

ОРИГИНАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

DOI: 10.7868/S0869813918100052

**ВОЗРАСТНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ ПИК-ВОЛНОВЫХ РАЗРЯДОВ  
У КРЫС ЛИНИИ WAG/Rij  
С ГЕНЕТИЧЕСКОЙ АБСАНСНОЙ ЭПИЛЕПСИЕЙ**

© А. В. Габова,<sup>1</sup> К. Ю. Саркисова,<sup>1</sup> Е. А. Федосова,<sup>1</sup>  
А. Б. Шацкова,<sup>1</sup> А. А. Морозов<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН,  
Москва, Россия

E-mail: agabova@yandex.ru

<sup>2</sup> Институт радиотехники и электроники им. В. А. Котельникова РАН,  
Москва, Россия

Крысы линии WAG/Rij являются моделью генетической абсансной эпилепсии, характеризующейся наличием пик-волновых разрядов (ПВР) на ЭЭГ. Известно, что первые ПВР у крыс линии WAG/Rij возникают в возрасте 2—3 месяцев, а в дальнейшем их число и длительность увеличиваются. Однако эволюция ПВР в процессе прогрессивного развития абсансной эпилепсии у крыс линии WAG/Rij остается неисследованной. Цель настоящей работы — выяснить возрастные изменения частотно-временной динамики, частотного спектра и морфологических характеристик ПВР у крыс линии WAG/Rij. Для достижения этой цели у одних и тех же крыс в возрасте от 2 до 12 месяцев исследовали эволюцию ПВР. Установлено, что ПВР формируются в возрасте 2—4 месяцев, в дальнейшем наблюдают морфологические изменения ПВР. Показано, что в процессе прогрессивного развития абсансной эпилепсии ПВР проходят 3 стадии «созревания». Предполагается, что связанная с возрастом эволюция ПВР у крыс линии WAG/Rij является отражением прогрессивных электрофизиологических изменений в соматосенсорной коре — области мозга, с которой связывают генерацию и генерализацию ПВР.

*Ключевые слова:* крысы линии WAG/Rij, генетическая модель абсансной эпилепсии, пик-волновые разряды, возрастные изменения, частотно-временной анализ ЭЭГ, Фурье-анализ.

Рос. физиол. журн. им. И. М. Сеченова. Т. 104. № 10. С. 1176—1189. 2018

*A. V. Gabova,<sup>1</sup> K. Yu. Sarkisova,<sup>1</sup> E. A. Fedosova,<sup>1</sup> A. B. Shatskova,<sup>1</sup> A. A. Morozov.<sup>2</sup>*  
AGE-RELATED CHANGES OF SPIKE-WAVE DISCHARGES IN WAG/Rij RATS WITH  
GENETIC ABSENCE EPILEPSY. <sup>1</sup> Institute of Higher Nervous Activity and Neurophysiology  
of RAS, Moscow, Russia; e-mail: agabova@yandex.ru; <sup>2</sup> Kotel'nikov Institute of Radio Engineer-  
ing and Electronics of the RAS, Moscow, Russia.

WAG/Rij rats are an experimental model of human genetic absence epilepsy, which is characterized by spike-wave discharges (SWDs) in the EEG. It is known that the first SWDs in WAG/Rij

rats appear at the age of 2—3 months, and later on their number and duration increase. However, evolution of SWDs during the processes of absence epilepsy progressive development in WAG/Rij rats remains to be investigated. The aim of the present study was to find out the age-related changes in the time-frequency dynamics, frequency spectra and morphological characteristics of SWDs in WAG/Rij rats. To achieve this, the evolution of SWDs was investigated in the same rats at the age of 2 to 12 months. It has been established that SWDs are formed at the age of 2—4 months, and later on morphological changes of SWDs take place. It has been shown that during absence epilepsy progressive development SWDs successively passes three stages of «maturation». It is supposed that age-related evolution of SWDs in WAG/Rij rats reflects progressive electrophysiological changes in the somatosensory cortex, a brain region that is related with a generation and generalization of SWDs.

*Key words:* WAG/Rij rats, genetic model of absence epilepsy, spike-wave discharges, age-related changes, the time-frequency analysis of EEG, Fourier analysis.

RUSSIAN JOURNAL OF PHYSIOLOGY. V. 104. N 10. P. 1176—1189. 2018

Крысы линии WAG/Rij являются одной из генетических моделей абсансной эпилепсии человека [17]. Абсансная эпилепсия — неконвульсивная форма эпилепсии, при которой на ЭЭГ регистрируются спонтанные, генерализованные пик-волновые разряды (ПВР), сопровождающиеся полным или частичным отключением сознания (отсутствие реакции на внешние стимулы). Известно, что первые признаки абсансной эпилепсии (единичные ПВР на ЭЭГ) у крыс линии WAG/Rij возникают в возрасте 2—4 месяцев, а в дальнейшем интенсивность эпилептической активности постепенно нарастает (увеличивается число и длительность ПВР) [4, 7, 19]. Считается, что дисфункция таламокортикальной системы мозга является основной причиной формирования абсансной эпилепсии у человека и животных. При этом полагают, что гипертоническая возбудимость соматосенсорной коры, которая приводит к трансформации сонных веретен в эпилептические ПВР, является основным патогенетическим механизмом абсансной эпилепсии [5, 9]. Вместе с тем во многих работах ведущая роль в развитии абсанс-эпилепсии отводится соматосенсорной коре как первоисточнику ПВР [10—14].

Возрастные изменения ПВР исследованы у двух моделей абсанс-эпилепсии: у мышей линии C3H/HeJ [6] и у крыс линии GAERS [8]. Мыши линии C3H/HeJ и крысы линии GAERS отличаются от крыс линии WAG/Rij тем, что ПВР появляются у них в более раннем возрасте ( $\geq 15$  и  $\geq 30$  дней соответственно), чем у крыс линии WAG/Rij ( $\geq 75$  дней) [8, 19, 20]. Обнаружено, что незрелые разряды предшествуют появлению зрелых разрядов как у мышей линии C3H/HeJ, так и у крыс линии GAERS [6, 8], проходя три стадии «созревания». Процесс созревания разрядов сопровождался увеличением фоновой активности и возбудимости нейронов соматосенсорной коры мозга [8]. Эволюция ПВР в процессе прогрессивного развития абсансной эпилепсии у крыс линии WAG/Rij остается неисследованной. Ранее нами было показано, что воспитание приемной матерью крыс линии Вистар с высоким уровнем материнской заботы вызывает замедление процесса прогрессивного развития абсанс-эпилепсии. Так, у взрослых 7—8-месячных крыс линии WAG/Rij число и длительность ПВР были меньше, чем у контрольных крыс, а у 30 % крыс ПВР полностью отсутствовали, замещаясь незрелыми разрядами разной степени «созревания» [15, 16]. Эти данные привели к предположению, что незрелые разряды, встречающиеся у взрослых крыс линии WAG/Rij, воспитанных приемной здоровой матерью, аналогичны незрелым разрядам, характерным для более ранней стадии развития патологии у крыс линии WAG/Rij, воспитанных собственными матерями.

