

doi: 10.14735/amcsnn20208

# Role zánětu v etiopatogenezi farmakorezistentní epilepsie a refrakterního status epilepticus

## The role of inflammation in etiopathogenesis of pharmacoresistant epilepsy and refractory status epilepticus

### Souhrn

Zánět mozku představuje jeden z hlavních substrátů farmakorezistentní epilepsie různé etiologie a může přímo ovlivnit neuronální excitabilitu. Neuromodulační schopnosti některých prozánětlivých molekul (cytokinů, chemokinů) mohou být odpovědné za hyperexcitabilitu v neuronálních sítích. Vztah zánětu a epilepsie je reciproční. Zánětlivé procesy v mozku se mohou účastnit na spouštění záchvatové aktivity a zároveň mohou být následkem pokračujících záchvatů. Farmakologické studie na zvířecích modelech cílené na systémy IL-1 $\beta$ /IL-1R1, HMGB1/TLR4 a COX-2/prostaglandiny prokazují, že tyto zánětlivé kaskády mají významný podíl na spouštění a opakování záchvatové aktivity. Status epilepticus (SE) vede k rozvoji zánětlivých procesů, které mohou být detekovány v mozkové tkáni, mozkomíšním moku i séru. Prolongované záchvaty a SE vedou k rychlé a dlouhotrvající aktivaci specifických zánětlivých kaskád v těch oblastech mozku, které odpovídají epileptogenní zóně. Pochopení komplexní role zánětu při vzniku a exacerbaci epilepsie a rozvoji farmakorezistence je zásadním předpokladem možnosti identifikace nových molekulárních cílů, které by se mohly uplatnit v léčbě těchto pacientů.

### Abstract

Brain inflammation represents a common substrate of pharmacoresistant epilepsy of different etiologies and it can directly affect neuronal excitability. Neuromodulatory properties of some proinflammatory molecules (cytokines, chemokines) may be responsible for hyperexcitability in neuronal networks. The relation between inflammation and epilepsy is reciprocal. The inflammatory processes in the brain may participate in initiating seizure activity and simultaneously they may be a consequence of the recurrence of the seizures. Pharmacological studies on experimental models focused on IL-1 $\beta$ /IL-1R1, HMGB1/TLR4 and COX-2/prostaglandin systems demonstrate that these inflammatory pathways significantly in triggering and recurring seizure activity. Status epilepticus (SE) leads to development of inflammatory processes which can be detected in brain tissue, cerebrospinal fluid and blood serum. Prolonged seizures and SE lead to fast and prolonged activation of specific inflammatory pathways in brain areas accordant with the epileptogenic zone. Understanding the complex role of inflammation in the generation and exacerbation of epilepsy and development of pharmacoresistance in epilepsy is crucial for the identification of new molecular targets for therapeutic intervention in these patients.

Redakční rada potvrzuje, že rukopis práce splnil ICMJE kritéria pro publikace zasílané do biomedicínských časopisů.

The Editorial Board declares that the manuscript met the ICMJE "uniform requirements" for biomedical papers.

Š. Aulická<sup>1-3</sup>, K. Česká<sup>1</sup>, J. Šána<sup>2,4</sup>, T. Loja<sup>2</sup>, P. Jabandžiev<sup>2,5</sup>, J. Papež<sup>5</sup>, P. Danhofer<sup>1</sup>, H. Vinohradská<sup>6</sup>, I. Doležalová<sup>7</sup>, M. Brázdil<sup>7</sup>, P. Štourač<sup>8</sup>, H. Ošlejšková<sup>1</sup>, O. Slabý<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Centrum pro epilepsie Brno, Klinika dětské neurologie LF MU a FN Brno

<sup>2</sup> Výzkumná skupina Ondřeje Slabého – Středoevropský technologický institut (CEITEC)

<sup>3</sup> Klinika dětské onkologie LF MU a FN Brno

<sup>4</sup> Klinika komplexní onkologické péče, Masarykův onkologický ústav, Brno

<sup>5</sup> Pediatrická klinika LF MU a FN Brno

<sup>6</sup> Oddělení klinické biochemie, FN Brno

<sup>7</sup> Centrum pro epilepsie Brno, I. neurologická klinika LF MU a FN u sv. Anny v Brně

<sup>8</sup> Klinika dětské anesteziologie a resuscitace LF MU a FN Brno



**MUDr. Štefánia Aulická, Ph.D.**  
Centrum pro epilepsie Brno  
Klinika dětské neurologie  
LF MU a FN Brno  
Černopolní 9  
613 00 Brno  
e-mail: stefania.aulicka@gmail.com

Přijato k recenzi: 20. 3. 2019

Přijato do tisku: 11. 12. 2019

### Klíčová slova

farmakorezistentní epilepsie – refrakterní status epilepticus – cytokiny – chemokiny – polymorfizmy

### Key words

pharmacoresistant epilepsy – refractory status epilepticus – cytokines – chemokines – polymorphisms

## Úvod

Zánět je stereotypní odpověď lidského organismu na infekci nebo poškození tkání a reprezentuje klíčový homeostatický endogenní mechanismus, který vede k uzdravení a reparaci. Pokud není tato zánětlivá odpověď dostatečně regulována endogenními protizánětlivými mechanismy, může mít škodlivé účinky. Nedostatečná endogenní protizánětlivá odpověď byla prokázána také v mozku pacientů v průběhu rekurentních záchvatů a status epilepticus (SE) [1]. Zásadní otázkou v patofyziologických následcích zánětu indukovaného SE jsou možnosti promptní intervence, které jsou studovány na zvířecích modelech. Zjišťuje se, jakým způsobem daný zásah do zánětlivých kaskád ovlivní dlouhodobé následky SE (ztrátu neuronů, behaviorální změny, rozvoj epilepsie, mortalitu atd.). Hlavním smyslem těchto studií je skutečnost, že zánětlivé kaskády a molekuly jsou potenciálním cílem nového terapeutického postupu v léčbě SE.

