

Review paper

Praca poglądowa

© 2014 Instytut Psychiatrii i Neurologii. Wszelkie prawa zastrzeżone.

AGNIESZKA M. CUDNA¹, IWONA KURKOWSKA-JASTRZĘBSKA²

Epilepsy: inflammation and blood-brain barrier in the pathogenesis of the disease – new therapeutic targets

Padaczka: zapalenie i bariera krew-mózg w patogenezie choroby – nowe cele terapeutyczne

1. Instytut Psychiatrii i Neurologii, II Klinika Neurologiczna, Pracownia Neuroimmunologii; Warszawski Uniwersytet Medyczny, Katedra i Zakład Farmakologii Doświadczalnej i Klinicznej
2. Instytut Psychiatrii i Neurologii, II Klinika Neurologii

ABSTRACT

In recent years, the inflammatory reactions and the associated disturbance of the blood-brain barrier integrity have been found to affect the course of the disease and the response to treatment in both the experimental models as well as in patients with epilepsy. Increased permeability of the blood-brain barrier causes the influx of leukocytes and the accumulation of albumin leading to the activation of glial cells. Glial cells, through secreted chemokines and cytokines (e.g. IL1 β , IL6, TNF α) activate the endothelium. Moreover, proinflammatory factors are involved in the mechanism of neuronal hyperexcitability, including interactions with the neurotransmitter systems (e.g. glutamate, GABA) and the modification of the external environment of the nerve cells, which consequently leads to the formation of seizures. The interaction between the blood-brain barrier and the glial cells may represent a new therapeutic target for the treatment of refractory epilepsy.

STRESZCZENIE

Na podstawie modeli eksperymentalnych z ostatnich lat oraz u pacjentów z padaczką można zauważyć, że reakcja zapalna oraz powiązane z nią zaburzenia integralności bariery krew-mózg mogą mieć wpływ na przebieg choroby i reakcję na leczenie. Zwiększona przepuszczalność bariery krew-mózg powoduje przesiąkanie albumin oraz napływ leukocytów i w konsekwencji aktywację komórek glejowych. Komórki gleju z kolei – poprzez wydzielane chemokiny i cytokiny (np. IL1 β , IL6, TNF α) – aktywują śródbłonek. Ponadto czynniki prozapalne zaangażowane są w mechanizm nadpobudliwości neuronów, m.in. poprzez interakcje z układami neuroprzeźkaźników (np. glutaminergicznym, GABA-ergicznym), a także poprzez modyfikację środowiska zewnętrznego komórek nerwowych, co prowadzi do powstawania napadów padaczkowych. Przedstawione w pracy interakcje pomiędzy barierą krew-mózg a komórkami glejowymi mogą stanowić nowe cele terapeutyczne w leczeniu padaczki lekoopornej.

Key words: cytokines, inflammation, epilepsy, blood-brain barriers

Słowa kluczowe: padaczka, cytokiny, proces zapalny, bariera krew-mózg

Epilepsy is a chronic disorder of the central nervous system. The morbidity rate of epilepsy equals 1%, i.e. approximately 60 million people worldwide suffer from this disorder. The main symptoms are recurrent and spontaneous epileptic seizures. These

seizures originate due to abnormal, excessive bioelectric discharges in the nerve cells of the brain. The episodes are characterized by the sudden, temporary, abnormal phenomena of the motor, sensory, vegetative or psychopathological nature. The observed

clinical variety of epileptic forms is related to either the various localizations of epileptic foci in the focal epilepsy or the individual clinical picture in generalized epilepsy (Bernardino *et al.* 2005). The recognized mechanisms of epileptic seizure onsets consist mainly in abnormalities in neural functioning (e.g. ion channels activity disorders) and extra-neuronal changes connected with the activation of glial cells and the glia-neuron interactions. Moreover, changed environmental homeostasis in the central nervous system (CNS), such as e.g. ion disorders or changes in protein composition (albumins), lead to the changes in neuronal activity and epileptic discharges (Tomkinsi *et al.*, 2007).

Despite the fact that studies regarding epilepsy have been conducted for decades and there is a numerous group of antiepileptic drugs based on neurotransmission inhibition and neural hyperexcitability (mainly through the inhibition of ion channels), it is still impossible to obtain a good therapeutic effect in approximately 30% of patients (Devinsky *et al.* 2013). Therapeutic failures may be partially connected with the abnormal bioaccessibility of a drug resulting from the disorders in its metabolism (individual patient's characteristics, liver and kidney diseases), interactions with other drugs or improper permeability to the brain. It is known that in the epileptic foci (e.g. in tissues obtained in the course of resection of areas which are the epileptic foci) the activation of proteins eliminating the inflow of anti-epileptic drugs by the blood-brain barrier takes place (Friedman and Dingledin 2011). Additional factors affecting the insufficient therapeutic effect may be the inflammatory changes developing in the epileptic focus. A secondary inflammatory reaction accompanying brain damage (e.g. stroke or trauma) or neoplastic changes may directly participate in the creation of an epileptic focus. On the other hand, an inflammatory reaction may be induced by means of epileptic discharges. Numerous inflammatory mediators generated during a seizure, present in those areas of the brain where there are the epileptic foci, confirm this hypothesis (Choi and Koh 2008). In the course of the electric stimulation which induced an epileptic state in a rat, it was observed that there are changes in the activity of various genes in hippocampus, including a powerful increase in the expression of cytokine genes, complement system proteins and proteins connected with prostaglandin synthesis. As a result, the discharges taking place in the hippocampus induced an inflammatory condition and an immunological response (Gorter *et al.* 2006). The histological analysis of the resection material coming

from the surgeries of patients suffering from temporal lobe epilepsy suggests that there is a chronic inflammation in the brain (Crespel *et al.*, 2002). In drug-resistant patients, vascular changes and collection of lymphocytes in parenchyma of the brain were observed (Hildebrandt *et al.* 2008). Local inflammation, originating secondarily to an injury, may provoke epileptic discharges which stimulate yet further development of inflammation, at the same time creating a self-driven mechanism (Yang *et al.* 2010, Nian *et al.* 2012).

The epileptic models with pentylentetrazol (PTZ) may serve as a good example of the interaction between the inflammation and epileptic discharges. In studies on mice, in which an inflammation was induced outside the central nervous system by an intraperitoneal administration of lipopolysaccharide (LPS), it was shown that upon administration of PTZ the severity of seizures increased (Akarasu *et al.* 2006). In the model of inflammation induced by the administration of bacteria *Shigella dysenteriae*, the mice were also more sensitive to PTZ. In these animals, an increase in the pro-inflammatory cytokines: interleukin 1 β (IL1 β) and the tumour necrosis factor α (TNF α) in serum was observed (Yuhas *et al.* 1999). In other models based on PTZ in which the inflammation was induced by e.g. herpes virus type 1 and the virus inducing encephalitis and myelitis in mice, the jerking activity was increased. The administration of the anti-inflammatory drugs inhibited the inflammatory infiltration, weakened jerking activity and reduced neuron loss (Ravizza *et al.* 2011).

RASMUSSEN'S ENCEPHALITIS AND ANTINUCLEAR ANTIBODIES

Rasmussen's encephalitis is a confirmation that an inflammatory reaction participates in the development of epilepsy. This disease is characterized by frequent, unilateral, partially simple seizures with motor symptoms or secondarily generalized seizures. Early stages of the disease are characterized by focal clonic seizures of one side of the body. Jerking may cover small groups of muscles, e.g. the eye area or a thumb. In the course of the disease these areas are dilated and the time and frequency of seizures are prolonged. After a few months of the disease presence, the neurological focal symptoms may appear, such as extremity paresis, dysesthesia, anopsia, dysphasia, dysarthria and a gradual regress of cognitive functions.

In Rasmussen's encephalitis, there is an inflammatory reaction of an unknown etiology, taking place in one cerebral hemisphere. It is responsible for both the progressing injury and the atrophy of the infected hemisphere as well as for generating the epileptic seizures. The histopathological picture of the brain biopsy shows initially perivascular lymphocytic infiltrates. White and grey matter contains clusters of excited microglia and there are lymphocytes in the thickened cerebrospinal meninges (Kupczyk *et al.* 2009). The activated T CD8+ lymphocytes release the cytotoxic factors which induce apoptosis of neurons, astrocytes and oligodendrocytes (Bauer *et al.* 2009). There is a gradual loss of neurons and astrogliosis. Changes are limited only to one hemisphere of the brain. The progressing defect and inflammatory reactions lead to the induction and maintenance of abnormal discharges of nerve cells (Granata *et al.* 2011). Terminal stages of the Rasmussen's disease are characterized by extensive damage to the cerebral cortex with dominating vacuolization, astrogliosis and foci of active microglia with minimal infiltration of lymphocytes or a lack of (Pardo *et al.* 2004).

It was shown that in some patients with Rasmussen's encephalitis there are antibodies against one of the subunits of the AMPA receptor – GluR-3. These antibodies are capable of inducing jerking in experimental animals. Reduction of the antibodies titer (by means of plasmapheresis) decreases the frequency of seizures and improves neurological functions (Rogers *et al.* 1994). The anti-GluR-T antibodies bind with cortical neurons *in vitro* and have a direct neurotoxic effect by activation of the complement system and by excessive excitement of the AMPA receptors. Therefore, they may be the reason for the progressing damage and may induce epileptic seizures.

Antinuclear antibodies connected with the generation of the epileptic seizures are present in the auto-immunological encephalitis. Some of them induce specific clinical syndromes. For instance, paroxysmal, dystonic, unilateral jerking of the face and shoulders are characteristic for the syndrome connected with the presence of antibodies against LGI1, the complex of voltage-gated potassium channel (Bauer *et al.* 2012). Recently discovered antibodies against the GABA_A receptor cause acute encephalitis with behavioural changes and the refractory epileptic condition (Petit-Pedrol *et al.* 2014).

In some patients suffering from focal epilepsy, there are also antinuclear antibodies, *inter alia* against GluR3 and NMDA receptor. The presence of the antinuclear antibodies and their ability to induce epileptic discharges and to damage neurons can modify the

course of epilepsy and also affect the therapeutic outcome. It was shown that in the autoimmune diseases, e.g. antiphospholipid syndrome, the level of anticardiolipid antibodies correlates with the frequency of epileptic seizures (Levite and Ganor 2008).

BLOOD-BRAIN BARRIER

Inflammation in the central nervous system causes an increase in the permeability of the blood-brain barrier. On the one hand, the damaged blood-brain barrier may participate in the creation of epileptic focus and on the other hand, it may intensify the already existent epileptic discharges. Damage to the cerebral small vessels, e.g. during brain injuries, leads to the extravasation of serum proteins, which initiates the activation of neighbouring astrocytes and may be the first step towards epilepsy development (Friedman *et al.* 2009).

It has been suggested that an increase in the permeability of the blood-brain barrier may be caused by the accumulation of albumin in the brain parenchyma and an influx of leukocytes. Both the presence of albumins and inflammation mediators secreted by leukocytes may activate glial cells and lead to the disturbance of homeostasis, which, in turn, increases the neuronal excitability (Heinemann *et al.* 2012; van Vliet *et al.* 2007). Other blood proteins may also participate in the epileptogenesis. Thrombin, by means of the protease activating receptor (PAR1), causes strengthening of the neuronal excitability in the CA1 region of the hippocampus and decreases the epileptic threshold in the CA3 region upon the afferent stimulation (Maggio *et al.* 2008). Studies on the rat model of temporal lobe epilepsy (TLE) have shown that the blood-brain barrier is activated only after one seizure. This state is maintained for about one hour. The artificial opening of the barrier with the use of mannitol increases the seizure frequency (van Vliet *et al.* 2007). These studies confirm the participation of blood-brain barrier in both the seizure generation and the disease progression.

Recurrent epileptic discharges also have an activating effect on the microglial cells. Active microglia present properties similar to those of macrophages – they uptake and phagocytize abnormal molecules, present antigens to the immune-competent cells, activate the complement system and produce proinflammatory cytokines (Riazi *et al.* 2010). By means of cytokines and chemokines, the microglia regulate the development of inflammatory reaction, excite the endothelial cells and facilitate the transition through

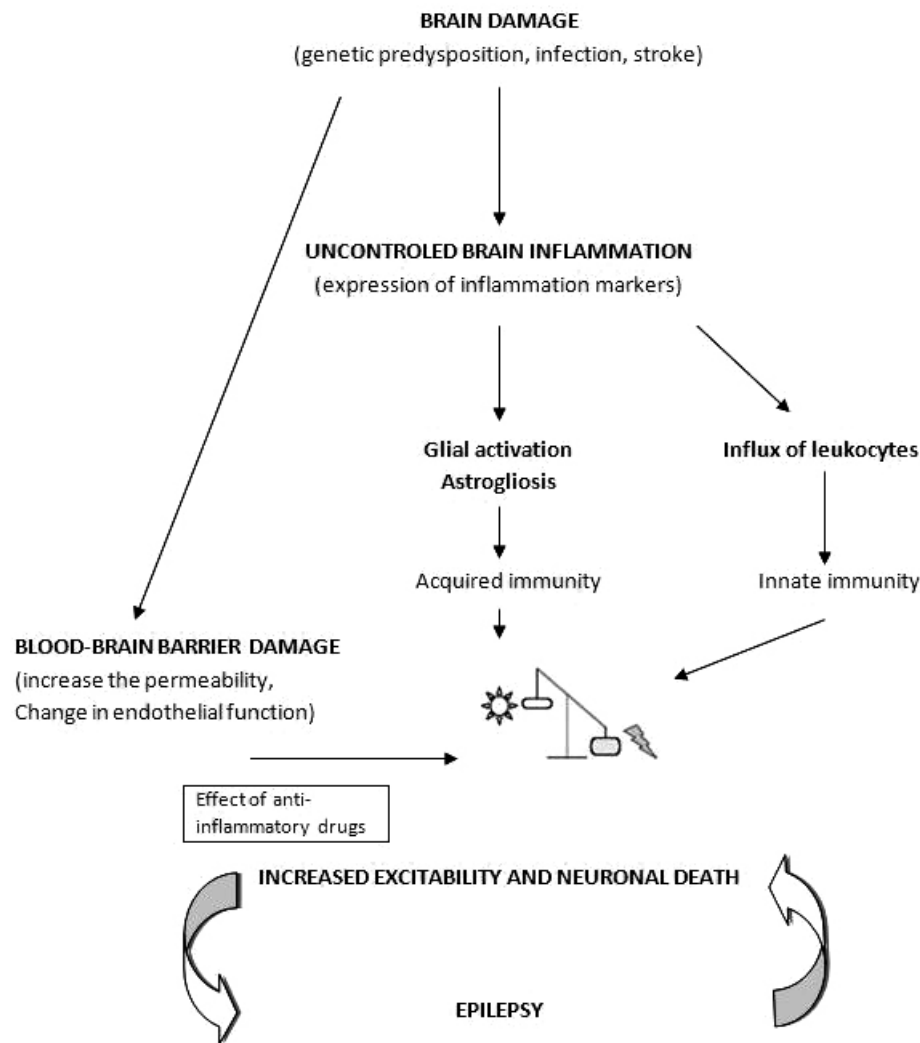


Figure 1. Uncontrolled inflammatory condition, damages of blood-brain barrier and seizures may lead to disease progression (Yang *et al.* 2010; Vezzani and Granata 2005)

the blood-brain barrier to the immune-competent cells (Riazi *et al.* 2010).

