



DOI 10.56618/20712693_2022_14_3_80

КЛЕТОЧНЫЙ ДИСБАЛАНС ГИППОКАМПА ПРИ ФАРМАКОРЕЗИСТЕНТНОЙ ЭПИЛЕПСИИ (К ВОПРОСУ О РОЛИ ГИППОКАМПА В ЭПИЛЕПТОГЕНЕЗЕ)

Д. А. Ситовская^{1,2}, К. К. Семенов³, С. С. Мощенко²,
Т. В. Соколова¹, Ю. М. Забродская¹

¹ Российский научно-исследовательский нейрохирургический институт им. проф. А. Л. Поленова — филиал ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр им. В. А. Алмазова» Минздрава России, Россия, Санкт-Петербург, ул. Маяковского, 12, 191014.

² ФГБОУ ВО Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет, Россия, Санкт-Петербург, ул. Литовская, 2, 194100.

³ ФГАОУ ВО «Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого», Россия, Санкт-Петербург, Политехническая ул., 29, 195251.

РЕЗЮМЕ. Изучение этиопатогенеза эпилепсии — одна из важнейших задач современной неврологии. Склероз гиппокампа (СГ) является часто встречаемым морфологическим субстратом при височной фармакорезистентной эпилепсии (ФРЭ).

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ. Оценить изменения клеточного состава в гиппокампе у больных, оперированных по поводу фармакорезистентной эпилепсии, сопоставить с группой сравнения.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ. Исследован биопсийный материал фрагментов височной доли и гиппокампа ПАО РНХИ им. проф. А. Л. Поленова, полученный интраоперационно от 26 пациентов с локально обусловленной ФРЭ в возрасте от 22 до 56 лет. Изучались гистологические срезы, окрашенные гематоксилином и эозином, а также результаты иммуногистохимических (ИГХ) реакций. ИГХ методом определяли глиальный фибриллярный кислый белок (GFAP), NeuN (антитела фирмы Dako, Дания). Гистологический анализ и морфометрия проводились с использованием микроскопа Carl Zeiss Axio Lab (Германия) и программного обеспечения ImageJ в 5 полях зрения при 400-кратном увеличении. Статистический анализ осуществлен с использованием программных пакетов Statistica v.10 и Matlab 2013.

РЕЗУЛЬТАТЫ. При гистологическом исследовании фрагментов гиппокампа в зоне эпилептической активности были выявлены фокальная кортикальная дисплазия различных типов (у 88,5 % пациентов). Операционный материал гиппокампа фрагментирован, что затрудняло трактовку по классификации ILAE. При гистологическом исследовании структур гиппокампальной формации во всех исследованных образцах отмечены резкое нейрональное опустошение ядер гиппокампа, дисперсия и раздвоение (в 2 случаях) гранулярного слоя зубчатой извилины, явления сателлитоза и нейронофагии, глиальные реакции с участками скопления клеток. В 5 случаях материал представлен единым блоком, что позволило достоверно выявить склероз гиппокампа различного типа по ILAE (2013). Иммуногистохимическое исследование выявило выраженную экспрессию GFAP в ядрах гиппокампа и зубчатой извилины, подтверждающую развитие астроцитарного глиоза. При статистической обработке данных получены значимые различия между медианными количествами нейронов в зубчатой извилине у больных с фармакорезистентной эпилепсией и в группе сравнения. Были изучены возможности различения двух групп (исследуемой и контрольной) по совокупности значений показателей плотности нейронов и глии. По полученным результатам невозможно различить более 2 кластеров: исследуемая группа и контрольная группа. Распределения значений изученных показателей пациентов-женщин и пациентов-мужчин также значимо не отличаются.

Была также выполнена проверка различия средних значений векторов в группах плотности нейронов и глии с использованием Т2-критерия Хотеллинга, в результате чего выявлено, что средние в группах (исследуемой и контрольной) значимо и весьма существенно различаются. На основе формул полной вероятности и Байеса для решения задачи оптимизации функционала, была оценена вероятность верной идентификации пациента (то есть его верного отнесения либо в группу локально обусловленной медиобазальной ФРЭ или в контрольную группу) по тем же критериям, в результате чего значение вероятности (с учетом случайной погрешности) составило (91±8)%.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ. Структурные изменения в резецированных гиппокампах у больных с ФРЭ характеризуются селективной гибелью нейронов с преобладающим поражением зубчатой извилины. При сравнительном статистическом анализе данных подсчета клеточной плотности с использованием формул Байеса выявлено высокое значение вероятности отнесения изученного фрагмента гиппокампа к группе пациентов с эпилепсией, не зависимо от репрезентативности материала и выраженности патоморфологических изменений. Таким образом, клеточный дисба-

ланс в гиппокампе имеет типовую однородность, что позволяет выделять характерные изменения в его структурах при ФРЭ.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: Эпилепсия, эпилептический очаг, склероз гиппокампа.

Для цитирования: Ситовская Д. А., Семенов К. К., Мощенко С. С., Соколова Т. В., Забродская Ю. М. Клеточный дисбаланс гиппокампа при фармакорезистентной эпилепсии (к вопросу о роли гиппокампа в эпилептогенезе). Российский нейрохирургический журнал им. проф. А. Л. Поленова. 2022;14(3):80–88. DOI 10.56618/20712693_2022_14_3_80

CELLULAR IMBALANCE OF THE HIPPOCAMPUS IN DRUG-RESISTANT EPILEPSY (ON THE QUESTION OF THE ROLE OF THE HIPPOCAMPUS IN EPILEPTOGENESIS)

Sitovskaya D. A.^{1,2}, Semenov K. K.³, Moschenko S. S.², Sokolova T. V.¹, Zabrodskaia Yu. M.¹

¹ Polenov Russian Scientific Research Institute of Neurosurgery — branch of Almazov National Medical Research Centre, Russia, Saint-Petersburg, Mayakovskogo st., 12, 191014.

² Federal State budgetary Educational Institution of Higher Education «St. Petersburg State Pediatric Medical University», Russia, Saint-Petersburg, Litovskaya st., 2, 194100.

³ Peter the Great St. Petersburg Polytechnic University, Russia, Saint-Petersburg, Polytechnicheskaya st., 29, 195251.

SUMMARY. The study of the etiopathogenesis of epilepsy is one of the most important tasks of modern neurology. Hippocampal sclerosis (HS) is a common morphological substrate in drug resistant epilepsy (DRE).

