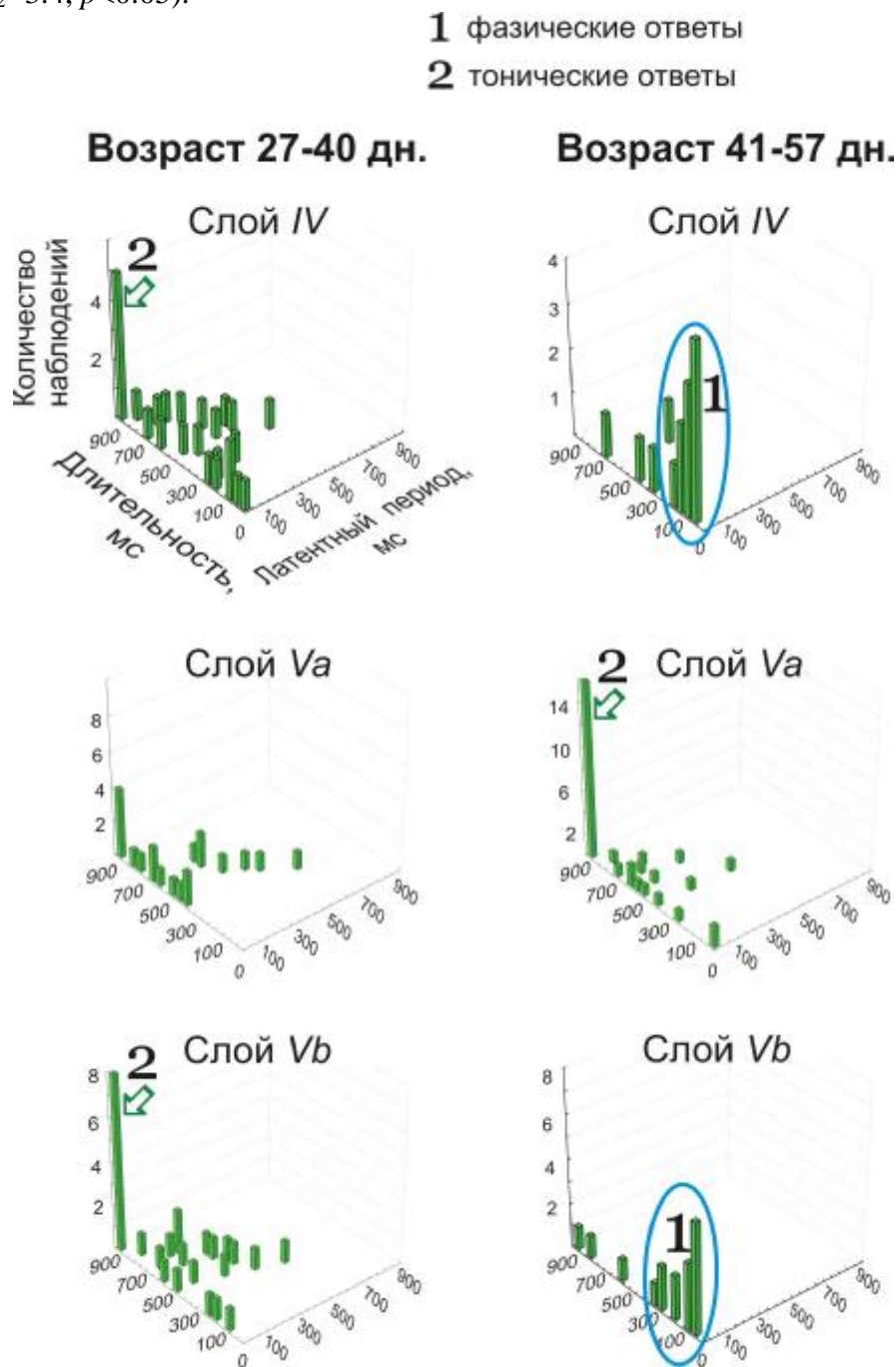


Рисунок 1.16. Гистограммы распределения параметров активационных ответов нейронов проекционной области вибрисс в SmI у крыс Wistar, вызванных механической стимуляцией вибрисс. Показаны значения латентных периодов (ось ординат) и длительностей (ось абсцисс). 1. Фазические реакции имели малую длительность и минимальный латентный период. 2. Тонические реакции также имели минимальный латентный период, но отличались от фазических ответов большей длительностью.

Итак, в «лемнисковых» слоях *IV* и *Vb* проекционной области вибрисс у крыс *тоническая* форма реакции предшествовала *фазической*. Ответы *фазической* формы формировались после 40-дневного возраста, когда ранние активационные компоненты незрелых тонических реакций приобретали более контрастную форму, а поздние активационные компоненты исчезали. Эти результаты можно объяснить с позиций концепции рецептивных полей И.А. Шевелева (1982): пространственно избирательное внутрикортикальное торможение модифицирует форму ответа нейрона за счет избирательной блокады афферентных входов. Вследствие этого дефинитивная форма ответов нейронов проекционной области вибротактильного анализатора формировалась у крыс в возрасте около 1.5 месяцев. Эти возрастные изменения могут быть основой совершенствования перцептивных функций нейронов. Так, крысы в возрасте старше 40 дней способны точнее локализовать стимул благодаря снижению доли неспецифичных длиннотентных реакций, увеличению эффективности торможения и появлению зрелых фазических ответов «лемнисковых» в слоях *VI* и *Vb*.

1.6.2. Влияние удаления вибрисс на возрастную динамику "лемнисковых" и "паралемнисковых" ответов

Как показано выше, что удаление вибрисс вызвало значимое снижение эффективности торможения. Различия между параметрами вызванной активности нейронов вибриссэктомированных и интактных животных были обнаружены в возрасте до 40 дней: доля тормозных реакций в экспериментальной группе (3.9%) была ниже, чем в контроле (8.9%, $p < 0.05$), среди них практически отсутствовали коротколатентные тормозные реакции. В возрасте 41-57 дней у вибриссэктомированных животных вырос процент тормозных реакций до 8.0% и не отличался от контрольного значения (8.3%), это произошло за счет увеличения числа длиннотентных тормозных реакций (6.6% у молодых и 12.8% у старших животных). Недостаток торможения и низкий процент коротколатентных тормозных реакций в младшей возрастной группе, мог быть скомпенсирован в старшем возрасте за счет усиления длиннотентных тормозных реакций. Качественные характеристики тормозных реакций (длительность, ЛП) у контрольных и экспериментальных животных не различались.

Слои *IV* и *Vb* (область лемнисковых контактов). У вибриссэктомированных крыс доля «молчащих» вибрисс в этих слоях с возрастом увеличилась с 47 до 65% ($p < 0.05$). По-видимому, расширение «молчащей» области рецептивных полей нейронов слоя *IV* обусловлено более высокой эффективностью торможения у старших животных, что может способствовать подавлению незначимых компонентов стимула (шума) и, как следствие, более точной локализация стимула в пространстве.

В старшей группе был обнаружен высокий процент вибрисс (16%), стимуляция которых вызывала устойчивые *тонические* ответы у нейронов (в контроле – 0%, Рис. 1.14). Сохранение первичной *тонической* реакции у старших животных вибриссэктомированной группы может

быть свидетельством функционального недоразвития проекционной области вибрисс в неокортексе.

1 фазические ответы

2 тонические ответы

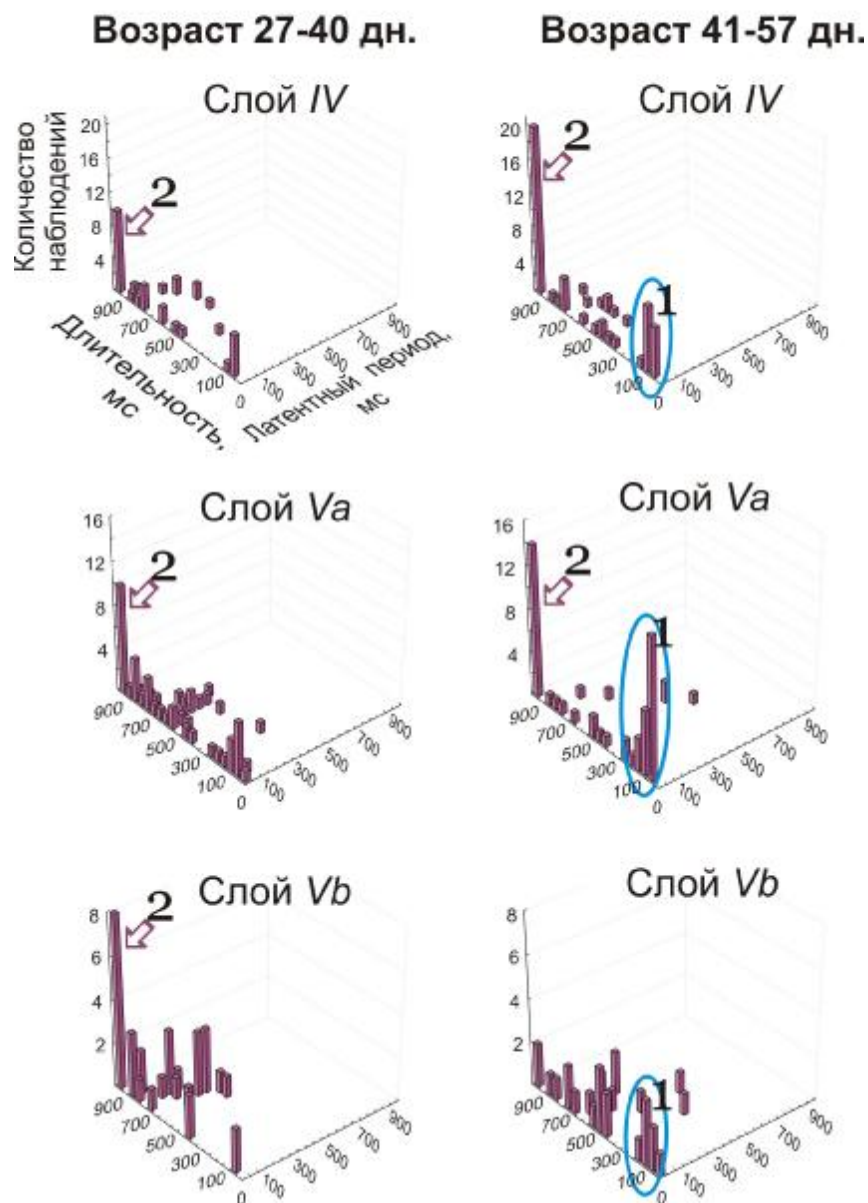


Рисунок 1.17. Возрастная динамика параметров активационных ответов нейронов проекционной области вибрисс в SmI у сенсорнодепривированных крыс Wistar. Обозначения аналогичны Рис. 1.16.

Слой Va (область паралемнисковых контактов). Важным отличием от контроля послужил тот факт, что у вибриссэктомированных животных были обнаружены нехарактерные для данного слоя *фазические* ответы: 9.3% у молодых и 16.8% - у старших животных. В контрольной группе доля *фазических* ответов составила, соответственно, 0% и 4.6%, что значительно ниже, чем в опыте ($F_{1,22}=4.5, p<0.05$).

Если в контрольной группе *фазические* реакции были локализованы в «лемнисковом» слое IV и, по-видимому, были результатом трансформации незрелого *тонического* ответа, то у вибриссэктомированных животных *фазические* реакции появлялись раньше, чем в контроле, в

несвойственном для них «паралемнисковом» слое, и им не предшествовали *тонические* реакции (Рис.1.17). Вероятно, что более раннее появление *фазических* реакций у вибриссэктомированных животных оказалось возможным благодаря более раннему переходу от *тонической* к *фазической* форме ответа в результате актуализации (латентных) локальных механизмов торможения в слое *Va*.

Чтобы проверить это предположение, мы исследовали свойства тормозных реакций в двух возрастных группах крыс, подвергшихся удалению вибрисс в раннем онтогенезе. Быстрые (коротколатентные) тормозные реакции были столь малочисленны, что их число оказалось не достаточным для статистического анализа. Анализ поздних (длиннолатентных) тормозных ответов показал, что стратегия формирования поздних тормозных ответов у интактных и вибриссэктомированных животных значимо различалась.

При неизменном среднем значении ЛП в исследованных группах (в контроле среднее в двух возрастных категориях составило 337 ± 197 мс, в экспериментальной группе – 271 ± 151 мс), возрастная динамика ЛП значимо отличалась ($F_{1,17}=6.8, p<0.05$). В контроле по мере увеличения возраста увеличивался ЛП поздних тормозных ответов (225 ± 109 мс у молодых и 487 ± 200 мс у старших животных), а у вибриссэктомированных крыс обнаружено снижение ЛП с 330 ± 145 мс до 227 ± 148 мс. У интактных животных с возрастом уменьшилась доля вибрисс, стимуляция которых вызывала торможение (с 12.1% до 5.9%). У вибриссэктомированных животных наблюдали обратную динамику: с возрастом происходило увеличение доли «тормозных» вибрисс с 6.6 до 14.2% ($F_{1,22}=4.4, p<0.05$).

Итак, у интактных животных с возрастом наблюдали угашение поздних тормозных реакций (увеличение ЛП и снижение числа реакций этого типа), а у вибриссэктомированных животных, наоборот - экспансию поздних тормозных ответов (двукратное увеличение доли «тормозных» вибрисс и укорочение ЛП). По-видимому, удаление вибрисс способствовала актуализации механизмов торможения в слое *Va*, но этот процесс наблюдался в старшей возрастной группе и не мог быть причиной более раннего созревания *фазических* ответов, как мы предполагали выше.

Состригание вибрисс, как известно, изменяет метаболизм нейронов "лемнисковой" части таламуса, VPm [Land & Akhtar, 1987], где в области "бареллоидов" снижается плотность цитохромоксидазы, что может свидетельствовать о снижении активности таламических нейронов. Кроме того, сниженной оказывается плотность глутаматдекарбоксилазы в терминалях тормозных нейронов ретикулярного таламического ядра, иннервирующих VPm, что свидетельствует о низкой эффективности процессов торможения в VPm. Это может привести к модификации характера лемнисковой информации у вибриссэктомированных крыс на уровне таламуса, то есть, к качественным преобразованиям таламо-кортикальной части вибротактильного анализатора.

В целом, результаты настоящей работы подтверждают известный факт: деафферентация вибрисс в раннем онтогенезе способствует усилению возбудительных реакций нейронов

проекционной области вибрисс в SmI, однако этот процесс затрагивает в большей степени коротколатентные активационные реакции и может оказаться локальным (усиливается определенный тип ответа в определенном слое). Наши исследования показали, что прямым следствием вибриссэктомии у животных младшего возраста является избыток возбудительных реакций *фазического* («лемнискового») типа в «паралемнисковом» слое *Va* и *тонического* («паралемнискового») типа в «лемнисковом» слое *IV*. В обоих случаях ограничение сенсорного притока от вибрисс способствует формированию ответов, не являющихся типичными для исследованных слоев. В частности, у вибриссэктомированных, в отличие от интактных животных, в «паралемнисковом» слое (*Va*) присутствовали *фазические* («лемнисковые») реакции. Это может быть результатом нарушения распределения лемнисковых афферентов в соматосенсорной коре у вибриссэктомированных животных.

Отдельного внимания заслуживает тот факт, что у интактных животных первичные *тонические* реакции в слое *VI* существовали до 40-дневного возраста, а затем исчезали, а в вибриссэктомированной группе эта форма ответа была обнаружена и в старшем возрасте. Иначе говоря, у вибриссэктомированных крыс нарушаются темпы развития функциональных свойств нейронов проекционной коры.

Заключение

Обнаружена гетерохрония *фазических* и *тонических* ответов проекционной области вибрисс в SmI у крыс Wistar. *Тоническая* форма ответов в «лемнисковых» слоях (*IV* и *Vb*) предшествовала *фазической*. Созревание *фазических* реакций происходило в возрасте около 1.5 месяцев параллельно с развитием механизмов торможения и подавлением поздних активационных компонентов.

На фоне ограничения сенсорного притока от вибрисс формировались ответы, не типичные для исследованных слоев коры: избыток возбудительных реакций *фазического* («лемнискового») типа в «паралемнисковом» слое *Va* и *тонического* («паралемнискового») типа в «лемнисковом» слое *IV*. У вибриссэктомированных крыс была нарушена последовательность формирования вызванной активности нейронов: если у интактных животных первичные *тонические* реакции в слое *VI* существовали до 40-дневного возраста, а затем исчезали, а в вибриссэктомированной группе эта форма ответа были обнаружены и у старших животных. В отличие от контроля, где *фазические* реакции в слое *IV* были результатом трансформации незрелого *тонического* ответа, у вибриссэктомированных животных *фазические* реакции появлялись раньше, чем в контроле, в несвойственном для них «паралемнисковом» слое и им не предшествовали *тонические* реакции.

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 механическая часть вибрисс полностью восстанавливается. Однако при внешней сохранности механической части вибротактильного анализатора у таких животных меняется микроструктура нейронов во всех исследованных слоях

проекционной области вибрисс в SmI, а это может нарушить детекторные свойства нейронов и снизить чувствительность вибротактильной системы в целом. В пользу этого предположения свидетельствует наша ранняя работа [Ситникова, 2000], где было показано, что удаление вибрисс у крыс в течение первых недель жизни вызывает расширение возбуждательных и сужение тормозных РП.

Хорошо известно, что блокада внутрикортикальных тормозных механизмов приводит к расширению рецептивных полей соматосенсорных нейронов. Чтобы проиллюстрировать это утверждение, приведем результаты одной из ранних работ [Александров и Шейников, 1981], где было показано, что аппликация пикротоксина - блокатора ГАМК-ергического торможения приводит к расширению возбуждательных рецептивных полей нейронов соматосенсорной коры кошки. В этой ситуации нейроны демонстрировали коротколатентные активационные реакции на стимуляцию ранее неэффективных вибрисс. Таким образом, потенциально каждый нейрон обладает широкими афферентными входами, но в норме реагирует лишь на некоторые из них, остальные возможности элиминируются процессами внутрикортикального торможения [Armstrong-James & Fox, 1987]. Важно отметить, что в нашем эксперименте нарушение процессов торможения у крыс, подвергшихся удалению вибрисс на протяжении первых недель жизни, носят функциональный характер и не сопровождаются изменениями морфометрических свойств тормозных интернейронов [Ситникова & Раевский, 2005].

Повышенный уровень активационных реакций на фоне дефицита торможения в SmI у крыс, перенесших удаление вибрисс в раннем онтогенезе, может свидетельствовать о повышенной возбудимости этой области коры. Как известно, избыточная возбудимость нейронов является главной причиной эпилепсии. В случае, когда возбудимость коры превышает нормальный уровень, формируется состояние гипервозбудимости и повышается вероятность возникновения приступа эпилепсии. Эти изменения в SmI у вибриссэктомированных крыс могут способствовать развитию эпилептического очага. Данное предположение исследовано в последующих главах с использованием линии крыс WAG/Rij, имеющих генетическую склонность к абсанс-эпилепсии.

ГЛАВА 2

Феномен абсанс-эпилепсии у крыс WAG/Rij: роль неокортекса в развитии пик-волновой активности

2.1. Абсанс-эпилепсия - клинические аспекты

Эпилептические расстройства встречаются у 1-2% от общего числа населения. Эпилепсия характеризуется внезапным появлением мощных электрических разрядов в отдельных областях головного мозга и сопровождаются двигательными вегетативными и психическими расстройствами. Приступы эпилепсии могут следовать с определенной регулярностью (единичные приступы не являются основанием для установления диагноза эпилепсии, вне зависимости от их клинических проявлений).

Клиническим признаком абсанс-эпилепсии является кратковременное нарушение или потеря сознания (от *фр.* 'absence' – отсутствие) при отсутствии моторных расстройств [Panayiotopoulos, 2001]. Приступы абсанс-эпилепсии начинаются внезапно, без видимых причин, и предсказать момент начала эпилептического припадка по внешним признакам практически невозможно. Во время абсанса человек внезапно застывает на месте, его/её текущая деятельность обрывается, исчезает (или существенно снижается) реакция на внешние стимулы, приостанавливается умственная деятельность, а память об этом эпизоде не сохраняется. Хотя потеря сознания во время абсанса не является абсолютной. Пациенты иногда способны воспринимать важную информацию в течение абсанса, например, они способны различить собственное имя, произнесенное вслух. Крысы с генетической предрасположенностью к абсанс-эпилепсии также способны различить значимые и незначимые стимулы во время абсанс-подобного состояния [Drinkenburg et al., 2003]. То есть, можно говорить о серьезном нарушении сознания во время абсанса, но не об абсолютной его потере.

Один из ведущих экспертов международного общества ILAE, Chrysostomos Panayiotopoulos, в одном из последних обзоров, посвященном клиническим и диагностическим аспектам генерализованных форм эпилепсии [Panayiotopoulos, 2008], выделяет шесть клинических признаков эпилептического припадка: (а) нарушение сознания, (b) клонические расстройства движений, (c) атония, (d) тонические расстройства движения, (f) автоматизмы, (g) вегетативные расстройства. Простой абсанс (*simple absence*) соответствует случаю (а), все остальные проявления относятся к клинической картине сложного абсанса (*complex absence*). У одного пациента могут наблюдаться и сложные и простые абсансы. У детей чаще наблюдают простые абсансы, а у взрослых - сложные.

В отличие от генерализованных форм эпилепсии, абсанс-эпилепсия не имеет предвестников в виде ауры и не сопровождается двигательными расстройствами (конвульсии, миоклонии), за исключением подергиваний мышц лица и глаз. В 1770 Тиссо (*Tissot*) охарактеризовал эту болезнь как «лёгкую форму эпилептического припадка» и предложил термин *petit mal* ('*petits accès*') или «малая эпилепсия», противопоставив её более тяжелому

расстройству - конвульсивным судорогам, ‘*grands accés*’ (*grand mal*). В настоящее время термин *petit mal* полностью вышел из употребления, и его заменил термин абсанс-эпилепсия (‘*absence epilepsy*’), введенный Калмилом (*Calmeil*) в 1824 году [цитирование по: Temkin, 1971].

Приступ абсанса напоминает кратковременную утрату внимания, расседоточение, легкую дремоту в дневное время, поэтому существует серьезный риск, что эта болезнь у детей останется незамеченной [Nadler & Shevell, 2008]. Частые приступы абсанс-эпилепсии приводят к снижению эффективности обучения, ухудшается общая успеваемость, что даёт почву для развития синдрома дефицита внимания и более серьезных неврологических сопутствующих расстройств (*comorbid conditions*). Типичную клиническую картину абсанса чаще наблюдают при детской абсанс-эпилепсии [(CAE, Таб.2.1) или пикнолепсии (*pyknolepsy*)].

Таблица 2.1. Генерализованные идиопатические формы эпилептических расстройств раннего возраста, выделенные комиссией по классификации и терминологии (*Commission on Classification and Terminology*) Международной лиги борьбы с эпилепсией (*International League Against Epilepsy, ILAE*)

Название синдрома		Возраст	Изменения наЭЭГ
Benign familial neonatal convulsions	Доброкачественные семейные неонатальные судороги	~ 2-3 дня	Без изменений
Benign neonatal idiopathic convulsions	Доброкачественные идиопатические неонатальные судороги	~ 5 дней	Без изменений
Benign myoclonic epilepsy in infancy	Доброкачественная миоклоническая эпилепсия раннего детского возраста	от 6 месяцев до 3-х лет	Интериктальная ЭЭГ обычно не изменена. Приступы миоклонии могут сопровождаться комплексами «множественные пики-волна» или «пик-волна» (3 Гц)
Childhood absence epilepsy (CAE)	Детская абсансная эпилепсия	от 2 до 12 лет	Комплексы «пик-волна» (3 Гц)
Juvenile absence epilepsy (JAE)	Подростковая абсансная эпилепсия	от 8 до 20 лет	Комплексы «пик-волна» (3.5 – 4.5 Гц)
Juvenile myoclonic epilepsy (JME)	Подростковая миоклоническая эпилепсия	от 8 до 26 лет	Множественные пики, генерализованные пик-волновые разряды (4 – 6 Нз)
Epilepsy with generalized tonic-clonic seizures on awakening	Эпилепсия с генерализованными судорожными приступами пробуждения	от 6 до 35 лет	Комплексы пик-волна (2.5 – 4 Гц) комплексы «множественные пики-волна»
Other generalized idiopathic epilepsies not defined above (IGE)	Другие идиопатические генерализованные формы эпилепсии, не названные выше		
Epilepsies with seizures characterized by specific modes of precipitation (photogenic epilepsies)	Эпилепсия, провоцируемая специфическими способами (чаще фотосенситивная эпилепсия).	пубертатный период	Чаще – пик-волновые разряды в затылочных областях при фотостимуляции

Примерно у половины пациентов разных возрастных групп (от 40% до 60%) наблюдают смешанные эпилептические расстройства, когда эпизоды абсанс-эпилепсии сопровождается

генерализованными тонико-клоническими судорогами. Заболеваемость детской абсанс-эпилепсией (CAE) у детей младше 15 лет по разным данным колеблется от 6.3 - 8.0 человек на 100000. Среди прочих эпилептических расстройств детского возраста, абсанс-эпилепсия встречается примерно у 10-12 % пациентов.

Абсанс-эпилепсия хорошо поддается фармакотерапии [Panayiotopoulos, 1999; Panayiotopoulos, 2005]. Обычно в не осложненных случаях ограничиваются применением одного из трех препаратов: этосуксимид, вальпроевая кислота и ламотриджин [рекомендации ILAE: Glauser et al., 2006]. Применение вальпроевой кислоты (Апилепсин, Орфирил, Конвулекс, *Valproic acid*, *Depakene*®, *Depakote*®, *Epival*®) оказывает терапевтический эффект при типичном течении абсанс-эпилепсии (излечение наблюдается у 80% пациентов среди детей), а также в случаях, осложненных тонико-клоническими судорогами (эффективность препарата при этом ниже). Этот препарат улучшает психическое состояние больного и не вызывает сонливости. Вальпроевая кислота имеет высокую токсичность, тератогенный эффект и вызывает нарушения со стороны желудочно-кишечного тракта, особенно печени, что существенно ограничивают её применение в клинической практике. Противосудорожное действие вальпроатов, по-видимому, связано с усилением процессов торможения в эпилептической области за счет активации процесса восстановления и синтеза ГАМК. Возможно, что вальпроаты препятствуют взаимодействию глутамата с NMDA-рецепторами, благодаря чему снижается возбудимость нервной ткани.

Этосуксимид (*ethosuximide*, *Emeside*®, *Zarontin*®) является одним из наиболее широко распространенных и эффективных препаратов для лечения абсанс-эпилепсии. В отношении механизма действия этосуксимида существуют противоречивые данные. По-видимому, этосуксимид снижает интенсивность «пачечной» активности пейсмейкерных нейронов таламуса (*bursting activity*), которые отвечают за генерацию эпилептических разрядов. Конкретный механизм действия этого препарата может быть связан с деактивацией потенциалзависимых кальциевых каналов Т-типа [Coulter et al., 1989], либо со снижением эффективности неинактивируемых Na⁺ каналов и Ca-активируемых K⁺ каналов [Leresche et al., 1998].

Ламотриджин (*lamotrigine*, *Lamictal*®) – относительно новый препарат, рекомендованный для фармакотерапии абсанс-эпилепсии в 2004 году (в США). До этого препарат использовался для лечения фокальных эпилепсий, в том числе и в педиатрической практике, синдрома Леннокса-Гасто, биполярных расстройств. Ламотриджин особенно эффективен в отношении смешанных форм эпилепсий, он рекомендован для монотерапии пациентов, лечение которых ранее проходило с использованием вальпроевой кислоты и оказалось малоэффективным. Механизм действия ламотриджина полностью не раскрыт. По-видимому, этот препарат снижает активность потенциал-зависимых натриевых каналов, стабилизирует состояние пресинаптических мембран нейронов и препятствует избыточному высвобождению возбуждательных нейромедиаторов (глутамата и аспартата).

При фармакотерапии абсанс-эпилепсии необходимо учитывать, что некоторые хорошо известные противосудорожные средства, например, карбамазепин, фенитоин и тиагабин (*carbamazepine, phenytoin* и *tiagabine*) усиливают абсансные судороги [Genton et al., 2001].

2.2. Абсанс-эпилепсия - электроэнцефалографические признаки

В 1935 году в Бостонском городском госпитале Фредерик Гиббс (*Frederick Gibbs*), Хэлловел Дэвис (*Hallowell Davis*) и Вильям Леннокс (*William G. Lennox*) зарегистрировали и описали пик-волновые комплексы на ЭЭГ пациента во время клинического приступа абсанс-эпилепсии [Gibbs et al., 1935]. Впоследствии методы регистрации и анализа ЭЭГ постоянно совершенствовались, параллельно были сформулированы новые принципы и подходы для точной и своевременной диагностики, особенно в сложных случаях и при атипичных формах эпилепсий.

Клиническое исследование ЭЭГ применяют для прямой диагностики всех без исключения эпилептических расстройств, а также для дифференциальной диагностики, например, в случае психогенных судорог не-эпилептической природы, обморочных состояний, расстройств двигательных функций, мигрени. Обычно ЭЭГ регистрируют с открытыми и закрытыми глазами с использованием специальных техник для провокации эпилептической активности (чаще фотостимуляцию, гипервентиляцию, иногда сон). Одним из наиболее простых и важных тестов служит сравнение формы ЭЭГ в состоянии с открытыми и закрытыми глазами. Некоторые виды пароксизмальной активности появляются только в состоянии с открытыми глазами, другие - когда глаза закрыты или непосредственно в момент открывания-закрывания глаз (альфа ритм может маскировать патологические ритмы, и их можно диагностировать в момент открытия глаз, когда альфа ритм подавляется). У взрослых пациентов, страдающих эпилепсией, исследование ЭЭГ в состоянии бодрствования с применением фотостимуляции и гипервентиляции позволяет выявить болезнь лишь в половине случаев (около 50%). Эта цифра увеличивается до 92% при проведении 4-х последовательных исследований. Мониторинг ЭЭГ во время сна повышает шансы выявить эпилепсию у больных (до 80%) уже с первого раза.

Для оценки эффективности медикаментозного лечения (фармакотерапии) можно использовать данные ЭЭГ. На основе исследований ЭЭГ можно получить прогностическую информацию о ходе развития болезни в кратко- и долгосрочной перспективе.

Приступы абсанс-эпилепсии сопровождаются появлением на ЭЭГ генерализованных двухсторонне-симметричных высокоамплитудных комплексов типа "пик-волна" с частотой 3 Гц (возможны вариации от 2.5 до 5 Гц). Комиссия по терминологии международной федерации общества электроэнцефалографии и клинической нейрофизиологии (*the Committee on Terminology of the International Federation of Societies for Electroencephalography and Clinical Neurophysiology, IFSECN*) [1983] дает предельно краткое определение пик-волновым комплексам: комплекс пик-волна состоит из пика и последующей волны (*'a pattern consisting of a spike followed by a slow wave'*). В рекомендациях для проведения клинических исследований ЭЭГ [IFCN, 1999] Международная федерация клинической нейрофизиологии (*International Federation Clinical Neurophysiology, IFCN*) акцентирует внимание на технических, методических и

диагностических аспектах исследования ЭЭГ. В частности, в разделе, посвященном идиопатическим генерализованным формам эпилепсии, представлена следующая информация:

1) Диагностическим признаком *детской абсансной эпилепсии (САЕ)* является наличие на ЭЭГ типичных 3 Гц генерализованных пик-волновых разрядов, доминирующих в лобных областях. Появление пик-волновых разрядов на ЭЭГ можно спровоцировать путём гипервентиляции. Для диагностики состояния сознания и выявления «абсанса» во время регистрации ЭЭГ пациента просят постукивать кончиками пальцев по кушетке (пациент прекращает постукивать во время «абсанса», сопровождающегося эпилептическими разрядами).

2) *Подростковая абсансная эпилепсия (JME)* характеризуется генерализованными пик-волновыми разрядами с частотой от 3 Гц и выше. Эпилептические разряды характеризуются максимумом амплитуды в лобных областях коры. Комплексы пик-волна могут содержать множественные пики; возможно появление локальных пиков на ЭЭГ, которые характерны для парциальных форм эпилепсий. Дополнительные пики могут появляться на ЭЭГ асинхронно в разных полушариях. Полагают, что асимметрия пик-волновых разрядов и появление локальных пиков на ЭЭГ могут свидетельствовать о развитии локального патологического процесса у больных *JME*.

Пик-волновые комплексы на ЭЭГ сопровождают не только абсанс-эпилепсию, но и другие формы генерализованной эпилепсии (Табл. 2.1). Например, юношескую миоклоническую эпилепсию и смешанные формы: абсанс-эпилепсия с миоклонусом, абсанс-эпилепсия с миоклонусом век [Gibbs et al., 1935; Panayiotopoulos, 1999; 2005]. Структура и топография пик-волновых комплексов у разных пациентов заметно варьирует [Weir, 1965; Vlume, 2002]. При некоторых осложненных формах эпилептических расстройств (например, абсансные судороги во время сна или появление абсанс-эпилепсии в позднем возрасте) в составе пик-волновых комплексов могут наблюдаться множественные пики. Такой энцефалографический паттерн получил название '*multiple spike-and-slow-wave complexes*' [Chatrian, 1974; Panayiotopoulos, 1999 и 2005].

Каждый отдельный цикл пик-волнового комплекса содержит один пик и одну волну. Увеличение числа пиков в составе пик-волнового комплекса до 3 и более на одну волну свидетельствует о неблагоприятном прогнозе [Panayiotopoulos, 2005]. Известно, что появление множественных пиков в составе пик-волновых комплексов вызвано нарушением внутрикортикальных взаимосвязей и повышенной возбудимостью кортикальных нейронов [Timofeev et al., 1998].

2.3. Патогенез абсанс-эпилепсии

Существуют пять основных концепций, объясняющих механизмы абсанс-эпилепсии (Рис. 2.1).

1) Центрэнцефалическая теория, предложенная Пенфилдом и Джаспером [Пенфилд и Джаспер, 1958], полагает, что причиной абсанс-эпилепсии служат нарушения со стороны *центрэнцефалической интегративной системы (центрэнцефалон)*. *Центрэнцефалон* - это гипотетическое нервное образование в глубинных областях головного мозга, имеющее широкую

сеть диффузных билатеральных проекций в коре больших полушарий и других структурах головного мозга. Главная функция *центрэнцефалона* сводится к координации сознания. Об участии *центрэнцефалической системы* в патогенезе абсанс-эпилепсии может свидетельствовать тот факт, что судороги сопровождаются потерей сознания и имеют генерализованный характер, при этом пик-волновые разряды на ЭЭГ отличаются мощной билатеральной синхронизацией. Во времена господства *центрэнцефалической* концепции эпизоды абсанс-эпилепсии называли также центрэнцефалическими судорогами.

Вышеупомянутая теория нашла подтверждение в серии экспериментальных работ на животных. На кошках были впервые получены данные о том, что нервным субстратом *центрэнцефалона* могут служить интраламинарные ядра таламуса (*nucleus centralis medialis* и *nucleus reuniens*) [Jasper & Drooglever-Fortuyn, 1946]. Так, стимуляция этих ядер импульсами электрического тока 3 Гц вызывала состояние, подобное абсансу человека, т.е. текущая деятельность животного прерывалась (*arrest reaction*), при этом на ЭЭГ появлялись генерализованные пик-волновые разряды; предъявление резкого внешнего стимула могло прервать эпилептические разряды. Известно, что интраламинарные таламические ядра относятся к системе диффузных проекций головного мозга, обеспечивающей неспецифическую иннервацию коры больших полушарий. При наличии эпилептического очага в интраламинарных ядрах создаются условия для быстрого распространения эпилептической активности, т.е. для процесса генерализации.

Позднее на фармакологических моделях абсанс-эпилепсии (системное введение пентилентетразола [PTZ] и гамма-гидроксибутирата [GHB] у крыс), было обнаружено, что удаление интраламинарных ядер таламуса приводит к полному исчезновению пик-волновых разрядов [Banerjee & Snead, 1994]. Этот факт послужил первым экспериментальным подтверждением участия интраламинарных ядер в развитии абсанс-эпилепсии и рассматривался как аргумент в пользу *центрэнцефалической* теории.

Эта теория оказалась справедливой в экспериментальных условиях (острый эксперимент, провокация судорожной активности электрическими или фармакологическими методами). Однако при естественном развитии абсанс-эпилепсии (спонтанная судорожная активность) роль интраламинарных ядер оказалась не столь очевидной. В лаборатории Ханса Кристиана Папэ (H.C. Pape, г.Магдебург, Германия) было показано, что интраламинарные ядра таламуса играют второстепенную роль в развитии судорожной активности у крыс линии GAERS, имеющих генетическую предрасположенность к абсанс-эпилепсии, [Seidenbecher & Pape, 2001]: интраламинарная система не принимает непосредственного участия в инициации эпилептических разрядов, и вовлекаются в процесс распространения разрядов вслед за корой больших полушарий. Таким образом, *центрэнцефалическая* теория окончательно ушла в историю.

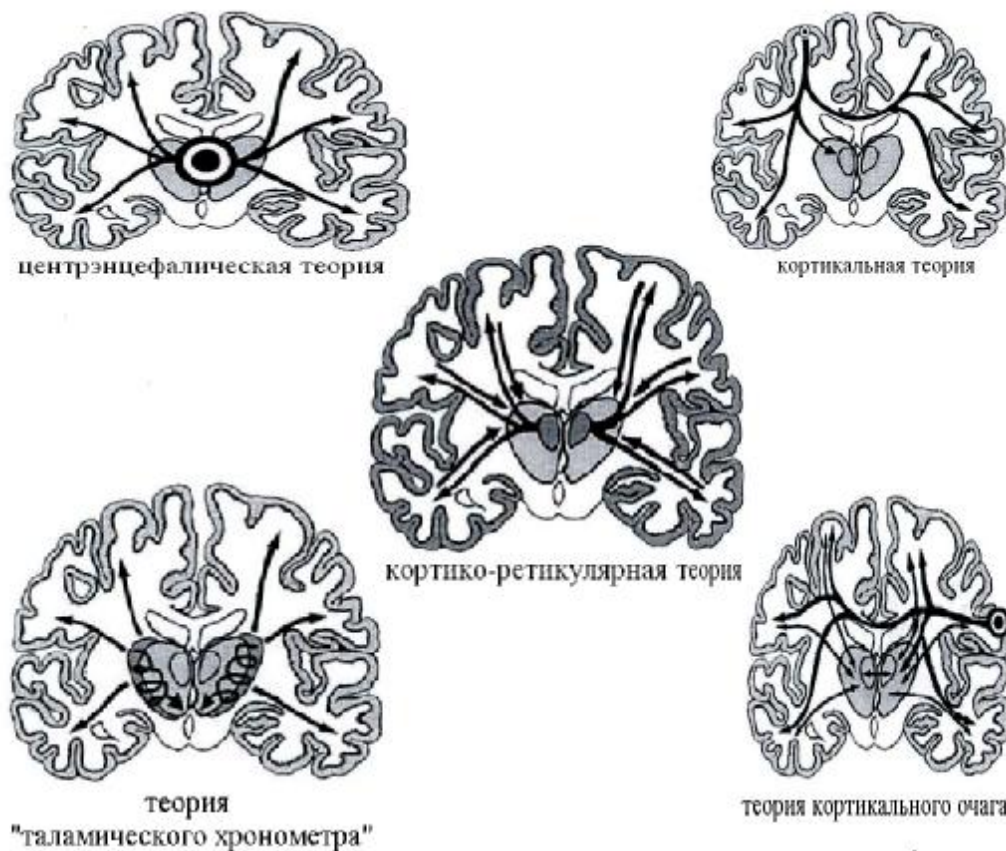


Рисунок 2.1. Схематическое представление основных теорий, объясняющих механизмы генерализованной абсансной эпилепсии. Слева изображены концепции, предполагающие, что источником эпилептических разрядов является таламус. Это - центрэнцефалическая теория [Пенфилд и Джаспер, 1958] и теория «таламического хронометра» [Buzsáki, 1991]. Справа показаны концепции, которые отводят важную роль коре больших полушарий: кортикальная теория [Bancaud, 1969; Lüders et al., 1984; Niedermeyer, 1996] и теория локального «кортикального очага» [Meeren et al., 2002; 2005]. Центральная пиктограмма иллюстрирует кортико-ретикулярную теорию Пьера Глора [Gloor, 1968; 1969; 1978]. Иллюстрация из работы [Meeren et al., 2005].

Следующим шагом на пути поиска источника пик-волновой активности было открытие принципов работы таламо-кортикальной системы и пейсмекерной функции у нейронов ретикулярного таламического ядра (RTN). Эти фундаментальные разработки легли в основу двух концепций: теории «таламического хронометра» (“thalamic clock”) и кортико-ретикулярной теории.

2) Теория «таламического хронометра» была предложена Джоржем Бужаки в 1991 году [Buzsáki, 1991]. Согласно этой теории, пейсмекерные нейроны ретикулярных ядер таламуса выполняют функцию пускового механизма в процессе формирования эпилептических разрядов. Нейроны RTN образуют тесные двусторонние контакты с нейронами релейных таламуса. Число нейронов RTN гораздо меньше, чем число иннервируемых ими релейных нейронов таламуса, поэтому происходит лавинообразный рост числа нейронов, вовлеченных в судорожную активность. Так, синхронная ритмическая активность даже небольшого числа нейронов RTN будет передаваться большому числу релейных нейронов, которые будут активировать всё большее число нейронов RTN. Иными словами, RTN навязывает эпилептический ритм всей

таламо-кортикальной системе и связанным с ней структурам. Принципиально важным моментом этой концепции является то, что, во-первых, нейроны RTN не являются пейсмекерами, а являются триггерами пароксизмальной активности; во-вторых, пароксизмальная активность порождается не отдельными клетками-пейсмекерами, а таламической нейронной сетью 'нейроны RTN' – 'релейные нейроны'.

3) Кортико-ретикулярная теория Пьера Глора [Gloor, 1968; 1969; 1978] гласит, что в формировании пик-волновых разрядов принимают участие кора, ретикулярная система таламуса и продолговатого мозга. Аргументы в пользу этой концепции были получены в серии экспериментов на кошках, у которых генерализованные эпилептические разряды были вызваны инъекциями сверхпороговых доз пенициллина (модель *FGPE*) [Prince and Farrell, 1969]. Эпилептогенное действие пенициллина в этом случае объясняется тем, что в высоких дозах он действует как антагонист ГАМК_A-рецепторов; фармакологическая блокада торможения приводит к перевозбуждению нервных клеток. Наиболее выраженное эпилептогенное действие оказывали инъекции пенициллина в кору, эффект от введения пенициллина в область таламуса оказался гораздо слабее. Таким образом, было доказано, что кора играет ключевую роль в патогенезе судорожной активности.

Причиной судорожной активности, согласно концепции П.Глора, является чрезмерно интенсивная активационная реакция клеток коры в ответ на возбуждение таламо-кортикальных терминалей. В этом состоянии (гипервозбудимости), кора посылает в таламус по нисходящему кортико-таламическому пути более мощный, чем в норме, поток возбуждения. После переключения в таламусе этот поток возбуждения вновь направляется в кору, и цикл повторяется. Таким образом, повышенная возбудимость коры способствует поддержанию эпилептического ритма в таламо-кортикальной сети. Однако, сам по себе, пик-волновой разряд не может сформироваться в гипервозбудимой коре, для этого необходимо участие пейсмекерных нейронов RTN, которые являются триггером эпилептического разряда.

В качестве альтернативы были предложены две концепции, которые связывают абсанс-эпилепсию с дисфункцией коры больших полушарий и отводят таламусу лишь второстепенную роль.

4) Кортикальная теория была впервые высказана на основании уникальных в своём роде данных, полученных при регистрации активности коры посредством вживленных электродов и при непосредственной электрической стимуляции лобных долей человека [Bancaud 1969]. Показано, что лобная кора может быть очагом пароксизмальной активности при генерализованных формах эпилепсии, к которым относится абсанс-эпилепсия. Более того, в эксперименте стимуляция лобных долей на ЭЭГ у человека возникали генерализованные 3 Гц разряды типа пик-волна. Был сделан вывод о том, что абсанс-эпилепсия формируется вследствие органических поражений или функциональных нарушений в лобной коре без явного участия таламуса. В пользу этой теории свидетельствуют некоторые работы из клинической практики [Niedermeyer, 1996; Holmes et al., 2004].

5) Теория кортикального очага, согласно которой источником пик-волновых разрядов является соматосенсорная кора (SmI). Таламические структуры играют вторичную роль в развитии судорожной активности [Meeren et al., 2002; 2005]. Эта концепция предусматривает два принципиально важных момента: во-первых, существование *очага* судорожной активности, локализованного в области периоральных проекций SmI. Во-вторых, признание того, что генерализация судорожной активности при абсанс-эпилепсии - процесс второстепенный. Эти два аргумента ставят под сомнение правомерность международной классификации, рекомендованной ИАЕ, которая относит абсанс-эпилепсию к группе первично-генерализованных судорог [Engel, 2006]. Исследования в области клинической нейрофизиологии, в пользу локальной природы пик-волновой активности и отрицают её первично-генерализованный характер [Holmes et al., 2004; Craiu et al., 2006]. Исследованию роли SmI в развитии абсанс-эпилепсии у крыс линии WAG/Rij посвящен Раздел 2.6 настоящей Главы.

2.4. Экспериментальные и генетические модели абсанс-эпилепсии

У больных с типичной формой абсанс-эпилепсии нет показаний для инвазивных исследований и хирургических вмешательств⁴, что ограничивает получение информации, которую можно использовать в исследовательских целях. Для исследования нейрофизиологических механизмов этого заболевания традиционно используют животных, у которых моделируют состояние, сходное с абсанс-эпилепсией человека [Snead et al., 1999]. Существуют экспериментальные и генетические модели абсанс-эпилепсии у животных.

2.4.1. Экспериментальные модели

Приступы абсанс-эпилепсии можно вызвать в условиях эксперимента у здоровых животных, не склонных к эпилепсии. Провокацию судорожной активности обычно осуществляют двумя путями: (1) раздражение глубоких структур мозга электрическим током или (2) инъекция фармакологических препаратов. В ответ на электрическое раздражение области интраламнарных ядер таламуса импульсами тока 3 Гц были получены двусторонне-симметричные генерализованные пик-волновые разряды у кошек, находящихся под действием поверхностного наркоза [Jasper & Drooglever-Fortuyn, 1946]. У бодрствующих животных электрическая стимуляция оказывала сходный эффект, при этом пик-волновая активность сопровождалась изменениями поведения, характерными для клинической картины абсанса. Так авторам удалось впервые смоделировать эпилептическую активность "пик-волна" в условиях эксперимента.

Среди «фармакологических моделей» наибольшую известность получила упомянутая выше модель генерализованной эпилепсии у кошек (*feline generalized penicillin epilepsy, FGPE*) [Prince

⁴ В 1953 году, до принятия жестких этических норм работы с пациентами, Дэнис Вильямс использовал интракраниальные электроды для исследования пик-волновой активности в области таламуса у ребенка, больного абсанс-эпилепсией [Williams, 1953]. Он представил уникальные доказательства непосредственного участия таламуса в развитии пик-волновой активности у человека.

& Farrell, 1969], где для провокации генерализованной пик-волновой активности использовали высокие дозы пенициллина [Gloor, 1968; 1969; Gloor et al., 1979; Avoli et al., 1983; Avoli & Gloor, 1982]. Пенициллин является антагонистом ГАМКа-рецепторов и в высоких концентрациях существенно снижает эффективность торможения, вызывая состояние гипервозбудимости нейронов, на фоне которого развиваются генерализованные эпилептические разряды. Результаты экспериментов на пенициллиновой модели показали наличие тесной взаимосвязи пик-волновых разрядов и сонных веретен. Это открытие имело концептуальное значение и ознаменовало целую эпоху господства кортико-ретикулярной теории (подробнее - в Главе 3).

Среди веществ, способных провоцировать пик-волновую активность, можно выделить гамма-гидроксиптират (*GHB*) [Marescaux et al., 1984a] – это ненасыщенная жирная кислота, которая является продуктом естественного метаболизма ГАМК (производится нейронами в незначительных количествах). При системном введении *GHB* можно наблюдать типичную картину абсанса и появление на ЭЭГ пик-волновых разрядов с частотой 2.5-3 Гц у обезьян и 6-7 Гц у крыс. Механизм проэпилептического действия *GHB* окончательно не изучен. Вероятно, что *GHB* нарушает работу ГАМКа-рецепторов и глутаматэргическую нейротрансмиссию. Инъекции пентилентетразола (*PTZ*) в низких дозах вызывает пик-волновые разряды, в высоких дозах - конвульсивные судороги [Snead et al., 1999].

В целом, фармакологические модели дают возможность исследовать некоторые нейрхимические аспекты абсанс-эпилепсии, но не раскрывают истинную природу и причины этого заболевания.

2.4.2. Генетические модели

Генетическими моделями эпилепсии служат специально выведенные линии животных с наследственной предрасположенностью к определенной форме заболевания. Эти модели появились сравнительно недавно и завоевали популярность в последнее десятилетие. Преимущество генетических моделей состоит в том, что они максимально приближены к эпилепсии у человека: эпилептические разряды возникают в силу естественных причин, они спонтанны, повторяются с определенной периодичностью и имеют генетический субстрат.

Спонтанные абсанс-подобные состояния, сопровождающиеся появлением пик-волновых разрядов на ЭЭГ, наблюдаются у некоторых имбредных линий крыс, таких как *Wistar* [Coenen & van Luijtelaa, 2003; Danober et al., 1998; Willoughby & Mackenzie, 1992], *Long Evans* [Semba & Komisaruk 1984; Shaw, 2004; Willoughby & Mackenzie, 1992]; *Fisher 344* [Buzsáki et al., 1988; Vadász et al., 1995; Willoughby & Mackenzie, 1992]. Особенности организации таламо-кортикальной системы у грызунов служат благоприятной почвой для развития пик-волновых разрядов (о причинах этого явления речь пойдет ниже, в Разделе 2.6.3). В качестве адекватных моделей абсанс-эпилепсии в настоящее время используют крыс двух родственных линий: *GAERS* (*Genetic Absence Epilepsy Rats from Strasbourg*) [Marescaux et al., 1992a] и *WAG/Rij* (*Wistar Albino Glaxo from Rijswijk*) [van Luijtelaa and Coenen, 1986]. Характерные признаки абсанс-эпилепсии у этих животных аналогичны таковым у человека.

1) Клинические проявления. Изменения поведения во время пик-волновых разрядов у крыс напоминают приступ абсанс-эпилепсии у человека: неподвижность, легкие подергивания лицевой мускулатуры и вибрисс, нечувствительность к внешним стимулам [van Luijtelaaar & Coenen, 1986; Marescaux et al., 1992a].

2) Фармакологическая картина. Лекарственные препараты, используемые для лечения больных абсанс-эпилепсией, оказывают сходное действие на крыс. Противо-абсансные средства (этосуксимид, вальпроевая кислота) подавляют эпилептическую активность, а традиционные противосудорожные препараты (фенитоин и карбамазепин) и агонисты ГАМК (вигабатрин и тиагабин) – усиливают эпилептические разряды [Danober et al., 1998, Coenen & van Luijtelaaar, 2003; Depaulis & van Luijtelaaar, 2006].

3) Генетические аспекты. Абсанс-эпилепсия у человека, также как и у крыс линий GAERS и WAG/Rij, наследуется, и механизмы наследования во многом схожи [Gauguier et al., 2004; Vadász et al., 1995].

4) Этиология и патогенез. У крыс, также как и у человека, эпилептические разряды формируются вследствие нарушения работы таламо-кортикальной сети [Gibbs, 1935; Хауне, 1949; Steriade, 1993; Steriade, 2003; Blumenfeld, 2002].

Тем не менее, абсанс-подобные состояния животных и человека отличаются вследствие особенностей организации центральной нервной системы. Например, частота пик-волновых разрядов у крыс с генетической предрасположенностью к абсанс-эпилепсии составляет 7–11 Гц [van Luijtelaaar & Coenen, 1986; Coenen & van Luijtelaaar, 2003; Marescaux et al., 1992], у кошек (фармакологическая модель генерализованной эпилепсии) - 3-4.5 Гц [Gloor, 1968; 1969; 1978; Avoli et al., 1983] у человека - 2.5-4 Гц [Panayiotopoulos, 1999; 2005]. Это можно объяснить характером процессов торможения в таламуса, который определяет частоту таламо-кортикального ритма во время пик-волновых разрядов [Destexhe, 1999; Destexhe & Sejnowski, 2001]. Как известно, у крыс в большинстве ядер дорсального таламуса отсутствуют ГАМК-эргические нейроны (исключение составляет латеральное коленчатое тело), и единственным внешним источником торможения для всех ядер таламуса является ретикулярное таламическое ядро [Jones, 1985, Ohara et al., 1983]. В отличие от крыс, у кошек и человека тормозные нейроны находятся во всех без исключения частях таламуса, поэтому клетки таламуса получают тормозную иннервацию из двух источников: внешнего (нейроны RTN) и внутреннего (ГАМК-эргические нейроны локальных сетей таламуса).

Экспериментальные данные, представленные в настоящей работе, были получены на крысах линии WAG/Rij. Феномен абсанс-эпилепсии у этой линии животных был описан более 20 лет назад, и электроэнцефалографический коррелят судорожной активности получил название *'spike-wave discharges'* (SWD) или пик-волновые разряды [van Luijtelaaar and Coenen, 1986]. Аналогичный пароксизм у человека называется *'spike-and-wave complex'* или пик-волновой комплекс. Несмотря на разницу в названии, структура пик-волнового разряда у крыс WAG/Rij полностью соответствует пик-волновому комплексу человека. Чтобы доказать это утверждение, в

следующем разделе мы провели анализ формы электрического потенциала SWD у крыс WAG/Rij, зарегистрированный в коре и в таламусе, пользуясь стандартами клинической электроэнцефалографии [INSECN, 1974; Weir, 1965].

2.5. Электроэнцефалографические характеристики пик-волновых разрядов у крыс WAG/Rij в коре и таламусе ⁵

Первые предложения об участии глубоких структур головного мозга в формировании SWD у человека были высказаны в работе Jasper и Kershman (1941). И уже в 1942 Morison и Dempsey обнаружили, что у кошек абсанс-подобные судороги формируются в результате нарушения функций таламуса. Позднее было показано, что пик-волновая активность у человека формируется при непосредственном участии структур среднего и промежуточного мозга [Angeleli et al., 1964; Пенфилд и Джаспер, 1958], а также таламуса [Williams, 1953, обзор Blumenfeld, 2002], хотя некоторые исследователи ставят под сомнение участие таламуса в развитии абсанс-эпилепсии [Niedermeyer, 1996; Holmes et al., 2004].

У грызунов с генетической предрасположенностью к абсанс-эпилепсии характерные для SWD высокоамплитудные ритмические колебания присутствуют во всех ядрах таламуса и отсутствуют в структурах лимбической системы (гиппокамп, миндаля, энторинальная кора) [Vergnes et al., 1987; Inoue et al., 1993; Kandel и Buzsaki, 1997]. В своей работе Meeren и др. (2002) отметили существенные различия формы таламических и корковых потенциалов во время SWD: по их наблюдениям в коре SWD имели классическую форму комплекса стереотипных элементов пика и волны, тогда как в таламусе SWD состояли из последовательности выпуклых волн и имели веретенообразную форму. Авторы не объяснили своё наблюдение, и, к сожалению, исследователи до сих пор придают ему большого значения. Мы предположили, что форма таламического и кортикального потенциала SWD может нести важную информацию об участии отдельных структур таламо-кортикальной системы в формировании генерализованной пик-волновой активности. Мы провели анализ отдельных компонентов, входящих в состав усредненного потенциала SWD в коре и в таламусе, а также исследовали временную зависимость между отдельными компонентами кортикального и таламического потенциалов.

Примерно у 50 % крыс линии WAG/Rij в возрасте старше 6 месяцев помимо характерных для абсанс-эпилепсии генерализованных пик-волновых разрядов (SWD 1-ого типа) наблюдают локальные ритмические разряды в затылочной области, получившие название SWD 2-ого типа [van Luijteleaer и Coenen, 1986; Мидзяновская, 1999; Midzianovskaia et al., 2001; Schridde & van Luijteleaer, 2005]. Эти разряды имеют вид аркообразных волн с преобладанием острого позитивного компонента, их частота составляет 5-7 Гц, а амплитуда ниже, чем у SWD 1-ого типа.

⁵ По материалам публикаций:

1) Sitnikova E, van Luijteleaer G. Electroencephalographic characterization of Spike-Wave Discharges in cortex and thalamus in WAG/Rij rats. *Epilepsia*, 2007; 48 (12), 2296–2311

2) Ситникова Е.Ю., Короновский А.А., Храмов А.Е. Анализ электрической активности головного мозга при абсанс-эпилепсии: прикладные аспекты нелинейной динамики. *Изв. вузов Прикладная нелинейная динамика*. 2011; 19(6): 173-182.

Два типа SWD отличаются по форме и частоте, проявляют разную чувствительность к нейромодуляторам [Midzianovskaia et al., 2001], имеют разный генетический субстрат [Gauguier и др., 2004] и демонстрируют разную динамику в онтогенезе [Schridde & van Luijtelaa, 2005]. Механизмы и природа SWD 2-ого типа до сих пор неизвестны. В настоящем Разделе мы описали форму потенциала у SWD 2-ого типа и сравнили её с формой SWD 1-ого типа.

Известно, что компоненты *пик* и *волна*, входящие в состав SWD обоих типов, распределены по поверхности коры неоднородно. У крыс WAG/Rij, также как и у человека [Lemieux & Blume, 1986; Blume & Lemieux, 1988; Holmes et al., 2004], *пик* имеет максимальную амплитуду в лобной области коры, а *волна* - в затылочной [Мидзяновская, 1999; Meeren et al., 2002; Mackenzie et al., 2004]. В настоящем Разделе представлены результаты анализа формы потенциала SWD 1-ого и 2-ого типов в лобной и затылочной областях коры, а также в таламусе.

Особенности процедуры исследований

Использовали 18 крыс (самцы WAG/Rij в возрасте 11-12 месяцев). У 9-и животных ЭЭГ регистрировали с помощью эпидуральных электродов, размещенных в симметричных областях лобной(моторной), париетальной(соматосенсорной) и затылочной(зрительной) коре, а также в область дорсального гиппокампа. У остальных 9 крыс использовали комбинацию поверхностных и глубоких электродов. Два поверхностных электрода располагались в лобной и затылочной областях, двух глубоких электрода - в таламусе (ретикулярном и вентропостеромедиальном таламических ядрах). После завершения эксперимента был проведен гистоконтроль для уточнения локализации глубоких электродов.

Идентификацию SWD 1-ого и 2-ого типов проводили на ЭЭГ в соответствии с критериями [van Luijtelaa & Coenen, 1986; Мидзяновская, 1999; Midzianovskaia et al., 2001; Sitnikova & van Luijtelaa, 2007]. SWD 1-ого типа были выделены на лобной ЭЭГ в виде регулярной последовательности негативных пиков с частотой 7-10 Гц и длительностью больше 1 сек. Амплитуда SWD была в три и более раз выше, чем в фоне. SWD 1-ого типа имели резко очерченную асимметричную форму и состояли из последовательности чередующихся негативных компонентов: пика и волны. SWD 2-ого типа были выделены на затылочной ЭЭГ, когда ритмическая активность в лобно-теменной области коры либо полностью отсутствовала, либо присутствовала в виде низкоамплитудных нерегулярных колебаний. Разряды 2-ого типа состояли из острых волн положительной полярности, с частотой 6-7 Гц и длительностью более ½ секунды (т.е., последовательности из трёх и более волн).

На ЭЭГ каждого животного были выбраны по 20 эпизодов SWD 1-ого типа в случайном порядке и 10 эпизодов SWD 2-ого. Каждый SWD 1-ого типа был помечен двумя маркерами. Первый был помещен на вершину первого пика в составе SWD на лобной ЭЭГ. Второй маркер был помещен на вершину пика через 2 секунды после начала разряда, помеченного первым маркером. Эпизоды SWD 2-ого типа были помечены одним маркером, располагавшимся на вершине первого острого положительного компонента. Маркеры были аппроксимированы на все каналы ЭЭГ.

Усреднение амплитуды проводили на интервале 1 секунда: ½ секунды до и ½ секунды после маркера. Для статистического усреднения формы потенциала был использован метод «Grand Average» в программном пакете BrainVisionAnalyzer®. Метод позволил получить унифицированную форму SWD в группе животных в каждой конкретной области мозга.

2.5.1. Форма пик-волновых разрядов у крыс WAG/Rij

Форма SWD обоих типов в коре и в таламусе у всех экспериментальных животных была сходной (у пациентов наблюдают значительные индивидуальные различия по форме и локализации SWD). Рис. 2.2 иллюстрирует структуру электрического потенциала разрядов 1-ого и 2-ого типов в коре и таламусе.

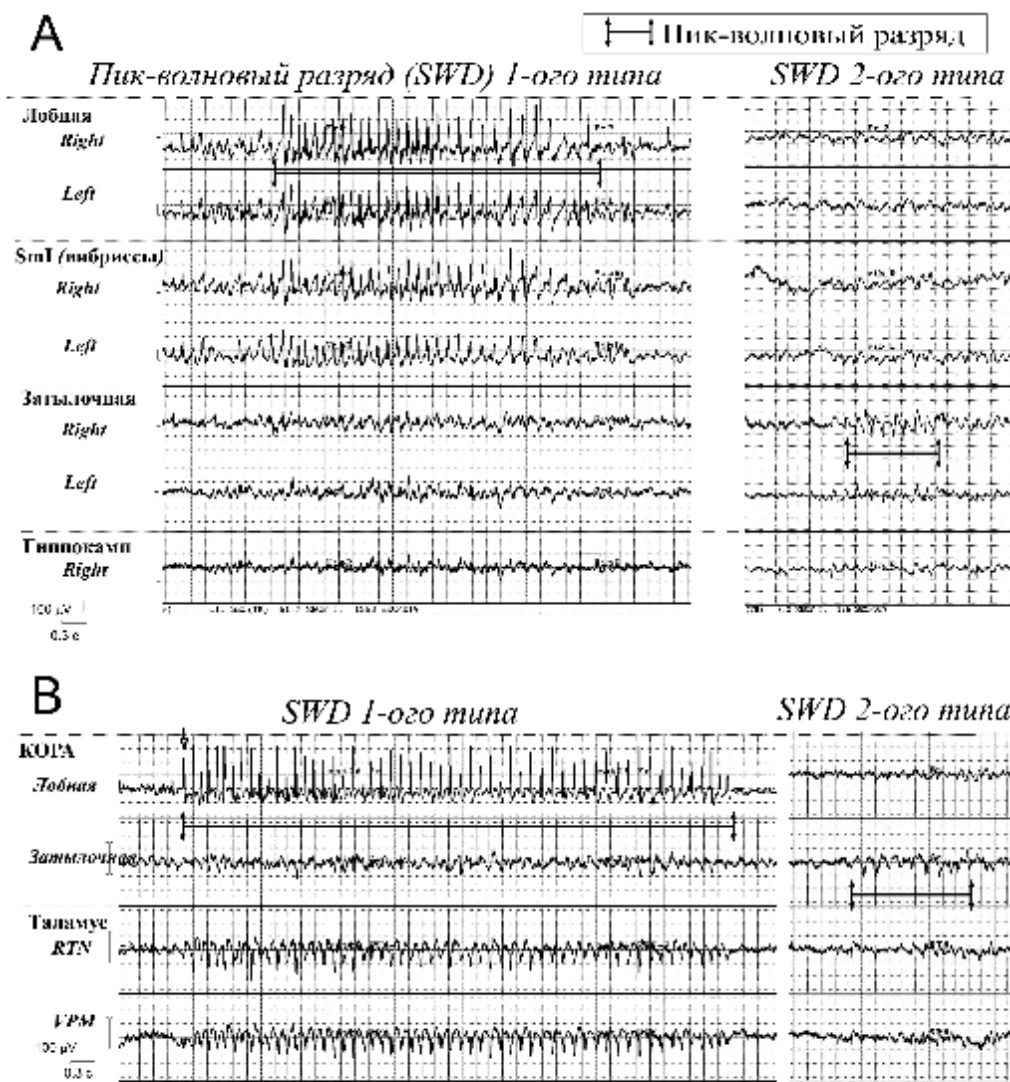


Рисунок 2.2. Пик-волновые разряды (SWD) 1-ого и 2-ого типов, зарегистрированные на ЭЭГ у крыс WAG/Rij. SmI – соматосенсорная область первичной проекционной коры (париетальная зона); RTN – ретикулярное таламическое ядро; VPM – вентропостеромедиальное таламическое ядро (релейное соматосенсорное ядро вентробазального комплекса). Черные стрелки указывают начало и конец SWD. (А) SWD 1-ого типа локализован в лобной коре и SmI, но слабо выражен в затылочной коре. SWD 2-ого типа появляется локально в затылочной коре, отсутствует в лобной, париетальной областях коры и в гиппокампе. (В) Во время SWD 1-ого типа таламические ядра разряжаются синхронно с лобной корой. SWD 2-ого типа не сопровождаются таламической активностью.

SWD 1-ого типа (Рис. 2.2А) были обнаружены во всех исследованных областях коры, хотя в затылочной коре разряды имели нечеткую структуру, а их амплитуда была минимальной. В таламусе SWD 1-ого типа (Рис. 2.2В) были представлены в виде комплекса положительной острой и негативной медленной волн. Таламический SWD 1-ого типа имел противоположную полярность по отношению к кортикальному. SWD 2-ого типа были локализованы в затылочной коре, и слабо проявлялись в лобной и париетальной области коры, а также в дорсальном гиппокампе (Рис. 2.2А). Структура SWD 2-ого и 1-ого типа в затылочной коре была сходной.

Описание структуры SWD у крыс WAG/Rij было проведено в рамках традиционных понятий клинической электроэнцефалографии. У человека выделяют 4 эпилептиформных компонента в составе пик-волнового комплекса (Рис. 2.3А): короткий негативный пик (*Spike 1*) малой амплитуды, положительный компонент (*positive transient*), высокоамплитудный пик (*Spke 2*) медленное негативное колебание куполообразной формы - волна (*wave*) [Weir, 1965]. Помимо этой схемы, в нашей работе была использована терминология IFSECN, базовые понятия и определения представлены в Табл. 2.2.

Компоненты SWD у крыс WAG/Rij были аналогичны компонентам комплекса пика-волна у человека (Табл. 2.3, Рис. 2.3). Существенными были различия продолжительности отдельных компонентов комплекса пик-волна и их распределение в пределах коры.

Таблица 2.2. Основные понятия, используемые в исследовании структуры пик-волновой активности на ЭЭГ. По данным IFSECN [1974] ¹

Пик	Резкий короткий всплеск потенциала. Острый пик хорошо прописывается при стандартной скорости самописца, Длительность пика составляет от 20 до 70 мс и он обычно имеет отрицательную полярность.
Волна	Изменение разности потенциала между парой ЭЭГ электродов.
Комплекс 'пик – медленная волна'	Комплекс, состоящий из пика и последующей медленной волны.
Комплекс 'множественные пики – волна'	Последовательность из двух и более пиков, связанных с одной или более медленными волнами. Анг. ' <i>multiple spike-and-slow-wave complex</i> ' и устаревший синоним ' <i>polyspike-and-slow-wave</i> '.
Комплекс 'множественные пики'	Последовательность из двух и более пиков. Анг. ' <i>multiple spike complex</i> ' и устаревший синоним ' <i>polyspike complex</i> '.
Острая волна	Резкое изменение потенциала, хорошо различимое при стандартной скорости самописца. Длительность волны составляет от 70 до 200 мс
Комплекс	Последовательность двух или больше элементов стереотипной формы или регулярно повторяющихся элементов.
Эпилептиформный паттерн	Пики и острые волны, которые могут сопровождаться медленными волнами. Эпилептиформные элементы могут появляться на ЭЭГ по отдельности или формировать последовательности, длящихся несколько секунд

¹ Chatrian GE (Chairman), Bergamini L, Dondey M, Klass DW, Lennox-Buchthal M, Petersen I (1974) A glossary of terms most commonly used by clinical electroencephalographers. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 37: 538-548.

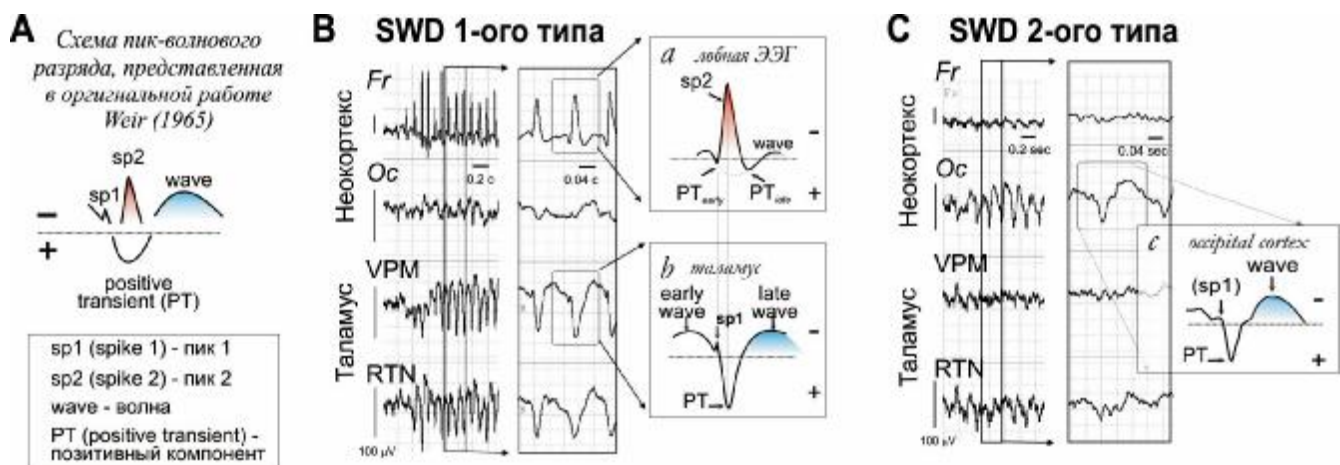


Рисунок 2.3. Усредненная форма пик-волновых разрядов (SWD) на ЭЭГ. (А) Пик-волновый комплекс человека содержит 4 эпилептиформных компонента [Weir, 1965]: Sp1 – ранний негативный ‘Пик 1’, PT – положительный компонент, Sp2 – поздний высокоамплитудный ‘Пик 2’ и негативная ‘Волна’. Эта схема применима к SWD у крыс WAG/Rij. (B-C) SWD 1-ого и 2-ого типов содержат элементы, которые используются в клинической ЭЭГ: Sp1, Sp2, PT и wave. На вставках *a-c* показаны отдельные циклы SWD: *a* - в лобной коре; *b* - таламусе и *c* - SWD 2-ого типа в затылочной коре.
 Сокращения: Fr- лобная кора; Oc - затылочная кора; VPM – вентропостеромедиальное ядро таламуса; RTN – ретикулярное таламическое ядро.

Таблица 2.3. Сравнение общих характеристик электроэнцефалографических компонентов, образующих эпилептический комплекс пик-волна у человека и крыс

	Абсанс-эпилепсия у человека ¹	Крысы WAG/Rij ²	
		SWD 1-ого типа	SWD 2-ого типа
Пик 1 (Sp1)	Трёхфазное колебание малой амплитуды с максимумом в негативной фазе. Появляется в ~44% записей SWD у пациентов Длительность ~ 10 мс.	Низкоамплитудный пик негативной полярности Появляется в затылочной коре и специфическом (вентропостеромедиальном) ядре таламуса. Длительность ~ 25 мс в затылочной коре и ~ 15 мс – в таламусе.	Появляется нерегулярно в затылочной коре
Позитивный компонент (PT)	Часть комплекса, имеющая позитивную полярность. Острый сдвиг потенциала позитивном направлении, прерываемый негативными пиками. Амплитуда варьирует: может быть сопоставима с амплитудой негативной волны или быть 2 раза выше последней. Длительность ~ 100-150 мс.	Разнообразный по форме позитивный компонент. Появляется в коре и в таламусе. В лобной коре перекрывается с компонентом ‘Пик 2’ и состоит из двух фаз: ранней и поздней. В затылочной коре и таламусе устойчив и имеет постоянную форму. Длительность ~ 40 мс в затылочной коре и ~ 20 мс - в таламусе.	Позитивный сдвиг потенциала, имеющий острую форму. Амплитудный максимум в затылочной коре. Длительность 40-60 мс.

Пик 2 (Sp2)	Классический негативный пик, прерываемый позитивным компонентом, с последующей волной. Имеет максимальную амплитуду в передних отделах коры. Амплитуда Sp2 в несколько раз выше, чем у Sp1. Длительность ~ 30-90 мс.	Гигантский негативный пик, преобладающий в лобной и париетальной коре. Амплитуда Sp2 в десятки раз выше, чем у Sp1. Длительность 25-35 мс	Отсутствует
Волна	Поверхностно-негативная волна, предшествующая позитивному отклонению потенциала. Продолжительность ~ 150-200 мс (200-500 мс совокупности с положительным компонентом).	Медленная негативная волна Появляется в коре и таламусе. в лобной коре отличается низкой амплитудой и неустойчивой формой, в таламусе имеет высокую амплитуду и выпуклую форму. Длительность 40-60 мс (примерно одинакова во всех областях).	Имеет максимальную амплитуду в затылочной коре. Длительность 80-100 мс.

1 – данные Weir (1965).

2 - собственные данные [Sitnikova , van Luijtelaaar, 2007]

2.5.2. Компоненты пик-волновых разрядов у крыс WAG/Rij

SWD 1-ого типа

При усреднении потенциалов в группе животных обнаружено, что в лобной и париетальной областях коры каждый цикл SWD 1-ого типа состоял из трёх фаз: раннего положительного компонента (PT_{early}), высокоамплитудного отрицательного 'Пика 2' и поздней положительного компонента PT_{late} (Табл. 2.4), PT_{early} был менее устойчив и часто отсутствовал.

Пик 2 (sp2) в лобной коре отличался чрезвычайно высокой амплитудой и разрывал положительную фазу на два фрагмента - ранний и поздний. Длительность '*Пика 2*' составляла 25-35 мс, что сопоставимо со значениями, обнаруженными у человека: 30-90 мс ([Weir, 1965], Табл. 2.3).

Пик 1 (sp1) был обнаружен в VPM и в затылочной коре (стрелка на Рис. 2.4А), но отсутствовал в лобной коре и в RTN. Усреднение потенциала в группе животных не привело к сглаживанию и исчезновению '*Пика 1*', несмотря на его низкую амплитуду. Следовательно, этот элемент был достаточно устойчивым. Продолжительность '*Пика 1*' составляла приблизительно 15-25 мс (Табл. 2.3), что в два раза больше, чем у человека (10 мс, Weir, 1965).

Волна - медленный отрицательный компонент. Она была обнаружена в составе SWD обоих типов на всех каналах ЭЭГ. Конфигурация волны была стереотипной (Рис. 2.4А), а амплитуда варьировала в широких пределах (Табл. 2.4).

PT был обнаружен в составе SWD во всех исследованных областях мозга, однако конфигурация и амплитуда PT в разных областях существенно различались (Рис. 2.4А, Табл. 2.4). В лобной коре на фоне PT обычно появлялся мощный компонент '*Пик 2*', и делил PT на две части: PT_{early} перед пиком и PT_{late} вслед за пиком. В затылочной коре PT отсутствовал на

протяжении нескольких начальных циклов пик-волновой активности и был обнаружен в составе сформированного разряда, т.е. через 2 сек после его начала (Табл. 2.4). Кроме того, в затылочной коре РТ был короче и острее, чем в лобной. В таламусе *PT* имел высокую амплитуду и благодаря своей острой форме напоминал ‘острую волну’. Длительность *PT* у крыс WAG/Rij составила 20 мс и это ниже, чем у человека (100-150 мс, Weir, 1965, Табл. 2.3).

Несмотря на то, что пик-волновые разряды у крыс WAG/Rij и у больных абсанс-эпилепсией имели принципиально сходный план строения, они характеризовались целым рядом отличий (Табл. 2.3). Различия между структурой SWD у крыс и человека, обнаруженные в нашей работе, могут быть обусловлены видовыми особенностями, а также особенностями процедуры регистрации ЭЭГ. У наших животных мы использовали вживленные электроды с относительно малым сечением и высоким сопротивлением и, по сути, регистрировали локальный потенциал поля, в отличие от накожных электродов, которые традиционно используют для записи ЭЭГ человека.

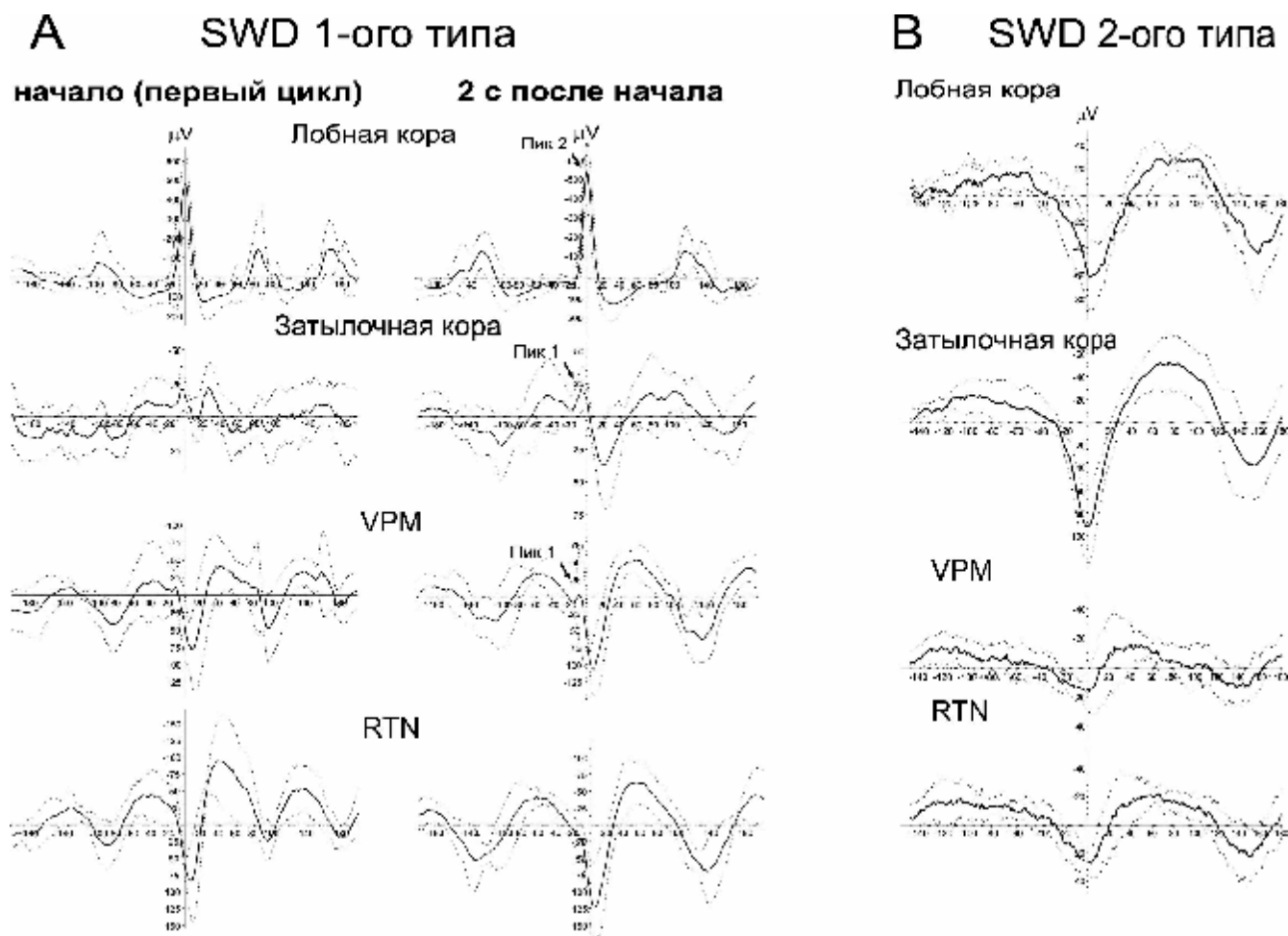


Рисунок 2.4 Усредненный потенциал SWD 1-ого и 2-ого типа в коре и в таламусе (т.н. *grand average*. $\mu\text{V} \pm$ станд.откл.).

Мы обнаружили стереотипную эпилептическую активность на уровне локальных потенциалов поля во время SWD 1-го типа в коре и в таламусе. Это противоречит данным, полученным в прошлом столетии путем интракраниальной регистрации ЭЭГ у больных абсанс-

эпилепсией, которые ставили под сомнение роль таламуса в патогенезе этого заболевания [Angeleri et al., 1964]. В частности, у человека в подкорковых ядрах SWD появлялись нерегулярно и имели нечеткую форму, в отличие от хорошо сформированных SWD, которые были зарегистрированы с помощью поверхностных кожных электродов. По нашим данным, таламус участвует в поддержании SWD 1-го типа, хотя форма таламического потенциала отличается от кортикального. Разницу формы электрического сигнала, зарегистрированного от подкорковых центров головного мозга и от поверхности коры, можно объяснить особенностями пространственной организации нейронных источников и дипольной организацией электрических полей. Нейронные источники электрической активности в толще коры распределены послойно. Большинство нейронов (80% от общего числа нейронов коры) являются пирамидными нейронами, их главная ось - апикальный дендрит - расположена параллельно друг другу и перпендикулярно к поверхности коры, т.е. диполи большинства нейронов коры ориентированы в одном направлении. Благодаря пространственной суммации, формируется мощный электрический потенциал, появляющийся на ЭЭГ в виде высокоамплитудных колебаний. Ядра таламуса (и других подкорковых структур) не обладают столь правильной структурой, отростки нейронов расположены хаотично, их дипольный момент невысок, а при суммации электрические поля отдельных нейронов гасят друг друга, в результате формируется маломощный электрический потенциал. Несмотря на существенную разницу в пространственной организации подкорковых и кортикальных источников электрической активности, нам удалось зарегистрировать устойчивые колебания электрического потенциала в коре и таламусе во время SWD 1-го типа, что свидетельствует о синхронной работе кортикальных и таламических нейронов и об их участии в эпилептической активности.

Таблица 2.4. Параметры амплитуды (среднее \pm SD, μ V) эпилептиформных компонентов SWD 1-ого типа (в терминах Weir, 1965) и время задержки относительно главного компонента Пик 2 (мс, указано в скобках)

Название компонента	Первый (начальный) цикл SWD				2 сек после начала SWD			
	Кора		Таламус		Кора		Таламус	
	Лобная	Затылоч.	RTN	VPM	Лобная	Затылоч.	RTN	VPM
Волна перед пиком			-43 \pm 27 (-48)	-21 \pm 57 (-39)			-41 \pm 14 (-62)	-34 \pm 11 (-61)
Пик 1		-20 \pm 16 * (-5)		-12 \pm 36 (-12)		-21 \pm 17 (-6)		-3 \pm 67 (-10)
Пик 2	-478 \pm 162				-554 \pm 175			
Позитивный компонент	128 \pm 91 (22)		85 \pm 62 (7)	78 \pm 57 (9)	138 \pm 62 (30)	37 \pm 32 (20)	124 \pm 70 (6)	108 \pm 49 (7)
Волна после пика		-21 \pm 20 * (25)	-95 \pm 58 (36)	-41 \pm 40 (40)		-18 \pm 30 (74)	-62 \pm 33 (58)	-53 \pm 21 (59)

* – условная классификация элементов затылочного потенциала

Амплитуда *пика* в течение первых нескольких циклов резко увеличилась, практически не изменялась на протяжении всего разряда, в последних циклах уменьшилась и оказывалась в несколько раз ниже, чем в начале разряда (Рис. 2.4А, Табл. 2.4). Сходную динамику частотно-амплитудных параметров SWD наблюдали Drinkenburg и др. (1993) и Мидзяновская и др. (2001). По нашим данным, амплитуда таламического потенциала постепенно увеличилась во время разряда (Табл. 2.4): положительный компонент (*PT*) таламического SWD 1-го типа увеличился с 85 до 124 μV в RTN и от 78 до 108 μV в VPM.

Высокоамплитудный положительный компонент (*PT*) в обоих ядрах таламуса порождал иллюзию, что таламический потенциал инвертирован по сравнению с потенциалом в лобной коре (в этой области преобладал негативный *Пик 2*). Тем не менее, корковый и таламический потенциалы не совпадали друг с другом ни по фазе, ни по амплитуде, ни по времени. Появлению *Пика 2* в лобной коре предшествовал *Пик 1*, наблюдавшийся в таламусе (VPM) и затылочной коре, устойчиво опережая *Пик 2*. В лобной коре позитивный компонент имел два максимума: первый PT_{early} наблюдался за 20 мс до *Пика 2*, второй - PT_{late} – через 22 мс после *Пика 2*. *PT* в таламусе и затылочной коре появлялись одновременно, и эти позитивные компоненты следовали за *Пиком 2* в лобной коре с задержкой порядка 6-9 мс. Этот промежуток времени может соответствовать синаптической задержке при передаче возбуждения в таламо-кортикальной нейронной сети. Вероятно, что всплеск импульсной активности нейронов лобной коры, соответствующий *Пик* 2, формировал мощную волну возбуждения, поступающую в таламус по системе нисходящих проекций [Deschênes и др. 1998]. Эта волна приводила к резкому положительному сдвигу потенциала (*PT*) в исследованных таламических структурах.

Структура SWD в затылочной коре существенно изменились со временем (Рис. 2.4). Положительная фаза была плохо выражена в начале разряда, и *PT* отсутствовал. Их место занимали две острые негативные волны - первая волна могла быть аналогом *Пика 1*, вторая острая волна следовала с 30 мс задержкой относительно первой. Эти первичные компоненты незрелого комплекса пик-волна в затылочной коре исчезли к середине SWD.

Таким образом, элементы комплекса пик-волна (SWD 1-го типа) следовали друг за другом в определенной последовательности с устойчивой задержкой, которая отражает динамику нейронной активности и распространение пик-волновых разрядов по кортико-таламической системе.

SWD 2-го типа

В затылочной коре SWD 2-ого типа имел вид двухфазного потенциала и состоял из высокоамплитудного острого позитивного компонента (*PT*) и негативной *Волны* (Рис. 2.3С). В некоторых случаях на фоне положительной фазы *PT* появлялся низкоамплитудный *Пик 1*. Амплитуда компонентов *PT* и *Волна* в затылочной коре была значимо выше, чем в лобной коре и в таламусе (Рис.2.4В), что свидетельствует о локальном характере разрядов 2-го типа в затылочной коре.

Различия между SWD 1-го и 2-го типов

В отличие от разрядов 1-го типа, у SWD 2-го типа отсутствовал *Пик 2*. Амплитуда *PT* в затылочной коре у SWD 2-го типа была значительно выше, чем у SWD 1-го типа. Структура разрядов 2-го типа во всех исследованных областях была почти одинаковой. Структура SWD 1-го типа существенно различалась в разных областях коры и таламуса и была представлена разным набором эпилептиформных компонентов (*Пик*, *PT*, *Волна*).

Амплитуда таламического *PT* у SWD 1-го типа была значительно выше, чем у SWD 2-го типа (Рис. 2.4). Участие таламуса в формировании SWD 2-ого типа не очевидно. Остаточное колебание таламического потенциала во время SWD 2-го типа имеет малую амплитуду и может быть следствием пассивной передачи электрического потенциала затылочной коры.

Заключение

Пик-волновые разряды у крыс линии WAG/Rij состоят из последовательности эпилептиформных компонентов, аналогичных компонентам пик-волнового комплекса человека и могут быть описаны в терминах, рекомендованных международной комиссией по клинической энцефалографии [IFSECN, Chatrian et al., 1974]. Пик-волновые разряды (SWD) у крыс WAG/Rij содержат *Пик 1*, позитивный компонент (*PT*), *Пик 2* и *Волна* и имеют следующие особенности:

1) SWD 1-ого типа в лобной коре состоят из последовательности $PT_{early} - \text{Пик } 2 - PT_{late} - \text{Волна}$. В затылочной коре и в таламусе - в виде последовательности $PT - \text{Волна}$.

2) Наиболее мощным компонентом SWD 1-ого типа был *Пик 2*, амплитуда которого в лобной коре была максимальна, в париетальной области характеризовалась средними значениями и была минимальной в затылочной коре. Возможно, что всплеск потенциала в форме *Пика 2* в передних областях коры связан с особенностями архитектуры неокортекса и внутрикортикальных взаимодействий.

3) *Волна* - самый устойчивый компонент SWD, обнаруженный в коре головного мозга и в таламусе. В отличие от *Пика 1* и *2*, *Волна* имела генерализованный характер.

4) Устойчивая задержка 6-9 мс между *Пиком 2* в лобной коре и острым позитивным компонентом в таламусе предлагает нисходящее распространение SWD 1-го типа от передних областей коры к таламусу и последующее вовлечение таламуса в судорожную активность.

SWD 2-ого типа был представлен локально в затылочной коре в виде комплекса острого '*PT*' и '*Волны*' в сопровождении незначительных колебаний потенциала в лобной коре и в таламусе.

Близость энцефалографических характеристик пик-волновых разрядов крыс WAG/Rij и человека служит основанием для использования этой линии в качестве адекватной модели

абсанс-эпилепсии, отдавая приоритет использованию энцефалографических методов анализа в исследовании природы пик-волновой активности. Следующий раздел посвящен патогенетическим аспектам абсанс-эпилепсии у крыс линии WAG/Rij и развивает наиболее современную на настоящий момент теорию кортикального очага (*focal cortical theory* [Meeren et al., 2002; 2005]), согласно которой соматосенсорная кора (SmI) является источником пик-волновой активности.

2.6. Роль соматосенсорной коры в инициации пик-волновых разрядов у крыс WAG/Rij⁶

Ключевая роль соматосенсорной коры (SmI) в патогенезе абсанс-эпилепсии была описана в нескольких работах, выполненных на генетических моделях: крысах WAG/Rij [Meeren et al, 2002; 2005] и GAERS [Manning et al., 2004; Polack et al., 2007; 2009]. Наиболее полно эту роль раскрывает ‘теория кортикального очага’ (Раздел 2.4), которая была сформулирована по результатам математического анализа ЭЭГ у крыс линии WAG/Rij [Meeren et al, 2002]. Теория гласит, что зона периоральных проекций у крыс в SmI (проекция морды и вибрисс) способна инициировать SWD и выполняет функции эпилептического очага⁷. Из эпилептической области в SmI судорожная активность быстро, в течение нескольких миллисекунд, распространяется горизонтально внутри коры и охватывает релейные ядра таламуса, т.е. приобретает генерализованный характер. Результаты математического анализа, служившие базой для построения ‘теория кортикального очага’ [Meeren et al., 2002], требовали подтверждения в эксперименте *in vivo* и это послужило мотивом для выполнения работы, представленной в настоящем Разделе. Мы предположили, что функциональная инактивация эпилептического очага в периоральной области в SmI сократит эпилептическую активность у крыс WAG/Rij. Для локальной инактивации коры был использован лидокаин, который обратимо блокирует Na-каналы нейронов и используется для инактивации нервной ткани в условиях эксперимента [Malpeli & Schiller, 1979; Tehovnik & Sommer, 1997; Martin & Ghez, 1999]. Необходимо оговориться, что наша работа была выполнена в 2002-2004 годах [van Luijtelaar & Sitnikova, 2003; Sitnikova & van Luijtelaar, 2003], когда роль SmI в развитии эпилептической активности была не столь очевидна, как сейчас. Одновременно с нами работу в этом направлении проводила группа ученых из Страсбурга (Франция) на крысах линии GAERS. Изначально ученые предполагали,

⁶ По материалам опубликованных работ:

- 1) van Luijtelaar G, Sitnikova EYu. The focal theory of absence epilepsy. *Epilepsia*. 2003, 44, Suppl 8: 36. 2009
- 2) 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
- 3) 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

⁷ здесь и далее (где не упомянуто специально) речь идет о генерализованных SWD 1-го типа, которые являются электроэнцефалографическим признаком абсанс-эпилепсии.

что таламус играет ведущую роль в развитии SWD, и в 2003 г они опубликовали работу, где продемонстрировали, что локальное введение против-абсансного препарата этосуксимида (Раздел 2.1) в вентробазальный комплекс ядер таламуса и RTN недостаточно для полного прекращения SWD [Richards et al., 2003]. Далее эта группа переключилась на исследование роли неокортекса в патогенезе абсанс-эпилепсии и использовала прежний технический подход - локальное введение этосуксимида в разные области коры [Manning et al., 2004]. Здесь авторы показали, что инъекции этосуксимида в SmI прекращали SWD, тогда как инъекции в моторную кору оказались неэффективными. Наши исследования были выполнены параллельно на крысах линии WAG/Rij, мы использовали другой фармакологический агент, 2% лидокаин, и исследовали не только количественные характеристики SWD, но и качественные (частотно-амплитудные) показатели разрядов.

Особенности процедуры исследований

Использовали 13 самцов крыс WAG/Rij в возрасте 6-9 месяцев. Под общим изофлурановым наркозом проводили вживление ЭЭГ электродов и канюли для микроинъекций (Plastic One: C131G). Канюлю размещали в правом полушарии непосредственно над представителем вибрисс в SmI [AP -2; L + 7]. Для регистрации ЭЭГ использовали 4 активных электрода, которые размещали эпидурально: 1) в непосредственной близости к области инъекции в SmI [AP-1; L + 6] на расстоянии 1.5 ± 0.7 мм от канюли. 2) и 3) - в лобной коре симметрично справа и слева [AP + 2, мм L \pm 3]. 4) - в затылочной коре справа ([AP-6, L + 4], на расстоянии 5.4 ± 0.4 мм от канюли). Электрод заземления и индифферентный электрод располагались симметрично над правым и левым полушариями мозжечка (координаты относительно брегмы).

Для инъекции в область SmI использовали 1 μ l 2%-ого раствора лидокаина гидрохлорида и 1 μ l 0.9 % NaCl в качестве контроля. Интервал между двумя последовательными инъекциями этих веществ составлял 7-10 дней. Объем (1 μ l) и скорость инъекций были достаточно низкими, чтобы не допустить механическое повреждение нервной ткани [Demer & Robinson, 1982]. Регистрацию ЭЭГ осуществляли непрерывно в течение 3 часов: на протяжении 1 часа непосредственно до инъекции (фоновая ЭЭГ) и на протяжении 2 часов после инъекции. Наиболее отчетливый паттерн SWD был выявлен на ЭЭГ в лобной коре.

С целью выявить возможные локальные изменения SWD на ЭЭГ был использован автоматический метод идентификации SWD во всех четырех областях коры независимо с использованием алгоритма © P.L.C van den Broek. Автоматическое распознавание SWD проводили на ЭЭГ в течение 30 минут (с 30 по 60 минуту после инъекции – в этот интервал времени эффект инъекций лидокаина был максимален).

2.6.1. Активность неокортекса на фоне локального введения лидокаина

Предварительно была исследована эффективность использования 2%-ого лидокаина для локальной инактивации коры в использованной экспериментальной ситуации. Ожидаемый эффект должен был проявиться в снижении амплитуды ЭЭГ. Для оценки амплитуды ЭЭГ был проведен расчет общей мощности спектра ЭЭГ. Исследовали спектры мощности четырех каналов ЭЭГ во время пассивного бодрствования (Рис. 2.5) и во время SWD (Рис. 2.6). У 10 из 13 (77%) крыс инъекция лидокаина привела к значимому снижению мощности ЭЭГ по сравнению с контрольной инъекцией (0.9% NaCl). У этих животных инактивация была признана успешной, и их ЭЭГ использовали для статистического анализа. Данные от остальных животных не учитывались.

Наиболее значимое снижение мощности ЭЭГ наблюдали в *SmI* в непосредственной близости к области инъекции лидокаина (график 3 на Рис. 2.5 и 2.6). В этой области наблюдали снижение мощности в диапазоне 8-30 Гц во время SWD и во время пассивного бодрствования. В затылочной коре инъекция лидокаина привела к снижению амплитуды ЭЭГ во время пассивного бодрствования в диапазоне 8-12 Гц (график 4 на Рис. 2.5), а во время SWD в диапазоне 0.5-4 Гц и 12-30 Гц (график 4 на Рис. 2.6).

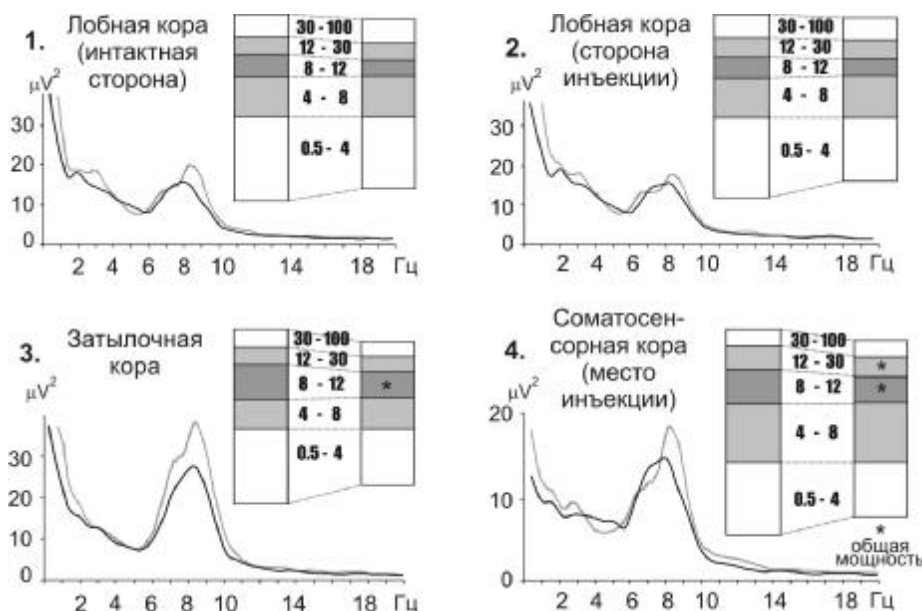


Рисунок 2.5. Спектры мощности ЭЭГ в исследованных областях коры в состоянии пассивного бодрствования. Серая кривая - спектр мощности SWD до введения препарата, черная кривая – под действием лидокаина. Столбики показывают результаты статистического анализа спектральной мощности в стандартных частотных диапазонах (контроль слева, лидокаин справа). Значимые различия обозначены звездочками. Снижение общей спектральной мощности наблюдали в соматосенсорной коре после введения лидокаина [из статьи Sitnikova & van Luijtelaaar, 2004].

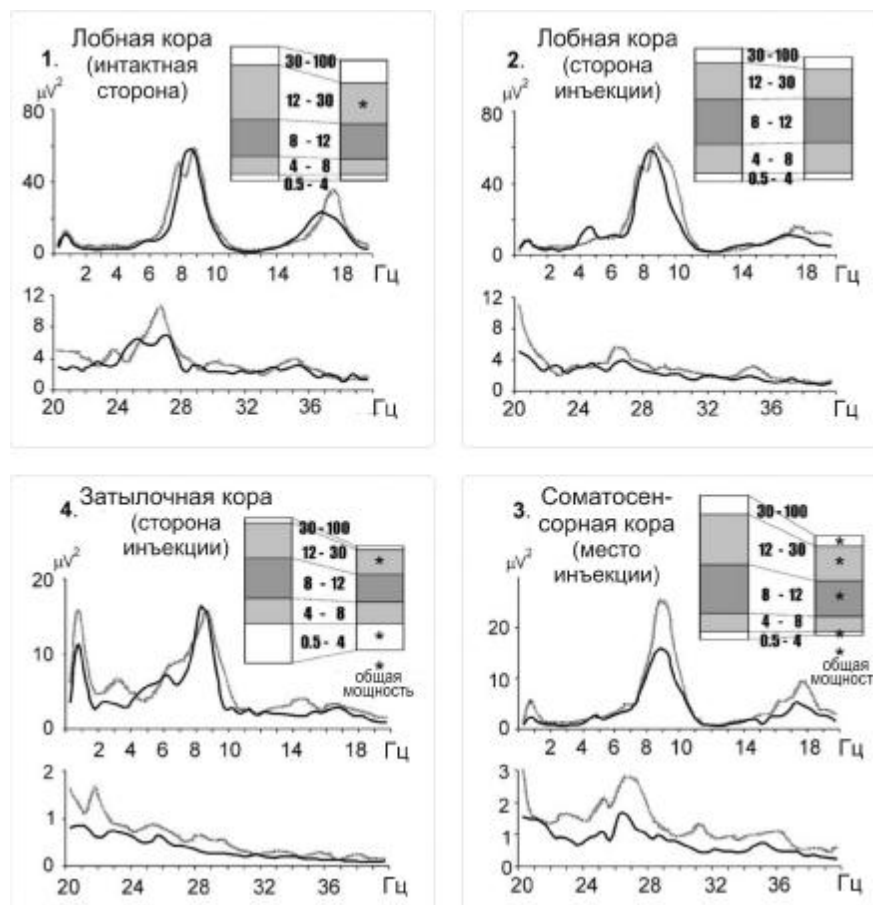


Рисунок 2.6. Спектры мощности ЭЭГ в исследованных областях коры во время SWD. Серая кривая - спектр мощности SWD до введения препарата, черная кривая – под действием лидокаина. Столбиками показана спектральная мощность в стандартных частотных диапазонах (контроль слева, лидокаин справа). Значимые различия обозначены звездочками [из статьи Sitnikova & van Luijteleaer. 2004].

2.6.2. Изменения пик-волновой активности после инактивации *Sml*

Статистический анализ показал, что порядок введения веществ (0.9% *NaCl* и 2% лидокаин) при интервале между инъекциями более 7 дней не оказывал влияния на динамику SWD. Контрольные микроинъекции 0.9% *NaCl* в *Sml* не нарушали структуру SWD: частотно-амплитудные параметры SWD не отличались от таковых на фоновой ЭЭГ. При введении 2%-ого лидокаина наблюдали искажение формы SWD. Комплекс ‘пик-волна’ заменялся последовательностью острых волн (*spiky oscillations*), которые имели негативную полярность и появлялись асинхронно в разных областях коры с максимумом в лобной коре интактного полушария (Рис. 2.7). Комплексы острых волн не удовлетворяли критериям SWD, а система автоматического распознавания SWD не выявляла их на ЭЭГ.

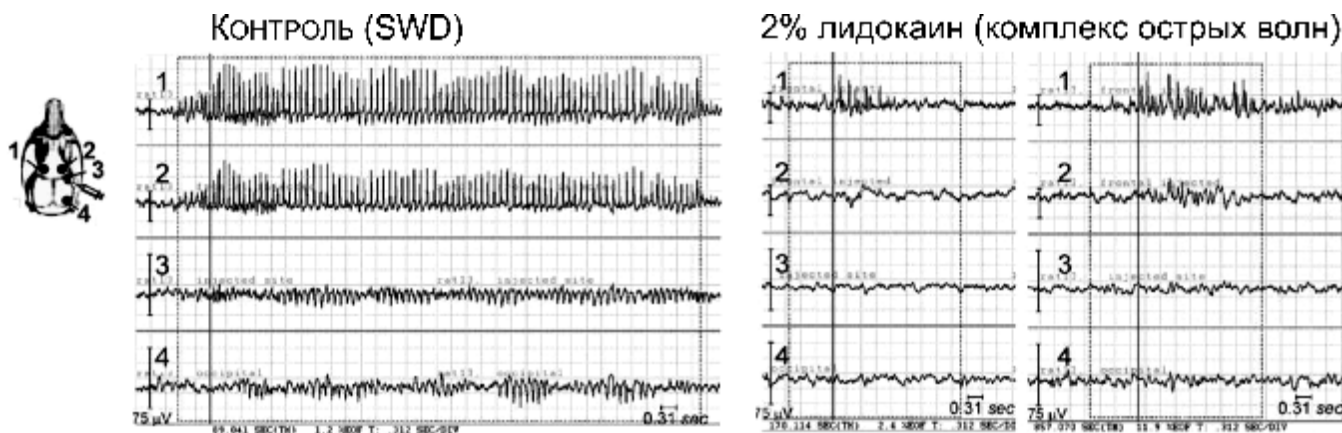


Рисунок 2.7. На ЭЭГ слева показан пик-волновый разряд (SWD) после микроинъекции физраствора в область *SmI*. Структура SWD не нарушена. После введения 2% лидокаина (ЭЭГ справа) наблюдается преобразование SWD в комплексы острых волн, имеющих максимум в лобной области интактного полушария. Обозначения: 1 – лобная кора (интактное левое полушарие), 2 - лобная кора (правое полушарие), 3 – соматосенсорная кора вблизи места инъекции, 4 – затылочная кора правого полушария [иллюстрация из статьи Sitnikova & van Luijtelaa, 2004].

Инъекция лидокаина вызвала снижение спектральной мощности SWD в *SmI* и в затылочной коре, а также изменение спектральных характеристик SWD в лобной коре. Причиной этому могли послужить особенности топографического распределения компонентов SWD - пика и волны. Как известно, пик имеет максимальную амплитуду в передних областях коры, а волна - в задних [Мидзяновская, 1999; Sitnikova & van Luijtelaa, 2007]. Пик, входящий в состав SWD, порождает на спектре мощности дополнительные максимумы на частотах, кратных основной частоте (Разделы 5.2.1, 5.3.1). В нашем случае главный спектральный максимум соответствовал частоте следования пика (~9 Гц) и два дополнительных максимума - частоте кратных гармоник ~18 Гц и ~27 Гц. Снижение мощности высокочастотных компонентов SWD на лобной ЭЭГ под действием лидокаина наблюдалось в интактном полушарии, что, по-видимому, связано с модификацией или подавлением пика в комплексе SWD. Снижение мощности низких частот 0.5-4 Гц во время SWD, обнаруженное в затылочной коре и *SmI*, могло быть связано с подавлением компонента 'медленной волны' в составе SWD в затылочной и париетальной областях.