An extremely significant function of the blood-brain barrier is the regulation of water homeostasis. An important role here is also played by the glial cells which possess specialized channels – aquaporins for the flow of water molecules and ions through the barrier (Pitkänen and Łukasiuk 2009). Aquaporin 4 (AQP4) mediates in the bidirectional flow of water and potassium ions between the endothelial cells and the blood, regulating the interstitial osmolarity (Binder *et al.* 2012). A disturbance of the glial AQP4 may lead to the damage of water transport to the extracellular space and, as a consequence, an increase in the susceptibility to epileptic seizures (Dudek and Rogowski 2005). Transgenic mice, completely deprived of aquaporin or proteins bound to AQP4 (α -syntrophin, dystrophin), were susceptible to epileptic seizures (Binder *et al.* 2012). Loss of AQP4 was also observed in pa-

tients with the medial temporal lobe epilepsy with hippocampal sclerosis (MTLE-HS) (Eid *et al.* 2005). In the model of the epileptic condition induced by the administration of kainic acid, the AQP4 level decrease was observed, which suggests that disturbances of the water and potassium balance are present at early stages of epileptogenesis (Lee *et al.* 2012).

THE ROLE OF ASTROCYTES IN EPILEPSY DEVELOPMENT

Astrocytes regulate the blood-brain barrier permeability, ion concentration and synapses activity (Ricci *et al.* 2009). Reactive astrocytes – as part of the inflammatory reaction – are present in epileptic foci of various etiology: mesial temporal sclerosis (MTS), focal cortex dysplasia (FCD), tuberous sclerosis complex (TSC), Rasmussen's encephalitis, glial cell origin tumours (Bauer *et al.* 2007; Jabs *et al.*

2008; Binder and Steinhäuser 2008). One of the reasons for their activation is a dysfunction of the blood-brain barrier and the albumin transudation to brain parenchyma (Ricci *et al.* 2009). By means of various mechanisms, the excited astrocytes may change the neuronal excitability, contributing to the generation of abnormal epileptic discharges.

Reactive astrogliosis leads to an increase in the level of endogenous kinase, which is the most important adenosine regulator of the anticonvulsant activity. In the mice model of TLE induced by the kainic acid, there is an increase in the kinase level, which intensifies the seizure frequency (Fedele *et al.* 2005). Reactive astrocytes generate a sequence of factors: transforming growth factor (TGF β), TNF α , interleukin 1 (IL1), interleukin 4 (IL4), interleukin 6 (IL6), interleukin 10 (IL10), proinflammatory proteins, such as – cyclooxygenase 2 (COX-2), and chemokine receptor type 4 (CXCR-4) (Yang *et al.* 2010). By inducing the generation of prostaglandin E2, COX-2 causes an increase in the glutamate release and changes of potassium channels excitability, which, in turn, leads to an increase in the neuronal excitability and activation of glycoprotein P (Zhang *et al.* 2008; Bauer *et al.* 2008). Glycoprotein P is connected with the multidrug resistance mechanism. It is responsible for, among others, the xenobiotics transport outside the cells and also for blocking the drug penetration to the cytoplasm of target cells (Badowska-Jozakiewicz 2011). An increase in this protein was observed in the cells of the blood-brain barrier and parenchyma in patients suffering from the refractory epilepsy (Oby and Janigro 2006). In epilepsy, proinflammatory chemokines and cytokines released by astrocytes may interact with the Toll-like receptors (TLR) whose increased expression can be observed in capillary vessels (Morin-Brureau *et al.* 2011). This can lead to a transcriptional activation of cytokines, chemokines (CCL2, CCL3, CCL5 – regulating activation of T lymphocytes), antigens of major histocompatibility complex (MHC) class I and II and adhesive and costimulatory molecules in the brain parenchymatous cells as well as in the endothelial cells in the blood-brain barrier (Turrin and Rivest 2004). Astrogliosis increases the activation level of genes connected with an inflammatory response. These genes, activated by NF- κ B, participate in the secondary epilepsy development and consequently cause the death of neurons. Cytokines participating in the cellular proliferation (GM-CSF, M-CSF), and the adhesive molecules (VCAM-1, ICAM-1), regulated by NF- κ B, may take part in the neurogenesis (Yang *et al.* 2010). Astrocytes are also regulators of

the extracellular potassium level and participate in the metabolism and synthesis of various molecules (*inter alia* proteases) (Devinsky *et al.* 2013; Pitkänen and Łukasiuk 2009). Astrogliosis reduces the expression of potassium channels Kir 4.1, which leads to the disturbance of extracellular concentration of K⁺ ions and may initiate seizures (Schröder *et al.* 2000). The activated astrocytes affect the glial membrane channels, which leads to the neuronal hyperexcitability and seizure generation (D'Ambrosio 2004). The vascular endothelial growth factor (VEGF) released by astrocytes contributes to the damage of the blood-brain barrier and induces angiogenesis by activation of the VEGF receptor (Morin-Brureau *et al.* 2011).

THE ROLE OF LEUKOCYTES IN SEIZURE INDUCTION

The possible participation of leukocytes in the etiopathogenesis of epilepsy creates a new breakthrough. The leukocyte inflow into the brain is observed in epilepsy regardless of its etiology (Fabene *et al.* 2008). It is believed that leukocytes flow into the brain as a result of a response to cytokines produced by microglia (D'Mello *et al.* 2009).

In epilepsy patients, the changes in leukocytic system cells count in the peripheral blood has been described on numerous occasions. An increase of monocytes and NK cells proportion together with a decrease of lymphocytes B and T CD⁺ proportion have been observed. These results correlated with an increase of IL-6 (Nowak *et al.* 2011). An increased monocytes level correlated with the count of granulocytes and monocytes/macrophages found in those brain areas where neuron loss was observed. This was observed both in the experimental epilepsy models as well as in human tissues of patients suffering from the temporal lobe epilepsy with hippocampal sclerosis (Ravizza *et al.* 2008, Hampton *et al.* 1998).

During an inflammatory reaction, leukocytes may transit to CNS in various ways: (1) through the open pores of endothelium in choroid plexus – to the cerebrospinal fluid; (2) through a transition along the whole area of extracapillary vessels into the subarachnoid space and along the Virchow-Robin space which has a direct contact with the cerebrospinal fluid; (3) through the blood-brain barrier and basement lamina of endothelial cells of the extracellular vessels (Vezzani and Granata 2005). The epileptic activity causes an increase of leukocyte adhesion to the vessel surface, probably due to an increase of adhesive molecule expression on the endothelium

(Fabene *et al.* 2008). In the model of epilepsy induced by pilocarpine, it was observed that neutrophils and the activated leukocytes T interact with endothelium and migrate to the perivascular space or into parenchyma (Fabene *et al.* 2008; Fabene *et al.* 2010). In the animal model of cerebral meningitis, it was observed that leukocyte migration through the endothelium in the brain leads to damage of the blood-brain barrier, which consequently causes seizures (Kim *et al.* 2009).

In experimental studies, it was observed that epileptic discharges cause the activation of endothelial cells. The endothelium together with glial cells secrete chemokines and cytokines, which cause the flow of leukocytes into the brain. Leukocytes migration takes place by means of leukocytes-endothelial cells interaction (D'Mello *et al.* 2009). A significant role is played by the integrins present in leukocyte cells (e.g. LFA-1), the adhesive molecules on the surface of endothelium (ICAM-1 and VCAM-1) and selectins. Leukocytes present on the vessels by the interaction between integrins and ICAM-1 are pulled to the vessel walls, stopped by the interactions with selectins and then they penetrate into the perivascular area by means of the channels created in endothelium (Berlin *et al.* 1995). Endothelial oxidases (VAP-1) also contribute to the stabilization of traffic. These enzymes, by means of integrins, participate in the leukocyte adhesion by modifying the endothelial cells and leukocyte ligands (Stollen *et al.* 2005; Ranshoff *et al.* 2003). An increase of integrin expression on leukocytes and adhesive molecules or selectins points to the activation of leukocyte migration process. The administration of integrin $\alpha 4\beta 1$ upon a seizure induced by administration of pilocarpine decreased the frequency of spontaneous seizures (Fabene *et al.* 2008).

The adhesive molecules ICAM, VCAM and selectin E play a critical role in the signal transduction pathway in the endothelial cell and in inducing functional changes in interactions between leukocytes and endothelium. Selectins P and E are induced by an acute and chronic stimulation of endothelium. They are important factors for neurophilia, monocytes, NK cells, eosinophilia, and the effector cells T and B. Selectin L shows expression in the majority of circulating leukocytes and are crucial for the initiation of leukocyte capturing by endothelium in secondary lymphatic tissues, in injured and inflammatory areas. L-selectin may bind with ligands present on the surface of other leukocytes adherent to endothelial cells (especially PSGL-1) (Luster *et al.* 2005). In the mice model of epilepsy, it was observed

that the levels of ICAM-1, VCAM-1 and selectin P upon inducing a seizure were considerably higher in cortical vessels. The highest increase was observed after 24 hours and 7 days after an epileptic seizure, which suggests that seizures may cause their prolonged expression (Fabene *et al.* 2008). In the pilocarpine model of epilepsy, blocking the leukocyte inflow or the activation of endothelium caused a lower epileptic activity, and also interrupted the epileptic state induced by pilocarpine injection (Fabene *et al.* 2008). Modulation of the interaction between leukocytes and endothelium reduced the frequency of spontaneous epileptic seizures by 60% (Fabene *et al.* 2008). Single seizures may quickly induce expression of the adhesive molecules on endothelium, which suggests that each seizure may induce the proinflammatory mediators capable of endothelial activation. Endothelial activation may be conducive for the leukocyte inflow through the blood-brain barrier and intensify a local inflammatory reaction, and at the same time cause a new seizure (Friedman and Dingle 2011; Librizzi *et al.* 2007).

Lymphocyte involvement in the creation of epileptic foci creates a chance for the introduction of new anti-epileptic drugs. The highest hopes rest in the immunosuppressive drugs, inhibiting the activity of leukocytes T (cyclosporine A) and blocking the activity of lymphocytes B (tacrolimus). In the kindling models induced by the administration of PTZ or electric stimulation, the administration of these drugs prior to seizure initiation reduced the jerking effect (Ravizza *et al.* 2011). On the other hand, the administration of a different drug which inhibits leukocytes T – rampamycin – 24 hours after a seizure induced by the kainic acid decreased the number of spontaneous jerking (Zeng *et al.* 2009).

CYTOKINES

An increase of proinflammatory cytokines count has been observed in various experimental models of epilepsy and in people. Cytokines are small, pleiotropic protein molecules which play an important role in physiology and pathology (Bernardino *et al.* 2005). Cytokines are important molecules transferring a signal between the cells of the immune system. In the brain, they are mainly produced by astrocytes and microglia, but also by neurons. They can change the neuronal excitability and affect the survival of cells by activation of the transcription and posttranslational intracellular pathways (Vezzani *et al.* 2008). They are basic molecules regulating the

inflammatory reaction in the brain (mainly the activation of glial cells). These substances also increase the expression of the adhesive molecules and selectin (ICAM-1, VCAM-1, chemokines, receptors) on endothelium and epithelial cells in the blood-brain barrier and blood-cerebrospinal fluid (Yang *et al.* 2010). Changes in the cytokine expression in the brain were observed in the experimental model of febrile convulsions (Heida and Pittman 2005). It was shown that epileptic seizures increase gene transcription for cytokines, e.g. IL1 β in various areas of the brain (Choi and Koh 2008).

Proinflammatory cytokines modulate the activity of the glutamatergic and GABA-ergic systems. As a result of the TNF α activity, there is an increase in the extracellular glutamate amount by the inhibition of the astrocyte synthesis of glutamate and by inducing the glutamate release from the glial cells by means of the nitrous oxide. An increase in the extracellular glutamate concentration facilitates the activation of glutamate receptors and plays an important role in the creation of epileptic foci (Ravizza *et al.* 2011; Riazi *et al.* 2010; Bezzi *et al.* 2001). These interactions may be the reason for changes in the nerve cells excitability, which is a key factor for the mechanism of seizure induction (Vezzani *et al.* 2008). Epileptic seizures may activate themselves in the sympathetic nerve system and induce the release of catecholamines which intensifies cytokine production. Experimental studies suggest that cytokines inducing the seizures mediate in the signalling pathway leading to the death of neurons and apoptosis (Vezzani *et al.* 2008). Pro-inflammatory cytokines may increase the expression of glycoprotein P which restricts the effect of antiepileptic drugs by the blood-brain barrier (Friedman and Dingleline 2011; Nian *et al.* 2012). Moreover, IL1 β and TNF α may increase vascular permeability and angiogenesis, which, in turn, may lead to changes of the properties of the blood-brain barrier (Yuhás *et al.* 1999). Interactions between glutamate and cytokines and prostaglandins may constitute a mechanism that links an inflammation state with epilepsy.