Zánětlivé procesy v mozku se mohou účastnit na spouštění SE a na druhé straně

mohou být následkem pokračujících záchvatů. Vztah zánětu a epilepsie je tedy reciproční. Na zvířecích modelech bylo prokázáno, že zánět, který se objeví v mozku v průběhu SE, hraje rozhodující úlohu v pokračování záchvatů a jejich dlouhodobých škodlivých následcích nezávislých na infekční či autoimunitní příčině. Zánět je následkem, ale i usnadněním pokračování záchvatu [1].

I přes pokroky v diagnostice a terapii epilepsie zůstává přibližně 30 % pacientů farmakorezistentních. Farmakorezistentní epilepsie je definována jako epilepsie, u níž se nepodaří dlouhodobě plně kompenzovat pacienta za použití dvou vhodně zvolených antiepileptik v adekvátních terapeutických dávkách – v monoterapii nebo kombinované terapii. Jenom části těchto pacientů lze nabídnout kurativní epileptochirurgické řešení či jiné možnosti nefarmakologické léčby (stimulace nervus vagus [SNV], ketogenní dieta [KD] atd.). Soudobá terapie se omezuje na potlačování symptomů onemocnění, tedy epileptických záchvatů,

a neumožňuje odstranění příčiny (s výjimkou epileptochirurgie) nebo prevenci jeho vzniku u pacientů, kteří jsou riziková z důvodu genetické predispozice či prodělaného neurologického inzultu. Nové terapeutické postupy by v budoucnosti měly nabídnout širokou škálu možností respektujících specifika jednotlivých forem epilepsií i individuální rozdíly mezi pacienty s ohledem na vývoj a prognózu onemocnění [2].

Z těchto důvodů je cílem výzkumu v epileptologii snaha vyvinout léky, které by nejenom potlačovaly záchvaty, ale v ideálním případě fungovaly jako medikace tlumící proces epileptogeneze (proces vedoucí ke vzniku epilepsie), léky modifikující průběh onemocnění (disease-modifying drugs; DMD) a léky zabraňující postupujícímu procesu neurodegenerace či rozvoji farmakorezistence.

Aktuálně probíhají studie zkoumající tyto procesy na různých molekulárních úrovních (DNA, RNA, mikro-RNA, zánětlivých molekul a jejich kaskád, proteomiky atd.). Cílem této práce je poskytnout přehled problematiky a nastínit její význam pro budoucí rozvoj léčebných možností u epilepsie.

**Tab. 1. Souhrn mechanismů ovlivnění neuronální excitability mediátory zánětu (cytokiny, chemokiny, porucha HEB) [4–14].**

IL-1 $\beta$	<p>↑ uvolňování a ↓ vychytávání glutamátů v astrocytech, ↓ GABAerní neurotransmise → neuronální hyperexcitabilita; uvolnění dalších prozánětlivých cytokinů: IL-6, IL-8 cestou indukce genové transkripce</p>
TNF $\alpha$	<p>↑ uvolňování glutamátů v mikroglia; upregulace AMPA receptorů; organizace excitačních/inhibičních synapsí</p>
IL-6	<p>↑ expozice IL-6 v prenatálním období (možný transplacentární přenos) vede k neurodegeneraci hipokampu (narušuje strukturu i morfologii HIPP bilat.) → hyperexcitabilita HIPP a progresse epileptogeneze (spolupodíl ↑ IL-6 a ↑ IL-1<math>\beta</math>)</p>
prostaglandiny (PGE2)	<p>vazba PGE2 na receptor EP2 (astrocyty) zvyšuje uvolňování glutamátu z astrocytů (hyperexcitace) a vede k indukci apoptózy</p>
TLR 1,2,3; transmembránové glykoproteiny	<p>stimulace TLR zánětlivých kaskád vede k indukci sekrece cytokinů (IL-1<math>\beta</math>, IL-6, TNF-<math>\alpha</math>) → rozvoj neuro-zánětu a ovlivnění neuronální excitability; aktivace TLR3 vede k hyperexcitabilitě v oblasti HIPP</p>
HMGB1 (jádrový protein)	<p>prokonvulzivní efekt HMGB1 je zprostředkován jeho vazbou na NMDA receptor a interakcí s TLR4 aktivace zánětlivé kaskády HMGB1-TLR4 může vést ke generalizaci záchvatů</p>
chemokiny	<p>ovlivnění neuronální excitability přes modulaci napěťově řízených iontových kanálů</p>
porucha HEB	<p>porucha HEB vede k indukci epileptogeneze a podporuje generalizaci záchvatů</p>
<p>HEB – hematoencefalická bariéra; HMGB1 – high mobility group box 1; TLR – Toll-like receptory</p>	

## Etiopatogenetické mechanismy

Studie na experimentální i klinické úrovni prokazují, že v procesu epileptogeneze, spouštění/opakování záchvatové aktivity a rozvoji farmakorezistence epilepsie sehrávají významnou roli zánětlivé kaskády: IL-1 $\beta$ /IL-1R1, HMGB1/TLR4, COX-2/prostaglandiny, chemokiny a porucha hematoencefalické bariéry (HEB) (tab. 1).

### Zánětlivá kaskáda systému IL-1 $\beta$ /IL-1RA

IL-1 $\beta$  je hlavní cytokin, který se podílí na zprostředkování zánětlivé odpovědi (uvolněním dalších prozánětlivých cytokinů) a má prokonvulzivní efekt. Jeho přirozený antagonist IL-1RA (antagonista receptoru IL-1) má naopak antikonvulzivní efekt a podílí se na protizánětlivé autoregulaci [3].