Инактивация *SmI* с помощью 2% лидокаина вызвала значимое снижение числа SWD по сравнению с действием контрольной инъекцией 0.9% *NaCl* (Рис. 2.8). Продолжительность SWD в фоне в среднем составляла 5.8 ± 2.1 с (\pm станд.откл.) и не изменялась после инъекции 2% лидокаина (5.1 ± 2.2 с), ни после инъекции 0.9% *NaCl* (4.4 ± 1.5 с).

Помимо прямого воздействия (инактивация коры) число SWD могло измениться вследствие нарушения цикла сон-бодрствование в условиях эксперимента. Известно, что количество SWD максимально во время дремоты и неглубокого сна [Drinkenburg et al., 1991; Coenen et al., 1992]. Повышение уровня бодрствования способствует снижению общего числа SWD, поэтому была поведена коррекция числа SWD с учетом длительности эпизодов сна⁸. В результате было обнаружено (Рис 2.8), что снижение числа SWD на фоне лидокаина было значимым. Более того,

⁸ Подробности этой процедуры опубликованы в нашей статье Sitnikova & van Luijtelaa (Brain Res.) 2004.

выявлен временной тренд, связанный с исчезновением разницы между количеством SWD после введения 0.9% NaCl и лидокаина к концу 2-ого часа после инъекций.

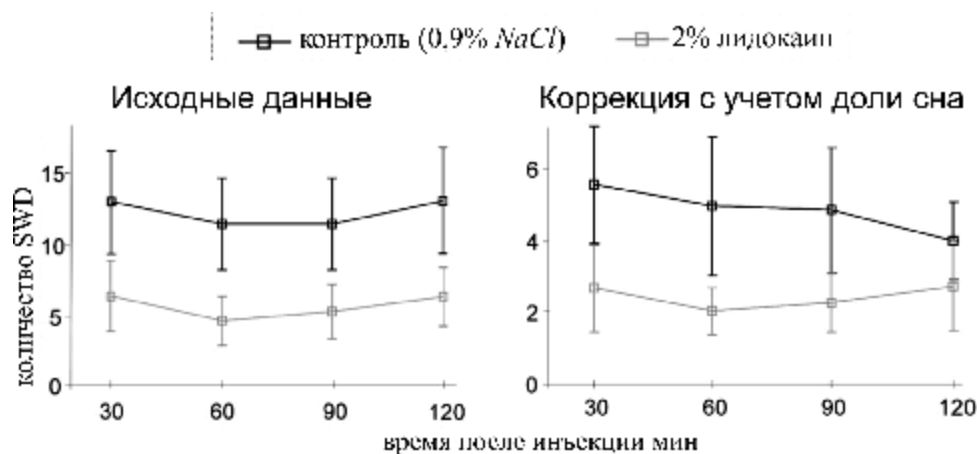


Рисунок 2.8. Динамика числа пик-волновых разрядов (SWD) после инактивации соматосенсорной коры с помощью 2% лидокаина в сравнении с контрольной инъекцией. Показано среднее \pm стандартное отклонение [из статьи Sitnikova & van Luijtelaar, 2004].

С целью оценить насколько генерализованным было снижение числа SWD, мы провели автоматическую идентификацию SWD независимо на четырех каналах ЭЭГ. Разница между SWD, идентифицированными у одного животного в разных областях коры, была минимальной. Таким образом, односторонняя микроинъекция лидокаина, вызвавшая локальное снижение мощности ЭЭГ вблизи места инъекции в SmI, подавляла генерализованную пик-волновую активность (SWD) во всех исследованных областях коры.

В нашей серии экспериментов была использована односторонняя инактивация коры, и область предполагаемого эпилептического очага в симметричном полушарии оставалась интактной. Вероятно поэтому подавление SWD было неполным. Позднее Gurbanova и соавторы (2006) продемонстрировали, что двухсторонняя фармакологическая блокада эпилептического очага в SmI приводила к полному исчезновению SWD. Авторы модифицировали наш метод и использовали двусторонние микроинъекции противоэпилептических препаратов в симметричные области SmI. Они обнаружили, что локальное двустороннее введение анти-абсансного препарата этосуксимида и противосудорожного препарата фенитоина (дифенилгидантоин) приводит к полному исчезновению пик-волновой активности у крыс обеих линий - WAG/Rij и GAERS.

Таким образом, мы показали, что соматосенсорная кора играет важную роль в формировании и распространении (генерализации) пик-волновой активности у крыс WAG/Rij [van Luijtelaar & Sitnikova, 2003; Sitnikova & van Luijtelaar, 2004; 2004a]. Более тщательные исследования в этом направлении [Manning et al., 2004; Gurbanova et al., 2006] предоставили доказательства того, что SmI инициирует SWD. В следующем разделе речь пойдет о видовых особенностях соматосенсорной коры у крыс, которые могут причиной формирования эпилептических разрядов.

2.6.3. Предпосылки для формирования эпилептических разрядов в соматосенсорной коре у грызунов⁹

Проекционная область вибрисс в SmI у крыс обладает рядом свойств, которые могут способствовать формированию пик-волновых разрядов в этой области. Одними из первых, кто обратил внимание на участие SmI в патогенезе абсанс-эпилепсии, была группа немецких ученых, работавшая на крысах линии GAERS (генетическая модель абсанс-эпилепсии, родственная WAG/Rij, Раздел 2.4.2) [Seidenbecher et al., 1998]. Авторы показали, что нейроны соматосенсорной коры начинают генерировать пачки импульсов с характерной для SWD частотой 7-9 Гц за несколько секунд до появления генерализованного пик-волнового разряда на ЭЭГ. Этот короткий период времени перед эпилептическим разрядом характеризуется появлением в SmI и связанных с нею областях таламуса предвестников эпилептических разрядов в виде незрелых ('*embryonic*') SWD [Seidenbecher et al., 1998].

Позднее Meegen и соавторы (2002) исследовали пространственно-временные свойства SWD у крыс WAG/Rij на основе данных, полученных путём многоканальной регистрации локальных электрических потенциалов в лобно-височной области коры (включая SmI) и в таламусе. Авторы провели нелинейный анализ силы взаимосвязей и времени задержки между каналами и обнаружили, что во время SWD сила внутрикортикальных связей уменьшалась по мере увеличения расстояния между электродами. Но у каждой из 8 крыс были обнаружены от 1 до 3 локусов в коре, активность которых следовала с опережением относительно других электродов. Это "ведущая" зона эпилептической активности у всех крыс располагалась в вентро-латеральной части соматосенсорной коры и отвечала за чувствительность периоральной области (нос, верхняя губа, вибриссы). Результаты нелинейного анализа таламо-кортикальных связей показали, что таламус был ведомой структурой в течение первых 500 мс после начала SWD (опережала кору), позднее и кора, и таламус могли быть ведущими и ведомыми попеременно. Итак, SWD имели локальное происхождение, и местом их инициации был эпилептический фокус в области периоральных проекций в SmI. Через 500 мс после начала разряда функции эпилептического фокуса в SmI, как источника эпилептической активности, постепенно угасали, и лидирующую роль в процессе поддержания пик-волнового разряда выполняли и кора, и таламус.

Собственные исследования, представленные в настоящем разделе, были инициированы вышеупомянутой работой Meegen и соавторов (2002). Цель нашей работы состояла в расширении представлений о роли SmI в развитии абсанс-эпилепсии. Мы предположили, что субстратом для формирования эпилептической активности в области проекционного представительства вибрисс

⁹ По материалам, опубликованным в работах:

- 1) van Luijtelaar G, Sitnikova E, Littjohann A. On the origin and suddenness of absences in genetic absence models. Clin EEG Neurosci. 2011; 42(2): 83-97.
- 2) 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
- 3) Sitnikova E. The role of somatosensory cortex in absence epilepsy (studies in genetic rat model). Brain Research Journal. 2009; 2(4): 281-296.

у грызунов может служить физиологический ‘соматосенсорный ритм’ [Sitnikova & van Luijtelaaar, 2004; van Luijtelaaar & Sitnikova, 2006]. Эта форма активности является аналогом мюритма на ЭЭГ человека, и у крыс она проявляется в виде периодических вспышек нейронной активности с частотой 7-12 Гц, который координирует ритм механических движений вибрисс [Nicoletlis et al., 1995]. ‘Соматосенсорный ритм’ формируется локально в SmI примерно за 500 мс до начала движения вибрисс и распространяется в пределах таламо-кортикальной системы. Он обеспечивает синхронизацию сенсорной и моторной функций вибротактильного анализатора. Таким образом, этот ритм инициирует и координирует колебательные движения вибрисс, с помощью которых крысы получают тактильную информацию об окружающем пространстве при реализации исследовательского поведения (т.н. *whisking* - ощупывание близлежащих объектов посредством вибрисс, подробнее - Раздел 1.2) [Ahissar et al., 1997, Nicoletlis et al., 1995; Kleinfeld et al., 2006]. Известно, что инактивация области вибрисс в SmI посредством локального введения мусцимола (ГАВАа-агонист) подавляет ‘соматосенсорный ритм’, при этом исчезает пачечная активность нейронов коры и вентропостеромедиального таламического ядра [Nicoletlis & Fanselow, 2002].

‘Соматосенсорный ритм’ и SWD обладают целым рядом общих признаков, которые могут свидетельствовать об общности их механизмов:

- 1) Частота 7-12 Гц.
- 2) Общий источник в перiorальной области в SmI [Meeren et al., 2002; Nicoletlis et al., 1995].
- 3) Сходная динамика распространения: будучи инициированной в соматосенсорной коре, ритмическая активность распространяется по всей коре в пределах нескольких миллисекунд, охватывает таламус и другие подкорковые структуры [Meeren et al., 2002; Nicoletlis et al., 1995].
- 4) Общие таламо-кортикальные нейросетевые механизмы [Inoue et al., 1993; Nicoletlis et al., 1995; Vergnes et al., 1987; Seidenbecher et al., 1998].

Важно отметить, что сам по себе ‘соматосенсорный ритм’ не может стать причиной развития эпилептических разрядов у крыс, не склонных к эпилепсии. Эпилептическая трансформация ‘соматосенсорного ритма’ может быть следствием гипервозбудимости SmI (в силу генетической предрасположенности). Причинами эпилептической трансформации этого ритма может быть комплекс нарушений рецепторного аппарата нейронов, мембранной проводимости (структура ионных каналов), структуры и чувствительности рецепторов к нейромедиаторам и нейромодуляторам [Wiest & Nicoletlis, 2003; Coenen & van Luijtelaaar, 2003]. Этому могут способствовать повышенная возбудимость SmI у крыс с генетической предрасположенностью к абсанс-эпилепсии [Strauss et al., 2004; D'Antuono et al., 2006], а также дефицит внутрикортикального торможения [Luhmann et al., 1995].

Что касается механизмов гипервозбудимости SmI, то мембранные и клеточные процессы, лежащие в основе этого явления исследованы довольно подробно. По данным группы ученых из Йельского университета (США), предпосылкой для формирования гипервозбудимости SmI у

крыс WAG/Rij может быть повышенная экспрессия потенциал-зависимых натриевых каналов (Nav). Показано, что экспрессия генов Nav_{1.1} и Nav_{1.6} в передних областях коры у крыс WAG/Rij значимо выше, чем у крыс Wistar [Klein et al., 2004]. Эти натриевые каналы связаны с проведением постоянного тока (I_{NaP}), который, как полагают, необходим для формирования пачечной активности нейронов. Повышенная экспрессия Nav_{1.1} и Nav_{1.6} может активировать пачечные разряды нейронов, что может провоцировать инициацию SWD в области эпилептического очага и у крыс WAG/Rij [Klein et al., 2004]. Известно также, что локальная инактивация Na⁺ каналов путем внутрикорткальной инъекции блокатора Na⁺ каналов фенитоина (*phenytoin*) в SmI приводила к полному прекращению SWD, системном введении фенитоина эффект был противоположным - число SWD увеличивалось [Gurbanova et al., 2006].

Гипервозбудимость нейронов SmI у крыс WAG/Rij может быть опосредована AMPA-рецепторами. Известно, что микроинъекции не-конкурентных антагонистов AMPA-рецепторов CFM-2 и THIQ-10с в область SmI снижали число и длительность SWD, и этот эффект зависел от дозы [Citraro et al., 2006]. Инъекция этих веществ в вентропостеромедиальное и вентропостеролатеральное ядра таламуса (VPM и VPL), а также в ретикулярное таламическое ядро (RTN) не оказывали влияния на SWD. Аналогичные результаты были получены на крысах линии GAERS путем микроинъекций анти-абсансного препарата этосукцимида (Раздел 2.1). Действие этосукцимида, как известно, связано с блокадой Ca²⁺ каналов Т-типа, и максимальный противоабсансный эффект этого препарата наблюдали при локальной инфузии в область SmI [Manning et al., 2004], введение этосукцимида в RTN и вентробазальные ядра таламуса эффект был менее значимым или отсутствовал [Richards et al., 2003; Manning et al., 2004].

Свойства ионотропных рецепторов к глутамату (NMDA и AMPA) у крыс, склонных к абсанс-эпилепсии, отличаются от нормальных [van de Bovenkamp-Janssen et al., 2006]. С использованием метода иммунной окраски NR1-субъединиц NMDA-рецепторов и GluR4-субъединиц AMPA-рецепторов в периоральной области SmI у крыс WAG/Rij было обнаружено, что плотность окрашенных комплексов NMDA-NR1 у крыс WAG/Rij (-14,7%) была ниже по сравнению с контролем (крыс линии ACI без признаков эпилепсии), также как и плотность комплексов AMPA-GluR4 (-8,7%). Поскольку известно, что в SmI субъединицы AMPA-GluR4 сконцентрированы на не-пирамидальных ГАМК-ергических нейронах, снижение плотности AMPA-рецепторов на этих клетках может снизить эффективность торможения. Таким образом, низкий уровень экспрессии AMPA-рецепторов у ГАМК-ергических нейронов может быть причиной функциональных нарушений, связанных с дефицитом торможения. Это создает угрозу для развития состояния гипервозбудимости, что благоприятно для формирования эпилептического очага в данной области коры.

Известно об общем дефиците торможения в передних областях неокортекса у крыс WAG/Rij [Luhmann et al., 1995]. Специфическими для соматосенсорной коре были изменения экспрессии ГАМКб-рецепторов. Так, уровень мРНК, обеспечивающей синтез большинства субъединиц ГАМКб-рецепторов у крыс WAG/Rij был ниже, чем у крыс контрольной линии

[Merlo et al., 2007]. Таким образом, появление эпилептического очага в SmI у крыс WAG/Rij обусловлено широким спектром нарушений механизмов возбудимости.

Заключение

Настоящий раздел демонстрирует, что соматосенсорная кора играет важную роль в формировании генерализованных пик-волновых разрядов (SWD) у крыс WAG/Rij. Этот факт был установлен в эксперименте, где для инактивации SmI была использована однократная микроинъекция 2% лидокаина, что вызвало локальное снижение мощности ЭЭГ вблизи места введения препарата. Контрольные микроинъекции физраствора в эту область не изменяли количественные и качественные параметры SWD (длительность разрядов и их частотно-временную структуру).

На фоне инактивации SmI наблюдали следующие изменения:

1) Снижение числа SWD в лобной, париетальной и затылочной областях коры, эффект продолжался около 1.5 часов, что соответствует времени действия лидокаина.

2) Видоизменение спектра мощности SWD: снижение мощности высокочастотных гармоник в лобной коре, что, по-видимому, связано с подавлением компонента 'пика' в составе SWD, а снижение низкочастотных компонентов в затылочной коре - с подавлением компонента 'волна' в составе SWD.

Резюмируя вышесказанное, можно сделать вывод о том, что у крыс, склонных к абсанс-эпилепсии, соматосенсорная кора содержит очаг эпилептической активности, формирование которого, как известно из литературы, обусловлено гипервозбудимостью нейронов. В основе гипервозбудимости лежат сложные функциональные изменения рецепторного аппарата нервных клеток (AMPA-, NMDA-, ГАМКб-рецепторы) и ионных каналов (Na^+ и Ca^{2+} проводимость). Эти комплексные изменения затрагивали свойства мембран отдельных нервных клеток SmI, возможны также изменения и на более масштабном уровне клеточных популяций, объединяющих нейроны и глию. Цитоструктурные особенности неокортекса у крыс, предрасположенных к абсанс-эпилепсии, является предметом для изучения в следующем разделе.

2.7. Нарушения цитоструктуры неокортекса при абсанс-эпилепсии¹⁰

Общепризнанно, что патогенез абсанс-эпилепсии у человека связан с функциональными изменениями таламо-кортикальной системы, главным образом, неокортекса [Neidermeyer, 1995;

¹⁰ По материалам опубликованных работ:

1) Куликова СН, Ситникова ЕЮ, Раевский ВВ. Цитоморфологические особенности коры головного мозга крыс с наследственной предрасположенностью к абсанс-эпилепсии. Журн. высш. нервн. деят., 2009; 59(4): 506-512

2) 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

3) 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

Moeller et al., 2010; Leresche et al., 2012]. Нерешенным остается вопрос о "функциональности" этих нарушений и о возможных микроструктурных изменениях неокортекса. У пациентов, страдающих абсанс-эпилепсией, гистологический *post mortem* анализ головного мозга практически невозможен, поскольку обычно болезнь дебютирует в детском возрасте, хорошо поддается лечению и, при неблагоприятном исходе, осложняется другими формами эпилептических расстройств. Пожалуй, единственная гистологическая работа, посвященная микроструктурному анализу коры головного мозга у больных абсанс-эпилепсией [Meencke & Janz, 1984], продемонстрировала наличие очагов структурного недоразвития (*foci of cortical microdysgenesis*) в лобной доле у 12 пациентов. Несмотря на некоторую дискуссионность представленных данных, работа в целом указывает на то, что абсанс-эпилепсия может иметь морфологический субстрат и не является сугубо функциональным заболеванием. У крыс WAG/Rij с врожденной склонностью к абсанс-эпилепсии были обнаружены изменения морфометрических параметров пирамидных нейронов в поверхностных слоях неокортекса [Kargova et al., 2005]. Таким образом, развитие абсанс-эпилепсии может быть связано не только с функциональными, но и с микроструктурными изменениями неокортекса, что противоречит общепринятой концепции об отсутствии органических изменений головного мозга при данном заболевании [Panayiotopoulos, 2005]. Цель настоящего Раздела - выявить возможные нарушения цитоструктуры неокортекса у крыс с генетической предрасположенностью к абсанс-эпилепсии (линия WAG/Rij). В качестве контроля были использованы крысы линии ACI (August Copenhagen Irish, agouti) без признаков эпилепсии [Inoue et al., 1990].

На настоящем этапе мы провели сравнительное исследование плотности нервных и глиальных клеток неокортекса. Тот факт, что глиальные клетки создают условия для нормального функционирования нейронов, даёт основания предполагать, что при развитии абсанс-эпилепсии патологический процесс может затронуть популяцию глиальных клеток. Был исследован клеточный состав соматосенсорной, моторной и цингулярной областей коры. Выбор этих областей продиктован их ролью в развитии патологического процесса. Известно, что у крыс WAG/Rij соматосенсорная кора участвует в инициации эпизодов абсанс-эпилепсии [Meeren et al., 2002; Sitnikova & van Luijtelaaar, 2004], моторная кора вовлечена в процесс усиления и распространения эпилептических разрядов [Sitnikova & van Luijtelaaar, 2006; van Luijtelaaar & Sitnikova, 2006]. В цингулярной коре пароксизмальной активность отсутствует [Coenen & van Luijtelaaar, 2003; Vergnes et al., 1987], поэтому было высказано предположение, что микроструктурные изменения в этой области окажутся минимальными.

Особенности процедуры исследований

Работа была выполнена на 10 самцах крыс в возрасте 6 месяцев (5 крыс линии WAG/Rij и 5 ACI). Животным вводили летальную дозу нембуталового наркоза (пентобарбитал натрия, 10

мг/100 г), перфузировали и извлекали головной мозг. На замораживающем криостате были изготовлены микросрезы головного мозга толщиной 20 мкм, после чего проведена их окраска крезил-виолетом по стандартному методу Ниссля.

Исследовали клеточный состав соматосенсорной (*SmI* проекция вибрисс, *SIBF*), моторной (*MI*) и цингулярной (*Cg1*, *Cg2*) областей коры (Рис. 2.9). Для определения границ областей был использован атлас мозга крыс [Paxinos & Watson, 1986]. Границы слоёв определяли визуально, ориентируясь на примерную глубину и форму клеток, заполняющих слои (Рис. 2.9В). На каждой микрофотографии выбирали по два участка площадью около 0.01 мм² (100x100 мкм) на глубине слоёв *II/III*, *V* и *VI*. Всего было обработано 414 участка с 207 микрофотографий (объем экспериментального материала представлен в таблице). Исследовали плотность нейронов и глиии (число клеточных элементов на единицу площади) и нейроглиальный индекс (соотношение числа глиии к числу нейронов). Для дифференцировки нейронов и глиии использовали следующие критерии (Рис. 2.9С):

1) Наличие окрашенного ядрышка в ядре - беспорным признак нейрона. У глиальных клеток ядрышко отсутствовало. В тех случаях, когда ядрышка не было видно (находилось не в фокусе или не попадало в плоскость среза), использовали другие критерии.

2) Форма и окраска ядра. Глиальные клетки имели округлые, овальные или вытянутые сигаровидные ядра. Интенсивность окраски ядер глиии значительно выше, чем у нейронов.

3) Интенсивность окраски цитоплазмы. Цитоплазма глиальных клеток была практически лишена окраски (иногда оставалась следовая окраска в виде «ободка цитоплазмы»). Нейроны, напротив, имели ярко окрашенную цитоплазму.

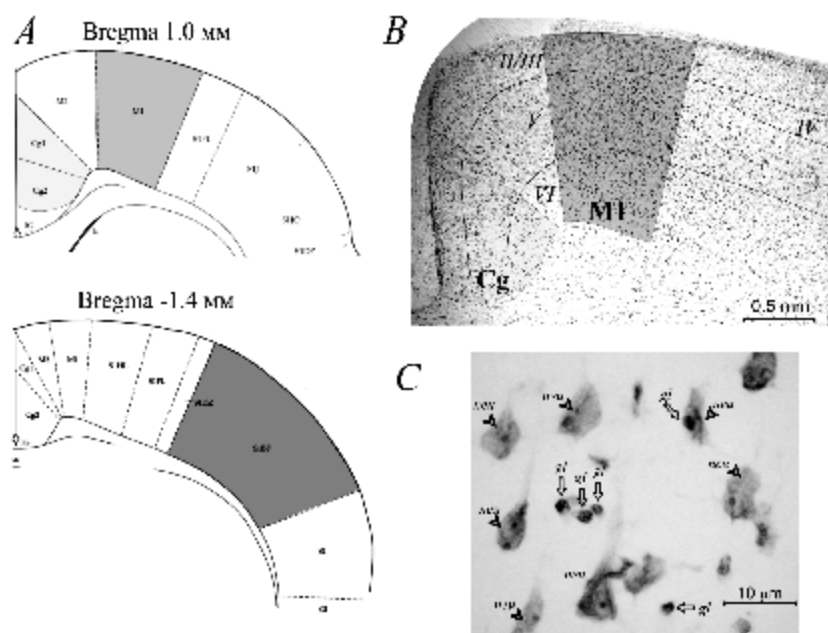


Рисунок 2.9. Детали микроструктурного анализа коры. **А** – локализация исследуемых областей коры на срезах мозга (выделены серым) в соответствии с атласом мозга крысы [Paxinos & Watson, 1986]. **В** - микрофотография среза мозга крысы линии АС1 на малом увеличении (ув. x200), где показаны границы слоёв неокортекса. **С** – микрофотография того же среза мозга в моторной области коры на глубине *V* слоя (ув. x4000), где обозначены нейроны (*neu*) и глиальные клетки (*gl*).

Подсчитывали число клеток, сома которых не выходила за пределы анализируемого окна. Статистическую обработку материала проводили путем дисперсионного анализа (трёх-факторный ANOVA).

2.7.1. Популяция нейронов

У крыс без наследственной предрасположенности к эпилепсии (ACI) плотность нейронов в слое II/III была выше, чем в слоях V и VI. Показатели плотности нейронов у крыс WAG/Rij в слоях II/III моторной области коры были ниже по сравнению с крысами ACI (Табл. 2.5). В цингулярной и соматосенсорной областях коры различия между двумя линиями крыс отсутствовали.

Уменьшение плотности нейронов у крыс WAG/Rij (в сравнении с крысами ACI) было зафиксировано только в моторной коре и только в слоях II/III. Именно в данной области коры амплитуда эпилептических разрядов пик-волна максимальна по сравнению с другими областями коры [Мидзяновская, 1999; Midzianovskaia et al., 2001] и, утрата нейронов может быть причиной или следствием чрезмерно высокой электрической активности во время эпилептических разрядов [Holmes, 2002].

Таблица 2.5. Плотность нейронов в исследованных областях неокортекса на площади 10^{-2} мм² (среднее \pm станд.откл) у крыс двух линий.

	Нейроны		Глиальные клетки		Нейро-глиальный индекс	
	ACI	WAG/Rij	ACI	WAG/Rij	ACI	WAG/Rij
Соматосенсорная кора (SmI)						
II/III	27.5 \pm 3.0	28.4 \pm 5.2	7.6 \pm 1.7	6.5 \pm 2.6	0.28 \pm 0.07	0.23 \pm 0.10
V	15.2 \pm 3.2	13.7 \pm 1.5	11.2 \pm 2.1	6.3 \pm 2.8 *	0.77 \pm 0.23	0.47 \pm 0.22 *
VI	22.3 \pm 4.5	25.3 \pm 4.0	8.1 \pm 2.2	5.5 \pm 2.8 *	0.38 \pm 0.14	0.24 \pm 0.10 *
Среднее	21.7 \pm 6.2	22.5 \pm 7.4	9.0 \pm 2.6	6.1 \pm 2.6	0.48 \pm 0.26	0.31 \pm 0.19
Моторная кора						
II/III	35.0 \pm 4.5	21.9 \pm 2.2 *	8.3 \pm 2.0	11.6 \pm 2.8 *	0.24 \pm 0.07	0.53 \pm 0.14 *
V	16.3 \pm 3.7	17.0 \pm 3.2	7.4 \pm 1.6	7.2 \pm 2.4	0.47 \pm 0.12	0.42 \pm 0.18
VI	23.6 \pm 3.7	22.2 \pm 4.1	7.4 \pm 1.7	7.0 \pm 2.2	0.32 \pm 0.10	0.33 \pm 0.13
Среднее	25.0 \pm 8.7	20.6 \pm 3.7	7.7 \pm 1.8	8.6 \pm 3.3	0.35 \pm 0.14	0.43 \pm 0.17
Цингулярная кора						
II/III	32.5 \pm 5.1	34.7 \pm 6.5	9.03 \pm 1.6	8.7 \pm 2.0	0.28 \pm 0.07	0.26 \pm 0.08
V	16.9 \pm 3.2	17.6 \pm 2.7	11.2 \pm 2.6	7.9 \pm 2.4 *	0.68 \pm 0.20	0.46 \pm 0.15 *
VI	24.6 \pm 3.6	23.4 \pm 2.8	9.6 \pm 2.1	6.9 \pm 1.7 *	0.40 \pm 0.10	0.29 \pm 0.07 *
Среднее	24.7 \pm 7.5	25.2 \pm 8.4	10.1 \pm 2.9	7.8 \pm 2.2	0.45 \pm 0.22	0.34 \pm 0.13

* - статистически значимые различия между значениями у крыс WAG/Rij и ACI ($p < 0.05$, post-hoc анализ для ANOVA).

Уменьшение плотности нервных клеток вполне закономерно обуславливает заместительное увеличение количества глиальных клеток, что может являться компенсаторным механизмом для более адекватного энергетического обеспечения нейронов. Важно отметить, что в остальных областях плотность клеток в слое II/III у крыс WAG/Rij не отличалась от таковой у крыс ACI. Известно, что нейроны слоя II/III формируют широкую сеть ассоциативных контактов с другими областями коры. В связи с этим меньшая плотность нейронов в слое II/III моторной коры, при неизменном количестве нейронов в других областях, создаёт условия для более выраженной пространственной суммации импульсов, что может способствовать гипервозбудимости коры и, как следствие, эпилептической активности. Впрочем, можно допустить, что первичное усиление электрической активности является причиной гибели нейронов [Rothman, 1983].

2.7.2. Популяция глиальных клеток и нейро-глиальные соотношения

У крыс контрольной линии ACI плотность глии в слое V была выше, чем в слое II/III. У крыс WAG/Rij показатель плотности глии был значимо ниже, чем у крыс ACI ($F_{1;246}=19.5$; $p<0.001$), что можно было проследить в SmI и цингулярной коре в слоях V и VI (*post-hoc*, $p<0.05$; Табл. 2.5). В моторной коре, наоборот, плотность глии в слое II/III у крыс линии WAG/Rij, была выше, чем в контроле ($p<0.05$).

Для исследования численного соотношения глии и нейронов использовали нейро-глиальный индекс, который показывал число клеток глии в пересчете на один нейрон. У крыс контрольной линии ACI нейро-глиальный индекс в разных областях коры значимо различался [$F_{2;99} = 5.8$, $p<0.05$]. В цингулярной области значения индекса (т.е., относительное число клеток глии) был выше, чем в моторной и соматосенсорной областях ($p<0.05$). Значения нейро-глиального индекса у крыс двух линий значимо различались ($F_{1;234} = 10.3$; $p<0.001$): у крыс WAG/Rij в моторной области (слой II/III) этот индекс был выше, а в цингулярной и соматосенсорной областях (слои V и VI) - ниже, чем в контроле (во всех случаях $p<0.001$, Табл. 2.5).

2.7.3. Цитоструктура неокортекса при абсанс-эпилепсии: возможные причины и следствия

Абсанс-эпилепсия у крыс WAG/Rij не связана со значительными изменениями числа нейронов неокортекса. Низкая плотность нейронов у крыс WAG/Rij была обнаружена только в моторной коре и только в слое II/III. Ранее Karova et al. (2005) именно в этой области (поверхностные слои моторной коры) выявили изменения геометрии пирамидных нейронов у крыс WAG/Rij по сравнению с крысами ACI. Авторы использовали метод импрегнации серебром по Гольджи и описали следующие аномалии пирамидных нейронов у крыс WAG/Rij (Рис. 2.10):

раздвоение основного ствола апикальных дендритов и его наклонная ориентация, повышенная разветвленность апикального дендрита.

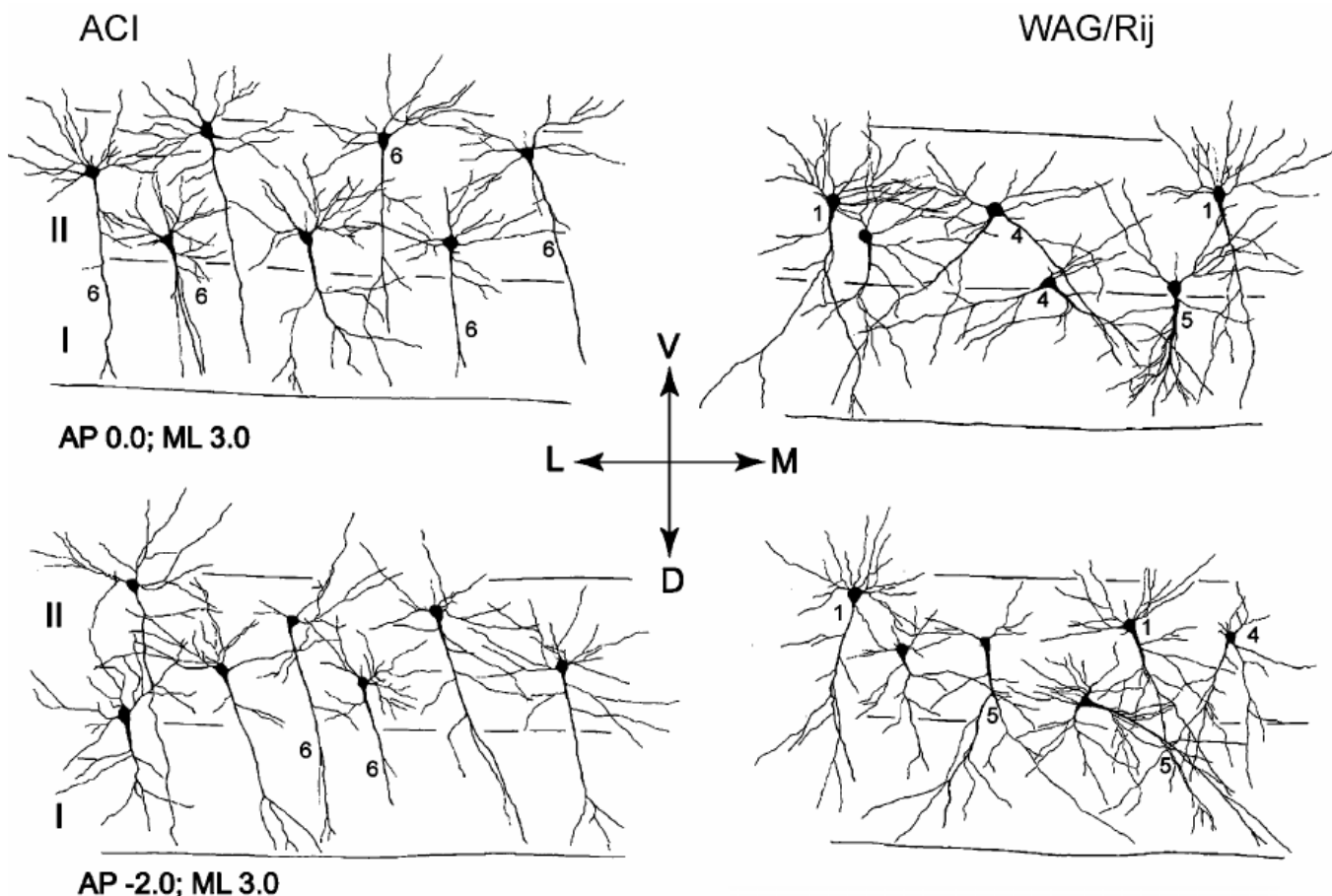


Рисунок 2.10. Изображения пирамидных нейронов лобно-височной области коры у крыс ACI и WAG/Rij (моторная и соматосенсорная), полученные с использованием метода импрегнации серебром по Гольджи [Kargova et al., 2005]. Координаты показаны в мм относительно брегмы. Цифрами 1, 4 и 5 обозначены аномалии формы нейронов у крыс WAG/Rij: (1) - мощное развитие базальных дендритов, обращенных к глубоким слоям коры; (4) - раздвоение апикального ствола и наклонная ориентация основной оси; (5) - повышенная разветвленность апикального дендрита. У крыс ACI (6) апикальные дендриты имеют малое число боковых отростков.

К сожалению, авторы не представили объяснений этому серьезному, на наш взгляд, феномену. Нарушение ориентации и атипичная форма пирамидных клеток у крыс WAG/Rij может быть следствием двух процессов:

§ *Нарушение ранней миграции нейронов.* Как известно, ориентация апикальных отростков пирамидных нейронов формируется во время миграции в конце пренатального периода у крыс, т.е. 15-21 день эмбрионального развития [Miller, 1998]. Радиальная глия выполняет опорную и направляющую функцию в процессах миграции и формирования апикального ствола пирамидных нейронов. Возможно, что у крыс WAG/Rij на заключительном этапе пренатального онтогенеза нарушаются нейро-глиальные взаимодействия, вследствие чего форма апикального ствола у пирамидных нейронов изменяется. Структура и функции глиальных клеток в раннем онтогенезе у крыс WAG/Rij не исследованы. Мы располагаем данными об количественных

изменениях глии в позднем онтогенезе: нейро-глиальный индекс у крыс WAG/Rij, в отличие от контроля (крысы ACI), был сдвинут в сторону преобладания глии. Возможно, что нарушения нейро-глиальных взаимоотношений в раннем онтогенезе у крыс WAG/Rij создают почву для развития эпилептических процессов в коре.

§ *Нарушение процесса созревания нейронов.* Апикальные дендриты пирамидных клеток восходят к плексиформному слою, где получают афференты нейромодуляторных систем (норадренергическая, серотонергическая) [Раевский, 1995]. Известно, что нейроны, созревающие в условиях дефицита афферентации, переориентируют отростки в направлении возможных афферентов [Шулейкина, 1983]. Дефицит нейромодуляторов, недостаточность синаптических контактов или дефицит соответствующих рецепторов у пирамидных нейронов могут нарушить структурно-функциональное созревание нейронов. Возможно, что аномальная структура пирамидных клеток у крыс WAG/Rij сформировалась в раннем онтогенезе вследствие дефицита нейромодуляторных систем.

По нашим данным, плотность глии в соматосенсорной и цингулярной областях коры в слоях V и VI у крыс WAG/Rij была ниже, чем у крыс ACI. Эти результаты можно интерпретировать с учетом того, что соматосенсорная область коры инициирует эпилептическую активность у крыс WAG/Rij [Раздел 2.6, Sitnikova & van Luijtelaaar, 2004]. Снижение способности глии устранять калий из межклеточного пространства может рассматриваться как важный фактор развития эпилепсии [Pollen & Trachtenberg, 1970; Ройтбак, 1999]. Низкая плотность глии у крыс WAG/Rij может привести к снижению эффективности устранения избытка калия из межклеточного пространства [Ройтбак, 1999]. Увеличение концентрации калия может способствовать формированию эпилептической активности в этой области коры, т.е. формированию локального эпилептического очага, *focal epileptic zone* [Meeren et al., 2002; Meeren et al., 2005].

Мы обнаружили, что в цингулярной коре у крыс WAG/Rij плотность была глии ниже, чем у крыс ACI, также как и значение нейро-глиального индекса. Известно, что цингулярная кора не принимает участие в формировании эпилептической активности [Vergnes et al., 1987], но вовлечена в реализацию когнитивных функций, памяти и обучения. Низкая плотность глии в цингулярной коре у крыс WAG/Rij может свидетельствовать о нарушении функций этой области, что может стать одной из причин дефицита когнитивных функций у этих животных [Саркисова и др., 2005]. Как известно, глиальные клетки участвуют в регуляции кальциевого обмена, поэтому снижение плотности глии в цингулярной коре у крыс WAG/Rij может нарушить кальциевый гомеостаз и, как следствие, снизить эффективность синаптической передачи в этой области, что тоже может быть причинной когнитивного дефицита.

Заключение

У крыс с генетической предрасположенностью к абсанс-эпилепсии (линия WAG/Rij) были обнаружены микроструктурные изменения клеточного состава неокортекса по сравнению с контрольной линией (ACI), а именно.

- 1) низкая плотность нейронов у крыс WAG/Rij только в моторной коре и только в слоях II/III;
- 2) высокая плотность глии и значение нейро-глиального индекса в слое II/III моторной области, и низкое содержание глии и значение индекса в соматосенсорной и цингулярной областях в слоях V и VI.

В целом, цитоморфологические изменения неокортекса при абсанс-эпилепсии в значительной степени затрагивали популяцию глиальных клеток, и в меньшей степени - популяцию нейронов.

Как известно, у крыс WAG/Rij с врожденной предрасположенностью к абсанс-эпилепсии соматосенсорная кора играет ведущую роль в формировании генерализованных пик-волновых разрядов. Причиной этого могут быть не только функциональные изменения нейронов неокортекса (гипервозбудимость), но, как показали наши исследования, нарушения микроструктуры коры, затронувшие главным образом популяцию глиальных клеток. Поскольку неокортекс является интегративной частью таламо-кортикальной системы, исследования механизмов патологической активности соматосенсорной коры были продолжены с использованием анализа таламо-кортикальных процессов, способствующих формированию пик-волновых разрядов (следующая Глава).

ГЛАВА 3

Таламо-кортикальные механизмы абсанс-эпилепсии

Таламо-кортикальная система - одно из наиболее поздних приобретений эволюции, достигшее наивысшего развития у высших млекопитающих и человека, что связано с совершенствованием процессов обработки сенсорной информации и расширением сенсомоторной интеграции. Главный интерес настоящего исследования представляют механизмы ритмической активности таламо-кортикальной системы в норме (сонные веретена и сопутствующие медленно-волновые колебания) и при патологии (пик-волновые разряды). Идеи о том, что таламус играет важную роль в патогенезе абсанс-эпилепсии были высказаны в рамках центрэнцефалической концепции Пенфилда и Джаспера [1958], теории "таламического хронометра" Бужаки ("thalamic clock") [Buzsáki, 1991] и кортико-ретикулярной теории Глора [Gloor, 1968; 1969]. Современные представления о роли таламуса в развитии абсанс-эпилепсии сформировались после открытия пейсмекерных функций у нейронов ретикулярного таламического ядра (RTN) и выявления механизмов работы таламо-кортикальной системы [Meegen et al., 2005; Раздел 2.3]. Данные нейровизуализации у пациентов, страдающих абсанс-эпилепсией, показали, что практически все таламические структуры, связанные с неокортексом в единую таламо-кортикальную сеть, принимают участие в формировании эпилептических комплексов "пик-волна" [Labate et al., 2005; Moeller et al., 2008a; 2008b; Li et al., 2009]. Настоящий раздел посвящен исследованию взаимодействий между таламусом и корой в процессе формирования пик-волновых разрядов. Ниже речь пойдет о структурно-функциональной организации таламуса и об особенностях его взаимодействия с корой больших полушарий.

3.1. Общий план строения таламуса

Таламус – это самая крупная парная структура промежуточного мозга. Он окружает третий мозговой желудочек, располагается под углом 30° относительно горизонтальной плоскости и имеет вытянутую форму. Таламус у млекопитающих и человека имеет сходное строение. Его разделяют на две неравные части: дорсальную и вентральную. В состав вентрального таламуса входят ретикулярное ядро (RTN), вентральная часть латерального колленчатого тела (vLGN), *zona incerta* и субталамическое ядро (STN). RTN и vLGN иннервируют ядра дорсального таламуса и, в отличие от большинства других таламических ядер, не имеют проекционных представительства в неокортексе. Ретикулярные таламические ядра имеют общее эмбриональное происхождение с ретикулярной формацией ствола мозга, однако, анатомически и функционально RTN не является частью ретикулярной формации, хотя и получает афференты от последней. RTN играет принципиально важную роль в генерации спонтанной ритмической активности таламо-кортикальной сети. Табл. 3.1 суммирует литературные данные об источнике афферентов и эфферентов основных ядер таламуса у человека.

Дорсальный таламус превышает по размеру вентральный в десятки раз и содержит порядка сотни парных ядер и ядерных образований. Классификация этих ядер основана на особенностях организации афферентных и эфферентных проекционных путей.

«Релейные» (специфические) ядра осуществляют передачу афферентных импульсов разной модальности и моторных команд. Среди релейных ядер выделяют сенсорные ядра, которые получают информацию по чувствительным трактам или по лемнисковым системам и передают её в первичные сенсорные области коры: медиальное коленчатое тело (MGN) – в слуховую область височной коры; латеральное коленчатое тело (LGN) – в зрительную область затылочной коры; вентробазальный комплекс ядер (VB, включающий вентральное постеро-медиальное ядро VPM и вентральное постеро-латерального ядро VPL) - в соматосенсорную область теменной коры.

Таблица 3.1. Классификация основных ядер таламуса человека, основанная на особенностях их проекций [Angevine & Cotman, 1981]¹¹

	Название ядра	Афференты	Эфференты
Дорсальный таламус			
«Релейные» (специфические) ядра	Медиальное коленчатое тело (<i>corpus geniculatum medialis</i> , MGN)	Ручка нижнего холмика (<i>brachium colliculi inferioris</i>)	Поперечные височные борозды (поле 41),
	Латеральное коленчатое тело (<i>corpus geniculatum lateralis</i> , LGN)	Зрительный нерв (тракт)	Затылочная кора (поле 17), зрительная кора
	Вентральное постеро-латеральное ядро (<i>n. ventralis posterolateralis thalami</i> , VPL)	Медиальный лемниск	Постцентральная извилина (поле 3,1, и 2)
	Вентральное постеро-медиальное ядро (<i>n. ventralis posteromedialis thalami</i> VPM)	Тригеминальный лемниск	Постцентральная извилина (поле 3,1, и 2)
	Вентральное латеральное ядро (<i>n.ventralis lateralis</i> , VL)	Мозжечково-бугорный тракт (<i>tractus dentatothalamicus</i>)	Моторная/премоторная кора (поле 4, 6)
	Вентральное переднее ядро (<i>n. ventralis anterior</i> , VA)	Паллидо-таламические волокна	Проекции в лобную кору(долю)
	Группа ядер переднего таламуса (<i>n. anteromedialis</i> , AM, <i>n. anterodorsialis</i> , AD, <i>n. anteroventralis</i> , AV)	Мамилло-таламический тракт	Цингулярная извилина
Ассоциативные ядра	Подушка (<i>pulvinar</i> , <i>n. pulvinaris thalami</i>) [#]	Задняя ассоциативная кора, предкрышечное поле	Задняя ассоциативная кора (париетальная, височная, затылочная)
	Задне-латеральное ядро (<i>n. lateralis posterior thalami</i> LP)	Задняя ассоциативная кора, крыша среднего мозга (верхний холмик)	Задняя ассоциативная кора
	Дорсо-латеральное ядро (<i>n. lateralis dorsalis</i> , LD)	Зрительная кора (различные области)	Теменные ассоциативные области

¹¹ с использованием web-ресурсов: базы данных http://neurolx.org/wiki/Brain_Regions_With_Definitions и <http://braininfo.rprc.washington.edu/SearchByAcronym.aspx?ref=14> (русскоязычная номенклатура)

	Верхнее медиальное ядро (<i>n. medialis dorsalis</i> , MD)	Предклинье (<i>precuneus</i>)	Задняя цингулярная кора
	Крупноклеточная часть верхнего медиального ядра (<i>n. medialis dorsalis pars magnocellularis</i> , MDM)	Миндалины, височная кора	Задняя орбитофронтальная кора
	Латеральная мелкоклеточная часть (<i>n. medialis dorsalis pars parvicellularis</i> , MDPC)	Внутриталамические и гипоталамические афференты	Зернистая область префронтальной коры
Ядра с широкими проекциями (неспецифические ядра)	Медиальная группа ядер (<i>nn. mediani thalami</i> , midline nuclear group, MNG) Паравентрикулярное ядро (<i>n. paraventricularis thalami</i>)	Гипоталамус, ретикулярная формация	Гипоталамические и внутриталамические эфференты; проекции в гиппокампальную часть лимбической доли
	Интраламинарная группа ядер (<i>nn. intralaminares thalami</i> , ILG)	Ретикулярная формация, внутриталамические афференты	Обширные области стриатума, коры, ядра таламуса
	Центральное срединное ядро (<i>n. centromedianus thalami</i> , CM)	Моторная кора (поле 4), паллидум, вестибулярные ядра, наружные коленчатые тела, спино-таламический тракт	Скорлупа (<i>putamen</i>)
	Парафасцикулярное ядро (<i>n. parafascicularis</i> , Pf)	Премоторная кора (поле 6)	Внутриталамические эфференты, стриатум (скорлупа)
	Задние ядра (<i>nn. posterior thalami</i> , PO)	Прямые и не прямые спино-таламические проекции	Стриатум (хвостатое ядро, скорлупа), ассоциативная кора

Вентральный таламус

Ретикулярные ядра (наружная дорсолатеральная поверхность таламуса, <i>n. reticularis thalami</i> , RTN)	Коллатерали таламо-кортикальных волокон; неокортекс; ретикулярная формация; внутриталамические афференты	Обратные проекции таламические ядра; роstralная часть ретикулярной формации ствола
---	--	--

Остальные релейные ядра являются моторными. Это - вентральное латеральное и вентральное переднее ядра (VL и VA), а также группа ядер переднего таламуса (AM, AD и AV). Моторные ядра таламуса координируют потоки афферентов и эфферентов (Табл.3.1), контролируют функции моторных областей коры, стрио-паллидарной системы, мозжечка, гипоталамуса, лимбической системы.

Ассоциативные ядра таламуса получают афферентацию от коры. Самым крупным ядром этой группы является *pulvinar* (подушка). У человека это ядро принимает афференты из верхнего бугорка четверохолмия и ассоциативной коры, отдаёт проекции во вторичные области зрительной коры и ассоциативные области теменно-височной коры. У крыс *pulvinar* дифференцирован плохо. У кошек эта структура имеет небольшие размеры и входит в состав задне-латеральных ядер таламуса, к которым относят задне-латеральное (LP), дорсо-латеральное (LD) и верхнее медиальное (MD) ядра.

Неспецифические ядра имеют мелкие размеры и считаются эволюционно древними структурами. К этой категории относятся: медиальная и интраламинарная группы ядер (MNG и ILG), центральное срединное и парафасцикулярное ядро (CM и Pf), а также задние ядра таламуса (PO). Эти ядра связаны сетью афферентов с другими областями таламуса, гипоталамусом, базальными ганглиями и формируют диффузную систему проекций в неокортексе.

Таким образом, таламическая часть таламо-кортикальной системы представляет собой сложный конгломерат анатомически и функционально обособленных ядер, которые взаимодействуют с разными областями коры больших полушарий. Усиление возбудимости нейронов таламо-кортикальной системы и усиление синхронизации могут явиться главными причинами развития судорожной активности. В следующем разделе изложены современные представления о механизмах формирования гиперсинхронных пик-волновых разрядов в таламо-кортикальной системе.

3.2. Роль таламуса в формировании пик-волновых разрядов (нейронные механизмы)

Нейроны релейных таламических ядер могут находиться в двух различных состояниях - тонической и пачечной активности (*tonic u bursting modes*) в зависимости от уровня мембранного потенциала и проводимости мембраны. В состоянии сна нейроны таламуса находятся в состоянии пачечной активности и генерируют автономный ритм, который приобретает вид сонных веретен на ЭЭГ. Пачечная активность таламуса обусловлена синхронной работой ГАМК-эргических нейронов (клетки-пейсмекеры) ретикулярного таламического ядра RTN и глутамат-эргических нейронов релейных ядер таламуса (подробнее - Раздел 5.1). Долгое время считалось, что характерные для абсанс-эпилепсии пик-волновые разряды формируются в результате усиления ритмической активности нейронов-пейсмекеров в RTN [Avanzini et al., 1992; 1993; 2003; Blumenfeld 2002]. В результате таламо-кортикальная сеть переходит в состояние гиперсинхронизации, и сонные веретена преобразуются в пароксизмальные пик-волновые разряды. Усиление "пейсмекерных" функций нейронов таламуса связано с ослаблением ГАМК-торможения (кортико-ретикулярная теория П. Глора [Gloor, 1968; 1969; 1978]) или с усилением Ca^{2+} тока I_t [обзор Avanzini 2002], который участвует в формировании пачечной активности нейронов (Раздел 5.1)¹² [Tsakiridou et al., 1995]. Так у крыс с наследственной абсанс-эпилепсией линии GAERS уровень кальциевого тока (I_t) нейронов RTN превышал контрольные значения (у крыс без эпилепсии) на 160% [Tsakiridou et al., 1995].

ГАМК-эргические контакты нейронов RTN с нейронами релейных ядер (таламо-кортикальным нейронами) способствуют синхронизации ритмической активности этих двух ядер. Рис.3.1 иллюстрирует особенности ГАМК-эргических взаимодействий ретикулярного и

¹² Входящий кальциевый ток (I_t) опосредован особыми потенциал-зависимыми Ca^{2+} каналами, которые активируются в состоянии гиперполяризации клеточной мембраны. В результате создаются условия для формирования низкопорогового Ca^{2+} разряд (low-threshold spike, LTS) на фоне которого появляется пачки быстрых потенциалов действия.

релейного ядра таламуса. Нейроны RTN формируют латеральные ГАМК_а-эргических контакты друг с другом и ГАМК_а- и ГАМК_б- эргические контакты с клетками релейных ядер [Destexhe & Sejnowski, 1995].

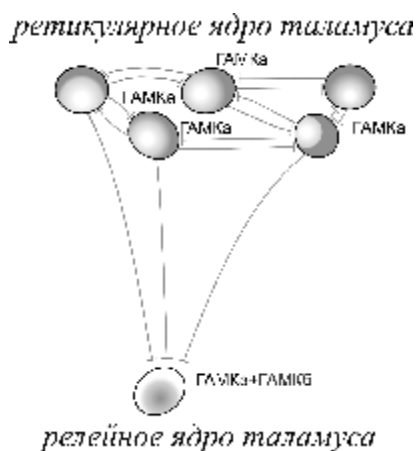


Рисунок 3.1. Схема ГАМК-эргических контактов между ретикулярным и релейным ядрами таламуса.

В норме ГАМК_а-эргические контакты RTN с релейными ядрами более эффективны, чем ГАМК_б-эргические. При активации ГАМК_а-рецепторов формируется быстрый компонент ТПСИ длительностью 100–150 мс, а при активации постсинаптических ГАМК_б-рецепторов - медленный компонент (300 мс) [Kim et al., 1996]. Длительность ТПСИ определяет частоту ритмической активности нейронов таламо-таламической сети, и в случае преобладания ГАМК_а-эргического компонента ТПСИ нейроны релейных ядер генерируют всплески импульсов с частотой 10-14 Гц, характерной для сонных веретен. В случае преобладания ГАМК_б-эргического компонента (300 мс) формируются залпы импульсов с частотой 3 Гц, свойственной пик-волновым разрядам человека. Ранее полагали, что причиной абсанс-эпилепсии может быть ослабление ГАМК_а-эргической передачи в таламусе [von Krosigk et al., 1993; обзор Leresche, 2012] (хотя это предположение в дальнейшем подверглось серьезной критике, см. ниже). Это снизит уровень ГАМК_а-эргического торможения внутри RTN, в результате активность клеток RTN возрастет, тормозная иннервация клеток-мишеней в релейных ядрах увеличится. В данной ситуации действие ГАМК в релейных ядрах будет опосредовано ГАМК_б-рецепторами, и ритмическая активность в релейных ядрах может форму "пик-волна" с частотой 3 Гц. В пользу правомерности вышеизложенного механизма говорит тот факт, что агонисты ГАМК_б усиливают пик-волновые разряды, а ГАМК_б антагонисты – ослабляют [обзоры Danober et al., 1998; Coenen & van Luijtelaar, 2003].

Сравнительно недавно была обнаружена функциональная неоднородность RTN. При разрушении ростральной части RTN у крыс с врожденной склонностью к абсанс-эпилепсии (линия WAG/Rij) наблюдали снижение числа пик-волновых разрядов, тогда как при разрушении каудальной его части, наоборот, усиление эпилептической активности [Meeren et al., 2009]. Вышеназванная авторская трактовка результатов может оказаться не столь очевидной, если учесть конфигурацию RTN (узкое ядро вытянутой формы) и технические особенности

эксперимента. Авторы использовали иботеновую кислоту для локального повреждения RTN, но область разрушения распространялась за пределы RTN и охватывала близлежащие латеральную и вентральную области таламуса. Наблюдавшиеся при этом изменения пик-волновых разрядов могли быть следствием повреждения не только RTN, но и соседних таламических ядер, которые могли содержать клетки-мишени RTN.

Выводы относительно того, что именно ростральная, а не каудальная, часть RTN участвует в формировании пик-волновых разрядов [Meeren et al., 2009], не находят подтверждения на уровне микроструктуры ядра. По данным электронно-микроскопического анализа, синаптическая организация ростральной части RTN у крыс WAG/Rij не отличается от таковой у крыс контрольной линии ACI [van de Bovenkamp-Janssen et al., 2004].

На протяжении долгих лет ведущие мировые ученые, например, коллективы итальянских (проф. Avanzini) и французских исследователей (проф. Leresche), придерживались представлений о том, что нейроны RTN служат источником пик-волновых разрядов, но в последние годы данная концепция подверглась существенной критике и была пересмотрена. В своем последнем обзоре Leresche et al. (2012) приводят ряд весомых свидетельств в пользу того, что RTN не участвует в инициации пик-волновых разрядов. Наиболее весомыми контраргументами являются следующие:

1) Введение ГАМКа-антагонистов пенициллина и бикикулина непосредственно в таламус не вызывает судорожной активности у кошек [Steriade & Contreras, 1998; Kostopoulos, 2000].

2) Абсанс-эпилепсия не сопровождается снижением эффективности ГАМКа-эргических механизмов торможения в таламусе [Blumenfeld & McCormick, 2000]. У большинства нейронов релейных ядер таламуса (60% у кошек и 90% у крыс GAERS) во время спонтанных пик-волновых разрядов наблюдают ритмический ГАМКа-эргический компонент ТПСП синхронно с компонентом 'пик' пик-волнового комплекса [Steriade & Contreras, 1995; Pinault et al., 1998], что также свидетельствует о высокой эффективности ГАМКа-эргического торможения таламических нейронов при развитии абсанс-эпилепсии.

О важности тормозных механизмов таламуса в формировании абсанс-эпилепсии свидетельствует повышенный уровень 'тонического' ТПСП, обнаруженный в релейных таламических ядрах у животных с наследственной склонностью к данной болезни [Core et al., 2009]. Тоническая форма ТПСП обусловлена активацией внесинаптических ГАМКа-рецепторов, в отличие от фазических ТПСП, которые опосредованы (пост)синаптическими ГАМКа-рецепторами. Внесинаптические ГАМКа-рецепторы отличаются от синаптических более высокой чувствительностью к ГАМК и низкой скоростью десенситизации (это можно объяснить наличием дельта-субъединицы в составе внесинаптических рецепторов) [Core et al., 2005]. Показано, что ГАМКа-эргическое торможение релейных ядер таламуса имеет тонический характер и оно на ~80–90% обусловлено активацией внесинаптических рецепторов. Основным патологическим фактором усиления тонического торможения в таламусе при развитии абсанс-эпилепсии является нарушение обратного захвата ГАМК за счет снижения активности

астроцитарного транспортера ГАТ-1 [Cope et al., 2009; Crunelli et al., 2011]. Вследствие этого во внесинаптическом пространстве сохраняется повышенная концентрация ГАМК, мембраны нейронов удерживаются в состоянии гиперполяризации, на фоне которой формируется серия низкочастотных Ca^{2+} импульсных разрядов (LTS) и пачки быстрых ВПСП, таким образом, нейроны генерируют залпы импульсов с частотой пик-волновых разрядов.

Накопленный фактический материал свидетельствует о том, что многие (если не все) таламические структуры, связанные с неокортексом в единую таламо-кортикальную сеть, поддерживают эпилептическую активность. Seidenbecher и соавторы (1998) исследовали ритмическую импульсную активность таламических ядер и коры во время пик-волновых разрядов у крыс GAERS. Они обнаружили, что компонент 'пик', входящий в состав пик-волнового комплекса появлялся на ЭЭГ спустя ~6.5 мс после всплеска нейронной активности в слое IV/V соматосенсорной коры (Табл. 3.2). Нейроны таламуса разряжались раньше, чем нейроны соматосенсорной коры в следующей последовательности: VPM > VL ≥ VPL >> ростральная-RTN ≥ неокортекс = каудальная-RTN (Табл. 3.2).

Таблица 3.2. Длительность задержки между максимумом импульсной активности нейронов (среднее ±std.откл.) и компонентом 'пик', входящим в состав пик-волнового комплекса на ЭЭГ (компиляция данных из работы [Seidenbecher и др., 1998]).

	VPM	VL	VPL	ростральная часть RTN	неокортекс, SmI	каудальная часть RTN
мс	17.8 ±3.1	13.3 ±2.1	10.0±2.4	8.3±0.7	6.5±1.2	5.0±0.0

Помимо RTN и релейных ядер таламуса, в формировании пик-волновых разрядов участвуют неспецифические ядра. Было обнаружено, что у крыс линии GAERS интраламнарные ядра (центро-латеральное, CL и парацентральное, PC) демонстрируют ритмическую импульсную активность, синхронизированную с ритмом пик-волновых разрядов, однако разряды в этих двух ядрах следуют с задержкой около 13 мс относительно компонента 'пик' на ЭЭГ [Seidenbecher et al., 2001]. Разрушение релейных и/или интраламнарных ядер таламуса приводит к частичному или полному исчезновению пик-волновых разрядов на ЭЭГ у крыс линии GAERS [Vergnes & Marescaux, 1992; Avanzini et al., 1992; Avanzini et al. 1993] и WAG/Rij [Meeren et al., 2009]. Таким образом, для формирования пик-волновых разрядов важна структурная и функциональная целостность таламо-кортикальной системы [van Luijtelaaar & Sitnikova, 2006; Sitnikova, 2010; Leresche et al., 2012]. Функции главных частей таламо-кортикальной системы (таламуса и неокортекса) в процессе формирования пик-волновых разрядов будут описаны более подробно в следующих разделах.

3.3. Роль неокортекса и нейросетевые механизмы формирования пик-волновых разрядов

Принципиально важным является тот факт, что неокортекс играет ключевую роль в формировании пик-волновых разрядов у крыс с генетической предрасположенностью к абсанс-эпилепсии (Раздел 2.6) [Meeren et al., 2001; 2005; van Luijtelaar & Sitnikova, 2003; Sitnikova & van Luijtelaar, 2004; 2004a; Manning et al., 2004; D'Antuono et al., 2006; Gurbanova et al., 2006; Pinault et al., 2006] и у человека [Niedermeyer, 1996; Holmes et al., 2004; Leresche et al., 2012]. Отдельного внимания заслуживают механизмы неокортекса, обеспечивающие инициацию пик-волновых разрядов, последующую синхронизацию и генерализацию эпилептической активности.

Инициация эпилептических разрядов. В экспериментах на животных *in vivo* [Destexhe et al., 2001; Timofeev & Steriade, 2004], а также у больных эпилепсией [Tryba et al., 2011] было продемонстрировано, что нейроны со спонтанной пачечной импульсной активностью (*intrinsic bursting*, Раздел 1.3.2) способны инициировать эпилептические разряды. Эти клетки имеют особые ионные каналы для проведения низкопорогового кальциевого тока (I_T) [Destexhe et al., 2001]. Активация этих каналов (ток I_T) вызывает небольшую волну деполяризации, т.н. низкопороговый разряд (*low-threshold spike*, LTS), на гребне которой появляются 2-3 импульса. При снижении уровня ГАМКа-торможения (при патологии или фармакологической блокаде) нейроны с пачечной активностью "растормаживаются", увеличивается длительность пачек импульсов, повышается уровень синхронизации между нейронами, в результате кора переходит в состояние гиперсинхронизации и генерирует эпилептические разряды пик-волна [Destexhe et al., 2001].

У человека возможность инициации генерализованных эпилептических разрядов (в том числе и при абсанс-эпилепсии) в коре была продемонстрирована французским неврологом Bancaud (1969). Он ввел в практику метод стерео-энцефалографии ("stereoencephalographie"), используя интракраниальные электроды для регистрации ЭЭГ, с помощью которой ему удалось обнаружить области с повышенной эпилептогенной активностью в лобных областях коры у пациентов с генерализованными формами эпилепсии *petit mal* и *grand mal*. Стимуляция этих эпилептогенных зон слабыми разрядами электрического тока вызывала характерную для абсанс-эпилепсии пик-волновую активность [Bancaud et al., 1974]. Эта, по-своему уникальная, экспериментальная клиническая работа была выполнена до вступления в силу современных этических норм, предоставив прямые доказательства участия лобных отделов коры в формировании генерализованных эпилептических разрядов у человека.

Несмотря на то, что SWD у больных абсанс-эпилепсией имеют генерализованный характер, их амплитуда в лобных и центральных областях коры значительно превышает таковую в теменной, затылочной и височной части. Первые данные о неравномерном распределении мощности SWD по поверхности коры были получены с помощью картирования ЭЭГ [Rodin & Ancheta, 1987], и этот факт заставил усомниться в истинно генерализованном характере SWD [Leutmezer et al., 2002; Holmes et al., 2004].

Большинство клинических исследователей ЭЭГ сходятся во мнении, что источником пик-волновых разрядов у человека служат лобные и орбитофронтальные области коры [Rodin & Cornellier, 1989; Rodin et al., 1994; Konishi et al. 1999; Leutmezer et al., 2002; Holmes et al., 2004; Westmijse et al., 2009]. Konishi и соавторы (1999) за несколько секунд до начала генерализованных 3 Гц SWD наблюдали локальную эпилептическую активность в лобной коре у взрослых пациентов с абсанс-эпилепсией в виде одиночных эпилептических спайков, источник которых находился в лобной доле. Holmes и соавторы (2004) подробно исследовали записи ЭЭГ, полученные с помощью 256 плотно-расположенных сенсоров у пяти пациентов с идиопатической генерализованной эпилепсией, среди которых были два пациента с детской абсанс-эпилепсией (CAE), и обнаружили дипольные источники SWD в лобной доле одного или обоих полушарий.

Синхронизация и генерализация эпилептической активности. О координирующей роли коры в формировании эпилептических разрядов свидетельствуют данные, полученные на крысах линии GAERS с использованием метода распространяющейся депрессии [Vergnes & Marescaux, 1992], когда поверхность коры одного полушария подвергали воздействию концентрированного раствора *KCl*. Резкое увеличение концентрации ионов K^+ во внеклеточном пространстве вызывала мощную деполяризацию нейронов (кратковременное возбуждение) которая сменялась длительным периодом депрессии нейронной активности. На фоне депрессии нейронной активности пик-волновые разряды исчезли только в одном полушарии, в то время как в интактном полушарии разряды присутствовали в коре и в таламусе. Аналогичный эффект был получен на фармакологической модели эпилепсии у кошек, где генерализованные пик-волновые разряды были спровоцированы путем инъекции раствора пенициллина в толщу неокортекса. На модели пенициллиновой эпилепсии было показано, что депрессия коры, вызванная введением *KCl*, препятствовала появлению эпилептических разрядов [Gloor et al., 1979]. После хирургического удаления коры наблюдалось значимое снижение числа эпилептических разрядов [Avoli & Gloor, 1982; Kostopoulos, 2000].

Технология нейровизуализации дала возможность исследовать масштабы распространения эпилептической активности в глубоких структурах головного мозга. С использованием фМРТ у анестезированных крыс WAG/Rij (фентанил в сочетании с галоперидолом) было показано, что пик-волновые разряды сопровождаются значительным увеличением сигнала BOLD в коре (периральной области SmI и моторной области), в таламусе, в базальных ганглиях и среднем мозге [Nersesyan et al., 2009]. Mishra и соавторы (2011) использовали ненаркотизированных крыс WAG/Rij для анализа зависимости между активностью нейронов во время пик-волновых разрядов и интенсивностью гемодинамического ответа, лежащего в основе сигнала фМРТ. Во время пик-волновых разрядов в соматосенсорной коре и таламусе было обнаружено усиление сигнала BOLD, ускорение мозгового кровотока, увеличение нейронной активности. В то же время в базальных ядрах (caudate-putamen) наблюдали снижение сигналов BOLD и понижение уровня локального кровотока при высоком уровне мультинейронной активности.

Большой объём данных был получен при использовании фМРТ у пациентов с генерализованными формами эпилепсии параллельно с записью ЭЭГ (Табл. 3.3). Результаты фМРТ позволяют судить о состоянии кровеносной системы и о локальных изменениях кровоснабжения головного мозга, которые могут быть так или иначе связаны с активностью нервной системы.

Таблица 3.3. Литературные данные об участии глубоких структур головного мозга и коры в развитии эпилептической активности у больных абсанс-эпилепсией, полученные с помощью комбинированной записи фМРТ/ЭЭГ.

Клинические особенности	Неокортекс	Базальные ганглии	Таламус	ссылки
Типичные (CAE, JAE) и смешанные формы абсанс-эпилепсии (ИМАЕ). 6 пациентов от 4 до 17 лет (5 мальчиков и девочка). Все пациенты, кроме одного, подверглись фармакотерапии	Деактивация лобной и задней париетальной коры; области предклинья.	Деактивация головки хвостатого ядра	Активация центральных и средних областей за 3 сек до начала разрядов	Moeller et al., 2008b
Типичная абсанс-эпилепсия (CAE). 10 пациентов от 4 до 12 лет. Пациенты не получали медикаментозное лечение	Деактивация лобной и париетальной коры; области предклинья.	Деактивация головки хвостатого ядра	Кратковременная активация таламуса в момент начала SWD.	Moeller et al., 2008a
Типичные (IGE) и нетипичные (SGE) формы абсанс-эпилепсии у 46-и взрослых пациентов. IGE у 30 пациентов, возраст 18-56 лет; SGE – у 16 пациентов, возраст 19-74 года. Все подвергались длительной фармакотерапии.	Отсутствие изменений в первичных проекционных областях. Деактивация ассоциативных областей. IGE: деактивация лобной, париетальной и височной коры. SGE: деактивация средне-лобной извилины и передней цингулярной коры	IGE: деактивация хвостатого ядра SGE: неочевидно	IGE: невысокая активация таламуса у половины пациентов. SGE: двухфазная реакция активация-деактивация	Hamandi et al., 2006
Типичная абсанс-эпилепсия (CAE). На ЭЭГ короткие SWD (длительностью около 3.4 сек). Исследование перед началом фармакотерапии. Девочка 7 лет.	Активация моторной коры, Деактивация правой лобной извилины и ретроспленальной области	Не исследованы	Мощная двухсторонняя активация	Labate et al., 2005
Типичная абсанс-эпилепсия (IGE). 15 пациентов от 5 до 14 лет (7 мальчиков и 8 девочек).	Деактивация ассоциативных и лимбических областей коры.	Деактивация всей области базальных ганглиев: хвостатого и чечевицеобразного ядер, claustrum,	Двухсторонняя активация (справа мощнее)	Li et al., 2009

IGE - идиопатические генерализованные формы эпилепсии, включают CAE - детская абсансная эпилепсия, JAE - подростковая абсансная эпилепсия и JME - подростковая миоклоническая эпилепсия.

MAE - эпилепсия с миоклонически–астатическими приступами.

SGE – вторично-генерализованная эпилепсия (нетипичные абсансы, аномалии фоновой ЭЭГ, нетипичные формы SWD)

Данные, представленные в Табл. 3.3, свидетельствуют о сложных и порой разнонаправленных изменениях (от активации до деактивации) в разных областях коры, таламуса и базальных ганглиев во время эпилептических разрядов. Разница в результатах может быть вызвана техническими причинами (особенности протокола исследований, аппаратные возможности МРТ, особенности анализа гемодинамического ответа) и/или клиническим состоянием пациентов (влияние медикаментозного лечения или его отсутствия, характер течения и длительность болезни). Общим является тот факт, что приступы абсанс-эпилепсии сопровождается мощной активацией таламуса. Неясной остается динамика распространения эпилептической активности от источника (в коре) к таламусу, неизвестно как и на каком этапе таламус вовлекается в эпилептический процесс. Решению этих вопросов посвящены последующие экспериментальные разделы настоящей Главы, цель которых - выявить нейросетевые механизмы взаимодействия коры и таламуса на разных этапах формирования пик-волновых разрядов (инициация, синхронизация и генерализация) у крыс WAG/Rij.

3.4. Ритмическая активность таламуса и коры перед началом пик-волновых разрядов (1-ого типа) у крыс WAG/Rij¹³

У пациентов, страдающих абсанс-эпилепсией, приступы эпилепсии начинаются внезапно, без явных причин и предшествующей клинической картины. Для абсанс-эпилепсии характерны генерализованные пик-волновые разряды (SWD) на ЭЭГ, начало которых также невозможно предсказать, руководствуясь изменениями на ЭЭГ. Пожалуй, единственное свидетельство специфических изменений на ЭЭГ было получено группой японских ученых [Inouye et al., 1990]. Авторы наблюдали слабо развитые эпилептиформные разряды (*poorly developed epileptiform discharge*) в лобных и центральных областях коры головного мозга за несколько секунд до начала пик-волновых разрядов у пациентов, страдающих абсанс-эпилепсией. Наблюдения Inouye и соавторов (1990) не были подтверждены другими исследователями [ссылки в Niedermeyer, 1972; 1996; Panayiotopoulos, 1999; 2005]. Возможно, что причина расхождений заключается в

¹³ по материалам опубликованных работ:

- 1) 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
- 2) 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
- 3) Короновский А.А., van Luijtelaar G., Овчинников А.А., Ситникова Е.Ю., Храмов А.Е. Диагностика и анализ осцилляторной нейросетевой активности головного мозга с использованием непрерывного вейвлетного преобразования. *Изв. вузов. Прикладная нелинейная динамика*, 2011; 19(1) 86-108
- 4) van Luijtelaar 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
- 5) van Luijtelaar G, Sitnikova E, Littjohann A. On the origin and suddenness of absences in genetic absence models. *Clin EEG Neurosci.* 2011a; 42(2): 83-97
- 6) Ситникова Е.Ю., Короновский А.А., Храмов А.Е. Анализ электрической активности головного мозга при абсанс-эпилепсии: прикладные аспекты нелинейной динамики. *Изв. вузов. Прикладная нелинейная динамика*, 2011; 19(6): 173-182
- 7) Павлов А.Н. Ситникова Е.Ю. Короновский А.А. Макаров В.А. Храмов А.Е. Вейвлеты в нейродинамике и нейрофизиологии. М:Физматлит, 2012, 269 с.

субъективной оценке момента начала SWD. Спектральный анализ ЭЭГ в течение 10 секунд до начала пик-волновых разрядов [Inouye et al., 1990] показал значимые изменения в диапазоне альфа частот по сравнению с фоновой ЭЭГ, что могло быть связано со снижением уровня бодрствования пациента перед началом SWD.

В серии работ на крысах линии GAERS с генетической предрасположенностью к абсанс-эпилепсии за нескольких секунд до начала SWD на ЭЭГ были обнаружены ритмические 5-9 Гц колебания [Pinault et al., 2001]. Аналогичные 5-9 Гц колебания присутствовали и на ЭЭГ у здоровых крыс без признаков эпилепсии, поэтому про-эпилептическая природа этих колебаний вызывает сомнения [Pinault et al., 2001]. Более того, крысы линии GAERS остаются единственным объектом, у которого выявлены 5-9 Гц предшественники SWD. Подробные исследования нейрофизиологических механизмов 5-9 Гц колебаний у крыс GAERS показали, что этот ритм формируется в коре больших полушарий без участия таламуса [Pinault 2003; 2006]. Результаты нейровизуализации свидетельствуют об активации таламуса у человека во время приступов абсанс-эпилепсии [Labate et al., 2005; Moeller et al., 2008a; 2008b; Li et al., 2009]. Таким образом, вопрос об участии таламуса в развитии абсанс-эпилепсии остается нерешенным. Прямые исследования активности таламуса требуют инвазивных вмешательств, которые невозможны у пациентов с абсанс-эпилепсией по этическим соображениям. Использование крыс с генетической к абсанс-эпилепсии (линия WAG/Rij) даёт возможность вживить электроды в таламические структуры и получить данные о характере таламической активности в период инициации SWD, исследовать степень синхронизации таламо-кортикальной системе непосредственно до начала пик-волновых разрядов.

В настоящем разделе описаны особенности ритмической активности коры и таламуса до начала SWD у крыс линии WAG/Rij. Работа включает три этапа. Первый - исследование спектрального состава 1 секундных эпизодов ЭЭГ, предшествующих появлению SWD (preSWD) в коре и в таламусе. Второй - исследование взаимосвязи между частотными параметрами пик-волновых разрядов и их предшественников. Третий - частотно-временной анализ ритмической активности таламуса и коры в течение 3 секунд до начала SWD с использованием вейвлетного преобразования.

Особенности процедуры исследований

В эксперименте были использованы самцы крыс линии WAG/Rij (возраст ~1 год). Регистрацию ЭЭГ проводили с помощью двух эпидуральных электродов, расположенных в области лобной и затылочной коры и двух глубоких электродов, имплантированных в вентро-постеромедиальное (специфическое) и ретикулярное ядра таламуса, VPM и RTN соответственно. ЭЭГ у крыс регистрировали в свободном поведении, в камере Фарадея, изолированной от внешних электромагнитных шумов и помех, в течение 5–7 часов на протяжении темного периода суток.

Пик-волновые разряды были выделены на ЭЭГ в соответствии с критериями [van Luijteleaar & Coenen, 1986]. Разметка SWD была проведена на лобной ЭЭГ, и её результаты аппроксимированы на остальные каналы. Для анализа ЭЭГ был использован традиционный спектральный анализ (Фурье), расчет функции когерентности и вейвлетный анализ (пакеты программ Brain Vision Analyzer, ©BrainProducts GmbH и WaveLab©).

1) *Быстрое преобразование Фурье (Hanning windowed)* использовали для построения спектров мощности с частотным разрешением 0.5 Гц. Подсчитывали спектральную мощность в диапазонах частот: *дельта* 1-4 Гц; *тета* 4.5-8 Гц; *альфа* 8.5-12 Гц.

2) Расчет функции *когерентности* проводили для исследования синхронизации между неокортексом и таламусом. Когерентность (Coh) - нормированная функция кросс-спектра (G), характеризующая степень подобия ритмической активности двух каналов в домене частот [Challis and Kitney, 1991].

$Coh_{1,2}(\omega) = |G_{1,2}(\omega)|^2 / |G_{1,1}(\omega) \times G_{2,2}(\omega)|$, где Coh_{1,2}(ω) - функция когерентности между каналами 1 и 2; ω - дискретные значения частоты (бин = 0,5 Гц); $G_{1,2}(\omega)$ - кросс-спектр каналов 1 и 2; $G_{1,1}(\omega)$ и $G_{2,2}(\omega)$ - автоспектры каналов 1 и 2.

Расчет функции когерентности проведен в 6 парах каналов: (1) внутрикорткальная когерентность (лобно-затылочная), (2) внутриталамическая (VPM - RTN) и (3—6) таламо-корткальная когерентность в разных сочетаниях каналов. В исследовании был использован интервал времени длительностью 2 с, который включал 1 с до начала SWD (preSWD) и 1 с после начала SWD.

3) *Непрерывное вейвлетное преобразование* с базовым комплексным Морле–вейвлетом было использовано для исследования частотно-временной структуры ЭЭГ, предшествующей эпилептическим разрядам. Для анализа были выбраны интервалы ЭЭГ 3000 - 100 мс до начала пик-волнового разряда. Критерием наличия ритмического компонента на вейвлетном спектре служило увеличение вейвлетной энергии более чем в два раза по сравнению с энергией фоновой ЭЭГ в течение минимум 300 мс.

В качестве контрольных были использованы периоды ЭЭГ без пик-волновых разрядов в состоянии активного бодрствования (низкая амплитуда ЭЭГ с преобладанием тета и бета частот), пассивного бодрствования, неглубокого медленного сна (сонные веретена) и глубокого медленного сна (высокоамплитудные дельта-волны 2-4 Гц).

3.4.1. Классификация предшественников пик-волновых разрядов на лобной ЭЭГ

На лобной ЭЭГ были исследованы односекундные эпизоды, предшествовавшие появлению SWD (preSWD), в количестве от 47 до 153 у каждого животного (всего 477 эпизода у 6-и крыс). Амплитудные и частотные параметры preSWD в лобной коре значительно варьировали, поэтому мы не смогли выделить единый паттерн пред-эпилептической активности. Это отличало наших животных (крыс линии WAG/Rij) от крыс линии GAERS, на ЭЭГ которых был выявлен четкий паттерн 5-9 Гц колебаний, предшествующий SWD [Pinault et al., 2001]. Мы использовали эмпирическую классификацию preSWD, учитывающую форму лобной ЭЭГ и

основанную на значимых различиях спектра мощности ЭЭГ в традиционно выделяемых диапазонах частот (Рис. 3.2).

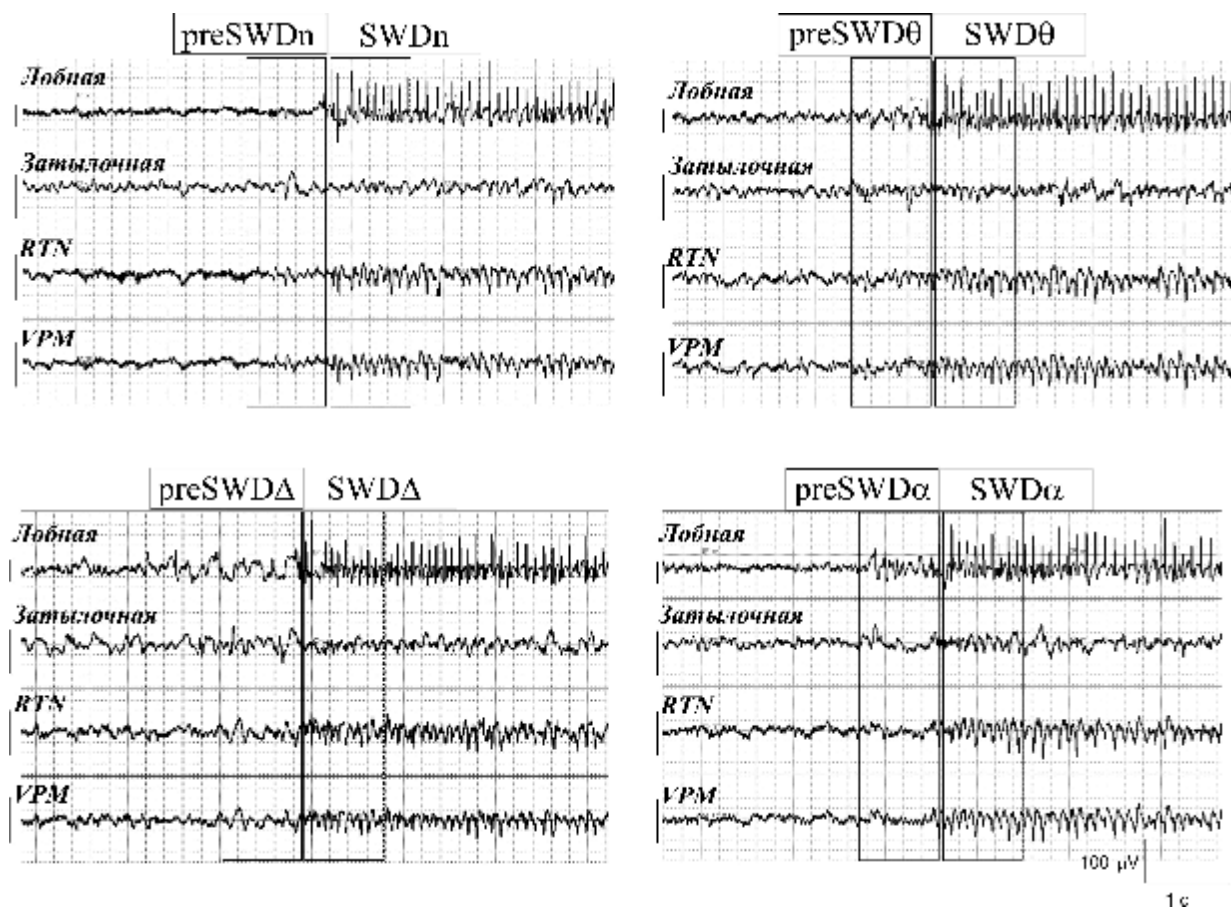


Рис. 3.2. Примеры 4-х типов ритмической активности, предшествующей появлению пик-волновых разрядов (preSWD) на ЭЭГ. Классификация preSWD основана на особенностях частотного состава лобной ЭЭГ. PreSWDn - отсутствие ритмической активности на ЭЭГ, preSWDΔ - хорошо выражены колебания в дельта-диапазоне, preSWDθ - колебания в тета-диапазоне и preSWDα - в альфа-диапазоне.

По данным спектрального анализа (Рис.3.3) в лобной коре у 95% preSWD был обнаружен мощный *дельта*-компонент (1-4 Гц), который мог сочетаться с другими ритмическими компонентами. Дельта-компонент доминировал у 22% предшественников (preSWDΔ). У 38% предшественников (preSWDθ) в дополнение к дельта-компоненту был обнаружен мощный тета-компонент (4—8 Гц), а у 35% - всплеск мощности в диапазоне тета- и альфа (8-14 Гц) частот (preSWDα). У 5% предшественников (preSWDn) ритмические составляющие отсутствовали, и эта небольшая часть preSWD отличалась от остальных предшественников по целому ряду параметров (см.ниже).

ANOVA выявил достоверные различия между 4 типами preSWD по критерию спектральной плотности в лобной коре (Рис.3.4А) [$F_{3,41}=15.4$, $p<0.0001$]. Дальнейший анализ показал, что спектральная плотность PreSWDn во всех исследованных частотных диапазонах была ниже, чем у остальных типов preSWD ($p's<0.05$). Разница между отдельными типами preSWD была статистически значима во всех исследованных частотных диапазонах: *дельта* [$F_{3,14}=13.3$, $p<0.005$], *тета* [$F_{3,14}=3.3$, $p=0.05$] и *альфа* [$F_{3,14}=5.06$, $p<0.005$]. Таким образом, критерии классификации preSWD являлись статистически обоснованными.

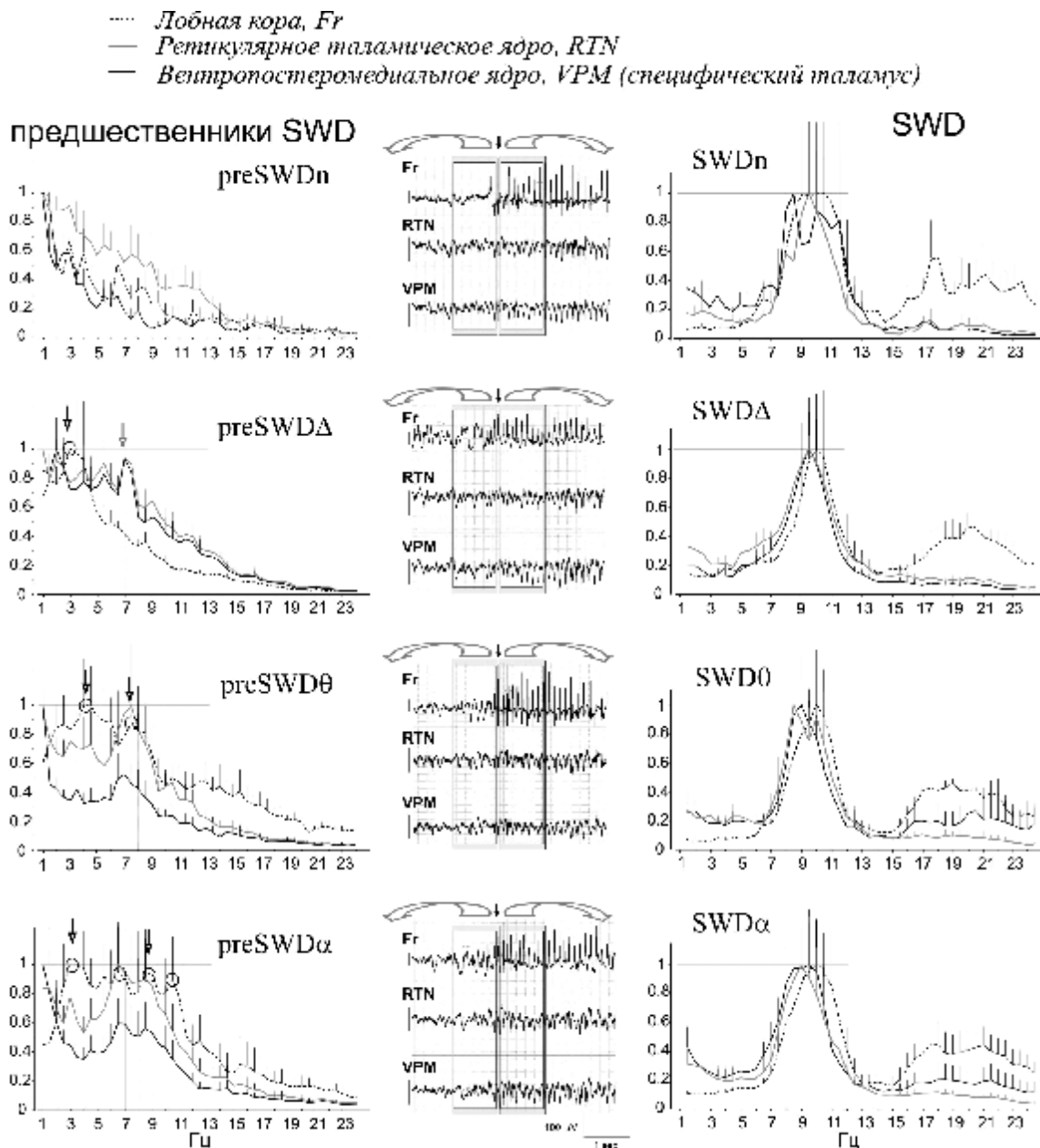


Рис. 3.3. Спектры мощности 1-секундных эпизодов перед началом SWD (preSWD) и следующих за ними SWD (первая секунда после начала). Спектры усреднены по типу preSWD. Классификация учитывала форму лобной ЭЭГ и доминирующую спектральную компоненту: у preSWD Δ доминировал дельта-компонент, у preSWD θ - тета- и у preSWD α - альфа-компонент. PreSWDn характеризовались десинхронизацией ЭЭГ.

Перед началом SWD у крыс линии WAG/Rij отсутствовали 5-9 Гц колебания, описанные у крыс GAERS [Pinault et al., 2001; Pinault, 2003]. Маловероятно, что это несоответствие обусловлено различиями между линиями крыс, поскольку природа пик-волновых разрядов у крыс линии WAG/Rij идентична таковой у крыс GAERS [Depaulis & van Luijtelaaar, 2005]. Возможно, что причина различий кроется в особенностях метода регистрации ЭЭГ (мы использовали монополярную регистрацию), расположении индифферентного электрода, в использовании разных критериев для определения момента начала SWD. В нашем исследовании маркером начала SWD послужил первый пик в последовательности повторяющихся комплексов «пик-волна» (Рис.3.2), в то время как у крыс GAERS момент начала SWD определен не четко.

Наши выводы базируются на данных статистического анализа большого количества SWD, зарегистрированных у крыс в свободном поведении в течение длительного периода времени (5-7 часов). Значительный процент предшествеников разрядов (73% $\text{preSWD}\alpha + \text{preSWD}\theta$) содержал *тета*-компонент, т.е. перед началом большинства SWD у крыс WAG/Rij наблюдался всплеск *тета*-активности, но этот спектральный компонент (*тета*) не имел форму 5-9 Гц ритма, как у крыс GAERS [Pinault et al., 2001]. Помимо *тета*-, большинство preSWD (95%) характеризовались *дельта*-активностью, и по-видимому, одновременное появление *дельта*- и *тета*-компонентов в лобной коре благоприятно для начала SWD.

Известно, что изменения ЭЭГ перед началом SWD у каждого отдельного пациента носят индивидуальный характер [Rodin & Ancheta, 1987; Holmes et al., 2004; Aarabi et al., 2008], и эти изменения могут отражать особенности течения болезни и, возможно, имеют прогностическое значение. Мы не отслеживали индивидуальные вариации предшествеников SWD у наших животных и не исследовали взаимосвязь между ними и интенсивностью судорожной активности. Индивидуальный подход к анализу предшествеников SWD и последующими эпилептическими разрядами может стать предметом будущих исследований.

Предложенная нами схема сопоставима с результатами анализа ЭЭГ, проведенного у больных абсанс-эпилепсией за несколько секунд до начала пик-волновых разрядов [Aarabi et al., 2008]. У человека перед началом SWD наблюдалось следующее:

1) в 14.3% случаев - высокоамплитудная медленноволновая активность [Aarabi et al., 2008], которая у крыс WAG/Rij может соответствовать предшественику с преобладанием *дельта*-компонента на лобной ЭЭГ ($\text{preSWD}\Delta$, 22% от общего числа preSWD);

2) в 5.7% случаев не было найдено отличий от фоновой активности [Aarabi et al., 2008], что может соответствовать preSWDn у крыс WAG/Rij;

3) в 71% случаев – исчезновение ритмических компонентов (*альфа*- или *тета*-) на фоновой ЭЭГ [Aarabi et al., 2008], у крыс WAG/Rij, напротив, наблюдалось увеличение мощности *тета*-компонента 73% ($\text{preSWD}\theta$ и $\text{preSWD}\alpha$ - 38% + 35%);

4) в 8.6% случаев - эпилептиформная активность в виде пиков или одиночных пик-волновых комплексов [Aarabi et al., 2008].

Серьезным отличием между характером preSWD на ЭЭГ человека и крыс (WAG/Rij и GAERS) является разница спектральной мощности в диапазоне *тета(альфа)* частот: низкая мощность *тета(альфа)* у человека и высокая мощность у крыс. Для объяснения этого обстоятельства необходимо учитывать тот факт, что у крыс 5-9 Гц ритмический предшественик SWD формируется в соматосенсорной коре при участии соответствующей области таламуса [Pinault et al., 2006]. Архитектоника соматосенсорной части таламо-кортикальной системы у крыс значительно отличается от таковой у человека. У крыс в этой области формируется соматосенсорный ритм (8-12 Гц), который координирует работу вибротактильного анализатора [Nicoletis et al., 1995; Nicoletis Semba & Komisaruk, 1984]. У человека и этот ритм отсутствует,

поэтому видоспецифические для крыс 5-9 Гц ритмические колебания не являются предвестниками SWD у больных абсанс-эпилепсией.

Основной вывод, сделанный нами на основании представленного материала, состоит в том, что у крыс WAG/Rij началу пик-волновых разрядов предшествуют низкочастотные компоненты ЭЭГ (в диапазоне *дельта* и *тета*- частот). Несколько иные данные были получены у крыс линии GAERS путём спектрального анализа 2-х секундных интервалов ЭЭГ, предшествующих началу эпилептических разрядов [Akman et al., 2010], где было показано повышение мощности ЭЭГ в диапазоне *альфа* частот (8-14 Гц), но не обнаружено изменений в диапазоне *тета* и *дельта* частот. По всей видимости, спектральный анализ имеет низкую чувствительность к коротким эпизодам ритмической активности, имеющим небольшую амплитуду. Кроме того, Akman и соавторы (2010) проводили сравнение пред-эпилептической активности с «фоновой», которой служили периоды бодрствования, возможно, содержавшие *тета*-ритм. Возможно, авторам не удалось обнаружить *тета* и *дельта* компоненты из-за использования биполярных записей (лобное–затылочное отведение), которые несут информацию не о локальных потенциалах, но о разнице между ними. Наши записи ЭЭГ были получены монополярно и они более точно передавали форму локальных потенциалов от лобной коры.

3.4.2. Частотные характеристики предшественников пик-волновых разрядов в коре и в таламусе

Нормированные спектры мощности, представленные на Рис.3.3, позволили оценить качественные различия спектрального состава preSWD в коре (пунктир) и в таламусе (сплошные линии). Таламические спектры у всех preSWD (исключая preSWDn) характеризовались пиком мощности с частотой 6.5-7 Гц (диапазон *тета*), наряду с низкочастотным пиком 1-2 Гц (Табл. 3.4). Мощная *тета*-составляющая во время preSWD была обнаружена на таламических спектрах (обозначено стрелочками на Рис. 3.3), даже когда отсутствовала в коре (preSWDΔ). Таким образом, в таламусе наиболее мощная спектральная составляющая низкочастотных предшественников SWD принадлежала диапазону *тета*-частот, а в коре - диапазону *дельта*.

Анализ спектральной мощности ЭЭГ в лобной, затылочной коре и в таламусе позволил выявить некоторые особенности у разных типов preSWD (Рис. 3.4):

1) В лобной коре различия между спектральными характеристиками разных классов preSWD были наиболее четкими и статистически значимыми; аналогичные тенденции прослеживались и в таламусе, но в затылочной коре различия отсутствовали.

2) Мощный *дельта*-компонент был обнаружен у 95% preSWD. В коре частота *дельта*-компонента preSWD (3-4 Гц) была значимо выше, чем в таламусе (1-2 Гц, Табл. 3.4). Это может свидетельствовать о том, что про-эпилептические компоненты в диапазоне *дельта*-частот формируются в коре и в таламусе независимо друг от друга и могут иметь разное происхождение (подробнее в Разделе 3.5).

3) Нетипичные preSWDn (наблюдавшиеся у 5% SWD) отличались исключительно низкой мощностью во всех полосах частот. В таламусе эти отличия касались только *альфа* диапазона:

мощность *альфа*-компонента у preSWDn была значимо ниже по сравнению с остальными типами preSWD.

4) Мощность *дельта*-компонента preSWD в лобной коре достигала максимального значения у preSWDΔ и убывала в следующем порядке: preSWDΔ » preSWDθ > preSWDα > preSWDn. В затылочной коре и в таламусе мощность *дельта* была одинаковой у всех типов preSWD.

5) Мощность *тета*-компонента в лобной коре у preSWDθ была максимальной и значительно превышала показатели preSWDn, у остальных preSWD мощность *тета* значимо не отличалась от preSWDθ, прослеживалась лишь тенденция к её снижению. В затылочной коре и таламусе мощность *тета* была одинаковой у разных типов preSWD.

6) Мощность *альфа*-компонента в лобной коре у разных типов preSWD значимо отличалась в следующем соотношении: preSWDθ » preSWDα > preSWDΔ > preSWDn. В таламусе прослеживались сходные тенденции. В затылочной коре у всех типов preSWD мощность *альфа* компонента была одинаковой.

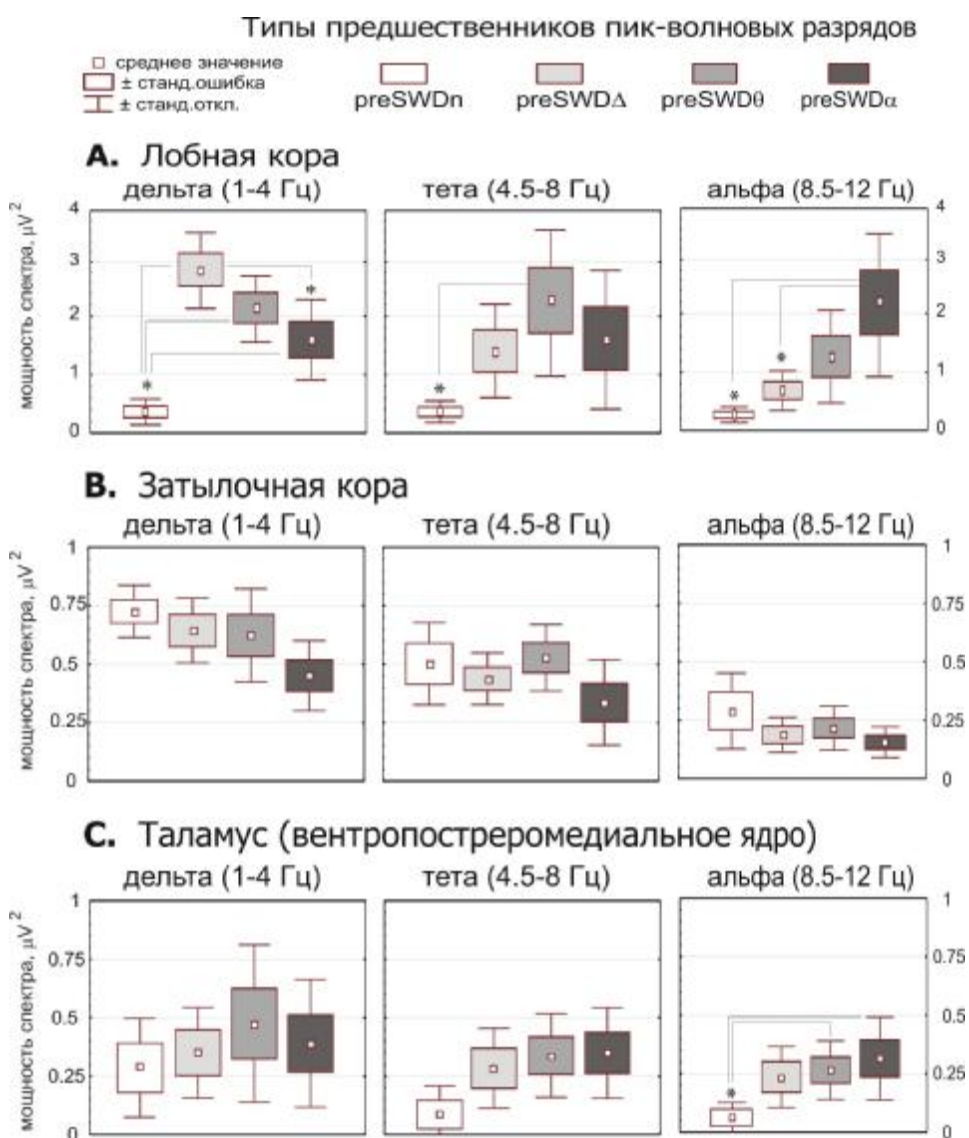


Рисунок 3.4. Результаты статистического анализа спектральной мощности preSWD, проведенного в коре и таламусе в трех традиционных диапазонах частот. Звездочки обозначают значимые различия по данным *post-hoc* теста.

Таблица 3.4. Средние значения пиков мощности пик-волновых разрядов (SWD) и их предшественников (preSWD), зарегистрированных в лобной коре и в таламусе (VPM - вентропостеромедиальное ядро, RTN - ретикулярное ядро), Гц.

Тип предшественника	% от общ. числа SWD	Предшественники SWD			Тип SWD	SWD		
		Лобная кора	Таламус			Лобная кора	Таламус	
			VPM	RTN			VPM	RTN
preSWD _n	5	Пики отсутствуют (десинхронизация ЭЭГ)			SWD _n	9-10.5	8.5; 10.0; 11.5	9.5
preSWD _Δ	22	3.0	2.0; 7.0	2.0; 7.5	SWD _Δ	10.0	9.0	9.0
preSWD _θ	38	4.0-4.5; 7.5	1.0; 7.0	1.0; 7.5	SWD _θ	10.0	9.0	8.5; 10.0
preSWD _α	35	3.0; 6.5; 9.0; 10.5	1.0; 6.5-7.0; 9.0	1.0; 6.5	SWD _α	10.0-10.5	8.5-9.5	9.0

Таким образом, различия спектрального состава между 4-я типами preSWD, которые мы выделили в лобной коре, оказались не столь явными в таламусе. Возможно, что многообразие форм спектров мощности preSWD, которое мы наблюдали в лобной коре, является результатом внутрикортикальных процессов при минимальном участии таламуса. Подтверждением тому служит низкий уровень синхронизации между лобной корой и таламусом во время preSWD (значение "таламо-кортикальной" когерентности во время preSWD составляла 0.05-0.1, Раздел 3.4.4).

3.4.3. Изменение частотных характеристик ЭЭГ при переходе от предшественников к пик-волновым разрядам

Спектры мощности preSWD в лобной коре отличались по форме от таламических спектров, что может свидетельствовать о низкой согласованности ритмической активности в этих структурах (Рис. 3.3). Однако через 1 секунду после перехода от preSWD к SWD, подобие спектров значительно возросло благодаря появлению мощного 8-10 Гц компонента в таламических и кортикальных отведениях (Рис. 3.3).

Частота пик главного спектрального компонента SWD в лобной коре составила ~10 Гц, в то же время в таламусе пиковая частота SWD была ниже, 8.5-9 Гц (Табл. 3.4), эта разница (~1 Гц) была статистически значимой и сохранялась у всех типов preSWD. Возможным объяснением этому наблюдению служат особенности ритмической активности таламуса и его взаимодействие с корой в процессе развития SWD. Известно, что (1) кора играет ведущую роль в инициации SWD и определяет частоту ритмической активности таламо-кортикальной сети в течение первых 500 мс после начала разряда и дольше [Meegen et al., 2002]; (2) в соматосенсорной коре перед началом SWD формируется 5-9 Гц ритмическая активность, развитие которой требует участия таламуса [Pinault, 2003, 2006]; (3) при появлении SWD частота ритмической активности в коре возрастает до 12(16) Гц и затем снижается к концу эпилептического разряда до 5-7 Гц [Bosnyakova et al., 2007; Sitnikova et al., 2010]. Таким образом, более быстрый ритм (< 12 Гц) формируется в коре во время инициации SWD, а таламус оказывается "ведомой" структурой, пассивно воспринимающей более быстрый ритм, навязанный корой, и преобразующей его

частоту до более низкого (устойчивого) значения - 5-9 Гц. Вследствие этого, частота SWD в лобной коре (~10 Гц) оказывается выше, чем в таламусе 8.5-9 Гц у SWD всех типов, не зависимо от типа предшественника (preSWD).

Факторный анализ выявил зависимость между спектральными характеристиками preSWD и последующих SWD (Рис. 3.5). Эта зависимость была обнаружена в лобной коре, проявлялась в таламических ядрах и отсутствовала в затылочной коре и проявлялась в следующем:

1) SWD θ в лобной коре характеризовалась минимальными значениями мощности *дельта*-компонента (значимо ниже, чем у других типов SWD).

2) SWD Δ в лобной коре имели минимальную мощность *тета*-компонента по сравнению с другими типами SWD.

3) SWD α в лобной коре и таламусе продемонстрировали максимальную мощность *альфа*-компонента (значимо выше, чем у других типов SWD).