A key role in epilepsy is played by the interleukin 1 β (IL1 β). It can affect the permeability of the blood-brain barrier by a change in the intracellular bindings organization (Nian *et al.* 2012). It affects the nitric oxide synthase and activates endothelial metalloproteases. In patients with the temporal lobe epilepsy and hippocampal sclerosis an increase in the level of this cytokine was observed, as well as its receptor (IL1R) in astrocytes, microglia and in neurons. Its increase was also observed after febrile

convulsions in children (Nian *et al.* 2012). In the experimental studies on the animal model of epilepsy both in the acute and chronic period, an increase of the IL1 β in cortex, hippocampus and hypothalamus was observed. Due to the fact that IL1 β is mainly produced by microglia and astrocytes it may prove an increased activity of glia cells in those regions of the brain (Rodgers *et al.* 2009). The increased IL1 β expression lasts up to 60 days after an epileptic condition in rats with spontaneous seizures (De Simoni *et al.* 2000). In the experimental models of TLE with hippocampal sclerosis the IL1 β /IL1R1 activation can precede epilepsy and plays a role in the spontaneous generation of seizures (De Simoni 2000). It is believed that IL1 β has a pro-seizure effect by the intensification of the oxidative stress, intensification of NMDA receptors activation as well as inhibition of GABA receptors, inhibition of the impact of K⁺ ions and release of Ca²⁺ ions (Ravizza *et al.* 2011). In epilepsy induced by the administration of bicuculline by means of arterial perfusion, it was shown that epileptic seizures cause a release of IL1 β , regardless of the peripheral factors – leukocytes (Librizzi *et al.* 2012). IL1 β may increase extracellular glutamate concentration by inhibition of the astroglial glutamate synthetase (Huang and O'Banion 1998). By the application of specific IL1 β biosynthesis inhibitors connected with its receptor or blocking TLR4, it is possible to stop the acute and chronic seizures in mice (Binder *et al.* 2012; Ravizza *et al.* 2006; Vezzani *et al.* 2002).

The second important pro-inflammatory cytokine is IL6. Its size is 22 – 27 kDa, and it is involved, *inter alia*, in the immune regulation of hematopoiesis, inflammatory state and oncogenesis (Bernardino *et al.* 2005). IL6 is present in neurons and glial cells, both in the physiological states and in pathologies (Bernardino *et al.* 2005). Its level increases after injuries and during an inflammation (Alapirtti *et al.* 2009). IL6 secreted by astrocytes is stimulated by IL1 β , in the process of modulation by the activation of metabotropic glutamate receptors 3 (Aronica *et al.* 2005). An increased level of this cytokine has neurotoxic and pro-seizure properties. In animal experimental models, it was observed that this cytokine increases in an acute epileptic seizure within hippocampus, cortex, callosal gyrus, amygdalae and cerebral meninges. In models induced by the kainic acid or electric stimulation an increase of this cytokine was observed 6 hours after a seizure. A sudden increase of IL6 may be connected with the membrane depolarization, leading to the accumulation of mRNA and IL6 protein in neurons. In patients with

the temporal lobe epilepsy, an increase is observed in serum up to 12 hours after a seizure, while this level returns to the control level within 24 hours (Vezzani *et al.* 2002). It is believed that the IL6 level increase in active epilepsy can be connected with a chronic stress reaction, which was observed immediately after the seizure (Bauer *et al.* 2009). IL6 may prolong the duration of seizures and cause neurodegeneration (Lehtimäki *et al.* 2004). In the rat model of an epileptic state of a limbic origin an increase of IL6 and TNF α was observed in glial cells in hippocampus (De Simon *et al.* 2000). In the models with PTZ, an initial administration of IL6 increased rats' susceptibility to epileptic activity (Kalueff *et al.* 2004). Focal and generalized jerking in people leads to an increase of IL6 in the cerebrospinal fluid and peripheral blood (Alapirtti *et al.* 2009). On the other hand, IL6 may be involved in the neuroprotective mechanisms. It was shown that this cytokine increases the adenosine A1 receptors in the brain which inhibit neuronal excitability (Biber *et al.* 2001).

TNF α can produce both the anti- and pro-seizure effect. It is a cytokine involved in a range of various processes (e.g. it intensifies proliferation and differentiation of lymphocytes B, affects the lipid balance, induces apoptosis, inhibits proliferation in neoplastic cells). It can be secreted by lymphocytes and macrophages permeating into the CNS (Vassali 1992). In the central nervous system, it is produced by the activated astrocytes and microglia (Bernardino *et al.* 2005). The effect of its activity is connected with the activity of receptors for this cytokine. It is believed that the activation of receptor p55 (TNFR1) has a pro-seizure and neurotoxic activity, while the activation of receptor p75 (TNFR2) has the anti-seizure activity. Injecting the nanomolar amounts of recombinant TNF α to a mouse hippocampus decreased the number of seizures. This activity took place by means of the receptor p75 (Balosso *et al.* 2005). Transgenic mice with a low TNF α expression in astrocytes also experienced a reduced number of seizures (Balosso *et al.* 2005). In the model induced by the kainic acid, it was proved that TNF α induces calbindin (a protein that binds calcium), which has a protective activity towards nerve cells by protecting them against the excitotoxicity (Mattson *et al.* 1995). On the other hand, in the course of an inflammation outside the central nervous system, the jerking intensified in the model induced by pentylenetetrazol (PTZ). This effect depended on the production of TNF α in hippocampus. In animals, in the course of enteritis, there was an inflammatory reaction in hippocampus in the form of, *inter alia*, microglia activation and the TNF α level

increase. Blocking of this cytokine activity prevented the intensification of jerking (Riazi *et al.* 2010; Riazi *et al.* 2008). In the hippocampus nerve cells interactions between TNF α and receptors AMPA were shown. The cellular rotation of the AMPA receptor is regulated by the receptors p55 (Beattie *et al.* 2002; Stellwagen *et al.* 2005) and, as a consequence, the excitement of the synaptic activity (Li *et al.* 2011). The signalling pathway of receptor p55 by means of the apoptosis signal-regulating kinase 1 (ASK1) is critical in the process of neuronal death as a result of seizures (Li *et al.* 2011). However, scarce clinical studies have failed to show an increased level of this cytokine after 24 hours upon tonic-clonic seizures and febrile convulsions (Li *et al.* 2011).

The signalling pathway of a transforming growth factor (TGF β) may become a new therapeutic aim. It is a cytokine playing a key role in communication among cells. It is involved in the process of cellular growth, embryogenesis, wound healing, immune response and apoptosis. The level of this cytokine increases after a brain injury. The signalling pathway TGF β is active when the blood-brain barrier is open, probably by means of albumin binding with the receptor of this cytokine (TGF β R) (Cacheaux *et al.* 2009). TGF β Rs are involved in albumin uptake by astrocytes. Blocking of these receptors prevents the albumin uptake and inhibits epileptic activity (Cacheaux *et al.* 2009). Moreover, blocking of TGF β Rs prevents from the gene transcription in astrocytes during epilepsy, which has an inhibitory effect on the inflammation in the brain and reduces spontaneous jerking (Friedman and Dingledine 2011). Since it was showed that after an injury of the blood-brain barrier, exposure to albumins and activation of the signalling pathway TGF β , there is a similar mRNA expression for the genes connected with inflammation, activation of complement system and astrocytes, it is believed that the signalling pathway of this cytokine can be significant in epilepsy, in which a key role is played by disturbances of the blood-brain barrier (Friedman and Dingledine 2011).

CHEMOKINES

Chemokines are small secretory proteins with chemotactic properties against the cells of the immune system. They are homologous proteins with a molecular mass of 8–14 kDa (Fabene *et al.* 2010). On the basis of the cysteine residues location, they are divided into two groups. Two main structures cover the structure of two terminal-end residues of

cysteine NH₂, which are separated by the amino acid (CXC) or are nearby each other (CC) (Fabene *et al.* 2010). Chemokines activate target cells (e.g. neurons) by the G protein-linked transmembrane receptors (Fabene *et al.* 2010; Kan *et al.* 2012). In nerve cells, they modulate the expression of potassium, sodium and calcium channels (Fabene *et al.* 2010). They increase the release of neurotransmitters, *inter alia*, of the γ -aminobutyric acid (GABA), glutamate and dopamine (Fabene *et al.* 2010). They activate various signal transduction pathways. Chemokines are involved in proliferation and migration of progenitor cells in CNS. They play a role in the regulation of signalling pathways and survival rate of neurons in microglia (Kan *et al.* 2012). One of their major functions is activation and regulation of leukocyte migration (Fabene *et al.* 2010). They control leukocyte migration through endothelium by affecting the integrin expression.

It is believed that in the development of epilepsy a key function is played by chemokine CCL4 produced by astrocytes (Kan *et al.* 2012). An increase of CCL4 expression may be connected with an increase in the blood-brain barrier permeability, the excitability of endothelial cells and the leukocyte inflow (Kan *et al.* 2012). It is possible that the CCL2 produced by neurons is also connected with the inflammation in epilepsy (Kan *et al.* 2012). In the mice model of epilepsy induced by pilocarpine, there was an increase of mRNA for CCL2 in hippocampus (Turrin and Rivest 2004). In TLE patients, with surgically removed hippocampi, an increase of chemokine genes CCL2, CCL3 and CCL4 was shown [81]. CCL2 and CCL3 can attract multinuclear leukocytes and monocytes, memory T lymphocytes and dendritic cells (Fabene *et al.* 2008; Fabene *et al.* 2010). The main locations of production of these chemokines are astrocytes, perivascular microglia and leukocytes themselves (Karpus *et al.* 1998). CCL2 i CCL3 mogą przyciągać leukocyty wielojądrowe oraz monocyty, limfocyty T pamięci i komórki dendrytyczne (Fabene i wsp. 2008; Fabene i wsp. 2010). In hippocampus of rats which experienced jerking induced by pilocarpine, an increase of the level of chemokine CCL2 and its receptor CCR2 was also confirmed (Foresti *et al.* 2009). In the model induced by the kainic acid, the CCL2 expression correlated with the increase of the blood-brain barrier permeability and the immune cells count in the damaged area. Moreover, the increase of blood-brain barrier permeability caused a simultaneous increase of the CCL2 expression and the immune cells count just after a few hours upon the injury happening

(Manley *et al.* 2007). It was observed that another receptor for CCR5 chemokines affects the integrity of the blood-brain barrier and the development of epilepsy in the rat model of temporal lobe epilepsy. A decrease of the CCR5 level causes a smaller damage of barrier integrity, a lower decrease of nerve cells count and a smaller inflammation (Louboutin *et al.* 2011). It is suggested that CCL5 can be a target of development of the anti-epileptic drugs (Lee *et al.* 2007). An increased expression of another cytokine CXCR4 may lead to a greater binding of chemokine CXCL12, which stimulates the microglia to the release of TNF α which, in turn, intensifies the prostaglandin-dependent activation of calcium ions and glutamate release (Lee *et al.* 2007). A double, neuroprotective and neurodegenerative effect of CXCL2 (MIP2) and CCL2 was observed after administration of the kainic acid to the hippocampus of rats. These chemokines caused an increase in the expression of the basic fibroblast growth factor (bFGF) in astrocytes. bFGF prevented the neurons of hippocampus from the process of the excitotoxic death of neurons (Kalehua *et al.* 2004).

CYCLOOXYGENASES AND PROSTAGLANDINS

One of the important enzymes involved in the inflammatory reaction in CNS are cyclooxygenases. Expression of cyclooxygenase 2 (COX-2) is observed in the glial cells and nerve cells in physiological conditions. Its level increases in the case of cellular damage. COX expression increase may be induced by the proinflammatory cytokines (Turrin and Rivest 2004), and also by epileptic discharges. It was observed that seizures increase the expression of this gene in nerve cells and hippocampus glial cells (Friedman and Dingledine 2011; Oby and Janigro 2006). Activated by jerking COX-2 causes an increase of the synthesis of prostaglandins – PGE₂, PGF_{2a}, PGD₂, prostacyclin and thromboxane (Friedman and Dingledine 2011). It was shown that PGE₂ is produced in hippocampus in epileptic conditions (Friedman and Dingledine 2011). The COX-2 expression in nerve cells upon seizure induction is temporary and withdraws after 72 hours upon jerking, however, the expression in the glial cells (most probably astrocytes) is sustained and is maintained for a few weeks (Vezzani and Granata 2005). Late COX-2 expression in glia, similarly to IL1 β and TNF α R, usually appears in the brain areas afflicted by nerve cells damage, which suggests a connection

between the prostaglandin production and the neurodegeneration (Vezzani and Granata 2005). COX-2 induction in the brain is also caused by the activation of NMDA receptors (Adams *et al.* 1996). In the rat model of temporal lobe epilepsy, the administration of phenytoin (PHT) together with the inhibitor COX-2 significantly reduced spontaneous seizures, while the treatment with PHT only proved to be ineffective (Gorter *et al.* 2006). On the other hand, the administration of COX-2 inhibitors (SC-58236) prior to seizure initiation or during a chronic epileptic condition caused a series of adverse reactions leading to animal deaths (Friedman and Dingledine 2011; Holtman *et al.* 2010). The application of COX-2 inhibitors, such as celecoxib and parecoxib administered to mice after an epileptic event induced by polycarpine reduced the number of seizures and had neuroprotective properties (Polascheck *et al.* 2010; Zandieh *et al.* 2010). Moreover, the administration of other non-steroid anti-inflammatory drugs prior to the initiation of seizures, such as nimesulid/rofecoxib, paracetamol, mefenamic acid – in the kindling model initiated by the administration of PTZ or electric stimulation – led to a delay in seizure onsets (Ravizza *et al.* 2011).

SUMMARY

The effect of an inflammatory reaction on the development and generation of epileptic seizures is enormous. An inflammation may be both the reason for changes in CNS lead to the development of epilepsy (it participates in the creation of epileptic foci after a brain injury) and may also be induced by epileptic discharges leading to secondary damage. Damage to the blood-brain barrier is a part of the on-going inflammatory process responsible for an increase of neuronal excitability and intensification of the inflammation. The endothelial activation attracts leukocytes to epileptic focus and their penetration into the brain parenchyma. Maintaining the blood-brain barrier integration as well as the inflammatory reaction mediators present in the central nervous system show an increase of expression during seizures and are potential targets of studies on new antiepileptic drugs. In recent years, there have been attempts to introduce new therapies in the treatment of the refractory epilepsy. Despite promising studies regarding the anti-inflammatory drugs in experimental models of epilepsy, currently only the administration of high doses of the IVIG immunoglobulins in the auto-immune epilepsy have

been applied (Lennox-Gastaut syndrome, West syndrome, Rasmussen's syndrome, Landau-Kleffner syndrome). However, it is impossible to obtain the therapeutic effect in all the patients (Geva-Dayan *et al.* 2012). Inhibitors of inflammatory mediators may possibly become the antiepileptic drugs of a new generation.

