

Praca pogładowa*Review*JANUSZ SZYNDLER¹, PIOTR MACIEJAK^{1,2}, ADAM PŁAŻNIK^{1,2}**Rola receptorów metabotropowych dla kwasu glutaminowego w epileptogenezie***The role of metabotropic glutamate receptors in the processes of epileptogenesis*¹Katedra i Zakład Farmakologii Doświadczalnej i Klinicznej Akademii Medycznej w Warszawie²Zakład Neurochemii Instytutu Psychiatrii i Neurologii w Warszawie**STRESZCZENIE**

Padaczka jest częstym schorzeniem neurologicznym, występującym u około 1,5 % światowej populacji, charakteryzującym się występowaniem spontanicznych, nieprzewidywalnych, nawracających napadów. U wielu pacjentów aktualnie dostępne leki przeciwpadaczkowe nie zapewniają ich właściwej kontroli. Receptory metabotropowe dla glutaminianu modulują pobudliwość neuronalną. Działanie modulujące jest związane z wpływem na przekaźnictwo glutaminergiczne oraz GABA-ergiczne. Biorąc pod uwagę fakt, że receptory mGluR związane są z regulacją aktywności układów pobudzających i hamujących receptory te mogą stanowić nowy punkt uchwytu dla nowych substancji o działaniu przeciwpadaczkowym. W poniższym opracowaniu przedstawiono wpływ receptorów metabotropowych dla kwasu glutaminowego, czynników troficznych (BDNF) oraz procesów neurogenezy na indukcję i ekspresję drgawek jak również na procesy epileptogenezy.

SUMMARY

Epilepsy is a frequent neurological disorder characterized by spontaneous, unpredictable recurrent seizures that affect about 1,5% of worldwide population. Numerous patients do not respond adequately to current antiepileptic drugs. Metabotropic glutamate receptors (mGluRs) have multiple important actions on neuronal excitability. Their function is especially linked with regulation of glutamatergic and GABA-ergic neurotransmission. Bearing in mind that mGluR take part in modulation excitatory and inhibitory systems activity it is no surprising that this family of receptors could be effective target for treatment of epilepsy. This review summarize latest information on the involvement of mGluRs, neurotrophic factors (BDNF), and processes of neurogenesis in the expression of epileptic seizures as well as in the epileptogenesis.

Słowa kluczowe: padaczka, kwas glutaminowy, neurogeneza**Key words:** epilepsy, glutamate, neurogenesis

Padaczka jest jedną z najczęstszych chorób neurologicznych, charakteryzującą się powtarzającymi się napadami drgawek czy napadami nieświadomości. Rozpowszechnienie napadów drgawkowych jest stosunkowo duże. Szacuje się, że na świecie, na różne postacie padaczki choruje około 50 milionów ludzi. Pomimo różnorodnych przyczyn napadów ich manifestacją kliniczną zwykle pozostają

drgawki o dosyć zróżnicowanym charakterze, np. toniczne czy toniczno-kloniczne jak również napady o charakterze niedrgawkowym, np. absence. Obecnie stosowane środki farmakologiczne nie są w stanie zapewnić pełnej kontroli napadów u wszystkich chorych osób, co zmusza do poszukiwania nowych metod leczenia. Innym nierozwiązanym problemem pozostaje brak leków zdolnych do

hamowania procesów epileptogenezy. Zagadnienie to ma bardzo duże znaczenie, ponieważ hamowanie, słabo jeszcze poznanych, mechanizmów epileptogenezy pozwoliłoby na przyczynowe leczenie padaczki. Prowadzone są także intensywne prace w poszukiwaniu leków przeciwpadaczkowych, które oprócz aktywności przeciwdrgawkowej działałyby neuroprotekcynie, ponieważ wiadomo, że w przebiegu padaczki dochodzi również do uszkodzeń tkanek mózgu, czasem bardzo rozległych.

Zgodnie z aktualną wiedzą u podłoża pojawiają się napadów leżą zaburzenia równowagi między aktywnością układów neuroprzebieżnikowych o charakterze pobudzającym oraz układami o działaniu hamującym. W efekcie dochodzi do zaburzeń w funkcji komórek nerwowych, okresowo pojawiają się lokalne synchronizacje aktywności elektrycznej dużych grup neuronów, czasem uogólniające się i manifestujące się drgawkami. Zgodnie z koncepcją o roli zaburzenia równowagi między układami pobudzającymi a hamującymi prowadzi się próby syntezy leków, które mogą tą równowagę przywrócić. Wykorzystuje się związki nasilające czynność układów hamujących, działających głównie na układ GABA-ergiczny, jak np. benzodiazepiny, wibatryna czy tiagabina. Inną drogą jest hamowanie nasilonej aktywności układów o charakterze pobudzającym. Na tym polu ciągle brak jest istotnych sukcesów, nie udało się wprowadzić do użytku klinicznego leków o selektywnym działaniu na układ glutaminergiczny.

W ośrodkowym układzie nerwowym kwas glutaminowy jest podstawowym neuroprzebieżnikiem w synapsach o charakterze pobudzającym. Biorąc pod uwagę ten fakt staje się jasne, że zaburzenia w funkcjonowaniu układu dla kwasu glutaminowego odgrywają istotną rolę w powstawaniu zaburzeń drgawkowych. Przez długi okres czasu uważano, że kwas glutaminowy działa wyłącznie na specyficzne receptory jonotropowe (będące kanałami jonowymi), dopiero stosunkowo niedawno wykazano, że kwas glutaminowy wywiera swoje działanie także poprzez receptory metabotropowe (receptory przekazujące sygnał do komórki za pośrednictwem białek G). Do grupy receptorów jonotropowych zaliczane są dobrze poznane już receptory AMPA, NMDA oraz kainowe. Dopiero w połowie lat 80. stwierdzono, że część receptorów, na które działa kwas glutaminowy ma charakter receptorów metabotropowych. Do chwili obecnej zróżnicowano 8 różnych typów receptorów metabotropowych zaliczonych do trzech dużych grup. Podział został stworzony na podstawie homologii sekwencji oraz

wewnątrzkomórkowych mechanizmów transdukcji sygnałów.

