

*Iwona Kurkowska-Jastrzębska, Sławomir Pilip,
Krystyna Niedzielska, Maria Barańska-Gieruszczak*

Padaczka lekooporna a czynniki genetyczne

Refractory epilepsy and genetically determined factors

II Klinika Neurologiczna, Pracownia Elektroencefalografii
Instytutu Psychiatrii i Neurologii w Warszawie

Streszczenie

Ostatnio prowadzone badania wskazują coraz szerzej na rolę czynników genetycznych w rozwoju lekooporności w padaczce. Podkreśla się polimorfizm genów enzymów mikrosomalnych biorących udział w metabolizmie leków, rolę polimorfizmu genów kodujących białka transportujące leki, jak również rolę mutacji kompleksów receptorowo-jonowych będących molekularnym punktem uchwytu leków przeciwpadaczkowych. Choć więcej jest nadal niewiadomych niż wiadomych, badania nad lekoopornością wydają się mieć kluczowe znaczenia dla zrozumienia działania leków oraz dla rozwinięcia skutecznych metod terapii.

Summary

Many studies indicate the role of genetic factors in the refractory epilepsy. The main directions of research enclose polymorphism of genes encoding enzymes that participate in drug metabolism, polymorphism or mutations of genes encoding multidrug-transporter proteins and drug receptors. The research of the mechanisms of refractory epilepsy development provide to better understanding and eventually to successful treatment of the disease.

Słowa kluczowe: białka transportujące leki, enzymy mikrosomalne, cytochrom P-450, kanały jonowe

Key words: multidrug-transporter proteins, drug-metabolizing enzymes, cytochrome P-450, ion channels

Padaczka występuje u około 1% populacji na świecie i wyraża się nawracającymi napadami o zmiennej symptomatologii. Podstawową metodą leczenia jest właściwa farmakoterapia. W początkowym okresie leczenie padaczki stosuje się monoterapię lekiem tzw. pierwszego rzutu – zwykle solami kwasu walproinowego bądź karbamazepiną. W przypadku braku należytego efektu terapeutycznego zwiększa się dawkę stosowanego leku, zmienia lek na inny lub stosuje politerapię. Jednak u około 30% pacjentów pomimo włączenia prawidłowego leczenia nadal utrzymują się napady padaczkowe (14). Wprowadzenie wielu nowych leków przeciwpadaczkowych nie zmieniło sytuacji. Brak skutecznej kontroli napadów po zastosowaniu właściwej monoterapii rokuje prawdopodobieństwo poprawy jedynie

u dalszych 10% pacjentów. U pozostałych możemy podejrzewać trudną do leczenia padaczkę lekooporną. Do czynników ryzyka wystąpienia padaczki lekoopornej zalicza się między innymi: drgawki gorączkowe w wywiadzie, wady rozwojowe kory mózgowej, występowanie częstych napadów uogólnionych drgawkowych, atonicznych lub nietypowych napadów nieświadomości, upośledzenie umysłowe oraz wczesny początek choroby. Rozwój padaczki lekoopornej może być związany z postępującym pogorszeniem funkcji poznawczych, depresją, gorszymi wynikami w nauce i większym ryzykiem zgonu. Częste i długotrwałe napady są przyczyną uszkodzenia neuronów związanego z nadmiernym uwalnianiem soli kwasu glutaminowego oraz niedotlenieniem.

Część przypadków padaczki lekoopornej wynika oczywiście z nieprawidłowej diagnozy i niewystarczającego leczenia. Na przykład lek może być zastosowany w za małej dawce lub być nieprawidłowo podawany; może wchodzić w interakcje z innymi lekami zmniejszającymi np. jego stężenie. Do chwili obecnej jednak nie wiadomo, skąd wynikają różnice skuteczności leczenia pacjentów z padaczką tego samego rodzaju o podobnej etiologii. Grupa pacjentów z padaczką lekooporną jest heterogenna, często oporność na jeden lek wiąże się z opornością na różne leki o zupełnie różnym mechanizmie działania, lekooporność może pojawić się w trakcie leczenia, wreszcie czynniki ryzyka wystąpienia lekooporności są bardzo różnorodne. Wskazuje to raczej, że mechanizm wystąpienia lekooporności jest niespecyficzny i tym samym może zaburzać odpowiedź na wiele leków przeciwpadaczkowych. Dodatkowo, wskazuje się na rolę czynników genetycznych w powstawaniu lekooporności. Wśród możliwych przyczyn autorzy zwracają uwagę na enzymy metabolizujące leki oraz białka transportujące leki.