IL-1 $\beta$  vede cestou indukce genové transkripce k uvolnění dalších prozánětlivých cytokinů (IL-6, IL-8), které dále cestou intracelulární transdukce vedou k ovlivnění genové transkripce. Takto se spouští kaskáda zánětlivých procesů v CNS, které vedou ke zvýšené excitabilitě a rozvoji záchvatové aktivity. Za normálních okolností je IL-1RA uvolňován v mnohem vyšších koncentracích v poměru k IL-1 $\beta$ , a proto nedochází k masivnímu uvolnění prozánětlivých cytokinů, které pronikají přes HEB a vedou k hyperexcitabilitě mozku.

V případě abnormalit systému IL-1 (často na genetickém podkladě, tzv. polymorfismy interleukinového systému) dochází k nízkému poměru IL-1RA/IL-1, a to mechanismem masivního uvolnění IL-1 $\beta$ , inadekvátním uvolňováním IL-1RA a/nebo nedostatečnou vazbou IL-1RA k receptoru pro IL-1 $\beta$  [3].

K hyperexcitabilitě neuronů na podkladě nadměrné aktivace IL-1 $\beta$  dochází několika mechanismy [3]:

- aktivace NR2B podjednotky NMDA (N-methyl-D-aspartát) receptoru  $\rightarrow$  výrazný influx Ca<sup>2+</sup>;
- zvýšený influx Ca<sup>2+</sup> do buňky přes aktivaci napěťově řízených Ca<sup>2+</sup> kanálů;
- inhibice efluxu K<sup>+</sup> přes Ca<sup>2+</sup>-K<sup>+</sup> kanály;
- inhibice influxu Cl<sup>-</sup> přes kanály GABA.

### Zánětlivá kaskáda systému

#### HMGB1/TLR4

Marosso et al identifikovali v roce 2010 prozánětlivou kaskádu HMGB1/TLR4 (Toll-like receptor 4), která se podílí na generování a opakování záchvatové aktivity [4].

HMGB1 je jadrový protein uvolňovaný především buňkami glie, který je v průběhu záchvatu (nebo jiného neuronálního poškození) rychle uvolňován do cytoplazmy a následně do intersticiálního prostoru, čímž se spolupodílí na generování kaskády zánětu. Prokonvulzivní efekt HMGB1 je zprostředkován jeho vazbou na NMDA receptor a interakcí s TLR4 receptorem [4].

Toll-like receptory jsou transmembránové glykoproteiny. Záchvatová aktivita vede přes stimulaci TLR k aktivaci zánětlivé kaskády HMGB1/TLR4 s následnou indukci sekrece cytokinů (IL-1 $\beta$ , IL-6, TNF- $\alpha$ ), rozvoji neurozánětu, a tím ovlivnění neuronální excitability. Tímto mechanismem vede aktivace TLR-4 ke snížení záchvatového prahu a tím k chronické hyperexcitabilitě v hipokampálních neuronálních sítích. Na experimentální úrovni byl prokázán antikonvulzivní efekt blokace TLR-4 receptoru. Blokátory TLR-4 receptoru a inhibice prozánětlivé kaskády HMGB1/TLR-4 jsou tedy slibným terapeutickým cílem v léčbě epilepsie [4].

### Zánětlivá kaskáda

#### COX-2/prostaglandiny

Klíčovým enzymem syntézy prostaglandinů je enzym COX, který katalyzuje přeměnu kyseliny arachidonové na prostaglandiny. Podstatou působení nesteroidních antiflogistik je právě inhibice produkce mediátorů zánětu – prostaglandinů. Vazba PGE2 na receptor EP2 (na povrchu astrocytů) vede ke

zvýšenému uvolňování glutamátu (hyperexcitace v neuronálních sítích) a k indukci apoptózy [5].

### Chemokiny

Chemokiny jsou malé molekuly produkované krevními buňkami, které fungují jako chemický atraktant při migraci leukocytů. Nedávné studie prokazují, že chemokiny a jejich receptory jsou produkovány také mozkovými buňkami a účastní se na vzniku některých neurologických onemocnění, vč. epilepsie. Pozornost se soustředí na roli prozánětlivých chemokinů (CCL2, CCR2, CCR5, CX3CL1) a jejich receptorů v kontrole záchvatů [6]. Chemokiny fungují jako „neuro-modulátory“, ovlivňují neuronální excitabilitu přes modulaci napěťově řízených iontových kanálů, regulují průnik leukocytů přes HEB a uvolňování neurotransmiterů [6,7]. Podílejí se na neuronální migraci, proliferaci a modulaci synaptické aktivity v průběhu vývoje mozku. Probíhající studie zjišťují, zda chemokiny a jejich receptory sehrávají klíčovou úlohu v epileptogenezi a zda jsou možným terapeutickým cílem v léčbě epilepsie [6].

### Porucha hematoencefalické bariéry

Klíčovou úlohu v zachování integrity HEB sehrávají 2 systémy: IL-1 $\beta$ /IL-1R1 a COX-2 (cyklooxygenáza 2)/EP2. Porucha HEB vede k indukci epileptogeneze a podporuje generalizaci záchvatů. Vyšetření poruchy HEB se považuje za pomocný biomarker epileptogeneze a prozánětlivé odpovědi mozku [8].

### Klinická data

#### Role zánětu v etiopatogenezi status epilepticus (shrnutí experimentálních a klinických poznatků)

Epileptogenní efekt mediátorů zánětu (neuronální poškození, HEB) je zprostředkován aktivací receptorů pro vazbu IL-1 $\beta$  (IL-1R1), TLR4, receptoru pro pokročilou glykaci konečného produktu (RAGE pro HMGB1) a receptoru pro PGE2 (EP2). Toto jsou hlavní signalizační cesty zánětlivé kaskády v mozku po SE [9].

Chemicky nebo elektricky indukovaný SE vede k intenzivní zánětlivé kaskádě. Bylo prokázáno, že 30–60 min od začátku SE dochází k elevaci IL-1 $\beta$ , IL-6, TNF- $\alpha$  v hipokampu a předním mozku a současně narůstá hladina neuronálního COX-2 proteinu. Tyto změny doprovázejí i morfologické změny (aktivace mikroglie, reaktivace gliózy a infiltrace monocytů) [5,9].

