

# 癫痫样尖峰高负荷和低负荷的爆发在癫痫麦克风 显示出周围环境的相关性

## Bursts with High and Low Load of Epileptiform Spikes Show Context-Dependent Correlations in Epileptic Mice

Katharina Heining,<sup>1,2,3</sup> Antje Kiliyas,<sup>1,2,3</sup> Philipp Janz,<sup>3,4</sup> Ute Häussler,<sup>4,5</sup> Arvind Kumar,<sup>2,6</sup> Carola A. Haas,<sup>2,4,5</sup> and Ulrich Egert<sup>1,2,5</sup>

<sup>1</sup>*Biomicrotechnology, Department of Microsystems Engineering - IMTEK, Faculty of Engineering, University of Freiburg, Freiburg 79110, Germany,*

<sup>2</sup>*Bernstein Center Freiburg, University of Freiburg, Freiburg 79104, Germany,*

<sup>3</sup>*Faculty of Biology, University of Freiburg, Freiburg 79104, Germany,*

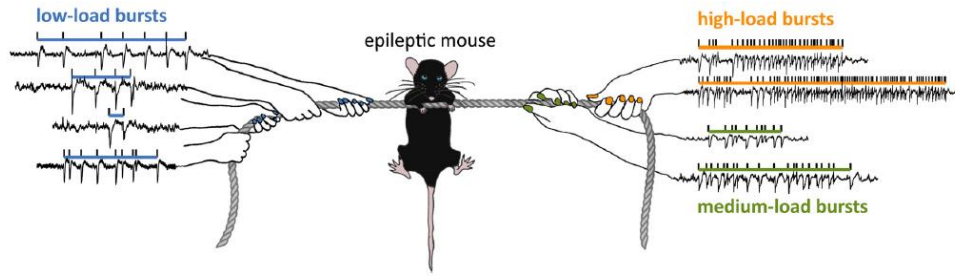
<sup>4</sup>*Experimental Epilepsy Research, Department of Neurosurgery, Medical Center, University of Freiburg, Freiburg 79106, Germany,*

<sup>5</sup>*BrainLinks-BrainTools Cluster of Excellence, University of Freiburg, Freiburg 79110, Germany, and*

<sup>6</sup>*Computational Science and Technology, School of Electrical Engineering and Computer Science, KTH Royal Institute of Technology, Stockholm 11428, Sweden*

**摘要：**超同步网络活动是癫痫的标志性特征，并表现在广泛的现象中，其中癫痫发作期间的电图活动只是一个极端。本研究的目的是区分不同类型的癫痫样活动 (EA) 模式并研究它们的时间序列和相互作用。我们分析了接受海马内红藻酸盐注射的自由行为雄性小鼠的局部场电位 (LFP)，以模拟颞叶内侧癫痫 (MTLE)。癫痫样尖峰发生在不同的爆发中。使用机器学习，我们得出了一个反映突发峰值负载的量表和三个主要的突发类别，我们将其标记为高负载、中负载和低负载突发。我们发现这些类别的爆发在时间上是非随机分布的。高负载突形成集群，通常被过渡阶段包围，中负载和低负载突发率增加。与此明显矛盾的是，低负载突发率的增加也与较长的背景阶段相关，即缺乏高负载突发的时期。此外，低负荷爆发率与背景阶段持续时间的相关性比癫痫样尖峰的总体率更强烈。我们的研究结果与低水平 EA 可以促进网络稳定性但也可以参与向主要癫痫事件过渡的假设一致，具体取决于网络的当前状态。

**关键词：**癫痫发作；癫痫尖峰；癫痫样活动；海马；发作间活动；颞叶内侧癫痫



意义声明：了解不同类型的癫痫样活动 (EA) 如何相互作用以及癫痫样尖峰是否预防或促进重大癫痫事件是癫痫研究中的一项重大挑战。在我们的内侧颞叶癫痫 (MTLE) 小鼠模型中，癫痫样尖峰发生在爆发中。低峰值负载的突发率增加与缺乏高负载突发的延长阶段明显相关，这与低水平活动可以促进癫痫网络稳定性的观点一致。然而，低负载突发也发生在向高负载突发集群的过渡阶段。这两项发现都与低级别 EA 可以降低网络的兴奋性但其影响取决于网络的当前状态的假设一致。

## 1、引言

癫痫是一种大脑活动过度同步的疾病，可以在电生理学上监测局部场电位 (LFP) 中的癫痫样活动 (EA)。除了伴有行为症状的 EA，例如在临床癫痫发作中，迄今为止最受关注的 EA 模式是癫痫样尖峰和称为“电图癫痫发作”的复合事件。然而，确切的定义甚至是纯电图癫痫发作的存在都存在争议。电图癫痫发作和其他复合事件之间似乎没有明确的界限，它们的峰值率和持续时间可能有很大差异 (Gotman, 2011)。尽管已经分析了较大爆发中尖峰的演变 (Chauvière 等, 2012)，但缺乏对复合事件的系统定量时间序列分析。事实上，患者的癫痫发作聚集 (Osorio 等人, 2009 年; Karoly 等人, 2017 年) 表明，其他复合事件的发生率也可能随时间波动。这提出了一个问题，即是否可以从复合事件的时间序列中读取有关癫痫网络状态的信息，以及一种 EA 模式的发生是否会影响其他模式的发生。本研究的目的是识别不同类型的复合事件，研究它们的时间序列，并分析内侧颞叶癫痫 (MTLE) 动物模型中不同类型事件之间的相互作用。

在 MTLE (局灶性癫痫的最常见形式) 中，部分性癫痫发作很常见，而全身性惊厥性癫痫发作很少见 (Engel, 2001)。海马内 kainate 小鼠模型是一种广为接受的研究 MTLE 的动物模型，因为它表现出与人类状况相似的几种现象，例如空间局部 EA 和组织学变化 (Riban 等人, 2002; Guillemain 等人, 2012; Häussler 等人, 2012; Krook-Magnuson 等人, 2013; Twele 等人, 2016; Janz 等人, 2017)。虽然在这种情况下大的行为性癫痫发作与其他啮齿动物癫痫模型一样罕见 (Cavalheiro 等人, 1991; Rattka 等人, 2013)，但被标记为“电图癫痫发作”、“过度发作性放电”或“高压尖波”在注射红藻氨酸的小鼠中特别频繁

地出现 (Klee 等人, 2017; Kiliyas 等人, 2018)。如 Twele 等人所述。(2016 年), 以前使用该模型的研究根据启发式标准识别和分类这些大型 EA 事件, 专家应用这些标准得出高度不同的结果。同一项研究表明, 即使事件定义的微小变化也会对候选药物是否被发现具有抗癫痫作用产生重大影响。这突出了需要一种更加数据驱动和可重复的方法来识别不同的 EA 模式及其在癫痫动态过程中的相互作用。

EA 事件类型之间的相互作用主要是根据个体癫痫样尖峰和癫痫发作的发生率来解决的。虽然特定的尖峰亚型被认为与癫痫发作有关 (De Curtis 和 Avoli, 2016), 但一些研究将发作间期尖峰解释为防止癫痫发作 (Engel 和 Ackermann, 1980; Librizzi 和 De Curtis, 2003; Gon-charova 等人, 2016 年)。其他报告提出要么发作间期峰值率的变化受癫痫动力学控制 (Jensen 和 Yaari, 1988; Gotman, 1991), 要么发现这两种现象彼此独立 (Selvitelli 等, 2010)。最近, Chang 等人。(2018 年) 建议癫痫样尖峰在低兴奋性状态下稳定网络活动, 而如果它们发生在兴奋性过渡阶段, 则相同事件会诱发癫痫发作。因此, 在解释 EA 事件的作用时, 应考虑时间背景。

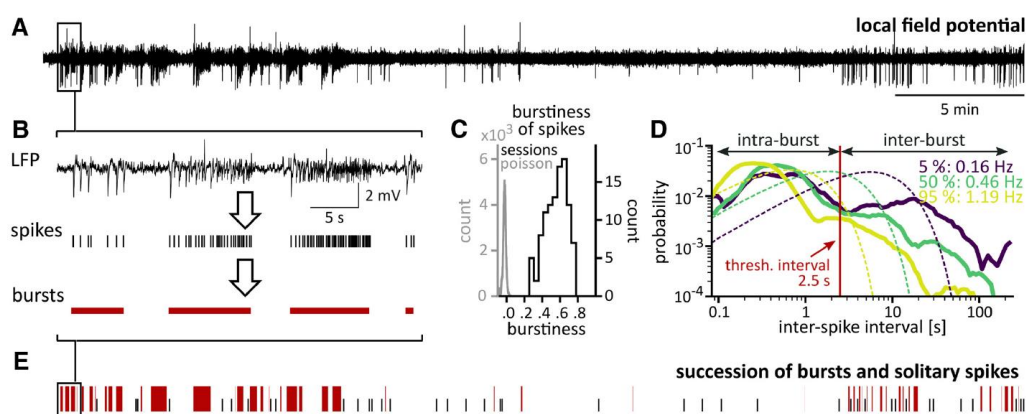


图 1. 癫痫样尖峰突发。A, 慢性癫痫期间红藻氨酸治疗小鼠的 LFP 记录。B, 在 LFP 中检测到癫痫样尖峰 (刻度线) 并用于界定突发事件 (红色水平条)。C, 突发性分数的分布。突发性分数可以采用从 -1 (表示完全规则的事件间隔) 到 0 (泊松间隔分布) 到 1 (事件的极端突发性) 的值。记录会话中的尖峰系列 (黑色, N 105) 具有明显高于其泊松替代品 (灰色, N 105,000) 的突发性。D, 定义爆发。三个时段的峰值间隔, 代表峰值速率的第 5 个 (深紫色)、第 50 个 (绿色) 和第 95 个 (黄色) 百分位数。峰值率显示在百分位数旁边。我们将这些分布中谷/高原的位置解释为将短的暴内间隔与长的暴间间隔分开, 并将小于 2.5 秒 (红色垂直线) 的尖峰分组到同一暴发事件中。以匹配的尖峰率生成的代理的尖峰间隔分布在其参考记录的颜色中显示为虚线。E, 因此, 我们将连续 LFP 模式转换为离散 EA 事件的时间序列: 爆发 (红色) 和孤立的尖峰 (黑色刻度)。扩展数据图 1-1 将尖峰和突发的连续性与尖峰时序生成的速率配置文件进行比较, 并显示突发与速率配置文件中的不同峰值相匹配。

