ARTICLE IN PRESS

Available online at www.sciencedirect.com

SCIENCE DIRECT®

Pathologie Biologie ■■ (2005) ■■■-■■■

PATHOLOGIE BIOLOGIE

http://france.elsevier.com/direct/PATBIO/

Éléments méthodologiques complémentaires dans l'analyse des rythmes : recherche de périodes, modélisation. Exemples de la Mélatonine plasmatique et de courbes de températures

Complementary methodological steps in the analysis of rhythms: search of periods, modelling. Examples of plasma melatonin and temperature curves

L. Gouthière [a,*], B. Claustrat [b], J. Brun [b], B. Mauvieux [c]

[a] *Laboratoire de statistiques appliquées et d'informatique biomédicale, Expert Soft Tech., 37320 Esvres, France*
[b] *Service de radiopharmacie et radioanalyse, centre de médecine nucléaire, hôpital neurocardiologique, 59, boulevard Pinel, 69003 Lyon, France*
[c] *Centre de recherches en activités physiques et sportives (CRAPS, UPRES EA 2131) UFR STAPS, boulevard Maréchal-Juin, 14032 Caen cedex, France*

Reçu le 10 décembre 2004 ; accepté le 13 décembre 2004

Congrès de l'Association médicale de chronobiologie Saint-Sauves, France septembre 2003

Résumé

Le choix de la période est une problématique dans l'analyse des rythmes qui n'a pas été souvent formalisée jusqu'à présent. On part souvent du postulat que la période est connue et plus précisément dans le cas des rythmes circadiens. Nous proposons des méthodes qui présentent une grande fiabilité dans la détermination de la période et par conséquent qui peuvent permettre de caractériser les paramètres des phénomènes rythmiques (amplitude, phase, niveau rythmique) avec plus de précision. La modélisation classique « cosinusoïdale » présente toujours un intérêt certain dans le sens que c'est un bon reflet du comportement dans le temps d'un phénomène périodique biologique. Cependant son emploi nécessite de vérifier des hypothèses complémentaires pour s'assurer de sa validité devant une expertise statistique. Nous montrerons les principales. En outre il semble que ce modèle demande une certaine adaptation comme le montre par exemple les variabilités dans la phase que l'on peut constater dans les phénomènes biologiques rythmiques.
© 2005 Elsevier SAS. Tous droits réservés.

Abstract

The choice of the period is a problematic in the field of the analysis of rhythms which is not yet sufficiently formalized in the sense that it was often postulated that the period is known and more precisely in the case of the circadian rhythms. We propose some methods which have a great reliability in the determination of the period and consequently can allow to characterize the parameters of the rhythmic phenomena (amplitude, phase, rhythmic level) with more precision. Traditional "cosine" modeling is always an unquestionable interest in the sense that it is a good reflect of the behavior of a biological periodic phenomenon in the course of time. However its employment requires to check complementary assumptions of validity in front of a statistical expertise. We will show the main ones. On the other hand it seems that this model requires a certain adaptation as it shows for example in the variabilities of the phase that one can notice in the behaviour of the biological rhythmic phenomena.
© 2005 Elsevier SAS. Tous droits réservés.

* Auteur correspondant.
Adresse e-mail : l.gouthiere@euroestech.net (L. Gouthière).

0369-8114/$ - see front matter © 2005 Elsevier SAS. Tous droits réservés.
doi:10.1016/j.patbio.2004.12.025

Mots clés : Modélisation ; Rythmes ; Mélatonine ; Cosinor ; Température ; Spectre elliptique inverse

Keywords: Modelisation; Rhythms; Melatonin; Cosinor; Temperature; Reverse elliptic spectrum

1. Introduction

Nous essayerons de répondre à plusieurs problématiques auxquelles nous apporterons notre solution et plus particulièrement à celle du choix de la période (détermination de la période ou des périodes) et celle de la validité du modèle choisi.