Enzymy metabolizujące leki

Od dawna wiadomo, że mechanizmy metabolizmu leków mają wpływ na stężenie leków we krwi, drogę wydalania, toksyczność i oczywiście na dostępność leku w miejscu działania. Ze względu na genetycznie uwarunkowany polimorfizm niektórych enzymów mikrosomalnych, między innymi CYP2C9 i CYP 2C19, stanowiących podtypy cytochromu P-450, aktywność tych enzymów może być różna i tym samym wpływać na ostateczne stężenie leku we krwi. Jak powszechnie wiadomo cytochrom P-450 bierze udział w metabolizmie wielu leków, również leków przeciwpadaczkowych, wpływając na ich poziom w surowicy krwi. Spośród opisanych podtypów udowodniono np. wpływ polimorfizmu CYP2C9 i CYP2C19 na metabolizm fenytoiny. Zidentyfikowano dotychczas 12 alleli (CYP2C9*1 do CYP2C9*12) genu CYP2C9, z których CYP2C9*2 i CYP2C9*3 powstały na skutek mutacji w sekwencji kodującej CYP2C9*1 prowadzącej do podstawienia jednego aminokwasu – odpowiednio R144C i I359L. Wiąże się to ze zmniejszoną aktywnością enzymu do metabolizowania fenytoiny (2, 19). Doświadczenia van der Weide i wsp. (19) przeprowadzone na 60 chorych leczonych przewlekłe fenytoiną, u których stwierdzono przynajmniej jeden z alleli

CYP2C9* lub CYP2C9*3 pokazują, że dawka fenytoiny niezbędna do osiągnięcia stężenia terapeutycznego w surowicy krwi była o 37% niższa w porównaniu z tą u pacjentów, u których stwierdzono CYP2C9*1. Podobne wyniki doświadczeń opisuje Watanabe i wsp. dla różnych alleli CYP2C19 w populacji japońskiej (20). W chwili obecnej problem wymaga dalszych wnikliwych badań. Ewentualna rola polimorfizmu enzymów mikrosomalnych w powstawaniu lekooporności nie została jednoznacznie ustalona. Nieskuteczne leczenie u części chorych na padaczkę może być spowodowane zwiększonym metabolizmem leków. Z drugiej jednak strony spowolnienie metabolizmu może skutkować szybszym wystąpieniem działań niepożądanych ograniczających dalsze użycie leku.

Białka transportujące leki

Coraz większą możliwą rolę w powstawaniu i rozwoju padaczki lekoopornej przypisuje się białkom transportowym tzw. *multidrug-transporter proteins*, do których zaliczamy między innymi glikoproteinę P oraz białko MRP (*multidrug resistance-associated protein*). Białka transportowe należą do rodziny białek wiążących ATP i są od wielu lat badane szeroko w nowotworach, gdzie udowodniono ich związek z opornością komórek rakowych na leki przeciwnowotworowe (1). Powodują one hamowanie napływu do komórek cząsteczek lipofilnych jakimi są np. leki. Badania wykazały, że białka transportowe mogą być odpowiedzialne również za rozwój lekooporności w padaczce. Zwiększoną ekspresję tych białek oraz ich genów wykazano w komórkach śródbłonna naczyń płata skroniowego pobranego w trakcie operacji od pacjentów z padaczką, w ogniskach padaczkowych w przypadkach guzów dysgenetycznych, ogniskowej dysplazji korowej, stwardnienia hipokampa (17, 18), oraz w różnych częściach mózgu w modelach zwierzęcych padaczki (8). Zwiększona ekspresja białek i ich genów była ograniczona do obszaru ogniska padaczkowego i występowała w komórkach śródbłonna włóścińców mózgu i w astrocytach (4), nie obejmowała za to komórek z innych obszarów mózgu. Ponieważ białka transportowe ograniczają napływ leków przeciwpadaczkowych, zwiększona ich ekspresja w śródbłonku i astrocytach może powodować zmniejszone stężenie leków w ognisku padaczkowym i tym samym mniejszą skuteczność lub brak skuteczności działania leków przeciwdrgawkowych (13). Ten rodzaj oporności na leki może rozwijać się w trakcie choroby i być może jest spowodowany nieprawidłowo rozpoczętym leczeniem (źle dobrany lek, za małe dawki). Wykazano, że napady padaczkowe indukują ekspresję genów dla białek MRP w mózgu zwierząt doświadczalnych (8). Tak więc ognisko padaczkowe indukowałoby ciągle wzrastającą lekooporność poprzez utrzymującą się aktywność napadową. Z drugiej strony wykazano, że niektóre leki przeciwpadaczkowe wywołują wzrost ekspresji niektórych białek transportujących (7), ale nie wiadomo jakie ma to znaczenie dla rozwoju lekooporności. Prawdopodobne jest również, że lekooporność może się rozwijać u osób predysponowanych genetycznie, np. z określonym polimorfizmem genów dla białek transportujących.

