

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ  
«НАЦИОНАЛЬНЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ  
ЦЕНТР ИМЕНИ В.А. АЛМАЗОВА»  
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

*На правах рукописи*

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

Диссертация на соискание ученой степени  
кандидата медицинских наук

Научный руководитель:  
Забродская Юлия Михайловна  
доктор медицинских наук

Санкт-Петербург – 2024

## ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ .....	5
ГЛАВА 1. СОВРЕМЕННЫЕ ПРЕДСТАВЛЕНИЯ О ПАТОМОРФОЛОГИИ И ПАТОГЕНЕЗЕ ФАРМАКОРЕЗИСТЕНТНОЙ ЭПИЛЕПСИИ .....	14
1.1 ОБЩИЕ ВОПРОСЫ, ТЕРМИНЫ И ПОНЯТИЯ .....	14
1.1.1 Эпидемиология .....	17
1.1.2 Методы диагностики .....	18
1.1.3 Классификация эпилепсии .....	22
1.1.4 Клинические проявления эпилепсии .....	25
1.1.5 Теории развития и патогенеза эпилепсии .....	27
1.2 ФОКАЛЬНАЯ КОРТИКАЛЬНАЯ ДИСПЛАЗИЯ .....	32
1.2.1 Классификация фокальных кортикальных дисплазий .....	33
1.2.2 Морфологические характеристики эпилептического очага при фокальной кортикальной дисплазии .....	34
1.3 АПОПТОЗ И ГИБЕЛЬ КЛЕТОК В ЭПИЛЕПТИЧЕСКОМ ОЧАГЕ .....	38
1.4 МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ, ОБНАРУЖИВАЕМЫЕ ПРИ ФАРМАКОРЕЗИСТЕНТНОЙ ЭПИЛЕПСИИ .....	40
1.4.1 Глиальный фибриллярный кислый белок .....	40
1.4.2 Протекторный белок S100 .....	41
1.4.3 Виментин .....	43
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ .....	45
2.1 МАТЕРИАЛЫ ИССЛЕДОВАНИЯ .....	45
2.1.1 Характеристика пациентов с фармакорезистентной эпилепсией, ассоциированной с фокальной кортикальной дисплазией, в разных возрастных группах .....	46
2.2 МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ .....	50
2.2.1 Макроскопическое, гистологическое и гистохимическое исследование .....	50
2.2.2 Иммуногистохимическое исследование .....	53

2.2.3 Вестерн-блотинг.....	54
2.2.4 Трансмиссионная электронная микроскопия.....	56
2.2.5 Получение цифровых изображений.....	57
2.3 СТАТИСТИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ ОБРАБОТКИ РЕЗУЛЬТАТОВ .....	58
2.4 БЛАГОДАРНОСТИ .....	60
<b>ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ.....</b>	<b>61</b>
3.1 ГИСТОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ЭПИЛЕПТИЧЕСКИХ ОЧАГОВ ПРИ ФАРМАКОРЕЗИСТЕНТНОЙ ЭПИЛЕПСИИ, АССОЦИИРОВАННОЙ С ФОКАЛЬНОЙ КОРТИКАЛЬНОЙ ДИСПЛАЗИЕЙ, У ИССЛЕДОВАННЫХ ГРУПП ПАЦИЕНТОВ.....	61
3.2 ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ЭПИЛЕПТИЧЕСКИХ ОЧАГОВ ПРИ ФАРМАКОРЕЗИСТЕНТНОЙ ЭПИЛЕПСИИ, АССОЦИИРОВАННОЙ С ФОКАЛЬНОЙ КОРТИКАЛЬНОЙ ДИСПЛАЗИЕЙ, У ДЕТЕЙ И ВЗРОСЛЫХ И ГРУППЫ СРАВНЕНИЯ.....	65
3.2.1 Оценка экспрессии протекторного белка S100 .....	65
3.2.2 Оценка экспрессии цитоскелетного глиального фибриллярного кислого белка.....	67
3.2.3 Оценка экспрессии цитоскелетного белка виментина .....	68
3.2.4 Оценка экспрессии проапоптотического белка каспаза-3.....	69
3.3 РЕЗУЛЬТАТЫ ВЕСТЕРН-БЛОТИНГА .....	70
3.4 РЕЗУЛЬТАТЫ ТРАНСМИССИОННОЙ ЭЛЕКТРОННОЙ МИКРОСКОПИИ.....	73
3.5 РЕЗУЛЬТАТЫ МОРФОМЕТРИИ И СРАВНИТЕЛЬНО-СТАТИСТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ.....	75
3.5.1 Сравнение уровня экспрессии белков пациентов взрослой группы и группы сравнения .....	75
3.5.2 Сравнение уровня экспрессии белков пациентов детской группы и группы сравнения .....	78
3.5.3 Сравнение уровня экспрессии белков пациентов взрослой и детской группы в зависимости от пола.....	81
3.5.4 Экспрессия белков и продолжительность заболевания .....	82
3.5.5 Результаты корреляционного анализа.....	84
3.5.6 Результаты регрессионного анализа .....	84

ГЛАВА 4. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	91
4.1 Фокальная кортикальная дисплазия.....	91
4.2 Структурная гетерогенность эпилептического очага.....	93
4.3 Апоптоз.....	95
4.4 Глиальный фибриллярный кислый белок.....	97
4.5 Протекторный белок S100.....	98
4.6 Виментин.....	100
4.7 Периодизация заболевания.....	102
ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	103
ВЫВОДЫ .....	105
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....	107
ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ .....	108
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ.....	109
СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ .....	110

## ВВЕДЕНИЕ

### **Актуальность темы исследования и степень её разработанности**

Эпилепсия – одно из самых распространенных серьёзных расстройств головного мозга и, вероятно, одна из самых социально значимых медицинских проблем, что подтверждено статистическими исследованиями. Неуклонное увеличение количества больных, этиологическая и клиническая гетерогенность эпилепсии, когнитивные нарушения, инвалидизация и социальная дезадаптация больных, длительная, непрерывная и дорогостоящая терапия определяют медицинскую и социальную значимость проблемы. Медицинская и социальная проблема эпилепсии обусловлена множеством факторов: постоянное увеличение числа больных, разнообразие причин и клинических проявлений, нарушение когнитивных функций, инвалидизация и проблемы адаптации в обществе, а также длительное и дорогостоящее лечение. Согласно статистическим исследованиям, эпилепсия затрагивает значительную часть населения планеты. Согласно литературным данным, примерно от 7% до 11% населения перенесли эпилептический приступ, а 20% имели подозрения на эпилепсию, требующую дополнительной диагностики [67, 78]. 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 [98].

В России за последние годы было замечено увеличение количества пациентов, страдающих от эпилепсии, которые не поддаются терапии и отправляются на хирургическое лечение. Это требует наличия необходимого оборудования для проведения операций и предоставляет возможность изучать морфологические изменения в зоне поражения. Недостаточные знания о различных видах приступов, трансформации эпилепсии и сложности ее диагностики приводят к неправильному подходу к лечению [122]. Современные методы диагностики, такие как электроэнцефалография (ЭЭГ), видео-ЭЭГ-

мониторинг, компьютерный анализ, функциональная магнитная резонансная томография (МРТ), позитронно-эмиссионная томография, совмещенная с рентгеновской компьютерной томографией (ПЭТ-КТ) и однофотонная эмиссионная компьютерная томография (ОФЭКТ), позволяют проводить адекватную и дифференциальную диагностику эпилепсии, но не всегда доступны, за исключением рутинной ЭЭГ.

Однако, положительный результат хирургических вмешательств регистрируется только у 50–70% пациентов, что означает, что у оставшихся 30–50% пациентов результаты могут быть неудовлетворительными или несколько хуже, чем ожидалось. У 20% больных хирургическое лечение приносит лишь незначительное улучшение. В 10% случаев отмечается полное отсутствие эффекта от операции, то есть пациенты не получают ожидаемого улучшения благодаря хирургическому вмешательству. [124].

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 [38]. Особенности ФКД включают нарушение формирования слоев коры больших полушарий (дисламинация), наличие диспластических клеток (дисморфных нейронов и баллонных клеток), гетеротопию нейронов и другие аномалии [39]. Нередко ФКД верифицируется только на этапе патоморфологического исследования резецированной части головного мозга, что затрудняет предоперационную диагностику и ведение пациента.

Иммуногистохимия и молекулярная генетика – современные методы исследования, которые могут быть применены в патологической анатомии для проведения морфофункционального анализа нервной ткани. Правильное лечение может привести к благоприятному прогнозу эпилепсии в 70–80% случаев [8, 98]. Изучение патоморфогенеза эпилепсии является важным для развития

теоретических и методологических подходов в нейрохирургии. Несмотря на обширное количество публикаций и исследований, вопросы о патоморфогенезе и морфофункциональном состоянии тканей при эпилепсии остаются недостаточно изученными, включая исследования, проведенные нашей лабораторией.

Присутствие разрастания нейроглии, а именно глиоза, деструкция клеток, наличие дисплазий в виде недоразвития пирамидных клеток, гетеротопии нейронов со смещением их в белое вещество, нарушение структуры синаптических контактов и демиелинизация были обнаружены в результатах патоморфологических исследований экспериментальных эпилептических очагов [55, 89, 139, 148]. Использование электронной микроскопии позволило выявить пролиферацию и реорганизацию волокон, а также формирование нейронно-глиально-капиллярных связей [31, 151, 178]. В эпилептическом очаге доказана реактивная роль глиоза [14], а также изучено и сформулировано понятие «эпилептической лейкоэнцефалопатии» [6].

В патоморфологическом изучении структурной эпилепсии главное внимание уделяется нозологическим формам, как показано в работе Blumcke I. [38], исследования патологии нейронов занимают большую часть из них [39]. В литературе можно найти разрозненные сведения о роли глиальных клеток в эпилептогенезе, в основном об астроцитах [32, 49, 58]. В настоящее время все больше внимания уделяется белому веществу в зоне эпилептогенных повреждений, доказана роль повреждения миелина в эпилептогенезе [6].

Было продемонстрировано наличие глиоза, деструкции клеток и дисплазий в форме недоразвития пирамидальных клеток, а также гетеротопии нейронов с их смещением в белое вещество и нарушение структуры синаптических контактов, а также формирование связей между нейронами, глией и капиллярами [71, 80, 142]. Было показано, что астроцитарный глиоз в эпилептическом очаге имеет реактивную природу [132, 142], а исследования

Соколовой Т. В. показали, что нейровоспаление играет важную роль в патогенезе заболевания [17, 18].

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

### **Цель исследования**

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

### **Задачи исследования**

1. Дать комплексную патоморфологическую характеристику эпилептического очага в коре и белом веществе головного мозга у взрослых и детей, оперированных по поводу фармакорезистентной эпилепсии, ассоциированной с фокальной кортикальной дисплазией.
2. Определить наличие и уровень апоптоза в нейронах и глиальных клетках в коре и белом веществе в области эпилептического очага с помощью иммуногистохимического и иммунобиохимического (вестерн-блоттинг) методов исследования у пациентов детского и взрослого возраста с фармакорезистентной эпилепсией, ассоциированной с фокальной кортикальной дисплазией.



3. Изучить иммуногистохимическим методом экспрессию белков цитоскелета (глиального фибриллярного кислого белка, виментина) и протекторного белка S100 в зоне эпилептического очага в коре и белом веществе височной доли у детей и взрослых с фармакорезистентной эпилепсией, ассоциированной с фокальной кортикальной дисплазией, а также в аналогичных возрастных группах у пациентов без эпилепсии.
4. Выявить корреляции изменений полученных морфофункциональных показателей в веществе головного мозга эпилептического очага в зависимости от пола и возраста пациента, давности течения эпилепсии.

### **Научная новизна результатов исследования**

1. 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.
2. Впервые предложена концепция структурной гетерогенности эпилептического очага при фармакорезистентной эпилепсии.
3. Показана роль апоптоза олигодендроглиоцитов в эпилептогенезе.
4. 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.
5. 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 морфопатогенезе 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 гистопроотеомики 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 гистопротеомных 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 (32<sup>nd</sup> 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.

Результаты исследования внедрены в научную работу НИЛ патоморфологии нервной системы РНХИ им. проф. А.Л. Поленова – филиал ФГБУ «НМИЦ им. В.А. Алмазова»; в лечебно-диагностическую работу патологоанатомического отделения Университетской клиники ФГБУ «НМИЦ им. В.А. Алмазова», СПб ГБУЗ «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.

### Публикации

По теме диссертационного исследования опубликовано 28 печатных работ.

Из них опубликовано:

- в научных рецензируемых изданиях, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией при Министерстве науки и высшего образования Российской Федерации для публикации результатов диссертационных исследований – 2 работы;
- в современных научных изданиях Q1 – 3 работы;
- в прочих статьях – 4 работы;
- в монографии – 1 глава;
- в материалах всероссийских научных конференций – 18 работ;
- в материалах иностранных научных конференций – 1 работа;

# ГЛАВА 1. СОВРЕМЕННЫЕ ПРЕДСТАВЛЕНИЯ О ПАТОМОРФОЛОГИИ И ПАТОГЕНЕЗЕ ФАРМАКОРЕЗИСТЕНТНОЙ ЭПИЛЕПСИИ

## 1.1 Общие вопросы, термины и понятия

«Эпилепсия» – это термин, который происходит от греческого слова «epilambano» и означает «внезапное схватывание, нападение на человека». Ни одно другое заболевание не имело так много названий, как эпилепсия (согласно П. И. Ковалевскому в 1898 году было 41 название) [12]. Среди этих названий были такие, как «божественная», «демоническая», «святая», «лунная», «дурная», «черная немощь», «трясучка», «горестное страдание», «болезнь Геркулеса», «наказание Христа» и другие. В течение длительного времени люди с эпилепсией вызывали страх, подозрение и непонимание, подвергались социальному клеймению, их рассматривали как изгоев. С другой стороны, эпилепсию приписывали и многим замечательным личностям. Доказательства существования эпилепсии были обнаружены в Месопотамии, на территории современного Ирака, в Древнем Египте, Древней Греции. Египтяне задокументировали случай, когда непосредственная стимуляция головного мозга приводила к ответной реакции в виде судорог [112]. В отличие от жителей Месопотамии, считавших, что причиной припадков являются духи и боги, египтяне доказали, что припадки могут быть вызваны нарушением работы коры головного мозга. Документальные подтверждения об изучении эпилепсии также встречается в китайских текстах, датированных примерно 770–221 гг. до н.э. [102]. Гиппократ, известный древнегреческий ученый, сделал огромный вклад в изучение эпилепсии. В античной Греции эта болезнь считалась "священной" и связывалась с магией и волшебством, что впервые упоминается в сочинениях Гераклита и Геродота [7]. Более 2,5 тысяч лет назад Гиппократ написал трактат под названием "О священной болезни", в котором впервые указал на роль мозга в происхождении этой болезни. Это было противоречие распространенным

представлениям того времени, согласно которым психические процессы локализовались в сердце, чего придерживался Аристотель. Эта работа Гиппократов считается выдающейся в истории медицины [21]. Клиническую картину эпилепсии в X веке н.э. впервые описал Абу Али аль-Хуссейн Ибн Абдаллах Ибн аль-Хасан Ибн Али Ибн Сина (Авиценна) в своём многотомном сочинении «Канон врачебной науки» [1].

Вклад в изучение патоморфологии эпилепсии был значительно увеличен немецкими неврологами. В 1889 году В. Зоммер описал «инцизуральный склероз» - изменения, связанные с атрофией и склерозом, преимущественно на вогнутой стороне гиппокампа. В дальнейшем В. Шпильмайер (1925) и В. Шольц (1951) обнаружили фокальные и более распространенные изменения в коре мозга, и предложили термин «эпилептическая энцефалопатия» для описания клинической и морфологической характеристики этого состояния [157].

Эпилепсия – это хроническое нервно-психическое заболевание головного мозга различной этиологии, но с единым патогенезом. Эпилепсия характеризуется повторными эпилептическими приступами, вызванными избыточной активностью нейронов в мозге. Эти приступы могут проявляться различными способами, включая судорожные движения, потерю сознания, изменение поведения и сенсорные изменения. Этиология эпилепсии может быть разнообразной, включая генетические факторы, инфекции, травмы, опухоли и другие структурные изменения головного мозга. Эпилепсия является отдельным заболеванием головного мозга, отличающимся от других патологий по причинам и механизмам развития эпилептических приступов. Это нозологическая единица, которая требует специального подхода к диагностике и лечению. [9].

В настоящее время Международная противэпилептическая лига (МПЭЛ или International League Against Epilepsy – ILAE) представила новое определение эпилепсии: «Хроническое состояние мозга, которое характеризуется устойчивой предрасположенностью вызывать эпилептические приступы и нейробиологическими, когнитивными, психологическими и социальными

последствиями. Понятие «эпилепсия» требует возникновения хотя бы одного эпилептического приступа» [68].

Височная эпилепсия (ВЭ) – наиболее распространенный вид фокальной эпилепсии, при котором пароксизмальные нейронные разряды возникают в височной доле [9]. Кроме того, эпилептогенное поражение может находиться и в других структурах, включая поясную извилину и орбитофронтальную кору. Все эти образования функционально связаны и составляют мезолимбическую систему. Многообразие и различные проявления клинических симптомов вэ обусловлены сложными механизмами работы этой системы [10].

Согласно концепции Людерса [109], эпилептический очаг имеет неоднородную структуру. В эпилептогенной области можно выделить несколько зон, которые играют ключевую роль в развитии этого заболевания. Каждая из этих зон связана с определенными клиническими и клинико-инструментальными проявлениями. Однако важно отметить, что все эти проявления могут быть взаимосвязаны и влиять друг на друга. Вот основные зоны, определяющие патогенез эпилепсии (рисунок 1):

1. Зона начала приступа.
2. Симптоматогенная зона.
3. Зона раздражения (ирритации).
4. Зона эпилептического повреждения (эпилептогенный очаг).
5. Зона функционального дефицита.

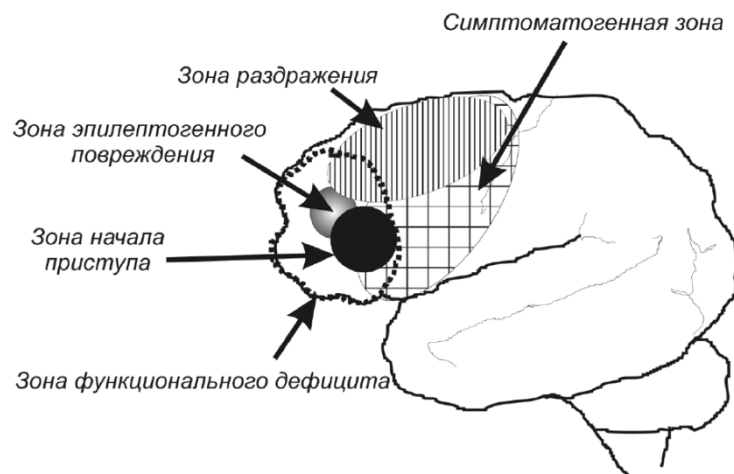


Рисунок 1 – Организация зон коры при эпилепсии



### 1.1.1 Эпидемиология

Частота заболеваемости ВЭ на по последним данным – 61,4 на 100 000 человек [67]. Заболеваемость была выше в странах с низким/средним уровнем дохода (LMIC), чем в странах с высоким уровнем дохода (HIC): 139,0 (95% ДИ 69,4–278,2) против 48,9 (95% ДИ 39,0–61,1). Это можно объяснить различной структурой групп риска и большей подверженностью перинатальным факторам риска, более высокими показателями инфекций ЦНС и ЧМТ в странах с низким и средним уровнем дохода. Заболеваемость эпилепсией также выше среди представителей самых низких социально-экономических классов в развитых странах СВД и среди людей различного этнического происхождения в пределах одной и той же популяции [33]. Различия также можно объяснить методологическими проблемами, такими как более строгая проверка случаев и исключение изолированных и острых симптоматических припадков в некоторых исследованиях.

Согласно данным Fiest et al. [67], общая распространенность эпилепсии в течение жизни составила 7,60 на 1000 населения (95% ДИ 6,17–9,38) и была выше в странах с низким и средним уровнем доходов (8,75 на 1000; 95% ДИ 7,23–10,59), чем в странах с высоким уровнем дохода (5,18 на 1000; 95% ДИ 3,75–7,15). Балловая распространенность активной эпилепсии составила 6,38 на 1000 (95% ДИ 5,57–7,30). Медиана распространенности активной эпилепсии в странах с низким и средним доходом составила 6,68 (95% ДИ 5,45–8,10), а в странах с высоким уровнем дохода – 5,49 (4,16–7,26).

Заболеваемость и распространенность эпилепсии у мужчин несколько выше, чем у женщин [67]. Разница может быть объяснена разной распространенностью наиболее типичных факторов риска и сокрытием заболевания у женщин по социокультурным причинам в отдельных регионах [36].

Заболеваемость эпилепсией выше в самых младших и старших возрастных группах [67]: по оценкам, она составляет 86 на 100 000 в год в четко определенной популяции в возрасте первого года жизни, с тенденцией к

снижению примерно до 23–31 на 100 000. У людей в возрасте 30–59 лет с последующим увеличением до 180 на 100 000 в возрастной группе старше 85 лет [83]. У детей заболеваемость эпилепсией наиболее высока на первом году жизни и снижается до уровня взрослых к концу 10-летнего возраста [42]. В странах с низким и средним уровнем дохода пик эпилепсии приходится на детей; это может быть результатом недооценки состояния пожилых людей, а также демографической структуры страны. Фактически, примерно 40% из 3,5 миллионов человек, у которых ежегодно развивается эпилепсия, моложе 15 лет [34, 78].

В последние десятилетия повозрастная заболеваемость эпилепсией со временем снизилась в самых младших возрастных группах, вероятно, за счет улучшения перинатальной помощи, улучшения санитарных условий и усиления контроля за инфекционными заболеваниями [73]. Напротив, заболеваемость увеличилась у пожилых людей, вероятно, из-за увеличения продолжительности жизни (с параллельным увеличением связанных со старением эпилептогенных состояний, таких как инсульт, опухоли и нейродегенеративные расстройства) и увеличения выявления заболевания в этой возрастной группе.

Несмотря на прогрессивное развитие в области лечения эпилепсии и широкий выбор доступных противосудорожных препаратов, полный контроль над приступами не является возможным в 30% случаев [156].

### **1.1.2 Методы диагностики**

В настоящее время имеются довольно разнообразный спектр методов инструментальной диагностики ФРЭ, таких как ЭЭГ и методы нейровизуализации (компьютерная томография, магнитно-резонансная томография, позитронная эмиссионная томография, однофотонная эмиссионная компьютерная томография и т. д.). При этом каждый метод может давать как ложноположительные или ложноотрицательные результаты [182]. Поэтому

важно использовать их в комплексе и сопоставлять с клинической картиной и анамнезом.

ЭЭГ по праву считается золотым стандартом диагностики эпилепсии, регистрируя отклонения биоэлектрической активности мозга или оценивая динамику мозговых волн. В большинстве случаев, при проведении электроэнцефалографии (ЭЭГ), используются 19 электродов, включая системный опорный и заземленный, для обнаружения и регистрации электрической активности в головном мозге. Существуют два типа электродов: поверхностные и глубокие. Поверхностные электроды, прикрепленные к скальпу, обнаруживают разряды, возникающие в верхних слоях коры головного мозга. Глубокие электроды вводятся под кожу головы для регистрации электрической активности в подкорковых областях головного мозга [23]. Таким образом, с помощью этого метода можно обнаружить аномальные электрические разряды в головном мозге. В ЭЭГ изучаются волны "бета" (15–60 Гц), "альфа" (8–12 Гц), "тета" (6–7 Гц) и "дельта" (1–5 Гц) [137]. В нормальных физиологических условиях характерное значение амплитуды и частоты для этих волн известно. Однако при эпилепсии, электроэнцефалография в бессимптомный период может показывать аномальные волновые паттерны, такие как спайки или полиспайки, а также последующие медленноволновые активности [106]. Кроме того, не всегда удается выявить эпилептическую активность, что связано с временными рамками стандартного исследования, которое проводится в медицинских учреждениях в течение 20–60 минут. В таких случаях помогают ЭЭГ- или видео-ЭЭГ мониторинг, внешняя стимуляция головного мозга пациента (звуковая, фотостимуляция и т. д.). В таких случаях вероятность обнаружения эпилептической активности мозга увеличивается. Анализ полученных результатов может проводиться параллельно во время процедуры и продолжается по ее окончании.

Исследование компьютерной томографии (КТ) предоставляет возможность получить детальное двумерное изображение путем математической реконструкции томографической плоскости или среза. КТ - специальный метод

визуализации, основанный на рентгенологическом подходе, где компьютер используется для восстановления изображения. Для повышения качества визуализации часто применяется контрастный фармпрепарат, который выделяется на изображении благодаря высокой плотности. Сначала эпилептические очаги могут быть обнаружены при помощи электроэнцефалографии (ЭЭГ), а затем структурные изменения в этой области мозга могут быть визуализированы с использованием компьютерной томографии [169]. Метод может быть использован как скрининговый, поскольку не занимает много времени и доступен, но для более детального анализа необходимо проведение магнитно-резонансной томографии (МРТ).

Магнитно-резонансная томография (МРТ) – это метод получения томографических снимков внутренних органов и тканей путем использования ядерного магнитного резонанса. Основой этого метода является измерение электромагнитного отклика атомных ядер, находящихся в сильном постоянном магнитном поле, при возбуждении их электромагнитными волнами. Для создания изображений высокого разрешения необходимо применение сильных магнитных полей, градиентов магнитного поля и радиоволн. В МРТ различают два типа взвешенных изображений, T1 и T2. T1 режимом пользуются для общей оценки анатомии исследуемой части, коры головного мозга и жировой ткани. T2 более применим для выявления отека, воспаления и поражений белого вещества головного мозга [125]. МРТ является лучшим выбором для неврологической диагностики имеет неоспоримое преимущество перед КТ [141]. В современное время магнитно-резонансная томография (МРТ) активно применяется для проведения точной диагностики различных заболеваний. С помощью МРТ можно определить наличие височной эпилепсии, поражений неокортекса, рассеянного склероза, фокальной кортикальной дисплазии, туберозного склероза и синдрома Стерджа-Вебера. Этот метод позволяет получить детальное изображение мозга и выявить патологии, что делает его незаменимым инструментом [152, 189].

Позиционная эмиссионная томография (ПЭТ) – это радионуклидный томографический метод визуализации, который помогает не только выявить патологический очаг, но и определить распространение патологического процесса путем исследования метаболической активности в головном мозге. Для проведения ПЭТ-сканирования применяется специальный препарат с радиоактивным индикатором, который выделяет яркое пятно, отражающее уровень метаболической активности. Этот индикаторный элемент можно вводить в организм через инъекцию, прием внутрь или ингаляцию, а затем отслеживать его перемещение внутри тела с помощью радиоизображения. Современное программное обеспечение позволяет объединять изображения ПЭТ и КТ, чтобы получить высококачественное изображение, предоставляющее важную информацию о структурных и функциональных изменениях в головном мозге [194]. ПЭТ имеет большой потенциал для исследования *in vivo* неврологических изменений, возникающих при эпилепсии [87]. Использование фармпрепарата с радиоактивной меткой создает определенный риск с точки зрения радиационной безопасности, поскольку некоторые изотопы задерживаются внутри клетки [43]. Интеграция с МРТ необходима для улучшения качества ПЭТ-изображений, так как они часто искажают анализируемые детали из-за движений пациента. В случае нарушения обмена веществ это может привести к ошибочному диагнозу, а результаты могут быть сомнительными из-за большого количества индивидуальных вариаций.

Метод однофотонной эмиссионной компьютерной томографии (ОФЭКТ) – это разновидность эмиссионной томографии, при котором метаболическое поглощение вместе с кровотоком отслеживается в определенной части мозга. В ОФЭКТ применяются радиофармпрепараты, меченные радиоизотопами, ядра которых при каждом радиоактивном распаде испускают только один гамма-квант, в отличие от ПЭТ, где используются радиоизотопы, испускающие позитроны, которые при аннигиляции с электроном испускают два гамма-кванта разлетающиеся в разные стороны вдоль одной прямой. При этом методе серии сцинтиграмм получаются в процессе программно-управляемого

вращения одного или нескольких детекторов томографа вокруг продольной оси тела пациента, которому введен радиофармпрепарат.

С помощью компьютерной обработки производится анализ проекции изображений с применением определенных алгоритмов восстановления коронарных, аксиальных, сагиттальных и косых срезов. По своему принципу ОФЭКТ-диагностика очень близка к ПЭТ, однако период полураспада маркеров для ОФЭКТ больше, чем маркеров для ПЭТ, поэтому если головной мозг накапливает радиофармпрепарат медленно, ПЭТ-диагностика может оказаться неинформативной. ОФЭКТ – широко признанная методика оценки активности нейронов при эпилепсии, основанная на измерении количественного уровня регионарного мозгового кровотока [115]. Этот метод используется для выявления патологических изменений, когда эпилептогенный очаг не обнаруживается с помощью структурной нейровизуализации.

Несмотря на достижения современных методов исследования, диагностика эпилепсии в настоящий момент является трудоёмкой задачей. Для достижения эффективности в лечении эпилепсии требуется точное определение местонахождения эпилептических очагов и их распространения по другим областям головного мозга, особенно в случаях ФРЭ. Электроэнцефалография является полезным инструментом для определения наличия эпилептической активности путем обнаружения аномальных пароксизмальных разрядов. После предварительного исследования с использованием ЭЭГ можно определить эпилептогенез различными методами, такими как Компьютерная Томография (КТ), Магнитно-резонансная Томография (МРТ), Позитронно-эмиссионная томография (ПЭТ) и Однофотонная эмиссионная компьютерная томография (ОФЭКТ), которые обеспечивают высококачественные изображения и значительно облегчают диагностику эпилепсии.

### **1.1.3 Классификация эпилепсии**

В 2017 г. Международная противозепилептическая лига (МПЭЛ) опубликовала

новую классификацию эпилепсии и эпилептических приступов [146]. Постоянное совершенствование классификации связано с быстрым накоплением знаний о молекулярной биологии и генетике эпилепсии, внедрением революционных методов диагностики, введением в клиническую практику новых противоэпилептических лекарственных препаратов, расширением возможностей нейрохирургического лечения.

Все эпилептические приступы были подразделены на приступы с фокальным, генерализованным и неизвестным началом; моторные и немоторные; с нарушением и без нарушения сознания [68]. Интересно, что впервые было показано, что ряд приступов с одинаковым названием может иметь как фокальное, так и генерализованное начало. Очень важным этапом в диагностике эпилепсии является определение типа приступов в соответствии с классификацией 2017 года (таблица 1). Вторым этапом – установление формы эпилепсии:

1. Генерализованная.
2. Фокальная.
3. Имеющая черты генерализованной и фокальной.
4. Неизвестная.