Prace badawcze pokazują, że ekspresja receptorów jonotropowych AMPA ulega zmianom w przebiegu drgawek w modelach zwierzęcych. Podstawowe obserwowane zmiany to zmniejszenie gęstości podjednostek GluR1 i GluR2 składających się na receptor AMPA, regulujących przepuszczalność jonową kanału receptora. W warunkach fizjologicznych receptory AMPA przewodzą jedynie dokomórkowy prąd kationowy Na^+ oraz K^+ . Ubytek podjednostek GluR2 prowadzi do zasadniczych zmian we własnościach tego kanału jonowego. Pojawia się bardzo silny wzrost przewodnictwa dla jonów Ca^{++} (około 30-krotny) (40). Konsekwencją zmian w czynności receptorów AMPA może być przeładowanie komórek jonami wapnia, co z kolei prowadzi do uruchomienia procesów apoptozy, obumierania komórek, a także ułatwia szerzenie się patologicznych wyładowań. W badaniach klinicznych wykazano, że u pacjentów z padaczką ekspresja receptorów AMPA w obrębie hipokampów jest zwiększona (30).

W procesie rozwoju drgawek istotna wydaje się także rola receptorów dla kwasu kainowego (kainowych). Podanie tej neurotoksyny zwierzętom doświadczałym wywołuje drgawki, a obserwowane zmiany w rejonie hipokampa i płata skroniowego przypominają zaburzenia obserwowane u ludzi (20). Dane dotyczące ekspresji receptora kainowego są rozbieżne (obserwowano brak zmian, wzrost jak i spadek ekspresji w przebiegu drgawek) i nie pozwalają na wyciągnięcie ogólnych wniosków (32). Za prodrgawkowe działanie kwasu kainowego odpowiada prawdopodobnie podjednostka GluR6. Zwierzęta zmodyfikowane genetycznie i nie posiadające tej podjednostki (*knock-out*) nie są wrażliwe na prodrgawkowe działanie kwasu kainowego (35). W związku z tym uważa się, że podjednostka ta może stanowić punkt uchwytu dla przyszłych leków przeciwdrgawkowych.

Duże nadzieje wiązano także z substancjami działającymi na receptor typu NMDA. Wykazano, że receptory te u zwierząt eksperymentalnych z drgawkami rozniecanymi elektrycznie są bardzo wrażliwe na bodźce pobudzające, co prowadzi do łatwiejszego szerzenia się patologicznych pobudzeń (szczególnie w obrębie płata skroniowego) (25). U ludzi cierpiących na padaczkę zaobserwowano wzmożoną ekspresję tych receptorów w obrębie hipokampów – nawet o 100% (dane pochodzące z badań tkanki mózgowej po chirurgicznym usunięciu ogniska padaczkowego) (31). W modelach

zwierzęcych podawanie antagonistów tego receptora powoduje hamowanie rozwoju drgawek (32). Wobec powyższych faktów uważano, że substancje hamujące działanie receptorów NMDA mogą stanowić potencjalne leki przeciwdrgawkowe. Jednak liczne działania niepożądane antagonistów receptorów NMDA, jak np. zaburzenia pamięci i innych funkcji poznawczych, czy działania psychostymulujące utrudniają ich stosowanie kliniczne.

RECEPTORY METABOTROPOWE

Receptory metabotropowe dla glutaminianu, jak wspomniano wyżej, dzieli się na trzy zasadnicze grupy. W obrębie tych trzech grup wyróżnia się 8 podtypów. Do grupy I zalicza się receptory typu mGlu1 i mGlu5, do grupy II receptory mGlu2 i 3, natomiast do grupy III receptory mGlu4, 6, 7 i 8. Wspólną cechą tych receptorów jest brak bezpośredniego związku z kanałami jonowymi. Ich funkcja w OUN polega na regulacji uwalniania neuroprzekazników, w tym także kwasu glutaminowego i GABA jak również kontroli pobudliwości neuronalnej (10, 2, 8). Poznanie roli receptorów mGluR w regulacji aktywności układów GABA-ergicznego i glutaminergicznego spowodowało, że substancje wpływające na te receptory bardzo szybko wzbudziły duże zainteresowanie jako środki o potencjalnym działaniu przeciwdrgawkowym. Istotne znaczenie miał też mechanizm działania receptorów mGluR. Brak bezpośredniego wpływu na kanały jonowe wskazywał na niższe prawdopodobieństwo występowania działań niepożądanych. Dodatkowo, niedostateczny postęp w zastosowaniu klinicznym ligandów receptorów jonotropowych spowodował dalsze zainteresowanie badaniami nad ligandami receptorów metabotropowych. Prace eksperymentalne nad zastosowaniem ligandów receptorów metabotropowych prowadzone są wielokierunkowo. Wśród potencjalnych zastosowań klinicznych dla tych związków wymienia się zaburzenia lękowe: lęk uogólniony, napady lęku panicznego, a ponadto depresję, schizofrenię, chorobę Parkinsona i inne choroby neurodegeneracyjne oraz padaczkę. W bieżącym przeglądzie skoncentrowano się na roli ligandów receptorów metabotropowych w hamowaniu napadów drgawkowych.

Receptory metabotropowe grupy I są prawdopodobnie najbardziej szczegółowo poznaną grupą receptorów metabotropowych dla glutaminianu. Do grupy I należą receptory mGluR1 i mGluR5. W licznych eksperymentach wykazano, że podawanie

agonistów tej grupy do struktur mózgu, jak również dokomorowo, powoduje pojawianie się drgawek. Początkowe badania z użyciem mało selektywnych związków nie dały precyzyjnej odpowiedzi na temat specyficzności działania ligandów receptorów grupy I z powodu ich wpływu na inne receptory i układy, np. na receptory AMPA. W nowszych eksperymentach wykazano, że selektywne ligandy – DHPG (agonista mGluR1 i mGluR5) jak również CHPG (agonista mGluR5) działając wybiórczo na receptory grupy I powodują pojawianie się drgawek (45, 14). Mechanizm wywoływania drgawek przez te substancje jest skomplikowany i obejmuje wiele mechanizmów zarówno w obrębie receptorów jak i na poziomie komórkowym. Podsumowując je wymienić należy: aktywację kanałów wapniowych typu L, nasilenie działania pompy $\text{Na}^+/\text{Ca}^{++}$, hamowanie aktywności kanałów K^+ , nasilenie działania NMDA i AMPA (poprzez fosforylację niektórych podjednostek, np. dla NMDA NR2A), przyspieszenie ekspresji nowopowstałych receptorów NMDA na powierzchni błony komórkowej. Dodatkowo, presynaptycznie zlokalizowane receptory grupy I powodują nasilenie uwalniania glutaminianu przy równoczesnym hamowaniu uwalniania GABA (7).

