

МИНОБРНАУКИ РОССИИ
Федеральное государственное бюджетное образовательное
учреждение высшего образования
«САРАТОВСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ
Н.Г. ЧЕРНЫШЕВСКОГО»

Кафедра динамического моделирования и биомедицинской инженерии

Динамика направленной межполушарной связанности в мозге крыс
после прохождения волны распространяющейся депрессии

АВТОРЕФЕРАТ МАГИСТЕРСКОЙ РАБОТЫ

Студентка 2 курса 2281 группы
направления 12.04.04 «Биотехнические системы и технологии»

институт физики

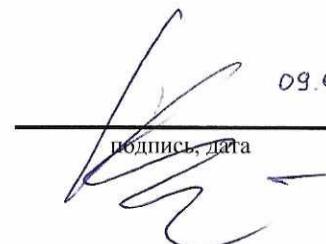
Лачинова Дарья Андреевна

Научный руководитель:
Профессор кафедры
системного анализа и
автоматического управления,
д.ф.-м.н., доцент

 25.05.2023 г.
_____ подпись, дата

И.В. Сысоев

Зав. кафедрой динамического
моделирования и
биомедицинской инженерии,
д.ф.-м.н., доцент

 09.06.2023 г.
_____ подпись, дата

А.С. Караваяев

Саратов 2023

Введение. Распространяющаяся депрессия (РД) представляет собой особую реакцию нервной ткани в виде кратковременной само распространяющейся интенсивной клеточной деполяризации [1]. Результаты исследований о РД могут предоставлять ценную информацию для понимания механизмов работы головного мозга и различных патологических состояний, таких как эпилепсия и инсульты [2].

Такие изменения в ионной среде, как повышение уровня внеклеточного калия и снижение уровня натрия порождают потенциал действия, который приводит к дальнейшей деполяризации и распространению волны РД по поверхности коры со скоростью 2-6 мм/мин [2]. Медленно распространяющаяся волна деполяризации может возникать при остром повреждении головного мозга (черепно-мозговая травма, инсульт), при эпилептических судорогах, при приступах с мигренью и других патологических состояниях [3].

Амплитуда волны РД характеризует количество нейронов, которые участвуют в деполяризации, а её длительность зависит от скорости реполяризации клеточных мембран. Малая скорость распространения и большая длительность (0.5-1 мин) волны РД говорят о том, что основной вклад в её развитие вносят внесинаптические процессы [3].

Использование генетических моделей распространяющейся депрессии на крысах линии Wistar дает возможность изучить биологические механизмы такого феномена, как РД и помочь в разработке новых методов лечения. Характерные особенности поведения животных имеют сходство по отношению к симптомам у пациентов с распространяющейся депрессией.

Цель и задачи исследования. Целью магистерской работы является изучение эволюции связанности правого и левого полушарий головного мозга крыс при прохождении волны распространяющейся депрессии.

Поставленная цель определила следующие **задачи**:

- 1) предварительная обработка экспериментальных данных, включая метод скользящего среднего, удаление низкочастотных трендов, применение полосовой фильтрации в 50 Гц;
- 2) реализация методов расчёта функции взаимной информации и энтропии переноса;
- 3) применение мер связанности к анализу временных рядов локальных потенциалов поля крыс при прохождении волны РД с разрешением по времени;
- 4) статистический анализ и интерпретация полученных значений мер связанности.

Структура работы. Выпускная квалификационная работа состоит из введения, двух глав, заключения и списка литературы.

Глава 1 «Данные и методы» содержит описание и предобработку экспериментальных данных. Приведены характеристики спектрального анализа, метода расчета функции взаимной информации, двунаправленной энтропии переноса.

Глава 2 «Анализ связанности» содержит описание выбора различных параметров (длины окна, количества соседей в методе K - ближайших соседей и т.д.). Найдены значения функции взаимной информации и энтропии переноса для определения динамики связанности после прохождения волны распространяющейся депрессии. Проведен статистический анализ полученных оценок.

В **заключении** сформулированы основные результаты и выводы.

Содержание работы. Экспериментальные данные. Электрофизиологический эксперимент проводили на самцах крыс линии Wistar, возрастом 6–7 месяцев, полученных из питомника «Столбовая» (Московская область). Исследования проводились в соответствии с нормами Европейского Сообщества, разработанными для экспериментов на животных, и были

одобрены этической комиссией Института ВНД и НФ РАН по экспериментам над животными (протокол № 1 от 01.02.2022). Все эксперименты велись на бодрствующих свободно подвижных животных с предварительно имплантированными регистрирующими электродами и направляющей канюлей для проведения фокального микроповреждения нервной ткани и индукции РД. Эксперименты начинали через 2 недели после операции. Электрическую активность фронтальной коры в широком диапазоне частот регистрировали с помощью 4-канального усилителя постоянного тока (входное сопротивление 4 Гом) и АЦП (E14-440, L-Card, Россия).