En effet jusqu'à présent la démarche la plus souvent rencontrée est celle de fixer une période, par exemple de 24 heures et d'effectuer les tests statistiques pour infirmer ou confirmer la validité de cette période. Il semblerait intéressant de déterminer d'abord la période puis de tester ensuite la validité du modèle. De même l'utilisation d'un modèle nécessite de vérifier des hypothèses statistiques supplémentaires. Nous avons choisi différents exemples qui vont illustrer le cours de cet exposé : l'étude de la concentration de la Mélatonine plasmatique chez un enfant (ZE) présentant une somnolence excessive [1], l'étude de la courbe de température matinale chez une femme adulte, l'étude de la température de techniciens de l'industrie automobile travaillant de nuit [2].

2. Méthodes de détermination de la période ou des périodes

On distingue différentes méthodes de détermination de la période et plus particulièrement les méthodes d'analyses spectrales. Elles sont principalement de trois types différents : Celles dérivées de l'analyse de Fourier (FFT, Transformées de Fourier de la fonction d'Autocorrélation), celles innovantes dérivées de la régression (Spectre du « Percent Rhythm » et Spectre Elliptique Inverse [2,3,6] fondés sur le test d'amplitude nulle pour le premier et le test de l'ellipse pour le second [3]), celles dérivées à la fois de l'analyse de Fourier et de la régression comme le périodogramme de Lomb et Scargle [4].

Les figures un à cinq illustrent ces différents types de spectres à travers l'étude de la Mélatonine plasmatique chez le sujet ZE (Le dosage est radio-immunologique).

Le tableau 1 résume les résultats obtenus.

L'ensemble des résultats des méthodes précédentes pose la question de la fiabilité des méthodes. On peut remarquer que les résultats se groupent par famille de type d'analyses spectrales. Mais les résultats les plus cohérents semblent ceux issus des trois dernières méthodes soit : le périodogramme de Lomb et Scargle, le spectre du « Percent Rhythm » et le Spectre Elliptique Inverse. Par ailleurs on notera que la méthode du Spectre Elliptique Inverse donne un intervalle de confiance sur la détermination de la période, ce qui est innovateur. Une autre réponse à la fiabilité est apportée par les pourcentages de résultats positifs obtenus par ces différentes méthodes dans la détermination de la période exacte en utilisant des données de fonctions cosinusoïdales étalons de périodes variables.

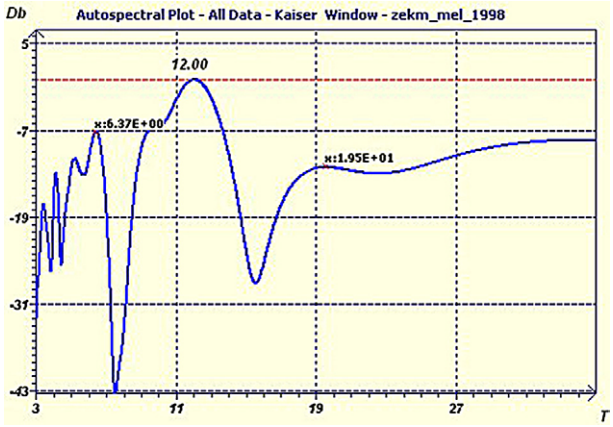

Fig. 1. Mélatonine plasmatique : Spectre Autospectral selon Jenkins et Watts [5]. On distingue un pic remarquable à 12 heures et des pics secondaires à 19 et 6 heures.

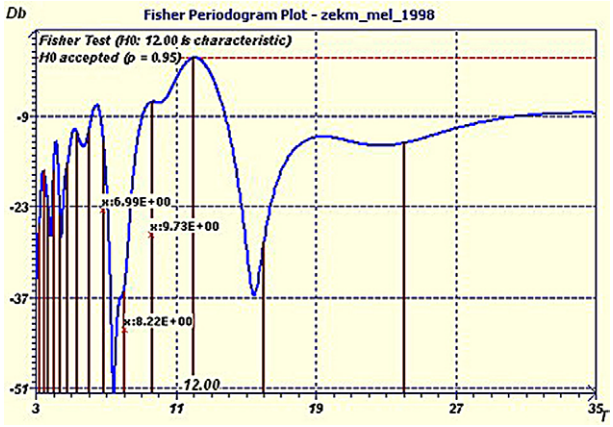

Fig. 2. Mélatonine plasmatique : Périodogramme de Fisher. On distingue une fondamentale à 12 heures et une harmonique d'ordre 1 à 10 heures. Le test d'hypothèse associé est accepté. Ce spectre est identique à celui obtenu par les FFT.