Eksperymenty z podawaniem związków o działaniu antagonistycznym względem receptorów grupy I wykazały ich przeciwdrgawkowe działanie w wielu modelach drgawek. Nie wykazano przy tym różnic między związkami o większej specyficzności wobec mGluR1 lub mGluR5. Antagonisty mGluR1 takie jak AIDA czy LY 367385 działają zarówno w modelach drgawek uogólnionych jak i w modelach napadów typu absence (9). Podobnie, najszerszej badany antagonist receptorów mGlu5 – MPEP hamuje drgawki wywołane podawaniem agonistów grupy I, CHPG i DHPG. Skuteczne działanie przeciwdrgawkowe wymagało jednak podawania wysokich dawek. Działanie MPEP w dawkach niższych jest ograniczone praktycznie do receptorów mGluR5. W wyższych dawkach lek działa także na receptory NMDA, moduluje transmisję GABA-ergiczną, działa na receptory mGluR4 oraz noradrenergiczne. Wykazano, że wiele nowo syntetyzowanych związków, takich jak BAY367620 i LY393053, 339764 poprzez nieselektywny antagonistyczny wpływ na receptory mGluR1 i 5 wywiera istotne działanie przeciwdrgawkowe. Podsumowując, uważa się obecnie, że działanie przeciwdrgawkowe wywierają związki blokujące niespecyficznie receptory grupy I, mGluR1 czy mGluR5. Chociaż oba receptory odpowiedzialne są za nieco inny element aktywacji neuronalnej (mGlu5 – indukowanie wzbudzenia;

mGlu1 – podtrzymanie pobudzenia) efekt behawioralny pozostaje podobny (33).

Grupa II receptorów mGlu pełni odmienną funkcję i ma różną lokalizację w porównaniu z grupą I. Receptory z tej grupy (mGluR2 i 3) są zlokalizowane głównie presynaptycznie, w odróżnieniu od grupy I (głównie postsynaptycznie). Mechanizm działania agonistów grupy II związany jest z silnym hamowaniem uwalniania kwasu glutaminowego jak również innych aminokwasów pobudzających (jest to działanie głównie o charakterze presynaptycznym). W badaniach eksperymentalnych wykazano, że agonisty grupy II, 4C3HPG, CCG-1, DCG-IV, APDC wywierają działanie przeciwdrgawkowe w modelach drgawek o stosunkowo słabej aktywności. Jednak nowe związki o działaniu agonistycznym jak LY354740, działają przeciwdrgawkowo także w drgawkach wywołanych podawaniem pentylenetetrazolu i pikrotoksyny (24). Związki o działaniu antagonistycznym wobec receptorów grupy II powodują pojawienie się drgawek u zwierząt z genetyczną skłonnością do napadów epilepsji, np. myszy typu DB2. Jednak część antagonistów nie wykazuje działania prodrgawkowego mimo stosowania ich nawet w dużych dawkach.

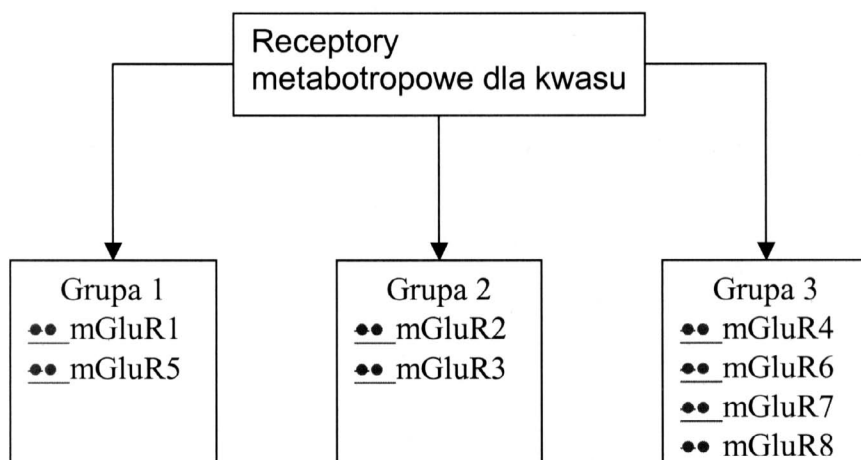
Do grupy III receptorów metabotropowych zaliczamy zlokalizowane presynaptycznie receptory mGluR4, 6, 7 i 8. Ich rola fizjologiczna dotyczy regulowania funkcji (aktywności) szlaków dla kwasu glutaminowego i GABA. Kontrolują uwalnianie wymienionych neuroprzekaźników z neuronów (48, 47, 10, 43). W związku z ewidentnym działaniem wpływającym na aktywność układu glutaminergicznego badano ligandy grupy III w modelach drgawek. Wykazano, że ligandy o działaniu agonistycznym mogą wywierać nie tylko działanie przeciwdrgawkowe, ale także prodrgawkowe. Wyjaśnieniem tych zaskakujących wyników była draw-

dopodobnie niska selektywność ligandów. Agonisty grupy III wykazywali także działanie agonistyczne wobec receptorów jonotropowych NMDA, przez co zwiększały prawdopodobieństwo wystąpienia drgawek. Obecnie do ligandów o działaniu agonistycznym zalicza się: (R,S)-PPG; (S)-3,4-DCPG – agonista mGlu8 [(R)-3,4-DCPG – antagonistą AMPA], ACPT-1 – agonista mGlu4 α . Wykazano, że podawanie dokomorowe zarówno PPG jak i ACPT-1 wywiera efekt przeciwdrgawkowy, a ich działanie jest blokowane przez antagonistów. Stwierdzono także przeciwdrgawkowy efekt agonistów grupy III po ich podaniach do hipokampów.