Purpose. To evaluate changes in the cellular composition in the hippocampus in patients operated on for drug-resistant epilepsy, to compare with the comparison group.

MATERIAL AND METHODS. The biopsy material of fragments of the temporal lobe and hippocampus of Polenov Russian Scientific Research Institute of Neurosurgery — branch of Almazov National Medical Research Centre, obtained intraoperatively from 26 patients with locally caused DRE aged 22 to 56 years. Histological sections stained with hematoxylin and eosin were, as well as the results of immunohistochemical (IHC) reactions. The IHC method was used to determine glial fibrillar acidic protein (GFAP), NeuN (antibodies from Dako, Denmark). Histological analysis and morphometry were performed using a Carl Zeiss Axio Lab microscope (Germany) and ImageJ software in 5 fields of view at x400 magnification. Statistical analysis was carried out using the software packages Statistica v.10 and Matlab 2013.

RESULTS. Histological examination of fragments of the hippocampus in the zone of epileptic activity revealed focal cortical dysplasia of various types (in 88,5 % of patients). The surgical material of the hippocampus was fragmented, which made it difficult to interpret according to the ILAE classification. Histological examination of the structures of the hippocampal formation in all the studied samples showed a sharp neuronal devastation of the hippocampal nuclei, dispersion and bifurcation (in 2 cases) of the granular layer of the dentate gyrus, the phenomena of satellitosis and neuronophagy, glial reactions with areas of cell accumulation. In 5 cases, the material was presented as a single block, which made it possible to reliably identify hippocampal sclerosis of various types according to ILAE (2013). Immunohistochemical study revealed a pronounced expression of GFAP in the nuclei of the hippocampus and dentate gyrus, confirming the development of astrocytic gliosis. Statistical data processing revealed significant differences between the median numbers of neurons in the dentate gyrus in patients with drug-resistant epilepsy and in the comparison group. We studied the possibility of distinguishing two groups (study and control) by the totality of the values of neuronal density and glia density. According to the results obtained, it is impossible to distinguish more than 2 clusters: the study group and the control group. The distributions of the values of the studied indicators of female patients and male patients also do not differ significantly.

We also checked the difference in the average values of vectors in the groups of neuron and glia density using the T2 Hotelling criterion, as a result of which it was found that the averages in the groups (study and control) differ significantly and very significantly. Based on the full probability and Bayesian formulas for solving the functional optimization problem, the probability of correct identification of the patient (that is, his correct assignment either to the group of locally determined mediobasal DRE or to the control group) was estimated according to the same criteria, as a result of which the probability value (taking into account random error) amounted to (91±8)%.

CONCLUSION. Structural changes in the resected hippocampi in patients with DRE are characterized by elective neuronal death with a predominant lesion of the dentate gyrus. A comparative statistical analysis of cell density calculation data using Bayes formulas revealed a high probability of classifying the studied hippocampal fragment as a group of patients with epilepsy, regardless of the representativeness of the material and the severity of pathomorphological changes. Thus, the cellular imbalance in the hippocampus has typical homogeneity, which makes it possible to identify characteristic changes in its structures during DRE.

KEY WORDS: Epilepsy, epileptic focus, hippocampal sclerosis.

For citation: Sitovskaya D. A., Semenov K. K., Moshchenko S. S., Sokolova T. V., Zabrodskaia Yu. M. Cellular imbalance of the hippocampus in drug-resistant epilepsy (on the role of the hippocampus in epileptogenesis). Rossiiskii neurokhirurgicheskii zhurnal imeni professora A. L. Polenova. 2022;14(3):80–88. DOI 10.56618/20712693_2022_14_3_80

Введение: Височная эпилепсия является не только самой частой из фокальных эпилепсий, но и относится к наиболее труднокурабельным формам эпилепсии [1]. Мезиальная височная эпилепсия (МВЭ), структурной основой которой является мезиальный темпоральный склероз, является более частой формой височной эпилепсии. Этиопатогенез мезиального темпорального склероза, наиболее частой причины рефрактерной эпилепсии, является объектом активного обсуждения с момента его первого описания Зоммером (1880) [2]. Принято считать, что склероз гиппокампа (СГ) является часто встречаемым морфологическим субстратом при височной фармакорезистентной эпилепсии (ФРЭ). Согласно классификации СГ, разработанной ILAE в 2013 г, данная патология характеризуется нарушениями клеточного строения гиппокампа, гибелью нейронов и глиозом [3–5]. Роль гиппокампа в эпилептогенезе и патогенез развития СГ все ещё остаются неясными. Нормальная citoархитектоника гиппокампа, плотность нейронов в нём и их однонаправленная пространственная ориентированность создают условия для гипервозбудимости по синаптическим и внесинаптическим — эфapticческим путям [1, 6]. По экспериментальным данным гиппокампальная формация имеет самый низкий порог судорожной готовности, в 10 раз ниже, чем у сомоторной коры [7–8]. Однако, относительно высокие показатели эффективности исходов хирургического вмешательства на гиппокампе у больных с ФРЭ указывают на его роль в эпилептогенезе.

СГ является часто встречаемым морфологическим субстратом при височной эпилепсии, и характеризуется нарушениями клеточного строения гиппокампа — гибелью нейронов и глиозом [3, 5, 9]. Хотя общепринятым значением «склероза» (от греческого слова *sclerosis* — уплотнение) является уплотнение органа с замещением паренхимальных клеток соединительной тканью, при патологии нервной системы оно также подразумевает глиоз [10]. Это явление также называется мезиальным височным склерозом, инцизуральным склерозом или «склерозом Аммонова рога» [11]. Первые описания СГ принадлежат Bouchet и Cazaubielh (1825), которые на материале аутопсии 18 больных эпилепсией с психическими нарушениями предположили, что глиоз гиппокампа является последствием частых эпилептических приступов [12]. Частота выявления СГ по результатам различных исследований в мире варьирует в пределах от 48 % до 73 % случаев [5, 13]. По данным Blümcke I., Sperafico R. (2012) из 5392 пациентов, оперированных по поводу удаления эпилептического очага, в 33,6 % случаях выявлен СГ [5, 14]. Наряду с гибелью нейронов и пролиферацией глии при СГ обнаруживается дисперсия гранулярных клеток зубчатой извилина, которая была описана C.R. Houser в 1990 г. [15]. Она характеризуется расширением гранулярного слоя, отдалением клеток друг от друга с нарушением компактного плотного строения и распространением их в молекулярный слой. Наличие СГ и экстрагиппокампальной патологии на-