Dans l'exemple suivant (Fig. 6) on va étudier la température matinale d'une femme adulte. Les températures ont été relevées depuis le jour 10 (10/07) jusqu'au jour 69 (7/09).

Le spectre Elliptique Inverse met en évidence plusieurs périodes dont (par analogie terminologique avec l'analyse de Fourier) une « fondamentale » à 55 jours (Fig. 7).

La période à 55 jours ne semble pas être cohérente par rapport à la réalité du cycle de température.

Ceci peut s'expliquer par le fait que le signal total est une somme de différentes fonctions périodiques dont une composante de période 55 jours.

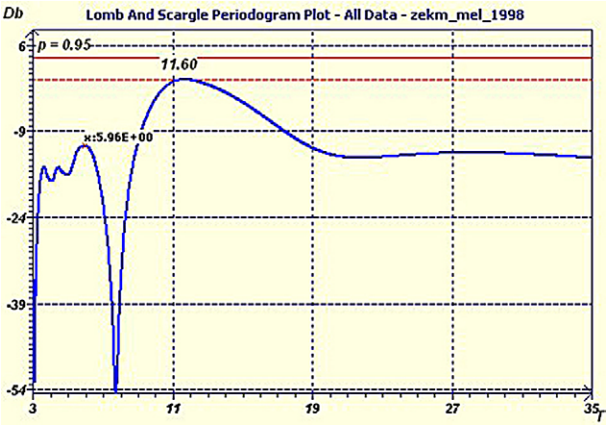

Fig. 3. Mélatonine plasmatique : Périodogramme de Lomb et Scargle. Plusieurs pics sont observés dont un remarquable à 12 heures et des pics secondaires dont un à 6 heures.

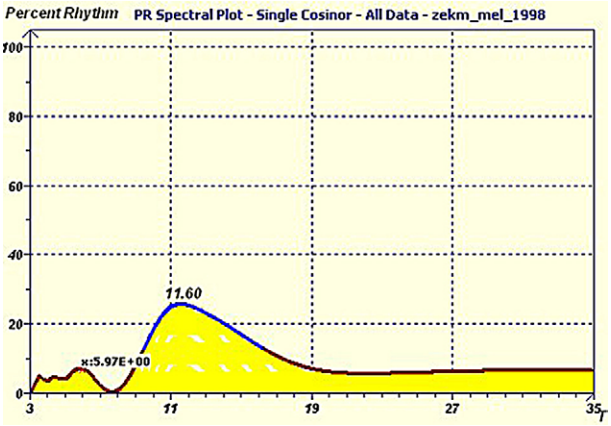

Fig. 4. Mélatonine plasmatique : Spectre du « Percent Rhythm ». On observe un pic remarquable à 12 heures et des pics secondaires dont un à 6 heures.

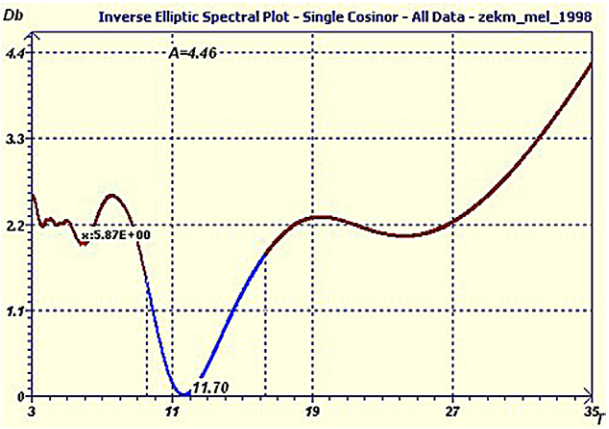

Fig. 5. Mélatonine plasmatique :Spectre Elliptique Inverse : On observe un pic remarquable à 12 heures (p = 0,95, alpha = 1–p), un pic secondaire à 6 heures (avec p = 0.9995, alpha = 1-p). La courbe en bleue délimite l'intervalle de confiance sur la détermination de la période à la probabilité choisie (ou au risque 1–p).