После 5-минутного периода адаптации к экспериментальной обстановке проводили регистрацию фоновой активности моторной коры в течение 10 мин, а затем с помощью микроповреждения фронтальной коры индуцировали одну волну РД. Для этого через направляющую канюлю в ткань мозга вводили иглу (диаметром 0.3 мм) на глубину 1 мм.

Электрическую активность фронтальной коры регистрировали в течение 10 мин после повреждения. На каждой крысе проводили 2-3 повторных эксперимента с интервалом в несколько дней.

Предварительная обработка экспериментальных данных. В нашем распоряжении имелись 600-секундные эпохи записи ЭЖоГ фронтальной коры обоих полушарий до и после одностороннего повреждения, полученные в условиях свободного поведения у восьми бодрствующих крыс.

У ряда животных было получено по несколько записей, в сумме 14. Появление РД в областях регистрации определялось по характерным медленным сдвигам внеклеточного потенциала. Перед тем, как начать анализ сигнала, часто бывает необходимо провести его предварительную обработку. Записи подвергались полосовой фильтрации (50 Гц), ректифицировались методом скользящего среднего, удалялись низкочастотные тренды, затем корректировались артефакты, вызванные выходом сигнала за динамический диапазон АЦП.

Волны РД после предобработки не наблюдалось, она ушла в медленный тренд. После прокола по прохождении волны РД, начиная примерно с 100 секунды записи, амплитуда сигнала значительно увеличилась. Такая патологическая активность в ответ на волну РД в том полушарии, где волна имела место, характерна для большинства животных.

Записи были разделены на неперекрывающиеся последовательные 20-секундные интервалы (сегменты) и для каждого интервала вычислены обе меры связанности (в случае энтропии переноса – в обе стороны).

Спектральный анализ. Спектральный анализ сигналов – это метод анализа сигналов, который позволяет разложить сигнал на составные части по их частотам [4].

На спектрограммах обнаружено, что после прохождения волны распространяющейся депрессии мощность упала, пропал основной ритм, вместо которого появились более низкочастотные компоненты большой амплитуды. Затем мощность снова увеличивается, в затронутой волной РД области – выше фонового значения, что видно, как на графиках временных рядов, так и на спектрограммах. Далее будет показано, что именно на этой стадии после прохождения волны наблюдается динамика мер связанности, существенно отличная от фоновой.

Функция взаимной информации. Функция взаимной информации между двумя выборками — это популярная мера выявления похожести экспериментальных данных. Существуют несколько подходов к расчёту функции взаимной информации. Использовался современный подход [5, 6], основанный на учёте ближайших соседей и предъявляющий наименьшие требования к объёму данных, что важно при исследовании нестационарных по природе физиологических сигналов.

Формула для вычисления оценки функции взаимной информации, которая использовалась для написания алгоритма:

$$I_{x,y} = \psi(N) + \psi(K) - \langle \psi(n_x(i) + 1) + \psi(n_y(i) + 1) \rangle_{i=1,\dots,N} \quad (1)$$

где N — длина выборки, $n_x(i)$ и $n_y(i)$ — число соседей i -й точки на плоскости (X, Y) , $\psi(n)$ — дигамма-функция, K — номер соседа. X и Y в нашем случае представляют собой сигналы с правого и левого полушарий.

Энтропия переноса. В математической теории информации К. Шеннона энтропия переноса рассматривается в связи с энтропией системы, а именно, среднее количество информации и энтропия численно равны, но имеют противоположный знак или смысл [7, 8]

Формула для вычисления оценки энтропии переноса, которая использовалась для написания алгоритма [9]:

$$TE_{X \rightarrow Y} = \psi(K) + \langle \psi(n_{Y_i} + 1) - \psi(n_{Y_{i+1}, Y_i} + 1) - \psi(n_{X_i, Y_i} + 1) \rangle_i \quad (2)$$

Стандартная реализация метода расчёта энтропии переноса на основе учёта ближайших соседей в популярных математических пакетах и библиотеках алгоритмов отсутствует, поэтому метод был реализован самостоятельно.

Анализ связанности. Сразу после повреждения (40-100 с) у бодрствующих крыс наблюдали кратковременное повышение межполушарной связанности во фронтальной коре, что видимо отражало реакцию мозга на повреждение. С приходом РД межполушарная связанность снижалась в обеих областях. Есть падение, но глубина этого падения и его длительность различна у разных животных. Индивидуальные особенности животных сильно проявляются на значениях MI [10].

