

## ОТЗЫВ

### научного консультанта о диссертанте Л.В.Виноградовой

Людмила Владиславовна Виноградова работает в лаборатории общей физиологии временных связей Института высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН с 1987 года. Вначале она исследовала сдвиги постоянного потенциала мозга, связанные с волной распространяющейся депрессии, а, начиная с 2002 года приступила к исследованию нейрофизиологических механизмов эпилепсии на генетических моделях у животных – неконвульсивной абсансной эпилепсии (крысы линии WAG/Rij) и конвульсивной рефлекторной аудиогенной эпилепсии (крысы Крутинского-Молодкиной, Висатр и сублиния крыс WAG/Rij со смешанной эпилепсией).

Из очень большого и многообразного экспериментального материала для докторской диссертации Людмила Владиславовна взяла данные, относящиеся к механизмам эпилептогенеза при аудиогенном киндлинге. Следует сразу отметить несколько особенностей проведенной работы, отличающих ее от известных отечественных и зарубежных исследований по аудиогенной эпилепсии и характеризующих Людмилу Владиславовну как талантливого исследователя.

Прежде всего это то, что она использовала в работе не стандартную процедуру киндлинга с применением максимальных развернутых аудиогенных припадков, а никем ранее не исследованный киндлинг, формирующийся при повторении минимальных судорожных эпизодов. При этом Людмила Владиславовна заметила, что такой подход позволяет хорошо анализировать последовательные стадии эпилептогенеза, и на этом пути она обнаружила много новых, никем не отмеченных до нее закономерностей. Прежде всего это, конечно, доказательство асимметричного начала аудиогенного киндлинга – вполне «еретическое» утверждение, которое, однако, подкреплено в работе целым рядом четких, хорошо согласующихся друг с другом фактов. Это также данные об индивидуальных особенностях направления двигательной реакции, и об одностороннем развитии волны РД на ранних стадиях киндлинга. Для того, чтобы обнаружить все эти тонкие закономерности нужна особая чуткая наблюдательность – такое важное для исследователя свойство.

Еще одна особенность Людмилы Владиславовны как исследователя – это упорство в отстаивании своих представлений, сделанных на основании достоверных экспериментальных фактов и выводов. Следует отметить специально, что Людмила Владиславовна прекрасно владеет, как поведенческими, так и современными электрографическими методами исследования. Некоторые из них являются уникальными,

например, регистрация постоянного потенциала в условиях свободного поведения животного, для чего используются неполяризуемые карбоновые электроды, или анализ особенностей постэпилептической каталепсии. Ряд работ Людмилы Владиславовны посвящен анализу особенностей антиэпилептогенного и антисудорожного влияния фармакологических препаратов на неконвульсивную и конвульсивную эпилепсию.

Под руководством Л.В. Виноградовой в настоящее время работают две молодые сотрудницы, выпускницы Московского Университета. На этот раз исследуется еще одна экспериментальная модель эпилептогенеза - постстатусная модель эпилепсии.

За время работы в ИВНДиНФ РАН Людмила Владиславовна опубликовала одну монографию и 35 научных работ, в том числе 25 в центральных международных изданиях

Можно с уверенностью сказать, что Людмила Владиславовна Виноградова является талантливым высококвалифицированным специалистом, способным решать сложные научные проблемы.

Главный научный сотрудник  
Института высшей нервной  
деятельности и нейрофизиологии  
РАН, доктор биол. наук, профессор



Г.Д. Кузнецова



Подпись Г.Д. Кузнецова  
УДОСТОВЕРЯЮ  
Зам. канд. ИВНД и НФ Г.Д. Кузнецова

## ОТЗЫВ

официального оппонента доктора биологических наук Калининой Татьяны Сергеевны на диссертационную работу Виноградовой Людмилы Владиславовны «Нейрофизиологические механизмы рефлекторной аудиогенной эпилепсии», представляемую на соискание ученой степени доктора биологических наук по специальности «03.03.01 – физиология».

Диссертационное исследование Виноградовой Людмилы Владиславовны представляет фундаментальное экспериментальное исследование, которое является важной составляющей компонентой в решении сложной медико-биологической проблемы понимания механизмов эпилептогенеза, повышения эффективности лечения и профилактики эпилептиформных расстройств.

**Актуальность темы**, которой посвящена работа Виноградовой Л.В., обусловлена рядом аспектов, как фундаментального характера, так и рядом медицинских и социально-экономических задач. О глобальном характере проблемы свидетельствует тот факт, что ВОЗ, Международная лига борьбы против эпилепсии и Международное бюро по эпилепсии объединили свои усилия для организации кампании «Out of the Shadows» («Из мрака на свет»), направленной на повышение осведомленности в отношении эпилепсии, а также активизацию усилий государственного и частного секторов по улучшению медико-санитарной помощи и уменьшению последствий этого заболевания. По актуальным оценкам ВОЗ, доля людей, страдающих эпилепсией в активной форме, составляет от 4 до 10 на 1000 человек. Во всем мире эпилепсией страдают около 50 миллионов человек. В развитых странах ежегодное число новых случаев заболевания составляет от 40 до 70 на 100 000 человек. Во всем мире примерно до 80% случаев эпилепсии регистрируют в развивающихся регионах. Распространенность эпилепсии в Российской Федерации составляет 2,98 на 1000 населения. Риск

---

преждевременной смерти, которому подвергаются люди, страдающие эпилепсией, в два-три раза превышает аналогичный показатель для общего населения.

Основным методом лечения эпилептических расстройств в настоящее время является фармакотерапия, целью которой является контроль судорог и поддержание хорошего качества жизни. Использование современных лекарственных средств достаточно эффективно, но вместе с тем, следует указать на наличие существенной доли (до 25%) больных с резистентностью к существующим методам терапии. Поскольку подавляющее большинство противосудорожных средств обладают тормозящим действием на ЦНС, часто развиваются такие побочные эффекты, как сонливость, астения, головокружение, атаксия, снижение памяти, ослабление когнитивных функций. Поэтому изучение новых звеньев в патогенетических цепях эпилептогенеза и выяснение их роли, а также поиск на основании этих данных новых противосудорожных средств и разработка новых эффективных методов терапии эпилепсии является одной из актуальных задач отечественной и мировой медицины, решение которой имеет важное медицинское, экономическое и социальное значение.

**Новизна.** В настоящее время для экспериментального анализа доступно ограниченное число адекватных моделей эпилепсии, значительно больший экспериментальный арсенал доступен для моделирования различных судорожных состояний, которые, однако, не являются моделью эпилепсии или эпилептиформного синдрома. Наиболее адекватными трансляционными моделями эпилептиформных расстройств являются различные модификации киндинга, который формируют системным введением противосудорожных фармакологических агентов или индуцируют при электрической стимуляции, а также формирование судорожных эпилептогенных очагов, например кобальтовая модель эпилепсии. Однако, эти методы весьма инвазивны, что не соответствует клинической ситуации, особенно для случаев генуинной эпилепсии, очень трудоемки, что затрудняет широкое применение этих

моделей при разработке методов терапии и снижает эффективность такого поиска. Новизной и большим достижением настоящего диссертационного исследования является успешное решение основной поставленной задачи, в результате чего автором был разработан экспериментальный метод формирования киндлинга на основе минимальных аудиогенных судорог, ценность которого заключается в максимально возможном в настоящее время приближении к клинике эпилепсии. Впервые описана феноменология данного вида аудиогенного киндлинга, установлена гетерогенность популяций крыс Wistar и WAG/Rij в отношении чувствительности к аудиогенным раздражителям малой интенсивности. Получены новые фундаментальные данные о функциональной структуре реакции новой коры при развитии повторных стволовых судорог и значении феномена распространяющейся депрессии в эпилептогенезе и асимметричном характере начальных стадий патологического судорожного процесса и вторичной генерализации эпилептической активности из ствола в кору при аудиогенном киндлинге, обусловленном повышенной реактивностью левого полушария к хроническому эпилептогенезу. Впервые установлен противосудорожный эффект стимуляции эндоканнабиноидной системы в условиях экспериментального аудиогенного киндлинга и выявлено важное значение этой системы в пластичности нервных процессов, относящихся к контролю судорожных реакций организма.