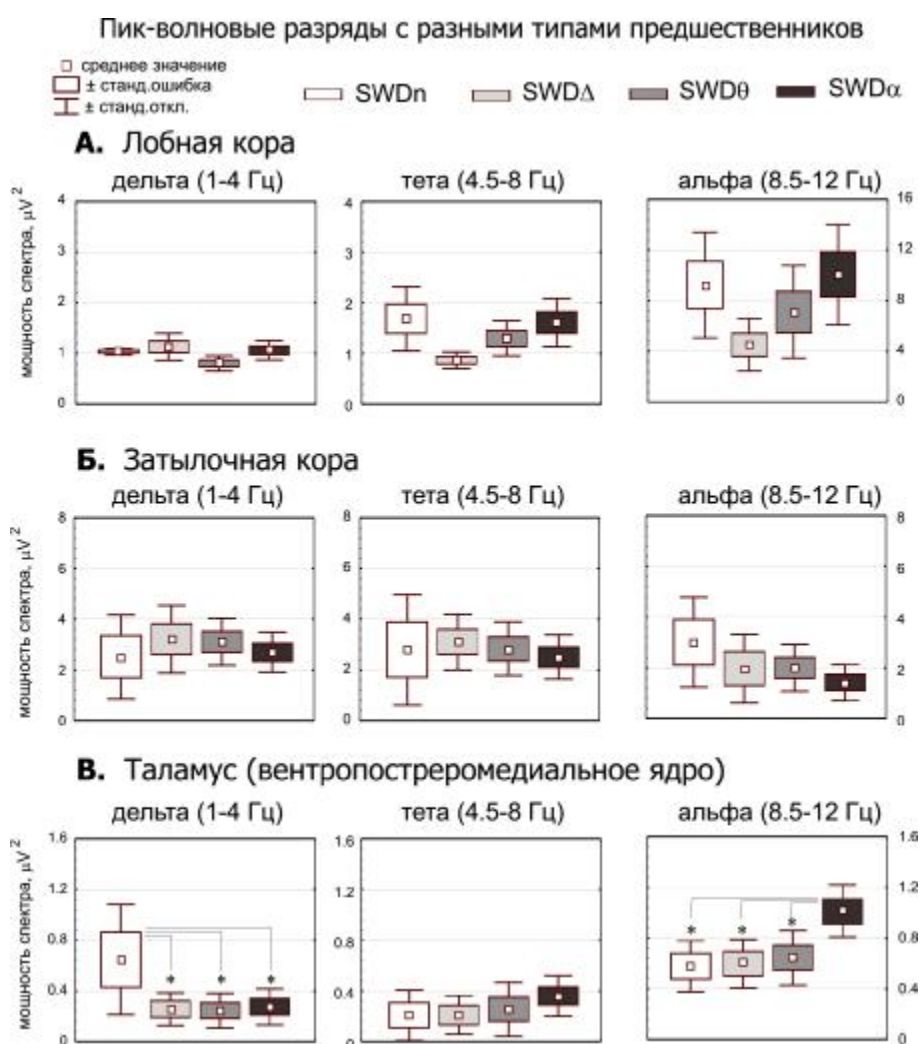


Рис. 3.5. Результаты статистического анализа спектральной мощности SWD, предшественники которых относились к разным типам (Рис. 6.3). Показаны усредненные значения спектральной мощности в коре и таламусе в трех традиционно выделяемых диапазонах частот. Звездочки обозначают значимые различия по данным *post-hoc* теста.

В лобной коре (Рис. 3.5А) у всех типов preSWD (кроме SWDn) обнаружена сходная картина изменений спектральной плотности при переходе preSWD→SWD: увеличение мощности *альфа*-

частот и снижение мощности в *дельта* и *тета* диапазонах (за исключением $preSWD\alpha$ - при переходе $preSWD\alpha \rightarrow SWD\alpha$ мощность *дельта-тета* частот не изменилась).

В таламусе (Рис. 3.5B) увеличение мощности *альфа*-частот наблюдалось при переходе $preSWD\alpha \rightarrow SWD\alpha$ и $preSWDn \rightarrow SWDn$, в то время как процесс перехода $preSWD\theta \rightarrow SWD\theta$ и сопровождался снижением мощности *тета*-компонента, а переход $preSWD\Delta \rightarrow SWD\Delta$ - снижением мощности *тета*- и *дельта*-компонентов.

Таким образом, спектральные свойства SWD лишь в некоторой степени зависели от свойств их предшественников. В частности, $SWD\alpha$, предшественники которых ($preSWD\alpha$) отличались высокой *альфа*-активностью, продемонстрировали более высокую, чем у других SWD, мощность *альфа*-компонента в лобной коре и в таламусе. Несмотря на то, что в спектре предшественников $SWD\Delta$ ($preSWD\Delta$) доминировал *дельта*-компонент, $SWD\Delta$ не отличались от остальных SWD по мощности *дельта*, но отличались низкой мощностью в *тета*- и *альфа*-диапазонах.

3.4.4. Синхронизация таламо-кортикальной сети при появлении пик-волновых разрядов с разными типами предшественников

Для анализа были использованы 2-секундные интервалы ЭЭГ, включающие $preSWD$ длительностью 1 с и следующие за ними SWD (первая секунда эпилептической активности, Рис. 3.1). Проводили расчет функции когерентности в диапазоне частот от 0.5 до 31.5 Гц с шагом 0.5 Гц. Значение функции когерентности варьировало от 0 - отсутствие синхронизации до 1 - максимальный уровень синхронизации. В процессе статистической обработки результатов значения когерентности были усреднены в частотных полосах шириной 1.5 Гц.

Внутриталамическая когерентность между RTN и VPM (Рис. 3.6B) была использована для оценки уровня таламо-таламической синхронизации, которая у всех типов $preSWD$ была довольно высокой (значение когерентности 0.8 и выше). Следовательно, активность RTN и VPM продемонстрировали высокий уровень синхронизации ещё до начала SWD. Появление SWD сопровождалось небольшим ростом значений таламо-таламической когерентности, который достиг уровня статистической значимости у $preSWDn \rightarrow SWDn$ (в полосе частот 8-11 Гц) и у $preSWD\Delta \rightarrow SWD\Delta$ (в полосе частот 9.5-12.5 Гц).

Интересно, что процесс $preSWD\Delta \rightarrow SWD\Delta$ сопровождался значимым снижением внутриталамической когерентности в диапазонах частот 3.5-5 Гц, 15.5-17 Гц и 26-31.5 Гц. Практически во всех случаях переход $preSWD \rightarrow SWD$ сопровождался тенденцией к снижению когерентности в низкочастотном диапазоне до 8 Гц.

Внутрикортикальная (лобно-затылочная) когерентность во время $preSWD$ продемонстрировала низкие значения (от 0.05 до 0.1, Рис. 3.6A). Это соответствует данным, полученным при исследовании ЭЭГ/МЭГ у больных абсанс-эпилепсией: до начала пик-волновых разрядов синхронизация между отдаленными областями коры оставалась низкой и иногда её уровень падал ниже фоновых значений [Aarabi et al., 2008; Amor et al., 2009]. По нашим данным, лобно-затылочная когерентность у $preSWDn$ (максимум 0.4, среднее 0.1—0.25) была выше, чем у

остальных типов preSWD (максимум 0.2, среднее 0.05—0.1). Во всех случаях переход от preSWD к SWD сопровождался ростом лобно-затылочной когерентности в диапазоне бета-частот (17.5—21.5 Гц). Кроме того, обнаружен рост когерентности в диапазоне альфа-частот при переходе preSWD_n→SWD_n (11-12.5 Гц) и preSWD Δ →SWD Δ (11-14 Гц). Интересно, что процесс перехода preSWD α →SWD α не сопровождался увеличением когерентности в *альфа*-диапазоне. В целом, процесс preSWD→SWD характеризовался небольшим увеличением лобно-затылочной когерентности в диапазоне главной частоты SWD (8-10 Гц) и более значимым увеличением когерентности в *бета*-диапазоне, т.е. на частоте высших гармоник SWD: первой гармоники (16-20 Гц) и второй (24-30 Гц).

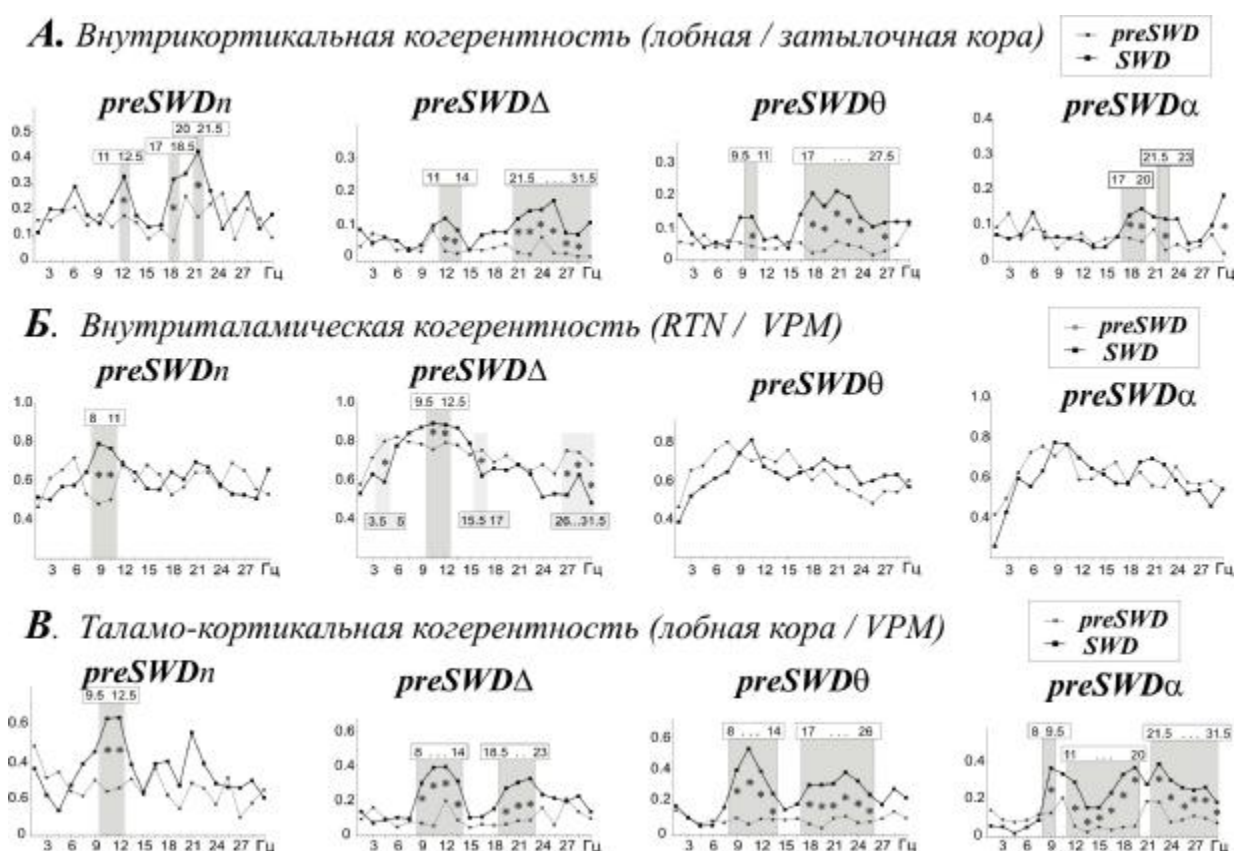


Рис. 3.6. Спектры функции когерентности (шаг 1.5 Гц), характеризующие процесс синхронизации таламо-корткальной сети перед началом пик-волновых разрядов (preSWD) и в течение первой секунды после начала разрядов (SWD). Звездочками и затемнением обозначены значимые различия ($p < 0.05$).

Таламо-корткальная когерентность (Рис. 3.6B) у всех типов preSWD была довольно низкой (0.1-0.2) за исключением preSWD_n, у который эти значения были в 2 раза выше (0.2-0.4). Появление SWD сопровождалось ростом значений *таламо-корткальной* когерентности до среднего уровня 0.4—0.6, что в два раза выше внутрикорткальной когерентности (0.2-0.4). Когерентность между *лобной корой* и VPM при переходе preSWD→SWD продемонстрировала значительный рост в диапазоне *альфа*- и *бета*-частот. Отличительным признаком SWD_n (5% от общего числа разрядов) было увеличение значений когерентности в узкой полосе частот 9-12.5 Гц, при этом когерентность в *бета*-диапазоне не изменилась. У остальных 95% preSWD при

переходе к SWD был обнаружен значимый рост когерентности в паре □ лобной кора - VPM □ в широкой полосе частот диапазона *бета* (выше 17 Гц).

Таким образом, выделенные нами 4 типа preSWD имели разный частотный состав, но мало отличались по характеру синхронизации таламо-кортикальной сети. При переходе preSWD→SWD все типы preSWD характеризовались сходными изменениями уровня синхронизации. Когерентность между таламическими ядрами (RTN и VPM) во время preSWD была высокой и мало изменилась при появлении SWD. Когерентность между лобной корой и таламусом была ниже, чем в паре 'RTN-VPM', но при появлении SWD наблюдался значительный рост 'лобно-таламической' когерентности в диапазоне 8-14 Гц, и более высоких частот (>17 Гц). Когерентность между лобной и затылочной корой во время preSWD была минимальной и продемонстрировала умеренный рост при переходе preSWD→SWD преимущественно в бета-диапазоне (>14 Гц).

3.4.5. Частотно-временная структура пик-волновых разрядов и их предшественников в коре и в таламусе (вейвлетный анализ)

Для вейвлетного анализа на ЭЭГ были выделены 3-секундные интервалы, предшествовавшие началу пик-волновых разрядов. Исследовали активность лобной коры и релейного ядра таламуса VPM; для частотно-временного представления сигналов использовали вейвлетные спектры и скелетоны вейвлетной поверхности (Рис. 3.7). Скелетоны вейвлетной поверхности (Рис 3.7, нижний график) отображали динамику локальных максимумов на вейвлетной поверхности и давали наглядное представление о динамике основных частот сигнала ЭЭГ.

Перед началом SWD можно выделить две низкочастотных составляющих: в диапазоне *тета/альфа* (1 на Рис.3.7) и *дельта* (2 на Рис.3.7). Критерием для выделения этих ритмических компонентов на ЭЭГ послужило увеличение энергии вейвлетного спектра более чем в 2 раза по сравнению с фоновой ЭЭГ, которое длилось более 0.3 с в интервале времени от 3 до 0.1 с до начала SWD.

Рис.3.8 иллюстрирует процедуру идентификации предшественников SWD на вейвлетном спектре ЭЭГ, зарегистрированной в лобной коре и таламусе у крысы WAG/Rij. Показаны случаи, когда характер ритмических компонентов, предшествующих SWD в лобной коре и в таламусе различался.

Для статистического анализа были использованы данные ЭЭГ, полученные у 6-и крыс WAG/Rij в возрасте 11-12 месяцев, от 50 до 100 SWD у каждого животного.

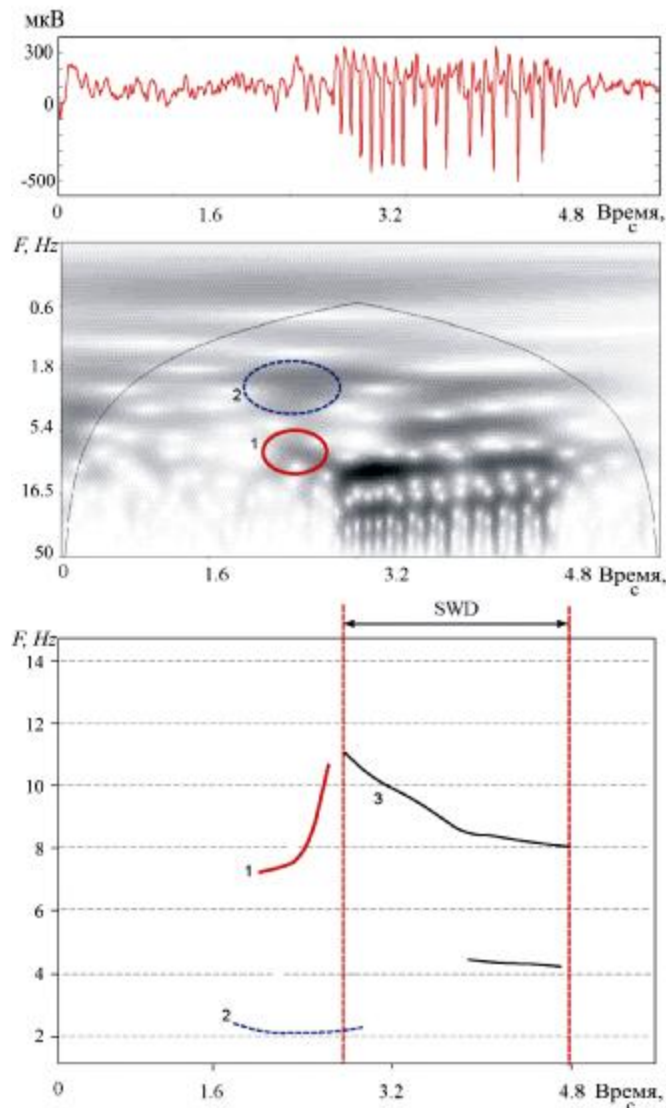


Рис. 3.7. Пик-волновый разряд (SWD) и предшествующая ему активность на лобной ЭЭГ у крысы WAG/Rij (возраст 11 месяцев), вейвлетный спектр данного участка ЭЭГ и скелетон вейвлетной поверхности. Вертикальными штриховыми линиями показаны моменты начала и окончания пик-волнового разряда. Цифрами обозначены следующие компоненты: 1 - тета-предшественник SWD, 2 - дельта-предшественник SWD, 3 - динамика основной частоты SWD.

Исследования лобной ЭЭГ показали, что *дельта*-компонент предшествовал появлению ~90% пик-волновых разрядов, *тета/альфа*-компонент – ~92% (Табл. 3.5). Средняя длительность предшественников составляла примерно полсекунды. В 89% случаев перед началом SWD обнаруживали оба компонента *дельта* и *тета/альфа*. Лишь у 5% SWD ритмические предшественники на ЭЭГ отсутствовали, т.е. эти разряды появлялись на ЭЭГ на фоне десинхронизации. Это полностью совпадает с результатами спектрального анализа ([Sitnikova & van Luijtelaar, 2009], Раздел 3.4.1), где десинхронизация была обнаружена перед началом примерно 5% SWD (preSWDn).

В таламусе (VPM) *дельта*- и *тета/альфа*-компоненты были обнаружены перед началом у примерно одинакового числа SWD (~82%), для обоих типов предшествеников эти проценты были значимо ниже, чем в лобной коре ($p < 0.05$, парный критерий Вилкоксона).

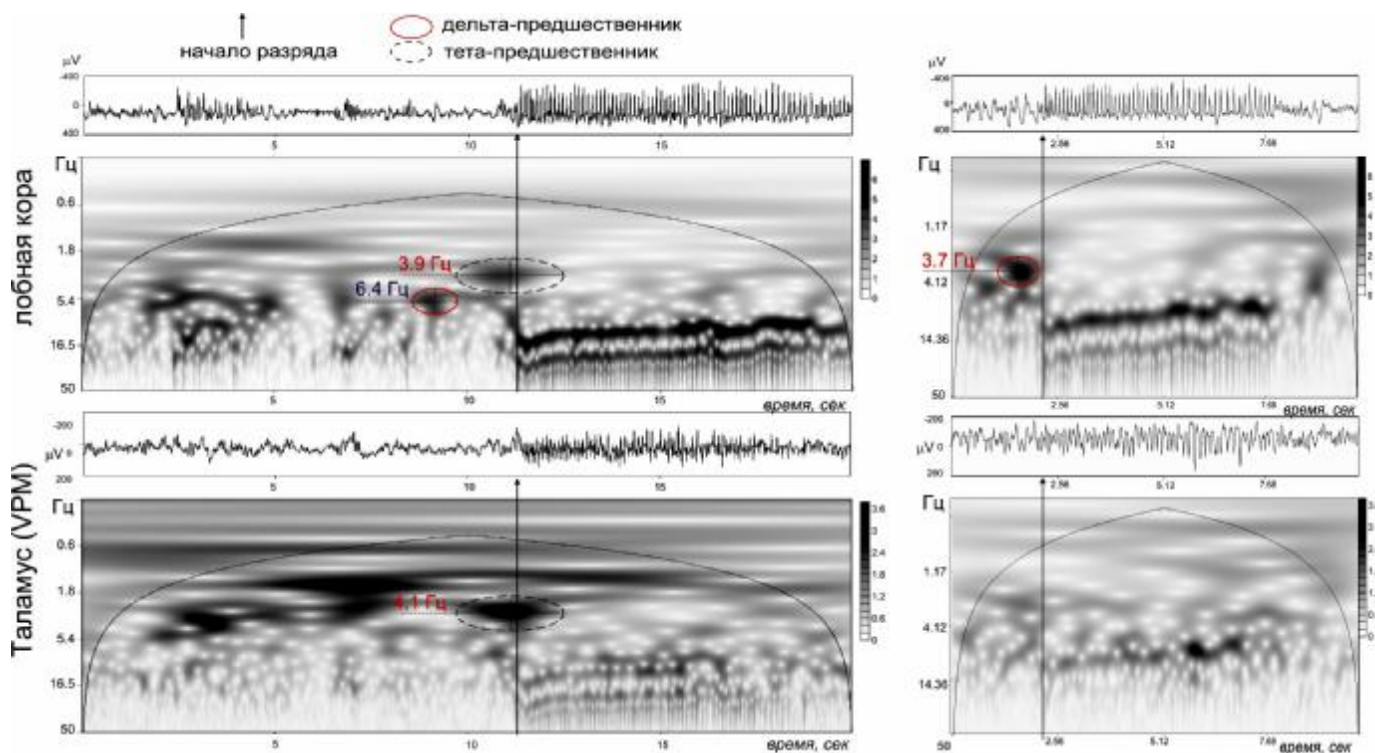


Рис. 3.8. Результаты вейвлетного преобразования сигналов ЭЭГ, зарегистрированных в коре и таламусе крысы WAG/Rij (возраст 11 месяцев). Начало пик-волновых разрядов обозначено стрелами. Слева показан пик-волновый разряд, перед началом которого в коре можно обнаружить короткие эпизоды *дельта*- (3.9 Гц) и *тета*-активности (6.4 Гц), в таламусе - мощный всплеск *дельта*-активности (4.1 Гц). На правом рисунке пик-волновый разряд характеризуется *дельта*-предшественником (3.7 Гц) в коре при отсутствии ритмической активности в таламусе [статья van Luijtelaaar et al., 2011].

Обнаружены значимые отрицательные корреляции между частотой и длительностью *дельта*-предшественников в лобной коре ($r = -0.89$, $p < 0.05$), т.е. чем выше частота *дельта*-компонента, тем он короче. Эту корреляцию можно объяснить существованием некоего гипотетического механизма, обрывающего *дельта*-предшественник, частота которого оказывается слишком высокой. У *тета/альфа*-предшественников подобные корреляции отсутствовали. Длительность задержки между *дельта*-компонентом и последующим SWD в коре составила 0.48 ± 0.04 с, что значимо выше, чем в таламусе - 0.38 ± 0.04 с ($p < 0.001$). *тета/альфа*-компонент обнаруживался в коре и в таламусе практически одновременно.

Корреляция между значениями частоты *тета/альфа*-предшественников в лобной коре и таламусе (fd) была высокой и статистически значимой (0.98 , $p < 0.01$), т.о. частотные характеристики этого ритмического компонента в коре и таламусе совпадали, что предполагает одновременное участие таламуса и коры в поддержании *тета/альфа*-компонента preSWD. Корреляции между значениями частот *дельта*-предшественников (ft) в лобной коре и в таламусе отсутствовали (0.60 , $p > 0.05$), что предполагает определенную независимость кортикальной и таламической частей в отношении *дельта*-компонента preSWD.

Таблица 3.5. Частотно-временные характеристики ритмических компонентов на ЭЭГ, предшествующих началу пик-волновых разрядов (среднее± станд.откл.)

ID крысы	Частота фоновой ЭЭГ, Гц	3-5 Гц компонент			7-11 Гц компонент		
		%	Частота fd , Гц	Длительн., MDd, с	%	Частота, ft , Гц	Длительн., MDt, с
Лобная кора							
1	9.6±0.2	89	4.7 ±0.6	0.43 ±0.04	93	10.2 ±0.8	0.39 ±0.06
2	6.6±0.2	88	3.2 ±0.4	0.52 ±0.02	89	7.6 ±2.1	0.48 ±0.03
3	7.4±0.2	93	4.2 ±0.7	0.48 ±0.02	87	7.9 ±0.6	0.45 ±0.05
4	8.0±0.2	87	3.7 ±0.8	0.52 ±0.05	92	8.2 ±1.2	0.54 ±0.08
5	6.8±0.2	89	4.1 ±0.5	0.51 ±0.10	95	8.5 ±1.0	0.48 ±0.06
6	7.4±0.2	92	4.6 ±0.5	0.44 ±0.03	96	9.3 ±1.1	0.41 ±0.02
Среднее	7.6±0.2	89.7 ±2.3	4.1 ±0.6	0.48 ±0.04	92 ±1.4	8.6 ±1.0	0.46 ±0.05
Таламус, VPM							
1	9.6±0.2	87	5.3 ±1.0	0.41 ±0.06	89	9.9 ±0.7	0.42 ±0.05
2	6.6±0.2	86	3.0 ±0.4	0.54 ±0.04	84	7.7 ±1.8	0.54 ±0.03
3	7.4±0.2	89	3.9 ±0.6	0.50 ±0.05	79	8.1 ±0.7	0.51 ±0.06
4	8.0±0.2	81	5.1 ±1.0	0.62 ±0.08	83	8.1 ±1.0	0.58 ±0.09
5	7.7±0.2	85	4.4 ±0.7	0.48 ±0.09	88	8.2 ±1.0	0.49 ±0.06
6	7.4±0.2	62	4.3 ±0.6	0.45 ±0.06	72	9.3 ±0.9	0.43 ±0.04
Среднее	7.8±0.2	81.7 ±9.9	4.3 ±0.8	0.50 ±0.07	82.5 ±6.2	8.5 ±0.8	0.50 ±0.06

В качестве контроля были выделены 10-секундные периоды ЭЭГ без артефактов и без SWD во время наиболее характерных поведенческих состояний животных: активное бодрствование (наличие затылочного тета-ритма), пассивное бодрствование (десинхронизация без тета-ритма), неглубокий медленноволновый сон (наличие сонных веретен) и глубокий медленноволновый сон (наличие дельта-волн). У каждого животного анализировали от 6 до 12 контрольных эпизодов ЭЭГ в каждом из вышеназванных состояний. В Табл. 3.6 указаны следующие параметры:

(1) Общее число эпизодов *дельта*-активности, длительность которых превышала 0.3 с (Nd) и среднее число таких эпизодов за секунду (Nd/T , где T - длительность контрольного периода = 10 с). Средняя частота *дельта*-компонентов (fd , Гц).

(2) Эти же параметры исследованы у *тета/альфа*-компонентов: число эпизодов *тета/альфа*-активности (Nt) и их среднее число за 1 с (Nt/T , где $T=10$ с). Средняя частота *тета/альфа*-компонентов [ft , Гц].

(3) Число случаев совместного появления *дельта*- и *тета/альфа*-компонентов (G). Процент сочетанного появления *дельта+тета* (K) от общего числа *дельта*- и *тета/альфа*-компонентов ($K = G / (Nt+Nd)$).

Таблица 3.6. Параметры *дельта*- и *тета/альфа*-компонентов на контрольных участках ЭЭГ, зарегистрированной в коре и таламусе (среднее \pm станд.ошиб.средн.)

	Характеристики <i>дельта</i> -активности			Характеристики <i>тета/альфа</i> -активности		
	Число эпизодов, Nd	Число за 1 с, Nd/T	Частота, fd , Hz	Число эпизодов, Nt	Число за 1 с, Nt/T	Частота, ft , Hz
Лобная кора						
Активное бодрствование	4.3 ± 0.3	0.11 ± 0.01	3.6 ± 0.2	14.2 ± 1.2	0.35 ± 0.03	7.6 ± 0.3
Пассивное бодрствование	9.0 ± 1.0	0.23 ± 0.02	3.4 ± 0.3	7.8 ± 1.9	0.2 ± 0.05	7.8 ± 0.5
Медленно-волновый сон	12.3 ± 1.5	0.31 ± 0.04	3.8 ± 0.2	4.2 ± 0.7	0.1 ± 0.13	7.9 ± 0.5
Глубокий сон	14.7 ± 1.3	0.37 ± 0.03	3.5 ± 0.3	5.3 ± 1.1	0.13 ± 0.03	7.5 ± 0.3
Таламус						
Активное бодрствование	3.5 ± 0.4	0.09 ± 0.01	3.5 ± 0.3	12.5 ± 1.6	0.32 ± 0.04	7.7 ± 0.9
Пассивное бодрствование	8.0 ± 1.1	0.20 ± 0.03	3.5 ± 0.3	7.3 ± 1.9	0.18 ± 0.05	8.0 ± 1.0
Медленно-волновый сон	11.3 ± 1.1	0.28 ± 0.03	3.6 ± 0.2	3.8 ± 0.8	0.10 ± 0.02	7.9 ± 1.4
Глубокий сон	13.3 ± 1.5	0.33 ± 0.04	3.8 ± 0.3	5.0 ± 1.0	0.13 ± 0.03	8.4 ± 1.5

В состоянии активного бодрствования *дельта* и *тета* компоненты присутствовали на ЭЭГ одновременно на протяжении 8.6% времени. Во время глубокого сна этот процент был ниже - около 2.2%, во время поверхностного сна и во время пассивного бодрствования - выше, 9.3% и 12.9% соответственно. Таким образом, наибольший процент сочетанного появления *дельта*- и *тета/альфа*-компонентов на ЭЭГ наблюдался во время пассивного бодрствования и поверхностного сна. Это полностью согласуется с литературными данными: как известно, именно эти состояния служат наиболее благоприятным фоном для возникновения пик-волновых разрядов у крыс WAG/Rij [Drinkenburg et al., 1991]: 33% от общего числа эпилептических разрядов появляется в состоянии пассивного бодрствования и 48% - во время неглубокого сна.

С позиции неврологии, одновременное появление *дельта*- и *тета/альфа*-компонентов на ЭЭГ перед началом гиперсинхронных разрядов (SWD), можно охарактеризовать как состояние повышенной «судорожной готовности» [Ситникова и др., 2011]. Это состояние формируется под влиянием совокупности разнообразных факторов, контролирующих процессы возбудимости в таламо-кортикальной системе, а также внешних факторов (медикаментозное вмешательство, изменение длительности и качества сна и т.п.). До тех пор, пока не будут изучены механизмы формирования «судорожной готовности», предсказание пик-волновых разрядов будет чрезвычайно трудной задачей.

Заключение

В этом разделе представлены результаты частотно-временного анализа электрической активности лобной коры и таламуса перед началом пик-волновых разрядов у крыс WAG/Rij.

По данным спектрального анализа, предшественники пик-волновых разрядов (preSWD) были разделены на 4 типа с учетом спектральной составляющей, преобладающей на лобной ЭЭГ: *дельта*-компонент (1-4 Гц) доминировал у 22% предшественников (preSWD Δ), *тета*-компонент (4—8 Гц) - у 38% preSWD θ , *альфа*-компонент (8-14 Гц) - у 35% частот (preSWD α) и 5% предшественников (preSWD n) ритмические составляющие отсутствовали.

Анализ когерентности показал, что выделенные типы preSWD мало отличались по характеру синхронизации таламо-кортикальной сети. Различия между разными типами preSWD прослеживались в лобной коре, но отсутствовали в таламусе, следовательно, разнообразие спектрального состава preSWD могло быть результатом внутрикортикальной активности (без участия таламуса). Подтверждением тому служит низкий уровень синхронизации лобной корой и таламусом во время preSWD.

По данным вейвлетного анализа, перед началом SWD в коре и в таламусе крыс WAG/Rij наблюдались короткие эпизоды ритмической активности в диапазоне *дельта* и *тета* частот. Сочетанное появление *дельта*- и *тета/альфа*-компонентов было нетипичным для фоновой ЭЭГ, оно характеризует особое состояние таламо-кортикальной сети перед началом SWD ("судорожная готовность").

Перед началом SWD *дельта*-компонент появлялся в лобной коре на ~100 мс раньше, чем в таламусе. Высказано предположение, что *дельта*-компонент preSWD имеет кортикальное происхождение и служит триггером для эпилептических разрядов. Следующий раздел раскрывает возможные механизмы формирования про-эпилептических *дельта*- и *тета/альфа*-компонентов на ЭЭГ перед началом пик-волновых разрядов.

3.5. Природа про-эпилептической активности перед началом пик-волновых разрядов

В предыдущем разделе мы обнаружили, что ритмический предшественник SWD у крыс WAG/Rij представлен более широким набором частот по сравнению с крысами GAERS (5-9 Гц) [Pinault et al., 2001]. Перед началом SWD у крыс WAG/Rij наблюдаются короткие эпизоды ритмической активности в диапазоне от 3 до 12 Гц, которая соответствует не только на *тета*- (5-9 Гц, как у крыс GAERS), но и *дельта*- и *альфа*-диапазону. Настоящий раздел посвящен таламо-кортикальным механизмам формирования медленно-волновых *дельта*- и *тета/альфа*-предшественников SWD.

3.5.1. Медленно-волновый предшественник (*дельта*)

Результаты исследований, изложенные в предыдущем Разделе 3.4, свидетельствуют о существовании особой формы *дельта*-активности на ЭЭГ, предшествующей появлению SWD

[Sitnikova & van Luijtelaar, 2009; van Luijtelaar et al., 2011, 2011a]. Панее Bosnyakova и др. (2007) с помощью вейвлетного анализа ЭЭГ описали частотно-временную структуру SWD у крыс WAG/Rij и обнаружили высокоамплитудную медленно-волновую активность в диапазоне *дельта* перед началом эпилептических разрядов. Авторы не придали значения этому феномену и не остановились на его деталях, поскольку это выходило за рамки их исследования. Известно, что *дельта*-активность может формироваться как в коре, так и в таламусе¹⁴, и, в соответствии с природой, её разделяют на два типа: кортикальный и таламический [Steriade, 2002].

"Таламический" тип *дельта*-активности (1-4 Гц) является электрографическим отражением фазы гиперполяризации таламических нейронов, которые способны генерировать пачки импульсов в состоянии сна (этот тип импульсной активности называется "*burst firing*") [Steriade et al., 1993; Coenen et al., 1995; Avanzini et al., 2000]. "Таламический" *дельта*-компонент формируется в то время, когда фаза гиперполяризации охватывает одновременно большую популяцию таламических нейронов (фаза "молчания" нейронов).

Нейроны релейных ядер таламуса получают мощное гиперполяризующее влияние со стороны ГАМК-эргических нейронов ретикулярного таламического ядра (RTN), а у грызунов и других низших млекопитающих тормозные нейроны RTN являются единственным источником торможения таламических нейронов, поскольку специфические ядра таламуса не содержат интернейронов (за исключением латерального коленчатого тела) и лишены внутреннего торможения [Jones, 1985]. Мы высказали предположение [van Luijtelaar et al., 2011a], что "соматосенсорный" сектор ретикулярного ядра таламуса (специфическая область RTN, иннервируемая соматосенсорной корой) у крыс со склонностью к абсанс-эпилепсии получает более мощную, чем у здоровых животных, возбуждательную афферентацию от гипервозбудимой коры. Как следствие, нейроны этой части RTN оказывают более мощное тормозное влияние на нейроны соответствующей области специфического таламуса. Это создает предпосылки для формирования более длительной и более глубокой фазы гиперполяризации специфического таламуса (соматосенсорных ядер). Несмотря на то, что таламический *дельта*-компонент формируется при участии коры, по нашим данным он вторичен по отношению к кортикальной *дельта*-активности, поскольку 1) в отличие от таламического, кортикальный *дельта*-компонент наблюдается у большего числа SWD и 2) таламический *дельта*-компонент появляется с ~100 мс задержкой по отношению к кортикальному. Появление *дельта*-активности в коре до начала пикового разряда может служить своеобразным триггером, при срабатывании которого таламо-кортикальная сеть переходит в режим генерации гиперсинхронного эпилептического ритма.

Кортикальная *дельта*-активность имеет локальное происхождение и не исчезает после удаления таламуса [Steriade, 2002]. Долгое время нейронные механизмы кортикальной *дельта*-активности оставались на уровне гипотез. Одна из гипотез предполагает, что кортикальная *дельта*-активность, также как и таламическая, является отражением фазы гиперполяризации нейронов со спонтанной пачечной активностью (*intrinsically bursting neurons*, IB) [Amzica &

¹⁴ см. подробнее в статье М. Vazhenov, I. Timofeev 'Thalamocortical oscillations' Scholarpedia, 2006; 1(6):1319. http://www.scholarpedia.org/article/Thalamocortical_oscillations

Steriade, 1998]. Что касается ионных механизмов гиперполяризации мембраны ритмически разряжающихся нейронов (*IB* нейронов неокортекса и/или нейронов таламуса, обладающих "пачечной" активностью), то в её основе лежит взаимодействие двух ионных токов: низкопорогового Ca^{2+} тока (I_T) и входящего Na^+ тока, активируемого гиперполяризацией мембраны (I_h). Пачечная активность нейронов обусловлена особыми свойствами ионных каналов клеточной мембраны, активация которых препятствует нахождению клетки в состоянии покоя. Неустойчивость потенциала клеточной мембраны у ритмически разряжающихся нейронов приводит к переключению между состоянием деполяризации и гиперполяризации. Так на фоне деполяризации формируется последовательность быстрых Na^+/K^+ потенциалов действия, за которой следует гиперполяризация. В состоянии гиперполяризации активируется особый тип натриево-калиевого деполяризующего ионного тока (*h*-ток), который поступает в клетку через ионные *h*-каналы (*I_h*) [McCormick & Pape, 1990]. Иными словами, медленно-волновая *дельта*-активность формируется в нейронных ансамблях, в состав которых входят пейсмекерные нейроны, функции которых реализуются посредством *I_h*-каналов.

I_h-каналы играют ключевую роль в формировании пейсмекерных свойств нейронов центральной нервной системы: они регулируют возбудимость мембран периодически разряжающихся нейронов [Chen et al., 2002]. Как известно, *I_h*-каналы состоят из 4 типов белковых субъединиц HCN_{1-4} , активируются при гиперполяризации мембраны, имеют общее направление деполяризующего входящего тока *I_h* и медленную скорость активации [Poolos, 2005; Poolos, 2006]. В ЦНС наиболее распространены два подтипа HCN : HCN_1 , экспрессирующиеся в коре и гиппокампе, и HCN_2 - в таламусе. Эти подтипы имеют разную кинетику, разные системы вторичных мессенджеров и регулируют разные функции головного мозга. *I_h*-каналы у ритмически разряжающихся нейронов коры и таламуса состоят из разных субъединиц (HCN), и их свойства существенно различаются. При синхронизации кортикальных нейронов формируется *дельта*-активность, свойства которой отличается от свойств таламической *дельта*-активности.

Как известно, нарушения в работе ионных *h*-каналов являются патогенетическим фактором развития абсанс-эпилепсии [Pape, 1998; Poolos, 2005; Blumenfeld et al., 2008]. Существует тесная взаимосвязь между возрастной динамикой SWD и активностью *I_h*-каналов, которая проявляется в том, что пластические изменения *I_h*-каналов меняют возбудимость и активность нейронов-пейсмекров [Chen et al., 2002]. Известно, что абсанс-эпилепсия сопровождается увеличением плотности (*upregulation*) *I_h*-каналов в коре больших полушарий, при этом длительные фармакологические воздействия, направленные на снижение плотности *I_h*-каналов, способны предотвратить появление судорожных разрядов [Blumenfeld et al., 2008].

Возможные пути коррекции *I_h*-каналов открывают новые перспективы лечения различных форм эпилепсии [Chen et al., 2002; Strauss et al., 2004; Poolos, 2005]. Клиницисты с осторожностью принимают идею о том, что нарушения свойств *I_h*-каналов является причиной развития генерализованных форм эпилепсий (в т.ч. абсанс-эпилепсии), поскольку у человека этот

вопрос до сих пор не исследован (доказательства получены только на животных *in vivo* и *in vitro*). Говоря об особой роли ионных каналов в развитии эпилепсии (*channelopathy*), Dr. Poolos в критической заметке (2006) поставил под сомнение прямую связь между нарушениями функций I_h -каналов и развитием судорожной активности.

3.5.2. *Тета/альфа-предшественник*

По данным вейвлетного анализа, представленным в Разделе 3.4, перед началом большинства SWD (92 %) на лобной ЭЭГ появлялся короткий (0.46 с) ~8.6 Гц ритмический компонент (Таблица 3.2). Спектральный анализ (предыдущий Раздел 3.4) выявил сходную картину: 73% предшественников SWD ($\text{preSWD}\theta + \text{preSWD}\alpha$) характеризовались пиком мощности в диапазоне *тета/альфа* частот (6.5-9 Гц). Необходимо подчеркнуть, что это - спектральный компонент, и он не проявляется на ЭЭГ в виде *тета*-ритма, поэтому для более точного обозначения *тета*-компонента preSWD у крыс WAG/Rij мы использовали название *тета/альфа-предшественник SWD* (*theta/alpha-precursor SWD*) [Sitnikova & van Luijtelaar, 2009; Sitnikova, 2010; van Luijtelaar et al., 2006; van Luijtelaar et al., 2011a]. По сути, *тета/альфа-предшественник SWD* - это аналог 5–9 Гц колебаний средней амплитуды (*5-9 Hz medium-voltage oscillations*), которые были обнаружены до начала пик-волновых разрядов у крыс линии GAERS [Pinault et al., 2001]. Природа 5–9 Гц колебаний была исследована в работах той же группой авторов [Pinault, 2003; Pinault et al., 2006]. В норме на ЭЭГ у крыс, находящихся в состоянии бодрствования, формируются 5-9 Гц колебания (физиологический *тета*-компонент), которые не связаны с SWD. Оказалось, что нейронные механизмы физиологического и проэпилептического *тета*-компонентов практически идентичны. В обоих случаях эти колебания были инициированы нейронами слоя VI неокортекса, которые в состоянии гиперполяризации демонстрировали пачечную активность и разряжались синхронно с частотой следования пачек импульсов 5–9 Гц. Начало и окончание гиперполяризации этих нейронов совпадало по времени с началом и концом 5–9 Гц колебаний и проэпилептической, и физиологической природы. И проэпилептический, и физиологический *тета*-компоненты формировались в соматосенсорной части таламо-кортикальной системы, т.е. при участии соматосенсорных ядер таламуса и лобно-височной области неокортекса (сенсо-моторная зона) [Pinault et al., 2006].

Известно, что ритмические импульсы нейронов слоя IV соматосенсорной коры (т.е. пачки импульсов с частотой 5-9 Гц) формируются на несколько миллисекунд раньше, чем разряды нейронов специфического таламического ядра (VPM) и ретикулярных таламических ядер [Polack et al., 2007]. Следовательно, *тета* -компонент может формироваться в соматосенсорной коре и проецироваться в таламус по системе нисходящих проекций. Как известно, нейроны глубоких слоёв неокортекса (V и VI) оказывают мощное нисходящее влияние на специфические ядра таламуса, модулируют мембранный потенциал таламических нейронов [Sherman & Guillery, 2006] и могут синхронизировать ритмическую активность кортико-таламо-кортикальной сети в процессе формирования 5–9 Гц компонента, предшествующего SWD. Исследования Pinault и соавторов в 2003 и 2006 гг. подтверждают гипотезу о том, что таламический *тета*-компонент

предшественника SWD может быть проекцией кортикального *тета*-предшественника. Возможно, что у животных с предрасположенностью к абсанс-эпилепсии ритмический *тета/альфа*-компонент приобретает форму пик-волнового разряда вследствие гиперсинхронизации нейронной активности в кортико-таламо-кортикальной сети. Особенности процесса синхронизации таламо-кортикальной сети при инициации SWD описаны в следующем разделе.

3.6. Синхронизация таламо-кортикальной сети при инициации пик-волновых разрядов¹⁵

Известно, что у крыс со склонностью к абсанс-эпилепсии (WAG/Rij и GAERS, Раздел 1.3.3) эпилептический очаг располагается в области периоральных проекций соматосенсорной коры [Meeren et al., 2002; Manning et al, 2003; 2004; Richards et al, 2003; Sitnikova & van Luijtelaar, 2004; van Luijtelaar & Sitnikova, 2006]. Будучи иницированы в этой области, SWD быстро распространяются по таламо-кортикальной системе и приобретают генерализованный характер [van Luijtelaar & Sitnikova, 2006]. Амплитуда SWD достигает максимума в центральных и лобных отделах неокортекса, а также в «релейных» (специфических) ядрах таламуса [Marescaux et al., 1992]. По данным электрофизиологических исследований, SWD можно обнаружить практически во всех ядрах дорсального таламуса у крыс WAG/Rij [Inoue et al., 1993; Meeren et al., 2009] и GAERS [Marescaux et al., 1992; Vergnes and Marescaux, 1992; Avanzini et al., 2000]. Неинвазивные исследования с использованием фМРТ подтверждают ключевую роль коры и таламуса в формировании пик-волновых разрядов у крыс WAG/Rij [Nersesyan et al., 2009] и у пациентов с абсансной эпилепсией [Labate et al., 2005; Hamandi et al., 2006; Moeller et al., 2008a, 2008b; Li et al., 2009].

Многие экспериментальные методы исследований механизмов формирования SWD вычлняют одну из частей таламо-кортикальной системы (инактивация соматосенсорной коры [Polack et al., 2007; Sitnikova & van Luijtelaar, 2004], удаление интраламинарных ядер таламуса [Seidenbecher et al., 2001] или ростральной части RTN [van de Bovenkamp-Janssen et al., 2004; Meeren et al., 2009]) и далее исследуют функции оставшихся частей, интегрированных в систему. Об эффективности данного подхода можно спорить [van Luijtelaar & Sitnikova, 2008; van Luijtelaar et al., 2011], но он позволил сделать несколько принципиально важных открытий. Во-первых, была установлена способность таламуса поддерживать и генерировать синхронную и гиперсинхронную ритмическую активность. Ранние исследователи установили, что ретикулярное таламическое ядро (RTN) содержит пейсмекерные нейроны, которые в условиях эксперимента

¹⁵ По материалам публикаций:

- 1) 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
- 2) 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
- 3) van Luijtelaar G, Sitnikova EY, Midzyanovskaya IS. Cortical control of absence seizures: focal initiation, spreading and modulation. В кн. *Generalized seizures: from clinical phenomenology to underlying systems and networks.* под ред. Hirsch E. и др. Libbey, 2006; стр. 93-117

способны инициировать SWD при условии двусторонних взаимодействий с "релейными" ядрами таламуса [Buzsáki, 1991; Avanzini et al., 2000]. Во-вторых, были получены доказательства в пользу того, что таламус участвует в распространении и генерализации пик-волновых разрядов. Здесь следует выделить работу Neckelmann et al. (1998), использовавшую модель фармакологической эпилепсии у кошек, где в поле 5 неокортекса был создан эпилептический очаг пик-волновой активности с помощью инъекций бикикулина. Разрушение кортико-кортикальных связей между эпилептическим очагом и интактной областью в поле 7 не привело к исчезновению SWD в поле 7, несмотря на изоляцию от эпилептического очага. Авторы сделали вывод, что эпилептическая активность распространялась от поля 5 к полю 7 через интраламинарные ядра таламуса, а не по системе внутрикорткальных связей.

В более поздних обзорах Blumenfeld (2002) и Meegen и соавторы (2005) обратили внимание на то, что помимо локальных изменений в отдельных частях таламо-кортикальной системы, патогенез абсанс-эпилепсии может быть связан с нарушением системных взаимодействий между корой и таламусом: "формирование билатерально генерализованных пик-волновых разрядов возможно только в анатомически и функционально целостной кортикоталамической сети" ("*the generation of bilaterally generalized spike-wave discharges is only possible in an anatomically and functionally intact corticothalamic network*", стр. 375, Meegen et al. 2005). Настоящий раздел развивает идею о том, что таламо-кортикальные механизмы эпилептической активности при абсанс-эпилепсии объединяют два процесса: 1) локальная синхронизация между эпилептогенной областью неокортекса (соматосенсорная кора) и близлежащими областями и 2) глобальная синхронизация между отдельными частями таламо-кортикальной системы при развитии гипресинхронной эпилептической активности (SWD). Для исследования этого вопроса в качестве инструмента была использована функция когерентности, которая описывает линейную зависимость между уровнем синхронизации двух сигналов ЭЭГ в частотном домене и не зависит от амплитуды ЭЭГ.

Особенности процедуры исследований

В эксперименте использовали 14 взрослых (возраст 11-12 месяцев) самцов крыс линии WAG/Rij. Первую группу (8 крыс) подвергли имплантации эпидуральных электродов в области коры, имеющие прямо или косвенно вовлеченные в эпилептическую активность: лобный отдел [AP +2, L 2], париетальную область соматосенсорной коры, зона проекционного представительства передних и задних конечностей, *SmI(конечн)* [AP -1...0; L 2.5...4] и вибрисс, *SmI(вибр)* [AP -2, L +6], а также затылочную кору [AP -6; L 5]. Во второй группе (6 крыс) два глубоких электрода были имплантированы в вентропостеромедиальное (релейное соматосенсорное) ядро таламуса VPM [AP -3.5; L 2.5; H 7.2] и роstralную часть ретикулярного таламического ядра, RTN [AP -1.5; L 2.2; H 7.2]; два других электрода располагались эпидурально в лобной [AP +2, L 2] и затылочной [AP -6; L 5] областях коры. Локализация электродов в глубоких структурах (VPM и RTN) во второй группе крыс была подтверждена

гистологическим контролем *post mortem* (окраска мозга по методу Ниссля), руководствуясь атласом головного мозга взрослых крыс [Paxinos & Watson, 1986].

Запись ЭЭГ проводили в цифровом формате (частота дискретизации $1024 \text{ с}^{-1}/\text{канал}^{-1}$) в течение 5-7 часов, в темную фазу светового режима. Пик-волновые разряды (SWD) на ЭЭГ имели вид острых пиков, чередующихся с волнами с частотой 8-12 Гц. SWD выделяли на ЭЭГ полуавтоматически. Первый острый пик в последовательности пик-волнового ритма был принят за момент начала эпилептического разряда.

Для представления сигнала в домене частот использовали быстрое преобразование Фурье с разрешением 0.25 Гц, затем проводили расчет когерентных спектров по формуле [Challis & Kitney, 1991]: где ω - дискретная частота; $G_1(\omega)$ и $G_2(\omega)$ – спектры мощности каналов 1 и 2; $G_{1,2}(\omega)$ – кросс-спектр мощности каналов 1 и 2.

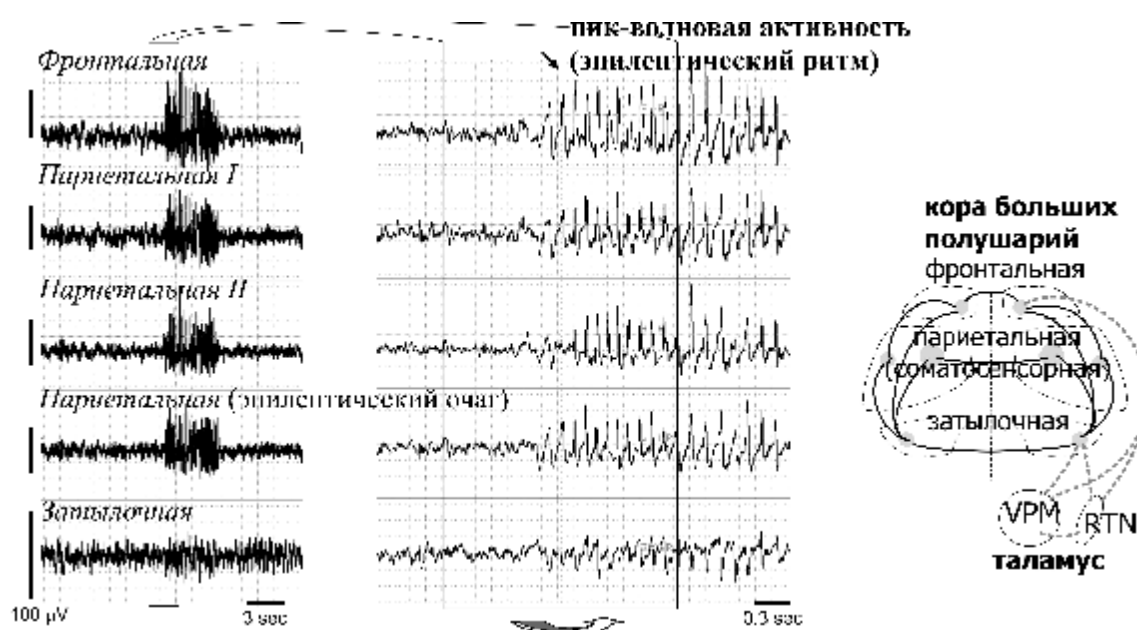


Рисунок 3.10. Характерные для абсанс-эпилепсии пик-волновые разряды, зарегистрированные у крысы линии WAG/Rij (возраст 1 год) в свободном поведении посредством эпидуральных вживленных электродов. Видно, что пик-волновые разряды имеют максимальную амплитуду в передне-центральных областях коры и появляются синхронно во всех отведениях, т.е. носят генерализованный характер. Справа показана схема расположения электродов, линии соединяют области, между которыми была исследована функция когерентности. VPM и RTN - вентропостеромедиальное (релейное) и ретикулярное ядра таламуса.

На Рис. 3.10 представлен пример многоканальной записи ЭЭГ, содержащий пик-волновый разряд и два последовательных временных интервала: 1-секундный интервал пред началом SWD и первая секунда пик-волнового разряда. Расчет функции когерентности был проведен в этих двух интервалах. Анализ изменений когерентных подсчитывали на основе дифференциальных спектров как разницу между двумя последовательными интервалами до и после начала SWD: $\Delta \text{Coh}(\omega) = \text{Coh}(\omega)_{\text{SWD}} - \text{Coh}(\omega)_{\text{до SWD}}$.

Был проведен анализ функции когерентности между разными областями коры (однополушарной и межполушарной), корой и таламусом, а также внутри таламуса (VPM-RTN). Количественные изменения функции когерентности были исследованы в традиционных полосах частот $\Delta\omega = 1-4.5; 5-7.5; 8-11.5; 12-15.5; 16-21.5; 22-27.5; 28-35.5; 36-47.5$ и $48-60$ Гц. Для статистического анализа использован двух-факторный ANOVA и *post-hoc* тест LSD.

3.6.1. Внутрикортикальные взаимодействия

В первой группе животных (8 крыс) исследовали спектры когерентности лобной и париетальной областей коры в пределах одного полушария. Во второй группе крыс (6 крыс) - спектры когерентности удаленных областей коры (лобной и затылочной корой). Было обнаружено, что начало SWD характеризовалось значимым увеличением кортико-кортикальной когерентности [$\Delta\text{Coh}>0$], степень этого увеличения зависела от частоты ($F_{3,40}=23.6, p<0.0001$).

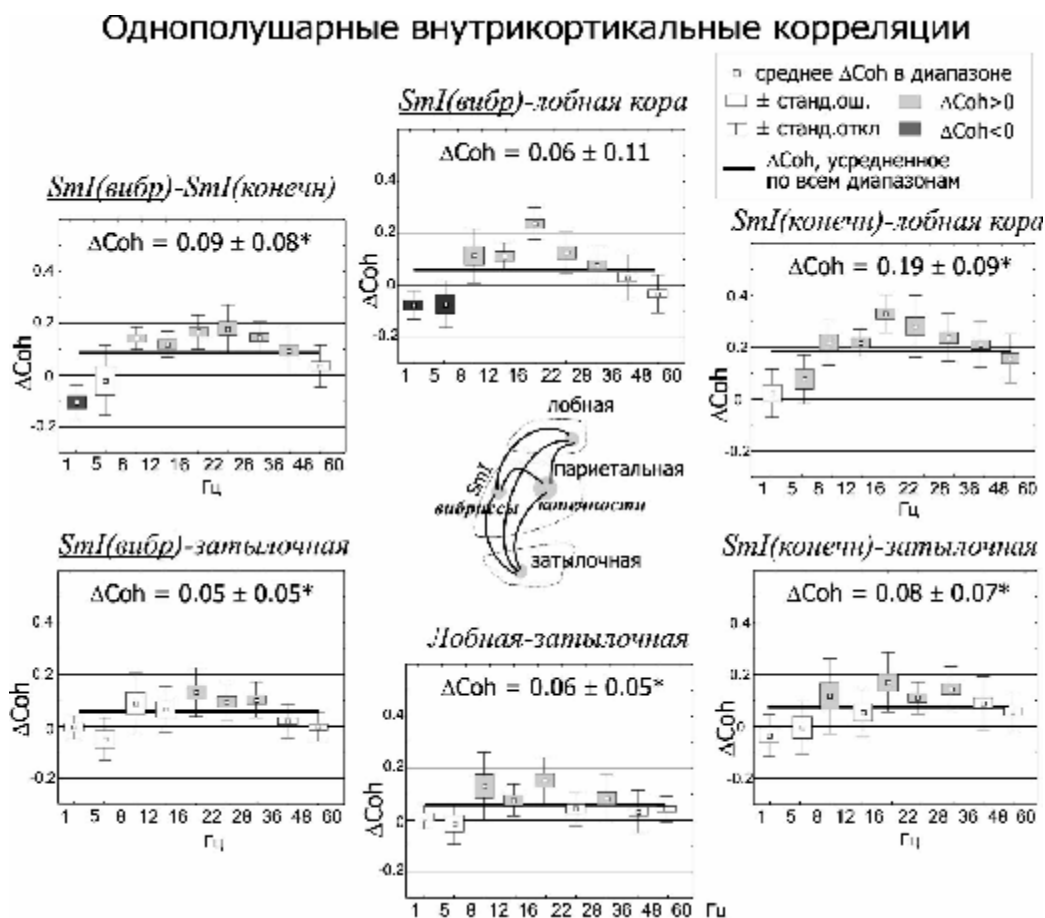


Рисунок 3.11. Результаты статистического анализа изменений функции когерентности при появлении пиковых разрядов (SWD). Показана разность между значениями когерентности до начала SWD ($\text{Coh}_{\text{до SWD}}$) и во время SWD (Coh_{SWD}): $\Delta\text{Coh} = \text{Coh}_{\text{SWD}} - \text{Coh}_{\text{до SWD}}$. Расчет ΔCoh проводили в фиксированных полосах частот $\Delta\omega$ (ось абсцисс). Оценивали статистическую значимость величины $\Delta\text{Coh}(\Delta\omega)$ по отношению к нулю (ноль - отсутствие изменений) с использованием t-теста ($p < 0.05$). Цифры в верхней части графиков указывают усредненные значения $\Delta\text{Coh}_{\text{avg}} \pm$ станд. откл., звездочками обозначены статистически значимые отличия от нуля (t-тест, $p < 0.05$).

Обнаружено, что увеличение когерентности между всеми областями коры было значимым ($p > 0.05$), кроме пары $SmI(вибр)$ - лобная кора (Рис. 3.9А), где наблюдались разнонаправленные изменения значений $Coh(\omega)$ при появлении SWD: снижение когерентности в диапазоне $D\omega = 1-8$ Гц и увеличение - в диапазоне 8-36 Гц. Уровень когерентности между $SmI(конечн)$ и лобной корой оказался выше, чем между другими областями и охватывал максимально широкий диапазон частот, $D\omega = 5-60$ Гц. Таким образом, эти близлежащие области коры продемонстрировали максимально высокую степень синхронизации при появлении SWD. Кроме того, $SmI(вибр)$ и $SmI(конечн)$ отличались высокими значениями $DCoh$ (Рис. 3.11), в то время как уровень синхронизации между удаленными областями не намного, но значимо, увеличился при появлении SWD.

В Табл. 3.7 показан диапазон частот $\Delta\omega_{sgf}$, где найдены значимые изменения когерентности $\Delta Coh(\Delta\omega_{sgf})$. Увеличение синхронизации было зафиксировано в широкой полосе частот 5(8)-35.5(60) Гц, далеко выходящей за границу средней частоты SWD (8-10 Гц). Наиболее высокие значения ΔCoh были обнаружены в диапазоне 8-11.5 Гц и 16-21.5 Гц (Табл. 3.7, $\Delta Coh_{8-11.5}$ и $\Delta Coh_{16-21.5}$). В пределах одного полушария рост уровня синхронизации в диапазоне кратных частот (16-21.5 Гц) был выше, чем в диапазоне основной частоты (8-11.5 Гц, $Coh_{16-21.5} > \Delta Coh_{8-11.5}$, $F_{5,108} = 6.8$, $p < 0.01$). Это, по-видимому, связано с наличием пиков в составе SWD во всех корковых отведениях; функция когерентности строится на базе спектров Фурье, поэтому появление кратных гармоник на спектрах мощности соответствует всплеску функции когерентности в этих же кратных диапазонах.

В локальной области, объединяющей SmI и лобную кору, функция когерентности имела ряд особенностей. Во-первых, в парах $\square SmI(вибр)$ - лобная кора \square и $\square SmI(конечн)$ - лобная кора \square значение $\Delta Coh_{16-21.5}$ значимо превышало $\Delta Coh_{8-11.5}$ (Табл. 3.7, сноска В). Именно в этих парах были зарегистрированы максимальные значения $\Delta Coh(\Delta\omega_{sgf})$. Во-вторых, $\square SmI(конечн)$ - лобная кора \square была единственной парой, где рост когерентности охватывал диапазон *гамма* частот (36-60 Гц). В-третьих, в парах $\square SmI(вибр)$ - лобная кора \square и $SmI(вибр)$ - $SmI(конечн)$ при появлении SWD наблюдали значимое снижение когерентности в низкочастотном диапазоне 1-5.5(7.5) Гц (Табл. 3.7).

Наименее выраженным, хотя и значимым, было увеличение когерентности между удаленными областями: $\square SmI(вибр)$ - затылочная кора \square и $\square лобная$ - затылочная кора \square (Табл. 3.7 и Рис. 3.10).

Далее был проведен анализ максимальных значений функции когерентности с учетом того, что абсолютное значение максимума характеризовало силу взаимосвязи, а его частота соответствовала ведущей частоте синхронизации между отдельными частями таламо-кортикальной системы.

Таблица 3.7. Изменения значений функции когерентности между разными частями таламо-кортикальной системы ($\Delta\text{Coh}(\Delta\omega) \pm \text{стд.откл}$) в процессе формирования SWD.

	$\text{DCoh}(Dw) > 0$				$\text{DCoh}(Dw) < 0$	
	$\Delta\omega_{\text{sgf}}$, Гц	$\Delta\text{Coh}(\Delta\omega_{\text{sgf}})$	$\Delta\text{Coh}_{8-11.5}$	$\Delta\text{Coh}_{16-21.5}$	$\Delta\omega_{\text{sgf}}$, Гц	$\Delta\text{Coh}(\Delta\omega_{\text{sgf}})$
Кортико-кортикальная, однополушарная						
SmI(вибр) - Лобная	8–35.5	0.14±0.07	0.12±0.10	0.24±0.06 ^B	1–7.5	-0.08±0.07
SmI(вибр) - SmI(конеч)	5–35.5	0.12±0.08	0.14±0.04	0.17±0.07	1–5.5	-0.11±0.07
SmI(конеч) - Лобная	5–60 ^G	0.21±0.10	0.22±0.09	0.33±0.07 ^B		
SmI(вибр) - Затылочная	8–11.5/16–35.5	0.06±0.03	0.09±0.12	0.13±0.09		
SmI(конеч) - Затылочная	8–11.5/16–35.5	0.11±0.07	0.12±0.15	0.17±0.12		
Лобная - Затылочная	8 – 35.5	0.06±0.03	0.13±0.13	0.15±0.09		
Кортико-кортикальная, межполушарная						
Лобная	5–27.5	0.15±0.10	0.33±0.11	0.28±0.19		
SmI(вибр)	5–27.5	0.16±0.10	0.43±0.12	0.38±0.13	1–4.5	-0.12±0.12
SmI(конеч)	5–11.5/16–21.5	0.18±0.07	0.35±0.09	0.16±0.13 ^B	1–4.5	-0.14±0.09
Затылочная	8–35.5	0.12±0.08	0.14±0.18	0.19±0.17		
Кортико-таламическая						
Лобная- VPM	5–47.5 ^G	0.19±0.08	0.37±0.13	0.26±0.07 ^B		
Лобная- RTN	8–47.5 ^G	0.19±0.09	0.38±0.11	0.22±0.08 ^B		
Затылочная - VPM	8–11.5/16–21.5	0.08±0.09	0.09±0.12	0.07±0.07		
Затылочная - RTN	5–11.5/16–21.5	0.09±0.06	0.11±0.14	0.08±0.04		
Таламо-таламическая						
VPM - RTN	8–11.5	0.21±0.18	0.21±0.18		1–7.5/36–60	-0.08±0.09

В таблице представлены только значимые изменения когерентности (ΔCoh) в выбранных полосах частот $\Delta\omega$. $\Delta\omega_{\text{sgf}}$ - полоса частот, где увеличение функции когерентности $\Delta\text{Coh}(\Delta\omega_{\text{sgf}})$ было значимым (отличия от нуля $p < 0.05$, LSD *post-hoc* тест). $\Delta\text{Coh}_{8-11.5}$ и $\Delta\text{Coh}_{16-21.5}$ - средние значения ΔCoh в полосах частот 8 -11.5 Гц и 16-21.5 Гц.

^B - $\Delta\text{Coh}_{8-11.5}$ значимо отличается от $\Delta\text{Coh}_{16-21.5}$ (LSD *post-hoc* тест);

^G - значение ΔCoh в полосе гамма частот (выше 35.5 Гц) значимо отличается от нуля;

ns - значение ΔCoh не отличается от нуля (изменения отсутствуют).

На когерентных спектрах $\Delta\text{Coh}(\omega)$ в каждой паре можно было выделить два или три максимума. Параметры первого максимума P_{low} - частота 10.2 ± 1.3 Гц (здесь и далее \pm станд.откл.) и амплитуда 0.44 ± 0.12 - были идентичными во всех исследованных парах (по данным ANOVA). Второй пик, P_{high} имел среднюю частоту 20.6 ± 1.8 Гц и амплитуду 0.48 ± 0.18 . Средняя частота P_{high} между удаленными областями, т.е. в паре $\square \text{SmI}(\text{вибр} + \text{конечн}) - \text{затылочная кора}$ и $\square \text{лобная} - \text{затылочная кора}$ была 19.3 ± 1.3 Гц, что значимо ниже, чем между

близлежащими областями в *SmI* и лобной корой - 21.1 ± 1.7 Гц ($F_{5,64}=11.9$, $p<0.01$, LSD тест, $p<0.05$). В локальных парах, объединивших *SmI(вибр+конечн)* и лобную кору был обнаружен дополнительный максимум P_{middle} с частотой 15.9 ± 1.3 Гц и высокой амплитудой 0.54 ± 0.20 .

3.6.2. Межполушарные кортико-кортикальные взаимодействия

В первой группе животных (8 крыс) исследовали спектры когерентности между симметричными областями двух полушарий. Было обнаружено, что начало SWD сопровождалось значимым ростом уровня когерентности между симметричными областями коры (лобной, париетальной и затылочной) в двух полушариях [$DCoh>0$, Рис.3.11], и этот эффект зависел от частоты [$F_{3,40}=23.6$, $p<0.0001$]. Наиболее интенсивный рост когерентности был зафиксирован в диапазоне 5-27.5 Гц (Табл. 3.7). Две гомологичные области в *SmI(вибр+конечн)* обнаружили значимое снижение когерентности ($p<0.05$) в *дельта*-диапазоне частот (1-4.5 Гц), в отличие от лобной и затылочной областей, где изменения когерентности в этом диапазоне отсутствовали (Рис.3.12).

Средние значения межполушарной $DCoh$ были выше, чем однополушарной $DCoh$ [$F_{1,72}=6.3$, $p<0.01$], однако отсутствовала разница между значениями $DCoh$ в диапазоне 8-11.5 Гц и 16-21.5 Гц (Табл. 3.7) во всех областях, кроме *SmI(конечн)*, где $\Delta Coh_{8-11.5} > \Delta Coh_{16-21.5}$. Билатеральные взаимодействия в затылочной коре в диапазоне 8-11.5 Гц были значимо ниже, чем в других парах ($p<0.05$). Значения $\Delta Coh_{16-21.5}$ между симметричными областями *SmI(вибр)* были выше, чем затылочной коре и *SmI(конечн)* ($p<0.05$), но не отличались от таковых в лобной коре.

Установлено, что средние значения межполушарной ΔCoh не зависели от удаленности исследованных областей друг от друга. Расстояния между симметричными областями в правой/левом полушариями убывали в следующем порядке: *SmI(вибр)* 12 мм > *затылочная* 10 мм > *SmI(конечн)* ~ 6 мм > *лобная* 4 мм, однако средние значения когерентности распределялись следующим образом: $\Delta Coh[SmI] > \Delta Coh[лобная] > \Delta Coh[затылочная]$ (Табл. 3.7).

У межполушарных пар на когерентных спектрах $\Delta Coh(\omega)$ были обнаружены три четких максимума. Первый P_{low} имел частоту 10.3 ± 1.6 Гц и амплитуду 0.62 ± 0.16 . Второй P_{middle} - частоту 15.8 ± 1.8 Гц и амплитуду 0.65 ± 0.14 . Третий P_{high} - частоту 20.3 ± 1.9 Гц и амплитуду 0.61 ± 0.15 . Частота каждого из пиков P_{low} , P_{middle} и P_{high} была одинакова во всех межполушарных парах, но их амплитуда в разных парах значимо отличалась [$F_{3,36}=7.6$, $p<0.001$]. LSD тест показал, что амплитуда P_{low} и P_{high} в лобной коре и *SmI(вибр)* была выше, чем в *SmI(конечн)* и *затылочной* коре ($p<0.05$). Амплитуда P_{middle} была одинаковой.

Пик когерентности с частотой ~16 Гц был обнаружен во всех исследованных парах, что предполагает наличие особого механизма билатеральной синхронизации SWD, который не принимает участие в синхронизации SWD внутри коры в пределах одного полушария. Частота этого пика занимает промежуточное положение между главной частотой SWD 10 Гц и её гармонической составляющей 20-22 Гц, что может быть результатом ритмической реверберации возбуждения между двумя полушариями по волокнам *corpus callosum*. Таким образом, всплеск

синхронизации ~16 Гц может быть вызван процессом билатерального распространения гиперсинхронных эпилептических разрядов по системе каллозальных связей.

Межполушарные внутрикортикальные корреляции

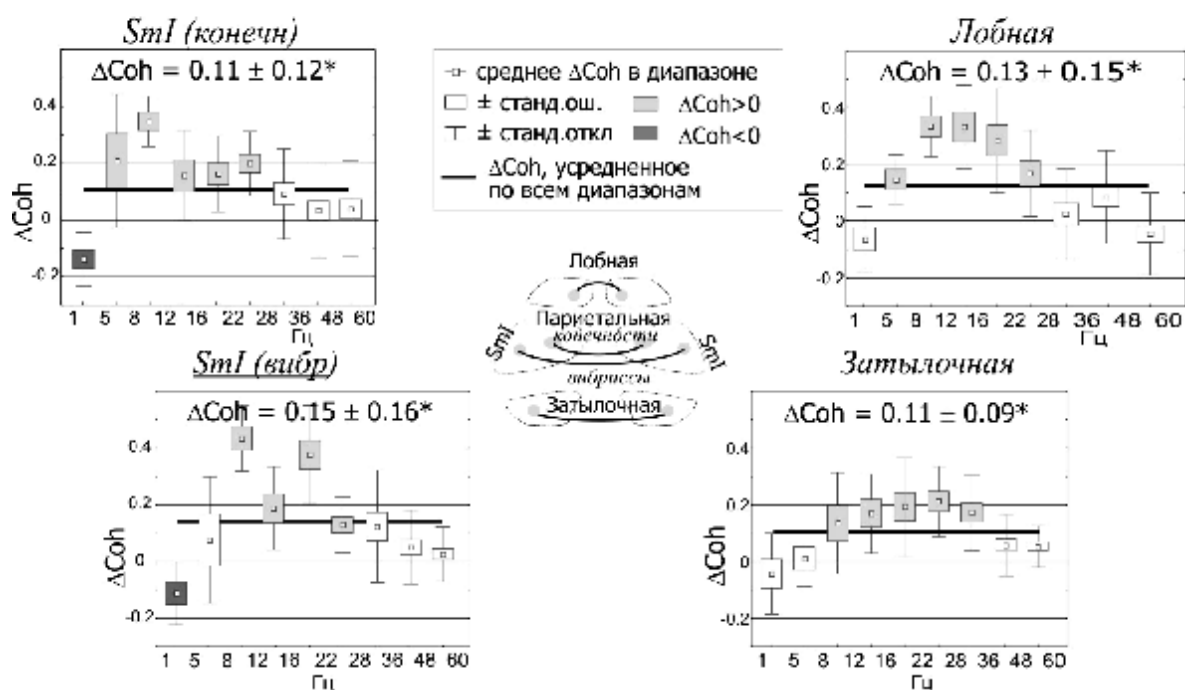


Рисунок 3.12. Результаты статистического анализа изменений функции когерентности при появлении пиковых разрядов. Обозначения аналогичны Рис.3.9А. Цифры в верхней части графиков указывают усредненные значения $\Delta\text{Coh}_{\text{avg}} \pm$ станд. откл., звездочки обозначают статистически значимые отличия от нуля (t-тест, $p < 0.05$).

Итак, процесс инициации SWD связан со значительным ростом билатеральных взаимодействий между гомологичными областями коры и умеренным ростом взаимодействий между соседними областями коры в пределах одного полушария. При этом передние области коры (лобная и SmI) характеризовались наиболее значимым увеличением когерентности в диапазоне основной частоты SWD и кратной гармонике (8-11.5 и 16-21.5 Гц). Между симметричными представителями вибрисс и конечностей в SmI происходило снижение когерентности в диапазоне 1-4.5 Гц. В пределах одного полушария уровень синхронизации между SmI(конечн) и лобной корой был выше, чем между другими областями, и охватывал максимально широкую полосу частот, $D\omega=5-60$ Гц.

3.6.3. Таламо-кортикальные и внутриталамические взаимодействия

Во второй группе крыс (6 крыс) исследовали взаимодействия таламуса (VPM и RTN) с лобной и затылочной корой, а также внутриталамические взаимодействия между VPM и RTN. Было обнаружено, что начало SWD сопровождалось значимым увеличением когерентности между лобной корой и VPM в среднем на 0.13 ± 0.12 и ретикулярным ядром таламуса (RTN) на 0.14 ± 0.12 (значимость отличий от нуля в обоих случаях $p < 0.0001$). Средние значения ΔCoh между таламусом и затылочной корой были ниже, чем между таламусом и лобной корой, но в

обоих случаях значимо отличались от нуля (Рис. 3.13В): в паре \square затылочная кора - VPM \square когерентность увеличилась на 0.03 ± 0.03 ($p < 0.0001$), в паре \square затылочная кора - RTN \square - на 0.04 ± 0.04 ($p < 0.0001$).

Наиболее мощный рост таламо-кортикальной когерентности был обнаружен в диапазоне 8-11.5 Гц. Когерентность между лобной корой и таламусом в диапазоне 8-11.5 Гц была значимо выше, чем в диапазоне 16-21.5 Гц ($\Delta\text{Coh}_{8-11.5} > \Delta\text{Coh}_{16-21.5}$), а когерентность между затылочной корой и таламусом в этих двух диапазонах была одинаковой $\Delta\text{Coh}_{8-11.5} = \Delta\text{Coh}_{16-21.5}$ (Табл. 3.7).

Спектры когерентности между затылочной корой и таламусом характеризовались единственным максимумом с частотой 9.5 Гц. В то время как спектры когерентности между лобной корой и таламусом имели два максимума: P_{low} с частотой 10.3 ± 1.2 Гц и амплитудой 0.48 ± 0.15 и P_{high} с частотой 20.5 ± 1.9 Гц и амплитудой 0.42 ± 0.15 .

Кортико-таламическая и таламо-таламическая корреляции

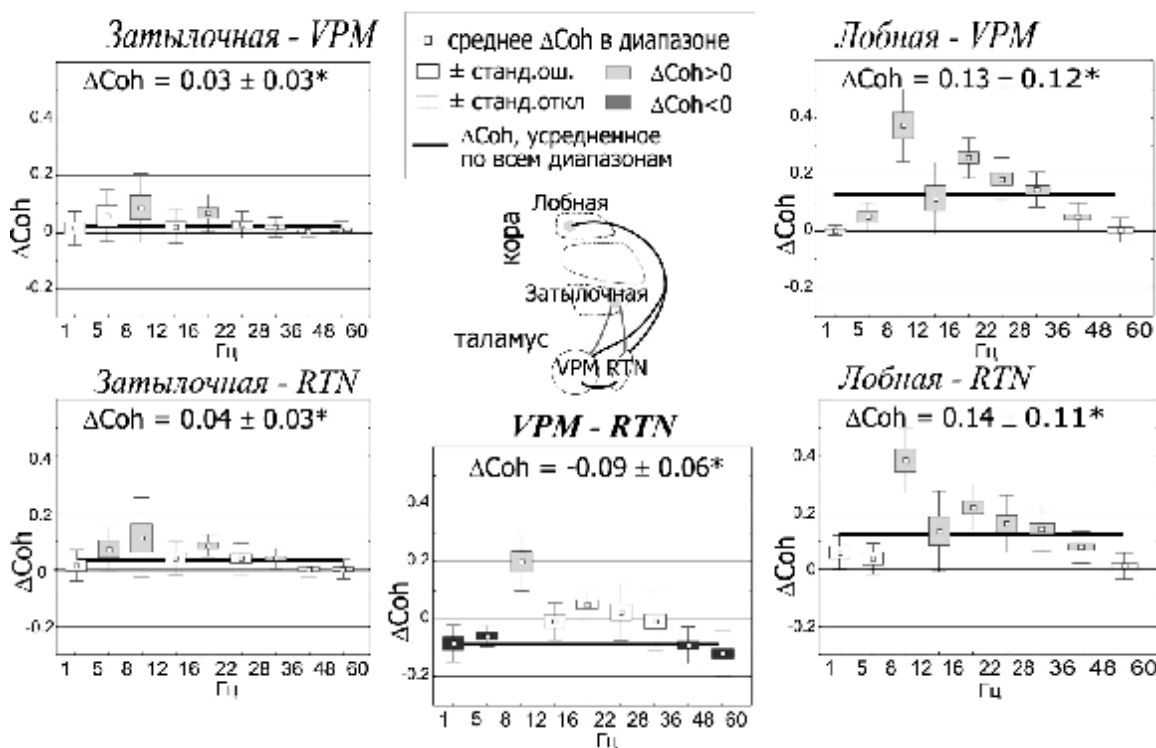


Рисунок 3.13. Результаты статистического анализа изменений функции когерентности при появлении пиковых разрядов (SWD). ΔCoh - разность между значениями когерентности до начала SWD ($\text{Coh}_{\text{до SWD}}$) и во время SWD (Coh_{SWD}): $\Delta\text{Coh} = \text{Coh}_{\text{SWD}} - \text{Coh}_{\text{до SWD}}$. Цифры в верхней части графиков указывают усредненные значения $\Delta\text{Coh}_{\text{avg}} \pm$ станд. откл., звездочками обозначены статистически значимые отличия от нуля (t-тест, $p < 0.05$).

Когерентность между VPM и RTN значимо изменилась при появлении SWD, но эти изменения имели противоположный характер в разных полосах частот. Значения когерентности, усредненные в полосе 1-60 Гц, значимо снизились: $\Delta\text{Coh}_{\text{avg}} = -0.09 \pm 0.06$ ($p > 0.05$), однако этот эффект был обусловлен снижением когерентности в низкочастотном (1-7.5 Гц) и высокочастотном (36-60 Гц) диапазонах (Табл. 3.4). В то время как когерентность в

специфическом для SWD диапазоне 8-11.5 Гц значимо возросла (Табл. 3.7). На спектрах когерентности ΔCoh , описывающих взаимодействия VPM и RTN, был выявлен единственный максимум P_{low} с частотой 9.5 ± 1.3 Гц и амплитуду 0.35 ± 0.23 .

Взаимодействия VPM-RTN уникальны тем, что это - единственная часть таламо-кортикальной системы, где когерентность в диапазоне 16-21.5 Гц не изменилась после появления SWD (Рис. 3.13В). Отсутствие кратных гармоник на спектре когерентности, вероятно, вызвано тем, что в таламусе отсутствует острый компонент, который бы соответствовал пику ('пик 2'), входящему в состав кортикального SWD. Это подтверждает наше предположение, что 'пик 2' имеет внутрикортикальное происхождение.

3.6.4. Процесс интеграции частей таламо-кортикальной системы при развитии гиперсинхронной эпилептической активности

Полученные данные продемонстрировали, что формирование гиперсинхронного эпилептического ритма в таламо-кортикальной системе происходит за счет согласованной работы отдельных частей этой системы. Для систематизации и физиологической интерпретации результатов когерентного анализа будем опираться на теорию нейросетевых механизмов синхронизации при формировании ритмической активности на ЭЭГ [Nunez et al., 1997; Nunez, 2000]. Согласно этой теории, электроэнцефалографический ритм – это результат взаимодействия локальных и не-локальных нейронных сетей. Основываясь на результатах нашего анализа, можно выделить пять функционально связанных нейронных сетей, участвующих в развитии гиперсинхронной пик-волновой активности (Рис. 3.14 [Sitnikova & van Luijtelaaar, 2006; van Luijtelaaar & Sitnikova, 2006; van Luijtelaaar et al., 2006]).

1) *Внутрикортикальные* взаимодействия между близлежащими областями, непосредственно связанными с эпилептическим очагом (Рис. 3.14, «*локальная сеть*» в терминах Nunez [2000]) характеризовались значительно ростом когерентности в широком диапазоне частот от 5(8) до 35.5(60) Гц (пик приходился на 10.2 и 21.5 Гц) и ослаблением когерентности в диапазоне 1-4 Гц.

2) *Внутрикортикальные* взаимодействия между удаленными областями, напрямую не связанными с эпилептическим очагом («*не-локальная сеть*» на Рис. 3.14), где когерентность усиливались незначительно в диапазоне от 8 до 28 Гц (два пика - с частотой 10.0 и 19.3 Гц).

3) *Межполушарные* взаимодействия между гомологичными (симметричными) областями коры отличались самыми высокими значениями когерентности в диапазоне 8-28 Гц, снижением когерентности в диапазоне *дельта* (1-4 Гц), наличием дополнительного «промежуточного» пика 16 Гц когерентности, который отсутствовал между другими частями таламо-кортикальной системы. Максимумы билатеральной когерентности были обнаружены на частоте 10.0, 15.8 и 20.3 Гц.

4) *Внутриталамические* взаимодействия между тесно связанными специфическим (VPM) и ретикулярным ядром таламуса отличались минимальными изменениями функции когерентности при появлении SWD. Значимое увеличение когерентности было обнаружено в диапазоне 8-11.5 Гц и уменьшение - в диапазоне 1-7 Гц и 36-60 Гц.

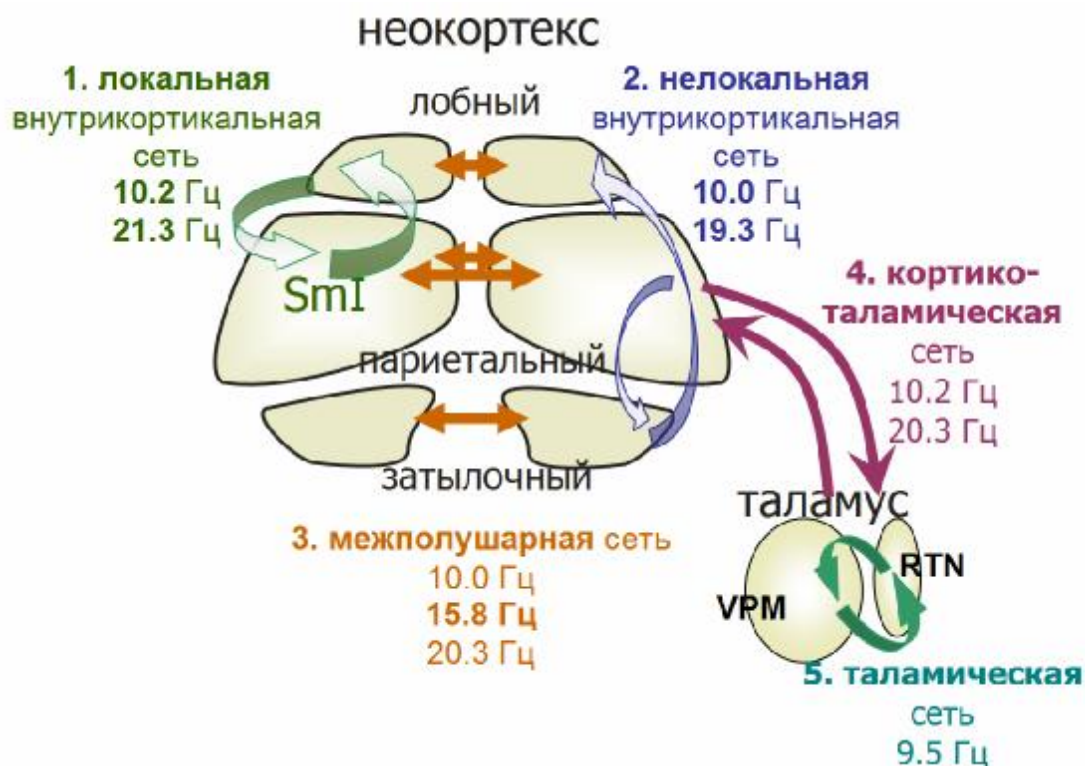


Рисунок 3.14. Таламо-кортикальная система состоит из нескольких взаимосвязанных и взаимодействующих частей (нейронных сетей). Каждая часть имеет свои анатомические и функциональные обособленности и собственную частоту синхронизации ритмической активности. Все части системы интегрированы в единое целое, благодаря чему поддерживает гиперсинхронную ритмическую активность, которая проявляется на ЭЭГ в виде комплекса "пик-волна" [Sitnikova & van Luijteleaer, 2006].

5) *Таламо-кортикальные* взаимодействия наиболее оказались переменными и зависели от наличия прямых функциональных и анатомических связей между исследованными областями. Формирование эпилептического ритма было связано со значительным усилением взаимодействий обоих ядер таламуса с лобной корой и в меньшей степени с затылочной областью. Пики на таламо-кортикальных спектрах когерентности между затылочной корой и VPm/RTN обнаружены на частоте 9.5 и 21.5 Гц; между лобной корой и VPm - 11 и 20.5 Гц. Отсутствие кратной зависимости между главной частотой синхронизации основного ритма (9.5 и 11 Гц) и её гармонической составляющей (21.5 и 20.5 Гц) свидетельствует о сложной структуре пространственно-временных взаимодействий таламуса с лобной и затылочной корой.

Характер функциональных и анатомических связей между составными частями таламо-кортикальной системы определяет форму когерентных взаимодействий. Так, чрезвычайно сложная сеть взаимосвязей внутри коры является анатомическим субстратом сложных когерентных взаимодействий внутри коры (локальных, не-локальных и межполушарных), сопровождающих начало пик-волновых разрядов. Наиболее сильная синхронизация, обнаруженная на частоте 20-21 Гц, обусловлена формированием высокоамплитудного компонента - пика в лобной и теменной областях коры и является результатом гиперсинхронной

активности нейронов данных областей коры. Кроме того, «промежуточный» пик функции когерентности с частотой 16 Гц, оказавшийся отличительным признаком межполушарных пар, по-видимому, отражает процесс мощной билатеральной синхронизации эпилептического ритма.

Формирование гиперсинхронного эпилептического ритма происходит благодаря согласованной работе отдельных частей разветвленной таламо-кортикальной системы. Например, положение RTN несколько обособлено, т.к. это ядро не имеет проекций в неокортексе, и *внутриталамическая* сеть (RTN-VPM) во время SWD поддерживает ритмическую активность в очень узком диапазоне частот 8-11.5 Гц. Основной режим синхронизации таламо-кортикальной системы определяется общим ритмом 9.5-10.2 Гц. Благодаря интегративному взаимодействию, вероятно облегченному эффектом нейронного резонанса, отдельные части таламо-кортикальной системы объединены в единое целое, поэтому пик-волновая активность быстро распространяется и становится генерализованной.

Заключение

Таламо-кортикальный механизм развития пик-волновой активности при абсанс-эпилепсии включает два процесса: во-первых, локальная синхронизации, которая обеспечивает интеграцию эпилептогенной области с близлежащими областями неокортекса на начальном этапе формирования пик-волновой активности (инициация SWD). Во-вторых, процесс глобальной синхронизации, обеспечивающей распространение и поддержание эпилептического ритма в таламо-кортикальной системе (генерализация SWD).

Появление пик-волновых разрядов сопровождается усилением когерентных взаимодействий между всеми частями таламо-кортикальной системы в диапазоне характерных для SWD частот - 9.5-10.2 Гц, а также гармонической составляющей - 16-21.5 Гц. Эта особенность характеризует процесс глобальной синхронизации при развитии SWD.

Функция когерентности между разными частями таламо-кортикальной системы имеет отличительные черты, которые определяются функционально-анатомическими свойствами и характером взаимодействия с другими частями системы, а именно:

Локальные внутрикорткальные взаимодействия между соматосенсорной и лобной корой продемонстрировали рост функции когерентности в диапазоне 8-35.5 Гц и снижение - в диапазоне 1-4 Гц. Значение когерентности в диапазоне основной частоты SWD (8-11.5 Гц) было ниже, чем в диапазоне первой гармоники (16-21.5 Гц). Увеличение когерентности между соматосенсорной (проекция конечностей) и лобной корой охватывал максимально широкий диапазон частот, включая *гамма*-полосу, 5-60 Гц. Описанные особенности синхронизации области эпилептического очага в соматосенсорной коре и близлежащих областей неокортекса могут быть проявлением локального внутрикорткального процесса инициации SWD.

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

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

Таламо-кортикальные взаимодействия между обоими ядрами таламуса (VPM и RTN) и лобной корой была значительно выше, чем с затылочной областью. Максимум функции когерентности между лобной корой и таламусом был обнаружен в диапазоне основной частоты SWD - 8-11.5 Гц. Такая форма взаимодействия лобной коры и таламуса, по-видимому, обеспечивают поддержание и распространение основного ритма SWD в таламо-кортикальной системе.

Таламо-таламическая сеть, объединяющая VPM и RTN, продемонстрировала рост синхронизации в узком диапазоне частот 8-11.5 Гц (пик ~9.5 Гц) и снижение в диапазоне 1-7 Гц и 36-60 Гц. Снижение внутриталамической когерентности в диапазонах дельта/тета/гамма было локальным, и, возможно, облегчало процесс синхронизации таламических ядер при развитии эпилептического ритма.

Выводы, сделанные в настоящем Разделе, основаны на результатах традиционного метода анализа функции когерентности. Данный метод даёт представление о линейной корреляции между двумя сигналами в домене частот, но не способен оценить направленность этих взаимодействий и их динамику во времени [Challis & Kitney, 1991]. На следующем этапе был использован новый вычислительный подход к исследованию нейросетевых взаимодействий, базирующийся на расчетах "причинности по Грейнджеру" (*Granger causality*). Идеология этого подхода отличается от традиционных методов анализа и позволяет оценить не только силу взаимодействий в системе "кора - таламус", но также их направленность и временную динамику. В следующем Разделе описаны особенности влияния таламуса и кора друг на друга на разных этапах формирования SWD.

3.7. Направленность и динамика таламо-кортикальных взаимодействий при развитии пик-волновых разрядов¹⁶

Как было сказано выше, приступы абсанс-эпилепсии начинаются внезапно, предсказать момент начала эпилептических разрядов на основании клинических, поведенческих и электроэнцефалографических критериев практически невозможно. Традиционные методы анализа ЭЭГ не способны выявить тонкие специфические изменения на ЭЭГ, предшествующие

¹⁶ По опубликованным материалам:

1) 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.

2) van Luijtelaar G, Sitnikova E, Littjohann A. On the origin and suddenness of absences in genetic absence models. *Clin EEG Neurosci*. 2011; 42(2): 83-97

появлению пик-волновых разрядов. Результаты наших исследований на крысах WAG/Rij с использованием когерентности показали, что начало SWD сопровождается локальными и нелокальными изменениями активности таламо-кортикальной сети [Sitnikova & van Luijtelea, 2006]. Когерентность - это традиционный метод оценки линейных корреляций между двумя сигналами в домене частот, и он не даёт возможности оценить направленность этих взаимодействий, и не содержит информации о динамике взаимодействий во времени [Challis & Kitney, 1991].

В настоящее время активно ведутся разработки вычислительных методов и подходов к анализу ЭЭГ, способных извлечь необходимую информацию о ранних предвестниках патологических состояний и, прежде всего, судорожных расстройств. Одним новых и перспективных методов, способных расширить диагностические и прогностические возможности ЭЭГ, является оценка "причинности по Грейнджеру" [Ancona et al., 2004; Feldmann & Bhattacharya, 2004; Granger, 1969; Hlavackova-Schindler et al., 2007; Pereda et al., 2005]. Этот метод даёт информацию о силе и направленности взаимодействий между двумя процессами во времени. Оценка "причинности по Грейнджеру" основана на реконструкции двух процессов с использованием линейных авторегрессионных моделей (AR) и включает настройку параметров AR-модели с целью улучшить качество прогноза будущих процессов с учетом предшествующего состояния [Granger, 1969]. В настоящем разделе представлены результаты исследования временной динамики двунаправленных таламо-кортикальных взаимодействий до, во время и после прекращения SWD.

Особенности процедуры исследований

Использовали ЭЭГ у 5 самцов крыс линии WAG/Rij в возрасте 11-12 мес. Под общим ингаляционным наркозом (изофлуран, Isoflurane) животным были вживлены два глубоких электрода в вентропостеромедиальное (релейное соматосенсорное) ядро таламуса *VPM* [AP -3.5; L 2.5; H 7.2] и роstralную часть ретикулярного таламического ядра, *RTN* [AP -1.5; L 2.2; H 7.2] и два поверхностных эпидуральных электрода в область лобной [AP +2, L 2] и затылочной [AP -6; L 5] коры. Локализация электродов в таламусе (*VPM* и *RTN*) была подтверждена *post mortem* гистологически (окраска мозга по методу Ниссля) с использованием атласа головного мозга взрослых крыс [Paxinos and Watson, 1986]. ЭЭГ регистрировали у крыс в свободном поведении в течение темной фазы, непрерывно в течение 5-7 часов. Частота дискретизации сигнала ЭЭГ составляла $1024 \text{ с}^{-1}/\text{канал}^{-1}$.

SWD имели состояли из последовательности острых пиков, чередующихся с волнами с частотой 8-12 Гц. Пик-волновые разряды (SWD) были выделены на лобной ЭЭГ полуавтоматически по критерию абсолютного значения амплитуды, скорости нарастания амплитуды и регулярности (программное обеспечение P.L.C. van den Broek, NICI, Radboud

University Nijmegen, the Netherlands). Результаты разметки SWD, полученные на лобной ЭЭГ, были аппроксимированы на остальные каналы.

Второй этап - математический анализ ЭЭГ был проведен в сотрудничестве с коллегами из Саратовского филиала Института радиотехники и электроники РАН и Саратовского государственного университета (д.б.н. Д.А.Смирновым, к.ф.-м.н. Т.В.Диканевым под рук. проф., д.ф.-м.н. Б.П.Безручко).

Был проведен расчет «причинности по Грейнджеру» с целью установления силы и направленности линейных связей таламуса и коры, информация о которых дала бы возможность предсказать состояние ЭЭГ на коротком интервале времени. Метод основан на построении линейных авторегрессионных (AR) моделей, описывающих динамику электрической активности в исследуемых областях головного мозга. Электрический сигнал, зарегистрированный в таламусе $\{x_n\}$ и коре $\{y_n\}$ представлен в дискретном виде, где n - момент времени. Одномерная AR модель для $\{x_n\}$ имеет форму:

$$x_{n+1} = f(x_n, x_{n-1}, \dots, x_{n-d+1}), \quad (1)$$

d - определенное число последовательных дискретных значений ЭЭГ-потенциала, f - функция, алгебраический полином, порядок и коэффициенты которого должны быть подобраны эмпирически на основе экспериментальных данных. В настоящем исследовании использована следующая линейная AR-модель:

$$x_{n+1} = a_0 + \sum_{i=1}^d a_i x_{n+1-i}, \quad (2)$$

коэффициенты a_i должны быть подобраны эмпирически путём минимизации среднеквадратичной ошибки ε_x^2 . Двухкомпонентная модель (3) оценивает влияние процесса параллельного процесса (y) на исходный процесс x . Факт влияния y на x можно констатировать в случае, когда качество предсказания однокомпонентной модели (1) может быть улучшено путём введения в AR-модель информации об y в виде слагаемого $\{y_n\}$ (3):

$$x_{n+1} = f(x_n, \dots, x_{n-d_1+1}) + g(y_n, \dots, y_{n-d_2+1}). \quad (3)$$

здесь f и g - полиномы, форму которых необходимо определить на основе экспериментальных данных. Функция f была определена в исходной модели (1), а функция g учитывает характер влияния процесса y на процесс x . d_1 соответствует размерности d в исходной модели (1). d_2 характеризует инерциальные свойства предсказания: чем выше d_2 , тем больше дискретных значений процесса y необходимо привлечь в модель для предсказания настоящего состояния x . Если $d_2 = 1$, влияние осуществляется мгновенно и без задержки. Мы протестировали эффективность AR-модели, варьируя величину d_2 в пределах от 1 до 25. AR-модель, использованная в настоящей работе, выглядела так:

$$x_{n+1} = a_0 + \sum_{i=1}^{d_1} a_i x_{n+1-i} + \sum_{i=1}^{d_2} b_i y_{n+1-i}. \quad (4)$$

коэффициенты a_i были подобраны путём минимизации среднеквадратичной ошибки. Принцип подбора размерности AR-модели проиллюстрирован на Рис. 3.15, подробности приведены в описании к рисунку.

Коэффициент улучшения прогноза, характеризующий причинность по Грейнджеру, определяется на основании расчета средне-квадратичной ошибки аппроксимации ε_x^2 в индивидуальной и ε_{xy}^2 в совместной модели. Если значение ошибки ε_{xy}^2 оказывается ниже значения ε_x^2 , можно говорить о влиянии процесса y на процесс x . Для статистической оценки этого влияния был использован метод Грейнджера-Сарджента (*Granger-Sargent statistic* [Hlavackova-Schindler et al., 2007]) и введен показатель улучшения прогноза, s_{xy}^2 , который служил численной оценкой влияния процесса $\{y_n\}$ на будущее процесса $\{x_n\}$ (6).

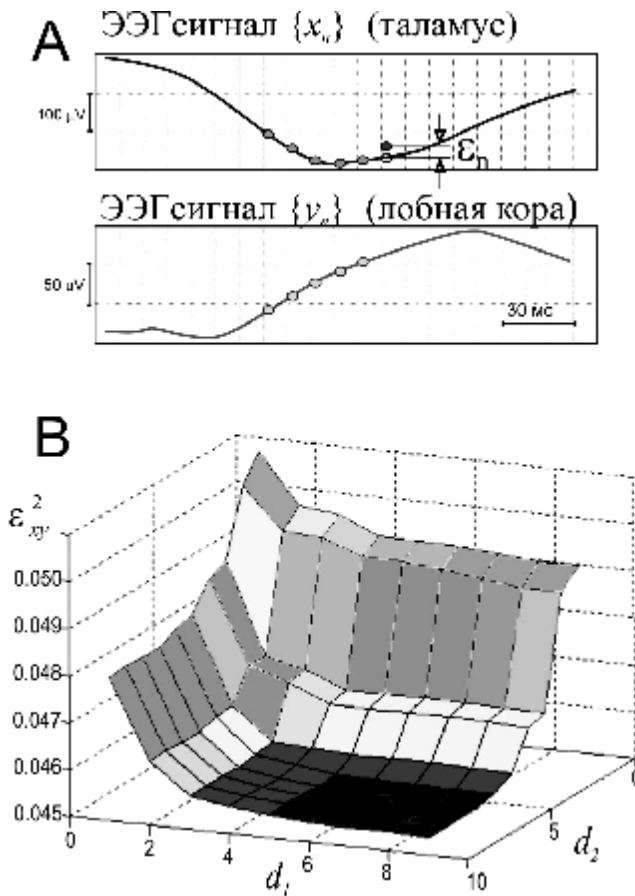


Рисунок 3.15. Метод расчета "причинности по Грейнджеру" использует авторегрессионные модели для предсказания динамики амплитуды таламического $\{x_n\}$ и кортикального сигналов $\{y_n\}$ во времени. (А) Иллюстрация принципа двухкомпонентной авторегрессионной модели, где информация о прошлом состоянии сигнала от коры $\{y_n\}$ улучшает качество предсказания таламического сигнала $\{x_n\}$. Значение ошибки предсказания ε_{xy}^2 зависит от числа использованных дискретных значений ЭЭГ-потенциала $\{x_n\}$ и $\{y_n\}$, использованных в модели, т.е. от т.н. "размерности", d . (В) Зависимость между ошибкой предсказания ε_{xy}^2 и размерностью модели для предсказания $\{y_n\}$, где d_1 и d_2 - число дискретных значений сигналов $\{x_n\}$ и $\{y_n\}$, использованных для построения модели. Увеличение размерности d_1 и d_2 приводит к снижению среднеквадратичной ошибки и улучшению качества предсказания до момента, когда $d_1 = d_2 = 5$. Дальнейшее увеличение размерности не влияет на качество предсказания.

Аналогичным образом, показатель s_{yx}^2 оценивал влияние $\{x_n\}$ на будущее процесса $\{y_n\}$:

$$s_{xy}^2 = \frac{e_x^2 - e_{xy}^2}{e_{xy}^2} \quad (6)$$

$$s_{yx}^2 = \frac{e_y^2 - e_{yx}^2}{e_{yx}^2} \quad (7)$$

В нашей работе значения s_{xy}^2 характеризовали влияние "таламуса-на-кору", а s_{yx}^2 - влияние "коры-на-таламус". Расчет этих показателей был произведен на двух 10-секундных интервалах ЭЭГ (Рис. 3.14А). Первый интервал был разделен на два 5-секундных отрезка, включающих 5 с до начала SWD и первые 5 с SWD. Второй интервал включал завершающие 5 с SWD и 5-секундный интервал после окончания разряда. Подсчет s_{xy}^2 и s_{yx}^2 проводили с бином = 0.0049 (это соответствует требованию модели: 5 последовательных значений временного ряда ЭЭГ при частоте дискретизации 1024 с^{-1}) и усреднены в более масштабных интервалах 0.2 с. Для статистического анализа был использован тест ANOVA, LSD и парный *t*-тест для *post hoc* анализа.

Для корректного использования математического аппарата «причинности по Грейнджеру» применительно к данным ЭЭГ следует обратить внимание на лимитирующие факторы. Главным из которых является требование стационарности сигналов, подвергающихся анализу «причинности по Грейнджеру». ЭЭГ - это нестационарный сигнал со сложной динамикой частотно-временных параметров [Dikanov et al., 2005]. Требование стационарности сигнала было учтено на этапе настройки параметров AR-модели, где были использованы квази-стационарные фрагменты ЭЭГ, представляющие собой длинные интервалы со множеством повторяющихся элементов (периодов колебаний). Во-вторых, необходимо оптимизировать величину временного окна при расчетах «причинности по Грейнджеру». Малая ширина окна даёт возможность улучшить разрешение во времени, но снижает надёжность результатов AR-модели. В нашем случае оптимальная ширина окна составила 0.5 с, и этот интервал включал около 4-х элементов цикла пик-волна. При ширине окна меньше 0.5 с результаты AR-модели были нестабильными, а расширение окна (вплоть до 1 с) не улучшало результаты AR-модели.

3.7.1. Двухсторонние взаимодействия между корой и таламусом в течение пик-волновых разрядов (анализ "причинности по Грейнджеру")

Был проведен анализ всех SWD, которые были обнаружены на записях ЭЭГ. Общее число пик-волновых разрядов у 5 крыс было следующим: 53, 111, 34, 33 и 63. На Рис. 3.16В показана динамика двусторонних взаимовлияний коры и таламуса по мере развития SWD. До начала SWD влияние коры и таламуса друг на друга было слабым и оставалось таковым вплоть до начала SWD. Увеличение влияния таламуса и коры друг на друга (коэффициенты s_{xy}^2 и s_{yx}^2) наблюдалось менее чем за полсекунды до начала SWD (Рис. 3.16В). Этот эффект был прямым следствием судорожной активности, поскольку длительность плавающего окна составляла 0.5 с, и в этот временной интервал передняя граница окна захватывала начало SWD. До этого момента не было зафиксировано никаких значимых изменений s_{xy}^2 и s_{yx}^2 . По-видимому линейная AR-модель, использованная нами в расчетах «причинности по Грейнджеру», была не достаточно чувствительной к нелинейным изменениям таламо-кортикальных взаимодействий, предшествующих SWD.

Начало SWD было отмечено быстрым ростом коэффициентов s_{xy}^2 и s_{yx}^2 , значения которых достигли максимума через полсекунды после начала разрядов (плавающее окно полностью перешло в область SWD) и оставались на высоком уровне в течение 5 с (Рис. 3.14В).