Vliv zánětu na vyvíjející se mozek v průběhu SE byl studován na experimentálním

modelu. Mediátory zánětu hrají roli v normálním vývoji mozku, regulaci neurogeneze a synaptogeneze. Přehnaná zánětlivá odpověď může ohrozit normální vývoj mozku [10].

Zánětlivé procesy mohou vést také k rozvoji febrilního SE (FSE) [11,12]. Autoři Gallentine et al [13] v rámci studie FEBSTAT 2017 zjistili, že nižší poměry IL-1RA/IL-1 $\beta$ , IL-1RA/IL-6 a IL-1RA/IL8 byly asociovány s rozvojem FSE. Dále prokázali signifikantně vyšší hladiny IL-6 a IL-8 a signifikantně nižší poměry IL-1RA/IL-6, IL-1RA/IL8 u dětí s T2 hyperintenzními změnami hipokampu po proběhlém FSE. Nízký poměr IL-1RA/IL-6 měl silně prediktivní hodnotu (95 % dětí) s T2 hyperintenzními změnami hipokampu po FSE, což může představovat potenciální biomarker hipokampálního poškození po proběhlém FSE [13]. Ztráta neuronů v oblasti hipokampu podporuje teorii neurodegenerativního efektu SE na vyvíjející se mozek [11]. U pacientů s FSE byla dále zjištěna elevace hladiny HMGB1 v likvoru a jeho přesun z jádra do cytoplazmy [14].

Dále byly prováděny studie hladin cytokinů v likvoru u refrakterního SE typu FIRES (epileptický syndrom vázaný na febrilní infekt), kde byla nalezena signifikantní elevace hladiny IL-6, IL-8, CXCL10 a HMGB1 v porovnání s pacienty s jiným zánětlivým onemocněním [14,15]. Několik hodin po SE dochází také k extravazaci albuminu následkem poruchy HEB v hipokampech a kortexu [11,13].

### Role zánětu v etiopatogenezi farmakorezistentní epilepsie a jeho význam v epileptogenezi (shrnutí experimentálních a klinických poznatků)

Zánětlivé změny vedou často k rozvoji chronické epilepsie, a to mechanismem snížení záchvatového prahu [1,16].

Role zánětu v generování záchvatů se předpokládá již dlouho, a to na základě klinických zkušeností, ve smyslu promptního efektu imunoterapie (kortikosteroidy, imunoglobuliny, adrenokortikotropní hormon a jiné) u některých epilepsií a epileptických syndromů refrakterních, ke konvenční anti-epileptické terapii (jako je např. Westův syndrom, epilepsie s kontinuálními výboji hrot-vlna, epilepsie s Rasmusenovy encefalidity, NORSE/FIRES [nově vzniklý refrakterní SE/epileptický syndrom vázaný na febrilní infekt] a jiné).

Tuto teorii podporují patologické a imunohistochemické analýzy resekátu pacientů po epileptochirurgii. V resekátech pacientů

po anteromedální temporální resekcí byla prokázána masivní zánětlivá odpověď ve smyslu aktivace mikroglie a astroglie (intenzivní glióza), up-regulace neuronů produkujících IL-1 $\beta$ , HMGB1 a COX-2, aktivace komplementového systému a dalších zánětlivých mediátorů (prozánětlivé chemokiny CCL2, CCL3, CCL4). Dále byla nalezena extravazace albuminu následkem porušené HEB [17]. V astrocytech, monocytech a mikroglii z hipokampů u pacientů s TLE byl nalezen pohyb HMGB1 z jádra do cytoplazmy [4]. Disulfidická izoforma HMGB1 je považována na základě studií na experimentálních modelech za potenciální biomarker epileptogeneze, resp. predikce rekurence epileptické aktivity [18].

Obdobné nálezy byly zaznamenány i u pacientů s epilepsií na podkladě fokální kortikální dysplazie (FCD) či tuberózní sklerózy (TS) [19]. Imunohistochemické analýzy resektátů pacientů s FCD prokazují aktivaci vrozené i získané imunity a odpovídajících zánětlivých kaskád [18]. V kohortě pacientů s FCD II. typu stupeň aktivace mikroglie signifikantně koreluje s trváním epilepsie a frekvencí záchvatů před epileptochirurgickým výkonem. Při porovnání FCD I. a II. typu byly nalezeny signifikantně vyšší hladiny IL-1 $\beta$ , chemokínů, HMGB-1 a aktivace mikroglie u FCD II. typu, což zdůrazňuje význam neurozánětu v etiopatogenezi FCD typu II. Aktivace obdobných zánětlivých kaskád jako u FCD II byla prokázána u epileptogenních kortikálních tuberů v rámci TS [19].

U pacientů s farmakorezistentní epilepsií byly v likvoru nalezeny vysoké koncentrace IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8, TNF $\alpha$ , IL-18, chemokínů (CCL2, CXCL10) a CCR2 (receptor pro CCL2) [1,7,8,18].

Na zvířecích modelech byla prokázána asociace mezi elevací prozánětlivých cytokínů (IL-1 $\beta$ , IL-6), epileptogenezí a vznikem poškození hipokampu.