Padaczka jest to przewlekłe schorzenie ośrodkowego układu nerwowego. Chorobowość padaczki wynosi 1%, co znaczy, że około 60 milionów ludzi na świecie jest chorych. Podstawowym objawem są nawracające, spontaniczne napady padaczkowe. Napady te powstają wskutek nieprawidłowych, nadmiernych wyładowań bioelektrycznych w komórkach nerwowych mózgu. Epizody te mogą objawiać się nagłymi, przejściowymi, nieprawidłowymi zjawiskami natury ruchowej, czuciowej, wegetatywnej lub psychopatologicznej. Obserwowana różnorodność kliniczna padaczki związana jest z różną lokalizacją ognisk padaczkowych w padaczkach ogniskowych i indywidualnym obrazem klinicznym w padaczkach uogólnionych (Bernardino i wsp. 2005). Uznane mechanizmy powstawania napadów padaczkowych polegają przede wszystkim na nieprawidłowościach w funkcjonowaniu neuronów (np. zaburzenia pracy kanałów jonowych) oraz na zmianach pozaneuronalnych związanych z aktywacją komórek glejowych i interakcjach glej-neuron. Ponadto zmieniona homeostaza środowiska w ośrodkowym układzie nerwowym (OUN), jak np. zaburzenia jonowe czy zmiany w składzie białek (albuminy), prowadzą do zmian aktywności neuronalnej i wyładowań padaczkowych (Tomkinsi wsp. 2007).

Mimo że badania dotyczące padaczki prowadzone są od wielu lat oraz istnieje liczna grupa leków przeciwpadaczkowych opartych na hamowaniu przekaźnictwa nerwowego i nadmiernego pobudzenia neuronów (głównie poprzez hamowanie kanałów jonowych), uokoło 30% pacjentów nie udaje się uzyskać dobrego efektu leczniczego (Devinsky i wsp. 2013). Niepowodzenia terapeutyczne można wiązać częściowo z nieprawidłową biodostępnością leku wynikającą z zaburzenia jego metabolizmu (indywidualne cechy pacjenta, choroby wątroby i nerek), interakcjami z innymi lekami oraz z nieprawidłowym przenikaniem do mózgu. Wiadomo, że w ogniskach padaczkowych (np. w tkankach uzyskiwanych w efekcie resekcji miejsc stanowiących ogniska padaczkowe) dochodzi do aktywacji białek eliminujących napływ leków przeciwpadaczkowych przez barierę krew-mózg (Friedman i Dingledin

2011). Dodatkowymi czynnikami wpływającymi na niedostateczny efekt leczniczy mogą być zmiany zapalne rozwijające się w ognisku padaczkowym. Wtórna reakcja zapalna towarzysząca uszkodzeniu mózgu (udar, uraz) lub zmianom nowotworowym może bezpośrednio uczestniczyć w tworzeniu się ogniska padaczkowego. Z drugiej strony, reakcja zapalna może być indukowana za pomocą wyładowań padaczkowych. Dowodem potwierdzającym tę tezę są liczne mediatory zapalne produkowane podczas aktywności napadowej, obecne w tych rejonach mózgu, w których znajdują się ogniska padaczkowe (Choi i Koh 2008). W trakcie stymulacji elektrycznej wywołującej stan padaczkowy u szczura obserwowano w hipokampie zmiany w aktywności różnych genów, w tym najsilniej wzrost ekspresji genów cytokin, białek układu dopełniacza i białek związanych z syntezą prostaglandyn. Tym samym wyładowania w hipokampie indukowały stan zapalny i odpowiedź immunologiczną (Gorter i wsp. 2006). Analiza histologiczna materiału resekcyjnego pochodzącego z operacji pacjentów z padaczką skroniową wskazuje na występowanie przewlekłego stanu zapalnego w mózgu (Crespel i wsp. 2002). U pacjentów z padaczką oporną na leczenie obserwowano zmiany naczyniowe i gromadzenie się limfocytów w miąższu mózgu (Hildebrandt i wsp. 2008). Miejscowy stan zapalny powstający wtórnie do uszkodzenia może prowokować wyładowania padaczkowe, które stymulują dalszy rozwój zapalenia, tym samym tworząc samonapędzający się mechanizm (Yang i wsp. 2010, Nian i wsp. 2012).

Dobrym przykładem interakcji stanu zapalnego i wyładowań padaczkowych są modele padaczki z użyciem pentylenotetrazolu (PTZ). W badaniach prowadzonych na myszach, u których wywoływano stan zapalny poza ośrodkowym układem nerwowym, podając dootrzewnowo lipopolisacharyd (LPS), wykazano, że po podaniu PTZ dochodziło do nasilenia ciężkości napadów (Akarasu i wsp. 2006). W modelu stanu zapalnego wywołanym podaniem bakterii *Shigella dysenteriae*, myszy były również bardziej wrażliwe na podawanie PTZ. U zwierząt tych obserwowano wzrost cytokin prozapalnych: interleukiny 1 β (IL1 β) oraz czynnika martwicy nowotworów α (TNF α) w surowicy (Yuhás i wsp. 1999). W innych modelach z użyciem PTZ, w których stan zapalny wywołano m.in. wirusem opryszczki typu 1 oraz wirusem wywołującym zapalenie mózgu i rdzenia u myszy, obserwowano nasilenie drgawek. Podawanie leków przeciwwirusowych hamowało nacieki zapalny, osłabiało aktywność drgawkową oraz obniżało utratę neuronów (Ravizza i wsp. 2011).

ZAPALENIE MÓZGU RASMUSSENA I PRZECIWCIAŁA PRZECIWNEURONALNE

Potwierdzeniem udziału reakcji zapalnej w rozwoju padaczki jest zapalenie mózgu Rasmussena. W chorobie tej mogą występować częste, jednostronne, częściowo proste napady z objawami ruchowymi lub napady wtórnie uogólnione. W początkowym etapie choroby występują ogniskowe drgawki kloniczne dotyczące jednej połowy ciała. Drgawki mogą obejmować małe grupy mięśni, np. okolice oczu, kciuk. W czasie trwania choroby obszary te ulegają rozszerzeniu oraz wydłuża się czas i częstotliwość napadów. Po kilku miesiącach trwania choroby może dochodzić do ogniskowych objawów neurologicznych, jak np. niedowład kończyn, zaburzenia czucia, zaburzenia widzenia, dyzfarcja, dyzartria, oraz dostopniowego regresu funkcji poznawczych.

Istotą choroby Rasmussena jest reakcja zapalna, o nieznanej etiologii, tocząca się w jednej półkuli mózgu. To ona jest odpowiedzialna zarówno za postępujące uszkodzenie i zanik dotkniętej nią półkuli mózgu, jaki i za generowanie napadów padaczkowych. W obrazie histopatologicznym z biopsji mózgu stwierdza się początkowo okołonaczyniowe nacieki limfocytarne. W istocie białej i szarej obecne są skupiska pobudzonego mikrogleju, a w pogrubiałych oponach mózgowo-rdzeniowych stwierdza się obecność limfocytów (Kupczyk i wsp. 2009). Aktywowane limfocyty T CD8+ uwalniają czynniki cytotoksyczne, które wywołują apoptozę neuronów, astrocytów i oligodendrocytów (Bauer i wsp. 2009). Stopniowo dochodzi do ubytku neuronów oraz astroglejozy. Zmiany ograniczają się do jednej półkuli mózgu. Postępujące uszkodzenie i reakcja zapalna powodują indukowanie i podtrzymanie nieprawidłowych wyładowań komórek nerwowych (Granata i wsp. 2011). W końcowych etapach choroby Rasmussena powstają rozległe zniszczenia kory mózgu, z dominującą wakuolizacją, astroglejozą oraz ogniskami aktywnego mikrogleju z minimalnym naciekaniem limfocytów lub ich brakiem (Pardo i wsp. 2004).

Wykazano, że u części chorych z zapaleniem Rasmussena występują przeciwciała skierowane przeciwko jednej z podjednostek receptora AMPA – GluR-3. Przeciwciała te są zdolne do wywoływania drgawek u zwierząt eksperymentalnych. Zmniejszenie miana tych przeciwciał (za pomocą plazmaferezy) zmniejsza częstość napadów i poprawia funkcje neurologiczne (Rogers i wsp. 1994). Przeciwciała anti-GluR-3 wiążą się z neuronami korowymi *in vitro* i mają bezpośrednie działanie neurotoksyczne poprzez aktywację układu dopełniacza oraz przez nadmierne pobudze-

nie receptorów AMPA. Mogą być więc przyczyną zarówno postępującego uszkodzenia, jak i wywoływać wyładowania padaczkowe.

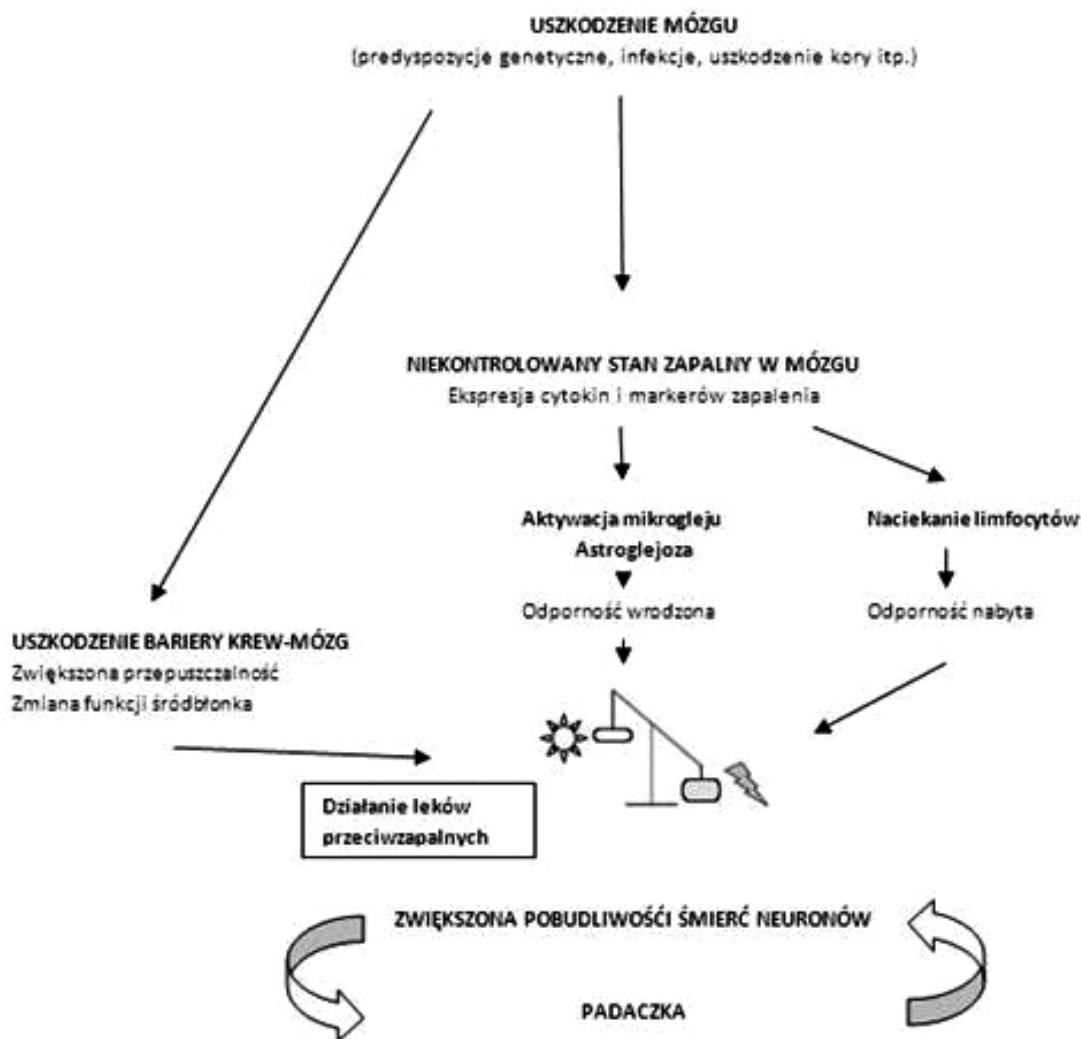
Przeciwciała przeciwn neuronalne związane z generowaniem napadów padaczkowych występują w autoimmunologicznych zapaleniach mózgu. Niektóre z nich wywołują specyficzne zespoły kliniczne. Na przykład napadowe, dystoniczne, jednostronne drgawki twarzy i ramion są bardzo charakterystyczne dla zespołu związanego z obecnością przeciwciał przeciwko LGI1, kompleksowi kanału potasowego bramkowanego napięciem (Bauer i wsp. 2012). Niedawno wykryte przeciwciała przeciwko receptorowi GABA_A powodują ciężkie zapalenie mózgu ze zmianami behawioralnymi i opornym na leczenie stanem padaczkowym (Petit-Pedrol i wsp. 2014).

U części chorych z padaczką ogniskową wykrywa się również przeciwciała przeciwn neuronalne, m.in. przeciw GluR3 i receptorowi NMDA. Obecność

przeciwciał przeciwn neuronalnych i ich zdolność do indukowania wyładowań padaczkowych oraz do uszkodzania neuronów może modyfikować przebieg padaczki, a także wpływać na efekt leczenia. W chorobach autoimmunologicznych, np. zespole antyfosfolipidowym, wykazano, że poziom przeciwciał antykardiolipidowych koreluje z częstością napadów padaczkowych (Levite i Ganor 2008).

BARIERA KREW-MÓZG

Stan zapalny w ośrodkowym układzie nerwowym powoduje wzrost przepuszczalności bariery krew-mózg. Uszkodzona bariera krew-mózg może zarówno brać udział w tworzeniu ogniska padaczkowego, jak również nasilać już istniejące wyładowania padaczkowe. Uszkodzenie małych naczyń mózgowych, m.in. podczas urazów mózgu, prowadzi do wy-



Rycina 1. Niekontrolowany stan zapalny, uszkodzenia bariery krew-mózg i napady mogą doprowadzić do progresji choroby (Yang i wsp. 2010; Vezzani i Granta 2005)

naczynienia białek surowicy, co powoduje aktywację sąsiadujących astrocytów i może być pierwszym krokiem w kierunku rozwoju padaczki (Friedman i wsp., 2009).

Sugeruje się, że wzrost przepuszczalności bariery krew-mózg może być powodowana gromadzeniem się albumin w parenchymie mózgu oraz napływem leukocytów. Zarówno obecność albumin, jak i wydzielane przez leukocyty mediatory zapalenia mogą aktywować komórki glejowe oraz prowadzić do zaburzeń homeostazy, które w rezultacie zwiększają pobudliwość neuronów (Heinemann i wsp. 2012; van Vliet i wsp. 2007). Inne białka krwi także mogą brać udział w epileptogenezie. Trombina za pośrednictwem receptora aktywującego proteazę (PAR1) powoduje wzmocnienie pobudzenia neuronów w regionie CA1 hipokampa oraz obniża próg padaczkowy w regionie CA3 po stymulacji aferentnej (Maggio i wsp. 2008). W badaniach na szczurzym modelu padaczki skroniowej (TLE) wykazano, że już po pojedynczym napadzie dochodzi do aktywacji bariery krew-mózg. Stan ten utrzymuje się około godziny. Sztuczne otwarcie bariery przy użyciu mannitolu zwiększa częstotliwość napadów (van Vliet i wsp. 2007). Badania te wskazują na udział bariery krew-mózg zarówno w powstawaniu napadów, jak i progresji choroby.