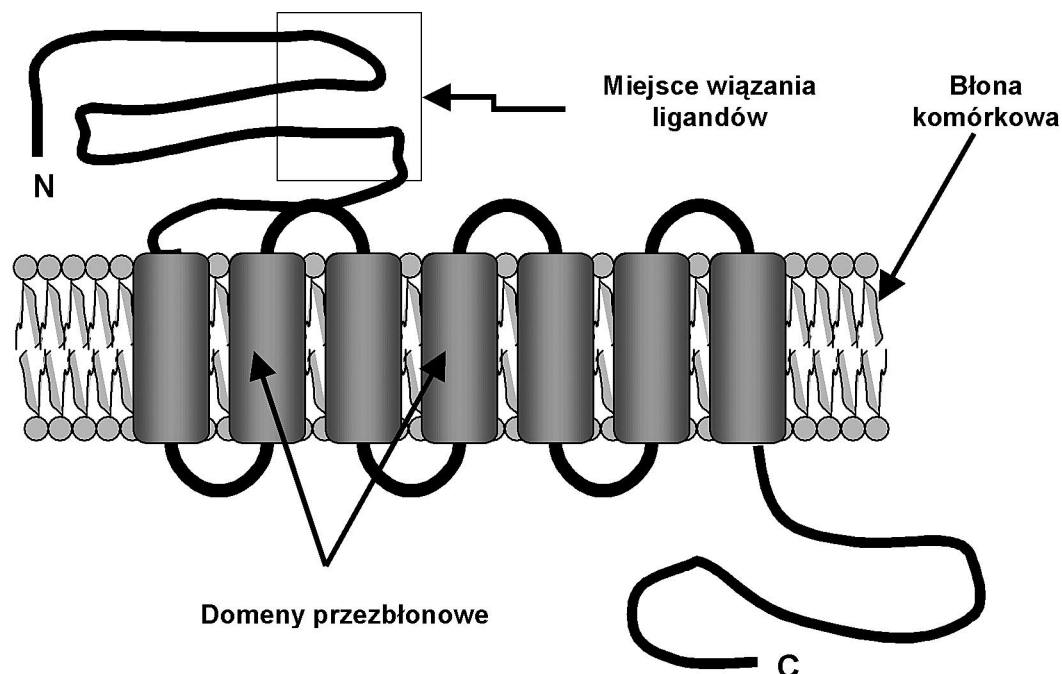
Jak wspomniano wcześniej, w leczeniu zaburzeń drgawkowych, związki działające na układ GABA-ergiczny stanowią bardzo istotny element terapii. Stosuje się je nie tylko jako leki doraźnie przerywające napad drgawek (barbiturany, benzodiazepiny), ale także w przewlekłym leczeniu, zwykle w terapii dodanej (tiagabina, wigabatryna). Wiele leków o mieszanym mechanizmie działania wpływa również na układ GABA-ergiczny (kwas walproinowy). W przypadku leczenia padaczki lekoopornej często korzysta się z łączenia leków o różnych mechanizmach w celu potencjalizacji efektu terapeutycznego (11). Ligandy receptorów metabotropowych dla glutaminianu, szczególnie grupy II i III regulują nie tylko aktywność układu glutaminergicznego, ale także GABA – ergicznego i w ten sposób mogą działać przeciwdrgawkowo jeszcze skuteczniej.

ROLA STRUKTUR MÓZGU W PROCESIE EPILEPTOGENEZY

Określenie znaczenia poszczególnych struktur mózgu w procesie epileptogenezy jest szczególnie ważne z punktu widzenia poszukiwania nowych



Rysunek 1. Podział receptorów metabotropowych dla kwasu glutaminowego



Rysunek 2. Uproszczony schemat budowy receptora metabotropowego dla kwasu glutaminowego

sposobów leczenia padaczki. Do chwili obecnej nie scharakteryzowano w dostateczny sposób roli poszczególnych struktur mózgu w procesach epileptogenezy. Badania doświadczalne wskazują na istotny udział hipokampów, ciał migdałowych, kory zakrętu gruszkowatego oraz wielu innych (34). Jednak odpowiedź na pytanie, które struktury mózgu pełnią rolę „generatora” drgawek tylko pozornie wydaje się oczywista. Niektóre struktury mogą wykazywać niski próg pobudliwości, ale z racji ubogich połączeń z innymi istotnymi częściami mózgu nie stanowią miejsc potencjalnie „niebezpiecznych”. Z drugiej strony struktury o rozbudowanej siatce połączeń mogą stanowić zagrożenie, chociaż nie są nadmiernie pobudliwe (34). W badaniach eksperymentalnych w modelu rozniecania elektrycznego drgawek stwierdzono, że duże znaczenie dla aktywności poszczególnych struktur mózgu ma miejsce wybrane do stymulacji. Wykazano, że w przypadku stymulacji hipokampów dochodzi początkowo do wzmożonej aktywności wyłącznie hipokampów (mierzonej ekspresją białka c-fos) (44). Dopiero w późniejszym okresie (po osiągnięciu 3 stopnia drgawek – w 5 stopniowej skali Racina) pojawia się pobudzenie ciał migdałowych oraz kory gruszkowatej. Inny wzorzec aktywacji strukturalnej był związany ze stymulacją ciał migdałowych. W tym przypadku aktywacja obejmowała ciała migdałowe, korę okołową oraz korę gruszkowatą. Aktywacja hipokampów ujawniała się dopiero po wystąpieniu uogólnionych drgawek toniczno-klinicznych (44). Strukturą,

której stymulacja najszybciej prowadzi do drgawek jest droga przeszywająca. Stymulowanie jej doprowadza do jednoczesnego wzrostu aktywności niemal wszystkich części hipokampa (15). Kolejną strukturą mózgu często badaną pod kątem zaangażowania w procesy rozniecania drgawek jest kora gruszkowata. Przewlekła stymulacja tej struktury prowadzi do względnie szybkiego pojawienia się drgawek jako wynik bogatej sieci połączeń neuronalnych między korą gruszkowatą a korą motoryczną. W przypadku hipokampów szybsze pojawienie się drgawek po stymulacji jego części brzusznej jest prawdopodobnie spowodowane bardziej licznymi połączeniami z korą gruszkowatą niż w przypadku jego części grzbietowej (23, 41, 19). W związku z uznanym zaangażowaniem hipokampów w procesy związane z padaczką interesujące wydaje się poszukiwanie leków o wysokim powinowactwie do określonych struktur mózgu. Ligandy receptorów metabotropowych po części mają właśnie takie właściwości, a jest to związane z odmienną dystrybucją podtypów receptorów metabotropowych. Przykładem mogą być receptory grupy I, które są rozmieszczone w całym mózgu, ale w szczególnie wysokiej koncentracji znajdują się w rejonie CA3 hipokampa (17).