Следующая стадия диагностики заключается в определении конкретного эпилептического синдрома. В 2021 году МПЭЛ представила проект новой классификации эпилептических синдромов для обсуждения. Также, при диагностировании эпилепсии необходимо уточнять ее причину. Все формы эпилепсии разделены на пять основных этиологических групп, а также группу с неизвестной причиной [146]:

1. Структурная.
2. Генетическая.
3. Инфекционная.
4. Метаболическая.
5. Иммунная.
6. Неизвестная.

При установлении диагноза эпилепсии необходимо учитывать наличие сочетаемых (коморбидных) заболеваний данного неврологического расстройства. Согласно современным подходам, диагностический алгоритм эпилепсии базируется на пяти основных компонентах [146]:

1. Тип эпилептических приступов.
2. Форма эпилепсии.
3. Эпилептический синдром.
4. Этиология эпилепсии.
5. Сопутствующие заболевания.

Таблица 1 – Классификация типов эпилептических приступов МПЭЛ, 2017 (расширенная версия)

Очаговое начало		Генерализованное начало	Неизвестное начало
С осознанием	С нарушением сознания	Моторные: Тонико-клонические; Клонические; Миоклонические; Миоклоно-тонико-клонические; Миоклоно-атонические; Атонические; Эпилептические спазмы. Немоторные (абсанс): Типичные; Атипичные; Миоклонические; Миоклония век.	Моторные: Тонико-Клонические; Другие моторные. Немоторные.  Неклассифицируемые.
Моторное начало: Автоматизмы; Атонические; Клонические; Эпилептические спазмы; Гиперкинетические; Миоклонические; Тонические. Немоторное начало: Вегетативные; Прекращение деятельности; Когнитивные; Эмоциональные; Сенсорные.			
От очаговых до билатеральных тонико-клонических.			



### 1.1.4 Клинические проявления эпилепсии

Характеристики приступов эпилепсии могут быть разнообразны и зависят от места и степени повреждения в мозге. Возможны временные симптомы, включающие потерю ориентации или сознания, нарушения двигательных навыков, ощущений (таких как зрение, слух и вкус), настроения или других когнитивных функций. Структурные (симптоматические) формы эпилепсии подразумевают природу их возникновения, за которой стоит определенная причина.

Большинство форм эпилепсии, которые сегодня известны, развиваются из-за структурных аномалий развития головного мозга, опухолей, травм, гипоксических или ишемических повреждений, геморрагии и других повреждений. В зависимости от места возникновения эпилептического очага можно выделить лимбическую эпилепсию, которая возникает в эмбриогенетически старых структурах височной доли головного мозга (гиппокампальный комплекс, поясная извилина, зубчатая извилина и другие), а также неокортикальную эпилепсию с эпилептогенными очагами в новой коре [146].

Клинические проявления эпилепсии в детском возрасте постепенно изменяются в соответствии с развитием нервной системы. С возрастом клиническая картина становится все более схожей с эпилепсией у взрослых. Чаще всего у детей первых лет жизни наблюдаются фокальные приступы, сопровождающиеся двусторонними клиническими проявлениями. Эти проявления могут проявляться как двустороннее тоническое напряжение, эпилептический спазм или двусторонний миоклонус. Часто для определения эпилептогенной зоны требуется использование видео-ЭЭГ-мониторинга.

По результатам ретроспективного анализа видео-ЭЭГ-мониторинга в 2018 году, группа исследователей под руководством Guadalupe Fernandez-Vaca Vaca и соавт. выяснили возрастные особенности фокальных приступов у детей с

эпилепсией. В ходе исследования было проанализировано состояние 1140 пациентов [65].

Согласно данным исследования, в возрасте от 0 до 3 лет наиболее распространены генерализованные приступы. Среди фокальных приступов у детей этой возрастной группы, гипомоторный фокальный приступ является самым частым, наблюдающимся примерно у 20% детей с диагностированной эпилепсией. При этом около половины эпилептических приступов начинаются в затылочной доле, но только в 25% случаев они локализованы односторонне. Возрастной группе от 0 до 3 лет свойственно отсутствие ауры, а автоматизмы наблюдаются редко.

В возрасте от 3 до 6 лет наиболее распространенные типы фокальных приступов - фокальные клонические и тонические. Эпилептические приступы данного типа наблюдаются у примерно 21% детей этой возрастной группы. В этом возрасте ауры и автоматизмы становятся более заметными, особенно проявляясь в виде ороалиментарных симптомов. Гипомоторные приступы редко встречаются у детей данного возраста.

В возрастной группе от 6 до 10 лет, у 22% всех детей сохраняются фокальные тонические и клонические судороги, локализующиеся в контралатеральной эпилептогенной зоне. У этих пациентов наблюдаются редкие случаи приступов нарушения осознанности без явных двигательных проявлений, а также версивные и гипермоторные фокальные приступы.

У детей старше 10 лет, семиология приступов более схожа с той, которая присуща взрослым.

Структурная височнодолевая эпилепсия (СВЭ) составляет четверть от всех форм эпилепсии [15]. Она обычно развивается на основе гиппокампального склероза, мезиального темпорального склероза, дизэмбриопластических нейроэпителиальных опухолей, которые часто ассоциируются со склерозом гиппокампа или мезолимбическим дизпластическим поражением [163]. Комбинированные формы СВЭД встречаются в 38% случаев [10]. Более редкими причинами являются последствия перинатального повреждения, черепно-

мозговых травм, нейроинфекций, лимбического энцефалита [176]. Существует две основные клинические формы СВЭ: лимбическая и неокортикальная. Лимбическая височная эпилепсия является наиболее распространенной формой (60% всех случаев СВЭ) и наиболее устойчивой к лечению, часто фармакорезистентной. Дебют чаще бывает в детском или подростковом возрасте [177].

Наиболее типичные проявления эпилептических приступов включают сенсорные симптомы без потери сознания, часто сопровождающиеся вегетативно-висцеральными проявлениями в области живота. Более редкими формами являются эпилептические приступы с обонятельными или вкусовыми галлюцинациями, сновидениями и нарушениями восприятия собственной личности, а также аффективные пароксизмы. Кроме того, фокальные эпилептические приступы с моторными симптомами и типичными автоматизмами могут проявляться в виде отключения сознания без судорог вместе с ороалиментарными или жестовыми автоматизмами.

Неокортикальная (латеральная) височная эпилепсия - форма заболевания, которая может возникнуть в любом возрасте. Характерными симптомами являются фокальные припадки, которые проявляются в виде слуховых или зрительных галлюцинаций, приступов непредсказуемого головокружения, а также пароксизмальной сенсорной афазией [96].

Немаловажной клинической особенностью СВЭ является частое двустороннее повреждение амигдало-гиппокампального комплекса [93], сочетание у одного пациента склероза гиппокампа, дизэмбриопластических нейроэпителиальных опухолей, ФКД, что влечет затруднения при диагностике.

### **1.1.5 Теории развития и патогенеза эпилепсии**

Формы эпилепсии, устойчивые к медикаментозному лечению, являются важной медицинской и социальной проблемой. Частые судорожные приступы снижают у пациентов качество жизни, являются причиной социальных и

финансовых проблем. Установление фармакорезистентности необходимо для назначения современных немедикаментозных методов лечения (глубокая стимуляция мозга, темпоральная резекция).

В 2010 г. был опубликован доклад целевой группы МПЭЛ, разработавшей определение ФРЭ [101].

В соответствии с данными МПЭЛ, фармакорезистентная эпилепсия (ФРЭ) относится к тем случаям заболевания, когда приступы не прекращаются после применения двух рекомендованных основных антиэпилептических препаратов (АЭП) в максимально допустимых дозах для данной формы эпилепсии, как в виде последовательной монотерапии, так и в комбинации [35, 74, 97-99].

Таким образом, в определении заложена обязательность медикаментозного начала лечения и ожидание его результатов. Однако, на практике, для лечащего врача и пациента основными признаками ФРЭ являются отсутствие стойкой ремиссии приступов и наличие выраженных побочных эффектов [13].

Задержка развития часто наблюдается у детей, страдающих ФРЭ. Одновременно у взрослых пациентов ожидаемо выявляются стойкие когнитивные расстройства. Более того, данный недуг сопровождается уровнем смертности, который вдвое превышает общую популяцию [4]. При этом хирургическое вмешательство в случае фрэ-больных имеет положительные результаты только в 60% случаев, в 20% случаев приносит частичное улучшение, и в остальных 20% не дает необходимого воздействия [60, 98].

Существуют следующие теории возникновения ФРЭ:

**Генетическая теория.** Долгое время в клинической практике эмпирически проводилась корректировка схем медикаментозных схем лечения эпилепсии с целью учета особенностей биотрансформации антиэпилептического препарата: всасывания, распределения, метаболизма и выведения лекарственного вещества у конкретного пациента [8]. Генетически детерминированная ускоренная биотрансформация объясняет то обстоятельство, что все пациенты по ответу на первый адекватно подобранный препарат делятся на респондентов и нон-респондентов [100]. Часто для адекватного подбора необходимо изначально

контролировать концентрацию препарата в крови, чтобы своевременно выявить быстрых метаболизаторов по семейству цитохромов P450. Важным условием для эффективного распределения противоэпилептических лекарств является способность проникновения сквозь гематоэнцефалический барьер, который обеспечивается белками-транспортёрами. Исследование впервые выявило у пациентов с фармакорезистентной эпилепсией гиперэкспрессию матричной рибонуклеиновой кислоты (мРНК) гена *MDR1* (ABCB1) в нервной ткани [167]. Гликопротеин P, продукт этого гена, относится к семейству белков, связанных с множественной лекарственной устойчивостью (ABCC/MRP), и находится на внешней мембране гематоэнцефалического барьера, где осуществляет транспорт ксенобиотиков в кровь при помощи аденозинтрифосфата (АТФ) [19]. Высокая активность гликопротеина P была наблюдаема у пациентов с эпилепсией, которые не показали улучшения после резекции эпилептического очага. Однако активность гликопротеина P была доказана только в отношении некоторых противоэпилептических препаратов, таких как фенитоин, фенобарбитал, ламотриджин и окскарбазепин и его производные, таким образом, наличие данной мутации не может быть единственной причиной генеза фармакорезистентности [192].

Было показано, что мозаицизм мозга играет важную роль в этиологии ФКД. При некоторых типах ФКД были идентифицированы соматические мутации головного мозга в *MTOR*, *AKT3* или *SLC35A2* или мутации зародышевой линии в *DEPDC5* и *NPRL3*, некоторые из которых относятся к пути mTOR. [122]. Мутации в этих генах оказывают влияние на клеточный метаболизм, рост и пролиферацию, а также предотвращают апоптоз. Эти модификации могут приводить к изменению клеточных реакций в ответ на повреждение в зоне эпилептического очага.

**Гипотеза «мишени».** Эта гипотеза постулирует, что вызванные эпилепсией изменения структуры или функциональности мишеней противосудорожных препаратов приводят к снижению их чувствительности. Для проявления противосудорожной активности лекарство должно подействовать на одну или

несколько молекул-мишеней в мозге. Эти мишени включают в себя потенциал-зависимые ионные каналы, рецепторы нейромедиаторов и их транспортеры, а также метаболические ферменты, участвующие в высвобождении, поглощении и метаболизме нейромедиаторов [57]. Основываясь на экспериментальных данных, можно предположить, что потеря чувствительности ионных каналов и других мишеней, вызванная изменением их структуры, к лекарственным препаратам может объяснить развитие резистентности уже при проведении первой линии терапии [57].

**Аутоиммунная теория.** Открытие нейронспецифических антител сыграло значительную роль в понимании этиологии эпилепсии аутоиммунного генеза. Инфекционный процесс является еще одним потенциальным триггером аутоиммунного неврологического синдрома [70]. Были выявлены различные механизмы, включая молекулярную мимикрию, распространение эпитопов и активацию иммунного ответа на один эпитоп в процессе иммунного ответа на другой. Сходство структурных или аминокислотных последовательностей между патогеном и собственным антигеном приводит к перекрестному реактивному иммунному ответу и является основой молекулярной мимикрии. Дополнительно инфекция может вызывать активацию аутореактивных лимфоцитов и антигенпрезентирующих клеток, что приведет к иммунному ответу против собственных антигенов [26].

Аутоантигены могут быть разделены на основе их клеточной локализации на клеточные поверхностные или внутриклеточные эпитопы. Некоторые поверхностные антигены напрямую играют патогенную роль. Антитела как к LGI1, так и к NMDA-R являются антителами, нацеленными на внеклеточные эпитопы. Установлено, что LGI1 IgG вызывает повреждение ионных каналов и их дефицит. IgG LGI1 приводит к нарушению взаимодействия LGI1-ADAM22, вследствие чего снижается синаптическая функция рецептора  $\alpha$ -амино-3-гидрокси-5-метил-4-изоксазолпропионовой кислоты (AMPA), впоследствии чего нарушается приток кальция [126]. Однако, NMDA-R IgG, связывающийся с областью субъединицы GluN1 NMDA-R, нарушает взаимодействие между

NMDA-R и рецептором эфрина типа B2 и инициирует поглощение NMDA-R. Сниженное число NMDA-R на поверхности клетки приводит как к нейрональной дисфункции, так и, вероятно, к фармакорезистентности в связи с отсутствием мишени для многих препаратов. Этот процесс обратим, что было выявлено при инактивации антител к NMDA-R [76].

У пациентов с выявленными аутоантителами к рецепторам, обычно являющимися мишенью для противоэпилептических препаратов, начало рефрактерных припадков наблюдается в комплексе с одним или несколькими сосуществующими признаками аутоиммунного энцефалита [147]. Однако клинические характеристики многих пациентов с фармакорезистентностью не совпадает с оценкой содержания нейронспецифических антител – несмотря на тяжелую клиническую картину, пациенты часто позитивно реагируют на иммунотерапию, однако часто наблюдается обратная картина. И эта группа пациентов с фармакорезистентностью, но не отвечающих на иммунотерапию, нуждается в дополнительных исследованиях природы их резистентности.

***Теория нейровоспаления.*** Повреждение клеток головного мозга инфекционным агентом или в результате травмы может спровоцировать высвобождение предполагаемых аутоантигенов, вызывая аутоиммунный ответ и нейровоспаление. Предполагается наличие влияния на течение фармакорезистентной эпилепсии активации микроглии, астроцитов, эндотелиальных клеток гематоэнцефалического барьера и периферических иммунных клеток, а также выброса медиаторов воспаления [175]. Сами эпилептические приступы могут запускать каскад воспалительных изменений в головном мозге, возможен и обратный процесс – провокация эпилептических приступов воспалительными изменениями в мозге.

Большое количество цитокинов регулирует процесс воспаления и могут обладать как про-, так и антиконвульсантной активностью. Проконвульсантные свойства присущи интерлейкину  $1\beta$  (IL- $1\beta$ ), IL-8 и фактору некроза опухоли- $\alpha$  (ФНО- $\alpha$ ) [127]. Как и аутоантитела, цитокины воздействуют на экстрацеллярные AMPA- и NMDA-рецепторы, тем самым оказывая

нейротоксический эффект. Провоспалительные цитокины, продуцируемые моноцитарными макрофагами (IL-1 $\beta$ , IL-6, ФНО- $\alpha$ ) и Т-лимфоцитами (IFN- $\gamma$ , IL-2), влияют на нейромедиаторный обмен и снижают концентрации триптофана и серотонина. IL-1 $\beta$  также может подавлять обратный захват глутамата астроцитами и увеличивать его высвобождение из глиальных клеток через продукцию ФНО- $\alpha$ , что приводит к повышению уровня внеклеточного глутамата. Кроме того, ИЛ1 $\beta$  может увеличить высвобождение нейронального глутамата через активацию индуцируемой в астроцитах синтетазы окиси азота (NO), а также может подавлять ГАМК-опосредованное поступление ионов хлора; таким образом, возможно снижение ингибирующей трансмиссии [174].

Таким образом, в процессе аутоиммунной агрессии и хронического нейровоспаления изменяется и мишени лечения эпилепсии.

## 1.2 Фокальная кортикальная дисплазия

Фокальная кортикальная дисплазия (ФКД), в частности пороки развития коры головного мозга, является одной из наиболее частых причин, связанных с ФРЭ [108]. Термин «фокальная кортикальная дисплазия» был впервые упомянут D. Taylor и соавт. в 1971 г. для обозначения локальных нарушений кортикального развития (НКР) у описанных ими 10 больных с резистентной эпилепсией [166]. Примечательно, что данный термин впервые прозвучал именно в связи с эпилепсией [15].

Гистопатологическое исследование ткани мозга, полученной в результате хирургического вмешательства по поводу ФРЭ, остаётся золотым стандартом диагностики любого фокального эпилептического расстройства. Рекомендуется применять обновленную классификационную схему МЛЭП, представленную в таблице 2. Если нейрохирург произвёл разметку нервной ткани или обозначил анатомические ориентиры, полученные посредством интраоперационного ЭЭГ-мониторинга, гистопатологическое исследование может быть максимально полным. [38]. Преимущество иммуногистохимического исследования (ИГХИ) в



поддержку рутинного окрашивания гематоксилином и эозином для надёжной диагностической работы было подтверждено во многих исследованиях по гистопатологии [39]. Кроме того, результаты гистопатологического исследования должны обеспечивать однозначную интеграцию со всеми другими уровнями классификационной схемы ФКД (таблица 2).

### **1.2.1 Классификация фокальных кортикальных дисплазий**

ФКД характеризуется очаговыми нарушениями кортикальной цитоархитектуры и тесно связан с ФРЭ, особенно у детей и молодых людей.

Все эти новые знания показали, что одномерный характер нынешней классификационной схемы МЛЭП не позволяет однозначно интегрировать постоянно увеличивающийся и клинически значимый, многогранный пул информации. Таким образом, Лига предлагает обновленную классификацию ФКД, которая включает: (1) панель иммуногистохимических маркеров; (2) две дополнительные гистологические категории: поражения белого вещества и «отсутствие определенного ФКД по гистопатологии» (таблица 1); и (3) многоуровневую схему классификации (таблица 2), добавляющую уровень генетических и нейровизуализационных данных для получения комплексного, надежного и интегративного генотип-фенотипического диагноза.

Предлагаемое гистопатологическое обновление классификации приступов МПЭЛ (Таблица 1) и многоуровневой схемы классификации ФКД (Таблица 2) были достигнуты после многочисленных обсуждений во время различных собраний целевой группы (как указано выше) до тех пор, пока единогласное согласие не было достигнуто по всем пунктам.

Таблица 2 – Классификация фокальных кортикальных дисплазий (МПЭЛ, 2022)

ФКД I (FCD I)	ФКД Ia с нарушением радиальной ламинации коры	ФКД Ib с нарушением тангенциальной ламинации коры	ФКД Ic с нарушением радиальной и тангенциальной ламинации коры
ФКД II	ФКД IIa с дисморфными нейронами		ФКД IIb с дисморфными нейронами и баллонными клетками
ФКД III	ФКД IIIa ассоциированная со склерозом гиппокампа	ФКД IIIb ассоциированная с опухолью головного мозга	ФКД IIIc ассоциированная с сосудистой мальформацией
Белое вещество	лНКР (mMCD)		mMCD с олигодентроглиальной гиперплазией при эпилепсии (MOGHE)
ФКД, неидентифицированное гистоморфологически	Наличие аномалии кортикальной организации неоднозначно и гистопатологические находки не совместимы с диагнозом ФКД I, II или III		

### 1.2.2 Морфологические характеристики эпилептического очага при фокальной кортикальной дисплазии

МПЭЛ разработала систему классификации поражений ФКД, основанную на гистологических результатах резецированных образцов ткани головного мозга. Аномалии I типа (ФКД I) подразумевают радиальное или тангенциальное аномальное строение слоёв коры [122].

***Нарушение радиальной ламинации коры.*** Кора характеризуется обилием микроколонковых структур, наибольшее количество которых обнаруживается в пределах III слоя. "Микроколонка" состоит из более восьми нейронов, выстроенных в вертикальном направлении, при условии, если: 1) срез перпендикулярен пиальной поверхности; 2) используются парафиновые срезы толщиной не более 4  $\mu\text{m}$ ; 3) применен ИГХИ (с антителом к NeuN) и 4) выстроенные нейроны имеют маленький диаметр, с размером клетки  $<250 \mu\text{m}^2$  [89]. Микроколонки напоминают онтогенетические колонки, описанные в процессе нормального коркового развития [139]. Граница с белым веществом обычно выражена менее резко из-за большого количества эктопических нейронов. Когда исследуется агранулярная или дисгранулярная зона полюса височной доли необходимо оценивать с осторожностью [55].

**Нарушение тангенциальной ламинации коры.** Характерным признаком данной аномалии является нарушение шестислойной тангенциальной ламинации изокортекса (которое должно использоваться с осторожностью, когда зона исследования близка к "не шестислойному" аллокортексу или произокортексу). Может быть затронута вся архитектура неокортекса, вплоть до нераспознаваемости слоистой структуры (за исключением I слоя). II слой коры может или отсутствовать, или быть значительно искажен большим количеством характерных маленьких пирамидальных нейронов. Это приводит к стертости границ между I и II слоями, а также между II и III слоями, чьи границы хорошо определяются в контрольных образцах неэпилептической коры. IV слой может также отсутствовать, или затенен и менее различим от III и V слоев. Граница с белым веществом обычно выражена менее резко из-за большого количества эктопических нейронов.

Тип II (ФКД II) характеризуется наличием дисморфных нейронов и/или баллонных клеток [122].

**Дисморфные нейроны.** Такие нейроны характеризуются следующим набором тяжелых клеточных отклонений: 1) диаметр клетки значительно увеличен (в пределах 16-43  $\mu\text{m}$ ), по сравнению с нормальными пирамидальными нейронами III слоя (12-25  $\mu\text{m}$ ); 2) диаметр ядра клетки также значительно увеличен (пределах 15-28  $\mu\text{m}$ ), по сравнению с размерами ядер нормальных пирамидальных нейронов III слоя (10-18  $\mu\text{m}$ ); 3) вещество Ниссля формирует грубые глыбки и смещается к клеточной мембране; 4) накоплением фосфорилированных (антитела 2F11) и нефосфорилированных (SMI-32) изоформ нейрофиламентов в цитоплазме. Маркеры нейрофиламентов на иммуногистохимическом исследовании подчеркивают аномальную соматодендритическую организацию и нарушение ориентации аксонов дисморфических нейронов. Окрашивание антителами к синаптофизину демонстрирует плотное усиление вокруг ядра дисморфных нейронов. Форма клетки не является определяющим, так как эти нейроны могут быть представлены пирамидным и интернейронным фенотипами. Повышенное

скопление дисморфных нейронов может встречаться в определенном слое коры (например, во II слое) [25].

**Баллонные клетки.** Это аномальные клеточные элементы с опалесцирующей стекловидной эозинофильной цитоплазмой, с отсутствием субстанции Ниссля, а также дендритов или аксонов. Баллонные клетки могут быть многоядерными, маленькие ядра в таких случаях соединяются ядерными «мостиками». Могут встречаться в любом слое коры (включая I слой) и в субкортикальном белом веществе, однако часто скапливаются на границе серое-белое вещество и в глубоких слоях коры. Могут собираться в маленькие кластеры, но могут также быть дистопированными в пределах прилежащей нормальной мозговой ткани. Обычно накапливают промежуточные филаменты виментин и нестин [171]. Данные клетки демонстрируют переменный паттерн окраски антителами к глиальному фибриллярному кислому протеину (ГФКБ) и маркерам нейрофиламентов. В редких примерах, отмечается коэкспрессия обоих маркеров, которое предполагает глиальное и нейрональное происхождение баллонных клеток, что определяет их как промежуточные клетки [164]. Эти данные предполагают определенную гетерогенность среди баллонных клеток. Кроме того, баллонные клетки также могут экспрессировать другие маркеры стволовых клеток, такие как SOX2, CD133, beta-1 integrin или онко-эмбриональный антиген CD34 [64, 188]. Баллонные клетки могут наблюдаться в корковых туберсах у пациентов с туберозным склерозом. Периферически расположенное ядро и обильная стекловидная цитоплазма придает баллоновидным клеткам астроцитарную морфологию. Наличие баллонных клеток в I слое коры ассоциируется с инфантильными спазмами [25].

Тип III (ФКД III) относится к аномалиям кортикального развития, сочетающимся с другими поражениями головного мозга, такими как склероз гиппокампа глиальная / глионейрональная опухоль, сосудистая мальформация или другое состояние, приобретённое в детском возрасте. Легкие пороки развития коры или малые мальформации кортикального развития (мМКР) обозначаются отдельно при поражении белого вещества [122]. Однако, изучение

механизмов функционирования нейронов при эпилепсии требует понимания механизмов функционирования глии ввиду тесного взаимодействия этих компонентов [49].

В белом веществе в зоне эпилептического очага наблюдался комплекс дегенеративных изменений, отражающих эпилептическую лейкоэнцефалопатию. К этим изменениям относятся демиелинизация, разрежение и микрокистозная трансформация нейропиля, а также очаги разрушения нейронов и атрофия коры височных долей [191]. Считается, что возникновение очагов гипервозбудимости, сопровождающих повреждение нейронов, связано с реактивным глиозом и нейровоспалением [62, 154]. Последние исследования акцентируют внимание на важной роли глиальных клеток (астроцитов, микроглии и олигодендроглиоцитов) в различных нейродегенеративных заболеваниях [154]. В рамках синдрома эпилептической лейкоэнцефалопатии, описанного Гайковой О.Н. в 2001 году, выделены такие изменения, как демиелинизация, ангиопатия, микрокистозная трансформация белого вещества, а также клеточный глиоз [6].

В настоящее время глиальные клетки рассматриваются не только как пассивные наблюдатели за функциями мозга, но и как важные участники патофизиологических процессов. Фактически, дисфункция астроцитов предлагается в качестве основы эпилепсии, так как исследования на животных моделях и образцах головного мозга человека указывают на роль астроцитов в повышенном возбуждении, нейротоксичности, распространении приступов и других нейрогенных функциях [6, 58]. Кроме того, олигодендроциты играют важную роль в эпилептогенезе и развитии дегенеративных процессов при фронтальной резекции эпилепсии. [17]. Это признание побудило Европейскую комиссию МЛЭП определить глиальные и воспалительные механизмы в развитии приступов и эпилептогенезе в качестве главных приоритетов исследований и одновременно призывать к идентификации глиальных мишеней для разработки более специфичных противоэпилептических препаратов [31].

Многочисленные исследования продемонстрировали увеличение экспрессии белков цитоскелета (глиального фибриллярного кислого белка (ГФКБ), виментина), защитного белка S100 и проапоптотических белков каспазы-3 в ткани головного мозга зоны эпилептического очага, в том числе при ФКД [63, 118, 127, 154]. Было высказано предположение, что эти белки играют роль в патогенезе эпилепсии. Однако, имеются ограниченные данные об экспрессии этих белков, основанные на продолжительности истории болезни и возрастных характеристиках у пациентов с очаговыми ФРЭ, ассоциированными с ФКД.

Традиционно исследования фокусировались отдельно на детях и взрослых, несмотря на то что начало ФРЭ у взрослых, связанное с ФКД, часто происходит в детстве. Поэтому целью нашего исследования было проведение сравнительного анализа уровней экспрессии белков цитоскелета (GFAP, виментин), защитного белка S100 и проапоптотического белка каспазы-3 у пациентов с ФКД-ассоциированной ФРЭ. Мы стремились выяснить, как уровни экспрессии белка варьируются в зависимости от возраста (дети и взрослые), пола и продолжительности заболевания.

### **1.3 Апоптоз и гибель клеток в эпилептическом очаге**

Значительную роль в прогрессировании ФЭ играют апоптоз, оксидативный стресс, потеря тормозных или возбуждающих нейронов и воспаление [37, 145, 151, 153, 178]. Многочисленные исследования подтверждают процесс гибели нейронов головного мозга при ФЭ. Однако именно взаимодействие нейронов и глиии лежит в основе многих неврологических заболеваний, что указывает на важность комплексного изучения этих клеток при ФЭ [17]. В последние годы глиальный компонент рассматривается как перспективная новая мишень для альтернативных противосудорожных препаратов [32, 170].

При изучении апоптоза большое внимание уделяется астроцитам, которые, как считают, играют важную роль в эпилептогенезе [32, 103, 123]. Предполагают, что апоптоз астроцитов активируется во время и после судорожного приступа и

может способствовать гибели нейронов и развитию эпилепсии [61, 172]. Устойчивость и восполнение олигодендроглии зависит от многих причин, включая состояние астроцитов, которые секретируют факторы роста, необходимые для выживания нейронов, глии и глиальной пролиферации [94]. Потеря олигодендроцитов приводит к дисбалансу возбуждения и торможения в головном мозге и провоцирует формирование эпилептического очага или усугубляет тяжесть эпилепсии [90, 183].

При височной эпилепсии описаны внешний и внутренний пути апоптоза, отмечают преобладание внешнего пути, поскольку активация caspase-8 предшествует митохондриальной дисфункции и активации caspase-9 [75]. Ингибирование caspase-8 снижает гибель нейронов *in vitro* [120] и *in vivo* [133]. Активацию внутреннего пути подтверждает формирование кластеров Bax в наружной митохондриальной мембране в течение 1–4 часов после начала припадка, что совпадает с выбросом цитохрома C [86].

Активация или ингибция апоптоза обусловлена взаимодействием регуляторных про- и антиапоптотических белков в клетке. Одними из наиболее важных проапоптотических факторов, регулирующих пути клеточной гибели, являются каспазы – ферменты семейства цистеиновых протеаз, расщепляющие пептидные связи по карбоксильному остатку аспарагиновой кислоты. Каспаза-3 относится к эффекторным каспазам, она активирует эндонуклеазу CAD (Caspase-activated DNase), вызывающую разрывы ДНК в межнуклеосомных участках, что и приводит непосредственно к деструкции и гибели клетки [5, 114, 135]. По данным некоторых исследователей и в астроцитах, и в микроглии в эксперименте были выявлены разные типы каспаз [61, 117, 123]. Доказано, что эпилептические приступы вызывают синтез каспазы-3 в нейронах и астроцитах головного мозга. Активация caspase-3 с отщеплением прокаспазы-3 до активных фрагментов происходила через 2–7 дней после приступа в гиппокампе и экстрагиппокампальной височной доле [113, 123].