Цель настоящей работы — выяснить возрастные изменения частотно-временной динамики, частотного спектра и морфологических характеристик ПВР у крыс линии WAG/Rij. Для достижения этой цели у одних и тех же крыс в возрасте от 2 до 12 месяцев исследовали эволюцию ПВР.

## МЕТОДИКА

Работа выполнена на семи крысах линии WAG/Rij и четырех крысах линии Вистар. Крысы содержались в стандартных условиях вивария. Запись ЭЭГ проводили в течение 3 ч в день (с 16.00 до 19.00) у свободно передвигающихся животных с фронтальных (AP: +2 мм, L: 2.5 мм) и затылочных (AP: –6 мм, L: 4 мм) отделов коры. Регистрацию ЭЭГ осуществляли с помощью восьмиканального беспроводного усилителя биопотенциалов BR8V1 (Texas Instruments, США) в соответствии с ранее описанной методикой [15, 16] монополярно, референтный электрод размещали над мозжечком. ПВР выделяли согласно стандартным критериям [19]. Вживление электродов (миниатюрные винтики из нержавеющей стали) проводили под хлоралгидратной анестезией (400 мг/кг, в/б). Операцию по вживлению электродов осуществляли у крыс в возрасте около 2 месяцев, а затем проводили ежемесячно записи ЭЭГ у одних и тех же крыс до 12—13-месячного возраста. Первую запись ЭЭГ проводили примерно через 7 дней после операции по вживлению электродов. Анализировали разряды, зарегистрированные во фронтальной коре мозга, в которой они имеют большую амплитуду и более отчетливо выраженную морфологическую структуру по сравнению с разрядами, регистрируемыми в задних отделах коры мозга. Частотно-временную динамику ПВР исследовали с помощью комплексного вейвлета Морле (строили 2-мерные вейвлет-спектрограммы) в соответствии с ранее разработанной методикой [3]. Спектры мощности частот разрядов вычисляли методом Уэлча, используя быстрое преобразование Фурье (окно Хэннинга шириной 2 с, перекрытие окна равно 7/8). Для построения усредненных частотных спектров использовали выборку из 45—50 разрядов в каждой возрастной группе. Кроме того, вычисляли средние значения амплитуды. Для вычисления среднего значения амплитуды брали 28—30 разрядов в каждой возрастной группе. Во всех случаях анализировали ПВР целиком с помощью специально разработанной программы. ПВР строился в окне программы из записи ЭЭГ в формате edf. Каждый пик (максимум и минимум) ПВР отмечался вручную, и программа давала два ряда значений частей амплитуды в мкВ относительно нулевой линии (негативные и позитивные части амплитуды). Эти значения переносили в программу Excel. Общее значение амплитуды вычисляли как сумму абсолютных значений амплитуд соответствующих негативных и позитивных пиков для каждого пик-волнового комплекса в разряде. Затем определяли среднюю амплитуду разрядов (мкВ) и индекс асимметрии (%) [(негативная часть амплитуды / общее значение амплитуды) · 100 %]. Вычисляли также число разрядов, их среднюю длительность (общая длительность разрядов/число разрядов) и индекс (%) пик-волновой активности [(общая длительность разрядов/время регистрации) · 100 %]. Кроме того, определяли долю (%) зрелых разрядов для каждой возрастной группы.

Статистическую обработку данных осуществляли с помощью пакета статистических программ «Statistica Release 7». Использовали дисперсионный анализ с повторными измерениями (ANOVA with repeated measures) с последующим определением различий между средними значениями показателей

по критерию Ньюмена—Кеулса (Newman—Keuls test). Существование связи между возрастом и долей зрелых разрядов (% от общего числа зрелых и незрелых разрядов) определяли по коэффициенту корреляции Спирмена, а между числом и средней длительностью разрядов по коэффициенту корреляции Пирсона.

Эксперименты проведены в соответствии с международными правилами содержания и обращения с животными (Директива Европейского сообщества от 22 сентября 2010 г. — Directive 2010/63/EU).

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Типичный (зрелый) ПВР у крыс линии WAG/Rij представляет собой ритмическую активность, состоящую из чередующихся пиков и волн со средней частотой около 7—8 Гц, средней длительностью от 2 до 6—7 с (длительность отдельных разрядов может достигать более 20 с) и амплитудой 800—1000 мкВ. Зрелый разряд у крысы линии WAG/Rij в возрасте 7 месяцев представлен на рис. 1, 1. Он полностью соответствует всем характеристикам ПВР, описанным ранее у крыс линии WAG/Rij [2]. ПВР обычно начинается внезапно с более высокой частоты (9—11 Гц), затем снижается примерно в течение 0.5 с. Далее мгновенная частота разряда колеблется около средней частоты разряда с небольшим снижением частоты по ходу разряда до 5—7 Гц. Эти изменения частоты разряда во времени отражены на вейвлет-спектрограмме (рис. 1, 2). Спектр мощности типичного ПВР у крыс линии WAG/Rij состоит из пика на фундаментальной частоте разряда (7—8 Гц) и нескольких (обычно двух) гармоник с частотами, кратными фундаментальной (рис. 1, 3). Согласно схеме, предложенной ранее [18], ПВР состоит из следующих компонентов: пик 1, ранний позитивный переходный процесс (ранний ППП), пик 2 (П2), поздний позитивный переходный процесс (поздний ППП) и волна. Перечисленные компоненты разряда являются его морфологическими характеристиками. Фрагмент разряда (рис. 1, 4) в увеличенном масштабе иллюстрирует морфологию типичного зрелого разряда. На нем представлены все компоненты, характерные для ПВР: ранний ППП (а), П2 (б), поздний ППП (в) и волна (г).