### **Buněčná složka imunitního systému a neurozáněť u epilepsie**

Pokud porovnáme etiopatogenezi neurozánětu u epilepsie např. s RS, můžeme detekovat hlavní rozdíl v zapojení imunitních mechanismů. V případě RS dochází k aktivaci buněk získané imunity (aktivace především B a T lymfocytů). V případě epilepsie se v zánětlivých procesech uplatňují především buňky vrozené imunity (aktivace mikroglie, astrocytů, ale také monocytů a makrofágů). Hlavní roli v biosyntéze a uvolňování zánětlivých molekul mají aktivované buňky glie. Na zvířecích modelech byla prokázána po-

zitivní korelace mezi aktivací mikroglie a astrocytů a počtem spontánních epileptických záchvatů [18]. K uvolňování zánětlivých molekul přispívají také endotelové buňky HEB. Důležitým poznatkem je, že zánětlivé molekuly (cytokiny, chemokiny) fungují nejenom jako efektor imunitního systému, ale také jako neuromodulátory (vazbou na jejich specifické receptory na povrchu neuronů přímo ovlivňují jejich excitabilitu). Mechanismem snížení záchvatového prahu vedou k navození hyperexcitability mozku. Získaná imunita sehrává úlohu především u autoimunitně podmíněných epilepsií [18,20]. Popis autoimunitně podmíněných epilepsií a uplatnění mechanismů získané imunity v etiopatogenezi epilepsie překračuje rámec předkládaného textu.

### **Neuroradiologické možnosti detekce neurozánětu – neuroradiologické biomarkery zánětlivých procesů**

K objektivizaci zánětlivých změn v průběhu epileptogeneze lze použít MR a PET/SPECT. Aktuálně se preklinické a klinické studie koncentrují na zobrazení mikrovaskulární patologie v souvislosti s poruchou HEB, detekci časných změn v temporálních lalocích po FSE na MR/T2 zobrazení (a jejich korelace s intracelulární translokací HMGB1), neurozobrazování glie pomocí PET a astrocytů metodou PET/SPECT (biomarkery epileptogeneze) a jiné. Probíhá testování validity zobrazovacích biomarkerů v procesu epileptogeneze a vzniku farmakorezistence na preklinické a klinické úrovni [21]. Popis principu jednotlivých metod přesahuje rámec předkládaného textu.

### **Současné možnosti terapeutického ovlivnění zánětlivé odpovědi a experimentální možnosti imunomodulační terapie**

Imunoterapie je v současnosti rutinně používána v terapii epilepsií s předpokládanou imunitně zprostředkovanou patogenezi, jako jsou např. Rasmussenova encefalitida, anti-NMDA encefalitida, NORSE/FIRES a jiné. Mezi standardně používané léky k ovlivnění zánětlivé odpovědi v epileptologii patří kortikoidy a adrenokortikotropní hormon (ACTH), které patří k lékům první linie v léčbě infantilních spazmů (Westův syndrom). Terapeutický efekt byl popsán také u epileptických encefalopatií jako jsou např. Lenox-Gastautův syndrom, Landau-Kleffnerův syndrom, epilepsie s kontinuální výboji hrot-

-vlna ve spánku, které jsou rezistentní k terapii konvenčními antiepileptiky. V akutních případech (jako je např. refrakterní SE typu NORSE/FIRES) používáme v imunoterapii první volby pulzní dávkování metylprednizolonu, intravenózní imunoglobuliny nebo plazmaferézu. V imunoterapii druhé linie pak takrolimus, rituximab a cyklofosfamid [22].

Na experimentální úrovni byl prokázán protizánětlivý efekt KD a VNS běžně používaných v rámci nefarmakologické léčby epilepsie, ale také např. kanabinoidů [22,23]. Bylo prokázáno, že KD vede ke snížení hladiny prozánětlivých cytokínů dosud nejasným mechanismem. Předpokládá se vliv ketoláték (např.  $\beta$ -hydroxy-butyátu) na mitochondriální cílové struktury. KD také vede ke ketony indukovanému přerušení inflamazomů [23]. Inflamazomy jsou cytosolové multiproteinové oligomery imunitního systému odpovědné za aktivaci zánětlivých odpovědí.

Ovlivnění neurozánětu prostřednictvím VNS se vysvětluje regulací uvolňování cytokínů přes tzv. reflex zánětu, v kterém sehrává klíčovou úlohu právě nervus vagus [22]. VNS vede k redukci uvolňování prozánětlivých cytokínů na úrovni imunitních buněk vrozeného imunitního systému [22].

V klinické praxi se zkouší také efekt kanabinoidů (tetrahydrokanabinol a kanabidiol). Jejich protizánětlivý efekt je vysvětlován snížením hladiny protizánětlivých cytokínů (IL-1 $\beta$ , IL-3, IL-6, IL-12, IL-17, TNF $\alpha$ , IFN $\beta/\gamma$ ), zvýšením hladiny prozánětlivých cytokínů (IL-10), snížením aktivity COX2, snížením aktivity mikroglie a redukcí oxidačního stresu [22].

Hlavním úskalím protizánětlivé léčby v terapii epilepsie je skutečnost, že zánětlivá komponenta v iktogenezi jednotlivých typů epilepsie se liší, je odlišná v různých fázích průběhu onemocnění a je obtížné identifikovat pacienty, u kterých je tato zánětlivá komponenta „aktivní“, a tudíž má být léčena. Tato skutečnost poukazuje na nutnost identifikace tzv. biomarkerů neurozánětu (v krvi, likvoru, na neurozobrazovacích metodách).

Dalším problémem je pozdější nástup účinku protizánětlivé léčby a přetrvávání jejího efektu po ukončení léčby (cca 1–2 týdny), čímž je obtížné odečíst její efekt. Tato skutečnost opět poukazuje na nutnost identifikace biomarkerů neurozánětu, které by nám pomohly zhodnotit úspěšnost léčby [22].

### **Experimentální možnosti imunomodulační terapie**

Byly provedeny různé farmakologické studie na zvířecích modelech zacílené na sys-



témy IL-1 $\beta$  /IL-1R1, HMGB1/TLR4, COX-2/prostaglandiny a komplementový systém, které se významně podílejí na vzniku a opakování akutních záchvatů [1,9,24]. Protizánětlivé léčby, které vedly ke zlepšení prognózy v experimentálních modelech SE, jsou uvedeny v tab. 2 [1,9,25].

