

СИТОВСКАЯ

Дарья Александровна

СРАВНИТЕЛЬНАЯ МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА
ЭПИЛЕПТИЧЕСКИХ ОЧАГОВ У ВЗРОСЛЫХ И ДЕТЕЙ С ФОКАЛЬНОЙ
КОРТИКАЛЬНОЙ ДИСПЛАЗИЕЙ ВИСОЧНОЙ ДОЛИ ГОЛОВНОГО
МОЗГА

3.3.2. Патологическая анатомия

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном учреждении «Национальный медицинский исследовательский центр имени В.А. Алмазова» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Научный руководитель:

Забродская Юлия Михайловна – доктор медицинских наук

Официальные оппоненты:

Чирский Вадим Семенович – доктор медицинских наук, профессор, Федеральное государственное бюджетное военное образовательное учреждение высшего образования «Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова» Министерства обороны Российской Федерации, кафедра патологической анатомии, заведующий кафедрой.

Орлинская Наталья Юрьевна – доктор медицинских наук, доцент, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Приволжский исследовательский медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, кафедра патологической анатомии, заведующая кафедрой.

Ведущая организация: Федеральное государственное автономное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр нейрохирургии имени академика Н.Н. Бурденко» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Защита состоится «21» мая 2024 года в 10:00 часов на заседании диссертационного совета 21.1.028.04 на базе ФГБУ «НМИЦ им. В.А. Алмазова» Минздрава России (197341, Санкт-Петербург, ул. Аккуратова, д.2).

С диссертацией можно ознакомиться в научной библиотеке Федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр имени В.А. Алмазова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (197341, Санкт-Петербург, ул. Аккуратова, д.2) и на официальном сайте www.almazovcentre.ru

Автореферат разослан « ___ » _____ 2024 г.

Ученый секретарь
Диссертационного совета 21.1.028.04
Доктор медицинских наук, профессор



Лейдерман
Илья Наумович

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования

Эпилепсия – одно из самых распространенных серьезных расстройств головного мозга и, вероятно, одна из самых социально значимых медицинских проблем, что подтверждено статистическими исследованиями. По данным литературы от 7% до 11% всего населения планеты однократно переносили эпилептический приступ, а 20% однократно имели в анамнезе единичный судорожный приступ, подозрительный на эпилепсию и требующий соответствующей дифференциальной диагностики (Белоусов Ю. Б. и др., 2005, Brodie M. J. et al., 1998). Известно, что 70–80% эпилепсий при правильном лечении имеют благоприятный прогноз (Зенков Л. Р. и др., 1996, Brodie M. J. et al., 1990).

До сих пор не существует патогенетического лечения эпилепсии и нет возможности предотвратить развитие данной патологии (Ravizza T. et al., 2017). Примерно 40% эпилепсий являются фармакорезистентными эпилепсиями (ФРЭ), к ним относят случаи, при которых невозможно достичь контроля над приступами при применении 2–3 антиэпилептических препаратов на фоне высоких доз (Liu S. et al., 2015).

В последние годы увеличилось количество больных с ФРЭ, направляемых на хирургическое лечение. Однако, положительный результат регистрируется только у 50–70% пациентов, при этом у 20% больных хирургическое лечение приносит лишь незначительное улучшение, а в 10% случаев отмечается полное отсутствие эффекта от операции (Neligan A. et al., 2012). Стоит отметить, что лишь 20% людей с ФРЭ имеют показания к нейрохирургическому лечению, у остальных пациентов заболевание приобретает прогрессирующий характер, приводящий к когнитивным дефектам, глубокой инвалидности и социальной дезадаптации (Айвазян С. О. и др., 2014).

Наиболее частым структурным субстратом ФРЭ является фокальная кортикальная дисплазия (ФКД). ФКД являются разновидностью нарушения развития коры головного мозга в результате аномальной пролиферации нейронов и глии вследствие нарушения нейрональной миграции и патологии постмиграционного развития (Blümcke I, 2013). Они характеризуются нарушением формирования слоев коры больших полушарий (дисламинацией), наличием диспластичных клеток (дисморфных нейронов и баллонных клеток), гетеротопией нейронов и пр. (Kuzniecky R. et al., 2011; Blümcke I, 2022). Нередко ФКД верифицируется только на этапе патоморфологического исследования резецированной части головного мозга, что затрудняет предоперационную диагностику и ведение пациента.

Сложность диагностики эпилепсии, недостаточные знания о причинах полиморфизма приступов, трансформации одних эпилепсий в другие влекут за собой неправильную тактику лечения (сообщение Комиссии Международной Противозэпилептической Лиги (МПЭЛ), 2004). Широкий спектр современных патоморфологических методов (иммуногистохимии, молекулярной генетики, иммунобиологических методов) дают возможность проводить морфофункциональный анализ состояния нервной ткани.

Изучение патоморфогенеза эпилепсии необходимо для развития теоретических и методологических подходов в нейрохирургии. Однако, несмотря на большое количество публикаций и значительную проработку проблемы, вопросы по морфофункциональному состоянию тканей при эпилепсии изучены недостаточно.

Степень разработанности темы исследования

При патоморфологическом изучении структурной эпилепсии основное внимание уделяется нозологическим формам (Blümcke I., 2016), при этом большая часть исследований посвящена патологии нейронов (Sarnat H.V., 2017). В литературе представлены разрозненные сведения о роли глиальных клеток в эпилептогенезе, преимущественно об астроцитах (Purnell B.S., 2023). Все больше внимания уделяется

белому веществу в зоне epileptогенных повреждений, в частности, доказана роль повреждения миелина в epileptогенезе (Гайкова О. Н., 2011). Показано наличие глиоза, деструкции клеток, наличие дисплазий в виде недоразвития пирамидных клеток, гетеротопии нейронов со смещением их в белое вещество, нарушение структуры синаптических контактов (Обухов С. Г. и др., 2006). Использование электронной микроскопии выявило пролиферацию и реорганизацию волокон, формирование нейронно-глиально-капиллярных связей (Степаненко А. Ю., Семченко В. В., 1999). Описан синдром epileptической лейкоэнцефалопатии (Гайкова О. Н., 2001) и доказано, что астроцитарный глиоз в epileptическом очаге имеет реактивную природу (Медведев Ю. А., 2010). Также показано, что нейровоспаление имеет большое значение в патогенезе заболевания (Соколова Т. В., 2023).

Однако в настоящее время недостаточно информации о комплексном морфологическом состоянии epileptического очага у пациентов с ФКД. До конца не изучены морфофункциональные изменения в ткани epileptического очага у пациентов различных возрастных групп (взрослых и детей), отсутствуют данные о динамике экспрессии структурных и протекторных белков в зоне epileptического очага в зависимости от длительности заболевания. Также недостаточно данных о роли апоптоза глиальных клеток в epileptогенезе.

Комплексное изучение структурных изменений и выявление причинно-следственных связей между ними имеет как общебиологическое значение для понимания процессов, происходящих в нервной ткани, так и клиническое, для оптимизации тактики лечения больных, улучшения диагностики, снижения числа возможных осложнений (например, развития epileptического статуса), прогнозирования течения заболевания.

Цель исследования

Провести комплексное сравнительное исследование патоморфологических изменений и гистопротеомного статуса апоптотических, цитоскелетных и протекторных белков в epileptическом очаге (зоне патологической электрофизиологической активности) у взрослых и детей для уточнения патогенеза фармакорезистентной epileptии, ассоциированной с фокальной кортикальной дисплазией височной доли.

