

Zaburzenia czynności kanałów jonowych w patogenezie padaczek idiopatycznych

Ion channel dysfunction in pathogenesis of idiopathic epilepsies

Agata Różycka¹, Jolanta Dorszewska², Paweł P. Jagodziński¹

¹Katedra i Zakład Biochemii i Biologii Molekularnej, Uniwersytet Medyczny w Poznaniu

²Pracownia Neurobiologii, Katedra Neurologii, Uniwersytet Medyczny w Poznaniu

Neurologia i Neurochirurgia Polska 2011; 45, 1: 42–56

Streszczenie

Pomimo postępów diagnostyki nadal u ok. 60–65% chorych nie można jednoznacznie ustalić przyczyny padaczki. W tej grupie chorych główną rolę odgrywają przypuszczalnie czynniki genetyczne. Uważa się, że u ok. 40% pacjentów predyspozycja genetyczna odpowiada za występowanie padaczek, określanych mianem „idiopatycznych”. Podłoże genetyczne padaczki potwierdzają liczne przykłady rodzinnie występujących zespołów padaczkowych. Należą do nich dziedziczona autosomalnie dominująco padaczka czołowa z napadami nocnymi oraz młodzieńcza padaczka miokloniczna. Obydwie formy padaczek uwarunkowane są mutacjami genów dla podjednostek neuronalnego receptora nikotynowego dla acetylocholiny. Postęp genetyki stworzył szansę dokładniejszego zrozumienia epileptogenezy na poziomie molekularnym, co ułatwia rozpoznanie oraz stwarza bardziej racjonalne podstawy leczenia i zapobiegania tej postaci padaczki.

Słowa kluczowe: padaczka idiopatyczna, kanał jonowy, neuronalny receptor nikotynowy dla acetylocholiny, mutacje.

Abstract

Despite advances in diagnostics, the cause of epilepsy has still not been unequivocally determined in 60–65% of patients. In this group of patients, genetic factors probably play the main role. It is thought that genetic predisposition is responsible for the occurrence of so-called “idiopathic” forms of epilepsy in about 40% of patients. The genetic basis of epilepsy has been substantiated by numerous examples of familial forms of epileptic syndromes. Among these, autosomal dominant nocturnal frontal lobe epilepsy and juvenile myoclonic epilepsy can be mentioned. Mutations in the neuronal nicotinic acetylcholine receptor subunit genes are responsible for both these epilepsies. Recent advances in molecular genetics have provided the means for better understanding of human epileptogenesis at a molecular level, which facilitates clinical diagnosis and provides a more rational basis for therapy and prevention of this form of epilepsy.

Key words: idiopathic epilepsy, ion channel, neuronal nicotinic acetylcholine receptor, mutations.

Wstęp

Padaczka jest jedną z najczęstszych chorób neurologicznych, dotykającą ok. 60 mln ludzi na świecie [1]. Częstość występowania padaczki w populacji ogólnej wykazuje znaczne wahania w poszczególnych krajach

Europy; w Polsce jest oceniana na ok. 9,2 na 1000 mieszkańców [2]. Częstość występowania padaczki u dzieci i młodzieży jest znacznie większa niż u dorosłych i stanowi ok. 75% wszystkich napadów z przewagą od 4. do 10. roku życia. W tym wieku w większości przypadków najważniejszą rolę w powstaniu padaczki

Adres do korespondencji: dr Agata Różycka, Katedra i Zakład Biochemii i Biologii Molekularnej, Uniwersytet Medyczny w Poznaniu, ul. Święcickiego 6, 60-781 Poznań, e-mail: arozycka@umed.poznan.pl

Pracę otrzymano: 23.06.2010; przyjęto do druku: 2.12.2010

odgrywają czynniki genetyczne. Wiele badań dowodzi, że wskaźnik częstości występowania padaczki u osób dorosłych zwiększa się wraz z wiekiem z 0,7% (od 55. do 64. roku życia) do 1,2% (od 85. do 94. roku życia) [3]. Główną przyczyną padaczki u tych ostatnich są choroby naczyniowe oraz nowotwory mózgu.

Pomimo postępów w diagnostyce nadal u ok. 60–65% chorych nie można jednoznacznie ustalić przyczyny padaczki. Odsetek ten może być nawet nieco większy (70–75%) w przypadku padaczki u dzieci. W tej ostatniej grupie chorych podejrzewa się główną rolę czynników genetycznych. Uważa się, że genetyczna predyspozycja odpowiada za występowanie padaczki u ok. 40% pacjentów, przy czym w dziecięcej grupie wiekowej odsetek ten może być jeszcze większy. Wiadomo obecnie, że przy populacyjnej częstości padaczki szacowanej na ok. 1%, ryzyko wystąpienia padaczki u rodzeństwa osoby chorej wynosi ok. 2,5%, a u potomstwa chorego rodzica – 3,4%. Badania bliźniąt monozygotycznych wskazują na znacznie zwiększone ryzyko padaczki w porównaniu z bliźniętami dizygotycznymi (odpowiednio 37% i 10%) [4]. Genetyczne podłoże padaczki potwierdzają liczne przykłady rodzinnie występujących zespołów padaczkowych, w których jedynym lub dominującym objawem jest padaczka.

Poza ogólnym podziałem na padaczki i zespoły padaczkowe, ogniskowe oraz uogólnione, proponuje się podział każdej z tych dwóch głównych grup na trzy podgrupy w zależności od etiologii: objawowe (symptomatyczne), kryptogenne (skrytopochodne) oraz idiopatyczne [5]. Trzecią z wymienionych podgrup stanowią padaczki, które nie są związane z nieprawidłowościami strukturalnymi lub metabolicznymi mózgu, lecz ich podłoże ma charakter genetyczny. Do najważniejszych przyczyn powstawania padaczek i zespołów padaczkowych, w których istotną rolę odgrywa czynnik genetyczny, należą: dysfunkcje kanałów jonowych, wady rozwojowe kory mózgu, zaburzenia neurodegeneracyjne mózgu oraz zaburzenia metabolizmu mózgu.

Większość padaczek idiopatycznych dziedziczy się oligo- lub wielogenowo, opisano także kilka jednogennych form tej choroby. Objawy kliniczne są uwarunkowane mutacjami głównych genów podatności, nie wyklucza się jednak udziału innych genów oraz czynników środowiskowych w kształtowaniu fenotypu. Konsekwencją jest niepełna penetracja cechy oraz różnorodność objawów klinicznych. Nieliczne padaczki dziedziczone jednogennie [6,7], chociaż przypuszczalnie stanowią nie więcej niż 1% przypadków, tworzą jednak ważną grupę, gdyż objawy kliniczne oraz historia cho-

roby w rodzinie umożliwiają ustalenie właściwego rozpoznania. W większości wymienionych typów padaczek idiopatycznych (tab. 1.) pierwsze objawy kliniczne pojawiają się we wczesnym dzieciństwie, a sposób ich dziedziczenia ma charakter autosomalny dominujący.

Zaburzenia dotyczą głównie funkcji kanałów jonowych biorących udział w przekazywaniu impulsów nerwowych w obrębie ośrodkowego układu nerwowego (OUN). Kanały jonowe to białka integralne błony komórkowej, mające zdolność do selektywnego przepuszczania ściśle określonych typów jonów. Ze względu na rodzaj czynnika aktywującego dzieli się je na trzy zasadnicze grupy: kanały zależne od napięcia, kanały zależne od liganda oraz kanały aktywowane naprężeniem mechanicznym [8,9]. Zidentyfikowano szereg kanałów jonowych, których dysfunkcje są przyczyną występowania padaczek idiopatycznych (tab. 1.). U podłoża napadów leżą mutacje genów kodujących podjednostki kanałów jonowych zależnych od wiązania liganda lub bramkowanych napięciem.

Kanały jonowe bramkowane napięciem (kanały sodowe, wapniowe, potasowe czy chlorkowy) są regulowane przez potencjał błonowy za pośrednictwem obecnego w ich strukturze fragmentu bogatego w aminokwasy polarne, pełniącego funkcję czujnika potencjału [8,9]. Potencjał błonowy powstaje na skutek różnicy w ładunku elektrycznym pomiędzy wnętrzem komórki a jej otoczeniem, wynikającej z gradientu stężeń jonów po obu stronach błony komórkowej. Stały, spoczynkowy potencjał błonowy neuronów wynosi ok. –70 mV [9]. Podobnie jak inne komórki pobudliwe, neurony są zdolne do szybkiej i krótkotrwałej zmiany potencjału błonowego. Wzrost potencjału błonowego do wartości progowej (ok. –50 mV) prowadzi do gwałtownego wzrostu przepuszczalności błony komórkowej dla kationów (zwłaszcza sodu), którego skutkiem jest depolaryzacja oraz generowanie potencjału czynnościowego (impuls nerwowy). W chwili osiągnięcia maksimum potencjału przepuszczalność błony dla jonów sodu zmniejsza się, a dla jonów potasu – zwiększa. Impulsy wędrują wzdłuż błony komórkowej do zakończeń aksonu tworzących z innymi błonami komórkowymi neuronów połączenia zwane synapsami. Komórka presynaptyczna zawiera neuroprzekaznik, który pod wpływem docierającego do synapsy impulsu elektrycznego jest uwalniany z kolbki synaptycznej do przestrzeni międzysynaptycznej. Istotną rolę także w tym procesie odgrywają kanały wapniowe bramkowane napięciem, które, inicjując napływ jonów Ca^{2+} do wnętrza kolbki synaptycznej, prowadzą do fuzji pęcherzyków synaptycznych z błoną presynaptyczną

Tabela 1. Kanały jonowe biorące udział w patogenezie padaczek idiopatycznych
Table 1. Ion channels involved in the pathogenesis of idiopathic epilepsies