После прохождения волны распространяющейся депрессии энтропия достигает своего максимального значения (200 с): увеличивается воздействие неповрежденной (правой) области на поврежденную (левую). Однако у другой крысы такого эффекта не наблюдается, что также говорит об индивидуальных особенностях каждого животного [10].

Анализ числа соседей. Методика алгоритма подразумевает, что возможно использовать любого соседа ($k=1, 2, 3, 5, 8$ и т.п.). Выбор $k=6$ был обусловлен тем, что в ряде предыдущих работ, например, [8, 9] было показано, что увеличение k выше этого значения как правило слабо влияет на оценки энтропии переноса для временных рядов порядка $10^3 - 10^5$ значений. Оценки, полученные при $k=1$ и $k=6$ существенно не различаются, то есть наши данные нечувствительны к данному параметру. Поэтому было принято решение продолжать работу с $k=1$, так как с вычислительной точки зрения такой подход существенно быстрее.

Анализ длины окна. Для дальнейшей работы используются сегменты по 20 секунд, т.к. при длине окна $\tau=1$ или $\tau=5$ среднее по ансамблям будет расположено выше, а они должны совпадать с нашим средним. Это означает, что имеет место систематическая ошибка, которая вызвана малой длиной ряда. Это соответствует результатам [16], где систематическая ошибка для коротких рядов была обнаружена для функции взаимной информации при использовании подхода, основанного на учёте ближайших соседей.

Усреднение оценок связанностей. Полученные результаты оценок связанностей [24] для отдельного животного могут носить случайных характер (наличие бросков во время записи и т.п.). Поэтому есть смысл рассматривать усредненные значения, как это всегда делается при оценке связанности [10].

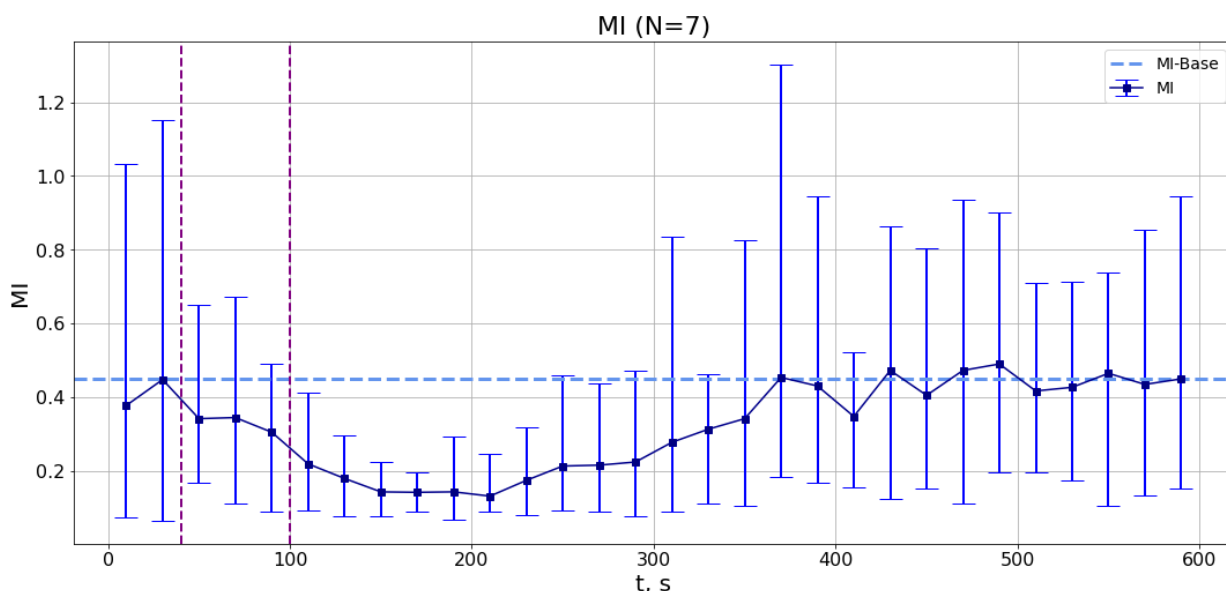


Рисунок 1 – Усредненные значения функции взаимной информации (MI) с планками погрешностей для всех животных ($n=7$) по записям, содержащим волну РД. Планки погрешностей соответствуют минимальным и максимальным значениям. Пунктирными горизонтальными линиями изображены усредненные значения, соответствующие фону представленной меры