## **1.4 Морфофункциональные изменения, обнаруживаемые при фармакорезистентной эпилепсии**

### **1.4.1 Глиальный фибриллярный кислый белок**

Подсчитано, что клетки астроглии являются наиболее распространенным типом клеток в мозге, обеспечивая как структурную, так и функциональную поддержку нейронов (включая рециркуляцию глутамата и высвобождение трофического фактора). Астроциты (астроглия) характеризуются наличием уникального структурного белка – глиального фибриллярного кислого белка (ГФКБ), выделенного и охарактеризованного доктором Энгом в 1969 году [59]. Известно, что GFAP присутствует в немиелинизирующих шванновских клетках периферической нервной системы и клетках энтеральной глии как часть энтеральной нервной системы [79, 105]. Астроциты, экспрессирующие ГФКБ, играют решающую роль в ответе на повреждения нейронов, подвергаясь реактивному астроглиозу, характеризующемуся клеточной гипертрофией, пролиферацией астроцитов и увеличением экспрессии ГФКБ. Эта реакция в конечном итоге приводит к образованию глиального рубца, который служит для защиты здоровых клеток от потенциального вреда, причиняемого вредными веществами [71, 149, 185].

Астроциты выполняют множество важных функций, включая доставку энергии к нейронам посредством лактатного челнока астроцит-нейрон [29, 150]. Они также модулируют приток  $Ca^{2+}$ , который влияет на активность нейронов посредством высвобождения глутаматных трансмисмиттеров [134]. Отмечено, что при обширном ремоделировании синапсов наблюдается снижение экспрессии ГФКБ и увеличение виментина [119].

ГФКБ также является мишенью однонуклеотидного полиморфизма, приводящего к развитию болезни Александра [138], однако, мыши с нокаутом ГФКБ не дублируют фенотип болезни Александра [179]. Кроме того, мутированные белки ГФКБ более склонны к образованию агрегатов, образуя



астроцитарные включения (называемые волокнами Розенталя) [81]. Некоторые исследователи полагают, что агрегаты ГФКБ токсичны для астроцитов и, таким образом, могут способствовать дегенерации астроглии и последующей дегенерации белого вещества. Другие исследователи полагают, что образование волокон Розенталя может быть просто отражением чрезмерного накопления агрегатов ГФКБ в дисфункциональных астроцитах [116]. Наконец, расщепленный каспазой N-концевой фрагмент ГФКБ может способствовать образованию его агрегатов при болезнях мозга [46].

#### 1.4.2 Протекторный белок S100

Белки S100 представляют собой разнообразную группу, состоящую из более чем 20 белков, которые связываются с  $Ca^{2+}$  и выполняют различные функции как внутриклеточно, так и внеклеточно [56]. Эти белки обладают специализацией благодаря своим уникальной клеточно-специфической экспрессии. S100 $\beta$  является наиболее распространенным белком S100, обнаруженными в мозге взрослых млекопитающих. В мозге взрослых людей и крыс S100 $\beta$  составляет 80 и 90% соответственно, растворимой белковой фракции S100. S100 $\beta$  долгое время считался  $Zn^{2+}$ -связывающим белком и, как таковой, может функционировать как  $Zn^{2+}$ -буферный белок, способный опосредовать взаимодействие между гомеостазом цинка и кальция [30]. S100 $\beta$ , специфичный для мозга, имеет два активных центра связывания кальция [77, 95]. S100 $\beta$  участвует в повышении внутриклеточной концентрации кальция либо через кальций-зависимые каналы, либо через истощение запасов кальция [161]. Экзогенный S100 $\beta$  может способствовать выживанию нейронов и росту нейритов посредством паракринной, аутокринной или эндокринной передачи сигналов, тем самым оказывает влияние на когнитивные функции [187]. S100 $\beta$  также играет роль в модуляции глиально-нейрональных взаимодействий, способствуя развитию мозга и синаптической передаче, потенциально через рецептор, связанный с G-белком (GPCR) [161]. Исследования показали, что белок S100 $\beta$  регулирует

активацию GFAP, полимеризацию тубулина и репарацию ДНК [30]. Было показано, что на молекулярном уровне белки S100 $\beta$  модулируют различные биологические активности, такие как гомеостаз кальция, фосфорилирование белков, динамику цитоскелета, клеточный энергетический метаболизм, рост клеток, регуляцию пролиферации клеток, воспаление, а также проводимость и передачу нервных импульсов. [20].

Функция, сходная с функцией шаперона, также была продемонстрирована для S100 $\beta$ , поскольку было обнаружено его стимулирующее действие на активность киназ *in vitro* [159]. Ca<sup>2+</sup>-зависимое авто- и трансфосфорилирование серин/треонин-протеинкиназы 38-подобной (киназы NDR2) выявляют при длительной инкубации киназы с избытком S100 $\beta$  [159]. Поэтому нельзя исключать, что эффект S100 $\beta$  обусловлен защитой киназы от температурозависимого ингибирования. Этот механизм может также объяснить активацию связывания ДНК p53 с помощью S100B *in vitro* [53].

Было показано, что S100 $\beta$  участвует в регуляции созревания олигодендроглиальных клеток: *in vitro* морфологическая трансформация и созревание про-олигодендроглиоцитов клеток задерживаются в отсутствие S100 $\beta$ . Более того, у мышей, лишенных S100 $\beta$ , наблюдается очевидная задержка созревания олигодендроглиоцитов в ответ на демиелинизирующее воздействие [52].

Эти результаты подтверждают, что измененная экспрессия S100 $\beta$  не компенсируется S100 других типов, и показывают, что дефицит S100 $\beta$  вреден в стрессовых условиях с высокими метаболическими потребностями, необходимыми для поддержки роста и дифференцировки клеток для восстановления тканей.

Таким образом, хотя повышенные уровни белка при эпилепсии могут служить защитным и адаптивным клеточным ответом на повреждение в зоне эпилептического очага, длительная сверхэкспрессия может также способствовать апоптозу глионейронов и устойчивому нейровоспалению [168].

### 1.4.3 Виментин

Виментин относится к белкам промежуточных филаментов тканей мезодермального происхождения. В нормальной ткани центральной нервной системы взрослого человека виментин проявляет умеренную или сильную реактивность в эпендимальных, эндотелиальных и менингеальных клетках, умеренно или сильно – в некоторых субпиальных астроцитах, слабо – в эндотелиальных клетках и нескольких астроцитах белого вещества. В патологической ткани усиливается экспрессия в некоторых гипертрофированных астроцитах и некоторых реактивных клетках микроглии, насыщенных липидами [186]. В более ранние периоды развития, во время кортикальной миелинизации, когда делящиеся глиобласты в белом веществе дифференцируются в олигодендроглиocyты и астроциты, астроциты обладают высокой экспрессией виментина, в то время как во взрослом возрасте она снижается и увеличивается экспрессия ГФКБ [50]. Потеря виментин-иммунореактивности и начало экспрессии ГФКБ астроцитами считается маркёром их зрелости [160].

Виментин, наряду с ГФКБ, играет роль в регуляции ответа астроглии на воспаление путем модуляции везикулярного транспорта и гипертрофии астроцитов [127, 136, 180]. Виментин также имеет решающее значение для включения в ГФКБ-содержащие сети нестина и синемина, белков, синтезируемых астроцитами в ответ на нейротравму и необходимых для их активации [91]. Это говорит о том, что присутствие виментина более важно для активации астроцитов, чем присутствие ГФКБ. Также известно, что дисфункция астроцитов играет роль в эпилептогенезе [40, 131], а участие виментина в регуляции активности астроцитов может влиять на данный процесс. Было установлено, что в течение эпилепсии содержание виментин-положительной глиии в вентро-латеральном продолговатом мозге и латеральном медуллярном субпиальном слое может увеличиваться и иметь отношение к нарушению вегетативных дыхательных функций после приступов [129].

Астроглиоз, возникающий в результате активации виментин- и ГФКБ-иммунореактивных астроцитов, играет полезную роль на ранних стадиях ответа на повреждение. Однако на более поздних стадиях он ограничивает регенеративный потенциал, ухудшает нейрогенез в поврежденной области и способствует образованию рубцов [132, 180]. Кроме того, виментин участвует в регуляции роста аксонов, миелинизации, апоптоза и нейровоспаления [45]. Функции виментина, как и других цитоплазматических промежуточных филаментов, коррелируют с его способностью взаимодействовать с клеточными компонентами, участвующими в передаче сигналов, а также с киназами, контролирующими регуляторные сети генов. Регуляция промотора виментина сложна и, по-видимому, включает комбинацию положительных и отрицательных регуляторных элементов [130, 162].

## ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

### 2.1 Материалы исследования

Работа проводилась в научно-исследовательской лаборатории патоморфологии нервной системы РНХИ им. проф. А. Л. Поленова – филиал ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России. Биопсийный материал пациентов детской и взрослой групп с ФКД-ассоциированной ФРЭ получен в РНХИ им. проф. А.Л. Поленова – филиал ФГБУ «НМИЦ им. В.А. Алмазова» за период с 2007 г. по 2022 г. Аутопсийный материал пациентов детской группы получен в патологоанатомическом отделении Клиники Санкт-Петербургского государственного педиатрического медицинского университета Минздрава России. Аутопсийный материал пациентов взрослой группы получен в патологоанатомическом отделении СПб ГБУЗ «Городская Мариинская больница». Исследование было одобрено Этическим комитетом 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.), проводилось в рамках госзадания № 121031000359–3 «Разработка новых подходов в диагностике медибазальной фармакорезистентной эпилепсии на основе гистопротеомики эпилептических очагов» и в соответствии с Хельсинкской декларацией о правах человека. Предоперационное обследование и хирургическое лечение пациентов проводилось в соответствии с Клиническими рекомендациями Ассоциации нейрохирургов России, 2015 г. Все пациенты, поступившие на хирургическое лечение, госпитализированы с диагнозом по МКБ-10 «G40.2 Височно-долевая фокальная эпилепсия структурной этиологии с частыми полиморфными приступами, фармакорезистентное течение». Предоперационное обследование включало выполнение магнитно-резонансной томографии по программе «Эпилепсия», позитронно-эмиссионной томографии, скальповой электроэнцефалографии, а также инфазивного электроэнцефалографического мониторинга. Всем пациентам выполнена передняя

медиальная темпоральная резекция под интраоперационным электрофизиологическим контролем.

### 2.1.1 Характеристика пациентов с фармакорезистентной эпилепсией, ассоциированной с фокальной кортикальной дисплазией, в разных возрастных группах

Исследование построено по схеме «случай-контроль». В ходе исследования проводился анализ данных историй болезни: пол, возраст, длительность заболевания. Были изучены биопсии 60 пациентов с ФКД-ассоциированной ФРЭ височной доли. В исследование вошли 30 взрослых пациентов в возрасте от 18 до 51 года: 16 мужчин (53,3%) и 14 женщин (46,7%), средний возраст пациентов  $31,3 \pm 8,6$  года и 30 детей в возрасте от 1 до 17 лет: 16 мальчиков (53,3%) и 14 девочек (46,7%), средний возраст пациентов  $9 \pm 5$  лет (рисунок 2). В исследование были включены пациенты с ФКД-ассоциированной ФРЭ височной доли без ассоциации с основным морфологическим субстратом (таким как склероз гиппокампа, опухоли и сосудистые мальформации).

#### Распределение по полу пациентов с ФКД-ассоциированной ФРЭ в группе детей и в группе взрослых



Рисунок 2 – Распределение пациентов детской и взрослой групп с фармакорезистентной эпилепсией, ассоциированной с фокальной кортикальной дисплазией, в зависимости от пола

Рисунок 3 иллюстрирует возрастное распределение пациентов с

эпилепсией и без этого заболевания в разных возрастных группах.

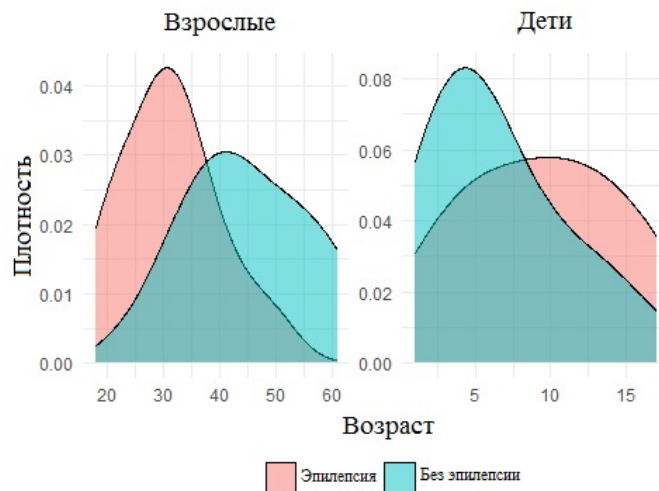


Рисунок 3 – Возрастное распределение пациентов с фармакорезистентной эпилепсией, ассоциированной с фокальной кортикальной дисплазией, и пациентов группы сравнения у детей и взрослых

В таблице 3 представлено распределение пациентов с ФКД-ассоциированной ФРЭ детской группы по полу и возрасту.

Таблица 3 – Распределение пациентов детской группы с фармакорезистентной эпилепсией, ассоциированной с фокальной кортикальной дисплазией, по полу и возрасту

Пол	Возраст, лет				
	1-3	4-7	8-11	12-17	Всего
Мальчики	3	3	6	4	16
Девочки	2	3	3	6	14
Итого	5	6	9	10	30

В таблице 4 представлено распределение пациентов с ФКД-ассоциированной ФРЭ взрослой группы по полу и возрасту.

Таблица 4 – Распределение пациентов взрослой группы с фармакорезистентной эпилепсией, ассоциированной с фокальной кортикальной дисплазией, по полу и возрасту

Пол	Возраст, лет						Всего
	18-20	21-25	26-30	31-35	36-40	>40	
Мужчины	2	2	5	4	1	2	16
Женщины	2	1	3	4	3	1	14
Итого	4	3	8	8	4	3	30

Дооперационный этап диагностики проводился по алгоритму стандартного

диагностического комплекса обследования больных ФРЭ, включая клиническое наблюдение, исследование неврологического, нейропсихологического и психического статуса, электрофизиологические и нейровизуализационные исследования. Тип эпилептических припадков устанавливали в соответствии с Классификацией Международной лиги по борьбе с эпилепсией (2017).

Материал группы сравнения для гистологического и ИГХ исследований (кора и белое вещество височной доли) был получен при проведении аутопсии в первые 6 часов после смерти от 30 больных. Из них 15 взрослых в возрасте от 28 до 61 года (10 мужчин и 5 женщин, средний возраст больных  $45,1 \pm 10$  лет), умерших от соматических заболеваний, таких как острый инфаркт миокарда, язвенная болезнь желудка, осложненная кровотечением, мезентериальный тромбоз, тромбоэмболия легочной артерии. В таблице 5 представлено распределение пациентов с взрослой группы сравнения по полу и возрасту.

Таблица 5 – Распределение пациентов взрослой группы сравнения по полу и возрасту

Пол	Возраст, лет						Всего
	18-24	25-30	31-35	36-40	41-45	>46	
Мужчины	0	1	1	2	2	4	10
Женщины	0	0	0	2	1	2	5
Итого	0	1	1	4	3	6	15

В группу сравнения также вошли 15 детей в возрасте от 2 до 15 лет (9 мальчиков и 6 девочек, средний возраст больных  $6 \pm 4$  года), умерших от декомпенсации пороков сердца, муковисцидоза, язвенного колита, осложненного кровотечением (таблица 6). У этих пациентов не было в анамнезе неврологических расстройств.



Таблица 6 – Распределение пациентов детской группы сравнения по полу и возрасту

Пол	Возраст, лет				
	1-3	4-7	8-11	11-17	Всего
Мальчики	2	2	3	2	9
Девочки	2	4	0	0	6
Итого	4	6	3	2	15

У пациентов, включённых в группы сравнения, не было в анамнезе неврологических расстройств.

Материал пациентов с ФКД-ассоциированной ФРЭ обеих возрастных групп и группы сравнения был отобран для проведения иммуногистохимического исследования (ИГХИ) со следующими маркерами (сведения об использовавшихся антителах представлены в таблице 7):

- 1) S100 – для оценки уровня нейропротекции в зоне эпилептического очага;
- 2) ГФКБ – для оценки состояния цитоскелета глиоцитов;
- 3) Виментин – для оценки состояния цитоскелета глиоцитов;
- 4) Каспаза-3 – для оценки активности апоптоза.

Таблица 7 – Сведения об использовавшихся в работе антителах

Название первичных антител	Разведение /буфер	Фирма-изготовитель	Страна	Клон	Тип антитела
S100	1:400/6.0	Dako	Дания	Z0311	Поли-, кроличьи
ГФКБ	1:100/6.0	Dako	Дания	M0761	Моно-, мышинные
Виментин	1:200/6.0	Dako	Дания	M0725	Моно-, мышинные
Каспаза-3	1:100/6.0	Merckmillipore	Германия	PC679	Поли-, кроличьи

Материал пациентов с ФКД-ассоциированной ФРЭ обеих возрастных групп и группы сравнения был отобран для проведения вестерн-блоттинга (ВБ) в зоне эпилептического очага и перифокальной зоне.

Материал пациентов с ФКД-ассоциированной ФРЭ обеих возрастных групп и группы сравнения был отобран для проведения трансмиссионной электронной микроскопии (ТЭМ). Фрагменты височной доли фиксировали в смеси 0,5% глутарового альдегида и 4% параформальдегида, приготовленной на 0,1 М какодилатном буфере (рН 7,2–7,4) и охлажденной до 4 градусов по Цельсию. Изменения ультраструктуры наблюдали и регистрировали с помощью электронного просвечивающего микроскопа (FEITecnaï G2Spirit BioTWIN, Нидерланды), предоставленного Центром коллективного пользования Института эволюционной физиологии и биохимии им. И. М. Сеченова Российской Академии Наук (ЦКП ИЭФБ РАН).

## **2.2 Методы исследования**

Полученные морфологические данные пациентов с ФКД-ассоциированной ФРЭ и группы сравнения (тип ФКД, реактивно-деструктивные изменения нейронов, эктопия нейронов, глиоз, ангиопатия, демиелинизация, наличие микрокистозной трансформации белого вещества), результаты морфометрии были проанализированы с помощью статистических методов.

### **2.2.1 Макроскопическое, гистологическое и гистохимическое исследование**

Все препараты височной доли головного мозга фиксировались 10% параформальдегидом в 0,1 М натрий-фосфатном буфере продолжительностью до 24 часов. При вырезке операционного материала проводилась анатомическая ориентировка относительно полюса височной доли (рисунок 4А). Затем были выполнены серийные анатомические срезы с последовательным шагом в 3 мм (рисунок 4 Б-Г), материал тотально подвергнут гистологическому исследованию.

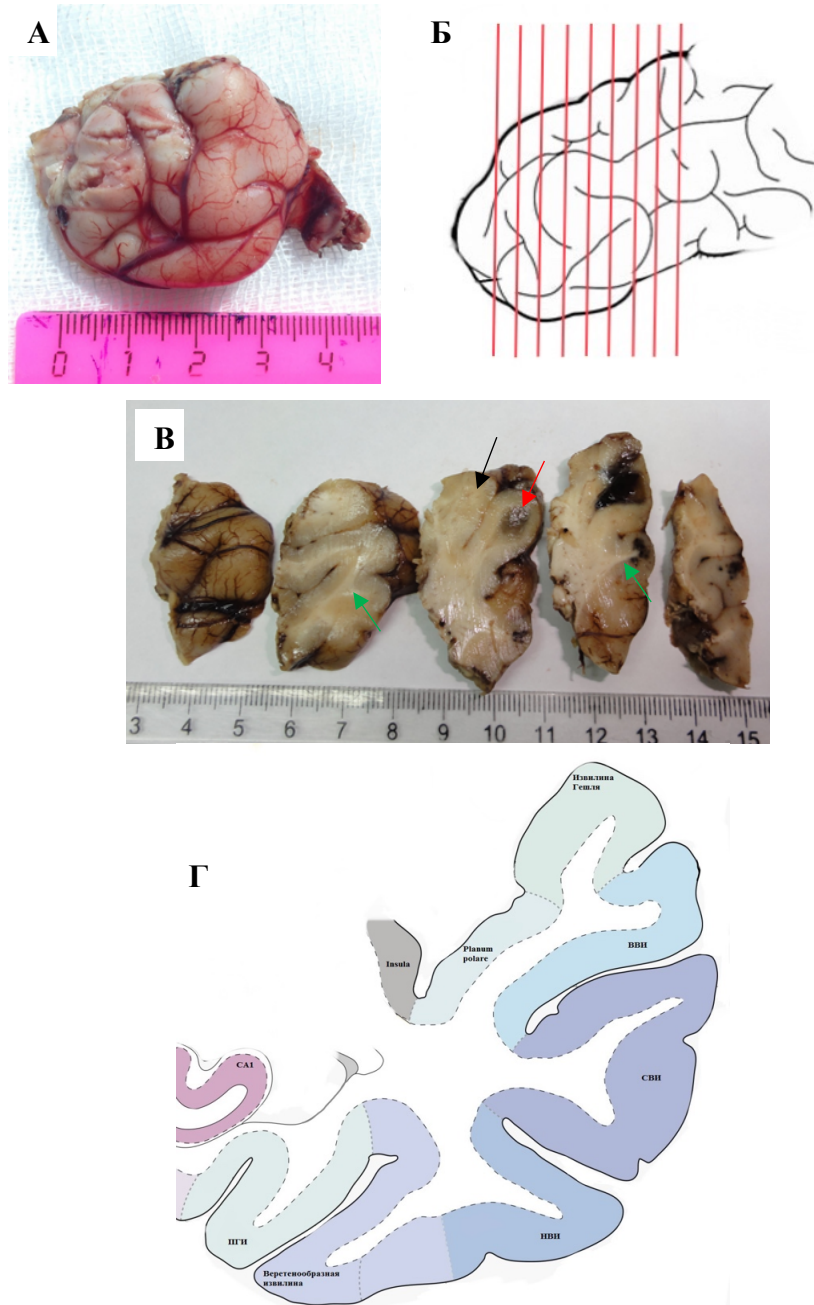


Рисунок 4 – Макроскопическое исследование материала: А) Макропрепарат височной доли после передней медиальной темпоральной лобэктомии; Б) Схема срезов височной доли для гистологического исследования; В) Последовательные анатомические срезы височной доли, где зелёной стрелкой указана средняя височная извилина, красной – верхняя височная извилина, чёрной – извилина Гешля; Г) Схема анатомических срезов височной доли, где ВВИ – верхняя височная извилина, СВВИ – средняя височная извилина, НВИ – нижняя височная извилина, ПГИ – парагиппокампальная извилина

После этого фрагменты ткани промывали в воде и обезвоживали в серии этиловых спиртов возрастающей концентрации. Проводка осуществлялась с

использованием тканевого процессора карусельного типа Leica TP 1020. В соответствии с принятым в лаборатории протоколом, обезвоживание материала происходило в 9 сменах этанола (РОСБИО, Россия), уплотнение в тугоплавком парафине (температура плавления 54–56 градусов по Цельсию) «Гистомикс экстра» (БиоВитрум, Россия). Заливка материала проводилась в парафин того же типа и марки в модульной станции для заливки тканей (Leica, Германия). После чего на роторном микротоме изготавливались срезы толщиной 3–4 мкм. Срезы собирались в дистиллированную воду температурой около 36–37 градусов по Цельсию, затем помещались на очищенные и обезжиренные предметные стекла и высушивались в вертикальном положении не менее одного часа. Высушенные срезы депарафинизировались и регидратировались серией последовательных погружений в ксилол, этанол и дистиллированную воду.

Затем препараты окрашивались гематоксилином и эозином по стандартной методике вручную. Окраска толуидиновым синим по Нисслю проводилась набором реактивов BioVitrum 21–026 вручную, окраска по Шпильмейеру проводилась по методике, утверждённой в НИЛ патоморфологии нервной системы РНХИ им. проф. А. Л. Поленова, вручную. Заключение препаратов под покровные стекла – ручным методом с использованием канадского бальзама. Красители изготавливались по стандартным принятым в лаборатории протоколам из сертифицированных реагентов.

Окрашивание толуидиновым синим в модификации Ниссля выполнялось по стандартному протоколу вручную:

1. Депарафинизация с использованием ксилола и этилового спирта.
2. Нанесение на срезы 0,1% раствор толуидинового синего.
3. Двукратное нагревание раствора до появления паров.
4. Охлаждение, ополаскивание в дистиллированной воде и 70 % спирте.
5. Дифференцировка в 96% спирте.
6. Просветление в ксилоле.
7. Заключение препаратов под покровные стёкла в оптически прозрачные среды.

Окрашивание по Шпильмейеру выполнялось по стандартному протоколу с модификацией НИЛ патоморфологии нервной системы вручную:

1. Депарафинизация с использованием ксилола и этилового спирта.
2. Последовательное промывание в трёх порциях дистиллированной воды.
3. Нанесение 2,5% раствора железоммонийных квасцов.
4. Инкубация 2,5% раствором железоммонийных квасцов в течение 16–18 часов при комнатной температуре в тёмном месте.
5. Последовательное промывание в трёх порциях дистиллированной воды в течение 1–2 часов.
8. Дифференцировка в 70% спирте в течение 10 минут.
6. Нанесение раствора Гейденгайна в течение 16–18 часов при комнатной температуре в тёмном месте.
7. Последовательное промывание в трёх порциях дистиллированной воды.
8. Дифференцировка в 2,5% растворе железоммонийных квасцов под микроскопическим контролем.
9. Последовательное промывание в трёх порциях дистиллированной воды.
10. Промывание под проточной водопроводной водой в течение 1, часов.
11. Дифференцировка в 96% спирте.
12. Просветление в ксилоле.
13. Заключение препаратов под покровные стёкла в оптически прозрачные среды.

### **2.2.2 Иммуногистохимическое исследование**

Для проведения иммуногистохимического окрашивания изготавливались срезы на роторном микротоме толщиной 2–3 мкм, монтировавшиеся на стёкла с адгезивным покрытием (поли-L-лизин). Парафиновые срезы фрагментов

височной доли депарафинировали и дегидратировали с использованием ксилола и этилового спирта. Для инактивации эндогенной пероксидазы срезы обрабатывали 3%-ной перекисью водорода (при комнатной температуре в течение 5 минут), промывали в дистиллированной воде. Восстановление активности антигенов проводили путем кипячения в цитратном буфере (pH 6,0) в водяной бане Thermo при 97 градусах по Цельсию. Затем срезы промывали в Трис-буфере с Tween 20 (2 раза по 5 минут). Инкубация с бычьей сывороткой производилась в контейнере с влажной фильтровальной бумагой (при комнатной температуре в течение 20 минут), инкубация с первичными антителами - при 6 градусов по Цельсию в течение 18 часов, инкубация с EnVision Mouse или EnVision Rabbit – при 37 градусов по Цельсию в течение 30 минут. Затем срезы промывали в Трис-буфере с Tween 20 (по 5 минут 2 раза). Реакция с рабочим раствором DAB проводилась под контролем микроскопа при комнатной температуре с последующим промыванием в дистиллированной воде, заключение препаратов под покровные стекла – ручным методом с использованием канадского бальзама.

### 2.2.3 Вестерн-блоттинг

Вестерн-блоттинг проводился на базе НИЛ сравнительной биохимии клеточных функций ФГБУН ИЭФБ им. И. М. Сеченова РАН под руководством ведущего научного сотрудника, доктора медицинских наук Е. Д. Бажановой. Исследование проведено на 15 биопсиях пациентов взрослой группы, на 15 биопсиях пациентов детской группы, на 10 пациентах группы сравнения.

С целью исследования содержащийся в клетках белков необходимо разрушить мембрану клетки. Из исследуемых фрагментов височной доли пациентов и группы сравнения для предотвращения снижения числа нейронов максимально быстро и при низких температурах отбирался фрагмент массой от 0,03 г до 0,05 г, к фрагменту добавлялся лизатный буфер в соотношении 1:10, который *ex tempore* смешивали с ингибиторами протеаз (Protease Inhibitor

Cocktail, Sigma-Aldrich) и фосфотаз (PhosSTOP, Sigma-Aldrich), а затем гомогенизировали. Полученный гомогенат отстаивали на холоде в течение 30 минут. После разрушения клеточной мембраны пробы центрифугировали 15 минут при температуре 4 градуса по Цельсию с относительным центробежным ускорением 12 000g, чтобы осадить разрушенные мембраны, органеллы и не лизированные клетки. По окончании центрифугирования отбирали полученный супернатант, смешивали с буферным раствором Лэммли и инкубировали в течение 5 минут при 95 градусов по Цельсию. Под воздействием додецилсульфата натрия, входящего в буферный раствор, высокой температуры, не доходящей до 100 градусов по Цельсию, происходила денатурация содержащихся в пробах белков. В результате образовывался избыток отрицательно заряженных остатков сульфокислоты, собственный заряд белковой молекулы становился несущественным. Таким образом достигалось одинаковое отношение отрицательного заряда к массе для белка. Белковые экстракты, содержащие 10 мкг белка в 7–10 мкл, подвергали электрофоретическому разделению по методу Лэммли в 10% разделяющем полиакриламидном геле. Электроперенос осуществлялся в течение 1 часа в трансфер буфере на нитроцеллюлозную мембрану (UltraCruz, Nitrocellulose Pure Transfer Membranes, Santa Cruz). Мембрану для определения тотального белка окрашивали проявляющим красителем Понсо S. Места связывания неспецифических белков на мембране блокировали 5% растворами сухого обезжиренного молока или бычьего сывороточного альбумина в зависимости от рекомендаций в паспорте использованных антител Anti-CD95 antibody (ab82419) Rabbit polyclonal to CD95, Abcam; Anti-p53 antibody [PAb 240] ab26 Mouse monoclonal [PAb 240] to p53, Abcam; Caspase-3 antibody #9662 Polyclonal antibodies, Cell Signalling; Recombinant Anti-Caspase-9 antibody [E23] (ab32539) Rabbit monoclonal [E23] to Caspase-9, Abcam). Инкубацию в первичных антителах проводили при температуре 4 градуса по Цельсию в течение 8–12 часов при постоянном перемешивании. Инкубацию во вторичных антителах, поликлональных кроличьих к каспазе-3, каспазе-9, p53, CD95 проводили при

комнатной температуре при постоянном перемешивании. Анализ полученных блотов проводился методом денситометрии с учетом нормализации относительно актина (1:1000; Cell Signalling, США) с помощью гель-документирующей системы (ChemIDoc, BioRad, США). Для проведения реакции хемолюминесценции использовали ECL (SuperSignal West Dura Extended Duration Substrate, Thermo Scientific).

#### **2.2.4 Трансмиссионная электронная микроскопия**

Электронная микроскопия 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.