В наших экспериментах первые ПВР у крыс линии WAG/Rij появлялись в возрасте от 2 до 4 месяцев. В возрасте 2 месяцев разряды имелись у 28.6 % крыс, в возрасте 3 месяцев — у 71.4 % крыс и возрасте 4 месяцев — у 100 % крыс. Дисперсионный анализ показал значимый эффект фактора «возраст» на число ( $F_{(10,60)} = 11.7, p < 0.001$ ), длительность ( $F_{(10,60)} = 21.5, p < 0.001$ ) и индекс ( $F_{(10,60)} = 14.04, p < 0.001$ ) ПВР. С возрастом все показатели абсанс-эпилепсии увеличивались. Так, среднее число разрядов в 2 месяца составляло  $3.14 \pm 1.75$ , в 12 месяцев —  $96.86 \pm 24.56$ , средняя длительность разрядов в 2 месяца составляла  $0.74 \pm 0.49$  с, в 12 месяцев —  $6.44 \pm 0.72$  с, средний индекс в 2 месяца составлял  $0.07 \pm 0.06$  %, а в 12 месяцев —  $5.59 \pm 1.27$  %. Увеличение числа и длительности разрядов происходило неравномерно. Так, число разрядов и их средняя длительность возрастали с 2 до 6 месяцев в 20 и в 6 раз соответственно, а с 6 до 12 месяцев — всего в 1.5 раза. Обнаружена значимая положительная корреляция между числом и средней длительностью разрядов ( $r = 0.5$ ).

Можно выделить три стадии возрастных изменений ПВР у крыс линии WAG/Rij. Первая стадия «созревания» разряда наступает примерно в 2 месяца (рис. 2, А). Незрелый разряд первой стадии развития, зарегистрированный

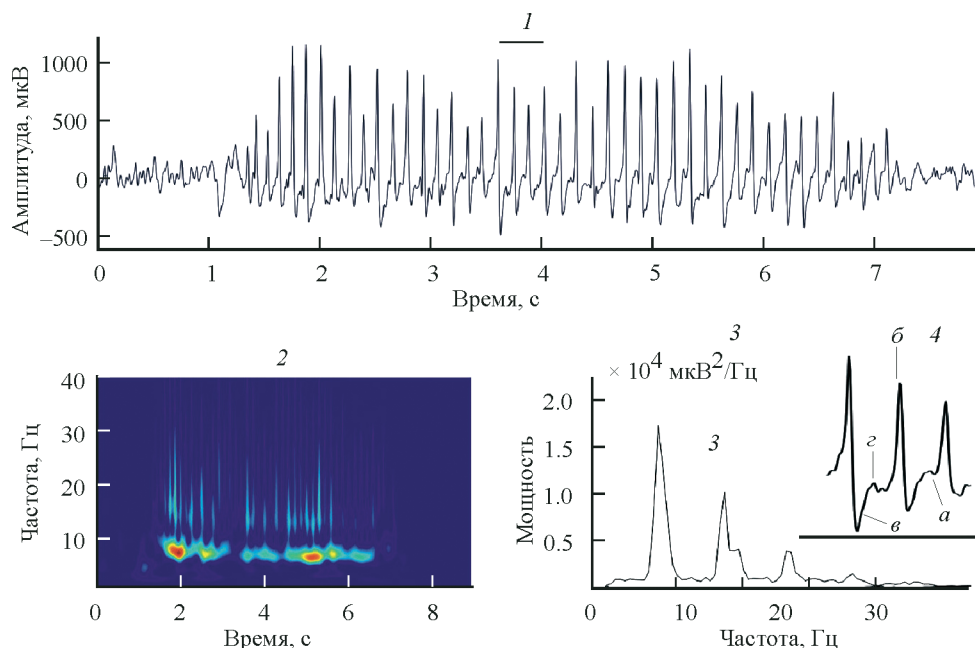


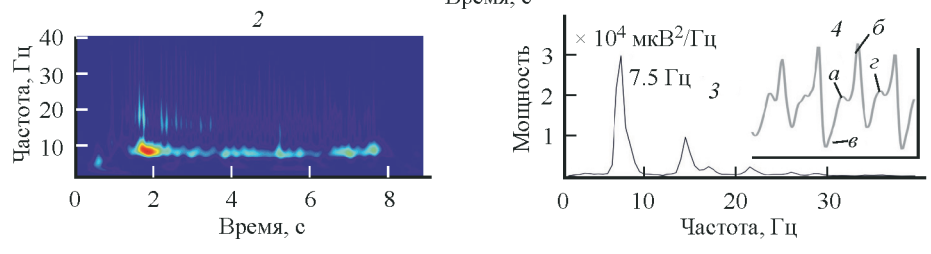
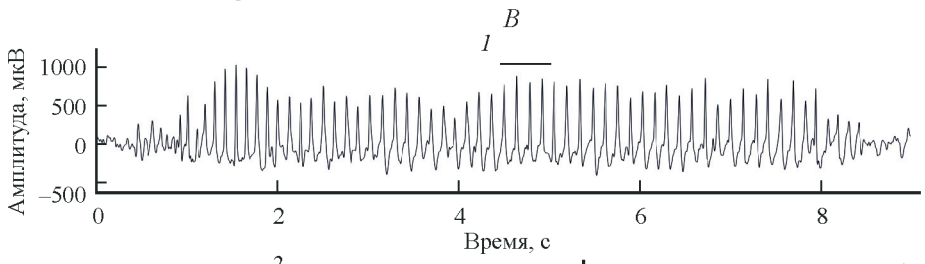
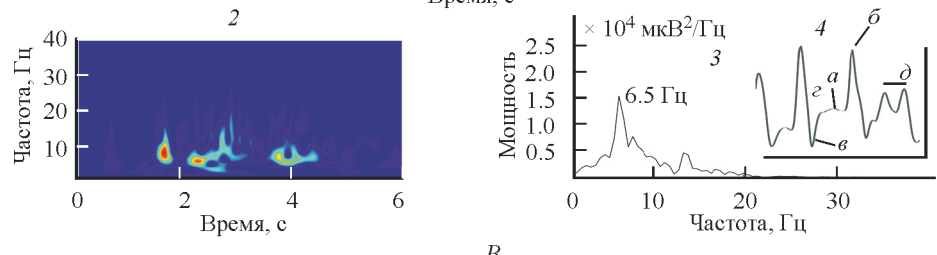
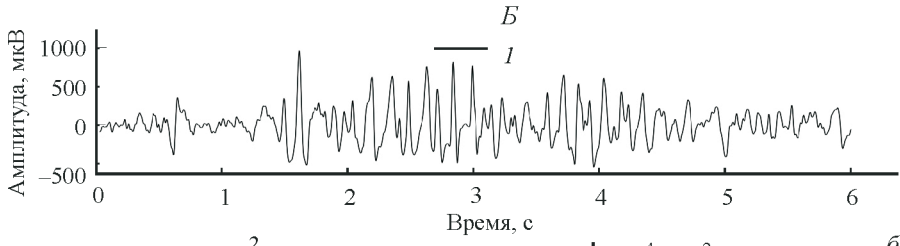
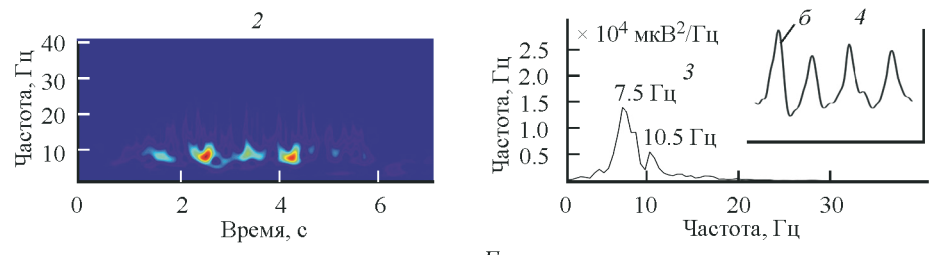
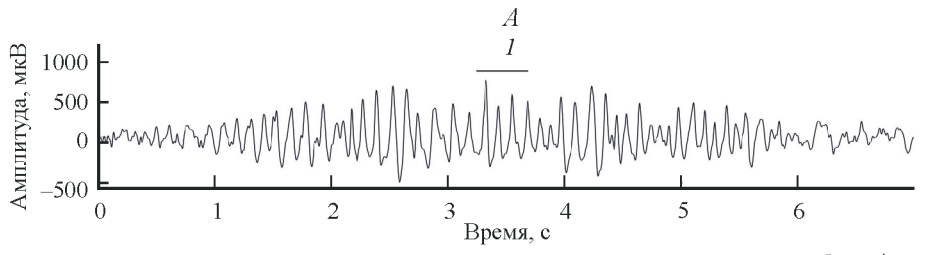
Рис. 1. Характеристики зрелого ПВР, зарегистрированного у крысы линии WAG/Rij в возрасте 7 месяцев.

