Biomarkery epileptogenezy – nadzieje i możliwości

Biomarkers of epileptogenesis – hopes and possibilities

Milena Franckiewicz, Jolanta Strzelecka, Paweł Dryżałowski, Sergiusz Jóźwiak

Klinika Neurologii Dziecięcej i Pediatrii Samodzielny Publiczny Dziecięcy Szpital Kliniczny, Warszawa

DOI:10.20966/chn.2017.52.393

STRESZCZENIE

Prawie 30% chorych z padaczką cierpi na padaczkę lekooporną. Pomimo stosowania nowych leków odsetek ten nie obniża się. W wielu klinikach i pracowniach nauk podstawowych poszukuje się obecnie metod skuteczniejszego leczenia. Ostatnie lata przyniosły ogromne zainteresowanie czynnikami, za pomocą których można modyfikować proces powstawania i ewoluowania padaczki (epileptogenezę). Czynniki te nazywane biomarkerami epileptogenezy, należą do różnych grup. Wyróżnia się biomarkery immunologiczne, elektroencefalograficzne, neuroobrazowe, biomarkery „obwodowe”, w tym biomarkery znajdujące w krwi obwodowej pacjenta. Najczęściej używanym biomarkerem jest badanie EEG.

Współcześnie w Europie jest realizowanych wiele projektów badawczych dotyczących biomarkerów w padaczce. Celem tych badań jest lepsze poznanie mechanizmów powstawania padaczki i przełożenie tego na praktykę kliniczną.

Biomarkery powinny pomóc podjąć decyzję w następujących kwestiach: „kogo leczyć?”, „kiedy rozpocząć leczenie?” i „jaki sposób leczenia wybrać?”. W ostatnim czasie dzięki ustaleniu biomarkerów, które pozwalają przewidzieć chorobę oraz dzięki opracowaniu skutecznych terapii antyepileptogennych, pacjenci z grup ryzyka wystąpienia padaczki mogą być leczeni jeszcze przed wystąpieniem napadów padaczkowych.

Słowa kluczowe: biomarkery, epileptogeneza, padaczka

ABSTRACT

In almost 30% of epilepsy cases seizures remain uncontrolled. Despite the introduction of new drugs this percentage does not decrease. New methods of epilepsy treatment are investigated in many clinical departments and basic research institutes. In recent years a great attention has been paid to factors which may modify epileptogenesis and a course of epilepsy. These factors are called „biomarkers of epileptogenesis”. They belong to different groups classified into : immunological, electroencephalographic, neuroimaging, and „peripheral” biomarkers which may be found in peripheral blood. Currently the most frequently used biomarker is electroencephalography.

There are several ongoing studies on epilepsy biomarkers in Europe. Their aim is to learn better about the mechanisms of epileptogenesis and translate this knowledge to clinical practice.

Biomarkers should help to decide „who should be treated?”, „when to start treatment?”, „which treatment should be applied”? In recent years, due to the biomarkers which may predict an epilepsy and due to new antiepileptogenic therapies, patients with high risk of epilepsy may be treated even before the onset of first epileptic seizures.

Key words: biomarkers, epileptogenesis, epilepsy

WSTĘP

Padaczka jest jednym z najczęstszych schorzeń neurologicznych wieku dziecięcego [1]. W 30% przypadków farmakoterapia padaczki wciąż pozostaje nieskuteczna prowadząc do wyodrębnienia grupy chorych z tzw. padaczką lekooporną [2, 3]. Istnieje ponad 20 znanych leków przeciwpadaczkowych (LPP). Jednak nowe leki, pomimo ich lepszego profilu bezpieczeństwa (liniowa farmakokinetyka, mniej interakcji, mniej objawów ubocznych) nie wykazują znacząco lepszej skuteczności, a punkty uchwytu do tworzenia nowych leków zostały wyczerpane. Odkrycie dotąd nieznanych czynników ryzyka wystąpienia padaczki, określenie jej statusu klinicznego i podatności na farmakoterapię pozwoliłoby dokładniej przewidywać jej przebieg, zaplanować odpowiednie leczenie oraz odnaleźć punkty uchwytu dla nowych strategii leczenia. Precyzyjne oszacowanie ryzyka zachorowania, postawienie wczesnej i dokładnej diagnozy, a dzięki temu podjęcie działań prewencyjnych może być możliwe dzięki określeniu biomarkerów padaczki. Dostarczać mają one informacji o przebiegu, następstwach i lekowrażliwości choroby. Biomarker

miałby służyć określeniu u kogo, w którym momencie i jakiego rodzaju leczenie należy rozpocząć. Jego nadrzędne zadanie to modyfikacja przebiegu choroby.