**Научно-практическое значение работы** заключается в том, что предложенная модель аудиогенного киндлинга, соответствуя критериям «судорожной раскочки» и пластического процесса в ЦНС, является удобным и не инвазивным методом изучения патогенеза эпилептиформных процессов и разработки методов лечения этой патологии. Значимость данного результата позволяет рекомендовать разработанную Виноградовой Л.В. методику формирования аудиогенного киндлинга на основе судорожных реакций малой интенсивности у крыс к включению в методические рекомендации и руководство по экспериментальному изучению новых

фармакологических веществ в раздел поиска противосудорожных и противозипилептических средств.

Результаты, свидетельствующие об ингибирующем контроле эндоканнабиноидной системы над судорожными реакциями в условиях модели аудиогенного киндлинга, являются основанием для инициации скрининга противозипилептической активности в ряду модуляторов каннабиноидных рецепторов.

Выводы диссертации, указывающие на новые данные о структуре формирования эпилептиформных реакций, могут быть включены в соответствующие разделы учебных пособий для подготовки и повышения квалификации медиков, биологов и педагогических кадров.

**Достоверность** результатов не оставляет сомнений, так как в табличной и графической форме представлен убедительный экспериментальный материал, полученные данные подвергнуты адекватной статистической обработке, заключение и сформулированные выводы убедительны и логичны, рекомендации хорошо обоснованы. Материалы исследований, вошедшие в диссертацию Виноградовой Л.В., опубликованы в отечественных и зарубежных рецензируемых научных журналах с высоким импакт-фактором, что свидетельствует как о высоком уровне экспертизы полученных результатов, так и широкой представленности выводов исследования в международной научной литературе и их интеграции в международную науку. Материалы диссертации были доложены и обсуждены на 6-ти международных профильных конференциях, посвященных актуальным проблемам эпилепсии, роли каннабиноидной системы в медицине, что еще раз подчеркивает актуальность и неподдельный интерес к представленной работе.

Критических замечаний по диссертации, которые могли бы негативно повлиять на положительную оценку диссертационной работы, нет. В качестве обсуждения хотелось бы знать мнение автора диссертации по поводу роли широко обсуждаемого в настоящее время роли процесса

нейрогенеза во взрослой нервной системы в процессах эпилептогенеза. Интерес вызывает точка зрения о том, что в отличие от большинства патологий ЦНС (таких как депрессивно-тревожные расстройства, сенильная патология, шизофрения), патогенез которых связывают с недостаточностью нейрогенеза, в основе эпилептогенеза лежит «переактивация» процессов нейрогенеза. В какой степени могут согласоваться экспериментальные результаты, полученные автором, с этой точкой зрения.

### **ЗАКЛЮЧЕНИЕ**

Диссертационная работа Виноградовой Людмилы Владиславовны «Нейрофизиологические механизмы рефлекторной аудиогенной эпилепсии», является научно-квалификационной работой, в которой на основании выполненных автором исследований разработаны теоретические положения, совокупность которых можно квалифицировать как научное достижение, имеющее большое значение для понимания патогенеза эпилепсии и эпилептиформных расстройств и разработки новых подходов поиска новых противозипилептических лекарственных средств на базе модуляторов эндоканнабиноидной системы. Данная диссертация по актуальности, новизне, научно-практической значимости полученных результатов, выводов и рекомендаций соответствует требованиям, предъявляемым к докторским диссертациям, согласно Положению о порядке присуждения ученых степеней, утвержденному постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 г. №842, а ее автор достоин присуждения степени доктора биологических наук по специальности «03.03.01 – физиология».

Ведущий научный сотрудник  
лаборатории психофармакологии ФГБНУ «НИИ  
фармакологии имени В.В.Закусова»,  
доктор биологических наук  
8(495)601-24-14, [tatianakalinina@mail.ru](mailto:tatianakalinina@mail.ru)



Т.С.Калинина

Подпись доктора биологических наук Т.С. Калининой заверяю.  
Ученый секретарь ФГБНУ «НИИ фармакологии  
имени В.В. Закусова»,  
кандидат биологических наук



В.А. Крайнева



Декан  
биологического ф-та МГУ  
имени М.В. Ломоносова  
академик  
Кирпичников М.П.

#### ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

на диссертационную работу ВИНОГРАДОВОЙ Людмилы Владиславовны на тему: ИССЛЕДОВАНИЕ НЕЙРОФИЗИОЛОГИЧЕСКИХ МЕХАНИЗМОВ ЭПИЛЕПТОГЕНЕЗА НА МОДЕЛИ РЕФЛЕКТОРНОЙ АУДИОГЕННОЙ ЭПИЛЕПСИИ, представленную на соискание учёной степени доктора биологических наук по специальности 03.03.01 Физиология

Диссертационная работа Л.В. Виноградской – обширное исследование, посвященное анализу феномена эпилептогенеза на лабораторных моделях. Несмотря на то, что эпилепсию исследуют в течение многих десятилетий, несмотря на существование большого массива данных по ЭЭГ при эпилепсии и по физиологии мозга в целом, а также по молекулярно-клеточным процессам при эпилепсии, механизмы развития этого заболевания еще во многом неясны. Достаточно очевидно, что в генезе эпилепсии имеют большое значение индивидуальные особенности человека, которые определяются и генетическими особенностями, и взаимодействием генотипа со средовыми факторами, в особенностями с факторами, действующими в перинатальный период.

В связи с этим использование в экспериментальных исследованиях генетических моделей - животных, предрасположенных к развитию судорожных состояний, с большой очевидностью перспективны и весьма актуальны. Экспериментальные модели эпилепсии важны также для детального исследования особенностей действия противосудорожных средств, причем не



только новых, но и уже существующих, для составления более полной картины механизмов их воздействия. Это, несомненно, имеет важное практическое значение для неврологии в разработке эффективной терапии судорожных состояний разного генеза.

Теоретическое значение исследования Л.В. Виноградовой также велико, поскольку в диссертации представлены данные о механизмах развития судорожных состояний разной природы. В диссертации анализируются особенности формирования и генерализованных судорожных припадков, которые развиваются у крыс в ответ на звук, а также закономерности и механизмы формирования судорожного состояния, развивающегося при многократных последовательных аудиогенных судорожных припадках – феномена раскачки, т.е. «киндлинга». Такой интегральный подход представляет собой уникальную успешную попытку выявить закономерности развития судорожных припадков с разной локализацией и важен для теоретического осмысления эпилептогенеза в целом.

Это означает, что исследование Л.В. Виноградовой, несмотря на то, что оно является «чисто экспериментальным», и актуально, и имеет четкую практическую нацеленность.

Диссертация Л.В. Виноградовой построена по традиционному плану. Она содержит вводную главу, в которой даются общая формулировка проблем эпилептогенеза, обоснование подхода, использованного в работе, а также основные показатели актуальности, теоретической, практической значимости и новизны полученных данных. За введением следуют обзор литературы, 4 главы результатов, обсуждение, заключение и выводы. Список цитированной литературы содержит 40 отечественных и 360 – англоязычных источников.

Диссертация написана четким языком и является примером высокопрофессиональной, интересной и важной для теории и практики научной работы.

Обзор литературы по теме диссертации очень содержателен. В его первом разделе дается неизбежным образом краткая сводка по особенностям организации нейронных сетей при эпилепсии, с описанием особенностей развития фокальных и генерализованных припадков. Эти данные составляют основу для более детального анализа развития судорожных состояний в следующих разделах обзора. Этот раздел с одной стороны содержит классические известные сведения, но и показывают перспективы будущих исследований, которые открываются с использованием новых методов. Следует, однако, отметить, что в этом разделе не всегда ясно, о каких исследованиях идет речь конкретно – о клинических данных или о данных эксперимента. Височной эпилепсии, как очень важной нозологической единице эпилепсии, уделено менее страницы, хотя этот феномен можно было бы осветить более подробно.

В следующем разделе обзора рассматриваются экспериментальные модели судорожных состояний и важность разработки новых моделей, поскольку полного воспроизведения картины эпилепсии человека нельзя получить ни на одной модели. Как известно, несмотря на то, что аудиогенная эпилепсия относится к категории «рефлекторных судорожных припадков», т.е. развивается в ответ на сильный звук, этот тип экспериментально вызванных судорог очень важен для исследования эпилептогенеза. Аудиогенные судороги, в особенности у линий, селектированных на этот признак, - это четко воспроизводимый феномен, что делает их удобным объектом и для фармакологических, и для электрофизиологических исследований. История феномена химической и электрической «раскачки» (киндлинга), исследование которого имеет непосредственное отношение к теме диссертации Л.В. Виноградовой, описана подробно и интересно. Далее в обзоре описывается аудиогенная эпилепсия грызунов - ее встречаемость, линии с повышенной предрасположенностью к аудиогенной эпилепсии и другие связанные с этим вопросы. Это содержательный и важный раздел обзора. Специальное внимание автор уделяет морфологической

основе аудиогенных судорожных припадков, хотя, на наш взгляд, называть эту систему структур «нейронной сетью» представляется несколько преждевременным, поскольку это понятие требует большей детализации сведений о нейронных компонентах сети, чем та, которая есть сегодня.