Kanały jonowe zależne od liganda	Chromosom (locus)	Gen (sposób dziedziczenia)	Produkt genu	Zespół	Piśmiennictwo
Neuronalny receptor nikotynowy acetylocholin (nAChR)	20q13 (ENFL1)	<i>CHRNA4</i> (AD)	podjednostka $\alpha 4$ nAChR	dziedziczona autosomalnie dominująco padaczka czołowa z napadami nocnymi (ADNFLE)	[22-31]
	15q24 (ENFL2)	<i>CHRNA3/A5/B4</i> ?	podjednostki $\alpha 3, \alpha 5, \beta 4$ nAChR		
	1p21 (ENFL3)	<i>CHRNA2</i> (AD)	podjednostka $\beta 2$ nAChR		
	15q (EJM2)			młodzieńcza padaczka miokloniczna (JME)	[43]
Receptor GABA _A	5q34-35	<i>GABRA1</i> (AD)	podjednostka $\alpha 1$ GABA _A	autosomalna dominująca młodzieńcza padaczka miokloniczna (ADJME)	[46,47]
	5q31	<i>GABRG2</i> (AD)	podjednostka $\gamma 2$ receptora GABA _A (domena zewnętrzno-komórkowa)	dziecięca padaczka z napadami nieświadomości (CAE)	[52,53]
	5q31 (FEB+3)	<i>GABRG2</i> (AD)	podjednostka $\gamma 2$ receptora GABA _A (domena przez błonową)	padaczka uogólniona z drgawkami gorączkowymi plus (GEFS+3)	[56,57]
Glutaminianergiczny receptor jonotropowy	21q22	<i>GRIK1</i> (AD)	podjednostka GluR5 receptora kainianowego	młodzieńcza padaczka z napadami nieświadomości (JAE)	[40]
Kanały jonowe bramkowane napięciem	Chromosom (locus)	Gen (sposób dziedziczenia)	Produkt genu	Zespół	Piśmiennictwo
Kanał wapniowy	6p12 (EJM1)	<i>EFHC1</i> (AD)	regulator napięciowo-zależnych kanałów wapniowych	JME	[41]
	16p13	<i>CACNA1H</i>	kanał wapniowy typu T	CAE	[42]
	2q22-23	<i>CACNB4</i> (AD)	podjednostka $\beta 4$ kanału wapniowego	JME	[44]
Kanał chlorkowy	3q27-28	<i>CLCN2</i> (AD)	kanał chlorkowy CLC-2	CAE JAE JME	[40]
Kanał sodowy	2q22-23	<i>SCN2A</i> (AD)	podjednostka $\alpha 2$ kanału sodowego	łagodne rodzinne drgawki noworodków i niemowląt (BFNIS)	[74]
	19q13 (FEB+1)	<i>SCN1B</i> (AD)	podjednostka β (regulatorowa) kanału sodowego	padaczka uogólniona z drgawkami gorączkowymi (GEFS+1)	[76-79]
	2q24 (FEB+2)	<i>SCN1A</i> (AD)	podjednostka $\alpha 1$ kanału sodowego	padaczka uogólniona z drgawkami gorączkowymi (GEFS+2)	[80-82; 87-90]
		<i>SCN1A</i> (de novo)		ciężka padaczka miokloniczna niemowląt – zespół Dravet (SMEI)	[84-86]

Tabela 1. Cd.
Table 1. Cont.

Kanały jonowe zależne od liganda	Chromosom (locus)	Gen (sposób dziedziczenia)	Produkt genu	Zespół	Piśmiennictwo
	2q22-23 (FEB+4)	SCN2A (AD)	podjednostka $\alpha 2$ kanału sodowego	padaczka uogólniona z drgawkami gorączkowymi (GEFS+4)	[75]
Kanał potasowy	20q13 (EBN1)	KCNQ2 (AD)	kanał potasowy KCNQ2	łagodne rodzinne drgawki noworodków (BFNC)	[63–67]
	8q24 (EBN2)	KCNQ3 (AD)	kanał potasowy KCNQ3		

AD – dziedziczenie autosomalne dominujące, AR – dziedziczenie autosomalne recesywne

i uwolnienia ich zawartości do przestrzeni synaptycznej. Neuroprzekaźniki oddziałują ze swoistymi receptorami błonowymi komórki postsynaptycznej, należącymi do rodziny kanałów jonowych bramkowanych przez ligand (tzw. receptory jonotropowe) [9,10]. Przykładem może być neuronalny receptor nikotynowy acetylocholin (neuronal nicotinic acetylcholine receptor – nAChR), receptor GABA_A oraz jonotropowy receptor glutaminianergiczny (GluR). Działanie przekaźnika osiąga maksimum w ciągu kilku milisekund i zwykle zanika po upływie dalszych kilku. Cechą wyróżniającą receptory jonotropowe spośród innych receptorów jest to, że ich pobudzenie wywołuje bardzo szybką odpowiedź efektora (w ciągu kilku milisekund), gdyż proces ten zachodzi bez dodatkowych etapów pośrednich [8]. Pobudzenie receptora prowadzi do przejściowego zwiększenia przepuszczalności błony komórkowej dla określonych jonów i w konsekwencji do jej depolaryzacji lub hiperpolaryzacji. Większość neuroprzekaźników, takich jak np. acetylocholina czy kwas glutaminowy, powoduje wzrost przepuszczalności błony komórkowej dla jonów sodowych, wapniowych i potasowych. Inne, jak np. kwas γ -aminomasłowy (GABA), zwiększają przepuszczalność błony dla jonów chlorkowych.

W synapsie pobudzającej sygnał chemiczny otwiera kanały kationoselektywne, wpuszczające dodatnie jony do wnętrza komórki. Receptory jonotropowe dla glutaminianu pośredniczą w uruchamianiu większości sygnałów pobudzających w OUN, w efekcie których potencjał błonowy komórki postsynaptycznej ulega podniesieniu i powstaje tzw. postsynaptyczny potencjał pobudzeniowy (*excitatory postsynaptic potential* – EPSP) [8,9]. Jeśli depolaryzacja związana z EPSP przekroczy war-

tość potencjału progowego dla błony komórki postsynaptycznej, to dzięki obecności w niej kanałów sodowych zależnych od napięcia wyzwalany jest w tej komórce potencjał czynnościowy. W synapsach hamujących pojawienie się neuroprzekaźnika w szczelinie synaptycznej powoduje w błonie postsynaptycznej otwieranie się kanałów anionoselektywnych. W OUN głównym neuroprzekaźnikiem o właściwościach hamujących jest GABA, działający m.in. poprzez receptory jonotropowe GABA_A. Hiperpolaryzacja błony komórki nerwowej w wyniku napływu jonów chlorkowych prowadzi do powstania tzw. postsynaptycznego potencjału hamującego (*inhibitory postsynaptic potential* – IPS) i wzrostu progowego potencjału pobudzeniowego [9].

Patologiczne zmiany prowadzące do zachwiania równowagi pomiędzy pobudzeniem a hamowaniem synaptycznym w OUN wpływają na funkcjonowanie całego mózgu, zaburzając równowagę w zakresie sprawnego funkcjonowania sieci neuronalnych. Uważa się, iż mutacje genów dla kanałów jonowych będące przyczyną padaczek idiopatycznych mogą zaburzać przyjmowanie określonych stanów funkcjonalnych receptora, co wiąże się bądź z utratą funkcji (*loss of function* – LOF), bądź z nadmierną funkcją (*gain of function* – GOF) zmienionego kanału jonowego [9]. W konsekwencji może to doprowadzić do zwiększonej pobudliwości neuronu, np. wskutek zmniejszenia hamującego wpływu GABA, czy spowolnienia inaktywacji kanału sodowego zależnego od napięcia. Zaburzenie funkcji receptorów w obrębie OUN może wpływać na synchroniczną stymulację czynności bioelektrycznej w określonych strukturach mózgu, a ta z kolei może stać się przyczyną napadów padaczkowych.

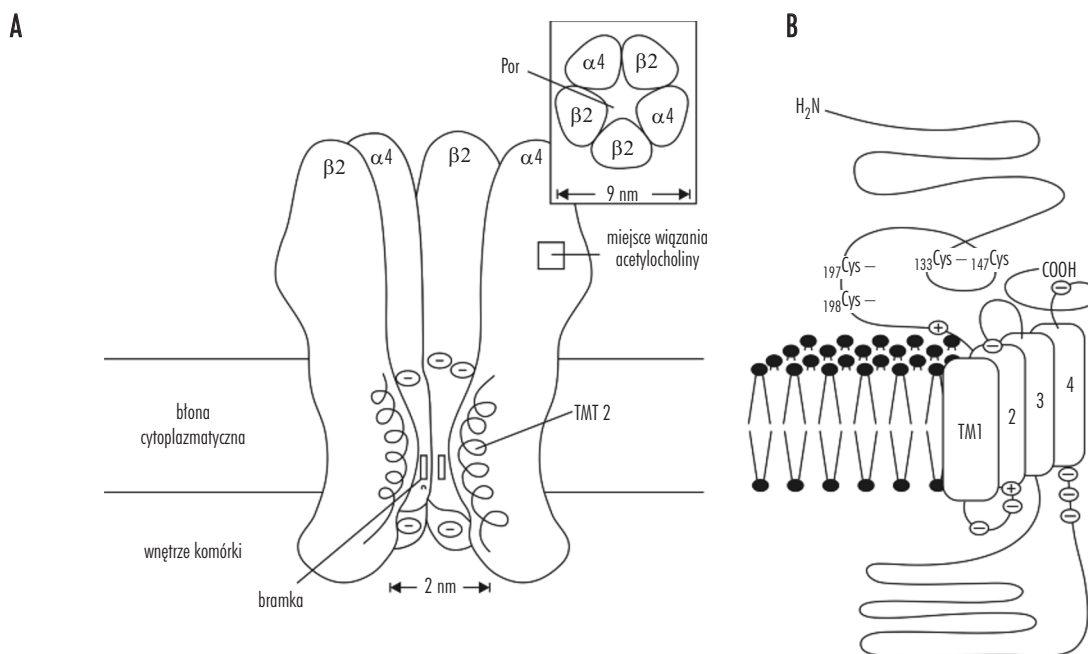
Budowa i funkcja receptorów jonotropowych klasy I na przykładzie neuronalnego receptora nikotynowego dla acetylocholíny

Receptory błonowe to białka wielkocząsteczkowe, składające się z kilku podjednostek otaczających centralnie zlokalizowany kanał hydrofilowy. Wspólną cechą receptorów błonowych jest to, że stanowią one integralne składniki błony komórkowej i zawierają w swojej strukturze przynajmniej jedną domenę przezbłonową. Każda podjednostka składa się z kilku segmentów domeny przezbłonowej (segmenty TM, *transmembrane domain*) o strukturze α -spirałi, z których co najmniej jeden może otwierać lub blokować kanał jonowy. Liczba i sposób ukształtowania segmentów tych domen stanowi jedną z podstaw klasyfikacji receptorów błonowych. Receptory klasy I określa się mianem kanałów jonowych bramkowanych przez ligand (ang. *ligand gated channels*) (ryc. 1.).