Фиксация образцов для микроскопии проводилась в три этапа. На первом этапе осуществлялась фиксация в 0,5% глутарового альдегида и 4% параформальдегида, приготовленной на 0,1 М какодилатном буфере (pH 7,2–7,4) и охлажденной до 4 градусов по Цельсию. Для фиксации были вырезаны фрагменты ткани мозга не более 1–2 мм в диаметре. Далее дважды проводилась отмывка PBS по 30 минут. Вторым этапом была пост-фиксация в 1% тетраоксиде осмия ( $\text{OsO}_4$ ) в течение часа на том же буфере, после чего материал был дважды отмыт в PBS по 30 минут. После этого материал последовательно был погружен в возрастающую концентрацию этанола (30%, 50%, 70%, 96%; на 15 минут; 2 раза по 20 минут, 2 раза по 20 минут, 2 раза по 30 минут соответственно) для дегидратации. Вся инкубация проводилась при температуре 4 градуса по Цельсию. На третьем этапе фрагменты были погружены в раствор спирта и ацетона в соотношении 1:1 на 30 минут, в ацетон на 30 минут, в раствор ацетона со смолой в соотношении 3:1 на два часа, в соотношении 1:1 на ночь, в соотношении 1:3 на 2 часа и в чистую смолу на 1,5 часа в термостате при температуре 45 градусов по Цельсию. Заливка кусочков осуществлялась чистой



смолой при температуре 56 градусов по Цельсию в течение 24 часов. После чего были сделаны ультратонкие срезы толщиной 50–60 нм на ультратоме LKB-III (Швеция) и помещены на медную сеточку. Далее осуществлялось контрастирование спиртовым раствором уранил-ацетата в темноте в течение 20 минут, после чего срезы промывались в дистиллированной воде, а также контрастирование водным раствором цитрата свинца при отсутствии углекислого газа на 20 минут, после чего срезы промывались в дистиллированной воде. Электронно-микроскопическое исследование срезов было выполнено на микроскопе FEITecnaі G2Spirit BioTWIN (Нидерланды). Электронные микрофотографии были получены с использованием камеры Morada (Digital Imaging Solutions Inc.).

### 2.2.5 Получение цифровых изображений

Работа выполнялась на цифровых изображениях, полученных путём микрофотографирования препаратов 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 ИГХ 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). Данные представлены в формате  $M \pm m$  (среднее арифметическое  $\pm$  стандартное отклонение).

Анализ полученных блотов проводился методом денситометрии с

помощью программы PhotoM 1.21 с учётом нормализации относительно тубулина (1:1000; Cell Signalling, США) с помощью геле-документирующей системы (ChemiDoc, BioRad, США).

### 2.3 Статистические методы обработки результатов

Статистический анализ проводили с использованием пакета программ Microsoft Office Excel 2010 (США), Statistica v. 10. Гауссовость выборки определяли с помощью критерия Колмогорова-Смирнова. Различия между двумя выборками с измеряемыми признаками определяли с помощью методов непараметрической статистики (U-критерий Манна-Уитни, если хотя бы одна из выборок не была нормальной). В случае нормального распределения был использован t-критерий Стьюдента. При проверке гипотез по всем критериям критический уровень значимости принимался  $<0,05$ .

Для оценки взаимосвязи между уровнем белка и различными факторами, принимая во внимание потенциальное влияние возраста, пола, статуса ребенка и эпилепсии, использовали регрессионный анализ (1). Для изучения связи между этими переменными и уровнями белка были оценены две группы уравнений. Базовая модель, используемая в первой группе уравнений, определяется следующим образом:

$$\text{белок}_{ij} = \alpha + \beta_1 \cdot \text{возраст}_i + \beta_2 \cdot \text{женщина}_i + \beta_3 \cdot \text{ребёнок}_i + \beta_4 \cdot \text{эпилепсия}_i + \varepsilon_{ij}, \quad (1)$$

где  $i$  – пациент;

$j$  – белок;

$\text{ребёнок}_i$  – бинарная переменная, отражающая возраст младше 18 лет;

$\text{женщина}$  – бинарный показатель женского пола;

$\varepsilon$  – ошибка.

Для дальнейшего изучения потенциального взаимодействия между статусом ребёнка, полом и эпилепсией была расширена базовая модель, в которую были включены условия взаимодействия (2). Это позволило оценить,

варьируется ли влияние эпилепсии на уровень экспрессии белка в зависимости от возраста и пола пациента. Вторая группа уравнений имеет следующий вид:

$$\begin{aligned} \text{белок}_{ij} = & \alpha + \beta_1 \cdot \text{возраст}_i + \beta_2 \cdot \text{женщина}_i + \beta_3 \cdot \text{ребёнок}_i + \beta_4 \cdot \text{эпилепсия}_i \quad (2) \\ & + \beta_5 \cdot \text{женщина}_i \cdot \text{эпилепсия}_i + \beta_6 \cdot \text{ребёнок}_i \cdot \text{эпилепсия}_i + \varepsilon_{ij}, \end{aligned}$$

где в дополнение к переменным, присутствующим в базовой модели, расширенная модель включает термины взаимодействия: женщины · эпилепсия и дети · эпилепсия. Эти понятия позволяют выяснить, различается ли связь между эпилепсией и уровнем экспрессии белка в зависимости от пола и возраста пациента. Оценивая отдельные регрессии для каждого белка, мы можем изучить конкретные связи между интересующими переменными и уровнями белка, принимая во внимание потенциальное смягчающее влияние пола и возраста.

Для оценки наличия связи между двумя переменными применялся ранговый корреляционный анализ Спирмена. Коэффициент корреляции ( $r$ ) интерпретировался по шкале Чеддока (таблица 8). При  $r > 0$  корреляционная связь считалась прямой, а при  $r < 0$  – обратной.

Таблица 8 – Шкала Чеддока

Значение коэффициента корреляции, $r$	Значимость связи
$< 0,3$	Слабая
$0,3-0,5$	Умеренная
$0,5-0,7$	Заметная
$0,7-0,9$	Высокая
$> 0,9$	Весьма высокая

## 2.4 Благодарности

Автор выражает благодарность:

- Елене Давыдовне Бажановой – доктору медицинских наук, НИЛ сравнительной биохимии клеточных функций ФГБУН «Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И. М. Сеченова» РАН, за помощь в проведении вестерн-блотинга.
- Наталье Михайловне Парамоновой – научному сотруднику НИЛ молекулярной эндокринологии и нейрохимии ФГБУН «Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И. М. Сеченова» РАН, за помощь в проведении электронной микроскопии.
- Татьяне Владиславовне Соколовой – научному сотруднику НИЛ патоморфологии нервной системы ФГБУ «НМИЦ им. В.А. Алмазова» Минздрава России за проведение иммуногистохимических реакций.
- лаборантам-исследователям НИЛ патоморфологии нервной системы Цс ФГБУ «НМИЦ им. В.А. Алмазова» Минздрава России: Марии Александровне Чисовой и Нине Александровне Грошевой за изготовление микропрепаратов для гистологического, гистохимического и иммуногистохимического исследования, а также выполнения гистохимических окрашиваний.

## ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

### 3.1 Гистологическая характеристика эпилептических очагов при фармакорезистентной эпилепсии, ассоциированной с фокальной кортикальной дисплазией, у исследованных групп пациентов

По данным гистологического исследования у пациентов всех возрастных групп выявлены различные варианты фокальной кортикальной дисплазии (Рисунок 5). 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%).

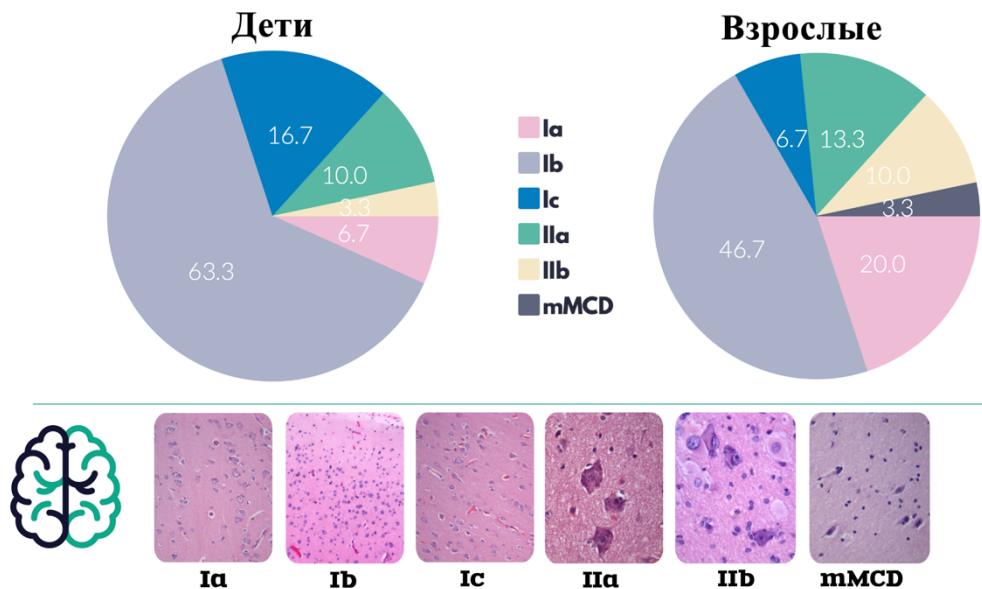


Рисунок 5 – Гистологические типы фокальных кортикальных дисплазий у детей и взрослых, %

Кроме изменений в коре, отмечено наличие структурных изменений и в белом веществе (Рисунок 6).

*Эктопированные нейроны в белом веществе. В белом веществе височной*

доли во всех случаях (Рисунок 6) ФКД-ассоциированной ФРЭ у детей и взрослых выявлены эктопированные нейроны среднего размера, беспорядочно располагающиеся как субкортикально, так и распространяющиеся в глубокие отделы (рисунок 6–1 А).

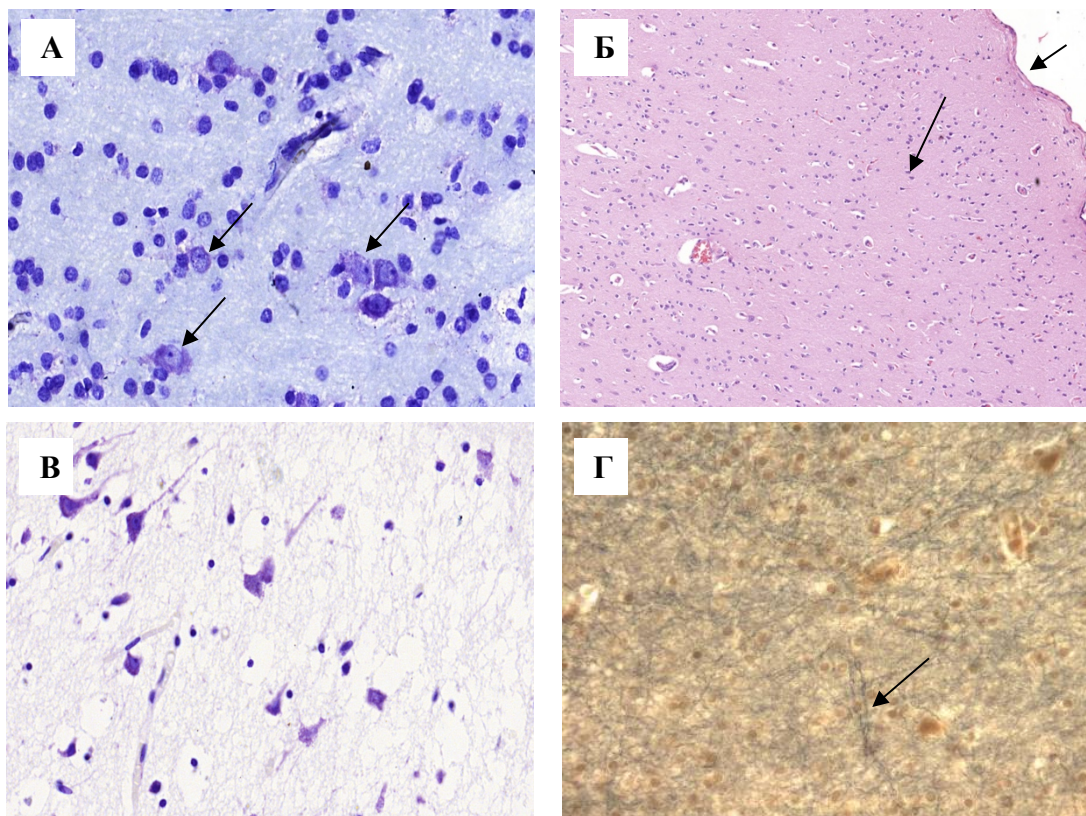


Рисунок 6–1 – Изменения коры и белого вещества головного мозга в зоне эпилептической активности: А) Эктопия многочисленных нейронов в белое вещество, окраска по Ниссля, х400; Б) Атрофические изменения коры: нарушения цитоархитектоники с очагами выпадения нейронов (указано стрелкой) и выраженной фестончатостью маргинального слоя коры (указано стрелкой), окраска гематоксилином и эозином, х100; В) Ишемически измененные нейроны, клетки-тени, окраска по Ниссля, х400; Г) Выраженная демиелинизация с единичными сохраненными, хаотично расположенными волокнами (указано стрелкой), окраска по Шпильмейеру, х400

*Очаги выпадения нейронов.* У части пациентов с ФКД-ассоциированной ФРЭ 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 (рисунок 6–1 Б). В группе пациентов детского возраста это явление наблюдалось в 17 (56,7%) случаях, во взрослой группе – в 21 (70%) случае (рисунок 7).

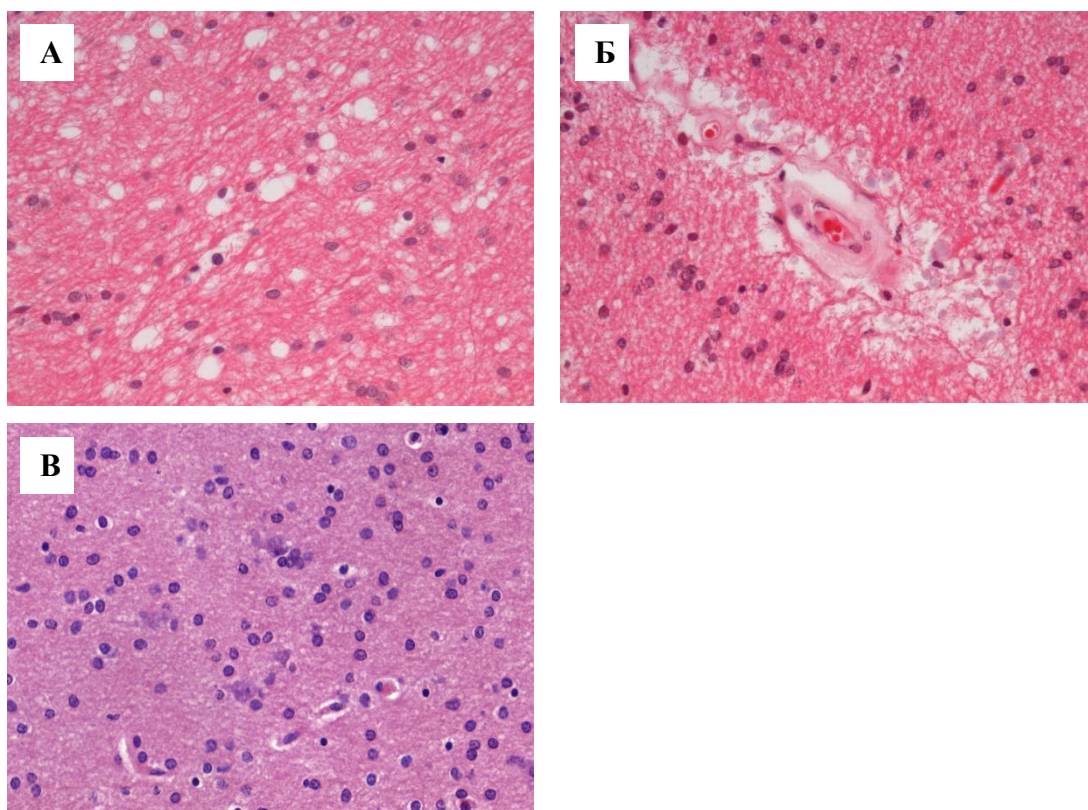


Рисунок 6–2 (продолжение) – Изменения белого вещества головного мозга в зоне эпилептической активности: А) Микрокистозная трансформация белого вещества, окраска гематоксилином и эозином,  $\times 400$ ; Б) Сосуд с утолщенной стенкой и выраженное периваскулярное разрежение нейропиля с формированием кривлор, периваскулярное скопление амилоидных телец окраска гематоксилином и эозином,  $\times 400$ ; В) Повышенная клеточность белого вещества за счет глиальных элементов (глиоз), окраска гематоксилином и эозином,  $\times 400$

*Реактивно-деструктивные изменения нейронов.* Во всех наблюдениях (рисунок 7) 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 сопровождались умеренно выраженным сателлитозом и нейронофагией (рисунок 6–1 В). 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 (Рисунок 7) в обеих возрастных группах выявлены участки слабо окрашенных волокон, нечёткая граница с корой за счёт обеднения миелином волокон (рисунок 6–1 Г).

*Микрокистозная трансформация белого вещества.* В ряде случаев ФКД-ассоциированной ФРЭ белое вещество имело разволокненную или микрокистозную структуру (рисунок 6–2 А). При этом обнаруживались криблыры разного размера с расширением пространств вокруг сосудов. Данные изменения наблюдались 10 (33,3%) случаях у пациентов детского возраста и в 16 (53,3%) случаях у взрослых (рисунок 7).

*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 (рисунок 6–2 Б). Данные изменения наблюдались в 100% случаев как у пациентов детского возраста, так и в 100% случаях у взрослых (рисунок 7).

*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 (рисунок 6–2 В). Данные изменения наблюдались в 100% случаев как у пациентов детского возраста, так и в 100%



случаях у взрослых (рисунок 7).

Статистические данные по выявленным гистологическим изменениям представлены на рисунке 7.

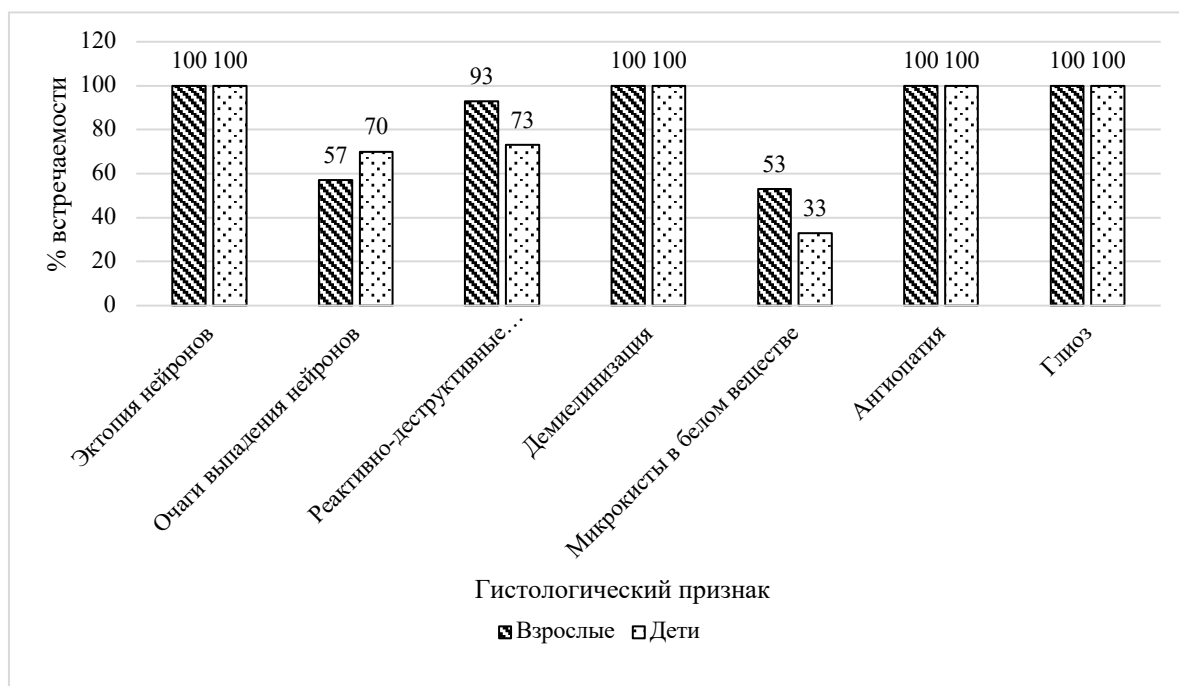


Рисунок 7 – Гистологические изменения в зоне эпилептического очага при фармакорезистентной эпилепсии, ассоциированной с фокальной кортикальной дисплазией, у детей и взрослых, %

Таким образом, в белом веществе в области эпилептических очагов при ФКД-ассоциированной ФРЭ отмечается обеднение белого вещества миелином, отсутствие которых замещается глиозом и проявляется разрежением нейропиля с паренхиматозной или/и периваскулярной кистозной трансформацией ткани головного мозга.

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

#### 3.2.1 Оценка экспрессии протекторного белка S100

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 (рисунок 8).

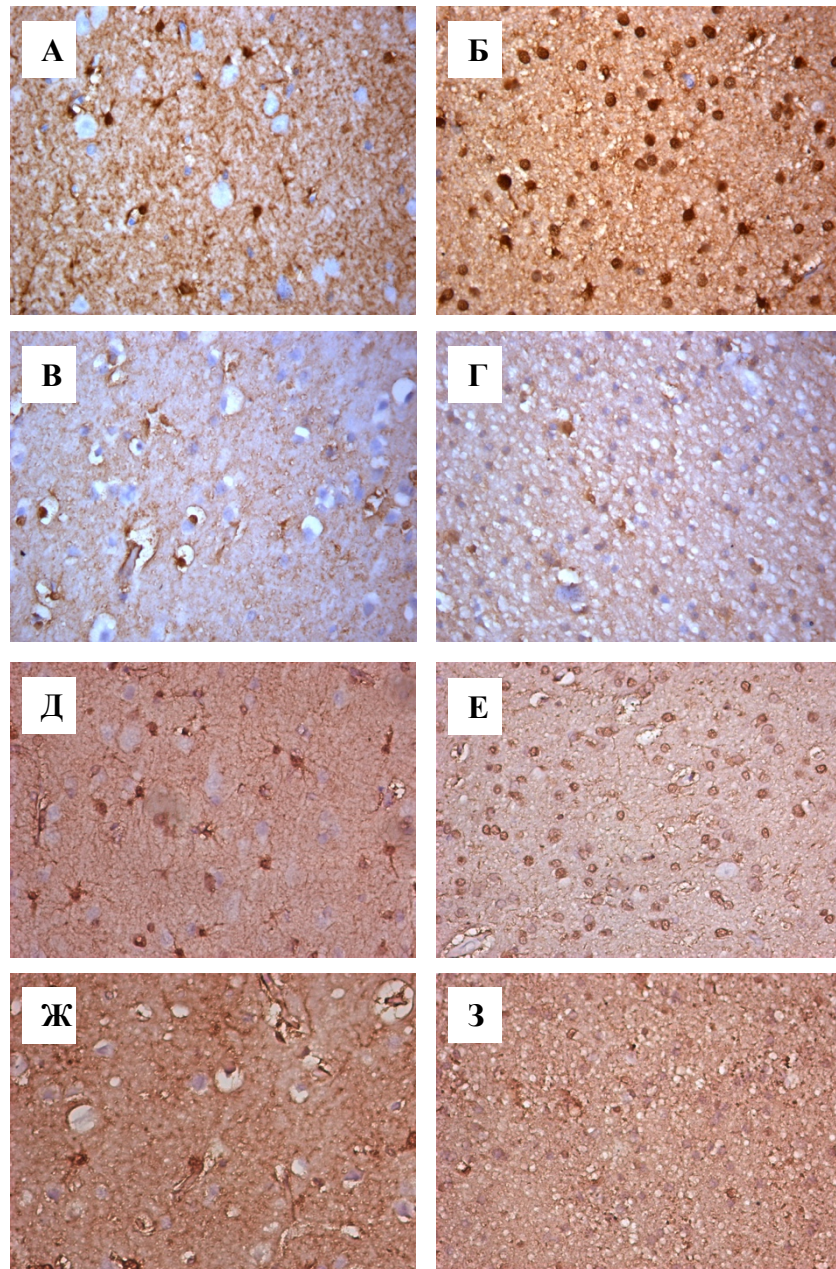


Рисунок 8 – ИГХИ с антителами к S100, x400: А) Кора пациента детской группы с эпилепсией; Б) Белое вещество пациента детской группы с эпилепсией; В) Кора пациента детской группы сравнения; Г) Белое вещество пациента детской группы сравнения; Д) Кора пациента взрослой группы с эпилепсией; Е) Белое вещество пациента взрослой группы с эпилепсией; Ж) Кора пациента взрослой группы сравнения; З) Белое вещество пациента взрослой группы сравнения

### 3.2.2 Оценка экспрессии цитоскелетного глиального фибриллярного кислого белка

В реакциях ИГХ с антителами к ГФКБ выявлена пролиферация астроцитов с развитием астроглиоза (рисунок 9) 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 (рисунок 9–2 А, Б): 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 (рисунок 9–1 А, Б), без утолщения отростков. У пациентов группы сравнения экспрессия ГФКБ в коре носила следовой характер, в белом веществе окрашивались немногочисленные отростки.

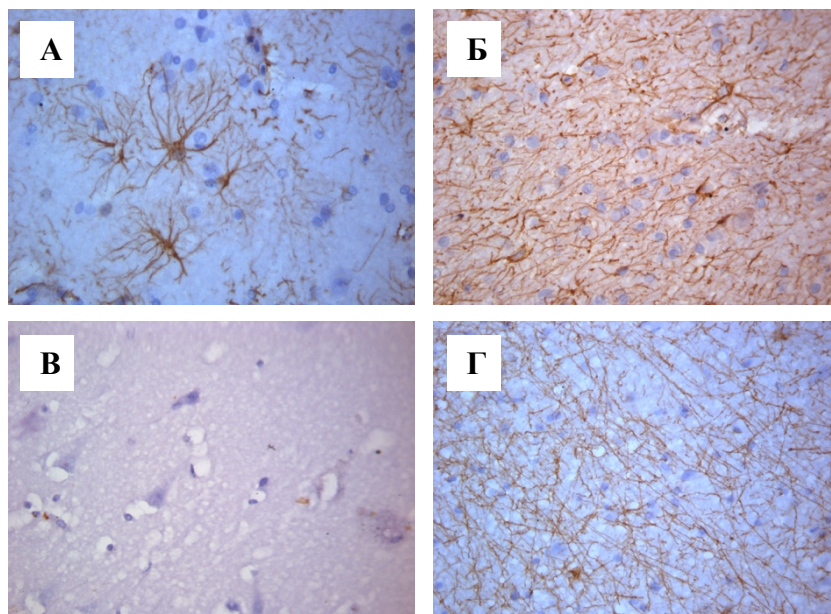


Рисунок 9–1 – ИГХИ с антителами к ГФКБ, х400: А) Кора пациента детской группы с эпилепсией; Б) Белое вещество пациента детской группы с эпилепсией; В) Кора пациента детской группы сравнения; Г) Белое вещество пациента детской группы сравнения

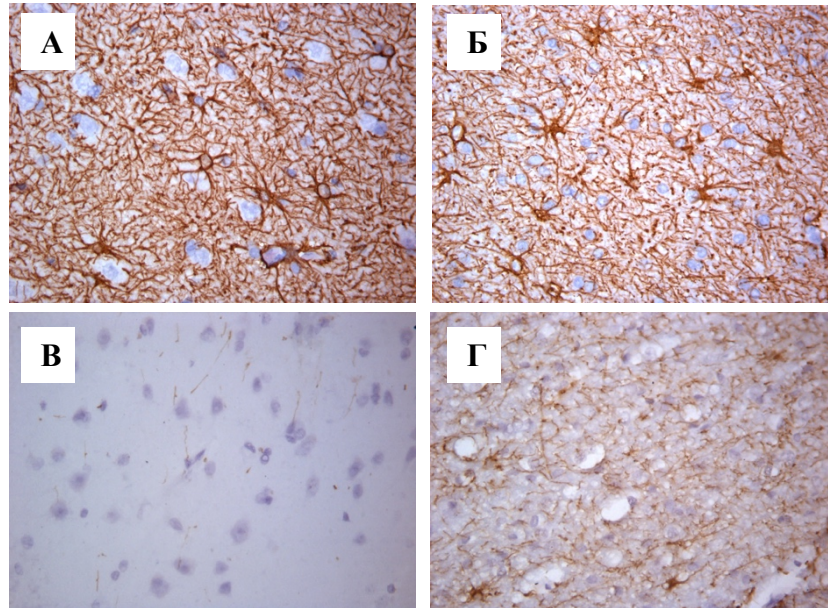


Рисунок 9–2 (продолжение) – ИГХИ с антителами к ГФКБ, х400: А) Кора пациента взрослой группы с эпилепсией; Б) Белое вещество пациента взрослой группы с эпилепсией; В) Кора пациента взрослой группы сравнения; Г) Белое вещество пациента взрослой группы сравнения

### 3.2.3 Оценка экспрессии цитоскелетного белка виментина

Иммуногистохимические исследования с антителами к виментину выявило положительное цитоплазматическое окрашивание многочисленных реактивных глиальных клеток у пациентов с ФКД-ассоциированной ФРЭ височной доли (рисунок 10). В то же время цитоплазматическое окрашивание нейронов обнаружено в коре головного мозга детей (рисунок 10 А).