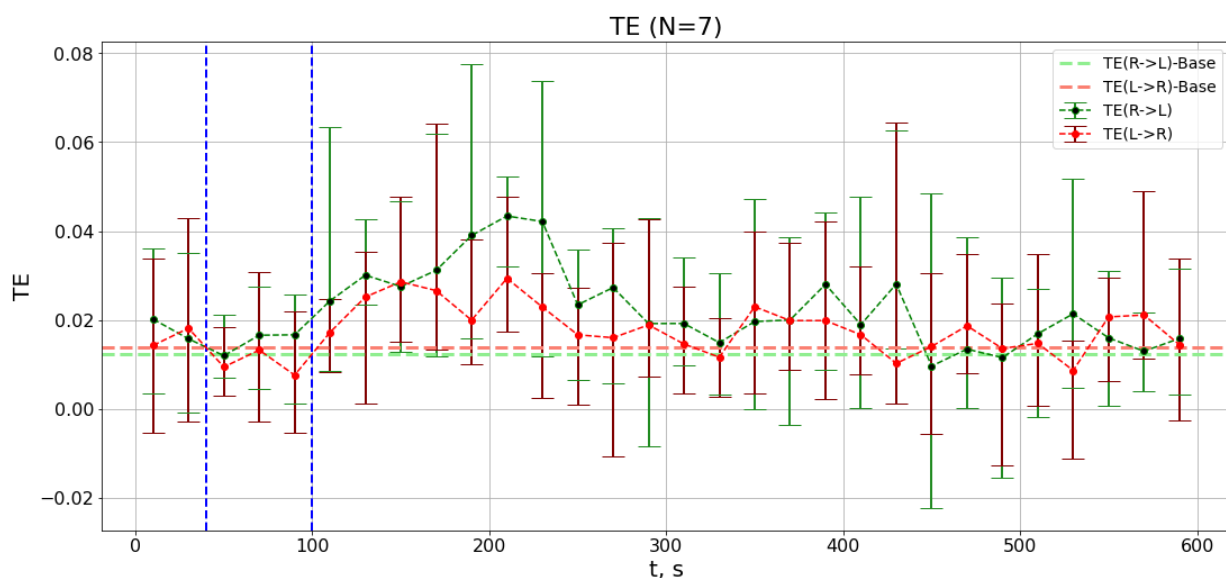


Рисунок 2 – Усредненные значения двунаправленной энтропии (TE) с планками погрешностей для всех животных ($n=7$) по записям, содержащим волну РД.

Планки погрешностей соответствуют минимальным и максимальным значениям. Пунктирными горизонтальными линиями изображены усредненные значения, соответствующие фону представленной меры

Полученные отрицательные значения энтропии переноса (рисунок 2) являются нефизичными и объясняются ошибками алгоритма, вызванными малой длиной выборки.

Усреднение значений функции взаимной информации и энтропии переноса по одной крысе повторяет усреднение по всем животным. После восстановления мощности корковых осцилляций можно заметить ослабление функциональной связанности между двумя полушариями (значения MI на промежутке 100–300 с).

Наблюдается восстановление связанности после прохождения РД до фонового уровня за 100–200 с. Энтропия переноса же ведет себя обратным образом.

Статистический анализ. Для анализа формулируем следующую гипотезу: для каждого рассмотренного двадцатисекундного временного интервала эмпирическое среднее значение, рассчитанное по всем интервалам фона, является математическим ожиданием выборки значений оценки ($N=7$) – либо функции взаимной информации, либо энтропии переноса.

Из-за большого объёма выборки для фоновой активности (30 интервалов по 20 с для 7 животных) ошибкой определения эмпирического среднего для фона (его отличием от математического ожидания) пренебрегаем. Вероятность того, что 7 значений будут меньше – $(\frac{1}{2})^7$.

Если рассматривать пары значений (всего 30 точек, следовательно, пар 15), то вероятность того, что мы ошибаемся, считая, что в каждой паре есть одно значение, располагающееся ниже фонового уровня равно $(\frac{1}{2})^{14} * 15 = 0,000916$, что даёт достаточно высокий общепринятый уровень значимости (низкую вероятность ошибки).

Заключение. В настоящей работе был проведен анализ литературы: рассмотрены методы обработки данных, спектральные характеристики [4],

функция взаимной информации [5], двунаправленная энтропия переноса [8], статистические меры [11].

В ходе изучения связанности обработано 14 записей от 8 животных, включая 3 отброшенные по причине того, что в данных записях волна РД не возникла. В процессе обработки были перебраны различные вариации длины временного окна и вариантов числа соседей, использованы методы для предварительной обработки.