1 — пример ПВР; 2 — вейвлет-спектрограмма ПВР, отражающая его частотно-временную динамику; 3 — спектральная плотность мощности ПВР, вычисленная методом Уэлча с использованием быстрого преобразования Фурье; 4 — фрагмент ПВР, представленный на увеличенной по времени шкале (отмечен горизонтальной линией над разрядом) с целью иллюстрации его морфологии: *a* — ранний ППП, *б* — П2, *в* — поздний ППП, *г* — волна. Шкалы: время 500 мс (абсцисса), амплитуда 500 мкВ (ордината).

в состоянии спокойного бодрствования у крысы линии WAG/Rij, представляет собой осцилляции, напоминающие веретенообразную активность (рис. 2, *A*, 1). Особенностью незрелого разряда является наличие только пиков, амплитуда которых постоянно изменяется (то увеличивается, то уменьшается). На вейвлет-спектрограмме отражаются колебания частоты и амплитуды разряда (рис. 2, *A*, 2). На спектре мощности можно видеть пик на фундаментальной частоте 7.5 Гц. Этот пик на спектре мощности имеет меньшую амплитуду и он менее острый, чем пик на спектре мощности у зрелого разряда (рис. 1, 3). Кроме того, на спектре мощности имеется также второй пик на частоте 10.5 Гц, не являющейся гармоникой фундаментальной частоты, что говорит о неустойчивой частоте разряда (рис. 2, *A*, 3). На фрагменте разряда, представленного на увеличенной по времени шкале, хорошо видны его морфологические особенности: из последовательности ранний ППП, П2, поздний ППП, волна — можно видеть только пики П2 (рис. 2, *A*, 4).

Рис. 2. Стадии развития разрядов, зарегистрированных у одной и той же крысы линии WAG/Rij в разном возрасте.

*A* — незрелый разряд, первая стадия «созревания», возраст 2 месяца; *B* — смешанный разряд, представляющий собой смесь пик-волновых комплексов и короткого фрагмента веретенообразной активности (*д*), вторая стадия «созревания», возраст 3 месяца; *B* — зрелый разряд, третья стадия «созревания», возраст 5 месяцев. Остальные обозначения те же, что и на рис. 1.



Вторая (переходная) стадия «созревания» разряда наступает примерно в возрасте 3 месяцев. В разряде перемежаются пик-волновые комплексы и короткие осцилляции, состоящие из нескольких пиков различной амплитуды и напоминающие фрагменты сонных веретен. Пики «смешанного» разряда переходной стадии развития менее острые (рис. 2, Б, 1), чем в зрелых разрядах (рис. 1, 1). Вейвлет-спектрограмма разряда второй стадии развития, аналогично вейвлет-спектрограмме разряда первой стадии развития, демонстрирует неустойчивую частоту и амплитуду разряда (рис. 2, Б, 2). На спектре мощности мы видим два пика: первый пик на частоте 6.5 Гц, второй пик на частоте 14 Гц, который предположительно является первой гармоникой спектра разряда (рис. 2, Б, 3). Пик спектра мощности разряда второй стадии развития, так же как и пик спектра мощности разряда первой стадии развития, имеет меньшую амплитуду по сравнению с пиком спектра мощности зрелого разряда. Однако по сравнению с незрелым разрядом первой стадии развития (рис. 2, А, 3) он более острый (рис. 2, Б, 3). На фрагменте разряда «смешанного» типа, представленного на увеличенной по времени шкале, можно видеть морфологические особенности разряда переходной стадии развития: пик-волновые комплексы, которые имеют все компоненты, присущие типичному ПВР, такие как ранний ППП, П2, поздний ППП, волна, а также элементы веретенообразной активности, нехарактерные для зрелых разрядов (рис. 2, Б, 4, д).

Третья стадия «созревания» разряда наступает у крыс линии WAG/Rij примерно в возрасте 4—5 месяцев. Зрелый разряд третьей стадии развития (рис. 2, В, 1) представляет собой регулярную пик-волновую активность, пики без волн отсутствуют (рис. 2, В, 1). Вейвлет-спектрограмма этой стадии развития ПВР (рис. 2, В, 2) соответствует вейвлет-спектрограмме типичного зрелого ПВР (рис. 1, 2). На спектре мощности имеется хорошо выраженный острый пик большой амплитуды на фундаментальной частоте, равной 7.5 Гц, что свидетельствует об устойчивой частоте разряда, а также два пика, являющихся гармониками фундаментальной частоты (рис. 2, В, 3). На фрагменте разряда, построенном на увеличенной по времени шкале, хорошо видно, что в последовательности ранний ППП, П2, поздний ППП, волна — имеются все компоненты ПВР. По сравнению с разрядом переходной стадии «созревания» пики разрядов третьей стадии более острые, и в разряде отсутствуют элементы веретенообразной активности, что указывает на то, что разряд является «зрелым» (рис. 2, В, 4).