在这项研究中，我们使用数据驱动的方法系统地描述了 MTLE 的红藻氨酸小鼠模型中的 EA 模式，并研究了这些模式如何相互作用。由于观察到尖峰优先出现在爆发中，我们开发了一种方法，可以自动将海马 LFP 转换为单独的尖峰和爆发的时间序列。这些爆发使用机器学习技术根据可以最好概括为峰值负载的复合测量进行分类。在这些时间序列中，不同类别的爆发聚集并因此形成反映 EA 动态缓慢波动的阶段。我们划分了这些阶段，发现低负载和高负载突发之间的关系取决于时间上下文。我们的研究表明，EA 的爆发结构在癫痫样动力学中起着重要作用，EA 的不同爆发模式相互作用，并且这些相互作用随时间而变化。

## 2、材料和方法

### 2.1 动物和红藻氨酸注射液

数据来自 18 只成年雄性 C57BL/6N 小鼠（年龄 9-12 周，Charles River, Sulzfeld, Germany），这些小鼠是先前研究的一部分，其中可以找到对手术和电生理程序的详细描述（数据集 A 来自 Janz 等人，2017 年的 N7；来自 Frierip 等人，2012 年的 N12 的数据集 B）。简而言之，将小鼠麻醉（盐酸氯胺酮 100 mg/kg，甲苯噻嗪 5 mg/kg，阿托品 0.1 mg/kg 体重，腹腔内）并单侧注射红藻氨酸溶液（50 nl，20 mM 于 0.9% NaCl, Tocris）进入右海马背侧。注射红藻氨酸后，所有小鼠均出现癫痫持续状态症状，如抽搐、咀嚼和不动（Riban 等人，2002；Heinrich 等人，2006）。所有动物程序均符合德国动物福利法，并得到德国弗莱堡地区委员会的批准。

### 2.2 电生理记录

在红藻氨酸注射后两周开始，当反复 EA 可靠发生时，再次麻醉小鼠，将铂-铱线电极植入海马背侧（数据集 A）或同侧海马背侧和内侧内嗅皮层的钢电极。数据集 B）。信号放大 1000 倍，以 1-5000 Hz 过滤（MPA8I 和 PGA32；多通道系统），并以 10 kHz 采样（Power 1401 ADC；Spike2 软件，RRID: SCR\_000903, Cambridge Electronic Design）。在清醒、行为自由的慢性癫痫动物（每只小鼠 3 到 9 次，每次持续 1.5-3 小时，总共 105 次）注射红藻氨酸后 14-39 天，在齿状回的分子或颗粒细胞层中记录数据。连续几天记录数据集 A 中的小鼠，每隔一天记录数据集 B 中的小鼠。大的、假定的行为癫痫发作（比较 Zeidler 等人，2018）是根据至少两个不同大脑区域的形态和相关 EA 视觉识别的（数据集 A：同侧齿状回和对侧齿状回；数据集 B：同侧齿状回和内嗅皮层）。

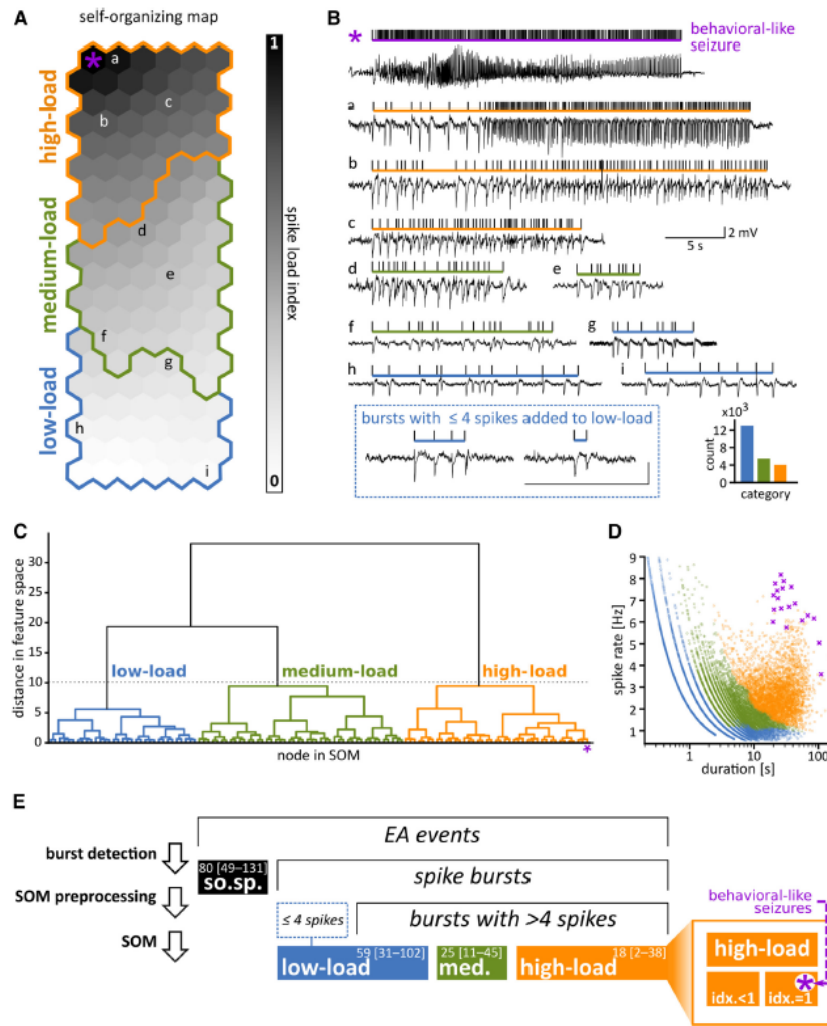


图 2. 癫痫发作的分类。A, A SOM 用于将突发特征（突发中的尖峰数、中间尖峰间隔、尖峰间隔的 SD）转换为尖峰负载指数。每个节点（六边形）代表特征的组合。突发被分配给与其特征最匹配的节点（字母指的是 B 中显示的示例）。尖峰负载指数（灰度）捕捉到包含具有最高尖峰负载的突发节点的接近度、彩色线包围通过树状图分析继续分组的节点（参见 C）。B, 分类后的 EA 事件示例。LFP 迹线上方的垂直刻度标记了我们的检测算法发现的各个尖峰。水平条划定尖峰爆发的范围，颜色表示分配给爆发的类别。小写字母 (a-i) 是指它们在 SOM 上的位置。少于 5 个尖峰的突发未在 SOM 上分类，后来被添加到低负载突发类别中。插图显示了数据集中每个类别的爆发次数。对侧 DG 和同侧 EC 的参与因不同类别的爆发而异（扩展数据图 2-2）。C, 使用 Ward 的树状图方法（Ward, 1963）对 SOM 的节点进行层次聚类。为了创建树状图，节点根据它们在特征空间中的接近程度连续合并。y 轴显示合并之间特征空间中的距离。灰色虚线表示用于获得桑代克标准建议的三个类别的阈值（扩展数据图 2-1）。D, 峰值速率与爆发持续时间的关系。每个点标记一个爆发，并根据其类别着色。相同持续时间或峰值速率的突发可以属于不同的类别。紫色十字标记视觉识别，假定的行为癫痫发作。E, 术语和事件率概述。通过爆发检测（图 1），EA 事件的群体已被分成尖峰爆发和孤立尖峰 (so.sp.)。使用 SOM (A) 和随后的层次聚类 (C) 对具有四个以上尖峰的突发进行分类，从而产生三个主要类别。类别高负载突发包括具有最高峰值负载指数的事件 ( $idx. 1$ ; 插图)。在 SOM 中，预先通过目视识别的癫痫发作都获得了峰值负荷指数 1。数字表示会话中每小时事件计数的中位数和第 10-90 个百分位数范围 (N 105)。

## 2.2 组织学

记录完成后，对小鼠进行经心脏灌注，并用振动切片机对它们的大脑进行切片（A 组：50  $\mu$ m，冠状切片；数据集 B：70  $\mu$ m，矢状切片）。切片用 4',6'-二脒基-2-苯基吲哚（DAPI；A 组；1:10,000；Roche Diagnostics GmbH）或甲酚紫（数据集 B；如 Heinrich 等人，2006 年）染色以验证电极位置。