Задачи исследования

1. Дать комплексную патоморфологическую характеристику epileptического очага в коре и белом веществе головного мозга у взрослых и детей, оперированных по поводу фармакорезистентной epileptии, ассоциированной с фокальной кортикальной дисплазией.
2. Определить наличие и уровень апоптоза в нейронах и глиальных клетках в коре и белом веществе в области epileptического очага с помощью иммуногистохимического и иммунобиохимического (вестерн-блоттинг) методов исследования у пациентов детского и взрослого возраста с фармакорезистентной epileptией, ассоциированной с фокальной кортикальной дисплазией.
3. Изучить иммуногистохимическим методом экспрессию белков цитоскелета (глиального фибриллярного кислого белка, виментина) и протекторного белка S100 в зоне epileptического очага в коре и белом веществе височной доли у детей и взрослых с фармакорезистентной epileptией, ассоциированной с фокальной кортикальной дисплазией, а также в аналогичных возрастных группах у пациентов без epileptии.
4. Выявить корреляции изменений полученных морфофункциональных показателей в веществе головного мозга epileptического очага в зависимости от пола и возраста пациента, давности течения epileptии.

Научная новизна результатов исследования

- На основании комплексного сравнительного анализа операционного материала с использованием гистологических, ультраструктурных, морфометрических и иммуногистохимических исследований и метода вестерн-блоттинга, получены новые представления о патогенезе фармакорезистентной эпилепсии у детей и взрослых с фокальной кортикальной дисплазией.
- Впервые предложена концепция структурной гетерогенности эпилептического очага при фармакорезистентной эпилепсии.
- Показана роль апоптоза олигодендроглиоцитов в эпилептогенезе.
- Получены новые данные о возрастных особенностях экспрессии апоптотических, протекторных белков и белков цитоскелета эпилептического очага в коре и белом веществе при фармакорезистентной эпилепсии, ассоциированной с фокальной кортикальной дисплазией.
- Впервые выявлена закономерность динамического изменения гистопротеомного профиля эпилептического очага в зависимости от длительности процесса с выделением периодов заболевания.

Теоретическая и практическая значимость исследования

Новая концепция гетерогенности структурных изменений в эпилептическом очаге расширяет современные представления о морфо-патогенезе фармакорезистентной эпилепсии при фокальных кортикальных дисплазиях.

Определены типовые морфологические изменения и патологические процессы в ткани мозга, характерные для фармакорезистентной эпилепсии, ассоциированной с фокальной кортикальной дисплазией.

Выявлены морфофункциональные закономерности эволюции эпилептического очага.

Полученные результаты позволяют рассматривать патогенез фармакорезистентной эпилепсии при фокальных кортикальных дисплазиях как общий для всех возрастных групп.

Гетерогенность зоны структурных повреждений, наблюдаемая у пациентов с фармакорезистентной эпилепсией, ассоциированной с фокальной кортикальной дисплазией, обуславливает необходимость комплексной оценки изменений коры и белого вещества в зоне эпилептического очага.

Сопряженность выраженности апоптоза с патологической электрофизиологической активностью позволяет достоверно выявить эпилептический очаг на операционном материале для оценки радикальности хирургического лечения.

Определение стадии течения фармакорезистентной эпилепсии у взрослых и детей может быть использовано для разработки персонализированного подхода в выборе тактики лечения.

Методология и методы исследования

Методологический подход основывается на принципах доказательной медицины. В данном случае, для исследования патоморфологии фармакорезистентной эпилепсии выбран дизайн ретроспективного анализа типа "случай-контроль". В данной методологии исследователи рассматривают две группы пациентов – группу случаев (пациенты с диагнозом «фармакорезистентная эпилепсия») и группу контроля (пациенты без диагноза «фармакорезистентная эпилепсия»). Теоретическая основа исследования основана на научных работах, в которых изучали патоморфологию фармакорезистентной эпилепсии. Используя эти работы, исследователи определили цель и задачи своего диссертационного исследования. Объектом исследования стали больные с фармакорезистентной эпилепсией, ассоциированной с фокальной кортикальной дисплазией, детского и взрослого возрастов, а предметом – ткань височной доли головного мозга. В ходе исследования использовались как

общенаучные методы (наблюдение, сравнение, дедукция, индукция, анализ и синтез), так и специальные методы (гистологическое, гистохимическое, иммуногистохимическое (ИГХ) исследования, дополненные иммунобиологическим и ультраструктурным методами, а также медицинская статистика).

На проведение диссертационного исследования получено разрешение Этического комитета ФГБУ "НМИЦ им. В.А. Алмазова" Минздрава России (далее – Центр Алмазова) (выписка №1805–23 из протокола заседания ЛЭК №05–23 от 15.05.23 г.), кроме этого, исследование проводилось в рамках госзадания № 121031000359–3 «Разработка новых подходов в диагностике медиобазальной фармакорезистентной эпилепсии на основе гистопроотемики эпилептических очагов».

Положения, выносимые на защиту

1. Патоморфологические изменения демонстрируют структурную гетерогенность зоны эпилептического очага при фармакорезистентной эпилепсии, ассоциированной с фокальной кортикальной дисплазией. Эпилептический очаг представляет собой сложно устроенную структурно-функциональную систему с многочисленными взаимно потенцирующими эпилептогенными и поддерживающую эпилептическую систему взаимодействиями. У пациентов с фармакорезистентной эпилепсией, ассоциированной с фокальной кортикальной дисплазией, взрослой и детской групп имеет место единый патоморфогенез ввиду общности структурных изменений и гистопроотеомных характеристик в эпилептическом очаге.
2. У пациентов с фармакорезистентной эпилепсией, ассоциированной с фокальной кортикальной дисплазией, в области эпилептического очага изменяется уровень экспрессии следующих белков: каспазы-3, глиального фибриллярного кислого белка, виментина и S100, что отражает активность процессов апоптоза, активации и репарации глиальных клеток в зависимости от возраста и длительности заболевания. На ранних стадиях развития заболевания наблюдается компенсаторное увеличение экспрессии цитоскелетных и защитных белков, что характеризует адаптационно-реактивные процессы в зоне эпилептического очага, а в зависимости от давности можно наблюдать динамику прогрессирования нейродегенерации у больных фармакорезистентной эпилепсией.

Степень достоверности и апробация результатов

Достоверность результатов исследования определяется репрезентативным объёмом выборки, использованием современных методов и применением адекватных приёмов статистической обработки. Результаты диссертационного исследования были представлены в виде докладов и тезисов на научных конференциях: 32 Международном конгрессе по Эпилепсии (32nd International Epilepsy Congress, Барселона, 2017), на конкурсе бизнес-идей, научно-технических разработок и научно-исследовательских проектов «Молодые, дерзкие, перспективные», Санкт-Петербург, 2017 год; 13м Европейском конгрессе по эпилептологии, Вена, Австрия, 2018 г; I Российско-Китайском конгрессе нейрохирургов, Уфа, 2018 год; «Совещание по эволюционной физиологии имени академика Л.А. Орбели», Санкт-Петербург, 2020 г; XXV Международном конгрессе по неврологии, Рим, Италия, 2021 г; Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Поленовские чтения» в 2018, 2019, 2020, 2022, 2023 годах; Международной конференции «Медицинская генетика и геномика: мультидисциплинарные аспекты», Санкт-Петербург, 2023 г.