Podobnie jak inne receptory jonotropowe, nAChR zbudowany jest z 5 podjednostek tworzących kanał jonowy (ryc. 1A) [11]. Wspólną cechą jonotropowych receptorów neuroprekaźników jest występowanie we wszyst-

kich podjednostkach α pary cystein umieszczonych w stałej pozycji w domenie zewnątrzkomórkowej. Sugeruje się, że ma to znaczenie dla powstania określonej struktury czwartorzędowej tej domeny, która w przypadku podjednostek α zawiera miejsce wiązania liganda. Ważną rolę w przyłączaniu acetylocholíny odgrywa wiązanie disiarczkowe (S-S) pomiędzy resztami Cys w pozycjach 197 i 198 podjednostki $\alpha 4$ (ryc. 1B) [12]. Ten typ wiązania oraz obecność dwóch reszt, Cys133 i Cys147, stanowią charakterystyczny element struktury pierwszorzędowej podjednostki $\alpha 4$, odpowiedzialny w znacznej mierze za jej funkcję. Inną wspólną cechą jonotropowych receptorów neuroprekaźników, w tym nAChR, jest występowanie długiej cytoplazmatycznej pętli pomiędzy segmentami TM3 i TM4. Tam też znajdują się miejsca fosforylacji, modyfikujące właściwości receptora.

Jeśli chodzi o działanie ośrodkowe acetylocholíny (ACh) z udziałem receptorów nikotynowych, to dane elektrofizjologiczne są bardzo ograniczone. Funkcję neuronalnych nAChR w szybkiej transmisji postsynaptycznej wykazano tylko w nielicznych przypadkach przewodzenia sygnałów przez komórki nerwowe w obrębie rdzenia kręgowego (komórki Renshawa), ucha we-



Ryc. 1. Budowa receptora klasy I na przykładzie neuronalnego receptora acetylocholíny: (A) w formie otwartej (wg [11], zmodyfikowano); (B) struktura podjednostki $\alpha 4$ (wg [12], zmodyfikowano)

Fig. 1. Structure of class I receptor as exemplified by the neuronal acetylcholine receptor: (A) in an open conformation (from [11], modified); (B) structure of the $\alpha 4$ subunit (from [12], modified)

wnętrznego, jądra dwuznacznego oraz interneuronów hipokampalnych [13]. Wydaje się, że bardziej rozpowszechnione jest działanie presynaptyczne tych receptorów, które dotyczy modulacji uwalniania neuroprzekaźników, co może wynikać z ich preferencyjnej lokalizacji w presynaptycznych zakończeniach nerwowych. Badania z wykorzystaniem preparatów synaptosomalnych oraz skrawków tkankowych pokazały, że presynaptyczne nAChR poprzez wiązanie się z ACh zwiększają uwalnianie takich neuroprzekaźników, jak dopamina, GABA, kwas glutaminowy, noradrenalina oraz serotonina [14,15]. Duża przewodność nAChR dla jonów wapniowych sugeruje, iż pobudzenie tych receptorów może także prowadzić do uruchomienia mechanizmów synaptycznych, w których biorą udział wtórne przekaźniki sygnałów [16]. Co więcej, duży napływ Ca^{2+} do synaptoplazmy może powodować, że jego stężenie będzie wystarczające, aby egzocytoza pęcherzyków synaptycznych przebiegała bez udziału kanałów wapniowych zależnych od potencjału błonowego. Tę ostatnią hipotezę wydaje się popierać właściwość homomeru $\alpha 7$, polegająca na około dziesięciokrotnie większej przewodności dla jonów wapniowych w porównaniu z heteropentamerami nAChR [17].

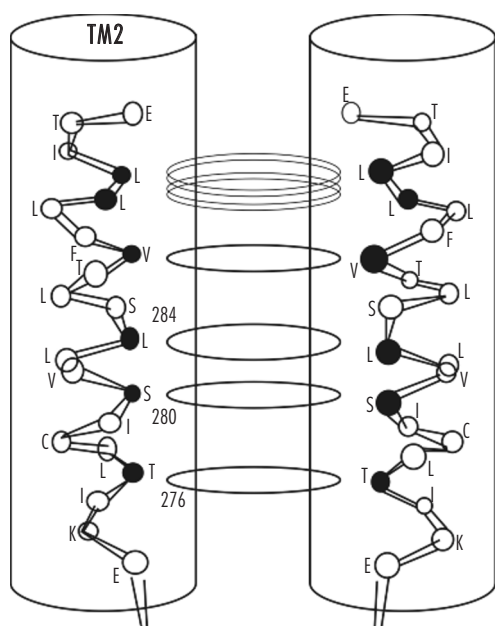
Dysfunkcja neuronalnego receptora nikotynowego dla acetylocholiny w patogenezie padaczek idiopatycznych

Dysfunkcje receptorów cholinergiczných wywołane mutacjami genów kodujących podjednostki nAChR odpowiadają za powstawanie napadów u chorych z dziedziczną autosomalnie dominującą padaczką czołową z napadami nocnymi (*autosomal dominant nocturnal frontal lobe epilepsy* – ADNFLE). Napady nocne u chorych z ADNFLE występują w fazie snu wolnofalowego (NREM), najczęściej w stadium 2. tego snu. W zapisie EEG napady padaczkowe zbiegają się w czasie lub mają miejsce bezpośrednio po kompleksach K, dlatego uważa się, że ta cecha bioelektryczna snu, obok wrzescion snu, towarzyszy indukcji serii wyładowań napadowych. Mogą być one wywołane przez bodźce zewnętrzne lub stres. Napady zwykle mają charakter napadów częściowych ruchowych, rzadziej wtórnie uogólnionych. Towarzyszą im często inne objawy kliniczne, takie jak rytmiczne, powtarzające się ruchy ramion i nóg o charakterze dyskinez (zaburzenia ruchów dowolnych), napady zwrotne głowy i oczu, wokalizacje lub zatrzymanie mowy czy też objawy oddechowe (głębokie oddy-

chanie, chrząkanie i inne dźwięki wydawane przez chorego). Badanie EEG wykonane w okresie między-
napadowym nie wykazuje odchyień od normy, nawet podczas snu. Dopiero zapis śródnapadowy ujawnia obecność elektroencefalograficznego ogniska padaczkowego w płacie czołowym. Neuroobrazowanie także jest często negatywne. Niekiedy u dzieci trudno jest kontrolować napady lekami przeciwdrgawkowymi, natomiast u dorosłych napady ustępują samoistnie i łatwo im zapobiegać podawaniem karbamazepiny [18,19].

Udokumentowanie genetycznego uwarunkowania choroby wymagało zbadania ponad 100 rodzin z ADNFLE pochodzących z różnych regionów świata (tab. 1.). Ze wszystkich rodowodów wynikało, że przenoszenie choroby było zgodne z autosomalną dominującą formą dziedziczenia. Wszystkie opisane mutacje genów *CHRNA4* oraz *CHRN2*, kodujących odpowiednio podjednostkę $\alpha 4$ oraz $\beta 2$ nAChR, są zlokalizowane w eksonie 5 i dotyczą drugiego segmentu przezbłonowego (domena TM2) produktu białkowego każdego z tych genów (ryc. 2.). Eksperymenty przeprowadzone *in vitro* umożliwiły określenie różnorodnych efektów funkcjonalnych mutacji genów *CHRNA4* oraz *CHRN2*, zidentyfikowanych dotychczas u chorych z ADNFLE. Rezultaty wcześniejszych badań wskazywały na utratę funkcji nAChR w wyniku mutacji *CHRNA4* oraz wzmocnienie działania receptora zawierającego zmutowaną podjednostkę $\beta 2$. Dane doświadczalne zgromadzone w ciągu ostatnich lat dowodzą, że czynnościowy stan nAChR dopasowuje się do zmieniającego się natężenia bodźców. Receptory te podlegają dwukierunkowym adaptacyjnym zmianom regulacyjnym: pobudzeniu bądź odczuleniu [10] (ryc. 3.). Uważa się, iż mutacje nAChR u chorych z ADNFLE mogą zaburzać przyjmowanie określonych stanów funkcjonalnych receptora [20,21]. Wynikiem może być długotrwałe otwarcie kanału na skutek zwolnionej inaktywacji lub jego szybkie odczulenie.