## 2.3 数据分析

### 概述

我们将癫痫样尖峰的爆发划分为 EA 事件（图 1），并使用机器学习算法根据尖峰负荷（图 2）对它们进行分类。从分类的 EA 事件的连续性中，我们得出了更大时间尺度的阶段（图 3、4；扩展数据中的工作流程图 4-1A）。详细分析了从同侧间隔记录部位获得的 LFP。每个记录的前 10 分钟被丢弃，以避免用于连接头部的短暂异氟醚麻醉的残余影响。在进一步分析之前，视觉识别并掩盖了具有运动或其他记录伪影的时期。

### 检测 LFP 中的癫痫样尖峰

LFP 被下采样到 500 Hz。然后，我们计算了频谱图（快速傅里叶变换，256 ms 滑动窗口，每个频率仓归一化）并在 4 - 40 Hz 频带中平均频谱图。我们检测到该活动带中的峰值为癫痫样尖峰。检测到新尖峰之前的死区时间为 0.0833 秒。此外，我们确定了逃脱基于频谱图的检测的缓慢高幅度偏转。如果这些峰值超过了 LFP 基线的 4.5 SD 的阈值，则检测到这些峰值，其中包括在频谱图中未检测到峰值的事件。然后通过主成分分析根据它们的波形对检测周围的切口进行分类（前三个分量由高斯混合模型识别的五个集群，分别用于正尖峰和负尖峰）。具有最低平均峰峰值幅度的集群中的事件不符合癫痫样尖峰的典型形态并被丢弃。密集爆发中的重叠峰直接包含在尖峰池中，而无需事先排序。

尖峰检测算法由人类专家验证，他在 197 个随机选择的 20 秒时期（总共 1550 个尖峰）中手动标记尖峰。在手动选择的尖峰周围 150 毫秒容差窗口内自动检测到的尖峰被认为是真阳性 (TP)，而在该窗口之外的尖峰被认为是假阳性 (FP)。在容差窗口内手动选择的尖峰没有相应的自动检测到的尖峰被认为是假阴性 (FN)。尖峰检测算法的灵敏度得分  $[TP/(TP+FN)]$  为 0.87，精度得分  $[TP/(TP+FP)]$  为 0.90。平均 FP 率为 1.9 FP/min。

### 界定突发

一种流行的界定爆发的方法是基于尖峰间间隔分布：当这些分布是双峰时，山谷可用于将短的内暴间隔与长的暴间间隔分开（Selinger 等，2007）。我们记录会话的峰间间隔分布在 2.5 秒左右显示出山谷或高原（图 1D）。因此，我们

使用该值作为阈值来界定尖峰爆发。小于 2.5 s 的峰值被分组到同一事件中。加入了小于 3.5 秒的爆发。我们的数据集包含 22,578 个爆发和 17,814 个单独的尖峰。

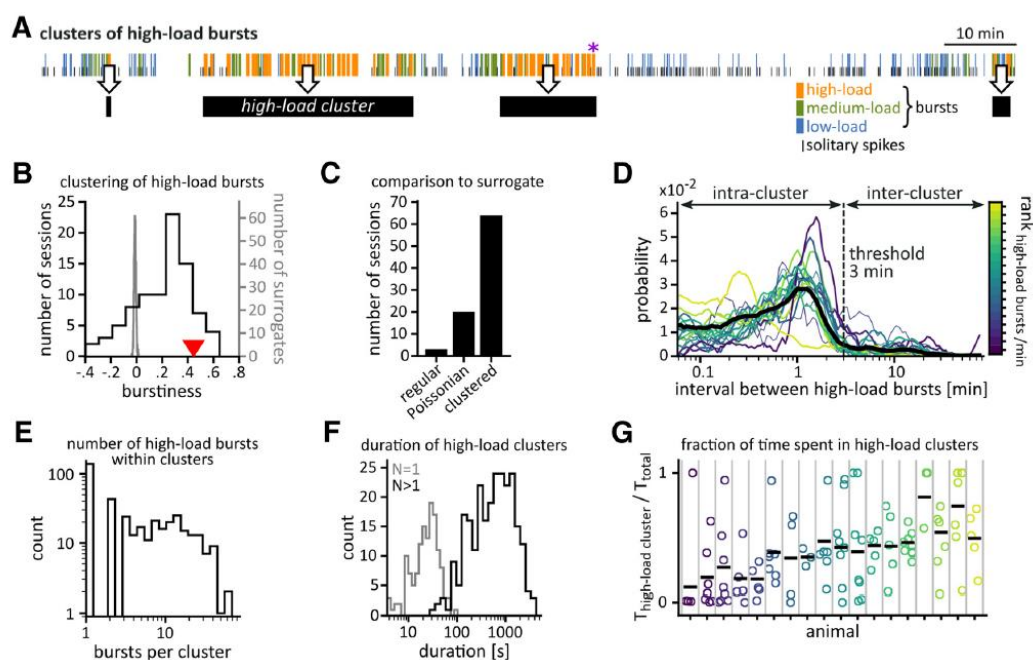


图 3. 高负载突发集群。A, 分类 EA 事件的样本序列。紫色星号表示假定的行为癫痫发作。时间序列下方的黑条表示根据 D 定义的高负载集群。我们的定义允许高负载集群由单个高负载突发组成。B, 根据完整数据集中所有高负载突发之间的间隔（红色三角形标记的值）和每个会话分别计算的突发性（分布以黑色显示，N 87，仅包括在高负载之间至少有五个间隔的会话负载突发）。代理突发性分数（灰色）的分布来自与整个数据集中高负载突发率相匹配的高负载突发代理系列（N 1000）。C, 突发性值显著低于（“常规”）、显著高于（“聚集”）或与替代间隔分布没有显著差异的会话数。对于每个记录，我们生成了 1000 个匹配率的替代间隔分布，并将它们的突发性分布与原始数据进行了比较。显著性水平：0.05。D, 高负载突发之间的间隔分布用于定义高负载突发集群。彩色线表示个体动物的分布；动物的平均分布以黑色显示。相隔 3 分钟（垂直线）的高负载突发被分组到同一个高负载集群中。E, 集群规模分布，即高负载集群内高负载突发的数量。F, 高负载集群的持续时间分布。由单个高负载突发组成的灰色高负载集群；黑色，包含多个高负载突发的集群。G, 所有会话在高负载集群中花费的时间分数（圆圈，颜色如 D）。水平破折号表示同一鼠标的记录会话中的中位数（由垂直线分隔）。

## 爆发的分类

为了对爆发进行分类并得出峰值负载的度量，我们使用了自组织图 (SOM; Kohonen, 2013)。SOM 可以将高维特征空间转换为节点的二维图，以便相邻节点表示相似的特征组合。因此，该地图在特征空间中创建了一个不一定是线性的、连续的数据集表示，可以很容易地可视化和解释。

特征选择和 SOM 训练 为了开发峰值负载的测量方法，我们专门使用了与突发中包含的峰值时间序列相关的特征。由于电极放置和记录质量的细微差异会

影响信号幅度，因此我们没有使用与 LFP 幅度相关的测量。特征向量包含每个突发的以下加权量的值：[ $\log(\text{脉冲数})^2$ ;  $\log(\text{中间峰值间隔})^2$ ; ( $\text{峰间间隔的 SD})^{-1}$ ]。对所有动物和会话 (N 12,373) 的所有爆发中的特征值进行 z 评分，然后使用 Carrasco Kind 和 Brunner (2014) 提供的批处理算法训练 SOM

尖峰负荷指数 代表最高尖峰计数和最低中间尖峰间隔 (H) 的节点位于左上角。对于每个节点，我们计算了其特征向量与 H 向量之间的欧几里得距离。然后，我们将这些距离转换为 0 和 1 之间的值以定义尖峰负荷指数，尖峰负荷指数 1 分配给 H。

类别 为了识别具有相似特征的节点组，我们对与节点对应的特征向量进行层次聚类 (图 2C)，并根据桑代克标准 (Thorndike, 1953; 扩展数据图 2-1) 选择适当数量的类别。树状图是使用 Python 包 `scipy.cluster.hierarchy` (版本: 0.17.0) 中实现的 Ward 方法 (Ward, 1963) 构建的。因此，我们得出了三个类别，并根据其节点的平均峰值负荷指数将它们标记为“高负载”、“中负载”和“低负载”。

将尖峰负荷索引和类别重新映射到突发每个突发从其最佳匹配节点继承集群隶属关系和尖峰负荷索引，即特征与突发特征最相似的 SOM 节点 (标准: 最小欧几里得距离特征空间)。高负载和低负载突发聚集在 SOM 的相对区域 (图 2A、B)。

少于 5 个尖峰的突发 少于 5 个尖峰的突发不用于训练 SOM，因为初步测试表明，由于它们与所使用的特征相关的高内部可变性，它们会破坏地图的连续表示。在整个会话中，少于 5 个尖峰的爆发率与低负载爆发率密切相关 (N 105, Kendall 的 0.43, p 6.6 10 11)，因此它们被分配到低负荷负载类别 (图 2B, E)。