### Terapeutické ovlivnění kaskády systému IL-1 $\beta$ /IL-1R1

Anakinra (neglykolizovaný lidský antagonist receptoru pro IL-1 [IL-1ra]) má protizánětlivé a imunomodulační schopnosti a v současné době je používán v biologické léčbě revmatoidní artritidy. Hlavním problémem jeho použití je riziko hepatotoxicity.

Na experimentální úrovni vede aplikace IL-1ra u pilokarpinem indukovaného SE k opožděnému nástupu a kratšímu trvání SE a redukcí hrotové aktivity na EEG [1,24]. V klinické praxi byl úspěšně použit v léčbě NORSE/FIRES (nově vzniklý refrakterní SE) – v literatuře nacházíme jenom několik kazuistických sdělení, zkušenosti jsou tudíž velmi omezené [25].

Nejúčinnější léčbou akutní fáze SE na experimentální úrovni zůstává antagonist receptoru P2X7, který významně zkracuje délku trvání SE, a to dokonce do 1 h od podání [26,27]. Purinergní P2X7 receptor je membránový iontový kanál aktivovaný extracelulárním ATP. Aktivace tohoto receptoru vede k aktivaci mikroglie a uvolnění IL-1 $\beta$ , čímž vede k rozvoji zánětu a zvyšuje excitabilitu v mozku. P2X7 receptor může také přímo modulovat neurotransmisí a gliotransmisí a podpořit inkorporaci imunitních buněk do mozkové tkáně. Antagonista P2X7 receptoru na zvířecím modelu redukuje záchvatovou aktivitu, čímž vede k redukcí neuronálního poškození. Kombinace antagonisty P2X7 receptoru s benzodiazepiny vedla k supresi SE u modelu refrakterního SE [26]. P2X7 receptor je považován za nový potenciální cíl léčby SE, který vede k ukončení SE mechanismem redukce zánětu v CNS.

### Terapeutické ovlivnění kaskády systému HMGB1/TLR4

Efekt HMGB1 je zprostředkován přes vazbu na receptor TLR4. HMGB1 spolu s IL-1 $\beta$  snižuje záchvatový práh, a tím vede k hyperexcitabilitě mozku. Inaktivace HMGB1 s využitím antagonisty jeho receptoru TLR4 významně redukuje záchvatovou aktivitu. Na experimentální úrovni se také zkouší aplikace inaktivované anti-HMGB1 monoklonální protilátky [24].

**Tab. 2. Protizánětlivé léčby, které vedly ke zlepšení prognózy v experimentálních modelech status epilepticus [1,9,25].**

Název léku	Mechanismus působení	Efekt
celecoxib, parecoxib	inhibice COX-2	antiepileptogenní, DMD
aspirin	inhibice COX-1,2	DMD
A4-integrin-specifická protilátka	adheze leukocytů na endotel	prevence poruchy HEB
erythropoetin	široké spektrum	široké spektrum
fingolimod	modulátor S1P receptoru	antikonzulzivní, antiepileptogenní, DMD
anakinra (Kineret)	antagonista IL-1R1	antikonzulzivní, antiepileptogenní, DMD
anakinra + COX-2 inhibice	antagonista IL-1R1 + inhibice COX-2	antikonzulzivní, antiepileptogenní, DMD
anakinra + TLR4 antagonist	IL-1R1 + HMGB1 inhibice	antikonzulzivní, antiepileptogenní, DMD
Nrf2 genová terapie	↓ oxidativní stres, ↓ produkce cytokinů	neuroprotektivní
miRNA-146a	IL-1 $\beta$ /TLR4	antikonzulzivní, DMD
EP2 antagonist	EP2 receptor	antiepileptogenní, DMD
dexametazon	široké spektrum	široké spektrum
statiny	inhibice syntézy prostaglandinů	antiepileptogenní, DMD

COX-2 – cyklooxygenáza-2; DMD – disease modifying drugs; EP2 – receptor pro prostaglandin E2; HEB – hemoencefalická bariéra; HMGB1 – high mobility group box 1; IL – interleukin; IL-1R1 – IL-1 $\beta$  receptor; Nrf2 – nukleární transkripční faktor 2; S1P – sfingosin-1-fosfatový receptor; TLR4 – Toll-like receptor 4

### Terapeutické ovlivnění kaskády systému COX-2/prostaglandiny

Podstatou působení nesteroidních antiflogistik je inhibice produkce mediátorů zánětu – prostaglandinů. Vazba PGE2 na receptor EP2 (na povrchu astrocytů) vede ke zvýšenému uvolňování glutamátu (hyperexcitace v neuronálních sítích) a k indukci apoptózy. Antagonista receptoru EP2 navozuje redukcí záchvatové aktivity a neuronálního poškození [19]. COX-2 je uvolňován u SE, hovoříme o COX-2 cestě indukce zánětu v průběhu SE [5]. Efekt terapie inhibitory COX-2 závisí na typu použitého inhibitoru a načasování terapie [25,28].

Na experimentální úrovni byl testován celecoxib (selektivní inhibitor COX-2). Aplikace 1 den před indukci a 28 dní po indukci SE vedla ke snížení frekvence a zkrácení délky trvání spontánních záchvatů. Parecoxib aplikovaný po ukončení SE vedl k prevenci generalizace záchvatů a zabránil zvýšení hladiny PGE2 [20,24].

Na klinické úrovni byl prokázán efekt profylaktického podávání acetylsalicy-

lové kyseliny na záchvatovou aktivitu u pacientů se Sturge-Weberovým syndromem (u 91 % pacientů došlo k významnému snížení frekvence a trvání epileptických paroxysmů) [20,24]. Na druhou stranu profylaktické podávání ibuprofenu u dětských pacientů s febrilními křečemi nemělo vliv na výskyt febrilních paroxysmů. Dosud není k dispozici klinická studie, která by sledovala efekt terapie selektivními inhibitory COX-2 u pacientů s epilepsií [24].