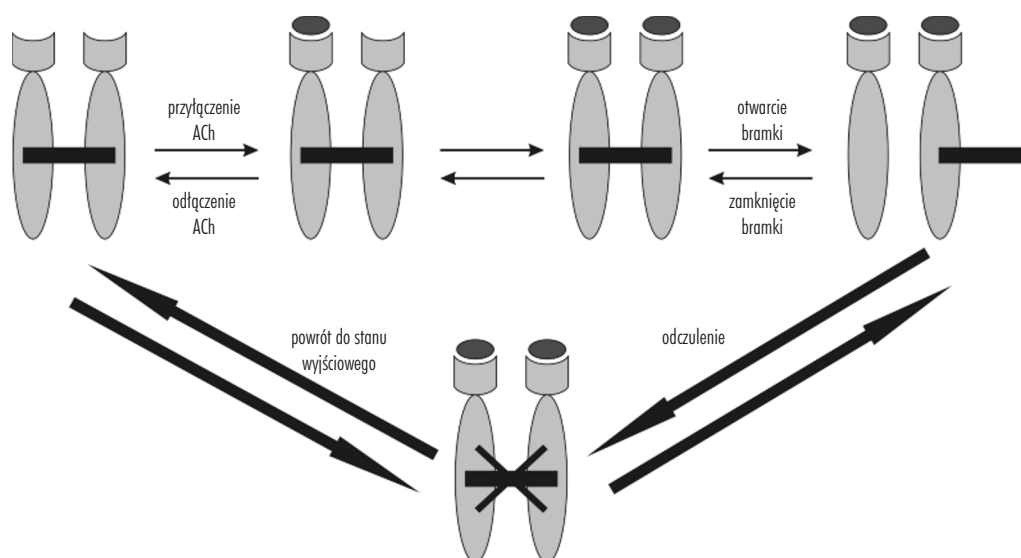
Pierwsze badania genetyczne u osób z ADNFLE, przeprowadzone w wielopokoleniowej rodzinie australijskiej, doprowadziły do wykrycia tranzykcji c.839C>T *CHRNA4*, powodującej zastąpienie przez hydrofobową fenyloalaninę polarnej reszty seryny (S280F) [22]. Ten aminokwas znajduje się w bliskim sąsiedztwie pierścienia hydrofobowego, w najwyższej części poru (ryc. 2.) [11]. Jego znaczenie dla prawidłowej funkcji kanału jonowego potwierdziły badania w rodzinie hiszpańskiej [23], norweskiej [24] oraz szkockiej [25]. Podobną rolę jak seryna 280 odgrywa seryna 284. Jej zamianę na leucynę, wynikającą z tranzykcji c.851C>T w eksonie 5



Ryc. 2. Schemat rozmieszczenia reszt aminokwasowych w obrębie α spiral segmentów TM2 podjednostek $\alpha 4$ nAChR, budujących por kanału jonowego. Podano pozycje tych reszt aminokwasowych, których funkcja została opisana w tekście. Elipsami zaznaczono pierścienie ograniczające por kanału

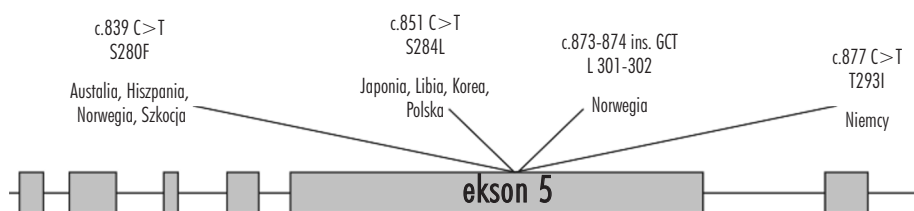
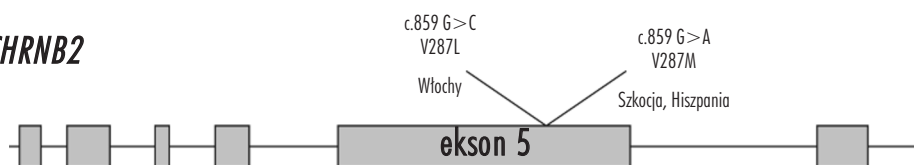
Fig. 2. Schematic diagram of amino acids located within the α -helices of TM2 segments of $\alpha 4$ nAChR subunits which form the channel's pore. The position numbers are shown for those amino acids whose function has been described previously in the text. Ellipses indicate the overlapping rings of amino acids that line the surface of the channel

CHRNA4, odkryto w rodzinie japońskiej [26], a następnie w rodzinach: libijskiej [27], koreańskiej [28] oraz polskiej [29] (ryc. 4.). Poza rodzinnie występującymi przypadkami ADNFLE, odnotowano w ostatnim czasie także dwie sporadyczne, odizolowane formy ADNFLE uwarunkowane mutacjami *de novo* genu *CHRNA4* (transycja c.923G>A) oraz *CHRNA2* (transwersja c.936C>G), powodującymi odpowiednio zamiany aminokwasów w cytoplazmatycznej pętli pomiędzy segmentami TM3 i TM4 podjednostki $\alpha 4$ lub w obrębie trzeciego segmentu przez błonowego (TM3) podjednostki $\beta 2$ nAChR [30,31]. Mutacja c.851C>T ($\alpha 4$ -S284L) jest zatem jedną z pięciu zidentyfikowanych w genie *CHRNA4*, a zarazem jedną z czterech mutacji stanowiących molekularne podłoże rodzinnej postaci ADNFLE (ryc. 4.). W leczeniu probanda z Polski, nosiciela tejże mutacji, karbamazepina powodowała częściową kontrolę napadów padaczkowych, natomiast próba leczenia pochodnymi kwasu walproinowego nie dała rezultatu [29]. Brak efektu całkowitej eliminacji napadów przez karbamazepinę u probanda pozostaje w zgodzie z obserwacjami klinicznymi rodzin z ADNFLE, popartymi badaniami elektrofizjologicznymi, które wskazują na zróżnicowane powinowactwo karbamazepiny do zmutowanych form receptora. Trzy spośród nAChR, zawie-



Ryc. 3. Schemat allosterycznych stanów funkcjonalnych receptora acetylocholinowego (wg [10], zmodyfikowano)

Fig. 3. Schematic view of allosteric states of the nicotinic acetylcholine receptor (from [10], modified)

CHRNA4**CHRNA2**

Ryc. 4. Lokalizacja mutacji genów kodujących podjednostkę $\alpha 4$ (*CHRNA4*) oraz $\beta 2$ (*CHRNA2*) w występującej rodzinie dziedzicznej autosomalnie dominująco padaczkę czołową z napadami nocnymi

Fig. 4. Distribution of mutations of genes encoding the $\alpha 4$ (*CHRNA4*) and $\beta 2$ (*CHRNA2*) subunits, associated with familial form of autosomal dominant nocturnal frontal lobe epilepsy

rające podjednostkę $\alpha 4$ -280F, $\alpha 4$ -302L lub $\beta 2$ -287M, wykazywały istotnie zwiększoną wrażliwość wobec karbamazepiny w porównaniu z prawidłowymi receptorami, a chorzy z ADNFLE posiadający wymienione mutacje w pełni reagowali na terapeutyczne dawki leku [22,24–26].

Sprzecznych wniosków dostarczyły analizy wpływu mutacji na wiązanie acetylocholin. Jedno z doniesień mówi o zwiększonej wrażliwości receptorów zawierających nieprawidłową podjednostkę $\alpha 4$ (mutacje: S280F, S284L oraz L301-302) lub $\beta 2$ (V287M) [32]. Wyniki innych badań dowodzą z kolei zmniejszenia odpowiedzi na ACh, wskazując jednocześnie na szybsze odczulanie, zwolniony powrót do stanu wyjściowego oraz redukcję przewodnictwa jonowego (zwłaszcza dla Ca^{2+}) jako przyczyny dysfunkcji zmutowanych form nAChR [21]. Weryfikacji przeciwstawnych wyników podjęli się Rodrigues-Pinguet i wsp. [33]. W czasie próby znalezienia efektu fenotypowego wspólnego dla mutacji *CHRNA4* oraz *CHRNA2*, powodujących podobne objawy kliniczne ADNFLE, odkryli oni zjawisko częściowej utraty zależności odpowiedzi na ACh od jonów Ca^{2+} . Autorzy ci, na podstawie wyników wcześniejszych badań, przemawiających za silnym efektem allosterycznym jonów wapnia na proces otwierania się kanałów $\alpha 4\beta 2$ nAChR [16,34,35], wysnuli hipotezę o udziale Ca^{2+} w patogenezie ADNFLE.

W obrębie *CHRNA4* zidentyfikowano kilka wariantów polimorficznych, które mogą służyć jako wewnętrzne *loci* markerowe. Cztery spośród tych polimorfizmów: trzy *CfoI* w pozycjach 690, 1641 oraz 1671, a także *FokI* w pozycji 651, znajdują się w obrębie eksonu 5 *CHRNA4*, podczas gdy inne dwa (*StyI* 1770⁺¹⁴ i *SsiI* 1770⁺¹⁹²) są zlokalizowane, odpowiednio 14 i 192 pary zasad, w intronie 5 [36,37]. Wyniki badań wskazują na związek polimorfizmu c.690C>T zarówno z ADNFLE, jak też z grupą podtypów idiopatycznych padaczek uogólnionych (*idiopathic generalized epilepsy* – IGE), do których należy młodzieńcza padaczka miokloniczna (*juvenile myoclonic epilepsy* – JME) [37]. Znaczenie tego potencjalnie ważnego polimorfizmu pozostaje niewyjaśnione, pomimo jego związku także z innymi schorzeniami neurologicznymi, jak choroba Alzheimera [38]. Zidentyfikowano także nowy wariant polimorficzny 1770⁺¹¹C>T *CHRNA4*, którego lokalizacja na granicy ekson-intron mogłaby zaburzać proces składania eksonów (*splicing*). Polimorfizm ten wykazywał istotny związek z JME w populacji polskiej [39].

Młodzieńcza padaczka miokloniczna charakteryzuje się złożonym sposobem dziedziczenia (tab. 1.). Badania mające na celu ustalenie *locus* genowego doprowadziły do kontrowersyjnych wyników i nie potwierdziły monogenowego charakteru choroby. Opisano szereg genów związanych z JME (m.in. *CLCN2*, *EFHC1*,

CACNB4), wśród których znajduje się także gen kodujący podjednostkę $\alpha 7$ nAChR [40–44]. Gen *CHRNA7* wykazuje związek nie tylko z JME, ale także z łagodną padaczką częściową z iglicami w okolicy centralno-skroniowej (*benign childhood epilepsy with centro-temporal spikes* – BECT) (tab. 1.) [45]. Wyniki kolejnych badań wskazują na związek dziedziczonej autosomalnie dominująco postaci JME (*autosomal dominant juvenile myoclonic epilepsy* – ADJME) z genem *GABRA1*, kodującym podjednostkę $\alpha 1$ receptora GABA_A (tab. 1.) [46,47].