Siddiqui i wsp. wykazał, że jeden z polimorfizmów w genie MDR-1 dla glikoproteiny P wiąże się z całkowitym brakiem odpowiedzi na leczenie przeciwpadaczkowe (16). Glikoproteina P jest pompą ATP-zależną transportującą substraty z zewnętrznej i wewnętrznej warstwy błony komórkowej, prowadząc do zmniejszenia ich stężenia wewnątrz komórki. Jest ona kodowana przez gen MDR-1, w którym zlokalizowano dotychczas 15 miejsc polimorficznych pojedynczych nukleotydów, z których znaczenie czynnościowe wydaje się mieć przede wszystkim miejsce polimorficzne zlokalizowane w egzonie 26 (3). Bierze ono udział w transporcie wielu substancji hydrofobowych, kationowych i amfoterycznych, w tym również leków, np. glikokortykosteroidów, glikozydów naparstnicy, beta-adrenolityków, opioidów oraz leków przeciwpadaczkowych: fenytoiny, fenobarbitalu, karbamazepiny, lamotryginy, felbamatu i gabapentyny. Glikoproteina P występuje w wielu tkankach, m. in. w przewodzie pokarmowym, nerkach, korze nadnerczy, łożysku, komórkach nowotworowych (12). Jej fizjologiczne działanie w zdrowym organizmie nie jest jasne, wydaje się, że może brać udział w utrzymaniu bariery krew–mózg (15). Wykazano, że myszy pozbawione genu MDR-1 kodującego glikoproteinę P rozwijają się prawidłowo, co mogłoby wskazywać, że glikoproteina P nie odgrywa znaczącej roli fizjologicznej. Jednak takie myszy silniej reagują na toksyczne działanie wielu substancji będących substratami dla glikoproteiny P. Lankas i wsp. (9) wykazali zwiększoną neurotoksyczność pestycydów zastosowanych u myszy pozbawionych genu MDR-1. U pacjentów otrzymujących inhibitor glikoproteiny P – chinidynę, podanie loperamidu (leku przeciwbiegunkowego) powodowało jego większą ośrodkową toksyczność. Dlatego wydaje się, że glikoproteina P odgrywa rolę w obronie komórek przed niekorzystnym działaniem niektórych substancji (5).

U osób zdrowych glikoproteina P wykrywana jest w komórkach śródbłonna naczyniowego bariery krew–mózg, podczas gdy u osób chorujących na padaczkę ekspresja glikoproteiny P w śródbłonku jest wzmożona i dodatkowo jest wykrywana w neuronach i astrocytach (10). Przyczyny tego zjawiska upatruje się prawdopodobnie w uszkodzeniu bariery krew–mózg na skutek powtarzających się napadów padaczkowych. Ponadto obecność glikoproteiny P w komórkach astrogleju, przy uszkodzonej barierze krew–mózg może być wyrazem zachowania autonomii ośrodkowego układu nerwowego i dążenia do ograniczenia penetracji wielu substancji do mózgu. Zwiększoną ekspresję glikoproteiny P wykazano również w neuronach pochodzących z ogniska padaczkorodnego. O tym, że penetracja leków przeciwpadaczkowych do ośrodkowego układu nerwowego zależy m.in. od aktywności glikoproteiny P, świadczy niższe stężenie fenytoiny w komórkach ośrodkowego układu nerwowego osób z dużą ekspresją genu MDR-1 oraz wzrost zewnątrzkomórkowego stężenia fenytoiny po zastosowaniu werapamilu, który jest inhibitorem glikoproteiny P (17).

Polimorfizm w genie MDR-1 dla glikoproteiny P zmieniający jej ekspresję lub aktywność wpływałby tym samym na stopień penetracji leków przeciwpadaczkowych do mózgu, tak więc, nosiciele pewnych określonych polimorfizmów zmniejszających aktywność glikoproteiny P mogliby lepiej odpowiadać

na leczenie. Na razie są to tylko wysuwane hipotezy, ponieważ większość znalezionych polimorfizmów genu MDR-1 nie wpływa bezpośrednio na budowę glikoproteiny P (leży poza rejonem kodowania aminokwasów) i nie wiadomo jaki ma wpływ na jej ekspresję (16).