BIOMARKERY – DEFINICJE

„Cecha, która daje się obiektywnie zmierzyć i może być zastosowana w ocenie fizjologicznych procesów biologicznych, procesów patologicznych lub odpowiedzi organizmu na działania terapeutyczne.” – tak definiuje pojęcie biomarkera prowadzony przez United States National Library of Medicine słownik pojęć medycznych (Medical Subject Headings, MeSH). Wobec powyższego za biomarker może być uznana obecność lub odpowiednie stężenie danej substancji w próbce biologicznej, wynik badania przedmiotowego, wynik badań obrazowych i innych badań np. czynnościowych lub elektrofizjologicznych [4].

Biomarkery w padaczce nazywane są biomarkerami epileptogenezy. Według Pitkanen i Engela biomarker epileptogenezy to „obiektywnie mierzalna cecha procesu biologicznego, która wiarygodnie identyfikuje rozwój, obecność, nasilenie, zaawansowanie lub lokalizację nieprawidłowości

epileptogennych”. Nieprawidłowość epileptogenną należy rozumieć jako podłoże patofizjologiczne odpowiedzialne za początek i/lub trwanie padaczki [3]. W definicji tej zawarte są bardzo ważne cechy padaczki, które mogłyby być określone dzięki dostępności biomarkerów.

Zgodnie z kryteriami rozpoznania padaczki rozpoznawana jest ona w przypadku wystąpienia co najmniej jednego nieprovokowanego napadu padaczkowych przy spełnieniu dodatkowych założeń [5]. Epileptogeneza rozpoczyna się jednak dużo wcześniej, a wystąpienie napadu klinicznego jest już późnym etapem tego procesu. Początku epileptogenezy upatruje się w momencie zadziałania czynnika, jakim może być uszkodzenie mózgu lub występowanie predyspozycji genetycznej. Powoduje on kaskadę zmian molekularnych i komórkowych mających wpływ na ekspresję i funkcję receptorów oraz kanałów jonowych. Efektem tego jest zwiększenie pobudliwości sieci neuronalnej, a tym samym powstanie ognisk padaczkorodnych.

Czas, w którym dochodzi do powyżej opisanej sekwencji zdarzeń może trwać nawet kilka lat i nazywany jest okresem latentnym epileptogenezy [6]. Jednak w odniesieniu do definicji padaczki podmiotem zainteresowania neurologa jest pacjent dopiero w momencie wystąpienia napadów klinicznych. Pierwsze napady kliniczne mogą być bardzo dyskretne i niedostrzeżone przez opiekunów dziecka, wraz z trwaniem choroby mogą zmieniać swoją morfologię i stawać się zauważalne dopiero po czasie. Opóźnia to postawienie diagnozy i wdrożenie leczenia.

Potencjalne możliwości interwencji celem zahamowania i modyfikacji procesu epileptogenezy istnieją jeszcze w czasie okresu latencji czyli znacznie wyprzedzają pojawienie się napadów klinicznych i standardowy moment włączenia leczenia. Z tego powodu identyfikacja biomarkerów epileptogenezy jest obecnie tak pożądana (ryc. 1).

Ryc. 1. Rozwój epileptogenezy (opracowanie własne na podstawie pracy Rakhade i Jensen [16])

Po zadziałaniu czynnika inicjującego takiego jak np. uraz mózgu lub niedotlenienie następuje okres utajenia trwający tygodnie, miesiące lub nawet lata przed wystąpieniem spontanicznych napadów. Podczas tego okresu zachodzi kaskada zdarzeń na poziomie molekularnym i komórkowym zmieniająca pobudliwość neuronów, co ostatecznie prowadzi do spontanicznej aktywności napadowej. Zmiany zachodzące podczas okresu latencji dają możliwość identyfikacji biomarkerów i mogą stanowić podstawę do wytworzenia nowych leków. Kaskadę zdarzeń proponowaną na podstawie dowodów eksperymentalnych po zadziałaniu czynnika uszkadzającego można podzielić ze względu na czas pojawienia zmian. Wczesne zmiany w tym indukcja genów wczesnej i natychmiastowej odpowiedzi, modyfikacje potranslacyjne białek receptorowych i kanałów jonowych zachodzą w ciągu kilku sekund do kilku minut. Następnie w ciągu kilku godzin do kilku dni może dojść do zamykania neuronów, rozwoju reakcji zapalnej a także zmian regulacji transkrypcji genów kodujących czynniki wzrostu. Późniejsza faza trwająca tygodnie i miesiące obejmuje zmiany morfologiczne takie jak m. in. neurogeneza i gliozę [6].