Личный вклад автора

Автор предложил и сформулировал тему, разработал исследовательский дизайн, собрал образцы для проведения гистологических, гистохимических и

иммуногистохимических исследований, а также для вестерн-блоттинга и электронной микроскопии. После этого автор провел анализ данных, полученных вышеперечисленными методами, и выполнение морфометрической и статистической обработки. Кроме того, весь текст диссертации и ряд научных публикаций по теме диссертации был написан автором самостоятельно.

Публикации

По материалам диссертационного исследования опубликовано 28 научных работ, из них 2 – в журналах, рекомендуемых ВАК при Минобрнауки России из Перечня рецензируемых научных изданий, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук по специальности 3.3.2. Патологическая анатомия.

Объем и структура диссертации

Диссертация изложена на 129 страницах машинописного текста и состоит из введения, четырех глав, выводов, практических рекомендаций, перспектив дальнейшей разработки темы, списка сокращений и списка литературы. Работа содержит 19 рисунков и 17 таблиц. Библиографический указатель включает 194 источника, из них 19 отечественных и 175 зарубежных.

Внедрение результатов работы

Результаты исследования внедрены в научную работу НИЛ патоморфологии нервной системы РНХИ им. проф. А.Л. Поленова – филиал ФГБУ «НМИЦ им. В.А. Алмазова» Минздрава России; в лечебно-диагностическую работу патологоанатомического отделения Университетской клиники ФГБУ «НМИЦ им. В.А. Алмазова» Минздрава России, СПбГБУЗ «Городская Мариинская больница»; в образовательный процесс кафедры патологической анатомии с клиникой Института медицинского образования ФГБУ «НМИЦ им. В.А. Алмазова», а также кафедры патологической анатомии с курсом судебной медицины им. Д.Д. Лохова ФГБОУ ВО Спбгпму Минздрава России.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материалы исследования

В основу исследования положен анализ 60 архивных случаев пациентов (30 взрослых и 30 детей), перенесших переднюю медиальную темпоральную резекцию под интраоперационным электрофизиологическим контролем за период с 2007 г. по 2022 г., проходивших лечение на базе РНХИ им. проф. А.Л. Поленова – филиал ФГБУ «НМИЦ им. В.А. Алмазова» Минздрава России. Всем пациентам был выставлен диагноз по МКБ-10 «G40.2 височно-долевая фокальная эпилепсия структурной этиологии с частыми полиморфными приступами, фармакорезистентное течение». В группу взрослых включены 16 мужчин (53,3%) и 14 женщин (46,7%), средний возраст пациентов 31,3±8,6 года; в группу детей (возраст от 1 до 17 лет) вошли 16 мальчиков (53,3%) и 14 девочек (46,7%), средний возраст 9±5 лет. В исследование были включены пациенты с ФКД-ассоциированной ФРЭ височной доли без связи с основным морфологическим субстратом (таким как склероз гиппокампа, опухоли и сосудистые мальформации).

В качестве группы сравнения исследован аутопсийный материал: 15 пациентов детского возраста в возрасте от 2 до 15 лет (8 мальчиков и 7 девочек, средний возраст больных 6±4 года) и 15 взрослых в возрасте от 28 до 61 года (10 мужчин и 5 женщин, средний возраст больных 45,1±10 лет), не имевших в анамнезе неврологических расстройств.

Методы исследования

Макроскопическое исследование операционного материала: производилась ориентировка резецированной височной доли относительно полюса, затем выполнялись серийные анатомические срезы толщиной 3 мм с маркировкой и забором материала для вестерн-блоттинга и электронной микроскопии.

Гистологическое и гистохимическое исследование. Парафиновые срезы биопсийного материала с ФКД-ассоциированной ФРЭ и аутопсийного материала групп сравнения взрослых и детей окрашивались гематоксилином и эозином, по Нисслию (для оценки состояния нейронов) и по Шпильмейеру (для оценки миелинизации).

Иммуногистохимическое исследование (ИГХИ) проводилось с антителами к S100, виментину, глиальному фибриллярному белку (ГФКБ) и активной каспазе-3 по протоколу, рекомендуемой фирмами-производителями. Всего было исследовано 630 срезов.

Вестерн-блоттинг (ВБ) проводился на базе НИЛ сравнительной биохимии клеточных функций ФГБУН ИЭФБ им. И. М. Сеченова РАН под руководством ведущего научного сотрудника, д.м.н. Е. Д. Бажановой. Исследование проведено на 15 биопсиях пациентов взрослой группы, на 15 биопсиях пациентов детской группы, на 10 пациентах группы сравнения, из них 6 взрослых и 4 ребёнка. Изучались реакции с антителами к полноразмерной каспазе-3, каспазе-9, p53, CD95 (FAS), учет нормализации проводился относительно актина.

Трансмиссионная электронная микроскопия (ТЭМ) проводилась в НИЛ молекулярной эндокринологии и нейрохимии ФГБУН ИЭФБ им. И. М. Сеченова РАН научным сотрудником Н. М. Парамоновой. Электронная микроскопия проводилась на 6 биопсиях пациентов взрослой группы и на 5 биопсиях пациентов детской группы.

Получение цифровых изображений и их оценка. Работа выполнялась на цифровых изображениях, полученных путём фотографирования микропрепаратов с использованием микроскопа Leica DM2500 M, оснащенного цифровой камерой DFC320, и с использованием менеджера изображений IM50 (Leica Microsystems, Вецлар, Германия). Положительное окрашивание антителами к ГФКБ и виментину в срезах височных долей оценивали путем расчёта денситометрической оптической плотности (условных единиц) окрашенных клеток относительно фоновых участков в 10 полях зрения при увеличении $\times 400$ с помощью программы PhotoM 1.21. Результатом измерения является коэффициент, полученный путём деления плотности положительных участков по отношению к фону. Количественную оценку результатов ИГХ-реакции (положительное окрашивание клеток на срезах височных долей, количество) с антителами к S100 и каспазе-3 проводили путем подсчета окрашенных ядер ($\times 400$) на срезах в 10 полях зрения (ImageG).

Анализ полученных блотов проводился методом денситометрии с помощью программы PhotoM 1.21 с учётом нормализации относительно актина (1:1000; Cell Signalling, США) с помощью гель-документирующей системы (ChemiDoc, BioRad, США).

Электронно-микроскопическое исследование срезов было выполнено на микроскопе FEITecnaï G2Spirit BioTWIN (Нидерланды). Электронные микрофотографии были получены с использованием камеры Morada (Digital Imaging Solutions Inc.).

Статистические методы исследования. Накопление, хранение и первичная сортировка данных исследования осуществлялись с помощью портативного компьютера и пакета «Microsoft Office 2016». Статистический анализ полученных данных проводился с помощью программы Statistica v. 10. Для описания количественных показателей использовалось среднее значение (M) и стандартное отклонение (SD). Соответствие распределения значений уровня экспрессии белков нормальному распределению проверялось критерием Колмогорова-Смирнова. Статистическая значимость различий оценивалась с помощью непараметрического U-критерия Манна-Уитни для двух независимых выборок. В случае нормального распределения был использован t-критерий Стьюдента. Различия между группами были определены как значимые при $p < 0,05$. Для

корреляционного анализа использовался коэффициент Спирмена, сила корреляционных связей оценивалась по шкале Чеддока. Для оценки взаимосвязи между уровнем белка и различными факторами, принимая во внимание потенциальное влияние возраста, пола, статуса ребенка и эпилепсии, использовали регрессионный анализ.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Гистологическая характеристика эпилептических очагов при фармакорезистентной эпилепсии, ассоциированной с фокальной кортикальной дисплазией у взрослых и детей

По данным гистологического исследования у пациентов всех возрастных групп выявлены различные варианты фокальной кортикальной дисплазии (Рисунок 1). Наиболее частым гистологическим типом ФКД как у детей, так и у взрослых, явился тип Ib – с аномальной горизонтальной ламинацией, составив 19 случаев (63,3%) и 14 случаев (46,7%) соответственно. У детей гистологический тип ФКД Ia выявлен в 2 случаях (6,7%), тип Ic выявлен в 5 случаях (16,7%), IIa – в 3 случаях (10%), а IIb – в 1 случае (3,3%). У взрослых гистологический тип ФКД Ia выявлен в 6 случаях (20%), тип Ic выявлен в 2 случаях (6,7%), IIa – в 4 случаях (13,3%), а IIb – в 3 случаях (10%). Кроме того, в группе взрослых пациентов выявлен 1 случай mMCD (3,3%).