Особо важным для понимания механизмов аудиогенной эпилепсии являются сведения о нейрохимической основе этих судорожных состояний и, что не менее важно, предрасположенности к ним.

Столь же подробно и квалифицированно описан и «аудиогенный киндлинг» - его феноменология, особенности фармакологической модуляции и морфологический субстрат.

В электрофизиологических исследованиях эпилепсии (как клинических, так и экспериментальных), не всегда фиксируется внимание на изменениях медленных сдвигов потенциала. В диссертации специальный раздел посвящен этому вопросу в аспекте феномена распространяющейся депрессии, а также ее связи с судорожными состояниями.

В целом, обзор литературы по теме диссертации отвечает критериям докторской диссертации – он достаточно подробен, охватывает практически все аспекты проблемы и акцентирует внимание на проблемах, которые стали темой диссертации.

Методический раздел диссертации написан квалифицированно, четко и не вызывает вопросов. Очевидно, что методы, которые были выбраны для исследования поставленных проблем, адекватны задачам работы и соответствуют научному содержанию диссертации.

Раздел диссертации «Результаты исследований» содержит 4 больших главы, в свою очередь разделенные на подразделы. Первая часть «Фенотипический анализ эпилептогенеза на модели аудиогенного киндлинга» - детальная и важная для дальнейшего описания данных картина аудиогенного судорожного припадка и развития миоклонических судорог после процедуры киндлинга у крыс трех

генотипов – линий КМ и Wag/Rij и аутбредной линии Вистар. Короткая звуковая стимуляция вызывает развернутые судороги максимальной интенсивности у крыс КМ и аудиогенный приступ самой низкой интенсивности (фазу быстрого бега) у крыс двух других линий. При повторении такой стимуляции у всех крыс КМ и у части крыс Wistar и WAG/Rij с аудиогенными припадками развиваются миоклонические судороги. Однако из текста этого раздела не очень ясно – являются ли наблюдаемые после тонической фазы припадков интенсивные клонические судороги у крыс КМ тем феноменом, которые автор называет «аудиогенный киндлинг», или это только одно из проявлений изменений в «паттерне» припадков при повторной его провокации. Однако в любом случае у крыс Вистар и WAG/Rij провокация повторных судорожных приступов, вызывает появление клонических судорог «лимбического» типа (которые автор неудачно называет «лимбическим клонусом»), и картина его у этих животных иная, чем у крыс КМ. Более того, автор четко показывает изменчивость в реакции на повторную звуковую экспозицию у крыс этих линий, что, в принципе, не анализировалось другими исследователями.

В целях концентрации внимания на закономерностях проявления и механизмах «аудиогенного киндлинга», автор разработала удачный способ оценки предрасположенности к аудиогенным припадкам путем предъявления крысам звука малой длительности. Как упоминалось, такая стимуляция вызывает, тем не менее, аудиогенные судороги максимальной интенсивности у крыс КМ, но лишь приступы малой интенсивности (двигательное возбуждение) – у крыс Wistar и WAG/Rij (из тех особей, кто обнаруживал указанную предрасположенность). Автор показала, что «короткий» звук, выступает только как «триггер» аудиогенных судорог, тогда как их выраженность и окончание полностью определяются эндогенными процессами (врожденной предрасположенностью к судорогам). Л.В. Виноградова показала, что при повторной экспозиции крыс действию звука, длительность локомоторной и

---

тонической фаз не менялись, но после 5-11 (в среднем  $7.3 \pm 0.6$ ) звуковых экспозиций в составе приступа появлялся новый компонент – посттонический клонус (ПТК), длительность которого постепенно нарастала. Осталось, однако, неясным, наблюдались ли у крыс КМ после многократных предъявлений звука «классические» миоклонические судороги. Речь идет о миоклонических подергиваниях мышц лицевой мускулатуры и шеи, которые были описаны у крыс КМ Л.В. Крушинским и его коллегами еще в 1950 гг.

Разная предрасположенность крыс Wistar и WAG/Rij к формированию «клонических судорог лимбического типа» проанализирована подробно и, можно сказать, исчерпывающе. Следует отметить, что появление феномена «аудиогенного киндлинга» после повторных коротких экспозиций крыс действию звука, описано автором впервые. Л.В. Виноградова описала также явление «угасания» чувствительности к звуку у некоторых особей Вистар и Wag/Rij после нескольких предъявлений звука. Этот феномен также ранее никогда не анализировался, а значимость его для выявления механизмов «звукового» эпилептогенеза может оказаться существенной. Это тем более информативно, что отсутствие (и исчезновение) эпилептиформного припадка на звук у крыс Wag/Rij, не коррелировало с проявлением приступов типа «абсансов», которые характерны для крыс этой линии. Автор логично полагает, что поскольку «киндлинг-резистентные» крысы есть и среди крыс Wag/Rij, и среди крыс Вистар, у которых полностью отсутствуют абсансные судороги, то бытующее в литературе предположение о причинной связи развития киндлинга и приступов по типу «абсансов» неверно. Выводом из этой серии экспериментов является утверждение, что разная чувствительность к повторному эпилептогенному звуковому воздействию (киндлингу) среди крыс обеих линий предполагает существование значительных индивидуальных различий в способности стволовых аудиогенных судорог распространяться в структуры переднего мозга. Это наблюдается при идентичности проявления реакции на

однократный звуковой раздражитель, т.е. при отсутствии различий в возбудимости стволовых структур, ответственных за развитие аудиогенных генерализованных судорог.

Фармакологический анализ эпилептогенеза на модели аудиогенного киндлинга был использован для оценки участия в анализируемых патологических явлениях ряда нейротрансмиттерных систем мозга – эндоканнабиноидной, гистаминергической и ГАМК-ергической.

Автор получила экспериментальные доказательства активной роли эндоканнабиноидной системы в механизмах, регулирующих чувствительность мозга к развитию «хронического эпилептогенеза», т.е. состояния, развивающегося при «аудиогенном киндлинге». При фармакологической блокаде CB1 рецепторов у крыс Wistar у них происходит снижение эпилептических проявлений, тогда как у крыс KM обнаружено антиэпилептогенное действие агониста эндоканнабиноидных рецепторов.

Фармакологическая стимуляция гистаминергической системы также изменила характер аудиогенной эпилепсии у крыс KM и Вистар. Метоприн, вызывающий общее повышение уровня гистамина в мозге, снижает тонический компонент припадка, т.е. ослабляет интенсивность аудиогенного судорожного припадка *per se*, но не влияет на тот компонент присупа, который связан с распространением возбуждения в передний мозг. Такое снижение интенсивности приступа, как это ясно из общих представлений о развитии этого судорожного состояния, должно неизбежным образом акцентировать возбуждение тех нейронных сетей, которые связаны с двигательным возбуждением. В связи с этим суждение автора об «усилении» этого возбуждения (как о независимом явлении) представляется не достаточно логичным.

Подробные данные о влиянии вигабатрина (антиэпилептического препарата, модулирующего ГАМК-ергическую передачу в мозге) на экспрессию аудиогенных судорог также являются добротным вкладом автора в

представления о нейрохимии этих процессов. Показано, что этот препарат вызывал сокращение длительности припадка у крыс КМ за счет укорочения «посттонического клонуса, снижалась также доля животных, демонстрирующих его наличие. У крыс Wistar и WAG/Rij вигабатрин также подавлял «лимбические миоклонические судороги».

В экспериментах Л.В. Виноградовой четко продемонстрирован также противосудорожный и противоэпилептический эффекты леветирацетама (относительно нового противосудорожного средства, эффективного при определенных типах эпилепсии человека), и который четко очень эффективен в ослаблении аудиогенных судорожных припадков и, как показала автор, в развитии феномена киндлинга. Полученные данные на животных поддерживают значимость первых клинических данных о развитии толерантности к этому препарату и о необходимости поиска оптимального введения его больным.