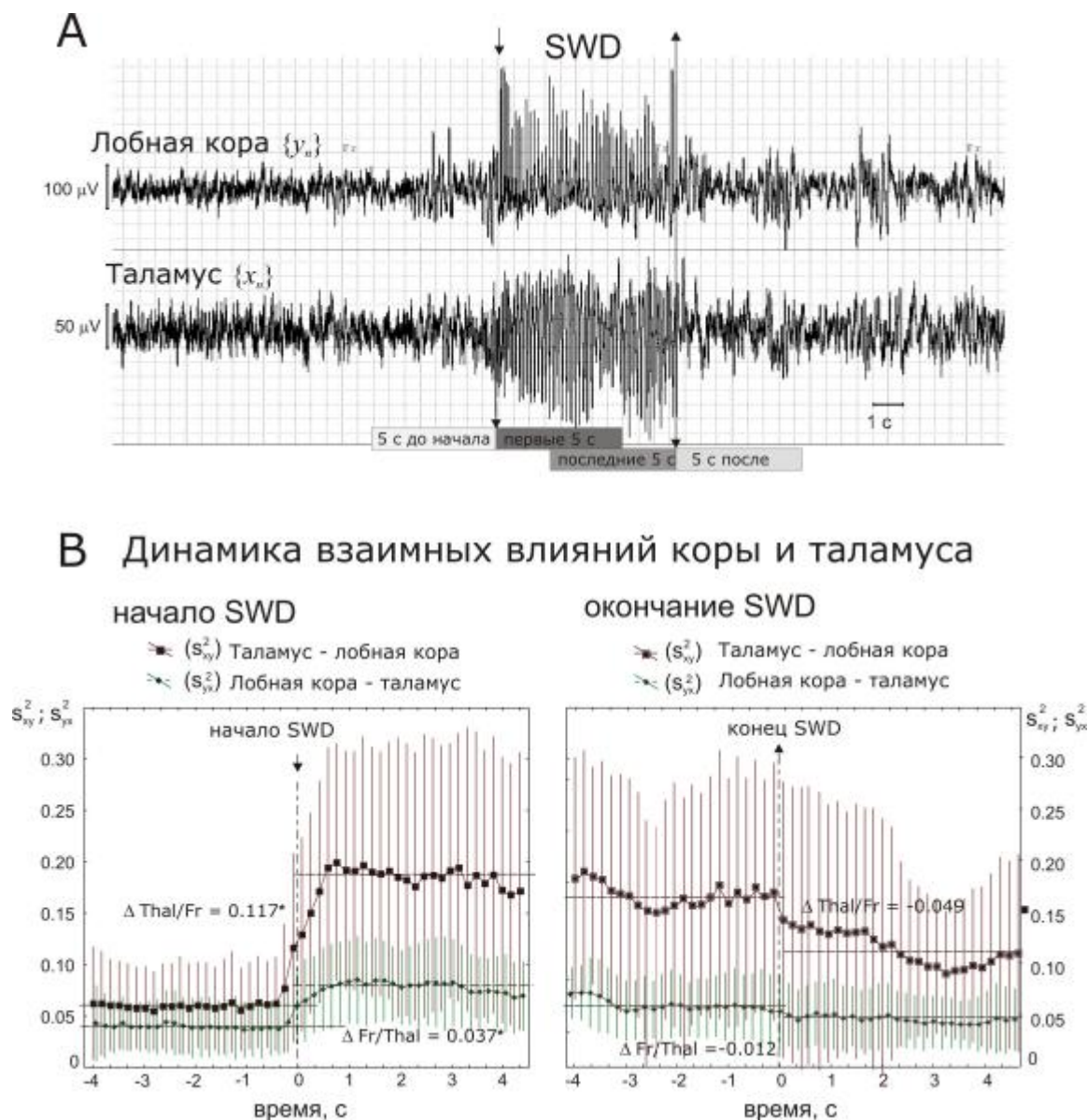


Рисунок 3.16. Результаты исследования взаимных влияний коры и таламуса при развитии пик-волновых разрядов (SWD) у крысы WAG/Rij с использованием "причинности по Грейнджеру". (А) Пример записи электрической активности лобной коры и вентропостеромедиального ядра таламуса. Начало и окончание SWD отмечены стрелками. Расчет "причинности по Грейнджеру" проведен в двух 10-секундных интервалах, содержащих начальный сегмент SWD (5 с до начала SWD и первые 5 с SWD) и заключительный сегмент SWD (последние 5 с SWD и 5 с после SWD). (В) Динамика изменений коэффициентов s_{xy}^2 и s_{yx}^2 , которые характеризуют двусторонние взаимодействия между лобной корой и таламусом во время SWD (n=5 крыс, среднее \pm станд.откл) [из статьи Sitnikova et al., 2008].

Несмотря на высокий индивидуальный разброс, динамика изменений "причинности по Грейнджеру" у всех крыс оказалась сходной. Статистический анализ данных, полученных в группе из 5 животных (Рис. 3.16) продемонстрировал, что интенсивность двусторонних

взаимодействий между таламусом (специфическое ядро VPM) и лобной корой значительно увеличилась в момент начала SWD и плавно снизилась к концу эпилептических разрядов.

По результатам ANOVA, учитывающего влияние двух факторов: 'период времени' (4 уровня: pre-SWD, SWD-начало, SWD-конец, post-SWD) и 'направленность' связи (2 уровня: 'лобная кора→таламус' и 'таламус→лобная кора'), значения функции Грейнджера значительно различались в разные 'периоды' формирования SWD ($F_{3,992} = 58.4, p < 0.0001$). *Post-hoc* тест показал (Рис. 3.16), что, во-первых, начало SWD сопровождалось усилением воздействия в обоих направлениях ('лобная кора→таламус' и 'таламус→лобная кора'). Во-вторых, влияние 'лобная кора→таламус' до начала SWD и после прекращения SWD было одинаковым. Однако влияние в обратном направлении 'таламус→лобная кора' после прекращения SWD оказались значимо выше, чем до начала SWD, т.е. оставались выше исходного уровня после завершения SWD.

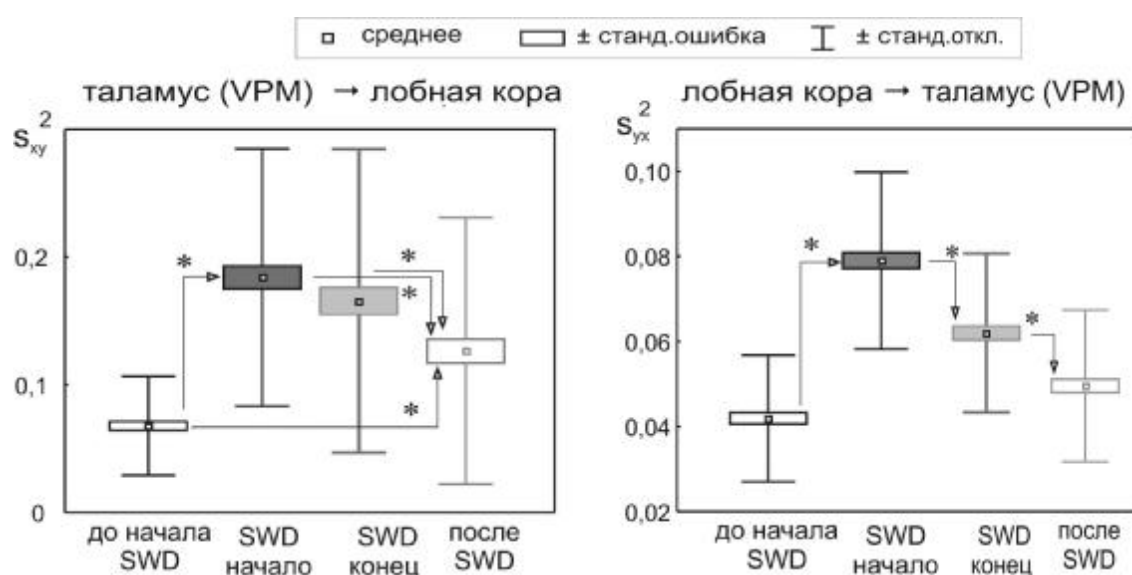


Рисунок 3.16. Результаты статистического анализа "причинности по Грейнджеру" демонстрирующие интенсивность влияния лобной коры и таламуса друг на друга на разных этапах формирования пик-волновых разрядов (SWD). Данные усреднены в 5-секундных интервалах относительно начала и конца SWD ($n=5$ крыс, 30 SWD у каждого животного). Звездочками отмечены значимые различия ($p < 0.05$).

3.7.2. Таламо-кортикальные нейросетевые механизмы поддержания и прекращения пик-волновых разрядов

Традиционные методы, такие как анализ кросс-корреляций при исследовании активности одиночных нейронов на модели генерализованных эпилепсий у кошек [напр. Steriade & Amzica, 1994] и когерентный анализ SWD у крыс WAG/Rij [Sitnikova & van Luijtelaa, 2006] продемонстрировали усиление двусторонних взаимодействий между таламусом и корой SWD. В дополнение к этому, исследование причинности по Грейнджеру позволило выявить несколько принципиально важных моментов.

(1) Влияние в направлении 'таламус→лобная кора' было более интенсивным, чем в обратном направлении на протяжении всех исследованных интервалов времени. С одной стороны это может быть следствием анизотропии связей в таламо-кортикальной системы (особенности восходящих и нисходящих путей, Раздел 1.4). С другой стороны, абсолютные значения коэффициентов "причинности по Грейнджеру" зависят от формы и амплитуды сигналов, а эти параметры у таламического и кортикального сигналов значительно отличаются [Sitnikova & van Luijteleaar, 2007]. В рамках использованного метода корректно говорить об изменениях однонаправленных влияний во времени и об их динамики, но не сравнивать абсолютные значения коэффициентов в двух направленных.

(2) Руководствуясь клиническими (поведенческими) и электроэнцефалографическими признаками невозможно предсказать не только начало, но и окончание SWD. С этих позиций, начало и конец SWD непредсказуемы, однако характер изменения функции "причинности по Грейнджеру" в начале и в конце SWD существенно отличался. Момент начала SWD был связан с резким скачкообразным ростом функции "причинности Грейнджера", и в численном выражении эти изменения были значительно более мощными, чем в конце SWD, когда функция имела гладкий вид и характеризовалась постепенным снижением. Исходя из этого, можно предположить, что в процесс инициации и прекращения SWD вовлекаются разные механизмы: инициация SWD обусловлена реализацией некоего быстроразвивающегося процесса, а окончание SWD является следствием медленного и постепенного процесса.

(3) Влияние лобной коры на таламус слабо (но значимо) усиливалось в начале SWD (прирост составил 0.037 относительно начального уровня, Рис. 3.15B) и быстро возвращалось к прежним значениям ещё до завершения эпилептических разрядов. Воздействия таламуса на лобную кору значительно усиливались в начале SWD (на 0.117, Рис. 3.15B) и оставались на повышенном уровне после окончания SWD. Можно предположить, что лобная кора на начальном этапе формирования SWD оказывает модулирующее влияние на ритмическую активность таламо-кортикальной системы, после чего её влияние быстро снижается до начальных значений. Таламус вовлечен в процесс поддержания и пролонгации SWD (влияние таламуса сохраняется высоким до конца SWD).

Здесь необходимо оговориться, что электроды у наших животных размещались в тех областях таламо-кортикальной системы (лобная кора и VPM), где амплитуда SWD достигала своего максимума [Vergnes et al., 1987]. Прямые анатомические контакты между этими областями практически отсутствуют, и обе структуры тесно взаимодействуют с соматосенсорной корой (SmI) [Jones, 1985]. Важно отметить, что область перiorальных проекций в SmI у крыс WAG/Rij содержит 'фокус' эпилептической активности [Meeren et al., 2002; и многие др. работы]. Будучи иницирована в SmI, эпилептическая активность быстро распределяется по таламо-кортикальной системе и охватывает таламус и лобные отделы коры с некоторой задержкой. Для интерпретации полученных фактов мы будем оперировать понятиями системной и локальной синхронизации в таламо-кортикальной системе [van Luijteleaar & Sitnikova, 2006; Sitnikova & van

Luijtelaar, 2006] и идеями об ‘управляющих’ и ‘модулирующих’ воздействиях в нервной системе [Crick & Koch, 1998]. В предыдущем Разделе 3.6 мы показали, что судорожная активность охватывает область лобной коры, тесно взаимодействующую с *SmI* [Sitnikova & Luijtelaar, 2006]. Кроме того, известно, что прямые синаптические контакты ‘*SmI* → лобная кора’ значительно менее интенсивны, чем контакты в обратном направлении ‘лобная кора → *SmI*’ [Kolb, 1990]. Таким образом, существуют анатомические предпосылки к тому, чтобы облегчить распространение SWD в передние (лобные) области коры. Итак, ‘эпилептический фокус’ не только инициирует, но определяет направление распространения судорожной активности. Процесс инициации SWD обусловлен повышенной возбудимостью нервных клеток и свойствами их мембран, а характер распространения - особенностями нервных связей *SmI* с другими структурами (Рис. 3.17).



Рисунок 3.17. Интерпретации результатов исследования "причинности Грейнджера" при развитии пик-волновых разрядов. Схема предполагает, что переключение восходящих и нисходящих систем, связывающих лобную кору и таламус (здесь VPM), происходит в соматосенсорной коре (*SmI*). *SmI* у крыс WAG/Rij содержит ‘эпилептический очаг’ который инициирует судорожную активность [Meeren et al., 2002]. ‘Эпилептический очаг’ формирует более мощные связи с лобной корой (‘управляющие связи’ в терминологии Crick & Koch, 1998), и менее мощные ‘модулирующие связи’ с таламусом [из статьи Sitnikova et al., 2008].

Влияние таламуса на лобную кору резко усиливается в момент начала SWD и оно выполняет роль управляющего фактора, действие которого направлено на повышение интенсивности и синхронизации импульсной активности кортикальных клеток-мишеней. Влияние лобной коры на таламус оказывается несколько усиленным в начале SWD, и это действие можно отнести к относительно слабому модулирующему влиянию, облегчающему распространение SWD. Снижение модулирующего влияния препятствует распространению SWD и приводит к купированию судорожной активности.

Заключение

Исследованы двухсторонние взаимодействия между специфическим таламусом (ядро VPM) и лобной корой до, во время и после пик-волновых разрядов с использованием расчета "причинности по Грейджеру". Это - новый метод, позволяющий установить силу и направленность воздействий двух параллельных процессов друг на друга (в нашем случае,

электрическая активность таламуса и неокортекса) с использованием информации о прошлом одного процесса для предсказания второго. Было обнаружено следующее:

1) Взаимодействия между лобной корой и таламусом (VPM), описываемые линейной моделью, не менялись до момента начала SWD. Следовательно, линейная модель не имела предсказательной силы в отношении начала эпилептических разрядов. По-видимому, ранние изменения в таламо-кортикальной системе, предшествующие началу SWD, имеют нелинейную природу, поэтому для прогнозирования начала судорожной активности необходима нелинейная модель.

2) Начало SWD характеризовалось резким ростом взаимодействий в обоих направлениях 'таламус ↔ лобная кора'. При этом влияние 'таламус → лобная кора' оставалось высоким до конца SWD и даже после прекращения SWD превышало исходный уровень. Влияние 'лобная кора → таламус' постепенно снижалось в течение SWD и вернулось на начальный уровень к концу эпилептического разряда.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что поддержание эпилептической активности в таламо-кортикальной системе может быть результатом длительного и устойчивого влияния 'таламус → лобная кора' (управляющий фактор), прекращение эпилептической активности связано со снижением влияния 'лобная кора → таламус' (модулирующий фактор). Следующая Глава была посвящена исследованию механизмов, модулирующих про-эпилептическую активность SmI и регулирующих эпилептическую активность у крыс WAG/Rij на системном уровне.

ГЛАВА 4

Системные механизмы развития абсанс-эпилепсии у крыс линии WAG/Rij

4.1. Развитие пик-волновых разрядов в норме и при ограничении сенсорного притока в раннем онтогенезе¹⁷

Абсанс-эпилепсия - это генетически детерминированное заболевание [Crunelli & Leresche, 2002; Gauguier et al. 2004], и долгое время считалось, что индивидуальный опыт и внешние факторы среды не оказывают существенного влияния на реализацию «генетической программы» этой болезни [Schridde & van Luijtelaar, 2005]. С другой стороны, процессы, которые являются главной причиной эпилепсии, а именно, повышенный уровень возбудимости и дефицит торможения, могут быть отдалёнными последствиями недостатка сенсорного опыта в раннем онтогенезе. По нашим данным (Глава 1) у нормальных крыс, подвергавшихся удалению вибрисс в раннем онтогенезе, в соматосенсорной коре (SmI) наблюдался сдвиг активационно-тормозного баланса в сторону увеличения возбудительного компонента [Ситникова, 2001; Ситникова, 2010]. У животных, склонных к абсанс-эпилепсии, подобные изменения в про-эпилептической области неокортекса могут способствовать формированию эпилептического очага. Для проверки этой гипотезы были использованы крысы линии WAG/Rij с генетической предрасположенностью к абсанс-эпилепсии [van Luijtelaar & Coenen, 1986; Coenen & van Luijtelaar, 2003]. Как показали наши исследования (Глава 2.5), электроэнцефалографические признаки эпилепсии у крыс WAG/Rij соответствуют признакам абсанс-эпилепсии человека [Sitnikova & van Luijtelaar, 2007]. Из литературы известно, что первые эпилептические разряды у крыс WAG/Rij появляются в возрасте 150 дней и приобретают зрелую форму а к возрасту 275-300 дней [Coenen & van Luijtelaar, 1987]. Таким образом, ограничение вибротактильной чувствительности в раннем онтогенезе у крыс WAG/Rij может усиливать возбудимость про-эпилептической зоны в SmI и влиять на динамику развития эпилептической активности во взрослом возрасте. В настоящем Разделе представлены результаты исследования этого предположения.

Особенности процедуры исследований

Работа выполнена на крысах линии WAG/Rij. Использовали потомство от семи беременных самок. День рождения крысят принимали за первый день постнатального онтогенеза. Количество крысят в помете уменьшали до 6 или до 8, так чтобы количество самок и самцов было одинаковым: 3/3 или 4/4. Контрольную группу составили крысята трех пометов, где проводили имитацию состригания вибрисс путем механической стимуляции усовой подушечки тупым концом ножниц. В опытной группе ('группа 1', два помёта) состригание вибрисс проводили

¹⁷ по материалам статьи Sitnikova E. Neonatal sensory deprivation promotes development of absence seizures in adult rats with genetic predisposition to epilepsy. Brain Res. 2011; 1377: 109-118

ежедневно, с 2 до 21 дня жизни крысят трех пометов. В опытной группе ('группа 2', два помёта) удаление вибрисс проводили на позднем этапе созревания вибро-тактильного анализатора, в период с 9 по 20 день постнатального онтогенеза.

У депривированных животных вибриссы быстро отрастали, достигая нормальной длины приблизительно через месяц после прекращения процедуры их состригания. В возрасте 130–140 дней по 2-3 самца из каждого помета были отобраны в случайном порядке для имплантации электродов и последующей регистрации ЭЭГ. Исследование ЭЭГ было проведено на 7 крысах из опытной 'группы 1', 5-и крысах из опытной 'группы 2' и 7-и контрольных животных. Регистрацию ЭЭГ проводили в свободном поведении, ежемесячно, начиная с 5-ого по 8-ой месяц жизни.

Для цифровой записи ЭЭГ был использован многоканальный компьютерный электроэнцефалограф Sagura и программное обеспечение Leonardo (MKE Medizintechnik GmbH). Продолжительность записи составляла 20-24 часа, частота опроса каждого канала составляла 400 /с.

Проведен статистический анализ 6-часовых интервалов электроэнцефалограмм, зарегистрированных на протяжении темного времени суток. Пик-волновые разряды (SWD) 1-ого типа на ЭЭГ были выделены, руководствуясь формальными критериями [van Luijtelaaar & Coenen, 1986; Мидзяновская, 1999]. Анализировали число SWD, их длительность, а также суммарное время эпилептической активности за 6 часов. Для статистического анализа последовательных возрастных изменений (трёх возраста) использован непараметрический ранговый критерий Фридмана для повторных измерений.

4.1.1. Возрастные изменения пик-волновых разрядов

В возрасте 5 месяцев у большинства (4 из 6) крыс контрольной группы эпилептическая активность отсутствовала, у остальных животных были обнаружены единичные пик-волновые разряды (Рис. 4.1), а средняя длительность SWD не превышала 4 с. С возрастом наблюдали значимое увеличение числа и длительности пик-волновых разрядов. В возрасте 7 месяцев SWD были зарегистрированы у четырёх из шести крыс, их среднее число составило 21.2 ± 31.3 за 6 ч, средняя длительность повысилась до 6.1 ± 2.3 с, общее время эпилептической активности за 6 ч составило 217 ± 287 с (значимость возрастных изменений этих параметров $p < 0.05$, Рис. 4.1). В 9-месячном возрасте наблюдали дальнейшее увеличение числа и длительности разрядов, в результате суммарное время эпилептической активности в период с 5 по 9 месяц жизни многократно увеличилось.

Возраст начала абсанс-эпилепсии варьировал в широких пределах. Примерно у 1/3 наших животных (2 из 6 крыс) первые признаки абсанс-эпилепсии были обнаружены в возрасте 5 месяцев в виде единичных SWD на ЭЭГ, у 2 из 6 крыс - в возрасте 7 месяцев, у остальных 2 крыс SWD отсутствовали даже в 9-месячном возрасте. Т.е., несмотря на генетическую предрасположенность к абсанс-эпилепсии, признаки данного заболевания не были обнаружены у

1/3 исследованных крыс линии WAG/Rij. Таким образом, мы столкнулись с интересным феноменом купирования генетически детерминированного заболевания. Нейромодуляторные механизмы, контролирующие реализацию генетической программы абсанс-эпилепсии, будут изложены в следующем Разделе 4.3. Забегая вперед, необходимо отметить, что отсутствие судорожной активности у некоторых крыс WAG/Rij связано с особенностями дофаминергической системы и прямо коррелирует с малым числом сохранившихся нейронов в компактной части черной субстанции.

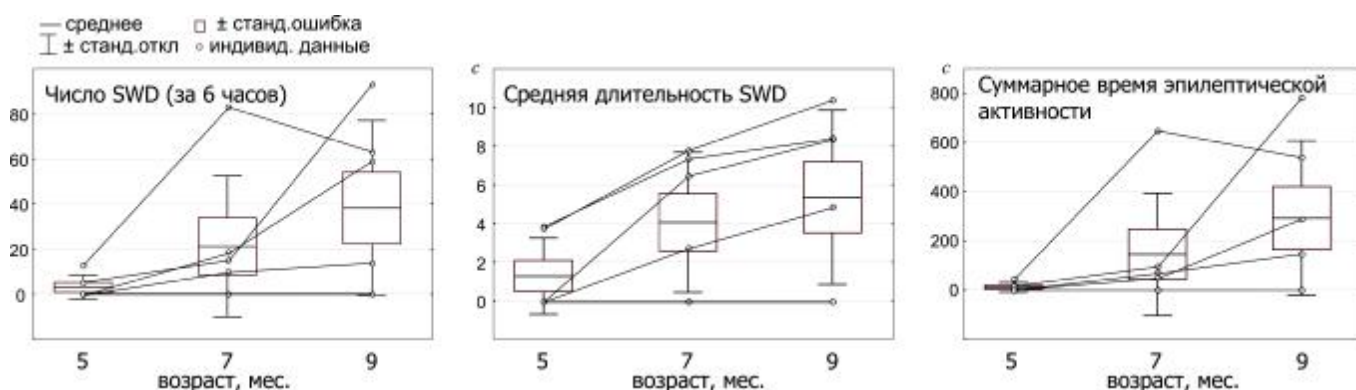


Рис. 4.1. Возрастные изменения количественных характеристик пик-волновых разрядов (SWD) на ЭЭГ у крыс линии WAG/Rij, находившихся под наблюдением в течение 4 месяцев (с 5 по 9 месяцы жизни).

Отдельного внимания заслуживает высокий индивидуальный разброс количественных характеристик SWD (Рис. 4.1). Высокая вариативность исследованных параметров не только затрудняла статистический анализ (возникла необходимость использовать непараметрические парные статистические критерии, которые давали возможность отследить общую динамику), но и снижало информативность усредненных значений. С другой стороны, индивидуальные различия в генетически однородной популяции крыс заставляют задуматься о "не-генетических" механизмах абсанс-эпилепсии, т.е. о влиянии эпигенетических факторов (внешняя среда, воспитание и сенсорный опыт). Следующий этап работ посвящен исследованию влияния раннего сенсорного опыта на развитие абсанс-эпилепсии в позднем онтогенезе.

4.1.2. Развитие абсанс-эпилепсии у взрослых животных, подвергшихся удалению вибрисс в раннем онтогенезе

У крыс, вибриссэктомированных со 2-ого дня жизни ('группа 1'), наблюдали более раннее появление эпилептических разрядов в виде SWD. Если в контрольной группе в 5-месячном возрасте SWD оказались сформированными лишь у 43% животных (3 особи из 7-и), то в 'группе 1' в этом возрасте SWD были обнаружены у 100% животных (7 особей). С возрастом количество эпилептических разрядов значительно увеличилось (Табл. 4.1). В контрольной группе к 8-и месячному возрасту SWD наблюдались у 6-и из 7-и крыс, а их среднее число было достоверно ниже, чем у крыс из 'группы 1' этого возраста. Характерно, что число эпилептических разрядов у 5-месячных крыс, вибриссэктомированных со 2-ого дня жизни, не отличалось от числа разрядов у интактных животных на более позднем этапе онтогенеза (возраст 8 мес). Сделан вывод о том,

что удаление вибрисс в раннем онтогенезе способствует более раннему и более бурному развитию эпилепсии у взрослых крыс линии WAG/Rij.

Было обнаружено, что в ‘группе 2’, где удаление вибрисс проводили на более позднем этапе онтогенеза (в возрасте 9-20 дней), отсутствовали значимые изменения судорожной активности во взрослом возрасте по сравнению с контролем. У этих животных общее количество SWD и их длительность не отличались от контрольных значений ни в 5-и, ни в 8-и месячном возрасте. Таким образом, критический период формирования вибро-тактильной чувствительности является критическим и для развития патологических процессов, лежащих в основе абсанс-эпилепсии у крыс с генетической предрасположенностью к этой болезни.

Таблица 4.1. Число эпилептических разрядов (SWD 1-ого типа), зарегистрированных на ЭЭГ в течение 6-и часов (среднее значение \pm std.откл) у крыс линии WAG/Rij, подвергшихся сенсорной депривации в раннем постнатальном онтогенезе

Возраст, мес	Контроль (n = 7 крыс)	Вибриссэктомия	
		со 2 дня, <u>группа 1</u> (n = 7 крыс)	с 9 дня, <u>группа 2</u> (n = 5 крыс)
5	3.0 \pm 5.3	25.1 \pm 21.6	9.2 \pm 7.9
8	29.3 \pm 33.6 ^a	55.0 \pm 36.3 ^{a,b}	22.6 \pm 13.8 ^a

^a – статистически значимое увеличение числа SWD в период между 5-и и 8-и месяцами жизни у крыс трёх групп (p<0.05).

^b – у 8-месячных крыс, вибриссэктомированных со 2 дня жизни, число SWD значимо превышает контрольные значения.

Табличные данные частично представлены в статье [Sitnikova, 2011].

Важной характеристикой возрастных изменений судорожной активности являлась длительность SWD. Распределение длительности разрядов в контроле и в ‘группе 1’ отличалось от нормального (тест Колмогорова-Смирнова) и характеризовалось двумя пиками около 4 сек и 6-8 сек. Это дало основание для разделения разрядов на ‘короткие’ (<6 сек) и ‘длительные’ (>6 сек). В контрольной группе в возрасте 5 месяцев SWD были ‘короткими’ (средняя длительность 3.8 \pm 0.9 сек). В этом возрасте у вибриссэктомированных крыс, помимо ‘коротких’, были обнаружены ‘длительные’ разряды, а средняя продолжительность SWD была значимо выше, чем в контроле. В возрасте 8 месяцев в обеих группах возросло количество ‘длительных’ SWD, и разница между средней длительностью разрядов в контрольной и сенсорно-депривированной группами составляла почти 2 сек (6.3 \pm 3.0 и 8.4 \pm 3.4 сек соответственно), достигнув внушительного уровня значимости. Характерно, что усиление эпилептической активности у вибриссэктомированных крыс 8-месячного возраста сопровождалось увеличением относительного числа ‘длительных’ SWD; число ‘коротких’ разрядов у опытных крыс этого возраста не отличалось от контрольных значений.

4.1.3. Критический период формирования эпилептических разрядов у крыс WAG/Rij

Наша концепция предполагает, что критический период развития абсанс-эпилепсии у крыс WAG/Rij ограничен 1-ым месяцем жизни, и он совпадает с критическим периодом формирования соматосенсорной чувствительности. О важности раннего сенсорного опыта в развитии абсанс-эпилепсии свидетельствует тот факт, что 15-минутная изоляция от матери крысят в возрасте 1-21 дня приводит к снижению числа эпилептических разрядов у этих животных в возрасте 5-6 месяцев примерно на 30% по сравнению с контролем [Schridde et al., 2006]. Аналогичный эффект снижения эпилептической активности был обнаружен и у крысят, подвергавшихся ежедневному хэндлингу с 1 по 21 день жизни [та же работа]. Более того, манипуляции за пределами критического периода, т.е. в возрасте старше 21 дня, не вызывала значительных изменений эпилептической активности у взрослых животных. Так, количество эпизодов абсанс-эпилепсии у крыс WAG/Rij, содержащихся в сенсорно-обогащенной среде на протяжении 6 месяцев непосредственно после периода молочного вскармливания, и у крыс, выросших в обычных условиях, было одинаковым, хотя продолжительность эпилептических эпизодов у первых была ниже [Schridde & van Luijtelaar, 2005].

Возможность существования критического периода развития эпилептических расстройств, в том числе и абсанс-эпилепсии, оказалась в центре внимания американских ученых из Йельского университета [Giblin & Blumenfeld, 2010]. Основанием для этого послужили эксперименты, продемонстрировавшие, что использование противоабсансных лекарственных препаратов задолго до появления первых признаков абсанс-эпилепсии у крыс WAG/Rij (доклинический период) предотвращает развитие этой патологии [Blumenfeld et al., 2008]. С позиции теории системогенеза, «критический (сенситивный) период» формирования функций - это интервал времени, когда происходят быстрые структурно-функциональные изменения в нервной системе, это - переломная точка альтернативного выбора между двумя путями развития [Раевский, 2002]. У патологического процесса тоже может существовать «критический период». Giblin и Blumenfeld (2010) полагают, что «критический период» развития абсанс-эпилепсии у крыс WAG/Rij соответствует возрасту от 2 до 4 месяцев, поскольку именно в этот период появляются первые эпилептические разряды на ЭЭГ [Coenen & van Luijtelaar 1987; Akman et al., 2010], и в это же время наблюдается рост функциональной активности (upregulation) потенциал-зависимых натриевых каналов Nav 1.1 и 1.6 в соматосенсорной коре [Klein et al., 2004]. Мы связываем «критический период» развития абсанс-эпилепсии с онтогенезом соматосенсорной коры, которая, как известно, может инициировать пик-волновые разряды [Meeren et al., 2002; Sitnikova & van Luijtelaar, 2004; Manning et al., 2004; Manning et al., 2004; Gurbanova et al., 2006]. В нашем понимании критический период развития абсанс-эпилепсии - это "временное окно", когда внешние факторы могут радикально изменить клинические проявления болезни в отдаленном будущем. Принципиальное отличие нашей концепции от Giblin и Blumenfeld (2010) состоит в том, что критический период не совпадает по времени с появлением первых признаков болезни, а

он приходится на значительно более ранний этап онтогенеза, когда способность нервной системы к пластическим изменениям является наиболее высокой.

Экспериментальный подход, выбранный нами для проверки нашей концепции - состригание вибрисс у крыс WAG/Rij - учитывал два принципиальных момента: (1) воздействие было длительным (хронический/субхронический) эксперимент, (2) онтогенетический фактор – воздействие осуществлялось в течение критического периода развития. Известно, что острое лишение тактильной чувствительности у взрослых животных оказывает противоположное воздействие на судорожную активность. Этот эффект был подробно исследован в работе Abbasova и др. (2010) у 6-8 месячных крыс WAG/Rij, где при использовании короткой новокаиновой блокады тригеминального нерва наблюдали практически полное исчезновение пик-волновых разрядов на ЭЭГ. Эффект длился не более 2 часов, после чего эпилептическая активность возвращалась на прежний уровень. По-видимому, у взрослых животных временное снижение потока возбуждательных импульсов от периферии (блокада нерва) снижает общую активность эпилептического очага в соматосенсорной коре, что приводит к уменьшению числа эпилептических разрядов. Аналогичную картину мы наблюдали у крыс WAG/Rij *in vivo* после прямой инактивации соматосенсорной коры с помощью микроинъекций 2% лидокаина. Количество эпилептических разрядов при этом снижалось [Sitnikova & van Luijteleaar, 2004]. Аналогичный эффект (снижение разрядов) был обнаружен при введении блокатора натриевых каналов тетродоксина в соматосенсорную кору крысам GAERS [Polack et al., 2009]. В настоящей серии экспериментов с удалением вибрисс был использован онтогенетический подход, который коренным образом отличается от стандартных острых экспериментальных ситуаций, связанных с локальной блокадой центра или периферии соматосенсорной системы [вышеназванные Polack et al., 2009; Abbasova et al., 2010]. Здесь мы имеем дело с пластическими изменениями нервных клеток на фоне ограничения специфического сенсорного притока [Lee et al, 2009], эти изменения необратимы и, по-видимому, связаны с повышением возбудимости соматосенсорной коры [Simons & Land, 1987; Shoykhet et al., 2005; Breton & Stuart, 2009].

Заключение

Обнаружено, 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, в которой дебют эпилептической активности происходит в возрасте 2-4 месяцев [Coenen & van Luijteleaar, 1987]. В период с 5 до 9 месяцев жизни у крыс WAG/Rij наблюдали постепенное увеличение числа и длительности SWD, также увеличивалось суммарное время эпилептической активности.

Отмечена высокая вариативность количественных характеристик SWD у разных индивидуумов генетически однородной линии, следовательно, фенотипическое проявление наследственной предрасположенности к абсанс-эпилепсии может находиться 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). Таким образом, критический период развития вибро-тактильного анализатора у крыс с генетической предрасположенностью к абсанс-эпилепсии является критическим и для формирования эпилептических разрядов в позднем онтогенезе, поскольку патогенетический механизм абсанс-эпилепсии связан с дисфункцией соматосенсорной коры. Полученные нами данные ставят под сомнение точку зрения о том, что внешние факторы не влияют на реализацию «генетической программы» абсанс-эпилепсии [Schridde & van Luijtelaaar, 2005].

При прогрессирующем развитии судорожной активности снижается качество жизни пациента, в частности, ухудшается качество сна [Kellaway, 1985; Bazil, 2003; Kotagal & Yardi, 2008]. Приступы генерализованной пик-волновой активности тесно связаны с реакцией пробуждения (arousal) [Halász, 1991]. Вероятность появления SWD зависит от уровня бодрствования [Niedermeyer, 1996; Panayiotopoulos, 1999; Halász & Kelemen, 2009], но эта зависимость является сложной. На следующем этапе исследованы: возрастная динамика распределения SWD в цикле сон-бодрствование и влияние факторов раннего онтогенеза на этого распределения.

4.2. Связь между механизмами сна и абсанс-эпилепсии у крыс, подвергшихся деафферентации в раннем онтогенезе¹⁸

Существует тесная взаимосвязь между уровнем бодрствования и проявлениями абсанс-эпилепсии. Приступы абсанс-эпилепсии у человека возникают в состоянии дремоты, засыпания, поверхностного сна и иногда при пробуждении [Niedermeyer, 1996; Panayiotopoulos, 1999; Halász & Kelemen, 2009], также как и у крыс с генетической предрасположенностью к абсанс-эпилепсии [Lannes et al., 1988; van Luijtelaaar & Coenen, 1988; Drinkenburg, 1991]. Иными словами, переходное состояние от бодрствования ко сну (реже от сна к бодрствованию) наиболее благоприятно для развития приступов абсанс-эпилепсии [Halász, 1991; Niedermeyer, 1996; Halász et al., 2002].

Клинические проявления "абсанса" подобны внезапному и очень глубокому сну. Резкий сенсорный стимул способен прервать состояние "абсанса", также как он может пробудить ото сна. О тесной близости механизмов сна и абсанс-эпилепсии свидетельствуют результаты функциональной нейровизуализации, нейрофизиологического и клинического анализа. Проблема взаимосвязи механизмов сна и абсанс-эпилепсии интересовала несколько поколений ученых: Gloor и соавторы (1968), Kostopoulos (2000), Coenen & van Luijtelaaar (1986) Drinkenburg и

¹⁸ по материалам статей: Sitnikova E. Neonatal sensory deprivation promotes development of absence seizures in adult rats with genetic predisposition to epilepsy. Brain Res. 2011; 1377: 109-118
Ситникова Е.Ю. Загадка промежуточной фазы сна. Материалы 6-ой школы-конференции по сомнологии. Ростов-на-Дону; 2009; 22-30.

соавторы (1991; 1993); Avanzini и соавторы (1992; 2000), Bazil (2003), Leresche и соавторы (2012) и др. Свою последнюю монографию (2003) Mircea Steriade посвятил механизмам сна и эпилепсии, подчеркивая их неразрывную связь ("*sleep and epilepsy are bedfellows*").

Приступы абсанс-эпилепсии наблюдаются в период, когда пациент не занят активной деятельностью, находится в состоянии дремоты или медленноволнового сна (стадия 2) [Kellaway, 1985; Ross et al., 1966], и этому способствует усиление синхронизации таламо-кортикальной системы, которая генерирует эпилептические пик-волновые разряды. Из литературы известно, что больные абсанс-эпилепсией часто страдают следующими нарушениями сна: удлиненный период наступления сна и REM-сна, увеличение продолжительности дремотного состояния и частоты побуждений, снижение длительности REM-сна [ссылки в Suntsova et al., 2009]. Сходные изменения описаны и у крыс с генетической предрасположенностью к абсанс-эпилепсии (линия WAG/Rij) [Gandolfo et al., 1990; Coenen & van Luijtelaaar, 2003; van Luijtelaaar & Bikbaev, 2007].

Значительно лучше исследован вопрос распределения приступов абсанс-эпилепсии у пациентов в разные фазы цикла «сон – бодрствование», однако данные разных исследователей противоречат друг другу. Появление судорожной активности во время сна наблюдается почти у трети пациентов с диагнозом идиопатическая генерализованная эпилепсия (в т.ч. абсанс-эпилепсия), что подтверждает тесную взаимосвязь между физиологическими процессами сна и патологическими процессами лежащими в основе эпилептической активности [Kotagal & Yardi, 2008]. С другой стороны, недавно было показано, что у детей с различными типами идиопатической генерализованной эпилепсий (средний возраст 6.4 ± 5.4 лет), абсансы наблюдаются преимущественно во время бодрствования (91%) и их пик приходится на утро (между 9 часами утра и полуднем) и на вечер (между 6 часами вечера и полночью) [Zarowski et al., 2011]. У крыс WAG/Rij около половины пик-волновых разрядов в возрасте 6 месяцев появляется на фоне поверхностного сна, треть - в состоянии пассивного бодрствования, разряды немногочисленны во время глубокого медленного сна и полностью отсутствуют во время REM-сна [Drinkenburg et al., 1991]. У крыс линии Long Evans в возрасте 4-6 месяцев примерно две трети от общего числа SWD наблюдаются в состоянии активного бодрствования, и очень небольшое число разрядов - во время медленного и парадоксального сна [Shaw, 2004]. Возможно, что причинами столь резких отличий может быть комплекс факторов, включающих субъективный фактор оценки фаз сна, объективный генетический фактор (разница генотипов имбредных линий крыс), эпигенетический (условия содержания, установленный режим и распорядок работы с животными в лаборатории). Вполне вероятно, что с возрастом, по мере прогрессирующего развития судорожной активности изменяется и вероятность появления SWD в разные фазы сна (в зависимости от уровня бодрствования). Иными словами, характер распределения SWD в цикле сон-бодрствования может меняться в ходе позднего онтогенеза. Этот вопрос до сих пор не исследован, и он будет предметом настоящего раздела работ.

Особого интереса заслуживает промежуточная фаза сна (*intermediate state of sleep*¹⁹), длительность которой у крыс на симптоматической стадии абсанс-эпилепсии (линия WAG/Rij) в три раза выше, чем у здоровых крыс Wistar [Gandolfo et al., 1990]. Эта непродолжительная фаза (несколько секунд) наблюдается при переходе от медленного к парадоксальному сну и характеризуется высокоамплитудной альфа-активностью в передних областях коры (сонные веретена или пик-волновая активность) на фоне тета-ритма в затылочных областях [Gottesmann, 1992]. Международная система классификации стадий сна, принятая Американской академией медицины сна (American Academy of Sleep Medicine, AASM) и базирующаяся на принципах, сформулированных Rechtschaffen и Kales (1968), рассматривает эту фазу как начальную стадию REM-сна, несмотря на явное несоответствие: наличие сонных веретен во время REM-сна. Промежуточная фаза сна завершается резким изменением характера ЭЭГ в лобной коре: обрыв сонного веретена или пик-волнового разряда, за которым следует длительный период десинхронизации в лобной коре или REM-сон. Возрастные изменения этой фазы не исследованы. В настоящей части работы будет исследовано предположение, что увеличение длительности промежуточной фазы сна у крыс WAG/Rij связана с прогрессирующим развитием SWD.

Особенности процедуры исследований

Использовали 14 самцов крыс линии WAG/Rij. У 7 крыс с 2 до 21 дня жизни ежедневно состригали все усовые вибриссы. В это время 7 контрольных крысят подвергали хэндлингу и имитации процесса состригания вибрисс. В возрасте 4.5 мес животным были имплантированы эпидуральные электроды для регистрации ЭЭГ из области лобной, соматосенсорной и затылочной коры. Запись ЭЭГ проводили в свободном поведении, ежемесячно, начиная с 5-ого по 8-ой месяц жизни.

Выделение фаз цикла сон-бодрствование проводили визуально по форме ЭЭГ сигнала в лобно-теменно-затылочных отведениях в рамках системы Rechtschaffen и Kales (1968), принимая во внимание видовые особенности сна и ритмической активности на ЭЭГ у крыс [Drinkenburg et al., 1991; Gottesmann, 1996; Kirov & Moyanova, 2002]. Десинхронизация ЭЭГ во всех областях коры соответствовала состоянию бодрствования. Наличие на ЭЭГ единичных сонных веретен в лобно-теменных областях на фоне слабой синхронизации ЭЭГ идентифицировали как состояние дремоты. Признаком медленного сна являлись многочисленные сонные веретена, сопровождавшие дельта-активность на фоне полностью синхронизированной ЭЭГ.

Промежуточная фаза сна (Рис. 4.2) представляла собой интервал между медленным и парадоксальным сну, когда высокоамплитудные сонные веретена в лобно-теменных отведениях сопровождалась устойчивым тета-ритмом затылочных областей. Минимальная длительность отдельных эпизодов промежуточной фазы сна составляла 5 сек.

¹⁹ Необходимо различать понятия промежуточная фаза сна млекопитающих («*intermediate state of sleep*» [Gottesmann, 1992;1996] и «промежуточный» сон (*intermediate sleep*) амфибий и рептилий, который по определению проф. Кармановой (1977), является прототипом «настоящего» сна теплокровных. Хотя возможно, что промежуточная фаза сна современных млекопитающих имеет филогенетическую связь с «промежуточным» сном первых наземных позвоночных.

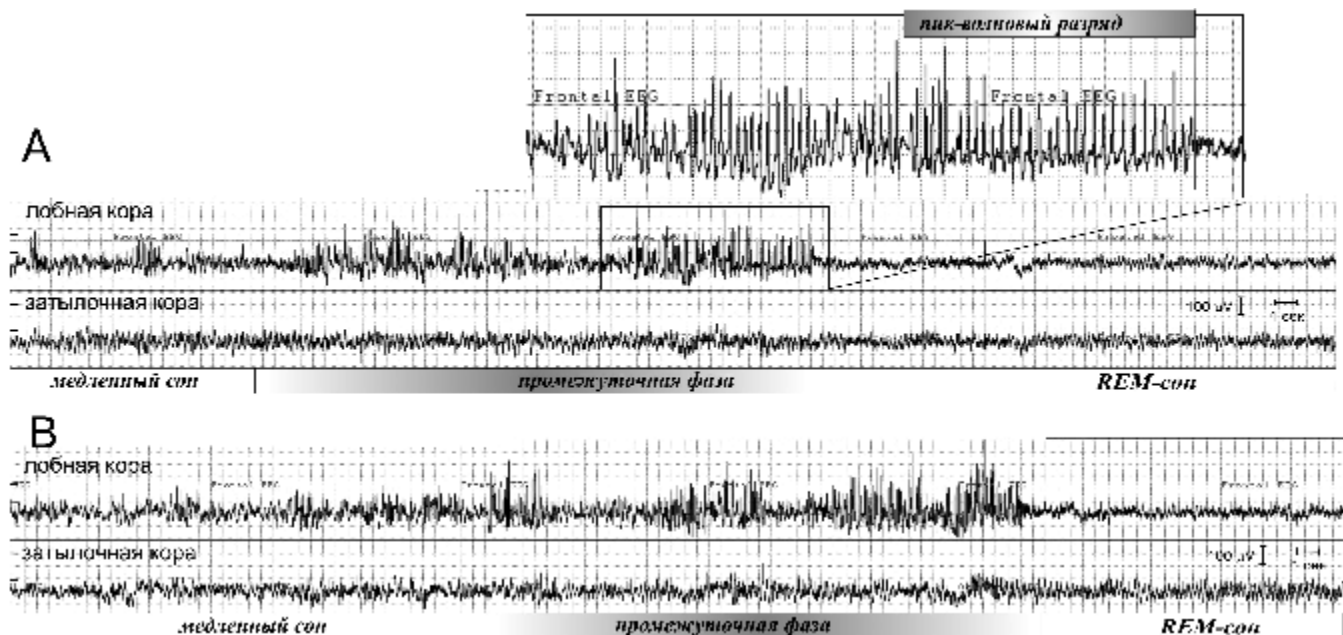


Рисунок 4.2. Два примера ЭЭГ, демонстрирующие переход от медленного сна, промежуточную фазу к REM-сну у крысы линии WAG/Rij в возрасте 8 месяцев. Во время промежуточной фазы сна в лобной коре наблюдаются высоко-амплитудные сонные веретена и пик-волновые разряды.

4.2.1. Распределение пик-волновых разрядов в цикле сон-бодрствование

На Рис. 4.3 показаны SWD, зарегистрированные на ЭЭГ у крысы WAG/Rij в разные фазы цикла сон-бодрствование. У 5-и месячных животных SWD наиболее часто (в 94% случаев) наблюдались на фоне десинхронизации ЭЭГ, что соответствовало состоянию пассивного бодрствования, намного реже (6%) – в состоянии дремоты и полностью отсутствовали во время сна. В 8-и месячном возрасте у 3-ёх из 7 животных SWD были обнаружены во время медленного сна, у 1-ого животного – во время промежуточной фазы сна и по-прежнему отсутствовали в фазу REM-сна.

В период с 5 по 8 месяцев жизни наблюдали значимое увеличение числа SWD ($F_{1,47} = 7.8$, $p < 0.01$). Значимым оказался рост числа SWD в состоянии пассивного бодрствования ($p < 0.05$, *post-hoc test*), сходные тенденции наблюдали в состоянии дремоты, медленного сна и промежуточную фазу сна (Рис. 4.4). Соотношение среднего числа SWD у 8-и месячных животных было следующим: на фоне десинхронизации ЭЭГ - 55%, в состоянии дремоты – 25%, медленного сна – 16%, промежуточной фазы – 4%.

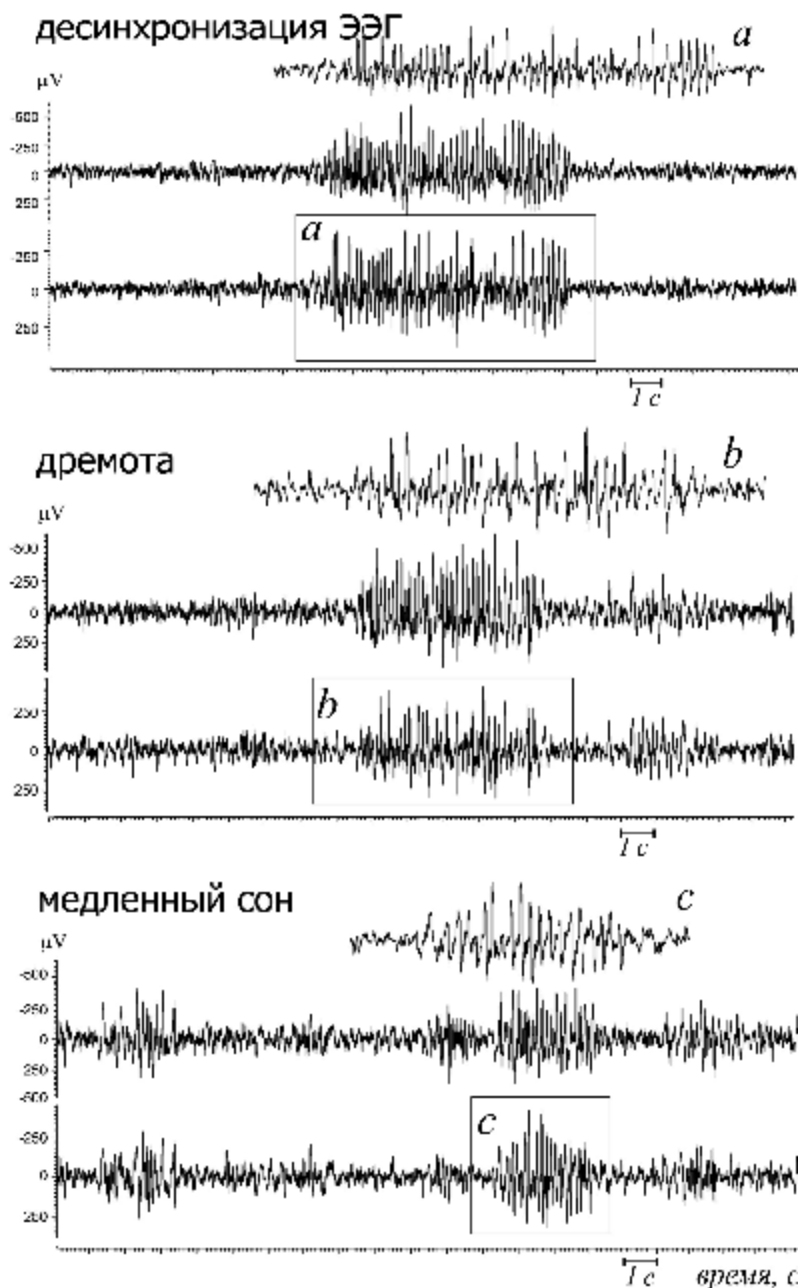


Рисунок 4.3. Пик-волновые разряды (SWD 1-ого типа) на ЭЭГ у крысы WAG/Rij (контроль, возраст 8 месяцев) на разных стадиях цикла сон-бодрствование. Показаны записи ЭЭГ лобной (верхний канал) и париетальной коры (нижний канал).

Увеличение числа SWD с возрастом - достаточно известный факт, который был обнаружен в одной из первых работ, выполненных на крысах WAG/Rij [Coenen & van Luijteleaar, 1987], а также у генотипически родственной линии крыс GEARS [Çarçak et al., 2008; Akman et al., 2010] и не родственной линии крыс Fisher 344 [Buzsáki et al., 1988]. Принципиально новым является вывод о том, что усиление судорожной активности в ходе позднего онтогенеза крыс WAG/Rij связано со значительным ростом числа SWD в состоянии пассивного бодрствования (на фоне десинхронизации ЭЭГ), при этом эпилептическая активность во время дремоты и сна оставалась низкой и мало изменялась с возрастом.

Число SWD (за 6 часов)

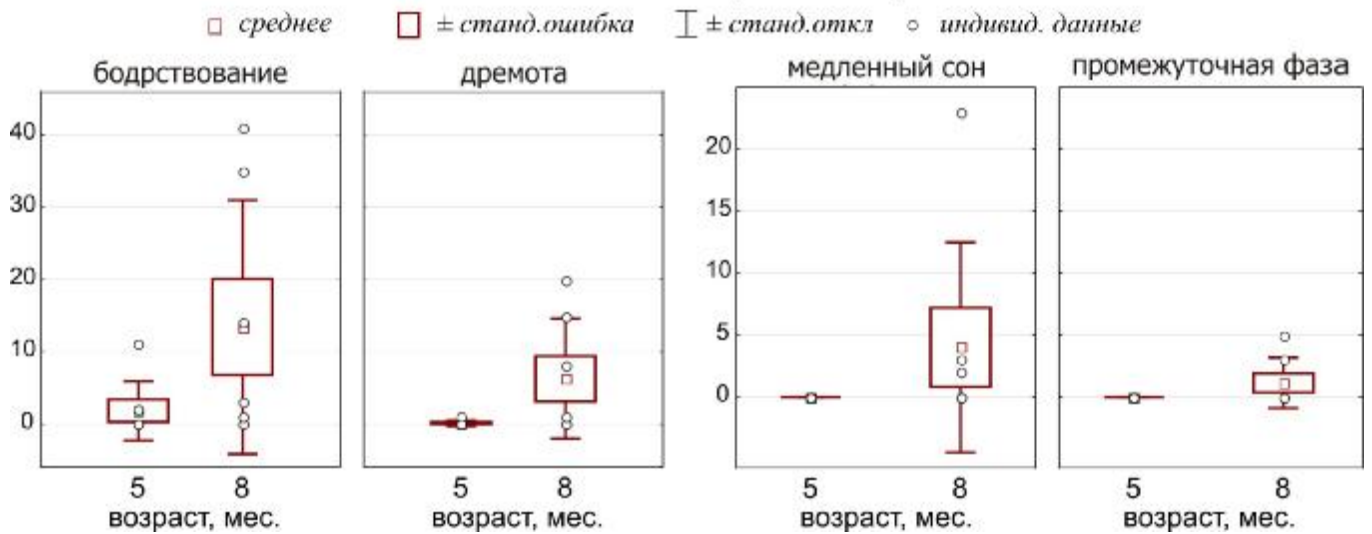


Рисунок 4.4. Распределение числа пик-волновых разрядов (SWD) в разные фазы цикла сон-бодрствование у крыс WAG/Rij 5-и и 8-и месячного возраста. Рост числа SWD в состоянии бодрствования был статистически значимым ($p < 0.05$).

Неоднозначными оказались наши данные о низком числе пик-волновых разрядов во время сна (16%). Ранее в работе [Drinkenburg et al., 1991] было обнаружено, что у крыс WAG/Rij в возрасте 6 месяцев 48% разрядов появлялись на фоне поверхностного сна и 13% - во время глубокого медленного сна. Это расходится с нашими результатами, что можно объяснить использованием разных критериев для обозначения фаз цикла сон-бодрствование. Состояние, которое Drinkenburg и соавторы (1991) определяли «поверхностный сон», мы назвали «дремотой», и в этом состоянии у наших животных 5-месячного возраста зафиксированы 25% разрядов. Состояние пассивного бодрствования, на которое приходится 33% SWD в процитированной работе [Drinkenburg et al., 1991] соответствует фазе «десинхронизации» в нашем исследовании, когда были обнаружены 55% от общего числа разрядов. Известно, что у крыс линии Long Evans в возрасте 4-6 месяцев число SWD максимально в состоянии активного бодрствования (73.8% от общего числа разрядов), в состоянии медленного сна - 9.7% разрядов, во время промежуточной фазы сна - 5.6% и 10.9% - парадоксального сна [Shaw, 2004]. SWD у крыс Long Evans имели веретенообразную форму и относительно низкую частоту ~8 Гц (черты, присущие сонным веретенам). Таким образом, различия между нашими и литературными данными обусловлены разницей между линиями крыс, а также разницей в критериях, использованных для выделения фаз сон-бодрствование и для выделения самих электроэнцефалографических паттернов пик-волна на ЭЭГ.

По сравнению с контролем, у сенсорнодепривированных крыс SWD чаще наблюдались в состоянии дремоты (в обеих возрастных группах) и во время медленного сна (у 5-месячных крыс), но практически отсутствовали в промежуточную фазу сна. Таким образом, удаление вибрисс в раннем онтогенезе у крыс WAG/Rij усиливает пик-волновую активность в состоянии дремоты. В это же время, генетически детерминированное прогрессирующее развитие абсанс-

эпилепсии связано с увеличением эпилептической активности в состоянии бодрствования (на фоне десинхронизация ЭЭГ).

4.2.2. Параметры промежуточной фазы сна

Результаты электроэнцефалографического анализа показали, что параметры промежуточной фазы сна у 5- и 8-месячных животных не отличались. Общее количество эпизодов промежуточной фазы сна и их длительность с возрастом не изменились (Табл. 4.2). В частности, общая длительность промежуточной фазы (в сумме за 6 часов) у 5-и месячных крыс составила в среднем 49.4 сек, у 8-и месячных - 35.7 сек. В течение этого возрастного периода произошел значительный рост числа эпилептических разрядов и многократное увеличение их длительности (с 34 сек до 225 сек). Корреляционный анализ не выявил взаимосвязи между количеством эпизодов промежуточной фазы сна и количеством SWD, между длительностью отдельных эпизодов промежуточной фазы сна и длительностью SWD, а также между суммарной длительностью промежуточной фазы сна и общей продолжительностью судорожной активности. Таким образом, реализация генетической программы развития абсанс-эпилепсии с возрастом у крыс WAG/Rij (при отсутствии неблагоприятных факторов раннего развития) не сопровождалась изменениями промежуточной фазы сна.

Таблица 4.2. Параметры промежуточной фазы сна у крыс WAG/Rij (среднее \pm станд.отклонение)

Возраст, мес	Число эпизодов		Длительность эпизода, с		Общая продолжительность, с	
	контроль	удаление вибрисс	контроль	удаление вибрисс	контроль	удаление вибрисс
5	3.1 \pm 2.5	1.8 \pm 1.2	10.9 \pm 8.9	7.0 \pm 9.1	49.4 \pm 52.8	22.3 \pm 32.8
8	2.5 \pm 1.8	7.2 \pm 3.3 * [#]	12.0 \pm 5.9	15.8 \pm 2.9 ¹	35.7 \pm 34.2	116.8 \pm 58.4 * [#]

* – значимые различия между 5- и 8-месячными животными в сенсорно-депривированной группе (p<0.005)

[#] – значимые различия между контрольными и сенсорно-депривированными животными в возрасте 8 месяцев (p<0.005)

В период между 5 и 8 месяцами жизни у вибриссэктомированных крыс произошло четырёхкратное увеличение продолжительности промежуточной фазы сна, что было вызвано увеличением числа и длительности отдельных эпизодов. В отличие от контроля, возрастная динамика промежуточной фазы сна у сенсорно-депривированных крыс имела высокий уровень статистической значимости (Рис. 4.5). В возрасте 5 месяцев параметры промежуточной фазы сна у опытных крыс не отличались от контроля (Рис. 4.5).

В 8-месячном возрасте общее число эпизодов промежуточной фазы сна и суммарная продолжительность этой фазы у вибриссэктомированных крыс значимо превышали контрольные показатели. Отсюда следует, что, во-первых, сенсорные факторы раннего онтогенеза способны модулировать развитие промежуточной фазы сна в позднем онтогенезе. Во-вторых, многократное увеличение общей продолжительности промежуточной фазы сна у сенсорно-депривированных крыс WAG/Rij происходит параллельно с усилением эпилептической

активности. Эти данные подтверждают наше предположение, что увеличение продолжительности промежуточной фазы сна может свидетельствовать о нарушении гомеостаза нервных функций и о серьезной патологии нервной системы. Последнее мы наблюдаем в группе крыс WAG/Rij, где неблагоприятный генетический фон сочетается с негативными эпигенетическими влияниями (сенсорная депривация).

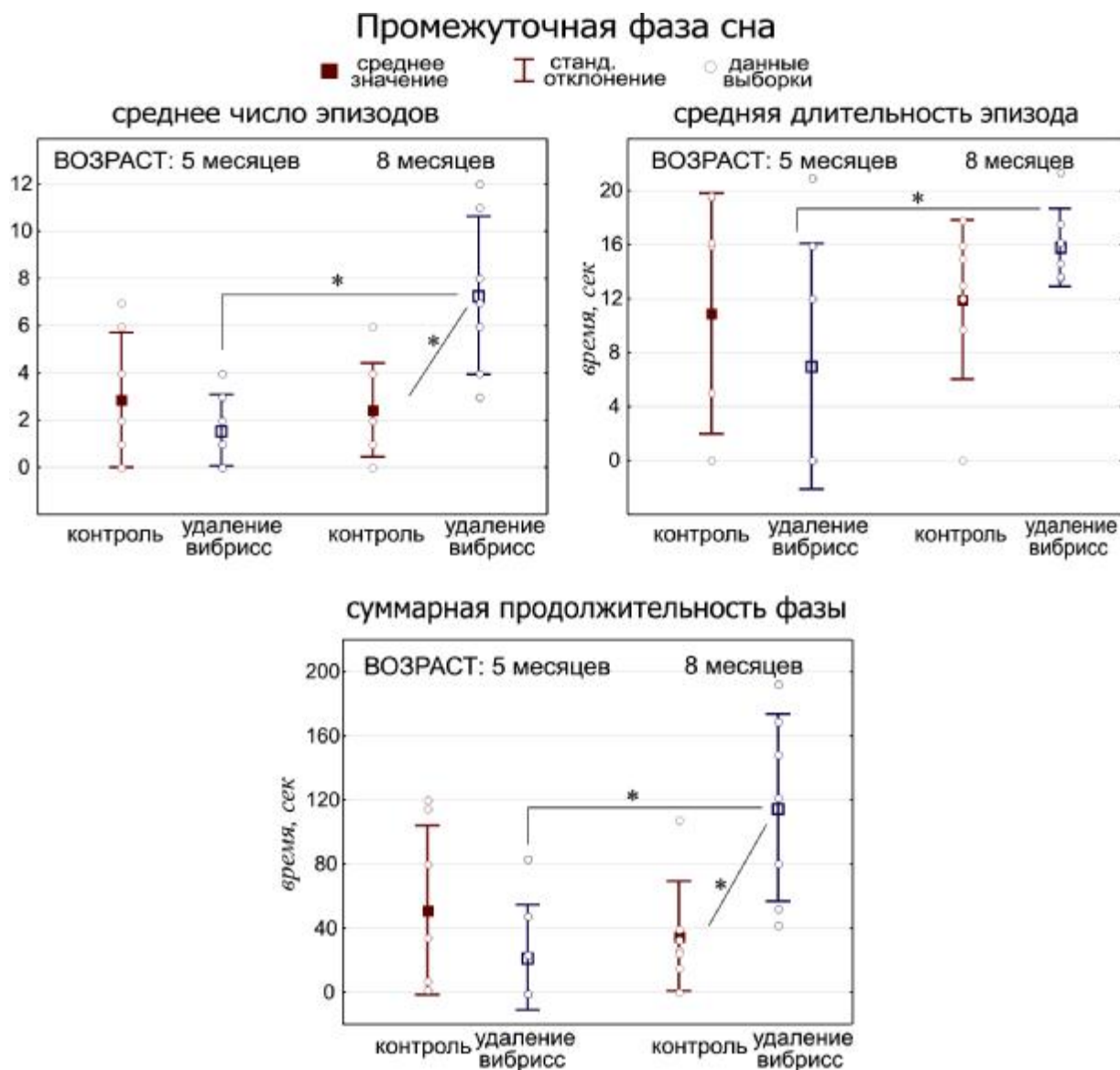


Рисунок 4.5. Возрастные изменения параметров промежуточной фазы сна у крыс WAG/Rij, подвергшихся удалению вибрисс в раннем онтогенезе. Звездочками обозначены статистически значимые различия.

Таким образом, усиление эпилептической активности у крыс, подвергшихся удалению вибрисс в раннем онтогенезе, происходит параллельно с увеличением продолжительности промежуточной фазы сна. Эта фаза сна по целому ряду физиологических параметров сходна с препаратом *cerveau isole* (сечение между бугорками четверохолмия) [Gottesmann, 1996]. В обоих случаях влияние активирующих систем мозга (серотонин- и норадренергической) оказывается минимальным, в коре больших полушарий наблюдаются высокоамплитудные веретенообразная осцилляции, а в гиппокампе – устойчивый тета-ритм. Известно, что по мере углубления сна

амплитуда сонных веретен во лобно-височных областях коры постепенно увеличивается и достигает максимума во время промежуточной фазы сна. Это свидетельствует о высокой степени синхронизации таламо-кортикальной системы и может служить формальным признаком глубокого сна. В течение промежуточной фазы сна дорсальные области гиппокампа генерируют ритмическую тета-активность, которая является атрибутом *REM*-сна. Несмотря на то, что тета-ритм во время промежуточного сна имеет более низкую частоту, чем во время *REM*-сна, в обоих случаях тета-ритм имеет общий источник, локализованный в задней медиальной области гипоталамуса (*medial posterior hypothalamus*). Промежуточная фаза сна – это единственная фаза, когда *одновременно* работают две осцилляторные системы головного мозга – септо-гиппокампальная (генерирующая тета-ритм) и таламо-кортикальная система (генерирующая сонные веретена и гиперсинхронную эпилептическую активность типа пик-волна). В обычных условиях септо-гиппокампальный тета-ритм не сопровождается таламо-кортикальными осцилляциями, и наоборот. Промежуточная фаза сна, когда оба ритма присутствуют *одновременно*, у здоровых индивидов длится одну или несколько секунд. Увеличение длительности этой фазы и, соответственно, более продолжительная *одновременная* работа этих осцилляторов, представляет потенциальную опасность для поддержания гомеостаза нервных функций и/или может свидетельствовать о серьезной патологии нервной системы.

Заключение

Удаление вибрисс в раннем онтогенезе у крыс WAG/Rij усиливает пик-волновую активность в состоянии дремоты и способствует увеличению продолжительности промежуточной фазы сна на поздних этапах развития. Следовательно, сенсорная депривация является эпигенетическим фактором, имеющим неблагоприятные отдаленные последствия, способствуя формированию эпилептических разрядов в состоянии дремоты и пролонгируя промежуточную фазу сна.

Рост числа SWD, наблюдавшийся в период с 5 по 8 месяц жизни в состоянии бодрствования (на фоне десинхронизация ЭЭГ) не зависел от раннего сенсорного опыта и не изменялся после сенсорной депривации. Таким образом, возрастное увеличение судорожной активности в состоянии бодрствования, возможно, было детерминировано генетически.

В настоящем разделе было продемонстрировано, что недостаток сенсорного притока в раннем онтогенезе имеет негативные последствия на позднем этапе развития, в частности, усиливает судорожную активность у крыс с генетической предрасположенностью к абсанс-эпилепсии. Как показали многочисленные исследования [Van der Loos & Woolsey, 1973; Гладкович, 1985; Land & Akhtar, 1987; Simons & Land, 1987; O'Leary et al., 1994; Machín et al., 2006; Lee et al., 2009; Breton et al., 2009; Chen et al., 2012; Chu et al., 2013;], в том числе и наши работы (Раздел 1.7, 1.8 [Раевский и др., 1997; Ситникова, 2000; 2001; Раевский & Ситникова, 2005; Ситникова, 2010]), афферентный приток модулирует структурно-функциональное развитие головного мозга. Мощное модулирующее влияние на протяжении критического периода

оказывают катехоламинергические механизмы головного мозга [Раевский, 1991]. Известно, что в течение первого месяца жизни катехоламины (норадреналин, дофамин) оказывают мощное модулирующее на формирование соматосенсорной чувствительности, холинергической и ГАМК-ергической иннервации неокортекса, что приводит к образованию "инога мозга", механизмы регуляции которого отличаются от нормальных [Раевский, 2002]. Два следующих раздела посвящены изучению роли катехоламинергических медиаторных систем, дофаминергической и норадренергической, в регуляции и модуляции эпилептической активности у крыс WAG/Rij.

4.3. Дофаминергические механизмы развития абсанс-эпилепсии²⁰

О влиянии дофаминергической нейромедиаторной системы на интенсивность абсанс-эпилепсии впервые стало известно благодаря использованию фармакологических препаратов, механизм действия которых опосредован дофаминовыми рецепторами (галоперидол, апоморфин). Так у специально выведенной линии крыс APOSUS с повышенной чувствительностью к апоморфину (агонисту D1/D2 рецепторов) были обнаружены признаки абсанс-эпилепсии [Cools & Peeters, 1992], а количество пик-волновых разрядов у этих животных было на 50% выше, чем у крыс известной линии WAG/Rij [de Bruin et al., 2000]. Помимо этого, у крыс, чувствительных к апоморфину, был обнаружен дефицит дофамина в nigro-стриатной системе и повышенный уровень дофамина в мезолимбической системе. У крыс WAG/Rij была обнаружена генотипическая неоднородность в аллельной структуре гена, ответственного за структуру дофаминовых рецепторов D2 (локус TAG 1A DRD2), которая была тесно связана с интенсивностью аудиогенных судорог и абсанс-эпилепсии [Мусина, 2011]. Крысы с гомозиготным генотипом A1A1 по указанному локусу отличались от животных с генотипом A2A2 более интенсивными проявлениями абсанс-эпилепсии в виде многочисленных и продолжительных пик-волновых разрядов [Мусина, 2011; Калимуллина и др., 2012]. Различия между крысами этих двух генотипов прослеживались и в отношении аудиогенной конвульсивной эпилепсии, и это может свидетельствовать о том, что генетический локус TAG 1A D2-рецепторов может вовлекаться в регуляцию широкого спектра эпилептических патологий, включая абсанс-эпилепсию.

Прямые доказательства дофаминергической модуляции эпилептической активности при абсанс-эпилепсии были получены фармакологическим путём на крысах с генетической предрасположенностью к абсанс-эпилепсии, GAERS и WAG/Rij. Показано, что инъекции агонистов дофаминовых рецепторов D1/D2 приводили к снижению судорожной активности у этих животных, а эффект антагонистов оказался противоположным [Deransart et al., 2000; van Luijtelaaar et al., 1996; Midzianovskaia et al., 2001]. Подробные данные о распределении дофаминовых рецепторов (D1 и D2) в структурах головного мозга были получены с

²⁰ По материалам опубликованной работы:

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.

использованием автордиографического анализа у крыс WAG/Rij [Birioukova et al., 2005; Бирюкова и др., 2006]. Было установлено, что плотность D2-рецепторов в моторной, сенсорной, париетальной областях коры, а также в вентральной части хвостатого ядра у крыс WAG/Rij была выше, чем у крыс контрольной линии ACI без признаков абсанс-эпилепсии, а плотность D1-рецепторов в прилежащем ядре и в головке хвостатого ядра, наоборот, ниже. Необходимо отметить, что описанные изменения дофаминовых рецепторов сопровождалось изменением интенсивности метаболизма дофамина в таламусе и в стриатуме, при этом количество самого медиатора оставалось неизменным [Мидзяновская и др., 2004]. Последнее обстоятельство позволило авторам высказать предположение, что развитие абсанс-эпилепсии у крыс WAG/Rij сопровождается «компенсированным дофаминергическим дефицитом». Очевидно, что дофаминергическая система регулирует пик-волновую активность, однако механизм этой регуляции до сих пор мало понятен. В настоящем разделе исследован вопрос взаимосвязи между интенсивностью абсанс-эпилепсии и микроструктурными изменениями в одном из центров дофаминергической регуляции головного мозга - компактной части черной субстанции.

Особенности процедуры исследований

В электрофизиологическом эксперименте использовали 6 самцов крыс линии WAG/Rij, у которых проводили запись ЭЭГ из лобной коры в возрасте 5 и 9 месяцев. Пик-волновые разряды были выделены на ЭЭГ в соответствии с критериями [van Luijtelaar & Coenen, 1986]. Подсчитывали количество и определяли длительность пик-волновых разрядов на протяжении 6 ч, что дало возможность оценить интенсивность (суммарную длительность) эпилептической активности.

Гистологическая часть работы выполнена на 5 интактных крыс WAG/Rij 1-месячного возраста и 6-и крысах 10-месячного возраста, у которых предварительно исследовали динамику ЭЭГ. Срезы головного мозга окрашивали крезил-виолетом по стандартному методу Ниссля. Расположение черной субстанции (SN) на микропрепаратах у 1-месячных животных определяли с помощью атласа мозга развивающихся крыс [Sherwood & Timiras, 1970], для 10-месячных животных использовали атлас мозга взрослых крыс [Paxinos & Watson, 1986]. От каждого животного было получено по 3-5 микрофотографий из правого и левого полушарий в соответствующей области.

Для идентификации нервных и глиальных клеток в пределах SN использовали стандартные критерии [Куликова и др., 2009; Sitnikova et al., 2011]:

1) Наличие ядрышка в ядре, что являлось наиболее характерным признаком нейронов. У глиальных клеток ядрышко отсутствовало. Наличие ядрышка являлось бесспорным признаком нейрона. В тех случаях, когда ядрышка не было видно (находилось не в фокусе или не попадало в плоскость среза), использовали другие критерии.

2) Форма и окраска ядра. Глиальные клетки имели округлые, овальные или вытянутые сигаровидные ядра. Интенсивность окраски ядер глии значительно была выше, чем у нейронов.

3) Интенсивность окраски цитоплазмы. Цитоплазма глиальных клеток была практически лишена окраски (иногда оставалась следовая окраска в виде «ободка цитоплазмы»). Нейроны, напротив, имели ярко окрашенную цитоплазму.

Произведен анализ числа клеток (нейронов и глии) в центральной области SN в поле 200x200 мкм (40000 мкм²), исследовано распределение клеток в 25 малых квадратах этого поля размером 40x40 мкм (1600 мкм²) (Рис. 4.6).

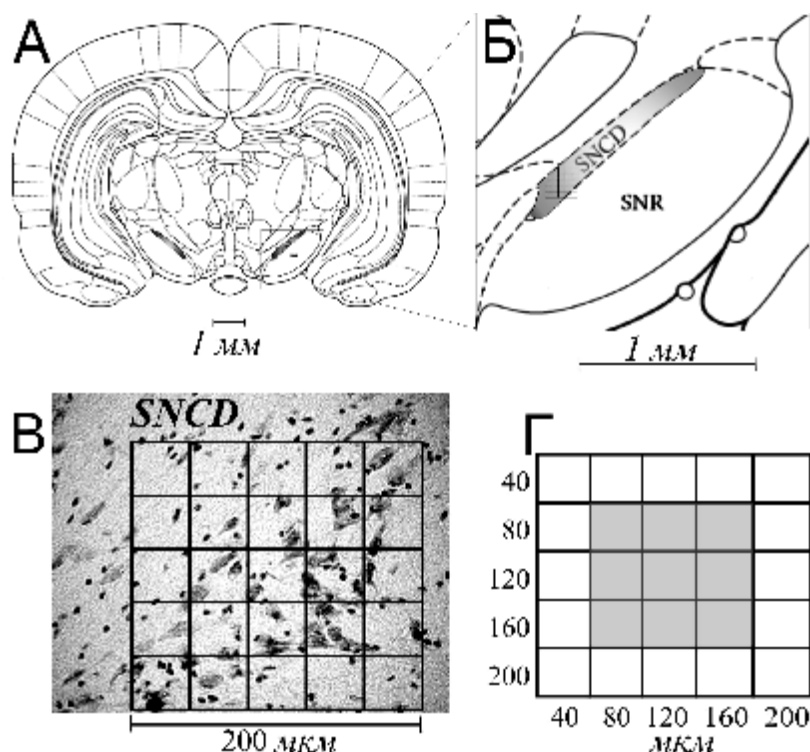


Рисунок 4.6. Иллюстрация процедуры цитоструктурного анализа SN. А - расположение SN на срезе головного мозга взрослой крысы [Paxinos & Watson, 1986]. Б - увеличенная область рисунка А, содержащая компактную часть черной субстанции (*Substantia nigra, pars compacta, dorsal tier, SNCD*). В - микрофотография области SNCD крысы 10-месячного возраста и поле 200x200 мкм (40000 мкм²), в котором проводили анализ клеток (нейронов и глии). Г - анализируемое поле содержало 25 квадратов размером 40x40 мкм. Серым цветом обозначена центральная часть этого поля размером 120x120 мкм.

Статистическую обработку материала проводили с использованием непараметрических критериев Вилкоксона (парный) и Манна-Уитни (непарный), а также корреляционного анализа по Пирсону.

4.3.1. Возрастные изменения клеточного состава черной субстанции (компактная часть) у крыс WAG/Rij

У 1-месячных животных средняя плотность нейронов в SN в левом полушарии была ниже, чем в правом (1.16 ± 0.31 и 1.37 ± 0.30 соответственно, $p < 0.05$, здесь и далее указано среднее значение и стандартное отклонение). При этом число глиальных клеток в левом полушарии SN оказалось значимо выше (1.82 ± 0.47), чем в правом 1.56 ± 0.38 ($p < 0.05$). Таким образом, SN в этом возрасте характеризовалась межполушарной асимметрией клеточного состава.

У 10-месячных крыс WAG/Rij число нейронов в левой SN на площади 1600 мкм² составляло 0.57 ± 0.10 , а в правой – 0.49 ± 0.18 ; количество глиальных клеток в левой и правой SN не отличались (2.33 ± 0.68 и 1.95 ± 0.44 соотв.). Межполушарная асимметрия отсутствовала. Возрастные изменения клеточного состава SN было значимым и выражалось в уменьшении плотности нейронов и увеличении плотности глиальных клеток в левой и в правой SN (Рис. 4.7).

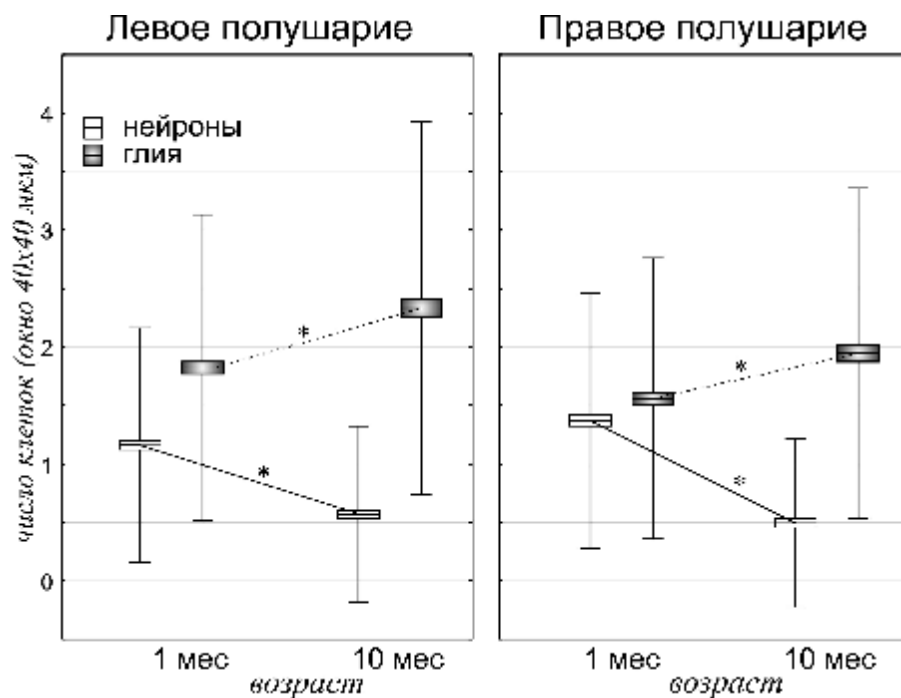


Рисунок 4.7. Изменение плотности нейронов и глии в компактной части черной субстанции у крыс WAG/Rij. Показаны средние значения, стандартная ошибка (прямоугольник) и стандартное отклонение (разброс). * - различия достоверны, критерий Манна-Уитни, $p < 0.05$ [из статьи Ситниковой и др., 2012a]

Для исследования пространственного распределения нейронов была проведена 3-х мерная реконструкция плотности в исследованной плоскости 2-х измерений. Рис. 4.8 даёт наглядное представление о возрастных изменениях нейронов и глии в компактной части SN у крыс WAG/Rij. Для статистического анализа пространственного распределения клеточных элементов большое поле 200×200 мкм было разделено на две зоны (Рис. 4.6Г): периферическую (площадью 25600 мкм²) и центральную (14400 мкм²), соотношение площадей составило $0.5625 : 1$. Это соотношение учитывалось при сравнении плотности клеток в этих двух зонах. У 1-месячных животных плотность нейронов в центре и на периферии SN была одинаковой (Рис 4.9).

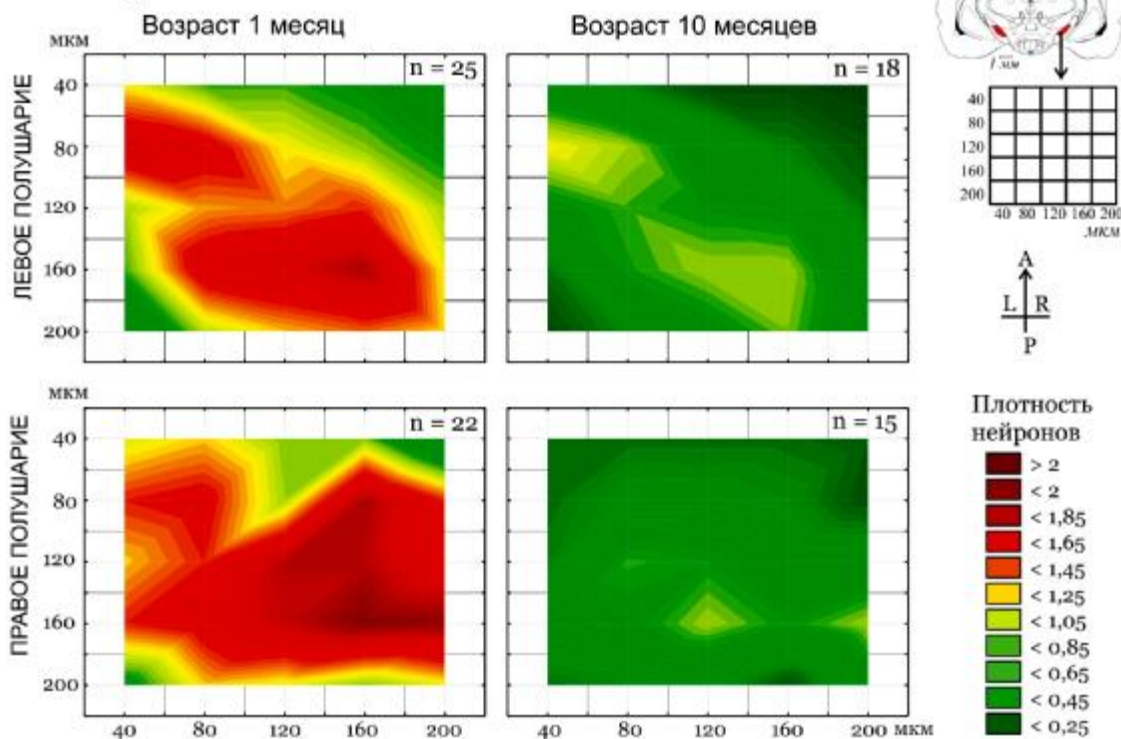
У 10-месячных животных плотность нейронов на периферии SN оказалась значимо ниже, чем в центре. Таким образом, возрастные деструктивные изменения (утрата нейронов) были более выражены на периферии компактной части SN.

Наши результаты показали, что возрастные изменения в компактной части SN были более выражены на периферии ядра и проявлялись в большей степени в правом полушарии, что приводило к исчезновению межполушарной асимметрии клеточного состава SN у 10-месячных

крыс. Поскольку асимметрия является важной характеристикой нормального функционирования мозга, ее исчезновение можно рассматривать как деструктивное изменение.

Распределение клеточных элементов в черной субстанции у крыс линии WAG/Rij

А. Нейроны



Б. Глия

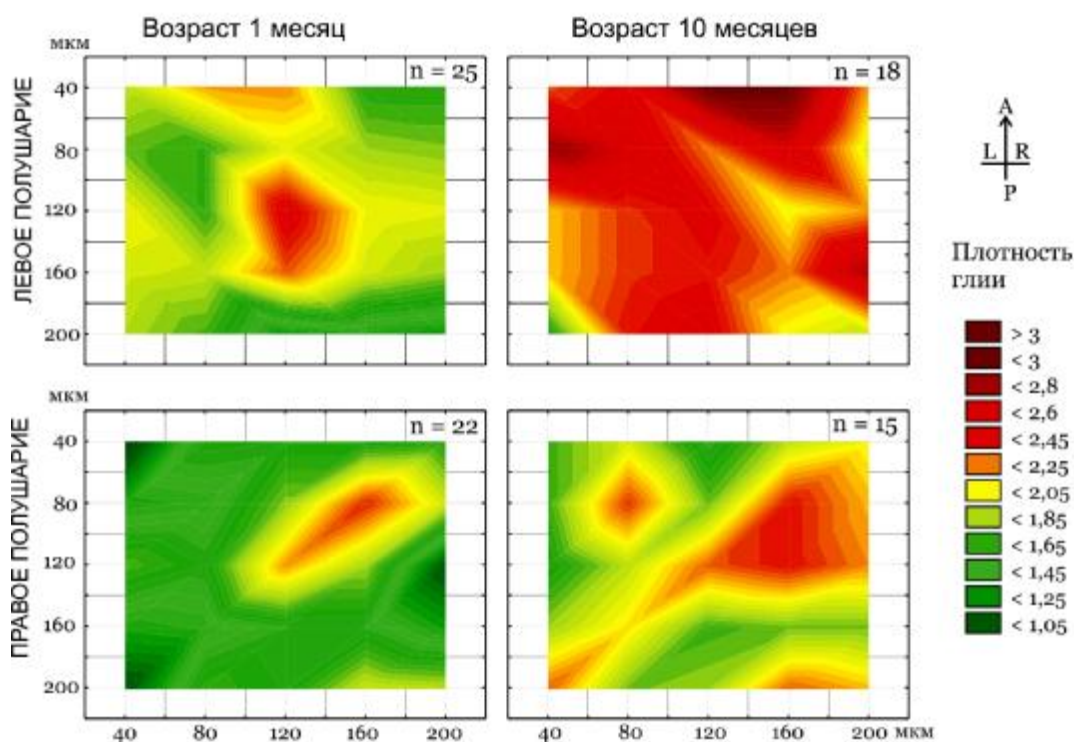


Рисунок 4.8. Реконструкция пространственного распределения нейронов и глии в компактной части черной субстанции у крыс WAG/Rij. Градации цвета обозначают средние значения плотности клеток в малых квадратах 40x40 мкм. В правом углу каждого графика показано число исследованных срезов в каждой подгруппе.

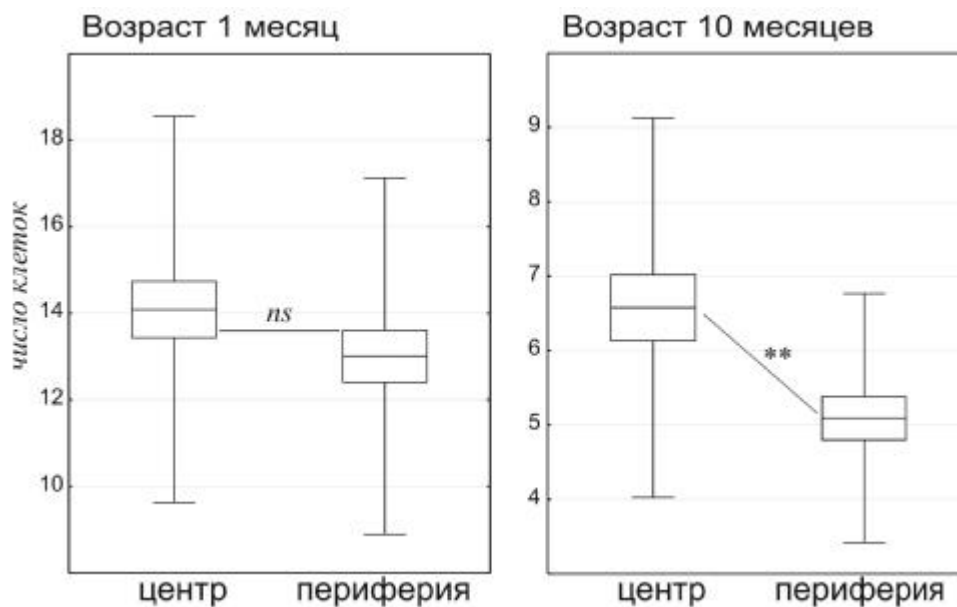


Рисунок 4.9. Возрастные изменения плотности нейронов в центральной и периферической областях компактной части SN (левое полушарие). Представлены средние значения, откорректированное с учетом разницы площади центральной и периферической областей. Показаны стандартная ошибка (прямоугольник) и стандартное отклонение (разброс). *ns* – различия статистически незначимы, * – статистическая значимость различий (критерий Манна-Уитни), $p < 0.01$ [из статьи Ситниковой и др., 2012а].

4.3.2. Корреляция между интенсивностью судорожной активности и плотностью нейронов в черной субстанции

Исследование клеточного состава SN у животных, от которых были получены данные ЭЭГ, позволило сопоставить микроструктурные особенности SN и выраженность судорожной активности. Был проведен анализ корреляций средней плотности нейронов в SN у 10-месячных крыс и интенсивностью эпилептической активности у этих же животных в возрасте 5 и 9 месяцев с использованием коэффициента Пирсона.

Абсанс-эпилепсия у крыс WAG/Rij прогрессировала с возрастом. Число характерных для абсанс-эпилепсии пик-волновых разрядов (SWD) у 5-месячных животных было невысоким (в среднем 12.0 ± 6.3 за 6 ч), их средняя длительность составила 2.7 ± 1.2 с, а общая продолжительность пик-волновой активности – 64.5 ± 33.5 с. В 9-месячном возрасте число судорожных разрядов значительно увеличилась по сравнению с 5-месячным возрастом до 4.7 ± 1.7 с, средняя длительность увеличилась до 28.5 ± 14.0 , общая продолжительность SWD возросла до 184.9 ± 98.9 с. Все указанные возрастные изменения статистически значимы по критерию Вилкоксона.

Была установлена положительная корреляция ($r = 0.93$; $p < 0.01$) между количеством нейронов в SN и общей длительностью эпилептической активности у 9-месячных крыс (Рис. 4.10Б). Подобная тенденция прослеживалась и в 5-и месячном возрасте ($r = 0.72$; $p = 0.10$; Рис. 4.10А). Таким образом, чем выше плотность нейронов в SN (т.е. выше «сохранность» нейронов), тем более интенсивной оказывалась судорожная активность, и наоборот.

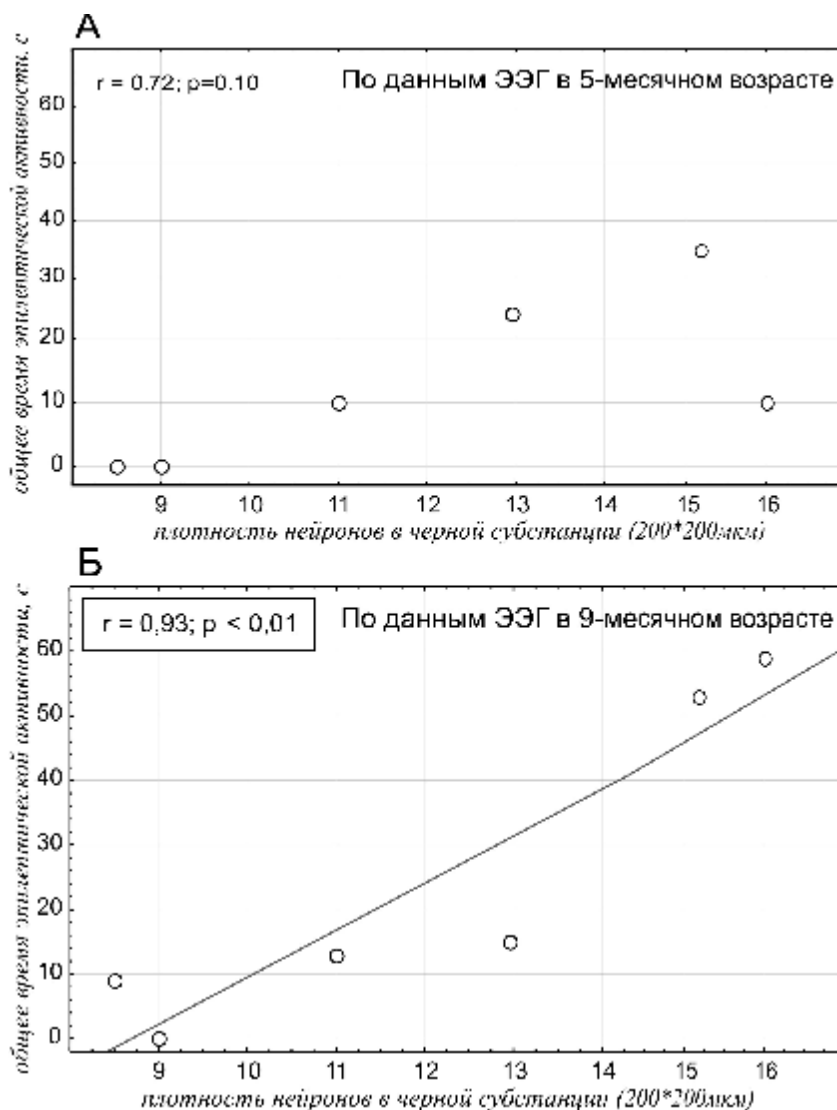


Рисунок 4.10. Результаты корреляционного анализа плотности нейронов в SN у 10-месячных крыс и интенсивности судорожной активности у этих же животных в возрасте 5 мес. и 9 мес. На графиках указаны коэффициенты корреляции Пирсона (r) и их статистическая значимость [из статьи Ситниковой и др., 2012a].

По мере прогрессирующего развития абсанс-эпилепсии в возрасте от 5 по 9 месяцев у крыс WAG/Rij снижалось число нейронов в SN в обоих полушариях и параллельно с этим увеличивалась плотность глиальных клеток. По-видимому, глия замещала исчезнувшие нейроны (опорная функция глии). Такие изменения клеточного состава компактной части SN предполагают дефицит дофаминергической иннервации, на фоне которого могла развиваться абсанс-эпилепсия. Однако данные корреляционного анализа говорят об обратном. Наименьшая плотность нейронов в SN была обнаружена у животных с минимальными проявлениями абсанс-эпилепсии, таким образом, низкий уровень дофаминергической иннервации в нигро-стриатной системе мог препятствовать формированию судорожной активности у крыс с генетической склонностью к этой болезни. Эти изменения носили компенсаторный характер, препятствуя развитию абсанс-эпилепсии, но их суть сводилась к гибели большего числа нейронов в компактной части SN, а это - главный симптом другого грозного заболевания - болезни Паркинсона.

Заключение

Микроструктурный анализ клеточного состава компактной части черной субстанции у 1-месячных крыс WAG/Rij выявил следующее:

1) Асимметрия дофаминергической системы. В правом полушарии плотность нейронов была выше, чем в левом, а плотность глии, наоборот, ниже.

2) Плотность нейронов в центре и на периферии ядра была одинаковой.

В период с 1 по 10 месяц постнатального онтогенеза снижалось число нейронов в SN в обоих полушариях и параллельно с этим увеличивалась плотность глиальных клеток. Возрастные изменения в компактной части SN были более выражены на периферии ядра и проявлялись в большей степени в правом полушарии, что приводило к исчезновению межполушарной асимметрии клеточного состава SN у 10-месячных крыс.

Наименьшая плотность нейронов в SN была обнаружена у животных с минимальными проявлениями абсанс-эпилепсии, таким образом, низкий уровень дофаминергической иннервации в nigro-стриатной системе мог препятствовать формированию судорожной активности у крыс с генетической склонностью к этой болезни.

Среди катехоламинергических механизмов модуляции эпилептической активности у крыс WAG/Rij следует выделить норадреналин, недостаток которого, как известно, способствует формированию гиперсинхронных разрядов таламо-кортикальной системе [Steriade & Deschenes, 1984; McCormick, 1989; McCormick, 1991]. Следующий этап работ посвящен исследованию норадренергических механизмов модуляции эпилептических разрядов пик-волна у крыс WAG/Rij.

4.4. Адренергическая модуляция пик-волновой активности²¹

Норадренергическая система входит в число анти-эпилептических систем головного мозга [подробнее - в обзорах Weinshenker & Szot, 2002; Giorgi et al., 2004]. На синаптическом уровне норадреналин (НА) нормализует баланс между процессами возбуждения и торможения, препятствует развитию состояния гипервозбудимости, снижает вероятность формирования эпилептических разрядов. У крыс с наследственной склонностью к абсанс-эпилепсии отмечен дефицит аминергических медиаторных систем, в том числе и НА системы [Vantini et. al., 1984; Buzsáki et al., 1990].

Центр норадренергической иннервации расположен в *locus coeruleus*. Нейроны этого небольшого ядра у млекопитающих иннервируют практически все отделы головного мозга [Aston-Jones et al., 1984; Jones, 1985; Jones & Moore, 1985]. Высвобождение НА из терминалей

²¹ По материалам опубликованных работ:

1) Sitnikova E, van Luijtelea 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.

2) Sitnikova E, van Luijtelea G. Alpha-2 adrenergic mechanisms of spike-wave activity and sleep EEG in rats. *Sleep-Wake in the Netherlands*, 2004; 15: 68-71. <http://www.nsw.nl/userfiles/files/publications/jaarboek-2004/Sitnikova.pdf>

контролируют альфа-2 адренорецепторы (ауторецепторы), которые располагаются на дендритах и some адренергических нейронов в *locus coeruleus*. Стимуляция альфа-2 адренорецепторов (с использованием агонистов этих рецепторов, например, клонидин в представленной работе) тормозит выброс норадреналина из терминалей адренергических нейронов [Langer, 1974; Svensson et al., 1975; Gobert et al., 1998]. Ослабление норадренергической иннервации специфическим образом меняет характер импульсной активности таламо-кортикальных нейронов, последние регулярной "пачечной" активности [Steriade & Deschenes, 1984; McCormick, 1989; McCormick, 1991], формируются 9-14 Гц таламо-кортикальный ритм, который может принимать форму генерализованных пик-волновых разрядов (SWD) [Steriade 2003; Avanzini et al., 2000].

В клинической практике широко используют препарат клонидин - селективный агонист альфа-2 адренорецепторов [Ruffolo & Nieble, 1994; Bylund et al., 1994]. Известно, что клонидин в низких дозах увеличивает число генерализованных SWD (1-ого типа) у крыс WAG/Rij, но не влияет на SWD 2-ого типа [van Luijtelaaar, 1997] (подробнее о типах SWD в Разделе 2.1). Таламо-кортикальные механизмы про-эпилептического действия клонидина не изучены, и они находятся в центре внимания нашего исследования.

Как известно, клонидин в дозе, превышающей 0.02 мг/кг, оказывает седативное действие, а в более высоких дозах - снотворный эффект [Drew et al., 1979; Hayashi et al., 1993; Seidel et al., 1995]. Поскольку снижение уровня бодрствования способствует формированию SWD 1-ого типа [Lannes et al., 1988; Drinkenburg et al., 1991], седативное действие клонидина может способствовать формированию эпилептических разрядов. В настоящем разделе исследован эффект системных инъекций в дозе, оказывающей седативное действие за счет снижения норадренергической иннервации головного мозга, на цикл сон-бодрствование, частотно-временные характеристики электрической активности неокортекса и таламуса, на число и продолжительность SWD 1-ого и 2-ого типов и спектральные характеристики разрядов.

4.4.1. Особенности процедуры исследований

Эксперименты были проведены на 8 самцах крыс WAG/Rij в возрасте 11-12 месяцев (масса тела 370-410 г). Клонидин (Catapresan®, 0.15 мг/мл клонидина гидрохлорид) вводили интраперитонеально в дозе 0.00625 мг/кг. ЭЭГ регистрировали в течение 4 часов непосредственно после инъекций. В качестве контроля использовали 6-часовые записи ЭЭГ, зарегистрированные в то же время суток накануне инъекций.

SWD 1-ого и 2-ого типа были выделены на лобной ЭЭГ согласно критериям, разработанным для крыс WAG/Rij [van Luijtelaaar & Coenen, 1986; Мидзяновская, 1999; Midzianovskaia и др., 2001; Sitnikova & van Luijtelaaar, 2007]. SWD 1-ого типа представляли собой регулярную последовательность негативных пиков с частотой 7-10 Гц, длились более 1 сек, имели амплитуду в три превышающую фоновую. SWD 2-ого типа были выделены на затылочной ЭЭГ, когда ритмическая активность в лобно-затылочной коре отсутствовала. Разряды 2-ого типа

состояли из острых волн положительной полярности, с частотой 6-7 Гц и длительностью более ½ секунды (т.е., последовательности из трёх и более волн).

Фазы цикла сон-бодрствование выделяли визуально по форме ЭЭГ сигнала в лобной и затылочной коре используя систему Rechtschaffen и Kales (1968), принимая во внимание видовые особенности сна и ритмической активности на ЭЭГ [Drinkenburg et al., 1991; Gottesmann, 1996; Kirov & Моуанова, 2002]. Десинхронизация ЭЭГ соответствовала состоянию бодрствования. Синхронизация ЭЭГ и наличие сонных веретен было характерно для состояния медленного сна.

Подсчитывали число SWD обоих типов на протяжении 4 часов после инъекций, определяли их длительность. Число и длительность SWD суммировали в блоках по 30 минут, определяли процент, который составляют эпизоды сна и бодрствования в 30 минутных интервалах.

Спектральный анализ ЭЭГ проводили с использованием оконного (Hanning) преобразования Фурье с разрешением по частоте 0.1 Гц. Сравнивали спектры SWD 1-ого типа на контрольной ЭЭГ и на фоне клонидина – в течение 1, 2 и 3 часов после инъекции. Спектральный анализ также включал 1-сек интервалы ЭЭГ на протяжении медленного сна (n=20 у каждого животного).

Была исследована функция когерентности, описывающая функциональные взаимодействия в таламо-кортикальной системе. Математически когерентность - это ненормированная функция, представляющая собой квадрат значений кросс-спектра двух ЭЭГ каналов. Анализ проведен с использованием программного пакета Brain Vision Analyser Software © BrainProducts GmbH. Анализировали максимальные значения функции когерентности между лобной затылочной корой (внутрикортикальная) и между лобной корой и VPM (кортико-таламическая).

4.4.2. Влияние клонидина на динамику SWD и уровень бодрствования

Инъекции клонидина снижали двигательную активность животных и способствовали развитию состояния дремоты. Животные долгое время оставались неподвижными, и в это время у них наблюдались многочисленные и длительные SWD 1-ого типа (Рис. 4.11), сопровождающиеся ускоренным дыханием, подергиванием вибрисс и лицевой мускулатуры.

Общая длительность состояния бодрствования под действием клонидина снизилась по сравнению с контролем. Этот эффект был значимым в течение первого часа после инъекций и исчез к концу второго часа (Рис. 4.12B), что совпадает с литературными данными [Drew et al., 1979; Hayashi et al., 1993; Seidel et al., 1995]. Седативный эффект этого препарата связан со снижением общего уровня норадренергической модуляции головного мозга. Кроме того, клонидин может напрямую активировать нейроны преоптической области гипоталамуса, отвечающие за формирование состояния сна (эти нейроны экспрессируют альфа-2 рецепторы)

[Osaka & Matsumura, 1995]. Снотворный эффект клонидин проявляется в дозе 0.02-0.04 мг/кг [Seidel et al., 1995], в нашем эксперименте доза препарата (0.00625 мг/кг) была слишком низкой для индукции полноценного сна.

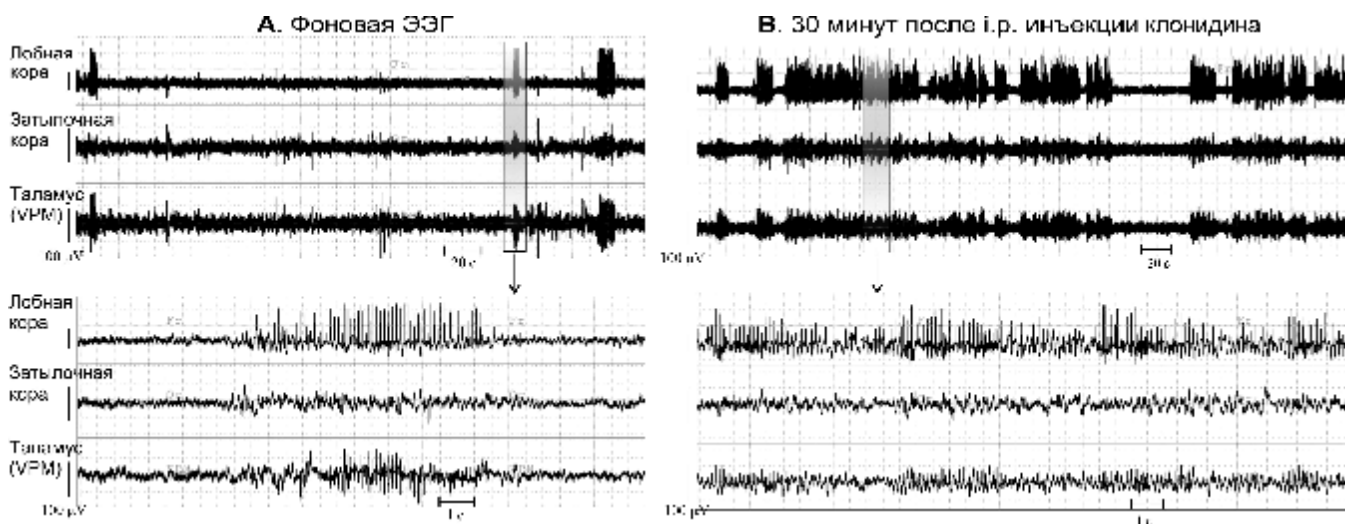


Рисунок 4.11. Электроэнцефалографические записи у крысы линии WAG/Rij с характерными для абсанс-эпилепсии спонтанными пик-волновыми разрядами SWD 1-ого типа (А). Однократная системная инъекция клонидина (0.00625 мг/кг) способствуют появлению на ЭЭГ продолжительных пик-волновых разрядов 1-ого типа (В).