### **定义阶段**

将 LFP 转换为一系列分类的 EA 事件和静默期，使我们能够在更大范围内辨别它们的模式。在一系列处理步骤中，我们确定并划分了三个主要的时间阶段 (扩展数据图 4-1A)：(1) 高负载突发集群，(2) 这些高负载集群周围的过渡阶段，最后 (3) 背景阶段。结果部分详细描述了用于定义这些阶段的突发类别 (高负载、中负载和低负载突发)。

高负载集群由于高负载突发在时间上聚集 (图 3A-C)，我们将这些聚合的时间范围定义为高负载集群。为了划定高负载集群，我们分析了高负载突发之间的间隔分布。在 3 分钟时，这些分布的峰值已经趋于平稳 (图 3D)。因此，接近 3 分钟的高负载突发被分组到同一个高负载集群中。高负载集群从其第一个



高负载突发的开始开始，并以其最后一个高负载突发的偏移量结束。高负载集群可能由单个高负载突发组成。

突发率增加的过渡阶段 我们观察到，低负载和中负载突发的概率在高负载集群周围增加。为了检测假定的过渡阶段，我们对突发之间的间隔进行 z 评分，并应用 CUSUM 算法 (Gustafsson, 2001) 来识别两个高负载集群之间的突发间隔序列中的变化点 (阈值: 变化的累积总和较大大于 1.5; 漂移补偿: 0.1)。然后，我们选择了高负载集群之前的最后一个更短间隔的变化点，以划定前阶段的开始。类似地，高负载集群之后向更长间隔的第一个变化点被定义为后期阶段的结束。当 (1) CUSUM 算法未检测到变化点或 (2) 在候选过渡阶段期间突发花费的时间分数小于此类事件占用的时间分数时，未分配过渡阶段在录制会话的剩余未分配部分中。因此，我们确保过渡阶段的突发事件高于会话的平均值，不包括高负载集群。

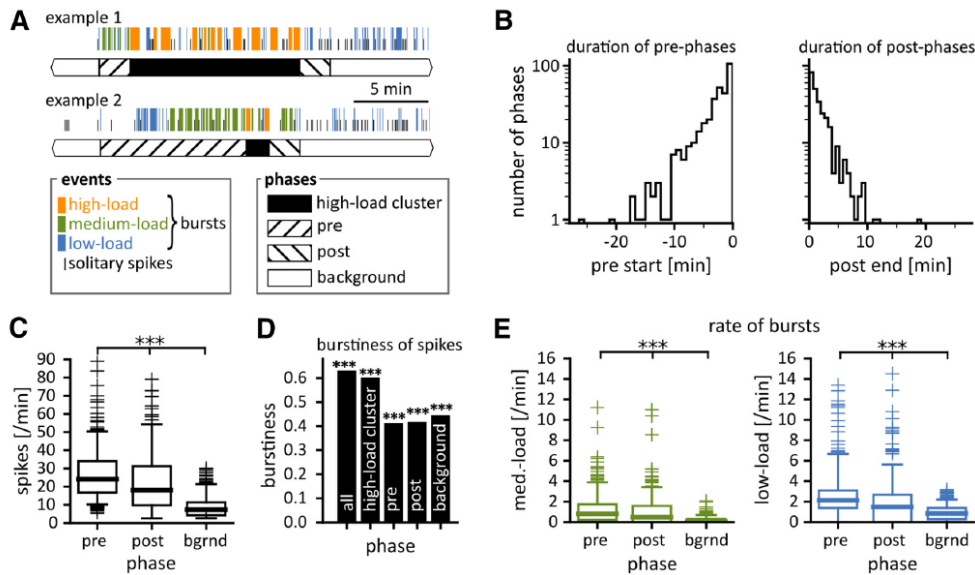


图 4. 围绕高负载集群的过渡阶段。A, 两个示例序列, 在高负载集群之前 (“pre”) 和之后 (“post”) 的转换期间, 低负载和中负载突发增加。背景阶段 (白条) 由排除定义 (高负载集群和过渡阶段都不是, 这些阶段的逐步定义请参见扩展数据图 4-1)。后期也可能包括 EA 的下跌, 有时随后是 EA 的反弹 (扩展数据图 4-2)。B, 前阶段开始 (左) 和后阶段结束 (右) 分别相对于高负载集群的开始 (左) 和偏移 (右) 的分布。这些分布等同于阶段的持续时间。请注意, y 轴以对数方式缩放。C, 前阶段 (N 347)、后阶段 (N 311) 和背景阶段 (N 340) 的峰值率。b 在每个框中, 中间条表示中值, 而上下边界标记分别是第 25 和第 75 个百分点。晶须从 25% 到 75% 的范围扩大了 1.5 倍。十字表示晶须范围之外的数据点。D, 所有阶段中尖峰的突发性组合, 即整个数据集 (“整体”) 并分别为每种类型的阶段计算。通过与泊松分布和匹配率产生的峰值间隔的 1000 个峰值序列进行比较, 得出了显著性。所有阶段的突发性值均高于其任何泊松替代物 ( $p=0.001$ )。E, 前阶段、后阶段和背景阶段的中负载 (左) 和低负载 (右) 突发率。c、d 统计: Kruskal-Wallis 检验各组之间的差异 ( $p=0.001$ ; C, E), 然后是具有 Bonferroni 校正的成对 Mann-Whitney 检验 ( $p=0.001$ ; C, E)。

高负荷集群后爆发抑制的过渡一些高负荷集群之后是延长的无爆发期，让人想起发作后的抑郁症。这些时期可能是从高负载集群过渡的组成部分。为了识别抑郁期，我们汇集了所有记录中未分配时期的突发间隔。我们将长于突发间隔分布的第 95 个百分位（112 s）的无突发周期分配给后期（扩展数据图 4-1B）

排除会话边界和伪影周围的区域为了避免记录开始时正在进行的后期阶段对背景阶段分析的潜在贡献，我们排除了每个记录的前 3 分钟（在排除 10 分钟之后以避免麻醉效果），除非高负载集群在此窗口中结束。为了避免在录制后结束的假定前阶段的贡献，我们同样从背景阶段中排除了会话的最后 5 分钟。这些设置来自前阶段和后阶段持续时间的分布（图 4B）。我们进一步排除了因运动引起的伪影而变得模棱两可的阶段。

**背景阶段** 为了避免将高负载动态之间的短暂间隔误认为是背景活动，我们从背景阶段中排除了 90 秒（“短”）期间（扩展数据图 4-1C）。由于中等负载突发与过渡动态密切相关，我们进一步排除了其中 15% 的时间被中等负载突发占用的时段（扩展数据图 4-1C）。所有未归类为上述任何时期的剩余时期都被视为背景阶段。录制时间主要花在后台阶段（43%）和高负载集群（40%；扩展数据图 4-1E）。仅使用完整的高负载集群来计算高负载集群的统计数据（图 3E、F 中提供的数据）。同样，只有已知持续时间的背景阶段的数据显示在图 5B-G 中。

## 2.3 代码可访问性

数据分析是在 Linux 和 Windows 机器上使用 Python 开发的自定义算法（针对 2.7 和 3.4 版本进行了优化）进行的。可根据合理要求提供用于检测和分类 EA 和定界阶段的代码。用于模拟速率调制脉冲序列的 Python 代码（扩展数据图 6-3）可在 [doi:10.5281/zenodo.3376778](https://doi.org/10.5281/zenodo.3376778) 免费获得。

## 2.4 统计数据

使用 Python 2.7 (RRID: SCR\_008394, Python Software Foundation) 进行测试和数据分析。由于大多数变量不是正态分布的，因此在所有情况下都使用非参数相关系数 Kendall 的  $\tau$  (, p 值表示为 p) 评估统计依赖性。相应地，除非另有说明，否则回归线显示 Theil-Sen 估计量（通过所有采样点对的斜率的中值）。突发性被定义为事件间隔的标准差平均值/标准差平均值（Goh 和 Barabási, 2008）。根据 Kaplan-Meier 方法（Lifelines Python 包，版本：0.9.4，[doi:10.5281/zenodo.805993](https://doi.org/10.5281/zenodo.805993)）计算生存函数。使用 Kruskal-Wallis 检验测试组间的差异。通过 Mann-Whitney U 检验测试独立组对之间的差异。对于相关样本的成对比较，我们使用 Wilcoxon 符号秩检验；使用 Bonferroni 方法对 p 值进行了

多次测试校正。单样本  $t$  检验用于评估拟合回归斜率的分布是否显著偏离均值  $= 0$  的随机群体。使用 G Power 3.1 (Faul et al., 2009) 评估统计功效。观察到的功效和精确的  $p$  值报告在表 1 中。数据集 A 和 B 在整个研究过程中产生了可比较的结果，因此被合并。本研究报告的所有值范围均以第 10-90 个百分位数给出。通过计算会话的所有背景阶段内的事件并除以会话中背景阶段花费的总时间来计算每个会话的事件背景率。我们将高负载突发率定义为会话中所有高负载突发的计数除以该会话的总持续时间，不包括会话边界和运动伪影所花费的时间。每只动物的平均值计算为加权平均值，背景阶段的持续时间（图 5D, G）或会话中背景阶段花费的时间（图 6C, F）作为加权因子。

### 3、结果

本研究解决了从注射红藻氨酸的小鼠的海马记录的 LFP 中 EA 的哪些模式以及这些模式如何相互作用的问题。

#### 3.1 癫痫样尖峰突然出现

正如这种动物模型的典型特征，我们的记录中经常出现癫痫样尖峰。这些尖峰主要作为较大爆发的组成部分发生，或者松散地聚集成包含较少尖峰的较小爆发。相比之下，大的、假定的行为癫痫发作很少见（估计范围：0.0 - 9.6/d）。