Fig. 1. Evolution of epileptogenesis (modified from Rakhade i Jensen [16])

After initial insult such as brain injury or hypoxia, the latent period begins. Latent phase can last weeks, months or years before the onset of spontaneous seizures. During this time, a cascade of molecular and cellular events occurs, changing the excitability of neuronal network and resulting in spontaneous epileptiform activity. The alterations that occur during the latent period might allow biomarkers identification and new antiepileptic drug development. The cascade of events that is presently suggested by experimental evidence, can be divided by the time of occurrence of changes after the initial insult. Within seconds to minutes the early changes occur, including induction of immediate early genes and post-translational modification of receptor and ion-channel related proteins. Next, within hours to days, there can be neuronal death, inflammation, and altered transcriptional regulation of genes, such as those encoding growth factors. A later phase, lasting weeks to months, includes morphological alternation such as gliosis and neurogenesis [6].

W tym kierunku prowadzonych jest wiele badań przedklinicznych **na modelach eksperymentalnych**. W badaniach na zwierzętach, gdzie napady padaczkowe indukowane są przez czynnik uszkodzający w celu uwzględnienia wpływu leczenia na wyniki kliniczne opracowano trzy scenariusze polegające na wdrażaniu leczenia na różnych etapach epileptogenezy. Scenariusz **pierwszy** polega na włączeniu leczenia jeszcze przed zadziałaniem czynnika uszkodzającego i ocenie, czy wczesne leczenie ma modyfikujący wpływ na efekty jakie spowoduje czynnik uszkodzający oraz na początek choroby. Obejmuje to zwłaszcza terapię, która ma zminimalizować nieprawidłowość, o której wiadomo, że może powodować epileptogenezę. Skutkiem takiego działania może być m.in. skrócenie czasu trwania stanu padaczkowego.

W **drugim** scenariuszu leczenie włączane jest w tzw. okresie latencji. Polega ono na identyfikacji osób o zwiększonym ryzyku wystąpienia padaczki np. osób ze stanem padaczkowym lub drgawkami gorączkowymi złożonymi w wywiadzie i leczenia ich celem zapobieżenia wystąpieniu padaczki i jej negatywnych następstw. Jest to bardzo często wykorzystywany scenariusz leczenia, a wiele badań przedklinicznych wykazało w tym przypadku potencjalne okno dla nowych możliwości terapeutycznych. Jednak nawet gdy istnieje podejrzenie, że znany czynnik ryzyka może doprowadzić do wystąpienia objawów, wiadomo, że nie u każdego chorego z grupy ryzyka rozwinie się choroba. Stąd próby identyfikacji lepszych markerów określających ryzyko wystąpienia padaczki np. EEG u niemowląt ze stwardnieniem guzowatym.

Trzeci scenariusz to rozpoczęcie leczenia po wystąpieniu napadów klinicznych – jak do tej pory najistotniejszy klinicznie i najczęściej stosowany.

Istnieje duża liczba modeli zwierzęcych epileptogenezy, które badają wiele aspektów patofizjologii klinicznej padaczki. Żaden jednak model nie sprawdza się idealnie w warunkach klinicznych u ludzi. Biomarkery procesu chorobowego są niezbędne do opracowywania strategii badań przedklinicznych i klinicznych.

Optymalizacja modeli zwierzęcych i biomarkerów może zwiększyć prawdopodobieństwo uzyskania pozytywnych wyników klinicznych w badaniach nad modyfikacją choroby i terapią antyepileptogenną.

Należy przy tym pamiętać o różnicach między badaniami na zwierzętach, a badaniami klinicznymi. W przypadku zwierząt eksperymenty można wielokrotnie powtarzać, stanowią one względnie homogenną grupę badaną, a epileptogeneza jest zwykle indukowana w określony sposób. W przypadku ludzi istnieje znacznie więcej ograniczeń, szczególnie u dzieci. Stanowią one znacznie bardziej zróżnicowaną grupę o wieloczynnikowym i często nieznanym mechanizmie padaczki [7].

ZASTOSOWANIE BIOMARKERÓW

Biomarkery znajdują zastosowanie w diagnostyce i planowaniu strategii leczenia.

Spektrum zastosowań biomarkerów padaczkowych jest szerokie. Obejmuje przewidywanie, prognozowanie i nadzór nad bezpieczeństwem farmakoterapii. Potencjalne bio-

markery mogą obejmować wiele obszarów lub mieć znaczenie tylko w ograniczonych procesach.