зывают «двойной (dual) патологией», которая встречается в 5–34 % случаев височной эпилепсии [16]. В исследовании Tassi и соавт. (2009) только у 34 (29 %) из 117 пациентов с височной эпилепсией СГ был изолированным [16]. При гистологическом исследовании гиппокампа у оперированных больных с височной эпилепсией и материалов аутопсии было установлено, что процесс гибели нейронов и астроцитарная пролиферация отличаются по локализации в различных отделах гиппокампа и ее выраженности. В разные годы предлагались рабочие варианты гистопатологической классификации и субтипы СГ, которые были сложны в использовании и не приобрели широкого распространения [11]. В 2013 г. Международной противоэпилептической лигой (ILAE) была принята классификация гиппокампального склероза при височной эпилепсии [17]. Для микроскопической оценки СГ необходим анатомический блок гиппокампа, где сохранены все его отделы. Во всех отделах гиппокампа проводится балльная оценка степени выраженности очагов выпадения нейронов и астроцитарного глиоза (таблица 1). При невозможности выполнения гиппокампэктомии единым блоком авторы считают диагностически значимым наличие в операционном материале полей CA1 и CA4 и зубчатой извилины. В остальных случаях, при неполной анатомической структуре гиппокампа использование классификации является невозможным.

Таблица 1. Классификация склероза гиппокампа (ILAE, 2013). Table 1. Classification of hippocampal sclerosis (ILAE, 2013).

Поля гиппокампа	1 тип СГ ILAE	2 тип СГ ILAE	3 тип СГ ILAE	Только глиоз / без склероза
CA1	2	1–2	0–1	0
CA2	0–2	0–1	0–1	0
CA3	0–2	0–1	0–1	0
CA4	2	0–1	1–2	0
Зубчатая извилина	0–2	0–1	0–2	0–1

Примечание. Балльная оценка изменений в гиппокампе: 0 — нет очевидной нейрональной потери или только умеренный астроглиоз; 1 — умеренно выраженные очаги выпадения нейронов и глиоза; 2 — сильно выраженные очаги выпадения нейронов и фибриллярный астроглиоз. Оценку изменений в зубчатой извилине производят по следующей градации: 0 — слой гранулярных клеток не изменен; 1 — рассеянные очаги гибели нейронов; 2 — выраженные очаги гибели нейронов.
Note. Scoring changes in the hippocampus: 0 — no obvious neuronal loss or only moderate astrogliosis; 1 — moderately pronounced foci of neuronal loss and gliosis; 2 — strongly pronounced foci of neuronal loss and fibrillar astrogliosis. Assessment of changes in the dentate gyrus is carried out according to the following gradation: 0 — the layer of granular cells is not changed; 1 — scattered foci of neuronal death; 2 — pronounced foci of neuronal death.

Цель исследования: Оценить изменения клеточного состава в гиппокампе у больных, оперированных по поводу фармакорезистентной эпилепсии, сопоставить с группой сравнения.

Материалы и методы: Исследован биопсийный материал гиппокампа, полученный интраоперационно от 26 пациентов с локально обусловленной медиобазальной ФРЭ в возрасте от 22 до 56 лет, оперированных в РНХИ им. проф. А. Л. Поленова. Среди обследованных было 11 женщин и 15 мужчин, средний возраст больных составил 35 лет, средняя продолжительность заболевания составила 21,5 лет. У всех пациентов при проведении инвазивного ЭЭГ-мониторинга гиппокамп был вовлечён в зону эпилептического очага. В группу сравнения вошли 13 пациентов, умерших от патологии, не затрагивающей центральную нервную систему: 4 женщины и 9 мужчин, средний возраст пациентов составил 59,1 год. Полученные фрагменты ткани головного мозга фиксировали в 10 % забуференном формалине, обезживали стандартным способом и заливали в парафин. Срезы окрашивали гематоксилином и эозином. Иммуногистохимическим (ИГХ) методом выявляли NeuN и GFAP (антитела фирмы Dako (Дания), система визуализации EnVision). Гистологический анализ и морфометрия проводились с использованием микроскопа Carl Zeiss Axio Lab (Германия) и программного обеспечения ImageJ. Производился подсчёт NeuN-реактивных зрелых нейронов

и общее количество глиоцитов в 5 полях зрения при 400-кратном увеличении. Статистический анализ осуществлен с использованием программных пакетов Statistica v.10 и Matlab 2013.

Результаты: У 88,5 % пациентов с фармакорезистентной эпилепсией в височной доле (что соответствует оценке вероятности, равной $(85 \pm 20)\%$) выявлена фокальная кортикальная дисплазия различных типов. Операционный материал гиппокампа фрагментирован, что затрудняло трактовку по классификации ILAE. Отсутствие структур зубчатой извилины, ядер CA1 и CA4 являлось критерием исключения материала из исследования. При гистологическом исследовании структур гиппокампальной формации во всех исследованных образцах (что соответствует оценке вероятности $(95 \pm 5)\%$) отмечены резкое нейрональное опустошение ядер гиппокампа, дисперсия и раздвоение (в 2 случаях, что соответствует оценке вероятности $(9 \pm 8)\%$) гранулярного слоя зубчатой извилины, явления сателлитоза и нейронофагии, глиальные реакции с участками скопления клеток (рис. 1, А-Е). В 5 случаях (что соответствует оценке вероятности $(23 \pm 16)\%$) материал представлен единым блоком, что позволило достоверно выявить склероз гиппокампа различного типа по ILAE (2013): в 3 случаях — 1 типа, в 1 случае — 2 типа и еще в 1 случае — 3 типа. ИГХ-исследование выявило выраженную экспрессию GFAP в ядрах гиппокампа и зубчатой извилины, подтверждающую развитие астроцитарного глиоза.