Powtarzające się wyładowania padaczkowe mają również wpływ aktywujący na komórki mikrogleju. Aktywny mikroglej ma działanie podobne do makrofagów – wychwytuje i fagocytuje nieprawidłowe cząsteczki, prezentuje antygeny komórkom immunokompetentnym, aktywuje układ dopełniacza i produkuje cytokiny prozapalne (Riazi i wsp. 2010). Poprzez cytokiny i chemokiny mikroglej reguluje rozwój reakcji zapalnej, pobudza komórki endotelium i ułatwia przechodzenie przez barierę krew-mózg komórkom immunokompetentnym (Riazi i wsp. 2010).

Niezwykle ważną funkcją bariery krew-mózg jest regulacja homeostazy wodnej. Istotną rolę odgrywają tutaj komórki glejowe, które posiadają wyspecjalizowane kanały – akwaporyny, dla przepływu cząsteczek wody i jonów przez barierę (Pitkänen i Łukasiuk 2009). Akwaporyna 4 (AQP4) pośredniczy w dwukierunkowym przepływie wody i jonów potasu między komórkami śródbłonna i krwią, regulując śródmiąższową osmolarność (Binder i wsp. 2012). Zaburzenia glejowej AQP4 mogą prowadzić do upośledzenia transportu wody do przestrzeni pozakomórkowej i w konsekwencji zwiększenia podatności na występowanie napadów padaczkowych (Dudek i Rogowski 2005). Myszy transgeniczne całkowicie pozbawione akwaporyny lub białek związanych z AQP4

(α -syntropina, dystropina) były podatne na występowanie napadów (Binder i wsp. 2012). Ubytek AQP4 obserwowano również u pacjentów z padaczką przyśrodkowego płata skroniowego ze stwardnieniem hipokampa (MTLE-HS) (Eid i wsp. 2005). W modelu stanu padaczkowego wywołanym podawaniem kwasu kainowego obserwowano obniżenie poziomu AQP4, co sugeruje, że zaburzenia gospodarki wodnej i potasowej występują już w początkowych etapach epileptogenezy (Lee i wsp. 2012).

ROLA ASTROCYTÓW W ROZWOJU PADACZKI

Astrocyty regulują przepuszczalność bariery krew-mózg, stężenie jonów, pracę synaps (Ricci i wsp. 2009). Reaktywne astrocyty – jako część reakcji zapalnej – występują w ogniskach padaczkowych o różnej etiologii: padaczcze skroniowej (MTS), ogniskowej dysplazji kory (FCD), stwardnieniu guzowatym (TSC), zapaleniu mózgu Rasmussena, nowotworach glejopochodnych (Bauer i wsp. 2007; Jabs i wsp. 2008; Binder i Steinhäuser 2008). Jedną z przyczyn ich aktywacji jest dysfunkcja bariery krew-mózg i przesiąkanie albumin do parenchymy mózgu (Ricci i wsp. 2009). Pobudzone astrocyty poprzez różnorodne mechanizmy mogą zmieniać pobudliwość neuronów, przyczyniając się do generowania nieprawidłowych wyładowań padaczkowych.

Reaktywna astroglejoza prowadzi do zwiększenia poziomu endogennej kinazy, która jest najważniejszym regulatorem adenozyliny o działaniu przeciwdrgawkowym. W mysim modelu TLE wywołanym podaniem kwasu kainowego dochodzi do wzrostu poziomu kinazy, co nasila występowanie napadów (Fedele i wsp. 2005). Reaktywne astrocyty produkują szereg czynników: transformujący czynnik wzrostu (TGF β), TNF α , interleukinę 1 (IL1), interleukinę 4 (IL4), interleukinę 6 (IL6), interleukinę 10 (IL10), prozapalne białka, takie jak – cyklooksygenazę 2 (COX-2), receptor 4 dla chemokin (CXCR-4) (Yang i wsp. 2010). COX-2 poprzez indukowanie wytwarzania prostaglandyny E2 (PGE2) powoduje wzrost uwalniania glutaminianu i zmiany pobudliwości kanałów potasowych, co w konsekwencji prowadzi do wzrostu pobudliwości neuronów oraz aktywacji glikoproteiny P (Zhang i wsp. 2008; Bauer i wsp. 2008). Glikoproteina P związana jest z mechanizmem oporności wielolekowej. Odpowiedzialna jest m.in. za transport ksenobiotyków na zewnątrz komórek, jak również za blokowanie wnikania leku do cytoplazmy komórek docelowych (Badowska-

Kozakiewicz 2011). Wzrost tego białka obserwowany był w komórkach bariery krew-mózg, jak i parenchymie u pacjentów chorych na padaczkę oporną na leczenie (Oby i Janigro 2006). W padaczkę chemokiny i cytokiny prozapalne uwalniane przez astrocyty mogą wchodzić w interakcje z receptorami Toll-podobnymi (TLR), których zwiększona ekspresja obserwowana jest w naczyniach włosowatych (Morin-Brureau i wsp. 2011). Może to prowadzić do transkrypcyjnej aktywacji cytokin, chemokin (CCL2, CCL3, CCL5 – regulującej aktywację limfocytów T), antygenów układu zgodności tkankowej (MHC) klasy I i II oraz cząsteczek adhezyjnych i kostymulacyjnych w komórkach mięszowych mózgu oraz w komórkach śródbłonka w barierze krew-mózg (Turrin i Rivest 2004). Astroglejoza podwyższa poziom aktywacji genów związanych z odpowiedzią zapalną. Geny te aktywowane przez NF- κ B uczestniczą w rozwoju padaczki wtórnej i w konsekwencji powodują śmierć neuronów. Cytokiny biorące udział w proliferacji komórek (GM-CSF, M-CSF) oraz cząsteczki adhezyjne (VCAM-1, ICAM-1), regulowane przez NF- κ B, mogą brać udział w neurogeniezie (Yang i wsp. 2010). Astrocyty są również regulatorami zewnątrzkomórkowego poziomu potasu oraz uczestniczą w metabolizmie i syntezie różnych cząsteczek (m.in. proteaz) (Devinsky i wsp. 2013; Pitkänen i Łukasiuk 2009). Astroglejoza zmniejsza ekspresję kanałów potasowych Kir 4.1, co powoduje zaburzenia zewnątrzkomórkowego stężenia jonów K⁺ i może inicjować napady (Schröder i wsp. 2000). Aktywowane astrocyty wpływają na glejowe kanały błonowe, co prowadzi do nadpobudliwości neuronów i generowania napadów (D'Ambrosio 2004). Uwalniany przez astrocyty czynnik wzrostu śródbłonka (VEGF) przyczynia się do uszkodzenia bariery krew-mózg i indukuje angiogenezę poprzez aktywację receptora dla VEGF (Morin-Brureau i wsp. 2011).

ROLA LEUKOCYTÓW W INDUKCJI NAPADÓW

Nową i przełomową koncepcją jest możliwość udziału leukocytów w etiopatogenezie padaczki. Napływ leukocytów do mózgu obserwuje się w padaczkę niezależnie od etiologii (Fabene i wsp. 2008). Uważa się, że leukocyty napływają do mózgu w wyniku odpowiedzi na cytokiny produkowane przez mikroglej (D'Mello i wsp. 2009).

U chorych z padaczką wielokrotnie opisywano zmiany w liczebności komórek układu białokrwinkowego we krwi obwodowej. Zaobserwowano

u nich wzrost odsetka monocytów i komórek NK oraz zmniejszenie odsetka limfocytów B i limfocytów T CD4⁺. Wyniki te korelowały ze wzrostem IL-6 (Nowak i wsp. 2011). Podwyższony poziom monocytów korelował z ilością granulocytów i monocytów/makrofagów znajdujących w obszarach mózgu, gdzie dochodziło do ubytków neuronów. Stan ten obserwowano zarówno w eksperymentalnych modelach padaczki, jak i w ludzkiej tkance pacjentów z padaczką skroniową ze stwardnieniem hipokampa (Ravizza i wsp. 2008; Hampton i wsp. 1998).

Podczas reakcji zapalnej leukocyty mogą przechodzić do OUN na kilka sposobów: (1) poprzez otwarte pory śródbłonka w splocie naczyniówkowym – do płynu mózgowo-rdzeniowego; (2) poprzez przechodzenie wzdłuż całej powierzchni naczyń pozawłosowatych do przestrzeni podpajęczynówkowej i wzdłuż przestrzeni Virchova-Robina, która ma bezpośredni kontakt z płynem mózgowo-rdzeniowym; (3) poprzez barierę krew-mózg oraz blaszkę podstawną komórek śródbłonka naczyń pozawłosowatych (Vezzani i Granata 2005). Aktywność napadowa powoduje wzrost adhezji leukocytów do powierzchni naczyń, prawdopodobnie na skutek zwiększenia ekspresji cząsteczek adhezyjnych na śródbłonku (Fabene i wsp. 2008). W modelu padaczki indukowanym pilokarpiną zaobserwowano, że neutrofile i aktywowane limfocyty T wchodziły w interakcje z endotelium i migrują do przestrzeni okołonaczyniowych lub w głąb parenchymy (Fabene i wsp. 2008; Fabene i wsp. 2010). W modelu zwierzęcym zapalenia opon mózgowych zaobserwowano, że migracja leukocytów przez śródbłonek w mózgu prowadzi do uszkodzenia bariery krew-mózg, co w konsekwencji powoduje występowanie napadów (Kim i wsp. 2009).

W badaniach eksperymentalnych zaobserwowano, że wyładowania padaczkowe powodują aktywację komórek śródbłonka. Śródbłonek wraz z komórkami glejowymi wydziela chemokiny i cytokiny, które powodują napływ leukocytów do mózgu. Migracja leukocytów odbywa się za pośrednictwem interakcji leukocyty-komórki śródbłonka (D'Mello i wsp. 2009). Dużą rolę odgrywają tu integryny obecne na komórkach leukocytów (np. LFA-1), cząsteczki adhezyjne na powierzchni śródbłonka (ICAM-1 i VCAM-1) i selektyny. Leukocyty obecne na naczyniach poprzez interakcje integrzyn z ICAM-1 przyciągane są do ściany naczyń, zatrzymywane poprzez interakcje z selektynami, a następnie penetrują poprzez wytworzone w śródbłonku kanały do okolicy przynaczyniowej (Berlin i wsp. 1995). Do stabilizacji toczenia się przyczyniają się również oksydazy śródbłonka (VAP-1). Enzymy te za pośrednictwem integrzyn uczestniczą

w adhezji leukocytów poprzez modyfikowanie komórek śródbłonna i ligandów leukocytów (Stollen i wsp. 2005; Ranshoff i wsp. 2003). Wzrost ekspresji integrzyn na leukocytach i cząsteczek adhezyjnych czy selektyn świadczy o aktywowaniu procesu migracji leukocytów. Podawanie integryny $\alpha 4\beta 1$ po stanie padaczkowym, wywołanym podawaniem pilokarpiny, obniżało częstość występowania napadów spontanicznych (Fabene i wsp. 2008).

Cząsteczki adhezyjne ICAM, VCAM oraz selektyna E odgrywają kluczową rolę w szlaku transdukcji sygnału w komórce śródbłonna oraz w wywoływaniu zmian czynnościowych w interakcjach pomiędzy leukocytami a śródbłonkiem. Selektyny P i E są indukowane przez ostrą i przewlekłą stymulację śródbłonna. Są ważnymi czynnikami dla neutrofilii, monocytów, komórek NK, eozynofili, komórek efektorowych T i B. Selektyna L wykazuje ekspresję w większości krążących leukocytów i jest kluczowa dla inicjacji przechwytywania leukocytów przez śródbłonek we wtórnych tkankach limfatycznych, w miejscach urazu i stanu zapalnego. L-selektyna może wiązać się z ligandami obecnymi na powierzchni innych leukocytów, przylegających do komórek śródbłonna (szczególnie PSGL-1) (Luster i wsp. 2005). W mysim modelu padaczki obserwowano, że ICAM-1 i VCAM-1 oraz selektyna P po indukowaniu napadu były wyraźnie podwyższone w naczyniach korowych. Najwyższy wzrost obserwowano po 24 godzinach i 7 dobach po stanie padaczkowym, co wskazuje, że napady mogą powodować ich przewlekłą ekspresję (Fabene i wsp. 2008). W modelu pilokarpinowym padaczki blokowanie napływu leukocytów lub aktywacji śródbłonna powodowało mniejszą aktywność drgawkową, jak również przerywało stan padaczkowy wywołany wstrzyknięciem pilokarpiny (Fabene i wsp. 2008). Modułowanie interakcji leukocyty-śródbłonek zmniejszało o 60% częstotliwość spontanicznych napadów padaczkowych (Fabene i wsp. 2008). Pojedyncze napady mogą szybko indukować ekspresję cząsteczek adhezyjnych na śródbłonku, co sugeruje, że każdy napad może indukować mediatory prozapalne, zdolne do aktywacji śródbłonna. Aktywacja śródbłonna może sprzyjać napływowi leukocytów poprzez barierę krew-mózg i nasilać miejscową reakcję zapalną, i tym samym powodować występowanie kolejnych napadów (Friedman i Dingleline 2011; Librizzi i wsp. 2007).

Zaangażowanie limfocytów w tworzenie ognisk padaczkowych stwarza szansę na wprowadzenie nowych leków przeciwpadaczkowych. Największe nadzieje pokłada się w lekach immunosupresyjnych, hamujących aktywność limfocytów T (cyklospory-

nie A) oraz blokujących czynności limfocytów B (takrolimus). W modelach kindlingu wywołanych podawaniem PTZ lub stymulacją elektryczną podawanie tych leków przed inicjowaniem napadów zmniejszało efekt drgawkowy (Ravizza i wsp. 2011). Z kolei podawanie innego leku hamującego limfocyty T – rapamycyny 24 godziny po stanie padaczkowym, wywołanym podawaniem kwasu kainowego, zmniejszało liczbę spontanicznych drgawek (Zeng i wsp. 2009).