Dysfunkcja receptora GABA_A w patogenezie padaczek idiopatycznych

Pentameryczny kompleks receptora GABA_A składa się z dwóch podjednostek α , dwóch podjednostek β wiążących GABA, a także jednej podjednostki γ lub δ . Właściwości farmakologiczne receptora GABA_A są uzależnione od jego składu podjednostkowego i poza endogennym agonistą, jakim jest GABA, poznano oraz zsyntetyzowano wiele substancji, które mają zdolność pobudzania tych receptorów [48]. Wśród nich ważną grupę stanowią leki przeciwpadaczkowe, takie jak: sól sodowa kwasu walproinowego, wigabatryna, tiagabina, felbamat, gabapentyna oraz topiramet. Kwas walproinowy powoduje zwiększenie stężenia GABA przez hamowanie jego rozkładu (dekarboksylacji), wychwyty zwrotnego oraz przez stymulowanie enzymów niezbędnych do jego biosyntezy. Poza tym modyfikuje przekaznictwo nerwowe poprzez blokowanie kanałów wapniowych i sodowych w neuronie. Wigabatryna jest jednym z leków nowej generacji, wywołującym zwiększenie stężenia GABA w mózgu poprzez hamowanie transaminazy GABA [49]. Innym lekiem aktywującym układ GABA-ergiczny jest tiagabina, która poprzez hamowanie wychwyty zwrotnego GABA zwiększa jego stężenie w szczeliny synaptycznej. Gabapentyna, podobnie jak pregabalina, zwiększają z kolei syntezę GABA w mózgu. Nowym lekiem przeciwpadaczkowym, wpływającym na aktywność receptora GABA_A poprzez zwiększenie częstotliwości otwarcia kanału jest topiramet [50]. Podobne działanie wykazują benzodiazepiny, które zwiększają powinowactwo receptora do endogenego GABA, nasilając przepływ anionów chlorkowych. Agoniści receptora benzodiazepinowego: klonazepam i diazepam, mają zastosowanie w przerywaniu napadów padaczkowych [51].

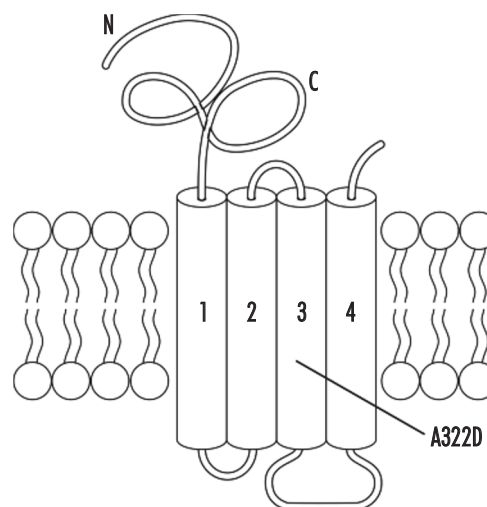
W korze mózgowej ssaków nie więcej niż 10–20% neuronów syntetyzuje GABA, lecz dzięki dywergencji unerwienia efektywnie kontrolują one poziom aktywności wszystkich neuronów glutaminianergicznych. Szeroko reprezentowane w OUN receptory GABA_A odpowiadają za szybkie hamujące przekaznictwo synaptyczne, a zatem odgrywają najważniejszą rolę w kontrolowaniu stanów drgawkowych. Pobudzenie receptorów GABA_A hiperpolaryzuje neurony i przeważnie (wyjątkiem są uogólnione napady nieświadomości wieku dziecięcego) zapobiega powstawaniu i szerzeniu się patologicznej aktywności bioelektrycznej w mózgu [52,53]. Wyjątek polegający na pobudzeniu po aktywacji receptora GABA_A u dzieci wynika z innego niż u dorosłych gradientu stężeń jonów chlorkowych w cytoplazmie i płynie pozakomórkowym, co przyczynia się do depolaryzującego działania GABA we wczesnym okresie neurorozwojowym [52]. Receptory GABA_A są obecne w większości połączeń nerwowych, głównie na błonach postsynaptycznych [54]. Przyłączenie do receptora dwóch cząsteczek GABA powoduje otwarcie kanału jonowego, czego konsekwencją jest napływ jonów Cl⁻ do wnętrza neuronu. Powoduje to miejscową hiperpolaryzację błony komórki nerwowej, co z kolei prowadzi do wzrostu progowego potencjału depolaryzacyjnego dla neuroprzekazników pobudzających. Zasadniczą rolę w czynności neuronalnych receptorów GABA_A oraz w utrzymywaniu elektrolitycznej homeostazy astrocytów odgrywa bramkowany napięciem kanał chlorkowy CLC-2 [55].

Pierwszym dowodem na udział receptora GABA_A w patogenezie padaczki było wykrycie substytucji K289M w podjednostce $\gamma 2$ u pacjentów z idiopatyczną padaczką uogólnioną z drgawkami gorączkowymi (GEFS+3) (tab. 1.) [56,57]. Mutacja ta upośledzała proces hamowania GABA-ergicznego u chorych. Inna mutacja genu dla podjednostki $\gamma 2$ (c.245G>A; R43Q) została zidentyfikowana u chorych z dziecięcą padaczką z napadami nieświadomości (*childhood absence epilepsy* – CAE) (tab. 1.) [52]. Substytucja R43Q powodowała zniesienie stymulującego wpływu benzodiazepin na funkcję receptora GABA_A, lecz nie zmieniała przepływu Cl⁻ [53]. Za występowanie objawów padaczki u chorych z IGE mogą także odpowiadać trzy różne typy mutacji genu *CLCN2* kodującego bramkowany napięciem kanał chlorkowy CLC-2 [40]. Konsekwencją funkcjonalną tych mutacji (M200fsX231; del74-117; G715E) jest zmniejszenie przepływu Cl⁻, a przez to: osłabienie hamującego działania układu GABA-ergicznego i związana z tym nadpobudliwość sieci neuronalnych.

Wspomniany udział receptora GABA_A w patogenezie ADJME dotyczy chorych wywodzących się z wielopokoleniowej rodziny francusko-kanadyjskiej, u których wykryto substytucję aminokwasową A322D w obrębie trzeciego segmentu spirali przezbłonowej podjednostki $\alpha 1$ receptora GABA_A (ryc. 5.). Mutacja powodowała utratę funkcji tego receptora [46,47]. Za złożonym wielogenowym charakterem JME przemawia częste występowanie w rodzinach chorych z JME innych idiopatycznych padaczek uogólnionych, takich jak CAE oraz JAE (*juvenile absence epilepsy*) [40,58].

Dysfunkcja kanałów jonowych bramkowanych napięciem w patogenezie padaczek idiopatycznych

Kanały jonowe bramkowane napięciem stanowią ważną grupę białek uczestniczących w epileptogenezie. Wśród nich, oprócz wspomnianego już udziału kanału chlorkowego w patogenezie IGE, istotną rolę w kształtowaniu fenotypu padaczkowego odgrywają kanały potasowe, wapniowe i sodowe [59]. Kanały potasowe są głównymi regulatorami pobudliwości neuronów. Odpowiadają one za proces repolaryzacji, a ich fizjologiczna rola polega na stabilizacji potencjału błonowego komórek nerwowych. Antagoniści tych kanałów indukują drgawki, podczas gdy jeden z leków przeciwpadaczkowych, retygabina, działa głównie przez ich aktywację [60]. Podjednostki kanału potasowego, KCNQ₂ oraz KCNQ₃, odpowiadają za prąd M, który ogranicza nadpobudliwość neuronalną, regulując częstotliwość iglic [61]. Osłabienie kontrolnej funkcji prądu M przez zmutowane kanały potasowe przyczynia się do powstawania patologicznych wyładowań typu iglica-fala w obwodach korowo-wzgorzowych u chorych z łagodnymi rodzinnymi drgawkami noworodków (BFNC) [62]. Wyróżniono dwie formy kliniczne tej padaczki: BFNC1 oraz BFNC2, sprzężone z mutacjami genów dla dwóch podjednostek kanałów potasowych: KCNQ₂ (*locus EBN1*) oraz KCNQ₃ (*locus EBN2*). Wśród pacjentów z rodzinnie występującą formą tej padaczki wykryto łącznie ponad 50 mutacji genu *KCNQ2* oraz trzy mutacje genu *KCNQ3* [63–65]. Zidentyfikowano także kilka mutacji *de novo* genu *KCNQ2* u chorych z BFNC2, u których w wywiadzie rodzinnym nie stwierdzono zachorowań w poprzednich pokoleniach [66]. Około 50% wszystkich mutacji genu *KCNQ2* przyczynia się do skrócenia produktu białkowego w regionie C-końcowym na skutek przedwczesnej ter-



Ryc. 5. Lokalizacja mutacji w obrębie podjednostki $\alpha 1$ receptora GABA_A (wg [46], zmodyfikowano)

Fig. 5. Location of mutation in the $\alpha 1$ subunit of the GABA_A receptor (from [46], modified)

minacji translacji. Badania elektrofizjologiczne wykazały, że pozbawione tego fragmentu podjednostki nie mogą łączyć się ze sobą w funkcjonalne kanały ani też nie mają możliwości oddziaływania z kalmoduliną (wrażliwe na jony wapnia białko biorące udział w przekazywaniu informacji w komórce) [67].