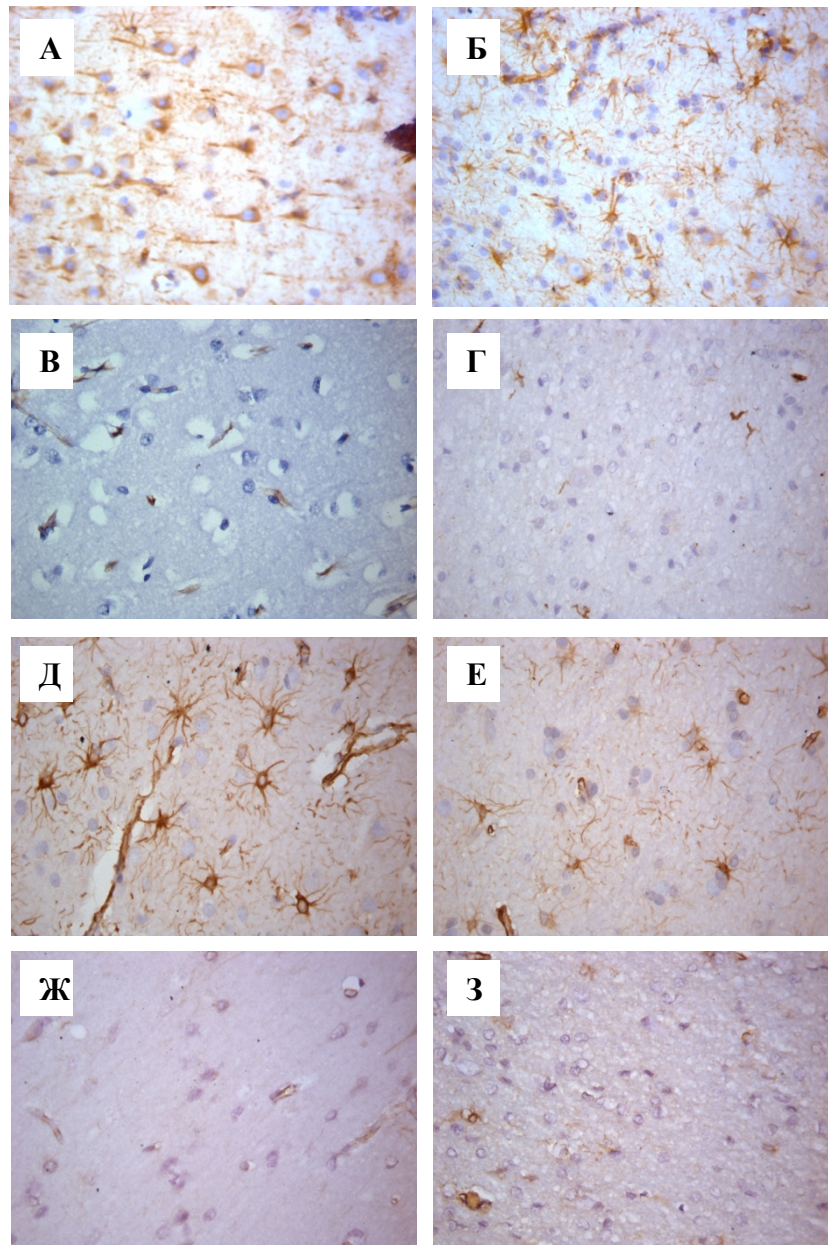


Рисунок 10 – ИГХИ с антителами к виментину, х400: А) Кора пациента детской группы с эпилепсией; Б) Белое вещество пациента детской группы с эпилепсией; В) Кора пациента детской группы сравнения; Г) Белое вещество пациента детской группы сравнения; Д) Кора пациента взрослой группы с эпилепсией; Е) Белое вещество пациента взрослой группы с эпилепсией; Ж) Кора пациента взрослой группы сравнения; З) Белое вещество пациента взрослой группы сравнения

### 3.2.4 Оценка экспрессии проапоптотического белка каспаза-3

Иммуногистохимические реакции с каспазой-3 показали положительную реакцию в глиоцитах как коры, так и белого вещества у пациентов с ФКД-ассоциированной ФРЭ, тогда как в группе сравнения реакция была отрицательной (рисунок 11).

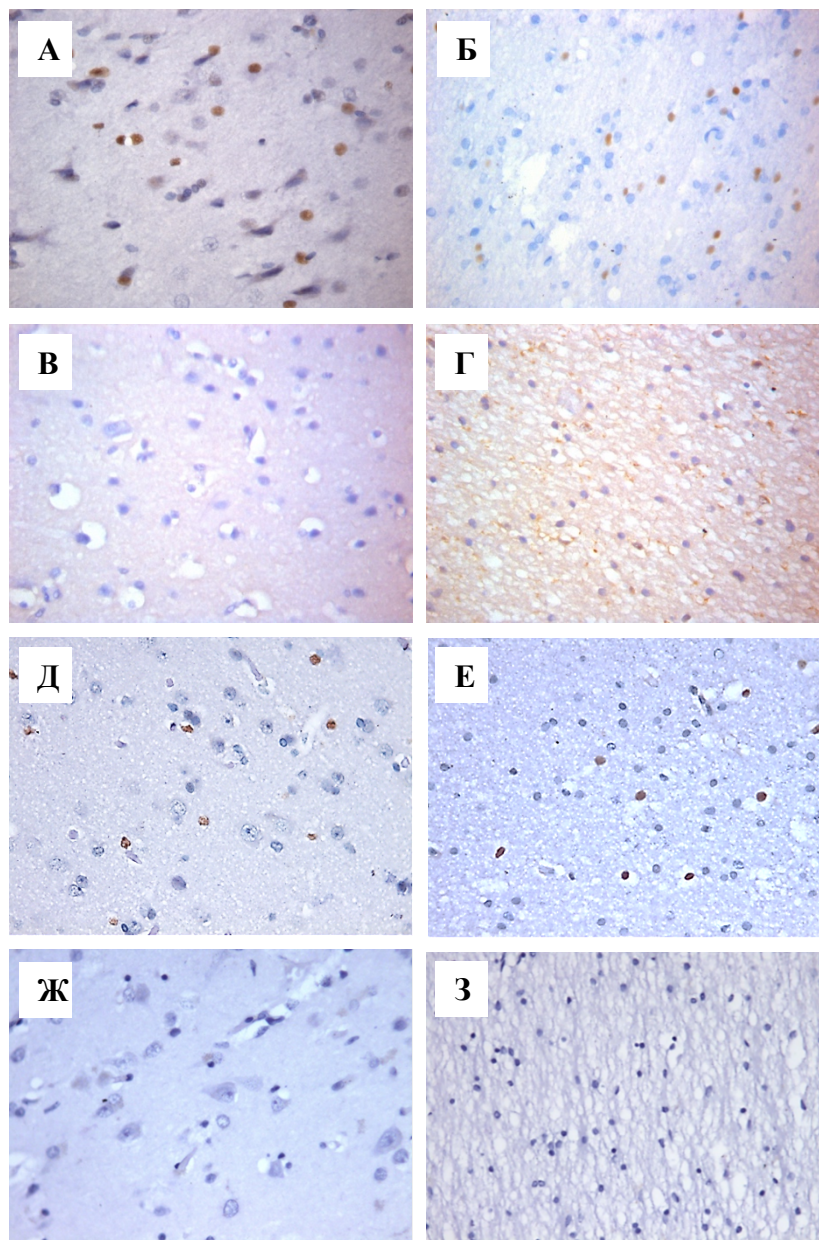


Рисунок 11 – ИГХИ с антителами к активной каспазе-3, x400: А) Кора пациента детской группы с эпилепсией; Б) Белое вещество пациента детской группы с эпилепсией; В) Кора пациента детской группы сравнения; Г) Белое вещество пациента детской группы сравнения; Д) Кора пациента взрослой группы с эпилепсией; Е) Белое вещество пациента взрослой группы с эпилепсией; Ж) Кора пациента взрослой группы сравнения; З) Белое вещество пациента взрослой группы сравнения

### 3.3 Результаты вестерн-блотинга

При проведении блотинга достоверных различий между пациентами детского возраста и взрослыми не получено, оценивался общий уровень белка. Так, 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%,  $p < 0,05$ ). Денситометрическая плотность FAS в коре зоны эпилептического очага у пациентов с ФКД-ассоциированной ФРЭ составила  $9,174 \pm 3,186$  у.е., в перифокальной зоне  $6,949 \pm 1,698$  у.е., в то время как в группе сравнения она составила  $4,972 \pm 2,108$  у.е. В белом веществе зоны эпилептического очага составила  $8,258 \pm 3,002$  у.е., в перифокальной зоне  $5,632 \pm 2,365$  у.е., в то время как в белом веществе группы сравнения она составила  $4,925 \pm 2,773$  у.е. FAS-опосредованный внешний путь может играть важную роль в индукции апоптоза, так как он практически всегда приводит к самоликвидации клетки. Таким образом, 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 12).

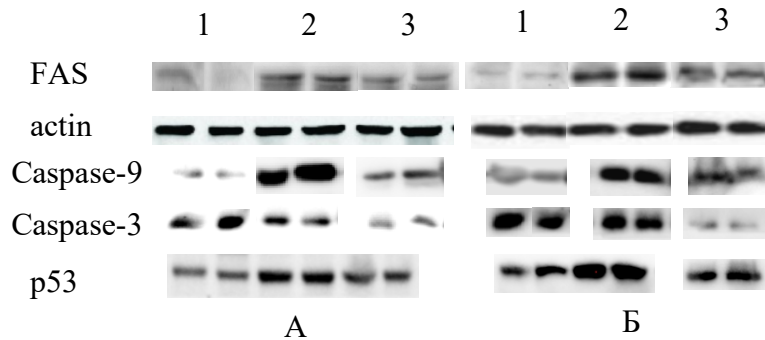
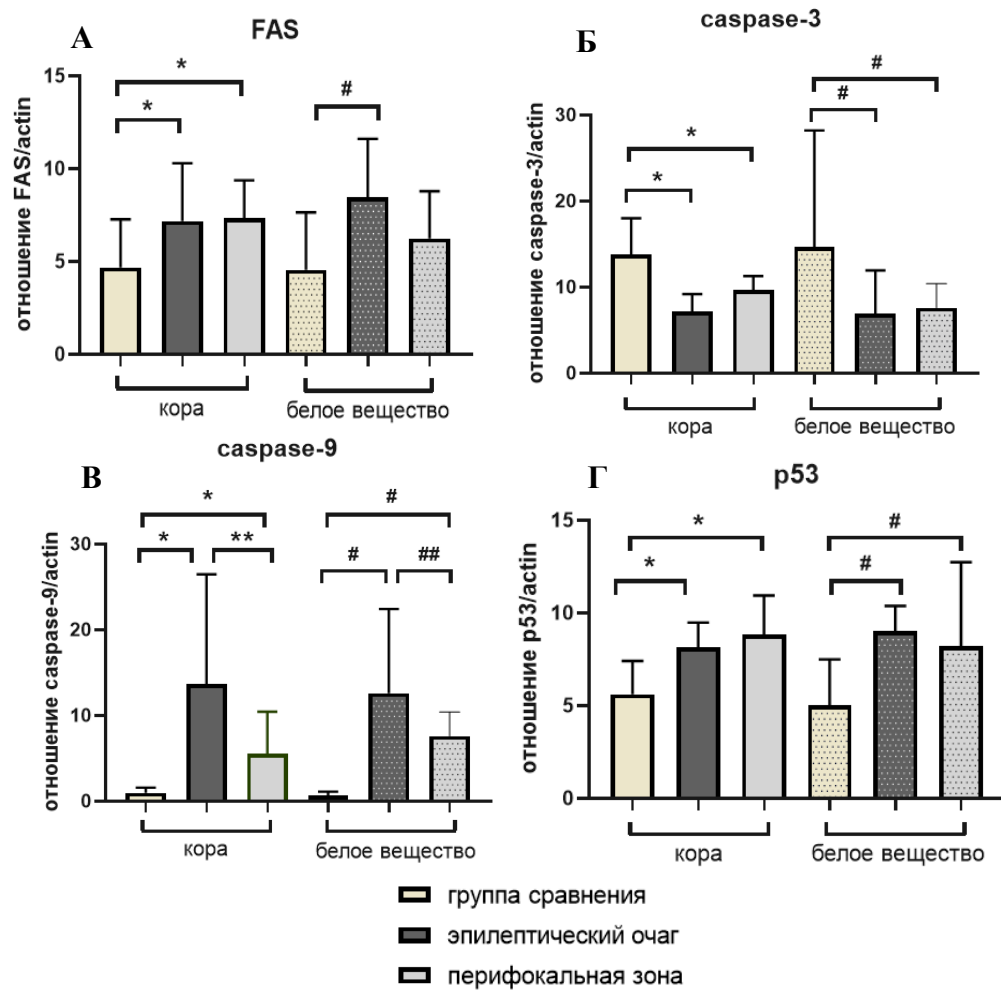


Рисунок 12 – Результаты вестерн-блоттинга: Сканы блотов с антителами к FAS, актину, p53, каспазе-3 и каспазе-9, где 1 – группа сравнения, 2 – зона эпилептического очага; 3 – перифокальная зона. Блоты слева (А) – кора, блоты справа (Б) – белое вещество

У пациентов с ФКД-ассоциированной ФРЭ (рисунок 13) был выявлен значительный рост уровня белка-супрессора опухолей p53 по сравнению с группой сравнения ( $p < 0,05$ ). Денситометрическая плотность p53 в коре зоны эпилептического очага составила  $9,373 \pm 2,575$  у.е., в перифокальной зоне  $8,39 \pm 3,814$  у.е., в то время как в группе сравнения она составила  $6,103 \pm 2,326$  у.е. В белом веществе зоны эпилептического очага она составила  $9,005 \pm 3,476$  у.е., в перифокальной зоне  $8,986 \pm 2,709$  у.е., в то время как в белом

веществе группы сравнения она составила  $4,46 \pm 3,313$  у.е.



\* - 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 13 – Гистограммы содержания белков у пациентов с фармакорезистентной эпилепсией, ассоциированной с фокальной кортикальной дисплазией, и пациентов группы сравнения: А) Антитела к CD95 (FAS); Б) Антитела к каспазе-3; В) Антитела к каспазе-9; Г) Антитела к p53

В исследуемых образцах выявлено существенное содержание инициаторной каспазы-9 по сравнению с пациентами без эпилепсии, при этом содержание полноразмерной каспазы-3 снижено (рисунок 12–13). Денситометрическая плотность полноразмерной каспазы-3 в коре зоны эпилептического очага составила  $7,177 \pm 2,255$  у.е., в перифокальной зоне  $7,938$



$\pm 1,471$  у.е., в то время как в группе сравнения она составила  $11,88 \pm 3,362$  у.е. В белом веществе зоны эпилептического очага она составила  $8,724 \pm 5,077$  у.е., в перифокальной зоне  $6,315 \pm 2,84$  у.е., в то время как в белом веществе группы сравнения она составила  $19,27 \pm 7,166$  у.е. Денситометрическая плотность каспазы-9 в коре зоны эпилептического очага составила  $7,34 \pm 3,738$  у.е., в перифокальной зоне  $9,648 \pm 3,047$  у.е., в то время как в группе сравнения она составила  $0,8925 \pm 0,5986$  у.е. В белом веществе зоны эпилептического очага она составила  $8,986 \pm 4,014$  у.е., в перифокальной зоне  $6,688 \pm 2,89$  у.е., в то время как в белом веществе группы сравнения она составила  $6,315 \pm 2,84$  у.е. 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 р53-зависимому пути.

### **3.4 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 основанные на наличии глыбок гетерохроматина, распространённых 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 (рисунок 14).

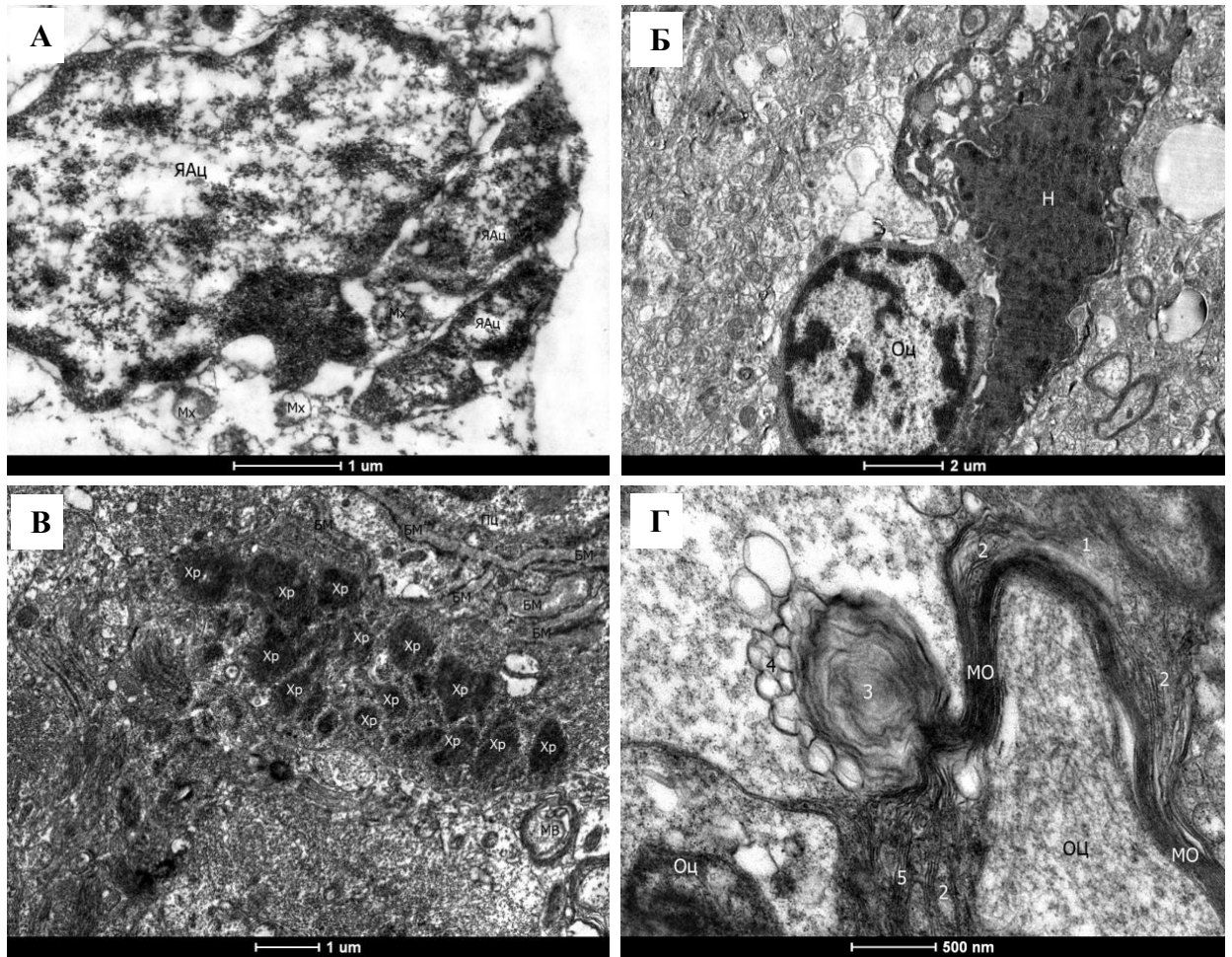


Рисунок 14 – Апоптоз глии и деструкция миелиновой оболочки пациентов с фармакорезистентной эпилепсией, ассоциированной с фокальной кортикальной дисплазией (трансмиссионная электронная микроскопия): А, Б – апоптоз начинается с фрагментации хроматина, глыбки которого, локализованы по всей кариоплазме (ЯАц) астроцита (А) и олигодендроцита (Оц) (Б), контактирующего с некротизированным нейроном (Н); В – глыбки хроматина (Хр) на месте разрушенного ядра – продвинутая стадия апоптоза олигодендроцита; Г – деструкция миелиновой оболочки (МО) при ФКД-ассоциированной ФРЭ: 1 – участок разрыва ламелл, 2 – расслоение МО, 3 – разволокнение, 4 – везикулярный распад миелина, 5 – фрагмент гипермиелинизации в сочетании с расслоением МО; Оц – осевой цилиндр, аксон; Оц – олигодендроцит, формирующий МО; А – х16500, Б – х6000, В – х9900; Г – х26500

Большинство кортикальных олигодендроцитов и почти все олигодендроциты в *белом веществе* пациентов с ФКД-ассоциированной ФРЭ обнаруживали признаки апоптотической деструкции (рисунок 14 Б, В). 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 наблюдали единичные апоптотические астроциты (рисунок 14 А).

Кроме того, с помощью ТЭМ было обнаружено большое разнообразие патологических признаков разрушений в структуре миелиновой оболочки аксонов (рисунок 14 Г).

### **3.5 Результаты морфометрии и сравнительно-статистический анализ**

В результате анализа полученных данных с помощью теста Колмогорова-Смирнова нормальное распределение получено не было. Давность заболевания у взрослых колебалась от 6 до 45 лет ( $21 \pm 9,9$ ) лет, у детей – от 1 года до 15 лет ( $6,41 \pm 3,9$ ).

#### **3.5.1 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 (таблица 9), 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.

Таблица 9 – Уровень экспрессии белков (у.е. и n) в коре и белом веществе головного мозга у взрослых пациентов с фармакорезистентной эпилепсией, ассоциированной с фокальной кортикальной дисплазией, 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±0,0 2	0,025±0,0 06	$p<0,05$	0,06±0,02	0,038±0,0 06	$p<0,05$
S100, n	19,8±4	11,9±0,7	$p<0,00$ 1	78,8±16,5	44,8±2,3	$p<0,001$
Виментин, у.е.	0,05±0,01 2	0,2±0,004	$p<0,00$ 1	0,064±0,0 16	0,017±0,0 02	$p<0,001$
Каспаза-3, n	24,2±2.8	0,033±0,0 5	$p<0,00$ 1	5,94±1.9	0±0	$p<0,001$

Количественный подсчёт 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 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 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 9.

Диаграммы размаха данных для ГФКБ и S100 представлены на рисунке 15. Статистическая обработка данных показала достоверную разницу по U-критерию Манна-Уитни ( $p<0,05$ ).

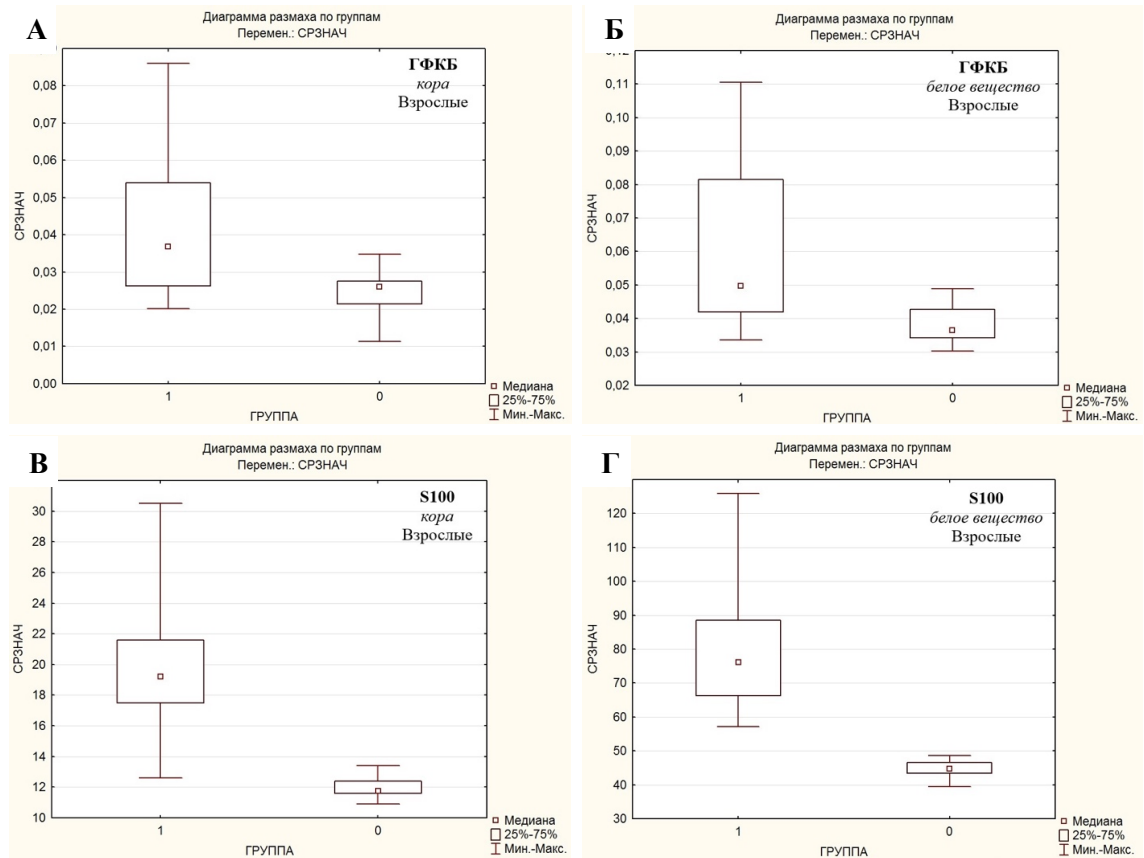


Рисунок 15 – Диаграммы размаха исследованных белков в коре и белом веществе у взрослых пациентов с фармакорезистентной эпилепсией, ассоциированной с фокальной кортикальной дисплазией (группа 1), и группы сравнения (группа 0): А – глиальный фибриллярный кислый белок в коре; Б – глиальный фибриллярный кислый белок в белом веществе; В – S100 в коре; Г – S100 в белом веществе

Диаграммы размаха данных для виментина и каспазы-3 представлены на рисунке 16. Статистическая обработка данных показала достоверную разницу по U-критерию Манна-Уитни ( $p < 0,05$ ).

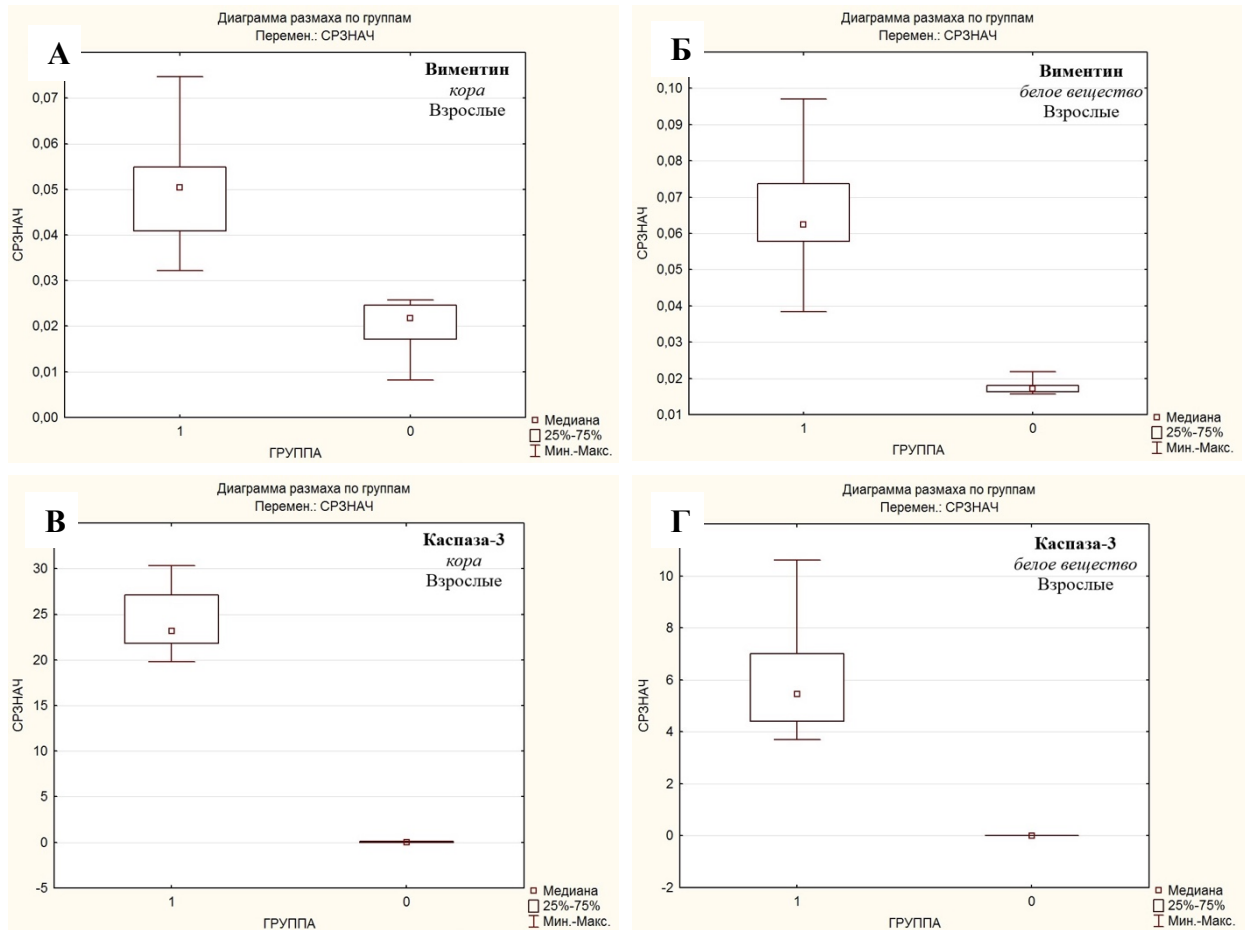


Рисунок 16 – Диаграммы размаха исследованных белков в коре и белом веществе у взрослых пациентов с фармакорезистентной эпилепсией, ассоциированной с фокальной кортикальной дисплазией (группа 1), и группы сравнения (группа 0): А – Виментин в коре; Б – Виментин в белом веществе; В – Каспаза-3 в коре; Г – Каспаза-3 в белом веществе

### 3.5.2 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 (таблица 10), 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 и 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 10, диаграммы размаха данных представлены на рисунках 17 и 18. Статистическая обработка данных привела к достоверной разнице по U-критерию Манна-Уитни ( $p < 0,05$ ).

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

Таблица 10 – Уровень экспрессии белков (у.е. и n) в коре и белом веществе головного мозга у пациентов детского возраста с фармакорезистентной эпилепсией, ассоциированной с фокальной кортикальной дисплазией, 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±0,0 11	0,035±0,0 13	p<0,05	0,091±0,0 5	0,051±0,0 12	p<0,05
S100, n.	18±5	14±3	p<0,05	50±22	16±5	p<0,05
Виментин, у.е.	0,077±0,0 5	0,03±0,01 6	p<0,05	0,093±0,0 4	0,058±0,0 44	p<0,05
Каспаза-3, n.	11±6	0±0	p<0,00 1	12±9	0±0	p<0,00 1

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.

Диаграммы размаха данных для ГФКБ и S100 представлены на рисунке 17. Статистическая обработка данных показала достоверную разницу по U-критерию Манна-Уитни ( $p < 0,05$ ).