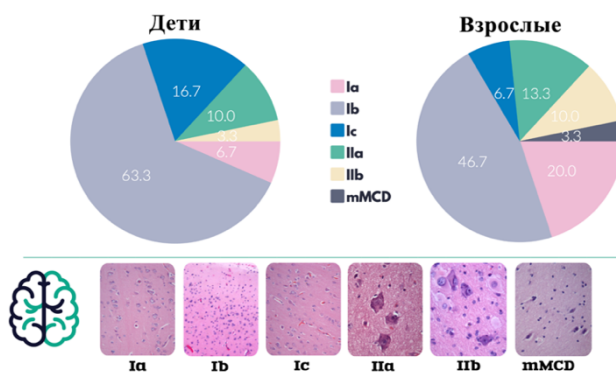


Рисунок 1 – Гистологические типы ФКД у детей и взрослых, %

Кроме изменений в коре, отмечено наличие структурных изменений и в белом веществе (Рисунок 2).

Эктопированные нейроны в белом веществе. В белом веществе височной доли во всех случаях ФКД-ассоциированной ФРЭ у детей и взрослых выявлены ectopированные нейроны среднего размера, беспорядочно располагающиеся как субкортикально, так и распространяющиеся в глубокие отделы.

Очаги выпадения нейронов. Наряду с диспластическими изменениями в коре височной доли головного мозга обнаруживалось нарушение архитектоники за счёт наличия участков полного выпадения нервных клеток и/или малоклеточных участков из мелких атрофированных нейронов и единичных глиоцитов. В группе пациентов детского возраста это явление наблюдалось в 17 (56,7%) случаях, во взрослой группе – в 21 (70%) случае.

Реактивно-деструктивные изменения нейронов. Во всех наблюдениях в нервных клетках выявлены реактивно-дистрофические и деструктивные изменения. Наблюдалась картина гидропической дистрофии с хроматолизом и вакуолизацией цитоплазмы нейронов, чередующихся с гиперхромными, сморщенными, ишемически измененными клетками. Они располагались во всех слоях коры, иногда в субкортикальном белом веществе. Среди измененных нейронов определялись клетки-тени, сохранившие очертания цитоплазмы, но с полным лизисом ядра. Данные изменения сопровождалось умеренно выраженным сателлитозом и нейронофагией. Во всех наблюдениях в белом веществе обнаруживались изменения, которые можно отнести к эпилептической лейкоэнцефалопатии, проявляющейся демиелинизацией, микрокистами, поражением сосудов и глиозом.

Демиелинизация. Биоптаты височной доли головного мозга в зоне эпилептического очага были окрашены по Шпильмейру для оценки состояния миелинизации в этой области. В 100% биоптатов пациентов с ФКД-ассоциированной ФРЭ в обеих возрастных группах выявлены участки слабо окрашенных волокон, нечёткая граница с корой за счёт обеднения миелином волокон.

Микрокистозная трансформация белого вещества. В ряде случаев ФКД-ассоциированной ФРЭ белое вещество имело разволокненную или микрокистозную структуру. При этом обнаруживались кривлыры разного размера, проявляющиеся расширением пространств вокруг сосудов. Данные изменения наблюдались 10 (33,3%) случаях у пациентов детского возраста и в 16 (53,3%) случаях у взрослых.

Ангиопатия. Кроме того, преимущественно в белом веществе отмечались изменения сосудов в виде склероза или гиалиноза стенок, образование конволютов и инвагинатов, увеличение диаметра и растяжение стенок, дистоничные сосуды микроциркуляторного русла с изменением диаметра просвета, нередко с реактивным набухшим эндотелием. Данные изменения наблюдались в 100% случаев как у пациентов детского возраста, так и у взрослых.

Глиоз. Клеточный глиоз в белом веществе представлял собой преимущественно равномерное распределение глиоцитов с округлыми штампованными ядрами, часть клеток имели оптически пустую цитоплазму, представляя собой дренажные формы олигодендроглиоцитов, встречались немногочисленные глиальные узелки. Данные изменения наблюдались в 100% случаев как у пациентов детского возраста, так и у взрослых.

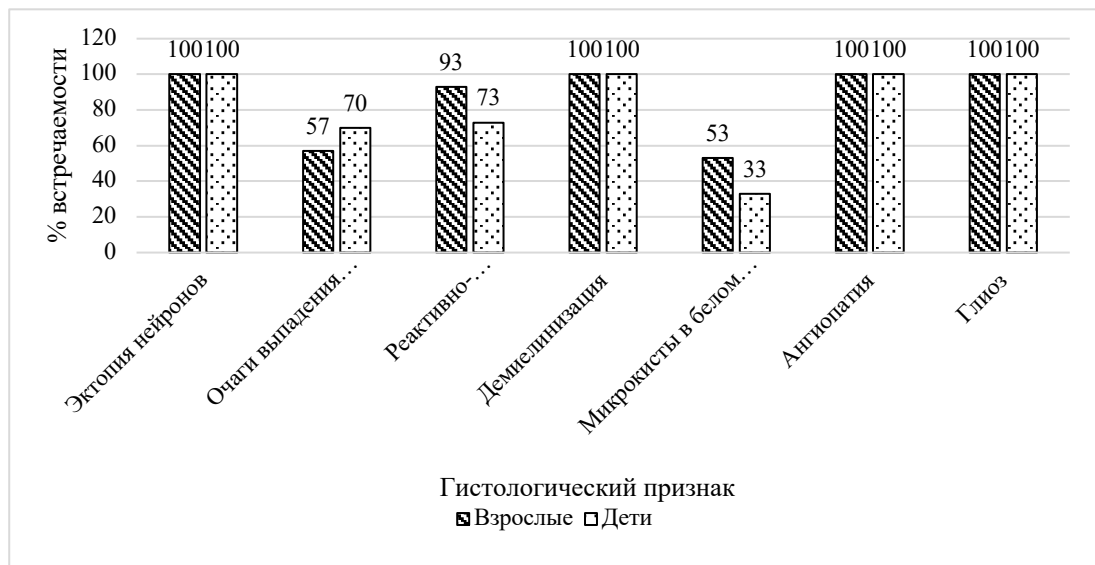


Рисунок 2 – Гистологические изменения в зоне эпилептического очага при ФКД-ассоциированной ФРЭ у детей и взрослых, %

Иммуногистохимическая характеристика эпилептических очагов при фармакорезистентной эпилепсии, ассоциированной с фокальной кортикальной дисплазией у детей, взрослых и групп сравнения

ИГХИ с антителами к S100 выявило более интенсивное окрашивание цитоплазмы и ядер многочисленных глиоцитов в группе с ФКД-ассоциированной ФРЭ по сравнению с контрольной группой в обеих возрастных группах.