为了系统地描述突发模式，我们首先使用自定义算法检测尖峰并将 LFP 转换为尖峰序列（图 1A, B）。所有会话中的尖峰序列的突发性分数（0.37-0.70）显著高于泊松替代序列（突发性 -0.04 到 0.00；所有记录的  $p=0.001$ ；图 1C）和非正态的峰间间隔分布（图 1D）。这证实了我们的观察，即峰值优先出现在爆发中。然后，我们通过对尖峰进行分组来界定爆发（图 1D），从而创建两种一般类型的 EA 事件的时间序列：爆发和孤立尖峰（图 1E）。与连续速率曲线分析相比，这种时间序列方法更直接地捕捉过程的离散性质，并且需要更少的参数（扩展数据图 1-1）。

#### 3.2 爆发的类别

我们观察到爆发不仅在单个属性上有所不同，而且在多个特征的组合中有所不同。为了根据与尖峰负载相关的特征对突发进行分类，我们使用了机器学习算法（SOM；图 2A, B）并分配了一个尖峰负载指数，范围从 0（尖峰的松散聚集）到 1（高速率的长尖峰突发）每次爆发。层次聚类分析（图 2C；扩展数据图 2-1）使我们能够区分三种不同的突发类别：低负载、中负载和高负载突发。峰值负载与峰值速率和持续时间松散相关，因为高负载突发显示两者的值都较高。短的低负载突发也可能具有高峰值率（图 2D），而长时间的低负载突发往往具

有低峰值率。中等负载突发以高度可变的组合覆盖了中间范围的持续时间和尖峰率。对应于视觉识别的行为癫痫发作的爆发具有一些最高的峰值率和最长的持续时间。

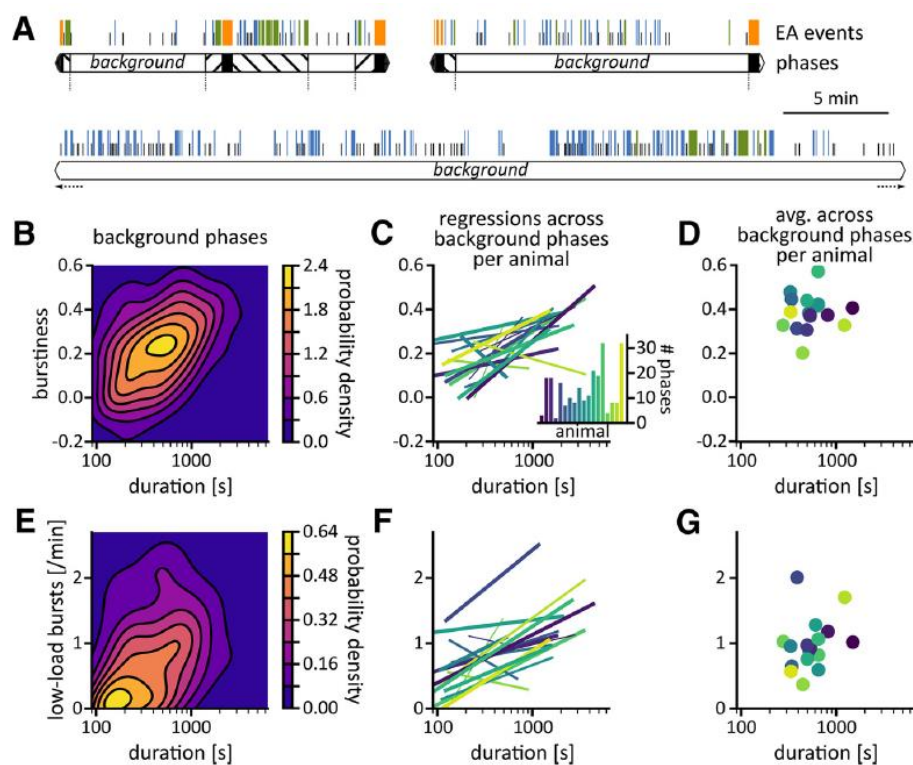


图 5. 低负载突发率高的背景阶段持续时间更长。A, EA 事件的示例序列 (彩色条: 爆发; 孤立的尖峰: 黑色刻度线) 和背景阶段 (白色框)。B, 背景阶段内尖峰的突发性与该背景阶段的持续时间。仅包括已知持续时间和至少五个峰值间隔的背景阶段 (N 197, 0.27, psurrogate 0.009)。C, 每只动物背景阶段的持续时间和突发性之间的关系。每条线分别显示每只动物的背景阶段的最小二乘回归 (与 E 中的数据相同, 但对每只动物进行分析)。18 只动物中有 15 只的斜率是正的。线宽表示背景相数 (细: N 5, 中: N 5-10, 粗: N 10)。插图: 每只动物的背景相数。D, 根据每只动物背景阶段的平均持续时间绘制的总体突发性。相关性不显著 (N 18, 0.07, 替代 0.3)。请注意, 突发性是根据与动物有关的所有背景阶段的峰值间隔计算的。因此, 具有更多间隔的背景阶段对动物的整体突发性有更大的影响。因为更长的背景阶段, 即具有更多间隔和/或更高峰值率的那些, 获得更高的突发性, 与每个背景阶段的分布的质心相比, 每只动物的突发性分布的质心向更高的突发性值移动如图 B. E 所示, 背景阶段持续时间与背景阶段低负载突发率之间的相关性。仅包括已知持续时间的背景阶段 (N 240, 0.28, 替代 0.001)。F, 低负荷爆发的背景速率与每只动物的背景阶段持续时间之间的关系。每条线分别显示每只动物的背景阶段的最小二乘回归 (与 E 中的数据相同, 但对每只动物进行分析)。G, 背景阶段的平均持续时间与每只动物低负荷爆发的平均背景率之间的相关性 (N 18, 0.20, 替代 0.5)。18 只动物中有 15 只的斜率是正的。每个会话/动物在背景阶段花费的时间分数和背景阶段的生存函数显示在扩展数据图 5-1 中。扩展数据图 5-2 显示了基于 Poissonian 事件序列的跨背景阶段 (B、E) 关系的代理检验和跨一组动物 (D、G) 计算的关系的置换检验。在扩展数据图 5-3 中, 我们将低负载突发 (E) 显示的相关性与尖峰和单独尖峰的相关性进行了比较, 并评估了这些相关性对突发定义变化的稳健性。

尽管这种分类专门基于爆发的尖峰统计数据, 但一个类别内的爆发显示出一致的形态特征 (图 2B; 扩展数据图 2-2)。对应于视觉识别的大行为癫痫发作的爆发具有峰值负荷指数 1 (N 18)。在这种爆发期间, 我们观察到对侧和内嗅皮层的高度同步活动 (扩展数据图 2-2A)。剩余的尖峰负荷指数为 1 (N 125) 的爆发和其他尖峰负荷指数为 1 的高负荷爆发伴随着对侧齿状回的强烈 EA, 但在内嗅皮质中只有稀疏的尖峰 (扩展数据图 2-2B,C)。在低负载突发中, 尖峰分量通常伴随着一个清晰可辨的相反极性、较小幅度和较长持续时间的波, 类似于尖峰波放电 (与 Chauvière 等人, 2012 年的 1 型尖峰相比)。在低负荷爆发期间, 对侧和内嗅活动稀少或不存在 (扩展数据图 2-1D)。中负荷爆发通常包含尖峰比低负荷爆发更密集的时期, 并且波分量不太突出或不存在。在中负荷爆发期间, 对侧活动通常比在低负荷爆发期间更明显。

### 3.3 高负载突发形成集群

三种突发类型的时间连续性表明了更高阶的模式: 以高负载突发为主的周期似乎与仅包含低负载突发的扩展阶段交替出现 (图 3A)。根据这一观察, 我们发现高负载突发在所有合并的会话中显着聚集 ( $p=0.001$  突发性; 图 3B) 以及在大多数单独的会话中 (64 个会话显着聚集,  $p=0.05$ , 20 个未聚集; 图 3C)。我们将高负载突发的集群划分为高负载突发的时间范围, 以短于 3 分钟的间隔连接 (图 3D)。请注意, 在这样的集群内, 高负载突发之间的间隔通常不会没有 EA, 但可能包含额外的低负载突发和单独的尖峰 (图 3A)。为了一致性, 我们将孤立的高负载突发 (36%; 图 3E) 视为高负载集群。具有多个高负载突发的高负载集群可持续 20 秒至 50 分钟 (图 3F)。在高负载集群中花费的时间比例在会话之间波动很大 (图 3G), 并且与自注射红藻氨酸盐后经过的时间 ( $0.01$ ,  $p=0.8$ ) 和记录的白天时间无关 (ANOVAa 对比上午组和下午组)。

### 3.4 过渡富含低负载和中负载突发

高负载集群之前和之后通常是低负载和中负载突发的聚合 (图 4A)。我们通过突发间隔序列中的变化点识别了这些前阶段和后阶段 (扩展数据图 4-1A)。高负荷集群后的抑郁也被认为是后期阶段, 可以通过反弹爆发来结束 (扩展数据图 4-1B、4-2)。在所有高负载集群中, 86% 之前是前期阶段, 81% 之后是后期阶段。