На основе статистической оценки полученных мер было зафиксировано значимое падение значения функции взаимной информации после прохождения волны РД, которому на временном ряде соответствовало появление высокоамплитудной, более регулярной, предположительно патологической (сходной с эпилептиформной) активности.

Данный вывод был сделан как для всех животных в среднем, так и для одного животного в отдельности, для которого имелось наибольшее число записей. Расчёт энтропии переноса показал, что на этих же временных интервалах имеется значимое увеличение воздействия со стороны незатронутого волной полушария в сторону повреждённого. Такой процесс может быть интерпретирован, как попытка неповреждённого полушария навязать свою динамику повреждённому. Для большинства животных меры связанности через 350-400 с после прокола вернулись к фоновым значениям.

Полученные результаты по динамике эволюции связанности доложены на следующих конференциях: 1) VII Съезд биофизиков России – 2023 (г. Краснодар) [12]; 2) XXX Всероссийская научная конференция «Нелинейные дни в Саратове для молодых – 2023» (г. Саратов) [13].

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Koroleva, V. I. Reduced incidence of cortical spreading depression in the course of pentylenetetrazol kindling in rats / V. I. Koroleva, L. V. Vinogradova, J. Bures // *Brain Research*. – 1993. – V. 608. №. – 1. – P. 107-114.
2. Bures, J. The mechanism and application of Leao's spreading depression of EEG activity / J. Bures, O. Buresova, J. Krivanek // N.Y.: Academic Press. – 1974.
3. Somjen, G. G. Mechanisms of spreading depression and hypoxic spreading depression-like depolarization / G. G. Somjen // *Physiological reviews*. – 2001. – V. 81. – №. 3. – P. 1065-1096.
4. Диканев, Т. В. Спектральный анализ сигналов: учебно-методическое пособие для студентов нано- и биомедицинских технологий / Т. В. Диканев // Саратов, 2011. – 24с.
5. Kraskov, A. Estimating mutual information / A. Kraskov, H. Stögbauer, P. Grassberger // *Physical review E*. – 2004. – V. 69. – №. 6. – P. 066138.
6. Сысоев, И. В. Сравнение численных реализаций алгоритма расчёта взаимной информации на основе учёта ближайших соседей / И. В. Сысоев // *Известия вузов. Прикладная нелинейная динамика*. – 2016. – Т. 24, – № 4. С. 86–95. DOI:10.18500/0869-6632-2016-24-4-86-95.
7. Schreiber, T. Measuring information transfer / T. Schreiber // *Physical review letters*. – 2000. – V. 85. – № 2. – P. 461–464. DOI: 10.1103/PhysRevLett.85.461.
8. Hahs, D. W. Transfer entropy for coupled autoregressive processes / D. W. Hahs, S. D. Pethel // *Entropy*. – 2013. – V. 15. – №. 3. – P. 767-788.
9. Землянников, А. С. Диагностика и коррекция систематической ошибки при оценке энтропии переноса методом k-ближайших соседей / А. С. Землянников, И. В. Сысоев // *Известия вузов. ПНД*. – 2015. – Т. 23, № 4. С. 24-31.

10. Грищенко, А. А. Сравнительный анализ методов оценки ненаправленной связанности между внутричерепными отведениями ЭЭГ коры головного мозга крыс-моделей абсансной эпилепсии / А. А. Грищенко, К. М. ван Рейн, И. В. Сысоев // Математическая биология и биоинформатика. – 2017 – Т. 12. № 2. С. 317–326. DOI: 10.17537/2017.12.317.
11. Maris, E. Nonparametric statistical testing of EEG- and MEG-data / E. Maris, R. Oostenveld // J. Neurosci. Methods. – 2007. – V. 164. – P. 177–190.
12. Лачинова, Д. А. Динамика связанности между полушариями мозга крыс при прохождении волны распространяющейся депрессии / Д. А. Лачинова, И. В. Сысоев, Л. В. Виноградова // Сборник научных трудов VII съезда биофизиков России: в 2 томах, том 1 – Краснодар, 17 — 23 апреля 2023. – С. 284 – 285.
13. Лачинова, Д. А. Динамика направленной межполушарной связанности в мозге крыс после прохождения волны распространяющейся депрессии / Д. А. Лачинова, И. В. Сысоев, Е. М. Сулейманова, Л. В. Виноградова // Нелинейные дни в Саратове для молодых - 2023: Материалы XXX Всероссийской научной конференции, Саратов, 15–19 мая 2023 года. Выпуск 30. – Саратов: Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н.Г. Чернышевского, 2023. – С. 105-106.

09.06.2023. Лачинова Д.А.