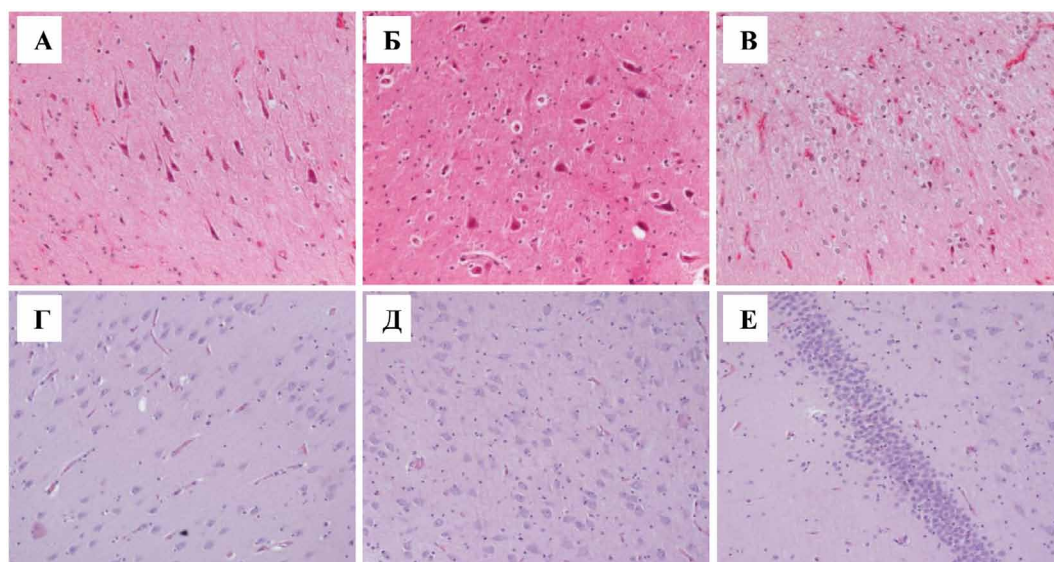


Рисунок 1. Морфологические изменения в резецированных гиппокампах. Окраска гематоксилином и эозином.

Нарушение цитоархитектоники, атрофические изменения в виде очагов выпадения нейронов в ядрах гиппокампа, вплоть до опустошения структур, клеточный глиоз.

А — Ядро гиппокампа CA1, $\times 200$.

Б — Ядро гиппокампа CA4, $\times 200$.

В — Дисперсия гранулярного слоя зубчатой извилины, $\times 200$.

Figure 1. Morphological changes in the resected hippocampus. Staining H&E. Violation of cytoarchitectonics, atrophic changes in the form of foci of loss of neurons in the nuclei of the hippocampus, up to the devastation of structures, cellular gliosis.

А — Hippocampal nucleus CA1, $\times 200$.

Б — Hippocampal nucleus CA4, $\times 200$.

В — Dispersion of the granular layer of the dentate gyrus, $\times 200$.

Д — Hippocampal nucleus CA1 of the patient of the comparison

Г — Ядро гиппокампа CA1 пациента группы сравнения, $\times 100$.

Д — Ядро гиппокампа CA4 пациента группы сравнения, $\times 100$.

Е — Зубчатая извилина пациента группы сравнения, $\times 100$.

Г — Ядро гиппокампа CA1 пациента группы сравнения, $\times 100$.

Е — Hippocampal nucleus CA4 of the patient of the comparison group, $\times 100$.

Ф — Dentate gyrus of the patient of the comparison group, $\times 100$.

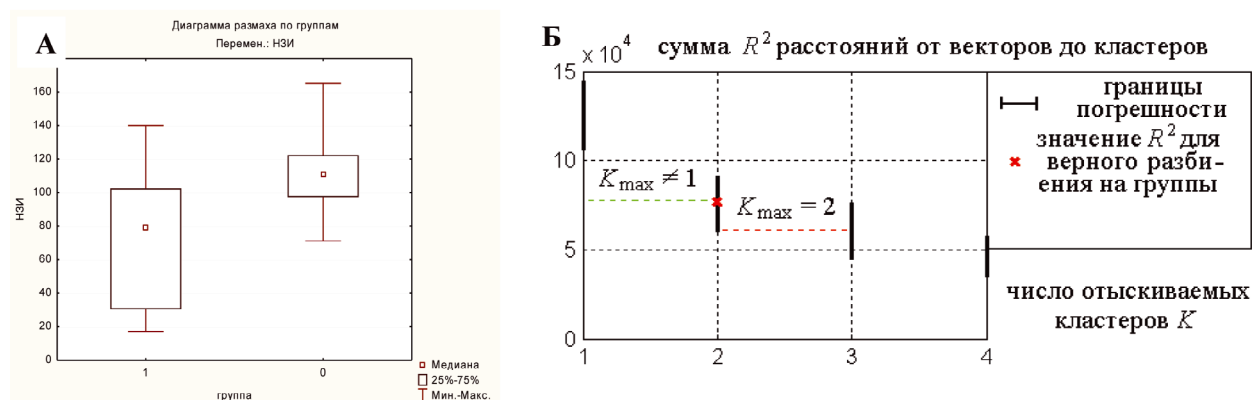


Рисунок 2. Результаты статистической обработки данных.

А — Диаграмма размаха данных в зубчатой извилине (объяснение в тексте).

Б — Результат кластеризации данных применения алгоритма кластеризации k-means и метода Монте-Карло. Представленная на рисунке последовательность интервалов значений R^2 (по сути — метрика качества кластеризации, равная сумме расстояний от кластеризуемых векторов до центров кластеров) построена в предположении, что структура отнесения кластеризуемых данных к различным кластерам неизвестна. Для такого «слепого» анализа данных есть основания считать, что обрабатываемые значения показателей позволяют с учетом случайного разброса обнаружить не более 2 групп значений, причем последние совпадают с реальной структурой анализируемых групп. На это указывает то обстоятельство, что знание метрики R^2 , соответствующее реальному разделению данных на исследуемую и контрольную группы, имеет значение, попадающее в пределы интервала возможных значений R^2 для «слепой» кластеризации при числе отыскиваемых кластеров, равном 2. Из рисунка видно, что максимальное количество разумно выделяемых кластеров в структуре данных не может превышать двух.

Figure 2. Results of statistical data processing.

А — Diagram of the range of data in the dentate gyrus (explanation in the text).

Б — The result of clustering data using the k-means clustering algorithm and the Monte Carlo method. The sequence of intervals of R^2 values shown in the figure (essentially a clustering quality metric equal to the sum of distances from clustered vectors to cluster centers) is built on the assumption that the structure of assigning clustered data to different clusters is unknown. For such a “blind” data analysis, there is reason to believe that the processed values of the indicators allow, taking into account the random spread, to detect no more than 2 groups of values, the latter coinciding with the real structure of the analyzed groups. This is indicated by the fact that knowledge of the R^2 metric, which corresponds to the actual division of data into the study and control groups, has a value that falls within the range of possible R^2 values for “blind” clustering with the number of clusters to be found equal to 2. It can be seen from the figure that the maximum the number of reasonably allocated clusters in the data structure cannot exceed two.