Электрографический анализ аудиогенного киндлинга у крыс Wistar и WAG/Rij – важная часть данных, полученных Л.В. Виноградовой при выполнении настоящей работы. Автор уделила большое внимание описанию этих явлений у крыс с невысокой предрасположенностью к аудиогенной эпилепсии, что дало возможность выявить целый ряд деталей, необходимых для понимания развития судорожного приступа. Это важный аспект выбранного автором экспериментального подхода к анализу данного явления. Показано, например, что в суммарной ЭЭГ теменной коры крыс с невысокой предрасположенностью к аудиогенной эпилепсии при двигательном возбуждении происходит развитие гиперсинхронной ритмической активности. Тот же паттерн ЭЭГ обнаруживается и в нижнем двухолмии, что не является проявлением эпилептического приступа как такового. Эти интересные факты, к сожалению, не сопоставляются с данными (очень давними) о смешанной природе этого двигательного возбуждения – т.е. о наличии в этой фазе приступа компонента реакции избегания. Кроме того, «точкой роста» новых исследований

в этой области может стать выявление электрических знаков возбуждения в гиппокампе (и возможность электротонического заброса высокоамплитудной тета-активности в электрокортикограмму).

Развитие эпилептических ЭЭГ знаков при развитии «лимбического киндлинга» - факт, установленный уже давно, однако в работе Л.В. Виноградовой этот феномен и описан, и проиллюстрирован с большой тщательностью, что является положительным вкладом данной диссертации в разработку данного вопроса.

Описание изменений сверхмедленных колебаний потенциала у крыс в ассоциации с развитием аудиогенных судорожных припадков – очень важная часть диссертации Л.В. Виноградовой. Эти явления описаны в диссертации и очень подробно, и квалифицированно. Кортиковая волна распространяющейся депрессии (РД) была зарегистрирована у всех крыс со стабильными аудиогенными судорогами – как у «киндинг-чувствительных» крыс, так и у «киндинг-резистентных» крыс, хотя у первых РД начинала возникать раньше, чем у последних.

Автор показала, что волна РД – регулярная реакция коры на повторные аудиогенные судороги у крыс Wistar, которая формируется параллельно с развитием двигательных проявлений судорог. Отмечено, что короткое двигательное возбуждение в первых тестах не вызывало в новой коре ни эпилептической активности, ни РД, однако затем, после фазы двигательного возбуждения, в ЭЭГ коры одного из полушарий появлялся характерный высокоамплитудный негативный сдвиг потенциала, который есть надежный электрографический показатель развития корковой волны РД. Очень важным экспериментальным фактом, обнаруженным Л.В. Виноградовой, является то, что волна РД развивается в ответ на предъявление сильного звука даже у животных, не обнаруживавших внешнего проявления судорог. Этот факт имеет большое



общебиологическое значение, поскольку показывает сложность этого уникального феномена - аудиогенной эпилепсии грызунов.

Внимательный анализ этого феномена дал возможность автору выявить еще один важный факт в характеристике аудиогенных судорог – моторную и электрографическую асимметричность этих явлений. Подробный анализ феноменологии подобной асимметрии как в аспекте направления движения при первой фазе аудиогенного приступа, так и в ее электрографических коррелятах, составляет новую, добротную базу для нейрофизиологического исследования генеза не только судорожной активности, но и двигательных реакций в целом. Эти данные показывают также перспективность использования этой модели мозговой патологии для детального анализа взаимовлияний между активированными структурами разных отделов мозга при генезе судорожных состояний. Более того, поскольку анализ ЭЭГ в стандартном диапазоне частот часто не позволяет понять причины особенностей эпилептогенеза, возможность оценки различий в динамике РД может быть полезной и для интерпретации экспериментальных данных, и для клиники. Например, в работе показано, что у крыс WAG/Rij с двумя формами эпилепсии возникновение в коре волны депрессии при аудиогенных судорогах определяло постиктальную депрессию спонтанных абсансных судорог. Оказалось также, что направление бега при аудиогенном двигательном возбуждении может иметь прогностическое значение в аспекте развития дальнейших судорог. Автор полагает, что у крыс Вистар левое полушарие более «уязвимо» в плане вторичной генерализации стволовой судорожной активности.

Эти вопросы, а также все другие проблемы, которые затронуты автором при представлении своих результатов, подробно и достаточно строго анализируются в соответствующих разделах главы Результаты. Можно утверждать, что автор выбрала удачную форму оценки полученных данных, поскольку позволяет оттенить детали полученных экспериментальных фактов.

Такая форма изложения позволила автору написать достаточно лаконичное и четкое заключение, в котором полученные экспериментальные данные еще раз подаются в аспекте их общефизиологической значимости.

Л.В. Виноградова убедительно показывает, что аудиогенная эпилепсия крыс с акцентом на динамику последующего развития судорог «лимбической» природы, представляет собой модельную систему для оценки противосудорожных препаратов с разной химической структурой и с различным сродством к нейротрансмиттерным системам мозга.

Выводы, сделанные автором на основании проведенных экспериментов, содержат 13 пунктов и, на наш взгляд, являются несколько слишком многословными. Однако они полностью обоснованы.

Большая по объему и разнообразная по содержанию экспериментальная работа Л.В.Виноградовой не может быть свободной от недостатков. Основные замечания по содержанию работы были даны выше. Отметим здесь стилистические и терминологические недочеты, которые, в основном, сводятся к использованию лабораторного жаргона (например, «минимальные моторные судороги стволового типа» или «короткий мягкий бег», «раскачанные крысы» и др.). Заметим также, что в нумерации разделов диссертации по какой-то причине не участвует раздел Введение.

Резюмируя сказанное, следует заключить, что диссертационная работа Л.В. Виноградовой, посвященная экспериментальному анализу процессов эпилептогенеза на удачно выбранной и творчески разработанной модели, содержит богатый и разнообразный материал, существенно расширяющий представления о «структуре» и закономерностях развития аудиогенных судорожных припадков. Изучение эпилепсии, как проблема клиники, имеет важную задачу поиска новых противосудорожных средств, поскольку остается значимая доля фармакорезистентных случаев этой болезни. В связи с этим

исследование механизмов эпилептогенеза в эксперименте продолжает оставаться и актуальным, и важным в практическом отношении.

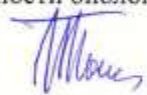
На сформулированные в начале работы вопросы (задачи) получены четкие и обоснованные ответы. Автор блестяще ориентируется в современных исследованиях по теме диссертации, что позволяет проводить интересные и важные для осмысления полученных данных сопоставления давних, но важных для данной диссертации исследований, с современными работами и формулировать новое видение этих проблем.

Есть все основания утверждать, что докторская диссертация Л.В. Виноградовой – законченное исследование, в котором изложены и обобщены важные экспериментальные данные, на их основе сделаны теоретические заключения, а также предложены парадигмы использования этих новых знаний в практических целях.

Диссертация «ИССЛЕДОВАНИЕ НЕЙРОФИЗИОЛОГИЧЕСКИХ МЕХАНИЗМОВ ЭПИЛЕПТОГЕНЕЗА НА МОДЕЛИ РЕФЛЕКТОРНОЙ АУДИОГЕННОЙ ЭПИЛЕПСИИ» соответствует п.8 «Положения о присуждении ученых степеней» ВАК РФ, а ее автор, Виноградова Людмила Владиславовна, заслуживает присуждения ей искомой степени доктора биологических наук по специальности 03.03.01 Физиология.

Доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник  
кафедры высшей нервной деятельности биологического факультета  
МГУ имени М.В. Ломоносова

Полетаева И.И.



И.о. заместителя И.о. кафедры высшей нервной деятельности биологического  
ф-та МГУ имени М.В. Ломоносова  
проф.

Латанов А.В.



ПОДПИСЬ  
ЗАВЕРЯЮ

Полетаева И.И., Латанов А.В.



Документовед биологического факультета МГУ

## ОТЗЫВ

официального оппонента

на диссертационную работу Виноградовой Людмилы Владиславовны на тему «Нейрофизиологические механизмы рефлекторной аудиогенной эпилепсии», представленную на соискание ученой степени доктора биологических наук по специальности

03.03.01 физиология

**Актуальность темы исследования.** Диссертация Виноградовой Л.В. посвящена исследованию нейрофизиологических механизмов рефлекторной аудиогенной эпилепсии. Данные, полученные на основании фенотипического, нейрофармакологического и электрографического анализа аудиогенных судорог и аудиогенного киндлинга у крыс трех генетических линий, вносят существенный вклад в понимание патофизиологических механизмов развития эпилепсии и вклада различных факторов в индивидуальные различия течения данного заболевания. Впервые полученные в данном исследовании свидетельства асимметричного характера корково-подкорковых взаимодействий при эпилептогенезе у экспериментальных животных могут быть важны для изучения механизмов межполушарных различий в реактивности головного мозга на различные патологические воздействия, описанные у человека. В связи с этим, тему диссертационного исследования Виноградовой Л.В. следует признать актуальной.