Kanały wapniowe bramkowane napięciem podzielono na podstawie ich budowy i charakterystyki elektrofizjologicznej na kilka typów (kanały typu: L, N, P/Q, R oraz T) [68]. Dokomórkowy napływ Ca²⁺ odpowiada za pobudliwość neuronalną, odgrywając istotną rolę także w generowaniu wyładowań padaczkowych. W trakcie potencjału czynnościowego w błonie komórki presynaptycznej pobudzone kanały wapniowe otwierają się, inicjując napływ jonów Ca²⁺ do wnętrza kolbki synaptycznej i uwolnienie neuroprzekaźnika do szczeliny synaptycznej (blokada kanałów wapniowych typu N oraz P/Q hamuje wydzielanie aminokwasów pobudzających), podczas gdy w błonie komórki postsynaptycznej biorą one udział w jej depolaryzacji [68]. Kanał wapniowy jest utworzony przez pojedynczą podjednostkę $\alpha 1$ pełniącą funkcję czujnika potencjału oraz podjednostki towarzyszące ($\alpha 2$, β , δ i γ), modulujące kinetykę i amplitudę prądów wapniowych. Jedną z przyczyn napadów nieświadomości i ataksji oraz złożonego fenotypu u chorych z padaczką uogólnioną są mutacje genu *CACNA1A* kodującego podjednostkę $\alpha 1$, upośledzające funkcję kanału wapniowego typu P/Q [69,70]. Odnotowano także przypadek chorego z JME, u któ-

regu zidentyfikowano mutację genu *CACNB4* dla podjednostki $\beta 4$, której wynikiem była całkowita utrata funkcji kanału wapniowego [44]. Regulator zależnych od napięcia kanałów wapniowych (EFHC1) należy do grupy białek z rodziny *EF-hand*, których wspólną cechą jest obecność domeny wiążącej jony wapnia, przypominającej kształtem dłoń. Przyłączenie jonów Ca^{2+} prowadzi do zmiany konformacji motywu *EF-hand*, a w efekcie do zwiększenia przewodnictwa kanałów wapniowych typu R. Proces ten był zahamowany u chorych z JME, u których zmienione w wyniku mutacji genu *EFHC1* białko nie mogło pełnić opisanej funkcji [41].

Spośród kanałów jonowych bramkowanych napięciem, niskonapięciowy kanał wapniowy typu T odgrywa z kolei ważną rolę w mechanizmie wzgórzowo-korowej aktywności oscylacyjnej i generowaniu wyładowań typu iglica-fala [71]. Związki blokujące kanały T, np. etosuksymid, dimetadion czy walproinian, są od lat stosowane w leczeniu uogólnionych napadów nieświadomości [72]. Badania genetyczne potwierdziły udział ponad 30 mutacji genu *CACNA1H* kodującego niskonapięciowy kanał wapniowy typu T w etiopatogenezie IGE [42]. Niemal połowa (12 różnych) mutacji została zidentyfikowana u chorych z CAE, stąd *CACNA1H* zaliczany jest do głównych genów-kandydatów dla tej formy padaczki. Analiza funkcjonalna mutacji u chorych z dziecięcą padaczką z napadami nieświadomości wykazała spowolnienie procesu inaktywacji i powrotu do stanu wyjściowego jako przyczyny nadmiernej aktywności zmienionych kanałów [42].

Zależne od napięcia kanały sodowe biorą udział w generowaniu potencjałów czynnościowych i składają się z dużej podjednostki α , występującej w dwóch izoformach, oraz jednej lub dwóch podjednostek β . Stwierdzono bezpośrednią interakcję pomiędzy cytoplazmatyczną, C-kończową domeną podjednostki α i podjednostkami β . Można wyróżnić szybką, wolną i ultrawolną inaktywację kanałów sodowych, z których każda może być modulowana przez czynniki komórkowe lub podjednostki dodatkowe [73]. Szybka inaktywacja jest niezbędna do utrzymywania prawidłowej aktywności elektrycznej pobudliwych komórek. Nawet niewielkie zaburzenia w procesie inaktywacji mogą być powodem wyładowań padaczkowych. Kanały sodowe są miejscem uchwytu szeregu skutecznych leków przeciwpadaczkowych, takich jak fenytoina, karbamazepina czy lamotrygina. Działają one preferencyjnie na kanały sodowe charakteryzujące się wolną inaktywacją w warunkach przedłużonej depolaryzacji towarzyszącej wyładowaniom padaczkowym, a przez to hamują

powstawanie oraz rozprzestrzenianie się potencjałów czynnościowych [49].

Napady związane z mutacjami genów kodujących podjednostki kanałów sodowych: $\alpha 1$ (*SCN1A*), $\alpha 2$ (*SCN2A*) oraz $\beta 1$ (*SCN1B*), prowadzą do wystąpienia łagodnych rodzinnych drgawek noworodków i niemowląt (*benign familial neonatal-infantile seizures* – BFNIS), trzech postaci klinicznych uogólnionej padaczki z drgawkami gorączkowymi (*generalized epilepsy with febrile seizures plus* – GEFS+): GEFS+1, GEFS+2, GEFS+4, oraz najcięższego fenotypu w spektrum GEFS+, jakim jest zespół Dravet (*severe myoclonic epilepsy in infancy* – SMEI). Większość mutacji prowadzi do utraty funkcji kanału sodowego. Przykładem mogą być mutacje genu *SCN2A*, zidentyfikowane u chorych z BFNIS i GEFS+4, mutacje genu *SCN1B* (*locus FEB+1*) u chorych z GEFS+1, a także mutacje genu *SCN1A* (*locus FEB+2*), odpowiedzialne za ok. 17% przypadków GEFS+2 oraz 10% przypadków sporadycznej formy zespołu Dravet [74–85]. Szereg mutacji *de novo* genu *SCN1A* u chorych z zespołem Dravet jest przyczyną nieprawidłowej sekwencji białka lub jego skrócenia [85,86]. Zidentyfikowane u chorych z GEFS+2 mutacje w sekwencjach kodujących domeny przezbłonowe podjednostki $\alpha 1$ odpowiadają za hamowanie zależnej od napięcia aktywacji kanałów sodowych oraz spadek amplitudy prądów sodowych [87,88]. Substytucje podjednostki $\alpha 1$ w obrębie pętli formującej wewnętrzną ścianę kanału sodowego prowadzą z kolei u chorych z drugą formą kliniczną GEFS+ do nadmiernej funkcji. Obserwowana nadpobudliwość neuronalna wynika ze zwolnienia inaktywacji kanałów sodowych oraz przyspieszenia ich powrotu do stanu wyjściowego [89]. Długotrwała depolaryzacja komórek nerwowych, obniżenie potencjału błonowego oraz generowanie synchronicznych impulsów nerwowych prowadzących do wyładowań padaczkowych u chorych z GEFS+2 może być także skutkiem mutacji w sekwencji kodującej region C-końcowy cytoplazmatycznej domeny podjednostki $\alpha 1$ [90]. Poza stwierdzeniem oddziaływania wykrytych dotychczas mutacji genu *SCN1A* na funkcję kanałów sodowych, nie udało się jednak wytłumaczyć, w jaki sposób zarówno ich nadmierna aktywność, jak i niedoczynność mogą prowadzić do ujawnienia się fenotypu GEFS+. Sugerowano, że może to wynikać z obecności zmienionych receptorów w różnych pod względem lokalizacji i funkcji komórkach nerwowych.

Uwagi końcowe

Jeszcze kilkanaście lat temu nie było znane podłoże genetyczne padaczek idiopatycznych. Wiedza na ten temat jest wysoce specjalistyczna, a dane dotyczące patomechanizmów molekularnych są wynikiem szeroko zakrojonych badań genetycznych i elektrofizjologicznych ostatnich lat. Aczkolwiek większość dziedzicznych form padaczek i zespołów padaczkowych jest uwarunkowana wielogenowo, poznanie zmian fizjologicznych wywołanych przez pojedyncze mutacje umożliwia lepsze zrozumienie związku genotypu z fenotypem. Identyfikacja zaburzeń genetycznych odpowiedzialnych za wystąpienie objawów klinicznych rodzinnych postaci padaczek idiopatycznych odgrywa istotną rolę nie tylko w zrozumieniu patofizjologii tej choroby, ale ma również zastosowanie praktyczne. Umożliwia ona wprowadzenie nowoczesnej klasyfikacji padaczek z uwzględnieniem istniejącego stanu wiedzy na temat ich podłoża molekularnego, ułatwia trafną diagnozę oraz bardziej racjonalną terapię poprzez wprowadzenie leków selektywnie wpływających na aktywność kanałów jonowych.

Opisane typy padaczek uwarunkowanych dysfunkcją kanałów jonowych mogą służyć jako model do dalszych poszukiwań wyjaśniających patogenezę padaczek idiopatycznych. Różnorodne formy kliniczne ADNFLE obserwowane w badanych rodzinach tłumaczy się występowaniem mutacji genów dla tej samej lub różnych podjednostek wchodzących w skład neuronalnego receptora acetylocholino. Przeprowadzona w ostatnim okresie analiza PET z użyciem radioliganda wykazała, że u 8 chorych będących nosicielami różnych mutacji nAChR, pochodzących z 4 krajów, w tym z Polski, występują istotne zmiany w rozmieszczeniu receptorów w obrębie poszczególnych struktur mózgu, czego nie zaobserwowano w przypadku osób zdrowych [91]. Najważniejsza różnica, polegająca na wzroście zagęszczenia receptorów acetylocholino u osób chorych, dotyczyła śródmózgowia. Badanie PET z użyciem fluorodeoksyglukozy potwierdziło zmniejszenie liczby nAChR w prawym przedczołowym obszarze korowym u wszystkich chorych [91]. Wynik ten pozostaje w zgodzie z kliniczną diagnozą padaczki płata czołowego i jednocześnie tłumaczy pierwotnie ogniskowy typ napadów u osób z ADNFLE.

Dla zachowania prawidłowego poziomu pobudliwości neuronalnej istotna jest równowaga pomiędzy pobudzeniem i hamowaniem synaptycznym. Równowagę taką zapewnia m.in. organizacja sieci neuronalnej, której głównymi elementami są glutaminianergiczne komórki

podstawowe i GABA-ergiczne interneurony. Zastosowanie technik biologii molekularnej, a zwłaszcza klonowania i ukierunkowanej mutagenyzy oraz nowoczesnych technik elektrofizjologicznych, w tym metody *patch clamp*, okazało się nadzwyczaj owocne w celu poznania właściwości zmutowanych form receptorów. Eksperymenty przeprowadzone w warunkach *in vitro* umożliwiły określenie różnorodnych efektów funkcjonalnych większości mutacji genów zidentyfikowanych dotychczas u chorych z padaczkami idiopatycznymi. Wpływ mutacji genów kodujących podjednostki kanałów jonowych na występowanie napadów padaczkowych u chorych wiąże się z zaburzeniem proporcji uwalnianych neuroprzekazników, pobudzających oraz hamujących, a to z kolei pozwala na rozprzestrzenienie się wyładowań w następstwie synchronicznej stymulacji neuronów. Badania genetyczne pozwalają na precyzyjne ustalenie rozpoznania i w konsekwencji uotwierają drogę dla bardziej racjonalnej profilaktyki i terapii padaczek.