Biomarkery diagnostyczne dostarczają informacji o statusie klinicznym, rozległości i lokalizacji obszaru epileptogenezy, nasileniu padaczki oraz wrażliwości objawów klinicznych na konkretne leczenie. Odgrywają rolę w procesie diagnostycznym polegającą na identyfikacji pacjentów z ryzykiem wystąpienia napadów bezpośrednio po zadziałaniu czynnika uszkodzającego (np. uraz wewnątrzczaszkowy, udar) czy diagnozowaniu osób z wysokim ryzykiem rozwoju padaczki, u których istnieje możliwość wczesnej interwencji (np. TSC, neurocysticercosis). Mogą w przyszłości służyć diagnozowaniu padaczki jeszcze przed wystąpieniem pierwszego napadu klinicznego jeśli padaczki to musiałaby się zmienić definicja. Zalicza się tu biomarkery epileptogenezy odgrywające rolę w okresie po zadziałaniu czynnika uszkodzającego, a przed wystąpieniem napadów oraz biomarkery padaczki mające znaczenie w okresie od wystąpienia pierwszego napadu do postawienia diagnozy.

Biomarkery prognostyczne umożliwiają przewidywanie prędkości progresji choroby, nasilenie choroby w przyszłości oraz możliwość remisji i wyleczenia. Praktycznie podczas procesu leczenia pomagają przewidzieć wystąpienie lekooporności, określić wczesne efekty działania leków oraz interwencji chirurgicznych, a także zidentyfikować pacjentów z dobrym rokowaniem [4, 8].

RODZAJE BIOMARKERÓW

Na podstawie do tej pory przeprowadzonych badań można wyróżnić kilka rodzajów biomarkerów spośród których najistotniejsze znaczenie mają biomarkery neuroobrazowe, elektrofizjologiczne, obwodowe i neurobehawioralne [8].

BIOMARKERY NEUROOBRAZOWE

U ponad połowy chorych na padaczkę występują nieprawidłowości morfologiczne tkanki nerwowej mózgu, które mogą być specyficzne dla danego rodzaju padaczki. Dzięki takim technikom jak tomografia komputerowa, rezonans magnetyczny, ultrasonografia, SPECT i PET możliwe jest ich rozpoznanie. Wczesne wykrycie takich zmian może przyspieszyć diagnozę i pozwolić na szybkie wdrożenie odpowiedniego postępowania terapeutycznego. Oprócz zmian strukturalnych techniki neuroobrazowania umożliwiają wykrycie i ocenę zmian czynnościowych w mózgu. Dostarczać mogą wielu informacji o aktywności neuronalnej, stanie zapalnym tkanki nerwowej, barierze krew-mózg oraz o zmianach molekularnych zachodzących podczas epileptogenezy. Spektroskopia MR szczególnie dobrze obrazuje zmiany metaboliczne. Czynnościowy MR może pokazywać ogniska padaczkowe i drogę szerzenia się wyładowań [9].

Przykłady biomarkerów neuroobrazowych zestawiono w poniższej tabeli (tab. I).

BIOMARKERY ELEKTROFIZJOLOGICZNE

Nieprawidłowy zapis EEG jest najbardziej efektywnym biomarkerem padaczki stosowanym w praktyce klinicznej. Badanie EEG w obiektywny sposób dokumentuje napady

Tabela I. Biomarkery neuroobrazowe w diagnostyce i leczeniu padaczki. *Neuroimaging biomarkers in the epilepsy diagnosis and treatment*

Biomarker <i>Biomarker</i>	Wyniki <i>Results</i>	Autor <i>Author</i>
obniżenie anizotropii frakcyjnej istoty białej płata skroniowego w obrazowaniu tensora dyfuzji	lekooporność w padaczce skroniowej	Labete i wsp. [10]
nieprawidłowości strukturalne wzgórze i kory mózgowej w postaci zmian ilościowych czasu relaksacji i dyfuzji w MRI	wzrost prawdopodobieństwa napadów w padaczce pourazowej	Tenney JR i wsp. [11] Meeren HK i wsp. [12]
redukcja czasu relaksacji T2 w ciele migdałowatym szczurów w MRI	wartość prognostyczna dla epileptogenezy po stanie padaczkowych wywołanych hipertermią	Choy i wsp. [13]