В реакциях ИГХ с антителами к GFAP выявлена пролиферация астроцитов с развитием астроглиоза как в коре, так и в белом веществе у пациентов с ФКД-ассоциированной ФРЭ височной доли по сравнению с группой сравнения. У взрослых изменения были более выражены: отмечалось утолщение отростков астроцитов, однако количество отростков невелико, имеются многочисленные межклеточные контакты, вплоть

до образования глиального рубца. У детей отмечается более выраженная пролиферация отростков астроцитов, без утолщения отростков.

ИГХИ с антителами к виментину выявило положительное цитоплазматическое окрашивание многочисленных реактивных глиальных клеток у пациентов с ФКД-ассоциированной ФРЭ височной доли. В то же время цитоплазматическое окрашивание нейронов обнаружено в коре головного мозга детей.

ИГХ-реакции с проапоптотическим маркером каспазой-3 показали положительную реакцию в глиоцитах как коры, так и белого вещества у пациентов с ФКД-ассоциированной ФРЭ височной доли, тогда как в группе сравнения и у детей, и у взрослых реакция была отрицательной.

Результаты вестерн-блотинга

При проведении блотинга у пациентов с ФКД-ассоциированной ФРЭ выявлено повышение содержания CD95 (FAS) в большей степени (63,44%, $p < 0,05$) в зоне эпилептического очага, чем в перифокальной зоне (46,27%, $p < 0,05$). Существенно превышенное содержание CD95 (FAS) в эпилептическом очаге по сравнению с группой контроля (на 61,1%, $p < 0,05$) свидетельствует о наличии в нем интенсивного процесса апоптоза (Рисунок 3, 4).

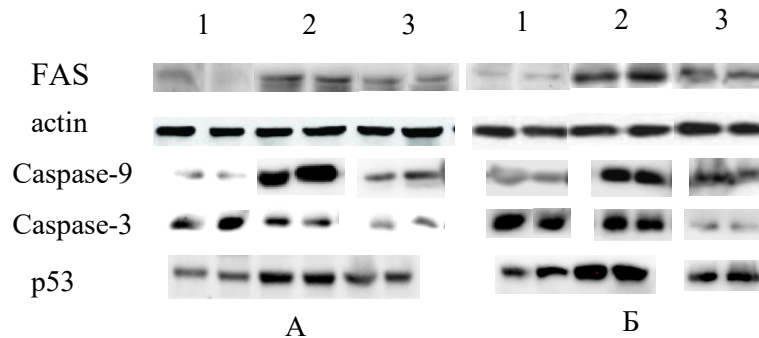
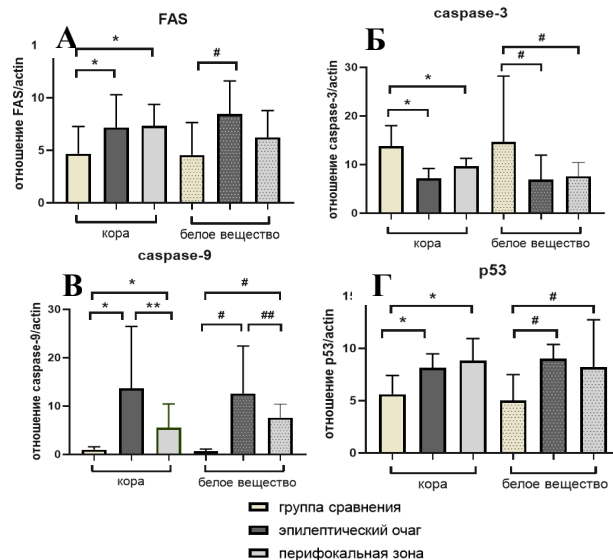


Рисунок 3 – Результаты вестерн-блотинга: Сканы блотов с антителами к FAS, тубулину, p53, каспазе-3 и каспазе-9, где 1 – группа сравнения, 2 – зона эпилептического очага; 3 – перифокальная зона. Блоты слева (А) – кора, блоты справа (Б) – белое вещество



* – достоверность различий в коре между группой сравнения и основной группой в очаге и в перифокальной зоне ($p < 0,05$);
 ** – достоверность различий в коре группе сравнения между зоной очага и в перифокальной зоне ($p < 0,05$);
 # – достоверность различий в белом веществе между группой сравнения и основной группой в очаге и в перифокальной зоне ($p < 0,05$);
 ## – достоверность различий в белом веществе в группе сравнения между зоной очага и в перифокальной зоне ($p < 0,05$).

Рисунок 4 – Гистограммы содержания белков у пациентов с ФКД-ассоциированной ФРЭ и пациентов группы сравнения: А) Антитела к FAS; Б) Антитела к каспазе-3; В) Антитела к каспазе-9; Г) Антитела к p53

У пациентов с ФКД-ассоциированной ФРЭ был выявлен значительный рост уровня белка-супрессора опухолей p53 по сравнению с группой сравнения. В исследуемых образцах выявлено существенное содержание инициаторной каспазы-9 по сравнению с пациентами без эпилепсии, при этом содержание полноразмерной каспазы-3 снижено (Рисунок 3–4). Сниженное содержание эффекторной каспазы-3 можно объяснить возможным ростом содержания ее расщепленной формы – с-каспазы-3, уровень которой оценивали иммуногистохимическим методом. Таким образом, можно предположить наличие процесса апоптоза, активированного по внешнему и p53-зависимому пути.

Результаты трансмиссионной электронной микроскопии

В *коре* пациентов с ФКД-ассоциированной ФРЭ значительное количество нейронов имело морфологические признаки апоптоза на разных стадиях. Среди ранних признаков – случаи фрагментации ДНК, морфологически подтвержденные наличием глыбок гетерохроматина, распространенных по всей кариоплазме. На более поздних стадиях апоптоза наблюдался распад ядра на фоне необратимых дегенеративных изменений цитоплазмы: выраженных перинуклеарных карманов, резко расширенных канальцев эндоплазматического ретикулума и цистерн аппарата Гольджи, которые нередко объединялись в гигантские вакуоли. Цитоплазма многих нейронов была гипертрофирована, с уплотненным матриксом за счет обилия свободных рибосом и глиофиламентов, с резко вакуолизированными органеллами и гомогенным сгущением кариоплазмы, что характерно для некротической гибели клеток.

Большинство кортикальных олигодендроглиоцитов и почти все олигодендроциты в *белом веществе* пациентов с ФКД-ассоциированной ФРЭ обнаруживали признаки апоптотической деструкции. Ядра были неправильной, угловатой формы вместо овальной, как у обычных олигодендроцитов, кариоплазма их ядер была заполнена множеством плотных гетерохроматиновых глыбок разного размера. Также в эпилептическом очаге наблюдались единичные апоптотические астроциты.

Кроме того, с помощью ТЭМ было обнаружено большое разнообразие патологических признаков нарушения структуры или разрушения миелиновой оболочки аксонов.