У крыс линии Вистар разряды не обнаружены. Сравнение незрелых разрядов (осцилляций), которые являются первой стадией развития разрядов у крыс линии WAG/Rij, с сонными веретенами у крыс Вистар показало существенные различия между ними. Так, средняя длительность незрелых разрядов составляет  $2.20 \pm 0.26$  с (длительность отдельных разрядов может достигать 6—8 с), средняя амплитуда  $591.41 \pm 11.80$  мкВ, средняя частота  $10.44 \pm \pm 0.28$  Гц. У сонных веретен, зарегистрированных у крыс Вистар, средняя длительность ( $1.22 \pm 0.12$  с) и амплитуда ( $282.07 \pm 6.92$  мкВ) меньше, а средняя частота ( $12.95 \pm 0.41$  Гц) больше по сравнению с аналогичными показателями у незрелых разрядов у крыс линии WAG/Rij ( $p < 0.001$  для всех показателей).

Анализ возрастных изменений амплитуды и индекса асимметрии разрядов показал, что эти показатели значимо увеличиваются до возраста 8—9 месяцев, а в дальнейшем практически не изменяются (см. таблицу).

Усредненные спектры мощности разрядов у крыс линии WAG/Rij разного возраста показали, что фундаментальная частота разрядов у животных в воз-

Возрастные изменения амплитуды и индекса асимметрии ПВР  
у крыс линии WAG/Rij

Возраст, месяцы	Амплитуда разрядов (мкВ)	Коэффициент асимметрии разрядов (%)	Число разрядов
2—3	675.94 ± 31.57 <sup>++</sup>	58.93 ± 0.77 <sup>++</sup>	30
4—5	770.49 ± 37.94 <sup>*</sup>	64.02 ± 1.24 <sup>***++</sup>	22
6—7	803.27 ± 23.88	67.06 ± 0.57 <sup>***++</sup>	30
8—9	893.68 ± 12.36 <sup>*#</sup>	70.49 ± 0.46 <sup>***#</sup>	30
12—13	924.82 ± 21.04	71.65 ± 0.44	22

Примечание. Данные представлены в виде средних значений и ошибки средних ( $M \pm m$ ). \*  $p < 0.05$ , \*\*  $p < 0.01$ , \*\*\*  $p < 0.001$  по сравнению с предыдущим возрастом; ++  $p < 0.01$  по сравнению со всеми остальными возрастными; #  $p < 0.05$ , ##  $p < 0.01$  по сравнению со всеми предыдущими возрастными (ANOVA с повторными измерениями с последующим определением различий средних показателей по критерию Ньюмена—Кеулса).

расте 2—3 месяцев не имеет острого пика и изменяется в диапазоне частоты 7—9 Гц. У животных в возрасте 4—5 месяцев фундаментальная частота разрядов имеет частоту 7 Гц, а в возрасте 6—7 месяцев — частоту 7.5 Гц (рис. 3). Обнаружены значимые возрастные изменения спектральной плотности мощности разрядов в дельта-(1—4 Гц), тета-(5—7 Гц), альфа-(8—12 Гц) и бета-(13—25 Гц) диапазоне. Усредненные спектры мощности у крыс линии WAG/Rij в возрасте 8—9 и 12—13 месяцев не отличались значимо от усредненных спектров мощности у тех же крыс в возрасте 6—7 месяцев, поэтому здесь не представлены.

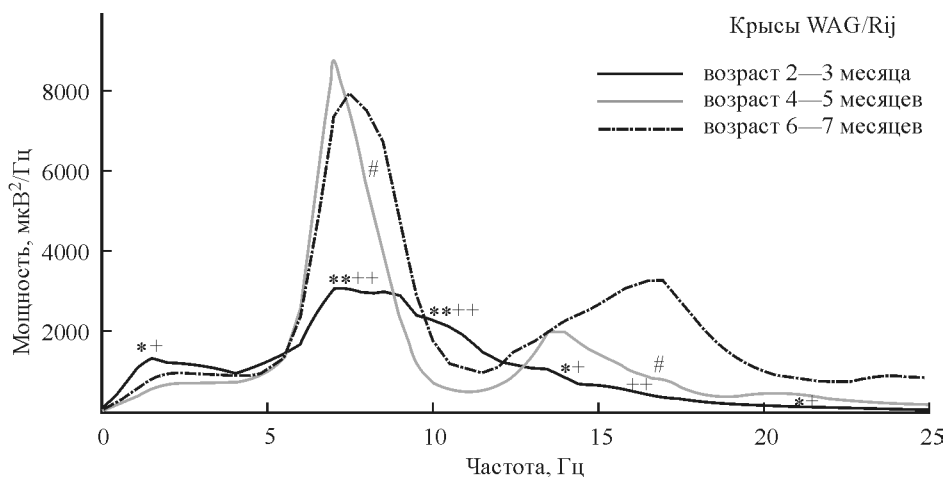


Рис. 3. Усредненные спектры мощности разрядов, вычисленные методом Уэлча с применением быстрого преобразования Фурье, у крыс линии WAG/Rij разного возраста (20—30 разрядов для каждого возраста у 7 крыс).

У крыс в возрасте 2—3 месяца по сравнению с возрастом 4—5 месяцев: \*  $p < 0.05$ , \*\*  $p < 0.01$  (различия на частотах 1—2 Гц, 7—8, 10—12, 14, 20—25 Гц). У крыс в возрасте 2—3 месяца по сравнению с возрастом 6—7 месяцев: +  $p < 0.05$  (различия на частотах 1—2 Гц, 7—8, 10—12, 14, 16, 20—25 Гц). У крыс в возрасте 4—5 месяцев по сравнению с возрастом 6—7 месяцев: #  $p < 0.05$  (различия на частотах 7—8, 16—17 Гц). ANOVA с последующим определением значимости различий между средними значениями показателей по критерию Ньюмена—Кеулса.