i nieprawidłową czynność mózgu. Wykonywanie EEG ma dużą wartość diagnostyczną w identyfikacji niemowląt z wysokim ryzykiem rozwoju padaczki. W badaniu Józwiaka i wsp. [14] wykonując co 4–6 tygodni badanie EEG u dzieci z wczesnym rozpoznaniem stwardnienia guzowego zaobserwowano ewolucję zmian w EEG. W zapisie początkowo prawidłowym w kolejnych badaniach pojawiały się pojedyncze iglice, następnie wieloiglice i zespoły iglica-fala wolna, którym mogły towarzyszyć już zwiewne napady ogniskowe. Finalnie w zapisie rejestrowano zmiany uogólnione lub/i hipsarytmię czemu towarzyszyły już zazwyczaj napady zgięciowe. Józwiak i wsp. w swojej pracy wykorzystał wyżej opisane zmiany w EEG jako biomarker rozwoju padaczki u dzieci z SG. Porównano wyniki tradycyjnego leczenia padaczki w SG z leczeniem prewencyjnym. Leczenie prewencyjne polegało na zastosowaniu wigabatryny – leku potencjalnie hamującego proces epileptogenezy u dzieci, u których zaobserwowano pojawienie się zmian w EEG, lecz jeszcze przed wystąpieniem napadów klinicznych. Wykazano, że leczenie prewencyjne w dużym stopniu redukuje i zapobiega zarówno napadom klinicznym jak i następstwom padaczki czyli opóźnieniu rozwoju psychoruchowego, wystąpieniu lekooporności i zaburzeń ze spektrum autyzmu [14].

Wykonywanie badań EEG przed wystąpieniem napadów celem wczesnego wykrycia aktywności napadowej jest obecnie rekomendowane przez European TSC Consensus conference oraz grupę amerykańskich badaczy [15].

Niezwykle silnym biomarkerem prognostycznym padaczki w EEG inwazyjnym są oscylacje wysokiej częstotliwości (ang. PHFOs). PHFOs są markerem ogniska epileptogennego i służą do jego lokalizacji. Występują stale u chorych z padaczką w okresie międzynapadowym. W badaniach na zwierzętach po indukcji epileptogenezy stanem padaczkowym zaobserwowano wystąpienie dwóch różnych typów PHFOs przed pojawieniem się napadów uogólnionych. Wobec powyższego można wnioskować, że ich obecność stanowi wartość predykcyjną dla rozwoju spontanicznych napadów. Niestety wykorzystanie PHFOs jako biomarkera u ludzi jest niemożliwe ze względu na inwazyjność metody. PHFOs może znaleźć zastosowanie w przyszłości w chirurgicznym leczeniu padaczki [8, 16, 17].

BIOMARKERY OBWODOWE

Do tej grupy należą związki np. białka analizowane z próbki biologicznej, którą może być krew, płyn mózgowo rdzeniowy, mocz czy sam ? materiał genetyczny.

Niestety nie istnieją jeszcze żadne zwalidowane biomarkery molekularne i komórkowe padaczki. Nad opracowaniem ich prowadzone są dopiero badania. Poszukuje się ich wśród cząsteczek micro-RNA, markerów stresu oksydacyjnego, markerów uszkodzenia bariery krew-mózg, hormonów i czynników wzrostu oraz mediatorów reakcji zapalnej mózgu. Przykłady badanych biomarkerów zestawiono w tabeli (tab. II).

POSTĘPY W BADANIACH NAD BIOMARKERAMI EPILEPTOGENEZY

Realizowanym obecnie projektem badawczym, którego uczestnikami są 2 polskie ośrodki, mającym na celu dokładniejsze poznanie procesu epileptogenezy, zidentyfikowanie jej biomarkerów i czynników ryzyka, biomarkerów lekooporności padaczki oraz opracowanie nowych strategii leczenia w modelu genetycznie uwarunkowanej padaczki w stwardnieniu guzowatym jest międzynarodowy projekt EPISTOP (www.EPISTOP.eu) [29].

W ramach projektu u noworodków i małych niemowląt (do 4 miesiąca życia) ze stwardnieniem guzowatym (SG) przeprowadza się serię badań videoEEG celem wczesnej identyfikacji zmian napadowych w zapisie oraz 4-krotnie pobiera próbkę krwi celem identyfikacji biomarkerów obwodowych. Pierwsza próbka pobierana jest wraz z chwilą postawienia diagnozy SG. Druga próbka pobierana jest w momencie wystąpienia nieprawidłowości w badaniu EEG, trzecia w momencie wystąpienia napadów klinicznych, a czwarta w 24 miesiącu życia w czasie ostatniej wizyty (ryc. 2). Cały projekt składa się z 8 zadań roboczych przedstawionych na poniższych diagramach (ryc. 3), (ryc. 4).

Inne otwarte projekty dotyczące badań nad biomarkeraми padaczki to projekty: “DESIRE”, “EPIMIRNA”, “EPI-TARGET”, “EPIXchange”, “ARMOR”.