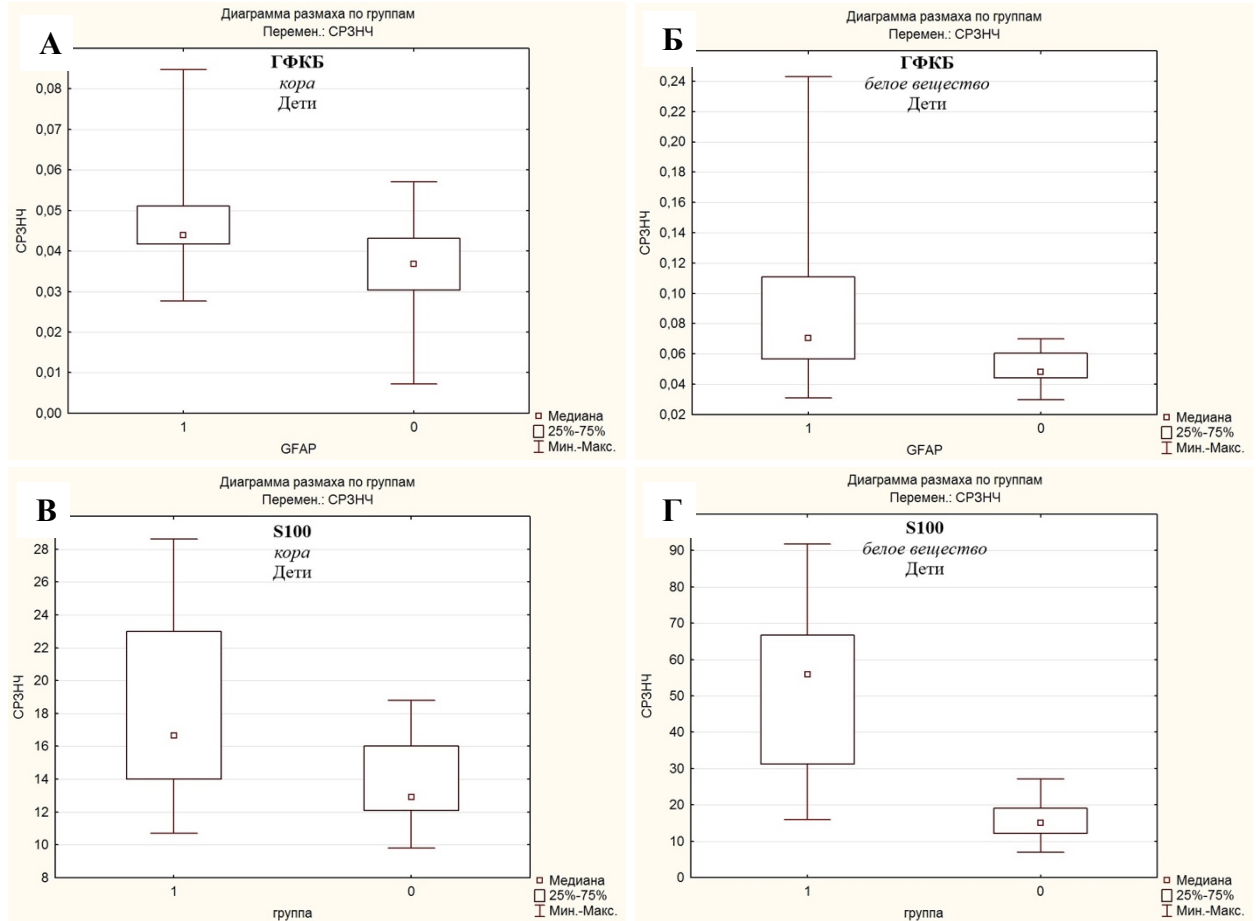


Рисунок 17 – Диаграммы размаха исследованных белков в коре и белом веществе у пациентов детского возраста с фармакорезистентной эпилепсией, ассоциированной с фокальной кортикальной дисплазией (группа 1), и группы сравнения (группа 0): А – ГФКБ в коре; Б – ГФКБ в белом веществе; В – S100 в коре; Г – S100 в белом веществе

Диаграммы размаха данных для виментина и каспазы-3 представлены на рисунке 18. Статистическая обработка данных показала достоверную разницу по U-критерию Манна-Уитни ( $p < 0,05$ ).



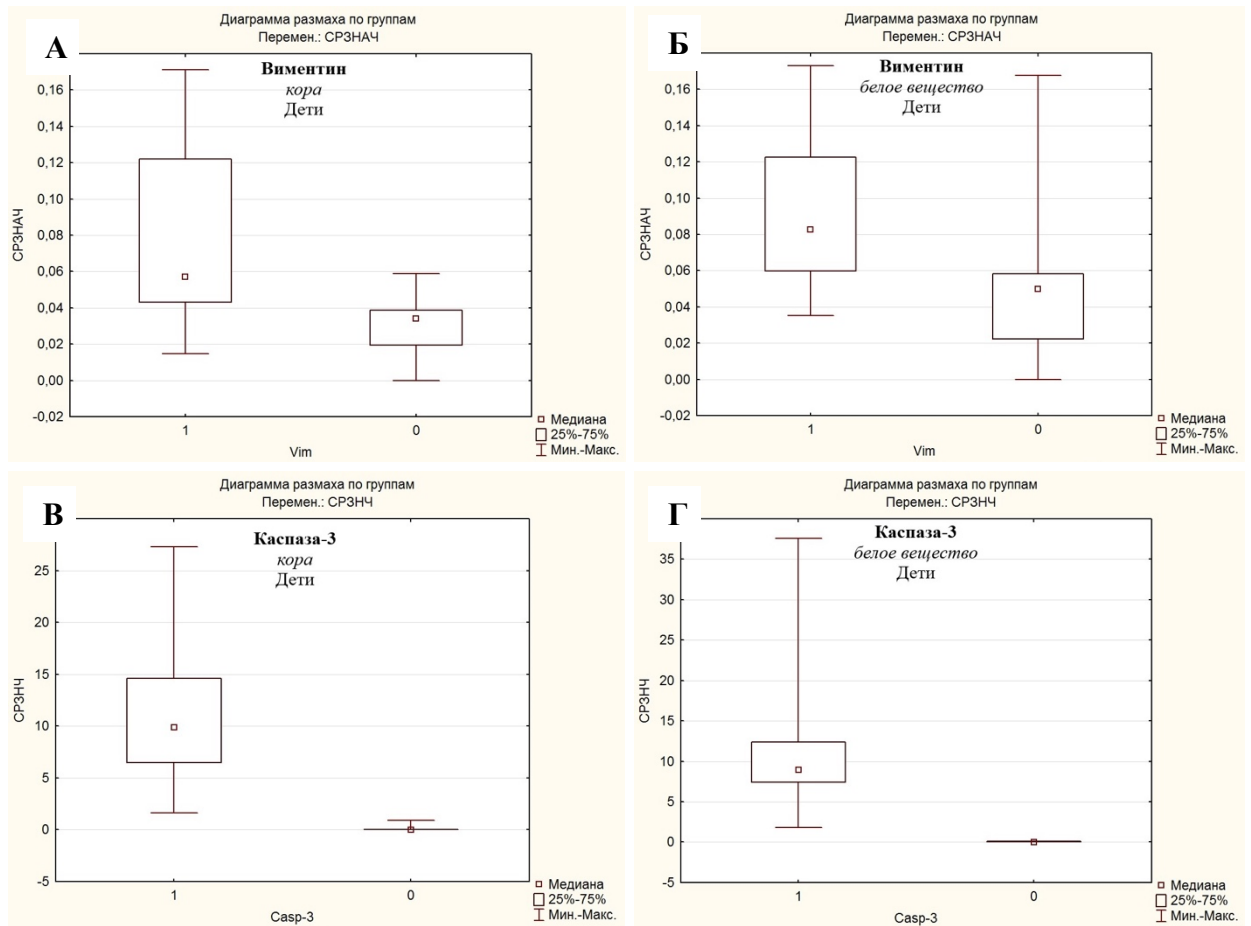


Рисунок 18 – Диаграммы размаха исследованных белков в коре и белом веществе у пациентов детского возраста с фармакорезистентной эпилепсией, ассоциированной с фокальной кортикальной дисплазией (группа 1), и группы сравнения (группа 0): А – Виментин в коре; Б – Виментин в белом веществе; В – Каспаза-3 в коре; Г – Каспаза-3 в белом веществе

### 3.5.3 Сравнение уровня экспрессии белков пациентов взрослой и детской группы в зависимости от пола

В таблице 11 представлено сравнение уровней экспрессии белка у пациентов с эпилепсией и без эпилепсии, дифференцированных по полу (мужчины или женщины). У пациентов мужского пола каспаза-3 демонстрирует более высокую экспрессию в случаях эпилепсии по сравнению с неэпилептическими случаями, тогда как ГФКБ демонстрирует одинаковые уровни экспрессии в обеих группах. Экспрессия S100 повышена у мужчин с эпилепсией по сравнению с лицами без эпилепсии, тогда как экспрессия виментина остается относительно низкой в обеих группах. Среди пациентов

женского пола экспрессия каспазы-3 также заметно выше в случаях эпилепсии по сравнению с неэпилептическими случаями. Как и у мужчин, экспрессия ГФКБ остается одинаковой в обеих группах. S100 демонстрирует повышенную экспрессию у женщин с эпилепсией по сравнению с пациентами без эпилепсии, тогда как экспрессия виментина остается относительно низкой в обеих группах. В целом, данные свидетельствуют о том, что каспаза-3, S100 и виментин демонстрируют различные паттерны экспрессии у пациентов с эпилепсией и без эпилепсии, в то время как экспрессия GFAP остается относительно постоянной независимо от состояния.

Таблица 11 – Сравнение уровней экспрессии белка по полу (M)

Белок	Кора		<i>p</i> -value	Белое вещество		<i>p</i> -value
	ФКД взрослые	Контроль взрослые		ФКД дети	Контроль дети	
ГФКБ, у.е.	0,04	0,03	$p < 0,05$	0,04	0,03	$p < 0,05$
S100, n	19,26	12,82	$p < 0,05$	18,53	12,56	$p < 0,05$
Виментин, у.е.	0,06	0,02	$p < 0,05$	0,07	0,03	$p < 0,05$
Каспаза-3, n	16,77	0,03	$p < 0,05$	18,50	0,08	$p < 0,05$

### 3.5.4 Экспрессия белков и продолжительность заболевания

В таблице 12 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.

Таблица 12 – Корреляция между экспрессией белка в коре/белом веществе и продолжительностью заболевания

Белок	Корреляция кора	p-value	Корреляция белое вещество	p-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

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.

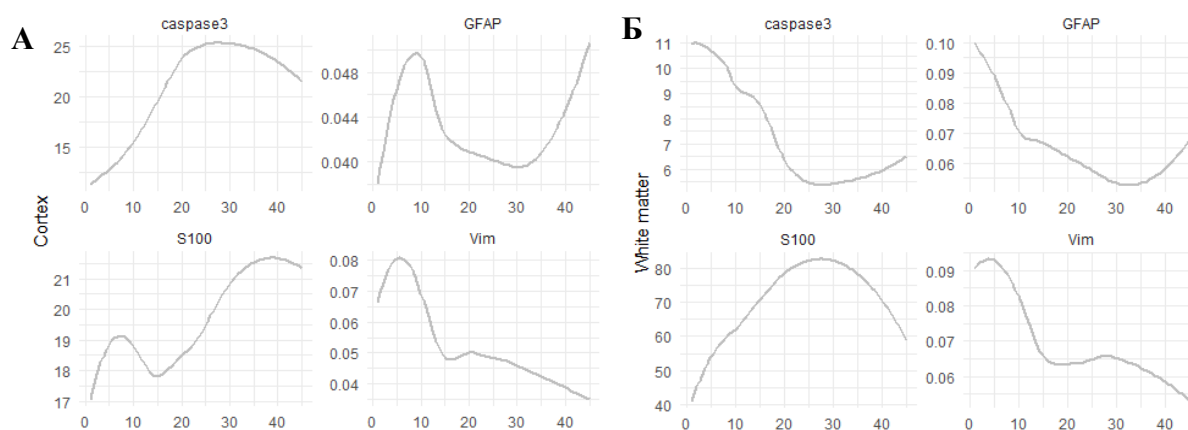


Рисунок 19 – Экспрессия белков в зависимости от продолжительности заболевания. По оси X – продолжительность заболевания, по оси Y – уровень экспрессии белка. А – кора, Б – белое вещество

При анализе зависимости уровня экспрессии белка от длительности заболевания (рисунок 19) 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.

### 3.5.5 Результаты корреляционного анализа

В таблице 13 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 13 – 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

### 3.5.6 Результаты регрессионного анализа

В данном разделе приведены четыре таблицы, которые различаются в зависимости от локализации экспрессии (кора и белое вещество) и типа модели (базовая или с взаимодействиями). Каждая таблица состоит из четырех регрессионных моделей с экспрессией ГФКБ, виментина, S100 и каспазы-3 в

качестве зависимой переменной.

В таблице 14 представлены результаты регрессии коры головного мозга на основе исходных моделей показывающие, что у пациентов с ФКД-ассоциированной ФРЭ височной доли 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.

Таблица 14 – Результаты регрессии для коры головного мозга пациентов с фармакорезистентной эпилепсией, ассоциированной с фокальной кортикальной дисплазией, височной доли для базовых моделей

	<i>Зависимая переменная:</i>			
	Кора			
	ГФКБ	Виментин	S100	Каспаза-3
	(1)	(2)	(3)	(4)
Эпилепсия	0,01*** (0,003)	0,04*** (0,01)	6,14*** (0,95)	16,16*** (1,10)
Возраст	0,0000 (0,0002)	0,0000 (0,0004)	-0,02 (0,05)	-0,23*** (0,06)
Женщина	-0,001 (0,003)	0,01 (0,01)	-0,56 (0,86)	1,49 (1,00)
Ребёнок	0,01 (0,01)	0,02* (0,01)	-1,12 (1,67)	-15,09*** (1,93)
Константа	0,03*** (0,01)	0,01 (0,02)	14,01*** (2,25)	12,87*** (2,60)
Количество наблюдений	90	90	90	90
$R^2$	0,23	0,37	0,36	0,82
Скорректированный $R^2$	0,19	0,34	0,33	0,81
Остаточная стандартная ошибка (df = 85)	0,01	0,03	4,03	4,66
F Стат. (df = 4; 85)	6,24***	12,31***	12,09***	95,17***
<i>Примечания:</i>	* - $p < 0,1$ ; ** - $p < 0,05$ ; *** - $p < 0,01$			

В таблице 15 были рассмотрены результаты регрессионного анализа коры на основе моделей с взаимодействием. В этой таблице проверялось, варьируется

ли экспрессия белка у пациентов с ФКД-ассоциированной ФРЭ височной доли в зависимости от возраста и пола.

Таблица 15 – Результаты регрессии коры для моделей с взаимодействием

	<i>Зависимая переменная:</i>			
	Кора			
	ГФКБ	Виментин	S100	Каспаза-3
	(1)	(2)	(3)	(4)
Эпилепсия	0,02*** (0,01)	0,02* (0,01)	8,65*** (1,67)	22,65*** (1,63)
Женщина	-0,005 (0,01)	0,002 (0,01)	-0,37 (1,51)	0,05 (1,47)
Ребёнок	0,02 (0,01)	-0,003 (0,02)	3,18 (2,72)	-1,99 (2,65)
Возраст	0,0001 (0,0002)	-0,0003 (0,0004)	0,04 (0,06)	-0,05 (0,06)
Эпилепсия: женщина	0,005 (0,01)	0,01 (0,01)	-0,39 (1,83)	1,73 (1,78)
Эпилепсия: ребёнок	-0,01 (0,01)	0,02 (0,01)	-4,05* (2,04)	-12,43*** (1,99)
Константа	0,02** (0,01)	0,03 (0,02)	10,30*** (2,91)	2,37 (2,84)
Наблюдения	90	90	90	90
$R^2$	0,24	0,39	0,39	0,88
Скорректированный $R^2$	0,19	0,35	0,35	0,87
Остаточная стандартная ошибка (df = 85)	0,01	0,03	3,98	3,88
F Стат. (df = 4; 85)	4,45***	8,83***	8,91***	98,22***
<i>Примечания:</i>	* - $p < 0,1$ ; ** - $p < 0,05$ ; *** - $p < 0,01$			

Результаты показали, что у пациентов с эпилепсией наблюдались более высокие уровни экспрессии белков ГФКБ, S100 и каспазы-3. Для виментина как коэффициент самого белка, так и член взаимодействия были значимыми в совокупности.

Кроме того, было замечено, что дети с ФКД-ассоциированной ФРЭ височной доли имели более низкие уровни экспрессии S100 и каспазы-3 по сравнению со взрослыми.

В Таблице 16, в которой представлены результаты регрессии для базовых моделей 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.

Таблица 16 – Результаты регрессии белого вещества для базовых моделей

	<i>Зависимая переменная:</i>			
	Белое вещество			
	ГФКБ	Виментин	S100	Каспаза-3
	(1)	(2)	(3)	(4)
Эпилепсия	0,03 <sup>***</sup>	0,04 <sup>***</sup>	33,21 <sup>***</sup>	9,24 <sup>***</sup>
	(0,01)	(0,01)	(3,74)	(1,24)
Возраст	-0,0000	-0,0000	-0,01	0,09
	(0,0004)	(0,0004)	(0,21)	(0,07)
Женщина	0,01	0,001	7,83 <sup>**</sup>	-0,22
	(0,01)	(0,01)	(3,39)	(1,13)
Ребёнок	0,02 <sup>*</sup>	0,03 <sup>**</sup>	-29,38 <sup>***</sup>	6,15 <sup>***</sup>
	(0,01)	(0,01)	(6,58)	(2,19)
Константа	0,03	0,02	42,50 <sup>***</sup>	-5,16 <sup>*</sup>
	(0,02)	(0,02)	(8,86)	(2,94)
Наблюдения	90	90	90	90
$R^2$	0,28	0,42	0,67	0,45
Скорректированный $R^2$	0,25	0,39	0,65	0,42
Остаточная стандартная ошибка (df = 85)	0,03	0,03	15,88	5,27
F Статистический (df = 4; 85)	8,47 <sup>***</sup>	15,09 <sup>***</sup>	42,96 <sup>***</sup>	17,13 <sup>***</sup>
<i>Примечания:</i>	* - $p < 0,1$ ; ** - $p < 0,05$ ; *** - $p < 0,01$			

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, в исследовании обнаружено, 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.

В таблице 17 представлены результаты регрессии для моделей с взаимодействием, в частности, проверка того, варьируется ли экспрессия белка у пациентов с ФКД-ассоциированной ФРЭ височной доли в зависимости от возраста и пола в белом веществе.

Таблица 17 – Результаты регрессии белого вещества для моделей с взаимодействием

	<i>Зависимая переменная:</i>			
	Кора			
	ГФКБ	Виментин	S100	Каспаза-3
	(1)	(2)	(3)	(4)
Эпилепсия	0,004	0,04***	27,08***	6,11***
	(0,01)	(0,01)	(6,61)	(2,18)
Женщина	-0,003	-0,01	-1,11	0,004
	(0,01)	(0,01)	(5,98)	(1,98)
Ребёнок	-0,01	0,05**	-31,14***	0,31
	(0,02)	(0,02)	(10,76)	(3,55)
Возраст	-0,0005	0,0002	-0,05	0,01
	(0,0005)	(0,0005)	(0,23)	(0,08)
Эпилепсия: женщина	0,02	0,01	13,16*	-0,16
	(0,01)	(0,01)	(7,24)	(2,39)
Эпилепсия: ребёнок	0,03*	-0,02	1,33	5,52**
	(0,02)	(0,02)	(8,08)	(2,67)
Константа	0,06**	0,01	47,66***	-0,31
	90	90	90	90
Наблюдения	0,32	0,43	0,68	0,47
$R^2$	0,28	0,39	0,66	0,44
Скорректированный $R^2$	0,03	0,03	15,75	5,20
Остаточная стандартная ошибка (df = 85)	6,65***	10,36***	29,65***	12,44***
F Стат. (df = 4; 85)	0,06**	0,01	47,66***	-0,31
<i>Примечания:</i>	* - $p < 0,1$ ; ** - $p < 0,05$ ; *** - $p < 0,01$			



Обнаружено, что у пациентов с эпилепсией наблюдался более высокий уровень экспрессии белков ГФКБ, S100 и каспазы-3 по сравнению с контрольной группой. 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.

Кроме того, исследование показало, что дети с эпилепсией имели более высокие уровни экспрессии каспазы-3 по сравнению со взрослыми с ФКД-ассоциированной ФРЭ височной доли.

На основании полученных данных наблюдались следующие закономерности экспрессии белков в эпилептических очагах пациентов с ФКД-ассоциированной ФРЭ височной доли, которые варьируют в зависимости от пола, возраста и длительности заболевания:

- 1) Экспрессия белка. Во всех исследованных областях коры и белого вещества наблюдалось значительное увеличение экспрессии исследованных белков во всех возрастных группах.
- 2) Длительность заболевания. Уровни каспазы-3 в коре головного мозга положительно коррелируют с продолжительностью заболевания, тогда как уровни виментина отрицательно коррелируют. В белом веществе S100 демонстрирует положительную корреляцию с продолжительностью заболевания, тогда как каспаза-3, ГФКБ и виментин демонстрируют отрицательную корреляцию.
- 3) Динамика. Пик экспрессии виментина в коре головного мозга наблюдается примерно через 5 лет от начала заболевания, тогда как ГФКБ достигает пика к 8 годам, что указывает на раннюю и позднюю стадии заболевания. В белом веществе как виментин, так и ГФКБ демонстрируют пик экспрессии примерно через 5 лет от начала заболевания, за которым следует снижение во всех изученных областях. Уровни каспазы-3 со временем повышаются в коре головного мозга, но снижаются в белом

веществе. Экспрессия S100 также увеличивается по мере прогрессирования заболевания.

- 4) Корреляции: ГФКБ и S100 демонстрируют положительную корреляцию с каспазой-3, что указывает на потенциальную связь между этими белками.
- 5) Возрастные различия. У детей с ФКД-ассоциированной ФРЭ височной доли экспрессия каспазы-3 и S100 ниже, чем у взрослых, как в коре головного мозга, так и в белом веществе. Экспрессия виментина демонстрирует возрастные изменения.
- 6) Гендерные различия: экспрессия виментина варьируется в зависимости от пола. Уровни S100 выше у женщин, тогда как для других белков значимой связи с полом не наблюдалось.

Эти закономерности помогают прояснить динамику белков в эпилептических очагах, обеспечивая понимание патогенеза ФКД-ассоциированной ФРЭ височной доли.

## ГЛАВА 4. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ

Изучение механизмов, которые приводят к развитию эпилепсии, является областью активных исследований. Именно неоднородность структурных поражений и наличие существенных различий в функциональном и молекулярно-биологическом состоянии клеток могут играть ключевую роль не только в патогенезе эпилепсии, но и в формировании нечувствительности к медикаментозной терапии, а также в определении прогноза заболевания. Прогрессирование болезни от «эпилептического нейрона» к «эпилептическому мозгу», нарастание психических и когнитивных нарушений остаются до сих пор неразрешимой проблемой эпилептологии [2, 124, 140].

### 4.1 Фокальная кортикальная дисплазия

Структурная эпилепсия является наиболее сложной для медикаментозной коррекции, и большая часть ее видов относится к фармакорезистентным формам. Обнаруживаемые ФКД в зоне эпилептической активности связывают с развитием эпилепсии. Есть доказательства в пользу как усиленной возбудимости нейронов, так и ослабленного торможения. Молекулярные характеристики ФКД предполагают несколько потенциальных механизмов, которые могут привести к гиперактивности нейронов. К одному из таких механизмов относится стимуляция NMDA-рецепторов, способствующая эксайтотоксичности, которая приводит к митохондриальной дисфункции, активации кальцийзависимых ферментов и митоген-активированных протеинкиназных путей [71].

Результаты нашего исследования совпадают с данными литературы.

Многие исследования показали, что в ткани мозга у пациентов с ФКД обнаруживается повышенная экспрессия белков NR2A/B подтипа, а также ассоциированного с ними кластерного протеина PSD95 в дисморфных клетках, и что эти вещества имеют низкий уровень экспрессии в нормальной нейрональной ткани [121]. Была показана корреляция между повышением экспрессии NR2A/B подтипа и степенью эпилептогенности *in vivo* [121]. В

модели ФКД на животных антагонист NR2B рецептора повысил порог чувствительности к бикуккуллин-индуцированному эпилептическому разряду, указывая, что NR2B подтип может иметь роль в гипервозбудимости при ФКД с дисморфными нейронами [51]. Несмотря на это, конкретный механизм, с помощью которого повышение экспрессии NR2A/B подтипа приводит к эпилептогенности, ещё неясен.

Рецепторы AMPA также вовлечены в патогенез ФКД. AMPA рецепторы образованы из четырех субъединиц (GluR1-4) и контролируют транспорт  $\text{Na}^+$ . AMPA рецепторы взаимодействуют с NMDA рецепторами, разблокируя  $\text{Mg}^{2+}$  на NMDA рецепторах. При ФКД в ткани мозга была выявлена повышенная экспрессия GluR2/3 субъединиц AMPA [88], а в нейронах показана повышенная экспрессия транспортной РНК GluR4-субъединицы [48].

В дополнение к гипервозбудимости нейронов наблюдается угнетение процессов торможения. Ранние исследования показали, что нейроны, иммунореактивные к парвальбумину и кальбиндину D28K, которые являются тормозящими ГАМКергическими нейронами, отсутствуют в диспластических поражениях [66]. Уменьшение ГАМКергических нейронов, подтвержденное R. Spreafico и соавт. [158], показало, что в диспластических поражениях, резецированных у людей, значительно снижен уровень декарбоксилазы глутаминовой кислоты, который является ферментом, лимитирующим уровень синтеза ГАМК. Эти авторы сообщают также о различиях в организации ГАМКергических нейронов при I и II типе кортикальной дисплазии. Установлено, что баллоновидные клетки не имеют синаптических терминалей [24, 72]. Электрофизиологические исследования *in vitro* выявили, что дисморфные нейроны, имея аномальные электрофизиологические характеристики, могут играть основную роль в генерации эпилептической активности, а баллоновидные клетки не имеют вольтаж- или лигандзависимых ионных потоков и синаптических «входов» [44].

В 2004 г. А. Palmioli и соавт. [128] впервые ввели термин «легкие нарушения кортикального развития» с наличием большого количества кластеров гетеротопированных нейронов, находящихся субпiallyно в молекулярном слое коры или в субкортикальном белом веществе, однако, в 2022 году этот термин был пересмотрен в новом докладе МПЭЛ. До сих пор неясно, увеличивается ли плотность гетеротопированных нейронов в белом веществе у пациентов с эпилепсией, каким должен быть порог для диагностического подтверждения малых мальформаций кортикального развития [148], как степень тяжести этой патологической особенности коррелирует с предоперационной МРТ и представляет клинически релевантный прогностический биомаркер, в частности, для результата после операции по поводу эпилепсии [38].

#### **4.2 Структурная гетерогенность эпилептического очага**

В нашем исследовании впервые сформулирована концепция структурной гетерогенности эпилептического очага. Реактивно-деструктивные изменения нейронов в эпилептическом очаге характеризуются легкостью запуска мембранных потенциалов, а также способствуют избирательному выпадению ГАМКергических синаптических терминалей и рассматриваются как морфологические проявления частичной нейронной деафферентации, которая обуславливает сверхчувствительность нейронов коры к восприятию гиперсинхронных разрядов, определяет повышенную спонтанную нейронную активность и чувствительность синаптических рецепторов [11].

По данным некоторых исследователей [6, 90, 104], возникновение эпилепсии связано с повреждением миелиновой оболочки. Доказано, что формирование эпилептического очага сопровождается демиелинизацией аксонов белого вещества головного мозга [92]. Массовая демиелинизация волокон очага эпилептиформной активности и прилегающих к нему проводящих путей вызывает поперечную нейротрансмиссию и генерализацию нервных импульсов с одновременным вовлечением в эпилептогенез различных областей

головного мозга. Известно, что основной функцией олигодендроцитов является формирование миелиновых оболочек аксонов. В экспериментальных исследованиях обнаружено, что при эпилепсии снижается количество не только основного белка миелина, но и зрелых олигодендроцитов по сравнению с контрольной группой [90, 92].

Глиоз – неотъемлемая часть патоморфологических изменений, которые обнаруживают в эпилептических очагах. Традиционно считается, что пролиферация глии является патологическим субстратом эпилепсии [16, 54]. Недавние исследования выявили участие электрических синапсов (gap junction) при эпилептогенезе, было отмечено, что экспрессия астроцитарного белка коннексина (connexin – Cx43) увеличена у пациентов с эпилепсией, ассоциированной с мозговыми опухолями и со склерозом гиппокампа [27, 69]. Авторы связывали возрастание количества белка Cx43 с увеличением синаптических связей, вызванным интенсивной электрохимической деятельностью в «эпилептических условиях». Таким образом, будучи непосредственно не включенными в происхождение пароксизмальных разрядов паттерны распределения белка Cx43 могут быть вовлечены в развитие как синхронизации, так и гиперсинхронизации нейронных разрядов, обеспечивая «короткое замыкание» между электрически включенными нейронами, действуя как «мостики» между различными кластерами нейронной гипервозбудимости, таким образом способствуя быстрому распространению электрической активности [69, 165].

В последнее время появились клинко-морфологические исследования, доказывающие, что глиоз при ФРЭ представляет собой не патологическую, а приспособительную (защитную) реакцию: чем интенсивнее пролиферация астроцитов, тем легче протекает заболевание [14]. Эти данные подтверждают важное значение глии в патогенезе эпилепсии. Некоторые исследователи отмечают, что пролиферация олигодендроглиоподобных клеток в эпилептических очагах может служить субстратом для многоочагового поражения головного мозга, что требует повторных резекций. Конкретные

нейрофизиологические механизмы возбудимости и эпилептогенеза при олигодендроглиальной гиперплазии остаются неясными, так как глиальные клетки лишены потенциала действия. Возможно, прямое или косвенное влияние олигодендроглиальной гиперплазии на популяцию нейрональных клеток субгранулярных кортикальных слоёв с последующим нарушением активности нейронной сети и может представлять эпифеномен из-за повторяющихся припадков из неопознанного очага [86].

### 4.3 Апоптоз

Каспазы представляют собой семейство цистеин-зависимых аспаргат-специфичных протеаз, которые играют решающую роль в поддержании клеточного и организменного гомеостаза. Они служат ключевыми медиаторами как воспалительного ответа, так и апоптоза, что делает их привлекательными мишенями для терапевтического вмешательства при метаболических заболеваниях [181]. Каспаза-3, в частности, привлекла значительное внимание из-за своей важной роли в дифференцировке, регенерации и развитии нервной системы тканей [28].

В нашем исследовании мы наблюдали значительное увеличение экспрессии каспазы-3 в тканях головного мозга взрослых и детей с ФРЭ по сравнению с контрольной группой, причём уровень экспрессии у взрослых был выше, чем у детей. Мы также обнаружили статистически значимую положительную корреляцию между экспрессией каспазы-3 в коре и продолжительностью заболевания, тогда как в белом веществе наблюдалась отрицательная корреляция. Кроме того, мы выявили положительную корреляцию между экспрессией каспазы-3 и S100 и ГФКБ.