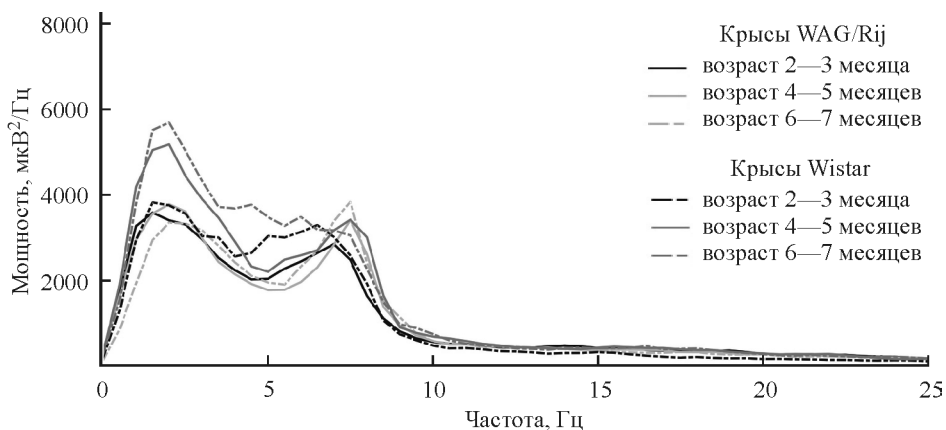


Рис. 4. Усредненные спектры мощности фоновых ЭЭГ, вычисленные методом Уэлча с применением быстрого преобразования Фурье, у крыс линий WAG/Rij (20—30 разрядов для каждого возраста у 7 крыс) и Вистар (20—30 разрядов для каждого возраста у 4 крыс) в возрасте 2—3, 4—5 и 6—7 месяцев. Остальные обозначения те же, что и на рис. 3. Статистически значимых различий не обнаружено ни на одной из исследованных частот (1—25 Гц) как между крысами линий WAG/Rij и Wistar, так и между разным возрастом в пределах каждой из линий крыс.

Сравнение усредненных спектров мощности фоновых ЭЭГ у крыс линии WAG/Rij в возрасте 2—3, 4—5 и 6—7 месяцев не выявило значимых отличий ни по одной из исследованных частот в диапазоне 1—25 Гц (рис. 4). Различия в фоновой ЭЭГ не обнаружены как между крысами линии WAG/Rij и Вистар, так и между крысами разного возраста в пределах каждой из линий крыс.

Следует отметить, что у крыс линии WAG/Rij в возрасте больше 4 месяцев наряду с хорошо сформированными «зрелыми» разрядами на ЭЭГ можно встретить разряды первой и второй стадий развития (они составляют около

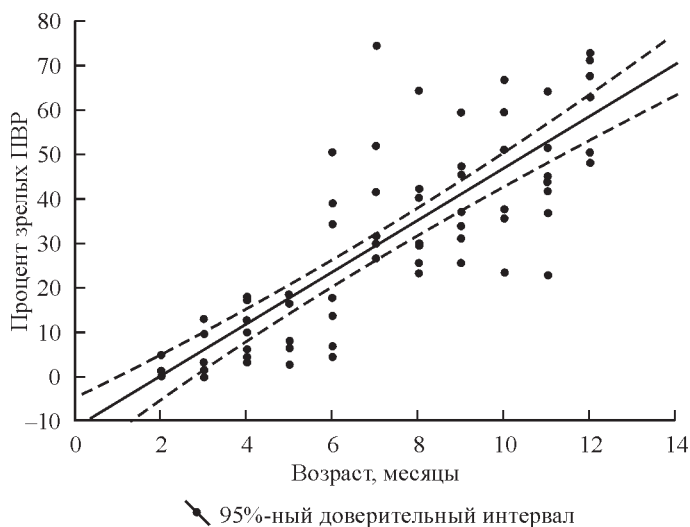


Рис. 5. Связь между долей (%) зрелых разрядов и возрастом у крыс линии WAG/Rij. Коэффициент корреляции Спирмена.  $r = 0.836$ .

30 % от общего числа разрядов). При этом у разных крыс темпы созревания разрядов отличаются. Вместе с тем у всех крыс с возрастом число незрелых разрядов уменьшается, а число зрелых, напротив, увеличивается. Дисперсионный анализ (ANOVA) с повторными измерениями показал значимый эффект фактора «возраст» для доли (%) зрелых разрядов ( $F_{(10,60)} = 24.42$ ,  $p < 0.001$ ). Установлена значимая положительная корреляция ( $r = 0.84$ ) между процентом зрелых разрядов и возрастом (рис. 5).

## ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

В экспериментах, проведенных нами на крысах линии WAG/Rij в возрасте от 2 до 12—13 месяцев, установлено, что показатели абсанс-эпилепсии (число, длительность и индекс ПБР) увеличиваются с возрастом, указывая на прогрессивное развитие патологии. Усиление симптомов абсансной эпилепсии происходило неравномерно: до 6-месячного возраста эпилептическая симптоматика усиливалась в 5—6 раз быстрее, чем с 6- до 13-месячного возраста. При этом увеличение числа разрядов сопровождалось увеличением и их средней длительности. Полученные нами данные согласуются с ранее проведенными исследованиями на крысах линии WAG/Rij в возрасте от 1 до 18 месяцев, показавшими увеличение числа и длительности ПБР с возрастом [4, 20]. В настоящей работе было установлено, что до 8—9-месячного возраста происходит также увеличение амплитуды и индекса асимметрии ПБР, затем эти показатели практически не изменяются. Этот факт свидетельствует о том, что завершение формирования ПБР происходит к 8—9-месячному возрасту. Другими словами, полностью выраженные клинические проявления абсансной эпилепсии у крыс линии WAG/Rij возникают к 8—9-месячному возрасту.

Исследование возрастных изменений (эволюции) ПБР у крыс линии WAG/Rij с генетической абсансной эпилепсией позволило нам выделить три стадии «созревания» разрядов. В работах на крысах линии GAERS [8] и мышях линии C3H/HeJ [6], являющихся другими генетическими моделями абсансной эпилепсии, авторы также выделяют 3 стадии развития разрядов. Это, видимо, указывает на то, что в основе «созревания» эпилептических разрядов (эпилептогенеза) у крыс линии WAG/Rij, крыс линии GAERS и мышей линии C3H/HeJ лежат общие механизмы. В пользу этого предположения свидетельствует сходство изменения морфологии разряда, в котором происходит постепенный переход от осцилляций к незрелому разряду смешанного типа, имеющему осцилляции и пик-волновые комплексы, и затем к зрелому ПБР. У обеих линий крыс осцилляции на первой стадии «созревания» разрядов практически симметричны при сравнительно небольшой амплитуде. Однако в процессе прогрессивного развития разрядов их амплитуда и асимметрия увеличиваются. У крыс линии WAG/Rij, так же как и у крыс линии GAERS, частота разрядов на первой стадии развития выше, чем на второй стадии, а на третьей стадии она снова повышается. Но если у крыс линии WAG/Rij средняя частота разряда имеет наибольшую величину на первой стадии развития, то у крыс линии GAERS частота разряда максимальна на третьей стадии. У мышей линии C3H/HeJ в процессе созревания разрядов их средняя частота также постепенно повышается. В спектрах мощности разрядов, построенных в нашей работе и работе [8], есть сходство: на первой стадии развития разрядов у обеих линий крыс имеется только пик на фундаментальной частоте, на второй стадии «созревания» появляется первая гармоника, а на третьей ста-