В ходе исследования при статистической обработке данных получены значимые различия между медианными количествами нейронов в зубчатой извилине у больных с фармакорезистентной эпилепсией и в группе сравнения ($p < 0,05$ при проверке критерием Манна-Уитни: медиана у больных составила 79 клеток, $\mu = 76,4 \pm 36,7$ клеток, в группе сравнения медиана — 125 клеток, $\mu = 133 \pm 42,3$ клетки) (рис. 2А). Были изучены возможности различения двух групп (исследуемой и контрольной) по совокупности значений нескольких показателей. Для этого был использован авторский алгоритм [18–19] на основе применения алгоритма кластеризации k-means и метода Монте-Карло для учета случайной погрешности обрабатываемых данных. Разброс в кластерах оценивался с применением Евклидовой метрики R^2 . По полученным результатам невозможно различить более 2 кластеров: исследуемая группа и контрольная группа (рис. 2Б). Распределения значений изученных показателей пациентов-женщин и пациентов-мужчин с локально обусловленной медиобазальной ФПЭ значимо не отличаются.

Была выполнена проверка различия средних значений векторов в группах плотности нейронов и глии с использованием T2-критерия Хотеллинга, в результате чего выявлено, что средние в группах (исследуемой и контрольной) значимо и весьма существенно различаются, p -value при проверке составило $1,138 \cdot 10^{-5}$, значение статистики — 45,965. При изучении многомерного распределения значений векторов, образованных значениями показателей плотности нейронов и глии, были проверены на согласие (совпадение друг с другом) непараметрического энергетического критерия. Так, распределения векторов в группах (исследуемой и контрольной) значимо и очень существенно различаются, p -value при проверке составило $1,0 \cdot 10^{-3}$, значение статистики — 385,19. На основе формул полной вероятности и Байеса для решения задачи оптимизации функционала, была оценена вероятность верной идентификации пациента (то есть его верного отнесения либо в группу локально обусловленной медиобазальной ФПЭ или в контрольную группу) по тем же критериям, в результате чего значение вероятности (с учетом случайной погрешности) составило $91 \pm 8 \%$.

Обсуждение. До сих пор неясно, является ли СГ причиной или следствием приступов [20]. Вероятнее всего, СГ является многофакторной патологией, и нет ни одного отдельного патогенетического фактора, достаточного для возникновения данного состояния [17]. Одним из предрасполагающих факторов являются фебрильные судороги, и хотя существует значительная связь между длительными фебрильными судорогами в раннем детстве и СГ, противоречивые данные также указывают на сложную взаимосвязь генетических факторов и факторов окружающей среды [21]. Ранее предполагалось, что гибель нейронов, клеточная реорганизация и глиальная пролиферация в гиппокампе при его склерозе приводят к повышенной возбудимости гранулярных клеток зубчатой извилины, которая распространяется из гиппокампа и генерирует эпилептический приступ [22]. Гибель тормозных интернейронов, формирование синапсов и разрастание (спрутинг) мшистых волокон возбуждающих нейронов также могут приводить к формированию очага гиперактивности. Некоторые авторы полагают, что разрастание (спрутинг) мшистых волокон является компенсаторно-восстановительным процессом [23].

Нельзя исключить, что генетический компонент играет роль в развитии СГ, поскольку вовлекаются сигнальные пути нервного развития, такие как каскад рилина. Однако, повышенный нейрогенез и/или персистенция клеток Кахал-Ретциуса у пациентов с МВЭ и СГ указывает на длительный и ненормальный период созревания и патологическую архитектурную организацию гранулярного слоя зубчатой извилины, что наблюдается у молодых пациентов с ранним началом приступов [5]. В современной литературе большое количество исследований посвящено поиску генов восприимчивости к МВЭ, сочетающейся со СГ [24–27]. Сообщается о многих ассоциациях МВЭ, сочетающейся со СГ с полиморфизмами в генах ионных каналов [26, 28], генах иммунного ответа [29–31], генах рецепторов нейротрансмиттеров [32–34], генах транспортеров нейромедиаторов [35], генах прионного белка (нейронального мембранного гликопротеина) [36] и митохондриальной ДНК [37–39]. В то время как во многих других исследованиях не удалось выявить какие-либо закономерности, включая повторение ранее опубликованных положительных генетических ассоциаций [40–43]. В 2014 году M'eriaux et al. в исследовании оценивали микродиссекции слоев гиппокампа пациентов с МВЭ + СГ, особенно в зоне зубчатой извилины, с использованием протеомики и масс-спектрометрии, и сравнивали с контрольной аутопсийной группой. Это было первое исследование, в котором были идентифицированы специфические пептиды в различных слоях зубчатой извилины человека, такие как галанин и нейрокин В гранулярном слое, укороченный на С-конце фрагмент нейропептида Y в хилусном (корневом) слое и соматостатин 1 в молекулярном слое. Последние два белка соответствовали преды-

дущим данным, показывающим, что он присутствует в ГАВА-эргических интернейронах зубчатой извилины, и активация нейропептида Y может быть связана с нейрогенезом, индуцированным приступом [44–45]. Воспаление, по-видимому, является важным механизмом, лежащим в основе эпилепсии, и было показано, что оно усугубляется в моделях МВЭ человека и животных, так, исследование выявило раннюю индукцию воспалительной реакции, особенно в латентной фазе, предшествующей спонтанным рецидивирующим судорогам, а когда заболевание «установлено», воспалительные реакции преобладают в парагиппокампальной области [46]. Наконец, элегантное исследование, опубликованное в 2018 году, объединило транскриптомику с фенотипами микроглии в областях мозга с высокой и низкой потерей нейронов [47]. Авторы использовали ткань гиппокампа, резецированную у 25 пациентов с МВЭ + СГ, и обнаружили, что амебоидные клетки преобладают в областях с интенсивной потерей нейронов, тогда как клетки микроглии в областях с меньшей потерей нейронов имеют более разветвленную форму. Кроме того, экспрессия IL-10 была увеличена в области гиппокампа CA1/CA3, и они предположили, что это может быть ключевым регулятором фенотипа клеток микроглии. Авторы идентифицировали цитокиновый секреторный ответ после припадков, ограниченный несколькими областями, предполагая, что эти секреты являются локальными и могут включать как астроциты, так и микроглию [47]. Среди цитокинов, идентифицированных как дифференциально экспрессируемые в исследовании, IL-1B, IL-6 и TNF α действуют непосредственно на глутаматергическую и ГАМК-эргическую передачу сигналов [48–50]. Поэтому предлагается уделять больше внимания секреции цитокинов, особенно после припадка, поскольку это может быть способом улучшить лечение эпилепсии у рефрактерных пациентов [47].