Инъекции клонидина вызывали значительный рост общего времени судорожной активности, при этом не изменялась длительность медленного сна (Рис. 4.12В). В целом, про-абсансный эффект клонидина длился около 90 минут; что соответствует времени полураспада этого препарата [Castro & Eisenach, 1989].

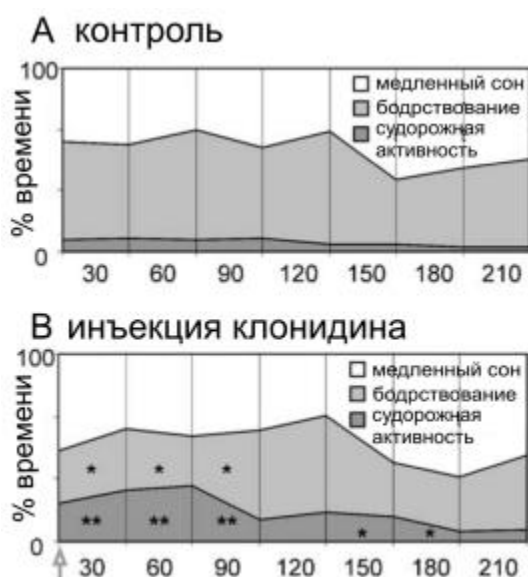


Рисунок 4.12. Влияние клонидина (0.00625 мг/кг, n=8 крыс) на процентное соотношение сна, бодрствования и судорожной активности у крыс WAG/Rij. Звездочками отмечены статистически значимые отличия от контроля (ANOVA, *post-hoc* тест * 0.005<p<0.05; ** - p0.05) [иллюстрация из Sitnikova & van Luijtelaa, 2005].

Во время фоновой записи ЭЭГ у всех животных были зарегистрированы SWD 1-ого типа (от 25 до 45 эпизодов в час) и их длительность в среднем составила 5.8 ± 1.4 с (здесь и далее \pm станд.откл). После введения клонидина число SWD 1-ого типа увеличилось почти в два раза по сравнению с фоновым уровнем (38 ± 23 против 69 ± 20 разрядов в час, эффект статистически значим). Число SWD 1-ого типа достоверно менялось со временем и достигло максимума в период 30-90 мин после инъекции (Рис 4.13А). Одновременно увеличилась длительность разрядов, которая варьировала от 5 до 30 сек, в среднем 13.3 ± 3.6 с, что значимо выше, чем в фоне.

Использованная доза способствовала развитию дремотного состояния, которое наиболее благоприятно для появления SWD 1-ого типа у крыс с наследственной предрасположенностью к абсанс-эпилепсии [Lannes et al., 1988; Drinkenburg et al., 1991]. Хотя само по себе состояние дремоты не может вызвать значительное увеличение судорожной активности, которое мы наблюдали у наших экспериментальных животных.

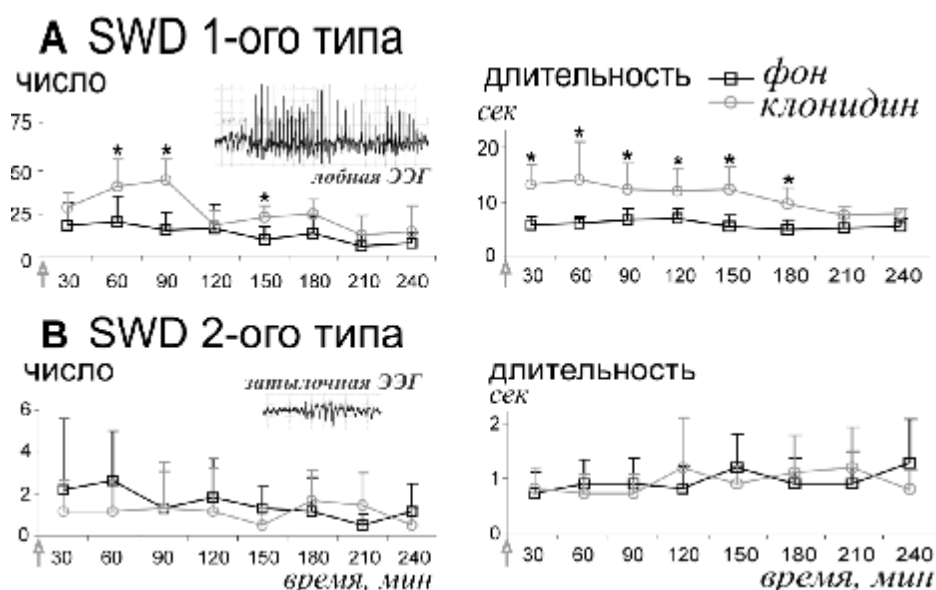


Рисунок 4.13. Динамика SWD 1-ого и 2-ого типов после введения клонидина в дозе 0.00625 (момент введения показан стрелочкой, n=8 крыс, среднее \pm станд.откл). * - статистически значимые отличия по сравнению с фоновым уровнем, $p < 0.05$. Клонидин не оказывал значимого влияния на динамику SWD 2-ого типа (n=6 крыс, среднее \pm станд.откл) [из статьи Sitnikova & van Luijtelaaar, 2005].

На фоновых записях ЭЭГ SWD 2-ого типа были обнаружены лишь у 6 из 8-и крыс от 2 до 5 эпизодов в час. Инъекция клонидина не оказывала значимого эффекта на число и длительность SWD 2-ого типа (Рис. 4.13В).

4.4.3. Влияние клонидина на спектральные характеристики SWD

Под действием клонидина наблюдали снижение амплитуды ЭЭГ, уменьшение ритмических компонентов медленного сна – снижение количества сонных веретен и дельта волн. Во время сна на фоне клонидина в лобной и затылочной областях коры, а также в VPM обнаружено снижение

спектральной мощности ЭЭГ за счет подавления медленноволновых компонентов (1–5 Гц) (Рис. 4.14А). В RTN спектральная мощность в ответ на введение клонидина не изменилась.

Спектральный анализ показал, что средняя частота SWD 1-ого типа на фоновой ЭЭГ составила около 9 Гц, и этот показатель не менялся в течение 4-х часов после инъекций клонидина. Спектральная мощность SWD 1-ого типа в лобной коре достоверно снизилась под действием клонидина (30–90 мин после инъекции) по сравнению с фоном за счет снижения мощности в диапазонах частот 1–5, 9–14 и 30–100 Гц. В RTN, наоборот, мощность SWD 1-ого типа возросла благодаря значительному росту мощности в диапазоне 9–14 Гц (Рис. 4.14В).

Клонидин вызвал снижение мощности SWD 2-ого типа в затылочной коре и в VPM, что было связано с подавлением 5–9 Гц ритмического компонента, в RTN также наблюдали уменьшение мощности 5–9 Гц (Рис. 4.14С).

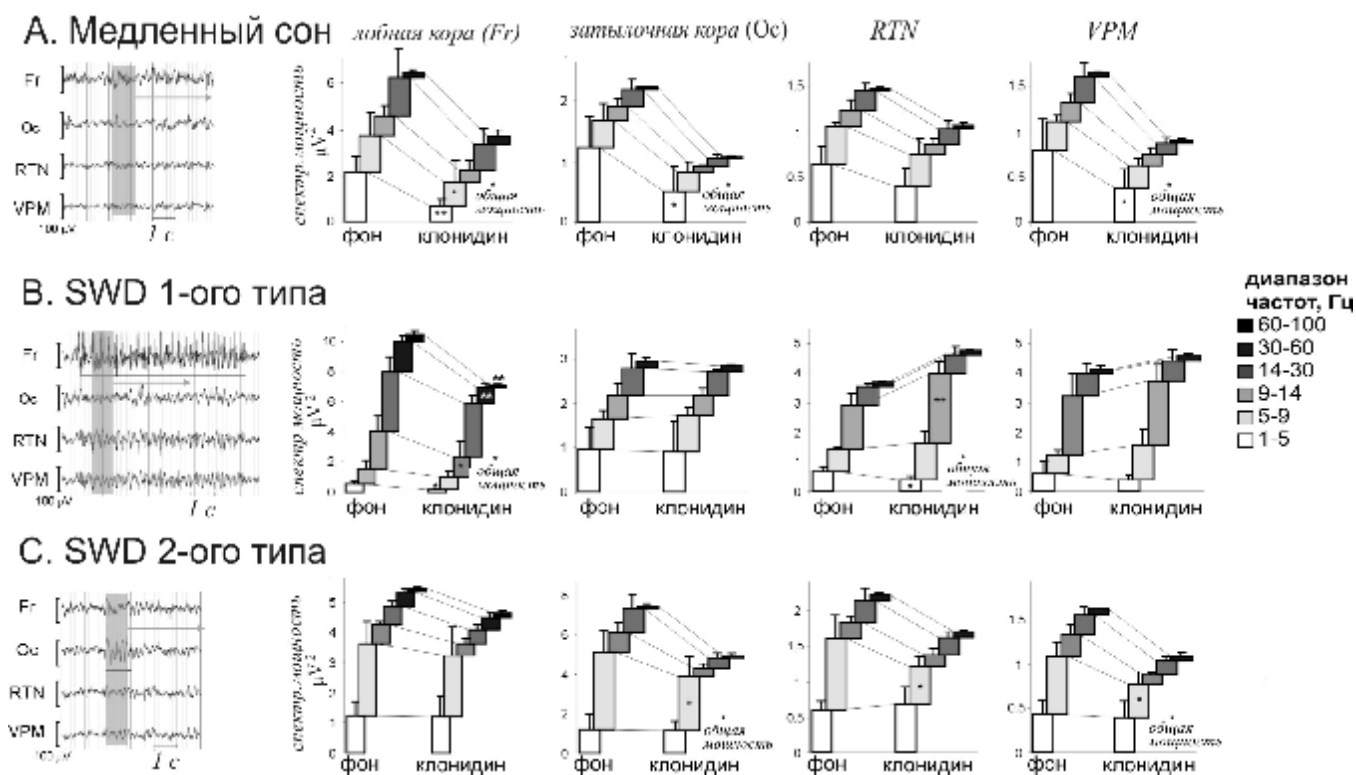


Рисунок 4.14. Распределение спектральной мощности в исследованных диапазонах частот во время медленного сна (А) и SWD обоих типов (1-ого и 2-ого) на протяжении 30-90 минут после инъекций клонидина в сравнении с фоновым уровнем. * - статистически значимые отличия в соответствии с парным t-критерием, $p < 0.05$ [из статьи Sitnikova & van Luijtelaaar, 2005].

Данные литературы свидетельствуют о действии клонидина на медленно-волновую активность ЭЭГ. Так, у неэпилептических линий крыс клонидин подавляет медленно-волновую активность в коре [Pastel & Fernstrom, 1984], а у человека, по невыясненным причинам, наоборот – повышает [Bischoff et al., 1998]. Известно также, что клонидин оказывает разнонаправленное влияние на ритмическую активность таламо-кортикальной и гиппокампальной нейронных систем: подавляет гиппокампальный тета-ритм и усиливает альфа-активность в таламо-кортикальной системе [Emilien, 1989; Kitchigina et al., 2003]. По нашим данным, клонидин способствует снижению тета-компонента (5-9 Гц) у SWD 2-ого типа, что может быть косвенным

подтверждением того, что разряды этого типа формируются при участии гиппокампальной системы.

Несмотря на то, что инъекции клонидина привели к значительному увеличению SWD 1-ого типа, этот эффект не сопровождался усилением ритмической активности в характерном альфа диапазоне частот (9-14 Гц). Увеличение альфа активности было локальным и наблюдалось только в RTN. Как известно, альфа- и дельта- компоненты, появляющиеся на ЭЭГ во время сна или абсанс-эпилепсии, имеют таламо-кортикальное происхождение [Steriade, 2003], и между этими компонентами существует реципрокная связь [Nuñez et al., 1992]. Возможно, что подавление дельта-компонента во всех областях таламо-кортикальной сети способствует формированию альфа-активности в RTN.

Хорошо известно, что клонидин усиливает приступы абсанс-эпилепсии у крыс с соответствующей наследственной предрасположенностью: WAG/Rij [van Luijtelaaar, 1997], GAERS [Micheletti et al., 1987], Fisher 344 [Buzsáki, 1991], а также у старых крыс линии Charles River [Kleinlogel, 1985]. Один из наиболее вероятных путей его про-абсансного действия ('Механизм 1' на Рис.4.15) опосредован общим снижением выброса норадреналина из терминалей адренергических нейронов *locus coeruleus* в ответ на активацию пресинаптических α_2 адренорецепторов [Langer, 1974; Svensson et al., 1975]. Снижение норадренергической иннервации способствует гиперполяризации таламических нейронов и формированию синхронной пачечной активности (burst firing) [McCormick, 1989, McCormick et al., 1991]. Эта активность распространяется по таламо-кортикальной сети и отражается на ЭЭГ в виде всплесков ритмической активности в диапазоне 9-14 Гц, которые у животных, склонных к абсанс-эпилепсии, приобретают вид SWD 1-ого типа.

В 1991 году Buzsáki и соавторы предложили свой механизм про-эпилептического действия клонидина. По мнению авторов, клонидин воздействует не только на пресинаптические α_2 -адренорецепторы нейронов *locus coeruleus*, но и на особый тип постсинаптических α_2 -адренорецепторов нейронов таламуса, что усиливает ритмическую активность этих нейронов и способствует формированию разрядов типа пик-волна. По нашим данным, клонидин имеет более адресное воздействие на таламус, и его мишенью, по-видимому, служат постсинаптические α_2 -адренорецепторы на нейронах RTN ('Механизм 2' на Рис. 4.15). Мы полагаем, что активация ритмической активности нейронов RTN приводит к локальному увеличению 9-14 Гц ритмической активности параллельно со значительным ростом числа и длительности SWD 1-ого типа. Таким образом, механизм адренергической модуляции абсанс-эпилепсии, опосредованный агонистом α_2 -рецепторов клонидином, направлен на нейроны RTN, а не VPM и не на клетки коры. Эта гипотеза находит подтверждение в литературе: норадренергические терминали формируют более плотную сеть контактов с нейронами RTN по сравнению с остальными ядрами таламуса [Swanson & Hartman, 1978], поэтому активность RTN может в большей степени зависеть от модуляции со стороны адренергической системы.

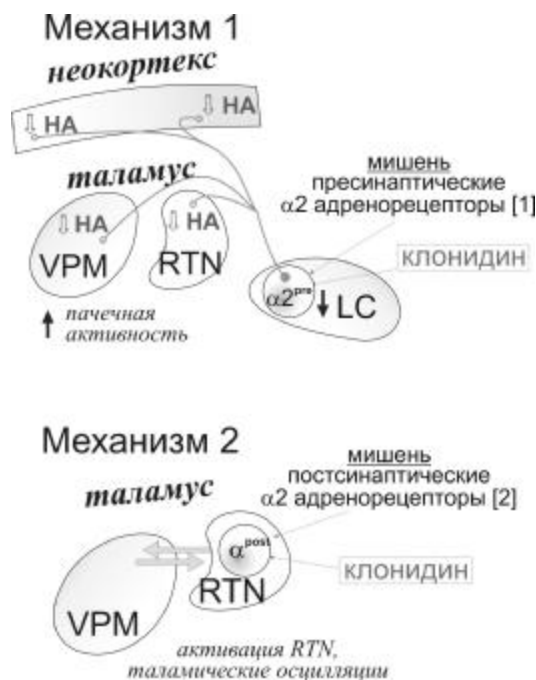


Рисунок 4.15. Гипотетические механизмы адренергической модуляции пик-волновых разрядов, опосредованный действием агониста α_2 -адренорецепторов клонидина. ‘Механизм 1’ основан на снижении выброса норадреналина (НА) из терминалей нейронов *locus coeruleus* (LC) в ответ на активацию пресинаптических α_2 -адренорецепторов - α_2^{pre} [1 - Langer, 1973; Svensson et al., 1975] Снижение концентрации норадреналина переводит таламо-кортикальную систему в режим генерации ритмической активности 9-14 Гц, который у крыс WAG/Rij приобретает вид эпилептических разрядов (SWD 1-ого типа). ‘Механизм 2’ предусматривает прямое действие клонидина на постсинаптические α_2 -адренорецепторы (α_2^{post}), расположенные локально в ретикулярном ядре таламуса, RTN [2 - Buzsáki et al., 1991] [Sitnikova & van Luijcklaar, 2005].

По нашим данным, функция внутрикортикальной когерентности, которая служила показателем согласованности ритмической активности лобной и затылочной областей коры, достоверно снизилась в течение первого часа после инъекций клонидина. Клонидин не оказывал значимого влияния на уровень кортико-таламической когерентности. Ослабление внутрикортикальной когерентности во время SWD 1-ого типа на фоне клонидина было ограничено периодом времени, когда число SWD 1-ого типа достигало максимума (около часа), и значение когерентности вернулось к начальному уровню, когда интенсивность судорожных разрядов вернулось к исходному значению фона. Сложно объяснить этот парадоксальный факт: почему усиление генерализованной пик-волновой активности (SWD 1-ого типа) сопровождается снижением лобно-затылочной синхронизации ЭЭГ? Возможно, что когда интенсивность SWD 1-ого типа достигает максимума, срабатывает гипотетический механизм, препятствующий распространению пароксизмальной активности и способствующий десинхронизации ЭЭГ в лобно-затылочном направлении.

Заключение

Системное введение агониста α_2 -адренорецепторов клонидина в дозе 0.00625 мг/кг значительно усиливает генерализованную эпилептическую активность (SWD 1-ого типа) у крыс

линии WAG/Rij, провоцируя состояние, близкое к эпилептическому статусу, но не влияет на число и длительность SWD 2-ого типа. На фоне клонидина наблюдали следующее:

1) Снижение времени, проведенного животными в состоянии бодрствования.

2) Значительное увеличение числа и длительности SWD 1-ого типа (генерализованная судорожная активность при абсанс-эпилепсии), количественные параметры SWD 2-ого типа не изменялись.

3) Снижение спектральной мощности ЭЭГ в коре и в вентропостеромедиальном ядре таламуса в течение SWD 1-ого и 2-ого типов, а также во время медленного сна.

4) Повышение спектральной мощности ЭЭГ в ретикулярном таламическом ядре в диапазоне альфа частот во время SWD 1-ого типа и снижение мощности тета-диапазона во время SWD 2-ого типа.

5) Снижение значений внутрикортикальной когерентности в течении SWD 1-ого типа.

По видимому, действие клонидина направлено на усиление пачечной активности нейронов ретикулярного ядра, что способствует формированию гиперсинхронной активности в таламо-кортикальной сети. Таким образом, механизм адренергической модуляции абсанс-эпилепсии, опосредованный агонистом $\alpha 2$ -рецепторов клонидином, направлен на нейроны RTN, а не VPm и не на клетки коры. Представленные данные косвенно подтверждают тот факт, что SWD 2-ого типа формируются вне таламо-кортикальной сети, и, возможно, имеют гиппокампальное происхождение.

Развитие генетически обусловленной патологии у крыс WAG/Rij находится под влиянием внешних факторов (раннего сенсорного опыта) и внутренних (норадренергическая и дофаминергическая модуляторные систем). Формирование пик-волновых разрядов в онтогенезе происходит постепенно; появлению устойчивой и регулярной пик-волновой активности предшествует переходные про-эпилептические формы разрядов, имеющие пароксизмальные черты. Так, у более молодых животных (в возрасте 4-5 месяцев) на предсимптоматической стадии можно обнаружить незрелые формы разрядов, которые напоминают по форме сонные веретена, так называемые 'пик-волновые веретёна' [Sitnikova, 2012]. Как показано на Рис. 4.16, пик-волновые веретёна имеют типичную веретенообразную форму, т.е., характеризуются постепенным нарастанием-убыванием амплитуды с элементами комплекса пик-волна, характерными для эпилептических разрядов. Частота пик-волновых веретён у крыс WAG/Rij колеблется в пределах от 4-5 Гц до 7-8 Гц [Sitnikova, 2012], что соответствует частоте незрелых пик-волновых разрядов у крыс GAERS [Çarçak et al., 2008]. Аналогичный паттерн на ЭЭГ был описан в 1993 Drinkenburg и соавторами у крыс WAG/Rij и получил название '*spiky phenomena*', что можно перевести на русский язык как 'остроконечные комплексы'. Мы считаем название

‘пик-волновые веретёна’ предпочтительнее, поскольку оно отражает истинную форму этих осцилляций, их пароксизмальную природу и родство с пик-волновыми разрядами.

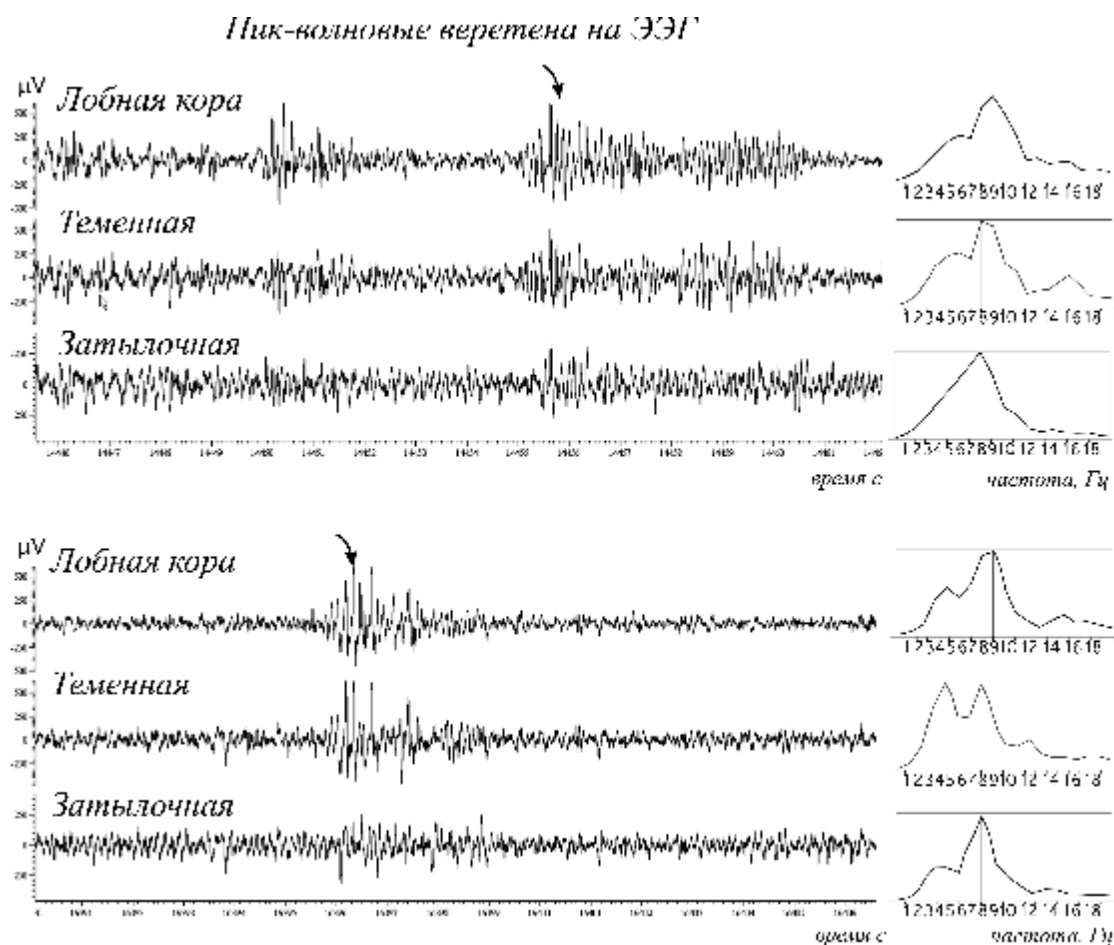


Рисунок 4.16. Примеры пик-волновых веретен, зарегистрированных на ЭЭГ у крысы WAG/Rij (возраст 8 мес.). Пик-волновые веретена содержат эпилептиформные компоненты (показано стрелками) в лобной и теменной коре (генерализация). Справа показаны спектры мощности соответствующих областей коры.

Наличие переходных форм пик-волновых разрядов на ЭЭГ у крыс WAG/Rij [Sitnikova, 2012] предполагает трансформацию нормальной ритмической активности таламо-кортикальной системы (сонных веретен) в пароксизмальные пик-волновые разряды. Сонные веретена и пик-волновые разряды связаны общим таламо-кортикальным механизмом [Gloor, 1968; 1969; Kandel & Buzsáki, 1997; Kostopoulos, 2000], но, несмотря на это, они имеют ряд принципиальных отличий, которые подробно освещены в следующей Главе.

ГЛАВА 5

Сонные веретена и пик-волновые разряды - нормальный и пароксизмальный ритм таламо-кортикальной системы

Сонные веретена и пик-волновые разряды представляют собой нормальную и пароксизмальную форму ритмической активности таламо-кортикальной системы, их объединяют общие механизмы. Интерес к изучению сонных веретен в рамках настоящей работы продиктован их связью с эпилептической активностью и возможностью трансформации сонных веретен в пик-волновые разряды [Gloor, 1968; Gloor, 1978; Kostopoulos, 2000]. Эта трансформация была обнаружена в условиях эксперимента *in vivo* и *in silico* [Blumenfeld & McCormick, 2000; Destexhe & Sejnowski, 2001], однако она сомнительна в случае спонтанных форм абсанс-эпилепсии [Pinault, 2003; Pinault et al., 2006]. Настоящая Глава исследует сходства и различия таламо-кортикальных механизмов сонных веретен и пик-волновых разрядов.

5.1. Сонные веретена

Состояние медленного сна (non-REM) у млекопитающих и человека характеризуется наличием сонных веретен на ЭЭГ [De Gennaro & Ferrara, 2003; De Gennaro et al., 2005]. Сонные веретена – это периодически повторяющиеся эпизоды синусоидообразных колебаний, частота которых колеблется в пределах 10-14 Гц у человека, а амплитуда постепенно нарастает, а затем убывает на протяжении 0.5 с и выше (длительность веретен может достигать нескольких секунд) [Stern & Engel, 2004]. Комиссия по терминологии международной федерации общества электроэнцефалографии и клинической нейрофизиологии [IFSECN, 1974] даёт лаконичное определение сонным веретенам: "группа ритмических волн, характеризующаяся постепенным увеличением затем уменьшением амплитуды" (*sleep spindle is a group of rhythmic waves characterized by progressively increasing then decreasing amplitude*).

Сонные веретена формируются в состоянии дремоты и медленноволнового сна на фоне синхронизации активности нейронов таламуса [Steriade, 1993, 2003, 2005; Steriade & Llinas, 1988]. В состоянии бодрствования сенсорный приток от периферии проходит через специфические (релейные) ядра таламуса и направляется в соответствующие проекционные области коры (Раздел 1.1.3, Рис.5.1). В этом состоянии мембранный потенциал нейронов релейных ядер таламуса составляет $-55...-65$ мВ (слабая деполяризация, что соответствует тонической форме импульсной активности, *tonic mode*). Регуляцию мембранного потенциала нейронов релейных ядер таламуса осуществляют ГАМК-эргические нейроны ретикулярного таламического ядра.

В состоянии дремоты и медленноволнового сна ситуация радикально изменяется. При засыпании ослабевает поток внешней информации, поступающей в кору через релейные ядра таламуса, снижается активность восходящих тонических влияний активирующих систем мозга, что приводит к снижению мембранного потенциала нервных клеток и к изменению характера их импульсной активности. В состоянии сна мембранный потенциал нейронов релейных ядер таламуса составляет $-65...-75$ мВ. Таламические нейроны генерируют «пачки» импульсов

(пачечная активность, *burst firing*) [Steriade et al., 1993; Coenen et al., 1995; Avanzini et al., 2000], увеличивается уровень синхронизации между нейронами релейных ядер таламуса и ретикулярным таламическим ядром (RTN).

Все нейроны RTN являются тормозными, они формируют контакты с близлежащими специфическими ядрами таламуса и способны спонтанно генерировать пачки импульсов, выполняя функцию пейсмекеров сонных веретен. Эксперименты на кошках *in vivo* показали, что разрушение синаптических контактов RTN с клетками-мишенями в таламусе вызывает полное исчезновение сонных веретен [Steriade et al., 1987].

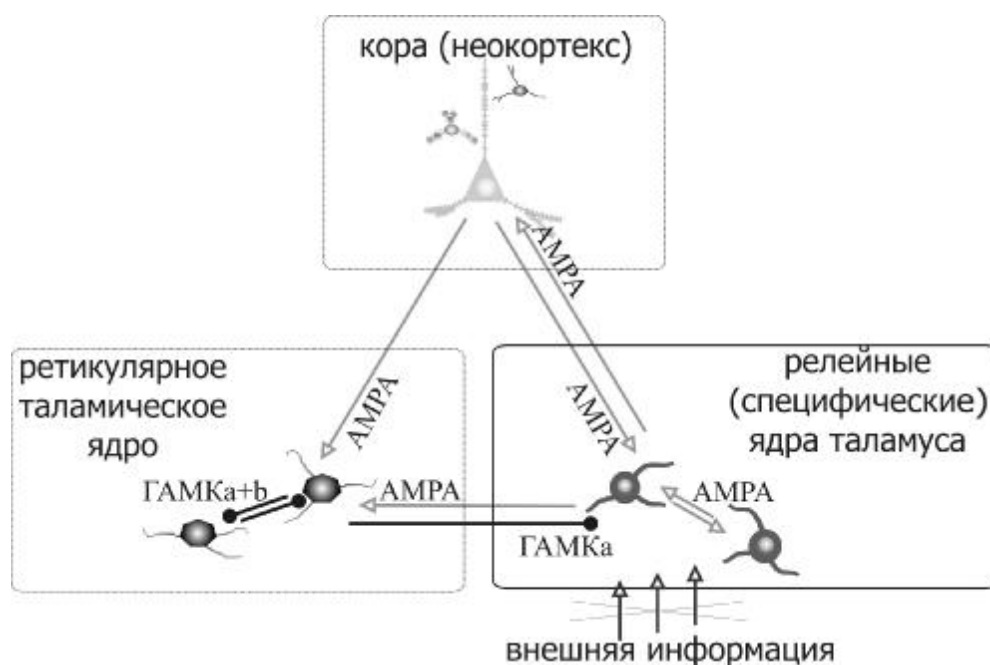


Рисунок 5.1. Главные части таламо-кортикальной системы, участвующие в формировании сонных веретен.

Ритмическая активность в виде "сонных веретен" поступает из таламуса в неокортекс по системе восходящих таламо-кортикальных проекций. Нисходящие кортико-таламические проекции поддерживают и координируют ритмическую активность коры и таламуса [Blumenfeld & McCormick, 2000; Steriade, 2003]. Известно, что при удалении коры у кошек нарушается пространственно-временная структура сонных веретен, и они оказываются фрагментированными и наблюдаются в разных ядрах таламуса асинхронно [Contreras et al., 1996].

Поскольку сонные веретена - это продукт спонтанной ритмической активности таламо-кортикальной сети, электроэнцефалографические характеристики сонных веретен могут служить индикатором функциональных свойств нейронов таламуса и коры. Некоторые особенности сонных веретен у человека и животных заслуживают подробного изложения.

5.1.2. Сонные веретена у человека

У человека сонные веретена на ЭЭГ появляются во время 2-ой фазы медленного сна. По мере углубления сна сонные веретена постепенно исчезают и их заменяют медленные дельта волны (фазы сна 3 и 4). У здорового взрослого человека во время 2-ой фазы сна сонные веретена

появляются каждые 8-10 секунд, их длительность составляет 1-2 секунды. Максимум амплитуды сонных веретен находится в области вертекса (Cz) и в центральных областях C3 и C4 [Rechtschaffen & Kales, 1968; Jankel & Niedermeyer, 1985; De Gennaro & Ferrara, 2002].

Эрн Джиббс и Фредерик Джиббс [Gibbs & Gibbs, 1950] предложили классификацию сонных веретен, основанную на их пространственных и частотных характеристиках. Сонные веретена 1-ого типа были представлены локально в области вертекса, их частота составила ~14 Гц. Веретена 2-ого типа наблюдались в лобной коре в состоянии поверхностного сна и имели частоту ~12 Гц. Веретена 3-его типа с частотой ~10 Гц отличались от первых двух типов бóльшей генерализацией и билатеральной симметрией и преобладали в состоянии глубокого сна. Клинические исследования в настоящее время продолжают пользоваться данной классификацией [Jobert et al., 1992; Werth et al., 1997; Zygierevicz et al., 1999]. Некоторые специалисты по клинической ЭЭГ отрицают существование 3-его типа сонных веретен (10 Гц) [Jankel & Niedermeyer, 1985], выделяя два типа сонных веретен: ~12 Гц веретёна в передних областях коры и ~14 Гц веретёна в париетальной и центральной областях.

Не ясно почему частота сонных веретен, зарегистрированных в коре, демонстрирует устойчивые различия в разных областях коры: ~12 Гц - в передних, ~14 Гц - в центральных областях. Логично предположить, что частота сонных веретен зависит от таламического источника и она не должна изменяться при пассивной передаче из таламуса в кору. Различия свойств сонных веретен в разных областях коры могут быть следствием локальных взаимодействий отдельных областей коры с таламусом или с другими областями коры.

Для локализации источников сонных веретеной активности у человека был успешно использован метод магнитоэнцефалографии (МЭГ). МЭГ имеет лучшую, чем ЭЭГ, разрешающую способность в пространстве (менее 5 мм)²², имеет высокое разрешение во времени (порядка миллисекунд), и это выше по сравнению с другими методами нейрокартирования головного мозга (фМРТ и пр.). Urakami (2008) с использованием комбинированной регистрации ЭЭГ/МЭГ показал, что быстрые веретена чаще наблюдаются в задне-центральных областях коры, тогда как медленные веретена - в передне-центральных, чем в задне-центральных областях. Существует гипотеза, что, несмотря на существование множественных источников, веретеной активность объединяет широкие кортикальные сети, представляющие общее нервное происхождение обоих типов веретен, поскольку по крайней мере медленные веретена локализованы в обеих передне- и задне-центральных областях (см. Urakami, 2008).

Онтогенез сонных веретен у человека исследован довольно подробно [обзор De Gennaro & Ferrara, 2003; Tanguay et al., 1975; Guazzelli et al., 1986; Landolt et al., 1996]. Известно, что сонные веретена достигают дефинитивной формы к двухлетнему возрасту, когда усиливается степень межполушарной симметрии сонных веретен [Tanguay et al., 1975].

²² МЭГ позволяет регистрировать магнитную составляющую электро-магнитного поля, а ёмкость и сопротивление костей черепа и мягких тканей головы для электрического поля выше, чем для магнитного

5.1.3. Сонные веретена у животных

У взрослых животных сонные веретена появляются на ЭЭГ в состоянии дремоты во время медленно-волнового сна, а течение глубокого сна сонные веретена сопровождаются дельта волнами (Рис. 5.2). Структура и общие характеристики сонных веретен (длительность, частота) у животных не отличаются от таковых у человека. Известно, что у крыс число сонных веретен, их амплитуда и длительность достигают максимальных значений в лобной коре. У крыс, также как и у человека, кроме генерализованных сонных веретен, выделяют два типа локальных веретен: в антериорные веретена в лобно-париетальной коре, постериорные веретена в затылочных областях [Terrier & Gottesmann, 1978].

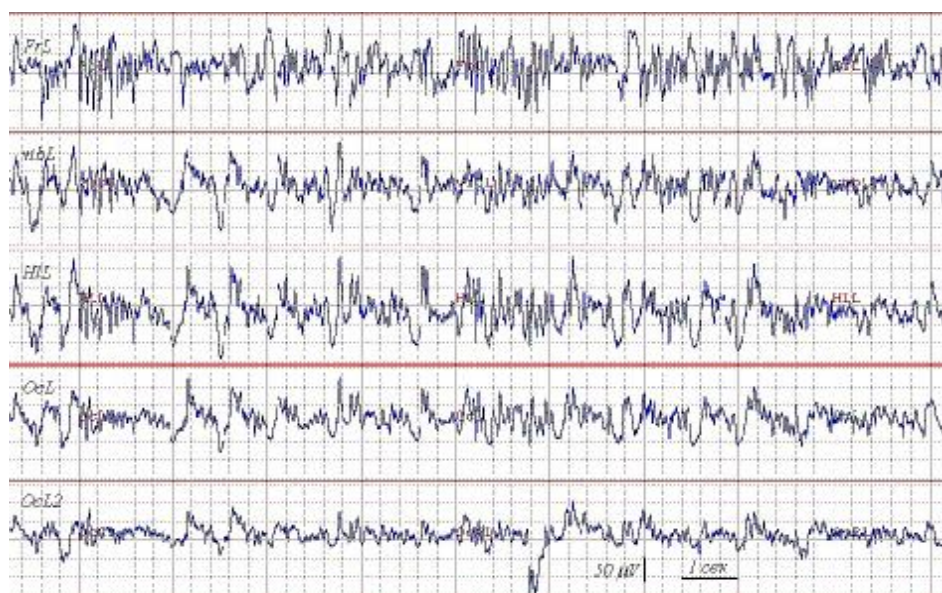


Рисунок 5.2. Пример ЭЭГ, зарегистрированной у взрослой крысы (самец линии WAG/Rij) во время медленного сна [собственные данные]. Амплитуда сонных веретен максимальна в лобной (*FrL*, левая сторона) и в париетальной областях (*vibL* и *HIL* - проекционные представители вибрисс и задних конечностей соответственно). Веретенообразная активность слабо развита в затылочной области (*OcL* и *OcL2*).

Данные об онтогенезе сонных веретен у животных немногочисленны. Известно, что у новорожденных котят первые всплески сонно-веретеновой активности возникают в таламусе [Domich et al., 1987], а в коре сонные веретена отсутствуют до 3-4 дневного возраста. Появление сонных веретен в коре свидетельствует о созревании таламо-кортикальной системы и об установлении дефинитивных связей между таламусом и корой. К 8-9 дням жизни сонные веретена у котят приобретают дефинитивный паттерн и появляются синхронно в коре и таламусе.

У крыс сонные веретена формируются относительно поздно, по одним данным, в возрасте 3 недель [Frank & Heller, 1997]. По другим данным, - в 14-дневном возрасте и имеют частоту 14-18 Гц [Gramsbergen, 1976]. Возможно, сроки сонных веретен у разных линий отличаются, кроме того, авторы могли руководствоваться разными критериями для выделения сонных веретен на ЭЭГ. Важным является тот факт, что темпы формирования сонных веретен отражают процесс

созревания таламо-кортикальной системы, которая, в свою очередь, участвует в передаче и первичной обработке сенсорной информации от всех органов чувств, включая вибротактильный анализатор.

5.2. Сходства и различия сонных веретен и пик-волновых разрядов

Идею о том, что пик-волновые разряды и сонные веретена имеют общее происхождение, впервые высказал автор кортико-ретикулярной теории Пьер Глор в конце 60-х – начале 70-ых годов прошлого столетия [Gloor, 1968; 1969; Gloor et al., 1979]. Согласно этой концепции, таламо-кортикальная система, которая в норме является источником сонных веретен, может воспроизводить пик-волновые разряды при условии, если возбудимость коры окажется аномально высокой. При этом активация таламуса может оставаться нормальной и не превышать уровень, типичный для сонных веретен. Однако кора, находящаяся в состоянии гипервозбудимости, может демонстрировать чрезмерную реакцию возбуждения в ответ на активацию таламических афферентов, в результате сонные веретена в коре преобразуются в пик-волновые разряды. Данная точка зрения завоевала необычайную популярность, и её разделяли многие ведущие специалисты [Kostopoulos 2000, Kellaway, 1985; Kandel & Buzsaki, 1997; Blumenfeld & McCormick, 2000; Destexhe & Sejnowski, 2001; Avanzini & Franceschetti, 2003].

В условиях эксперимента можно повысить возбудимость коры до предельно высокого уровня, т.е. перевести её в состояние гипервозбудимости за счет снижения эффективности торможения, например, под действием антагонистов ГАМКа-рецепторов - пенициллина [Gloor, 1968; 1969; Gloor et al., 1979; Avoli et al., 1983; Avoli & Gloor, 1982] или бикикулина [Steriade & Contreras, 1998]. С использованием высоких доз пенициллина в остром опыте у кошек была создана одна из первых экспериментальных моделей генерализованной эпилепсии (*FGPE*, подробнее – Раздел 1.3.1), позволившая детально исследовать процесс трансформации сонных веретен в пик-волновые разряды [Kostopoulos, 2000]. Было обнаружено, что под действием пенициллина структура сонных веретен подвергалась постепенной модификации (Рис. 5.3). В начале наблюдали исчезновение каждого третьего колебания внутри сонного веретена, в результате частота веретен снижалась с 9 Гц до 6 Гц. Затем - исчезновение двух из трех колебаний, и их место занимал компонент 'волна'. Амплитуда каждого третьего колебания увеличивалась, и оно трансформировалось в компонент 'пик'. В механизма трансформации сонных веретен в пик-волновые разряды свидетельствуют данные, полученные *in vitro* [von Krosigk et al., 1993] и в компьютерных моделях [Destexhe & Sejnowski, 2001]. В этих работах был описан процесс формирования сонных веретен на фоне блокады ГАМКа-рецепторов таламо-кортикальных нейронов под действием ГАМКа-антагониста бикикулина. Такое вмешательство повышало эффективность ГАМКб-эргического торможения, в результате наблюдали преобразование сонно-веретенных колебаний (10 Гц) в более медленные (3 Гц) синхронные SWD-подобные разряды.

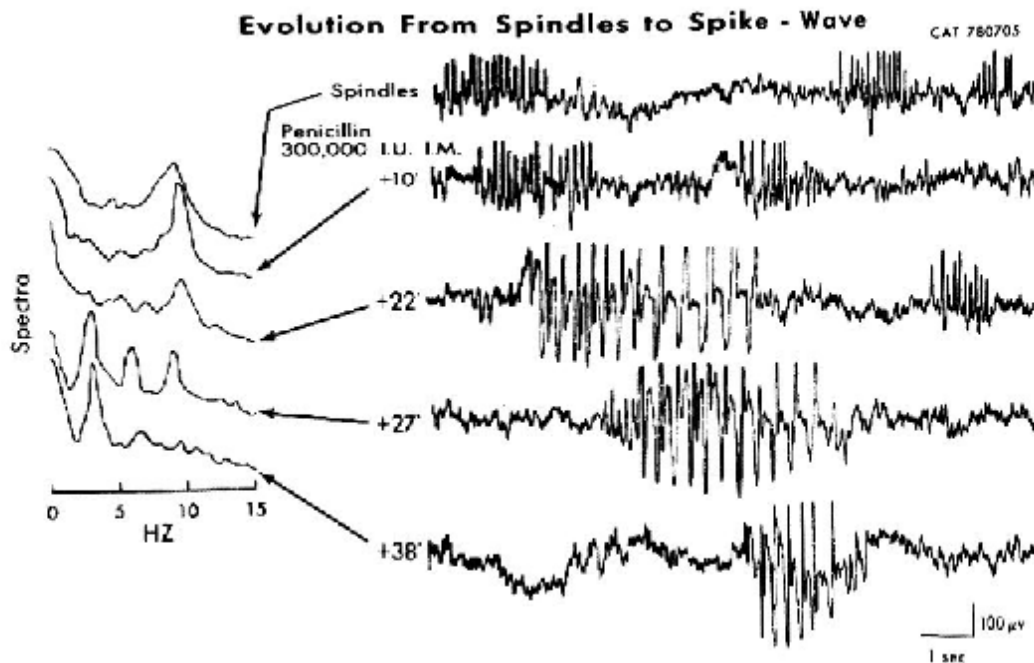


Рисунок 5.3. Преобразование сонных веретен в пик-волновые разряды у кошки с поврежденной ретикулярной формацией среднего мозга. Показаны записи ЭЭГ после системного введения пенициллина (вверху – фондовая запись, на последующих записях указано время от начала инъекции). Слева показаны спектры мощности соответствующих эпизодов ЭЭГ, где можно видеть постепенное снижение амплитуды 9 Гц пика (характерного для сонных веретен) и появление пиков с частотой 6 и 3 Гц. Снижение частоты происходило скачкообразно 9 – 6 – 3 Гц, а не постепенно. Спустя 38 минут после инъекции пенициллина (нижняя запись) пик-волновые разряды имели полностью сформированный паттерн и частоту 3 Гц. (Из статьи Kostopoulos [2000] © Elsevier Science Ireland Ltd.)

Сходство между сонными веретенами и пик-волновыми разрядами прослеживается и по критерию их распределения в цикле сон-бодрствование. Сонные веретена появляются на ЭЭГ во время медленноволнового сна. Для SWD наиболее благоприятным является состояние пассивного бодрствования, дремота и неглубокий сон [van Luijtelaaar & Coenen, 1988; Drinkenburg et al., 1991; Kellaway, 1985]. Исследования изменений ЭЭГ под действием медикаментозных средств у крыс WAG/Rij продемонстрировали отрицательную корреляционную зависимость между числом сонных веретен и SWD [van Luijtelaaar, 1997]. При введении барбитурата (фенобарбитал) и бензодиазепамина (флунитразепам) происходило увеличение количества сонных веретен и снижение числа пик-волновых разрядов. Клонидин (агонист альфа-2 адренорецепторов), наоборот, вызывал снижение числа сонных веретен и увеличение SWD. Реципрокные взаимоотношения между сонными веретенами и SWD предполагают существование общего нейросетевого механизма, изменение которого смещает баланс в сторону сонных веретен или в сторону SWD.

Обобщая литературные данные, можно выделить несколько принципиальных различий между SWD и сонными веретенами по критерию пространственного распределения в коре и подкорковых структурах, а также по форме ЭЭГ и в отношении нейронных механизмов.

Пространственное распределение. SWD имеют генерализованный характер, появляются на ЭЭГ синхронно в билатерально симметричных областях неокортекса [Panayiotopoulos, 1999, 2005; Marescaux et al., 1992a; Coenen & van Luijtelaaar, 2003; Steriade, 2003] и отсутствуют в

архикортексе (гиппокамп), энторинальной коре и других отделах лимбической системы [Marescaux et al., 1992a; Coenen & van Luijtelaaar, 2003]. По сравнению с SWD, сонные веретена имеют более локальный характер и распространяются в пределах таламо-кортикальной системы [De Gennaro & Ferrara, 2003; Kandel & Buzsáki, 1997], их распределение по поверхности коры определяется топографией таламо-кортикальных афферентов, доставляющих поток возбуждения от таламуса к коре. Веретенообразные колебания можно наблюдать и в структурах лимбической системы (напр., в обонятельных долях), но, в отличие от таламо-кортикальных веретен, они имеют иную, возможно патологическую, природу [Montplaisir et al., 1981].

Форма ЭЭГ. SWD имеют форму асимметричного потенциала с преобладанием негативных компонентов (пик и волна имеют негативную полярность) [Weir, 1965]. Сонные веретена, напротив, имеют вид симметричных колебаний, где негативный и позитивный компоненты уравновешивают друг друга [Stern & Engel, 2004], хотя негативный компонент может быть острее, чем позитивный [Kandel & Buzsáki, 1997], но они не приобретают форму 'пика'.

Динамика импульсной активности нейронов коры. Во время SWD все нейроны коры разряжаются синхронно, следуя единому ритму: мощная фаза активации сменяется фазой полного торможения. Т.е., SWD сопровождаются гиперсинхронизацией нейронной активности. Компонент 'пик', входящий в состав пик-волнового комплекса, соответствует вспышке импульсной активности во всех слоях коры одновременно. Компонент 'волна' (Рис. 5.4А) можно видеть на поверхности коры при полном отсутствии импульсной активности во всех слоях коры. Во время сонных веретен нейроны разных слоев коры разряжаются согласованно (Рис 5.4Б), однако уровень синхронизации нейронной активности оказывается значительно ниже, чем во время SWD, а нейроны глубоких слоёв (V/VI; каналы 11-13) не вовлекаются в общий сонно-веретенный ритм.

О существовании единого таламо-кортикального механизма сонных веретен и SWD свидетельствовали ранние работы, выполненные на крысах с врожденной склонностью к абсанс-эпилепсии - GAERS [Avanzini, 2000] и WAG/Rij [Kandel and Buzsáki, 1997; van Luijtelaaar, 1997]. Однако более поздние исследования на крысах GAERS [Pinault и др., 2001; Pinault 2003; 2006] не подтвердили общность механизмов сонных веретен и SWD. Авторы более поздних работ исследовали спонтанные SWD, которые были намного ближе к клинической картине абсанса, чем фармакологически индуцированная судорожная активность, которую моделировали в экспериментах на животных (в т.ч. с помощью инъекций пенициллина), поэтому результаты этих исследований отличались от предсказанных фармакологическими моделями. Было обнаружено, что SWD являлись результатом трансформации нормальных 5-9 Гц ритмических колебаний, и они не были связаны с сонными веретенами. Прозэпилептические предшественники пик-волновых разрядов (5-9 Гц колебания) имели кортикальное происхождение, их механизмы принципиально отличались от механизмов сонных веретен [Pinault 2003; 2006].

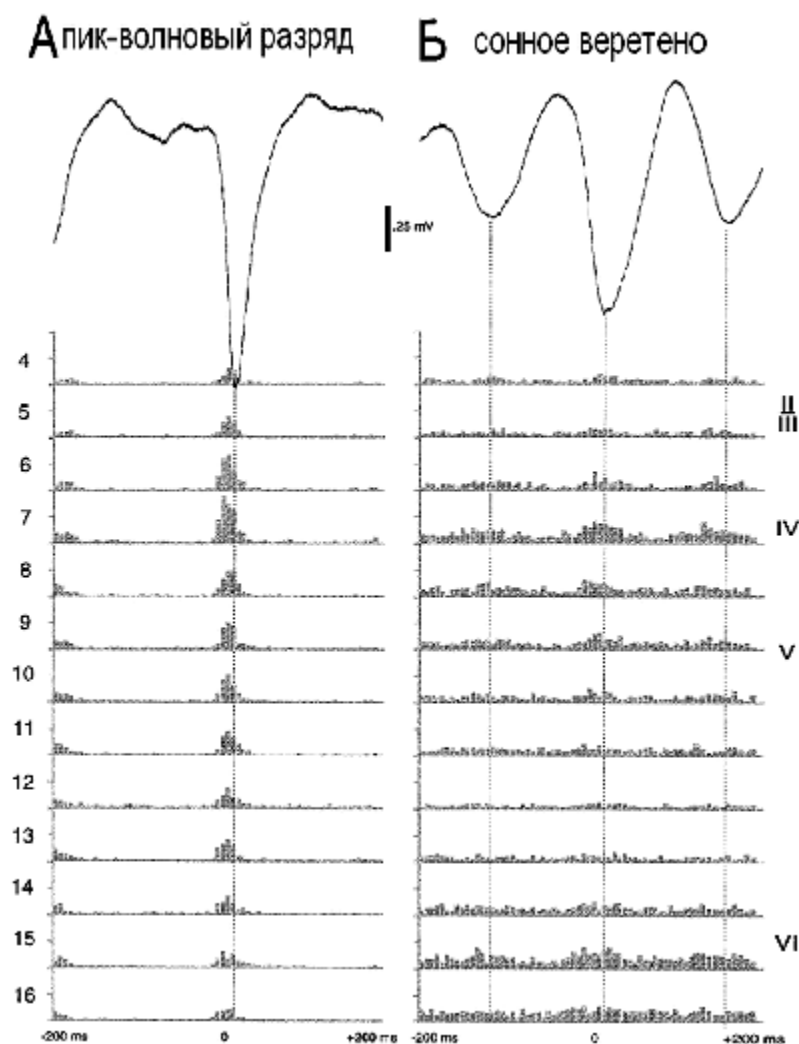


Рисунок 5.4. Нейронная активность II/III, IV и V/IV слоев коры (гистограммы 4-16) и локальный потенциал поля (кривые сверху) на протяжении одного цикла пик-волнового разряда (А) и сонного веретена (Б) [Kandel & Buzsáki, 1997].

В настоящем Разделе представлены результаты наших исследований особенностей частотно-временной структуры пик-волновых разрядов и сонных веретен в коре и таламусе, которые дополняют современную точку зрения на системные механизмы формирования этих двух форм ритмической активности.

Особенности процедуры исследований

Использовали 9 самцов крыс WAG/Rij в возрасте 11-12 мес. У этих животных проводили запись ЭЭГ с помощью двух эпидуральных электродов, вживленных в правое полушарие в область лобной (AP 2; L 2.5) и затылочной коры (AP -7; L 6), а также двух глубоких электродов в области таламуса: VPM (AP -3.5; L 2.5; H 7.2) и RTN (AP -1.5; L 2.2; H 7.2); индифферентный электрод помещали над правым полушарием мозжечка. Точность локализации глубоких электродов была подтверждена путём гистологического контроля *post mortem*. Окраску срезов

головного мозга проводили по методу Ниссля, расположение электродов определяли, руководствовались атласом головного мозга взрослых крыс Paxinos и Watson (1986).

После операции животных содержали поодиночке при стандартном световом режиме (12 ч свет, 12 ч темнота), свободном доступе к воде и пище. ЭЭГ регистрировали у крыс в свободном поведении в темную фазу суточного цикла, непрерывно в течение 5-7 часов. Частота дискретизации составляла $1024 \text{ с}^{-1}/\text{канал}^{-1}$.

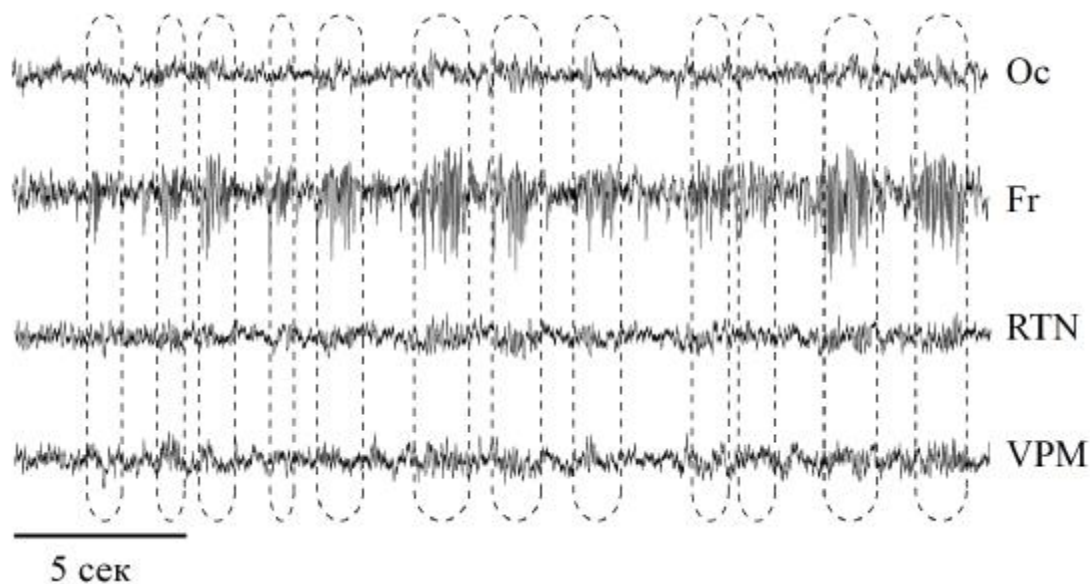


Рисунок 5.5. Пример энцефалографической записи у крысы WAG/Rij во время медленно-волнового сна. Пунктирными рамками выделены сонные веретена. Сокращения каналов ЭЭГ: Fr - лобная кора, Oc - затылочная кора, RTN - ретикулярное таламическое ядро и VPM - вентропостеромедиальное ядро таламуса [из статьи Грубов и др., 2011].

Пик-волновые разряды были выделены на ЭЭГ автоматически с использованием метода, разработанного P.L.C van den Broek (Университет Радбоуд г.Наймеген, Нидерланды) в соответствии с критериями [van Luijtelaar & Coenen, 1986]. Разметка SWD проводилась на лобной ЭЭГ и её результаты были аппроксимированы на другие каналы. Для статистического анализа спектральной плотности SWD выделяли 1-секундные интервалы SWD через 500 мс после начала разрядов. Для анализа были выбраны фрагменты медленно-волнового сна с хорошо выраженными сонными веретенами (Рис. 5.5). Амплитуда сонных веретен в лобной коре, как и SWD, была выше, чем в остальных областях. Для спектрального анализа ЭЭГ у каждого животного были отобраны по 30-70 сонных веретен, выделенных на ЭЭГ вручную.

Сонные веретена выделяли на ЭЭГ во время медленно-волнового сна (исключая промежуточную фазу сна), руководствуясь формальными критериями [IFSECN, 1974; Steriade et al., 1993]: синусоидальные колебания правильной (веретенообразной) формы с частотой 8-12 Гц и длящиеся 0.3 - 1.5 сек с плавно нарастающей и убывающей амплитудой, значения которой превышают фоновые значения более чем в два раза.

Частотно-временной анализ был выполнен с использованием коммерческого пакета программ Brain Vision Analyzer, ©BrainProducts GmbH. Был проведен расчет следующих функций:

1) В домене частот использовали *быстрое преобразование Фурье (Hanning windowed)* для построения спектров мощности с частотным разрешением 0.5 Гц. Для анализа были выбраны 1-сек интервалов, включающих сонное веретено (50 интервалов от одного животного) и SWD (50 интервалов от животного).

2) В домене времени проводили расчет *функции кросс-корреляции* двумя сигналами ЭЭГ, исходящими из таламуса и коры. Эта функция ($C_{x,y}$) является мерой линейной взаимосвязи между двумя сигналами ЭЭГ, $x(t)$ и $y(t)$ во времени [напр., Quian Quiroga et al., 2000; Pereda et al., 2005].

$C_{x,y}(t) = \frac{1}{N-t} \sum x(t)y(t+t)$, где τ - время, на которое сдвигается исходный сигнал; N - число дискретных значений амплитуды сигнала на анализируемом временном отрезке.

Функцию обычно представляют в нормированном виде, значения коэффициентов этой функции варьируют от -1 (абсолютная обратная корреляция) до +1 (абсолютная прямая корреляция). Были исследованы корреляции между лобной и затылочной корой (внутрикортикальные), VPM и RTN (внутри таламические), между лобной корой и VPM, лобной корой и RTN (кортико-таламические). Помимо сонных веретен (1-сек интервал, включающий сонное веретено, по 50 эпизодов от одного животного) и SWD (1-сек интервал в начале разряда по 50 эпизодов от животного) были исследованы 1-секундные интервалы фоновой ЭЭГ во время пассивного бодрствования (по 50 эпизодов от животного).

5.2.1. Частотные характеристики сонных веретен и пик-волновых разрядов в лобной и затылочной коре

На предварительном этапе был проведен сравнительный анализ сонных веретен и SWD в лобной и затылочной областях коры. Выбор этих областей объясняется тем, что в лобной коре амплитуда исследованных паттернов выше по сравнению с другими областями коры, а в затылочной их амплитуда минимальна. Длительность SWD на лобной ЭЭГ в 10 раз превышала длительность сонных веретен (Табл. 5.1), средняя частота SWD была значимо ниже по сравнению с сонными веретенами (разница ~ 2 Гц). В лобной коре амплитуда SWD была в два раза выше, чем у веретен, в затылочной коре амплитуда SWD и сонных веретен была одинакова.

Для спектрального анализа были использованы эпизоды ЭЭГ равной длины: 1-сек интервалы SWD в начале разряда и 1-сек интервалы, включающие сонные веретена. На спектре мощности веретен и разрядов в лобной коре (Рис. 5.6А) был обнаружен главный пик в диапазоне альфа-частот (SWD ~ 9 Гц, сонные веретена ~ 10-11 Гц).

Таблица 5.1. Общие характеристики сонных веретен и SWD в лобной коре у крыс WAG/Rij (среднее \pm стандартное отклонение).

	Общее число эпизодов	Длительность, с	Частота, Гц	Спектральная мощность, μV^2
Сонные веретена	445	0.68 ± 0.08	11.14 ± 1.02	11.3 ± 1.7
Пик-волновые разряды	297	6.71 ± 0.58 *	9.14 ± 0.47 *	24.8 ± 6.5 *

* - значимые различия между показателями сонных веретен и пик-волновых разрядов, $p < 0.05$

Пик на спектре SWD был гораздо острее, чем у сонных веретен, а его высота была в несколько раз выше. Эти различия связаны с тем, что SWD состояли из однородных компонентов, повторяющихся с определенной частотой и имеющих более-менее устойчивую амплитуду, тогда как частотные и амплитудные характеристики сонных веретен значительно варьировали.

Помимо основного ~ 9 Гц пика на спектре SWD (Рис. 5.6А) были обнаружены дополнительные пики с кратной частотой $\sim 18-20$ Гц и $\sim 27-30$ Гц (гармоники), которые формально принадлежали диапазону бета частот, но не являлись бета-колебаниями. В данном случае гармоники на спектре SWD были индуцированы наличием острых компонентов в составе SWD - пиков, следующих с устойчивой частотой [Sitnikova et al., 2009]. Вторичные гармоники хорошо прослеживались на вейвлетном спектре и на скелетонах вейвлетной поверхности SWD (см. ниже). В отличие от SWD, на спектре мощности сонных веретен в лобной коре был выявлен только один максимум с частотой $\sim 10-12$ Гц (Рис. 5.6А). Отсутствие вторичных гармоник обусловлено формой веретен на ЭЭГ - амплитуда сонных веретена меняется плавно, в составе веретен нет острых компонентов (пики, острые волны).

По данным статистического анализа общая мощность спектра SWD в лобной коре была значимо выше, чем мощность сонных веретен ($F_{1;107}=38.9$; $p < 0.0001$, Рис. 5.6В), и эти различия были выявлены в высокочастотном диапазоне от 14 до 59.5 Гц (в диапазоне *альфа*, *бета* и *гамма-1* значимость $p < 0.05$, *post-hoc* тест).

На затылочной ЭЭГ спектральные характеристики SWD и сонных веретен были идентичными (Рис 5.6), за исключением дельта-компонента, мощность которого у сонных веретен была значимо выше, чем у SWD. Наличие дельта-компонента на затылочном спектре сонных веретен объясняется тем, что веретена часто сопровождается характерной для сна медленно-волновой активностью, в то время как SWD чаще наблюдаются в состоянии пассивного бодрствования и дремоты, когда дельта-активность остается низкой.

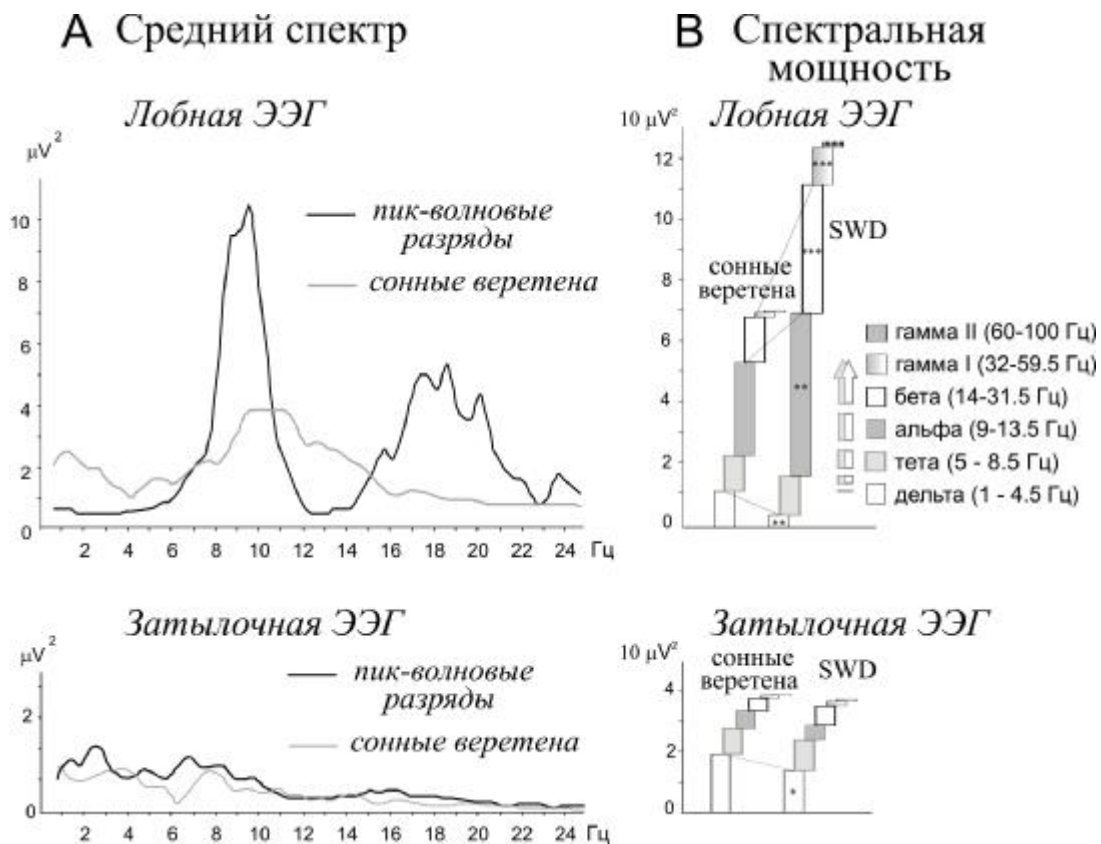


Рисунок 5.6. Результаты спектрального анализа сонных веретен и пик-волновых разрядов (SWD) в группе из 9 крыс. А. Усредненные спектры мощности. В. Распределение спектральной мощности по частотным диапазонам * - значимые различия, $p < 0.05$, $** < 0.01$, $*** < 0.005$.

5.2.2. Частотные характеристики сонных веретен и пик-волновых разрядов в коре и таламусе

На следующем этапе были исследованы частотные характеристики пик-волновых разрядов и сонных веретен в коре и таламусе путём сравнительного анализа формы спектра мощности в лобной коре, ретикулярном и (RTN) и вентропостеромедиальном (VPM) ядрах таламуса. На Рис. 5.7 показаны усредненные спектры мощности 1-сек интервалов ЭЭГ, содержащих сонные веретена и SWD. Исходя из того, что длительность SWD составила в среднем 6.7 сек (Табл. 5.1), для спектрального анализа были выбраны два интервала SWD: первая секунда после начала разряда ("SWD начало разряда") и последняя секунда ("SWD окончание разряда"). Анализ спектров мощности показал следующее.

Сонные веретена. Характерный для лобной коры доминирующий спектральный компонент 10-12 Гц отсутствовал в таламусе. Активность таламуса во время сонных веретен представляла собой набор низкочастотных компонент в полосе частот до 10 Гц. Причиной отсутствия единого ритма в таламусе могло быть диффузное вовлечение локальных групп таламических нейронов в процесс поддержания веретенообразной активности, а также невысокая степень синхронизации между отдельными клеточными кластерами. Особенности цитоморфологической организации таламуса таковы, что клетки расположены довольно хаотично, и это препятствует пространственной суммации их электрических полей, поэтому даже при высокой степени

синхронизации таламических нейронов амплитуда суммарного электрического потенциала может оставаться низкой. В отличие от высокоупорядоченной организации неокортекса, где, главные оси пирамидных нейронов ориентированы параллельно друг другу, это благоприятствует суммации электрического потенциала, в результате чего формируются резкие колебания электрического потенциала, которые отражаются в виде высокоамплитудной активности на ЭЭГ.

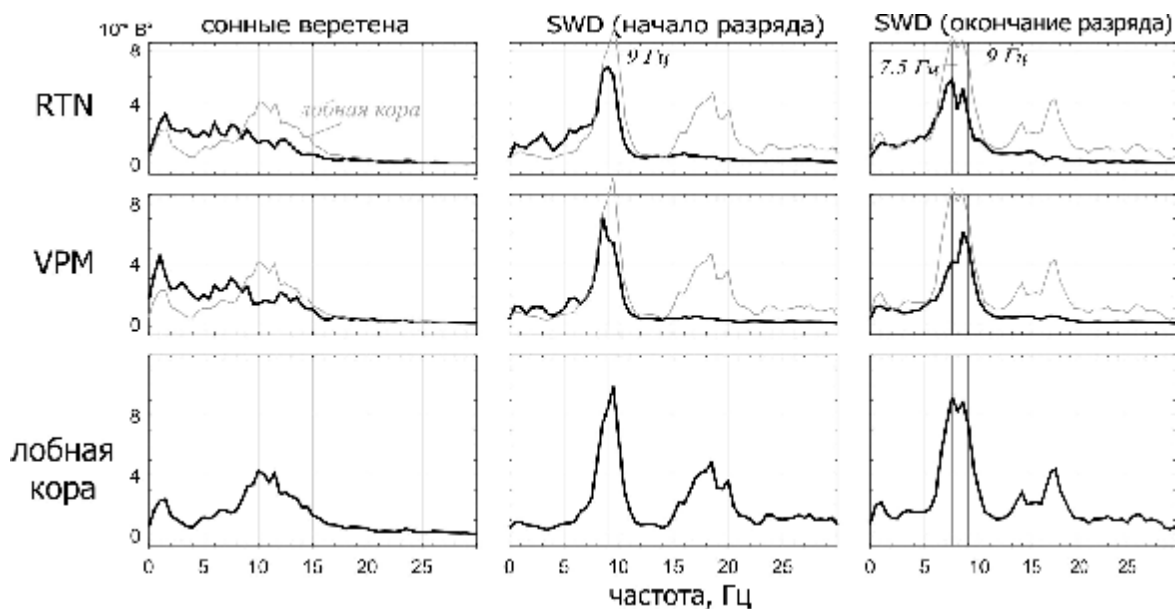


Рисунок 5.7. Спектры мощности 1-сек интервалов ЭЭГ, содержащих сонные веретена и SWD. Отдельно представлены спектры мощности в первую и последнюю секунду SWD, соответственно, "начало" и "окончание разряда". Серые линии на верхних графиках дублируют форму лобного спектра (нижний график). RTN - ретикулярное и VPM - вентропостеромедиальное ядро таламуса (n=6 крысы).

SWD. В начале SWD лобная кора и таламус демонстрируют ритмическую активность с частотой 8.5-9.5 Гц (Рис. 5.7). Пик мощности спектра в лобной коре около ~9 Гц. На таламических спектрах мощности, в отличие от спектров лобной коры, отсутствуют гармоники (в данном случае, ~18 Гц), кратные основной ~9 Гц составляющей. В лобной коре SWD содержат острые компоненты (пики), причиной появления кратных гармоник на спектре мощности. SWD в таламусе представлены относительно плавными колебаниями амплитуды, без резких скачков в виде "пика" (Раздел 2.5), поэтому на их спектрах мощности кратные гармоники отсутствуют.

Как видно на Рис. 5.7 в начале SWD значение частоты пика мощности в коре и таламусе не совпадает. В RTN выделяется четкий ~9 Гц компонент, в лобной коре его частота составляет ~9.5 Гц (т.е. на 0.5 Гц выше), а в VPM - ~8.5 Гц (на 0.5 Гц ниже). Указанные флуктуации частоты можно объяснить локальными свойствами отдельных частей таламо-кортикальной системы. Вероятно, что собственная активность нейронов коры и таламуса может влиять на свойства общего "генерализованного" ритма [Steriade, 2001], что сопровождается локальными изменениями его частоты. Аналогичная ситуация наблюдается и в конце SWD. На спектре мощности лобной коры можно выделить два обособленных пика с частотами ~7.5 Гц и ~8.5 Гц, при этом в VPM преобладает ~8.5 Гц компонент, а в RTN - ~7.5 Гц.

В качестве интерпретации наблюдаемого явления мы предлагаем следующую схему (Рис. 5.8). В начале SWD каждая из частей таламо-кортикальной системы поддерживает свой "локальный" ритм, VPM - 8.5 Гц, RTN - 9 Гц, а лобная кора - 9.5 Гц. Известно, что неокортекс играет ключевую роль в формировании SWD [Meeren et al., 2002, 2005; van Luijtelaaar & Sitnikova, 2006], кроме того, нейроны неокортекса посредством мощных нисходящих проекций модулирует ритмическую активность таламических ядер и поддерживает устойчивый ~9 Гц ритм SWD [Contreras et al., 1996]. Модулирующее влияние коры постепенно снижается, кортикальный 9.5 Гц исчезает, и общим для таламо-кортикальной системы становится ~8.5 Гц ритм. В конце SWD появляется ~7.5 Гц компонент, который может быть связан с процессом прекращения разряда. Наши исследования причинности по Грейнджеру [Stnikova et al., 2008] свидетельствуют о том, сигнал о прекращении SWD исходит от коры, следовательно, 7.5 Гц компонент может формироваться в коре и проецироваться в RTN.

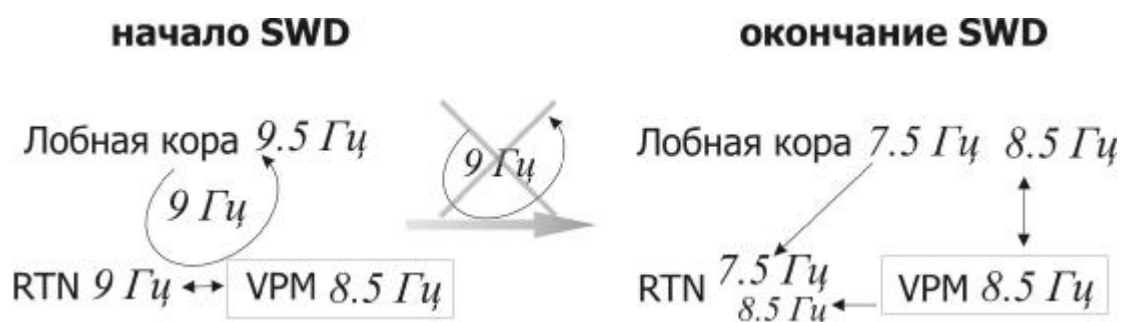


Рисунок 5.8. Схематичное представление результатов спектрального анализа. Показаны значения пиков мощности в лобной коре и таламусе (RTN - ретикулярное и VPM - вентропостеромедиальное ядро таламуса). Частота этих пиков соответствует частоте преобладающей ритмической активности исследованных структур на разных этапах развития SWD. 9.5 Гц ритм связан с инициацией разряда (начало SWD, лобная кора), 8.5 Гц - с его поддержанием (начало SWD, VPM; окончание SWD, "VPM-лобная кора"), 7.5 Гц - с прекращением SWD (окончание SWD, "лобная кора - RTN").

Итак, частота главной ритмической составляющей отдельных частей таламо-кортикальной систем может характеризовать преобладающие процессы в течение SWD, а именно:

~9.5 Гц компонент (кортикальный) связан с инициацией разряда, появляется в начале SWD локально в коре и исчезает к концу SWD.

~8.5 Гц компонент (таламо-кортикальный) связан с поддержанием разряда, выявлен в начале SWD в VPM, а в конце SWD появляется и в лобной коре (т.е. охватывает две структуры: "VPM - лобная кора").

~7.5 Гц компонент (кортико-таламический) связан с прекращением SWD и обнаруживается в конце SWD в двух структурах: лобной коре и RTN.

В заключение следует подчеркнуть, что отсутствие единого ритма в таламо-кортикальной системе свидетельствует о том, что наблюдаемые явления не являются артефактом проводимости головного мозга (*volume conduction*, в противном случае совпадали бы основные частоты спектров), а являются результатом сложной динамической организации процессов возбуждения сети во время SWD. Вопрос о частотно-временных особенностях взаимодействий между

различными частями таламо-кортикальной сети был исследован в Разделе 3.6 с привлечением метода когерентного анализа.

5.2.3. Параметры мощности сонных веретен и пик-волновых разрядов в коре и таламусе

Настоящий Раздел описывает сходства и различия между сонными веретенами и SWD по критерию спектральной мощности в лобной коре и таламусе. Спектр мощности был разделен на традиционные диапазоны частот: *дельта* 1-4 Гц; *тета* 4.5-8.5 Гц; *альфа* 9-12 Гц, *бета* - 12.5-31.5 Гц, *гамма1* - 32-59.5 Гц и *гамма2* - 60-100 Гц. Результаты анализа, представленные на Рис. 5.9, позволяют сделать следующие выводы.

Дельта активность. Сонные веретена отличались высоким уровнем *дельта*-активности в таламусе и лобной коре. Если в таламусе (VPM и RTN) уровень *дельта* оставался неизменным в течение SWD (одинаков в начале и в конце разряда), то в коре мощность *дельта* значительно увеличилась от начала к концу SWD. В конце SWD мощность *дельта* не отличалась от таковой у сонных веретен. Далее хотелось бы акцентировать внимание на трёх явлениях.

Во-первых, высокий уровень *дельта*-активности в коре и в таламусе во время сонных веретен. Это можно объяснить сочетанным появлением сонных веретен и *дельта* волн (у крыс это частое явление во время сна).

Во-вторых, лобная кора и таламус отличались по характеру изменения *дельта*-компонента в течение SWD. Если в коре мощность *дельта* повысилась к концу SWD, то в таламусе осталась неизменной. Можно предположить, что рост *дельта* в течение SWD отражает локальные свойства ритмической активности в лобной коре, где, как известно, в начале SWD преобладает "пик", а в конце - "волна" [Мидзяновская, 1999; Midzianovskaia et al., 2001; Sitnikova & van Luijteleaag, 2007]. Поскольку "волна" - это медленная составляющая SWD, постепенное нарастание её амплитуды в процессе SWD закономерно вызывает увеличение мощности *дельта*-диапазона.

В-третьих, мощность *дельта*-активности в обоих таламических ядрах (VPM и RTN) во время сонных веретен выше по сравнению с SWD (как в начальную, так и в финальную фазу).

Итак, высокая мощность *дельта* и в коре, и в таламусе во время сонных веретен может свидетельствовать о системном распространении медленно-волновой активности по таламо-кортикальной сети и характеризовать общее состояние сна, в том числе и эпизоды с сонными веретенами. Во время SWD, напротив, мощность *дельта* была относительно низкой, что может свидетельствовать о подавлении медленно-волнового компонента при развитии судорожной активности.

Тета активность. В лобной коре, RTN и VPM мощность *тета* в начале SWD не отличалась от таковой у сонных веретен, однако в конце SWD наблюдался значимый рост мощности *тета*. Это связано со снижением частоты SWD до 7.5-8.5 Гц и смещением главного ритмического компонента в диапазон *тета* (см. предыдущий Раздел). Рассматривая особенности работы таламо-кортикальной сети, важно подчеркнуть, что увеличение мощности *тета* в конце SWD

было обнаружено в исследованных ядрах таламуса и лобной коре, т.е. этот процесс носил глобальный характер.

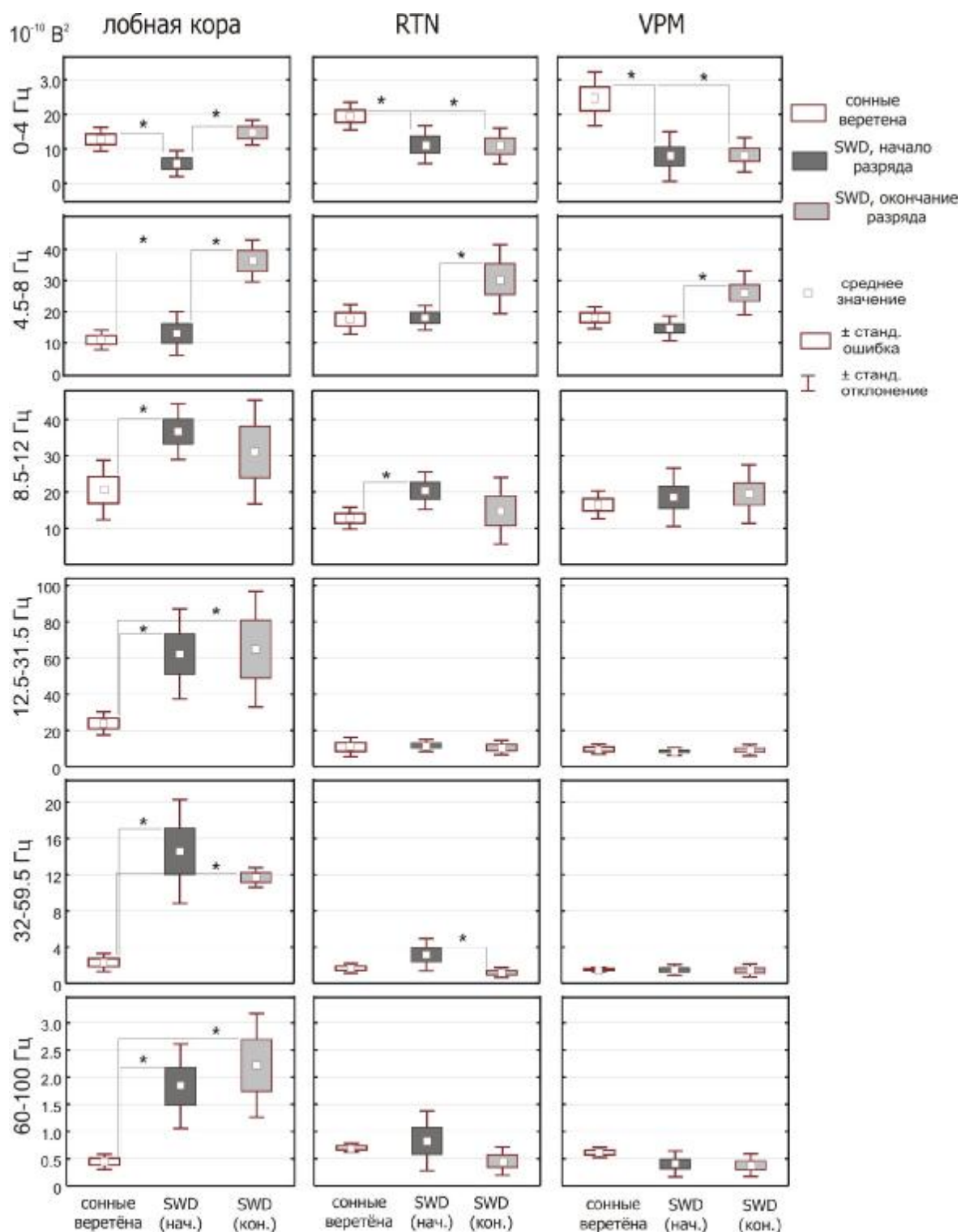


Рисунок 5.9. Результаты статистического анализа мощности спектральных характеристик сонных веретен и пик-волновых разрядов (SWD) у 6 крыс с использованием непараметрического критерия Манна-Уитни (* - $p < 0.05$).

Альфа активность. Пик мощности таламо-кортикальных колебаний: сонных веретен и SWD лежит в диапазоне *альфа*-частот, и этот частотный диапазон служит "визитной карточкой" ритмической активности таламо-кортикальной системы. Только начальная фаза SWD значимо

отличалась от сонных веретен более высокой мощностью *альфа*-диапазона в лобной коре и в RTN (но не в VPM). Финальная фаза SWD не отличалась от сонных веретен по критерию *альфа*-активности. Более высокая мощность в лобной коре в диапазоне *альфа* в начале SWD может быть следствием гипервозбудимости коры (повышенная мощность суммарного потенциала поля); мощность *альфа* в RTN тоже превышала нормальный уровень (характерный для сонных веретен), что может свидетельствовать об участии RTN в развитии гиперсинхронно ритма на начальной фазе SWD. Важно отметить, что в VPM *альфа*-активность была одинаковой во время сонных веретен и во время SWD, что может косвенно свидетельствовать о второстепенной роли VPM в формировании пик-волновых разрядов на ЭЭГ.

Бета активность. Мощность этого диапазона во время SWD достигала высоких значений в лобной коре, а в таламусе оставалась очень низкой. SWD отличались от сонных веретен значимо высокой мощностью *бета*, в таламусе эти различия отсутствовали. Причина этого явления обсуждалась выше, а именно, высокая мощность *бета*-диапазона служит отличительным признаком SWD и она связана с появлением высокоамплитудных пиков в составе SWD, которые, в свою очередь, являются следствием гиперсинхронной активности обширных популяций нейронов неокортекса в результате гипервозбудимости коры.

Гамма активность объединила два диапазона *гамма1* и *гамма2*. Мощность *гамма* в лобной коре во время SWD была в несколько раз выше, чем во время сонных веретен. В таламусе *гамма*-активность оставалась низкой как во время SWD, так и во время веретен. Причина высокого уровня кортикальной *гамма*-активности во время SWD связана с наличием гармонических составляющих в спектре мощности эпилептических разрядов, как и в случае с *бета* диапазоном. Как неоднократно упоминалось, для SWD типичны высокие значения мощности высокочастотного диапазона, что можно рассматривать как следствие локальных процессов гипервозбудимости и гиперсинхронизации неокортекса.

5.2.4. Особенности синхронизации коры и таламуса во время сонных веретен и пик-волновых разрядов

В этом разделе описаны функциональные взаимодействия между лобной корой и таламусом (VPM и RTN) во время сонных веретен, SWD и фонового состояния бодрствования с использованием функции кросс-корреляции - $C_{xy}(\tau)$. Эта функция позволяет оценить степень линейной взаимосвязи между двумя процессами (в нашем случае, электрической активностью в лобной коре и таламусе) в домене времени. Для корректной интерпретации результатов кросс-корреляционного анализа необходимо учесть следующие особенности [Pereda et al., 2005]:

- 1) Абсолютные значения $C_{xy}(\tau)$ зависят от амплитуды сигналов, они выше, когда оба сигнала имеют равную амплитуду.
- 2) Значение τ , при котором $C_{xy}(\tau)$ достигает максимума, соответствует времени задержки между двумя процессами (т.е. указывает на устойчивый сдвиг фазы между синхронными процессами на двух каналах).

- 3) $C_{xy}(\tau) = 0$ указывает на отсутствие линейной связи между двумя процессами, но не исключает вероятность нелинейных взаимодействий.
- 4) $C_{xy}(\tau) < 0$ указывает на обратную зависимость между процессами, что в нашем случае соответствует увеличению амплитуды одного сигнала синхронно со снижением амплитуды другого сигнала.
- 5) $C_{xy}(\tau) = -1$ сигналы находятся в противофазе.
- 6) $C_{xy}(\tau) > 0$ указывает на прямую связь между процессами, т.е. амплитуда обоих сигналов изменяется синхронно и однонаправленно.
- 7) Асимметричное расположение функции $C_{xy}(\tau)$ относительно оси времени (τ) может означать, что ритмический процесс представлен только на одном канале и отсутствует на другом.
- 8) Высокие значения модуля $C_{xy}(\tau)$ при симметричном расположении самой функции $C_{xy}(\tau)$ относительно оси времени (τ) означает, что фазы сигналов синхронизированы.

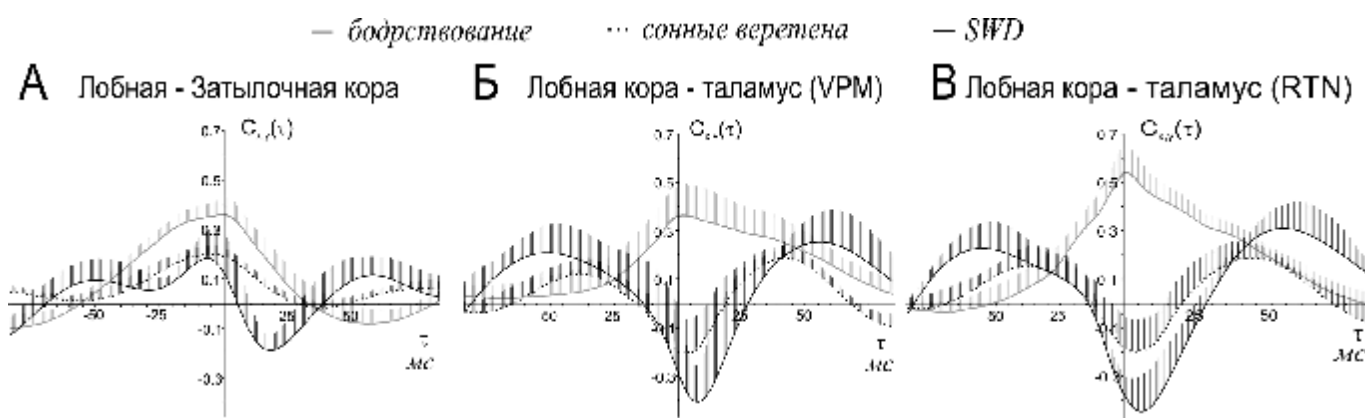


Рисунок 5.10. Функции кросс-корреляции между лобной и затылочной областями коры, а также между лобной корой и таламусом в группе из 5 крыс WAG/Rij (средние значения C_{xy} и станд.откл.). VPM - вентропостеромедиальное ядро таламуса, RTN - ретикулярное ядро таламуса.

Фон (состояние бодрствования). Функция *внутрикортикальной (лобно-затылочной)* кросс-корреляции (Рис. 5.10А) имела вид синусоиды (полный цикл длился 140-160 мс), значение максимума $C_{xy}(\tau)$ в положительной части составило 0.37 при $\tau \sim 0$, а в отрицательной -0.1 при $\tau \sim -70(75) +60(65)$ мс. Преобладание положительных значений коэффициентов $C_{xy}(\tau)$ объясняется тем, что амплитуда лобной ЭЭГ была выше, чем амплитуда затылочной. Невысокое значение максимума $C_{xy}(\tau)$ свидетельствует об умеренной синхронизации внутри коры, между лобной и затылочной областями, активность была синфазной с нулевой задержкой.

Таламо-кортикальная кросс-корреляция в части 'лобная кора – VPM' (Рис. 5.10Б) характеризовалась положительным максимумом $C_{xy}(\tau) = 0.38$ при τ от -2 до +2 мс, что предполагает минимальную задержку при передаче возбуждения между этими областями, лидирующую роль могла выполнять каждая из структур попеременно. В паре 'лобная кора – RTN' (Рис. 5.10В) значение положительного максимума $C_{xy}(\tau)=0.54$ (выше, чем в паре 'лобная кора – VPM') при $\tau = +2$ мс. Можно заключить, что, во-первых, активность в лобной коре и в таламусе совпадала по фазе, во-вторых, синхронизация лобной коры с RTN была выше, чем с VPM, и, в третьих, в паре 'лобная кора – RTN' активность распространялась в одном

преобладающем направлении от лобной коры к RTN с задержкой 2 мс (время соответствует одному синаптическому контакту), а в паре 'лобная кора – VPM' - в обоих направлениях.

Сонные веретена. Функция *внутрикортикальной* кросс-корреляции между лобной и затылочной корой (Рис. 5.10А) также, как и в состоянии бодрствования, имела вид синусоиды, но отличалась низкими значениями максимумов: $C_{xy}(\tau) = 0.15$ при $\tau \sim -5$ мс и двумя симметричными максимумами $C_{xy}(\tau) = 0$ при $\tau -50(55)$ и $+35(40)$ мс. Симметричное расположение кривой $C_{xy}(\tau)$ относительно оси τ предполагает наличие незначительной положительной фазовой синхронизации между лобной и затылочной областями, однако тот факт, что сама функция $C_{xy}(\tau)$ расположена в области положительных значений [т.е. $C_{xy}(\tau) > 0$] означает, что амплитуда лобной ЭЭГ значительно превышала амплитуду затылочной. Это соответствует топографии сонных веретен, которые были локализованы главным образом в передних областях коры.

Функция *таламо-кортикальной* кросс-корреляции (Рис. 5.10Б,В), описывающая сонные веретена, имела форму синусоиды и была симметрична относительно оси τ (полный цикл длился ~ 80 мс). В обеих парах 'лобная кора – VPM' и 'лобная кора – RTN' коэффициенты $C_{xy}(\tau)$ были невысокими и колебались в пределах от -0.2 до 0.12. Максимум $C_{xy}(\tau) = -0.2$ соответствовал задержке $\tau \sim -3$ мс. Таким образом, сонные веретена характеризовались невысокой синхронизацией между лобной корой и ядрами таламуса (VPM и RTN), колебания появлялись в таламусе и в лобной коре в противофазе, задержка таламического компонента относительно лобной коры составила 3 мс.

SWD. Функция *внутрикортикальной* кросс-корреляции была асимметричной относительно оси τ (Рис. 5.10А), причиной этому могут быть различия формы SWD в лобном и затылочном отведениях, поскольку локальный потенциал SWD в этих областях представлен разным набором компонентов (в соответствии с классификацией клинической ЭЭГ [Weir, 1965], Глава 2.5 [Sitnikova & van Luijtelaaar, 2008; Ситникова и др., 2011]). В частности, положительный максимум $C_{xy}(\tau) = 0.14$ при $\tau = +4$ мс может отражать наличие двух локальных компонентов SWD: 'пика 1' в затылочной коре и 'пика 2' в лобной коре, задержка между которыми составляла 5-6 мс (Табл. 2.3). Аналогичным образом, появление отрицательного максимума $C_{xy}(\tau) = -0.21$ при $\tau = +12$ мс может быть связано с наличием 'позитивного компонента' SWD в затылочной коре и 'пика 2' - в лобной.

Функция *таламо-кортикальной* кросс-корреляции (Рис. 5.10Б,В) была симметричной относительно оси τ и напоминала по форме синусоиде с полным циклом ~ 110 мс. В паре 'лобная кора – VPM' (Рис. 5.10Б) высота отрицательного максимума $C_{xy}(\tau) = -0.42$, в паре 'лобная кора – RTN' (Рис. 5.10В) $C_{xy}(\tau) = -0.44$, что примерно в 2 раза выше, чем во время сонных веретен. Следовательно, в отличие от сонных веретен, SWD характеризовались более мощной синхронизацией лобной коры и таламуса. Ритмический компонент, входящий в состав SWD, появлялся в обоих таламических ядрах (VPM и RTN) в противофазе по отношению к лобной коре и с задержкой 6-8 мс. Этот пик может соответствовать появлению 'позитивного компонента' в

таламусе и 'пика 2' в лобной коре, задержка между которыми, по нашим данным, составила 7-9 мс (Глава 2.5, Табл. 2.3 [Sitnikova & van Luijtelaaar, 2008; Ситникова и др., 2011]).

Заключение

Сравнительный анализ пик-волновых разрядов и сонных веретен на ЭЭГ у крыс с генетической предрасположенностью к абсанс-эпилепсии (линия WAG/Rij) показал следующее:

1) Длительность SWD была в 10 раз выше, чем у сонных веретен, а средняя частота на ~ 2 Гц ниже. Спектральная мощность SWD в лобной коре была в два раза выше по сравнению с сонными веретенами. В затылочной коре спектральные и амплитудные характеристики SWD и сонных веретен были практически идентичными.

2) По данным спектрального анализа, главный ритмический компонент сонных веретен, 10-12 Гц, был представлен локально в лобной коре и отсутствовал в таламусе. Активность таламуса во время сонных веретен состояла из нескольких низкочастотных (до 10 Гц) компонент.

4) Спектральный анализ показал, что значение частоты пика мощности SWD в коре и таламусе не совпадает. В начале SWD частота главного спектрального пика в лобной коре составляла ~9.5 Гц, в RTN - ~9 Гц, а в VPM - ~8.5 Гц. В конце SWD на спектре мощности лобной ЭЭГ были выделены два обособленных пика с частотами ~7.5 Гц и ~8.5 Гц, в VPM - ~8.5 Гц компонент, а в RTN - ~7.5 Гц. Мы полагаем, что в начале SWD ~9.5 Гц ритм отражает модулирующее влияние неокортекса на активность таламических ядер. Появление ~7.5 Гц ритма в коре и в RTN в конце SWD может быть связано с процессом прекращения разряда.

5) Сонные веретена отличались высокой мощностью *дельта*-активности в коре и в таламусе, что могло быть связано с системным распространением медленно-волновой активности по таламо-кортикальной сети во время сна, включая эпизоды сонных веретен. Низкая мощность *дельта*-компонента в течение SWD могла свидетельствовать о некоторой десинхронизации таламо-кортикальной системы при развитии судорожной активности.

6) Мощность *тета*-активности в лобной коре, RTN и VPM во время сонных веретен и в начале SWD была одинаковой, однако в конце SWD наблюдался значимый рост мощности *тета*-диапазона в исследованных ядрах таламуса и в лобной коре.

7) Мощность *альфа*-диапазона в начале SWD была значимо выше, чем во время сонных веретен в лобной коре и в RTN, но не в VPM. Мощность *альфа*-диапазона в конце SWD и во время сонных веретен была одинаковой. Высокая мощность *альфа* в начале SWD может отражать процесс локальной (гипер)возбудимости коры с вовлечением RTN. *Альфа*-активность в VPM была одинаковой во время сонных веретен и во время SWD, что может косвенно свидетельствовать о второстепенной роли VPM в формировании физиологического и патологического паттернов на ЭЭГ.

8) Мощность высокочастотного компонента (*бета* и *гамма*) во время SWD (начальная и финальная фазы) была выше по сравнению с сонными веретенами. Эти различия были обнаружены только в лобной коре и отсутствовали в таламусе.

9) Во время SWD и сонных веретен наблюдалась инверсия функции таламо-кортикальной кросс-корреляции по сравнению с состоянием бодрствования. Таким образом, формирование ритмической активности в таламо-кортикальной системе (SWD и сонные веретена) сопровождалось инверсией электрического потенциала в таламусе относительно коры.

10) Во время SWD коэффициенты внутрикортикальной и таламо-кортикальной кросс-корреляций были примерно в 2 раза выше, чем во время сонных веретен, следовательно, SWD формируются на фоне более высокой синхронизации таламо-кортикальной системы. Особенности функции кросс-корреляции между лобной корой и таламусом (VPM и RTN) во время SWD соответствовали локальному проявлению отдельных эпилептиформных компонентов комплекса пик-волна [Weir, 1965] (Раздел 2.5).

Итак, нормальная и пароксизмальная формы ритмической активности в таламо-кортикальной системе, имеющая вид пик-волновых разрядов и сонных веретен на ЭЭГ, существенно отличаются по частотно-временной структуре. По сравнению с сонными веретенами, у пик-волновых разрядов выше длительность, выше спектральная мощность в диапазонах *альфа-бета-гамма* частот, а средняя частота на ~ 2 Гц ниже. Пик-волновые разряды формируются на фоне более высокой синхронизации таламо-кортикальной системы.

Спектральный анализ позволил выявить существенную разницу между параметрами мощности сонных веретен и SWD, однако эти два феномена связаны общим признаком - главной частотой, принадлежащей диапазону *альфа*-частот (8-14 Гц). Необходимо признать, что сонные веретена и SWD представляют собой сигналы нестационарной природы (они имеют малую длительность и их характеристики изменяются с течением времени), что значительно ограничивает применение спектрального анализа и снижает его информативность, поскольку невозможно исследовать временную структуру (форму) колебаний, а некоторые особенности сигнала искажают форму спектра (например, пики на ЭЭГ и кратные гармоники на спектре). Для более тщательного изучения особенностей частотно-временной структуры сонных веретен и SWD был использован аппарат непрерывного вейвлетного преобразования.

5.3. Вейвлетный анализ сонных веретен и пик-волновых разрядов (лобная кора)²³

У объекта нашего исследования (крысы WAG/Rij) сонные веретена и SWD имели приблизительно одинаковую частоту 8-14 Гц (диапазон *альфа*). Ситуация осложнялась тем, что сонные веретена отличались разнообразием формы и вариабельностью частотного состава, а также были подвержены эпилептическим модификациям. Мы столкнулись с необходимостью стандартизации сонных веретен. Для этого была разработана автоматическая система выделения сонных веретен типичной формы и веретен, подвергшихся эпилептической модификации. Для частотно-временного анализа нестационарных сигналов (чей спектральный состав и статистические характеристики меняются с течением времени) был использован аппарат непрерывного вейвлетного анализ [Daubechies 1993; Chui 1993; Короновский & Храмов, 2003; Павлов и др., 2012]. Этот подход значительно расширил возможности частотно-временного анализа коротких и нестационарных форм ритмической активности на ЭЭГ, таких как SWD и сонные веретена, состоящих из небольшого числа периодов колебаний, амплитуда и спектральные характеристики которых менялись во времени. Цель настоящего раздела - 1) провести сравнительный анализ частотно-временных параметров SWD и сонных веретен; 2) формализовать и оптимизировать критерии для автоматического распознавания SWD и сонных веретен на ЭЭГ в режиме он-лайн; 3) выявить аномальные формы сонных веретен, которые могут быть связаны с эпилептическими процессами в таламо-кортикальной системе.

Особенности процедуры исследований

Использовали 6 самцов крыс линии WAG/Rij, у которых проводили запись ЭЭГ с помощью лобного и затылочного электродов, вживленных эпидурально в правое полушарие. Регистрацию ЭЭГ осуществляли посредством электроэнцефалографа *Sagura*, частота дискретизации составляла $576 \text{ с}^{-1}/\text{канал}^{-1}$. Продолжительность записи составляла 20-22 часа.

Пик-волновые разряды были выделены на ЭЭГ в соответствии с критериями [van Luijtelaar & Coenen, 1986]. Для вейвлетного анализа сонные веретена были выделены автоматически с помощью специального алгоритма, специально созданных в лаборатории

²³ По материалам опубликованных работ:

1) Sitnikova E, Храмов АЕ, Короновский АА, 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.

2) 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.

3) 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; 19(4): 91-108.

4) Короновский А.А., van Luijtelaar G., Овчинников А.А., Ситникова Е.Ю., Храмов А.Е. Диагностика и анализ осцилляторной нейросетевой активности головного мозга с использованием непрерывного вейвлетного преобразования. *Изв. вузов. Прикладная нелинейная динамика*, 2011; 19(1) 86-108.

5) Павлов А.Н., Храмов А.Е., Короновский А.А., Ситникова Е.Ю., Макаров В.А., Овчинников А.А. Вейвлет-анализ в нейродинамике. *УФН*, 2012; 182(9): 905-939.

«Физика нелинейных явлений» Саратовского Госуниверситета (рук. проф. А.Е. Храмов и проф. А.А. Короновский).

5.3.1. Выбор оптимального вейвлетного базиса для исследования сонных веретен

Корректность результатов вейвлетного анализа ЭЭГ зависит от выбора базисной функции вейвлетного преобразования [Короновский и Храмов, 2003; Павлов и др., 2012]. По нашим данным [Грубов и др., 2011; Павлов и др., 2012], для частотно-временного анализа коротких и неоднородных осцилляций, такие как сонные веретена, комплексный базисный вейвлет Морле имеет ряд преимуществ перед другими традиционно применяемыми на практике вейвлетными базисами. Для сравнения приведем результаты вейвлетного анализа сонных веретен (Рис. 5.11А) с использованием комплексного вейвлета Морле (Рис. 5.11Г), действительного вейвлета "Мексиканская шляпа" (МНАТ) и комплексного вейвлета Паула (Рис. 5.11Б,В).

На вейвлетном спектре, полученном с помощью базисного вейвлета МНАТ (Рис. 5.11Б), было невозможно определить частоту сонных веретен и проследить динамику частоты внутри сонного веретена, при этом интересующий нас диапазон альфа-частот перекрывался с соседними диапазонами, следовательно, вейвлет МНАТ имел слишком низкое разрешение по частоте. Более того, одиночные пики и другие резкие скачки амплитуды на ЭЭГ порождали на вейвлетном спектре резкое увеличение мощности в альфа-диапазоне.

Тем не менее, вейвлет МНАТ обладал хорошим разрешением по времени и давал возможность определить момент начала/окончания исследуемого паттерна на ЭЭГ. Это достоинство МНАТ можно использовать в других задачах.

Вейвлетный спектр, построенный с помощью комплексного базисного вейвлета Паула также отличался высоким разрешением по времени, но имел слишком низкое разрешение по частоте (Рис. 5.11В). Это не давало возможности получить необходимую информацию о частотных составляющих альфа-диапазона и делало данный базис мало пригодным для частотно-временного анализа сонных веретен.

Комплексный вейвлет Морле позволил получить вейвлетный спектр с оптимальным частотным и временным разрешением (Рис. 5.11Г), где сонные веретена были представлены в виде локального увеличения мощности на шкале времени и на шкале частот. Данный базис был выбран в качестве материнской функции вейвлетного преобразования при создании алгоритма для локализации сонных веретен на ЭЭГ в автоматическом режиме, а также для описания динамики частоты в течение сонного веретена в контексте возрастных изменений.

Отдельного внимания заслуживает сложная зависимость между частотой, полученной в процессе вейвлетного преобразования и частотой преобразования Фурье. Известно, что вейвлетное преобразование использует свойство масштабируемости базисной функции и оперирует *шкалами* (аналог частоты Фурье). *Шкала* определяет масштаб базисной функции. Обычно её значение обратно пропорционально Фурье-частоте, хотя иногда зависимость более

сложная. Но даже в случае простой зависимости $1/x$, коэффициент пропорциональности может быть разным, что определяется свойствами базисной функции. Так частота f_s вейвлетного преобразования и частота Фурье f для МНАТ-вейвлета находятся в соотношении $f_s \approx 3.97f$, для вейвлета Паула (с собственным коэффициентом $m=4$) $f_s \approx 0.71f$, для вейвлета Морле (с собственной частотой $\Omega = 2\pi$) $f_s \approx f$. Этот факт можно отнести к достоинствам вейвлета Морле ($\Omega = 2\pi$), поскольку нет необходимости преобразовывать частоту вейвлетного преобразования в частоту Фурье.