дии — две гармоники. Однако имеется и отличие: у крыс линии WAG/Rij на первой и второй стадиях «созревания» разряды имеют неустойчивую частоту, судя по данным вейвлет-анализа и анализа спектра мощности. В отличие от крыс линии WAG/Rij у крыс линии GAERS разряды на первой и второй стадиях развития имеют более стабильную частоту, о чем свидетельствуют данные анализа спектра мощности [8]. В работе [6] на мышках линии C3H/HeJ спектры мощности разрядов не анализировались, но на разрядах, представленных в статье, расстояния между пиками сильно варьируют, некоторые части разряда напоминают веретено, следовательно, частота разряда на первой стадии развития, так же как у крыс линии WAG/Rij, нестабильна.

Следует отметить различие между крысами линии WAG/Rij и GAERS в скорости «созревания» разрядов. Так, у крыс линии WAG/Rij «созревание» разрядов происходит в течение нескольких месяцев (с 2 до 5—6 месяцев). У крыс линии GAERS процесс «созревания» разрядов происходит существенно быстрее (с 15- до 40—50-дневного возраста) [8]. Имеется также и еще одно существенное отличие между крысами линии WAG/Rij и GAERS. Так, показано, что у крыс линии GAERS в 12—14 месяцев интенсивность абсансной эпилепсии уменьшается: уменьшаются число, длительность и амплитуда разрядов [7]. В нашей работе показано, что интенсивность абсансной эпилепсии у крыс линии WAG/Rij в возрасте 12—13 месяцев практически не изменяется по сравнению с 8—9-месячным возрастом. Амплитуда, индекс асимметрии, число и длительность разрядов у крыс линии WAG/Rij в возрасте 12—13 месяцев не уменьшаются по сравнению с 6—7-месячным возрастом, а продолжают увеличиваться, хотя и не так существенно как с 2—3- до 6—7-месячного возраста.

Можно предположить, что незрелые разряды первой стадии развития у крыс линии WAG/Rij являются эпилептизированными веретенами. В работе [1] показано, что параметры веретен у крыс линии WAG/Rij связаны со степенью эпилептизации мозга животного. Авторы установили, что средняя частота веретен фронтальной области коры мозга у крыс линии WAG/Rij с абсансной эпилепсией была значительно ниже, чем у крыс Вистар без проявлений эпилепсии [1]. Это совпадает с нашими данными, полученными при сравнении незрелых разрядов первой стадии развития и веретенами у крыс Вистар: средняя частота веретен у этих крыс без признаков эпилепсии была значимо больше, чем средняя частота незрелых разрядов у эпилептических крыс линии WAG/Rij. «Пик-волновое веретено» [1, 18] в целом имеет те же характеристики, что и разряды смешанного типа второй стадии развития: наличие пик-волновых компонентов и осцилляций, являющихся частью веретена. Имеются работы, где выдвигается и подтверждается гипотеза о том, что разряды возникают из веретен [4, 9, 21]. Вместе с тем следует отметить, что незрелые разряды (осцилляции), несмотря на их сходство с веретенами, являются эпилептическими разрядами. В пользу этой точки зрения свидетельствует тот факт, что осцилляции (незрелые разряды) можно увидеть на ЭЭГ только у эпилептических животных. Кроме того, незрелые разряды (осцилляции) первой стадии развития возникают в состоянии пассивного бодрствования, когда возникают и зрелые ПВР, и сопровождаются характерным для абсансной эпилепсии изменением в поведении — неподвижность, голова опущена (гипотония шейных мышц), подергивание вибрисс. Поэтому незрелые разряды можно считать проявлением первой стадии эпилептогенеза у крыс линии WAG/Rij. Тот факт, что с возрастом число незрелых разрядов уменьшается и они замещаются зрелыми разрядами, может служить еще одним подтверждением высказанной нами точки зрения о том, что осцилляции у 2—3-месячных

крыс линии WAG/Rij являются разрядами, хотя напоминают по ряду признаков веретена.

У крыс линии WAG/Rij незрелые разряды первой стадии развития имеют только пики, а на второй стадии созревания разрядов такой компонент пик-волнового комплекса, как ранний ППП, появляется нерегулярно. У мышей линии СЗН/HeJ и крыс линии GAERS [6, 8] на первой стадии развития разрядов также имеются только пики, а на второй стадии развития в пик-волновых комплексах незрелых разрядов этот компонент также появляется редко. Можно предположить, что нерегулярное присутствие одного из компонентов комплекса пик-волна, такого как ранний ППП, является общей закономерностью развития ПБП у животных, представляющих собой разные модели абсансной эпилепсии человека.

В ЭЭГ крысы линии WAG/Rij в возрасте более 4 месяцев имелись разряды всех трех стадий развития. С увеличением возраста крыс разрядов первой и второй стадий развития становится меньше. У крыс GAERS [8] число незрелых разрядов также уменьшается с возрастом, хотя они имеются на второй и третьей стадии созревания разрядов. Это свидетельствует о неравномерном созревании разрядов у крыс обеих линий.

Значимые различия усредненных спектров мощности подтверждают изменение формы разрядов с возрастом. Стабилизация и увеличение мощности фундаментальной частоты, появление второй и третьей гармоник у крыс в возрасте 4—5 месяцев говорит о переходе от незрелых разрядов в возрасте 2—3 месяцев к зрелым разрядам в возрасте 4—5 месяцев. У крыс в возрасте 6—7 месяцев по сравнению с 4—5-месячным возрастом увеличивается значение фундаментальной частоты и частоты первой гармоники, других существенных изменений в усредненном спектре мощности не происходит. Отсутствие значимых возрастных изменений в усредненных спектрах мощности фоновых ЭЭГ свидетельствует о том, что с возрастом происходит избирательное изменение спектральной мощности разрядов, и это изменение нельзя объяснить возрастными изменениями ЭЭГ как таковой.