DESIRE (<http://epilepsydesireproject.eu/>) [30] koncentruje się na “epileptogennych zaburzeniach rozwojowych” tj. padaczkach, których początek jest ściśle związany z procesem dojrzewania mózgu. Często ich przyczyną są malformacje rozwojowe kory. Ich manifestacją często są

Tabela II. Biomarkery obwodowe opracowanie własne na podstawie: Walker i wsp.[28] oraz Pitkänen i wsp. [4].
Peripheral biomarkers based on the Walker et al.[28] and Pitkänen et al. [4]

Autor <i>Author</i>	N*	Badana grupa <i>Patients</i>	Badany materiał <i>Specimen</i>	Biomarker <i>Biomarker</i>	Wynik <i>Outcome</i>
Wang i wsp. [18]	30	Padaczka z napadami ogniskowymi i uogólnionymi	Surowica	MicroRNA: let-7d-5p, mir-106b-5p, -130a-3p, 146a-5p	Wzrost stężenia miR-106b-5p daje 80,3% czułości i 81,2% wrażliwości dla diagnozy padaczki
				MicroRNA: mir-15a-5p, -194-5p	Obniżenie stężenia
Chang i wsp. [19]	34	Padaczka skroniowa	Surowica	HSP70, S100β, NSE	Wzrost stężenia HSP70 i S100β oraz niższy poziom zdolności poznawczych w porównaniu do próby kontrolnej
Stocklin i wsp. [20]	161	Dzieci z drgawkami gorączkowymi	Surowica	Kopeptyna i prolaktyna	Wzrost stężenia kopeptyny w surowicy w porównaniu z kontrolą
Diamond i wsp. [21]	59	Padaczka pourazowa	PMR/surowica	IL1-β	Wzrost IL1-β w pmr i surowicy związany jest ze wzrostem ryzyka wystąpienia padaczki pourazowej wraz z upływem czasu
Mao i wsp. [22]	70	Padaczka objawowa	PMR/surowica	IL-17A	Wzrost stężenia IL-17A w surowicy u osób z padaczką objawową w okresie międzynapadowym w porównaniu do kontroli oraz korelacja stężenia z częstością napadów
Lehtimäki i wsp. [23]	74	Padaczka z zaburzeniami rozwoju	Surowica	IL-6	Wyższe stężenie IL-6 w porównaniu do kontroli związane również z większą częstością napadów i ciężkim upośledzeniem umysłowym
Riikonen i wsp. [24]	30	Zespół Westa	PMR	IGF-1, ACTH	Niższe stężenie IGF-1, Obecny związek niskiego IGF-1 z gorszymi zdolnościami kognitywnymi, gorszą odpowiedzią na terapię
Hulkkonen i wsp. [25]	10	Padaczka lekooporna z napadami ogniskowymi	Surowica	IL-1β, IL-6, IL-1RA	Wyższy „profil” prozapalny/ <u>Czy ma być prozapalnych</u> cytokin (wzrost IL-6, oraz spadek IL-1RA) w porównaniu do grupy kontrolnej
Vanhatalo i wsp. [26]	31	Zespół Westa	PMR	NO, azotany i azotyny	Wyższe stężenie NO i azotanów i azotynów wśród pacjentów z objawową etiologią ZW w porównaniu do pacjentów z kryptogenną etiologią
Pollard i wsp. [27]	10	Padaczka z napadami ogniskowymi	Osocze	Stosunek TARC (CCL17):telencefalina (sICAM5)	Wzrost stosunku TARC: telencefalina

*N- liczba badanych

*N- number of patients in the study

Ryc. 2. Schemat badania EPISTOP. Scheme of EPISTOP project

Ryc. 3. Zadania projektu EPISTOP. Tasks of EPISTOP project

Ryc. 4. Korelacje pomiędzy poszukiwaniem biomarkerów w próbkach mózgu i biomarkerów molekularnych.
Interaction between investigations of molekular biomarkers and biomarkers from brain samples

encefalopatie padaczkowe. Wady rozwojowe kory są najczęstszą przyczyną lekoopornych padaczek wśród dzieci.

Badanie ma na celu pogłębienie stanu wiedzy na temat:

1. genetycznych i epigenetycznych przyczyn oraz patomechanizmu epileptogennych zaburzeń rozwojowych w szczególności padaczkorodnych wad rozwojowych kory w celu poznania sieci molekularnych i zaburzeń kompleksów białkowych oraz poszukiwania wspólnych podstaw dla tych pozornie niejednorodnych zaburzeń
1. narzędzi diagnostycznych (biomarkerów) i odpowiednich protokołów badawczych poprzez badanie unikalnej i dobrze scharakteryzowanej kohorty dzieci w celu zapewnienia standardowej diagnozy
2. leczenia encefalopatii padaczkowych przy użyciu randomizowanych, wielodyscyplinarnych protokołów klinicznych oraz testowania strategii przedklinicznych w modelach eksperymentalnych w celu uwzględnienia nowych strategii profilaktycznych

EPIMIRNA (<https://www.epimirna.eu/>) [31] to projekt zajmujący się rolą miRNA w padaczce.