在划分了高负载集群和过渡阶段之后, 我们通过排除定义了背景阶段 (扩展数据图 4-1A)。前相和后相的中值尖峰率是背景相的两倍多 (图 4C)。b 每种相类型中的尖峰都有强烈的爆发趋势 (图 4D), 证实即使在背景阶段, 尖峰也不是随机的, 而是以爆发的形式构造的。

前阶段的中值突发率显著高于后阶段（图 4E）。c、d 在背景阶段，低负载突发的发生率明显高于中负载突发（中位率和低负载突发的范围：0.84/min, 0.00 - 1.90/min；对于中等负载突发：0.06/min, 0.00 - 0.53/min）。e 因此，过渡阶段似乎更具体地与中等相关-负载突发比低负载突发。

Table 1. Power analyses and exact p values

	Reference	test	Sample size	Observed power ( $\alpha = 0.05$ )	p value
a	Text	ANOVA	a.m: 53 p.m: 52	0.15	0.65
b	Fig. 4C	KW	Pre: 347 Post: 311 Back: 340	1.0	3.3e-78
		MW U	See previous	Pre vs post: 1.0 Pre vs back: 1.0 Post vs back: 1.0	Pre vs post: 4.2e-08 Pre vs back: 1.8e-81 Post vs back: 4.9e-29
c	Fig. 4E, left	KW	See previous	1.0	2.5e-34
		MW U	See previous	Pre vs post: 0.75 Pre vs back: 1.0 Post vs back: 1.0	Pre vs post: 8.9e-04 Pre vs back: 2.1e-38 Post vs back: 3.3e-11
d	Fig. 4E, right	KW	See previous	1.0	1.6e-40
		MW U	See previous	Pre vs post: 1.0 Pre vs back: 1.0 Post vs back: 1.0	Pre vs post: 7.1e-08 Pre vs back: 1.2e-44 Post vs back: 3.3e-10
e	Text	WSR	340	1.0	6.1e-43
f	Fig. 5C	t-test	18	0.57	7.8e-03
g	Fig. 5F	t-test	18	0.68	3.1e-03
h	Fig. 6B	t-test	17	0.98	2.8e-05
i	Fig. 6E	t-test	17	0.54	1.0e-02
j	Extended Data Fig. 6-1B	$\chi^2$	2631	1.0	1

Lower case letters in first column are used as superscripts in text and figure captions. KW, Kruskal-Wallis test; MW U, Mann-Whitney U test; WSR, Wilcoxon signed-rank test; t test, one-sampled t test against zero-mean distribution; p values in rows b-d were corrected using the Bonferroni method.

### 3.5 背景阶段持续时间与突发性和低负载突发率正相关

背景阶段的持续时间和 EA 含量各不相同（图 5A，扩展数据图 5-1）。因此，我们询问，背景阶段的持续时间与其中 EA 的速率和结构之间是否存在联系。在整个背景相池中，背景相内的尖峰脉冲的突发性与其持续时间呈正相关（0.27，替代 0.009；图 5B；扩展数据图 5-2A），即突发背景相持续更长。为了测试这种关系是否单独适用于每只动物，我们计算了每只动物所有背景阶段的突发性和持续时间之间的最小二乘回归（图 5C）。回归斜率的分布与随机（t-testf, p 7.8 10<sup>3</sup>）显著不同，并且大多数斜率是正的（18 只小鼠中有 15 只），表明突发性和背景阶段的持续时间之间始终存在正相关关系。然而，具有平均较长背景阶段的动物的总体突发性得分没有显著提高（0.07，替代 0.3；图 5D；扩展数据图 5-2B）。因此，虽然小鼠背景尖峰的整体突发性并不表示其背景相的平均持续时间，但突发性和背景相持续时间在大多数小鼠的背景相之间呈正相关。

### 3.6 在后台阶段具有较高低负载突发率的会话具有较低的高负载突发率

录制会话中较长的背景阶段将为高负载突发留下更少的时间。或者，长背景阶段与低负载爆发的背景率增加相关的事实可能是由于更高的兴奋性，这反过来可能导致更高的高负载爆发率。前一种情况将导致低负载突发的背景率与跨会话的高负载突发率之间存在反相关，而后者将导致正相关。此外，高负载突发的聚类使得难以预测这些 EA 模式之间的具体关系。我们发现，在整个会话中，低负

载突发的平均背景速率与高负载突发的速率显著反相关 ( $-0.43$ , 替代  $0.001$ ; 图 6A; 扩展数据图 6-2A)。在 17 只小鼠中有 15 只小鼠中, 跨会话的回归具有负斜率 (针对斜率随机分布的  $t$  检验:  $p=2.8 \times 10^{-5}$ ; 图 6B)。这表明低负载突发的背景速率和高负载突发的速率之间的反比关系在小鼠中是稳健的。同样, 高负载爆发的平均速率与小鼠低负载爆发的平均背景速率之间没有显著的 (反) 相关性 ( $-0.33$ , 替代  $0.05$ ; 图 6C; 扩展数据图 6-2B)。因此, 低负载突发的背景率更接近地反映了会话期间鼠标的状态, 而不是其整体状况。

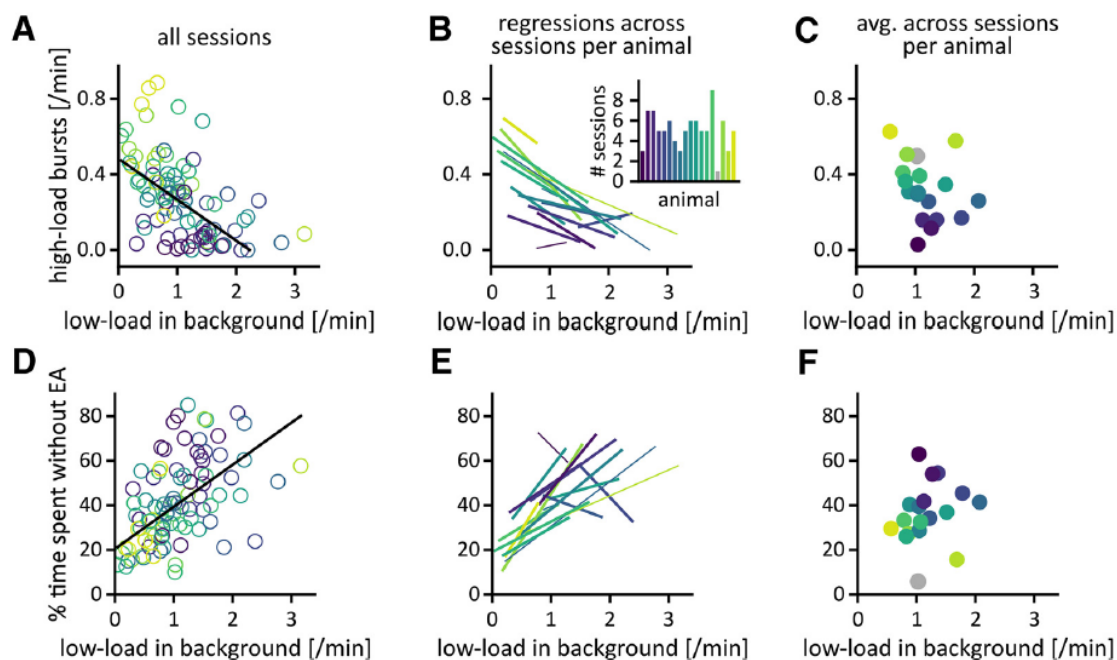


图 6 低负载突发的高背景率, 对高负载突发的敏感性降低。A, 在后台阶段的平均低负载突发率与高负载突发率之间的跨会话相关性。仅包括具有背景阶段的会话 ( $N=91$ ,  $-0.43$ , 替代  $0.001$ )。B, 低负载爆发的背景率与每只动物的高负载爆发率之间的关系。每条线分别显示每只动物的所有会话的最小二乘回归 (与 A 中的数据相同, 但对每只动物进行分析)。17 只动物中有 15 只的斜率是负的。线宽表示背景相数 (细:  $N=5$ , 粗:  $N=5$ )。C, 低负载爆发的平均背景速率与每只动物的高负载爆发的平均速率之间的相关性 ( $N=18$ ,  $-0.33$ , 替代  $0.31$ )。灰点显示只有一个会话包含背景阶段的动物的数据。D, 在后台阶段的平均低负载突发率与没有 EA 的时间百分比之间的相关性 ( $N=91$ ,  $0.39$ , 替代  $0.001$ )。无 EA 事件被定义为背景阶段中缺乏 EA 事件的时期。长期无 EA 发作发生在整个发作间期 (扩展数据图 6-1)。E, 低负载爆发的背景率与每只动物没有 EA 的时间百分比之间的关系。每条线显示动物所有会话的最小二乘回归 (与 D 中的数据相同, 但对每只动物进行分析)。17 只动物中有 14 只的斜率是正的。F, 低负载爆发的平均背景率与每只动物不使用 EA 的总时间百分比之间的相关性 ( $N=18$ ,  $0.29$ , 替代  $0.32$ )。扩展数据图 6-2 显示了基于 Poissonian 事件序列的跨会话 (A、D) 关系的代理测试和跨组动物 (C、F) 关系的置换测试。在扩展数据图 6-3 中, 我们将我们的结果与速率调制尖峰过程的模拟进行了比较。