Použití selektivních inhibitorů COX-2 je zvažováno jako nová terapeutická možnost s antiepileptogenním a potenciálně DMD (průběh onemocnění modifikujícím) efektem [1]. Tato léčba (vč. antagonisty EP2 receptoru) má na experimentální úrovni významný neuroprotektivní efekt a snižuje mortalitu v průběhu SE [9,28,29].

Studie na zvířecích modelech poukazují na nutnost časných intervencí (aplikace antiflogistik do 3–4 h od začátku SE), aby byla šance na dosažení terapeutického úspěchu. Tyto nálezy upozorňují na možnost aplikace v klinické medicíně ve smyslu blokace aktivace zánětlivých

vých kaskád v průběhu SE, a tím zlepšení prognózy pacientů u *de novo* vzniklého SE, ale také u SE v rámci chronické epilepsie [1].

Retrospektivní studie dále prokazují, že statiny podávané pacientům před rozvojem SE vedly ke zlepšení prognózy a snížení mortality [29]. Účinek statinu není založen výlučně jen na jejich hypolipidemickém účinku, ale i na cholesterolu nezávislém působení, na tzv. pleiotropních účincích. Mezi nejznámější pleiotropní účinky patří antiagregační a protizánětlivé působení založené na inhibici syntézy prostaglandinů a tromboxanů. Studie na experimentální úrovni prokázaly protizánětlivý a antiepileptogenní účinek statinů [30].

### Další možnosti imunomodulace

Adalimumab (monoklonální protilátka anti-TNF $\alpha$ ) – se v klinické medicíně zkouší v léčbě Rasmussenovy encefalidy. Na experimentální úrovni se testuje jeho použití v terapii epilepsie, kde vede k snížení frekvence a délky trvání záchvatů [24].

Fingolimod – imunomodulátor s potenciálně imunosupresivními vlastnostmi používaný v léčbě remitentní formy RS. Mechanismus účinků spočívá v modulaci sfingosin-1-fosfátového (S1P) receptoru na povrchu lymfocytů, astrocytů, oligodendrocytů a neuronů ve smyslu internalizace receptorů (tj. působí jako funkční antagonist S1P receptoru). Na experimentálním modelu temporální epilepsie byl prokázán jeho antikonvulzivní, antiepileptogenní a neuroprotektivní efekt [31].

Micro-RNA 146a funguje jako negativní regulátor kaskády IL1R/TLR4. Na molekulární úrovni byl prokázán její antiepileptogenní a efekt DMD [24].

Nukleární transkripční faktor 2 (Nrf2) genová terapie – Nrf2 je gen regulující produkci celé řady antioxidantních a protizánětlivých proteinů, které chrání buňku proti oxidačnímu poškození. Studie na zvířecích modelech prokázaly, že indukce Nrf2 dráhy má neuroprotektivní efekt u epilepsie i dalších neurodegenerativních onemocnění [24,32].

### Závěr

Experimentální a klinická data prokazují, že zánětlivé změny v mozku v průběhu SE sehrávají důležitou roli v epileptogenezi tím, že se podílejí na zvýšení neuronální hyperexcitability, negativně ovlivňují plasticitu neuronálních sítí a přispívají tak k rozvoji a opakování epileptických záchvatů. Zvýšená syntéza specifických prozánětlivých mediátorů a up-regulace jejich receptorů se podílí

na vzniku epilepsie, jak vyplývá z nálezů aktivovaných prozánětlivých kaskád u epileptických ložisek [8].

Vyšetření mediátorů zánětu a posouzení rovnováhy pro-/protizánětlivých mechanismů jsou považovány za potenciální biomarkery epileptogenicity.

### Grantová podpora

Tento projekt byl podpořen z fondu LF MU juniorský výzkumník Štefania Aulická a Pavlína Danhofer. Dále podpořeno projektem MZČR-RVO (FN Brno, 65269705).

### Konflikt zájmů

Autoři deklarují, že v souvislosti s předmětem studie nemají žádný konflikt zájmů.

### Literatura

1. Vezzani A, Dingledine R, Rossetti A. Immunity and inflammation in status epilepticus and its sequelae: possibilities for therapeutic application. *Expert Rev Neurother* 2015; 15(9): 1081–1092. doi: 10.1586/14737175.2015.1079130.
2. Kubová H. Vývoj kvalitativně nových látek pro léčbu epilepsie – naděje pro 21. století? *Neurol praxi* 2006; 5: 284–286.
3. Vezzani A, Balosso S, Ravizza T. The role of cytokines in the pathophysiology of epilepsy. *Brain Behav Immun* 2008; 22(6): 797–803. doi: 10.1016/j.bbi.2008.03.009.
4. Maroso M, Balosso S, Ravizza T. Toll-like receptor 4 and high-mobility group box-1 are involved in ictogenesis and be targeted to reduce seizures. *Nat Med* 2010; 16(4): 413–419. doi: 10.1038/nm.2127.
5. Jiang J, Yang MS, Quan Y. Therapeutic window of cyclooxygenase-2 related anti-inflammatory therapy after status epilepticus. *Neurobiol Dis* 2015; 76: 126–136. doi: 10.1016/j.nbd.2014.12.032.
6. Cerri CH, Caleo M, Bozzi Y. Chemokines as new inflammatory players in the pathogenesis of epilepsy. *Epilepsy Res* 2017; 136: 77–83. doi: 10.1016/j.eplepsyres.2017.07.016.
7. Banisadr G, Rosténe W, Kitabgi P et al. Chemokines and brain functions. *Curr Drug Targets Inflamm Allergy* 2005; 4(3): 387–399. doi: 10.2174/1568010054022097.
8. Vezzani A, Friedman A. Brain inflammation as a biomarker in epilepsy. *Biomark Med* 2011; 5(5): 607–614. doi: 10.2217/bmm.11.61.
9. Rojas A, Ganesh T, Lelutiu N et al. Inhibition of the prostaglandin EP2 receptor is neuroprotective and accelerates functional recovery in a rat model of organophosphorus induces status epilepticus. *Neuropharmacology* 2015; 93: 15–27. doi: 10.1016/j.neuropharm.2015.01.017.
10. Forgeaud L, Boulanger LM. Role of immune molecules in the establishment and plasticity of glutamatergic synapses. *Eur J Neurosci* 2010; 32(2): 207–217. doi: 10.1111/j.1460-9568.2010.07342.x.
11. Dubé CM, Ravizza T, Hamamura M. Epileptogenesis provoked by prolonged experimental febrile seizures: mechanisms and biomarkers. *J Neurosci* 2010; 30(22): 7484–7494. doi: 10.1523/JNEUROSCI.0551-10.2010.
12. Patterson KP, Brennan GP, Curran M. Rapid coordinate inflammatory responses after experimental status epilepticus: implications for epileptogenesis. *eNeuro* 2015; 2(5): pii: ENEURO.0034-15.2015. doi: 10.1523/ENEURO.0034-15.2015.
13. Gallentine WB, Shinnar S, Hesdorffer DC et al. Plasma cytokines associated with febrile status epilepticus in children: a potential biomarker for acute hip-