On va soustraire du signal la composante sinusoïdale de période 55 jours et déduire la période d'ordre 1 soit 28 jours (Fig. 8).

Tableau 1
Recherche des périodes de la Mélatonine plasmatique chez le sujet ZE. On retrouve quelles que soient les méthodes spectrales une « fondamentale » semble t-il à 12 heures et une harmonique à 6 heures

Méthode spectrales	Recherche des pics de périodes de la Mélatonine plasmatique (heures) chez le sujet ZE
Spectre Autospectral	19–**12**–6
Périodogramme de Fisher	**12**–10–8–7
Périodogramme de Lomb et Scargle	**12**–6
Spectre du « Percent Rhythm »	**12**–6
Spectre Elliptique Inverse	**12**–6

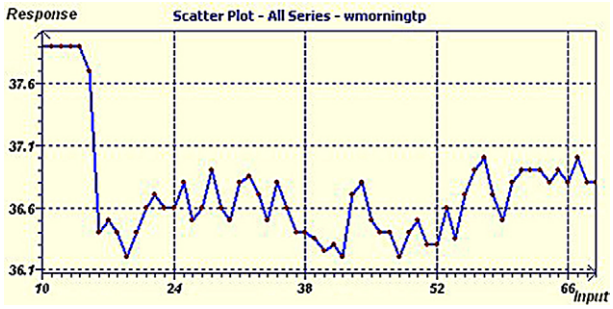

Fig. 6. Courbe de la température matinale. Les premiers points constituent des « outliers » que l'on va retirer pour les calculs de périodes. Ils ont néanmoins une réalité physiologique.

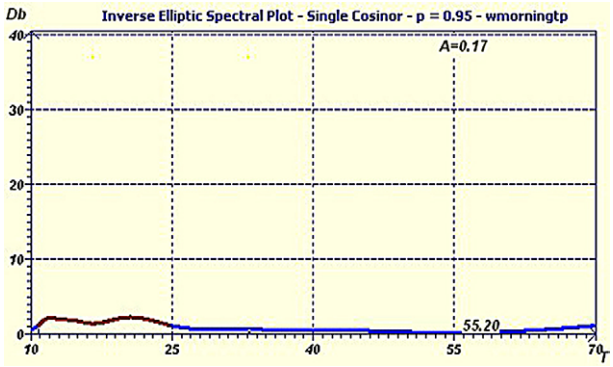

Fig. 7. Température matinale : Le Spectre Elliptique Inverse met en évidence une « fondamentale » à 55 jours.

Le modèle pour une période de 28 jours est le suivant (Fig. 9) :

On en déduit que le cycle de température est une somme d'au moins deux fonctions cosinusoïdales : l'une de période 55 jours et l'autre de période 28 jours (On notera le jour 43 correspondant à l'ovulation)

L'équation du modèle s'écrit :

Y(t) (degrés Celcius) = 0.17**cos**((2Pi t/55.2)-1.51)+36,6 + 0.14**cos**((2Pi t/27.6)-1.43) + ϵ (t) (t en jours)

On peut faire de même pour déterminer l'équation des variations de concentration de la Mélatonine plasmatique du sujet ZE en fonction du temps. On obtient, en choisissant une période, le modèle d'équation suivante :

Y(t) (pg / ml) = 4,46Cos((2Pi t/11.7)-5.72)+10,8 + ϵ (t) (t en heures)

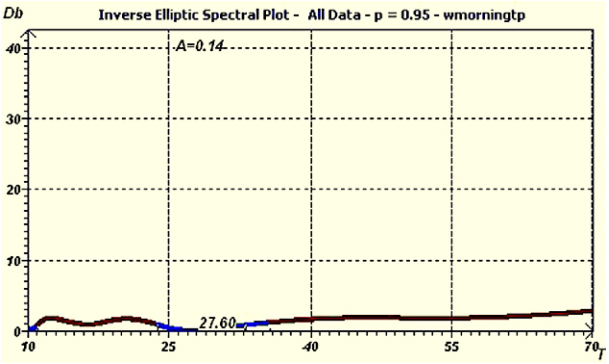

Fig. 8. Température matinale : Le Spectre Elliptique Inverse met en évidence une période secondaire à 28 jours plus cohérente (On a soustrait le signal de base de période 55,2 jours).