CY TOKINY

W wielu modelach eksperymentalnych padaczki, a także u ludzi obserwowano wzrost ilości cytokin prozapalnych. Cytokiny są to małe, plejotropowe cząsteczki białkowe, odgrywające dużą rolę w fizjologii i patologii (Bernardino i wsp. 2005). Cytokiny są ważnymi cząsteczkami przenoszącymi sygnał pomiędzy komórkami układu odpornościowego. W mózgu wytwarzane są głównie przez astrocyty i mikroglej, ale również przez neurony. Mogą zmieniać pobudliwość neuronów i wpływać na przeżycie komórek poprzez aktywację transkrypcji i potranslacyjnych szlaków wewnątrzkomórkowych (Vezzani i wsp. 2008). Są podstawowymi cząsteczkami regulującymi reakcję zapalną w mózgu (przede wszystkim aktywację komórek glejowych). Substancje te podwyższają również ekspresję cząsteczek adhezyjnych i selektyn (ICAM-1, VCAM-1, chemokin, receptorów) na śródbłonku oraz komórkach nabłonka w barierze krew-mózg oraz krew-płyn mózgowo-rdzeniowy (Yang i wsp. 2010). Zmiany ekspresji cytokin w mózgu obserwowano w modelu eksperymentalnym drgawek gorączkowych (Heida i Pittman 2005). Wykazano, że napady padaczkowe zwiększają transkrypcje genów dla cytokin, m.in. IL1 β w różnych rejonach mózgu (Choi i Koh 2008).

Cytokiny prozapalne modulują czynność układu glutaminergicznego i GABA-ergicznego. W wyniku działania TNF α dochodzi do zwiększenia ilości zewnątrzkomórkowego glutaminianu poprzez hamowanie astrocytarnej syntetazy glutaminianu oraz poprzez indukowanie uwalniania glutaminianu z komórek glejowych przy użyciu tlenu azotu. Zwiększenie zewnątrzkomórkowego stężenia glutaminianu ułatwia aktywację receptorów glutaminianu i odgrywa znaczącą rolę w powstawaniu ognisk padaczkowych (Ravizza i wsp. 2011; Riazi i wsp. 2010; Bezzi i wsp. 2001). Oddziaływania te mogą być przyczyną zmian pobudliwości neuronów, co jest kluczowe dla mechanizmu indukcji napadów (Vezzani i wsp. 2008). Napady padaczkowe same mogą aktywować współ-

czulny układ nerwowy i indukować uwalnianie katecholamin, które nasilają produkcję cytokin. Badania eksperymentalne sugerują, że cytokiny indukujące napady pośredniczą w ścieżce sygnalizacyjnej, prowadzącej do śmierci neuronów i apoptozy (Vezzani i wsp. 2008). Cytokiny prozapalne mogą podwyższać ekspresję glikoproteiny P, która ogranicza wpływ leków przeciwpadaczkowych przez barierę krew-mózg (Friedman i Dingleline 2011; Nian i wsp. 2012). Ponadto IL1 β i TNF α mogą zwiększać przepuszczalność naczyń i angiogenezę, co w konsekwencji może prowadzić do zmian właściwości bariery krew-mózg (Yuhas i wsp. 1999). Interakcje między glutaminianem a cytokinami i prostaglandynami mogą stanowić mechanizm wiążący stan zapalny z padaczką.

Kluczową rolę w padaczce odgrywa interleukina 1 β (IL1 β). Może ona wpływać na przepuszczalność bariery krew-mózg przez zmianę organizacji połączeń międzykomórkowych (Nian i wsp. 2012). Wpływa na syntezę tlenu azotu oraz aktywuje metaloproteazy śródbłonna. U pacjentów z padaczką skroniową i stwardnieniem hipokampa zaobserwowano wzrost poziomu tej cytokiny, jak również jej receptora (IL1R) w astrocytach, mikrogleju oraz w neuronach. Obserwowano jej wzrost również po drgawkach gorączkowych u dzieci (Nian i wsp. 2012). W badaniach eksperymentalnych na zwierzęcym modelu padaczki zarówno w okresie ostrym, jak i przewlekłym obserwowano podwyższenie poziomu IL1 β w korze, hipokampie oraz podwzgórz. Ze względu na to, że IL1 β produkowana jest głównie przez mikroglej i astrocyty, może to dowodzić zwiększonej aktywności komórek glijowych w tych regionach mózgu (Rodgers i wsp. 2009). Zwiększona ekspresja IL1 β utrzymuje się do 60 dni po stanie padaczkowym u szczurów ze spontanicznymi drgawkami (De Simoni i wsp. 2000). W eksperymentalnych modelach TLE ze stwardnieniem hipokampa aktywacja IL1 β /IL1R1 może poprzedzać wystąpienie padaczki i odgrywa rolę w spontanicznej generacji napadów (De Simoni 2000). Uważa się, że IL1 β wywiera efekt prodrgawkowy poprzez nasilenie stresu oksydacyjnego, nasilenie aktywności receptorów NMDA, hamowanie receptorów GABA, hamowanie wpływu jonów K⁺ oraz uwalnianie jonów Ca²⁺ (Ravizza i wsp. 2011). W padaczce wywołanej podawaniem bikukuliny metodą perfuzji tętniczej wykazano, że napady padaczkowe powodują uwalnianie IL1 β , niezależnie od czynników obwodowych – leukocytów (Librizzi i wsp. 2012). IL1 β może zwiększać zewnątrzkomórkowe stężenie glutaminianu poprzez hamowanie astroglowej syntetazy glutaminianu (Huang i O'Banion 1998). Stosując specyficzne inhibitory biosyntezy

IL1 β związane z jej receptorem lub blokując TLR4, można zahamować występowanie ostrych i przewlekłych napadów u myszy (Binder i wsp. 2012; Ravizza i wsp. 2006; Vezzani i wsp. 2002).

Drugą ważną cytokiną prozapalną jest IL6. Ma wielkość 22–27 kDa i zaangażowana jest m.in. w immunologiczną regulację hematopoezy, stan zapalny oraz onkogenezę (Bernardino i wsp. 2005). IL6 występuje w neuronach i komórkach gleju, zarówno w stanach fizjologicznych, jak i patologii (Bernardino i wsp., 2005). Jej poziom rośnie po urazach i w stanie zapalnym (Alapirtti i wsp. 2009). IL6 wydzielana przez astrocyty jest stymulowana przez IL1 β , w procesie modulacji przez aktywację metabotropowych receptorów glutaminianu 3 (mGluR3) (Aronica i wsp. 2005). Podwyższony poziom tej cytokiny ma właściwości neurotoksyczne oraz prodrgawkowe. W zwierzęcych modelach doświadczalnych obserwowano wzrost tej cytokiny w ostrym napadzie padaczkowym w obrębie hipokampa, kory, zakrętu obręczy, ciele migdałowatym, oponach mózgowych. W modelach indukowanych kwasem kainowym lub stymulacją elektryczną obserwowano wzrost poziomu tej cytokiny w 6. godzinie po napadzie. Gwałtowny wzrost IL6 może mieć związek z depolaryzacją błony, prowadzącą do nagromadzenia mRNA oraz białka IL6 w neuronach. U pacjentów z padaczką skroniową w surowicy widoczny jest wzrost do 12 godzin po napadzie, natomiast w ciągu 24 godzin poziom wraca do poziomu kontrolnego (Vezzani i wsp. 2002). Uważa się, że wzrost poziomu IL6 w aktywnej padaczce może być związany z przewlekłą reakcją stresową, co obserwowano bezpośrednio po napadzie (Bauer i wsp. 2009). IL6 może zwiększać czas trwania napadów i powodować neurodegenerację (Lehtimäki i wsp. 2004). W szczurzym modelu stanu padaczkowego pochodzenia limbicznego obserwowano wzrost IL6 i TNF α w komórkach glijowych w hipokampie (De Simoni i wsp. 2000). W modelach z użyciem PTZ wstępne podanie IL6 zwiększało podatność szczurów na aktywność padaczkową (Kalueff i wsp. 2004). Ogniskowe i uogólnione drgawki u ludzi powodują zwiększenie poziomu IL6 w płynie mózgowo-rdzeniowym i krwi obwodowej (Alapirtti i wsp. 2009). Z drugiej strony IL6 może być zaangażowana w mechanizmy neuroprotektcyjne. Wykazano, że cytokina ta zwiększa w mózgu ekspresję receptorów adenyliny A1, hamujących pobudliwość neuronów (Biber i wsp. 2001).

TNF α może wywołać efekt zarówno anty-, jak i prodrgawkowy. Jest to cytokina zaangażowana w szereg różnych procesów (m.in. wzmacnia proliferację i różnicowanie limfocytów B, wpływa na go-

spodarkę lipidową, indukuje apoptozę, hamuje proliferację w komórkach nowotworowych). Może być wydzielana przez limfocyty i makrofagi przenikające do OUN (Vassali 1992). W ośrodkowym układzie nerwowym wytwarzana jest przez aktywowane astrocyty i mikroglej (Bernardino i wsp. 2005). Jej efekt działania związany jest z aktywnością receptorów dla tej cytokiny. Uważa się, że aktywacja receptora p55 (TNFR1) działa pronapadowo i neurotoksycznie, natomiast aktywacja receptora p75 (TNFR2) – antynapadowo. Wstrzykiwanie nanomolarnych ilości rekombinowanego TNF α do mysiego hipokampa zmniejszało liczbę napadów. Działanie to odbywało się za pośrednictwem receptora p75 (Balosso i wsp. 2005). Myszy transgeniczne z niską ekspresją TNF α w astrocytach również miały zmniejszoną liczbę napadów (Balosso i wsp. 2005). W modelu indukowanym kwasem kainowym wykazano, że TNF α indukuje kalbidynę (białko wiążące wapń), które działa protekcyjnie na neurony, chroniąc przed procesem ekscytotoksyczności (Mattson i wsp. 1995). Z drugiej strony w przebiegu stanu zapalnego poza ośrodkowym układem nerwowym dochodziło do nasilenia drgawek, w modelu wywołanym pentyletetrazolem (PTZ). Efekt ten był zależny od wytwarzania TNF α w hipokampie. U zwierząt w przebiegu zapalenia jelit dochodziło do powstania reakcji zapalnej w hipokampie w postaci m.in. aktywacji mikrogleju i wzrostu poziomu TNF α . Zablokowanie aktywności tej cytokiny zapobiegało nasileniu drgawek. (Riazi i wsp. 2010; Riazi i wsp. 2008). W neuronach hipokampa wykazano oddziaływanie między TNF α i receptorami AMPA. Poprzez receptory p55 regulowany jest komórkowy obrót receptora AMPA (Beattie i wsp. 2002; Stellwagen i wsp. 2005) i w konsekwencji pobudzenie aktywności synaptycznej (Li i wsp. 2011). Szlak sygnałowy receptora p55 za pośrednictwem kinazy ASK1 (ang. *apoptosis signal-regulating kinase 1*) jest kluczowy w procesie śmierci neuronów w następstwie napadów (Li i wsp. 2011). Nieliczne badania kliniczne nie wykazały jednak podwyższonego poziomu tej cytokiny po 24 godzinach po napadach toniczno-klonicznych i drgawkach gorączkowych (Li i wsp. 2011).

Nowym terapeutycznym celem może się okazać szlak sygnałowy transformującego czynnika wzrostu (TGF β). Jest to cytokina odgrywająca kluczową rolę w komunikacji między komórkami. Zaangażowana jest w proces wzrostu komórek, embriogenezę, gojenie się ran, odpowiedź immunologiczną oraz apoptozę. Poziom tej cytokiny wzrasta po uszkodzeniu mózgu. Ścieżka sygnalizacyjna TGF β jest aktywna w momencie otwarcia bariery krew-mózg, prawdopodobnie za pośrednictwem wiązania albumin

z receptorem dla tej cytokiny (TGF β R) (Cacheaux i wsp. 2009). TGF β R są zaangażowane w wychwyt albumin przez astrocyty. Blokowanie tych receptorów zapobiega wychwytywaniu albumin i hamuje aktywność padaczkową (Cacheaux i wsp. 2009). Blokowanie TGF β R zapobiega również transkrypcji genów w astrocytach w trakcie padaczki, co działa hamująco na stan zapalny w mózgu oraz redukuje występowanie spontanicznych drgawek (Friedman i Dingledine 2011). Ponieważ wykazano, że po uszkodzeniu bariery krew-mózg, ekspozycji na albuminy i aktywacji ścieżki sygnalizacyjnej TGF β następuje podobna ekspresja mRNA dla genów związanych ze stanem zapalnym, aktywacją układu dopełniacza, astrocytami, uważa się, że szlak sygnałowy tej cytokiny może być istotny w padaczce, w której kluczową rolę odgrywają zaburzenia bariery krew-mózg (Friedman i Dingledine 2011).

CHEMOKINY

Chemokiny są to małe białka wydzielnicze o właściwościach chemotaktycznych wobec komórek układu odpornościowego. Są homologicznymi białkami o masie cząsteczkowej 8–14 kDa (Fabene i wsp. 2010). Dzieli się je na dwa rodzaje na podstawie położenia reszt cysteinowych. Dwie główne struktury obejmują układ dwóch końcowych reszt cysteiny-NH₂, które są oddzielone aminokwasem (CXC) lub znajdują się obok siebie (CC) (Fabene i wsp. 2010). Chemokiny aktywują komórki docelowe (m.in. neurony) poprzez receptory sprzężone z białkiem G (Fabene i wsp. 2010; Kan i wsp. 2012). W neuronach modulują ekspresję kanałów potasowych, sodowych, wapniowych (Fabene i wsp. 2010). Zwiększają uwalnianie neuroprzekaźników, m.in. kwasu γ -aminomasłowego (GABA), glutaminianu, dopaminy (Fabene i wsp. 2010). Aktywują wiele szlaków przekazywania sygnałów. Chemokiny są zaangażowane w proliferację i migrację komórek progenitorowych w OUN. Odgrywają rolę w regulacji ścieżek sygnałowych oraz przeżywalności neuronów i gleju (Kan i wsp. 2012). Jedną z ich podstawowych funkcji jest aktywacja i regulacja przemieszczania się leukocytów (Fabene i wsp. 2010). Kontrolują migrację leukocytów przez endotelium poprzez wpływ na ekspresję integryn.