Druga grupa białek oporności na leki (*multidrug resistance associated proteins* – MRP) ma jeszcze szerszy udział w transporcie leków, występuje w śródbłonku naczyń mózgu, będąc częścią bariery krew–mózg i bariery krew–płyn mózgowo-rdzeniowy. Jest to siedem różnych białek, pełniących rolę w transporcie leków przez śródbłonek naczyń mózgu. Podobnie jak glikoproteina P ekspresja MRP1 i MRP2 jest podwyższona w ognisku padaczkowym (17), aczkolwiek mało jest jeszcze wiadomo o możliwym związku tych białek z lekoopornością w padaczce.

Białka transportujące leki są obecne w mózgu w warunkach fizjologicznych, gdzie stanowią część barier utrzymujących prawidłowe środowisko zewnątrz- i wewnątrzkomórkowe. Ich prawdopodobny udział w tworzeniu lekooporności w padaczce pozwala wysuwać na przyszłość możliwe implikacje kliniczne związane z zastosowaniem u pacjentów z padaczką lekooporną substancji zmniejszających ekspresję tych białek, poszukiwania leków, które potrafią je ominąć, bądź implantacji urządzeń uwalniających wysokie stężenia leków przeciwpadaczkowych prosto do ognisk padaczkowych.

Kanały jonowe

Padaczka idiopatyczna może być spowodowana mutacją w obrębie genów kanałów jonowych (tzw. kanałopatie), między innymi podjednostek kanału sodowego (SCN1A), kanałów potasowych (KCNQ2 i KCNQ3) oraz kanałów wapniowych. Choć mutacje wywołują określone zespoły padaczkowe, to jak się również wydaje mogą być odpowiedzialne za oporność na leki przeciwpadaczkowe. Mechanizm działania leków przeciwpadaczkowych na poziomie molekularnym polega bowiem na modulowaniu pobudliwości neuronów m.in. poprzez wpływ na kanały jonowe. Przykładem są mutacje w obrębie kanału sodowego (SCN1A), które wywołują dwa różne zespoły padaczkowe: padaczkę uogólnioną z drgawkami gorączkowymi (GEFS+) i ciężką padaczkę miokloniczną niemowląt (SMEI) (6). Większość leków przeciwpadaczkowych wiąże się z podjednostką kanału sodowego zmniejszając w rezultacie pobudliwość kanału. Najczęstsza mutacja zmiany sensu jaka występuje w SMEI zmienia tak trzeciorzędową strukturę białka kanału, że uniemożliwia wiązanie leków i tym samym warunkuje małą skuteczność leków działających w tym mechanizmie. Przeciwnie najczęstsza mutacja punktowa w genie dla białka kanału wywołująca GEFS+ oprócz innego fenotypu daje również dobrą odpowiedź na leki (11). Jest zatem możliwy związek pomiędzy genetycznie uwarunkowaną dysfunkcją kanału jonowego, a skutecznością leczenia przeciwpadaczkowego. Wstępne badania wskazują na możliwość związku polimorfizmu SCN1A z odpowiedzią na leki, wymaga to jednak dalszych badań. Mutacje lub polimorfizm w obrębie genów kanałów jonowych nie mogą

być jednak wytłumaczeniem dla lekooporności na różne leki przeciwpadaczkowe o różnym mechanizmie działania. Z drugiej strony, kanał sodowy może być wspólną drogą końcową działania różnych leków o odrębnych mechanizmach działania i tym samym być odpowiedzialny za lekooporność.

Podsumowując – ostatnio prowadzone badania wskazują coraz szerzej na rolę czynników genetycznych w rozwoju lekooporności w padaczce. Podkreśla się polimorfizm genów enzymów mikrosomalnych biorących udział w metabolizmie leków, rolę polimorfizmu genów kodujących białka transportujące leki, jak również rolę mutacji kompleksów receptorowo-jonowych będących molekularnym punktem uchwytu leków przeciwpadaczkowych. Dalszy rozwój badań genetycznych daje nadzieje na coraz lepsze zrozumienie przyczyn powstania padaczki lekoopornej oraz bardziej skuteczne jej leczenie.