Заключение: Структурные изменения в резецированных гиппокампах у больных с ФРЭ характеризуются селективной гибелью нейронов с преобладающим поражением зубчатой извилины. Фрагментированный операционный материал гиппокампа затрудняет интерпретацию результатов гистологического исследования с применением классификации степени СГ (ILAE, 2013), однако, выявленные изменения клеточного состава гиппокампа у пациентов с ФРЭ позволяют с высокой точностью относить изучаемые структуры формации к группе пациентов или к группе сравнения. Выявлено, что пациенты с эпилепсией — однородный кластер, независимо от степени морфологических изменений, что говорит о формировании у данной категории больных специфического «эпилептического» гиппокампа. Реактивно-деструктивные процессы в гиппокампе, в том числе недостаточность нейрогенеза, с исходом в атрофию и склероз гиппокампа могут являться структурной основой фармакорезистентности эпилептической системы и становиться фактором эпилептизации.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов. **Conflict of interest.** The author declares no conflict of interest.

Финансирование. Исследование проводилось в рамках Госзадания № 121031000359–3 «Разработка новых подходов в диагностике медиобазальной фармакорезистентной эпилепсии на основе гистопроотеомики эпилептических очагов».

Financing. The study was carried out within the framework of State assignment No. 121031000359–3 «Development of new approaches in the diagnosis of mediobasal pharmacoresistant epilepsy based on the histoproteomics of epileptic foci».

Соблюдение прав пациентов и правил биоэтики.

Все пациенты подписали информированное согласие на участие в исследовании. **Compliance with patient rights and principles of bioethics.** All patients gave written informed consent to participate in the study.

ORCID авторов / ORCID of authors

Ситовская Дарья Александровна / Darya A. Sitovskaya
<https://orcid.org/0000-0001-9721-3827>

Семенов Константин Константинович / Konstantin K. Semenov
<https://orcid.org/0000-0003-4292-8053>

Мощенко Софья Сергеевна / Sofia S. Moschenko
<https://orcid.org/0000-0002-6845-0468>

Соколова Татьяна Владиславовна / Tatyana V. Sokolova
<https://orcid.org/0000-0003-3573-0874>

Забродская Юлия Михайловна / Yuliya M. Zabrodskaya:
<https://orcid.org/0000-0001-6206-213>

Литература/References.

1. Карлов В.А. Эпилепсия у детей и взрослых женщин и мужчин. М.: Медицина; 2010. Karlov VA. Epilepsy in children and adult men and women. M.: Meditsina; 2010. (In Russ.).
2. Sommer, W., 1880. Die Erkrankung des Ammonshorns als aetiologisches Moment der Epilepsie. Arch. Psychiat. Nervenkr. 308, 631–675.
3. Blümcke I, Thom M, Aronica E et al. The clinic-pathologic spectrum of focal cortical dysplasias: a consensus classification proposed by an ad hoc Task Force of the ILAE Diagnostic Methods Commission. Epilepsia. 2011;52(1):158–74. doi: 10.1111/j.1528-1167.2010.02777.x.
4. Wieser H.-G. ILAE Commission Report. Mesial temporal lobe epilepsy with hippocampal sclerosis / H.-G. Wieser, ILAE Commission on Neurosurgery of Epilepsy // Epilepsia. 2004;45(6):695–714. https://doi.org/10.1007/springerreference_188282
5. Blümcke I, Thom M, Wiestler OD. Ammon's horn sclerosis: a maldevelopmental disorder associated with temporal lobe epilepsy. Brain Pathol. 2002 Apr;12(2):199–211. doi: 10.1111/j.1750-3639.2002.tb00436.x. PMID: 11958375; PMCID: PMC8095862
6. Патоморфологические изменения гиппокампа при височной эпилепсии / А.К. Куралбаев, Ю.М. Забродская, Н.Е. Иванова, В.Р. Касумов, В.П. Берснев, А.А. Телегина, Д.А. Ситовская, Е.А. Гохман // Российский нейрохирургический журнал имени профессора А.Л. Поленова, том IX, № 2 — СПб, 2017. — С. 72–77. Pathomorphological changes of hippocampus in temporal lobe epilepsy. Kuralbayev A. K., Zabrodskaya Yu.M., Ivanova N.E., Kasumov V.R., Bersnev V.P., Telegina A.A., Sitovskaya D.A., Gokhman E.A. Russian Neurosurgical Journal named after professor A.L. Polenov. 2017; 9 (2): 72–77 (In Russ.).
7. Зенков Л.Р. Клиническая эпилептология. М.: МедИнформАгентство; 2010. Zenkov LR. Klinicheskaya epileptologiya. Moscow: MedInformAgentstvo; 2010. (In Russ.).
8. Ситовская Д.А. Структурная гетерогенность эпилептических очагов при локальной фармакорезистентной эпилепсии. Ситовская Д.А., Забродская Ю.М., Соколова Т.В., Куралбаев А.К., Нездоровина В.Г., Доброгорская Л.Н. Архив патологии. 2020;82(6):5–15. <https://doi.org/10.17116/patol2020820615>
9. Sitovskaya D. A., Zabrodskaya Yu. M., Sokolova T. V., Kuralbaev A. K., Nezdrovina V. G., Dobrogorskaya L. N. Structural heterogeneity of epileptic foci in local drug-resistant epilepsy. Archive of Pathology = Arkhiv patologii. 2020;82(6):5–15. (In Russ.). <https://doi.org/10.17116/patol2020820615>
9. Wieser H.-G. ILAE Commission Report. Mesial temporal lobe epilepsy with hippocampal sclerosis / H.-G. Wieser, ILAE Commission on Neurosurgery of Epilepsy // Epilepsia. 2004;45(6):695–714. https://doi.org/10.1007/springerreference_188282
10. Саркисов Д.С. Регенерация и ее клиническое значение. М.: Медицина; 1970. [Sarkisov D. S. Regeneraciya i ee klinicheskoe znachenie. M.: Medicina; 1970. (In Russ.).]
11. Al Sufiani F, Ang LC. Neuropathology of Temporal Lobe Epilepsy. Epilepsy Research and Treatment. 2012;2012:1–13. <https://doi.org/10.1155/2012/624519>
12. Eadie MJ. Epilepsy, Ammon's horn sclerosis, and Camille Bouchet. Journal of the History of the Neurosciences. 2017;26:231–237. <https://doi.org/10.1080/0964704x.2016.1224141>
13. Wiebe S. Epidemiology of temporal lobe epilepsy. Can J Neurol Sci. 2000;27(1):10–21.
14. Spreafico R, Tassi L. Cortical malformations. Handbook of Clinical Neurology. 2012;108:535–57. <https://doi.org/10.1016/b978-0-444-52899-5.00047-2>
15. Houser CR. Granule cell dispersion in the dentate gyrus of humans with temporal lobe epilepsy. Brain Res 1990;535:195–204.
16. Tassi L, Meroni A, Deleo F, Villani F, Mai R, Russo GL, Colombo N, Avanzini G, Falcone C, Brammerio M, Citterio A, Garbelli R, Spreafico R. Temporal lobe epilepsy: neuropathological and clinical correlations in 243 surgically treated patients. Epileptic Disord. 2009;11(4):281–292. <https://doi.org/10.1684/epd.2009.0279>
17. Blümcke I, Thom M, Aronica E, Armstrong DD, Bartolomei F, Bernasconi A, et al. International consensus classification of hippocampal sclerosis in temporal lobe epilepsy: a Task force report from the ILAE commission on diagnostic methods. Epilepsia 2013;54:1315–29. <https://doi.org/10.1111/epi.12220>
18. Bolschikov V.A., Semenov K.K. Clustering of inaccurate data using information on its precision. IOP Conference Series Materials Science