Cele wyznaczone w projekcie to wyjaśnienie w jaki sposób cząsteczki miRNA i ich produkty białkowe przyczyniają się do rozwoju padaczki i wystąpienia napadów, zidentyfikowanie zmian genetycznych w cząsteczkach miRNA u pacjentów z padaczką, zbadanie leków opartych na miRNA jako możliwość przyszłych potencjalnych terapii oraz rozwinięcie miRNA jako biomarkerów padaczki by móc śledzić rozwój choroby, leczyć i zapobiegać.

Założeniami projektu EPITARGET (<https://www.epi-target.eu/>) [32] jest identyfikowanie nowych biomarkerów i ich kombinacji w celu zapobiegania epileptogenezie po zadziałaniu potencjalnie epileptogennego czynnika uszkadzającego jak uraz mózgu czy stan padaczkowy na modelach zwierzęcych, badanie mechanizmów epileptogenezy i przełożenie tych ustaleń na klinikę poprzez walidację biomarkerów w ludzkich próbkach.

WNIOSKI

Celem dokładnego poznania procesu epileptogenezy i opracowania nowych strategii leczenia padaczki konieczna jest identyfikacja biomarkerów epileptogenezy. Nadzrędnym zastosowaniem biomarkerów w padaczce jest modyfikacja przebiegu choroby i zapobieganie wystąpieniu jej niekorzystnych następstw takich jak opóźnienie rozwoju psychoruchowego, zaburzenia ze spektrum autyzmu. Biomarkery mają umożliwić odnalezienie punktów uchwytu dla nowych możliwości leczenia. Do tej pory najczęściej wykorzystywanym biomarkerem w padaczce jest nieprawidłowy zapis EEG. Ciągłe nie są dostępne zwalidowane biomarkery molekularne i komórkowe, których poszukuje się wśród substancji dostępnych badaniu z próbek biologicznych takich jak krew, płyn mózgowo-rdzeniowy etc. W Europie aktualnie trwa wiele projektów badawczych dotyczących biomarkerów w padaczce. Do tej pory udowodniono już skuteczność leczenia prewencyjnego wigabatryną – lekiem o potencjale antyepileptogennym, u dzieci ze stwardnieniem guzowatym jeszcze przed wystąpieniem napadów klinicznych. Podejmowane są próby

przewodzenia podobnych badań i rozszerzenia tego sposobu leczenia również w innych modelach padaczki. Mimo heterogenności modeli epileptogenezy poszukuje się uniwersalnych wniosków dotyczących tego mechanizmu celem skuteczniejszego leczenia.