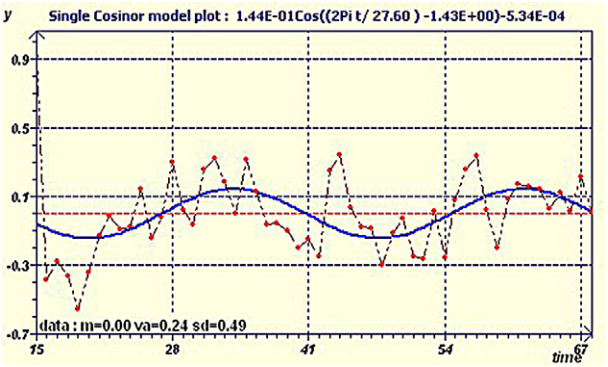

Fig. 9. Température matinale : Modèle de période 28 jours. Lorsque la composante sinusoïdale de période 55 jours est éliminée, le modèle s'adapte bien au points expérimentaux.

3. Limites de validité du modèle

La validité du modèle quelle que soit sa nature peut être évaluée par l'étude de la distribution des résidus. En effet, devant une expertise statistique, les hypothèse suivantes doivent impérativement vérifiées :

- Normalité de la distribution de résidus ;
- Moyenne des résidus égale à zéro ;
- Indépendance des résidus ;
- Homogénéité de la variance.

Le tableau de la figure 10 nous permet d'évaluer la « qualité » d'une modélisation par les test de « Goodness of fit » effectués sur les résidus.

La précision sur l'évaluation du modèle régressif cosinusoïdal est d'autant meilleure que la période choisie est grande. C'est un modèle bien adapté pour les rythmes circadiens, infradiens et au-delà. Le modèle pour une période s'écrit :

$Y(t) = a\ \mathbf{cos}(2\pi\ t\ /\ T + Phi) + M + \epsilon\ (t)$ ou $\epsilon\ (t) = -2\pi/T + \mathbf{tan}(2\pi\ t\ /\ T + Phi)$

Où T est la période, phi la phase, M le MESOR ou niveau moyen.

Pour un modèle à plusieurs périodes on répétera le terme ϵ (t) correspondant à l'erreur relative.

2. Results for all data
Solution model : 3.79E+00Cos(2π t/11.70)-2.36E+00Sin(2π t/11.70)+1.08E+01
Initial model : 4.46E+00Cos((2π t/11.70)-5.72E+00)+1.08E+01
- Model (ANOVA) is valid at the probability level : 0.9500

2.1. Chronobiometric values :
- Amplitude : 4.46E+00
  Amplitude Standard Error : 1.12E+00
  CI of Amplitude : [2.17E+00 ; 6.76E+00]
- Disphasing - Chronobiometric Acrophase (Radians) : -5.72E+00
  Disphasing Standard Error : 2.57E-01
  CI of Disphasing : [-6.26E+00 ; -5.19E+00]
- Disphasing - Chronobiometric Acrophase (Degrees) : -3.28E+02
  Disphasing Standard Error : 1.48E+01
  CI of Disphasing : [-3.59E+02 ; -2.97E+02]
- Shifting - Chronobiometric MESOR : 1.08E+01
  Shifting Standard Error : 8.03E-01
  CI of Shifting : [9.18E+00 ; 1.24E+01]

2.2. Chronobiometric parameters :
- Percent Rhythm : 25.39 %
- Percent Error : 74.61 %
- p-Value for H0 (Amplitude=0) : 0.0014

2.3. Chronobiometric test :
- Ellipse Test (H0: β=0 And γ=0) for T = 1.1700000E+01 H0 rejected : 0.9500
- Area of the Confidence Ellipse : 2.60E+01