Procesy prowadzące do powstania drgawek, czyli procesy epileptogenezy, wykazują się znacznym stopniem komplikacji. Wydaje się, że ważną rolę w procesach epileptogenezy pełnią czynniki troficzne uwalniane w wielu strukturach mózgu, w odpowiedzi na bodźce uszkodzające. Szczegół-

ne znaczenie przypisuje się neurotrofinom takim jak NGF czy BDNF. Najbardziej szczegółowe badania prowadzono nad udziałem BDNF. Wykazano, że w odpowiedzi na czynniki uszkodzające takie, jak uraz mózgu, niedokrwienie czy napady drgawek dochodzi do zwiększonej ekspresji mRNA dla BDNF oraz zwiększenia ilości BDNF. W badaniach eksperymentalnych wykazano także, że stymulacja receptorów metabotropowych dla kwasu glutaminowego (podobnie jak i AMPA) prowadzi do nasilonego uwalniania BDNF (21). BDNF jest neurotrofiną należącą do rodziny obejmującą NGF, NT-3, NT-4/5 oraz NT-6. Wiąże się z receptorami dla neurotrofin – trkA, B i C jak również do receptora p75 (należącego do rodziny receptorów TNF i stanowiący jeden z silniejszych bodźców indukujących apoptozę). Fizjologicznym wynikiem aktywacji receptorów trk jest uruchomienie wewnątrzkomórkowej kaskady Ras-MAPK oraz aktywacja czynnika CREB (cAMP-response-element-binding proteins) regulującego aktywność transkrypcji specyficznych genów (np. dla niektórych receptorów) (5). Rola BDNF w dojrzałym mózgu nie jest do końca poznana. Podejrzuje się, że BDNF pełni funkcje neuroprotektoryjne w mózgu jak również modyfikuje strukturę komórkową. Stwierdzono także, że podawanie BDNF powoduje nasilenie transmisji synaptycznej *in vivo* oraz *in vitro*. Wykazano także, że nasileniu ulega przekaźnictwo pobudzające przy równoczesnym zmniejszeniu aktywności przekaźnictwa hamującego. Wymienione działania wynikają z wielokierunkowego wpływu BDNFu. BDNF może wzmacniać uwalnianie neuroprzekaźników, bierze udział w fosforylacji podjednostek receptorów NMDA, wpływa także na funkcjonowanie innych kanałów jonowych (5, 51, 50, 28, 22). Wykazano również działania pośrednie na receptory GABA-ergiczne – zmieniające ich aktywność i strukturę (29). Ekspozycja skrawków hipokampa na egzogenny BDNF powoduje intensywną aktywację komórek obszaru CA3 poprzez nasilenie aktywności komórek ziarnistych zakrętu zębatego (46). Równocześnie w badaniach na zwierzętach stwierdzono, że podawanie dokomorowe przeciwciał anti-NGF powoduje zwolnienie procesu rozniecania drgawek (18). Genetycznie modyfikowane myszy z obniżoną ekspresją BDNF są mniej wrażliwe na proces rozniecania drgawek. Podobnie, podawanie przeciwciał selektywnie blokujących trk zablokowało procesy rozniecania drgawek u zwierząt doświadczalnych (6). Najsilniejszy efekt związany był z działaniem trkB-Fc w hipokampach. Dane eksperymentalne nie są jednak jednoznaczne, bowiem

przewlekłe dohipokampalne podawanie BDNF zwalniało proces rozniecania oraz powodowało skrócenie czasu trwania wyładowań w zapisie EEG (27). Rola BDNF oraz innych czynników troficznych w zaburzeniach drgawkowych jest intensywnie badana. Stwierdzono bogatą ekspresję BDNF w hipokampach, w szczególności w komórkach ziarnistych zakrętu zębatego, ale także w rejonie CA3 (5). W modelach drgawek rozniecanych stwierdzono zwiększoną ekspresję BDNF i NGF w hipokampach w warstwie CA1 oraz CA3. Podwyższony poziom BDNF w przebiegu drgawek w hipokampach pojawiał się po około 4 godzinach od epizodu drgawkowego i utrzymywał się przez około 4 dni. Podejrzuje się, że w hipokampie czynniki troficzne są magazynowane w strukturach przypominających pęcherzyki synaptyczne, skąd są uwalniane w przebiegu depolaryzacji. Zjawisko to jest prawdopodobnie fizjologiczną podstawą adaptacji neuronów i wstępem do uruchomienia procesów plastyczności w hipokampach związanych z powstawaniem śladu pamięciowego.

DRGAWKI A NEUROPLASTYCZNOŚĆ

Przez długi okres czasu uważano, że natura dojrzałego mózgu jest statyczna, tzn. nie zachodzą procesy tworzenia nowych komórek. Obserwowano głównie utratę neuronów związanych ze starzeniem jak również z licznymi procesami chorobowymi dotykającymi OUN. W ostatnich latach w związku z rozwojem nowych technik badawczych pogląd o statycznej naturze mózgu uległ znaczącej zmianie. Stwierdzono w licznych badaniach, że w dojrzałym mózgu stale toczą się procesy tworzenia nowych komórek z prekursorów. Szczególnie aktywne procesy neurogenezy zachodzą w hipokampie jak również w warstwie podwyściółkowej komórki bocznej, jednak stwierdza się je również w korze mózgu czy rdzeniu przedłużonym (16). Na podkreślenie zasługuje fakt, że pierwsze dane świadczące o aktywnych procesach neurogenezy pochodzą już z roku 1965 (1). Obserwacja zjawisk neurogenezy przyniosła rozwój nowych koncepcji leczenia chorób, w przebiegu których obserwuje się zjawiska neurodegeneracji. Stymulacja procesów neurogenezy w uszkodzonych strukturach mózgu mogłaby przynieść poprawę stanu klinicznego a być może nawet wyleczenie. Niestety wiedza na temat procesów neurogenezy pozostaje dość ograniczona. Nie jest jasne czy neurogeneza podlega identycznej regulacji w mózgu zdrowym i uszko-