Сравнение уровня экспрессии белков пациентов взрослой группы и группы сравнения

Оптическая плотность (условные единицы, у.е.) ГФКБ-позитивных клеток в группе взрослых пациентов с ФКД-ассоциированной ФРЭ височной доли в *коре* головного мозга составила 0,009–0,183 против 0,001–0,087 в группе сравнения, в *белом веществе* – 0,002–0,434 против 0,025–0,06 в группе сравнения. Для виментина она составила в *коре* 0,01–0,431 против 0,001–0,045 в группе сравнения, в *белом веществе* – 0,025–0,151 против 0,009–0,031 в группе сравнения. Количественный подсчет клеток (n), прореагировавших с антителами S100, у пациентов с ФКД-ассоциированной ФРЭ височной доли головного мозга в *коре* составил 6–47 против 7–19 в группе сравнения, в *белом веществе* – 42–155 против 34–60 в группе сравнения. При подсчете позитивно прореагировавших клеток с антителами к каспазе-3 и положительных клеток у пациентов с ФКД-ассоциированной ФРЭ височной доли головного мозга в *коре* составило 14–39 против 0–1 в группе сравнения, в *белом веществе* – 1–15 против 0 в группе сравнения. Данные в формате среднего арифметического и его стандартного отклонения представлены в Таблице 1. Статистическая обработка данных показала достоверную разницу по U-критерию Манна-Уитни ($p < 0,05$).

Таблица 1 – Уровень экспрессии белков (у.е. и n) в коре и белом веществе головного мозга у взрослых пациентов с ФКД-ассоциированной ФРЭ височной доли и группы сравнения $M \pm m$, результат p -value (U-критерий Манна-Уитни)

Белок	Кора		p -value	Белое вещество		p -value
	ФКД взрослые	Контроль взрослые		ФКД взрослые	Контроль взрослые	
ГФКБ, у.е.	0,042±0,02	0,025±0,006	$p<0,05$	0,06±0,02	0,038±0,006	$p<0,05$
S100, n	19,8±4	11,9±0,7	$p<0,001$	78,8±16,5	44,8±2,3	$p<0,001$
Виментин, у.е.	0,05±0,012	0,2±0,004	$p<0,001$	0,064±0,016	0,017±0,002	$p<0,001$
Каспаза-3, n	24,2±2.8	0,033±0,05	$p<0,001$	5,94±1.9	0±0	$p<0,001$

Сравнение уровня экспрессии белков пациентов детской группы и группы сравнения

Оптическая плотность ГФКБ-позитивных клеток в группе пациентов детского возраста с ФКД-ассоциированной ФРЭ височной доли в коре составила 0,003–0,16 против 0,001–0,095 в группе сравнения, в белом веществе – 0,008–0,83 против 0,008–0,0134 в группе сравнения. Для виментина она составила в коре 0–0,754 против 0–0,138 в группе сравнения, в белом веществе – 0,009–0,309 против 0,009–0,261 в группе сравнения. Количественный подсчёт клеток (n), прореагировавших с антителами S100, у пациентов с ФКД-ассоциированной ФРЭ височной доли головного мозга в коре составил 4–38 против 5–29 в группе сравнения, в белом веществе – 9–109 против 4–35 в группе сравнения. При подсчёте позитивно прореагировавших клеток с антителами к каспазе-3 n положительных клеток у пациентов с ФКД-ассоциированной ФРЭ височной доли головного мозга в коре составило 0–46 против 0–2 в группе сравнения, в белом веществе – 0–51 против 0–1 в группе сравнения. Данные в формате среднего арифметического и его стандартного отклонения представлены в Таблице 2.

Статистическая обработка данных показала достоверную разницу по U-критерию Манна-Уитни ($p<0,05$).

Таблица 2 – Уровень экспрессии белков (у.е. и n) в коре и белом веществе головного мозга у пациентов детского возраста с ФКД-ассоциированной ФРЭ височной доли и группы сравнения $M \pm m$, результат p -value (U-критерий Манна-Уитни)

Белок	Кора		p -value	Белое вещество		p -value
	ФКД дети	Контроль дети		ФКД дети	Контроль дети	
ГФКБ, у.е.	0,046±0,011	0,035±0,013	$p<0,05$	0,091±0,05	0,051±0,012	$p<0,05$
S100, n	18±5	14±3	$p<0,05$	50±22	16±5	$p<0,05$
Виментин, у.е.	0,077±0,05	0,03±0,016	$p<0,05$	0,093±0,04	0,058±0,044	$p<0,05$
Каспаза-3, n	11±6	0±0	$p<0,001$	12±9	0±0	$p<0,001$

У взрослых белки каспаза-3, S100 и виментин демонстрируют более высокие уровни экспрессии у пациентов с эпилепсией по сравнению с лицами без эпилепсии, тогда как ГФКБ демонстрирует небольшое увеличение экспрессии. У детей каспаза-3 и S100 демонстрируют более высокий уровень экспрессии у пациентов с эпилепсией, тогда как ГФКБ и виментин демонстрируют минимальные различия.

Экспрессия белков и продолжительность заболевания

В таблице 3 представлена информация о корреляции между уровнем экспрессии белков в коре и белом веществе с продолжительностью заболевания у пациентов с ФКД-ассоциированной ФРЭ височной доли. Эти результаты предполагают, что существует статистически значимая положительная корреляция между экспрессией каспазы-3 и продолжительностью заболевания, а также статистически значимая отрицательная корреляция между экспрессией виментина и продолжительностью заболевания. Однако статистически значимой корреляции экспрессии белков ГФКБ и S100 с продолжительностью заболевания у этих пациентов не выявлено. Также были изучены корреляции между экспрессией белка белого вещества и продолжительностью заболевания. Все коэффициенты корреляции статистически значимы. В таблице 12 показано, что ГФКБ проявляет отрицательную корреляцию с продолжительностью заболевания. Белок S100 демонстрирует положительную корреляцию с продолжительностью заболевания, виментин – отрицательную. Наконец, каспаза-3 также демонстрирует отрицательную корреляцию с продолжительностью заболевания.

Таблица 3 – Корреляция между экспрессией белка в коре/белом веществе и продолжительностью заболевания

Белок	Корреляция кора	<i>p</i> -value	Корреляция белое вещество	<i>p</i> -value
ГФКБ	-0,09	0,493	-0,32	0,014
S100	0,19	0,142	0,42	0,001
Виментин	-0,35	0,006	-0,33	0,011
Каспаза-3	0,56	0,000004	-0,29	0,027

При анализе зависимости уровня экспрессии белка от длительности заболевания (Рисунок 5) установлено, что пик экспрессии виментина как в коре, так и в белом веществе приходится на длительность болезни, составляющую 5 лет, затем его уровень снижается во всех изученных областях. Уровень экспрессии белка S100 повышался в зависимости от длительности заболевания как в коре, так и в белом веществе. Уровень экспрессии каспазы-3 в коре головного мозга увеличивается со временем, а в белом веществе снижался с увеличением продолжительности заболевания. Самый высокий уровень экспрессии ГФКБ в коре наблюдался при длительности заболевания от 4 до 13 лет, затем его содержание в ткани снижалось. При этом в белом веществе пиковые значения экспрессии ГФКБ приходились на короткий анамнез (до 5 лет), затем его уровень неуклонно снижался.