Ранее было показано [8], что связанное с возрастом «созревание» кортикальных эпилептических разрядов у крыс линии GAERS коррелирует с прогрессивным повышением возбудимости нейронов, деполяризацией мембран нервных клеток и усилением спонтанной нейронной активности в глубоких слоях соматосенсорной коры. Указанные изменения сопровождались прогрессивным усилением локальной синаптической активности, приводящей к повышению способности нейронов к генерации синхронизированных осцилляций и генерализации эпилептической активности по нейронным сетям к другим корковым и подкорковым структурам мозга. Эти данные свидетельствуют, что абсансные припадки возникают вследствие прогрессивного усиления проиктогенных свойств нейронов соматосенсорной коры мозга. Хотя традиционно считалось, что дисфункция таламокортикальной системы мозга является основной причиной формирования абсансной эпилепсии у человека и животных, на крысах линии GAERS было экспериментально доказано, что таламокортикальные нейроны не могут эндогенно генерировать пароксизмальные осцилляции и не требуются для появления ПБП в соматосенсорной коре [14].

В эволюции разрядов крыс линии GAERS и WAG/Rij в процессе прогрессивного развития абсансной эпилепсии есть много общего. Можно предположить, что возрастные изменения разрядов у крыс линии WAG/Rij, выявленные в настоящей работе, обусловлены теми же механизмами, что и у крыс линии GAERS и также связаны с прогрессивным развитием эпилептогенных

процессов в соматосенсорной коре мозга. Предполагается, что связанная с возрастом эволюция ПВР у крыс линии WAG/Rij является отражением прогрессивных электрофизиологических изменений в соматосенсорной коре — области мозга, с которой связывают генерацию и генерализацию ПВР.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- [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. деятельности. 62 (6): 733—744. 2012. [Sitnikova E. Yu., Grubov V. V., Khramov A. E., Koronovskii A. A. Age-related changes in time-frequency structure of sleep spindles in EEG in rats with genetic predisposition to absence epilepsy (Wag/Rij). Zh Vyssh Nerv Deiat. 62(6): 733—744. 2012. (In Russ.).]
- [2] Bosnyakova D., Gabova A., Kuznetsova G., Obukhov Y., Midzyanovskaya I., Salomin 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. 30 (154): 80—88. 2006.
- [3] 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. 118 (8): 1736—1743. 2007.
- [4] Coenen A., van Luijtelaar E. Genetic animal models for absence epilepsy: a review of the WAG/Rij strain of Rats. Behav. Genetics. 33 (6): 635—655. 2003.
- [5] Destexhe A., Sejnowski T. Thalamocortical assemblies. How ion channels, single neurons and large-scale networks organize sleep oscillations. Oxford Univer. Press. Oxford. 2001.
- [6] Ellens D., Hong E., Giblin K., Singleton M. J., Bashyal C., Englot D. J., Mishra A. M., Blumenfeld H. Development of spike-wave seizures in C3H/HeJ mice. Epilepsy Res. 85 (2): 53—59. 2009.
- [7] Islam M., Abdullah J. Age-dependent Electroencephalographic Differences in the Genetic Absence Epilepsy Rats from Strasbourg (GAERS) Model of Absence Epilepsy. Malays J. Med. Sci. Spec. Issue. 34—40. 2014.
- [8] Jarre G., Altwegg-Boussac T., Williams M., Studer F., Chipaux M., David O., Charpiet S., Depaulis A., Mahon S., Guillemain I., Islam M. R., Abdullah J. M. Building up absence seizures in the Somatosensory cortex: from network to cellular epileptogenic processes. Cerebral Cortex. 27 (9): 4607—4623. 2017.
- [9] Kostopoulos G. Spike-and-wave discharges of absence seizures as a transformation of sleep spindles: the continuing development of a hypothesis. Clin. Neurophysiol. 111 (9): 27—38. 2000.
- [10] Manning J. P., Richards D. A., Leresche N., Crunelli V., Bowerly N. G. Cortical-area specific block of genetically determined absence seizures by ethosuximide. Neuroscience. 123 (1): 5—9. 2004.
- [11] Meeren H. K., Pijn J. P., van Luijtelaar E. L., Coenen A. M., Lopes da Silva F. H. Cortical focus drives widespread corticothalamic networks during spontaneous absence seizures in rats. J. Neurosci. 22 (4): 1480—1495. 2002.
- [12] Meeren H., van Luijtelaar G., Lopes da Silva F., Coenen A. Evolving concepts on the pathophysiology of absence seizures: the cortical focus theory. Arch. Neurol. 62 (3): 371—376. 2005.
- [13] Polack P. O., Guillemain I. E., Deransart C., Depaulis A., Charpiet S. Deep layer somatosensory cortical neurons initiate spike-and-wave discharges in a genetic model of absence seizures. J. Neurosci. 27 (24): 6590—6599. 2007.
- [14] Polack P. O., Mahon S., Chavez M., Charpiet S. Inactivation of the somatosensory cortex prevents paroxysmal oscillations in cortical and related thalamic neurons in a genetic model of absence epilepsy. Cerebr. Cortex. 19 (9): 2078—2091. 2009.
- [15] Sarkisova K. Y., Gabova A. V. Maternal care exerts disease-modifying effects on genetic absence epilepsy and comorbid depression. Genes Brain Behav. 2018. doi: 10.1111/gbb.12477. [Epub ahead of print].

[16] *Sarkisova K. Yu., Gabova A. V., Kulikov M. A., Fedosova E. A., Shatskova A. B., Morosov A. A.* Rearing by foster Wistar mother with high level of maternal care counteracts the development of genetic absence epilepsy and comorbid depression in WAG/Rij rats. *Doklady Biological Sciences*, 473 (2): 246—249. 2017. Published in Russian in *Dokl. Akad. Nauk.* 473 (2): 246—249. 2017.

[17] *Sarkisova K., van Luijtelaar G.* The WAG/Rij strain: a genetic animal model of absence epilepsy with comorbidity of depression. *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry*. 35 (4): 854—876. 2011.

[18] *Sitnikova E., van Luijtelaar G.* Electroencephalographic characterization of spike-wave discharges in cortex and thalamus in WAG/Rij rats. *Epilepsia*. 48 (12): 2296—2311. 2007.

[19] *van Luijtelaar E., Coenen A.* Spontaneous occurrence of spike-wave discharges in five inbred strains of rats. *Physiol. Behav.* 48 (1): 199—201. 1990.

[20] *Vergnes M., Marescaux C., Depaulis A., Micheletti G., Warter J. M.* Ontogeny of spontaneous petit mal-like seizures in Wistar rats. *Brain Res.* 395: 85—87. 1986.

[21] *von Krosigk M., Bal T., McCormick D.* Cellular mechanisms of a synchronized oscillation in the thalamus. *Science*. 261: 361—364. 1993.

Поступила 30 V 2018  
После доработки 30 VII 2018