dzonym, czy nowo powstające komórki powielają schemat rozwoju neuronów jak w rozwijającym się mózgu. Nie są w pełni poznane mechanizmy regulujące poszczególne etapy neurogenezy, migracja nowo powstałych komórek, regulacja różnicowania w neurony, prawidłowa integracja z istniejącą siecią neuronalną oraz prawidłowe działanie w obrębie istniejącej sieci komórkowej. Komórki progenitorowe w mózgu mają kilka charakterystycznych cech: zdolność do nieograniczonej liczby podziałów, podlegają stałym podziałom, posiadają zdolność różnicowania nie tylko w neurony, ale także w komórki głejowe (astroglej, glej, oligodendroglej). Badania dokumentujące procesy neurogenezy są trudne z metodologicznego punktu widzenia. Jedną z metod jest podawanie pochodnej tymidyny – bromodeoksyurydyny (BrdU) wiążącej się z komórkami dzielącymi (wiążanie w fazie S). Problem związany ze stosowaniem BrdU wynika z faktu, że nie tylko dzielące się komórki wiążą BrdU. Wykazano, że komórki, w których aktywne są mechanizmy naprawiające DNA mogą także wiązać BrdU (36). Podobnie, komórki umierające (apoptoza) przechodzą przez fazę, w której mogą wiązać BrdU (26). Z praktycznego punktu widzenia ważne jest, że w badaniu wiązania BrdU krótko po zadziałaniu bodźca (np. uszkodzającego) uwidaczniane są jedynie komórki progenitorowe albo młode. Przedłużenie czasu obserwacji powoduje, że obserwuje się komórki już zróżnicowane i równocześnie można ocenić wpływ bodźca na przeżycie nowych wykształconych komórek. W celu potwierdzenia, jakie komórki uległy wyznakowaniu należy posługiwać się równocześnie znacznikami swoistymi dla danego rodzaju komórek (np. NeuN – neurony, GFAP – glej) a także różnicującymi komórki pod względem wieku (młode, dojrzałe).

Silnym bodźcem pobudzającym neurogenezę jest uszkodzenie komórek ziarnistych hipokampa często obserwowane w przebiegu drgawek. Przypuszcza się, że nieuszkodzone komórki ziarniste hamują neurogenezę, a w momencie ich uszkodzenia dochodzi do uwalniania czynników działających pobudzająco na podziały komórkowe. Jest także możliwe, że sama wzmożona aktywność neuronalna (drgawki, niedotlenienie) jest wystarczającym bodźcem do nasilenia neurogenezy (13, 12, 16). Podsumowując: drgawki mogą prowadzić nie tylko do nasilenia procesów degeneracyjnych przebiegających z uszkodzeniem neuronów, ale także indukują procesy neurogenezy.

Dyskutując procesy neurogenezy powstaje pytanie czy zjawiska z nimi związane są zawsze po-

zytywnym zjawiskiem w chorobach neurodegeneracyjnych. Wykazano, że część nowopowstałych komórek w odpowiedzi na drgawki nie ulega włączeniu w prawidłowo funkcjonującą sieć neuronalną. Często lokalizują się one zamiast w warstwie ziarnistej, ektopowo z tworzeniem patologicznych połączeń funkcjonalnych, np. z CA3 (4, 38). Wydaje się, że populacja ektopowo położonych neuronów ma istotne znaczenie w powstawaniu zjawiska rozniecania drgawek poprzez formowanie nieprawidłowych połączeń z komórkami piramidowymi warstwy CA3 (37, 42). W wyniku tego procesu dochodzi do zaburzeń funkcjonowania hipokampa (zaburzeń w hamowaniu pobudzeń, większej skłonności do powstawania nadmiernej aktywności). Wyżej wymienione zmiany mają charakter raczej promujący drgawki, co oczywiście jest niekorzystnym zjawiskiem.

Wyniki badań wskazują ponadto, że działanie czynników troficznych jako związków neuroprotekcyjnych oraz procesów regulujących neurogenezy ma istotne znaczenie w procesach epileptogenezy oraz w zaburzeniach drgawkowych. Ligandy receptorów metabotropowych oprócz potencjału przeciwdrgawkowego wywierają działanie neuroprotekcyjne i wpływają na neurogenezę (3). Pobudzenie procesów neurogenezy przez substancje działające na receptory metabotropowe dla kwasu glutaminowego może wiązać się jednak z ryzykiem stymulacji procesów epileptogenezy. Warto jednak zauważyć, że aktywność procesów neurogenezy jest związana również z właściwym funkcjonowaniem pamięci. Zahamowanie neurogenezy u zwierząt doświadczalnych prowadzi do zaburzeń pamięci (49). W przypadku padaczki zaburzenia pamięci są doświadczeniem często spotykanym powikłaniem, stąd leki przeciwdrgawkowe stymulujące neurogenezę i mogące równocześnie poprawiać uczenie i pamięć wpłynęłyby na jakość życia pacjentów z padaczką.

Postęp w leczeniu padaczki, jaki dokonał się w ostatnich latach jest niezwykle istotny. Wprowadzono do użytku klinicznego wiele nowych leków, które poprawiły wyniki leczenia zaburzeń drgawkowych. Mimo to ostateczny efekt terapii padaczki nie jest w pełni zadowalający. Zmniejszenie częstości napadów czy ich całkowite wyeliminowanie nie jest możliwe u części pacjentów. Dodatkowo, wysoka skuteczność leczenia przeciwdrgawkowego jest okupiona dużą liczbą działań niepożądanych istotnie zaburzących życie chorych, jak: senność, zmęczenie, pogorszenie funkcji poznawczych, zaburzenia psychiczne. Kolejnym ważnym problemem jest brak dostępnych leków o udowodnio-

nym wpływie na procesy epileptogenezy. Dlatego tak ważne jest ciągle poszukiwanie nowych leków, które będą łączyć działanie przeciwdrgawkowe z hamowaniem procesów epileptogenezy oraz działaniem neuroprotekcijnym.

PODSUMOWANIE

Związki należące do ligandów receptorów metabotropowych wykazują aktywność przeciwdrgawkową w zwierzęcych modelach drgawek. W niektórych modelach genetycznie uwarunkowanych drgawek niektóre ligandy mGluR charakteryzują się skutecznością porównywalną z lekami przeciwdrgawkowymi o uznanej już skuteczności. Wiarygodna ocena potencjału przeciwdrgawkowego jest jednak trudna, ponieważ modele zwierzęce nie stanowią precyzyjnego odzwierciedlenia zjawisk obserwowanych w praktyce klinicznej. Ponadto, rola ligandów receptorów metabotropowych nie jest jeszcze do końca zbadana, brakuje pełnej analizy farmakologicznej ligandów receptorów metabotropowych (oceny ich metabolizmu, interakcji, działań niepożądanych itd). Wiele faktów wskazuje jednak, że ligandy mGluR mogą stanowić bardzo wartościowe narzędzie wykorzystywane w leczeniu drgawek. Pojawiły się także pewne dane dotyczące potencjału neuroprotekcijnego tych ligandów. Pozostaje jednak pytanie czy leki z tej grupy hamują procesy samej epileptogenezy. Jest to szczególnie ważne, ponieważ jak wspomniano wyżej ciągle poszukuje się leków, które nie tylko zwalczają sam napad drgawek, ale także wpływają na procesy epileptogenezy. Wyjaśnienia wymaga także sam proces neurogenezy tak, aby w sposób celowany można było „reperować” miejsca uszkodzone a nie przyczyniać się do rozwoju patologicznych połączeń, indukujących i przenoszących falę depolaryzacyjną między strukturami mózgu. Nie ulega wątpliwości, że dalszy postęp w tym zakresie wymaga ogromnego nakładu pracy, ale istnieją przesłanki wskazujące, że badania mogą być bardzo owocne.