Uważa się, że w rozwoju padaczki kluczową funkcję może pełnić chemokina CCL4 produkowana przez astrocyty (Kan i wsp. 2012). Wzrost ekspresji CCL4 może być związany ze wzrostem przepuszczalności bariery krew-mózg, pobudzeniem komór-

rek śródbłonna i napływem leukocytów (Kan i wsp. 2012). Być może ze stanem zapalnym w padaczce jest związana również produkowana przez neurony CCL2 (Kan i wsp. 2012). W modelu mysim padaczki wywołanym podawaniem pilokarpiny dochodziło do wzrostu mRNA dla CCL2 w hipokampie (Turrin i Rivest 2004). U pacjentów z TLE wykazano w usuniętych chirurgicznie hipokampach wzrost ekspresji genów chemokin CCL2, CCL3, CCL4 [81]. CCL2 i CCL3 mogą przyciągać leukocyty wielojądrowe oraz monocyty, limfocyty T pamięci i komórki dendrytyczne (Fabene i wsp. 2008; Fabene i wsp. 2010). Głównym miejscem produkcji tych chemokin są astrocyty, okołonaczyniowy mikroglej oraz same leukocyty (Karpus i wsp. 1998). W hipokampie szczurów, które miały drgawki indukowane pilokarpiną, również potwierdzono wzrost poziomu chemokin CCL2 i jej receptora CCR2 (Foresti i wsp. 2009). W modelu indukowanym kwasem kainowym ekspresja CCL2 korelowała ze wzrostem przepuszczalności bariery krew-mózg i liczbą komórek odpornościowych w miejscu uszkodzenia. Ponadto wzrost przepuszczalności bariery powodował jednoczesny wzrost ekspresji CCL2 i liczby komórek odpornościowych już w kilka godzin po uszkodzeniu (Manley i wsp. 2007). Zauważono, że inny receptor dla chemokin CCR5 wpływa na integralność bariery krew-mózg i rozwój padaczki w szczurzym modelu padaczki skroniowej. Zmniejszenie poziomu CCR5 powoduje mniejsze uszkodzenie integralności bariery, mniejszy spadek liczby neuronów i mniejszy stan zapalny (Louboutin i wsp. 2011). Sugeruje się, że CCR5 może być celem dla rozwoju leków przeciwpadaczkowych (Lee i wsp. 2007). Zwiększona ekspresja innej cytokiny CXCR4 może prowadzić do większego wiązania chemokin CXCL12, co pobudza mikroglej do uwalniania TNF α , która z kolei nasila prostaglandynozależną aktywację jonów wapniowych i uwalnianie glutaminianu (Lee i wsp. 2007). Podwójny neuroprotektoryny i neurodegeneracyjny efekt CXCL2 (MIP2) oraz CCL2 obserwowany był po podawaniu szczurom kwasu kainowego do hipokampa. Chemokiny te powodowały wzrost ekspresji czynnika wzrostu fibroblastów (bFGF) w astrocytach. bFGF chronił neurony hipokampa przed procesem ekscytotoksycznej śmierci neuronów (Kalehua i wsp. 2004).

CYKLOOKSYGENAZY I PROSTAGLANDYNY

Jednymi z ważnych enzymów zaangażowanych w reakcję zapalną w OUN są cyklooksygenazy. Ekspresja cyklooksygenazy 2 (COX-2) obserwowana

jest w komórkach gleju i neuronach w stanie fizjologicznym. Jej poziom rośnie w wypadku uszkodzenia komórek. Wzrost ekspresji COX może być wywołany poprzez cytokiny prozapalne (Turrin i Rivest 2004), jak również poprzez wyładowania padaczkowe. Obserwowano, że napady zwiększają ekspresję tego genu w neuronach i komórkach gleju hipokampa (Friedman i Dingleline 2011; Oby i Janigro 2006). COX-2 aktywowane przez drgawki powoduje wzrost syntezy prostaglandyn – PGE2, PGF2 α , PGD2, prostacykliny i tromboksanu (Friedman i Dingleline 2011). Wykazano, że PGE2 jest produkowana w hipokampie w stanie padaczkowym (Friedman i Dingleline 2011). Ekspresja COX-2 w neuronach po indukcji napadów jest przejściowa i ustępuje po 72 godzinach od wystąpienia drgawek, natomiast ekspresja w komórkach glejowych (najprawdopodobniej astrocytach) jest trwała i utrzymuje się kilka tygodni (Vezzani i Granata 2005). Późna ekspresja COX-2 w gleju, podobnie jak i IL1 β oraz TNF α R zazwyczaj występuje w obszarach mózgu dotkniętych uszkodzeniem neuronów, co sugeruje związek produkcji prostaglandyn i neurodegeneracji (Vezzani i Granata 2005). Indukcję COX-2 w mózgu powoduje także aktywacja receptorów NMDA (Adams i wsp. 1996). W szczurzym modelu padaczki skroniowej podawanie fenytoiny (PHT) wraz z inhibitorem COX-2 znacznie zmniejszało występowanie spontanicznych napadów, podczas gdy samo leczenie PHT było nieskuteczne (Gorter i wsp. 2006). Z drugiej strony podawanie inhibitorów COX-2 (SC-58236) przed inicjowaniem napadów lub w trakcie trwania przewlekłego stanu padaczkowego powodowało występowanie szeregu działań niepożądanych prowadzących do śmierci zwierząt (Friedman i Dingleline 2011; Holtman i wsp. 2010). Stosowanie inhibitorów COX-2, takich jak: celecoxib, parecoxib, podawanych myszom po stanie padaczkowym wywołanym podawaniem pilokarpiny, obniżało liczbę napadów oraz działało neuroprotektorynie (Polascheck i wsp. 2010; Zandieh i wsp. 2010). Ponadto podawanie przed wywołaniem napadów innych leków z grupy niesteroidowych leków przeciwzapalnych, takich jak nimesulid/rofecoxib, paracetamol, kwas mefenamowy – w modelach kindlingu inicjowanych podawaniem PTZ lub stymulacją elektryczną – powodowało opóźnienie pojawiania się napadów (Ravizza i wsp. 2011).

PODSUMOWANIE

Wpływ reakcji zapalnej na rozwój i generowanie napadów padaczkowych jest ogromny. Zapalenie

może być zarówno przyczyną zmian w OUN prowadzących do rozwoju padaczki (bierze udział w tworzeniu się ogniska padaczkowego po uszkodzeniu mózgu), jak również może być indukowane wyładowaniami padaczkowymi, prowadząc wtórnie do uszkodzenia. Uszkodzenie bariery krew-mózg jest częścią toczącego się procesu zapalnego odpowiadającego za zwiększenie pobudliwości neuronów i za nasilenie zapalenia. Aktywacja śródbłonna pozwala na przyciąganie leukocytów do ogniska padaczkowego i ich penetrację do parenchymy mózgu. Zachowanie integracji bariery krew-mózg i mediatorzy reakcji zapalnej obecne w ośrodkowym układzie nerwowym wykazujące wzrost ekspresji podczas napadów są potencjalnymi celami badań nad nowymi lekami przeciwpadaczkowymi. W ostatnich latach dąży się do wprowadzenia nowych terapii w leczeniu padaczek lekoopornych. Mimo obiecujących badań dotyczących leków przeciwzapalnych w eksperymentalnych modelach padaczki obecnie zastosowanie znalazło jedynie podawanie dużych dawek immunoglobulin IVIG w padaczkach autoimmunologicznych (zespół Lennox-Gastaut, zespół Westa, zespół Rasmussena, zespół Landau-Kleffnera). Jednak nie u wszystkich pacjentów udaje się uzyskać efekt terapeutyczny (Geva-Dayan i wsp. 2012). Inhibitory mediatorów zapalnych będą być może lekami przeciwpadaczkowymi nowej generacji.

BIBLIOGRAPHY/PIŚMIENICTWO

- Adams J, Collaço-Moraes Y, de Belleruche J: Cyclooxygenase-2 induction in cerebral cortex: an intracellular response to synaptic excitation. *J. Neurochem* 1996; 66: 6–13.
- Akarsu ES, Ozdayi S, Algan E, Ulupinar F: The neuronal excitability time-dependent changes after lipopolysaccharide administration in mice: possible role of cyclooxygenase-2 induction. *Epilepsy Res.* 2006; 71: 181–187.
- Alapirtti T, Rinta S, Hulkkonen J, Mäkinen R, Keränen T, Pelto J.: Interleukin-6, interleukin-1 receptor antagonist and interleukin-1 beta production in patients with focal epilepsy; A video-EEG study. *J. Neurol. Sci* 2009; 280: 94–97.
- Aronica E, Gorter JA, Rozemuller AJ, Yankaya B, Troost D: Interleukin 1 β down-regulates the expression of metabotropic glutamate receptor 5 in cultured human astrocytes. *J Neuroimmunol* 2005; 160: 188–194.
- Badowska-Kozakiewicz AM: Zjawisko oporności wielolekowej w nowotworach – rola glikoproteiny P. *Życie Wet* 2011; 86: 211–214.
- Balosso S, Ravizza T, Perego C, Peschon J, Campbell IL, De Simoni MG, *et al.*: Tumor necrosis factor alpha inhibits seizures in mice via p75 receptors. *Ann Neurol* 2005; 57: 804–812.
- Bauer J, Hartz A, Pekcec A, Toellner K, Miller D, Potschka H: Seizure-induced up-regulation of P-glycoprotein at the blood-brain barrier through glutamate and cyclooxygenase-2 signaling. *Mol Pharmacol* 2008; 73: 1444–1453.
- Bauer J, Elger CE, Hans VH, Schramm J, Urbach H, Lassmann H, *et al.*: Astrocytes are a specific immunological target in Rasmussen's encephalitis. *Ann. Neurol.* 2007; 62: 67–80.
- Bauer J, Vezzani A, Bien CG: Epileptic encephalitis the role of the innate and adaptive immune system. *Brain Pathol* 2012; 22: 412–421.
- Bauer S, Cepok S, Todorova-Rudolph A, Nowak M, Köller M, Lorenz R, *et al.*: Etiology and site of temporal lobe epilepsy influence postictal cytokine release. *Epilepsy Res.* 2009; 86: 82–88.
- Beattie EC, Stellwagen D, Morishita W, Bresnahan JC, Ha BK, Von Zastrow M, *et al.*: Control of synaptic strength by glia TNF alpha. *Science* 2002; 295: 2282–2285.
- Berlin C, Bargatze RF, Campbell JJ, von Andrian UH, Szabo MC, Hasslen SR, *et al.*: $\alpha 4$ integrins mediate lymphocyte attachment and rolling under physiologic flow. *Cell* 1995; 80: 413–422.
- Bernardino L, Ferreira R, Cristóvão A, Sales F, Malva J: Inflammation and Neurogenesis in Temporal Lobe Epilepsy. *Curr. Drug Targets: CNS Neurol. Disord* 2005; 4: 349–360.
- Bezzi P, Domercq M, Brambilla L, Galli R, Schols D, De Clercq E, *et al.*: CXCR4-activated astrocyte glutamate release via TNF α : amplification by microglia triggers neurotoxicity. *Nat. Neurosci* 2001; 4: 702–710.
- Biber K, Lubrich B, Fiebich BL, Boddeke HW, van Calcar D: Interleukin – 6 enhance expression of adenosine A (1) receptor mRNA and signaling in cultured rat cortical astrocytes and brain slices. *Neuropsychopharmacology* 2001; 24: 86–96.
- Binder DK, Nagelhus EA, Ottersen OP: Aquaporin-4 band epilepsy. *Glia* 2012; 60: 1203–1204.
- Binder DK, Steinhäuser C: Functional changes in astroglial cells in epilepsy. *Glia* 2006; 54: 358–368.
- Cacheaux LP, Ivens S, David Y, Lakhter AJ, Bar-Klein G, Shapira M, i wsp: Transcriptome profiling reveals TGF beta signaling involvement in epileptogenesis. *J. Neurosci* 2009; 29: 8927–8935.
- Choi J, Koh S: Role of brain inflammation in epileptogenesis. *Yonsei Med. J.* 2008; 49: 1–18.
- Crespel A, Coubes P, Rousset MC, Brana C, Rougier A, Rondouin G, *et al.*: Inflammatory reactions in human medial temporal lobe epilepsy with hippocampal sclerosis. *Brain Res.* 2002; 952: 159–169.
- D'Ambrosio R.: The role of glial membrane ion channels in seizures and epileptogenesis. *Pharmacol. Ther.* 2004; 103: 95–108.
- De Simoni MG, Perego C, Ravizza T, Moneta D, Conti M, Marchesi F, De Luigi A, *et al.*: Inflammatory cytokines and related genes are induced in rat hippocampus by limbic status epilepticus. *Eur J. Neurosci* 2000; 12: 2623–2633.
- Devinsky O, Vezzani A, Najjar S, De Lanerolle N, Rogawski M: Glia and epilepsy: excitability and inflammation. *Trends Neurosci* 2013; 36: 174–184.
- D'Mello C, Le T, Swain MG: Cerebral microglia recruit monocytes into the brain in response to tumor necrosis factor alpha signaling during peripheral organ inflammation. *J. Neurosci.* 2009; 29: 2089–2102.
- Dudek FE, Rogowski MA: Regulation of brain water: is there a role for aquaporins in epilepsy? *Epilepsy Curr* 2005; 5: 104–106.
- Eid T, Lee TS, Thomas MJ, Amiry-Moghaddam M, Björnsen LP, Spencer DD, *et al.*: Loss of perivascular aquaporin 4 may underlie deficient water and K⁺ homeostasis in the human epileptogenic hippocampus. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2005; 102: 1193–1198.
- Fabene PF, Bramanti P, Constantin G: The emerging role for chemokines in epilepsy. *J. Neuroimmunol* 2010; 224: 22–27.
- Fabene PF, Navarro Mora G, Martinello M, Rossi B, Merigo F, *et al.*: A role for leukocyte-endothelial adhesion mechanisms in epilepsy. *Nat Med* 2008; 14: 1377–1383.
- Fedele DE, Gouder N, Güttinger M, Gabernet L, Scheurer L, Rüllicke T, *et al.*: Astrogliosis in epilepsy leads to overexpression of adenosine kinase, resulting in seizure aggregation. *Brain* 2005; 128: 2383–2385.