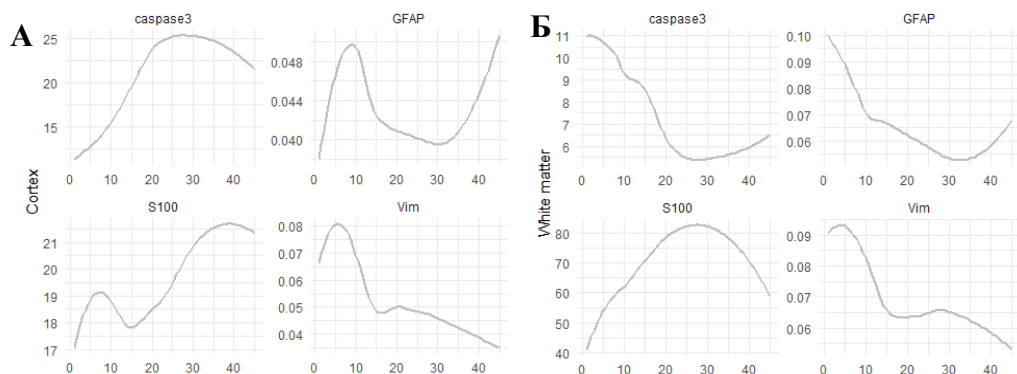


Рисунок 5 – Экспрессия белков в зависимости от продолжительности заболевания. По оси X – продолжительность заболевания, по оси Y – уровень экспрессии белка. А – кора, Б – белое вещество.

Результаты корреляционного анализа

В таблице 4 представлены коэффициенты корреляции между уровнями экспрессии четырёх белков: ГФКБ, виментина, S100 и каспазы-3. Экспрессия ГФКБ положительно коррелирует с виментином, S100 и каспазой-3. Экспрессия виментина не коррелирует с каспазой-3. Экспрессия S100 демонстрирует положительную корреляцию с каспазой-3.

Таблица 4 – Корреляция между экспрессией белков

Белок	ГФКБ	Виментин	S100	Каспаза-3
ГФКБ	1,0	0,3	0,3	0,2
Виментин	0,3	1,0	0,4	0,2
S100	0,3	0,4	1,0	0,5
Каспаза-3	0,2	0,2	0,5	1,0

Результаты регрессионного анализа

Обнаружено, что у пациентов с ФКД-ассоциированной ФРЭ височной доли в *коре* наблюдаются более высокие уровни экспрессии всех четырех белков: ГФКБ, виментина, S100 и каспазы-3. Кроме того, было замечено, что у детей с эпилепсией экспрессия каспазы-3 была значительно ниже по сравнению с другими возрастными группами. Однако существенных различий в экспрессии белка в зависимости от пола обнаружено не было. Было замечено, что дети с ФКД-ассоциированной ФРЭ височной доли имели более низкие уровни экспрессии в коре S100 и каспазы-3 по сравнению со взрослыми.

При изучении регрессий для *белого вещества* показано, что у пациентов с ФКД-ассоциированной ФРЭ височной доли наблюдались более высокие уровни экспрессии белков виментина, S100 и каспазы-3 по сравнению с контрольной группой. Однако статистически значимой разницы в экспрессии ГФКБ между двумя группами не было. Кроме того, в исследовании изучалось влияние возраста и пола на экспрессию белка. Было обнаружено, что дети с ФКД-ассоциированной ФРЭ височной доли имели значительно более низкие уровни экспрессии белков каспазы-3 и S100 в белом веществе по сравнению со взрослыми, страдающими эпилепсией. Что касается пола, выяснено, что экспрессия белка S100 была выше у женщин по сравнению с мужчинами среди пациентов с ФКД-ассоциированной ФРЭ височной доли. Однако существенных гендерных различий в экспрессии ГФКБ, виментина или каспазы-3 не наблюдалось. Кроме того, для виментина как коэффициент для самого виментина, так и член взаимодействия были в совокупности значимыми, что указывает на то, что на экспрессию белка виментина при ФКД-ассоциированной ФРЭ височной доли может влиять как возраст, так и пол. Также исследование показало, что дети с эпилепсией имели более высокие уровни экспрессии каспазы-3 в белом веществе по сравнению со взрослыми с ФКД-ассоциированной ФРЭ височной доли.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На основании полученных данных мы наблюдали следующие морфофункциональные особенности эпилептических очагов пациентов с ФКД-ассоциированной ФРЭ височной доли, которые варьируют в зависимости от пола, возраста и длительности заболевания.

В зоне эпилептического очага нами обнаружены не только нозологическая единица, представленная ФКД, но также и комплекс однотипных изменений диспластического, дегенеративного и репаративного характера, выявляемый независимо от возраста, который свидетельствует о различных компонентах патогенеза ФРЭ.

При функциональной оценке протеомного профиля во всех исследованных областях коры и белого вещества в эпилептическом очаге наблюдалось значительное увеличение

экспрессии цитоскелетных (ГФКБ и виментина), протекторного (S100) и проапоптотических белков (каспаза-3, каспаза-9, FAS, p53) как у детей, так и у взрослых относительно группы сравнения.

Обнаружены корреляционные зависимости экспрессии белков от продолжительности заболевания, а их уровни отличаются в коре и белом веществе. В коре головного мозга с течением болезни происходит постоянное усиление активности апоптоза нейронов и глии, при этом уровень белков, отвечающих за сохранность цитоскелета, несмотря на временное усиление, прогрессивно снижается. Усиление апоптоза в коре демонстрирует недостаточность протективной функции белка S100. В белом веществе наблюдается иная картина: и уровень апоптоза, и количество цитоскелетных белков со временем снижаются несмотря на то, что экспрессия S100 растёт. Данный дисбаланс уровней ГФКБ, виментина и S100 свидетельствует о трансформации протективной функции S100 в альтеративную. Снижение количества проапоптотических белков белого вещества происходит на фоне клеточной утраты олигодендроглии, которая в свою очередь способствует нарастанию демиелинизации и развитию атрофии ткани мозга.

На фоне общей закономерности снижения уровня цитоскелетных белков в первые 5 лет от начала заболевания наблюдается временное компенсаторное их увеличение с дальнейшим последовательным снижением в начале виментина, а затем ГФКБ, что в совокупности свидетельствует о декомпенсации адаптационно-реактивных процессов в эпилептическом очаге. Дальнейшее сопоставление выявленных изменений с исходами хирургического лечения ФРЭ может послужить ориентиром в новой стратегии персонализированного лечения ФКД-ассоциированной ФРЭ.

При сравнении возрастных различий в уровнях белков обнаружено, что у детей с ФРЭ наблюдаются более низкие показатели проапоптотических белков, виментина и белка S100, как в коре головного мозга, так и в белом веществе, что может свидетельствовать о более благоприятном течении ФРЭ у детей.

ВЫВОДЫ

1. Зона эпилептического очага при фармакорезистентной эпилепсии, ассоциированной с фокальной кортикальной дисплазией, гетерогенна и помимо собственно фокальной кортикальной дисплазии включает в себя эктопию нейронов, повреждение миелина и демиелинизацию, ангиопатию со склеротическими изменениями стенок микроциркуляторного русла и заместительный глиоз в 100% случаев. Микрокисты выявляются у 53% взрослых и у 33% детей; реактивно-деструктивные изменения нейронов – у 93% взрослых и 73% детей, выпадение нейронов коры в зоне их гибели у 57% взрослых и 70% детей.
2. Апоптоз глии принимает активное участие в эпилептогенезе при фармакорезистентной эпилепсии, ассоциированной с фокальной кортикальной дисплазией. При этом основную часть апоптотической глии составляют олигодендроглициты, что объясняет феномен повреждения миелина при эпилепсии. Уровень апоптоза снижается к периферии эпилептического очага. Апоптотическая активность имеет возрастные различия: у пациентов детского возраста экспрессия проапоптотических белков ниже, чем у взрослых. При этом в зависимости от длительности заболевания уровень апоптоза в коре растёт, а в белом веществе снижается.
3. Структурные изменения в эпилептическом очаге и динамика исследованных протеомных показателей с их увеличением относительно группы пациентов без эпилепсии имеют однотипные характеристики и закономерности, свидетельствующие об общем патогенезе фармакорезистентной эпилепсии, ассоциированной с фокальной кортикальной дисплазией, у взрослых и детей.
4. В первом периоде заболевания (до 5 лет от начала) наблюдаются адаптационно-реактивные процессы, проявляющиеся усилением экспрессии цитоскелетных,

протекторных и проапоптотических белков в коре и белом веществе. Второй период заболевания (после 5 лет) характеризуется снижением глиального фибриллярного кислого белка ($r = -0,32, p = 0,01$) и виментина ($p = 0,006$) в коре и белом веществе, а также усилением экспрессии S100 ($r = 0,42, p = 0,001$) и каспазы-3 в белом веществе ($p < 0,05$), что свидетельствует об истощении компенсаторных механизмов и нарастании нейродегенерации.