2.4. Residuals distribution - Goodness of fit :
- Ajusted r^2 : 8.03E-01
- Residual Sums of Squares : 1.39E+03
- κ^2 Test (H0: Normal residuals distribution) H0 accepted : 0.9500
- K-S Test (H0: Normal residuals distribution) H0 accepted : 0.9500
- Average Test (H0: RS Average = 0) H0 accepted : 0.9500
- Q Test (H0: Independent Residues) H0 accepted : 0.9500

- K-S Test is the Kolmogorov and Smirnov test
- Average Test (H0: RS Average = 0) is a test of average on the average sum of residues
- Q Test is the Ljung-Box Q-statistic lack-of-fit hypothesis test

Fig. 10. Single Cosinor [3] et test de validité du modèle : « Goodness of fit » pour la Mélatonine avec une période de 11,7 heures. Les conditions de validité sur les résidus sont réunies.

4. Conditions supplémentaires à une bonne modélisation

On a vu précédemment que la modélisation peut être mono ou pluripériodique. Mais d'autres questions peuvent se poser et plus particulièrement sur l'amplitude et la phase. Par exemple : à t-on affaire à un modèle d'amplitude constante ou variable et fonction du temps ? De même la phase est-elle une fonction complexe du temps ?

Nous disposons de méthodes innovantes qui permettent d'étudier les variations d'amplitude d'une part et les variations de phase d'autre part au cours du temps. Ce sont les spectres de démodulation.

Dans l'exemple suivant on a étudié les températures provenant de deux échantillons de la même population [2]. Le premier est un échantillon de sujets sédentaires travaillant de nuit, le second est un échantillon des même sujets ayant subi un entraînement physique de quelques semaines. On a constaté que l'entraînement physique a sensiblement provoqué la modification des courbes de températures en amplitude et en phase (l'amplitude devient plus marquée, la phase diminue) (Figs. 11,12)

La Fig. 13 nous montre grâce au spectre de démodulation que l'amplitude est une fonction constante du temps.

De même on peut vérifier le comportement de la phase (Fig. 14).

Dans ce dernier exemple on voit que le modèle cosinusoïdal classique présente des faiblesses par rapport à la réalité physique. On devrait calculer un modèle plus proche de l'équation suivante $y(t) = a\ \cos(2\pi\ t\ /\ T + Phi(t))$ avec plus particulièrement une phase fonction du temps voir même cosinusoïdale.

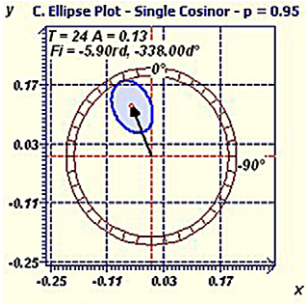

Fig. 11. Température chez un groupe de techniciens avant entraînement : Ellipse de confiance selon Halberg et al. [3] avec les valeurs des paramètres chronobiologiques associés (p = 0,95, α = 0.05).

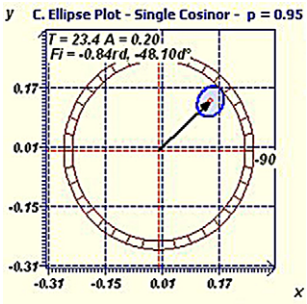

Fig. 12. Température chez un groupe de techniciens après entraînement : Ellipse de confiance selon Halberg et al. L'amplitude a augmenté, la phase a diminué (p = 0,95, α = 0.05).

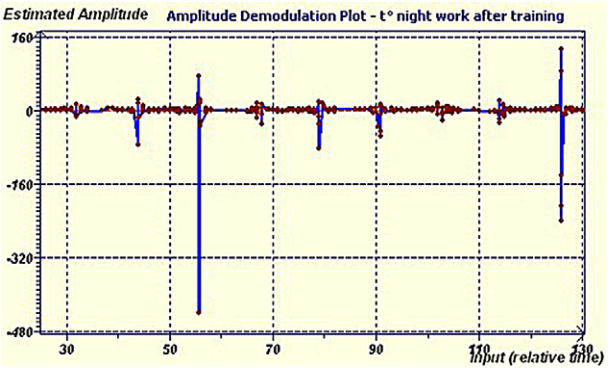

Fig. 13. Spectre de démodulation complexe en amplitude : L'amplitude de température chez les sujets ayant subi un entraînement physique est relativement constante. On peut en déduire qu'elle n'est pas fonction du temps. La période de la température est ici de 23,4 heures.