**Цель исследования** сформулирована понятно и четко. На основе данных литературы Виноградова Л.В. поставила целью своей работы изучение нейрофизиологических механизмов иктогенеза (развития судорог) и эпилептогенеза (усиления повторных судорог) на экспериментальной модели аудиогенного киндлинга с применением методов электрофизиологического, нейрофармакологического и фенотипического анализа судорожной активности. В соответствии с данной целью исследования были поставлены шесть задач, посвященных сравнению динамики аудиогенного киндлинга у крыс разных генетических линий, исследованию роли эндоканнабиноидной, гистаминергической и ГАМКергической систем головного мозга в механизмах иктогенеза и эпилептогенеза, электрографическому анализу аудиогенного

киндлинга, взаимодействию разных типов судорожной активности, а также изучению асимметрии моторных и электрографических проявлений аудиогенных судорог и аудиогенного киндлинга.

**Научная новизна.** В работе Виноградовой Л.В. впервые исследована возможность развития эпилептогенных изменений при повторении минимальных аудиогенных судорог и описаны внутрилинейные различия чувствительностью к эпилептогенезу среди крыс Wistar и WAG/Rij. Впервые обнаружено, что распространяющаяся депрессия (РД) является регулярной реакцией новой коры на повторные стволовые судороги, причем возникновение РД при аудиогенных судорогах определяет паттерн послесудорожной депрессии эпилептических спонтанной эпилептиформной активности у крыс WAG/Rij. Одним из важных результатов исследования является получение первых экспериментальных данных об асимметричном начале стволовых судорог, вызванных звуком, и асимметричном паттерне вторичного распространения этих судорог в кору при аудиогенном киндлинге. Впервые получены данные о повышенной уязвимости левого полушария к эпилептогенезу у экспериментальных животных.

**Теоретическая и практическая значимость работы** определяется возможностью использования модифицированной модели аудиогенного киндлинга, описанной в диссертационной работе, при изучении фундаментальных механизмов эпилептогенеза и его фармакологической модуляции. Полученные в ходе нейрофармакологического исследования результаты могут быть использованы для формирования наиболее продуктивной стратегии лечения ряда форм эпилепсии. Полученные данные вносят вклад в понимание механизмов постиктальной головной боли и тесной связи между эпилепсией и мигренью, описанной в клинике. Данные об асимметрии судорожной активности, вызванной звуком у крыс, могут быть важны для понимания природы асимметричных проявлений генерализованных судорог у пациентов и более высокой эпилептогенности левого полушария, описанной в клинических исследованиях. Данная модель может быть использована для экспериментального изучения функциональной межполушарной асимметрии в условиях патологии головного мозга и эндогенных механизмов регуляции чувствительности мозга к эпилептическому возбуждению.

**Конкретные рекомендации по использованию результатов и выводов диссертационной работы.** Результаты диссертационной работы могут быть использованы в Институте фармакологии РАМН, в Научном центре неврологии РАМН.

Достоверность и обоснованность положений и выводов диссертации. Экспериментальные данные, лежащие в основе диссертационного исследования Виноградовой Л.В., получены на достаточном объеме экспериментальных животных, адекватными методами исследования и грамотно обработаны статистически. На основании полученных данных сделано 13 обоснованных выводов. Детальное знакомство с рукописью позволяет говорить о высокой степени достоверности и обоснованности представленных в диссертации материалов.

**Оценка методики.** Работа выполнена на хорошем методическом уровне с использованием методов фенотипического (поведенческого), нейрофармакологического и электрографического анализа судорожной активности, вызываемой звуковой стимуляцией у крыс трех генетических линий. Методическое обоснование работы полностью соответствует целям и задачам исследования, а его уровень достаточен для докторской диссертации по специальности физиология.

**Структура диссертации.** Диссертация состоит из введения, обзора литературы (глава 1), описания методов исследования (глава 2), изложения результатов и их обсуждения (глава 3), общего заключения (глава 4), выводов и списка литературы. Работа изложена на 193 страницах машинописного текста, содержит 17 таблиц и 34 рисунка.

В первой главе «Обзор литературы» приведены сведения о механизмах эпилептогенеза и экспериментальных моделях эпилепсии, дана развернутая характеристика модели аудиогенных судорог и аудиогенного киндлинга, а также сведения о феномене распространяющейся депрессии и его связи с судорожной активностью.

Во второй главе «Методы исследования» изложены данные об экспериментальном материале, методах инициации аудиогенных судорог и аудиогенного киндлинга, а также методы электрофизиологического и нейрофармакологического анализа, способы статистической обработки полученных данных.

В последующей главе и ее разделах представлены результаты собственных исследований, а также анализ и обсуждение полученных данных. Экспериментальный материал представлен подробно и проиллюстрирован таблицами и рисунками.

В заключительных главах проведено общее обсуждение полученных результатов исследования и сделаны основные выводы по результатам проведенной работы.

Диссертация оформлена в соответствии с требованиями ВАК РФ, написана хорошим научным языком. Построение работы замечаний и пожеланий не вызывает.

Освещение диссертации в научной печати. Данные диссертационного исследования Виноградовой Л.В. широко обсуждались на международных конференциях и конгрессах. Они опубликованы в открытой печати и хорошо известны научной общественности. По материалам диссертации опубликовано 17 статей, в том числе 13 статей в широко известных международных журналах и одна монография (в соавторстве с В.И. Королевой и Н.А. Гореловой).

Анализ содержания автореферата показывает, что он соответствует содержанию диссертации и полностью отражает ее теоретические и практические положения.

**В качестве замечаний по диссертации** необходимо отметить следующее:

Принципиальных замечаний по методам исследования, представлению полученных результатов и их обсуждению, а также сделанным на основании этого вывода у меня нет. Все же мне кажется, что было бы правильно дать при описании методики развернутую цитату из книги В.И. Королевой с соавторами (1993), в которой речь идет о возможности регистрации без больших искажений волны РД поляризуемыми угольными электродами. На мой взгляд, этот методический подход имеет самостоятельную ценность не только в рамках обсуждаемой диссертации, но знакомство с ним было бы полезно всем, кто занимается регистрацией медленной электрической активности. Следует подчеркнуть, что это пожелание не снижает теоретической и практической ценности рецензируемой работы.

**Заключение.** Таким образом, диссертация Виноградовой Людмилы Владиславовны является научно-квалификационной работой, в которой на

основании выполненных автором исследований разработаны теоретические положения, совокупность которых можно квалифицировать как научное достижение, имеющее важное значение для теоретической и прикладной нейрофизиологии. Принимая во внимание актуальность выполненной работы, обоснованность и научную новизну сделанных обобщений и выводов, а также их существенную теоретическую и практическую значимость для современной науки, можно заключить, что диссертация Виноградовой Людмилы Владиславовны на тему «Нейрофизиологические механизмы рефлекторной аудиогенной эпилепсии» полностью соответствует требованиям п. 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства РФ от 24 сентября 2013 г. № 842, предъявляемым к диссертационным работам на соискание ученой степени доктора наук, а ее автор заслуживает присуждения искомой степени по специальности 03.03.01 – физиология.

10.11.2014

д.б.н., профессор

(В.Ф. Фокин)

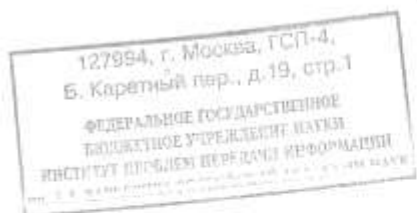
Подпись В.Ф. Фокина удостоверяю  
Ученый секретарь ФГБУ «НЦПЗ РАМН»

к.м.н.



(Е.В. Гнедовская)





« УТВЕРЖДАЮ»

Директор Федерального  
государственного бюджетного  
учреждения науки Института  
проблем передачи информации им.  
А.А. Харкевича Российской академии  
наук, академик Кулешов А. П.