Piśmiennictwo

1. Borst P, Evers R, Kool M, Wijnholds J: A family of drug transporters: the multidrug resistance-associated proteins. *J. Natl. Cancer Inst.*, 2000, 92, 1295–1302.
2. Brandolese R, Scordo MG, Spina E., Guserba M., Padriani R.: Severe phenytoin intoxication in a subject homozygous for CYP2C9*3. *Clin. Pharmacol. Ther.* 2001, 70, 391–394.
3. Cascorbi I, Gerloff T, Johné A i wsp.: Frequency of single nucleotide polymorphism in the P-glycoprotein drug transporter MDR-1 gene in white subjects. *Clin. Pharmacol. Ther.*, 2001, 69, 169–174.
4. Dombrowski SM, Desai SY, Marroni M, Cucullo L, Goodrich K, Bingaman W, Mayberg MR, Bengesz L, Janigro D.: Overexpression of multiple drug resistance genes in endothelial cells from patients with refractory epilepsy. *Epilepsia*, 2001, 42, 1501–1506.
5. Hori R, Okamura N, Aiba T, Tanigawa Y.: Role of P-glycoprotein in renal tubular secretion of digoxin in the isolated perfused rat kidney. *J. Pharm. Exp. Ther.*, 1993, 266, 1620–1625.
6. Kanai K, Hirose S, Oguni H, Fukuma G, Shirasaka Y, Miyajima T, Wada K, Iwasa H, Yasumoto S, Matsuo M, Ito M, Mitsudome A, Kaneko S.: Effect of localization of missense mutations in SCN1A on epilepsy phenotype severity. *Neurology*, 2004, 63, 329–334.
7. Kerb R, Hoffmeyer S, Brinkmann U.: ABC drug transporters: hereditary polymorphism and pharmacological impact in MDR1, MRP1 and MRP2. *Pharmacogenomics J.*, 2001, 2, 51–64.
8. Kwan P, Sills GJ, Butler E, Gant TW, Meldrum BS, Brodie MJ.: Regional expression of multidrug resistance genes in genetically epilepsy-prone rat brain after a single audiogenic seizures. *Epilepsia*, 2002, 43, 1318–1323.
9. Lancas GR, Cartwright ME, Umbenhauer D.: P-glycoprotein deficiency in a subpopulation of CF-1 mice enhances avermectin-induced neurotoxicity. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 1997, 143, 357–365.
10. Loscher W, Potschka H.: Role of multidrug transporters in pharmacoresistance to antiepileptic drugs. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 2002, 301, 7–14.
11. Lossin C, Wang D.W., Rhodes T.H., Vanoye C.G., George A.L. Jr.: Molecular basis of an inherited epilepsy. *Neuron*, 2002, 34, 877–884.
12. Lum B.L., Gosland M.P.: MDR expression in normal tissues: pharmacological implications for the clinical use of P-glycoprotein inhibitors. *Hematol. Oncol. Clin. North AM*, 1995, 9, 319–336.
13. Pedley TA, Hirano M.: Is refractory epilepsy due to genetically determined resistance to anti-epileptic drugs? *N. Engl. J. Med.*, 2003, 348, 1480–1482.

14. Sander JWAS.: Some aspects of prognosis in the epilepsies: a review., *Epilepsia*, 1993, 34, 1007–1016.
15. Schinkel A.H., Wagenaar E., Mol C.A., van Deemter L.: P-glycoprotein in the blood-brain barrier of mice influences the brain penetration and pharmacological activity of many drugs. *J. Clin. Invest.* 1996, 97, 2517–2524.
16. Siddiqui A, Kerb R, Weale ME.: Association of multidrug resistance in epilepsy with a polymorphism of drug transporter gene ABCB1. *N. Engl. J. Med.*, 2003, 348,1442–1448.
17. Sisodiya S.M., Lin W.R., Harding B.N., Squier M.V., Thom M.: Drug resistance in epilepsy: expression of drug resistance proteins in common causes of refractory epilepsy. *Brain*, 2002, 125, 22–31.
18. Tishler D.M., Weinberg K.I., Hinton D.R., Barbaro N., Annett G.M., Raffel C.: MDR1 gene expression in brain of patients with medically intractable epilepsy., *Epilepsia*, 1995, 36, 1–6.
19. van der Weide J, Steijns L.S., van Weelden M.J., de Haan K.: The effect of genetic polymorphism of cytochrome P450 CYP2C9 on phenytoin dose requirement., *Pharmacogenetics*, 2001, 11, 287–291.
20. Watanabe M., Iwahashi K., Kugoh T., Suwaki H: The relationship between phenytoin pharmacokinetics and the CYP2C19 genotype in Japanese epileptic patients. *Clin. Neuropharmacol.*, 1998, 21, 122–126.