- and Engineering. 2019. Vol. 497. Paper 012023. DOI: 10.1088/1757-899X/497/1/012023
19. Semenov K. K., Bolschikov V. A. The metrologically reasonable clustering of measurement results. Joint IMEKO TC1-TC7-TC13-TC18 Symposium 2019, 2–5 July 2019, St. Petersburg, Russia. — Journal of Physics: Conference Series. Vol. 1379. No 1. Paper 012054. DOI: 10.1088/1742-6596/1379/1/012054
 20. Bruxel EM, Bruno DCF, do Canto AM, Geraldís JC, Godoi AB, Martin M, Lopes-Cendes I. Multi-omics in mesial temporal lobe epilepsy with hippocampal sclerosis: Clues into the underlying mechanisms leading to disease. *Seizure*. 2021 Aug;90:34–50. doi: 10.1016/j.seizure.2021.03.002. Epub 2021 Mar 4. PMID: 33722437
 21. Cendes F. Febrile seizures and mesial temporal sclerosis. *Curr Opin Neurol* 2004; 17:161–4. <https://doi.org/10.1097/00019052-200404000-00013>
 22. Campe G von, Spencer DD, deLanerolle NC. Morphology of dentate granule cells in the human epileptogenic hippocampus. *Hippocampus*. 1997;7(5):472–488. [https://doi.org/10.1002/\(sici\)1098-1063\(1997\)7:5<472::aid-hipo4>3.0.co;2-j](https://doi.org/10.1002/(sici)1098-1063(1997)7:5<472::aid-hipo4>3.0.co;2-j)
 23. Sutula TP, Dudek FE. Unmasking recurrent excitation generated by mossy fiber sprouting in the epileptic dentate gyrus: an emergent property of a complex system. *Prog. Brain Res*. 2007;163:541–563. [https://doi.org/10.1016/s0079-6123\(07\)63029-5](https://doi.org/10.1016/s0079-6123(07)63029-5)
 24. Perucca P, Crompton DE, Bellows ST, McIntosh AM, Kalincik T, Newton MR, et al. Familial mesial temporal lobe epilepsy and the borderland of d'épilepsie. *Ann Neurol* 2017;82:166–76. <https://doi.org/10.1002/ana.24984>
 25. Lowe R, Shirley N, Bleackley M, Dolan S, Shafee T. Transcriptomics technologies. *PLoS Comput Biol* 2017;13: e1005457. <https://doi.org/10.1371/journal.pcbi.1005457>
 26. Tiefes AM, Hartlieb T, Tacke M, von Stülpnagel-Steinbeis C, Larsen LHG, Hao Q, et al. Mesial temporal sclerosis in SCN1A-related epilepsy: two long-term EEG case studies. *Clin EEG Neurosci* 2019;50:267–72. <https://doi.org/10.1177/1550059418794347>
 27. Balan S, Bharathan SP, Vellichiraman NN, Sathyan S, Joseph V, Radhakrishnan K, et al. Genetic association analysis of ATP binding cassette protein family reveals a novel association of ABCB1 genetic variants with epilepsy risk, but not with drugresistance. *PLoS One* 2014;9. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0089253>
 28. Heuser K, Nagelhus EA, Tauböll E, Indahl U, Berg PR, Lien S, et al. Variants of the genes encoding AQP4 and Kir4.1 are associated with subgroups of patients with temporal lobe epilepsy. *Epilepsy Res* 2010;88:55–64. <https://doi.org/10.1016/j.eplepsyres.2009.09.023>
 29. Kanemoto K, Kawasaki J, Miyamoto T, Obayashi H, Nishimura M. Interleukin (IL)-1 β , IL-1 α , and IL-1 receptor antagonist gene polymorphisms in patients with temporal lobe epilepsy. *Ann Neurol* 2000;47:571–4. [https://doi.org/10.1002/1531-8249\(200005\)47:53.0.CO;2-A](https://doi.org/10.1002/1531-8249(200005)47:53.0.CO;2-A)
 30. Jamali S, Salzmann A, Perroud N, Ponsole-Lenfant M, Cillario J, Roll P, et al. Functional variant in complement C3 gene promoter and genetic susceptibility to temporal lobe epilepsy and febrile seizures. *PLoS One* 2010;5: e12740. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0012740>
 31. Horta WG, Paradela E, Figueiredo A, Meira IDA, Pereira VCSR, Rego CC, et al. Genetic association study of the HLA class II alleles DRB1, DQA1, and DQB1 in patients with pharmacoresistant temporal lobe epilepsy associated with mesial hippocampal sclerosis. *Seizure* 2015;31:7–11. <https://doi.org/10.1016/j.seizure.2015.06.005>
 32. Gambardella A, Manna I, Labate A, Chifari R, La Russa A, Serra P, et al. GABA(B) receptor 1 polymorphism (G1465A) is associated with temporal lobe epilepsy. *Neurology* 2003;60:560–3. <https://doi.org/10.1212/01.WNL.0000046520.79877.D8>
 33. Kauffman MA, Levy EM, Consalvo D, Mordoh J, Kochen S. GABABR1 (G1465A) gene variation and temporal lobe epilepsy controversy: new evidence. *Seizure* 2008;17:567–71. <https://doi.org/10.1016/j.seizure.2007.12.006>
 34. Balan S, Sathyan S, Radha SK, Joseph V, Radhakrishnan K, Banerjee M. GABRG2, rs211037 is associated with epilepsy susceptibility, but not with antiepileptic drug resistance and febrile seizures. *Pharmacogenet Genomics* 2013;23:605–10. <https://doi.org/10.1097/FPC.0000000000000000>
 35. JINGYUN LI, HUA LIN, FENGHE NIU, XILIN ZHU, NING SHEN, XIN WANG, et al. Combined effect between two functional polymorphisms of SLC6A12 gene is associated with temporal lobe epilepsy. *J Genet* 2015;94:637–42. <https://doi.org/10.1007/s12041-015-0567-0>
 36. Labate A, Manna I, Gambardella A, Le Piane E, La Russa A, Condino F, et al. Association between the M129V variant allele of PRNP gene and mild temporal lobe epilepsy in women. *Neurosci Lett* 2007;421:1–4. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2006.10.020>
 37. Azakli H, Gurses C, Arikan M, Aydoseli A, Aras Y, Sencer A, et al. Whole mitochondrial DNA variations in hippocampal surgical specimens and blood samples with high-throughput sequencing: a case of mesial temporal lobe epilepsy with hippocampal sclerosis. *Gene* 2013;529:190–4. <https://doi.org/10.1016/j.gene.2013.06.077>
 38. Volmering E, Niehusmann P, Peeva V, Grote A, Zsurka G, Altmüller J, et al. Neuropathological signs of inflammation correlate with mitochondrial DNA deletions in mesial temporal lobe epilepsy. *Acta Neuropathol* 2016;132:277–88. <https://doi.org/10.1007/s00401-016-1561-1>
 39. Yang H, Yin F, Gan S, Pan Z, Xiao T, Kessi M, et al. The study of genetic susceptibility and mitochondrial dysfunction in mesial temporal lobe epilepsy. *Mol Neurobiol* 2020;57:3920–30. <https://doi.org/10.1007/s12035-020-01993-4>
 40. Ren L, Jin L, Zhang B, Jia Y, Wu L, Shen Y. Lack of GABABR1 gene variation (G1465A) in a Chinese population with temporal lobe epilepsy. *Seizure* 2005;14: 611–3. <https://doi.org/10.1016/j.seizure.2005.09.009>
 41. Tan NCK, Heron SE, Scheffer IE, Berkovic SF, Mulley JC. Is variation in the GABA (B) receptor 1 gene associated with temporal lobe epilepsy? *Epilepsia* 2005;46: 778–80. <https://doi.org/10.1111/j.1528-1167.2005.49004.x>
 42. Ozkara C, Uzan M, Tanriverdi T, Baykara O, Ekinici B, Yeni N, et al. Lack of association between IL-1 β / α gene polymorphisms and temporal lobe epilepsy with hippocampal sclerosis. *Seizure* 2006;15:288–91. <https://doi.org/10.1016/j.seizure.2006.02.016>
 43. Sisodiya SM, Ragge NK, Cavalleri GL, Hever A, Lorenz B, Schneider A, et al. Role of SOX2 mutations in human hippocampal malformations and epilepsy. *Epilepsia* 2006;47:534–42. <https://doi.org/10.1111/j.1528-1167.2006.00464.x>
 44. M'eriaux C, Franck J, Park DB, Quanico J, Kim YH, Chung CK, et al. Human temporal lobe epilepsy analyses by tissue proteomics. *Hippocampus* 2014;24: 628–42. <https://doi.org/10.1002/hipo.22246>
 45. Kokaia M. Seizure-induced neurogenesis in the adult brain. *Eur J Neurosci* 2011; 33:1133–8. <https://doi.org/10.1111/j.1460-9568.2011.07612.x>