Показано, что совместная экспрессия каспазы-3 и ГФКБ служит маркером и ранним индикатором нейродегенерации и атрофии в ткани головного мозга [22, 80]. Кроме того, наблюдалась корреляция между белком S100 $\beta$  и сигнальными путями окислительного стресса и апоптоза [193]. Интересно, что экспрессия

каспазы-3 в коре головного мозга была значительно ниже у детей с ФРЭ по сравнению со взрослыми, страдающими эпилепсией, тогда как в белом веществе она была выше у детей. Это предполагает возрастные различия в экспрессии каспазы-3 в когорте пациентов с ФРЭ. Однако мы не обнаружили существенных различий в экспрессии белка в зависимости от пола. Эти данные указывают на то, что уровень экспрессии каспазы-3 может независимо способствовать патогенезу эпилепсии и может варьироваться с возрастом.

Экспериментальные данные свидетельствуют о том, что каспаза-3 присутствует в нейронах гиппокампа и височной доли, её экспрессия увеличивается после эпилептических припадков [61, 85]. Напротив, экспрессия каспазы-3 реже обнаруживается в астроцитах крыс [123]. Было высказано предположение, что апоптоз астроцитов активируется во время и после апоптотических событий нейронов, потенциально способствуя гибели нейронов и эпилептогенезу [85, 123]. Однако исследования показали, что у больных эпилепсией апоптоз происходит преимущественно в олигодендроцитах, приводя к процессам демиелинизации в ткани головного мозга в зоне эпилептической активности [154, 191]. Кроме того, уровень экспрессии каспазы-3 был идентифицирован как маркер тяжести заболевания у людей с эпилепсией [173].

При изучении апоптоза большое внимание уделяется астроцитам, которые, как считается, играют важную роль в эпилептогенезе [32, 85, 123]. Предполагают, что апоптоз астроцитов активируется во время и после судорожного приступа и может способствовать гибели нейронов и развитию эпилепсии [61]. В нашем же исследовании в височной доле у пациентов с ФРЭ наряду с апоптозом нейронов мы наблюдали апоптоз преимущественно олигодендроцитов как в коре, так и в белом веществе. И только единичные астроциты находились в состоянии апоптоза.

Есть данные, что НК-клетки могут индуцировать апоптоз как в нейронах, так и в зрелых олигодендроцитах посредством активации пути FAS–FAS-L [184]. Исследование на культуре олигодендроглиальных клеток крысы показало, что апоптоз олигодендроцитов в модели эпилепсии выше, чем в контроле [111].



Установлено, что при эпилепсии снижается количество зрелых олигодендроцитов и миелина [90]. Апоптоз может играть существенную роль в развитии клеточной потери и связанного с ней нарушения формирования миелиновых оболочек аксонов, в котором участвует олигодендроглия. Массовая демиелинизация волокон в эпилептическом очаге вызывает поперечную нейротрансмиссию и генерализацию нервных импульсов с одновременным вовлечением в эпилептогенез различных отделов головного мозга [104].

По результатам проведенного нами исследования с применением вестерн-блоттинга, обнаружено увеличенное содержание p53, а также повышенная экспрессия каспазы-9 и сниженная – полноразмерной каспазы-3 в биоптатах коры и белого вещества эпилептического очага. Полученные данные указывают на апоптоз, опосредованный внутренним митохондриальным путем. Повышенная экспрессия FAS-L свидетельствует также о наличии внешнего пути апоптоза. Кроме того, FAS-L-опосредованная активация иммунных клеток в белом веществе височной доли пациентов с ФРЭ может приводить к демиелинизации [184].

#### **4.4 Глиальный фибриллярный кислый белок**

ГФКБ представляет собой цитоскелетный белок, обнаруженный в астроглиальных клетках как в белом, так и в сером веществе [190]. Астроциты, экспрессирующие ГФКБ, играют решающую роль в ответе на повреждения нейронов, подвергаясь реактивному астроглиозу, характеризующемуся клеточной гипертрофией, пролиферацией астроцитов и увеличением экспрессии ГФКБ и образованию глиального рубца, который служит для защиты здоровых клеток от потенциального вреда, причиняемого вредными веществами [71, 149, 185].

В нашем исследовании мы наблюдали значительное увеличение экспрессии ГФКБ в тканях головного мозга как у детей, так и у взрослых пациентов с ФКД. Не было выявлено различий в экспрессии ГФКБ в зависимости

от пола пациента. Регрессионный анализ показал, что, хотя уровни ГФКБ были значительно повышены как в коре головного мозга, так и в белом веществе пациентов с эпилепсией во всех возрастных группах, не было статистически значимой разницы в экспрессии ГФКБ между детьми и взрослыми.

Отсутствие возрастной зависимости позволяет предположить, что реактивная продукция ГФКБ астроцитами не является специфичной для конкретной возрастной группы и подтверждает нашу гипотезу об общем патогенезе ФКБ-ассоциированной ФРЭ височной доли как у детей, так и у взрослых.

Глиальный рубец, образующийся в результате активации астроцитов, может оказывать эпилептогенное действие, как прямое, так и опосредованное, за счёт последующего действия цитокинов на астроциты [142]. Реактивные астроциты изменяют свои нормальные гомеостатические функции, такие как поглощение ионов калия, буферизация ионов, передача сигналов кальция и поглощение возбуждающих нейротрансмиттеров [144].

Обнаружена статистически значимая отрицательная корреляция между экспрессией ГФКБ и длительностью заболевания в белом веществе, тогда как в коре статистически значимых изменений не выявлено, что позволяет предположить ограничение репаративных процессов в нервной ткани. Кроме того, мы наблюдали положительную корреляцию между ГФКБ и виментином, S100 и каспазой-3. Это открытие демонстрирует функциональный синергизм между реактивными и защитными белками в ответ на апоптоз.

#### **4.5 Протекторный белок S100**

Белки S100 представляют собой разнообразную группу, состоящую из более чем 20 белков, которые связываются с  $Ca^{2+}$  и выполняют различные функции как внутриклеточно, так и внеклеточно [56]. Эти белки обладают специализацией благодаря своим уникальным паттернам клеточно-специфической экспрессии. S100 $\beta$ , специфичный для мозга, имеет два активных

центра связывания кальция [77, 95]. S100 $\beta$  участвует в повышении внутриклеточной концентрации кальция либо через кальций-зависимые каналы, либо через истощение запасов кальция [161]. Экзогенный S100 $\beta$  может способствовать выживанию нейронов и росту нейритов посредством паракринной, аутокринной или эндокринной передачи сигналов, тем самым влияя на когнитивные функции [187]. S100 $\beta$  также играет роль в модуляции глио-нейрональных взаимодействий, способствуя развитию мозга и синаптической передаче, потенциально через рецептор, связанный с G-белком (GPCR) [161]. Исследования показали, что белок S100 $\beta$  регулирует активацию ГФКБ, полимеризацию тубулина и репарацию ДНК [30]. Было показано, что на молекулярном уровне белки S100 $\beta$  модулируют различные биологические активности, такие как гомеостаз кальция, фосфорилирование белков, динамику цитоскелета, клеточный энергетический метаболизм, рост клеток, регуляцию пролиферации клеток, воспаление, а также нервную деятельность. проведение и передача импульса [20].

Наши результаты демонстрируют последовательное увеличение экспрессии S100 $\beta$  в эпилептическом очаге пациентов с ФРЭ на протяжении всего течения заболевания. Несколько исследований показали, что повышенные уровни S100 $\beta$  в спинномозговой жидкости и височной доле пациентов с эпилепсией могут быть связаны с повышенным производством или высвобождением дисфункциональными астроцитами [155].

Кроме того, мы наблюдали более высокую экспрессию белка S100 $\beta$  в белом веществе женщин по сравнению с мужчинами среди пациентов с ФРЭ, что подчеркивает важность изучения эпилептогенеза в зависимости от пола [3].

Интересно, что уровень экспрессии S100 $\beta$  в коре головного мозга и белом веществе оказался ниже у детей с ФРЭ по сравнению со взрослыми, страдающими эпилепсией. Это предполагает, что экспрессия белка может меняться с возрастом, подразумевая различные паттерны экспрессии у детей с эпилепсией.

Кроме того, мы обнаружили положительную корреляцию между экспрессией белка S100 $\beta$  в белом веществе и продолжительностью заболевания, а также экспрессией белка каспазы-3.

Повышенное присутствие S100 $\beta$  потенциально может иметь проапоптотические эффекты, поскольку было показано, что он усиливает экспрессию оксида азота (NO), что приводит к гибели нейронов и глиальных клеток и потенциально участвует в патогенезе эпилепсии [155]. Предыдущие исследования показали, что ингибирование NO может предотвратить судороги [82]. Хотя повышенные уровни белка при эпилепсии могут служить защитным и адаптивным клеточным ответом на повреждение фокальной зоны, длительная сверхэкспрессия может также способствовать апоптозу глии и нейронов, а также устойчивому нейровоспалению [168].

#### 4.6 Виментин

Существует значительный объём исследований, направленных на разработку патогенетических методов лечения, учитывающих молекулярно-генетический статус и экспрессию виментина в тканях головного мозга [47]. Виментин представляет собой белок промежуточных филаментов, обнаруженный в тканях мезодермального происхождения. В нормальной центральной нервной системе взрослого человека виментин экспрессируется в эндимимальных, эндотелиальных и менингеальных клетках, а также в некоторых субпиальных астроцитах и астроцитах белого вещества. В патологической ткани экспрессия виментина увеличивается в гипертрофированных астроцитах и реактивных микроглиальных/макрофагальных клетках [186].

В нашем исследовании мы наблюдали значительное увеличение экспрессии виментина в тканях головного мозга как у взрослых, так и у детей с ФРЭ. Мы также обнаружили, что на экспрессию виментина влияют возраст и пол. У детей помимо виментин-позитивных глиоцитов обнаружены виментин-позитивные нейроны. Виментин служит маркером незрелости нервной ткани,

поскольку он первоначально экспрессируется почти всеми предшественниками нейронов *in vivo*, а затем заменяется нейрофиламентами вскоре после того, как незрелые нейроны становятся постмитотическими [41]. Мы обнаружили статистически значимую отрицательную корреляцию между продолжительностью заболевания и экспрессией виментина, а также ГФКБ в коре головного мозга и белом веществе.

Виментин, наряду с ГФКБ, играет роль в регуляции ответа астроглии на воспаление путем модуляции везикулярного транспорта и гипертрофии астроцитов [127, 136, 180]. Виментин также имеет решающее значение для включения в ГФКБ-содержащие сети нестина и синемина, белков, синтезируемых астроцитами в ответ на нейротравму и необходимых для их активации [91]. Это говорит о том, что присутствие виментина более важно для активации астроцитов, чем присутствие ГФКБ. Полученные нами данные об уровнях экспрессии виментина и ГФКБ отражают динамическое развитие патологического процесса и каскадное взаимодействие этих белков.

Астроглиоз, возникающий в результате активации виментин- и ГФКБ-иммунореактивных астроцитов, играет полезную роль на острых стадиях ответа на повреждение. Однако на более поздних стадиях он ограничивает регенеративный потенциал, ухудшает нейрогенез в поврежденной области и способствует образованию рубцов [132, 180]. И наоборот, при астроглиозе с дефицитом виментина и ГФКБ в реактивных астроцитах наблюдается улучшение восстановления поврежденной ткани головного мозга [132, 180]. Кроме того, виментин участвует в регуляции роста аксонов, миелинизации, апоптоза и нейровоспаления [45]. Функции виментина, как и других цитоплазматических промежуточных филаментов, коррелируют с его способностью взаимодействовать с клеточными компонентами, участвующими в передаче сигналов, а также с киназами, контролирующими регуляторные сети генов. Исследования выявили новую форму виментина, присутствующую на поверхности плазматической мембраны или высвобождаемую во внеклеточную среду при различных физиологических и патологических состояниях. Регуляция

промотора виментина сложна и, по-видимому, включает комбинацию положительных и отрицательных регуляторных элементов [130].

#### **4.7 Периодизация заболевания**

По результатам исследования мы получили представление о динамике экспрессии белков в зависимости от длительности заболевания. У пациентов с ФКД-ассоциированной ФРЭ на ранних стадиях развития заболевания наблюдалось компенсаторное последовательное увеличение экспрессии цитоскелетных и защитных белков. В зависимости от давности заболевания можно наблюдать динамику прогрессирования нейродегенерации у больных ФРЭ. Эти изменения могут быть результатом истощения и изменения адаптивных реакций.

Свободные радикалы образуются в мозге, как и в других органах, и их количество пропорционально мозговой активности. Из-за своей низкой антиоксидантной способности мозг особенно чувствителен к повреждению свободными радикалами, которые могут влиять на липиды, нуклеиновые кислоты и белки. Имеющиеся данные указывают на роль окислительного стресса в гибели нейронов и патофизиологии эпилептогенеза и эпилепсии. Животные модели приступов и эпилепсии продемонстрировали проявления нейродегенерации в результате окислительного стресса: повреждение ДНК или митохондрий [110]. Таким образом, в зависимости от стадии заболевания при подборе терапии должны учитываться антиоксидантные свойства некоторых противосудорожных препаратов, а применение некоторых антиоксидантов (мелатонин, селен, витамин Е) может быть рекомендовано в качестве вспомогательных средств для пациентов с ФРЭ.

## 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 олигодендроглиоциты, 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 персонифицированного 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 СОКРАЩЕНИЙ**

AMPA рецепторы – рецепторы альфа-амино-3-гидрокси-5-метил-4-изоксазолпропионовой кислоты

NMDA рецепторы – рецепторы N-метил-D-аспартата

NO – оксид азота

ВБ – вестерн-блоттинг

ВЭ – височная эпилепсия

ГАМК – гамма-аминомасляная кислота

ГФКБ – глиальный фибриллярный кислый белок

ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота

ИГХИ – иммуногистохимическое исследование

МПЭЛ – Международная противоэпилептическая лига

РДИН – реактивно-деструктивные изменения нейронов

РНК – рибонуклеиновая кислота

СВЭ – структурная височная эпилепсия

ТЭМ – трансмиссионная электронная микроскопия

ФКД – фокальная кортикальная дисплазия

ФРЭ – фармакорезистентная эпилепсия

ФРЭС – фактор роста эндотелия сосудов

Э – эпилепсия

ЭЛЭП – эпилептическая лейкоэнцефалопатия

**СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ**

1. Абу Али ибн Сина (Авиценна), Канон врачебной науки. В 5-и книгах. Перевод с арабского М. А. Салье [и др.]. – Ташкент: "Фан", 1981, т. 1: 550 с.
2. Айвазян, С. О. Современные возможности лечения фармакорезистентной эпилепсии у детей / С. О. Айвазян, Е. Г. Лукьянова, Ю. С. Ширяев // Эпилепсия и пароксизмальные состояния. – 2014. – Т. 6. – № 1. – С. 34–43.
3. Персонализированное лечение эпилепсии: гендерные особенности коморбидных аффективных расстройств при фармакорезистентной эпилепсии у пациентов нейрохирургического профиля / В. Д. Банникова, К. А. Самочерных, Н. О. Деньгина [и др.] // Российский журнал персонализированной медицины. – 2022. – № 2. – С. 63–72.
4. Белоусова, Е. Д. Внезапная смерть и генетические эпилептические энцефалопатии: роль нейрокардиальных генов / Е. Д. Белоусова, М. А. Школьникова // Эпилепсия и пароксизмальные состояния. – 2018. – Т. 3. – № 10. – С. 63–70.
5. Вересов, В. Г. Структурная биология апоптоза: монография / Вересов В. Г. – Минск: Белорусская наука, 2008. – 398 с.
6. Гайкова, О. Н. Значение повреждения белого вещества головного мозга в патогенезе локально обусловленной эпилепсии / О. Н. Гайкова, А. В. Суворов, Н. М. Парамонова // Российский нейрохирургический журнал им. А. Л. Поленова. – 2011. – Т. 1. – № 3. – С. 19–24.
7. Геродот. История в девяти книгах : В 9 т. Т. 5. / под ред. С. Л. Утченко. – Л.: «Наука», 1972. – 487 с.
8. Зенков, Л. Р. Фармакорезистентные эпилепсии: Руководство для врачей / Л. Р. Зенков, А. Г. Притыко. – М. : МЕДпресс-информ, 2003. – 208 с.
9. Зенков, Л. Р. Клиническая эпилептология (с элементами нейрофизиологии): руководство для врачей / Л. Р. Зенков. – М. : МИА, 2010. – 408 с.
10. Карлов, В. А. Эпилепсия как клиническая и нейрофизиологическая проблема / В. А. Карлов // Журнал неврологии и психиатрии. – 2000. – Т. 100. – № 9. – С. 7–15.

11. Карлов, В. А. Судорожный эпилептический статус / В. А. Карлов. – М. : МЕДпресс-информ, 2003. – 176 с.
12. Ковалевский, П. И. Психиатрические этюды из истории / П. И. Ковалевский. М. : Терра, 1995. – 452 с.
13. Котов, А. С. Фармакорезистентная эпилепсия. Клиническая лекция / А. С. Котов, К. В. Фирсов, Е. А. Санду // РМЖ. – 2021. – № 6. – С. 33–39.
14. Влияние степени выраженности глиоза мозга на тяжесть течения заболевания у больных с медикаментозно-резистентными формами локально обусловленной эпилепсии / Ю. А. Медведев, В. П. Берснев, В. Р. Касумов [и др.] // Нейрохирургия. – 2010. – № 4. – С. 65–69.
15. Мухин, К. Ю. Фокальные кортикальные дисплазии: клиничко-электро-нейровизуализационные характеристики / К. Ю. Мухин // Русский журнал детской неврологии. – 2016. – Т. 2. – № 11. – С. 8–24.
16. Новожилова, А. П. Клеточный глиоз белого вещества большого мозга человека и его значение в патогенезе очаговой эпилепсии / А. П. Новожилова, О. Н. Гайкова // Морфология. – 2001. – № 2. – С. 20–24.
17. Апоптоз клеток головного мозга в эпилептических очагах при фармакорезистентной височной эпилепсии / Т. В. Соколова, Ю. М. Забродская, Н. М. Парамонова [и др.] // Трансляционная медицина. – 2017. – Т. 6. – № 4. – С. 22–33.
18. Глионейрональный апоптоз и нейровоспаление при фармакорезистентной височной эпилепсии / Т. В. Соколова, А. В. Литовченко, Н. М. Парамонова [и др.] // Неврология, нейропсихиатрия, психосоматика. – 2023. – Т. 1. – № 15. – С. 36–42.
19. Якушева, Е. Н. Гликопротеин-P: структура, физиологическая роль и молекулярные механизмы модуляции функциональной активности / Е. Н. Якушева [и др.] // Успехи физиологических наук. – 2014. – Т. 45. – № 4. – С. 90–98.
20. S100B expression in and effects on microglia / C. Adami, G. Sorci, E. Blasi [et al.] // Glia. – 2001. – Vol. 33. – Is. 2. – P. 131–142.

21. Adams, F. Hippocrates: on the sacred disease. The genuine works of Hippocrates (from 1946 reprint of 1849 original) / F. Adams. – Huntington, N.Y.: Robert E. Krueger Publishing Co., 1972.
22. D-Ribose-L-Cysteine improves glutathione levels, neuronal and mitochondrial ultrastructural damage, Caspase-3 and GFAP expressions following manganese-induced neurotoxicity / G. T. Akingbade, O. M. Ijomone, A. Imam [et al.] // Neurotoxicity research. – 2021. – Vol. 39. – Is. 6. – P. 1846–1858.
23. Allen, P. J. EEG Instrumentation and Safety / P. J. Allen. - Germany: Springer, 2009. – 133 p.
24. Microanatomy of the dysplastic neocortex from epileptic patients / L. Alonso-Nanclares, R. Garbelli, R. G. Sola [et al.] // Brain. – 2005. – Vol. 128. – P. 158–173.
25. Human cortical dysplasia and epilepsy: an ontogenetic hypothesis based on volumetric MRI and NeuN neuronal density and size measurements / M. Andres, V. M. Andre, S. Nguyen [et al.] // Cerebral Cortex. – 2005. – Vol. 15. – P. 194–210.
26. Armangue, T. Frequency, symptoms, risk factors, and outcomes of autoimmune encephalitis after herpes simplex encephalitis: a prospective observational study and retrospective analysis / T. Armangue [et al.] // Lancet Neurology. – 2018. – Vol. 17. – Is. 9. – P. 760–772.
27. Expression of connexin 43 and connexin 32 gapjunction proteins in epilepsy-associated brain tumors and in the perilesional epileptic cortex / E. Aronica, J. A. Gorter, G. H. Jansen [et al.] // Acta Neuropathology. – 2001. – Vol. 101. – Is. 5. – P. 449–459.
28. Caspase-3: Structure, function, and biotechnological aspects / M. Asadi, S. Taghizadeh, E. Kaviani [et al.] // Biotechnology and Applied Biochemistry. – 2022. – Vol. 69. – Is. 4. – P. 1633–1645.
29. Quantitative cytoarchitectonic distribution of neurons, glia, and DNA in rat cerebral cortex / N. H. Bass, H. H. Hess, A. Pope [et al.] // The Journal of comparative neurology. – 1971. – Vol. 143. – Is. 4. – P. 481–490.



30. Comparison of S100b protein with calmodulin: interactions with melittin and microtubule-associated tau proteins and inhibition of phosphorylation of tau proteins by protein kinase C / J. Baudier, D. Mochly-Rosen, A. Newton [et al.] // *Biochemistry*. – 1987. – Vol. 26. – Is. 10. – P. 2886–2893.
31. Epilepsy priorities in Europe: A report of the ILAE-IBE Epilepsy Advocacy Europe Task Force / M. Baulac, H. de Boer, C. Elger [et al.] // *Epilepsia*. – 2015. – Vol. 56. – Is. 11. – P. 1687–1695.
32. Astrocyte uncoupling as a cause of human temporal lobe epilepsy / P. Bedner, A. Dupper, K. Huttmann [et al.] // *Brain*. – 2015. – Vol. 138. – Is. 5. – P. 1208–1222.
33. Beghi, E. Prevalence of epilepsy – an unknown quantity / E. Beghi, D. Hesdorffer // *Epilepsia*. – 2014. – Vol. 55. – Is. 7. – P. 963–967.
34. Beghi, E. The Epidemiology of Epilepsy / E. Beghi // *Neuroepidemiology*. – 2020. – Vol. 54. – Is. 2. – P. 185–191.
35. Berg, A. T. Defining intractable epilepsy / A. T. Berg // *Advances in Neurology*. – 2006. – Vol. 97. – P. 5–10.
36. Prevalence of epilepsy in the Parsi community of Bombay / N. E. Bharucha, E. P. Bharucha, A. E. Bharucha [et al.] // *Epilepsia*. – 1988. – Vol. 29. – Is. 2. – P. 111–115.
37. Ultrastructural changes in the brain capillaries after hypoxia / A. Binovský, T. Remis, J. Benuska [et al.] // *Folia Morphologica*. – 1990. – Vol. 38. – Is. 3. – P. 236–240.
38. International recommendation for a comprehensive neuropathologic workup of epilepsy surgery brain tissue: a consensus task force report from the ILAE commission on diagnostic Methods / I. Blumcke, E. Aronica, H. Miyata [et al.] // *Epilepsia*. – 2016. – Vol. 57. – Is. 3. – P. 348–358.
39. Toward a better definition of focal cortical dysplasia: an iterative histopathological and genetic agreement trial / I. Blumcke, R. Coras, R. M. Busch [et al.] // *Epilepsia*. – 2021. – Vol. 62. – Is. 6. – P. 1416–1428.
40. Boison, D. Epilepsy and astrocyte energy metabolism / D. Boison, C. Steinhäuser // *Glia*. – 2018. – Vol. 66. – Is. 6. – P. 1235–1243.

41. Boyne, L. J. Role of vimentin in early stages of neuritogenesis in cultured hippocampal neurons / L. J. Boyne, I. Fischer, T. B. Shea // *International journal of developmental neuroscience: the official journal of the International Society for Developmental Neuroscience*. – 1996. – Vol. 14. – Is. 6. – P. 739–748.
42. Camfield, P. Incidence, prevalence and aetiology of seizures and epilepsy in children / P. Camfield, C. Camfield // *Epileptic Disorders*. – 2015. – Vol. 17. – Is. 2. – P. 117–123.
43. Catafau, A. M. Brain SPECT in clinical practice. Part I: Perfusion / A. M. Catafau // *Journal of Nuclear Medicine*. – 2001. – Vol. 42. – P. 259–271.
44. Immature neurons and GABA networks may contribute to epileptogenesis in pediatric cortical dysplasia / C. Cepeda, V. M. André, N. Wu [et al.] // *Epilepsia*. – 2007. – Vol. 48. – P. 79–85.
45. Vimentin as a potential target for diverse nervous system diseases / K. Z. Chen, S. X. Liu, Y. W. Li [et al.] // *Neural regeneration research*. – 2023. – Vol. 18. – Is. 5. – P. 969–975.
46. Chen, M. H. Caspase cleavage of GFAP produces an assembly-compromised proteolytic fragment that promotes filament aggregation / M. H. Chen [et al.] // *ASN Neuro*. – 2013. – Vol. 5. – P. 293–308.
47. Increased number of neural progenitors in human temporal lobe epilepsy / A. Crespel, V. Rigau, P. Coubes [et al.] // *Neurobiology of disease*. – 2005. – Vol. 19. – Is. 3. – P. 436–450.
48. Differential expression of glutamate and GABA-A receptor subunit mRNA in cortical dysplasia / P. B. Crino, A. C. Duhaime, G. Baltuch [et al.] // *Neurology*. – 2001. – Vol. 56. – P. 906–913.
49. Crunelli, V. Novel astrocyte targets: new avenues for the therapeutic treatment of epilepsy / V. Crunelli, G. Carmignoto, C. Steinhäuser // *The Neuroscientist: a review journal bringing neurobiology, neurology and psychiatry*. – 2015. – Vol. 21. – Is. 1. – P. 62–83.

50. Dahl, D. The vimentin-GFA protein transition in rat neuroglia cytoskeleton occurs at the time of myelination / D. Dahl // *Journal of Neuroscience Research*. – 1981. – Vol. 6. – Is. 6. – P. 741–748.
51. DeFazio, R. A. Alterations in NMDA receptors in a rat model of cortical dysplasia / R. A. DeFazio, J. J. Hablitz // *Journal of Neurophysiology*. – 2000. – Vol. 83. – P. 315–321.
52. Nuclear expression of S100B in oligodendrocyte progenitor cells correlates with differentiation toward the oligodendroglial lineage and modulates oligodendrocytes maturation / J. C. Deloulme, E. Raponi, B. J. Gentil [et al.] // *Molecular and Cellular Neuroscience*. – 2004. – Vol. 27. – Is. 4. – P. 453–465.
53. Calcium-dependent interaction of S100B with the C-terminal domain of the tumor suppressor p53 / C. Delphin, M. Ronjat, J. C. Deloulme [et al.] // *Journal of Biological Chemistry*. – 1999. – Vol. 274. – P. 10539–10544.
54. Glia and epilepsy: excitability and inflammation / O. Devinsky, A. Vezzani, S. Najjar [et al.] // *Trends Neurosciences*. – 2013. – Vol. 36. – Is. 3. – P. 174-184.
55. Parcellation of human temporal polar cortex: a combined analysis of multiple cytoarchitectonic, chemoarchitectonic, and pathological markers / S. L. Ding, Van G. W. Hoesen, M. D. Cassell [et al.] // *Journal of Comparative Neurology*. – 2009. – Vol. 514. – P. 595–623.
56. Donato, R. S100: a multigenic family of calcium-modulated proteins of the EF-hand type with intracellular and extracellular functional roles / R. Donato // *The international journal of biochemistry & cell biology*. – 2001. – Vol. 33. – Is. 7. – P. 637–668.
57. Doose, H. Genetic factors in epilepsies with primary generalized minor seizures / H. Doose, W. K. Baier [et al.] // *Neuropediatrics*. – 1987. – Vol. 1. – P. 1–64.
58. Dossi, E. Human astrocytes in the diseased brain / E. Dossi, F. Vasile, N. Rouach // *Brain research bulletin*. – 2018. – Vol. 136. – P. 139–156.
59. Eng, L. F. Glial fibrillary acidic protein: GFAP-thirty-one years (1969-2000) / L. F. Eng [et al.] // *Neurochemistry Research*. – 2000. – Vol. 25. – P. 1439–1451.

60. Engel, J. A proposed diagnostic scheme for people with epileptic seizures and with epilepsy: report of the ILAE Task Force on Classification and Terminology / J. Engel, Jr, & International League Against Epilepsy // *Epilepsia*. – 2001. – Vol. 42. – Is. 6. – P. 796–803.
61. Engel, T. Bcl-2 family proteins and caspases: the ABCs of seizure-damage and epileptogenesis? / T. Engel, D. C. Henshall // *International journal of physiology, pathophysiology and pharmacology*. – 2009. – Vol. 1. – Is. 2. – P. 97–115.
62. Falat, E. J. Laminin-111 mutant studies reveal a hierarchy within laminin-111 genes in their requirement for basal epithelial tissue folding / E. J. Falat, G. C. Voit, J. H. Gutzman // *Developmental Biology*. – 2022. – Vol. 492. – P. 172–186.
63. miR-15a inhibits cell apoptosis and inflammation in a temporal lobe epilepsy model by downregulating GFAP / Y. Fan, W. Wang, W. Li [et al.] // *Molecular medicine reports*. – 2020. – Vol. 22. – Is. 4. – P. 3504–3512.
64. CD34-immunoreactive balloon cells in cortical malformations / S. Fauser, A. Becker, A. Schulze-Bonhage [et al.] // *Acta Neuropathologica*. – 2004. – Vol. 108. – P. 272–278.
65. Fernandez-Baca, V. G. Epileptic seizure semiology in different age groups / V. G. Fernandez-Baca [et al.] // *Epileptic Disorders*. – 2018. – Vol. 20. – Is. 3. – P. 179–188.
66. Parvalbumin and calbindin-D28k immunocytochemistry in human neocortical epileptic foci / I. Ferrer, B. Oliver, A. Russi [et al.] // *Journal of the Neurological Sciences*. – 1994. – Vol. 123. – Is. 1. – P. 18–25.
67. Prevalence and incidence of epilepsy: A systematic review and meta-analysis of international studies / K. M. Fiest, K. M. Sauro, S. Wiebe [et al.] // *Neurology*. – 2017. – Vol. 88. – Is. 3. – P. 296–303.
68. Epileptic seizures and epilepsy: Definition proposed by the International League Against Epilepsy and the International Bureau for Epilepsy / R. S. Fisher, W. V. Boas, W. T. Blume [et al.] // *Epilepsia*. – 2005. – Vol. 46. – Is. 4. – P. 470–472.
69. Fonseca, C. G. Upregulation in astro-cytic connexin 43 gap junction levels may exacerbate generalized seizures in mesial temporal lobe epilepsy / C. G. Fonseca,

- C. R. Green, L. F. Nicholson // *Brain Research*. – 2002. – Vol. 929. – Is. 1. – P. 105–116.
70. Molecular mimicry, bystander activation, or viral persistence: infections and autoimmune disease / R. S. Fujinami, M. G. von Herrath, U. Christen [et al.] // *Clinical Microbiology Reviews*. – 2006. – Vol. 19. – Is. 1. – P. 80–94.
71. Gadea, A. Endothelin-1 regulates astrocyte proliferation and reactive gliosis via a JNK/c-Jun signaling pathway / A. Gadea, S. Schinelli, V. Gallo // *The Journal of neuroscience: the official journal of the Society for Neuroscience*. – 2008. – Vol. 28. – Is. 10. – P. 2394–2408.
72. Taylor's cortical dysplasia: a confocal and ultrastructural immunohistochemical study / R. Garbelli, C. Munari, S. De Biasi [et al.] // *Brain Pathology*. – 1999. – Vol. 9. – Is. 3. – P. 445–461.
73. GBD 2016 Neurology Collaborators. Global, regional, and national burden of neurological disorders, 1990-2016: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2016 / *Lancet Neurology*. – 2019. – Vol. 18. – P. 357–375.
74. ILAE treatment guidelines: evidence-based analysis of antiepileptic drug efficacy and effectiveness as initial monotherapy for epileptic seizures and syndromes / T. Glauser, E. Ben Menachem, B. Bourgeois [et al.] // *Epilepsia*. – 2006. – Vol. 47. – Is. 7. – P. 1094–1120.
75. Cell cycle molecules define a pathway required for neuron death in development and disease / L. A. Greene, D. X. Liu, C. M. Troy [et al.] // *Biochim. Biophys. Acta*. – 2007. – Vol. 1772. – Is. 4. – P. 392–401.
76. Gresa-Arribas, N. Antibody titres at diagnosis and during follow-up of anti-NMDA receptor encephalitis: a retrospective study / N. Gresa-Arribas [et al.] // *Lancet Neurology*. – 2014. – Vol. 13. – Is. 2. – P. 167–77.
77. Overexpression of the neurotrophic cytokine S100 beta in human temporal lobe epilepsy / W. S. Griffin, O. Yeralan, J. G. Sheng [et al.] // *Journal of Neurochemistry*. – 1995. – Vol. 65. – Is. 1. – P. 228–233.
78. Guerrini, R. Epilepsy in children / R. Guerrini // *Lancet (London, England)*. – 2006. – Vol. 367. – P. 499–524.