PIŚMIENNICTWO

- Altman J, Das GD. Autoradiographic and histological evidence of postnatal hippocampal neurogenesis in rats. *J Comp Neurol* 1965; 124(3): 319-335.
- Anwyl R. Metabotropic glutamate receptors: electrophysiological properties and role in plasticity. *Brain Res Brain Res Rev* 1999; 29(1): 83-120.
- Baskys A, Bayazitov I, Fang L, Blaabjerg M, Poulsen FR, Zimmer J. Group I metabotropic glutamate receptors reduce excitotoxic injury and may facilitate neurogenesis. *Neuropharmacology* 2005; 49: 146-156.
- Bengzon J, Kokaia Z, Elmer E, Nanobashvili A, Kokaia M, Lindvall O. Apoptosis and proliferation of dentate gyrus neurons after single and intermittent limbic seizures. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1997; 94(19): 10432-10437.
- Binder DK, Croll SD, Gall CM, Scharfman HE. BDNF and epilepsy: too much of a good thing? *Trends Neurosci* 2001; 24(1): 47-53.
- Binder DK, Routbort MJ, Ryan TE, Yancopoulos GD, McNamara JO. Selective inhibition of kindling development by intraventricular administration of TrkB receptor body. *J Neurosci* 1999; 19(4): 1424-1436.
- Bordi F, Ugolini A. Group I metabotropic glutamate receptors: implications for brain diseases. *Prog Neurobiol* 1999; 59(1): 55-79.
- Cartmell J, Schoepp DD. Regulation of neurotransmitter release by metabotropic glutamate receptors. *J Neurochem* 2000; 75(3): 889-907.
- Chapman AG, Yip PK, Yap JS, Quinn LP, Tang E, Harris JR, Meldrum BS. Anticonvulsant actions of LY 367385 ((+)-2-methyl-4-carboxyphenylglycine) and AIDA ((RS)-1-aminoinidan-1,5-dicarboxylic acid). *Eur J Pharmacol* 1999; 368(1): 17-24.
- Conn PJ, Pin JP. Pharmacology and functions of metabotropic glutamate receptors. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 1997; 37: 205-237.
- Czuczwar SJ, Borowicz KK. Polytherapy in epilepsy: the experimental evidence. *Epilepsy Res* 2002; 52(1): 15-23.
- Deisseroth K, Singla S, Toda H, Monje M, Palmer TD, Malenka RC. Excitation-neurogenesis coupling in adult neural stem/progenitor cells. *Neuron* 2004; 42(4): 535-552.
- Derrick BE, York AD, Martinez JL Jr. Increased granule cell neurogenesis in the adult dentate gyrus following mossy fiber stimulation sufficient to induce long-term potentiation. *Brain Res* 2000; 857(1-2): 300-307.
- Doherty AJ, Palmer MJ, Henley JM, Collingridge GL, Jane DE. (RS)-2-chloro-5-hydroxyphenylglycine (CHPG) activates mGlu5, but not mGlu1, receptors expressed in CHO cells and potentiates NMDA responses in the hippocampus. *Neuropharmacology* 1997; 36(2): 265-267.
- Dragunow M, Robertson HA. Kindling stimulation induces c-fos protein(s) in granule cells of the rat dentate gyrus. *Nature* 1987; 329(6138): 441-442.
- Emsley JG, Mitchell BD, Kempermann G, Macklis JD. Adult neurogenesis and repair of the adult CNS with neural progenitors, precursors, and stem cells. *Prog Neurobiol* 2005; 75(5): 321-341.
- Fotuhi M, Standaert DG, Testa CM. Differential expression of metabotropic glutamate receptors in the hippocampus and entorhinal cortex of the rat. *Mol Brain Res* 1994; 21: 283-292.
- Funabashi T, Sasaki H, Kimura F. Intraventricular injection of antiserum to nerve growth factor delays the development of amygdaloid kindling. *Brain Res* 1988; 458(1): 132-136.
- Gilbert M, Racine RJ, Smith GK. Epileptiform burst responses in ventral vs. dorsal hippocampal slices. *Brain Res* 1985; 361(1-2): 389-391.
- Hikiji M, Tomita H, Ono M, Fujiwara Y, Akiyama K. Increase of kainate receptor mRNA in the hippocampal CA3 of amygdala-kindled rats detected by in situ hybridization. *Life Sci* 1993; 53(10): 857-864.
- Hisatsune C, Kuroda Y, Akagi T, Torashima T, Hirai H, Hashikawa T, Inoue T, Mikoshiba K. Inositol 1,4,5-trisphosphate receptor type 1 in granule cells, not in Purkinje cells, regulates the dendritic morphology of Purkinje cells through brain-derived neurotrophic factor production. *J Neurosci* 2006; 26(42):10916-24.