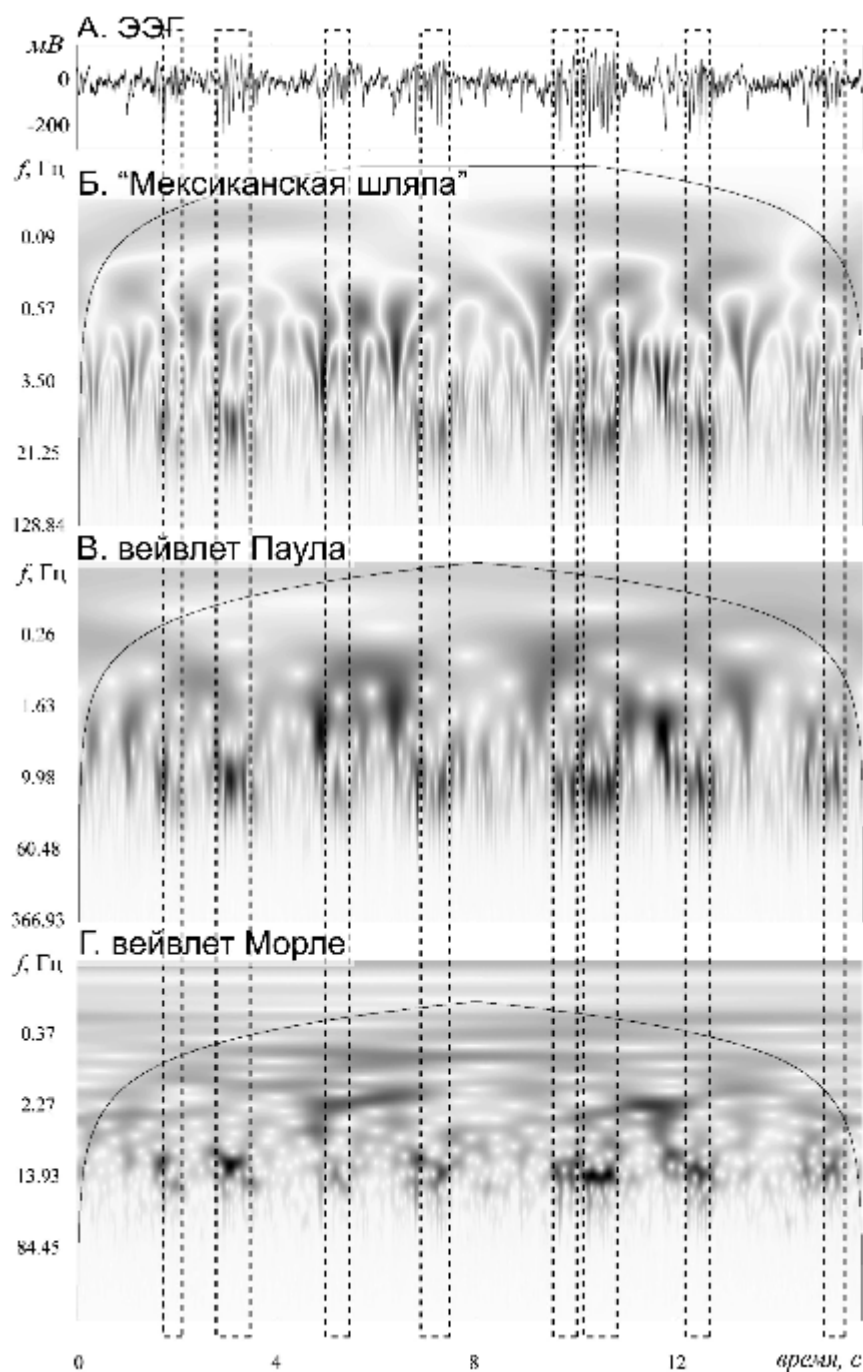


Рисунок 5.11. Сонные веретена на лобной ЭЭГ (А, выделены штриховыми рамками) и соответствующие вейвлетные спектры, построенные с использованием традиционных вейвлетных базисных функций: (Б) комплексный вейвлет "Мексиканская шляпа" (МНАТ), (В) комплексный вейвлет Паула и (Г) комплексный вейвлет Морле.

Учитывая специфику наших задач, мы выбрали комплексный базисный вейвлет Морле, который обладал оптимальным разрешением во временной и в частотной областях спектра [Sitnikova et al., 2009; Короновский и др., 2011; Грубов и др., 2011; Ситникова и др., 2011; Павлов и др., 2012]. Здесь и далее для частотно-временного анализа ЭЭГ был использован именно этот базис.

5.3.2. Частотно-временные параметры пик-волновых разрядов

Для визуализации результатов вейвлетного анализа были использованы скелетоны вейвлетной поверхности (Рис. 5.12), которые наглядно отображали динамику основных частот во время SWD. Для построения скелетонов на вейвлетном спектре были выделены локальные максимумы, амплитуда которых превышала порог мощности фоновой ЭЭГ.

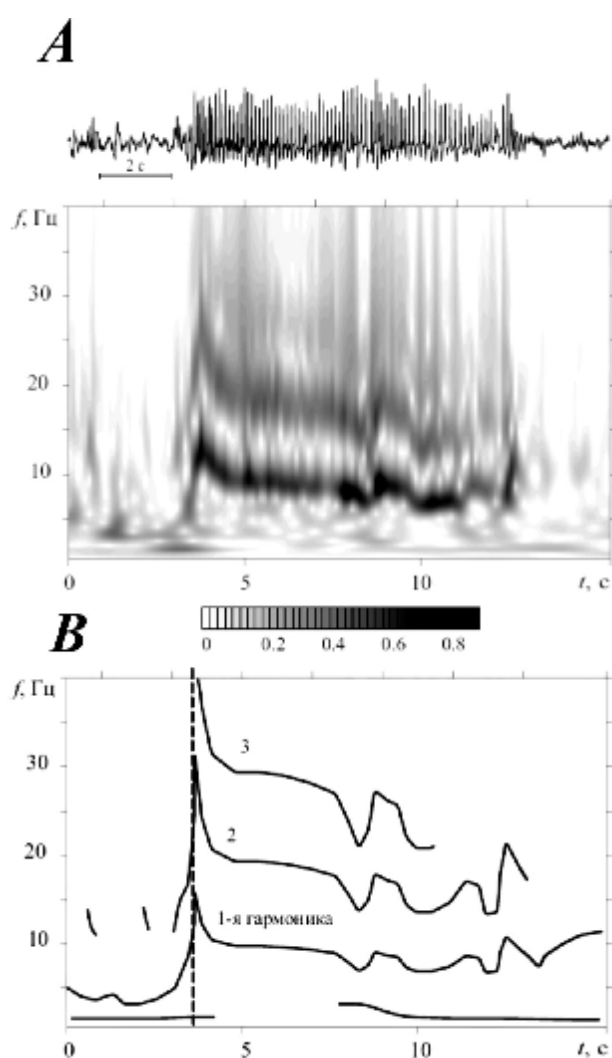


Рисунок 5.12. Вейвлетный спектр SWD (A), полученный на основе непрерывного вейвлетного преобразования (комплексный материнский Морле-вейвлет 2π) и скелетон (B) вейвлетной поверхности. Цифрами отмечены гармоники колебаний в течение SWD. Вертикальная штриховая линия обозначает момент начала SWD [из статьи Павлов и др., 2012].

На Рис. 5.12В изображен скелетон SWD, на котором четко прослеживаются изменения первых гармоник (2-ая и 3-я), которые копируют динамику основной частоты (1-ая). Видно, что основная частота следования пиков в течении пик-волнового разряда плавно снижалась (Рис. 5.12) от максимального значения в начале разряда ~ 15 Гц до ~7 Гц в конце. Эта характерная динамика частоты внутри SWD была впервые обнаружена с использованием спектрального анализа у крыс WAG/Rij [Drinkenburg et al., 1993], а затем подтверждена в последующих работах на двух линиях крысах со склонностью к абсанс-эпилепсии [Мидзяновская, 1999; Midzianovskaia et al. 2004; Габова и др. 2004; Bosnyakova et al., 2006; Sitnikova et al., 2009; Akman et al., 2010].

Мы обнаружили, что появление эпилептических (пик-волновых) разрядов на ЭЭГ сопровождалось резким увеличением мощности в широком диапазоне частот 10-100 Гц. При этом каждый отдельный пик, входивший в состав пик-волнового комплекса, отображался на вейвлетном спектре в виде локального всплеска мощности (Рис. 5.12). Эти высокочастотные спектральные компоненты, порожденные регулярной последовательностью пиков на ЭЭГ, послужили важным диагностическим признаком, который лег в основу алгоритма автоматического распознавания SWD [Sitnikova et al., 2009]. Данный метод автоматической диагностики эпилептических разрядов на ЭЭГ был основан на расчете суммарной энергии вейвлетного спектра в диапазоне частот 30-50 Гц и был использован в аналогичных работах [Ovchinnikov et al., 2010; Короновский и др., 2011; Sitnikova et al., 2012]. Момент времени, когда это значение превышало пороговый уровень и не снижалось в течение 1 сек, фиксировали как начало эпилептической активности. Момент, когда уровень энергии оказывался ниже порогового, - как конец разряда. Метод позволил распознавать SWD на ЭЭГ с точностью 98-100%. Предложенный нами подход является альтернативой методу, использованному в работах Габовой и др. (2004) и Bosnyakova et al. (2006), где для анализа структуры SWD у крыс линии WAG/Rij был сконструирован специальный действительный вейвлет, который "занулял" амплитуду коэффициентов локальных максимумов вейвлетного спектра. Этот вейвлет представлял собой модификацию комплексного базиса вейвлета Морле и имел следующий вид:

$f_0(h) = h \cos(w_0) e^{-h^2/2}$, где параметр $w_0=5$. Возможности этого модифицированного действительного вейвлета Морле были продемонстрированы в исследовании пик-волновых разрядов на ЭЭГ у пациентов с диагнозом детская и юношеская абсанс-эпилепсия [Bosnyakova et al., 2007], где динамика главной частоты определялась не локальными максимумами, а нулевыми значениями. Аналитическим путём и на практике нами [Павлов и др., 2012] было показано, что этот модифицированный вейвлет не имел явных преимуществ перед традиционным

комплексным вейвлетом Морле $f(h) = \frac{1}{\sqrt[4]{p}} e^{jw_0 h} e^{-\frac{h^2}{2}}$. Более того, ситуация, когда основная частота на вейвлетном спектре не соответствует максимальному значению мощности, а была

близка к нулю (в работах [Габова и др., 2004; Vosnyakova et al., 2006; 2007]) усложняет автоматический анализ спектров и интерпретацию результатов.

5.3.3. Сравнительный вейвлетный анализ сонных веретен и пик-волновых разрядов

Вейвлетный спектр SWD на лобной ЭЭГ (Рис. 5.13), в отличие от спектра сонных веретен, имел высокочастотные гармонические составляющие, которые соответствовали пикам в составе SWD. Основная частота сонных веретен и SWD принадлежала одному диапазону от 7 до 15 Гц.

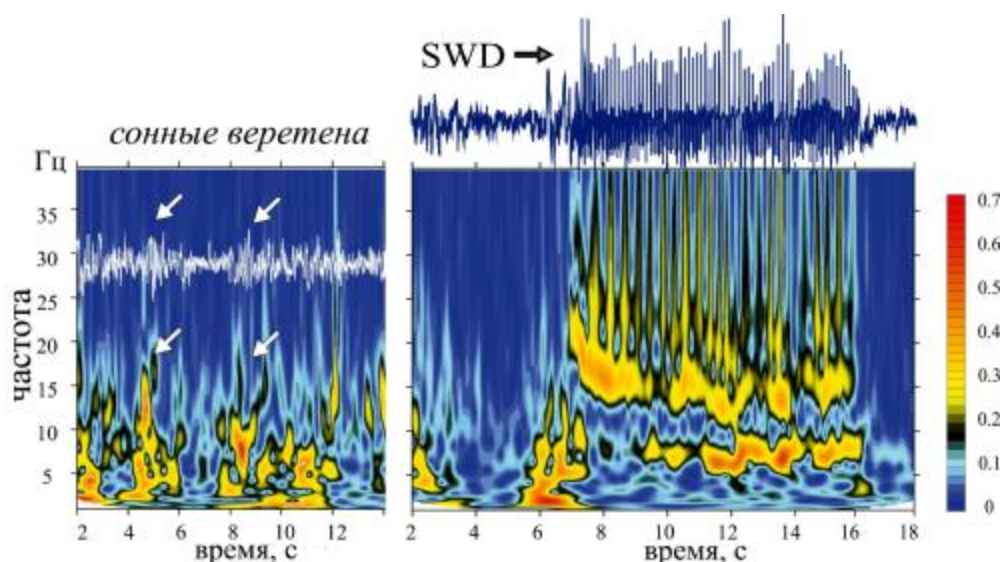


Рисунок 5.13. Вейвлетный спектр сонных веретен и SWD на лобной ЭЭГ. Цветовая шкала соответствует значениям вейвлетных коэффициентов [из статьи Sitnikova, 2010].

Для того, чтобы формализовать процедуру выделения ключевых параметров SWD и сонных веретен на вейвлетном спектре, была разработана система автоматического распознавания и дифференцировки этих двух паттернов на ЭЭГ. Работа включала два этапа: 1) определить параметры частоты и мощности SWD и сонных веретен 2) протестировать эти параметры в качестве формальных критериев для автоматического выделения этих двух паттернов на ЭЭГ.

На первом этапе определяли частотный диапазон на вейвлетных спектрах ЭЭГ, который наиболее точно характеризовал SWD и сонные веретена, соответственно, F_{SWD} и F_{sp} . Критерием для выделения SWD и веретен на ЭЭГ послужила величина мощности вейвлетного спектра $w(t)$ в характерных полосах частот F_{SWD} и F_{sp} при условии превышения порога мощности E_k : $w(t) > E_k$. Система автоматического распознавания была протестирована на ЭЭГ длительностью 5-7 часов у 5 крыс, у каждого животного были исследованы 66-249 SWD и 1305-2341 сонных веретен.

SWD были распознаны с высокой точностью на лобной ЭЭГ по критерию увеличения мощности вейвлетного спектра (базисом служил комплексный вейвлет Морле с $\omega_0=2\pi$) в диапазоне частот $F_{SWD} \in 30-50$ Гц, при этом порог мощности E_k составлял 0.5. Момент, когда

значение $w(t)$ в диапазоне F_{SWD} превышало пороговый уровень и не снижалось в течение 1 с, фиксировали как начало эпилептической активности, а когда значение $w(t)$ опускалось ниже порогового уровня - как конец разряда. Результаты распознавания SWD показаны в Табл. 5.3А. Видно, что точность выделения SWD и чувствительность метода составляла 97.5-100 %, неверно распознанными оставались SWD около 1.4%. Высокая эффективность автоматической системы распознавания связана с тем, что SWD резко отличались от других форм осцилляторной активности на ЭЭГ за счет устойчивого (продолжающегося более 1 с) повышения мощности в диапазоне гамма-частот.

Таблица 5.3. Результаты автоматического выделения пик-волновых разрядов и сонных веретен с использованием в качестве базиса комплексного вейвлета Морле ($\omega_0 = 2\pi$)

А. SWD *

ID крысы	Число SWD (экспертная оценка)	Автоматическое выделение			Характеристики качества автоматического распознавания		
		TP	FP	FN	Точность, %	Чувствительность, %	Специфичность, %
1	105	105	0	0	100	100	100
2	81	79	2	1	97.5	98.8	97.5
3	249	247	1	2	99.2	99.2	99.6
4	120	117	1	3	97.5	97.5	99.2
5	66	65	2	1	98.5	98.5	97.0
Среднее \pm стд.откл.	124 \pm 73	123 \pm 73	1.2 \pm 0.8	1.4 \pm 1.4	98.5 \pm 1.1	98.8 \pm 0.9	98.7 \pm 1.3

* Распознавание SWD проводили по критерию мощности вейвлетного спектра в диапазоне $F_{SWD} \in (30, 50)$ Гц при условии превышения порога мощности $E_k = 0.5$ (значения F_{SWD} и E_k у всех животных были одинаковыми).

Б. Сонные веретена #

ID крысы	Число веретен (экспертная оценка)	Автоматическое выделение			Параметры			Характеристики качества автоматического распознавания		
		TP	FP	FN	E_k	f_1 , Гц	f_2 , Гц	Точность, %	Чувствительность, %	Специфичность, %
1	2341	1358	894	1359	1.5	6.25	12.5	58.0	47.7	60.3
2	1381	856	599	855	1.4	8.3	16.6	62.0	54.1	58.8
3	1491	999	772	1002	1.8	5.5	12.5	67.0	57.9	56.4
4	1305	718	505	720	2.2	6.25	16.6	55.0	48.6	58.7
5	1598	1007	866	1015	1.9	6.25	12.5	63.0	57.1	53.8
Среднее \pm стд.откл.	1623 \pm 416	987 \pm 239	727 \pm 169	990 \pm 239	1.7 \pm 0.3	6.5 \pm 1.1	14.1 \pm 2.3	61.2 \pm 4.7	53.2 \pm 4.8	57.7 \pm 2.5

Распознавание сонных веретен проводили в диапазоне $F_{sp} \in (f_1, f_2)$ путем подбора индивидуальных значений f_1, f_2 и E_k .

TP – число верно распознанных эпизодов на ЭЭГ;

FN – число пропущенных эпизодов;

FP – число ложно распознанных эпизодов.

Сонные веретена, в отличие от SWD, не имели столь выраженной стереотипии на ЭЭГ, их форма и частотный состав значительно варьировали, что затрудняло подбор единого критерия для их автоматического распознавания. На вейвлетном спектре, построенном с использованием комплексного базисного вейвлета Морле ($\omega_0=2\pi$), сонные веретена были представлены колебаниями в диапазоне частот $F_{sp} \in 8-14$ Гц (Рис. 5.14).

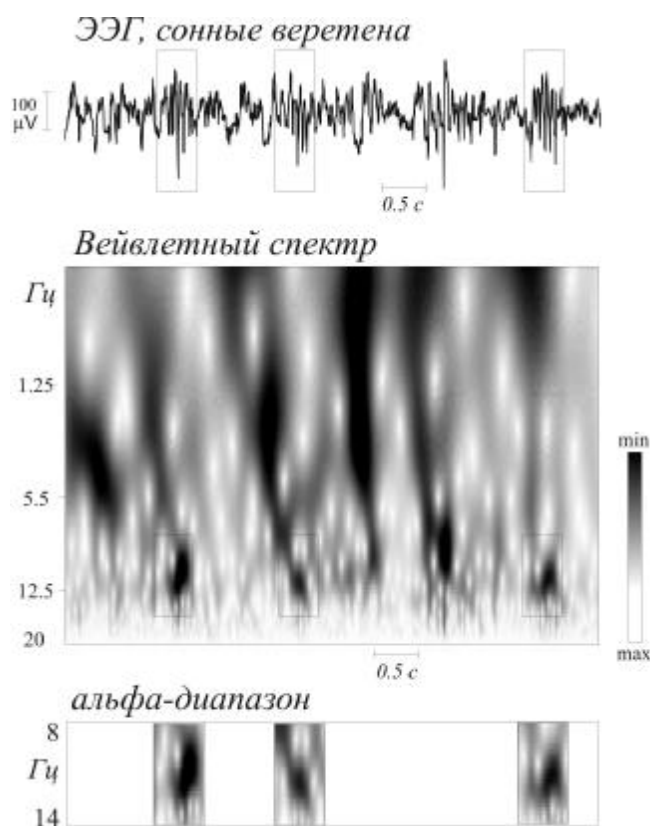


Рисунок 5.14. Результат непрерывного вейвлетного преобразования фрагмента ЭЭГ, содержащего сонные веретена (выделены прямоугольниками). Преобразование выполнено с комплексным базисным вейвлетом Морле ($\omega_0=2\pi$). Внизу показаны фрагменты спектра в альфа-диапазоне (8–14 Гц) [из работы Короновский и др., 2011].

Высокие значения вейвлетной мощности 8-14 Гц, превышающие пороговый уровень $E_k = 0.025$, были обнаружены у 38-45% сонных веретен. У разных животных границы диапазона F_{sp} варьировали (нижняя - до 6.5 Гц, верхняя - до 16.6 Гц), также как и значения порога E_k (Табл. 5.3Б). Но даже после индивидуального подбора этих параметров процент верно распознанных сонных веретен оставался низким ~60 %. Таким образом, критерий мощности 8-14 Гц был необходимым, но не достаточным условием для автоматического распознавания сонных веретен. Мы столкнулись с необходимостью расширить границы классического для сонных веретен частотного диапазона 8-12 Гц до 5.5-16.6 Гц, что оправдано методически и не противоречит литературным данным, согласно которым сонные веретена у крыс имеют частоту 5 - 15 Гц [Gandolfo et al., 1990; Drinkenburg et al., 1993; Kandel & Buzsaki, 1997; Mackenzie et al., 2004]. Низкую эффективность автоматического распознавания сонных веретен можно объяснить тем, что, во-первых, сонные веретена отличались разнообразием формы и частотного состава и были сходны с другими осцилляциями на ЭЭГ. Эпизоды ритмической активности на лобной ЭЭГ в

альфа-диапазоне, отличные от сонных веретен, создавали дополнительные трудности в распознавании веретен на вейвлетном спектре, в то время как SWD содержали регулярную последовательность пиков, которая довольно легко распознавалась автоматически.

Во-вторых, сонные веретена имели малую длительность (в 10 раз ниже, чем SWD), и для улучшения результатов распознавания SWD был использован дополнительный критерий - длительность более 1 с, который был исключен для сонных веретен. Для более корректной работы с сонными веретенами мы разработали новый подход к исследованию структуры ЭЭГ - *адаптивный вейвлетный анализ* [Sitnikova et al., 2009; Короновский и др., 2011; Павлов и др., 2012]. Суть подхода заключается в том, что вместо традиционных базисных функций (например, вейвлет Морле) в непрерывном вейвлетном преобразовании используются адаптивные вейвлетные базисы, которые имеют максимальное сродство к искомому паттерну на ЭЭГ и служат идеальным инструментом для распознавания и локализации на ЭЭГ осцилляций сложной нестандартной формы. Такой подход к анализу структуры сложных форм ЭЭГ, по сути, является разновидностью известного метода «соответствия образцу» (*template matching* [Durka, 1996, 2003; Zygierewicz et al., 1999]) и может быть использован как для эффективного выделения сонных веретен на ЭЭГ, так и для стандартизации структуры ЭЭГ и создания эталонной базы энцефалографических паттернов.

Мы сконструировали специальные вейвлетные базисы веретен (*spindle wavelets*), шаблоном для построения которых послужили сонные веретена, заимствованные из реальной ЭЭГ. Математический аппарат, использованный для построения вейвлетных "базисов веретен", описан в наших работах Sitnikova et al. (2009) и Короновский и др. (2011) и схематически представлен на Рис. 5.15. Выбор адаптивных "базисов веретен" определялся путём тестирования 80 сонных веретен (15-22 у каждого из 5 животных) в качестве шаблонных функций. В результате этих тестов был найден универсальный вейвлетный "базис веретен" *1-ого типа* (Рис. 5.15Б), имевший высокое сродство к максимальному числу сонных веретен на ЭЭГ у всех экспериментальных животных (от 82.2 до 91.1%, Табл. 5.4А). Для автоматического распознавания сонных веретен на ЭЭГ был использован следующий алгоритм: 1) проводили вейвлетное преобразование ЭЭГ с использованием "базисов веретен" *1-ого типа*; 2) вычисляли значение мощности вейвлетного спектра $w(t)$ в диапазоне $F_{sp}(type 1) \in 7 - 14$ Гц, 3) интервалы ЭЭГ, где значение $w(t)$ превышало пороговое E_k на протяжении 0.35 с были распознаны как сонные веретена 1-ого типа. Эти веретена (1-го типа) имели правильную форму, близкую к синусоидальной, и частоту 8–12 Гц. Для идентификации оставшихся сонных веретен (порядка 10–15% от общего числа веретен, Табл. 5.4Б) были созданы новые материнские вейвлеты ("базисы веретен" 2-го типа), шаблонными функциями для которых послужили нераспознанные веретена. Вейвлетные "базисы веретен" 2-го типа имели ярко выраженные индивидуальные особенности и их необходимо было подбирать отдельно для каждого животного. Сонные веретена, распознанные с использованием "базисы веретен" 2-го типа, иногда содержали пики, имели искажённую форму и мощную частотную составляющую в диапазоне от 17 до 23 Гц.

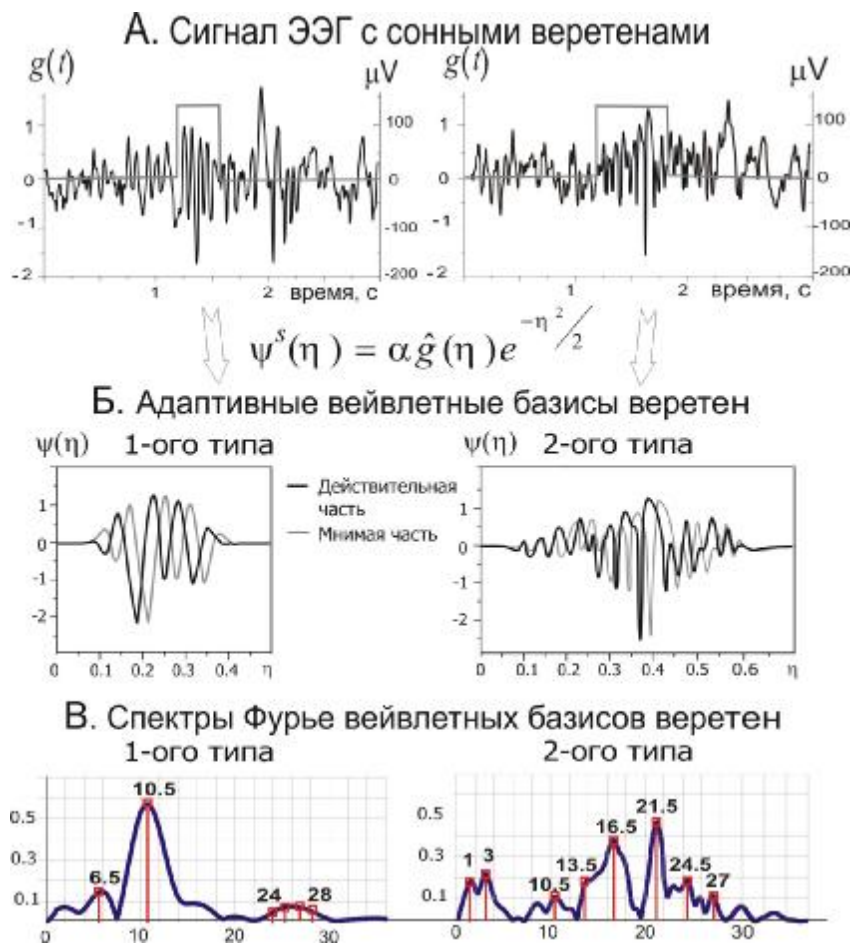


Рисунок 5.15. Схема адаптивного вейвлетного анализа сонных веретен на лобной ЭЭГ у крыс WAG/Rij. Сонные веретена, служившие прототипами базисных вейвлетов, были отобраны на ЭЭГ (А), промодулированы функцией Гаусса для получения локального во времени вейвлетного базиса $\psi^s(\eta)$. (Б) В результате получены адаптивные вейвлетные базисы веретен 1-ого и 2-ого типов. (В) Спектр мощности базисных функций двух типов [из работы Sitnikova et al., 2009].

На Рис. 5.15В представлены спектры мощности базисов веретен 1-ого и 2-ого типов. Видно, что спектр "базиса веретен" 1-ого типа подобен спектру сонных веретен на лобной ЭЭГ, представленному в предыдущем Разделе 5.2.1 по результатам Фурье-анализа, где был использован традиционный метод построения усредненного спектра мощности путём усреднения спектров мощности большого количества сонных веретен. В настоящем Разделе для формирования "базиса веретен" был использован принципиально новый подход, нацеленный на выделение общего шаблона, обладающего максимальным средством к наибольшему числу сонных веретен (*адаптивный вейвлетный анализ*). Он позволил, во-первых, вычленить основной формообразующий компонент сонных веретен ('архетип' веретен 1-ого типа), который обладал спектральными свойствами типичного сонного веретена, и, во-вторых, обнаружить аберрантную форму сонно-веретенной активности, формообразующим компонентом которой был "базис веретена" 2-ого типа. На правом графике Рис. 5.15В видно, что спектр мощности "базиса веретен" 2-ого типа содержит высокочастотные гармонические компоненты 16.5 и 21.5 Гц, характерные для спектра мощности SWD. Этот признак может быть следствием эпилептической природы веретен 2-ого типа.

Таблица 5.4. Результаты автоматического выделения сонных веретен на ЭЭГ крыс WAG/Rij с использованием адаптивных вейвлетных базисов

А. "Базис веретен" 1-го типа #

ID крысы	Число веретен (экспертная оценка)	Автоматическое выделение			Параметр E_k	Характеристики качества автоматического распознавания		
		TP	FP	FN		Точность, %	Чувствительность, %	Специфичность, %
1	2341	2130	23	281	12.4	91.1	88.4	98.9
2	1381	1132	28	110	14.2	82.2	91.2	97.6
3	1491	1312	30	149	14.9	87.8	89.8	97.8
4	1305	1096	39	104	13.6	83.9	91.3	96.6
5	1598	1422	16	144	16.4	88.9	90.8	98.9

Б. "Базис веретен" 2-го типа *

ID крысы	Число веретен, не распознанных базисом 1-ого типа	Автоматическое выделение			Параметр E_k	средняя частота *	Характеристики качества автоматического распознавания		
		TP	FP	FN			Точность, %	Чувствительность, %	Специфичность, %
1	211	140	2154	70	22	23±3	21.0	66.3	96.9
2	249	110	1215	69	21	24±4	23.5	44.2	94.6
3	179	164	1327	30	15	19±2	18.8	91.6	97.8
4	209	117	1175	26	18	17±2	18.5	56.0	97.8
5	176	112	1454	48	14	22±2	18.5	63.6	96.8

* - частота пика на спектре мощности "базиса веретен" 2-ого типа.

В итоге, на ЭЭГ у крыс линии WAG/Rij нам удалось выделить два типа сонных веретен, отличающихся по количеству, по форме ЭЭГ и по частотному составу. Сонные веретена 1-ого типа были многочисленными (около 90% от общего числа веретен) и имели типичную форму, стандартную для всех животных в группе. Сонные веретена 2-ого типа были малочисленны (~10% от всех веретен), имели атипичную форму (она была разной у разных животных) и содержали высокочастотный компонент (общий признак с SWD). Высказано предположение, что сонные веретена 2-ого типа могли возникнуть в результате эпилептической трансформации типичных сонных веретен 1-ого типа.

Важным техническим преимуществом настоящего похода служит автоматизация процесса распознавания нормальных и про-эпилептических форм ритмической активности на ЭЭГ, что позволяет снизить субъективный фактор оценки, повысить надёжность результатов, обеспечить их повторяемость и воспроизводимость результатов, что особенно важно для независимой экспертной оценки.

Заключение

Анализ особенностей частотно-временной структуры сонных веретен и SWD с использованием непрерывного вейвлетного преобразования показал следующее.

- 1) SWD отличались сверхпороговой мощностью в диапазоне *гамма*-частот ($F_{swd} \in 30-50$ Гц), и это свойство послужило надежным критерием для автоматического распознавания SWD (98-100%).
- 2) 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.
- 3) Комплексный вейвлет Морле был выбран в качестве оптимального базиса для частотно-временного анализа ЭЭГ, но оказался непригодным для автоматического выделения сонных веретен в рамках предложенного алгоритма.
- 4) Частота сонных веретен - необходимый, но не достаточный критерий для их надежного распознавания на ЭЭГ в автоматическом режиме.
- 5) Разработан новый подход к стандартизации ритмической активности на ЭЭГ - адаптивный вейвлетный анализ, который позволил выделить две формы сонных веретен, типичную (1-ый тип ~90% от общего числа веретен) и атипичную (2-ой тип, ~10% веретен). Атипичные веретена 2-ого типа, в отличие от типичных веретен, содержали 4-8 Гц и 16-25 Гц компоненты на спектре мощности и могли быть результатом эпилептической трансформации типичных сонных веретен.
- 6) "Вейвлетные базисы" сонных веретен имеют унифицированную форму, которая может служить прототипом веретен у всех особей данной линии WAG/Rij.

Описанные в настоящем разделе про-эпилептические формы сонных веретен (веретена 2-ого типа) могут служить индикатором нарушения функциональных свойств таламо-кортикальной системы. Поскольку абсанс-эпилепсия у крыс WAG/Rij прогрессирует с возрастом, можно предположить, что усиление патологической активности в таламо-кортикальной системе приводит не только к росту эпизодов абсанс-эпилепсии, но и к изменению параметров типичных веретен 1-ого типа. Таким образом, свойства сонных веретен могут коррелировать с нарушениями в таламо-кортикальной системе при прогрессирующем развитии абсанс-эпилепсии. Исследованию этого предположения был посвящен следующий этап работ, где проведен анализ возрастных изменений частотно-временной структуры сонных веретен по мере увеличения интенсивности судорожных разрядов (SWD) в позднем онтогенезе у крыс WAG/Rij.

5.4. Изменение частотно-временной структуры сонных веретен при прогрессирующем развитии абсанс-эпилепсии²⁴

Как известно, сонные веретена являются результатом спонтанной ритмической активности таламо-кортикальной сети. С большой долей вероятности можно предположить, что патологические процессы в таламусе и/или неокортексе влияют на частотно-временные параметры сонных веретен, поэтому изменения структуры сонных веретен, свидетельствующие о нарушении функциональных свойств таламо-кортикальной системы, может иметь значение для ранней диагностики некоторых неврологических заболеваний (например, абсанс-эпилепсия, сенсо-моторные расстройства и нарушения сна). Несмотря на потенциальную значимость этого вопроса для врачебной практики, свойства сонных веретен у пациентов с неврологическими диагнозами остаются мало изученными. Известно только, что генерализованные формы эпилепсии сопровождаются некоторым увеличением частоты сонных веретен, при этом число сонных веретен во время фазы II медленного сна оказывается ниже при неизменной длительности данной фазы сна [Myatchin & Lagae, 2007]. Применение фармакотерапии для средств лечения данных заболеваний способствует восстановлению количества сонных веретен до нормального уровня.

Функциональные нарушения таламо-кортикальной системы, а по нашим данным и изменения микроструктуры кортикальной её части [Куликова и др., 2009], являются основной причиной формирования абсанс-эпилепсии [Kostopoulos, 2000; van Luijtelaar & Sitnikova, 2006; Sitnikova, 2010; van Luijtelaar et al., 2011]. Патогенез этого заболевания связан с гипервозбудимостью нейронов неокортекса, в результате чего сонные веретена трансформируются в характерные для абсанс-эпилепсии пик-волновые разряды [Kostopoulos, 2000]. Прямые исследования сонных веретен у больных, страдающих абсанс-эпилепсией, не позволяют сделать однозначные выводы об изменении структуры сонных веретен при развитии данной болезни. Основное внимание настоящего раздела работ приковано к изменению свойств сонных веретен по мере прогрессирующего развития абсанс-эпилепсии у крыс с генетической предрасположенностью к этому заболеванию, крыс линии WAG/Rij. У большинства особей этой линии интенсивность эпилептических разрядов появляется в возрасте 3-5 месяцев и значительно увеличивается с возрастом [Coenen & van Luijtelaar, 1987], но у некоторых особей судорожная активность не развивается [Sitnikova, 2011]. Цель настоящего раздела - проследить возрастные

²⁴ По опубликованным работ:

1) 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.

2) 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.

3) 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; 19(4): 91-108.

4) Павлов А.Н., Храмов А.Е., Короновский А.А., Ситникова Е.Ю., Макаров В.А., Овчинников А.А. Вейвлет-анализ в нейродинамике. УФН, 2012; 182(9): 905-939.

изменения сонных веретен в ходе индивидуального развития крыс линии WAG/Rij с учетом динамики развития судорожной активности.

Особенности процедуры исследований

Использовали 6 самцов крыс линии WAG/Rij, содержащихся в стандартных условиях вивария. Регистрацию ЭЭГ проводили посредством вживленного электрода, имплантированного эпидурально в область правой лобной коры (AP 2; L 2.5 относительно брегмы), индифферентный электрод помещали над правым полушарием мозжечка. ЭЭГ проводили у животных в 5 месячном после 2-х недельного периода постоперационного восстановления. Повторную запись ЭЭГ проводили у этих же животных в возрасте 7 и 9 месяцев. Для регистрации ЭЭГ был использован многоканальный компьютерный электроэнцефалограф *Sagura* и программное обеспечение *Leonardo* (МКЕ Medizintechnik GmbH). Сигнал ЭЭГ регистрировали в полосе частот 0.5-200 Гц, частота дискретизации составляла $576 \text{ с}^{-1}/\text{канал}^{-1}$. Продолжительность записи - 20-22 часа.

Эпилептический статус каждого животного устанавливали при наличии пик-волновых разрядов. Для выделения пик-волновых разрядов на ЭЭГ были использованы стандартные критерии, описанные для крыс WAG/Rij [Мидзяновская, 1999; Coenen & van Luijteleaer, 1987]. Определяли число и длительность пик-волновых разрядов, подсчитывали суммарную длительность судорожной активности на протяжении 6-и часов в течение темного периода времени суток, когда эпилептическая активность у крыс WAG/Rij оказывается максимальной [Drinkenburg et al., 1991].

Частотно-временной анализ ЭЭГ был выполнен с использованием непрерывного вейвлетного преобразования. Сонные веретена были выделены на ЭЭГ автоматически по критерию распределения энергии вейвлетного спектра (подробности метода описаны в предыдущем разделе, а также в работах Грубов и др. (2011) и Sitnikova et al., (2012)). Статистический анализ сонных веретен проводили на интервалах ЭЭГ длительностью от 3 до 10 минут во время 2 фазы медленно-волнового сна. У каждого из 6 экспериментальных животных были исследованы частотно-временные параметры 20 сонных веретен в возрасте 5, 7 и 9 месяцев.

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.

5.4.1. Динамика мгновенной частоты внутри сонного веретена

Мгновенная частота сонных веретен на ЭЭГ у крыс WAG/Rij колебалась в пределах от 7.5 до 17 Гц. На Рис. 5.16 представлен фрагмент ЭЭГ и "скелетон" вейвлетного спектра, построенного с помощью базового вейвлета Морле. Скелетон строился путем поиска локальных максимумов на вейвлетной поверхности $|W(t,f)|$.

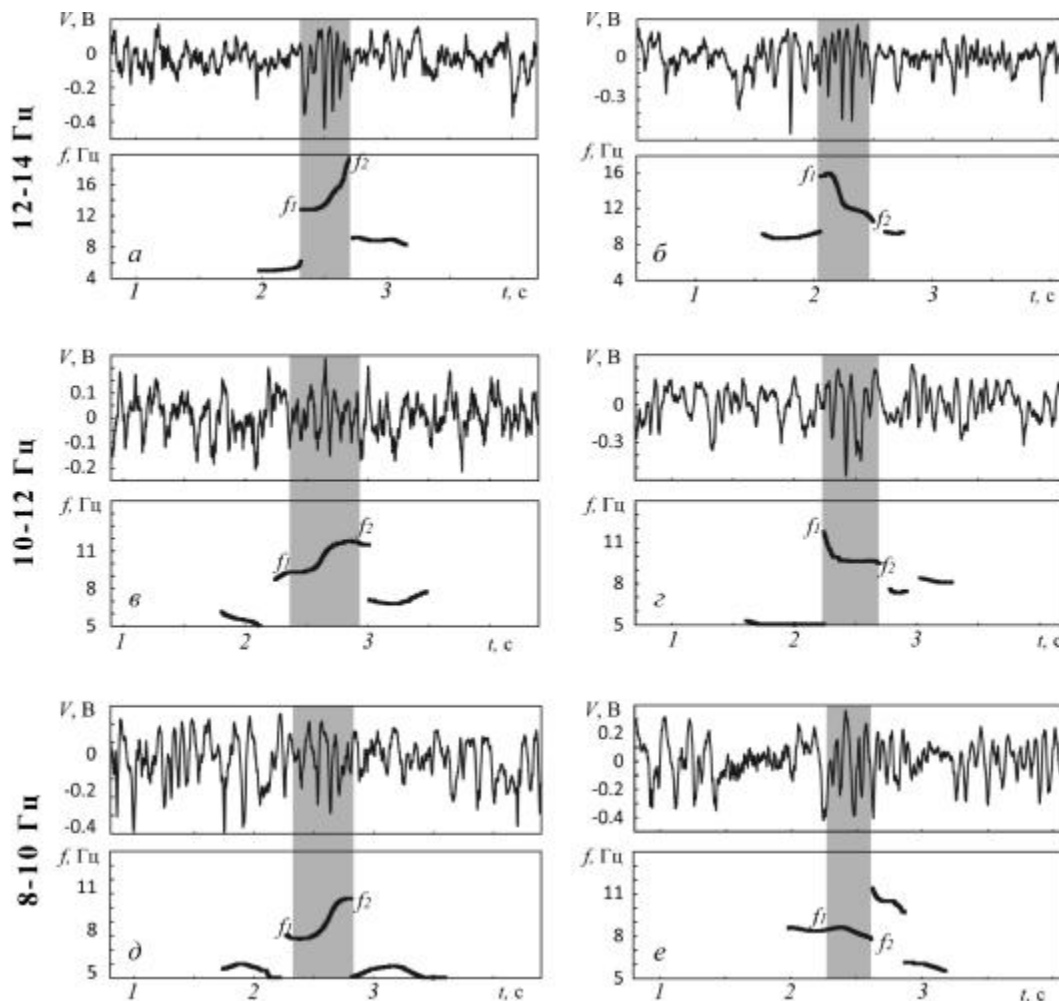


Рисунок 5.16. Сонные веретена на ЭЭГ и соответствующие им "скелетоны" вейвлетной поверхности. Каждая точка на "скелетоне" (хребтах вейвлетной поверхности) соответствует максимуму на вейвлетном спектре. *а, б* - "быстрые" веретена (12-14 Гц), характеризующиеся ростом (*а*) и снижением (*б*) мгновенной частоты в течении веретена. *в, з* - "переходные" веретена (10-12 Гц). *д, е* - "медленные" веретена (8-10 Гц).

Сонное веретено - это короткий эпизод ритмической активности, длящийся 0.3-1 с, однако на протяжении этого периода времени мгновенная частота сонных веретен претерпевала изменения: в большинстве случаев частота возрастала от начала к концу веретена (слева на Рис. 5.16). У небольшой части веретен, наоборот, частота снижалась с течением времени (правые иллюстрации на Рис. 5.16). Для статистического анализа частотного состава сонных веретен определяли 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 в вейвлетном спектре (показанным на скелетоне на Рис. 5.16), соответственно, в начале и конце анализируемого сонного веретена.

Распределение значений средней частоты сонных веретен f в возрасте 5 и 9 месяцев значимо отличалось от нормального (тест Шапиро – Уилка, в обоих случаях $p < 0.01$). Учитывая вариабельность средней частоты и характер её распределения, сонные веретена были условно разделены на 3 группы, средние значения частот которых были локализованы в частотных диапазонах 8-10 Гц, 10-12 Гц и 12-14 Гц (Рис. 5.17).

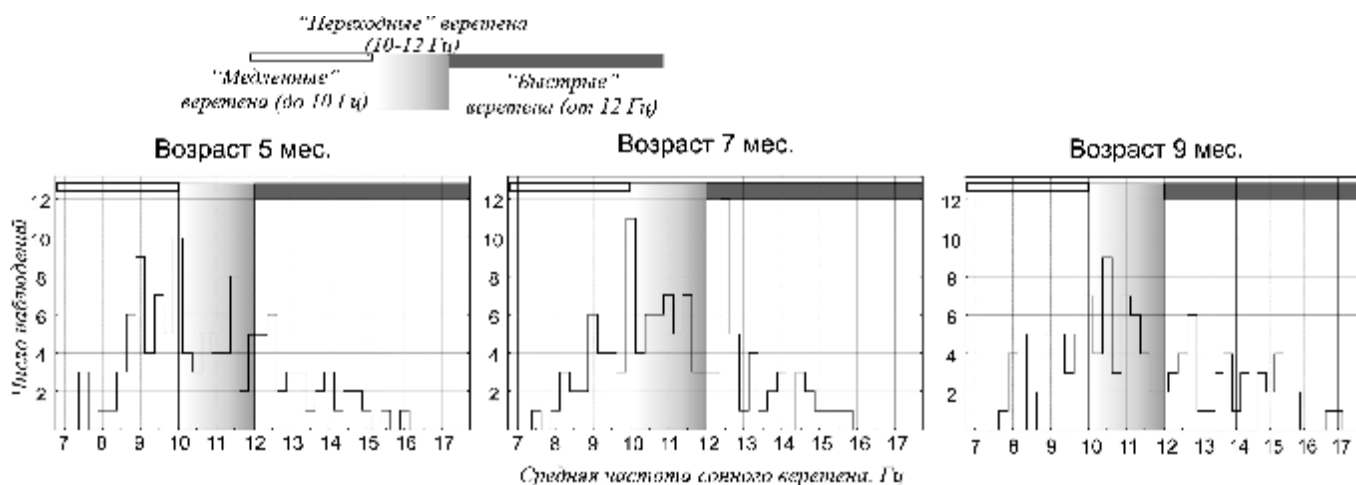


Рисунок 5.17. Гистограммы распределения средних частот сонных веретен у крыс WAG/Rij трех возрастов, построенные с бином 0.25 Гц ($n = 6$ крыс в каждой возрастной группе). У животных 5 и 9 месячного возраста распределения значительно отличаются от нормального.

Как известно, частота главного спектрального компонента служит в качестве критерия для выделения двух классов веретен на ЭЭГ человека (см классические работы Jankel & Niedermeyer (1985) и Jobert et al. (1992) и др.): "медленные" веретена с частотой 12(11) Гц и "быстрые" - 14(13) Гц. Руководствуясь этим же критерием, Gandolfo et al. (1985) выделили на ЭЭГ у крыс два типа сонных веретен - "медленные" с частотой 9-10 Гц и "быстрые" ~12 Гц. В настоящем исследовании мы обнаружили третий промежуточный тип веретен с частотой 10-12 Гц ("переходные" веретена), который значительно отличался от двух других традиционно выделяемых типов сонных веретен по критерию частоты. Этот тип сонных веретен характеризовался наиболее интересной динамикой частоты, которая претерпела изменения в ходе онтогенеза, и обнаружила высокую зависимость от интенсивности эпилептических проявлений (см. ниже).

Три типа сонных веретен отличались не только по критерию средней частоты (f), но и по значению мгновенных частот в начале и в конце веретена (f_1 и f_2 , Табл. 5.5). 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.

Исследование внутренней динамики частоты в течение сонного веретена при длительности не больше 1 сек, оказалось сложной технической задачей, которую невозможно решить с помощью традиционных методов спектрального анализа ЭЭГ из-за низкого разрешения по времени. В нашей работе, благодаря использованию комплексного вейвлета Морле ($\Omega = 2\pi$) в качестве базисной функции, мы получили точное представление структуры сонных веретен во времени. Это позволило работать с веретенами, минимальная длительность которых была 300 мс, т.е. 3-4 цикла колебаний с частотой 9-12 Гц, что вполне достаточно для представления

интересующего нас частотного диапазона в вейвлетном пространстве. Факт увеличения мгновенной частоты от начала к концу сонного веретена был впервые обнаружен нами на ЭЭГ у крыс WAG/Rij 5-месячного возраста с помощью непрерывного вейвлетного преобразования ЭЭГ, где в качестве базисной функции был использован комплексный вейвлет Морле ($\Omega = 2\pi$) [Грубов и др., 2011].

Таблица 5.5. Основные характеристики трёх групп сонных веретен у крыс WAG/Rij ($n = 6$ крыс в каждой возрастной группе)

Тип сонного веретена	Соотношение 3-х типов веретен, %	Длительность веретена, мс	Частота сонных веретен, Гц		
			Средняя, f	В начале веретена, $f1$	В конце веретена, $f2$
Возраст: 5 месяцев					
Медленные (8-10Гц)	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 (8-10Гц)	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 (8-10Гц)	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

* - в возрасте 5 месяцев разница между $f2$ и $f1$ статистически значима у "медленных" веретен (критерий Вилкоксона, 3.47, $p < 0.001$) и "переходных" веретен.

Недавние исследования ЭЭГ у человека показали неоднородность топографического распределения мощности компонентов сонных веретен с частотой 12-и и 14-и Гц [Dehghani et al., 2011]. В частности, было показано, что максимум 12 Гц компонента перемещался в течение сонного веретена от лобных к центральным областям, а 14 Гц компонент - в обратном направлении. При этом мощность компонента с частотой 12 Гц повышалась от начала к концу веретена, а мощность 14 Гц компонента, наоборот, снижалась. Таким образом, внутренняя динамика частоты сонных веретен у человека имела сложный характер, обусловленный не столько мощностными, сколько топографическими изменениями. Важно отметить, что у человека наблюдался сдвиг пика мощности от 14 Гц в начале веретена к 12 Гц в конце, и это противоположно динамике частоты, которая наиболее ярко проявлялась в течение сонного веретена у наших животных в 5-месячном возрасте, а именно, увеличение частоты в течение сонного веретена. Возможное объяснение этому расхождению состоит в том, что мы не исследовали топографию отдельных компонент, а анализировали их динамику в одной локальной области. Более того, авторы процитированного исследования [Dehghani et al., 2011], в отличие от

нас, (i) работали со здоровыми испытуемыми, без неврологических патологий; (ii) не использовали аппарат вейвлетов для автоматического выделения сонных веретен и описания их частотно-временной структуры; (iii) анализировали веретена, длительность которых составляла в среднем 721 мс (от 427 до 1386 мс).

5.4.2. Возрастные изменения частотно-временных параметров сонных веретен

Соотношение трех типов сонных веретен ("медленные" : "быстрые" : "переходные" веретена) практически не изменялось с возрастом и оставалось 2 : 1 : 1. Возрастные изменения затрагивали внутренние параметры веретен. Во-первых, произошло значимое снижение длительности сонных веретен ($p < 0.0001$). У 5-и месячных животных длительность веретен составила в среднем 597 ± 398 мс (здесь и далее \pm станд.откл.) и значимо сократилось до 382 ± 116 мс к возрасту 7 месяцев, и до 9-месячного возраста сохраняясь неизменной - 366 ± 86 мс. По-видимому, снижение продолжительности сонных веретен связано с прогрессирующим развитием эпилепсии у наших животных. По нашим данным, чем сильнее проявления эпилепсии (выше эпилептический "статус"), тем менее продолжительны сонные веретена. Возможно, таламо-кортикальная система теряет способность поддерживать нормальный веретенообразный ритм, что приводит к уменьшению продолжительности сонных веретен.

Длительность трех типов сонных веретен значимо различалась ($p < 0.001$), подчиняясь следующей закономерности (у всех возрастов): длительность "медленных" веретен была значимо 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-и 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. 5.5, сноска *). У 7-и и у 9-и 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. Возможно, что отсутствие статистически значимых изменений частоты в течение веретена у животных 7-и и 9-и 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.

5.4.3. Связь частотно-временных параметров сонных веретен с интенсивностью абсанс-эпилепсии

В 5-месячном возрасте пик-волновые разряды были обнаружены у 2-х из 6-и экспериментальных животных, в возрасте 7 и 9 месяцев - у 4-х из 6-и животных. У двух крыс судорожная активность отсутствовала на протяжении всего периода исследования. Количественные параметры эпилептической активности на ЭЭГ были использованы в качестве формальных критериев для выделения следующих категорий, характеризующих интенсивность

эпилептических разрядов (Рис. 5.18): "статус 0" – эпилептическая активность не выявлена, "статус 1" – интенсивность эпилептической активности была низкой, её суммарная длительность составляла от 19 до 146 сек за 6-часовой период, число разрядов - от 4 до 19 за это же время; "статус 2" - высокая степень эпилептической активности, её общая длительность, зафиксированная на протяжении 6 часов, колебалась от 290 до 783 сек, число разрядов в этот интервал времени – от 59 до 93. Животные одного возраста могли иметь разный эпилептический "статус" в зависимости от интенсивности судорожной активности; эпилептический "статус" с возрастом изменялся в сторону увеличения (за исключением двух особей без признаков эпилепсии).

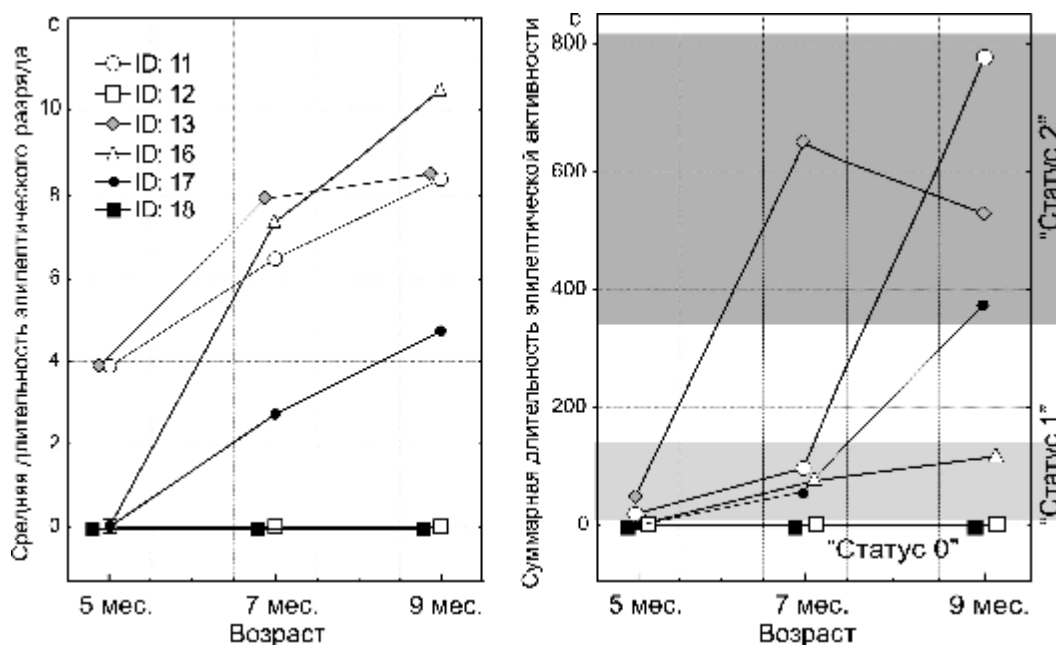


Рисунок 5.18. Возрастная динамика длительности SWD на ЭЭГ и суммарной длительности эпилептической активности, рассчитанные за 6 ч у крыс WAG/Rij (ID - номер животного). Интенсивность затененного фона на графиках иллюстрирует эпилептический "статус" животного. Объяснение в тексте.

С возрастом продолжительность разрядов значительно возросла ($p < 0.006$), суммарная длительность эпилептической активности также значительно увеличивалась ($p < 0.05$). Чем интенсивнее эпилепсия (чем выше эпилептический статус) тем менее продолжительны веретена всех типов (Табл. 5.6, примечание *a*). Относительное число "переходных" веретен у животных с нулевым статусом выше, чем у крыс со "статусом 2" (Табл. 5.6, примечание *).

Частотно-временные характеристики веретен имели следующие особенности:

1) средняя частота "переходных" и "быстрых" веретен у крыс со "статусом 1" была выше, чем у крыс со "статусом 2" (Табл. 6.6, примечание *b*);

2) динамика частоты внутри веретен "переходного" типа (значение $f2-f1$) изменилась на противоположную при увеличении эпилептического статуса: у крыс с нулевым статусом частота веретен увеличивалась от начала к концу веретена, а у крыс со "статусом 2" - уменьшалась.

Таблица 5.6. Основные характеристики сонных веретен у крыс WAG/Rij с разным эпилептическим статусом

		"Статус 0"	"Статус 1"	"Статус 2"
% соотношение	Медленные (8-10Гц)	45.4 ±12.8	55.9 ±13.0	51.1 ±15.7
	Переходные (10-12 Гц)	22.8 ±5.6	21.3 ±12.3	16.9 ±2.2 *
	Быстрые (12-14 Гц)	30.8 ±11.4	22.8 ±13.5	32.0 ±16.3
Средняя длительность, сек	Медленные (8-10Гц)	599 ±371	430 ±157 ^a	369 ±78 ^a
	Переходные (10-12 Гц)	555 ±416	381 ±93 ^a	330 ±95 ^a
	Быстрые (12-14 Гц)	390 ±125	354 ±99 ^a	264 ±50 ^a
Средняя частота, f, Гц	Медленные (8-10Гц)	9.5 ±0.9	9.5 ±0.9	9.6 ±1.0
	Переходные (10-12 Гц)	11.4 ±0.7	11.5 ±0.4	11.1 ±0.6 ^b
	Быстрые (12-14 Гц)	13.7 ±1.1	13.2 ±0.9	14.0 ±1.37 ^b
Динамика частоты внутри веретена, f2-f1, Гц	Медленные (8-10Гц)	0.25 ±1.15	0.15 ±1.00	0.42 ±1.09
	Переходные (10-12 Гц)	1.58 ±2.98	0.24 ±2.43	-0.67 ±1.5 ^c
	Быстрые (12-14 Гц)	0.19 ±1.39	0.27 ±1.48	0.34 ±1.37

Примечание. Относительное число "переходных" веретен у крыс со "статусом 2" ниже, чем у неэпилептических животных со "статусом 0" (критерий Манна - Уитни, * $p < 0.05$).

^a - низкая длительность всех типов веретен у крыс с высоким эпилептическим статусом: значимые различия между "статусом 0" и "1", между "статусом 1" и "2", "статусом 0" и "2" ($p < 0.005$).

^b - средняя частота "переходных" веретен у крыс со "статусом 1" и "статусом 2" значимо отличается ($p < 0.05$), также как и средняя частота "быстрых" веретен ($p < 0.05$).

^c - динамика частоты $f_2 - f_1$ внутри "переходных" веретен у неэпилептических крыс ("статус 0") значимо отличается от таковой у крыс со "статусом 2" ($p < 0.01$).

Несмотря на то, что патогенез абсанс-эпилепсии связан с нарушениями таламо-кортикальной системы, в литературе практически отсутствуют данные о возможном влиянии этой патологии на формирование нормального таламо-кортикального ритма - сонных веретен. Известно, что у пациентов, страдающих генерализованной эпилепсией, частота сонных веретен во время II фазы медленного сна составляет 12.87 Гц, что значимо выше, чем у здоровых испытуемых - 12.21 Гц [Myatchin & Lagaе, 2007]. Это соответствует нашим данным в части "быстрых" веретен: их частота у крыс с высоким эпилептическим статусом (14.0 Гц) выше, чем у животных с низким эпилептическим статусом (13.2 Гц).

В целом, представленные нами результаты существенно дополняют картину качественных изменений сонно-веретеновой активности при абсанс-эпилепсии. Итак, по нашим данным, наиболее четкие изменения, сопряженные с интенсивностью эпилепсии, прослеживаются у 10-12 Гц веретен "переходного" типа. Во-первых, по сравнению с животными без признаков эпилепсии, у крыс с высоким эпилептическим статусом относительное число "переходных" веретен ниже; их средняя частота тоже ниже - 11.1 Гц у крыс со "статусом 2" против 11.4 Гц у животных со "статусом 0". По-видимому, при высоком уровне эпилепсии, таламо-кортикальная сеть менее склонна поддерживать веретенообразные колебаний с переходной частотой 10-12 Гц, демонстрируя тенденцию к снижению частоты и общего количества таких колебаний.

Во-вторых, динамика частоты внутри "переходного" веретена меняется на противоположную по мере увеличения интенсивности эпилепсии: у крыс с нулевым статусом мгновенная частота растет от начала к концу веретена, а у крыс со "статусом 2" - уменьшается. Это свойство, т.е. снижение частоты от начала к концу осцилляций, является типичным для эпилептических пик-волновых разрядов, частота которых составляет 12-16 Гц в начале и падает до 5-7 Гц в конце разряда [Габова и др., 2004; Sitnikova et al., 2009]). Аналогичная динамика у сонных веретен "переходного" типа может быть связана с "эпилептизацией" сонно-веретенной активности в связи с нарушениями в таламо-кортикальной системе при прогрессирующем развитии абсанс-эпилепсии. Возможно, что часть "переходных" (10-12 Гц) сонных веретен заменяется пик-волновыми разрядами, частота которых также составляет 10-12 Гц в начале эпилептического разряда и снижается до 5-7 Гц в конце.

Заключение

Использование аппарата непрерывного вейвлетного преобразования для автоматического распознавания и последующего анализа частотно-временной структуры сонных веретен на ЭЭГ у крыс линии WAG/Rij позволил выявить следующие особенности сонных веретен.

1) По критерию частоты у крыс WAG/Rij можно выделить три группы сонных веретен - в диапазоне 8-10 Гц ("медленные"), 10-12 Гц ("переходные") и 12-14 Гц ("быстрые" веретена), что соответствует классическим канонами клинической ЭЭГ у человека [Gibbs & Gibbs, 1962; Jankel & Niedermeyer, 1985; Jobert et al., 1992]. Соотношение между этими группами составляет примерно 2:1:1, и оно практически не изменяется с возрастом.

2) Длительность 10-12 Гц веретен была значимо выше, чем длительность 8-10 Гц и 12-14 Гц веретен у крыс обоих возрастов. Снижение длительности сонных веретен всех трех типов сонных веретен 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

3) 10-12 Гц и 12-14 Гц веретена у 5-и месячных животных характеризовались ростом частоты от начала к концу веретена, у 7-и и 9-и месячных крыс эта динамика отсутствовала, что могло быть связано с усилением эпилептических процессов в таламо-кортикальной системе.

4) У животных с более интенсивными проявлениями эпилепсии (высокий эпилептический "статус") длительность сонных веретен была ниже, чем у остальных животных. 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.

Итак, при прогрессирующем развитии абсанс-эпилепсии изменяются параметры 10-12 Гц веретен, а также происходит снижение длительности веретен всех типов, что подтверждает наличие реципрокных взаимоотношений между пик-волновыми разрядами и сонными веретенами. Из литературы известно об обратной корреляционной зависимости между числом сонных веретен и SWD [van Luijtelaaar, 1997] и о возможности трансформации сонных веретен в пик-волновые разряды [Kostopoulos, 2000; von Krosigk et al., 1993]. Но такая форма взаимоотношений является довольно сложной, и она не ограничена процессом трансформацией одного ритма в другой. Например, параллельно с развитием эпилептических разрядов изменяется структура сна у крыс WAG/Rij [Gandolfo et al., 1990; van Luijtelaaar & Bikbaev, 2007], что свидетельствует о нарушениях системных механизмов головного мозга, которые не ограничены рамками таламо-кортикальной системы (источника пароксизмальной активности). При абсанс-эпилепсии страдает механизм, регулирующий состояние сна и бодрствования, и ряд исследователей полагают, что в основе абсанса лежит нарушение процесса поддержания бодрствования (*wake-related processes*) [Pinault & O'Brien, 2005; Halász & Kelemen, 2009]. Известно, что у крыс GAERS предшественниками SWD служат 5-9 Гц колебания, которые формируются в состоянии бодрствования и принципиально отличаются от сонных веретен (*"SWDs develop from wake-related 5-9 Hz oscillations, which are distinct from spindle oscillations"*) [Pinault et al. 2006; p. 209]. Крысы линии GAERS остаются единственным объектом, у которого выявлены 5-9 Гц предшественники SWD. Последующий раздел описывает 5-9 Гц колебания у крыс WAG/Rij, исследует временную динамику 5-9 Гц колебаний, сонных веретен и SWD с целью выявить возможный общий координирующий механизм появления этих трёх паттернов на ЭЭГ.

5.5. Временная динамика таламо-кортикальных осцилляций²⁵

Известно, что сонные веретена и спонтанные SWD (но не фармакологически индуцированные разряды) распределяются в цикле сон-бодрствование сходным образом. Состояние абсанса (и характерные 3 Гц SWD) у пациентов с абсанс-эпилепсией более часто наблюдаются на фоне снижения уровня бодрствования, т.е. в состоянии пассивного

²⁵ По материалам статей:

- 1) 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
- 2) Короновский А.А., Минюхин И.М., Тыщенко А.А., Храмов А.Е., Мидзяновская И.С., Ситникова Е.Ю., van Luijtelaaar G., van Rijn С.М. Применение непрерывного вейвлет-преобразования для анализа перемежающегося поведения. Изв. вузов. Прикладная нелинейная динамика. 2007; 15(4): 34-54.
- 3) Ситникова Е.Ю., Короновский А.А., Храмов А.Е. Анализ электрической активности головного мозга при абсанс-эпилепсии: прикладные аспекты нелинейной динамики. Изв. вузов. Прикладная нелинейная динамика, 2011; 19(6): 173-182.
- 5) 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
- 4) 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.

бодрствования, дремоты [Kellaway, 1985; Sadleir et al., 2011], что полностью соответствует у крыс с генетической формой абсанс-эпилепсии [Lannes et al., 1988; Drinkenburg et al., 1991; Coenen and van Luijtelaar, 2003], у крыс WAG/Rij демонстрируют положительные корреляции с динамикой медленно-волнового сна [Drinkenburg et al., 1991]. Это может означать, что динамика сонных веретен и SWD находится под контролем общего механизма, регулирующего цикл сон-бодрствование. В настоящем Разделе будут выявлены закономерности временной динамики сонных веретен и пик-волновых разрядов с использованием математического аппарата физики нелинейных процессов.

Как было упомянуто выше, сонные веретена и SWD формируются в таламо-кортикальной системе как две автономных формы ритмической активности; сонные веретена не являются непосредственными предшественниками SWD (Раздел 3.4 [Sitnikova, 2010; Leresche et al., 2012]). У крыс GAERS перед началом пик-волновых разрядов наблюдают 5-9 Гц колебания, которые имеют кортикальное происхождение, формируются при участии сенсомоторных ядер таламуса, но их нейронные механизмы принципиально отличаются от механизмов сонных веретен [Pinault 2003; 2006]. В Разделе 3.4 мы выявили *тема*-компонент на ЭЭГ перед началом SWD у крыс WAG/Rij [Sitnikova & van Luijtelaar, 2009; van Luijtelaar et al., 2011; 2011a; Ситникова и др., 2011]), которые можно рассматривать как аналоги 5–9 Гц ритмических предшественников пик-волновых разрядов у крыс линии GAERS [Pinault et al., 2001]. Учитывая генетическое родство GEARS и WAG/Rij, мы предполагаем, что на ЭЭГ у крыс WAG/Rij существуют спонтанные 5–9 Гц осцилляции, которые не связаны с SWD (такая форма описана у крыс GEARS а также у неэпилептических крыс [Pinault et al., 2001]) . В настоящем разделе будет проведен анализ 5–9 Гц осцилляций на ЭЭГ у крыс WAG/Rij и исследована их временная динамика.

При исследовании характера распределения стереотипных таламо-кортикальных осцилляций на ЭЭГ в настоящем Разделе использован математический аппарат нелинейной динамики и теории динамического хаоса, которые оперируют понятием *on-off* перемежаемости [Кузнецов, 2001; Boccaletti et al., 2002; Короновский и др., 2007]. Этот подход применяется в физике для описания последовательности чередующихся нерегулярных событий на фоне относительно стабильной активности вблизи точек бифуркаций. В нашем случае была исследована электрическая активность коры больших полушарий, где длительные эпизоды низкоамплитудной полиритмической (фоновая ЭЭГ) чередовались со всплесками высокоамплитудной активности с относительно стабильной частотой, которые соответствовали либо эпилептическим разрядам, либо сонным веретенам, либо 5-9 Гц колебаниям. Известно, что *on-off* перемежаемость характеризуется резким скачкообразным переходом между синхронизированной и десинхронизированной фазами [Boccaletti et al., 2002], и, поскольку таламо-кортикальные осцилляции отличаются довольно высокой синхронизацией ЭЭГ, есть основания предполагать, что их динамика подчиняется законам *on-off* перемежаемости.

Особенности процедуры исследований

Использованы данные лобной ЭЭГ, зарегистрированные на протяжении 24 часов у 6 самцов крыс WAG/Rij rats (возраст 1 год, масса тела 320–360 г). Исследование частотно-временных характеристик ЭЭГ проводили с помощью непрерывного вейвлетного преобразования с базовым вейвлетом Морле. Для автоматического распознавания SWD, сонных веретен и 5–9 Гц колебаний на ЭЭГ использовали специально созданные алгоритмы [Sitnikova et al., 2009; Ovchinnikov et al., 2010], базирующиеся на измерении вейвлетной энергии $w(t)$ в характерной для каждого из искомым паттернов полосе частот F_s . Значение $w(t)$ сравнивали с эмпирически подобранным порогом, w_c , наличие осцилляторного паттерна определяли при условии $w(t) > w_c$. Для SWD суммарная энергия в двух полосах частот F_{SWD} [8, 14] и [30, 50] Гц. Чувствительность метода была 95–98% у всех животных.

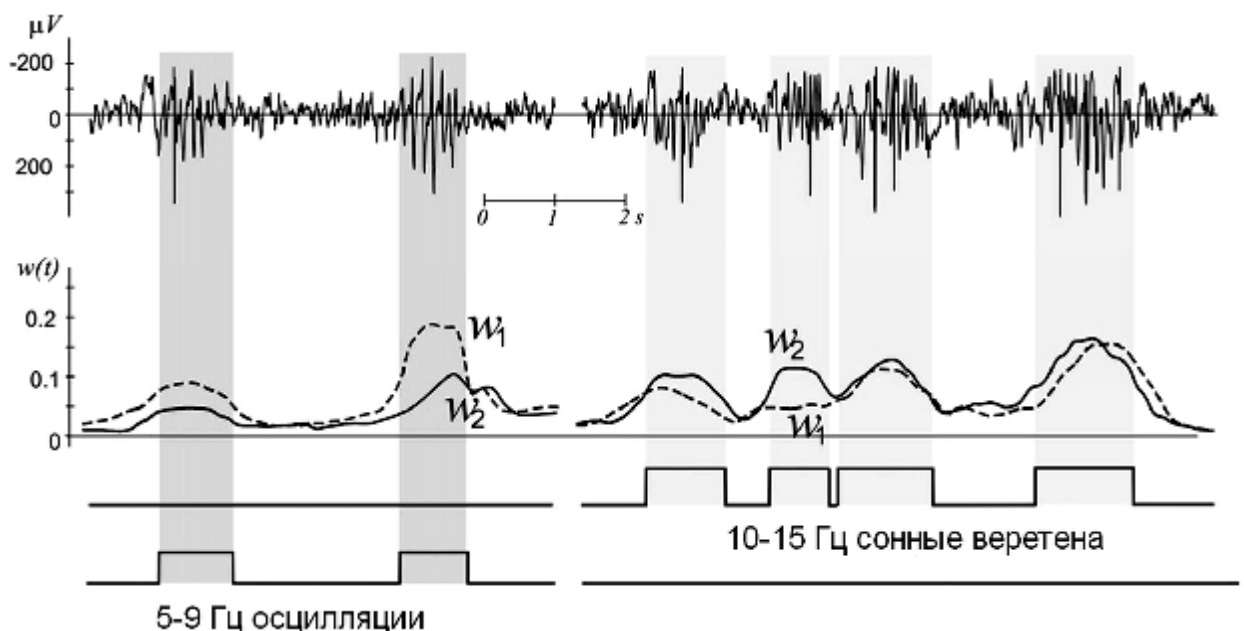


Рисунок 5.19. Принципы автоматического распознавания сонных веретен и 5-9 Гц осцилляций на ЭЭГ. На средних графиках показано распределение вейвлетной энергии $w(t)$ в диапазоне 5–9 Гц (w_1 , прерывистая линия) и в диапазоне 10–15 Гц (w_2 , сплошная линия). Внизу показаны результаты автоматического распознавания.

Для распознавания сонных веретен и 5–9 Гц осцилляций вычисляли энергию вейвлетного спектра в двух полосах частот $F_{s1} \in [5-9]$ Гц и $F_{s2} \in [10-15]$ Гц, соответственно, $w_1(t)$ и $w_2(t)$ (Рис.5.19). Пороговые значения w_{1c} и w_{2c} были подобраны так, чтобы максимально точно локализовать осцилляции в домене времени. Наличие сонного веретена соответствовало ситуации, когда энергия вейвлетного спектра в полосе частот 10–15 Гц, $w_2(t)$, превышала порог w_{2c} , при этом энергия 10–15 Гц [значение $w_2(t)$] была выше, чем энергия 5–9 Гц [$w_1(t)$]: $w_2(t) > w_{2c} \wedge w_2(t) > w_1(t)$. Идентификация 5-9 Гц осцилляций требовало соблюдения условий: $w_1(t) > w_{1c} \wedge w_2(t) < w_1(t)$, т.е., энергия в диапазоне 5–9 Гц [$w_1(t)$] превышала порог w_{1c} , и энергия 10–15 Гц [$w_2(t)$] было ниже, чем в диапазоне 5–9 Гц.

5.5.1. Особенности частотно-временной структуры сонных веретен, 5-9 Гц колебаний и SWD

Вейвлетный анализ сонных веретен, 5-9 Гц колебаний и SWD позволил установить особенности их спектрального состава и послужил отправной точкой для реализации алгоритма их автоматического распознавания на ЭЭГ. Сонные веретена у крыс WAG/Rij характеризовались локальным всплеском мощности в диапазоне 10-15 Гц (Рис.5.20а,с). Вейвлетный спектр сонных веретен содержал дополнительный низкочастотный компонент (Рис.5.20) и одиночные всплески высокочастотной активности (острые волны в составе веретен). Существенными были флуктуации частоты в пределах одного веретена, кроме того, усредненная частота отдельных веретен у каждого также варьировала. Средняя частота сонных веретен у разных животных колебалась от 12.1 Гц до 14.1 Гц (Табл. 5.7).

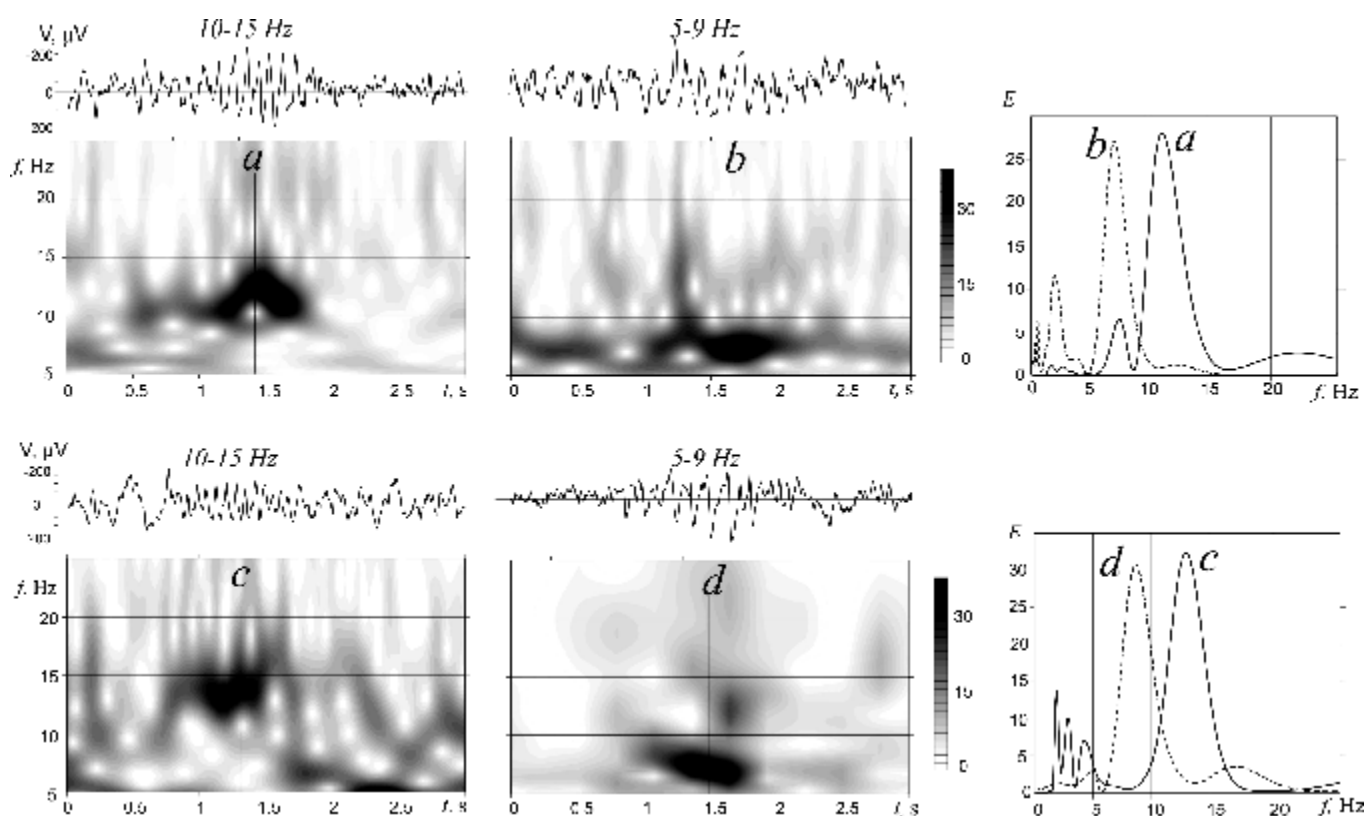


Рисунок 5.20. Примеры ЭЭГ сонные веретена (10-15 Hz) и 5-9 Гц колебания вейвлетные спектры, построенные с базисом Морле. Справа показаны распределения мгновенной вейвлетной энергии $E(f,s)$ для сонных веретен (а,с, сплошные линии) и 5-9 Гц колебаний (b,d, пунктирные линии). Частота пика мощности у этих двух колебаний лежит в разных полосах частот [из статьи Sitnikova et al., 2012].

5-9 Гц колебания на ЭЭГ имели веретенообразную форму (Рис.5.20b,d), их частота была ниже, чем у сонных веретен (Табл.5.7) и приближалась к частоте эпилептических пик-волновых разрядов. Длительность SWD составила несколько секунд (Табл.5.7), что значительно выше, чем у сонных веретен и 5-9Гц колебаний (0.5-2 s). На вейвлетном спектре SWD, помимо главного максимума с основной частотой около 10 Гц (от ~ 15 Гц в начале разряда до ~7 Гц в конце, Рис. 5.12), наблюдались кратные гармоники, которые отсутствовали на спектрах веретен и 5-9 Гц колебаний.

Таблица 5.7. Частотно-временные характеристики исследованных паттернов на ЭЭГ у крыс WAG/Rij.

Номер крысы	Сонные веретена		5-9 Гц осцилляции		SWD
	Частота, Гц	Длительность, с	Частота, Гц	Длительность, с	Длительность, с
1	14.1	0.8	7.2	0.73	5.55
2	12.6	0.58	6.4	0.84	7.63
3	13.2	0.69	6.1	0.85	7.63
4	12.8	0.7	8.3	0.76	3.73
5	14.0	0.66	7.4	0.86	3.76
6	12.1	0.64	7.8	0.81	7.16

5.5.2. Нелинейная динамика сонных веретен, 5-9 Гц колебаний и SWD

Для анализа временной динамики необходимо выбрать нелинейную модель, которая бы учитывала ключевые свойства исследуемых явлений на ЭЭГ. На предварительном этапе был проведен поиск модели, предусматривающей важные с позиций нелинейной физики особенности исследуемых паттернов на ЭЭГ, а именно:

Синхронизация. Сонные веретена, 5–9 Гц осцилляции и SWD формируются в результате синхронизации нейронной активности в таламусе и/или коре [Steriade, 2003; Pinault et al., 2001, 2006]; для фоновой ЭЭГ характерна десинхронизация.

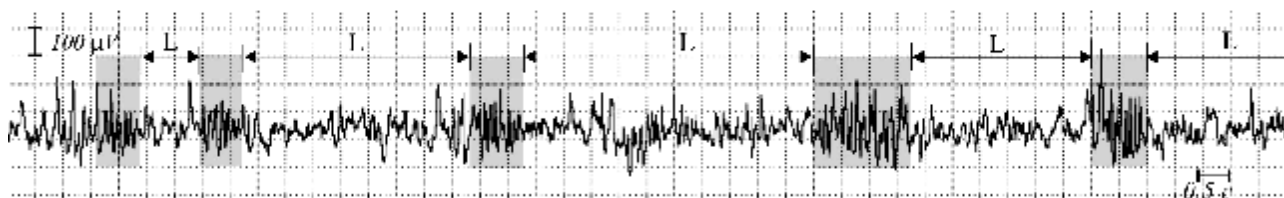
Распределение во времени. Известно, что SWD у крыс WAG/Rij распределены во времени не случайно, а формируют кластеры [Midzyanovskaya et al., 2006]. Сонные веретена также сгруппированы во времени и их появление соответствует периоду медленной и сверхмедленной составляющей (0.3–1 Гц), т.е. приблизительно по 1–3 веретена в секунду у человека [Molle et al., 2002] и у животных [Steriade et al., 1993b]. Динамика 5–9 Гц осцилляций не изучена.

Внезапность/предсказуемость. Абсансы у человека характеризуются внезапным началом и окончанием [Panayiotopoulos, 1997], также как и у животных SWD появляются на ЭЭГ непредсказуемо [Coenen & van Luijelaar, 2003]. В нелинейных моделях внезапность/предсказуемость эпизодов высокоамплитудной активности типично для систем с перемежающимся поведением [напр., Velazquez et al., 1999].

Учитывая вышеназванные особенности исследованных паттернов на ЭЭГ, наиболее вероятно, что их динамика подчиняется законам *on-off* перемежаемости. Так, в системах с *on-off* перемежаемостью наблюдают внезапные всплески активности, которые соответствуют состоянию синхронизации системы (состояние ‘*on*’) на фоне устойчивого состояния покоя (‘*off*’), которое соответствует десинхронизации [Nagai et al., 1996; Hramov & Koronovskii, 2005; Heagy et al., 1994]. Синхронизация ЭЭГ во время SWD, сонных веретен и 5-9 Гц колебаний, сопровождающаяся увеличением вейвлетной мощности в определенных диапазонах частот, характеризует фазу ‘*on*’ в динамике *on-off* перемежаемости. При этом три типа колебаний

представляют различные типы состояния ‘on’, а периоды между колебаниями, т.е. десинхронизация ЭЭГ, соответствуют состоянию ‘off’. Таким образом, приоритетным сценарием временной динамики исследованных паттернов на ЭЭГ, по-видимому, является *on-off* перемежаемость.

А. Сонные веретена



Б. Пик-волновые разряды (SWD)

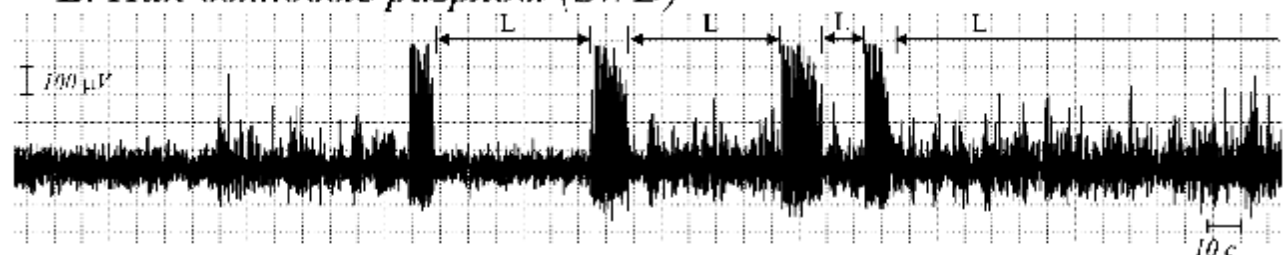


Рисунок 5.21. Длительность интервала между (L) последовательными событиями на ЭЭГ (в данном случае, сонными веретенами и SWD) использована для анализа временной динамики [Sitnikova et al., 2012].

Корректность использования законов *on-off* перемежаемости была подтверждена путём математического анализа распределения трёх типов колебаний, автоматически распознанных на 24-часовых записях ЭЭГ у 6 крыс WAG/Rij. У каждого животного исследовали распределение значений периодов времени между колебаниями каждого типа (сонные веретена, SWD, 5-9 Гц колебания), т.е. длительность фазы ‘off’ (L), как показано на Рис. 5.21. Статистическое распределение величин L было аппроксимировано к степенному закону $N(L) = bL^\alpha$, где $N(L)$ – число интервалов длительностью L с заданной шириной бина ΔL , b – параметр нормирования. Показатель степени α подбирали так, чтобы минимизировать величину среднеквадратичной ошибки ϵ между фактическим и теоретическим распределениями.

На Рис. 5.22 показан пример зависимости между шириной интервала ΔL и экспоненциальной функцией α , характеризующей распределение временных интервалов между последовательными сонными веретенами L . Значение α снижалось от -0.6 до -2.3 по мере увеличения ширины шага ΔL . На нижнем графике этого же рисунка видно, что среднеквадратичная ошибка ϵ достигала минимальных значений при ширине бина $\Delta L \sim 5$ с, что соответствовало экспоненциальному закону с показателем степени $\alpha = -3/2$.

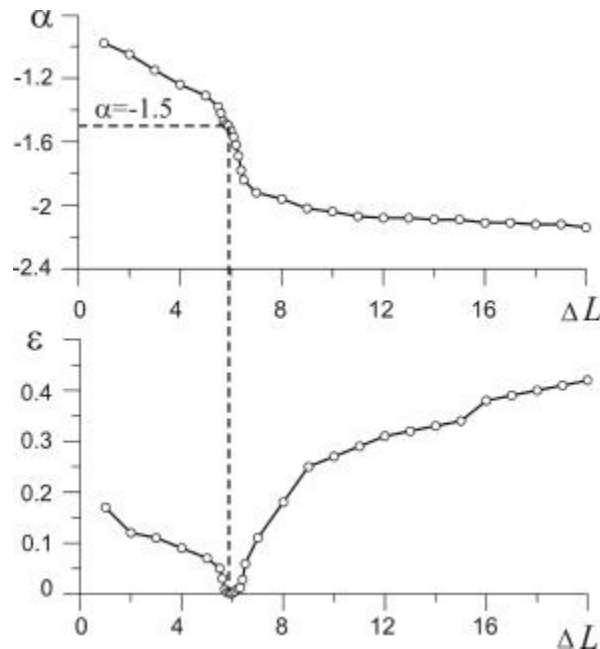


Рисунок 5.22. Результаты статистического анализа качества аппроксимации степенного закона с показателем степени ‘ α ’, описывающего экспоненциальную зависимость длительности интервалов между сонными веретенами (L) и ширины бина (DL). Среднеквадратичная ошибка аппроксимации, ϵ , была вычислена между теоретическим распределением $[N(L)=bL^\alpha]$ и распределением данных, полученных в эксперименте (автоматически распознанные сонные веретена). [Sitnikova et al., 2012]

Как известно, интенсивность эпилептической активности изменяется в цикле сон-бодрствования и зависит от светового режима [Drinkenburg et al., 1991]: в первые часы темного периода суток число SWD максимально, а в начале светлого периода - минимально [van Luijtelaar & Coenen, 1988].

Ранее мы исследовали динамику SWD у крыс WAG/Rij в условиях стандартного светового режима 12/12 часов на протяжении светлой и темной фаз по отдельности [Короновский и др., 2006; 2007; Hramov et al., 2007]. Во время темной фазы число SWD было выше, чем в светлую фазу, и это приводило к уменьшению продолжительности интервала (L) между последовательными SWD. Однако это обстоятельство не меняло распределение SWD во времени, и характерный для *on-off* перемежаемости степенной закон с показателем степени $\alpha = -3/2$ не был нарушен. Анализ временной динамики, основанный на аппроксимации степенного закона распределения, требует большого числа событий однотипных событий и, соответственно, большого объема данных. Основной объем работ был выполнен с использованием метода автоматического распознавания SWD, сонных веретен и 5-9 Гц колебаний на долговременных записях ЭЭГ (непрерывные 24-часовые записи) у 6 крыс WAG/Rij. Число SWD у каждого животного составило от 131 до 462 (в среднем \pm станд. откл. - 307 ± 114), число сонных веретен - от 2007 до 5440 (3517 ± 1227), число 5-9 Гц колебаний - от 869 до 1827 (1276 ± 363). Статистический анализ экспериментальных данных (Рис.5.23) показал, что распределение интервалов L между пик-волновыми разрядами и сонными веретёнами (Рис.5.23А,Б) подчинялись степенной функции с показателем степени $\alpha = -3/2$, что характерно для *on-off* перемежаемости. Графики на Рис. 5.23 представлены в двойной логарифмической шкале, где

экспоненциальная зависимость $N(L)=bL^a$ имела вид прямой линии. Распределение с показателем степени $\alpha = -3/2$ было обнаружено у всех животных.

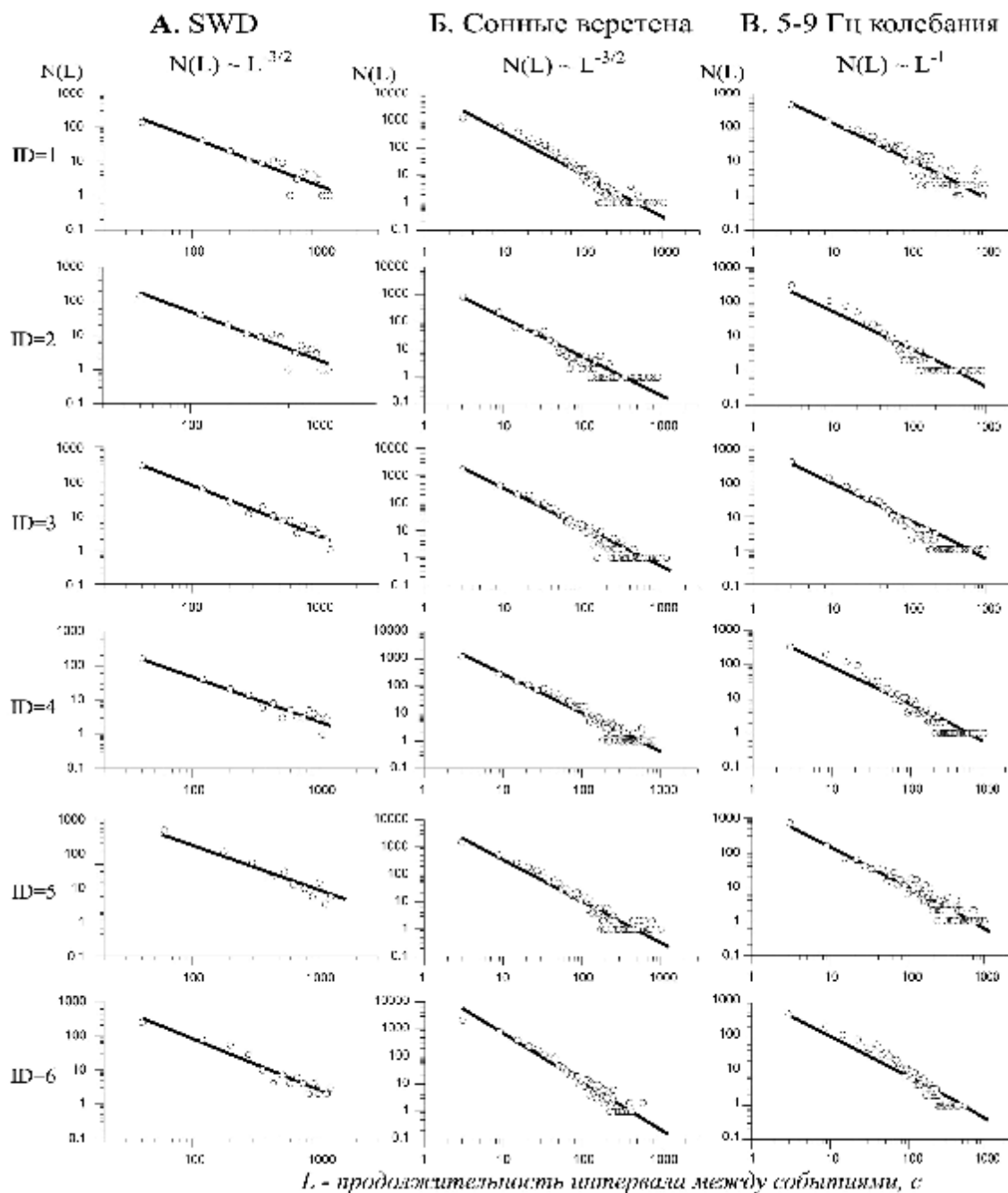
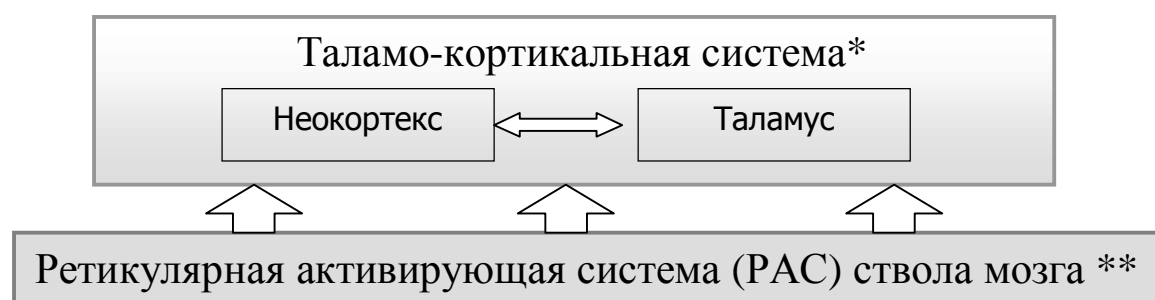


Рисунок 5.23. Результаты временного распределения исследованных паттернов на ЭЭГ: число событий, интервал между которыми (L) . ID - номер крысы. **А, В.** In sleep spindles and in SWD, distributions of L -intervals are best approximated to the power law with the exponent $-3/2$ in all individuals (ID=1-6). This is typical for *on-off* intermittency. **С.** In 5-9 Hz oscillations, distribution of between-spindle intervals fits the power law with the exponent -1 . [из статьи Sitnikova et al., 2012].

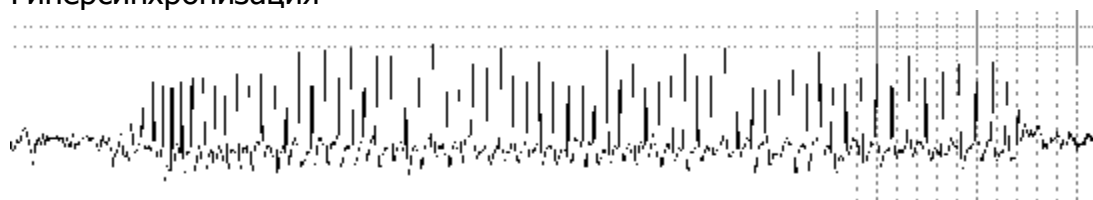
Аналогичный анализ 5-9 Гц колебаний выявил экспоненциальную зависимость $N(L)=L^{-1}$ с показателем степени $\alpha = -1$ (Рис.5.23В, прямая линия в двойной логарифмической шкале, но с более пологим наклоном, чем зависимость с $\alpha = -3/2$). Степенное распределение 5-9 Гц колебаний с $\alpha = -1$ не типично для *on-off* перемежаемости, но определить характер подобной динамики не представляется возможным.

5.5.3. Законы *on-off* перемежаемости в таламо-кортикальной системе

Для более полного понимания природы *on-off* перемежаемости в динамике сонных веретен и пик-волновых разрядов с позиции нейрофизиологии, мы предлагаем следующее объяснение данного феномена. Из теории динамических систем и нелинейной динамики известно, что система, в которой возникает *on-off* перемежаемость, может иметь иерархическую организацию и состоять из двух подсистем: управляющей и управляемой [Кузнецов, 2001; Nagai et al., 1996]. В нашем случае, управляемой (осциллирующей) подсистемой является таламо-кортикальная сеть, которая способна генерировать сонные веретена, находясь в состоянии синхронизации и/или пик-волновые разряды в состоянии гиперсинхронизации (Рис. 5.24).

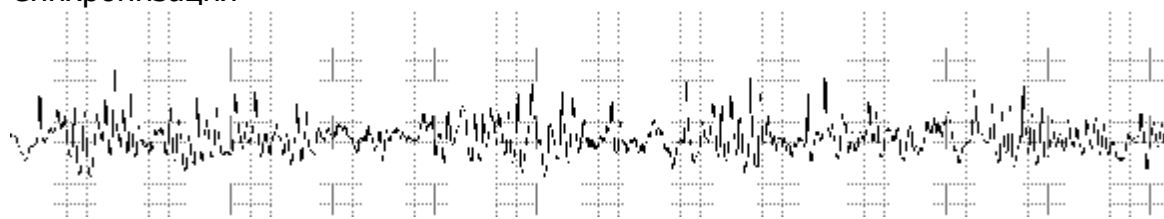


Гиперсинхронизация



Пик-волновые разряды (абсанс-эпилепсия)

Синхронизация



Сонные веретёна (медленноволновый сон)

Рисунок 5.24. С позиций теории динамического хаоса и *on-off* перемежаемости, таламо-кортикальная система соответствует осциллирующей подсистеме (*), а ретикулярная активирующая система (РАС) - управляющей подсистеме (**).

Вторая (управляющая) подсистема принадлежит к более высокой иерархии. Эта роль может принадлежать ретикулярной активирующей системе ствола мозга. Поскольку именно эта система «подбуживает» кору и таламус и поддерживает организм в состоянии бодрствования. При снижении влияний ретикулярной активирующей системы головного мозга нейроны таламуса переходят в режим пачечной импульсной активности, уровень синхронизации в таламо-

кортикальной сети постепенно возрастает, формируется состояние сна, в результате на ЭЭГ появляется сонно-веретённая активность. С точки зрения нелинейной физики, управляющая подсистема влияет на состояние осциллирующей подсистемы посредством контролируемых параметров, которыми могут являться нейромедиаторы (ацетилхолин и норадреналин). Известно, что их концентрация снижается по мере снижения уровня бодрствования. Когда концентрация нейромедиаторов оказывается ниже порогового значения, поведение таламо-кортикальной системы принципиально изменяется: тоническая активация нейронов сменяется «пачечной» активностью.

Дальнейшая ситуация может развиваться по двум сценариям в зависимости от чувствительности нейронов коры к влиянию ретикулярной активирующей системы ствола мозга. Сонные веретена ("синхронизация" на Рис. 5.24) появляются, когда нейроны коры обладают высокой чувствительностью к снижению холин- и адренэргической иннервации. В этом случае главную роль в формировании сонных веретен играет таламус, а возбудимость коры остается низкой. Если нейроны коры оказываются менее чувствительны к снижению холин- и адренэргической иннервации, возбудимость коры сохраняется на высоком уровне, и в ответ на «пачки» импульсов от таламуса нейроны коры могут генерировать эпилептические разряды (гиперсинхронизация на Рис. 5.24).

Заключение

В настоящем Разделе исследована временная динамика SWD, сонных веретен (10-15 Гц) и 5-9 Гц колебания на ЭЭГ у крыс WAG/Rij в течение 24 часов. Для автоматического распознавания был использован алгоритм, основанный на вейвлетном преобразовании сигнала ЭЭГ и пороговых значениях частоты в характерных диапазонах частот. Было обнаружено, что нелинейная динамика SWD, сонных веретен подчиняется закону *on-off* перемежаемости, в отличие от 5-9 Гц колебаний, динамика которых не подчинялась ни одному из известных типов нелинейного поведения. Явление перемежаемости в динамике сонных веретен и SWD может означать, что появление этих колебаний имеет детерминированную природу и подконтрольно некоему общему механизму. Наиболее вероятно, что роль контролирующего системного механизма выполняет роль ретикулярная активирующая система ствола мозга, которая оказывает модулирующее влияние на характер импульсной активности нейронов таламо-кортикальной системы.

ГЛАВА 6

Общее обсуждение и выводы

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). Развитие абсанс-эпилепсии модулируют сенсорные (эпигенетические) факторы раннего онтогенеза, контролирующие формирование центральных механизмов вибротактильной чувствительности, а также катехоламинергические системы головного мозга (дофаминергическая и норадренергическая).

Соматосенсорная кора

Организация проекционной области вибрисс в соматосенсорной коре у крыс

У крыс, служивших объектом нашего исследования, проекционная область вибрисс в SmI имеет непропорционально большие размеры, что связано с исключительно важной ролью вибрисс в организации исследовательского поведения. Хорошо известно, что проекционная область неокортекса получают два типа таламических афферентов, принадлежащих лемнисковой и паралемнисковой проекционным системам [например, Koralek et al., 1988; Lu & Lin, 1989; Ebner & Armstrong-James, 1990; Armstrong-James et al., 1992; Diamond, 2000]. Известно, что в раннем онтогенезе по мере созревания микроструктуры SmI отдельные нейроны образуют группы, сконцентрированные вблизи афферентов таламуса [Erzurumlu & Jhaveri, 1990; Jensen & Killackey 1987; Catalano et al., 1995; Killackey et al., 1995; Li et al., 1995], таким образом, таламические афференты являются своеобразным каркасом для формирования характерной цитоархитектоники "бочонков" в SmI. Мы предположили, что неоднородность таламических афферентов в слое V может модулировать формирование структурной неоднородности и способствовать вычленению двух подслоев Va и Vb. Учитывая иерархическую организацию таламо-кортикальных взаимодействий, мы разработали схему двух параллельных восходящих систем, по которым тактильные импульсы поступают от механорецепторов вибрисс к двум разным группам нейронов-мишеней в соответствующем проекционном представительстве неокортекса [Ситникова и Раевский, 2009]. Как известно, неокортекс получает таламические афференты от релейных ядер 1-ого порядка, а также ядер высших порядков (ассоциативные и неспецифические) [Sherman & Guillery, 2006]. Часть афферентов от вибрисс переключается в VPm (релейное ядро 1-ого порядка) и адресована нейронам SmI, расположенных в слоях VI и Vb, и их относят к лемнисковой системе. По нашим данным (Раздел 1.5), нейроны слоев VI и Vb чаще демонстрируют лемнисковые (фазические) реакции в ответ на специфическую стимуляцию вибрисс. Другая часть афферентов проходит через PO (ядро 2-ого порядка), формирует контакты с нейронами SmI в слое Va, где чаще наблюдаются тонические реакции, характерные для

паралемнисковой системы. Главное отличие лемникового ответа от паралемнискового заключается в отсутствии позднего активационного компонента, что может быть связано с особенностями конвергенции возбуждательных сигналов из таламуса (в соответствии со схемой Д.Х.Хьюбела и Т.Н.Визела [Hubel, 1982]) или быть результатом пространственно избирательного внутрикоркового торможения в соответствии с концепцией И.А.Шевелева (1984).

Обнаружена гетерохрония *фазических* и *тонических* ответов проекционной области вибрисс в SmI у крыс Wistar (Раздел 1.6). Показано, что *тоническая* форма реакций нейронов предшествовала *фазической* в слоях IV и Vb, получающих преимущественно лемниковую афферентацию от вибрисс. Созревание *фазических* реакций у крыс наблюдали в возрасте около 1.5 месяцев параллельно с развитием механизмов торможения и подавлением поздних активационных компонентов. Эти возрастные изменения могут быть основой совершенствования перцептивных функций нейронов, благодаря которым животные способны точнее локализовать стимул, что способствует формированию новых форм адаптивного поведения [Шулейкина-Турпаева, 1982; Хаютин, Дмитриева, 1991; Раевский и др., 1997].

Сенсорные факторы развития соматосенсорной коры в раннем онтогенезе

Хорошо известно, что сенсорный опыт на ранних этапах онтогенеза модулирует морфо-функциональное развитие мозга, и это касается функциональных свойств нейронов [Шулейкина, 1985; Fox, 1994; Simons & Land, 1987], микроструктуры отдельных нейронов и их групп [Carvell & Simons, 1980; Гладкович, 1985; Ситникова, 2000; Ситникова и Раевский, 2005; Chen et al., 2012], интегративных взаимодействий между нейронами [Land & Akhtar, 1987; O'Leary et al., 1994; Erzurumlu & Gaspar, 2012], и поведения в целом [Хаютин и Дмитриева, 1991; Раевский, 2002; Шишелова и Раевский, 2009; Chu et al., 2013]. В Разделе 1.6 было показано, что специфический сенсорный приток от вибрисс в раннем онтогенезе (критический период развития) модулирует процесс формирования *фазических* и *тонических* ответов нейронов SmI. У крыс, подвергшихся удалению вибрисс в первые 3 недели постнатального онтогенеза, наблюдали избыток возбуждательных реакций *фазического* («лемникового») типа в «паралемнисковом» слое Va и *тонического* («паралемнискового») типа в «лемниковом» слое IV. Иными словами, ограничение сенсорного притока от вибрисс способствовало формированию ответов, не являющихся типичными для исследованных слоев. Это воздействие меняло ход развития функциональных свойств нейронов SmI в течение 1-2 месяцев жизни крыс. Если у интактных животных с возрастом наблюдали угашение поздних тормозных реакций, тогда у вибриссэктомированных животных, наоборот - экспансию поздних тормозных ответов. Таким образом, вибриссэктомия приводила к *актуализации* механизмов торможения в слое Va, и этот процесс наблюдался в возрасте 1.5 месяцев.