30. Foresti ML, Arisi GM, Katki K, Montañez A, Sanchez RM, Shapiro LA.: Chemokine CCL2 and its receptor CCR2 are increased in the hippocampus following pilocarpine-induced status epilepticus. *J. Neuroinflammation* 2009; 6.
31. Friedman A, Dingledine R: Molecular cascades that mediate the influence of inflammation of epilepsy. *Epilepsia* 2011; 52: 33–39.
32. Friedman A, Kaufer D, Heinemann U: Blood-brain barrier breakdown inducing astrocytic transformation: Novel targets for the prevention of epilepsy. *Epilepsy Res* 2009; 85: 142–149.
33. Geva-Dayan K, Shorer Z, Menascu S, Linder I, Goldberg-Stern H, Heyman E, Lerman-Sagie T, Ben Zeev B, Kramer U: Immunoglobulin treatment for severe childhood epilepsy. *Pediatr Neurol*. 2012; 46: 375–381.
34. Gorter J, van Vliet E, Aronica E, Breit T, Rauwerda H, Lopes da Silva F, *et al.*: Potential new antiepileptic targets indicated by microarray analysis in a rat model for temporal lobe epilepsy. *J. Neurosci* 2006; 26: 11083–11110.
35. Granata T, Cross H, Theodore W, Avanzini G: Immune-mediated epilepsy. *Epilepsia* 2011; 52: 5–11.
36. Hampton MB, Kettle AJ, Winterbourn CC: Inside the neutrophil phagosome: oxidants, myeloperoxidase and bacterial killing. *Blood* 1998; 92: 3007–3017.
37. Heida J, Pittman Q: Causal links between brain cytokines and experimental febrile convulsions in the rat. *Epilepsia* 2005; 46: 1906–1913.
38. Heinemann U, Kaufer D, Friedman A: Blood-brain barrier dysfunction TGF β signaling and astrocyte dysfunction in epilepsy. *Glia* 2012; 60: 1251–1257.
39. Hildebrandt M, Amann K, Schröder R, Pieper T, Kolodziejczyk, Holthausen, *et al.*: White matter angiopathy is common in pediatric patients with intractable focal epilepsies. *Epilepsia* 2009; 49: 804–815.
40. Holtman L, van Vliet E, Edelbroek P, Aronica E, Gorter A: Cox-2 inhibition can lead to adverse effects in rat model for temporal lobe epilepsy. *Epilepsy Res*. 2010; 49: 49–56.
41. Huang TL, O'Banion MK: Interleukin-1 beta and tumor necrosis factor alpha suppress dexamethasone induction of glutamine synthetase in primary mouse astrocytes. *J. Neurochem* 1998; 71: 1436–1442.
42. Jabs R, Seifert G, Steinhäuser C: Astrocytic functions and its alteration in the epileptic brain. *Epilepsia* 49 2008, 3–12.
43. Kalehua A, Nagel J, Whelchel L, Guides J, Pyle R, Smith R, *et al.*: Monocyte chemoattractant proteins – 1 and macrophages inflammatory protein-2 are involved on both excitotoxin induced neurodegeneration and regeneration. *Exp. Cell Res*. 2004; 297: 197–211.
44. Kalueff AV, Lehtimäki KA, Ylinen A, Honkaniemi J, Peltola J.: Intranasal administration of human Il-6 increases the severity of chemically induced seizures in rats. *Neurosci Lett* 2004; 365: 106–110.
45. Kan AA, van der Hel WS, Kolk SM, Bos IW, Verlinde SA, van Nieuwenhuizen O, *et al.*: Prolonged increase in rat hippocampal chemokine signalling after status epilepticus. *J Neuroimmun* 2012; 245: 15–22.
46. Karpus WJ, Ransohoff RM: Chemokine regulation of experimental autoimmune encephalomyelitis: temporal and spatial expression patterns govern disease pathogenesis. *J. Immunol* 1998; 161: 2667–2671.
47. Kim JV, Kang SS, Dustin ML, McGavern DB: Myelomonocytic cell recruitment causes focal CNS vascular injury during acute viral meningitis. *Nature* 2009; 457: 191–195.
48. Kupczyk K, Gurda B, Steinborn B: Zespół Rasmussena – problemy diagnostyczne i terapeutyczne. *Opis przypadku. Neurol Dziec* 2009; 18: 85–90.
49. Lee DJ, Hsu MS, Seldin MM, Arellano JL, Binder DK.: Decreased expression of the glial water channel aquaporin-4 in the intra hippocampal kainic model of epileptogenesis. *Exp. Neurol* 2012; 235: 246–255.
50. Lee TS, Mane S, Eid T, Zhao H, Lin A, Guan Z, *et al.*: Gene expression in temporal lobe epilepsy is consistent with increased release of glutamate by astrocytes. *Mol. Med* 2007; 13: 1–13.
51. Lehtimäki KA, Keränen T, Huhtala H, Hurme M, Ollikainen J, Honkaniemi J, *et al.*: Regulation of IL6 system in cerebrospinal fluid and serum compartments by seizures: the effect of seizure type and duration. *J. Neuroimmunol* 2004; 152: 121–125.
52. Levite M, Ganor Y: Autoantibodies to glutamate receptors can damage the brain in epilepsy, systemic lupus erythematosus and encephalitis. *Expert Rev Neurother.* 2008; 8: 1141–60.
53. Li G, Bauer S, Nowak M, Norwood B, Tackenberg B, Rosenow F, *et al.*: Cytokines and epilepsy. *Seizure* 2011; 20: 249–256.
54. Librizzi L, Regondi M, Pastori C, Frigerio S, Frasoni de Curtis M: Expression of adhesion factors induced by epileptiform activity in the isolated guinea pig brain in vitro. *Epilepsia* 2007; 48: 743–751.
55. Librizzi L, Noč F, Vezzani A, de Curtis M, Ravizza T: Seizure induced brain-born inflammation sustains seizure recurrence and blood-brain barrier damage. *Ann Neurol* 2012; 72: 82–80.
56. Louboutin JP, Chekmasova A, Marusich E, Agrawal L, Strayer DS: Role of CCR5 and its ligands in the control of vascular inflammation and leukocyte recruitment required for acute excitotoxic seizure induction and neural damage. *FASEB J.* 2011;25: 737–753.
57. Luster AD, Alon R, von Andrian UH: Immune cell migration in inflammation present and future therapeutic targets. *Nat Immunol* 2005; 6: 1182–1190.
58. Maggio N, Shavit E, Chapman J, Segal M: Thrombin induces long-term potentiation of reactivity to afferent stimulation and facilitates epileptic seizures in rat hippocampal slices: toward understanding the functional consequences of cerebrovascular insults. *J. Neurosci* 2008; 28: 732–736.
59. Manley N, Bertrand A, Kinney K, Hing T, Sapolsky R: Characterization of monocyte chemoattractant protein-1 expression following a kainate model of status epilepticus. *Brain Res*. 2007; 1182: 138–143.
60. Mattson M, Cheng B, Baldwin, Smith-Switosky V, Keller J, Geddes J, *et al.*: Brain injury and tumor necrosis factor induced Calbindin D-28k in astrocytes: evidence for cytoprotective response. *J. Neurosci Res* 1995; 42: 357–370.
61. Morin-Brureau M, Lebrun A, Rousset MC, Fagni L, Bockaert J, de Bock F, *et al.*: Epileptiform activity induces vascular remodeling and zohula occludens 1 downregulation in organotypic hippocampal cultures: role of VEGF signaling pathways. *J. Neurosci* 2011; 31: 10677–10688.
62. Nian Y, Qing D, Yong H, Yan-Fang Z, Ling-Ying S, Xin-Hong Li, *et al.*: A meta-analysis of pro-inflammatory cytokines in the plasma of epileptic patients with recent seizure. *Neurosci Lett* 2012; 514: 110–115.
63. Nowak M, Bauer S, Haag A, Cepok S, Todorova-Rudolph A, Tackenberg B, *et al.*: Interictal alterations of cytokines and leukocytes in patients with active epilepsy. *Brain Behav Immun* 2011; 25: 423–428.
64. Oby E, Janigro D: The blood-brain barrier and epilepsy. *Epilepsia* 2006; 47: 1761–1774.
65. Pardo CA, Vining EP, Guo L, Skolasky RL, Carson BS, Freeman JM: The pathology of Rasmussen syndrome stages of cortical involvement and neuropathological studies in hemispherectomies. *Epilepsia* 2004; 45: 26–56.
66. Petit-Pedrol M, Armangue T, Peng X, Bataller L, Cellucci T, Davis R, *et al.*: Encephalitis with refractory seizures, status epilepticus, and antibodies to the GABAA receptor: a case series, characterisation of the antigen, and analysis of the effects of antibodies. *Lancet Neurol.* 2014; 13: 276–86.
67. Pitkänen A, Lukasiuk K: Molecular and cellular basis of epileptogenesis in symptomatic epilepsy. *Epilepsy Behav* 2009; 14: 16–25.
68. Polaschek N, Bankstahl M, Löscher W: The COX-2 inhibitor parecoxib is neuroprotective but not antiepileptogenic in the

- pilocarpine model of temporal lobe epilepsy. *Exp Neurol.* 2010; 224: 219–233.
69. Ransohoff RM, Kivisäkk P, Kidd G: Three or more routes for leukocyte migration into the central nervous system. *Nat. Rev. Immunol.* 2003; 3: 569–581.
70. Ravizza T, Balosso S, Vezzani A: Inflammation and prevention of epileptogenesis. *Nerosci Lett* 2011; 497: 223–230.
71. Ravizza T, Gagliardi B, Noé F, Boer K, Aronica E, Vezzani A: Innate and adaptive immunity during epileptogenesis and spontaneous seizure. Evidence from experimental models and human temporal lobe epilepsy. *Neurobiol. Dis.* 2008; 29: 142–160.
72. Ravizza T, Lucas SM, Balosso S, Bernardino L, Ku G, Noé F, *et al.*: Inactivation of caspase-1 in rodent brain: a novel anticonvulsive strategy. *Epilepsy* 2006; 47: 1160–1168.
73. Riazi K, Galic M, Pittman Q: Contributions of peripheral inflammation to seizure susceptibility: cytokines and brain excitability. *Epilepsy Res.* 2010; 89: 34–42.
74. Riazi K, Galic MA, Kuzmiski JB, Ho W, Sharkey KA, Pittman QJ: Microglial activation and TNF alpha production mediate altered CNS excitability following peripheral inflammation. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2008; 105: 17151–17156.
75. Ricci G, Volpi L, Pasquali L, Petrozzi L, Siciliano G: Astrocyte-neuron interactions in neurological disorders. *J. Biol. Phys.* 2009; 35: 317–336.
76. Rodgers KM, Hutchinson MR, Northcutt A, Maier SF, Watkins LR, Barth DS: The cortical innate immune response increases local neuronal excitability leading to seizures. *Brain* 2009; 132: 2478–2486.
77. Rogers SW, Andrews PI, Gahring LC, Whisenand T, Cauley K, Crain B, *et al.*: Autoantibodies to Glutamate Receptor GluR3 in Rasmussen's Encephalities. *Science* 1994; 265: 648–651.
78. Schröder W, Hinterkeuser S, Seifert G, Schramm J, Jabs R, Wilkin GP, *et al.*: Functional and molecular properties of human astrocytes in acute hippocampal slices obtained from patients with temporal lobe epilepsy. *Epilepsia* 2000; 41: S181–S184.
79. Stellwagen D, Beattie EC, Seo JY, Malenka RC.: Differential regulation of AMPA receptor and GABA receptor trafficking by tumor necrosis factor alpha. *J. Neurosci* 2005; 25: 3219–3228.
80. Stolen CM, Marttila-Ichihara F, Koskinen K, Yegutkin GG, Turja R, Bono P: Absence of the endothelial oxidase AOC 3 leads to abnormal leukocyte traffic in vivo. *Immunity* 2005; 22: 105–115.
81. Tomkins O, Friedman O, Ivens S, Reiffurth C, Major S, Dreier JP, *et al.*: Blood-brain barrier disruption results in delayed functional and structural alterations in the rat neocortex. *Neurobiol. Dis* 2007; 25: 367–377.
82. Turrin N, Rivest S: Innate immune reaction in response to seizures: implications for the neuropathology associated with epilepsy. *Neurobiol Dis* 2004; 16: 321–334.
83. van Vliet EA, da Costa Araújo S, Redeker S, van Schaik R, Aronica E, *et al.*: Blood-brain barrier leakage may led to progression of temporal lobe epilepsy. *Brain* 2007; 130: 521–534.
84. Vassali P: The pathophysiology of tumor necrosis factor. *Annu Rev Immunol* 1992; 10: 411–452.
85. Vezzani A, Balosso S, Ravizza T: The role of cytokines in the pathophysiology of epilepsy. *Brain, Behav. Immun.* 2008; 22: 797–803.
86. Vezzani A, Granata T: Brain Inflammation in Epilepsy: Experimental and Clinical Evidence. *Epilepsia* 2005; 46: 1724–1743.
87. Vezzani A, Moneta D, Richichi C, Aliprandi M, Burrows SJ, Ravizza T, Perego C, De Simoni MG: Fuctional role of inflammatory cytokines and antiinflammatory molecules in seizures and epileptogenesis. *Epilepsia* 2002; 43: 30–35.
88. Vezzani A, Ravizza T, Balosso S, Aronica E: Glia as a source of cytokines: implications for neuronal excitability and survival. *Epilepsia* 2008; 49: 26–32.
89. Yang T, Zhou D, Stefan H: Why mesial temporal lobe epilepsy with hippocampal sclerosis is progressive: Uncontrolled inflammation drives disease progresion? *J Neurol Sci* 2010; 296: 1–6.
90. Yuhás Y, Shulman L, Weizman A, Kaminsky E, Vanichkin A, Ashkenazi S: Involvement of tumor necrosis factor alpha and interleukin-1 β in enhancement if pentylenetetrazole – induced seizures caused by *Shigella dysenteriae*. *Infect. Immun* 1999; 67: 1455–1460.
91. Zandieh A, Maleki F, Hajimirzabeigi A, Zandieh B, Khalilzadeh O, Dehpour AR: Anticonvulsant effect of celecoxib on pentylenetetrazole-induced convulsion: Modulation by NO pathway. *Acta Neurobiol Exp* 2010; 70: 390–397.
92. Zeng LH, Rensing N, Wong M: The Mammalian Target of Rapamycin Signaling Pathway Mediates Epileptogenesis in a Model of Temporal Lobe Epilepsy. *J. Neurosci* 29 (2009), 6964–6972.
93. Zhang HJ, Sun RP, Lei GF, Yang L, Liu CX: Cyclooxygenase-2 inhibitor inhibits hippocampal synaptic reorganization in pilocarpine-induced status epilepticus rats. *J. Zhejiang Univ Sci B* 2008; 9: 903–915.

Correspondence address:

Agnieszka Maria Cudna

Instytut Psychiatrii i Neurologii, II Klinika Neurologiczna

ul. Sobieskiego 9, 02-957 Warszawa, Poland

e-mail: acudna@ipin.edu.pl