尽管低负荷爆发的背景率升高与会话中高负荷爆发的减少有关，但低负荷爆发本身也是病理活动。因此，我们测试了较长背景阶段中低负载突发率的增加是否会增加使用 EA 的总时间。在整个会话中，在背景阶段没有 EA 的时间百分比在具有较高背景低负载突发率的会话中更大（0.39，替代 0.001；图 6D；每只动物：图 6Ei；跨动物：图 6F；无 EA 发作的生存概率：扩展数据图 6-1A）。此外，长时间无 EA 发作的概率并未随着背景阶段持续时间的增加而降低（扩展数据图 6-1B）。因此，我们拒绝了这样的假设，即低负载突发的背景率升高会减少没有 EA 的总时间。

总之，低负载突发的背景速率与（1）背景阶段的持续时间和（2）与没有 EA 的时间百分比显著相关，但（3）与速率显著反相关的高负载突发。我们发现，与尖峰或孤立尖峰的背景率相比，低负载突发的背景率与这些易感性特征的相关性更强，并且这些结果对于事件定义的变化是稳健的（扩展数据图 5-3）。

## 4、讨论

我们分析了在 MTLE 小鼠模型中记录的 LFP 中癫痫样尖峰的时间结构。由于 EA 的大部分由明确定义的尖峰脉冲组成，我们选择了一种基于时间序列的方法。时间序列非常适合相关性分析来调查事件类型之间的统计交互。

在以前的研究中，大型 EA 事件已通过持续时间、尖峰率、尖峰幅度、尖峰波形以及这些参数随时间的演变等特征来描述（Twele 等人，2016 年）。为了避免因动物和时间记录条件的变化而产生的影响，例如电极特性、胶质疤痕环等，我们根据一组最能概括为尖峰负载的特征对爆发进行分类。重要的是，峰值负载仅与突发持续时间和突发内的峰值速率松散相关。对于相同持续时间或峰值速率的爆发，它可能会有很大差异。

尽管它们根据其尖峰结构的统计测量进行分类，但突发类别中的事件在形态上相似。低负载突发通常由尖峰组成，随后是具有较低幅度的相反极性的较长偏转。这些爆发类似于先前针对该动物模型报道的脉冲波放电序列或组（Riban 等人，2002；Twele 等人，2016）。中等负载突发通常包括具有较高速率的尖峰序列，其中波分量不太明显或被随后的尖峰混淆。

在高负载爆发中，大多数尖峰都密集排列。高负荷爆发通常以间隔松散的尖峰波放电开始，然后演变为幅度逐渐降低的密集尖峰，如 Chauvière 等人描述的 A 型爆发。（2012）用于红藻氨酸注射大鼠。就形态和发病率而言，高负荷爆发与使用我们的动物模型进行的其他研究相似，这些研究使用我们的动物模型标记为基于目视检查和手动分类的超阵发性放电、高压尖波或电图癫痫发作（Riban 等人，2002；Twele 等人，2016；Zeidler 等人，2018）。就长期动态而言，高负荷爆发的聚类似乎类似于啮齿动物模型（Lim 等人，2018 年）和患者（Karoly



等人, 2017 年) 中常见的癫痫发作聚类。一小部分高负荷突发与其他地方描述的大型行为癫痫发作相似, 基于其特征、刻板的波形和跨记录站点的高度同步活动 (Riban 等人, 2002; Zeidler 等人, 2018)。它们的发病率与其他关于各种啮齿动物癫痫模型的报告相当 (Rattka 等人, 2013; Klee 等人, 2017)。我们没有更详细地研究这些, 因为它们太少了, 无法进行有意义的相关分析。

突发类别之间的差异也表现在它们的时间发生上。高负载突发集群之前通常是低负载和中负载突发的聚集, 并且与几乎完全由低负载突发填充的阶段交替出现。这种形态相似事件的时间凝聚力证实了我们的分类, 并表明由不同类型的爆发主导的不同时间动态。分离不同 EA 动态的此类时间阶段对于评估不同类型 EA 之间的关系至关重要。富含低负载和中负载突发的分离过渡阶段使我们能够在后台阶段专门解决 EA, 并研究后台活动如何与高负载突发的速率相关。

我们的研究结果表明, 低负载突发的解释应取决于时间和功能背景: 虽然低负载和中负载突发的发生率在高负载动态开始之前有所增加, 但低负载和中负载突发的背景率负载突发与高负载突发率呈反相关。我们进一步发现, 在背景阶段较高的低负载突发率与背景阶段持续时间的增加以及在没有任何 EA 的情况下花费的相对时间较长有关。低负荷爆发与对高负荷爆发的易感性之间的这种对立关系与癫痫样尖峰可以降低癫痫发作易感性的假设一致 (Barbarosic 和 Avoli, 1997; De Curtis 和 Avanzini, 2001; Khosravani 等, 2003) ; Muldoon 等人, 2015 年; Goncharova 等人, 2016 年)。在机械层面上, 癫痫样尖峰, 尤其是尖峰波放电期间尖峰之后的波分量, 已被提议用于反映 GABA<sub>A</sub> 抑制过程 (De Curtis 和 Avanzini, 2001; Muldoon 等, 2015)。在我们的记录中, 低负荷爆发主要由尖峰波放电组成, 因此可能被解释为增强抑制的特征。相反, 在中等负荷的爆发中, 波浪通常不那么突出, 尖峰更密集。虽然这可能是由于信号电平的重叠, 但高负载集群之前的中负载突发的增加也可能表明抑制逐渐崩溃。同样, 在过渡阶段, 高速率的低负荷和中负荷爆发可以通过过量的 GABA 能输入促进高负荷动态: 高峰值可能会增加细胞内氯化物浓度, 从而使 GABA 发挥去极化作用 (Pallud 等人, 2014 年; Magloire 等人, 2019 年), 从而增强兴奋性并促进高负荷爆发。或者, 细胞内氯化物浓度的增加可能会引发钾被挤出到细胞外空间, 从而增强兴奋性 (De Curtis 和 Avoli, 2016; Librizzi 等, 2017)。

有人可能会争辩说, 具有较低或较高尖峰负载的不同类别的爆发的存在以及我们在背景、过渡阶段和高负载集群之间观察到的交替是由尖峰速率的调制控制的。这种调节和伴随的易感性积累被认为是由于缓慢变化的变量, 例如细胞外离子浓度或代谢因素。例如, 一个缓慢的“介电常数变量”已被用于癫痫发作的计算模型 (Jirsa 等人, 2014 年)。虽然潜在的缓慢调制可能有助于从背景到高负

荷的转换。在我们的数据中观察到的动力学，仅这种调制不能解释背景阶段的低负载突发率与高负载突发的敏感性之间的对抗关系。当模拟为速率调制泊松过程（扩展数据图 6-3）时，嵌套调制确实再现了高负载突发和高负载突发集群（扩展数据图 6-3A-F），但它们没有导致在我们的数据中发现的高负载突发率与低负载突发的背景率之间存在反相关性（比较图 6A，扩展数据图 6-3H）。这种尖峰速率调制也没有复制观察到的在背景阶段的低负载突发率和背景阶段持续时间之间的正相关（比较图 5E，扩展数据图 6-3I）。为了重现我们观察到的相关统计数据，需要在背景阶段的低负载突发率和高负载动态之间进行额外的交互。

然而，调节兴奋性的缓慢过程和高负荷动态与背景爆发之间依赖于上下文的相互作用的想​​法可能会得到调和。Chang 等人基于实验和计算建模。（2018 年）最近提出，癫痫样尖峰与缓慢增加的网络兴奋性以上下文相关的方式相互作用：当网络的兴奋性较低时，癫痫样尖峰进一步降低了兴奋性，从而延长了发作间期状态。在兴奋性的过渡范围内，足够强、同步的一组神经元放电可能会过早引发癫痫发作。类似于 Chang 等人。（2018），高频率的低负荷爆发可以稳定我们动物的背景阶段，抵消网络兴奋性的持续增加。然而，低负荷突发的低速率将允许兴奋性的净增加。在兴奋性的过渡范围内，低负荷事件发生率的增加最终会促进高负荷动态。由于尖峰的爆发与高负荷敏感性的相关性更强，我们假设分组为爆发的尖峰可能特别有效地控制兴奋性，从而延长背景动态。

总之，我们使用时间序列分析和机器学习技术在 MTLE 的红藻氨酸小鼠模型中描述了 EA 模式的嵌套结构。系统地将强烈的高负载突发和过渡阶段与背景阶段分开，使我们能够解决特定于时间上下文的不同类型的 EA 之间的关系。我们的研究证实了低水平 EA 的作用取决于网络动态的当前状态的假设，并表明具有低尖峰负载的突发速率可能与敏感性动态密切相关。