PIŚMIENNICTWO

- [1] Hirtz D., Thurman D.J., Gwinn-Hardy K. et al.: How common are the "common" neurologic disorders? *Neurology* 2007; 68: 326–337.
- [2] Téllez-Zenteno J.F., Hernández-Ronquillo L., Buckley S. et al.: A validation of the new definition of drug-resistant epilepsy by the International League Against Epilepsy. *Epilepsia* 2014 Jun;55(6): 829–834.
- [3] Pitkänen A., Löscher W., Vezzani A. et al.: Advances in the development of biomarkers for epilepsy. *Lancet Neurol* 2016; 15: 843–856.
- [4] Strimbu K., Tavel J. A.: What are Biomarkers? *Curr Opin HIV AIDS* 2010; 5(6): 463–466.
- [5] Fisher R.S., Acevedo C., Arzimanoglou A. i wsp.: A practical clinical definition of epilepsy. *Epilepsia* 2014; 55: 475–482.
- [6] Rakhade S. N., Jensen F. E.: Epileptogenesis in the immature brain: emerging mechanisms. *Nat Rev Neurol* 2009; 5: 380–391.
- [7] Barker-Haliski M. L., Friedman D., French J.A. et al.: Disease Modification in Epilepsy: From Animal Models to Clinical Applications. *Drugs* 2015; 75: 749–767.
- [8] Józwiak S., Becker A., Cepeda C. et al.: WONOEP appraisal: Development of epilepsy biomarkers-What we can learn from our patients? *Epilepsia* 2017 Jun;58(6):951–961. doi: 10.1111/epi.13728. Epub 2017 Apr 7.
- [9] van Vliet E. A., Dedeurwaerdere S., Cole A.J. et al.: Workshop on neurobiology of epilepsy appraisal: Imaging biomarkers in epilepsy. *Epilepsia* 2016: 1–16.
- [10] Labete A., Cherubini A., Tripepi G. et al. White matter abnormalities differentiate severe from benign temporal lobe epilepsy. *Epilepsia* 2015; 56: 1109–1116.
- [11] Tenney J.R., Duong T.Q., King J.A. et al. fMRI of brain activation in a genetic rat model of absence seizures. *Epilepsia* 2004; 45: 576–582.
- [12] Meeren H.K., Pijn J.P.M., Van Luijcklaar E.L.J.M., et al.: Cortical focus drives widespread corticothalamic networks during spontaneous absence seizures in rats. *J Neurosci* 2002; 22: 1480–1495.
- [13] Choy M., Dubé C.M., Patterson K., et al.: A Novel, Noninvasive, Predictive Epilepsy Biomarker with Clinical Potential. *J Neurosci* 2014; 34: 8672–8684.
- [14] Józwiak S., Kotulska K., Domańska-Pakieta D., et al.: Antiepileptic treatment before the onset of seizures reduces epilepsy severity and risk of mental retardation in infants with tuberous sclerosis complex. *Eur J Paediatr Neurol* 2011; 15: 424–431.
- [15] Wu J. Y., Peters J.M., Goyal M. et al: Clinical Electroencephalographic Biomarker for Impending Epilepsy in Asymptomatic Tuberous Sclerosis Complex Infants. *Pediatr Neurol* 2016; 54: 29–34.
- [16] Thompson K., Pohlmann-Eden B., Campbell L.A. et al.: Pharmacological treatments for preventing epilepsy following traumatic head injury. *Cochrane Database Syst Rev* 015:CD009900.
- [17] Bragin A., Li L., Almajano J. et al.: Pathologic electrographic changes after experimental traumatic brain injury. *Epilepsia* 2016; 57: 735–745.
- [18] Wang J., Yu J.T., Tan L. et al.: Genome-wide circulating microRNA expression profiling. indicates biomarkers for epilepsy; *Sci Rep* 2015; 5: 9522: 1–9.
- [19] Chang C.C., Lui C.C., Lee C.C. et al.: Clinical significance of serological biomarkers and neuropsychological performances in patients with temporal lobe epilepsy; *BMC Neurol* 2012; 12:15: 1–10.
- [20] Stocklin B., Fouzas S., Schillinger P. et al.: Copeptin as a serum biomarker of febrile seizures *PLoS ONE* 2015;10(4):e0124663.
- [21] Diamond M.L., Ritter A.C., Failla M.D. et al.: IL-1beta associations with posttraumatic epilepsy development: a genetics and biomarker cohort study; *Epilepsia* 2014; 55(7): 1109–1119.
- [22] Mao L.Y., Ding J., Peng W.F. et al. Interictal interleukin-17A levels are elevated and correlate with seizure severity of epilepsy patients; *Epilepsia* 2013; 54(9): 142–145.
- [23] Lehtimäki K.A., Liimatainen S., Peltola J. et al.: The serum level of interleukin-6 in patients with intellectual disability and refractory epilepsy. *Epilepsy Res* 2011; 95(1–2): 184–187.
- [24] Riikonen R.S., Jääskeläinen J., Turpeinen U. et al.: Insulin-like growth factor 1 is associated with cognitive outcome in infantile spasms. *Epilepsia* 2010; 51(7): 1283–1289.
- [25] Hulkkonen J., Koskikallio E., Rainesalo S., et al.: The balance of inhibitory and excitatory cytokines is differently regulated in vivo and in vitro among therapy resistant epilepsy patients; *Epilepsy Res* 2004; 59(2–3): 199–205.
- [26] Vanhatalo S., Riikonen R.; Nitric oxide metabolites, nitrates and nitrites in the cerebrospinal fluid in children with west syndrome. *Epilepsy Res* 2001; 46(1): 3–13.
- [27] Pollard J.R., Eidelman O., Mueller G.P. et al.: The TARC/sICAM5 ratio in patient plasma is a candidate biomarker for drug resistant epilepsy; *Front Neurol* 2012; 3: 181:1–8.
- [28] Walker L. E., Janigro D., Heinemann U. et al.: WONOEP appraisal: Molecular and cellular biomarkers for epilepsy, *Epilepsia* 2016; 57(9): 1354–1362.
- [29] www.EPISTOP.eu
- [30] <http://epilepsydesireproject.eu/>
- [31] <https://www.epimima.eu/>
- [32] <https://www.epitarget.eu/>

Badania SJ były częściowo finansowane z grantu 7. Ramowego Programu UE (FP7/2007-2013; EPISTOP, grant agreement no. 602391) oraz ze środków finansowych na naukę w latach 2013-2019 przyznanych na realizację projektu międzynarodowego współfinansowanego.

Adres do korespondencji: Milena Franckiewicz, ul. Racławicka 27/46, 02-601 Warszawa
e-mail: milena.franckiewicz@spdsk.edu.pl