pocampal injury. *Epilepsia* 2017; 58(6): 1102–1111. doi: 10.1111/epi.13750.

14. Choi J, Min HJ, Shin JS. Increase levels of HMGB1 and pro-inflammatory cytokines in children with febrile seizures. *Neuroinflammation* 2011; 8: 135. doi: 10.1186/1742-2094-8-135.

15. Sakuma H, Tanuma N, Kuki I et al. Intrathecal overproduction of proinflammatory cytokines and chemokines in febrile infection-related refractory status epilepticus. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2015; 86(7): 820–822. doi: 10.1136/jnnp-2014-309388.

16. Galic MA, Riaz K, Henderson AK et al. Postnatal inflammation increases seizure susceptibility in adult rats. *J Neurosci* 2008; 28(27): 6904–6913. doi: 10.1523/JNEUROSCI.1901-08.2008.

17. Zattoni M, Mura ML, Deprez F et al. Brain infiltration of leukocytes contributes to the pathophysiology of temporal lobe epilepsy. *J Neurosci* 2011; 31(11): 4037–4050. doi: 10.1523/JNEUROSCI.6210-10.2011.

18. Vezzani A, Lang B, Aronica E. Immunity and inflammation in epilepsy. *Cold Spring Harb Perspect Med* 2015; 6(2): a022699. doi: 10.1101/cshperspect.a022699.

19. Rana Amnam Musto EA. The role of proinflammation in the development of epilepsy. *J Neuroinflamm* 2018; 15: 144.

20. Aronica E, Bauer S, Bozzi Y et al. Neuroinflammatory targets and treatments for epilepsy validated in experimental models. *Epilepsia* 2017; 58 (Suppl 3): 27–38. doi: 10.1111/epi.13783.

21. Koepp MJ, Arstad E, Bankstahl JP et al. Neuroinflammation imaging markers for epileptogenesis. *Epilepsia* 2017; 58 (Suppl 3): 11–19. doi: 10.1111/epi.13778.

22. French JA, Koepp M, Naegelin Y et al. Clinical studies and anti-inflammatory mechanisms of treatments. *Epilepsia* 2017; 58 (Suppl 3): 69–82. doi: 10.1111/epi.13779.

23. Horák O. Ketogenní dieta – účinná nefarmakologická léčba dětské a adolescentní epilepsie. *Cesk Slov Neurol N* 2019; 82/115(1): 8–14. doi: 10.14735/amcsnn20198.

24. Vliet EA, Aronica E, Vezzani A et al. Review: neuroinflammatory pathways as treatment targets and biomarker candidates in epilepsy: emerging evidence from preclinical and clinical studies. *Neuropathol Appl Neurobiol* 2018; 44(1): 91–111. doi: 10.1111/nan.12444.

25. Česká K, Horák O, Ošlejšková H et al. Nově vzniklý refrakterní status epilepticus a syndromy z blízkého spektra (NORSE/FIRES). *Cesk Slov Neurol N* 2018; 81/114(6): 658–662. doi: 10.14735/amcsnn2018658.

26. Henshall DC, Engel T. P2X purinoreceptor as a link between hyperexcitability and neuroinflammation in status epilepticus. *Epilepsy Behav* 2015; 49: 8–12. doi: 10.1016/j.yebeh.2015.02.031.

27. Henshall DC, Diaz-Hernandez M, Miras-Portugal MT et al. P2X receptors as targets for the treatment of status epilepticus. *Front Cell Neuroscience* 2013; 7: 237. doi: 10.3389/fncel.2013.00237.

28. Rojas A, Jiang J, Ganesh T et al. Cyclooxygenase-2 in epilepsy. *Epilepsia* 2014; 55(1): 17–25. doi: 10.1111/epi.12461.

29. Rojas A, Jiang J, Ganesh T et al. Role of cyclooxygenase-2 in epileptogenesis with a focus on its involvement in neurodegeneration. *Epilepsia* 2014; 55(1): 17–25. doi: 10.1111/epi.12461.

30. Sierra-Marcos A, Alvarez V, Faouzi M. Statins are associated with decreased mortality risk after status epilepticus. *Eur J Neurol* 2015; 22(2): 402–405. doi: 10.1111/ene.12428.

31. Pitsch J, Kuehn JC, Gnatkovsky V et al. Anti-epileptogenic and anti-convulsive effects of fingolimod in experimental temporal lobe epilepsy. *Mol Neurobiol* 2019; 56(3): 1825–1840. doi: 10.1007/s12035-018-1181-y.

32. Carmona-Aparicio L, Pérez-Cruz C, Zavala-Tecua-petla C et al. Overview of Nrf2 as therapeutic target in epilepsy. *Int J Mol Sci* 2015; 16(8): 18348–18367. doi: 10.3390/ijms160818348.