46. Walker A, Russmann V, Deeg CA, von Toerne C, Kleinwort KJH, Szober C, et al. Proteomic profiling of epileptogenesis in a rat model: focus on inflammation. *Brain Behav Immun* 2016;53:138–58. <https://doi.org/10.1016/j.bbi.2015.12.007>
47. Morin-Brureau M, Milior G, Royer J, Chali F, LeDuigou C, Savary E, et al. Microglial phenotypes in the human epileptic temporal lobe. *Brain* 2018;141: 3343–60. <https://doi.org/10.1093/brain/awy276>
48. Kawasaki Y, Zhang L, Cheng JK, Ji RR. Cytokine mechanisms of central sensitization: distinct and overlapping role of interleukin-1 β , interleukin-6, and tumor necrosis factor- α in regulating synaptic and neuronal activity in the superficial spinal cord. *J Neurosci* 2008;28:5189–94. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3338-07.2008>
49. Ситовская Д.А., Литовченко А.В., Бажанова Е.Д., Скитева Е.Н., Забродская Ю.М. Исследование цитокинового профиля в периферической крови и головном мозге у пациентов с фокальной фармакорезистентной эпилепсией. *Сеченовский вестник*. 2021; 12(4): 39–50. <https://doi.org/10.47093/2218-7332.2021.12.4.39-50> — Sitovskaia D.A., Litovchenko A.V., Bazhanova E.D., Skiteva E.N., Zabrodskaya Y.M. Cytokine profile in the peripheral blood and the brain in patients with focal drug-resistant epilepsy. *Sechenov Medical Journal*. 2021; 12(4): 39–50. <https://doi.org/10.47093/2218-7332.2021.12.4.39-50>