Oświadczenie

Autorzy zgłaszają brak konfliktu interesów.

Piśmiennictwo

1. Baraister M. The genetics of neurological disorders. W: Motulsky A.G., Bobrow M., Harper P.S., Scriver C. [red.]. Oxf. Monogr. Med. Genet. Oxford University Press, New York 1990.
2. Zieliński J. Epidemiology and medical and social problems of epilepsy in Warsaw. Final report on research program No. 19-P-58325-F-01. DHEW Social and Rehabilitation Service, Washington 1974.
3. Hauser W.A. Seizure disorders: the changes with age. *Epilepsia* 1992; 33 (supl. 4): 6-14.
4. Connor M., Ferguson-Smith M. Essential medical genetics. Blackwell Science Ltd., Oxford 2000.
5. Commission on Classification and Terminology of the International League Against Epilepsy. Proposal for revised classification of epilepsies and epileptic syndromes. *Epilepsia* 1989; 30: 389-399.
6. Gourfinkel-An I., Baulac S., Nabbout R. i wsp. Monogenic idiopathic epilepsies. *Lancet Neurol* 2004; 3: 209-218.
7. Guerrini R., Casari G., Marini C. The genetic and molecular basis of epilepsy. *Trends Mol Med* 2003; 9: 300-306.
8. Zawilska J. Receptory – uwagi wstępne, klasyfikacja. W: Nowak J., Zawilska J. [red.]. Receptory i mechanizmy przekazywania sygnału. PWN, Warszawa 2004.
9. Nicholls J.G., Wallace B.G., Fuchs P.A. i wsp. From neuron to brain. 4th edition. Sinauer Associates, Sunderland 2001.
10. Auerbach A., Akk G. Desensitization of mouse nicotinic acetylcholine receptor channels. A two-gate mechanism. *J General Physiol* 1998; 112: 181-197.

11. Unwin N. Acetylcholine receptor channel imaged in the open state. *Nature* 1995; 373: 37-43.
12. Kao P, Karlin A. Acetylcholine receptor binding site contains a disulfide crosslink between adjacent half-cystinyl residues. *J Biol Chem* 1986; 261: 8085-8088.
13. Skangiel-Kramska J. Receptory cholinergiczne. W: Nowak J, Zawilska J. [red.]. Receptory i mechanizmy przekazywania sygnału. PWN, Warszawa 2004.
14. Role L.W., Berg D.K. Nicotinic receptors in the development and modulation of CNS synapses. *Neuron* 1996; 16: 1077-1085.
15. Summers K.L., Giacobini E. Effects of local and repeated systemic administration of (-) nicotine on extracellular levels of acetylcholine, norepinephrine, dopamine, and serotonin in rat cortex. *Neurochem Res* 1995; 20: 753-759.
16. Vernino S., Amador M., Luetje C.W. i wsp. Calcium modulation and high calcium permeability of neuronal nicotinic acetylcholine receptors. *Neuron* 1992; 8: 127-134.
17. Couturier S., Bertrand D., Matter J.M. i wsp. A neuronal nicotinic acetylcholine receptor subunit (alpha 7) is developmentally regulated and forms a homo-oligomeric channel blocked by alpha-BTX. *Neuron* 1990; 5: 847-856.
18. Scheffer I.E., Bhatia K.P., Lopes-Cendes I. i wsp. Autosomal dominant frontal epilepsy misdiagnosed as sleep disorder. *Lancet* 1994; 343: 515-517.
19. Picard F, Bertrand S., Steinle O.K. i wsp. Mutated nicotinic receptors responsible for autosomal dominant nocturnal frontal lobe epilepsy are more sensitive to carbamazepine. *Epilepsia* 1999; 40: 1198-1209.
20. Matsushima N., Hirose S., Iwata H. i wsp. Mutation (Ser284Leu) of neuronal nicotinic acetylcholine receptor $\alpha 4$ subunit associated with frontal lobe epilepsy causes faster desensitization of the rat receptor expressed in oocytes. *Epilepsy Res* 2002; 48: 181-186.
21. Kuryatov A., Gerzanich V., Nelson M. i wsp. Mutation causing autosomal dominant nocturnal frontal lobe epilepsy alters Ca^{2+} permeability, conductance, and gating of human $\alpha 4\beta 2$ nicotinic acetylcholine receptors. *J Neurosci* 1997; 17: 9035-9047.
22. Steinle O.K., Mulley J.C., Propping P. i wsp. A missense mutation in the neuronal nicotinic acetylcholine receptor $\alpha 4$ subunit is associated with autosomal dominant nocturnal frontal lobe epilepsy. *Nat Genet* 1995; 11: 201-203.
23. Saenz A., Galan J., Caloustian C. i wsp. Autosomal dominant nocturnal frontal lobe epilepsy in a Spanish family with a Ser252Phe mutation in the CHRNA4 gene. *Arch Neurol* 1999; 56: 1004-1009.
24. Steinle O.K., Stoedt J., Mulley J. i wsp. Independent occurrence of the CHRNA4 Ser248Phe mutation in Norwegian family with nocturnal frontal lobe epilepsy. *Epilepsia* 2000; 41: 529-535.
25. McLellan A., Phillips H.A., Rittey C. i wsp. Phenotypic comparison of two Scottish families with mutations in different genes causing autosomal dominant nocturnal frontal lobe epilepsy. *Epilepsia* 2003; 44: 613-617.
26. Hirose S., Iwata H., Akiyoshi H. i wsp. A novel mutation of CHRNA4 responsible for autosomal dominant nocturnal frontal lobe epilepsy. *Neurology* 1999; 53: 1749-1753.
27. Phillips H.A., Marini C., Scheffer I.E. i wsp. A de novo mutation in sporadic nocturnal frontal lobe epilepsy. *Ann Neurol* 2000; 48: 264-267.
28. Won Cho Y., Motamedi G.K., Lesser R.P. i wsp. Autosomal dominant nocturnal partial epilepsy (ADNPE) in a Korean kindred. *Epilepsia* 2002; 42 (supl. 7): 21.
29. Różycka A., Skorupska E., Kostyrko A. i wsp. Evidence for S284L mutation of the CHRNA4 in a white family with autosomal dominant nocturnal frontal lobe epilepsy. *Epilepsia* 2003; 44: 1113-1117.
30. Chen Y., Wu L., Fang Y. i wsp. A novel mutation of the nicotinic acetylcholine receptor gene CHRNA4 in sporadic nocturnal frontal lobe epilepsy. *Epilepsy Res* 2009; 83: 152-156.
31. Bertrand D., Elmslie F., Hughes E. i wsp. The CHRNA2 mutation I312M is associated with epilepsy and distinct memory deficits. *Neurobiol Dis* 2005; 20: 799-804.
32. Rodrigues-Pinguet N., Jia L., Li M. i wsp. Five ADNFLE mutations reduce the Ca^{2+} dependence of the mammalian $\alpha 4\beta 2$ acetylcholine response. *J Physiol* 2003; 550: 11-26.
33. Rodrigues-Pinguet N., Pinguet T.J., Figl A. i wsp. Mutations linked to autosomal dominant nocturnal frontal lobe epilepsy affect allosteric Ca^{2+} activation of the $\{\alpha\}_4\{\beta\}_2$ nicotinic acetylcholine receptor. *Mol Pharmacol* 2005; 68: 487-501.
34. Galzi J.L., Bertrand S., Corringer P.J. i wsp. Identification of calcium binding sites that regulate potentiation of a neuronal nicotinic acetylcholine receptor. *EMBO J* 1996; 15: 5824-5832.
35. von Krosigk M., Bal T., McCormick D.A. Cellular mechanisms of a synchronized oscillation in the thalamus. *Science* 1993; 261: 361-364.
36. Guipponi M., Baldy-Moulinier M., Malafosse A. A $\beta 1$ polymorphism in the human neuronal nicotinic acetylcholine receptor $\alpha 4$ subunit gene. *Clin Genet* 1997; 51: 78-79.
37. Steinle O.K., Sander T., Stoedt J. i wsp. Possible association of a silent polymorphism in the neuronal nicotinic acetylcholine receptor subunit $\alpha 4$ with common idiopathic generalized epilepsies. *Am J Med Genet* 1997; 74: 445-449.
38. Dorszewska J., Florczak J., Różycka A. i wsp. Polymorphisms of the CHRNA4 gene encoding the $\alpha 4$ subunit of nicotinic acetylcholine receptor as related to the oxidative DNA damage and the level of apoptotic proteins in lymphocytes of the patients with Alzheimer's disease. *DNA Cell Biol* 2005; 24: 786-794.
39. Różycka A., Steinborn B., Trzeciak W.H. The 1674+11C>T polymorphism of CHRNA4 is associated with juvenile myoclonic epilepsy. *Seizure* 2009; 18: 601-603.
40. Haug K., Warnstedt M., Alekov A.K. i wsp. Mutations in CLCN2 encoding a voltage-gated chloride channel are associated with idiopathic generalized epilepsies. *Nat Genet* 2003; 33: 527-532.
41. Suzuki T., Delgado-Escueta A.V., Aguan K. i wsp. Mutations in EFHC1 cause juvenile myoclonic epilepsy. *Nat Genet* 2004; 36: 842-849.
42. Chen Y., Lu J., Pan H. i wsp. Association between genetic variation of CACNA1H and childhood absence epilepsy. *Ann Neurol* 2003; 54: 239-243.
43. Taske N.L., Williamson M.P., Makoff A. i wsp. Evaluation of the positional candidate gene CHRNA7 at the juvenile myoclonic epilepsy locus (EJM2) on chromosome 15q13-14. *Epilepsy Res* 2002; 49: 157-172.
44. Escayg A., De Waard M., Lee D.D. i wsp. Coding and non-coding variation of the human calcium-channel $\beta 4$ -subunit gene