5. При фармакорезистентной эпилепсии у детей и взрослых имеют место возрастные особенности экспрессии протекторного белка S100 (у детей ниже, чем у взрослых, как в коре головного мозга, так и в белом веществе ($p < 0,05$)), белков цитоскелета виментина и глиального фибриллярного кислого белка (выше у пациентов детского возраста в коре и в белом веществе ($p < 0,05$)).

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Для диагностики фармакорезистентной эпилепсии требуется комплексная оценка состояния коры и белого вещества в зоне эпилептического очага, для чего необходимо кроме рутинной окраски гематоксилином и эозином выполнять окраски по Ниссля и по Шпильмейеру для определения изменений нейронов и состояния миелина. Эти окраски позволяют наилучшим способом визуализировать отличие нормальной структуры коры и белого вещества от эпилептического очага.

2. Для корректной оценки функционального состояния ткани в зоне эпилептического очага рекомендовано иммуногистохимическое исследование с антителами к S100, глиальному фибриллярному кислому белку, виментину и каспазе-3, уровень экспрессии которых позволит достоверно определить период заболевания.

3. Определение активности апоптоза позволяет достоверно определить наличие эпилептического очага и границы хирургической резекции.

ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ

Необходимость поисков причин и механизмов преодоления фармакорезистентности у пациентов с эпилепсией очевидна, поскольку у данной категории пациентов преимущественно молодого возраста наблюдается снижение качества жизни, ограничены лечебные и реабилитационные мероприятия. Для успешного персонализированного подхода к лечению пациентов с фармакорезистентной эпилепсией требуется мультидисциплинарный подход и дальнейшее исследование гистопротеомного статуса эпилептического очага, в том числе и в ассоциации с основным морфологическим субстратом.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Mild malformation of cortical development as a substrate for MRI-negative temporal epilepsy / S.M. Malyshev, V.G. Nezdorovina, Y.M. Zabrodskaya ... [D.A. Sitovskaya]... [et al.] // *Epilepsia*. – 2017. – Vol. 58. – Suppl. 5. – P.117.
2. Апоптоз клеток головного мозга в эпилептических очагах при фармакорезистентной височной эпилепсии / Т.В. Соколова, Ю.М. Забродская, Н.М. Парамонова ... [Д.А. Ситовская]... [и др.] // *Трансляционная медицина*. – 2017. – Т. 4. – № 6. – С. 22–33.
3. **Редкое наблюдение фармакорезистентной эпилепсии, ассоциированной с кортикальной микродисгенезией** / Ю.М. Забродская, Д.А. Ситовская, С.М. Малышев [и др.] // *Клиническая и экспериментальная морфология*. – 2018. – Т. 26. – № 2. – С. 13–18.
4. Функциональный дисбаланс глутамат- и гамкергической нейрональных систем в патогенезе очаговой фармакорезистентной эпилепсии у человека / Т.А. Сажина, Д.А.

- Ситовская, Ю.М. Забродская [и др.] // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2019. – Т. 168. – № 10. – С. 519–522.
5. Частота и особенности эпилептического статуса при темпоральной и экстратемпоральной эпилепсии / Н.Е. Иванова, Г.В. Одинцова, С.В. Кравцова ... [Д.А. Ситовская]... [и др.] // Российский нейрохирургический журнал имени профессора А.Л. Поленова. – 2019. – Т. 11. – № 4. – С. 30–36.
 6. Structural findings in patients with pharmacoresistant temporal epilepsy after anterior temporal lobectomy with a history of status epilepticus / V. Bersnev, S. Kravtsova, T. Stepanova ... [D.A. Sitovskaya]... [et al.] // *Epilepsy & Behavior*. – 2019. – Vol. 101. – P. e106750.
 7. Структурная гетерогенность эпилептических очагов при локальной фармакорезистентной эпилепсии / Д.А. Ситовская, Ю.М. Забродская, Т.В. Соколова [и др.] // *Архив патологии*. – 2020. – Т. 82. – № 6. – С. 5–15.
 8. Экспрессия маркеров нейровоспаления и апоптоза в височной доле головного мозга у пациентов с фармакорезистентной эпилепсией / А.Н. Литовченко, Ю.М. Забродская, Д.А. Ситовская [и др.] // *Журнал эволюционной биохимии и физиологии*. – 2020. – Т. 57. – № 5. – С. 411–419.
 9. Relationship between Neuroglial Apoptosis and Neuroinflammation in the Epileptic Focus of the Brain and in the Blood of Patients with Drug-Resistant Epilepsy / T.V. Sokolova, Y.M. Zabrodskaya, A.V. Litovchenko ... [D.A. Sitovskaya]... [et al.] // *International Journal of Molecular Sciences*. – 2022. – Vol. 23. – Is. 20. – P. e12561.
 10. Epileptic Focus in Drug-Resistant Epilepsy: Structure, Organization, and Pathophysiology / Yu.M. Zabrodskaya [et al.] // *Epilepsy – Seizures without Triggers*. – London, UK : IntechOpen, 2023. – P. e108395.
 11. Гемимегалэнцефалия, ассоциированная с фармакорезистентной эпилепсией и редкой молекулярно-генетической альтерацией в гене СРА6: клинический случай / Д.А. Мурзаева, Д.А. Ситовская, К.А. Султыгова [и др.] // *Сеченовский вестник*. – 2022. – Т. 13. – № 2. – С. 4–11.
 12. Expression of Cytoskeletal Proteins (GFAP, Vimentin), Proapoptotic Protein (Caspase-3) and Protective Protein (S100) in the Epileptic Focus in Adults and Children with Drug-Resistant Temporal Lobe Epilepsy Associated with Focal Cortical Dysplasia / D. Sitovskaya; Y. Zabrodskaya; P. Parshakov [et al.] // *International Journal of Molecular Sciences*. – 2023. – Vol. 24. – P. e14490.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

ВБ – вестерн-блоттинг
 ВЭ – височная эпилепсия
 ГФКБ – глиальный фибриллярный кислый белок
 ИГХИ – иммуногистохимическое исследование
 МПЭЛ – Международная противоэпилептическая лига
 РДИН – реактивно-деструктивные изменения нейронов
 СВЭ – структурная височная эпилепсия
 ТЭМ – трансмиссионная электронная микроскопия
 ФКД – фокальная кортикальная дисплазия
 ФРЭ – фармакорезистентная эпилепсия
 ЭЛЭП – эпилептическая лейкоэнцефалопатия