6 ноября 2014 года

**Отзыв ведущей организации на диссертацию Людмилы Владиславовны  
Виноградовой: «Нейрофизиологические механизмы рефлекторной  
аудиогенной эпилепсии», представленной на соискание ученой степени  
доктора биологических наук по специальности: 03.03.01 - «физиология».**

Рост числа заболеваний, вызванных патологическими процессами в нервной системе – тревожная черта нашего времени. В ряде случаев эту тенденцию связывают с улучшением методов ранней диагностики. Однако, к сожалению, это предположение не применимо в отношении эпилепсии – заболевания, частота появления которого не просто увеличивается, но которое захватывает все более молодые слои населения. Рост детской эпилепсии – один из вызовов, встающих перед экономически развитыми странами. Таким образом, актуальность и практическая значимость рассматриваемой работы не вызывает сомнений. Исследование особенностей этого заболевания на животных моделях и разработка модельных систем, позволяющих проводить тестирование новых препаратов на предмет их возможного антисудорожного действия, не только приближает нас к пониманию механизмов возникновения эпилепсии, но и дает шанс на открытие путей ее предотвращения.

Рецензируемая работа включает пять глав. Приведенный в конце список использованной литературы содержит 40 российских и 357 иностранных публикаций.

В первой главе диссертации – литературном обзоре – детально представлены существующие модели эпилепсии. Особое внимание уделено описанию аудиогенных судорог и исследований механизмов аудиогенной эпилепсии. Классифицированы типы поведенческих проявлений аудиогенных приступов и дана привязка отдельных элементов этих поведенческих реакций с активацией разных уровней центральной нервной системы. Особый интерес представляют разделы, посвященные описанию явления аудиогенного киндлинга – его поведенческих и электрографических проявлений, а также явлению распространяющейся депрессии и связи этого явления с судорожной активностью.

Вторая глава посвящена описанию использованных в работе методических приемов.

Основная третья глава представляет проведенные автором результаты исследований, описания которых разбиты на четыре больших раздела. Нужно отметить, что чтение работы было бы существенно удобнее, если бы четыре раздела этой главы были представлены отдельными главами, как это и заявлено в автореферате.

Первый раздел результатов посвящен фенотипическому анализу эпилептогенеза на модели аудиогенного киндлинга. Особый интерес представляет предложенный и исследованный автором прием «мягкого» киндлинга при котором раздражающий звук прекращается сразу же после первых признаков растущего возбуждения нервной системы животного. Этот прием существенно растягивает во времени развитие эпилептогенеза и позволяет детальнее исследовать его отдельные стадии, что может быть особенно полезно при тестировании новых фармакологических препаратов. В работе приводится детальный анализ базовой картины развития

аудиогенного киндлинга у трех линий крыс – KM, Wistar и WAG/Rij – основных линий, используемых при изучении эпилептогенеза.

Следующий раздел посвящен результатам нейрофармакологического анализа механизмов иктогенеза и эпилептогенеза на модели аудиогенного киндлинга. Продемонстрирована роль эндоканнабиноидной и гистаминергической систем в этих процессах. Исследовано участие ГАМКергических механизмов в экспрессии аудиогенных судорог. Большой интерес представляет проведенное исследование влияния нового антиэпилептического препарата второго поколения леветирацетама. Этот препарат активно используется в клинике и обладает уникальным и до конца не выясненным механизмом действия на судорожную активность. Леветирацетам продемонстрировал сильные антииктогенный и антиэпилептогенный эффекты при аудиогенной эпилепсии, что лишний раз подчеркнуло потенциальную ценность этой модели для скрининга новых фармакологических препаратов.

В третьем разделе приведены результаты электрографического анализа аудиогенного киндлинга у крыс Wistar и WAG/Rij. При проведении этих экспериментов автор использовала усилители постоянного тока и неполяризуемые карбоновые электроды. Это дало возможность увидеть появляющиеся в коре волны распространяющейся депрессии и установить, что распространяющаяся депрессия является не только самым ранним, но и самым стабильным проявлением коркового эпилептогенеза при аудиогенном киндлинге у крыс Wistar и WAG/Rij. Одностороннее возникновение волны депрессии в коре на ранних этапах киндлинга указывает на одновременное вовлечение коры двух полушарий в эпилептическую сеть аудиогенных судорог.

Односторонняя волна распространяющейся депрессии была самым ранним корковым событием при аудиогенном киндлинге. В отличие от традиционных способов запуска волн распространяющейся депрессии искусственной стимуляцией отделов коры током или химическими агентами

в данной работе эти волны возникали в ответ на естественную сенсорную стимуляцию в процессе развития аудиогенного киндлинга. Поскольку волны распространяющейся депрессии связывают с механизмами мигреней, результаты экспериментов, представленные в данном разделе, могут оказаться чрезвычайно важными не только для процессов эпилептогенеза, но и для изучения механизмов мигреней. Эти результаты также подчеркивают важность применения усилителей постоянного тока при электрографических исследованиях, посвященных изучению эпилептической активности.

В последнем разделе проводится анализ асимметрии ранних проявлений аудиогенных судорог и аудиогенного киндлинга у крыс Wistar и WAG/Rij. Проведено сравнение электрографических ответов коры и направлений провоцируемого звуком бега. Отмечена большая чувствительность левого полушария мозга в развитии эпилептической активности. Обнаружено, что у крыс Wistar латеральная асимметрия при формировании аудиогенного киндлинга наблюдалась только на его первом этапе (т.е. при распространении судорог из ствола в кору), но не при последующей генерализации судорог в пределах переднего мозга на поздних этапах киндлинга.

Четвертая глава завершает исследование и посвящена краткому обзору и обсуждению всех полученных результатов.

В пятой главе сформулированы основные выводы из проделанной работы.

При всей значимости полученных результатов их представление в диссертации не лишено недостатков. Чтение работы чрезвычайно затруднено неоправданно большим количеством сокращений. Хотя список сокращений и приводится в начале работы (сокращения ПТК нет в этом списке, но оно есть в тексте), это мало помогает. Сокращения АД и AD попеременно появляются в русском и латинском вариантах, как в тексте, так и на иллюстрациях. На рис. 14 вещество называется LEV, а в подписи к этому рисунку ЛВ.

Текст диссертации не свободен от опечаток, которые в большинстве случаев не мешают чтению работы. Лишь в двух случаях опечатки носят более серьезный характер. В методике вместо входного сопротивления усилителя написано «входное усиление». Эта опечатка прошла и в текст автореферата. И в тексте на стр. 140 дается ссылка на несуществующий раздел 4.3.2. Видимо подразумевался раздел 3.4.2.

Вызывает недоумение следующая формулировка на стр. 54. «Развитие тонических и клонических судорог значительно влияет на длительность предшествующей им локомоторной фазы АС». Как-то трудно себе представить механизм влияния на события, предшествующие во времени.

Нигде не указано, в какое время суток проводили те или иные эксперименты. Для крыс – ночных животных эта информация может быть существенной.

Кажется противоречивыми фрагмент текста на стр. 80: «Способность антагониста СВ1 рецепторов вызывать развитие лимбических (но не стволовых судорог) у здоровых крыс ... соответствует данным о высокой плотности эндоканнабиноидных рецепторов в лимбических структурах и сравнительно низкой – в стволовых отделах мозга (Tsou et al., 1998)» и фрагмент на стр. 82: «Действительно в слуховом стволе (дорсальном кохлеарном ядре и НД), описаны различные формы синаптической, и внутренней пластичности, в контроле которых активно участвует эндоканнабиноидная система (Syka, 2002; Tzounopoulos, 2008). Более того, предполагается, что эндоканнабиноидные СВ1 рецепторы являются одним из главных модуляторов баланса возбуждения/торможения и синаптической пластичности в слуховом стволе (Zhao et al., 2009).»

На основе изучения диссертации, автореферата и публикаций Л.В. Виноградовой можно сделать заключение, что изложенные автором научные положения и выводы представляют существенный вклад в исследование организации центральной нервной системы. Полученные автором результаты, высокий научный уровень их обсуждения и выводы дают


основание рассматривать рецензируемую диссертацию как завершённую, самостоятельную научно-квалификационную работу, а сформулированные в ней теоретические положения можно квалифицировать как научное достижение в области физиологии центральной нервной системы.

Полученные в работе результаты можно рекомендовать к использованию в учреждениях, занимающихся как фундаментальными, так и прикладными проблемами эпилептогенеза.