- CACNB4 in patients with idiopathic generalized epilepsy and episodic ataxia. *Am J Hum Genet* 2000; 66: 1531-1539.
45. Neubauer B.A., Fiedler B., Himmelein B. i wsp. Centrotemporal spikes in families with rolandic epilepsy: linkage to chromosome 15q14. *Neurology* 1998; 51: 1608-1612.
 46. Cossette P., Liu L., Brisebois K. i wsp. Mutation of GABRA1 in an autosomal dominant form of juvenile myoclonic epilepsy. *Nat Genet* 2002; 31: 184-189.
 47. Krampfl K., Majjevic S., Cossette P. i wsp. Molecular analysis of the A322D mutation in the GABAA receptor $\alpha 1$ – subunit causing juvenile myoclonic epilepsy. *Eur J Neurosci* 2005; 22: 10-20.
 48. Mehta M.K., Ticku M.K. An update on GABAA receptors. *Brain Res Rev* 1999; 29: 196-217.
 49. Czapiński P., Błaszczyk B., Czuczwar S.J. Mechanism of action of antiepileptic drugs. *Curr Top Med Chem* 2005; 5: 3-14.
 50. Bialer M., Johannessen S.I., Kupferberg H.J. i wsp. Progress report on new antiepileptic drugs: a summary of the Sixth Eilat Conference (EILAT VI). *Epilepsy Res* 2002; 51: 31-71.
 51. Lasoń W. Receptorowe mechanizmy działania leków przeciwpadaczkowych. W: Józwiak S. [red.]. Postępy w diagnostyce i leczeniu chorób układu nerwowego u dzieci. *Biforium*, Lublin 2004, ss. 11-21.
 52. Wallace R.H., Marini C., Petrou S. i wsp. Mutant GABAA receptor $\gamma 2$ -subunit in childhood absence epilepsy and febrile seizures. *Nat Genet* 2001; 28: 49-52.
 53. Bowser D.N., Wagner D.A., Czajkowski C. i wsp. Altered kinetics and benzodiazepine sensitivity of a GABAA receptor subunit mutation [$\gamma 2$ (R43Q)] found in human epilepsy. *Proc Natl Acad Sci USA* 2002; 99: 15170-15175.
 54. Sieghart W., Sperk G. Subunit composition, distribution and function of GABA(A) receptor subtypes. *Curr Top Med Chem* 2002; 2: 795-816.
 55. Sik A., Smith R.L., Freund T.F. Distribution of chloride channel-2-immunoreactive neuronal and astrocytic processes in the hippocampus. *Neuroscience* 2000; 101: 51-65.
 56. Baulac S., Huberfeld G., Gourfinkel-An I. i wsp. First genetic evidence of GABAA receptor dysfunction in epilepsy: a mutation in the $\gamma 2$ subunit gene. *Nat Genet* 2001; 28: 46-48.
 57. Marini C., Harkin L.A., Wallace R.H. i wsp. Childhood absence epilepsy and febrile seizures: a family with a GABA(A) receptor mutation. *Brain* 2003; 126: 230-240.
 58. Janz D., Beck-Mannagetta G., Sander T. Do idiopathic generalized epilepsies share a common susceptibility gene? *Neurology* 1992; 42: 48-55.
 59. Bate L., Gardiner M. Molecular genetics of human epilepsies. *Expert Rev Mol Med* 1999; 10: 1-22.
 60. Cooper E.C., Jan L.Y. M-channels: neurological diseases, neuromodulation, and drug development. *Arch Neurol* 2003; 60: 496-500.
 61. Wang H.S., Pan Z., Shi W. i wsp. KCNQ2 and KCNQ3 potassium channel subunits: molecular correlates of the M-channel. *Science* 1998; 282: 1890-1893.
 62. Schwake M., Pusch M., Kharkovets T. i wsp. Surface expression and single channel properties of KCNQ2/KCNQ3. M-type K⁺ channels involved in epilepsy. *J Biol Chem* 2000; 275: 13343-13348.
 63. Singh N.A., Charlier C., Stauffer D. i wsp. A novel potassium channel gene, KCNQ2, is mutated in an inherited epilepsy of newborns. *Nat Genet* 1998; 18: 25-29.
 64. Dedek K., Fusco L., Teloy N. i wsp. Neonatal convulsions and epileptic encephalopathy in an Italian family with a missense mutation in the fifth transmembrane region of KCNQ2. *Epilepsy Res* 2003; 54: 21-27.
 65. Hirose S., Zenri F., Akiyoshi H. i wsp. A novel mutation of KCNQ3 (c.925T→C) in a Japanese family with benign familial neonatal convulsions. *Ann Neurol* 2000; 47: 822-826.
 66. Claes L.R., Ceulemans B., Audenaert D. i wsp. De novo KCNQ2 mutations in patients with benign neonatal seizures. *Neurology* 2004; 63: 2155-2158.
 67. Richards M.C., Heron S.E., Spendlove H.E. i wsp. Novel mutations in the KCNQ2 gene link epilepsy to a dysfunction of the KCNQ2-calmodulin interaction. *J Med Genet* 2004; 41: 35.
 68. Catterall W.A. Structure and regulation of voltage-gated Ca²⁺ channels. *Ann Rev Cell Dev Biol* 2000; 16: 521-555.
 69. Imbrici P., Jaffe S.L., Eunson L.H. i wsp. Dysfunction of the brain calcium channel CaV2.1 in absence epilepsy and episodic ataxia. *Brain* 2004; 127: 2682-2692.
 70. Jouvenceau A., Eunson L.H., Spauschus A. i wsp. Human epilepsy associated with dysfunction of the brain P/Q-type calcium channel. *Lancet* 2001; 358: 801-807.
 71. Steinlein O.K. Channelopathies can cause epilepsy in man. *Eur J Pain* 2002; 6 (supl. A): 27-34.
 72. Perucca E. An introduction to antiepileptic drugs. *Epilepsia* 2005; 46 (supl. 4): 31-37.
 73. Goldin A.L. Mechanisms of sodium channel inactivation. *Curr Opin Neurobiol* 2003; 3: 284-290.
 74. Heron S.E., Crossland K.M., Andermann E. i wsp. Sodium-channel defects in benign familial neonatal infantile seizures. *Lancet* 2002; 360: 851-852.
 75. Sugawara T., Tsurubuchi Y., Agarwala K.L. i wsp. A missense mutation of the Na⁺ channel α II subunit gene Na(v)1.2 in a patient with febrile and afebrile seizures causes channel dysfunction. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001; 98: 6384-6389.
 76. Wallace R.H., Scheffer I.E., Parasivam G. i wsp. Generalized epilepsy with febrile seizures plus: mutation of the sodium channel subunit SCN1B. *Neurology* 2002; 58: 1426-1429.
 77. Audenaert D., Claes L., Ceulemans B. i wsp. A deletion in SCN1B is associated with febrile seizures and early-onset absence epilepsy. *Neurology* 2003; 61: 854-856.
 78. Wallace R.H., Wang D.W., Singh R. i wsp. Febrile seizures and generalized epilepsy associated with a mutation in the Na⁺-channel $\beta 1$ subunit gene SCN1B. *Nat Genet* 1998; 19: 366-370.
 79. Scheffer I.E., Harkin L.A., Grinton B.E. i wsp. Temporal lobe epilepsy and GEFS+ phenotypes associated with SCN1B mutations. *Brain* 2007; 130: 100-109.
 80. Wallace R.H., Scheffer I.E., Barnett S. i wsp. Neuronal sodium-channel $\alpha 1$ -subunit mutations in generalized epilepsy with febrile seizures plus. *Am J Hum Genet* 2001; 68: 859-865.
 81. Ito M., Nagafuji H., Okazawa H. i wsp. Autosomal dominant epilepsy with febrile seizures plus with missense mutations of the sodium-channel $\alpha 1$ subunit gene, SCN1A. *Epilepsy Res* 2002; 48: 15-23.

82. Annesi G., Gambardella A., Carrideo S. i wsp. Two novel SCN1A missense mutations in generalized epilepsy with febrile seizures plus. *Epilepsia* 2003; 44: 1257-1258.
83. Mulley J.C., Scheffer I.E., Petrou S. i wsp. SCN1A mutations and epilepsy. *Hum Mutat* 2005; 25: 535-542.
84. Claes L., Ceulemans B., Audenaert D. i wsp. De novo mutations in the sodium-channel gene SCN1A cause severe myoclonic epilepsy of infancy. *Am J Hum Genet* 2001; 68: 1327-1332.
85. Nabbout R., Gennaro E., Dalla Bernardina B. i wsp. Spectrum of SCN1A mutations in severe myoclonic epilepsy of infancy. *Neurology* 2003; 60: 1961-1967.
86. Rhodes T.H., Lossin C., Vanoye C.G. i wsp. Non-inactivating voltage-gated sodium channels in severe myoclonic epilepsy of infancy. *Proc Natl Acad Sci USA* 2004; 101: 11147-11152.
87. Spampinato J., Escayg A., Meisler M.H. i wsp. Generalized epilepsy with febrile seizures plus type 2 mutation W1204R alters voltage-dependent gating of Nav1.1 sodium channels. *Neuroscience* 2003; 116: 37-48.
88. Cossette P., Loukas A., Lafreniere R.G. i wsp. Functional characterization of the D188V mutation in neuronal voltage-gated sodium channel causing generalized epilepsy with febrile seizures plus (GEFS). *Epilepsy Res* 2003; 53: 107-111.
89. Spampinato J., Escayg A., Meisler M.H. i wsp. Functional effects of two voltage-gated sodium channel mutations that cause generalized epilepsy with febrile seizures plus type 2. *J Neurosci* 2001; 21: 7481-7490.
90. Li N., Zhang J., Guo J.F. i wsp. Novel mutation of SCN1A in familial generalized epilepsy with febrile seizures plus. *Neurosci Lett* 2010; 480: 211-214.
91. Picard F., Bruel D., Servent D. i wsp. Alteration of the in vivo nicotinic receptor density in ADNFLE patients: a PET study. *Brain* 2006; 129: 2047-2060.