## 参考文献

- [1] Barbarosie M, Avoli M (1997) CA3-driven hippocampal-entorhinal loop controls rather than sustains in vitro limbic seizures. *J Neurosci* 17:9308–9314
- [2] Carrasco Kind M, Brunner RJ (2014) SOMz: photometric redshift PDFs with self-organizing maps and random atlas. *Mon Not R Astron Soc* 438:3409–3421.
- [3] Cavalheiro EA, Leite JP, Bortolotto ZA, Turski WA, Ikonomidou C, Turski L (1991) Long-term effects of pilocarpine in rats: structural damage of the brain triggers kindling and spontaneous recurrent seizures. *Epilepsia* 32:778–782.
- [4] Chang WC, Kudlacek J, Hlinka J, Chvojka J, Hadrava M, Kumpost V, Powell AD, Janca R, Maturana MI, Karoly PJ, Freestone DR, Cook MJ, Palus M, Otahal J, Jefferys JGR, Jiruska P (2018) Loss of neuronal network resilience precedes seizures and determines the ictogenic nature of interictal synaptic perturbations. *Nat Neurosci* 21:1742–1752.
- [5] Chauvière L, Doublet T, Ghestem A, Siyoucef SS, Wendling F, Huys R, Jirsa V, Bartolomei F, Bernard C (2012) Changes in interictal spike features precede the onset of temporal lobe epilepsy. *Ann Neurol* 71:805–814.
- [6] De Curtis M, Avanzini G (2001) Interictal spikes in focal epileptogenesis. *Prog Neurobiol* 63:541–567.
- [7] De Curtis M, Avoli M (2016) GABAergic networks jump-start focal seizures. *Epilepsia* 57:679–687.
- [8] Engel J, Ackermann RF (1980) Interictal EEG spikes correlate with decreased, rather than increased, epileptogenicity in amygdaloid kindled rats. *Brain Res* 190:543–548.
- [9] Engel J Jr (2001) Mesial temporal lobe epilepsy: what have we learned? *Neuroscientist* 7:340–352.
- [10] Faul F, Erdfelder E, Buchner A, Lang A-G (2009) Statistical power analyses using G\*Power 3.1: tests for correlation and regression analyses. *Behav Res Methods* 41:1149–1160.
- [11] Froriep UP, Kumar A, Cosandier-Riméle D, Häussler U, Kiliass A, Haas CA, Egert U (2012) Altered  $\theta$  coupling between medial entorhinal cortex and dentate gyrus in temporal lobe epilepsy. *Epilepsia* 53:1937–1947.
- [12] Goh KI, Barabási AL (2008) Burstiness and memory in complex systems. *EPL* 81:48002.
- [13] Goncharova II, Alkawadri R, Gaspard N, Duckrow RB, Spencer DD, Hirsch LJ, Spencer SS, Zaveri HP (2016) The relationship between seizures, interictal spikes and antiepileptic drugs. *Clin Neurophysiol* 127:3180–3186.

- [14] Gotman J (1991) Relationships between interictal spiking and seizures: human and experimental evidence. *Can J Neurol Sci* 18: 573–576.
- [15] Gotman J (2011) A few thoughts on “what is a seizure?” *Epilepsy Behav* 22:S2–S3.
- [16] Guillemain I, Kahane P, Depaulis A (2012) Animal models to study aetiopathology of epilepsy: what are the features to model? *Epileptic Disord* 14:217–225.
- [17] Gustafsson F (2001) Adaptive filtering and change detection, control engineering practice. Chichester, UK: Wiley, Ltd.
- [18] Häussler U, Bielefeld L, Froriep UP, Wolfart J, Haas CA (2012) Septotemporal position in the hippocampal formation determines epileptic and neurogenic activity in temporal lobe epilepsy. *Cereb Cortex* 22:26–36.
- [19] Heinrich C, Nitta N, Flubacher A, Müller M, Fahrner A, Kirsch M, Freiman T, Suzuki F, Depaulis A, Frotscher M, Haas CA (2006) Reelin deficiency and displacement of mature neurons, but not neurogenesis, underlie the formation of granule cell dispersion in the epileptic hippocampus. *J Neurosci* 26:4701–4713.
- [20] Janz P, Schwaderlapp N, Heining K, Häussler U, Korvink JG, von Elverfeldt D, Hennig J, Egert U, LeVan P, Haas CA (2017) Early tissue damage and microstructural reorganization predict disease severity in experimental epilepsy. *Elife* 6:e25742.
- [21] Jensen MS, Yaari Y (1988) The relationship between interictal and ictal paroxysms in an in vitro model of focal hippocampal epilepsy. *Ann Neurol* 24:591–598.
- [22] Jirsa VK, Stacey WC, Quilichini PP, Ivanov AI, Bernard C (2014) On the nature of seizure dynamics. *Brain* 137:2210–2230.
- [23] Karoly PJ, Nurse ES, Freestone DR, Ung H, Cook MJ, Boston R (2017) Bursts of seizures in long-term recordings of human focal epilepsy. *Epilepsia* 58:363–372.
- [24] Khosravani H, Carlen PL, Perez Velazquez JL (2003) The control of seizure-like activity in the rat hippocampal slice. *Biophys J* 84:687–695.
- [25] Kiliass A, Häussler U, Heining K, Froriep UP, Haas CA, Egert U (2018) Theta frequency decreases throughout the hippocampal formation in a focal epilepsy model. *Hippocampus* 375–391.
- [26] Klee R, Brandt C, Töllner K, Löscher W (2017) Various modifications of the intrahippocampal kainate model of mesial temporal lobe epilepsy in rats fail to resolve the marked rat-to-mouse differences in type and frequency of spontaneous seizures in this model. *Epilepsy Behav* 68:129–140.
- [27] Kohonen T (2013) Essentials of the self-organizing map. *Neural Netw* 37:52–65.

- [28] Krook-Magnuson E, Armstrong C, Oijala M, Soltesz I (2013) On- demand optogenetic control of spontaneous seizures in temporal lobe epilepsy. *Nat Commun* 4:1376.
- [29] Librizzi L, De Curtis M (2003) Epileptiform ictal discharges are pre- vented by periodic interictal spiking in the olfactory cortex. *Ann Neurol* 53:382–389.
- [30] Librizzi L, Losi G, Marcon I, Sessolo M, Scalmani P, Carmignoto G, de Curtis M (2017) Interneuronal network activity at the onset of seizure-like events in entorhinal cortex slices. *J Neurosci* 37:3906 – 3916.
- [31] Lim JA, Moon J, Kim TJ, Jun JS, Park B, Byun JI, Sunwoo JS, Park KI, Lee ST, Jung KH, Jung KY, Kim M, Jeon D, Chu K, Lee SK (2018) Clustering of spontaneous recurrent seizures separated by long seizure-free periods: an extended video-EEG monitoring study of a pilocarpine mouse model. *PLoS One* 13:1–11.
- [32] Magloire V, Cornford J, Lieb A, Kullmann DM, Pavlov I (2019) KCC2 overexpression prevents the paradoxical seizure-promoting action of somatic inhibition. *Nat Commun* 10:1225.
- [33] Muldoon SF, Villette V, Tressard T, Malvache A, Reichennek S, Bartolomei F, Cossart R (2015) GABAergic inhibition shapes inter- ictal dynamics in awake epileptic mice. *Brain* 138:2875–2890.
- [34] Osorio I, Frei MG, Sornette D, Milton J (2009) Pharmacologic-resistant seizures: self-triggering capacity, scale-free properties and pre- dictability? *Eur J Neurosci* 30:1554 –1558.
- [35] Pallud J, Le Van Quyen M, Bielle F, Pellegrino C, Varlet P, Labussiere M, Cresto N, Dieme M-J, Baulac M, Duyckaerts C, Kourdouglis N, Chazal G, Devaux B, Rivera C, Miles R, Capelle L, Huberfeld G (2014) Cortical GABAergic excitation contributes to epileptic ac- tivities around human glioma. *Sci Transl Med* 6:244ra89.
- [36] Rattka M, Brandt C, Löscher W (2013) The intrahippocampal kainate model of temporal lobe epilepsy revisited: epileptogenesis, behav- ioral and cognitive alterations, pharmacological response, and hippocampal damage in epileptic rats. *Epilepsy Res* 103:135– 152.
- [37] Riban V, Bouilleret V, Pham-Lê BT, Fritschy JM, Marescaux C, Depaulis A (2002) Evolution of hippocampal epileptic activity dur- ing the development of hippocampal sclerosis in a mouse model of temporal lobe epilepsy. *Neuroscience* 112:101–111.
- [38] Selinger JV, Kulagina NV, O’Shaughnessy TJ, Ma W, Pancrazio JJ (2007) Methods for characterizing interspike intervals and identi- fying bursts in neuronal activity. *J Neurosci Methods* 162:64 –71. Selvitelli MF, Walker LM, Schomer DL, Chang BS (2010) The rela- tionship of interictal epileptiform discharges to clinical epilepsy severity: a study of routine electroencephalograms and review of
- [39] the literature. *J Clin Neurophysiol* 27:87–92.

[40] Thorndike RL (1953) Who belongs in the family? *Psychometrika* 18:267–276.

[41] Twele F, Töllner K, Bankstahl M, Löscher W (2016) The effects of carbamazepine in the intrahippocampal kainate model of temporal lobe epilepsy depend on seizure definition and mouse strain. *Epilepsia Open* 1:45–60.

[42] Ward JH (1963) Hierarchical grouping to optimize an objective function. *J Am Stat Assoc* 58:236–244.

[43] Zeidler Z, Brandt-Fontaine M, Leintz C, Krook-Magnuson C, Netoff T, Krook-Magnuson E (2018) Targeting the mouse ventral hippocampus in the intrahippocampal kainic acid model of temporal lobe epilepsy. *eNeuro* 5:ENEURO.0158-18.2018.