Актуализация отдельных механизмов - важное свойство формирования функций в онтогенезе, тесно связанное с процессом *гетерохронного* созревания. Под *актуализацией* мы понимаем проявление новых функций, пребывавших в латентном состоянии [Ситникова, 1999; Ситникова, 2000]. Появление новых форм поведения в онтогенезе тесно связано с

последовательностью созревания и началом функционирования афферентных систем благодаря гетерохронному развитию морфо-функциональных свойств всех компонентов обеспечивающего их комплекса. Этот принцип лежит в основе в концепции системогенеза П.К. Анохина [1968], который можно объяснить следующим образом. На самых ранних этапах индивидуального развития происходит избирательное и ускоренное созревание именно тех элементов, которые необходимы для функционирования систем, обеспечивающих выживание организма на каждом конкретном этапе онтогенеза. Объединение разнородных структурных составляющих функциональной системы происходит благодаря консолидации отдельных ее частей, подвергшихся гетерохронному созреванию в раннем онтогенезе [Анохин, 1968]. По нашим представлениям [Ситникова, 1999; Ситникова, 2000], дефицит афферентного притока вызывает в интактных сенсорных системах более интенсивное и быстрое развитие тех процессов, которые в период нанесения воздействия находятся на стадии формирования. Тот факт, что удаление вибрисс в течение первых трёх недель жизни *актуализирует* процессы торможения в слое *Va* у животных 1.5-месячного возраста (Раздел 1.6), даёт основание предположить, что именно в этом возрасте происходит созревание тормозных механизмов в SmI у вибриссэктомированных животных [Ситникова, 2010]. Необходимо учесть, что у интактных животных первичные *тонические* реакции в слое *VI* существовали до 40-дневного возраста, а затем исчезали, а в вибриссэктомированной группе эта форма ответа была обнаружена и у старших животных. Таким образом, дефицит сенсорного притока в раннем онтогенезе нарушает последовательность гетерохронного созревания *фазических* и *тонических* реакций нейронов проекционной области вибрисс в SmI и это может быть одним из факторов, нарушающих процессы интеграции сенсорной информации в SmI, которая необходима для реализации видоспецифического поведения с участием вибротактильного анализатора.

Негативным последствием удаления вибрисс в раннем возрасте является ухудшение детекторных функций нейронов SmI и нарушение их рецептивных полей, что обусловлено дефицитом торможения [Ситникова, 2000; 2010] и изменениями на синаптическом уровне. Известно о снижении числа тормозных синапсов на дендритах нейронов слоя *IV* у крыс, подвергавшихся выщипыванию нескольких рядов вибрисс [Micheva & Beaulieu, 1995], число ГАМК-эргических нейронов в слое *IV* снизилось почти в два раза [Micheva & Beaulieu, 1997], в остальных слоях коры изменения отсутствовали.

Критический период структурно-функционального развития коры

Термин «критический период» был заимствован из этологии и первоначально использовался для описания механизмов импринтинга. Импринтинг, как феномен прочного запечатления первого сенсорного опыта, происходит в течение короткого периода времени («критический период»). В более широком смысле, сенсорный опыт модулирует формирование ранних форм поведения в течение строго ограниченного периода времени (критический период), а затем теряет своё значение при переходе к другому этапу онтогенеза в связи с реорганизацией функциональных систем при переходе на следующий этап развития [Раевский, 2002]. В

настоящее время понятие «критический период» вышло за рамки представлений о поведении и распространилось на его морфологический субстрат. Важным стало сенсорное наполнение «критического периода», а именно, тот факт, что сенсорный приток играет ключевую роль в процессе структурно-функционального созревания нейронов SmI. Некоторые зарубежные авторы ограничивают «критический период» развития вибротактильного анализатора временем формирования характерной архитектоники области "бочонков" в SmI, смещая акцент этого понятия с микроструктурного на функциональное созревание коры [Van der Loos & Woolsey, 1973; Belford & Killackey, 1980]. Следует оговориться, что это представление имеет историческую ценность, и оно было инспирировано открытием сенсорных факторов развития колонок глазодоминантности в зрительной коре у котят. Современные исследователи используют более широкое понимание «критического периода», распространяя его на функциональные свойства нейронов, включая пластичность [Hensch, 2003; Fox, 2008; Erzurumlu & Gaspar, 2012].

Что касается «критического периода» структурного формирования архитектоники "бочонков" в SmI, то он ограничен первыми 4-ми днями, и в это время повреждение проводящих нервов и фолликул вибрисс препятствует формированию "бочонков" в SmI [Killackey et al., 1981; Belford & Killackey, 1980]. Как известно, состригание вибрисс с 1 по 6 дни жизни не нарушает цитоархитектонику "бочонков" в SmI [Fox, 1992], но существенно меняет функциональные свойства нейронов [Fox 1992; Simons & Land 1987; Lee et al., 2009]. Наши исследования [Ситникова и Раевский, 2005] показали, что специфическая вибротактильная афферентация по-разному модулирует микроструктурное созревание отдельных нейронов области вибрисс в SmI в течение двух интервалов постнатального онтогенеза, с 1 по 20 день и с 9 по 20 дни. Более ранняя и продолжительная деафферентация (1-20 дни) имеет ряд негативных последствий, самое значимое из которых - снижение морфометрических показателей нейронов в слоях *III* и *IV*. Более поздняя деафферентация (9-20 дни) вызывает выраженные адаптивно-пластические изменения микроструктуры нейронов, которые, по-видимому, носят приспособительный характер.

Вибротактильная афферентация модулирует микроструктурное развитие нейронов SmI и их дендритного дерева не только до, но и после 9 дня [Ситникова, 2001; Ситникова и Раевский, 2005], т.е. по истечении классического «критического» периода формирования цитоархитектоники "бочонков" (первые 6 дней жизни). Мы не пытались формализовать понятие «критический период», однако надо признать, что оно постепенно размывается. Критическими в нашем понимании являются узкие временные окна, когда сенсорное наполнение определяет направленность структурно-функционального развития нервной системы. Недостаток или избыток сенсорного притока в этот период может привести к разнонаправленным и, зачастую, необратимым изменениям.

В итоге мы приходим к заключению, что сенсорный приток модулирует структурно-функциональное развитие неокортекса в раннем онтогенезе. Отдаленным последствием дефицита сенсорного притока является ухудшение детекторных свойств нейронов соматосенсорной коры, в основе которых могут лежать три процесса. Во-первых,

функциональная недостаточность механизмов торможения без изменения морфометрических свойств интернейронов коры и связанная с ней компенсаторная актуализация поздних компонентов торможения. Во-вторых, нарушение последовательности гетерохронного созревания *фазической* и *тонической* форм ответов нейронов, которое обусловлено недостатком модулирующего влияния таламических афферентов, а также нарушением активационно-тормозного баланса в деафферентированном неокортексе. В-третьих, изменения морфометрических свойств нейронов разных групп, сочетающие признаки недоразвития и конструктивные изменения.

Особенности абсанс-эпилепсии у крыс

Электроэнцефалографический паттерн пик-волновых разрядов

Объектом настоящего исследования были крысы линии WAG/Rij, которые в течение нескольких десятилетий используются в качестве модели абсанс-эпилепсии человека [van Luijtelaar & Coenen, 1986; van Luijtelaar & Coenen, 2003]. У человека абсанс-эпилепсия ('petit mal' или «малая эпилепсия») - это неконвульсивное эпилептическое расстройство неясной этиологии, которое проявляется клинически в виде кратковременного нарушения или потери сознания (от фр. 'absence' – отсутствие) [Panayiotopoulos, 2001] сопровождающимся появлением на ЭЭГ генерализованных двухсторонне-симметричных разрядов "пик-волна" с частотой 3 Гц. Наличие пик-волновых разрядов является диагностическим признаком абсанс-эпилепсии. Крысы линии WAG/Rij имеют генетическую предрасположенность к данному заболеванию, и, кроме того, удовлетворяют формальным требованиям, предъявляемых к животным моделям в биомедицинских исследованиях (Раздел 2.4.2). Бесспорное преимущество использования крыс WAG/Rij в качестве генетической модели абсанс-эпилепсии состоит в том, что эпилептические разряды у этих животных спонтанны, повторяются с определенной периодичностью и имеют генетический субстрат. Главное отличие между пароксизмальной активностью на ЭЭГ больных абсанс-эпилепсией и крыс WAG/Rij (и других линий) является частота пик-волновых разрядов, которая составляет 3 Гц у человека и 7-10 Гц у крыс. Мы связываем это отличие с особенностями ГАМК-эргической иннервации таламуса у крыс и у человека (Раздел 2.4.2²⁶). Несмотря на различия по частоте, структура пик-волновой активности у крыс WAG/Rij аналогична таковой у человека [Sitnikova & van Luijtelaar, 2007]. В Разделе 2.5 мы использовали критерии, рекомендованные международной комиссией по клинической энцефалографии [IFSECN, Chatrian et al., 1974], для стандартизации электроэнцефалографического паттерна SWD у крыс WAG/Rij. Мы пришли к заключению, что пик-волновые разряды у крыс линии WAG/Rij состоят из

²⁶ В дорсальном таламусе у крыс нет ГАМК-эргических нейронов (исключение - латеральное коленчатое тело), поэтому единственным источником торможения в таламусе служит ретикулярное таламическое ядро [Jones, 1985, Ohaga et al., 1983]. У человека тормозные нейроны находятся во всех без исключения ядрах таламуса, поэтому клетки таламуса получают тормозную иннервацию из двух источников: внешнего (нейроны RTN) и внутреннего (ГАМК-эргические нейроны локальных сетей таламуса).

последовательности эпилептиформных компонентов, аналогичных компонентам пик-волнового комплекса человека и могут быть описаны в рамках традиционных понятий клинической электроэнцефалографии [Weir, 1965]. Пик-волновые разряды (SWD) у крыс WAG/Rij содержат *Пик 1*, позитивный компонент (PT), *Пик 2* и *Волна*. *Волна* отличается высокой степенью генерализации; *Пик 2* имеет высокую амплитуду и локализован в передних областях коры; позитивный компонент является главной составной частью таламического потенциала. Близость электроэнцефалографических характеристик пик-волновых разрядов крыс WAG/Rij и человека служит основанием для использования этой линии в качестве адекватной модели абсанс-эпилепсии, отдавая приоритет использованию энцефалографических методов анализа в исследовании природы пик-волновой активности.

Нейронные механизмы формирования структуры комплексов пик-волна на ЭЭГ у крыс WAG/Rij

В Разделе 2.5 мы выделили основные компоненты, входящие в состав усредненного потенциала SWD в коре и в таламусе, руководствуясь рекомендациями международной комиссии по клинической энцефалографии [IFSECN, Chatrian et al., 1974] и традиционной терминологией, принятой в клинической электроэнцефалографии больных абсанс-эпилепсией [Weir, 1965].

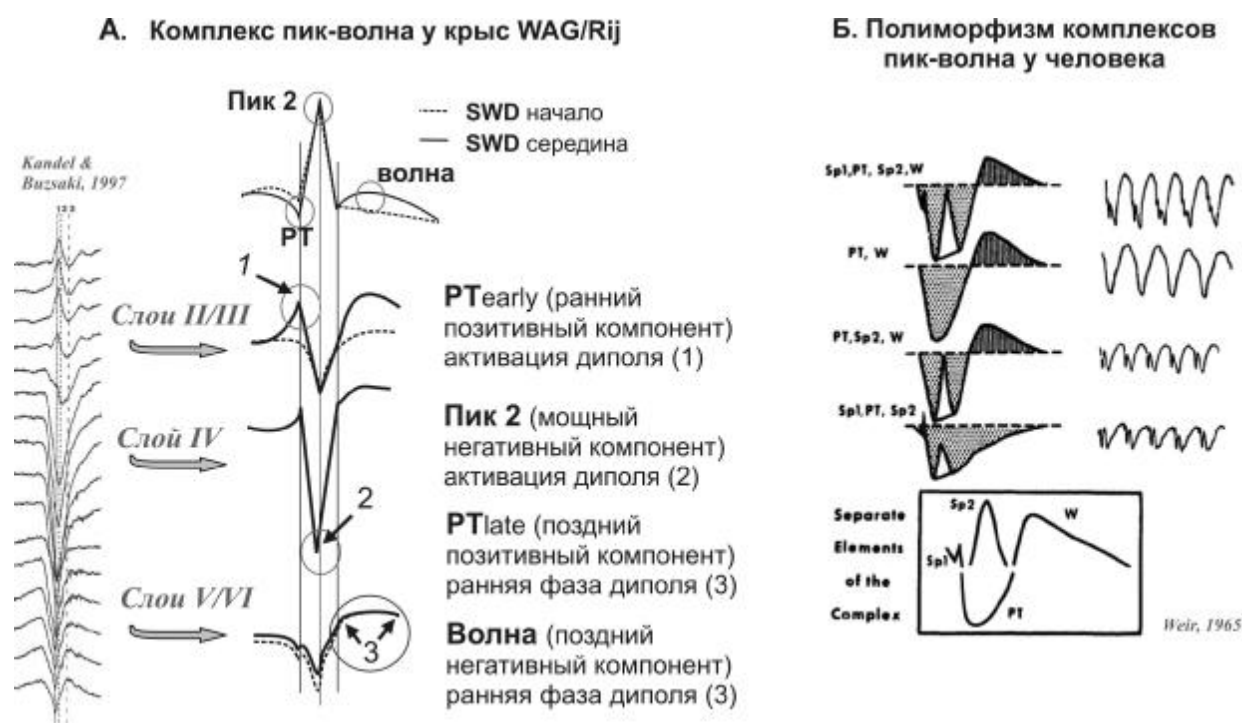


Рисунок 6.1. Структура комплексов пик-волна у крыс WAG/Rij и у больных абсанс-эпилепсией. А. Механизмы формирования трёх основных эпилептиформных компонентов SWD в лобной коре (интерпретация данных [Kandel & Buzsaki 1997]). Б. Обобщенная схема из работы Weir (1965), иллюстрирующая многообразие форм комплексов пик-волна у больных абсанс-эпилепсией.

Согласно нашим исследованиям [Sitnikova & van Luijtelaaar, 2007], в передних областях коры комплексы пик-волна у крыс WAG/Rij содержат три элемента: ранний положительный компонент (PT_{early} неустойчив, часто отсутствовал), высокоамплитудный отрицательный 'Пик 2'

и поздний положительный компонент PT_{late} . Сверхмощный компонент *Пик 2*, входящий в состав SWD в лобной коре, являлся центральным эпилептиформным компонентом в коре. Нейрофизиологические механизмы формирования *Пика 2* можно объяснить с привлечением результатов работы А. Kandel и G. Buzsaki (1997). Авторы регистрировали потенциал поля одновременно на разных уровнях неокортекса во время пик-волновых разрядов у крыс WAG/Rij и выделили несколько смещенных во времени и в пространстве источников электрической активности (диполей), которые в сумме давали всплеск электрического потенциала на поверхности коры. *Пик 2* являлся результатом пространственно-временной суммации потенциала поля трёх диполей (Рис.6.1А). По мнению авторов [Kandel & Buzsaki, 1997] в простом случае активация затрагивает слой IV, где наблюдается резкий негативный скачок потенциала (диполь 2, Рис.6.1А). Этому скачку может предшествовать небольшое негативное колебание потенциала в слоях V–VI, которое сопровождается резким изменением потенциала в слое II–III (диполь 1, Рис.6.1А), что соответствует компоненту PT_{early} перед компонентом *Пик 2*. Поздний позитивный компонент SWD (PT_{late}) формируется в коре в виде негативного колебания потенциала в слое II–III может быть зафиксирован на поверхности коры только при достаточно сильной негативной волне потенциала в слое IV и/или V–VI (диполь 3, Рис.6.1А). Продолжительная активация диполя 3 порождает компонент Волна в составе SWD.

Таблица 6.1. Нейронные процессы, лежащие в основе формирования эпилептиформных элементов комплекса пик-волна в коре.

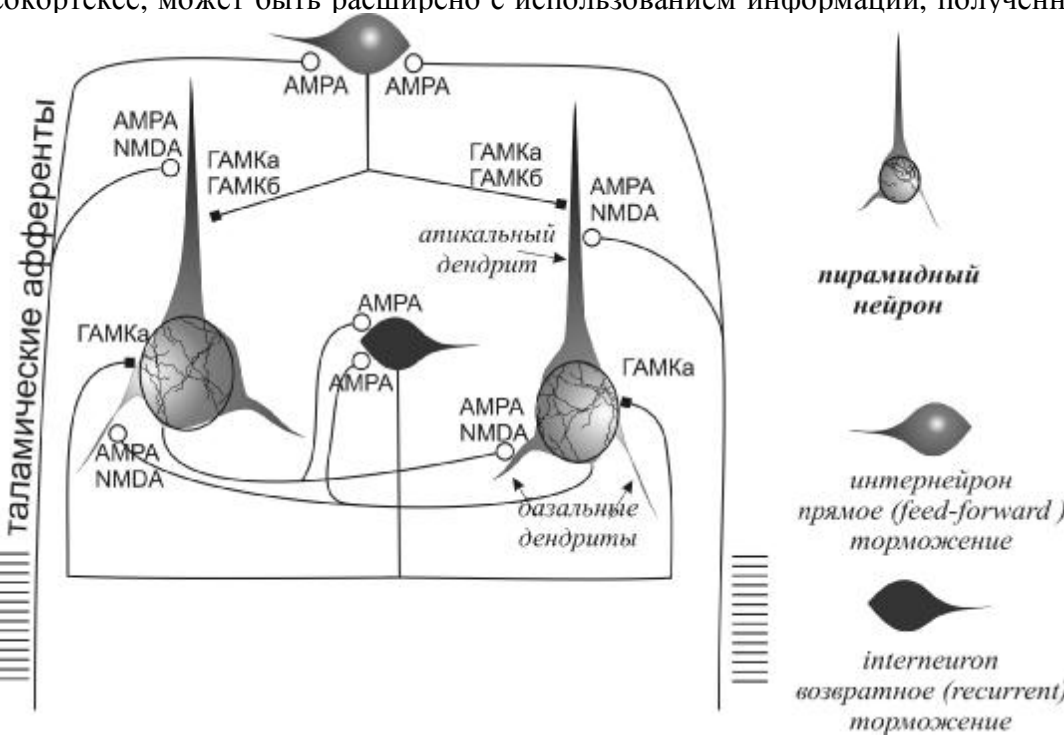
Эпилептиформные компоненты		Нейронные процессы	
Пик-волновые разряды у человека [Weir, 1965]	SWD у крыс WAG/Rij [Sitnikova & van Luijelaar, 2007]	Нейронные источники в коре [Kandel & Buzsaki, 1997]	Нейронная модель формирования SWD в коре [Sargsyan et al., 2007]
Позитивный компонент (PT)	PT_{early}	<u>Диполь 1</u> синхронная активация нейронов поверхностных слоев	АМРА-эргические контакты между соседними пирамидными нейронами
Пик 2 (sp2)	Пик 2	<u>Диполь 2</u> активация нейронов слоя IV	АМРА-эргические контакты афферентов таламуса с апикальными дендритами пирамидных нейронов с
Волна	(поздняя) Волна	<u>Диполь 3</u> длительная деактивация нейронов глубоких слоев	ГАМК-эргическое прямое торможение пирамидных нейронов

Стоит признать, что предложенная выше схема упрощает реальные процессы, происходящие в коре во время пик-волновых разрядов. Даже незначительные смещения диполей электрической активности в пространстве (из-за неоднородности распределения слоев в разных частях коры) и во времени (смещение на доли секунды) способны видоизменить форму локального потенциала и породить многообразие форм пик-волновой активности, которые хорошо известно специалистами по клинической ЭЭГ. Чтобы проиллюстрировать это

заклучение, на Рис.6.1Б приведена оригинальная иллюстрация из классической работы Weir (1965), демонстрирующая полиморфизм пик-волновых комплексов у больных абсанс-эпилепсией. Несмотря на видовые различия между крысами и человеком, пик-волновая активность у тех и у других имеет принципиально сходный план строения.

Понимание нейронных процессов, которые определяют форму элементов комплекса пик-волна в неокортексе, может быть расширено с использованием информации, полученной нами с

помощью
представл
эпилептич
содержаш
афферент;
Мод
крыс WA
рецепторс
компонен
пирамидн
зависят о
силы пря
таламичес



й модуль,
сти в виде
(Рис.6.2),
язанные с
ве SWD у
и AMPA-
зитивный
в между
а и форма
образом, от
язанных с

Рисунок 6.2. Схематическое изображение элементов нейронного модуля коры, которые были использованы нами для моделирования локального потенциала поля во время пик-волонвых разрядов [Sargsyan et al., 2007]. Единица модуля включает два пирамидных нейрона с AMPA- и NMDA-эргическими входами от таламуса, два типа ГАМК-эргических нейронов (один обеспечивает прямое торможение посредством ГАМКа- и ГАМКб-контактов, другой - возвратное ГАМКа-эргическое торможение). Модель активационные импульсы из таламуса с частотой 10 Гц [Sitnikova, 2009].

По нашим данным (Раздел 2.5), затылочная коры не столь активно участвует в формировании пик-волновой активности, как лобная и париетальная области [Sitnikova & van Luijtelea, 2007]. Форма потенциала SWD в затылочной коры и в таламусе была конгруэнтной. По-видимому, затылочная коры играет вспомогательную роль в распространении SWD, поскольку форма затылочного потенциала отражает потенциал таламуса. Другой характерной особенностью SWD в затылочной области является появление нетипичных элементов во время начального цикла SWD. Это две острые негативные волны, из которых первая могла быть аналогом *Пика 1*, вторая волна острая волна следовала с 30 мс задержкой относительно первой. Эти первичные компоненты незрелого комплекса пик-волна в затылочной коры и исчезали после начала SWD. Вероятно, в начале SWD активность затылочной коры не полностью синхронизирована с активностью остальных структур таламо-кортикальной системы и колебания

в затылочной коре приобретают зрелую форму спустя какое-то время после начала разрядов. В целом, структура комплексов пик-волна у крыс WAG/Rij обладает высокой стереотипией в лобной коре и в таламусе она мало видоизменяется в процессе SWD.

Факторы, способствующие формированию эпилептической активности в соматосенсорной коре у крыс

Гипервозбудимость нейронов, как известно, лежит в основе эпилептической активности. В силу видовых особенностей соматосенсорная кора у крыс, особенно у имбредных линий, может стать источником эпилептической активности, аналогом которой является абсанс-эпилепсия человека. Повышенная эпилептическая активность SmI у крыс, по нашему мнению, может быть результатом трансформации естественной ритмической активности этой области - '*соматосенсорного ритма*' [Nicoletis et al., 1995]. *Соматосенсорный ритм* у крыс является аналогом мю-ритма на ЭЭГ человека, и он обеспечивает сенсо-моторную координацию вибро-тактильного анализатора, а именно, интеграцию моторного компонента (ритмичные движения вибрисс) и потока видоспецифической афферентации (сенсорный компонент) [Ahissar et al., 1997, Nicoletis et al., 1995; Nicoletis, 2005; Kleinfeld et al., 2006]. *Соматосенсорный ритм* формируется локально в SmI примерно за 500 мс до начала движения вибрисс, охватывает таламус (ядра, связанные с SmI), что сопровождается синхронизацией таламо-кортикальной нейронной сети. Гиперсинхронная активность в таламо-кортикальной сети - патогенетический фактор абсанс-эпилепсии [Inoue et al., 1993; Seidenbecher et al., 2001; Blumenfeld, 2002; Leresche et al., 2012]. В Разделе 2.6.3 представлены аргументы в пользу того, что '*соматосенсорный ритм*' при неблагоприятных условиях может переродиться в гиперсинхронную пик-волновую активность (SWD), которая сопровождает абсанс-подобные состояния у крыс [van Luijtelaaar & Sitnikova, 2006; Sitnikova. 2010a].

Неблагоприятные факторы, способствующие эпилептизации нормальной ритмической активности SmI, можно разделить на три категории: 1) изменения мембранного аппарата нейронов, сопровождающиеся повышением возбудимости; 2) усиление синхронизации таламо-кортикальной системы; 3) повышение реактивности нейронов таламуса. Первый из вышеперечисленных факторов, по нашим данным, имеет приоритет перед двумя другими и предполагает ведущую роль коры в развитии судорожной активности. Этот вопрос подробно освещен в Разделе 2.6, а также в наших обзорных работах [van Luijtelaaar et al., 2011; Sitnikova, 2009; van Luijtelaaar & Sitnikova, 2006]. Например, у крыс, подвергавшихся удалению вибрисс в раннем онтогенезе [Ситникова, 1999; 2000] наблюдалось усиление возбудительных реакций нейронов соматосенсорной коры на фоне дефицита торможения. Аналогичная процедура у крыс с врожденной предрасположенностью к абсанс-эпилепсии WAG/Rij способствует более раннему и более бурному развитию судорожной активности (Раздел 4.1, [Sitnikova, 2011]). Два других фактора, предполагающих участие таламуса и таламо-кортикальной системы в патогенезе абсанс-эпилепсии, в целом, немаловажны, но они играют вспомогательную роль (Глава 3, [Sitnikova & van Luijtelaaar, 2006; van Luijtelaaar et al., 2006]).

Экспериментальное обоснование 'теории кортикального очага'

Результаты наших экспериментов (Глава 2.6) доказывают правомерность 'теории кортикального очага' [Meeren et al., 2002; 2005], которая гласит, что локальная область соматосенсорной коры является источником пик-волновых разрядов. По нашим данным, локальная инактивация SmI с использованием микроинъекций 2% лидокаина у крыс WAG/Rij в свободном поведении приводила к снижению числа SWD, при этом спектры мощности разрядов были сглаженными, что связано с подавлением компонента 'пик' в комплексе пик-волна [Sitnikova & van Luijtelaar, 2004; 2004a]. Результаты этой работы можно суммировать следующим образом. Во-первых, соматосенсорная кора играет важную роль в инициации и генерализации пик-волновых разрядов у крыс WAG/Rj [van Luijtelaar & Sitnikova, 2003; Sitnikova & van Luijtelaar, 2004; 2004a]. Последующие работы в этом направлении [Manning et al., 2004; Gurbanova et al., 2006] убедительно показывают, что *очаг* судорожной активности локализован в области периоральных проекций SmI. Во-вторых, локальная деактивация SmI привела к снижению числа SWD наблюдалось не только в деактивированной области, но и в лобной, височной и затылочной областях, то есть генерализованным. В обзоре [van Luijtelaar & Sitnikova, 2005] мы выделили глобальные и локальные процессы в таламо-кортикальной системе, которые лежат в основе формирования пик-волновой активности. К глобальным процессам можно отнести изменения нейрохимических свойств неокортекса, например, дефицит ГАМК-эргической иннервации коры [Luhmann et al., 1995] и нарушение экспрессии метаботропных глутаматэргических рецепторов mGlu1 и mGlu4 у крыс линии WAG/Rij [D'Amore et al., 2013; Ngomba et al., 2011]. Локальными являются специфические изменения физиологических свойств нейронов в SmI, которые затрагивают механизмы возбудимости неокортекса у крыс со склонностью к абсанс-эпилепсией (нарушение состава потенциал-зависимых натриевых каналов, ионотропных рецепторов к глутамату, подробнее в Разделе 2.6.3). Эти нарушения являются патогенетическими факторами развития эпилептического очага в SmI у крыс WAG/Rij.

Цитоархитектоника неокортекса при абсанс-эпилепсии и нарушения нейроглиальных соотношений

По нашим данным, абсанс-эпилепсия у крыс WAG/Rij сопровождается не только функциональными, но микроструктурными изменениями неокортекса (Раздел 2.7), что противоречит общепринятой концепции об отсутствии органических изменений головного мозга при данном заболевании [Panayiotopoulos, 2005]. Необходимо признать, что грубые изменения морфологии нервной ткани при абсанс-эпилепсии отсутствуют. В Разделе 2.7 показано, что, во-первых, изменяется клеточный состав во всех исследованных областях неокортекса: лобной (моторная), париетальной (SmI) и цингулярной [Куликова и др., 2009]. И, во-вторых, изменения в значительной степени затрагивают популяцию глиальных клеток, в меньшей степени - популяцию нейронов [Sitnikova et al., 2011].

Низкая плотность нейронов была обнаружена только в лобной (моторной) коре и только в слое II/III. В лобной коре, как известно, амплитуда SWD достигает максимума [Мидзяновская,

1999; Midzianovskaia et al., 2001]. Мы полагаем, что мощная электрическая активность этой области во время эпилептических разрядов может быть причиной утраты части нейронов. Как известно, эпилептический разряд сопровождается чрезмерной деполяризацией нейронов и мощным выбросом глутамата, который обладает эксайтотоксичностью (*excitotoxicity*) (обзор Holmes, 2002).. В избыточных количествах глутамат приводит к гиперактивации ионотропных рецепторов пресинаптических мембран (за счет активации NMDA и не-NMDA), в результате концентрация ионов кальция во внутриклеточном пространстве резко возрастает. Избыток внутриклеточного кальция вызывает каскадную активацию протеолитических ферментов, повышается концентрация оксида азота, увеличивается интенсивность перекисного окисления липидов, что инициирует разрушение клеточных структур и гибель нейронов.

Второе важное заключение, к которому мы приходим в Разделе 2.7 состоит в том, что абсанс-эпилепсия у крыс WAG/Rij сопровождается значимыми изменениями глиальных клеток и нейро-глиальных соотношений во всех исследованных областях неокортекса. Высокая плотность глиии и высокое значение нейро-глиального индекса были выявлены в слое II/III лобной (моторной) области на фоне снижения плотности нейронов. Низкое содержание глиии и низкое значение индекса в соматосенсорной области в слоях V и VI, по-видимому, связано с эпилептической активностью этой области. Известно, что инициация SWD происходит вследствие гипервозбудимости пирамидных нейронов, залегающих в глубоких слоях SmI (глубина >900 мкм) [D'Antuono et al., 2006], что соответствует уровню слоев V и VI, где мы обнаружили низкое содержание глиии. Мы полагаем, что недостаток нейро-глиальных взаимодействий в глубоких слоях SmI является одним из факторов, способствующих инициации SWD в этой области.

Изменения в цингулярной коре были аналогичны таковым в SmI (низкая плотность глиии и низкое значение индекса в слоях V и VI), и эти изменения, по-видимому, является врожденными. Поскольку цингулярная кора вовлечена в реализацию когнитивных функций, в процессы памяти и обучения, дефицит глиальных клеток и недостаток нейро-глиальных соотношений в этой области может быть одной из причин нарушения когнитивных функций у этих животных [Саркисова и др., 2005].

Ритмическая активность, предшествующая началу пик-волновых разрядов в коре и таламусе

Частотно-временные характеристики

Приступы абсанс-эпилепсии начинаются внезапно, без явных причин и предшествующей клинической картины (у пациентов аура отсутствует), поэтому одна из наших задач заключалась в выявлении характерных изменений на ЭЭГ, которые бы давали возможность предсказать начало эпилептических разрядов (Раздел 3.4 и 3.5).

На начальном этапе мы провели исследование спектров мощности 1-секундных эпизодов ЭЭГ, предшествующих появлению SWD (preSWD) в коре и в таламусе и обнаружили

низкочастотные компоненты на ЭЭГ (в диапазоне *дельта* и *тета*- частот) непосредственно перед началом пик-волновых разрядов у крыс WAG/Rij (Раздел 3.4.1). На лобной ЭЭГ нам не удалось обнаружить оформленные 5-9 Гц колебания до начала SWD у наших животных (крысы WAG/Rij), которые, как известно, предшествуют началу SWD у крыс GAERS с генетической предрасположенностью к абсанс-эпилепсии [Pinault et al., 2001; Pinault 2003; 2006]. Тем не менее, примерно в 73% случаев перед началом SWD наблюдали повышение мощности в диапазоне *тета* (4—8 Гц) и в 95% - увеличение *дельта* (1-4 Гц). С учетом доминирующей спектральной составляющей на лобной ЭЭГ, preSWD были разделены на 4 типа [Sitnikova & van Luijtelea, 2009]:

22% составляли preSWD Δ , у которых доминировал *дельта*-компонент (1-4 Гц);

38% - preSWD θ с доминирующим *тета*-компонентом (4-8 Гц);

35% - preSWD α с доминирующим *альфа*-компонентом (8-14 Гц);

5% предшественников формировались на фоне десинхронизации (preSWD n).

Помимо preSWD Δ , мощная *дельта*-составляющая была обнаружена на спектре preSWD θ и preSWD α (в сумме 95%, Рис. 3.3). Мощная *тета*-составляющая характеризовала не только preSWD θ , но и preSWD α . Различия между спектральными характеристиками описанных классов preSWD были статистически значимыми в лобной коре, однако в таламусе можно было проследить лишь некоторые сходные тенденции. В затылочной коре различия между разными типами preSWD отсутствовали. Возможно, что сложный спектральный состав preSWD является результатом локальных нейронных процессов внутри коры, и участие таламуса в них минимально. Подтверждением этому служат низкие значения функции когерентности между лобной корой и таламусом во время preSWD (0.05-0.1, Раздел 3.4.4)

Более тщательные исследования ритмической активности таламуса и коры с привлечением непрерывного вейвлетного преобразования в Разделе 3.4.5 позволили проследить динамику изменений частотного состава ЭЭГ во времени в течение 3 секунд до начала SWD [van Luijtelea et al., 2011]. Были разработаны критерии для автоматического выделения ритмических составляющих пред-эпилептической активности, на основании соотношения энергии вейвлетного спектра в нескольких полосах частот (технические подробности метода описаны в наших работах: van Luijtelea et al., 2011; Короновский и др., 2011; Павлов и др., 2012). Значимое увеличение мощности *дельта*-активности на лобной ЭЭГ (средняя частота 4.1 Гц) было обнаружено перед началом ~90% пик-волновых разрядов, увеличение *тета*-активности (средняя частота 8.6 Гц) – ~92% (Табл. 3.5). *Дельта*- и *тета*-предшественники SWD в лобной коре имели небольшую длительность, примерно 0.5 с, а их задержка относительно SWD составляла около 0.4-0.5 с. В таламусе (VPM) началу SWD тоже предшествовали короткие эпизоды *дельта*- и *тета*-активности. *Дельта*- и *тета*-компоненты предшествовали примерно равному числу SWD, ~82% от общего числа эпилептических разрядов, что значимо ниже, чем в лобной коре. Более того, *дельта*-компонент перед началом SWD появлялся в лобной коре на ~100 мс раньше, чем в таламусе.

Подводя итог собственным исследованиями и суммируя литературные данные, мы предположили, что про-эпилептическая *дельта*-активность имеет внутрикортикальное происхождение и отражает процесс инициации эпилептических разрядов [van Luijtelaar et al., 2011, 2011a; Ситникова и др., 2011]. Аргументы в пользу этого предположения изложены в Разделе 3.5. Контраргументом может являться тот факт, что *дельта*-активность имеет двоякую природу и может формироваться как в коре, так и в таламусе [Steriade, 2002]. Мы считаем, что усиление кортикального (а не таламического) *дельта*-компонента сопутствует инициации SWD [van Luijtelaar et al., 2011, 2011a]. Возможный нейрофизиологический механизм *дельта*-предшествования SWD описан в Разделе 3.5.1. Он предполагает следующие ключевые моменты. Во-первых, медленно-волновая *дельта*-активность формируется нейронными ансамблями, содержащими пейсмекерные нейроны, функции которых реализуются посредством I_h -каналов [McCormick & Pape, 1990; Chen et al., 2002]. Во-вторых, нарушения в работе ионных h -каналов являются патогенетическим фактором развития абсанс-эпилепсии [Pape, 1998; Poolos, 2005; Blumenfeld et al., 2008]. В-третьих, абсанс-эпилепсия сопровождается увеличением плотности I_h -каналов в коре больших полушарий [Blumenfeld et al., 2008], поэтому действия, направленные на нормализацию плотности I_h -каналов, способны предотвратить появление судорожных разрядов. В настоящее время проводится разработка возможных путей коррекции I_h -каналов, которые можно использовать для терапии эпилептических расстройств (*channelopathy*), что открывает новые перспективы предотвращения различных форм эпилепсии на самых ранних стадиях заболевания [Chen et al., 2002; Strauss et al., 2004; Poolos, 2005]. Этот подход призван снизить число судорожных разрядов и облегчить симптомы заболевания. Для оценки эффективности любых противоэпилептических средств необходим комплексный подход, особенно на начальном этапе, когда потребуется мониторинг судорожной активности. На этом этапе анализ частотно-временной структуры ЭЭГ может иметь прогностическое значение. В качестве индикатора положительной динамики может быть снижение пред-эпилептического *дельта*-компонента, свидетельствующее о нормализации ритмической активности таламо-кортикальной системы.

Феноменология явления и нейрофизиологические механизмы

Перед началом SWD у крыс WAG/Rij наблюдаются короткие эпизоды ритмической активности в диапазоне от 3 до 12 Гц, которые мы условно разделили на *дельта*-, *тета* и *альфа*-компоненты, предшествующие SWD. В той или иной мере эти три компонента присутствовали на спектрах мощности перед началом SWD в лобной коре и в таламусе, но связь между параметрами Δ , θ и α компонентов в коре и в таламусе была неочевидной. Во-первых, в таламусе наиболее мощная спектральная составляющая preSWD принадлежала диапазону *тета*-частот, а в коре - диапазону *дельта*. В частности, *тета*-компонент наблюдался на таламических спектрах мощности у всех типов preSWD (preSWD Δ , preSWD θ и preSWD α) вне зависимости от того, какой спектральный компонент доминировал на лобной ЭЭГ (Рис. 3.3). Во-вторых, функция таламо-кортикальной когерентности перед началом SWD оставалась крайне низкой (0.05-0.1) и не имела

пиков в диапазоне *дельта/тета* (Раздел 3.4.4, Рис. 3.6). В-третьих, частотные характеристики *тета/альфа*-предшественников SWD в коре и таламусе совпадали, о чем свидетельствует высокая корреляция (0.98) между значениями частоты этого ритмического компонента в лобной коре и таламусе (f_d), что предполагает одновременное участие таламуса и коры в поддержании *тета/альфа*-компонента preSWD. В свою очередь, корреляции между значениями частоты *дельта*-предшественников SWD (f_t) в лобной коре и в таламусе отсутствовали, следовательно, механизмы *дельта*-компонентов preSWD в кортикальной и таламической частях характеризовались некоторой независимостью. В-четвертых, при анализе параметров *дельта*-предшественников были обнаружены значимые отрицательные корреляции между их частотой и длительностью в лобной коре, т.е. чем выше была частота *дельта*-компонента, тем он короче (возможным объяснением этого феномена мог служить гипотетический механизм, способствующий прекращению *дельта*-компонента preSWD, частота которого оказывалась слишком высокой). У *тета/альфа*-предшественников подобные корреляции отсутствовали.

Вопрос о природе пред-эпилептических *дельта*- и *тета/альфа*-компонентов является дискуссионным. В Разделе 3.5 мы обобщили имеющиеся литературные данные о возможных нейрофизиологических механизмах этих двух компонентов preSWD. Как упоминалось выше, пред-эпилептическая *дельта*-активность, по-видимому, формируется нейронами неокортекса, которые способны генерировать ритмическую активность благодаря наличию *Ih*-каналов [van Luijtelea et al., 2011, 2011a]. Таламический *дельта*-компонент, по-видимому, вторичен по отношению к кортикальному, так как, во-первых, кортикальный *дельта*-компонент предшествует большему числу SWD, чем таламический и, во-вторых, кортикальный *дельта*-компонент опережает таламический на ~100 мс (Раздел 3.4.4, [van Luijtelea et al., 2011]). Появление *дельта*-активности до начала пик-волнового разряда в передних областях коры может запускать каскад процессов в таламо-кортикальной сети, что приводит к развитию гиперсинхронных эпилептических разрядов.

Спектральный анализ (Раздел 3.4.1) продемонстрировал, что около 73% предшественников SWD (preSWD θ +preSWD α) характеризовались пиком мощности в диапазоне *тета/альфа* частот (6.5-9 Гц). Сходную картину выявил вейвлетный анализ (Раздел 3.4): перед началом большинства SWD (92 %) на лобной ЭЭГ появлялся короткий (0.46 с) ~8.6 Гц ритмический компонент. Этот компонент аналогичен 5–9 Гц колебаниям, которые, как известно, предшествует началу SWD у крыс линии GAERS [Pinault et al., 2001]. Это колебания формируются в глубоких слоях соматосенсорной области неокортекса и затем проецируются в релейные ядра соответствующей (соматосенсорной) части таламуса [Pinault et al., 2006]. Мы предполагаем, что у животных с предрасположенностью к абсанс-эпилепсии ритмический *тета/альфа*-компонент мог принять форму пик-волнового разряда вследствие гиперсинхронизации нейронной активности в кортико-таламо-кортикальной сети.

Одновременное появление *дельта*- и *тета/альфа*-компонентов нетипично для фоновой ЭЭГ, оно характеризует особое состояние таламо-кортикальной сети перед началом SWD

("судорожная готовность") [Ситникова и др., 2011]. Перед началом SWD в лобной коре в случае 89% обнаруживали оба компонента *дельта* и *тета*, тогда как в других состояниях (сон, бодрствование) вероятность одновременного появления *дельта* и *тета* компонентов на ЭЭГ была на порядок ниже (от 2.2% от общего времени глубокого сна до 12.9% от времени пассивного бодрствования). Состояние «судорожной готовности» может сформироваться под влиянием совокупности внутренних факторов, определяющих процессы возбудимости нейронов коры и таламуса, в синхронизации в таламо-кортикальной системе, а также внешних факторов (медикаментозное вмешательство, изменение длительности и качества сна и т.п.). До тех пор, пока не будут изучены механизмы формирования «судорожной готовности», предсказание пик-волновых разрядов будет чрезвычайно трудной задачей.

Роль таламуса в формировании пик-волновых разрядов

Форма таламического потенциала пик-волновых разрядов

Неокортекс является интегративной частью таламо-кортикальной системы и патологическая активность, первоначально локализованная в SmI, неизбежно распространяется на связанные с ней ядра таламуса. В Разделе 2.5 мы показали, что форма таламического и кортикального потенциалов SWD несёт важную информацию об участии таламуса (вентропостеромедиального и ретикулярного ядер, VPM и RTN соотв.) в формировании генерализованной пик-волновой активности, однако форма таламического потенциала отличается от формы кортикального [Sitnikova & van Luijtelaa, 2007]. По нашим данным, форма электрического потенциала SWD в VPM и RTN довольно точно соответствует описанию Meeren и др. (2002, стр. 1488): *«таламические разряды представляли собой комбинацию медленных негативных и острых позитивных волн. Острой позитивной волне предшествовал очень острый (низкоамплитудный) негативный пик, которые появлялся на фоне убывающей негативной волны в некоторых таламических отведениях»*. В этом описании 'острая положительная волна' соответствует *PT* по классификации, принятой в клинической электроэнцефалографии [Weir, 1965], а 'острый (низкоамплитудный) отрицательный пик' - *Пик 1*. Наши данные (Раздел 2.5.2) полностью подтверждают наблюдения Meeren и др. (2002): ранний негативный пик (*Пик 1*) был найден в составе SWD в VPM, но отсутствовал в RTN. Помимо этого, отдельные компоненты SWD появились в RTN и в VPM фактически без временной задержки, что предполагает очень тесные взаимодействия между этими двумя ядрами. Последовательность элементов комплекса пик-волна и задержка между ними характеризует процесс распространения пик-волновых разрядов в таламо-кортикальной системе.

Пик 1 был обнаружен в VPM за 12 мс до появления главного компонента *Пик 2* в лобной коре и практически одновременно (без временной задержки) с компонентом PT_{early} . Параметры PT_{early} варьировали у разных крыс и у разных SWD, и нам не удалось получать статистические значимые характеристики этого элемента. Трудно объяснить природу раннего компонента SWD

Пик 1. Как сказано выше, PT_{early} может отражать процесс возбуждения поверхностных слоев коры, и обратного распространения коркового возбуждения в VPM в виде компонента *Пик 1*. Потребуется дальнейшие электрофизиологические эксперименты для того, чтобы прояснить природу взаимосвязи между таламическим компонентом *Пик 1* и кортикальным PT_{early} .

Если в лобной коре асимметрия SWD возрастает в течение разряда за счет увеличения амплитуды негативного компонента *Пик 2*, то таламусе потенциал SWD имеет симметричную форму. Временная динамика таламического SWD проявляется в увеличении амплитуды позитивного компонента. Форма потенциала SWD в таламусе отличается от таковой в лобной коре по следующим критериям:

1) SWD в лобно-париетальной области коры и в таламусе имеют противоположную полярность. Это можно объяснить особенностями формирования локальных электрических потенциалов головного мозга [Lopes da Silva and van Rotterdam, 1982]. Как известно, электрические токи, формирующихся на поверхности коры и в глубоких структурах имеют противоположную ориентацию.

2) Острый позитивный компонент (*PT*) таламического SWD появляется в обоих ядрах таламуса через 7-9 мс после появления компонента *Пик 2* в лобной коре. Вполне вероятно, что PT в таламус представляет собой проекцию кортикального компонента *Пик 2*.

Итак, потенциал SWD в коре и в таламусе содержат определенный набор компонентов, которые следуют друг за другом в определенной последовательности и с определенным временным интервалом. Форма потенциала SWD в коре и в таламусе совпадает, и это даёт основания предположить, что распространение SWD по таламо-кортикальной системе не является простой трансдукцией электрической активности, но каждая часть системы активно участвует в формировании устойчивого паттерна SWD.

Внутриталамические механизмы пик-волновых разрядов

Применение современных методов нейровизуализации, т.е. магнитно-резонансной томографии (МРТ) и магнитно-резонансной спектроскопии (МРС) представило новые доказательства о важности таламуса в развитии абсанс-эпилепсии у человека (Раздел 3.2, Табл.3.3). Это несколько поколебало позиции кортикальной теории абсанс-эпилепсии, апологетами которой долгое время остаются специалисты, ведущие клиническую практику [Bancaud 1969; Niedermeyer, 1996; Holmes et al., 2004]. По мнению этих авторов, главная причина этого заболевания кроется в структурно-функциональных нарушениях в лобной коре. Прямо противоположное мнение сформировалось на базе экспериментальных работ. Ранние исследования *in vitro* и *in vivo* на животных убедительно показали, что источником SWD является ретикулярное таламическое ядро (RTN) [Seidenbecher et al, 1998; обзор Avanzini & Franceschetti, 2003]. SWD у крыс линии GAERS исчезали после электролитического разрушения латерального таламуса [Vergnes & Marescaux, 1992], а также после более локального химического разрушения ядра RTN [Avanzini et al., 1992, 1993]. Аналогичные результаты были получены и у крыс

WAG/Rij: пик-волновая прекращалась после химического разрушения (иботеновой кислотой) обширных областей таламуса, включающих RTN [Meeren et al, 2009]. RTN содержит тормозные нейроны, не имеет прямых проекций в коре больших полушарий и иннервирует дорсальный таламус [Ohara & Lieberman, 1985] (у крыс RTN служит единственным источником торможения ядер дорсального таламуса, поскольку последние не имеют собственных тормозных нейронов), поэтому тесные двусторонние взаимодействия между RTN и VPM могут способствовать поддержанию ритмической активности таламуса во время SWD.

И это действительно так. В Главе 5.1 мы показали, что начало SWD сопровождается значимым увеличением когерентности между RTN и VPM в узкой полосе частот 8-11.5 Гц. Более того, RTN-VPM являлась единственной из исследованных пар таламо-кортикальной системы, где начало SWD сопровождалось снижением когерентности в гамма-диапазоне [Sitnikova & van Luijtelaa, 2006]. По всей видимости, процесс усиления синхронизации в диапазоне альфа-частот связан с десинхронизацией в гамма-диапазоне (снижение когерентности). Вероятно, что уменьшение согласованности на высоких частотах способствует более тесной функциональной взаимосвязи между RTN и VPM в полосе частот, характерных для SWD (8-11.5 Гц).

Примечательно, что некоторые фармакологические агенты усиливают ритмическую активность нейронов RTN, что способствует росту числа и длительности SWD. По нашим данным (Раздел 4.1) снижение норадренэргической иннервации головного мозга, вызванное системным введением блокатора альфа-2 рецепторов клонидина, увеличивала спектральную мощность электрической активности в RTN во время SWD исключительно в характерной полосе альфа-частот 9-12 Гц, и при этом наблюдался значимый рост числа и длительности генерализованных SWD (1-ого типа) [Sitnikova & van Luijtelaa, 2005]. Мы полагаем, что описанный в Разделе 4.4 про-эпилептический эффект клонидина (вещество, снижающее норадренэргическую иннервацию) связан с усилением ритмической активности в RTN в характерной для SWD полосе частот 9-12 Гц. Помимо общего системного действия, клонидин мог воздействовать локально на нейроны RTN из-за того, что эти нейроны экспрессируют альфа-адренорецепторы на постсинаптических мембранах [Buzsáki et al., 1991], и они особо чувствительны к дефициту норадреналина (Раздел 4.4.3, Рис.4.15). В подтверждение этому предположению можно привести два факта [Sitnikova & van Luijtelaa, 2005]. Во-первых, в других состояниях (сон, SWD 2-ого типа) спектральная мощность в RTN в полосе 9-12 Гц не отличалась от контроля. Во-вторых, мощность 9-12 Гц во время SWD в других частях таламо-кортикальной системы оставалась неизменной (в релейном ядре таламуса VPM и затылочной коре) или снижалась (лобная кора).

Итак, наши исследования позволяют сделать вывод о том, что в стандартных условиях RTN играет вспомогательную роль в развитии SWD [van Luijtelaa & Sitnikova, 2006; Sitnikova, 2012, 2010a; van Luijtelaa et al., 2011, 2011a]. Данная точка зрения согласуется с результатами других работ [Meeren et al., 2002; Meeren, 2002; Richards et al., 2003; Steriade 2003, 2005; Pinault, 2003; Pinault et al., 2006], которые можно обобщить следующим образом

1) Отсутствие признаков микроструктурной патологии в RTN. По данным световой и электронной микроскопии, у крыс WAG/Rij синаптическая организация RTN не отличается от крыс контрольной линии ACI без признаков эпилепсии [van de Bovenkamp-Janssen et al., 2004]. Микроструктурный анализ RTN у крыс GAERS с генетической предрасположенностью к абсанс-эпилепсии не выявил значимых нарушений ни структуры, ни числа нейронов [Sabers et al., 1996].

2) Электрофизиологические исследования *in vivo* и методы нейромоделирования показывают, что эпилептическая активность пик-волна формируются в неокортексе вследствие нарушения процессов возбудимости нейронов, пик-волновая активность быстро распространяется по системе внутрикорткальных связей, в последующем поступает в RTN и ядра дорсального таламуса [Destexhe & Sejnowski, 2001; Meeren, 2002; Steriade, 2003,2005; Polack et al., 2007, 2009].

Таламо-кортикальные механизмы абсанс-эпилепсии (пик-волновые разряды)

Характер пред-эпилептической активности и особенности таламо-кортикальной синхронизации при инициации пик-волновых разрядов

Спектральный анализ показал, что характер ритмической активности ЭЭГ перед началом пик-волновых разрядов почти не влиял на особенности спектра последующих SWD (Раздел 3.4.3). В частности, SWD α , предшественники которых содержали мощный *альфа*-компонент (preSWD α), отличались более высокой, чем у других SWD, мощностью *альфа*-компонента в лобной коре и в таламусе. Мощность доминирующего *дельта*-компонента в спектре предшественников preSWD Δ после начала SWD снижалась до обычного уровня, поэтому у SWD Δ мощность *дельта*-компонента не отличалась от остальных SWD, хотя отмечалась низкая мощность *тета*- и *альфа*-составляющих.

В Разделе 3.4.3 исследовано предположение, что ритмическая активность перед началом SWD могла повлиять на характер синхронизации таламо-кортикальной сети при переходе к preSWD \rightarrow SWD. Это вопрос был исследован путём расчета функции когерентности между разными частями таламо-кортикальной сети.

Внутриталамическая когерентность между RTN и VPM у всех типов preSWD была высокой (0.8 и выше), что предполагает мощную синхронизацию RTN и VPM ещё до начала SWD. Появление SWD несколько увеличило значения таламо-таламической когерентности, который достиг уровня статистической значимости у preSWD $n\rightarrow$ SWD n (8-11 Гц) и у preSWD $\Delta\rightarrow$ SWD Δ (9.5-12.5 Гц). Кроме того, переход preSWD \rightarrow SWD сопровождался снижением таламо-таламической когерентности в диапазоне низких частот от 1 до 8 Гц, т.е. SWD формировались на фоне подавления низкочастотной синхронизации между двумя ключевыми ядрами таламуса, RTN и VPM. Этот факт можно объяснить с позиции хорошо известного нейрофизиологического феномена взаимного исключения *альфа* (7-14 Гц) и *дельта* (1-4 Гц)

активности таламуса [Nuñez et al., 1992]. Как известно, мембранный потенциал таламо-кортикальных нейронов (релейные ядра) определяет частоту синхронной ритмической активности таламической нейронной сети, состоящей из релейных ядер таламуса и RTN. *Дельта*-колебания (1-4 Гц) формируются, когда мембранный потенциал таламо-кортикальных нейронов находится в пределах -68 и -90 мВ. Повышение мембранного потенциала до -55 и -65 мВ приводит к росту частоты колебаний до 7-14 Гц, что соответствует диапазону *альфа*, характерному для сонных веретен и пик-волновых разрядов [Steriade, 2002]. Таким образом, снижение уровня 1-8 Гц синхронизации внутри таламуса может нивелировать низкочастотный компонент и способствовать более полной синхронизации таламо-кортикальной системы на частоте 8-12 Гц в начале SWD.

Внутрикортикальная (лобно-затылочная) когерентность до начала SWD оставалась низкой (0.05-0.1) и начало SWD сопровождалось умеренным ростом когерентности в *альфа*-диапазоне, соответствующей главной частоте SWD (8-10 Гц) и более выраженным ростом в *бета*-диапазоне, т.е. на частоте высших гармоник SWD (первой 16-20 Гц и второй 24-30 Гц). Переход $preSWD\alpha \rightarrow SWD\alpha$ не сопровождался увеличением когерентности в *альфа*-диапазоне (увеличивалась только *бета*-когерентность). Усиление лобно-затылочной синхронизации в диапазоне высших гармоник в начале SWD связано с формированием острого сверхмощного компонента "пик" в составе пик-волнового комплекса, наличие которого, как известно, порождает кратные гармоники в домене частот (спектр мощности и связанные с ним характеристики) [Sitnikova et al., 2009; Короновский и др., 2011; Павлов и др., 2012].

Таламо-кортикальная когерентность между лобной корой и VPM до начала SWD была относительно низкой (0.1-0.2), но при появлении SWD значения когерентности выросли до 0.4—0.6, и это в два раза выше, чем значения внутрикортикальной когерентности (0.2-0.4). Наиболее высокий рост таламо-кортикальной когерентности при переходе $preSWD \rightarrow SWD$ наблюдали в диапазоне *альфа*- и *бета*-частот.

Таким образом, переход $preSWD \rightarrow SWD$ для 4-х типов $preSWD$, отличавшиеся по частотному составу в лобной коре, мало отличался по характеру синхронизации таламо-кортикальной сети.

Динамика двусторонних таламо-кортикальных взаимодействий до, во время и после пик-волновых разрядов (расчет "причинности по Грейнджеру")

В Разделе 3.7 описана динамика взаимных влияний специфического соматосенсорного ядра таламуса (VPM) и лобной коры по мере появления, развития и прекращения пик-волновых разрядов. Был использован математический аппарат оценки "причинности по Грейнджеру" - это новый метод, рассматривающий два сигнала ЭЭГ как два параллельных и взаимосвязанных процесса. Метод использует информацию о прошлом одного процесса для предсказания второго, и позволяет восполнить недостатки традиционного метода оценки линейной корреляций между двумя сигналами в домене частот. Мы использовали расчет "причинности по Грейнджеру" с целью проследить временную динамику, установить силу и направленность воздействий

таламуса и лобной коры до, во время и после прекращения SWD [Sitnikova et al., 2008]. Результаты работы позволили сформулировать общие принципы поддержания и прекращения пик-волновых разрядов в таламо-кортикальной системе (Раздел 3.7.2).

Во-первых, момент начала SWD был связан с резким скачкообразным ростом "причинности Грейнджера", а в конце SWD функция имела гладкий вид и характеризовалась постепенным снижением (Рис. 3.14). Таким образом, инициация SWD - это быстроразвивающийся процесс, а окончание SWD - процесс медленный и постепенный.

Во-вторых, влияние *лобной коры* на *таламус* в начале SWD немного превышало фоновый уровень и вернулось к прежнему значению до завершения эпилептических разрядов. Воздействия *таламуса* на *лобную кору* существенно выросли в начале SWD и оставались на повышенном уровне после окончания разрядов. Можно предположить, что *лобная кора* на начальном этапе формирования SWD оказывает модулирующее влияние на ритмическую активность таламо-кортикальной системы и поддерживает эпилептическую активность, после чего её влияние быстро снижается до начальных значений. *Таламус* вовлечен в процесс поддержания и пролонгации SWD (влияние *таламуса* сохраняется высоким до конца SWD).

Для интерпретации полученных фактов (Раздел 3.7.2) мы использовали понятия об 'управляющих' и 'модулирующих' воздействиях в таламо-кортикальной системе (Раздел 1.4 [Crick & Koch, 1998]). Влияние *таламуса* на *лобную кору* резко возрастало в момент начала SWD, и выполняло роль *управляющего* фактора, действие которого направлено на повышение интенсивности и синхронизацию импульсной активности кортикальных клеток-мишеней. Влияние *лобной коры* на *таламус* в начале SWD было выше, чем в фоне, и это действие можно отнести к относительно слабому *модулирующему* влиянию, облегчающему распространение SWD. Снижение *модулирующего* влияния в конце эпилептического разряда препятствовало распространению SWD и способствовало купированию судорожной активности.

Результаты, представленные в Разделе 3.7, представляют начальный этап работ, где мы использовали линейную модель "причинности по Грейджеру" для оценки взаимодействия между лобной корой и таламусом (VPM) не менялись до момента начала SWD. К сожалению, эта линейная модель не имела предсказательной силы в отношении начала эпилептических разрядов. Очевидно, что ранние изменения в таламо-кортикальной системе, предшествующие началу SWD, имеют нелинейную природу. В настоящее время нами разработана нелинейная модель для расчетов "причинности по Грейджеру", которая может быть использована для прогнозирования начала судорожной активности (материал в процессе подготовки к публикации).

Динамика частоты ритмической активности в коре и таламусе на начальной и финальной фазе пик-волновых разрядов

Снижение частоты в течение SWD можно проследить у всех крыс WAG/Rij и GAERS, независимо от пола и возраста [Drinkenburg et al., 1993; Мидзяновская, 1999; Midzianovskaia et al. 2004; Габова и др. 2004; Bosnyakova et al., 2006; Sitnikova et al., 2009; Akman et al., 2010]. Постепенное угашение частоты и снижение амплитуды от начала к концу SWD, по сути,

отражают процесс прекращения судорожной активности, и, как уже было упомянуто выше, этот процесс может быть связан со снижением модулирующего влияния неокортекса (Раздел 3.7.2, [Stnikova et al., 2008]). О разном участии неокортекса и таламуса в процессах инициации и прекращения SWD могут свидетельствовать результаты спектрального анализа (Раздел 5.2.2, Рис.5.6), согласно которым значения частоты пика мощности в коре и таламусе не совпадают ни в начале, ни к концу SWD. В течение первой секунды SWD доминирующая частота лобной ЭЭГ составляет ~9.5 Гц, RTN ~9 Гц (т.е. на 0.5 Гц ниже), а VPM - ~8.5 Гц (на 0.5 Гц выше). В конце SWD на спектре мощности лобной коры можно выделить два обособленных пика с частотами ~7.5 Гц и ~8.5 Гц, при этом в VPM преобладает ~8.5 Гц компонент, а в RTN - ~7.5 Гц. Мы предложили, что частота главной ритмической составляющей отдельных частей таламо-кортикальной систем характеризует преобладающие процессы на разных этапах развития SWD. Во-первых, ~9.5 Гц составляющая появляется в начале SWD локально в коре (лобной) и исчезает к концу SWD, она может иметь внутрикортикальное происхождение и связана с инициацией разряда. Во-вторых, ~8.5 Гц составляющая наблюдается в начале SWD в VPM, а в конце SWD появляется и в лобной коре, т.е. охватывает на две структуры: "VPM - лобная кора". Она может распространяться из таламуса в неокортекс и связана с процессом поддержания разряда. В-третьих, ~7.5 Гц составляющая обнаруживается в конце SWD в двух структурах - лобной коре и RTN, она может быть иницирована лобной корой и распространяться в RTN (т.к. RTN не имеет прямых проекций в коре), её появление может быть связано с процессом прекращения SWD.

Весьма интересной оказалась динамика мощности *дельта*-компонента в течение SWD (0-4 Гц), описанная в Разделе 5.2.3. На спектре мощности лобной ЭЭГ мощность *дельта*-составляющей в начале SWD была низкой и повысилась к концу SWD, при этом в таламусе мощность *дельта* в течение SWD не изменилась. Мы предположили, что рост *дельта* в течение SWD отражает локальные изменения эпилептического потенциала в лобной коре, где, как известно, в начале SWD преобладает компонент "пик", а в конце - "волна" [Мидзяновская, 1999; Midzianovskaia et al., 2001; Sitnikova & van Luijtelaaar, 2007]. Поскольку "волна" - это медленная составляющая SWD, постепенное нарастание её амплитуды в процессе SWD закономерно вызывает увеличение мощности *дельта*-диапазона в лобной коре.

Помимо этого, наблюдался значимый рост мощности *тета*-диапазона от начала к концу SWD. Важно подчеркнуть, что увеличение мощности *тета* в конце SWD было обнаружено в исследованных ядрах таламуса и лобной коре, т.е. этот процесс носил глобальный характер и был связан со снижением частоты к концу SWD и смещением главного ритмического компонента в диапазон *тета*-частот.

Локальная и глобальная синхронизация в таламо-кортикальной системе при формировании пик-волновых разрядов

Исследования функции когерентности в таламо-кортикальной системе при формировании пик-волновых разрядов (Глава 3.6) позволили выделить процесс локальной синхронизации

эпилептогенной области в соматосенсорной коре с близлежащими областями неокортекса, а также процесс "глобальной" синхронизации коры и таламуса.

Локальная синхронизация (Рис. 3.12) характеризует процесс интеграции активности эпилептического очага в соматосенсорной коре с соседними областями в париетальной и лобной коре при инициации SWD. Мы полагаем, что синхронизация этой части неокортекса отражает локальные внутрикортикальные процессы на начальном этапе формирования эпилептической активности. Этот процесс сопровождается значительным ростом когерентности в широком диапазоне частот от 5(8) до 35.5(60) Гц и ослаблением когерентности в диапазоне 1-4 Гц. Важно отметить, что локальная синхронизация не ограничена характерным для SWD частотным диапазоном *альфа* (9-12 Гц).

Начало SWD было связано с усилением когерентных взаимодействий между всеми исследованными частями таламо-кортикальной системы, максимальные значения которых соответствовали диапазону частот, характерных для SWD, 9.5-10.2 Гц, а также гармонической составляющей - 16-21.5 Гц. Процесс *глобальной синхронизации* в таламо-кортикальной системе при развитии SWD можно проследить на горизонтальном (*межполушарный*) и вертикальном (*таламо-кортикальный*) уровнях:

Межполушарная синхронизация обеспечивала билатеральное распространение пик-волновой активности за счет мощных каллозальных связей. Эта форма взаимодействий между гомологичными (симметричными) областями коры отличались самыми высокими значениями функции когерентности в диапазоне 8-28 Гц, снижением когерентности в диапазоне *дельта* (1-4 Гц) и наличием дополнительного пика когерентности ~16 Гц.

Таламо-кортикальная синхронизация достигала наибольших значений между лобной корой обоими ядрами таламуса (VPM и RTN) в узкой полосе частот 8-11.5 Гц. Эта форма взаимодействий, по-видимому, обеспечивала поддержание и распространение основного ритма SWD в таламо-кортикальной системе.

В Главе 3.6 мы представили схему интегративных взаимодействий между отдельными частями таламо-кортикальной системы при развитии гиперсинхронной пик-волновой активности. Согласно нашим представлениям [van Luijtelaaar & Sitnikova, 2006; van Luijtelaaar et al, 2006a; Sitnikova, 2009, 2010, 2010a; Ситникова и др., 2011], каждая часть этой системы поддерживает ритмическую активность и взаимодействует с остальными частями на определенных "резонансных" частотах, значения которых зависят от структурно-функциональных особенностей взаимодействующих частей. Общим для всей таламо-кортикальной системы является глобальная синхронизация на частоте 9.5-10.2 Гц, которая является главной ритмической составляющей пик-волновой активности при абсанс-эпилепсии у крыс WAG/Rij.

Системные механизмы развития абсанс-эпилепсии

Онтогенез пик-волновой активности, «критический период» развития абсанс-эпилепсии

Электроэнцефалографические признаки абсанс-эпилепсии (генерализованные SWD) у крыс WAG/Rij прогрессируют в период с 5 по 9 месяц жизни: многократно увеличивается число и длительность разрядов, а также суммарное время эпилептической активности (Раздел 4.1.1, [Sitnikova, 2011]). Появлению устойчивых и регулярных SWD предшествует незрелые формы разрядов, которые напоминают по форме сонные веретена ('пик-волновые веретёна') (Рис. 4.16). Частота 'пик-волновых веретён' колеблется в пределах от 4-5 Гц до 7-8 Гц, что соответствует частоте незрелых пик-волновых разрядов у крыс линии GAERS, также склонных к абсанс-эпилепсии [Çarçak et al., 2008].

Обобщая наши данные, мы приходим к заключению, что пик-волновая активность развивается в онтогенезе постепенно и поступательно (Раздел 4.1.1), и этот процесс сопровождается нарушениями цитоархитектоники неокортекса (Раздел 2.7) и обусловлен склонностью соматосенсорной коры к развитию эпилептических разрядов (Раздел 2.6). Ключевым фактором развития эпилептической активности в соматосенсорной коре является повышение возбудимости этой области [Sitnikova & van Luijtelaar, 2004; 2004a; van Luijtelaar & Sitnikova, 2005; van Luijtelaar et al., 2011; Leresche et al., 2012]. Повышенная возбудимость соматосенсорной коры у крыс WAG/Rij предопределяется наследственными факторами, например, повышенная экспрессия потенциал-зависимых натриевых каналов [Klein et al., 2004] и низкий уровень экспрессии AMPA-рецепторов у ГАМК-ергических нейронов [van de Bovenkamp-Janssen et al., 2006] (подробнее в Разделе 2.6.3). С другой стороны, возбудимость нейронов меняется под влиянием внешних факторов среды, эти изменения в «критический» период развития могут быть необратимыми (Разделы 1.6-1.8).

Выше мы уже обсуждали проблему «критического» периода структурно-функционального созревания соматосенсорной системы. Учитывая важную роль SmI в патогенезе абсанс-эпилепсии у крыс WAG/Rij (Разделе 2.6), мы высказали идею о том, что «критический период» развития абсанс-эпилепсии совпадает с «критическим периодом» развития соматосенсорной чувствительности и соответствует первым неделям постнатального онтогенеза (Разделе 4.1.3). Предпосылкой для этого утверждения послужил обнаруженный нами повышенный уровень активационных реакций на фоне дефицита торможения в SmI у крыс, перенесших удаление вибрисс в раннем онтогенезе (Раздел 1.6, 1.8 [Ситникова, 2001; Ситникова, 2010]). Таким образом, дефицит раннего сенсорного опыта у крыс способствует повышению возбудимости той области коры, где наиболее высок риск развития эпилептического очага (Раздел 2.6.3 [van Luijtelaar & Sitnikova, 2005; Sitnikova, 2009]). Наша концепция «критического периода» абсанс-эпилепсии вступает в конфронтацию с К.А. Giblin и Н. Blumenfeld (2010). Авторы считают, что «критический период» развития абсанс-эпилепсии у крыс WAG/Rij соответствуют возрасту от 2 до 4 месяцев, когда появляются первые эпилептические разряды на

ЭЭГ и рост функциональной активности (upregulation) потенциал-зависимых натриевых каналов Nav 1.1 и 1.6 в соматосенсорной коре [Klein et al., 2004]. По нашему мнению, «критический период» развития абсанс-эпилепсии приходится на значительно более ранний этап онтогенеза, он не соответствует времени появления первых признаков болезни, а совпадает с «критическим периодом» структурно-функционального развития соматосенсорной коры.

Доказательства вышеописанной концепции представлены в Разделе 4.1. Для экспериментальной проверки этой концепции у крыс WAG/Rij мы проводили полное состригание вибрисс в течение первых трёх недель жизни. Преимуществом этого экспериментального подхода являются несколько принципиальных моментов: (1) воздействие было длительным, т.е. эксперимент был хроническим; (2) воздействие было щадящим - состригание вибрисс безболезненно и эффективно лишает видоспецифического сенсорного притока; (3) онтогенетический фактор – воздействие осуществлялось в течение критического периода развития. Было обнаружено, что ранняя сенсорная депривация приводит к более раннему и более бурному появлению эпилептических разрядов в возрасте 5-9 месяцев [Sitnikova, 2011]. Итак, критический период развития соматосенсорной чувствительности (в данном случае, вибро-тактильного анализатора) у крыс с генетической предрасположенностью к абсанс-эпилепсии является критическим и для формирования эпилептических разрядов в позднем онтогенезе. Ограничение сенсорного притока от вибрисс в течение первых недель жизни у крыс с предрасположенностью к абсанс-эпилепсии является неблагоприятным эпигенетическим фактором, который имеет отдаленные последствия, связанные с более ранним и бурным развитием эпилепсии у взрослых животных. Это противоречит представлениям о том, что внешние факторы не влияют на реализацию «генетической программы» абсанс-эпилепсии [Schridde & van Luijtelaaar, 2005].

Развитие абсанс-эпилепсии и особенности сна у крыс WAG/Rij

У крыс с наследственной абсанс-эпилепсией (линии WAG/Rij, GAERS) с возрастом происходит постепенное увеличение числа и длительности SWD [Coenen & van Luijtelaaar, 1987; Çarçak et al., 2008; Akman et al., 2010]. В Разделе 4.2.1 мы подтвердили этот факт, а также обнаружили, что усиление судорожной активности в ходе позднего онтогенеза крыс WAG/Rij связано со значительным ростом числа SWD в состоянии пассивного бодрствования (на фоне десинхронизации ЭЭГ) [Sitnikova, 2011]. Немаловажно, что эпилептическая активность во время дремоты и сна оставалась низкой и мало изменялась с возрастом.

Неблагоприятные факторы раннего развития (удаление вибрисс) усиливает пик-волновую активность в состоянии дремоты (Раздел 4.2.1 [Sitnikova, 2011]). В то время как генетически детерминированное прогрессирующее развитие абсанс-эпилепсии связано с увеличением эпилептической активности в состоянии бодрствования (на фоне десинхронизация ЭЭГ). Это свидетельствует о тесной взаимосвязи механизмов сна и абсанс-эпилепсии, которая на протяжении долгих лет является предметом тщательного изучения [Gloor et al., 1968,

Kostopoulos, 2000; Coenen & van Luijtelaar, 1986; Drinkenburg et al., 1991, 1993; Steriade, 2003; Bazil, 2003; van Luijtelaar & Bikbaev, 2007; Suntsova et al., 2009; Leresche et al., 2012].

Важной отличительной особенностью сна у взрослых крыс WAG/Rij, находящихся на симптоматической стадии абсанс-эпилепсии, является увеличение продолжительности промежуточной фазы сна по сравнению со здоровыми крысами Wistar в три раза [Gandolfo et al., 1990]. Промежуточная фаза сна – непродолжительная фаза характеризует переход от медленного к парадоксальному сну, когда высокоамплитудная альфа-активность в передних областях коры (сонные веретена или пик-волновая активность) сопровождается тета-ритмом в затылочных областях [Gottesmann, 1992]. Это - единственная фаза, когда одновременно работают две осцилляторные системы головного мозга - септо-гиппокампальная и таламо-кортикальная система [Ситникова, 2009]. В Разделе 4.2.2 мы выявили некоторые возрастные особенности промежуточной фазы сна у крыс WAG/Rij. Продолжительность этой фазы сна с возрастом (с 5 по 9 месяц) не изменялась, но усиливались проявления абсанс-эпилепсии, следовательно, реализация генетической программы развития абсанс-эпилепсии с возрастом у крыс WAG/Rij не сопровождалась изменениями промежуточной фазы сна. Это было справедливо только при отсутствии неблагоприятных факторов раннего развития. У крыс, подвергшихся удалению вибрисс в раннем онтогенезе, усиление эпилептической активности происходит параллельно с увеличением продолжительности промежуточной фазы сна.

Цитоархитектоника центра дофаминергической регуляции головного мозга в компактной части черной субстанции при абсанс-эпилепсии

Известно, что у крыс, имеющих склонность к абсанс-эпилепсии, нарушены функции дофаминергической нейромедиаторной системы [de Bruin et al., 2000; Мусина, 2011; Калимуллина и др., 2012]. Генетическая предрасположенность к абсанс-эпилепсии у крыс WAG/Rij сопряжена с рядом факторов, контролирующих экспрессию дофаминовых рецепторов D1 и D2. Во-первых, аллельная структура гена, ответственного за структуру дофаминовых рецепторов D2 (локус TAG 1A DRD2) у крыс WAG/Rij, влияет на интенсивность абсанс-эпилепсии. Этот ген в гомозиготном состоянии A1A1 определяет появление более продолжительных и многочисленных пик-волновых разрядов, чем в состоянии A2A2 [Мусина, 2011; Калимуллина и др., 2012]. Во-вторых, плотность D2-рецепторов в неокортексе и в стриатуме у крыс WAG/Rij выше, чем у крыс линии ACI без признаков абсанс-эпилепсии, а плотность D1-рецепторов, наоборот, ниже. Несмотря на описанные изменения дофаминовых рецепторов, концентрация дофамина у крыс линии WAG/Rij крыс не отличается от такового у контрольной линии крыс Wistar [Мидзяновская и др., 2004], т.е. абсанс-эпилепсия у крыс WAG/Rij напрямую не связана с дефицитом дофамина. Мидзяновская и соавторы (2004) выявили изменения метаболизма дофамина в тех областях головного мозга, которые участвуют в поддержании эпилептической активности (таламус и стриатум). Возможно, что эти изменения вторичны, а само развитие абсанс-эпилепсии у крыс WAG/Rij сопровождается «компенсированным дофаминергическим дефицитом». Вопрос о дофаминергической модуляции

абсанс-эпилепсии остается открытым. В Разделе 4.3 исследована взаимосвязь между интенсивностью абсанс-эпилепсии и микроструктурными изменениями в центре nigrostriарной части дофаминергической системы - в компактной части черной субстанции.

Исследования цитоструктуры черной субстанции у крыс WAG/Rij позволили выявить существенные возрастные изменения (Раздел 4.3.1 [Ситникова и др., 2012]). В период с 1 по 10 месяц постнатального онтогенеза число нейронов в этом ядре снизилось, и параллельно с этим увеличилась плотность глиальных клеток. Изменения были более выражены на периферии ядра. У 1-месячных животных обнаружена межполушарная асимметрия клеточного состава в черной субстанции: плотность нейронов в левом полушарии была ниже, чем в правом, а глиальных клеток, наоборот, выше. Утрата нейронов у 10-месячных крыс и заместительное увеличение плотности глиальных клеток проявлялись в большей степени в правом полушарии, что приводило к исчезновению межполушарной асимметрии клеточного состава этого ядра. Поскольку асимметрия является важной характеристикой нормального функционирования мозга, мы рассматриваем её исчезновение как деструктивное изменение.

При сопоставлении результатов микроструктурного анализа черной субстанции и данных электроэнцефалографического исследования, было обнаружено, что наименьшую плотность нейронов имели животные с минимальными проявлениями абсанс-эпилепсии. Этот факт невозможно объяснить с позиций дофаминергического дефицита, который мог бы являться одним из патогенетических факторов абсанс-эпилепсии. По данным литературы, абсанс-подобные состояния у крыс WAG/Rij обусловлены не столько дефицитом дофамина, сколько нарушением рецепторного аппарата D-рецепторов и процессами метаболизма дофамина [Мидзяновская и др., 2004; Бирюкова и др., 2006]. Суммируя наши результаты и литературные данные о возрастных изменениях дофаминовой системы у крыс WAG/Rij [Бирюкова и др., 2006; Birioukova, 2005], была сформулирована гипотеза о том, что на досимптоматической стадии абсанс-эпилепсии первичным является снижение плотности D1-рецепторов на мембране клеток-мишеней. Таким образом, часть дофаминергических терминалей оказывается невостребованной, и это служит сигналом для постепенной элиминации самих дофаминергических нейронов. Гибель этих клеток и снижение уровня дофаминергической иннервации головного мозга приводит к компенсаторному увеличению экспрессии D2-рецепторов по принципу «*up regulation*» [Ситникова и др., 2012a]. В настоящее время проводится экспериментальная проверка этого предположения.

Сонные веретена и пик-волновые разряды - нормальная и пароксизмальная формы ритмической активности таламо-кортикальной системы

Сравнение сонных веретен и пик-волновых разрядов

В литературе сформировались представления о том, что механизмы таламуса имеют ведущее значение в формировании сонных веретен, а механизмы коры - в формировании

эпилептических пик-волновых разрядов [Gloor et al., 1990; Avanzini et al., 1992, 1993; Kandel & Buzsáki, 1997; Destexhe & Sejnowski, 2001; Steriade et al., 1993; Steriade 2001, 2003, 2005]. Сонные веретена и пик-волновые разряды представляют собой нормальную и пароксизмальную форму таламо-кортикальной активности, что предполагает некоторую общность их механизмов, которые были исследованы в Главе 5.

Разделе 5.2 представлены результаты сравнительного анализа сонных веретен и SWD на ЭЭГ у крыс WAG/Rij, находящихся на симптоматической стадии болезни. Продолжительность SWD у этих животных была в 10 раз выше, чем у сонных веретен, а их средняя частота была на 2 Гц ниже (9.14 и 11.14 Гц соответственно). В лобной коре спектральная мощность SWD была выше, чем у сонных веретен примерно в два раза, в затылочной коре параметры SWD и сонных веретен мало отличались друг от друга.

Во время сонных веретен в лобной коре доминировал спектральный компонент с частотой 10-12 Гц, на таламическом спектре мощности пик в альфа-диапазоне отсутствовал. Электрическая активность таламуса во время сонных веретен представляла собой набор низкочастотных компонент в полосе частот до 10 Гц и резко отличалась от кортикальной. Различия между параметрами таламического и кортикального потенциала сонных веретен объясняются особенностями цитоморфологической организации. В таламусе нейроны расположены хаотично, что препятствует пространственной суммации их электрических полей, поэтому даже при высокой степени синхронизации таламических нейронов амплитуда суммарного электрического потенциала таламуса остаётся низкой. Неокортекс имеет высокоупорядоченную цитоархитектоническую структуру, содержит пирамидные нейроны, главные оси которых вытянуты вертикально и ориентированы параллельно друг другу, и это способствует суммации электрического потенциала, поэтому синхронная активность коры сопровождается высокоамплитудной активностью на ЭЭГ.

Для SWD характерна нисходящая динамика частоты во время разряда. По данным вейвлетного анализа, мгновенная частота SWD в лобной коре в момент начала разряда достигает ~ 15 Гц (Раздел 5.3.2, Рис. 5.10 [Павлов и др., 2012]), и это достаточно точно соответствует результатам Габовой и др. (2004), согласно которым частота SWD в самом начале составляет 12-16 Гц. По данным нашего спектрального анализа (Раздел 5.3.2) средняя частота SWD на лобной ЭЭГ в течение первой секунды составляет ~9 Гц и снижается к концу SWD до 7.5 Гц [Sitnikova et al., 2009]. Сонные веретена у крыс WAG/Rij продемонстрируют тенденцию к росту мгновенной частоты в течение веретена [Ситникова и др., 2012]. У животных на пред-симптоматической стадии болезни (в возрасте 5 мес) сонных веретен с частотой 10-12 Гц был обнаружен значимый рост частоты: в начале веретена частота составляла около 10 Гц и повышалась до 12 Гц в конце. Это свойство исчезало к 9-месячному возрасту при появлении явных симптомов абсанс-эпилепсии. Ранее мы предположили, что снижение частоты в течение SWD может быть связано со снижением модулирующего влияния неокортекса, недостаток которого способствует прекращению SWD (Раздел 3.7.2, [Sitnikova et al., 2008]). Противоположная динамика

мгновенной частоты в течение сонных веретен может быть связана с тем, что механизм прекращения веретена имеет противоположную направленность и связан со снижением модулирующего влияния таламуса.

Существенные отличия между SWD и веретенами были обнаружены по критерию количественных спектральных характеристик в традиционных диапазонах частот (Раздел 5.2.3).

Мощность *дельта*-диапазона (0-4 Гц) во время сонных веретен была выше, чем во время SWD как на лобной ЭЭГ (в начале SWD), так и в обоих таламических ядрах (VPM и RTN в начальную и в финальную фазу SWD). Высокий уровень *дельта*-составляющей сонных веретен можно объяснить сочетанным появлением сонных веретен и *дельта* волн на ЭЭГ (у крыс это частое явление во время сна). Высокий уровень медленно-волновой активности в таламо-кортикальной системе, в т.ч. и в *дельта*-диапазоне, является общей характеристикой состояния сна, включающего и эпизоды с сонными веретенами. Во время SWD, напротив, мощность *дельта* была относительно низкой, что может свидетельствовать о подавлении медленно-волнового компонента при развитии судорожной активности.

Мощность *альфа*-диапазона (8.5-12 Гц). Главная частота сонных веретен и SWD лежит в диапазоне *альфа*-частот, поэтому этот диапазон представляет наибольший интерес для сравнительного анализа спектров мощности. Мощность *альфа*-диапазона в лобной коре и в RTN (но не в VPM) SWD была выше, чем у сонных веретен. Эти различия прослеживались только в начальную фазу SWD, финальная фаза разрядов не отличалась от сонных веретен по критерию *альфа*-активности. Мы полагаем, что более высокая мощность в диапазоне *альфа* в начале SWD может быть следствием гипервозбудимости неокортекса (повышенная мощность суммарного потенциала поля) и гиперсинхронизации неокортекса с RTN. уровень *альфа*-активность в VPM был стабильным и не изменялся в течение SWD, его величина не превышала нормальных значений, характерных для сонных веретен. Это может косвенно свидетельствовать о второстепенной роли VPM в формировании пик-волновых разрядов.

Мощность *бета*-, *гамма-1* и *2* диапазонов (12.5-100 Гц) во время SWD была выше, чем во время сонных веретен но только в лобной коре, в таламусе эти различия отсутствовали. Причина высокого уровня высокочастотного диапазона во время SWD в неокортексе связана с наличием гармонических составляющих на спектре мощности, которые являются отражением острого компонента "пик" в составе эпилептических разрядов [Sitnikova et al., 2009; Короновский и др., 2011; Павлов и др., 2012]. Усиление мощности высокочастотного диапазона SWD можно рассматривать как следствие локальных процессов гипервозбудимости и гиперсинхронизации неокортекса [Sitnikova, 2010; Sitnikova et al., 2009].

Изложенные выше выводы основаны на результатах Раздела 5.2, где был использован традиционный Фурье-анализ. Этот мощный метод анализа ЭЭГ, основанный на статистическом анализе спектров мощности, имеет ряд недостатков, которые мы подробно обсуждаем в нашей монографии [Павлов и др., 2012]. При изучении частотно-временного профиля сонных веретен у крыс WAG/Rij (Разделе 5.3-5.4) мы столкнулись с чрезвычайно высоким разнообразием их

формы и частотного состава; малая продолжительность и нестационарность сонных веретен существенно ограничивала возможности Фурье-анализа. Возникла необходимость выбора нового подхода к анализу сонных веретен и, прежде всего, создания алгоритма для их автоматического распознавания на ЭЭГ. Мы разработали принципиально новый подход, нацеленный на выделение общего шаблона, обладающего максимальным сходством к наибольшему числу сонных веретен (*адаптивный вейвлетный анализ*, Раздел 5.3 [Sitnikova et al., 2009; Короновский и др., 2011; Павлов и др., 2012]). С использованием этого подхода мы выделили основной формообразующий компонент сонных веретен у крыс WAG/Rij - базис веретена 1-ого типа, который обладал сходством к максимальному числу сонных веретен на лобной ЭЭГ (90% веретен типичной формы), и который можно назвать 'архетипом' типичных сонных веретен [Sitnikova et al., 2009; Ситникова и др., 2012]. Кроме того, описали aberrantную форму сонно-веретенной активности, формообразующим компонентом которой был базис веретена 2-ого типа. На спектре мощности веретена 2-ого типа были обнаружены про-эпилептические высокочастотные составляющие 16.5 и 21.5 Гц, нетипичные для сонных веретен, поэтому мы предположили, что сонные веретена 2-ого типа могли возникнуть в результате эпилептической трансформации обычных сонных веретен.

В последствии для сокращения времени расчетов при анализе большого массива данных ЭЭГ, мы разработали новый алгоритм автоматического распознавания сонных веретен, SWD и связанных с ними колебаний, основанный на расчете энергии вейвлетного спектра в нескольких полосах частот [Грубов и др., 2011, 2012; Sitnikova et al., 2012]. Для выделения SWD проводили расчет суммарной энергии вейвлетного спектра в двух полосах частот F_{SWD} . [8, 14] и [30, 50] Гц, для сонных веретен - в диапазоне $F_{s1} \in [5-9]$ Гц и $F_{s2} \in [10-15]$ Гц. Как видно, набор доминирующих частот в составе сонных веретен (F_{s1} и F_{s2}) и SWD (F_{SWD}) принципиально различается, и именно это даёт возможность селективного распознавания этих двух паттернов на ЭЭГ.

Системные механизмы сонных веретен и пик-волновых разрядов

В Разделе 5.2.4 мы обнаружили, что формирование ритмической активности в таламо-кортикальной системе (SWD и сонные веретена) сопровождалось инверсией функции кросс-корреляции по сравнению состояния бодрствования, что связано с изменением полярности электрического потенциала в таламусе относительно коры. SWD формируются на фоне более высокой синхронизации таламо-кортикальной системы, о чем свидетельствуют высокие значения коэффициентов внутрикортикальной и таламо-кортикальной кросс-корреляций во время SWD по сравнению с сонными веретенами. Очевидно, что и SWD, и сонные веретена формируются в таламо-кортикальной системе, когда её функции не связаны с передачей внешней информации, нейроны релейных таламических ядер находятся в режиме пачечной активности (*bursting mode*), которому соответствует определенные значения мембранного потенциала и проводимости мембраны (нейронные механизмы сонных веретен и SWD описаны в Разделе 3.2). В состоянии

бодрствования импульсная активность таламо-кортикальных нейронов имеет тоническую форму (*tonic mode*), а таламо-кортикальная система является "сенсорными воротами" головного мозга.

Это означает, что временная динамика сонных веретен и SWD находится под контролем общего механизма, регулирующего цикл сон-бодрствование. В Разделе 5.5 была исследована временная динамика SWD и сонных веретен у крыс WAG/Rij в течение 24 часов. Оптимальной нелинейной моделью для описания динамики SWD и сонных веретен оказалась *on-off* перемежаемость. Руководствуясь методами нелинейной динамики, мы провели анализ продолжительности интервала (L) между последовательными событиями (SWD и веретенами) и обнаружили, что распределение числа событий, интервал между которыми менялся в логарифмической последовательности, подчинялось степенному закону с показателем степени $\alpha = -3/2$, что является отличительным признаком *on-off* перемежаемости [Sitnikova et al., 2012; Ситникова и др., 2011; Короновский и др., 2006, 2007; Hramov et al., 2006].

Что касается SWD, то их число во время темной фазы было выше, чем в светлую фазу [Короновский и др., 2006; 2007; Hramov et al., 2006], что соответствует литературным данным [Drinkenburg et al., 1991]. Мы исследовали динамику SWD у крыс WAG/Rij в условиях стандартного светового режима 12/12 часов на протяжении светлой и темной фаз по отдельности и обнаружили, что *on-off* перемежаемость прослеживалась в динамике SWD и в темную и в светлую фазу суток.

Наличие *on-off* перемежаемости в динамике сонных веретен и SWD означает, что эти два феномена имеют детерминированную природу и их появление подконтрольно некоему общему механизму. Наиболее вероятно, что роль контролирующего системного механизма выполняет роль ретикулярная активирующая система ствола мозга, которая оказывает модулирующее влияние на характер импульсной активности нейронов таламо-кортикальной системы. Согласно теоретическим представлениям нелинейной динамики о природе *on-off* перемежаемости, эта форма поведения формируется в системах, имеющих иерархическую организацию и состоящих из управляющей и управляемой подсистем [Кузнецов, 2001; Nagai et al., 1996]. Мы полагаем, что управляемой (осциллирующей) подсистемой является таламо-кортикальная сеть, и она генерирует сонные веретена в состоянии синхронизации и/или пик-волновые разряды в состоянии гиперсинхронизации (Раздел 5.3.5, Рис. 5.21). Вторая (управляющая) подсистема принадлежит к более высокой иерархии, и ею может быть ретикулярная активирующая система ствола мозга [Sitnikova et al., 2012; Ситникова и др., 2011].

Особенности сонных веретен у крыс с генетической предрасположенностью к абсанс-эпилепсии

Абсанс-эпилепсия у крыс WAG/Rij прогрессирует с возрастом параллельно с изменениями свойств нейронов коры и таламуса [обзор van Luijckelaeer et al., 2011]. Увеличение числа и длительности пик-волновой активности свидетельствует об усилении процесса патологической активности в таламо-кортикальной системе, и этот процесс может вызвать изменения формы нормальных таламо-кортикальных осцилляций - сонных веретен. Мы

показали, что свойства сонных веретен коррелируют с нарушениями в таламо-кортикальной системе при прогрессирующем развитии абсанс-эпилепсии.

Во-первых, у крыс WAG/Rij наблюдается эпилептическое перерождение сонно-веретенной активности и появление на ЭЭГ нетипичных сонных веретен 2-ого типа (Разделе 5.3.3, [Sitnikova et al., 2009]) и 'пик-волновых веретен', которые представляют собой незрелые формы разрядов (Рис. 4.16, [Sitnikova, 2012]). Сонные веретена 2-ого типа были распознаны на ЭЭГ автоматически с использованием нового метода вейвлетного анализа на базе адаптивной шаблонной функции "вейвлета веретена" 2-ого типа (Раздел 5.3.3, [Sitnikova et al., 2009; Короновский и др., 2011; Павлов и др., 2012]). Веретена этого типа составляли примерно ~10% от общего числа сонных веретен, они имели атипичную форму, их спектр содержал высокочастотный компонент (общий признак с SWD). Таким образом, на ЭЭГ у крыс WAG/Rij, помимо классических форм ритмической активности таламо-кортикальной системы - нормальной и пароксизмальной природы (соответственно, сонные веретена и пик-волновые разряды), существуют колебания переходного типа, наличие которых, по-видимому, связано с процессом эпилептизации нормального ритма. Информация об про-эпилептических формах ритмической активности на ЭЭГ может иметь прогностическую ценность в отношении дальнейшего развития абсанс-эпилепсии.

Втором этапе для исследования свойств сонных веретен при прогрессирующем развитии абсанс-эпилепсии был проведен подробный анализ частотно-временной структуры сонных веретен у крыс WAG/Rij с учетом индивидуального профиля судорожной активности (Разделе 5.4, [Ситникова и др., 2012]). Было обнаружено, что усиление эпилептической активности у крыс WAG/Rij в период между 5 и 9 месяцами постнатального онтогенеза сопровождался сокращением длительности сонных веретен. У животных с более интенсивными проявлениями абсанс-эпилепсии (высокий эпилептический "статус") длительность сонных веретен была ниже, чем у остальных животных. Высокий эпилептический статус у крыс линии WAG/Rij довольно слабо влиял на структуру сонных веретен, относящихся к двум традиционно выделяемым типам с частотой 8-10 Гц и 12-14 Гц, но оказывал значительное влияние на параметры 10-12 Гц веретен. Был обнаружен ряд изменений частотно-временной структуры сонных веретен, свидетельствующих о нарушении функциональных свойств таламо-кортикальной системы. У крыс с высокой эпилептической активностью процент 10-12 Гц веретен был ниже, чем у животных с низким эпилептическим статусом, и их средняя частота ниже. Этот тип сонных веретен характеризовался нетипичной угасающей динамикой частоты внутри веретена.

Таким образом, при прогрессирующем развитии абсанс-эпилепсии изменяются количественные и качественные параметры 10-12 Гц веретен, а также происходит снижение длительности веретен всех типов. Мы пришли к заключению, что развитие пароксизмальных пик-волновых разрядов в таламо-кортикальной сети затрудняет формирование нормальной ритмической активности в виде сонных веретен [Sitnikova et al., 2009, Ситникова и др., 2011; 2012]. Из литературы известно об обратной корреляционной зависимости между числом сонных

веретен и SWD [van Luijtelaar, 1997] и о возможности трансформации сонных веретен в пик-волновые разряды [Kostopoulos, 2000; von Krosigk et al., 1993]. Взаимоотношения между сонными веретенами и пик-волновыми разрядами нельзя с уверенностью назвать реципроктными и они не ограничены процессом трансформацией одного ритма в другой.

Пик-волновые разряды 2-ого типа

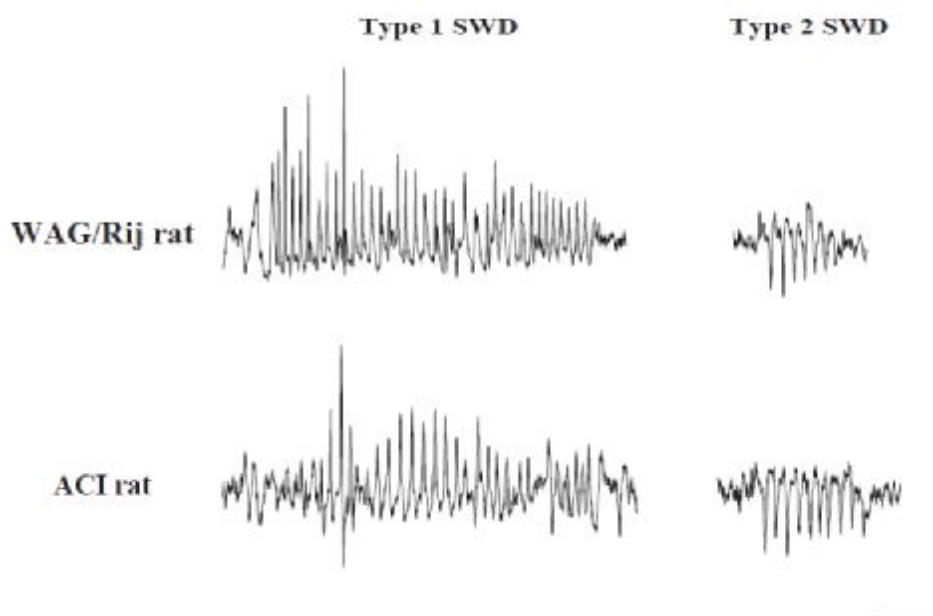
На ЭЭГ у крыс линии WAG/Rij можно выделить два типа пик-волновых разрядов. Наибольшей интерес в данной работе представляет генерализованная пик-волновая активность, характерная для абсанс-подобных состояний, т.н. SWD 1-ого типа с частотой 7-10 Гц. Ко второму типу относят 5-7 Гц ритм, имеющий вид аркообразных волн с преобладанием острого позитивного компонента и локализованный в затылочной коре [van Luijtelaar и Coenen, 1986; Мидзяновская, 1999]. Два типа пик-волновых разрядов отличаются по частоте и амплитуде, а также имеют разную чувствительность к нейромодуляторам и демонстрируют разную динамику в онтогенезе [van Luijtelaar & Coenen, 1986; Мидзяновская, 1999; Midzianovskaia et al., 2001; Schridde & van Luijtelaar, 2005]. Фармакологические методы исследования свидетельствуют о реципроктной связи между этими двумя типами SWD: вещества, способствующие увеличению числа SWD 1-ого типа, снижают число SWD 2-ого типа и наоборот [van Luijtelaar, 1995; Midzianovskaia et al., 2001]. Тем не менее, природа SWD 2-ого типа остаются малоизученной, и, чтобы прояснить эту проблему, мы исследовали взаимосвязь между SWD 1-ого и 2-ого типа.

Во-первых, мы стандартизировали форму потенциала у SWD 2-ого типа, руководствуясь принципами клинической ЭЭГ, и сравнили её с формой SWD 1-ого типа (Раздел 2.5). SWD 2-ого типа - это двухфазный потенциал, состоящий из высокоамплитудного острого позитивного компонента (*PT*) и негативной *Волны*. SWD 2-ого типа были локализованы в затылочной коре, синхронные колебания в лобной и париетальной коре, дорсальном гиппокампе были незначительными. Тот факт, что в затылочной коре структура SWD 2-ого и 1-ого типов была сходной, позволяет предположить, что SWD 2-ого типа также имеет пароксизмальную природу. Возможно, что эпилептогенные процессы в затылочной коре (или функционально связанных с ней структур таламо-кортикальной или септо-гиппокампальной системы) могут лежать в основе возникновения SWD 2-ого типа. Так, два типа SWD могут быть результатом эпилептической трансформации двух форм ритмической активности коры, описанных Semba & Komisaruk (1980, 1984) в диапазоне альфа (9 Гц) и тета (7 Гц) частот. Первый тип наблюдается, когда животное остается в неподвижном состоянии, он сопровождается тремором оральной мускулатуры и вибрисс, имеет таламо-кортикальное происхождение и его частота принадлежит *альфа*-диапазону. Гиперсинхронизация этой таламо-кортикальной *альфа*-активности SWD 1-ого типа. Второй тип ритмической активности в диапазоне *тета*- сопровождается разными формами ритмических движений: жевательные и питьевые, движения вибрисс во время исследовательского поведения, принюхивания, он имеет септо-гиппокампальное происхождение и его модифицированная форма может приобретать вид SWD 2-ого типа.

Во-вторых, мы исследовали механизмы норадренергической модуляции SWD 2-ого типа (Раздел 4.4) с использованием агониста α -2 адренорецепторов клонидина [Sitnikova & van Luijtelaa, 2005]. Этот препарат в низких дозах при системном введении способствует ослаблению норадренергической иннервации головного мозга [Langer, 1974; Svensson et al., 1975; Gobert et al., 1998]. Интерес к клонидину, как к агенту для изучения системных механизмов модуляции SWD 1 и 2-ого типов продиктован следующими фактами. Во-первых, клонидин в низких дозах увеличивает число генерализованных SWD (1-ого типа) у крыс WAG/Rij, но не влияет на SWD 2-ого типа [van Luijtelaa, 1997]. Во-вторых, клонидин по-разному влияет на ритмическую активность таламо-кортикальной и гиппокампальной нейронных систем: подавляет гиппокампальный тета-ритм и усиливает таламо-кортикальную альфа-активность [Emilien, 1989; Kitchigina et al., 2003]. Исследование особенностей ритмической активности таламуса и коры под действием клонидина в Разделе 4.4 дало возможность оценить участие двух нейронных систем в формировании SWD 2-ого типа: таламо-кортикальной системы, которая генерирует SWD 1-ого типа, и, косвенно, септо-гиппокампальной системы, которая, как мы предположили выше, может быть источником SWD 2-ого типа.

Мы обнаружили, что механизмы норадренергической модуляции SWD 1-ого и 2-ого типа принципиально отличаются. Что касается SWD 1-ого типа, как было упомянуто уже выше, агонист α 2-адренорецепторов клонидин способствует развитию ритмической активности в таламо-кортикальной системе, что приводит к многократному увеличению генерализованных разрядов этого типа. Это явление может иметь в своей основе два механизма: системный и локальный (Рис. 4.15). Первый - системный (Механизм 1 на Рис.4.15) обусловлен тем, что активация пресинаптических α 2-адренорецепторов адренергических нейронов в *locus coeruleus* снижает выброс норадреналина, и на фоне общего снижения норадренергической иннервации головного мозга уменьшается ритмическая активность в таламо-кортикальной системе

[McCormick, Рис.4.15) об адренорецепт увеличивает: увеличивает: Наши модуляции, в типа, однако составляющеі подтверждені системы.



Механизм 2 на ических α 2-, в результате D 1-ого типа, telaar, 2005]). енергической азрядов этого юсть 5-9 Гц ь косвенным юкампальной

Рисунок 6.3. Пик-волновые разряды 1-ого и 2-ого типов у крыс с генетической предрасположенностью к абсанс-эпилепсии линии WAG/Rij и без патологий ACI. Шкала время 1 с (ось абсцисс) и амплитуда 1 mV (ось ординат). Оригинальная иллюстрация из статьи [Schridde & van Luijtelaaar, 2005].

На настоящем этапе очевидно, что феноменологические различия между SWD 1-ого и 2-ого типов обусловлены их разным происхождением и чувствительностью к нейромодуляторам. SWD 1-ого являются электроэнцефалографическим признаком абсанс-эпилепсии и формируется спонтанно у крыс с генетической склонностью к этому заболеванию (линия WAG/Rij). Пароксизмальная природа SWD 2-ого типа сомнительна, поскольку SWD 2-ого типа наблюдаются у крыс без неврологических патологий (линия ACI). При этом число особей ACI, у которых выявлены SWD 2-ого типа оказывается значимо выше, чем среди крыс WAG/Rij [Schridde & van Luijtelaaar, 2005]. На Рис.6.3 показано, что у крыс ACI SWD 2-ого типа имеют четкую форму, тогда как SWD 1-ого типа у этих животных встречаются в единичных случаях и имеют признаки незрелости (веретенообразная форма, отдельно-стоящий пик, модуляция частоты). По-видимому, SWD 2-ого типа является видоспецифическим паттерном на ЭЭГ у крыс.

Междисциплинарный подход к анализу ЭЭГ

Со времен Ханса Бергера способ регистрации ЭЭГ подвергся ряду радикальных усовершенствований. Прогрессу в этой области способствовало развитие инженерных и компьютерных технологий. На смену чернильному самописцу пришла цифровая система записи ЭЭГ, позволившая проводить многоканальную регистрацию с высоким временным разрешением. Фактически на базе аналоговой ЭЭГ сформировался новый подход к анализу цифровых записей, где сигнал ЭЭГ представлен в виде последовательности дискретных значений электрического потенциала, измеренных в миллисекундном интервале (в нашем случае тактовая частота опроса канала составляла от 400 до 1024 Гц, т.е. частота дискретизации сигнала ЭЭГ была от 1 до 2.5 мсек). Использование запоминающих цифровых устройств высокой ёмкости позволило оперировать большими объемами информации в процессе записи и последующего анализа ЭЭГ. Появились новые возможности хранения, копирования и обмена данными ЭЭГ. За рубежом созданы и постоянно пополняются банки данных ЭЭГ, доступ к которым могут получить заинтересованные специалисты из разных областей науки и клиники.

Неинвазивные методы нейро-визуализации и нейро-картирования, например, магнитно-резонансной томографии, позитронно-эмиссионная томография, фотоэмиссионная компьютерная томография широко применяются на протяжении последнего десятилетия в клинике при исследовании пациентов, страдающих абсанс-эпилепсией. Однако эти методы имеют ряд недостатков, главный из которых - слишком низкое разрешение во времени и отсутствие надежного аппарата анализа полученных данных. Последний недостаток усугубляется тем фактом, что для реконструкции нейронной активности используются косвенные измерения, которые не всегда напрямую связаны с нервными процессами: изменения гемодинамического ответа, метаболизма тканей, скорости кровотока насыщенности крови кислородом и т.д.

Несовершенство аппарата анализа сложных сигналов и высокая вероятность ошибки при реконструкции нейронной активности приводят к частым ошибочным заключениям и противоположным выводам. Например, использование двух разных систем поправок при анализе сигнала фМРТ позволило по-разному описать процессы головного мозга во время абсансной эпилепсии [Labate et al., 2005]. В одном случае, анализ с использованием строгой поправок (исключение ошибок 1-ого типа при множественном сравнении, т.н. *family-wise-error*, FWE) показал, что кора не участвует в развитии эпилептической активности. Однако, мягкая система поправок (адаптивный порог для коррекции ошибочных результатов, *false discovery rate*, FDR) при анализе этих же данных позволила авторам констатировать активацию моторной коры, деактивацию правой лобной извилины и ретроспленальной области. Остается неясным, какая система поправок является корректной, и какие результаты считаются достоверными. И, наконец, дороговизна новомодных методов нейро-визуализации не всегда оправдывает научную ценность полученных данных.

Метод традиционной электроэнцефалографии остается наиболее востребованным в клинической практике. В особых случаях, например, при очаговых формах эпилепсии, рутинные неинвазивные исследования ЭЭГ дают возможность локализовать источник эпилептической активности и определить зону хирургической коррекции. Иногда для локализации эпилептического очага проводят инвазивное исследование с использованием глубоких электродов, которые помещают под *dura mater*. Сигнал, зарегистрированный интракраниально с поверхности коры, называется электрокортикограмма или ЭКоГ (*ECoG*), синонимы: субдуральная ЭЭГ (*subdural EEG*, *sdEEG*) и интракраниальная ЭЭГ (*intracranial EEG*, *icEEG*). ЭКоГ имеет преимущество перед ЭЭГ благодаря высокому пространственному разрешению (ЭКоГ отражает локальный потенциал) и наличию высокочастотных компонентов, которые гасятся, проходя сквозь мозговые оболочки, кости черепа и мягкие ткани скальпа. Несмотря на опасность, связанную с высокой инвазивностью ЭКоГ, этот метод до настоящего времени остается «золотым стандартом» для локализации эпилептического очага, и часто применяется перед проведением хирургического лечения эпилепсий, неподдающихся медикаментозному лечению. Возможно, в будущем удастся исключить инвазивные исследования из клинической практики, но для этого необходимо разработать и внедрить новые неинвазивные методы визуализации процессов головного мозга, которые бы обеспечили более высокое, чем у ЭКоГ, качество сигнала (пространственное разрешение и информативность).