Учитывая новизну, теоретическую и практическую значимость выполненных исследований, можно заключить, что представленная диссертационная работа Л. В. Виноградовой «Нейрофизиологические механизмы рефлекторной аудиогенной эпилепсии» соответствует требованиям п. 9 «О порядке присуждения ученых степеней» постановления Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013г. №842", предъявляемым к докторским диссертациям, а ее автор, Людмила Владиславовна Виноградова, заслуживает присуждения ученой степени доктора биологических наук по специальности 03.03.01 – физиология.

Диссертационная работа Л.В. Виноградовой и настоящий отзыв были обсуждены и одобрены на семинаре лаборатории №8 ИППИ РАН 30 октября 2014 года (протокол №3), и диссертация была рекомендована к защите.

Главный научный сотрудник ФГБУН  
Института проблем передачи информации  
им. А.А. Харкевича РАН,  
доктор биологических наук  
Пигарев Иван Николаевич



## ОТЗЫВ

на автореферат диссертации Виноградовой Людмилы Владиславовны  
«Нейрофизиологические механизмы рефлекторной аудиогенной  
эпилепсии», представленной на соискание ученой степени доктора  
биологических наук по специальности 03.03.01 – «Физиология»

Исследование, проведенное Л.В. Виноградовой и изложенное в автореферате диссертации, представляет существенный вклад в понимание фундаментальных механизмов эпилепсии - одной из наиболее тяжелых форм патологии головного мозга. Эпилепсия связана с аномалией межнейронных взаимодействий, и ее экспериментальное исследование представляет значительный интерес для понимания сетевых механизмов работы головного мозга, одной из наиболее актуальных проблем современной нейрофизиологии.

Уникальность модели аудиогенной эпилепсии грызунов состоит в возможности подробного исследования корково-подкорковых сетевых взаимодействий. Первичный очаг возбуждения при этой форме экспериментальной эпилепсии находится в слуховом стволе, а структуры переднего мозга вовлекаются в эпилептическую сеть в результате вторичной генерализации судорожной активности. Исследование Л.В.Виноградовой показало, что распространение эпилептических разрядов из ствола в неокортекс может носить латерализованный характер с опережающим возбуждением одного полушария. Это новый и интересный факт, позволяющий по-новому взглянуть на пластические сетевые изменения, происходящие в головном мозге при его патологической активации.

Интересны данные о повышенной чувствительности левого полушария к формированию вторичных патологических очагов в новой коре при аудиогенной эпилепсии. Этот результат согласуется с известными клиническими данными о повышенной эпилептогенности левого полушария у пациентов и более тесном функциональном взаимодействии стволовых отделов мозга с корой левого полушария (Брагина, Доброхотова, 1988). Предложенная автором диссертационной работы экспериментальная модель эпилептогенеза может быть использована для изучения фундаментальных механизмов межполушарной асимметрии в условиях патологии.

Исследование эпилептогенеза у крыс WAG/Rij с двумя формами генетической эпилепсии (абсансной и аудиогенной) позволило автору диссертационного исследования получить новые интересные данные о взаимодействии таламо-кортикальных, стволовых и лимбических сетей в эпилептическом мозге, а также о роли феномена распространяющейся депрессии в постиктальных изменениях пик-волновых разрядов абсансной эпилепсии.

Представленные в автореферате экспериментальные данные убедительно демонстрируют, что работа выполнена на высоком научном уровне, обладает новизной и практической значимостью. Выводы полностью отражают результаты исследования, полученные в поведенческих,

электрофизиологических и нейрофармакологических экспериментах. В целом, диссертационная работа «Нейрофизиологические механизмы рефлекторной аудиогенной эпилепсии» по своей научной новизне, актуальности, теоретической и практической значимости полностью соответствует требованиям, предъявляемым к докторским диссертациям, а ее автор Виноградова Л.В. заслуживает присуждения ей искомой степени доктора биологических наук по специальности 03.03.01 – «Физиология».

Профессор кафедры физиологии  
человека и животных МГУ им. М.В. Ломоносова,  
доктор биологических наук

В.А. Дубынин



ПОДПИСЬ РУКИ *Дубынина В. А.*  
ЗАВЕРЯЮ *Сельваз*

Документовед биологического факультета МГУ



## ОТЗЫВ

на автореферат диссертации Виноградовой Людмилы Владиславовны «Нейрофизиологические механизмы рефлекторной аудиогенной эпилепсии», представленной на соискание ученой степени доктора биологических наук по специальности 03.03.01 – Физиология

Одной из характерных особенностей эпилепсии является гетерогенность этого заболевания, включающего множество эпилептических синдромов, которые отличаются по своей этиологии, клиническим проявлениям, фармакологическому профилю, динамике патологического процесса, электрографическим особенностям судорожных приступов. Патофизиологические механизмы эпилепсии и причины многообразия ее форм остаются неясными. Исследования на экспериментальных моделях эпилепсии имеют большое значение для решения фундаментальных вопросов о механизмах патологического возбуждения головного мозга. При этом генетические модели эпилепсии, к которым относится и рефлекторные судороги, привлекают в последнее время большое внимание.

Исследование Л.В. Виноградовой является важным вкладом в изучение нейрофизиологических механизмов эпилепсии. Описанные в работе внутрилинейные и межлинейные различия в выраженности аудиогенных судорог и чувствительности к хроническому эпилептогенезу среди крыс с аудиогенной эпилепсией хорошо моделируют клиническую ситуацию с высокой вариабельностью паттернов судорог, множественностью эпилептических синдромов и большими различиями в течении заболевания.

Несомненным достоинством работы является ее комплексный характер. Автором представлены результаты поведенческого, нейрофармакологического и электрофизиологического анализа, полученные на крысах трех генетических линий, в том числе на крысах WAG/Rij со смешанной генерализованной (абсансной и аудиогенной) эпилепсией.

Данные, полученные на последних крысах, представляют значительный интерес для понимания взаимодействия разных типов судорожной активности в эпилептическом мозге и нейроанатомических систем, участвующих в их генерации. С одной стороны, приведенные экспериментальные данные свидетельствуют об относительно независимом характере патологической активации стволовых субстратов аудиогенных судорог и таламо-кортикальные сетей, генерирующих пик-волновые разряды абсансной эпилепсии. С другой

стороны, описанная в работе тесная негативная корреляция интенсивности абсансных судорог и чувствительности к лимбическому эпилептогенезу (киндлингу) у крыс WAG/Rij со смешанной эпилепсией свидетельствуют об антагонизме таламо-кортикальной и лимбической систем головного мозга. Наконец, обнаруженное на этих крысах WAG/Rij мощное влияние корковой волны распространяющейся депрессии на генерацию пик-волновых разрядов абсанс-эпилепсии после аудиогенных судорог указывает на мощную модулирующую роль коры больших полушарий на генерацию абсансных судорог.

Принципиально важно, что исследование нейрофизиологических механизмов эпилептогенеза было проведено на экспериментальной модели, в которой эпилептическое возбуждение головного мозга инициируется сенсорной стимуляцией в отсутствие дополнительных воздействий, нарушающих структурную и нейрохимическую целостность мозга.

Исследование, проведенное Л.В.Виноградовой и изложенное в автореферате диссертации, представляет существенный вклад в понимание фундаментальных механизмов эпилепсии. Работа выполнена на высоком методическом уровне. Цель и задачи исследования сформулированы четко. Положения, выдвинутые на защиту, убедительны, и хорошо обоснованы. Диссертационная работа «Нейрофизиологические механизмы рефлекторной аудиогенной эпилепсии» по своей актуальности, научной новизне, теоретической и практической значимости полностью соответствует требованиям, предъявляемым к докторским диссертациям, а ее автор Виноградова Л.В. заслуживает присуждения ей искомой степени доктора биологических наук по специальности 03.03.01 – Физиология.

Калимуллина Лилия Барыевна  
Заслуженный деятель науки РБ,  
профессор кафедры физиологии человека  
и зоологии Башкирского государственного университета  
доктор биологических наук  
450076 г.Уфа  
Ул. Заки Валиди 32  
Тел. 8(917)76-112-84  
e-mail mpha@ufanet.ru



*Калимуллина*

Подпись *Калимуллина Л.В.*  
Завещаю: ученый секретарь БашГУ  
*Сабир Вахитов С.Р.*  
« 31 » апреля 20 14 г.