5. Conclusion

Dans cet exposé nous avons apporté des réponses à des problématiques dans l'analyse des rythmes. En particulier celles du choix de la période et des limites de l'utilisation du modèle classique cosinusoïdal. Les divers exemples originaux ont permis nous l'espérons, d'aborder les principaux volets de ce complément méthodologique. Le modèle cosinusoïdal reste toujours un outil de représentation majeur dans l'analyse des rythmes bien que d'autres modèles existent comme les modèles différentiels ou les modèles chaotiques. Ces derniers abordent la complexité d'une manière plus

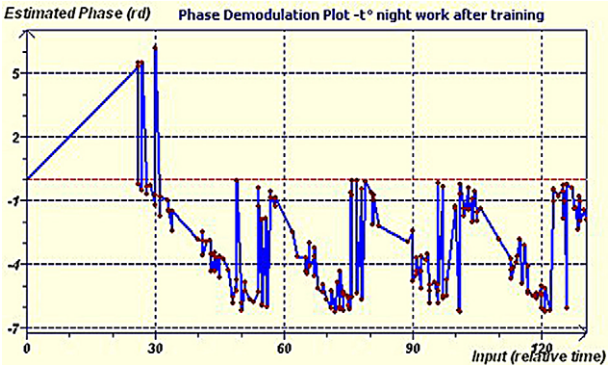

Fig. 14. Spectre de démodulation complexe en phase : La période de la température est de 23,4 heures. La phase de la température chez les sujets ayant subi un entraînement physique n'est pas constante. On remarque qu'elle augmente en fonction de l'activité puis diminue brusquement.

importante. Un autre point essentiel dans la méthodologie est celui de la qualité de l'échantillonnage [6]. Nous avons déjà partiellement abordé cette notion dans de précédentes publications.

Nous avons présenté des méthodes d'analyses performantes de principes divers. Le lecteur trouvera dans la bibliographie le complément théorique nécessaire[1].

Références

[1] Brun J, Challamel M-J, Claustrat B, Sassolas G, Wright C. Rythme circasemidien de temperature,veille/sommeil et des profils plasmatiques de mélatonine et de cortisol chez un enfant présentant une somnolence excessive. In: 40° journées internationales d'endocrinologie du 29-30 mai 1997, éd. Klotz Paris; 1998.

[2] Mauvieux B, Gouthière L, Sesboüe B, Davenne D. Études comparées des rythmes circadiens et reflet actimétrique du sommeil de sportifs et de sédentaires en poste régulier de nuit. Can J Appl Physiol 2003; 28(6):831–87.

[3] Bingham C, Arbogast B, Cornélissen G, Lee JK, Halberg F. Inferential statistical methods for estimating and comparing cosinor parameters. Chronobiologia 1982;9:397–439.

[4] Scargle JD. Studies in astronomical time series analysis. II, Statistical aspects of spectral analysis of unevenly spaced data, AA (NASA, Ames Research Center, Space Science Div., Moffett Field, CA). Astrophysical Journal 1982;1(263):835–53.

[5] Jenkins GM, Watts DG. Spectral Analysis and its Applications. San Francisco: Holden Day; 1968.

[6] Gouthière L, Mauvieux B. Étapes essentielles dans l'analyse des rythmes : Qualité des données expérimentales, Recherche de périodes par analyses spectrales de principes divers, Modélisation. In: Congrès de la Société Francophone de Chronobiologie, Sur quelques aspects de la Chronobiologie, Publications de l'Université de Saint-Etienne (Jean Monnet). Juillet 2004.

[1] Les données utilisées dans cette étude proviennent de plusieurs sources et plus particulièrement pour la Mélatonine du service de radioanalyse du centre de médecine nucléaire. Les données de température des techniciens de Peugeot Citroën du laboratoire de centre de recherche en activités physiques et sportives. Les graphiques sont issus du logiciel Time Series Analysis Seriel Cosinor du Laboratoire de Statistiques Appliquées (URL http://www.euroestech.fr).