Приоритетным направлением настоящей диссертационной работы является разработка и внедрение новых методов анализа электрической активности головного мозга у животных с генетической предрасположенностью к абсанс-эпилепсией, нацеленных на выявление нейросетевых и системных механизмов данного заболевания. В сложившейся ситуации достоинством ЭЭГ являются надежность и доступность метода. Использование мощных средств физико-математического анализа применительно к ЭЭГ даёт возможность установить сложные закономерности работы мозга. Однако трактовка результатов математического анализа с позиций

нейробиологии зачастую оказывается сложной и неоднозначной. Результат математического анализа ЭЭГ, столь очевидный для математика, может показаться физиологу лишенным смысла и поставить его (физиолога) в тупик. Сложности в интерпретации результатов математического анализа обусловлены некоторым отчуждением, которое до сих пор существует между биологическими и математическими науками. Хотелось бы верить, что новые знания, рожденные на стыке этих фундаментальных наук, будут способствовать росту взаимопонимания и взаимопроникновению этих дисциплин и, в конечном итоге, помогут решить многочисленные загадки ЭЭГ.

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 (по Хьюбелу и Визелу), так и избирательным внутрикорковым торможением (концепция И.А.Шевелева).
- 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 использованной литературы

1. Александров АА, Шейников НА. Действие пикротоксина на рецептивные поля нейронов соматосенсорной коры кошки. *Физиол. журн. СССР*. 1981; 67(3) 357.
2. Анохин П.К. Биология и нейрофизиология условного рефлекса. М.: Медицина, 1968, 448 с
3. Бирюкова Л.М., Мидзяновская И.С., Ленсу С., Туомисто Л., ван Луийтelaar Ж., Базян А.С. Распределение дофаминовых рецепторов типов D1 и D2 в структурах мозга крыс линий WAG/Rij или ACI с наличием или отсутствием показателей абсанс-эпилепсии соответственно. *Нейрохимия*, 2006; 23(3): 234-239.
4. Габова АВ, Боснякова ДЮ, Босняков МС, Шацкова АБ, Кузнецова ГД. Частотно-временная структура разрядов пик-волна генетической absence-эпилепсии. *Доклады Академии Наук*. 2004. 396(4): 557-560.
5. Гладкович НГ. Развитие дендритов в норме и в условиях деафферентации. В кн.: *Нейроонтогенез*. М.: Наука, 1985, с. 77-126.
6. Грубов ВВ., Овчинников АА, Ситникова ЕЮ, Короновский АА, Храмов АЕ. Вейвлетный анализ сонных веретен на ЭЭГ и разработка метода их автоматической диагностики. *Изв. Вузов. Прикладная нелинейная динамика*. 2011. 19(4): 91-108.
7. Иваницкий АМ, Лебедев АИ. Разгадывая тайны ритмов мозга. *Журн. высш. нервн. деят.* 2007. 57(5): 636-640.
8. Калимуллина ЛБ, Мусина АМ, Кузнецова ГД. Экспериментальные подходы к исследованию роли генотипа по локусу TAG 1A дофаминового D2-рецептора в эпилептогенезе. *Российский физиологический журнал*. 2012; 98(2): 177-185.
9. Каплан А.Я. Нестационарность ЭЭГ: методологический и экспериментальный анализ. *Успехи физиол. наук*. 1998; 29(3): 35-55.
10. Карманова ИГ. Эволюция сна. Этапы формирования цикла 'бодрствование-сон' в ряду позвоночных. Л.: Наука, 1977. 175 с.
11. Короновский АА, Храмов АЕ. Непрерывный вейвлетный анализ и его приложения. Москва: Физматлит. 2003
12. 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

13. Короновский АА, van Luijtelaar G, Овчинников АА, Ситникова ЕЮ, Храмов АЕ. Диагностика и анализ осцилляторной нейросетевой активности головного мозга с использованием непрерывного вейвлетного преобразования. *Изв. вузов. Прикладная нелинейная динамика*. 2011; 19 (1): 86-108.
14. Короновский АА, Кузнецова ГД, Мидзяновская ИС, Ситникова ЕЮ, Трубецков ДИ, Храмов АЕ. Закономерности перемежающегося поведения в спонтанной неконвульсивной судорожной активности у крыс. *Доклады Академии Наук*. 2006, 409(2): 274-276.
15. Корнеева ЕВ, Александров ЛИ, Голубева ТБ, Шулейкина КВ. Дефицит зрительной афферентации в период диффузной фоточувствительности птенцов влияет на морфогенез нейронов *Wulst*. *Журн. высш. нервн. деят.*, 2000; 50(3): 518-526.
16. Кузнецов С.П. Динамический хаос Курс лекций. М.: Физматлит. 2001
17. Куликова СН, Ситникова ЕЮ, Раевский ВВ. Цитоморфологические особенности коры головного мозга крыс с наследственной предрасположенностью к абсанс-эпилепсии. *Журн. высш. нервн. деят.* 2009. 59(4): 506-512.
18. Ливанов МН, Королькова ТА, Френкель ГМ. Электрофизиологические исследования высшей нервной деятельности. *Журн. высш. нервн. деят.*; 1951, 1(4): 521-538.
19. Ливанов МН. Пространственная организация процессов головного мозга. М.: Наука, 1972. 181 с
20. Ливанов МН. Пространственно-временная организация потенциалов и системная деятельность головного мозга: Избранные труды. М.: Наука, 1989. 400 с.
21. Максимова ЕВ. Онтогенез коры больших полушарий: М.:Наука, 1990. 167 с
22. Мидзяновская ИС. Два типа разрядов «пик-волна» на электроэнцефалограмме крыс линии WAG/Rij, генетической модели absence эпилепсии. *Журн. высш. нервн. деят.*; 1999; 49(5) 855.
23. Мидзяновская ИС, Кузнецова ГД, Туомисто Л, МакДонфлд Ю, Куликов МА, Базян АС. Концентрация дофамина и его метаболитов в различных структурах мозга крыс WAG/Rij и Вистар: сравнительный анализ аудиогенной, absence эпилепсии и их смешанных форм. *Нейрохимия*, 2004. 21(4): 264-270.
24. Мусина АМ. Характеристика пик-волновых разрядов второго типа, регистрируемых при абсансной эпилепсии. Фундаментальные исследования. 2011; 11(2): 337-340.
25. Павлов АН, Храмов АЕ, Короновский АА, Ситникова ЕЮ, Макаров ВА, Овчинников А.А. Вейвлет-анализ в нейродинамике. УФН, 2012; 182(9): 905-939 (<http://ufn.ru/ru/articles/2012/9/a/>)
26. Пенфилд У, Джаспер Г. Эпилепсия и функциональная анатомия головного мозга человека. М.: Мир, 1958.
27. Раевский ВВ. Онтогенез медиаторных систем мозга М., Наука, 1991, 144 с
28. Раевский В.В., Александров Л.И., Воробьева А.Д., Голубева Т.Б., Корнеева Е.В., Кудряшов И.Е., Кудряшова И.В., Пигарева М.Л., Ситникова Е.Ю., Сташкевич И.С., Сенсорная информация - важный фактор онтогенеза. *Журн. высш. нервн. деят.* 1997, 47(2): 299-307.
29. Раевский В.В. Реорганизация функциональных систем в онтогенезе. *Журн. Эвол. Биохим. Физиол.* 2002, 38(5): 502-506.
30. Ройтбак АИ. Глия и ее роль в нервной деятельности. СПб. – М. «Наука», 1999. 233 с
31. Саркисова КЮ, Куликов МА, Шацкова АБ. Тревожны ли крысы WAG/Rij с генетической предрасположенностью к абсанс-эпилепсии? *Журн. высш. нервн. деят.* 2005; 55(2): 253-261.

32. Саркисова КЮ, Куликов МА, Кудрин ВС, Наркевич ВБ, Мидзяновская ИС, Бирюкова ЛМ, Фоломкина АА, Базян АС. Нейрохимические механизмы депрессивноподобного поведения у крыс линии Wag/Rij. *Журн. высш. нервн. деят.* 2013; 63(3): 1-3.
33. Ситникова Е.Ю. Влияние ограничения сенсорного притока в раннем онтогенезе на вызванную активность проекционных нейронов зависит от степени зрелости сенсорных входов. *Журн. высш. нерв. деят.* 1999; 49(3): 505-510.
34. Ситникова ЕЮ. Вибриссэктомия у крыс в раннем онтогенезе приводит к нарушению функциональных свойств проекционных нейронов коры. *Журн. высш. нервн. деят.*; 2000, 50(8): 138-142.
35. Ситникова ЕЮ. Влияние сенсорной депривации в раннем онтогенезе на морфо-функциональное формирование нейронов соматосенсорной коры крыс. Дисс. на соиск. уч. ст. к.б.н. Москва, 2001.
36. Ситникова ЕЮ, Раевский ВВ. Морфологические основы компенсации дефицита сенсорного притока в раннем онтогенезе. *Новости Медико-биологических наук.* 2005, 2: 5-11.
37. 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): 719-728.
38. Ситникова ЕЮ, Раевский ВВ. Интеграция лемнискового и паралемнискового проводящих путей тригеминальной системы у грызунов осуществляется на уровне соматосенсорной коры. *Журн. высш. нервн. деят.*, 2009; 59(1): 98-106.
39. Ситникова ЕЮ, Короновский АА, Храмов АЕ. Анализ электрической активности головного мозга при абсанс-эпилепсии: прикладные аспекты нелинейной динамики. *Изв. вузов. Прикладная нелинейная динамика*, 2011; 19(6): 173-182.
40. Ситникова ЕЮ, Егорова ТН, Раевский ВВ. Уменьшение плотности нейронов в компактной части черной субстанции коррелирует с низкой пик волновой активностью у крыс линии WAG/Rij. *Журн. высш. нервн. деят.* 2012а; 62(5): 619-628.
41. Ситникова ЕЮ, Грубов ВВ, Храмов АЕ, Короновский АА. Возрастные изменения частотно-временной структуры сонных веретен на ЭЭГ у крыс с генетической предрасположенностью к абсанс эпилепсии (линия WAG/Rij). *Журн. высш. нервн. деят.* 2012б; 62(6): 1-11.
42. Сухов АГ. Нейронная организация тактильного анализатора крысы. Ростов-на-Дону: Изд-во Ростовского университета, 1992, 104 с.
43. Шевелев ИА. Нейроны зрительной коры. Адаптивность и динамика рецептивных полей. М.: Наука, 1984. 232 с
44. Шишелова АЮ, Раевский ВВ. Влияние вибриссэктомии в раннем постнатальном онтогенезе у крысят на развитие поведения. *Журн. высш. нервн. деят.* 2009, 59(3): 326-334
45. Шулейкина-Турпаева К.В. Целенаправленное поведение в онтогенезе. В кн.: Нейрофизиологические механизмы поведения, под ред. Ломова Б.Ф. и др., М.: Наука, 1982, с. 75-86.
46. Шулейкина К.В. Функциональные свойства развивающейся нервной клетки. В кн. Нейроонтогенез, М.: Наука, 1985, с 127-198.
47. Aarabi A, Wallois F, Grebe R. Does spatiotemporal synchronization of EEG change prior to absence seizures? *Brain Res.* 2007, doi:10.1016/j.brainres.2007.10.048
48. Abbasova KR, Chepurnov SA, Chepurnova NE, van Luijtelaaar G. The role of perioral afferentation in the occurrence of spike-wave discharges in the WAG/Rij model of absence epilepsy. *Brain Res.* 2010; 1366, 257-262.
49. Ahissar E, Kleinfeld D. Closed-loop neuronal computations: focus on vibrissa somatosensation in rat. *Cereb. Cortex* 2003, 13: 53-62.

50. Ahissar E, Arieli A. Figuring space by time. *Neuron*, 2001; 32: 185–201.
51. Ahissar E, Haidarliu S, Zacksenhouse M. Decoding temporally encoded sensory input by cortical oscillations and thalamic phase comparators, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1997; 94: 11633–11638.
52. Akman O, Demiralp T, Ates N, Onat FY. Electroencephalographic differences between WAG/Rij and GAERS rat models of absence epilepsy. *Epilepsy Res.*, 2010; 89: 185-193
53. Amor F, Baillet S, Navarro V, Adam C, Martinerie J, Quyen Mle V. Cortical local and long-range synchronization interplay in human absence seizure initiation. *Neuroimage*. 2009; 45(3): 950-962.
54. Amzica F, Steriade M. The K-complex: its slow (<1-Hz) rhythmicity and relation to delta waves. *Neurology*. 1997; 49: 952-959.
55. Amzica F, Steriade M. The functional significance of K-complexes. *Sleep Medicine Rev.*, 2002; 6: 139-149.
56. Ancona N, Marinazzo D, Stramaglia S. Radial basis function approach to nonlinear Granger causality of time series. *Phys. Rev. E*, 2004; 70:056221.
57. Anderer P, Klosch G, Gruber G, Trenker E, Pascual-Marqui RD, Zeitlhofer J, Barbanoj MJ, Rappelsberger P, Saletu B. Low-resolution brain electromagnetic tomography revealed simultaneously active frontal and parietal sleep spindle sources in the human cortex. *Neurosci.*, 2001;103: 581-592.
58. Angeleri F, Ferro Milone G, Parigi S. Electrical activity and reactivity of the rhinencephalic, parahrinencephalic and thalamic structures: prolonged implantation of electrodes in man. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol.*, 1964; 16: 100-129.
59. Angeleri F, Nolfe G, Pucci E, Belardinelli N, Quattrini A, Signorino M. EEG spectral analysis in generalized absence epilepsies (awake, S2 sleep, spindles and K-complexes). In: Minciacchi D et al. (Eds.) *Thalamic networks for relay and modulation*. Pergamon Press, Oxford, New York, 1993: 409-424.
60. Armstrong-James M, Fox K, Das-Gupta A. Flow of excitation within rat barrel cortex on striking a single vibrissa. *J Neurophysiol*. 1992. 68(4): 1345-1358
61. Arnhold J, Lehnertz K, Grassberger P, Elger CE. A robust method for detecting interdependences: application to intracranially recorded EEG. *Physica D.*, 1999; 134: 419-430.
62. Aston-Jones G, Foote SL, Bloom FE. Anatomy and physiology of locus coeruleus neurons: functional implications. In: Ziegler M, Lake CR (Eds) *Norepinephrine*. Frontiers of clinical neuroscience. Vol. 2, Williams & Wilkins, Baltimore, 1984, pp. 92–116.
63. Avanzini G, de Curtis M, Marescaux C, Panzica F, Spreafico R, Vergnes M. Role of the thalamic reticular nucleus in the generation of rhythmic thalamo-cortical activities subserving spike and waves. *J. Neural Transm.*, 35 (Suppl.), 1992: 85–95.
64. Avanzini G, Vergnes M, Spreafico R, Marescaux C. Calcium-dependent regulation of genetically determined spike and waves by the RTN of rats. *Epilepsia*, 1993, 34, 1–7.
65. Avanzini G, de Curtis M, Franceschetti, S, Sancini, G, Spreafico, R. Cortical versus thalamic mechanisms underlying spike and wave discharges in GAERS. *Epilepsy Res.*, 1996; 26: 37-44.
66. Avanzini G, Panzica F, de Curtis M. The role of the thalamus in vigilance and epileptogenic mechanisms. *Clin Neurophysiol*. 2000; Suppl 2: S19-26.
67. Avanzini G, Franceschetti S. Cellular biology of epileptogenesis. *Lancet Neurology* 2003, 2: 33-42.
68. Angevine JB Jr, Cotman CW. Principles of Neuroanatomy. New York: Oxford University Press, 1981. 393 p.
69. Avoli M, Gloor P, Kostopoulos G, Gotman J. An analysis of penicillin-induced generalized spike and wave discharges using simultaneous recordings of cortical and thalamic single neurons. *J. Neurophysiol.*, 1983; 50: 819-837.
70. Avoli M, Gloor P. Role of the thalamus in generalized penicillin epilepsy: observations on decorticated cats. *Exp. Neurol.*, 1982, 77: 386–402.

71. Bancaud J. Physiopathogenesis of generalized epilepsies of organic nature (Stereoencephalographic study), in: H. Gastaut, H.H. Jasper, J. Bancaud, A. Walterregny (Eds.), *The Physiopathogenesis of the Epilepsies*, Charles C. Thomas, Springfield, IL, 1969, pp. 158–185.
72. Bancaud J, Talairach J, Morel P, Bresson M, Bonis A, Geier S, Hemon E, Buser P. 'Generalized' epileptic seizures elicited by electrical stimulation of the frontal lobe in man. *Electroenceph Clin Neurophysiol.*, 1974, 37: 275–282.
73. Banerjee PK, Snead 3rd OC. Thalamic mediodorsal and intralaminar nuclear lesions disrupt the generation of experimentally induced generalized absence-like seizures in rats. *Epilepsy Res.*, 1994; 17: 193-205.
74. Başar E. EEG-Brain dynamics. Relation between EEG and evoked potentials. Elsevier, Amsterdam. 1980.
75. Başar E. Brain function and oscillations. II. Integrative brain function. Neurophysiology and cognitive processes. Springer, Berlin Heidelberg. 1999.
76. Bazil CW. Epilepsy and sleep disturbance. *Epilepsy Behav.* 2003; 4(S2), S39-S45.
77. Bazhenov M, Timofeev I. Thalamocortical oscillations. *Scholarpedia*, 2006; 1(6):1319. doi:10.4249/scholarpedia.1319
78. Bazyan AS, van Luijtelaar G. Neurochemical and behavioral features in genetic absence epilepsy and in acutely induced absence seizures. *ISRN Neurology*. 2013, ID 875834, doi:10.1155/2013/875834
79. Benison AM, Rector DM, Barth DS. Hemispheric mapping of secondary somatosensory cortex in the rat. *J Neurophysiol.* 2007; 97(1): 200–207.
80. Belford GR, Killackey HP. The sensitive period in the development of the trigeminal system of the neonatal rat. *J. Comp. Neurol.*, 193, 1980: 335–350
81. Berger H. Über das Electrenkephalogramm des Menschen. *Arch Psychiatr Neyenkr* 1929; 87: 527-570.
82. Berkovic SF, Andermann F, Andermann E, Gloor P. Concepts of absence epilepsies: discrete syndromes or biological continuum? *Neurology*, 1987; 37(6): 993-1000.
83. Bertin E. On-off intermittency over an extended range of control parameter. *Phys Rev E Stat Nonlin Soft Matter Phys.* 2012, 85(4 Pt 1): 042104.
84. Berthelsen S, Pettinger WA. A functional basis for classification of alpha-adrenergic receptors. *Life Sci.*, 1977, 21: 595-606.
85. Birioukova LM, Midzyanovskaya IS, Lensu S, Tuomisto L, van Luijtelaar G. Distribution of D1-like and D2-like dopamine receptors in the brain of genetic epileptic WAG/Rij rats. *Epilepsy Res.*, 2005, 63: 89-96.
86. Bischoff P, Mahlstedt D, Blanc I, Schulte am Esch J. Quantitative topographical electroencephalographic analysis after intravenous clonidine in healthy male volunteers. *Anesth. Analg.*, 1998, 86: 202-207.
87. Blume WT, Lemieux JF. Morphology of spikes in spike-and-wave complexes. *Electroencephalogr. Clin. Neurophysiol.*, 1988; 69: 508-515.
88. Blume WT. Invited review: clinical and basic neurophysiology of generalised epilepsies. *Can. J. Neurol. Sci.*, 2002, 29: 6-18.
89. Blumenfeld H., McCormick DA. Corticothalamic inputs control the pattern of activity generated in thalamocortical networks. *J. Neurosci.*, 2000; 20(13): 5153–5162.
90. Blumenfeld H. The thalamus and seizures. *Arch. Neurol.*, 2002; 59: 135-137.
91. Blumenfeld H, Klein JP, Schridde U, Vestal M, Rice T, Khera DS, Bashyal C, Giblin K, Paul-Laughinghouse C, Wang F, Phadke A, Mission J, Agarwal RK, Englot DJ, Motelow J, Nersesyan H, Waxman SG, Levin AR. Early treatment suppresses the development of spike-wave epilepsy in a rat model. *Epilepsia.* 2008, 49(3): 400-409.
92. Bosman LW, Houweling AR, Owens CB, Tanke N, Shevchouk OT, Rahmati N, Teunissen WH, Ju C, Gong W, Koekkoek SK, De Zeeuw CI. Anatomical pathways involved in generating and sensing rhythmic whisker movements. *Front Integr Neurosci.* 2011; 5: 53.
93. Bosnyakova D, Gabova A, Kuznetsova G, Obukhov Y, Midzyanovskaya I, Salonin D, van Rijn C, Coenen A, Tuomisto L, van Luijtelaar G. Time-frequency analysis of spike-wave discharges using a modified wavelet transform. *J. Neurosci. Methods*, 2006; 154: 80-88.

94. Bosnyakova D, Gabova A, Zharikova A, Gnezditski V, Kuznetsova G, van Luijtelaar G. Some peculiarities of time-frequency dynamics of spike-wave discharges in humans and rats. *Clin Neurophysiol.*, 2007; 118: 1736–1743.
95. Bouwman BM, van den Broek PL, van Luijtelaar G, van Rijn CM. The effects of vigabatrin on type II spike wave discharges in rats. *Neurosci Lett.*, 2003; 338(3): 177-180.
96. Bower JM, Beeman D. GENESIS. Scholarpedia, 2007; 2(3): 1383 (http://www.scholarpedia.org/article/GENESIS_%28simulation_environment%29)
97. Breton J-D, Stuart GJ. Loss of sensory input increases the intrinsic excitability of layer 5 pyramidal neurons in rat barrel cortex. *J. Physiol.* 2009; 587: 5107–5119.
98. Brailowsky S, Montiel T, Boehrer A, Marescaux C, Vergnes M. Susceptibility to focal and generalized seizures in Wistar rats with genetic absence-like epilepsy. *Neurosci.*, 1999; 93: 1173 - 1177.
99. Brecht M, Preilowski B, Merzenich MM. Functional architecture of the mystacial vibrissae. *Behav. Brain Res.*, 1997; 84: 81-97.
100. Bronzino JD. Quantitative analysis of the EEG: General concepts and animal studies. *IEEE Trans. Biomed. Eng.*, 1984; 31: 850-856.
101. Bronzino JD. (Ed.) The Biomedical Engineering Handbook, Boca Raton, Fla.: CRC Press, 1995.
102. Broughton R, Healey T, Maru J, Green D, Pagurek B. A phase locked loop device for automatic detection of sleep spindles and stage 2. *Electroencephalogr. Clin. Neurophysiol.*, 1978; 44: 677–680.
103. Bullock TH, McClune MC, Enright JT. Are the electroencephalograms mainly rhythmic? Assessment of periodicity in wide-band time series. *Neurosci.*, 2003, 121(1): 233-252.
104. Bureau I, von Saint Paul F, Svoboda K. Interdigitated paralemniscal and lemniscal pathways in the mouse barrel cortex. *PLoS Biol.*, 2006. 4(12): e382 DOI: 10.1371/journal.pbio.0040382
105. Burton H, Robinson CJ. Responses in the first or second somatosensory cortical area in cats during transient inactivation of the other ipsilateral area with lidocaine hydrochloride. *Somatosens. Res.*, 1987, 4: 215–236.
106. Buzsáki G, Bickford RG, Ponomareff G, Thal LJ, Mandel R, and Gage FH. Nucleus basalis and thalamic control of neocortical activity in the freely moving rat. *J. Neurosci.*, 1988; 8: 4007–4026.
107. Buzsáki G. The thalamic clock: emergent network properties. *Neurosci.*, 1991, 41: 351-364.
108. Buzsáki G. Memory consolidation during sleep: a neurophysiological perspective. *J. Sleep Res.*, 1998; 7 (Suppl. 1): 17-23.
109. Buzsaki G, Laszlovszky I, Lajtha A, Vadasz C. Spike-and-wave neocortical patterns in rats: genetic and aminergic control. *Neurosci.*, 1990, 38: 323-333.
110. Buzsaki G., Kennedy B., Solt B.V., Ziegler M. Noradrenergic control of thalamic oscillation: the role of alpha-2 receptors. *Eur. J. Neurosci.*, 1991, 3(3), 222–229.
111. Buzsáki G. Large-scale recording of neuronal ensembles. *Nature Neurosci.*, 2004, 7(5): 446-451.
112. Bylund DB, Eikenberg DC, Hieble JP, Langer SZ, Lefkowitz RJ, Minneman KP, Molinoff PB, Jr Ruffolo RR, Trendelenburg U. International union of pharmacology nomenclature of adrenoceptors. *Pharmacol. Rev.*, 1994, 46: 121-136.
113. Carvell GE, Simons DJ. Biometric analyses of vibrissal tactile discrimination in the rat. *J. Neurosci.*, 1990; 10: 2638-2648.
114. Carvell GE, Simons DJ. Abnormal tactile experience early in life disrupts active touch. *J Neurosci.*, 1996; 16(8): 2750-2757.
115. Campbel K, Kumar A, Hofman W. Human and automatic detection of a phase-locked loop spindle detection system. *Electroencephalogr. Clin. Neurophysiol.*, 1980; 48: 602–605.
116. Cervo L, Samanin R. Clonidine causes antidepressant-like effects in rats by activating alpha 2-adrenoceptors outside the locus coeruleus. *Eur. J. Pharmacol.*, 1991, 193: 309-313.

117. Carçak N, Aker RG, Ozdemir O, Demiralp T, Onat FY. The relationship between age-related development of spike-and-wave discharges and the resistance to amygdaloid kindling in rats with genetic absence epilepsy. *Neurobiol Dis.*, 2008; 32(3): 355-363.
118. Castro MI, Eisenach JC. Pharmacokinetics and dynamics of intravenous, intrathecal, and epidural clonidine in sheep. *Anesthesiology*. 1989, 71(3), 418-425.
119. Catalano SM, Robertson RT, Killackey HP. Individual axon morphology and thalamocortical topography in developing rat somatosensory cortex. *J. Comp. Neurol.* 1996, 367(1): 325-338.
120. Chair MC, Malenka RC. A critical period for long-term potentiation at thalamocortical synapses. *Nature*, 1995; 375(25): 325-328.
121. Challis RE, Kitney RI. Biomedical signal processing (in four parts). Part 2. The frequency transforms and their inter-relationships. *Med. Biol. Eng. Comput.*, 1991; 2: 1-17.
122. Chapin JK, Lin CS. Mapping the body representation in the SI cortex of anesthetized and awake rats. *J. Comp. Neurol.*, 1984, 229: 199–213.
123. Chapin JK, Woodward DJ. Distribution of somatic sensory and active-movement neuronal discharge properties in the MI-SI cortical border area in the rat. *Exp. Neurol.*, 1986; 91: 502-523.
124. Chatrian GE (Chairman), Bergamini L, Dondey M, Klass DW, Lennox-Buchthal M, Petersen I. A glossary of terms most commonly used by clinical electroencephalographers. *Electroencephalogr. Clin. Neurophysiol.*, 1974, 37: 538-548.
125. Chávez M, Martinerie J, Le Van Quyen M. Statistical assessment of nonlinear causality: application to epileptic EEG signals. *J. Neurosci. Methods*, 2003; 124: 113-128.
126. Chen CC, Tam D, Brumberg JC. Sensory deprivation differentially impacts the dendritic development of pyramidal versus non-pyramidal neurons in layer 6 of mouse barrel cortex. *Brain Struct Funct.*, 2012; 217(2):435-446.
127. Chen K, Aradi I, Santhakumar V, Soltesz I. H-channels in epilepsy: new targets for seizure control? *Trends Pharmacol. Sci.*, 2002; 23: 552-557.
128. Chu YF, Yen CT, Lee LJ. Neonatal whisker clipping alters behavior, neuronal structure and neural activity in adult rats. *Behav Brain Res*. 2013; 238: 124-133.
129. Chui CK. An Introduction to Wavelets. Academic Press Inc, San Diego, CA. 1993.
130. Citraro R, Russo E, Gratteri S, Di Paola ED, Ibbadu GF, Curinga C, Gitto R, Chimirri A, Donato G, De Sarro G. Effects of non-competitive AMPA receptor antagonists injected into some brain areas of WAG/Rij rats, an animal model of generalized absence epilepsy. *Neuropharmacology* 2006; 51: 1058-1067.
131. Civantos Calzada B, Alexandre de Artinano A. Alpha-adrenoceptor subtypes. *Pharmacol. Res.*, 2001, 44: 195-208.
132. Coenen AM, van Luijtelaar EL. The WAG/Rij rat model for absence epilepsy, age and sex factors. *Epilepsy Res.*, 1987; 1: 297–301.
133. Coenen AM, van Luijtelaar EL. Pharmacological dissociation of EEG and behavior: a basic problem in sleep-wake classification. *Sleep* 1991, 14: 464-465.
134. Coenen AML. Neuronal activities underlying the electroencephalogram and evoked potentials of sleeping and waking: implications for information processing. *Neurosci. Biobehav. Rev.*, 1995, 19, 447-463.
135. Coenen A, Zajachkivsky O, Bilski R. In the footsteps of Beck: the desynchronization of the electroencephalogram. *Clin. Electroencephalogr. Clin. Neurophys.* 1998, 106, 330-335.
136. Coenen AML, van Luijtelaar ELJM. Genetic animal models for absence epilepsy: a review of the WAG/Rij strain of Rats. *Behav. Genetics*, 2003, 33: 635-655. <http://www.socsci.ru.nl/wagrij/info.0.html>
137. Connors BW, Gutnick MJ. Intrinsic firing patterns of diverse neocortical neurons. *Trends Neurosci.* 1990, 13, 99–104.
138. Contreras D, Destexhe A, Sejnowski TJ, Steriade M. Control of spatiotemporal coherence of a thalamic oscillation by corticothalamic feedback. *Science*. 1996; 274 (5288): 771-774.
139. Contreras D. Electrophysiological classes of neocortical neurons. *Neural Networks*. 2004, 17: 633–646

140. Cope DW, Hughes SW, Crunelli V. GABAA receptor-mediated tonic inhibition in thalamic neurons. *J Neurosci.* 2005;25(50): 11553-11563.
141. Cope DW, Di Giovanni G, Fyson SJ, Orbán G, Errington AC, Lorincz ML, Gould TM, Carter DA, Crunelli V. Enhanced tonic GABAA inhibition in typical absence epilepsy. *Nat. Med.* 2009; 15(12): 1392-1398.
142. Coulter DA, Huguenard JR, Prince DA. Specific petit mal anticonvulsants reduce calcium currents in thalamic neurons. *Neurosci. Lett.* 1989; 98(1): 74-78.
143. Craiu D, Magureanu S, van Emde Boas W. Are absences truly generalized seizures or partial seizures originating from or predominantly involving the pre-motor areas? Some clinical and theoretical observations and their implications for seizure classification. *Epilepsy Res.*, 2006, 70(Suppl 1): S141-155.
144. Crick F, Koch C. Constraints on cortical and thalamic projections: the no-strong loops hypothesis. *Nature.* 1998; 391(6664): 245-250.
145. Crunelli V, Leresche N. Childhood absence epilepsy: genes, channels, neurons and networks. *Nat. Rev. Neurosci.*, 2002; 3(5): 371-382.
146. Crunelli V, Cope DW, Terry JR. Transition to absence seizures and the role of GABA(A) receptors. *Epilepsy Res.*, 2011; 97(3): 283-289.
147. Danober L, Deransart C, Depaulis A, Vergnes M, Marescaux C. Pathophysiological mechanisms of genetic absence epilepsy in the rat. *Prog. Neurobiol.*, 1998, 55: 27-57.
148. D'Amore V, Santolini I, van Rijn CM, Biagioni F, Molinaro G, Prete A, Conn PJ, Lindsley CW, Zhou Y, Vinson PN, Rodriguez AL, Jones CK, Stauffer SR, Nicoletti F, van Luijtelaar G, Ngomba RT. Potentiation of mGlu5 receptors with the novel enhancer, VU0360172, reduces spontaneous absence seizures in WAG/Rij rats. *Neuropharmacology.* 2013; 66: 330-338.
149. D'Antuono M, Inaba Y, Biagini G, D'Argangelo V, Avoli M. Synaptic hyperexcitability of deep layer neocortical cells in a genetic model of absence seizures. *Genes Brain Behav.*, 2006; 5: 73-84.
150. Daubechies I. Ten Lectures on Wavelets: Society for Industrial and Applied Mathematics, Philadelphia, PA. 1993.
151. de Bruin NM, van Luijtelaar EL, Jansen SJ, Cools AR, Ellenbroek BA. Dopamine characteristics in different rat genotypes: the relation to absence epilepsy. *Neurosci. Res.*, 2000. 38(2): 165-173.
152. De Gennaro L, Ferrara M. Sleep spindles: an overview. *Sleep Med. Rev.* 2003; 7: 423-440.
153. De Gennaro L, Ferrara M, Vecchio F, Curcio G, Bertini M. An electroencephalographic fingerprint of human sleep. *Neuroimage.* 2005; 26: 114-122.
154. Dehghani N., Cash S.S., Halgren E. Topographical frequency dynamics within EEG and MEG sleep spindles. *Clin. Neurophysiol.*, 2011. 122(2): 229-235.
155. Depaulis A, van Luijtelaar ELJM. Genetic models of absence epilepsy in the rat. In: Pitkänen A, Schwartzkroin PA, Moshé SL (Eds). *Models of seizures and epilepsy.* Elsevier Academic Press, Amsterdam, 2005, pp. 233-248.
156. Deransart C, Riban V, Lê B, Marescaux C, Depaulis A. Dopamine in the striatum modulates seizures in a genetic model of absence epilepsy in the rat. *Neuroscience*, 2000; 100(2): 335-44.
157. Deschênes M, Veinante P, Zhang ZW. The organization of corticothalamic projections: reciprocity versus parity. *Brain Res. Brain Res. Rev.*, 1998, 28: 286-308.
158. Destexhe A, Sejnowski TJ. *Thalamocortical assemblies.* Oxford University Press, Oxford. 2001.
159. Destexhe A. Can GABA_A conductances explain the fast oscillation frequency of absence seizures in rodents? *Eur. J. Neurosci.* 1999; 11: 2175-2181.
160. Destexhe A, Contreras D, Steriade M. Spatiotemporal analysis of local field potentials and unit discharges in cat cerebral cortex during natural wake and sleep states. *J. Neurosci.*, 1999; 19: 4595-4608.
161. Destexhe A, Contreras D, Steriade M. LTS cells in cerebral cortex and their role in generating spike-and-wave oscillations. *Neurocomputing*, 2001. 38: 555-563.

162. Destexhe A, McCormick DA, Sejnowski TJ. Thalamic and thalamocortical mechanisms underlying 3 Hz spike-and-wave discharges. *Prog. Brain Res.*, 1999; 121: 289-307.
163. Demsey EW, Morison RS. The mechanism of thalamo-cortical augmentation and repetition. *Am. J. Physiol.*, 1942, 138: 297–308.
164. Diamond ME. Neurobiology. Parallel sensing. *Nature*, 2000; 406(6793): 245-247.
165. Diamond ME, Arabzadeh E. Whisker sensory system - from receptor to decision. *Prog Neurobiol.* 2013; 103: 28-40.
166. Dikanev T, Smirnov D, Wennberg R, Perez Velazquez JL, Bezruchko B. EEG nonstationarity during intracranially recorded seizures: statistical and dynamical analysis. *Clin. Neurophysiol.*, 2005; 116: 1796-1807.
167. Domich L, Oakson G, Deschenes M, Steriade M. Thalamic and cortical spindles during early ontogenesis in kittens. *Dev. Brain Res.*, 1987; 31(1): 140-142.
168. Drake ME Jr, Pakalnis A, Padamadan H, Weate SM, Cannon PA. Sleep spindles in epilepsy. *Clin. Electroencephalogr.*, 1991; 22: 144-149.
169. Drew GM, Gower AJ, Marriott AS. Alpha 2-adrenoceptors mediate clonidine-induced sedation in the rat. *Br. J. Pharmacol.*, 1979, 67: 133-141.
170. Drinkenburg WH, Coenen AM, Vossen JM, Van Luijtelaar EL. Spike-wave discharges and sleep-wake states in rats with absence epilepsy. *Epilepsy Res.*, 1991, 9: 218-224.
171. Drinkenburg WH, van Luijtelaar EL, van Schaijk WJ. Coenen AM Aberrant transients in the EEG of epileptic rats: a spectral analytical approach. *Physiol. Behav.* 1993; 54:779–783.
172. Durka PJ. Time-frequency analysis of EEG. PhD thesis. Warsaw University. 1996 (<http://brain.fuw.edu.pl/~durka/dissertation/>)
173. Durka PJ. From wavelets to adaptive approximations: time-frequency parametrization of EEG. *Biomed. Eng. Online*, 2003; 2:1 doi:10.1186/1475-925X-2-1.
174. Durka PJ, Malinowska U, Szelenberger W, Wakarow A, Blinowska KJ. High resolution parametric description of slow wave sleep. *J. Neurosci. Methods*, 2005; 147:15-21.
175. Ebner FF, Armstrong-James MA. Intracortical processes regulating the integration of sensory information. *Prog Brain Res.* 1990; 86: 129-141.
176. Emilien G. Effect of drugs acting on monoaminergic and cholinergic systems on the quantified EEG of rats. *Neuropsychobiol.*, 1989, 21: 205-215.
177. Engel J. Report of the ILAE Classification Core Group. *Epilepsia*, 2006; 47: 1558-1568.
178. Erzurumlu R.S., Jhaveri S. Thalamic axons confer a blueprint of the sensory periphery onto the developing rat somatosensory cortex. *Brain Res. Dev. Brain Res.*, 1990; 56(2): 229-234.
179. Erzurumlu RS, Gaspar P. Development and critical period plasticity of the barrel cortex. *Eur J Neurosci.* 2012; 35(10): 1540-1553.
180. Fanselow EE, Sameshima K, Baccala LA, Nicolelis MA. Thalamic bursting in rats during different awake behavioral states. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2001; 98:15330-15335.
181. Feldmann U, Bhattacharya J. Predictability improvement as an asymmetrical measure of interdependence in bivariate time series. *Int. J Bifurc. Chaos*, 2004; 14: 505-514.
182. Fellous JM, Houweling AR, Modi RH, Rao RP, Tiesinga PH, Sejnowski TJ. Frequency dependence of spike timing reliability in cortical pyramidal cells and interneurons. *J. Neurophysiol.* 2001; 85(4): 1782-1787.
183. Ferrarelli F, Huber R, Peterson MJ, Massimini M, Murphy M, Riedner BA, Watson A, Bria P, Tononi G. Reduced sleep spindle activity in schizophrenia patients. *Am. J. Psychiatry.* 2007; 164(3): 483-492.
184. Ferri R, Iliceto G, Carlucci V. Topographic EEG mapping of 3/s spike-and-wave complexes during absence seizures, *Ital. J. Neurol. Sci.*, 1995, 8: 541–547.
185. Flint AC, Connors BW. Two types of network oscillations in neocortex mediated by distinct glutamate receptor subtypes and neuronal populations. *J. Neurophysiol.*, 1996, 75: 951–957.

186. Frank MG, Heller HC. Development of REM and slow wave sleep in the rat. *Am. J. Physiol.* 1997; 272(6 Pt 2): R1792-1799.
187. Frankhuyzen AL, Mulder AH. Pharmacological characterization of presynaptic alpha-adrenoceptors modulating [3H]noradrenaline and [3H]5-hydroxytryptamine release from slices of the hippocampus of the rat. *Eur. J. Pharmacol.*, 1982, 81: 97-106.
188. Freeman WJ. Mass action in the nervous system. New York, Academic Press, 1975.
189. French N. Alpha 2-adrenoceptors and I2 sites in the mammalian central nervous system. *Pharmacol. Ther.*, 1995, 68: 175-208.
190. Fojtiková D, Brázdil M, Horký J, Mikl M, Kuba R, Krupa P, Rektor I. Magnetic resonance spectroscopy of the thalamus in patients with typical absence epilepsy. *Seizure*, 2006; 15(7): 533 – 540
191. Fontana DJ, Schefke DM. Acute versus chronic clonidine treatment effects on conflict behavior in the rat. *Behav. Pharmacol.* 1989, 1: 201-208.
192. Fox K. The cortical component of experience-dependent synaptic plasticity in the barrel cortex. *J. Neurosci.* 1994; 14(12): 7665-7679.
193. Fox K. Barrel cortex. 2008, Cambridge, UK: Cambridge University Press.
194. Gandolfo G, Glin L, Gottesmann C. Study of sleep spindles in the rat: a new improvement. *Acta Neurobiol. Exp. (Wars)*, 1985; 45(5-6), 151-62.
195. Gandolfo G, Romettino S, Gottesmann C, van Luijtelaar G, Coenen A. Genetically epileptic rats show a pronounced intermediate stage of sleep. *Physiol. Behav.*, 1990, 47: 213-215.
196. Gastaut H. A new type of epilepsy: benign partial epilepsy of childhood with occipital spike waves. *Clin. Electroencephalogr.*, 1982; 13: 13–22.
197. Gauguier D, van Luijtelaar G, Bihoreau MT, Wilder SP, Godfrey RF, Vossen J, Coenen A, Cox RD. Chromosomal mapping of genetic loci controlling absence epilepsy phenotypes in the WAG/Rij rat. *Epilepsia*, 2004, 45: 908-915.
198. Genton P, Guerrini R, Perucca E. Tiagabine in clinical practice. *Epilepsia*, 2001, 42 (S3): 42–45.
199. Gibbs FA, Davis H, Lennox WG. The electroencephalogram in epilepsy and in conditions of impaired consciousness. *Arc Neurol. Psych.* (Chicago) 1935, 34: 1133-1148.
200. Gibbs FA, Gibbs EL. Atlas of electroencephalography. Addison Wesley Press, Cambridge, 1950 (second edition).
201. Gibbs EL, Gibbs FA. Extreme spindles: correlation of electroencephalographic sleep pattern with mental retardation. *Science.* 1962; 138: 1106-1107.
202. Giblin KA, Blumenfeld H. Is epilepsy a preventable disorder? New evidence from animal models. *Neuroscientist.* 2010; 16(3): 253-275.
203. Giorgi FS, Pizzanelli CF, Biagioni L., Murri Fornai F. The role of norepinephrine in epilepsy: from the bench to the bedside. *Neurosci. Biobehav. Rev.*, 2004, 28: 507-524.
204. Glauser T, Ben-Menachem E, Bourgeois B, Cnaan A, Chadwick D, Guerreiro C, Kalviainen R, Mattson R, Perucca E, Tomson T. ILAE treatment guidelines: evidence-based analysis of antiepileptic drug efficacy and effectiveness as initial monotherapy for epileptic seizures and syndromes. *Epilepsia.* 2006; 47(7): 1094-1120.
205. Glenn LL, Steriade M. Discharge rate and excitability of cortically projecting intralaminar thalamic neurons during waking and sleep states. *J. Neurosci.*; 1982; 2: 1387-1404.
206. Gloor P. Generalized cortico-reticular epilepsies: some considerations on the pathophysiology of generalized bilaterally synchronous spike and wave discharge. *Epilepsia*, 1968; 9: 249-263.
207. Gloor P. Neurophysiological bases of generalized seizures termed centrencephalic. In: Gaustaut, H., Jasper, H.H., Bancaud, J., Waltregny, A. (Eds.), *The Physiopathogenesis of the Epilepsies*. Charles C. Thomas, Springfield, IL, 1969, pp. 209–236.
208. Gloor P. Generalized epilepsy with bilateral synchronous spike and wave discharge. New findings concerning its physiological mechanisms. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol.*, Suppl, 1978, 34, 245–249.

209. Gloor P, Pellegrini A, Kostopoulos GK. Effects of changes in cortical excitability upon the epileptic bursts in generalized penicillin epilepsy of the cat. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol.*, 1979; 46(3): 274-289.
210. Gloor P, Avoli M. and Kostopoulos G. Thalamocortical relationships in generalized epilepsy with bilaterally synchronous spike-and-wave discharge. In: Avoli, M., Gloor, P., Kostopoulos, G. and Naquet, R. (Eds) *Generalized epilepsy: neurobiological approaches*, Birkhauser, Boston, MA, 1990, pp. 190–212.
211. Gobert A, Rivet JM, Audinot V, Newman-Tancredi A, Cistarelli L, Millan MJ. Simultaneous quantification of serotonin, dopamine and noradrenaline levels in single frontal cortex dialysates of freely-moving rats reveals a complex pattern of reciprocal auto-and heteroreceptor-mediated control of release. *Neurosci.*, 1998, 84: 413–429.
212. Gottesmann C. The transition from slow-wave sleep to paradoxical sleep: evolving facts and concepts of the neurophysiological processes underlying the intermediate stage of sleep. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 1996; 20(3): 367-387.
213. Goldensohn ES, Porter RJ, Schwartzkroin PA. The American Epilepsy Society: an historic perspective on 50 years of advances in research. *Epilepsia.* 1997 38(1): 124-150.
214. Gramsbergen A. The development of the EEG in the rat. *Dev. Psychobiol.* 1976; 9(6): 501-515.
215. Granger CWJ. Investigating causal relations by econometric models and cross-spectral methods. *Econometrica*, 1969; 37: 424-438.
216. Gray CM, McCormick DA. Chattering cells: superficial pyramidal neurons contributing to the generation of synchronous oscillations in the visual cortex. *Science*, 1996; 274: 109-113.
217. Grenier F, Timofeev I, Crochet S, Steriade M. Neocortical very fast oscillations (ripples, 80–200 Hz) during seizures: intracellular correlates. *J. Neurophysiol.*, 2003, 89: 841–852.
218. Grossman A, Morlet J. Decomposition of Hardy function into square integrable wavelets of constant shape. *SIAM J. Math. Anal.*, 1984; 15: 723-736.
219. Grubb MS, Thompson ID. The influence of early experience on the development of sensory systems. *Curr Opin Neurobiol.* 2004; 14(4): 503-512.
220. Guazzelli M, Feinberg I, Aminoff M, Fein G, Floyd TC, Maggini C. Sleep spindles in normal elderly: comparison with young adult patterns and relation to nocturnal awakening, cognitive function and brain atrophy. *Electroencephalogr. Clin. Neurophysiol.*, 1986; 63: 526–539.
221. Gurbanova AA, Aker R, Berkman K, Onat FY, van Rijn CM, van Luijtelaar G. Effect of systemic and intracortical administration of phenytoin in two genetic models of absence epilepsy. *British J. Pharmacol.*, 2006; 148(8): 1076-1082.
222. Guillery RW, Feig SL, Lozsadi DA. Paying attention to the thalamic reticular nucleus. *Trends Neurosci.*, 1998; 21: 28-32.
223. Hamandi K, Salek-Haddadi A, Laufs H, Liston A, Friston K, Fish DR, Duncan JS, Lemieux L. EEG–fMRI of idiopathic and secondarily generalized epilepsies. *NeuroImage*, 2006; 31: 1700–1710
224. Happe HK, Coulter CL, Gerety ME, Sanders JD, O'Rourke M, Bylund DB, Murrin LC. Alpha-2 adrenergic receptor development in rat CNS: an autoradiographic study. *Neurosci.*, 2004; 123: 167-178.
225. Haidarliu S, Ahissar E. Size gradients of barreloids in the rat thalamus. *J. Comp. Neurol.*, 2001; 429: 372-387.
226. Halász P. Sleep, arousal and electroclinical manifestations of generalized epilepsy with spike wave pattern. *Epilepsy Res.*, 1991; Suppl 2: 43-48.
227. Halász P, Terzano MG, Parrino L. Spike-wave discharge and the microstructure of sleep-wake continuum in idiopathic generalised epilepsy. *Neurophysiol. Clin.*, 2002; 32: 38-53.
228. Halász P, Kelemen A. New vistas and views in the concept of generalized epilepsies. *Ideggyogy Sz.*, 2009; 62(11-12): 366-380.
229. Hayashi Y, Maze M. Alpha-2 adrenoceptor agonists and anaesthesia. *Br. J. Anaesth.*, 1993, 71: 108-118.
230. Hayne RA, Belinson L, Gibbs FA Electrical activity of subcortical areas in epilepsy. *Electroencephalogr. Clin. Neurophysiol.*, 1949, 1: 437-445.

231. Heagy JF, Platt N, Hammel SM. Characterization of on-off intermittency. *Phys. Rev.*, 1994, E 49: 1140–1150
232. Hensch TK. Controlling the critical period. *Neurosci Res.* 2003; 47(1): 17-22.
233. Himanen SL, Hasan J. Limitations of Rechtschaffen and Kales. *Sleep Med. Rev.*, 2000; 4: 149-167.
234. Holmes MD, Brown M, Tucker DM. Are "Generalized" seizures truly generalized? Evidence of localized mesial frontal and frontopolar discharges in absence. *Epilepsia*, 2004, 45: 1568-1579.
235. Holmes GL. Seizure-induced neuronal injury: animal data. *Neurology.* 2002; 59(9 Suppl 5): S3-6
236. Hlavackova-Schindler K, Palus M, Vejmelka M, Bhattacharya J. Causality detection based on information-theoretic approaches in time series analysis. *Physics Reports*, 2007; 441: 1-46.
237. 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.
238. Hubel DH. Evolution of ideas on the primary visual cortex, 1955–1978: A biased historical account. *Bioscience Reports*, 1982, 2(7): 435-469. (http://nobelprize.org/nobel_prizes/medicine/laureates/1981/hubel-lecture.html)
239. Huguenard JR, McCormick DA. Thalamic synchrony and dynamic regulation of global forebrain oscillations. *Trends Neurosci.*, 2007; 30: 350-356.
240. Huupponen E, Gómez-Herrero G, Saastamoinen A, Värri A, Hasan J, Himanen SL. Development and comparison of four sleep spindle detection methods. *Artif. Intell. Med.*, 2007; 40: 157-170.
241. Inoue M, van Luijckelaar ELJM, Vossen JMH, Coenen AML. Visual evoked potentials during spontaneously occurring spike-wave discharges in rats. *Electroencephalogr. Clin. Neurophysiol.*, 1992; 84: 172–179.
242. Inoue, M, Peeters, BWMM, van Luijckelaar, ELJM, Vossen, JMH, Coenen, AML. Spontaneous occurrence of spike-wave discharges in five inbred strains of rats. *Physiol. Behav.* 1990; 48: 199-201.
243. Inoue M, Duysens J, Vossen JMH, Coenen AML. Thalamic multiple unit activity underlying spike-wave discharges in anesthetized rats. *Brain Res.*, 1993; 612: 35–40.
244. Inouye T, Sakamoto H, Shinosaki K, Toi S, Ukai S. Analysis of rapidly changing EEGs before generalized spike and wave complexes. *Electroencephalogr. Clin. Neurophysiol.*, 1990. 76: 205–221.
245. Insel TR, Miller LP, Gelhard RE. The ontogeny of excitatory amino acid receptors in rat forebrain. I. N-methyl-D-aspartate and quisqualate receptors. *Neurosci.*, 1990, v.35, pp. 31-43
246. [IFCN] Recommendations for the Practice of Clinical Neurophysiology: Guidelines for the International Federation of Clinical Physiology (EEG suppl. 52). Deuschl G, Eisen A (Eds). International Federation of Clinical Neurophysiology, Elsevier Science B.V, 1999. 320 pp.
247. [IFSECN] International Federation of Societies for Electroencephalography and Clinical Neurophysiology. Recommendations for the practice of clinical neurophysiology. Amsterdam, New York: Elsevier, 1983. 191 p.
248. Ishii R, Dziewas R, Chau W, Soros P, Okamoto H, Gunji A, Pantev C. Current source density distribution of sleep spindles in humans as found by synthetic aperture magnetometry. *Neurosci. Lett.*, 2003, 340: 25-28.
249. Ito M. Some quantitative aspects of vibrissa-driven neuronal responses in rat neocortex. *J Neurophysiol.* 1981; 46(4): 705-715.
250. Ito M. Processing of vibrissa sensory information within the rat neocortex. *J Neurophysiol.* 1985; 54(3): 479-490.
251. Izhikevich EM, Edelman GM. Large-scale model of mammalian thalamocortical systems. *PNAS*, 2008, 105(9): 3593-3598.
252. Jacobsen RB, Ulrich D, Huguenard JR. GABA_B and NMDA receptors contribute to spindle-like oscillations in rat thalamus in vitro. *J. Neurophysiol.*, 2001; 86: 1365–1375.
253. Jankel WR, Niedermeyer E. Sleep spindles. *J. Clin. Neurophysiol.*, 1985; 2: 1-35.
254. Janz D. Epilepsy and the sleeping-waking cycle. In Handbook of Clinical Neurology, Vol. 15, The Epilepsies. Ed. P.J Vincken and G.W Bruyn. North Holland, Amsterdam. 1974, pp. 457–490.

255. Jasper HH, Kershman J. Electroencephalographic classification of the epilepsies. *Arch. Neurol. Psychiatry*, 1941; 45: 903-943.
256. Jasper HH, Drooglever-Fortuyn J. Experimental studies on the functional anatomy of petit mal epilepsy. *Res. Publ. Ass. Res. Nerv. Ment. Dis.*, 1946, 26: 272-298.
257. Jensen KF, Killackey HP. Terminal arbors of axons projecting to the somatosensory cortex of the adult rat. II. The altered morphology of thalamocortical afferents following neonatal infraorbital nerve cut. *J. Neurosci.*, 1987; 7: 3544-3553.
258. Jirsch JD, Urrestarazu E, LeVan P, Olivier A, Dubeau F, Gotman J. High-frequency oscillations during human focal seizures. *Brain*, 2006, 129(Pt 6): 1593-608.
259. Job C, Tan SS. Constructing the mammalian neocortex: the role of intrinsic factors. *Dev. Biol.* 2003; 257(2): 221-232.
260. Jobert M, Tismer C, Poiseau E, Schulz H. Wavelets - a new tool in sleep biosignal analysis. *J. Sleep Res.*, 1994; 3: 223-232.
261. Jobert M, Poiseau E, Jahnig P, Schulz H, Kubicki S. Topographical analysis of sleep spindle activity. *Neuropsychobiol.*, 1992, 26: 210-217.
262. Jones EG. The Thalamus. Plenum Press, New York, 1985. 955pp.
263. Jones EG. The Thalamus Revisited. Cambridge University Press, Cambridge, U.K. 2006.
264. Jones LS, Gauger LL, Davis JN, Anatomy of brain alpha 1-adrenergic receptors: in vitro autoradiography with [125I]-heat. *J. Comp. Neurol.*, 1985. 231: 190-208.
265. Jones BE, Moore RY. Ascending projections of the locus coeruleus in the rat. II. Autoradiographic study. *Brain Res.*, 1977, 127: 25-53.
266. Kaiser G. A Friendly Guide to Wavelets. Birkhäuser, Boston. 1994.
267. Kasamatsu T, Pettigrew JD, Ary M. Restoration of visual cortical plasticity by local microperfusion of norepinephrine. *J Comp Neurol.* 1979; 185(1): 163-181
268. Kotagal P, Yardi N. The relationship between sleep and epilepsy. *Semin Pediatr Neurol.* 2008; 15(2):42-49.
269. Kaminski M, Ding M, Truccolo WA, Bressler SL. Evaluating causal relations in neural systems: Granger causality, directed transfer function and statistical assessment of significance. *Biol. Cybern.*, 2001; 85: 145-157.
270. Kandel A, Buzsaki G. Cellular-synaptic generation of sleep spindles, spike-and-wave discharges, and evoked thalamocortical responses in the neocortex of the rat. *J. Neurosci.*, 1997, 17: 6783-6797.
271. Karpova AV, Bikbaev AF, Coenen AM, van Luijtelaaar G. Morphometric Golgi study of cortical locations in WAG/Rij rats: the cortical focus theory. *Neurosci. Res.*, 2005, 51: 119-128.
272. Kellaway P. Sleep and epilepsy. *Epilepsia*, 1985; 26 Suppl. 1: S15-30.
273. Khan YU, Gotman J. Wavelet based automatic seizure detection in intracerebral electroencephalogram. *Clin. Neurophysiol.*, 2003; 114: 898-908.
274. Kichula EA, Huntley GW. Developmental and comparative aspects of posterior medial thalamocortical innervation of the barrel cortex in mice and rats. *J. Comp. Neurol.*, 2008. 509(3): 239-258.
275. Killackey HP, Shinder A. Central correlates of peripheral pattern alterations in the trigeminal system of the rat. II. The effect of nerve section. *Brain Res.*, 1981; 227(1): 121-126.
276. Killackey HP, Chiaia NL, Bennett-Clarke CA, Eck M, Rhoades RW. Peripheral influences on the size and organization of somatotopic representations in the fetal rat cortex. *J. Neurosci.*, 1994; 14(3- 2): 1496-1506.
277. Kirov R, Moyanova S. Distinct sleep-wake stages in rats depend differentially on age. *Neurosci. Lett.*, 2002; 322, 134-136.
278. Kitchigina VF, Kutyreva EV, Brazhnik ES. Modulation of theta rhythmicity in the medial septal neurons and the hippocampal electroencephalogram in the awake rabbit via actions at noradrenergic alpha2-receptors. *Neurosci.*, 2003, 120: 509-521.

279. Klein JP, Khera DS, Nersesyan H, Kimchi EY, Waxman SG, Blumenfeld H. Dysregulation of sodium channel expression in cortical neurons in a rodent model of absence epilepsy. *Brain Res.*, 2004, 1000: 102–109.
280. Kleinlogel H. Spontaneous EEG paroxysms in the rat: effects of psychotropic and alpha-adrenergic agents. *Neuropsychobiol.*, 1985, 13: 206-213.
281. Kleinfeld D, Ahissar E, Diamond ME. Active sensation: insights from the rodent vibrissa sensorimotor system. *Curr Opin. Neurobiol.*, 2006; 16: 435–444
282. Kleinfeld D, Berg RW, O'Connor SM. Anatomical loops and their electrical dynamics in relation to whisking by rat. *Somatosens Mot Res.*, 1999; 16: 69–88.
283. Klupp H, Knappen F, Otsuka Y, Streller I, Teichmann H. Effects of clonidine on central sympathetic tone. *Eur. J. Pharmacol.*, 1970, 10(2): 225-229.
284. Kole MH, Bräuer AU, Stuart GJ. Inherited cortical HCN1 channel loss amplifies dendritic calcium electrogenesis and burst firing in a rat absence epilepsy model. *J Physiol.*, 2007; 578: 507-525.
285. Kolb B, Organization of the neocortex in rat. In: Kolb B, Tees R. (eds). *The cerebral cortex of the rat*. The MIT Press, Cambridge, Massachusetts; London. 1990: 21-48.
286. Kolb B, Walkey J. Behavioural and anatomical studies of the posterior parietal cortex in the rat. *Behav. Brain Res.*, 1987; 23: 127-145.
287. Konishi T, Matsuzawa J, Hongou K, Murakami M, Yamatani M, Yagi S. Partial seizures during the course in patients with absence epilepsy. *No To Hattatsu.*, 1999; 31, 395–401.
288. Koralek KA, Jensen KF, Killackey HP. Evidence for two complementary patterns of thalamic input to the rat somatosensory cortex. *Brain Res.*, 1988. 463: 346–351.
289. Kostopoulos GK. Spike-and-wave discharges of absence seizures as a transformation of sleep spindles: the continuing development of a hypothesis. *Clin Neurophysiol.*, 2000, Suppl. 2: S27-38.
290. Krieg, N.L.S. Connections of the cerebral cortex. I. The albino rat. A. Topography of the cortical areas. *J. Comp. Neurol.* 1946, 84: 221-275 (<http://brainmaps.org/pdf/krieg1.pdf>)
291. Kyriazi HT, Carvell GE, Simons DJ. OFF response transformations in the whisker/barrel system. *J. Neurophysiol.* 1994. 72(1): 392-401.
292. Labate A, Briellmann RS, Abbott DF, Waites AB, Jackson GD. Typical childhood absence seizures are associated with thalamic activation. *Epileptic Disord.* 2005, 7(4): 373-377.
293. Land PW, Akhtar ND. Chronic sensory deprivation affects cytochrome oxidase staining and glutamic acid decarboxylase immunoreactivity in adult rat ventrobasal thalamus. *Brain Res.* 1987; 425(1): 178-181.
294. Langer SZ. Presynaptic regulation of catecholamine release. *Biochem. Pharmacol.* 1974, 23: 1793-1800.
295. Lannes B, Micheletti G, Vergnes M, Marescaux C, Depaulis A, Warter JM. Relationship between spike-wave discharges and vigilance levels in rats with spontaneous petit mal-like epilepsy. *Neurosci. Lett.*, 1988, 94: 187-191.
296. Landolt HP, Dijk DJ, Achermann P, Borbely AA. Effect of age on the sleep EEG: slow-wave activity and spindle frequency activity in young and middle-aged men. *Brain Res.*, 1996; 738: 205-212.
297. Latka M, Was Z, Kozik A, West BJ. Wavelet analysis of epileptic spikes. *Phys. Rev. E*, 2003; 67: 052902-052906.
298. Latka M, Kozik A, Jernajczyk J, West BJ, Jernajczyk W. Wavelet mapping of sleep spindles in young patients with epilepsy. *J. Physiol. Pharmacol.*, 2005; 56 Suppl 4: 15-20.
299. Lee L-J, Chen W-J, Chuang Y-W, Wang Y-C. Neonatal whisker trimming causes long-lasting changes in structure and function of the somatosensory system. *Exp. Neurol.*, 2009; 219: 524–532.
300. Leresche N, Parri HR, Erdemli G, Guyon A, Turner JP, Williams SR, Asproдини E, Crunelli V. On the action of the anti-absence drug ethosuximide in the rat and cat thalamus. *J. Neurosci.*, 1998; 18(13): 4842-4853.

301. Leresche N, Lambert RC, Errington AC, Crunelli V. From sleep spindles of natural sleep to spike and wave discharges of typical absence seizures: is the hypothesis still valid? *Pflugers Arch.*, 2012; 463(1): 201-12.
302. Le Van Quyen M, Martinerie J, Adam C, Varela F. Nonlinear analyses of interictal EEG map the brain interdependences in human focal epilepsy. *Physica D*, 1999; 127: 250-266.
303. Le Van Quyen M, Foucher J, Lachaux J, Rodriguez E, Lutz A, Martinerie J, Varela FJ. Comparison of Hilbert transform and wavelet methods for the analysis of neuronal synchrony. *J. Neurosci. Methods*, 2001; 111: 83-98.
304. Le Van Quyen M, Bragin A. Analysis of dynamic brain oscillations: methodological advances. *Trends Neurosci.*, 2007; 30: 365-73.
305. Lemieux JF, Blume WT. Topographical evolution of spike-wave complexes. *Brain Res.*, 1986, 373: 275-287.
306. Leutmezer F, Lurger S, Baumgartner C. Focal features in patients with idiopathic generalized epilepsy. *Epilepsy Res.*, 2002; 50, 293-300
307. Li Q, Luo C, Yang T, Yao Z, He L, Liu L, Xu H, Gong Q, Yao D, Zhou D. EEG-fMRI study on the interictal and ictal generalized spike-wave discharges in patients with childhood absence epilepsy. *Epilepsy Res.*, 2009; 87(2-3): 160-168.
308. Lopes da Silva F, van Rotterdam A. Biophysical aspects of EEG and MEG generation. In: Niedermeyer E, Lopes da Silva F (Eds), *Electroencephalography. Basic principles, clinical applications and related fields.* Urban & Schwarzenberg, Baltimore, Munich, 1982: 5-26 (next edition 1987: 29-41).
309. Lopes da Silva FH, Givens AS, Remond A. (Eds.) *Handbook of Electroencephalography and Clinical Neurophysiology.* Elsevier Science Publisher B.V., Amsterdam, 1986.
310. Lopes da Silva FH, Electrical potentials. In: Ramachandran VS (Ed.), *Encyclopedia of the human brain.* Elsevier Science, 2002, pp. 147-167.
311. Lu SM, Lin RC. Thalamic afferents of the rat barrel cortex: a light and electron-microscopic study using Phaseolus vulgaris leucoagglutinin as an anterograde tracer. *Somatosens. Mot. Res.* 1993. 10: 1-16
312. Lüders H, Lesser RP, Dinner DS, Morris HH III. Generalized epilepsies: a review. *Cleve Clin Q.* 1984, 51: 205-226.
313. Luhmann HJ, Mittmann T, van Luijtelaaar G, Heinemann U. Impairment of intracortical GABAergic inhibition in a rat model of absence epilepsy. *Epilepsy Res.*, 1995, 22: 43-51.
314. Luthi A, McCormick DA. H-current: Properties of a neuronal and network pacemaker. *Neuron*, 1998, 21: 9-12.
315. Machín R, Pérez-Cejuela CG, Bjugn R, Avendaño C. Effects of long-term sensory deprivation on asymmetric synapses in the whisker barrel field of the adult rat. *Brain Res.*, 2006; 1107(1):104-110.
316. Mackenzie L, Pope KJ, Willoughby JO. Physiological and pathological spindling phenomena have similar regional EEG power distributions. *Brain Res.*, 2004; 15: 92-106.
317. Malpeli JG, Schiller PH. A method of reversible inactivation of small regions of brain tissue. *J. Neurosci. Methods*, 1979, 1: 143- 151.
318. Manning JP, Richards DA, Leresche N, Crunelli V, Bowery NG. Cortical-area specific block of genetically determined absence seizures by ethosuximide. *Neurosci.*, 2004, 123(1): 5-9.
319. Marescaux C, Vergnes M, Depaulis A. Genetic absence epilepsy in rats from Strasbourg: a review. *J. Neural. Transm.* [Suppl] 1992a, 35: 37- 69.
320. Marescaux C, Vergnes M, Depaulis A. Neurotransmission in rats' spontaneous generalized nonconvulsive epilepsy. *Epilepsy Res.* 1992b, Suppl. 8: 335-343.
321. Martin JH, Ghez C. Pharmacological inactivation in the analysis of the central control of movement, *J. Neurosci. Methods*, 1999, 86: 145- 159.
322. Maura G, Gemignani A, Raiteri M. Alpha 2-adrenoceptors in rat hypothalamus and cerebral cortex: functional evidence for pharmacologically distinct subpopulations. *Eur. J. Pharmacol.*, 1985, 116: 335-339.

323. McCormick D.A. Cholinergic and noradrenergic modulation of thalamocortical processing. *Trends Neurosci.*, 1989, 12(6): 215-221.
324. McCormick DA, Pape HC, Williamson A. Actions of norepinephrine in the cerebral cortex and thalamus: implications for function of the central noradrenergic system. *Prog. Brain Res.* 1991, 88: 293–305.
325. McCormick DA. Cortical and subcortical generators of normal and abnormal rhythmicity. *Int. Rev. Neurobiol.*, 2002; 49: 99-114.
326. McCormick L, Nielsen T, Nicolas A, Ptito M, Montplaisir J. Topographical distribution of spindles and K-complexes in normal subjects. *Sleep.* 1997; 20(11): 939-941.
327. Medvedev AV. Epileptiform spikes desynchronize and diminish fast (gamma) activity of the brain: An “anti-binding” mechanism? *Brain Res. Bull.*, 2002; 58: 115-128.
328. Meencke HJ, Janz D. Neuropathological findings in primary generalized epilepsy: a study of eight cases. *Epilepsia*, 1984, 25: 8-21.
329. Meeren HKM, van Luijckelaar ELJM, Coenen AML, Cortical and thalamic visual evoked potentials during sleep–wake states and spike-wave discharges in the rat. *Electroencephalogr. Clin. Neurophysiol.*, 1998; 108: 306–319
330. Meeren HK, Pijn JP, Van Luijckelaar EL, Coenen AM, Lopes da Silva FH. Cortical focus drives widespread corticothalamic networks during spontaneous absence seizures in rats. *J. Neurosci.* 2002; 22: 1480-1495.
331. Meeren H, van Luijckelaar G, Lopes da Silva F, Coenen A. Evolving concepts on the pathophysiology of absence seizures: the cortical focus theory. *Arch. Neurol.* 2005, 62: 371-376.
332. Meeren HK, Veening JG, Mödersheim TA, Coenen AM, van Luijckelaar G. Thalamic lesions in a genetic rat model of absence epilepsy: dissociation between spike-wave discharges and sleep spindles. *Exp. Neurol.*, 2009; 217(1): 25-37.
333. Merlo D, Mollinari C, Inaba Y, Cardinale A, Rinaldi AM, D’Antuono M, et al. Reduced GABAB receptor subunit expression and paired-pulse depression in a genetic model of absence seizures. *Neurobiol Dis.*, 2007; 25: 631-641
334. Merica H, Fortune RD. The neuronal transition probability model applied to the simulation of frequency continuity in NREM sleep. *Sleep Res. Online*, 1999; 2 (Suppl.1): 64.
335. Micheletti G, Warter JM, Marescaux C, Depaulis A, Tranchant C, Rumbach L, Vergnes M. Effects of drugs affecting noradrenergic neurotransmission in rats with spontaneous petit mal-like seizures. *Eur. J. Pharmacol.*, 1987, 135: 397-402.
336. Micheva KD, Beaulieu C. An anatomical substrate for experience-dependent plasticity of the rat barrel field cortex. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1995, 92(25): 11834-11838.
337. Micheva KD, Beaulieu C. Development and plasticity of the inhibitory neocortical circuitry with an emphasis on the rodent barrelfield cortex: a review. *Can. J. Physiol. Pharmacol.*, 1997; 75(5): 470-478.
338. Midzianovskaia IS, Kuznetsova GD, Coenen AM, Spiridonov AM, van Luijckelaar EL. Electrophysiological and pharmacological characteristics of two types of spike-wave discharges in WAG/Rij rats. *Brain Res.*, 2001, 911: 62-70.
339. Midzianovskaya I, Strelkov V, Rijn C, Budziszewska B, van Luijckelaar G, Kuznetsova G. Measuring clusters of spontaneous spike-wave discharges in absence epileptic rats. *J. Neurosci. Methods*, 2006, 154(1-2): 183-189.
340. Miller MW. Maturation of rat visual cortex: IV. The generation, migration, morphogenesis, and connectivity of atypically oriented pyramidal neurons. *J. Comp. Neurol.*, 1988; 274: 387–405.
341. Miller MW. Maturation of rat visual cortex. III. Postnatal morphogenesis and synaptogenesis of local circuit neurons. *Brain Res.*, 1986, 390(2): 271-285.
342. Mishra AM, Ellens DJ, Schridde U, Motelow JE, Purcaro MJ, DeSalvo MN, Enev M, Sanganahalli BG, Hyder F, Blumenfeld H. Where fMRI and electrophysiology agree to disagree: corticothalamic and striatal activity patterns in the WAG/Rij rat. *J Neurosci.*, 2011; 31(42): 15053-15064.

343. Moeller F, Siebner HR, Wolff S, Muhle H, Granert O, Jansen O, Stephani U, Siniatchkin M. Simultaneous EEG-fMRI in drug-naive children with newly diagnosed absence epilepsy. *Epilepsia*, 2008a; 49(9): 1510-1519.
344. Moeller F, Siebner HR, Wolff S, Muhle H, Boor R, Granert O, Jansen O, Stephani U, Siniatchkin M. Changes in activity of striato-thalamo-cortical network precede generalized spike wave discharges. *Neuroimage*, 2008b; 39(4): 1839-1849.
345. Moeller F, LeVan P, Muhle H, Stephani U, Dubeau F, Siniatchkin M, Gotman J. Absence seizures: individual patterns revealed by EEG-fMRI. *Epilepsia*. 2010; 51(10) :2000-2010.
346. Montplaisir J, Leduc L, Laverdière M, Walsh J, Saint-Hilaire JM. Sleep spindles in the human hippocampus: normal or epileptic activity? *Sleep*, 1981; 4(4): 423-428.
347. Morin D, Steriade M. Development from primary to augmenting responses in the somatosensory system. *Brain Res.*, 1981, 205: 49–66.
348. Morison RS, Demsey EW. A study of thalamo-cortical relations. *Am. J. Physiol.*, 1947; 135: 281–292.
349. Mormann F, Andrzejak RG, Elger CE, Lehnertz K. Seizure prediction: the long and winding road. *Brain*, 2007; 130 (Pt 2): 314-333.
350. Murray Sherman S, Guillery RW. Exploring the thalamus. San Diego: Academic Press. 2001. 312 p.
351. Myatchin I, Lagae L. Sleep spindle abnormalities in children with generalized spike-wave discharges. *Pediatr. Neurol.*, 2007; 36: 106-111.
352. Nadler B, Shevell MI. Childhood absence epilepsy requiring more than one medication for seizure control. *Can. J. Neurol. Sci.*, 2008; 35: 297-300.
353. Nagai Y, Hua XD, Lai YC. Controlling on-off intermittent dynamics. *Phys. Rev. E Stat. Phys. Plasmas Fluids Relat. Interdiscip. Topics*. 1996, 54: 1190-1199.
354. Nashmi R, Mendonca AJ, MacKay WA. EEG rhythms of the sensorimotor region during hand movements. *Electroencephalogr. Clin. Neurophysiol.*, 1994; 91: 456-467.
355. Neafsey EJ. The complete ratunculus: output organization of layer V of the cerebral cortex. In: Kolb, B. and Tees, R. (Eds) *The cerebral cortex of the rat*. Cambridge, MA: MIT Press, 1990: 197-210.
356. Neckelmann D, Amzica F, Steriade M. Spike-wave complexes and fast components of cortically generated seizures. III. Synchronizing mechanisms. *J. Neurophysiol.*, 1998, 80: 1480-94.
357. Nersesyan H, Hyder F, Rothman DL, Blumenfeld H. Dynamic fMRI and EEG recordings during spike-wave seizures and generalized tonic-clonic seizures in WAG/Rij rats. *J. Cereb. Blood Flow Metab.*, 2004; 24(6): 589-599
358. Ngomba RT, Santolini I, Biagioni F, Molinaro G, Simonyi A, van Rijn CM, D'Amore V, Mastroiacovo F, Olivieri G, Gradini R, Ferraguti F, Battaglia G, Bruno V, Puliti A, van Luijtelaaar G, Nicoletti F. Protective role for type-1 metabotropic glutamate receptors against spike and wave discharges in the WAG/Rij rat model of absence epilepsy. *Neuropharmacology*. 2011; 60(7-8): 1281-1291.
359. Nicolelis MA, Baccala LA, Lin RC, Chapin JK. Sensorimotor encoding by synchronous neural ensemble activity at multiple levels of the somatosensory system, *Science*, 1995, 268: 1353–1358.
360. Nicolelis MA, Fanselow EE. Thalamocortical optimization of tactile processing according to behavioral state. *Nature Neurosci.*, 2002, 5: 517–523.
361. Nicolelis MAL. Computing with thalamocortical ensembles during different behavioural states. *J. Physiol.*, 2005, 566: 37-47
362. Niedermeyer E. *The Generalized Epilepsies: A clinical electroencephalographical study*. Springfield, Ill: Charles C Thomas Publisher; 1972.
363. Niedermeyer E. Primary (idiopathic) generalized epilepsy and underlying mechanisms. *Clin. Electroencephalogr.*, 1996, 27: 1– 21.

364. Niedermeyer E, Lopes da Silva FH. (Eds.) *Electroencephalography. Basic Principles, Clinical Applications, and Related Fields*, 4th ed. 1999. Baltimore: Williams & Wilkins.
365. Nuñez A, Curro Dossi R, Contreras D, Steriade M. Intracellular evidence for incompatibility between spindle and delta oscillations in thalamocortical neurons of cat. *Neurosci.*, 1992, 48: 75-85.
366. Ohara PT, Lieberman AR, Hunt SP, Wu JL. Neuronal elements containing GAD in the dorsal LGN of the rat: immunocytochemical studies by light and electron microscopy. *Neurosci.*, 1983, 8: 189-211.
367. O'Leary DDM, Ruff NL, Dyck R H. Development, critical period plasticity, and adult reorganizations of mammalian somatosensory systems. *Curr. Opin. Neurobiol.*, 1994; 4: 535-544.
368. Osaka T, Matsumura H. Noradrenaline inhibits preoptic sleep-active neurons through alpha 2-receptors in the rat. *Neurosci. Res.*, 1995, 21: 323-330.
369. Ovchinnikov A, Luttjohann A, Hramov A, van Luijtelaar G. An algorithm for real-time detection of spike-wave discharges in rodents. *J. Neurosci. Methods*, 2010, 194(1): 172-178
370. Panayiotopoulos CP. Typical absence seizures and their treatment. *Arch. Dis. Child.*, 1999, 81(4): 351-355
371. Panayiotopoulos CP. Benign childhood epileptic syndromes with occipital spikes: a new classification proposed by the International League Against Epilepsy. *J. Child. Neurol.*, 2000; 15: 548-552.
372. Panayiotopoulos CP. Idiopathic generalised epilepsies. In: Panayiotopoulos CP (Ed) *The Epilepsies: Seizures, Syndromes and Management*: Bladon Medical Publishing, Oxford, 2005, pp. 271-348.
373. Panayiotopoulos CP. Typical absence seizures and related epileptic syndromes: assessment of current state and directions for future research. *Epilepsia*, 2008; 49(12): 2131-2139.
374. Pape HC. Queer current and pacemaker: the hyperpolarization-activated cation current in neurons. *Ann. Rev. Physiol.*, 1996; 58: 299-327.
375. Pastel RH, Fernstrom JD. The effects of clonidine on EEG wavebands associated with sleep in the rat. *Brain Res.*, 1984, 300: 243-255.
376. Paxinos G, Watson C. *The rat brain in stereotaxic coordinates*. Academic Press, New York, 1986.
377. Pellegrini A, Musgrave J, Gloor P. Role of afferent input of subcortical origin in the genesis of bilaterally synchronous epileptic discharges of feline generalized epilepsy. *Exp. Neurol.*, 1979; 64: 155- 173.
378. Pereda E, Quiñan Quiroga R, Bhattacharya J. Nonlinear multivariate analysis of neurophysiological signals. *Prog. Neurobiol.*, 2005; 77: 1-37.
379. Petit D, Gagnon J-F, Fantini ML, Ferini-Strambi L, Montplaisir J. Sleep and quantitative EEG in neurodegenerative disorders, *J Psychosom. Res.*, 2004, 56: 487-496.
380. Pickworth WB, Sharpe LG, Gupta VN. Morphine-like effects of clonidine on the EEG, slow wave sleep and behavior in the dog. *Eur. J. Pharmacol.*, 1982, 81: 551-557.
381. Pierret T, Lavalley P, Deschenes M. Parallel streams for the relay of vibrissal information through thalamic barreloids. *J. Neurosci.*, 2000; 20: 7455-7462.
382. Pinault D, Leresche N, Charpier S, Deniau JM, Marescaux C, Vergnes M, Crunelli V. Intracellular recordings in thalamic neurones during spontaneous spike and wave discharges in rats with absence epilepsy. *J. Physiol.*, 1998; 509 (Pt 2): 449-456.
383. Pinault D, Vergnes M, Marescaux C. Medium-voltage 5-9-Hz oscillations give rise to spike-and-wave discharges in a genetic model of absence epilepsy: in vivo dual extracellular recording of thalamic relay and reticular neurons. *Neurosci.*, 2001 105(1) 181-201.
384. Pinault D. Cellular interactions in the rat somatosensory thalamocortical system during normal and epileptic 5-9 Hz oscillations. *J. Physiol.*, 2003; 552(3): 881-905.
385. Pinault D, O'Brien TJ. Cellular and network mechanisms of genetically-determined absence seizures. *Thalamus Relat Syst.* 2005; 3(3): 181-203
386. Pinault D, Slezia A, Acsady L. Corticothalamic 5-9 Hz oscillations are more pro-epileptogenic than sleep spindles in rats. *J Physiol.*, 2006; 574(Pt 1): 209-227.

387. Polack PO, Guillemain I, Hu E, Deransart C, Depaulis A, Charpier S. Deep layer somatosensory cortical neurons initiate spike-and-wave discharges in a genetic model of absence seizures. *J Neurosci.*, 2007; 27: 6590–6599.
388. Polack PO, Mahon S, Chavez M, Charpier S. Inactivation of the somatosensory cortex prevents paroxysmal oscillations in cortical and related thalamic neurons in a genetic model of absence epilepsy. *Cereb Cortex.* 2009; 19(9): 2078-2091.
389. Pollen DA. Intracellular studies of cortical neurons during thalamic induced wave and spike. *Electroencephalogr. Clin. Neurophysiol.*, 1964; 17:398-404.
390. Pollen D.A., Trachtenberg M.C. Neuroglia: gliosis and focal epilepsy. *Science*, 1970. 167: 1252-1253
391. Poolos NP. The h-channel: a potential channelopathy in epilepsy? *Epilepsy Behav.*, 2005. 7:51–56
392. Poolos NP. H-channel dysfunction in generalized epilepsy: it takes two. *Epilepsy Curr.*, 2006. 6(3): 88-90.
393. Quian Quiroga R, Arnhold J, Grassberger P. Learning driver-response relationships from synchronization patterns. *Phys. Rev. E*, 2000, 61: 5142–5148.
394. Quesney LF, Andermann F, Gloor P. Dopaminergic mechanism in generalized photosensitive epilepsy, *Neurology*, 1981; 31: 1542–1544.
395. Rechtschaffen A, Kales AA. Manual of Standardized Terminology, Technique and scoring System for Sleep Stages of Human Subjects. Public Health Service, U.S. Government Printing Office, 1968.
396. Richards DA, Manning JP, Barnes D, Rombola L, Bowery NG, Caccia S, Leresche N, Crunelli V. Targeting thalamic nuclei is not sufficient for the full anti-absence action of ethosuximide in a rat model of absence epilepsy. *Epilepsy Res.*, 2003, 54: 97–107.
397. Ritter AB, Reisman SS, Michniak BB. Biomedical engineering principles. CRC Press: Taylor&Francis, 2005, 680 pp
398. Ritz R, Sejnowski TJ. Synchronous oscillatory activity in sensory systems: new vistas on mechanisms. *Curr. Opin. Neurobiol.*, 1997, 7: 536– 546.
399. Rodin E., Ancheta O. Cerebral electrical fields during petit mal absences. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol.*, 1987, 66: 457-466.
400. Rodin E, Cornellier D. Source derivation recordings of generalized spike-wave complexes. *Electroencephalogr. Clin. Neurophysiol.*, 1989, 73: 20-29.
401. Rodin EA, Rodin MK, Thompson JA. Source analysis of generalized spike –wave complexes. *Brain Topogr.*, 1994; 7: 113– 119.
402. Rodin E. Decomposition and mapping of generalized spike-wave complexes. *Clin. Neurophysiol.*, 1999, 110: 1868-1875.
403. Ross J, Johnson LC, Walter RD. Spike and wave discharges during stages of sleep. *Arch. Neurol.*, 1966: 399–407.
404. Rothman SM. Synaptic activity mediates death of hypoxic neurons. *Science*. 1983. 220(4596): 536-537.
405. Rouiller EM, Welker E. A comparative analysis of the morphology of corticothalamic projections in mammals. *Brain Res. Bull.*, 2000, 53: 727–741.
406. Ruffolo JrRR, Hieble JP. Alpha-adrenoceptors, *Pharmacol Ther.*, 1994, 61: 1-64.
407. Sabers A, Moller A, Scheel-Kruger J, Mouritzen Dam A. No loss in total neuron number in the thalamic reticular nucleus and neocortex in the genetic absence epilepsy rats from Strasbourg. *Epilepsy Res.*, 1996; 26: 45–48.
408. Sakurai K, Takeda Y, Tanaka N, Kurita T, Shiraishi H, Takeuchi F, Nakane S, Sueda K, Koyama T. Generalized spike-wave discharges involve a default mode network in patients with juvenile absence epilepsy: A MEG study. *Epilepsy Res.*, 2010; 89(2-3): 176-184.
409. Sargsyan A, Sitnikova E, Melkonyan A, Mkrтчian 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): 161-176.

410. Sato S, Dreifuss FE, Penry JK. The effect of sleep on spike-wave discharges in absence seizures. *Neurology*. 1973, 23: 1335–1345.
411. Schabus M, Modlmoser K, Gruber G, Sauter C, Anderer P, Klosch G, Parapatics S, Saletu B, Klimesch W, Zeitlhofer J. Sleep spindle-related activity in the human EEG and its relation to general cognitive and learning abilities. *Eur. J. Neurosci*. 2006; 23: 1738-1746.
412. Scheibner J, Trendelenburg AU, Hein L, Starke K. Alpha 2-Adrenoceptors modulating serotonin release: a study in alpha-2 adrenoceptor subtype-deficient mice. *Brit. J. Pharmacol.*, 2001, 132: 925–933.
413. Schimicek P, Zeitlhofer J, Anderer, P. Saletu B. Automatic sleep-spindle detection procedure: aspects of reliability and validity. *Clin. Electroencephalogr.*, 1994, 25: 26-29.
414. Scholle S, Zwacka G, Scholle HC. Sleep spindle evolution from infancy to adolescence. *Clin Neurophysiol.*, 2007: 118(7):1525-1531.
415. Schonwald SV, Gerhardt GJL, de Santa-Helena EL, Chaves MLF. Characteristics of human EEG sleep spindles assessed by Gabor transform. *Physica A*, 2003; 327: 180-184.
416. Schridde U, van Luijelaar G. The role of the environment on the development of spike-wave discharges in two strains of rats. *Physiol Behav.*, 2005, 84: 379-386.
417. Schridde U, Strauss U, Bräuer AU, van Luijelaar G. Environmental manipulations early in development alter seizure activity, Ih and HCN1 protein expression later in life. *Eur. J. Neurosci.*, 2006. 23, 3346–3358.
418. Schiff SJ, So P, Chang T, Burke RE, Sauer T. Detecting dynamical interdependence and generalized synchrony through mutual prediction in a neural ensemble. *Phys. Rev. E*, 1996; 54: 6708-6724.
419. Schwarz SK, Puil E. Analgesic and sedative concentrations of lignocaine shunt tonic and burst firing in thalamocortical neurones. *Br. J. Pharmacol.*, 1998, 124(8), 1633-1642.
420. Seidel WF, Maze M, Dement WC, Edgar DM. Alpha-2 adrenergic modulation of sleep: time-of-day-dependent pharmacodynamic profiles of dexmedetomidine and clonidine in the rat. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 1995, 275: 263-273.
421. Seidenbecher T, Pape HC. Contribution of intralaminar thalamic nuclei to spike-and-wave-discharges during spontaneous seizures in a genetic rat model of absence epilepsy. *Eur. J. Neurosci.*, 2001; 13: 1537–1546
422. Seidenbecher T, Staak R, Pape HC. Relations between cortical and thalamic cellular activities during absence seizures in rats. *Eur. J. Neurosci.*, 1998; 10(3): 1103-1112
423. Semba K, Komisaruk BR. Neural substrates of two different rhythmical vibrissal movements in the rat, *Neurosci.*, 1984, 12: 761– 774.
424. Senhadji L, Wendling F. Epileptic transient detection: wavelets and time-frequency approaches. *Neurophysiol. Clin.*, 2002; 32: 175-192.
425. Shaw FZ. Is spontaneous high-voltage rhythmic spike discharge in Long Evans rats an absence-like seizure activity? *J. Neurophysiol.*, 2004; 91(1): 63-77.
426. Sherman SM. [Thalamus](#). *Scholarpedia*, 2006, 1(9):1583 (doi:10.4249/scholarpedia.1583)
427. Sherman SM, Guillery RW. Exploring the thalamus and its role in cortical function. MIT Press, Cambridge. 2006.
428. Sherwood N.M., Timiras P.S. A stereotaxic atlas of the developing rat brain. Berkelye: University of California Press, 1970. 209 p.
429. Shih, J.J., Weisend, M.P., Davis, J.T. and Huang, M. Magnetoencephalographic characterization of sleep spindles in humans. *J. Clin. Neurophysiol.*, 2000, 17: 224-231.
430. Shoykhet M, Land PW, Simons DJ. Whisker trimming begun at birth or on postnatal day 12 affects excitatory and inhibitory receptive fields of layer IV barrel neurons. *J. Neurophysiol.*, 2005; 94(6): 3987–3995.
431. Silva LR, Amitai Y, Connors BW. Intrinsic oscillations of neocortex generated by layer 5 pyramidal neurons. *Science*, 1991; 251; 432–435

432. Simons DJ, Land PW. Early experience of tactile stimulation influences organization of somatic sensory cortex. *Nature*, 1987; 326, 694–697.
433. Simons DJ. Temporal and spatial integration in the rat SI vibrissa cortex. *J. Neurophysiol.* 1985; 54: 615–635.
434. 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.
435. Sitnikova E, van Luijtelaar G. Microinjections of lidocaine into the somatosensory cortex have a dose-dependent effect on the paroxysmal activity in WAG/Rij rats. *Methods and Findings in Exper. Clin. Pharmacol.*, 2004a; 26, Suppl. 2: 117. P16.
436. 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.
437. Sitnikova E, van Luijtelaar G. Cortical and thalamic coherence during spike-wave seizures in WAG/Rij rats. *Epilepsy Res.*, 2006, 71: 159-180.
438. 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
439. 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
440. 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.
441. 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
442. Sitnikova E. The role of somatosensory cortex in absence epilepsy (studies in genetic rat model). *Brain Research Journal*. 2009; 2(4): 281-296.
443. 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.
444. 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, 2010a. 187 p.
445. Sitnikova E., Kulikova S., Birioukova L., Raevsky V.V. 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.*, 2011. 71(2): 263-268
446. Sitnikova E. Neonatal sensory deprivation promotes development of absence seizures in adult rats with genetic predisposition to epilepsy. *Brain Res.*, 2011; 1377: 109-118.
447. Slaght SJ, Leresche N, Deniau JM, Crunelli V, Charpier S. Activity of thalamic reticular neurons during spontaneous genetically determined spike and wave discharges. *J. Neurosci.*, 2002; 22: 2323–2334.
448. Slobounov S, Ray W, Cao C, Chiang H. Modulation of cortical activity as a result of task-specific practice. *Neurosci. Lett.*, 2007; 421: 126-131.
449. Snead OC 3rd, Depaulis A, Vergnes M, Marescaux C. Absence epilepsy: advances in experimental animal models. *Advances in Neurology*, 1999; 79: 253–278.
450. Speckmann E-J, Altrup U. Generation of cortical field potentials. In: S. Zschocke & Speckmann E-J Eds. “Basic Mechanisms of the EEG (Brain Dynamic series)”. Boston: Birknauser, 1993; pp. 29-40.
451. Spinosa MJ, Garzon E. Sleep Spindles: Validated Concepts and Breakthroughs. *J Epilepsy Clin Neurophysiol.*, 2007; 13(4): 179-182
452. Steriade M. Interneuronal epileptic discharges related to spike-and-wave cortical seizures in behaving monkeys. *Electroencephalogr. Clin. Neurophysiol.*, 1974; 37:247-263.

453. Steriade M, Deschenes M. The thalamus as a neuronal oscillator. *Brain Res. Rev.*, 1984, 8: 1-63.
454. Steriade M, Llinas RR. The functional states of the thalamus and the associated neuronal interplay. *Physiol. Rev.*, 1988; 68: 649–742.
455. Steriade M, McCormick DA, Sejnowski TJ. Thalamocortical oscillation in the sleeping and aroused brain. *Science*, 1993; 262; 679–685.
456. Steriade M, Amzica F. Dynamic coupling among neocortical neurons during evoked and spontaneous spike-wave seizure activity. *J. Neurophysiol.*, 1994; 72: 2051–2069.
457. Steriade M, Contreras D. Relations between cortical and thalamic cellular events during transition from sleep patterns to paroxysmal activity. *J. Neurosci.*, 1995; 15(1 Pt 2): 623-642.
458. Steriade M, Contreras D. Spike-wave complexes and fast components of cortically generated seizures. I. Role of neocortex and thalamus. *J. Neurophysiol.*, 1998; 80: 1439-1455.
459. Steriade M. Impact of network activities on neuronal properties in corticothalamic systems. *J. Neurophysiol.*, 2001; 86; 1–39.
460. Steriade M. Cortical coupling in sleep and paroxysmal oscillations. *International Congress Series*, 2002; 1226: 71-85 (doi:10.1016/S0531-5131(01)00498-8)
461. Steriade M. Neuronal substrates of sleep and epilepsy. Cambridge University Press, Cambridge. 2003
462. Steriade M. Neocortical cell classes are flexible entities. *Nat. Rev. Neurosci.*, 2004; 5(2): 121-134.
463. Steriade M. Sleep, epilepsy and thalamic reticular inhibitory neurons. *Trends Neurosci.*, 2005; 28(6): 317-324.
464. Steriade M. Grouping of brain rhythms in corticothalamic systems. *Neurosci.*, 2006; 137: 1087-1106.
465. Stern JM, Engel J. Atlas of EEG patterns (Chapter 27 Sleep spindles). Lippincott Williams & Wilkins, 2004, 307 p.
466. Strauss U, Kole MH, Bräuer AU, Pahnke J, Bajorat R, Rolfs A, Nitsch R, Deisz RA. An impaired neocortical Ih is associated with enhanced excitability and absence epilepsy. *Eur. J. Neurosci.*, 2004; 19: 3048-3058.
467. Suffczynski P, Kalitzin S, Lopes Da Silva FH. Dynamics of non-convulsive epileptic phenomena modeled by a bistable neuronal network. *Neurosci.*, 2004; 126: 467-484.
468. Suntsova N, Kumar S, Guzman-Marin R, Alam MN, Szymusiak R, McGinty D. A role for the preoptic sleep-promoting system in absence epilepsy. *Neurobiol Dis.* 2009; 36(1): 126-141
469. Svensson TH, Bunney BS, Aghajanian GK. Inhibition of both noradrenergic and serotonergic neurons in brain by the alpha-adrenergic agonist clonidine. *Brain Res.*, 1975, 92(2), 291-306.
470. Swanson LW, Hartman BK. The central adrenergic system. An immunofluorescence study of the location of cell bodies and their efferent connections in the rat utilizing dopamine-beta-hydroxylase as a marker. *J. Comp. Neurol.*, 1975, 163: 467-505.
471. Szabo B. Imidazoline antihypertensive drugs: a critical review on their mechanism of action. *Pharmacol. Ther.* 2002, 93(1): 1-35.
472. Szot P, Weinshenker D, White SS, Robbins CA, Rust NC, Schwartzkroin PA, Palmiter RD. Norepinephrine-deficient mice have increased susceptibility to seizure-inducing stimuli. *J. Neurosci.* 1999, 19: 10985–10992.
473. Tanguay PE, Ornitz EM, Kaplan A, Bozzo ES. Evolution of sleep spindles in childhood. *Electroencephalogr. Clin. Neurophysiol.*, 1975; 38:175-181.
474. Tehovnik EJ, Sommer MA. Effective spread and time course of neural inactivation caused by lidocaine injection in monkey cerebral cortex. *J. Neurosci. Methods*, 1997, 74: 17– 26.
475. Temkin O. The Falling Sickness. A history of epilepsy from the Greeks to the beginnings of modern neurology, 2-nd Ed. Johns Hopkins Press, Baltimore. 1971.
476. Tenney JR, Duong TQ, King JA, Ludwig R, Ferris CF. Corticothalamic modulation during absence seizures in rats: a functional MRI assessment. *Epilepsia*, 2003; 44: 1133–1140.

477. Terrier G, Gottesmann CL. Study of cortical spindles during sleep in the rat. *Brain Res. Bull.*, 1978, 3(6): 701-706.
478. Timofeev I, Grenier F, Steriade M. Spike-wave complexes and fast components of cortically generated seizures. IV. Paroxysmal fast runs in cortical and thalamic neurons. *J. Neurophysiol.*, 1998, 80: 1495-1513.
479. Timofeev I, Bazhenov M, Sejnowski TJ, Steriade M. Cortical hyperpolarization-activated depolarizing current takes part in the generation of focal paroxysmal activities. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2002; 99: 9533-9537.
480. Timofeev I, Steriade M. Neocortical seizures: initiation, development and cessation. *Neurosci.*, 2004, 123: 299-336.
481. Tolmacheva EA, van Luijtelaar G, Chepurinov SA, Kaminskij Y, Mares P. Cortical and limbic excitability in rats with absence epilepsy. *Epilepsy Res.*, 2004; 62: 189-198.
482. Tryba AK, Kaczorowski CC, Ben-Mabrouk F, Elsen FP, Lew SM, Marcuccilli CJ. Rhythmic intrinsic bursting neurons in human neocortex obtained from pediatric patients with epilepsy. *Eur. J. Neurosci.*, 2011; 34(1):31-44.
483. Uchida S, Maloney T, March JD, Azari R, Feinberg I. Sigma (12-15 Hz) and delta (0.3-3 Hz) EEG oscillate reciprocally within NREM sleep. *Brain Res. Bull.*, 1991, 27: 93-96.
484. Ueda K, Nittono H, Hayashi M, Hori T. Estimation of generator sources of human sleep spindles by dipole tracing method. *Psychiatry Clin. Neurosci.*, 2000, 54: 270-271.
485. Uhlhaas PJ, Singer W. Neural synchrony in brain disorders: relevance for cognitive dysfunctions and pathophysiology. *Neuron*, 2006; 52(1): 155-168.
486. Urakami Y. Relationships between sleep spindles and activities of cerebral cortex as determined by simultaneous EEG and MEG recording. *J. Clin. Neurophysiol.*, 2008; 25(1): 13-24.
487. Vadász C, Carpi D, Jando G, Kandel A, Urioste R, Horvath Z, Pierre E, Vadi D, Fleischer A, Buzsáki G. Genetic threshold model of rodent spike-and-wave epilepsy. *Am. J. Med. Genet.*, 1995; 60: 55-63.
488. van de Bovenkamp-Janssen MC, Akhmadeev A, Kalimullina L, Nagaeva DV, van Luijtelaar EL, Roubos EW. Synaptology of the rostral reticular thalamic nucleus of absence epileptic WAG/Rij rats. *Neurosci. Res.*, 2004; 48(1): 21-31
489. van de Bovenkamp-Janssen MC, Korosi A, Veening JG, Scheenen WJMJ, van Luijtelaar ELJM, Roubos EW. Neuronal parvalbumin and absence epilepsy in WAG/Rij rats. In: van Luijtelaar G, Kuznetsova GD, Coenen A, Chepurinov S (eds) *The WAG/Rij model of absence epilepsy: The Nijmegen-Russian Federation papers*. NICI, Nijmegen, 2004: 29-36.
490. van de Bovenkamp-Janssen MC, van der Kloet JC, van Luijtelaar G, Roubos EW. NMDA-NR1 and AMPA-GluR4 receptor subunit immunoreactivities in the absence epileptic WAG/Rij rat. *Epilepsy Res.*, 2006; 69(2): 119-128.
491. Van der Loos H, Woolsey TA. Somatosensory cortex: Structural alterations following early injury to sense organs. *Science*, 1973; 179: 395-398.
492. van Hese P, Martens JP, Boon P, Dedeurwaerdere S, Lemahieu I, Van de Walle R. Detection of spike and wave discharges in the cortical EEG of genetic absence epilepsy rats from Strasbourg. *Phys. Med. Biol.*, 2003; 48(12): 1685-1700.
493. van Luijtelaar ELJM, Coenen AML. Two types of electrocortical paroxysms in an inbred strain of rats. *Neurosci. Lett.* 1986, 70, 393-397.
494. van Luijtelaar EL, Coenen AM. Circadian rhythmicity in absence epilepsy in rats. *Epilepsy Res.* 1988; 2(5): 331-336
495. van Luijtelaar ELJM, Coenen AM. Genetic Models of Absence Epilepsy: New Concepts and Insights. В кн. *Encyclopedia of Basic Epilepsy Research*, Ed. Schwartzkroin PA, Oxford: Academic Press, 2009: 1-8.
496. van Luijtelaar ELJM. Spike-wave discharges and sleep spindles in rats. *Acta Neurobiol. Exp. (Warsz)*. 1997; 57(2): 113-121.

497. van Luijtelaar G, Budziszewska B, Jaworska-Feil L, Ellis J, Coenen A, Lason W. The ovarian hormones and absence epilepsy: a long-term EEG study and pharmacological effects in a genetic absence epilepsy model. *Epilepsy Res.*, 2001, 46: 225 – 239.
498. van Luijtelaar G, Sitnikova EYu. The focal theory of absence epilepsy (Abstracts from the 25-th International Epilepsy Congress. Lisbon, Portugal October 2003). *Epilepsia*. 2003, 44, Suppl 8: 36. 009.
499. van Luijtelaar G, Sitnikova E. Global and focal aspects of absence epilepsy: the contribution of genetic model. *Neurosci. Biobehav. Rev.*, 2006, 30: 983-1003.
500. van Luijtelaar G, Sitnikova, EY, Midzyanovskaya IS. Cortical control of absence seizures: focal initiation, spreading and modulation. В кн.: Generalized seizures: from clinical phenomenology to underlying systems and networks. Ред. Hirsch E, Andermann F, Chauvel P, Engel J, Lopes da Silva F, Luders H. Montrouge, France: John Libbey Eurotext, 2006: 93–117.
501. van Luijtelaar G, Bikbaev A. Midfrequency cortico-thalamic oscillations and the sleep cycle: genetic, time of day and age effects. *Epilepsy Res.*, 2007: 73: 259-265.
502. van Luijtelaar 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
503. van Luijtelaar G, Sitnikova E, Littjohann A. On the origin and suddenness of absences in genetic absence models. *Clin. EEG Neurosci.*, 2011a; 42(2): 83-97
504. Vantini G, Perry BD, Guchhait RB, U'Prichard DC, Stolk JM. Brain epinephrine systems: detailed comparison of adrenergic and noradrenergic metabolism, receptor number and in vitro regulation, in two inbred rat strains, *Brain Res.*, 1984, 296: 49-65.
505. van Vugt MK, Sederberg PB, Kahana MJ. Comparison of spectral analysis methods for characterizing brain oscillations. *J. Neurosci. Methods*, 2007; 162: 49-63.
506. Vergnes M, Marescaux C, Depaulis A, Micheletti G, Warter JM. Spontaneous spike and wave discharges in thalamus and cortex in a rat model of genetic petit mal-like seizures. *Exp. Neurol.* 1987, 96: 127-136.
507. Vergnes M, Marescaux C. Cortical and thalamic lesions in rats with genetic absence epilepsy. *J. Neural. Transm. (Suppl.)*, 1992; 35: 71–83.
508. von Krosigk M, Bal T, McCormick DA. Cellular mechanisms of a synchronized oscillation in the thalamus. *Science*, 1993; 261: 361–364.
509. Weinschenker D, Szot P. The role of catecholamines in seizure susceptibility: New results using genetically-engineered mice. *Pharmacol. Ther.*, 2002, 94: 213–233.
510. Weir B. The morphology of the spike-wave complex. *Electroencephalogr. Clin. Neurophysiol.*, 1965; 19: 284-290.
511. Welker C. Microelectrode delineation of fine grain somatotopic organization of Sml cerebral neocortex in albino rat. *Brain Res.*, 1971, 26: 259-275.
512. Welker W, Sanderson KJ, Shambes GM. Patterns of afferent projections to transitional zones in the somatic sensorimotor cerebral cortex of albino rats. *Brain Res.*, 1984; 292: 261-267.
513. Werth E, Acherman P, Dijk DJ, Borberly AA. Spindle frequency activity in the sleep EEG: individual differences and topographic distribution. *Electroenceph. Clin. Neurophysiol.*, 1997, 1103: 535-542.
514. Westmijse I, Ossenblok P, Gunning B, van Luijtelaar G. Onset and propagation of spike and slow wave discharges in human absence epilepsy: A MEG study. *Epilepsia*. 2009; 50(12):2538-2548.
515. Wiest MC, Nicolelis MA. Behavioral detection of tactile stimuli during 7–12Hz cortical oscillations in awake rats. *Nature Neurosci.*, 2003; 6: 913–914.
516. Williams D. A study of thalamic and cortical rhythms in petit mal. *Brain*, 1953, 76: 50-69.
517. Willoughby JO, Mackenzie L. Nonconvulsive electrocorticographic paroxysms (Absence Epilepsy) in rat strains. *Lab. Anim. Sci.*, 1992, 42: 551-554.
518. Worrell GA, Parish L, Cranstoun SD, Jonas R, Baltuch G, Litt B. High-frequency oscillations and seizure generation in neocortical epilepsy. *Brain*, 2004, 127(Pt 7): 1496-506.

519. Yamauchi T. Impairment of consciousness during epileptic seizures with special reference to neuronal mechanisms. *Epilepsia*, 1998; 39(Suppl.5): 16-20.
520. Yu C, Derdikman D, Haidarliu S, Ahissar E. Parallel thalamic pathways for whisking and touch signals in the rat. *PLoS Biol.*, 2006; 4(5): e124. DOI: 10.1371/journal.pbio.0040124.
521. Zarowski M, Loddenkemper T, Vendrame M, Alexopoulos AV, Wyllie E, Kothare SV. Circadian distribution and sleep/wake patterns of generalized seizures in children. *Epilepsia*. 2011; 52(6):1076-1083.
522. Zucker E, Welker WI. Coding of somatic sensory input by vibrissae neurons in the rat's trigeminal ganglion. *Brain Res.*, 1969. 12: 138–156.
523. Zygierewicz J, Blinowska KJ, Durka, PJ, Szelenberger W, Niemcewicz S, Androsiuk W. High resolution study of sleep spindles. *Electroencephalogr. Clin. Neurophysiol.*, 1999, 110: 2136-2147.