#### ОТЗЫВ

на автореферат диссертации **Виноградской Людмилы Владиславовны** «**Нейрофизиологические механизмы рефлекторной аудиогенной эпилепсии**», представленной на соискание ученой степени доктора биологических наук по специальности 03.03.01 – «Физиология»

Актуальность. Эпилепсия является одним из наиболее тяжелых, но потенциально излечимых неврологических заболеваний. Многообразие ее форм у человека и множественность типов судорог даже у одного пациента являются серьезной проблемой в клинической практике. Поэтому для выяснения патофизиологических механизмов эпилепсии большое значение имеют экспериментальные исследования на разнообразных моделях данного заболевания. Известно, что аудиогенные судороги у грызунов являются одной из наиболее известных экспериментальных моделей конвульсивной эпилепсии. Хотя аудиогенные судороги у человека крайне редки, исследования на этой модели представляют значительный интерес для понимания нейрофизиологических процессов, протекающих в мозге при его патологическом возбуждении.

Результаты. Полученные в исследовании Л.В.Виноградской экспериментальные данные важны для понимания роли подкорковых структур и корково-подкорковых взаимодействий в патогенезе эпилепсии. Считается, что в развитии судорожной активности главную роль играет кора больших полушарий. С развитием методов нейровизуализации появилась возможность оценить вовлеченность структур подкорки в эпилептический процесс у пациентов, и была показана выраженная активация этих структур во время судорог разного типа. Работа Л.В. Виноградской показала, что даже минимальная эпилептическая активация подкорковых структур при своем повторном возникновении может вести к развитию корковых эпилептиформных разрядов и усложнению поведенческих проявлений эпилептических приступов. Причем впервые Л.В.Виноградской продемонстрировано, что распространение судорожной активности из ствола в кору в процессе вторичного эпилептогенеза может носить латерализованный характер, что особенно важно для понимания межполушарных взаимодействий в эпилептическом мозге.

Хотя существует большое число антиэпилептических препаратов, около 30-40% пациентов остаются резистентными к лечению фармакологическими препаратами. Поэтому большое значение имеет поиск новых мишеней для антиэпилептической терапии. Интерес представляют полученные Л.В.Виноградской данные об активной роли эндоканнабиноидной системы в механизмах, регулирующих

чувствительность мозга к эпилептогенезу, а также о разном влиянии препаратов, модулирующих активность гистаминергической и ГАМКергической систем, на судороги разного генеза, о роли вигабатрина и кешпры. Интересный раздел связан с анализом распространяющейся депрессии (РД) и ее роли в икто и эпилептогенезе, а также в формировании и подавлении киндлинга.

Резюме. Диссертационная работа Л.В.Виноградовой является законченным, самостоятельным исследованием, которое имеет фундаментальный характер и является существенным вкладом в развитие представлений о нейрофизиологических механизмах эпилепсии и в поиск новых подходов к фармакологической терапии данного заболевания. Представленные в автореферате экспериментальные данные убедительно демонстрируют, что работа выполнена на высоком методическом уровне. Сделанные выводы, а также публикации автора, полностью отражают основные результаты работы. Следует отметить, что 13 работ автора в международной печати и одна монография, посвященная распространяющейся депрессии, является важным вкладом в анализ нейрофизиологических механизмов эпилепсии.

Замечания. Практически замечаний к работе нет. 13 выводов кажется, несколько избыточными и можно было бы ограничиться 7-8, сгруппировав их. В связи с анализом роли РД, интересно мнение автора нужно ли и можно ли этот показатель использовать в клинике у больных с эпилепсией и какие методические приемы будут оптимальными при исследовании этого показателя в клинической практике.

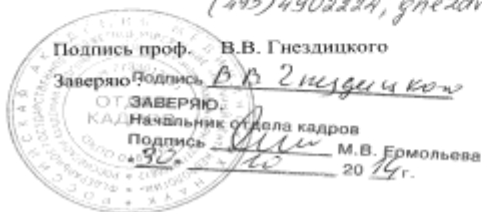
Общее заключение. В целом, диссертационная работа «Нейрофизиологические механизмы рефлекторной аудиогенной эпилепсии» по своей научной новизне, актуальности, теоретической и практической значимости, несомненно полностью соответствует требованиям, предъявляемым к докторским диссертациям, а ее автор Виноградова Л.В. заслуживает присуждения ей искомой степени доктора биологических наук по специальности 03.03.01 – «Физиология».

Руководитель лаборатории клинической нейрофизиологии  
ФГБУ Научного Центра неврологии,

доктор биологических наук, профессор

(495) 4902224, gnezdvv@mail.ru

В.В. Гнездицкий



## ОТЗЫВ

на автореферат диссертации **Виноградовой Людмилы Владиславовны**  
**« Нейрофизиологические механизмы рефлекторной аудиогенной эпилепсии»**, представленной на соискание ученой степени доктора биологических наук по специальности 03.03.01 – «Физиология»

При изучении патогенеза эпилепсии большое значение имеет моделирование различных форм этого заболевания и исследование эпилептогенеза в эксперименте. Диссертационная работа Л.В.Виноградовой вносит существенный вклад в изучение фундаментальных механизмов эпилепсии, и прежде всего первично-генерализованной эпилепсии, моделью которой являются аудиогенные судороги грызунов. Важной чертой данного исследования является системный подход к изучению эпилептогенеза с использованием методов электрографического и нейрофармакологического анализа.

Согласно современным представлениям, судорожная активность определяется не столько локальной активностью эпилептического очага, сколько является результатом формирования эпилептической системы. Поэтому принципиально важное значение приобретает изучение системных аспектов эпилептогенеза и иктогенеза. Выбранная Л.В.Виноградовой экспериментальная модель, в которой судороги инициируются сенсорной стимуляцией интактных животных, представляется крайне удачной для исследования эпилептических систем в условиях ненарушенной нейрохимической и структурной целостности головного мозга.

Значительный интерес представляет сравнительная оценка роли различных медиаторных систем в эпилептогенезе, а также изучение влияния антиэпилептических препаратов на развитие рефлекторных аудиогенных судорог. Важными являются данные об участии эндоканнабиноидных рецепторов в системе антиэпилептической защиты. Облегченное развитие вторичных лимбических судорог у крыс Wistar, демонстрирующих устойчивость к вторичной генерализации судорог (киндлингу), на фоне заблокированных эндоканнабиноидных рецепторов позволяет предполагать существенную роль этой нейромодуляторной системы головного мозга в эндогенных антиэпилептических механизмах и рассматривать ее как возможную мишень для фармакологической терапии эпилепсии.

Важное значение имеют и экспериментальные данные, полученные при изучении закономерностей реорганизации эпилептических сетей в ходе аудиогенного киндлинга. В этой модели развитие эпилептической активности в коре является результатом вторичной генерализации судорожных разрядов из первичного стволового очага. Как показало диссертационное исследование, такая вторичная генерализация эпилептической активности может носить асимметричный (латерализованный) характер с опережающим распространением

судорожных разрядов в одном из полушарий, причем легче такая генерализация протекает в пределах левого полушария. Эти экспериментальные данные являются первым свидетельством асимметричного паттерна вторичной генерализации эпилептической активности и повышенной уязвимости левого полушария к эпилептогенезу у экспериментальных животных. Это согласуется с результатами наших клинических исследований, проведенных еще в 80-90-х годах XX века, в которых была описана асимметричность электрографических проявлений первично-генерализованной эпилепсии и отмечен левополушарный акцент в распространении эпилептической активности у пациентов с первично-генерализованной эпилепсией с более частым развитием очагов вторичного характера в структурах левой гемисферы. Описанная нами связь левополушарного преобладания с длительностью заболевания и частотой пароксизмов позволяет предполагать участие в этом феномене механизмов киндинга (раскачки).

К недостаткам работы можно отнести слабое внимание к достижениям отечественной эпилептологии.

В целом, диссертационная работа «Нейрофизиологические механизмы рефлекторной аудиогенной эпилепсии» по своей актуальности, научной новизне, теоретической и практической значимости, соответствует требованиям, предъявляемым к докторским диссертациям, а ее автор Виноградова Л.В. заслуживает присуждения ей искомой степени доктора биологических наук по специальности 03.03.01 – «Физиология».

Член-корреспондент РАН,  
заслуженный деятель науки РФ,  
доктор медицинских наук,  
профессор

(495) 2611067, v\_karlov@barnsly.ru



(В.А.Карлов)

Ученый секретарь  
ГБОУ ВПО «МГМСУ им. А.И.Евдокимова»  
Минздрава России  
заслуженный врач России,  
доктор медицинских наук,  
профессор



Ю. А. Васлюк