79. Gulbransen, B. D. Novel functional roles for enteric glia in the gastrointestinal tract / B. D. Gulbransen, K. A. Sharkey // *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*. – 2012. – Vol. 9. – P. 625–632.
80. Caspase-3 and GFAP as early markers for apoptosis and astrogliosis in shRNA-induced hippocampal cytotoxicity / A. Günther, V. Luczak, T. Abel [et al.] // *The Journal of Experimental Biology*. – 2017. – Vol. 220. – P. 1400–1404.
81. Hagemann, T. L. Alexander Disease-Associated Glial Fibrillary Acidic Protein Mutations in Mice Induce Rosenthal Fiber Formation and a White Matter Stress Response / T. L. Hagemann [et al.] // *Journal of Neuroscience*. – 2006. – Vol. 26. – P. 11162–11173.
82. New insights into the role of neuron-specific enolase in neuro-inflammation, neurodegeneration, and neuroprotection / A. Haque, R. Polcyn, D. Matzelle [et al.] // *Brain Sciences*. – 2018. – Vol. 8. – Is. 2. – P. 33.
83. Hauser, W. A. Incidence of epilepsy and unprovoked seizures in Rochester, Minnesota: 1935-1984 / W. A. Hauser, J. F. Annegers, L. T. Kurland // *Epilepsia*. – 1993. – Vol. 34. – Is. 3. – P. 453–468.
84. Magnetic resonance imaging for the diagnosis of Parkinson's disease / B. Heim, F. Krismer, R. De Marzi [et al.] // *Journal of Neural Transmission*. – 2017. – Vol. 124. – P. 915–964.
85. Henshall, D. C. Epilepsy and apoptosis pathways / D. C. Henshall, R. P. Simon // *Journal of cerebral blood flow and metabolism: official journal of the International Society of Cerebral Blood Flow and Metabolism*. – 2005. – Vol. 25. – Is. 12. – P. 1557–1572.
86. Henshall, D. C. Contribution of apoptosis-associated signaling pathways to epileptogenesis: lessons from Bcl-2 family knockouts / D. C. Henshall, T. Engel // *Frontiers in Cellular Neuroscience*. – 2013. – Vol. 7. – P. 1–11.
87. Herschman, H. R. Micro-PET imaging and small animal models of disease / H. R. Herschman // *Current Opinion in Immunology*. – 2003. – Vol. 5. – P. 378–384.
88. Focal cortical dysplasia in children / A. Hilbig, T. L. Babb, I. Najm [et al.] // *Developmental Neuroscience*. – 1999. – Vol. 21. – P. 271–280.

89. Neuropathological spectrum of cortical dysplasia in children with severe focal epilepsies / M. Hildebrandt, T. Pieper, P. Winkler [et al.] // *Acta Neuropathologica*. – 2005. – Vol. 110. – P. 1–11.
90. The relationship between the occurrence of intractable epilepsy with glial cells and myelin sheath – an experimental study / X. Hu, J. Y. Wang, R. Gu [et al.] // *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*. – 2016. – Vol. 20. – P. 4516–4524.
91. Synemin is expressed in reactive astrocytes in neurotrauma and interacts differentially with vimentin and GFAP intermediate filament networks / R. Jing, U. Wilhelmsson, W. Goodwill [et al.] // *Journal of Cell Science*. – 2007. – Vol. 120. – P. 1267–1277.
92. Kim, S. H. Pathological classification of focal cortical dysplasia (FCD): personal comments for well understanding FCD classification / S. H. Kim, J. Choi // *Journal of Korean Neurosurgical Society*. – 2019. – Vol. 62. – Is. 3. – P. 288–295.
93. King, D. Bilateral hippocampal atrophy in medial temporal lobe epilepsy / D. King [et al.] // *Epilepsia*. – 1995. – Vol. 36. – Is. 9. – P. 905–910.
94. The multifaceted role of astrocytes in regulating myelination / H. Kıray, S.L. Lindsay, S. Hosseinzadeh [et al.] // *Experimental Neurology*. – 2016. – Vol. 283. – P. 541–549.
95. Serum S-100B protein as a biochemical marker of brain injury: a review of current concepts / S. Korfias, G. Stranjalis, A. Papadimitriou [et al.] // *Current Medicinal Chemistry*. – 2006. – Vol. 13. – Is. 30. – P. 3719–3731.
96. Kotagal, P. *Treatment of Epilepsy: Principles and Practice* / ed. Wylle E. Baltimore: Willams & Wilkins, 1997. – 400 p.
97. Kwan, P. Epilepsy after the first drug fails: substitution or add-on? / P. Kwan, M. J. Brodie // *Seizure*. – 2000. – Vol. 9. – Is. 7. – P. 464–468.
98. Kwan, P. Early identification of refractory epilepsy / P. Kwan, M. J. Brodie // *The New England Journal of Medicine*. – 2000. – Vol. 342. – Is. 5. – P. 314–319.
99. Kwan, P. Refractory epilepsy: mechanisms and solutions / P. Kwan, M. J. Brodie // *Expert Review of Neurotherapeutics*. – 2006. – Vol. 6. – Is. 3. – P. 397–406.

100. Definition of drug resistant epilepsy / P. Kwan, A. Arzimanoglou, A. T. Berg [et al.] // *Epilepsia*. – 2010. – Vol. 51. – Is. 6. – P. 1069–1077.
101. Kwan, P. Drug-resistant epilepsy / P. Kwan, S. C. Schachter, M. J. Brodie // *New England Journal of Medicine*. – 2011. – Vol. 365. – Is. 10. – P. 919–926.
102. Lai, C. W. History of epilepsy in Chinese traditional medicine / C. W. Lai, Y. H. Lai // *Epilepsia*. – 1991. – Vol. 32. – Is. 3. – P. 299–302.
103. Lee, H. J. Recent Understandings of Biology, Prophylaxis and Treatment Strategies for Hypertrophic Scars and Keloids / H. J. Lee, Y. J. Jang // *International Journal of Molecular Sciences*. – 2018. – Vol. 19. – Is. 3. – P. 711.
104. Chronic demyelination-induced seizures / A. S. Lapato, J. I. Szu, J. P. C. Hasselmann [et al.] // *Neuroscience*. – 2017. – Vol. 27. – P. 409–422.
105. Laranjeira, C. Glial cells in the mouse enteric nervous system can undergo neurogenesis in response to injury / C. Laranjeira [et al.] // *Journal of Clinical Investigation*. – 2011. - Vol. 121. – P. 3412–3424.
106. Which electroencephalography (EEG) for epilepsy? The relative usefulness of different EEG protocols in patients with possible epilepsy / J. P. Leach, L. J. Stephen, C. Salveta [et al.] // *Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry*. – 2006. – Vol. 77. – P. 1040–1042.
107. Clinical and imaging features of cortical malformations in childhood / R. J. Leventer, E. M. Phelan, L. T. Coleman [et al.] // *Neurology*. – 1999. – Vol. 53. – Is. 4. – P. 715–722.
108. Lowenstein, D. H. Interview: the National Institute of Neurological Diseases and Stroke/American Epilepsy Society benchmarks and research priorities for epilepsy research / D. H. Lowenstein // *Biomarkers in Medicine*. – 2011. – Vol. 5. – Is. 5. – P. 531–535.
109. Luders, H. O. Textbook of epilepsy surgery / H. O. Luders. – London : CRC Press, 2008. – 1648 p.
110. Łukawski, K. Oxidative Stress and Neurodegeneration in Animal Models of Seizures and Epilepsy / K. Łukawski, S. J. Czuczwar // *Antioxidants*. – 2023. – Vol. 12. – Is. 5. – P. 1049.



111. Fyn gene silencing reduces oligodendrocytes apoptosis through inhibiting ERK1/2 phosphorylation in epilepsy / X. Luo, Z. Li, J. Zhao [et al.] // *Artificial Cells Nanomedicine and Biotechnology* – 2020. – Vol. 48. – Is. 1. – P. 298–304.
112. Magiorkinis, E. Hallmarks in the history of epilepsy: epilepsy in antiquity / E. Magiorkinis, K. Sidiropoulou, A. Diamantis // *Epilepsy & Behavior*. – 2010. – Vol. 17. – Is. 1. – P. 103–108.
113. Insufficient folding of type IV collagen and formation of abnormal basement membrane-like structure in embryoid bodies derived from Hsp47-null embryonic stem cells / Y. Matsuoka, H. Kubota, E. Adachi [et al.] // *Molecular Biology of the Cell*. – 2004. – Vol. 15. – Is. 10. – P. 4467–4475.
114. Monoclonal antibodies against chicken type IV and V collagens: electron microscopic mapping of the epitopes after rotary shadowing / R. Mayne, H. Wiedemann, M. H. Irwin [et al.] // *Journal of Cell Biology*. – 1984. – Vol. 98. – Is. 5. – P. 1637–1644.
115. Applications of cerebral SPECT / C. McArthur, R. Jampana, J. Patterson [et al.] // *Clinical Radiology*. – 2011. – Vol. 66. – P. 651–661.
116. Messing, A. Alexander Disease / A. Messing [et al.] // *Journal of Neuroscience*. – 2012. – Vol. 32. – P. 5017–5023.
117. The expanding phenotype of COL4A1 and COL4A2 mutations: clinical data on 13 newly identified families and a review of the literature / M. E. Meuwissen, D. J. Halley, L. S. Smit [et al.] // *Genetics in Medicine*. – 2015. – Vol. 17. – Is. 11. – P. 843–853.
118. The S100B story: from biomarker to active factor in neural injury / F. Michetti, N. D'Ambrosi, A. Toesca [et al.] // *Journal of Neurochemistry*. – 2019. – Vol. 148. – Is. 2. – P. 168–187.
119. Postnatal development of glial fibrillary acidic protein, vimentin and S100 protein in monkey visual cortex: evidence for a transient reduction of GFAP immunoreactivity / M. Missler, S. Eins, H. Böttcher [et al.] // *Brain research. Developmental brain research*. – 1994. – Vol. 82. – Is. 1. – P. 103–117.

120. Cell Type-Specific Roles of NF- $\kappa$ B Linking Inflammation and Thrombosis / M. Mussbacher, M. Salzmann, C. Brostjan [et al.] / *Frontiers in Immunology*. – 2019. – Vol. 10. – P. 85.
121. Epileptogenicity correlated with increased N-methyl-D-aspartate receptor subunit NR2A/B in human focal cortical dysplasia / I. M. Najm, Z. Ying, T. Babb [et al.] // *Epilepsia*. - 2000. – Vol. 41. – P. 971–976.
122. The ILAE consensus classification of focal cortical dysplasia: An update proposed by an ad hoc task force of the ILAE diagnostic methods commission / I. Najm, D. Lal, M. Alonso Vanegas [et al.] // *Epilepsia*. – 2022. – Vol. 63. – Is. 8. – P. 1899–1919.
123. Expression and activation of caspase 3 following status epilepticus in the rat / S. Narkilahti, T. J. Pirttilä, K. Lukasiuk [et al.] // *The European Journal of Neuroscience*. – 2003. – Vol. 18. – Is. 6. – P. 1486–1496.
124. Neligan, A. The epidemiology of the epilepsies / A. Neligan, W. A. Hauser, J. W. Sander // *Handbook of Clinical Neurology*. - 2012. – Vol. 107. – P. 113–133.
125. Odéen, H. Magnetic resonance thermometry and its biological applications—Physical principles and practical considerations / H. Odéen, D. L. Parker // *Progress in Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy*. – 2019. – Vol. 110. – P. 34–61.
126. Ohkawa, T. Autoantibodies to epilepsy-related LGI1 in limbic encephalitis neutralize LGI1-ADAM22 interaction and reduce synaptic AMPA receptors / T. Ohkawa [et al.] // *Journal of Neuroscience*. – 2013. – Vol. 33. – Is. 46. – P. 18161–18174.
127. Characterization of Vimentin-Immunoreactive Astrocytes in the Human Brain / L. A. O'Leary, M. A. Davoli, C. Belliveau [et al.] // *Frontiers in Neuroanatomy*. – 2020. – Vol. 14. – P. 31.
128. Terminology and classification of the cortical dysplasias / A. Palmieri, I. Najm, G. Avanzini [et al.] // *Neurology*. – 2004. – Vol. 62. – P. 2–8.

129. Characterisation of medullary astrocytic populations in respiratory nuclei and alterations in sudden unexpected death in epilepsy / S. Patodia, B. Paradiso, M. Ellis [et al.] // *Epilepsy Research*. – 2019. – Vol. 157. – P. 1–11.
130. Vimentin: Regulation and pathogenesis / D. Paulin, A. Lilienbaum, S. Kardjian [et al.] // *Biochimie*. – 2022. – Vol. 197. – P. 96–112.
131. Astrocytes: a central element in neurological diseases / M. Pekny, M. Pekna, A. Messing [et al.] // *Acta Neuropathologica*. – 2016. – Vol. 131. – Is. 3. – P. 323–345.
132. Astrocyte activation and reactive gliosis-A new target in stroke? / M. Pekny, U. Wilhelmsson, T. Tatlisumak [et al.] // *Neuroscience letters*. – 2019. – Vol. 689. – P. 45–55.
133. Neutrophils: many ways to die / E. Pérez-Figueroa, P. Álvarez-Carrasco, E. Ortega [et al.] // *Frontiers in Immunology*. – 2021. – Vol. 12. – Art. 631821.
134. Peteri, U. K. Astrocytes in Neuropathologies Affecting the Frontal Cortexm / U. K. Peteri, M. Niukkanen, M. L. Castrén // *Frontiers in Cellular Neuroscience*. – 2019. – Vol. 13. – P. 1–9.
135. Pöschl, E. The genes for the alpha 1(IV) and alpha 2(IV) chains of human basement membrane collagen type IV are arranged head-to-head and separated by a bidirectional promoter of unique structure / E. Pöschl, R. Pollner, K. Kühn // *EMBO Journal*. – 1988. – Vol. 7. – Is. 9. – P. 2687–2695.
136. Intermediate filaments attenuate stimulation-dependent mobility of endosomes/lysosomes in astrocytes / M. Potokar, M. Stenovec, M. Gabrijel [et al.] // *Glia*. – 2010. – Vol. 58. – Is. 10. – P. 1208–1219.
137. Priyanka, A. Introduction to EEG-and Speech-Based Emotion Recognition / A. Priyanka. – London, UK: Academic Press, 2016. – 198 p.
138. Quinlan, R.A. GFAP and its role in Alexander disease / R.A. Quinlan [et al.] // *Experimental Cell Research*. – 2007. – Vol. 313. – P. 2077–2087.
139. Rakic, P. Specification of cerebral cortical areas / P. Rakic // *Science*. – 1988. – Vol. 241. – P. 170–176.

140. High mobility group box 1 is a novel pathogenic factor and a mechanistic biomarker for epilepsy / T. Ravizza, G. Terrone, A. Salamone [et al.] // *Brain, Behavior, and Immunity*. – 2017. – P. 14–21.
141. Risacher, S. L. Neuroimaging in aging and neurologic diseases / S. L. Risacher, A. J. Saykin // *Handbook of Clinical Neurology*. – 2019. – Vol. 167. – P. 191–227.
142. Reactive astrogliosis causes the development of spontaneous seizures / S. Robel, S. C. Buckingham, J. L. Boni [et al.] // *The Journal of Neuroscience*. – 2015. – Vol. 35. – Is. 8. – P. 3330–3345.
143. Trajectories of brain remodeling in temporal lobe epilepsy / E. Roggenhofer, E. Santarnecchi, S. Muller [et al.] // *Journal of Neurology*. – 2019. – Vol. 266. – Is. 12. – P. 3150–3159.
144. Rossi, D. Astrocytic dysfunction: insights on the role in neurodegeneration / D. Rossi, A. Volterra // *Brain Research Bulletin*. – 2009. – Vol. 80. – Is. 4. – P. 224–232.
145. Functional Imbalance of Glutamate- and GABAergic Neuronal Systems in the Pathogenesis of Focal Drug-Resistant Epilepsy in Humans / T. A. Sazhina, D. A. Sitovskaya, Y. M. Zabrodskaia [et al.] // *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. – 2020. – Vol. 168. – Is. 4. – P. 529–532.
146. Scheffer, I. E. ILAE classification of the epilepsies: position paper of the ILAE Commission for Classification and Terminology / I. E. Scheffer [et al.] // *Epilepsia*. – 2017. – Vol. 58. – Is. 4. – P. 512–521.
147. Schubert, R. D. A tale of two approaches: how metagenomics and proteomics are shaping the future of encephalitis diagnostics / R. D. Schubert, M. R. Wilson // *Current Opinion in Neurology*. – 2015. – Vol. 28. – Is. 3. – P. 283–287.
148. Mild malformation of cortical development with oligodendogial hyperplasia in frontal lobe epilepsy: a new clinico-pathological entity / J. Schurr, R. Coras, K. Rössler [et al.] // *Brain Pathology*. – 2017. – Vol. 27. – Is. 1. – P. 26–35.
149. Repetitive Diffuse Mild Traumatic Brain Injury Causes an Atypical Astrocyte Response and Spontaneous Recurrent Seizures / O. Shandra, A. R. Winemiller, B.

- P. Heithoff [et al.] // *The Journal of Neuroscience*. – 2019. – Vol. 39. – Is. 10. – P. 1944–1963.
150. Evolution of increased glia-neuron ratios in the human frontal cortex / C. C. Sherwood, C. D. Stimpson, M. A. Raghanti [et al.] // *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. – 2006. – Vol. 103. – Is. 37. – P. 13606–13611.
151. Morphological changes in basement membrane associated with endothelial proliferation in astrocytic tumors--an immunohistochemical study of laminin / J. Shinoda, H. Hirayama, Y. Araki [et al.] // *No To Shinkei*. – 1989. – Vol. 41. – Is. 3. – P. 263–271.
152. Neocortical injury-induced status epilepticus / T. Singh, S. Joshi, J.M. Williamson [et al.] // *Epilepsia*. – 2020. – Vol. 61. – P. 2811–2824.
153. Sloviter, R. S. Progress on the issue of excitotoxic injury modification vs. real neuroprotection; implications for post-traumatic epilepsy / R. S. Sloviter // *Neuropharmacology*. – 2011. – Vol. 61. – Is. 5. – P. 1048–1050.
154. 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. Zbrodskaya, A. V. Litovchenko [et al.] // *International Journal of Molecular Sciences*. – 2022. – Vol. 23. – Is. 20. – Art. 12561.
155. Enhanced microglial activation and proinflammatory cytokine upregulation are linked to increased susceptibility to seizures and neurologic injury in a 'two-hit' seizure model / K. C. Somera-Molina, S. Nair, L. J. Van Eldik [et al.] // *Brain research*. – 2009. – Vol. 1282. – P. 162–172.
156. Sone, D. Making the Invisible Visible: Advanced Neuroimaging Techniques in Focal Epilepsy / D. Sone // *Frontiers in Neuroscience*. – 2021. – Vol. 15. – P. 1–10.
157. Spielmeier, W. Die Pathogenese des Epileptischen Krampfes / W. Spielmeier // *Zeitschrift für die gesamte Neurologie und Psychiatrie*. – 1927. – Vol. 109. – P. 501–519.

158. Inhibitory circuits in human dysplastic tissue / R. Spreafico, L. Tassi, N. Colombo [et al.] // *Epilepsia*. – 2000. – Vol. 41. – P. 168–173.
159. Regulation of NDR2 protein kinase by multi-site phosphorylation and the S100B calcium-binding protein / M. R. Stegert, R. Tamaskovic, S. J. Bichsel [et al.] // *Journal of Biological Chemistry*. – 2004. – Vol. 279. – Is. 22. – P. 23806–23812
160. Stichel, C. C. Distribution of glial fibrillary acidic protein and vimentin immunoreactivity during rat visual cortex development / C. C. Stichel, C. M. Müller, K. Zilles // *Journal of Neurocytology*. – 1991. – Vol. 20. – Is. 2. – P. 97–108.
161. Streicher, W. W. Modulation of quaternary structure of S100 proteins by calcium ions / W. W. Streicher, M. M. Lopez, G. I. Makhatadze // *Biophysical Chemistry*. – 2010. – Vol. 151. – Is. 3. – P. 181–186.
162. The screening of potential biological markers of seizure onset zone in focal cortical dysplasia based on bioinformatics analysis / Y. Sun, D. M. Wang, H. Yu [et al.] // *Zhonghua Yi Xue Za Zhi*. – 2021. – Vol. 101. – Is. 41. – P. 3422–3426.
163. Takahashi, A. Frequent association of cortical dysplasia in dysembryoplastic neuroepithelial tumor treated by epilepsy surgery / A. Takahashi [et al.] // *Surgical Neurology*. – 2005. – Vol. 64. – Is. 5. – P. 419–427.
164. Cell-specific alterations of glutamate receptor expression in tuberous sclerosis complex cortical tubers / D. M. Talos, D. J. Kwiatkowski, K. Cordero [et al.] // *Annals of Neurology*. – 2008. – Vol. 63. – P. 454–465.
165. Electroclinical, MRI and surgical outcomes in 100 epileptic patients with type II FCD / L. Tassi, R. Garbelli, N. Colombo [et al.] // *Epileptic Disorders*. – 2012. – Vol. 14. – Is. 3. – P. 257–266.
166. Focal dysplasia of the cerebral cortex in epilepsy / D. C. Taylor, M. A. Falconer, C. J. Bruton [et al.] // *Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry*. – 1971. – Vol. 34. – Is. 4. – P. 369–387.
167. Tishler, D. M. MDR1 gene expression in brain of patients with medically intractable epilepsy / D. M. Tishler, K. I. Weinberg, D. R. Hinton // *Epilepsia*. – 1995. – Vol. 36. – Is. 1. – P. 1–6.

168. S100B in myoblasts regulates the transition from activation to quiescence and from quiescence to activation and reduces apoptosis / C. Tubaro, C. Arcuri, I. Giambanco [et al.] // *Biochimica et Biophysica Acta*. – 2011. – Vol. 1813. – Is. 5. – P. 1092–1104.
169. Clinical decision instruments for CT scan in minor head trauma / S. Türedi, A. Hasanbasoglu, A. Gunduz [et al.] // *Journal of Emergency Medicine*. – 2008. – Vol. 34. – P. 253–259.
170. CNS angiogenesis and barrierogenesis occur simultaneously / R. A. Umans, H. E. Henson, F. Mu [et al.] // *Developmental Biology*. – 2017. – Vol. 425. – Is. 2. – P. 101–108.
171. Focal cortical dysplasia of Taylor’s balloon cell type: a clinicopathological entity with characteristic neuroimaging and histopathological features, and favorable postsurgical outcome / H. Urbach, B. Scheffler, T. Heinrichsmeier [et al.] // *Epilepsia*. – 2002. – Vol. 43. – P. 33–40.
172. Microvascular changes associated with epilepsy: A narrative review / R. H. Van Lanen, S. Melchers, G. Hoogland [et al.] // *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*. 2021. – Vol. 41. – Is.10. – P. 2492–2509.
173. Cortical expression of IL1- $\beta$ , Bcl-2, Caspase-3 and 9, SEMA-3a, NT-3 and P-glycoprotein as biological markers of intrinsic severity in drug-resistant temporal lobe epilepsy / A. Vega-García, S. Orozco-Suárez, A. Villa [et al.] // *Brain Research*. – 2021. – Vol. 1758. – P. e147303.
174. Powerful anticonvulsant action of IL1 receptor antagonist on intracerebral injection and astrocytic overexpression in mice / A. Vezzani, D. Moneta, M. Conti [et al.] // *Proceedings of the National Academy of Sciences*. – 2000. – Vol. 97. – Is. 21. – P. 11534–11539.
175. The role of inflammation in epilepsy / A. Vezzani, J. French, T. Bartfai [et al.] // *Nature Reviews Neurology*. – 2011. – Vol. 7. – P. 31–40.
176. Wagner, J. Early and chronic gray matter volume changes in limbic encephalitis revealed by voxel-based morphometry / J. Wagner, B. Weber, C. E. Elger // *Epilepsia*. – 2015. – Vol. 56. – Is. 5. – P. 754–761.

177. Walker, M. C. Hippocampal sclerosis: Causes and prevention / M. C. Walker // *Seminars in Neurology*. – 2015. – Vol. 35. – Is. 3. – P. 193–200.
178. Walski, M. The changes in the ultrastructure of the cerebrovascular junction after traumatic injury of the cerebral cortex in rats / M. Walski, B. Gajkowska // *Neuroendocrinology Letters*. – 2001. – Vol. 22. – Is. 1. – P. 19–26.
179. Wang, X. Axonal and nonneuronal cell responses to spinal cord injury in mice lacking glial fibrillary acidic protein / X. Wang [et al.] // *Experimental Neurology*. – 1997. – Vol. 148. – P. 568–576.
180. Absence of glial fibrillary acidic protein and vimentin prevents hypertrophy of astrocytic processes and improves post-traumatic regeneration / U. Wilhelmsson, L. Li, M. Pekna [et al.] // *The Journal of Neuroscience*. – 2004. – Vol. 24. – Is. 21. – P. 5016–5021.
181. Wilson, C. H. Caspases in metabolic disease and their therapeutic potential / C. H. Wilson, S. Kumar // *Cell Death and Differentiation*. – 2018. – Vol. 25. – Is. 6. – P. 1010–1024.
182. Frequency of a false positive diagnosis of epilepsy: A systematic review of observational studies / Y. Xu, D. Nguyen, A. Mohamed [et al.] // *Seizure*. – 2016. – Vol. 41. – P. 167–174.
183. Xu, L. Basement membrane and blood-brain barrier / L. Xu, A. Nirwane, Y. Yao // *Stroke Vasc. Neurol.* – 2018. – Vol. 4. – Is. 2. – P. 78–82.
184. Peripherally derived T regulatory and  $\gamma\delta$  T cells have opposing roles in the pathogenesis of intractable pediatric epilepsy / D. Xu, A. P. Robinson, T. Ishii [et al.] // *Journal of Experimental Medicine*. – 2018. – Vol. 215. – Is. 4. – P. 1169–1186.
185. Role of Astrocytes in Post-traumatic Epilepsy / S. Xu, Q. Sun, J. Fan [et al.] // *Frontiers in Neurology*. – 2019. – Vol. 10. – Art. 1149.
186. Vimentin immunoreactivity in normal and pathological human brain tissue / T. Yamada, T. Kawamata, D. G. Walker [et al.] // *Acta Neuropathologica*. – 1992. – Vol. 84. – Is. 2. – P. 157–162.



187. Usefulness of S100B protein in neurological disorders / T. Yardan, A. K. Erenler, A. Baydin [et al.] // JPMA. The Journal of the Pakistan Medical Association. – 2011. – Vol. 61. – Is. 3. – P. 276–281.
188. Balloon cells in human cortical dysplasia and tuberous sclerosis: isolation of a pathological progenitor-like cell / S. A. Yasin, K. Latak, F. Becherini [et al.] // Acta Neuropathologica. – 2010. – Vol. 120. – P. 85–96.
189. MRI morphology of the hippocampus in drug-resistant temporal lobe epilepsy: Shape inflation of left hippocampus and correlation of right-sided hippocampal volume and shape with visuospatial function in patients with right-sided TLE / J. G. Yoo, D. Jakabek, H. Ljung [et al.] // *Journal of Clinical Neuroscience*. – 2019. – Vol. 67. – P. 68–74.
190. Astrocyte heterogeneity across the brain and spinal cord occurs developmentally, in adulthood and in response to demyelination / H. Yoon, G. Walters, A. R. Paulsen [et al.] // PLOS one. – 2017. – Vol. 12. – Is. 7. – e0180697.
191. Zabrodskaya, Yu. M. 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.
192. The transport of antiepileptic drugs by P-glycoprotein / C. Zhang, P. Kwan, Z. Zuo [et al.] // *Advanced Drug Delivery Reviews*. – 2012. – Vol. 64. – Is. 10. – P. 930–942.
193. Sevoflurane reduces ischemic brain injury in rats with diet and streptozotocin-induced diabetes / H. Zhang, H. Chen, W. Wang [et al.] // *Journal of Receptor and Signal Transduction Research*. – 2018. – Vol. 38. – Is. 5. – P. 448–454.
194. PET/CT of Dementia / K. Zukotynski, P. H. Kuo, D. Mikulis [et al.] // *American Journal of Roentgenology*. – 2018. – Vol. 211. – P. 246–259.