22. Kafitz KW, Rose CR, Thoenen H, Konnerth A. Neurotrophin-evoked rapid excitation through TrkB receptors. *Nature* 1999; 401(6756): 918-921.
23. Kelly ME, Battye RA, McIntyre DC. Cortical spreading depression reversibly disrupts convulsive motor seizure expression in amygdala-kindled rats. *Neuroscience* 1999; 91(1): 305-313.
24. Kłodzinska A, Bijak M, Chojnacka-Wójcik E, Krocza B, Świąder M, Czuczwar SJ, Pilc A. Roles of group II metabotropic glutamate receptors in modulation of seizure activity. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* 2000; 361(3): 283-288.
25. Kohr G, De Koninck Y, Mody I. Properties of NMDA receptor channels in neurons acutely isolated from epileptic (kindled) rats. *J Neurosci* 1993; 13(8): 3612-3627.
26. Kuan CY, Schloemer AJ, Lu A, Burns KA, Weng WL, Williams MT, Strauss KI, Vorhees CV, Flavell RA, Davis RJ, Sharp FR, Rakic P. Hypoxia-ischemia induces DNA synthesis without cell proliferation in dying neurons in adult rodent brain. *J Neurosci* 2004; 24(47): 10763-10772.
27. Larmet Y, Reibel S, Carnahan J, Nawa H, Marescaux C, Depaulis A. Protective effects of brain-derived neurotrophic factor on the development of hippocampal kindling in the rat. *Neuroreport* 1995; 6(14): 1937-1941.
28. Levine ES, Dreyfus CF, Black IB, Plummer MR. Brain-derived neurotrophic factor rapidly enhances synaptic transmission in hippocampal neurons via postsynaptic tyrosine kinase receptors. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1995; 92(17): 8074-8077.
29. Marty S, Berzaghi M, Berninger B. Neurotrophins and activity-dependent plasticity of cortical interneurons. *Trends Neurosci* 1997; 20(5): 198-202.
30. Mathern GW, Pretorius JK, Kornblum HI, Mendoza D, Lozada A, Leite JP, Chimelli LM, Fried I, Sakamoto AC, Assirati JA, Levesque MF, Adelson PD, Peacock WJ. Human hippocampal AMPA and NMDA mRNA levels in temporal lobe epilepsy patients. *Brain* 1997; 120(11): 1937-1959.
31. McDonald JW, Garofalo EA, Hood T, Sackellares JC, Gilman S, McKeever PE, Troncoso JC, Johnston MV. Altered excitatory and inhibitory amino acid receptor binding in hippocampus of patients with temporal lobe epilepsy. *Ann Neurol* 1991; 29(5): 529-541.
32. Meldrum BS, Akbar MT, Chapman AG. Glutamate receptors and transporters in genetic and acquired models of epilepsy. *Epilepsy Res* 1999; 36(2-3): 189-204.
33. Moldrich RX, Chapman AG, De Sarro G, Meldrum BS. Glutamate metabotropic receptors as targets for drug therapy in epilepsy. *Eur J Pharmacol* 2003; 476(1-2): 3-16.
34. Morimoto K, Fahnstock M, Racine RJ. Kindling and status epilepticus models of epilepsy: rewiring the brain. *Prog Neurobiol* 2004; 73(1): 1-60.
35. Mulle C, Sailer A, Perez-Otano I, Dickinson-Anson H, Castillo PE, Bureau I, Maron C, Gage FH, Mann JR, Bettler B, Heinemann SF. Altered synaptic physiology and reduced susceptibility to kainate-induced seizures in GluR6-deficient mice. *Nature* 1998; 392(6676): 601-605.
36. Palmer TD, Willhoite AR, Gage FH. Vascular niche for adult hippocampal neurogenesis. *J Comp Neurol* 2000; 425(4): 479-494.
37. Parent JM, Tada E, Fike JR, Lowenstein DH. Inhibition of dentate granule cell neurogenesis with brain irradiation does not prevent seizure-induced mossy fiber synaptic reorganization in the rat. *J Neurosci* 1999; 19(11): 4508-4519.
38. Parent JM, Yu TW, Leibowitz RT, Geschwind DH, Sloviter RS, Lowenstein DH. Dentate granule cell neurogenesis is increased by seizures and contributes to aberrant network reorganization in the adult rat hippocampus. *J Neurosci* 1997; 17(10): 3727-3738.
39. Parent JM. The role of seizure-induced neurogenesis in epileptogenesis and brain repair. *Epilepsy Res* 2002; 50(1-2): 179-189.
40. Prince HC, Tzingounis AV, Levey AI, Conn PJ. Functional down-regulation of GluR2 in piriform cortex of kindled animals. *Synapse* 2000; 38(4): 489-498.
41. Racine R, Rose PA, Burnham WM. Afterdischarge thresholds and kindling rates in dorsal and ventral hippocampus and dentate gyrus. *Can J Neurol Sci* 1977; 4(4): 273-278.
42. Represa A, Niquet J, Pollard H, Ben-Ari Y. Cell death, gliosis, and synaptic remodeling in the hippocampus of epileptic rats. *J Neurobiol* 1995; 26(3): 413-425.
43. Salt TE, Eaton SA. Distinct presynaptic metabotropic receptors for L-AP4 and CCG1 on GABAergic terminals: pharmacological evidence using novel alpha-methyl derivative mGluR antagonists, MAP4 and MCCG, in the rat thalamus in vivo. *Neuroscience* 1995; 65(1): 5-13.
44. Sato T, Yamada N, Morimoto K, Uemura S, Kuroda S. A behavioral and immunohistochemical study on the development of perirhinal cortical kindling: a comparison with other types of limbic kindling. *Brain Res* 1998; 811(1-2): 122-132.
45. Schoepp DD, Jane DE, Monn JA. Pharmacological agents acting at subtypes of metabotropic glutamate receptors. *Neuropharmacology* 1999; 38(10): 1431-1476.
46. Scharfman HE. Hyperexcitability in combined entorhinal/hippocampal slices of adult rat after exposure to brain-derived neurotrophic factor. *J Neurophysiol* 1997; 78(2): 1082-1095.
47. Shigemoto R, Kinoshita A, Wada E, Nomura S, Ohishi H, Takada M, Flor PJ, Neki A, Abe T, Nakanishi S, Mizuno N. Differential presynaptic localization of metabotropic glutamate receptor subtypes in the rat hippocampus. *J Neurosci* 1997; 17(19): 7503-7522.
48. Shigemoto R, Kulik A, Roberts JD, Ohishi H, Nusser Z, Kaneko T, Somogyi P. Target-cell-specific concentration of a metabotropic glutamate receptor in the presynaptic active zone. *Nature* 1996; 381(6582): 523-525.
49. Shors TJ, Miesegaes G, Beylin A, Zhao M, Rydel T, Gould E. Neurogenesis in the adult is involved in the formation of trace memories. *Nature* 2001; 410 (6826): 372-376.
50. Suen PC, Wu K, Levine ES, Mount HT, Xu JL, Lin SY, Black IB. Brain-derived neurotrophic factor rapidly enhances phosphorylation of the postsynaptic N-methyl-D-aspartate receptor subunit 1. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1997; 94(15): 8191-8195.
51. Takei N, Sasaoka K, Inoue K, Takahashi M, Endo Y, Hatanaka H. Brain-derived neurotrophic factor increases the stimulation-evoked release of glutamate and the levels of exocytosis-associated proteins in cultured cortical neurons from embryonic rats. *J Neurochem* 1997; 68(1): 370-375.

Adres korespondencyjny:

Janusz Szyndler

Zakład Neurochemii

Instytut Psychiatrii i Neurologii

ul. Sobieskiego 9, 02-957 Warszawa,

tel: 022 45 82 775, e-mail: jszyndler@yahoo.com
