

Streszczenie

Padaczka jest chorobą ośrodkowego układu nerwowego (OUN) o wieloczynnikowym pochodzeniu. Będąc schorzeniem przewlekłym, wymaga stosowania farmakoterapii przez wiele lat, a czasami przez całe życie. Długotrwałe leczenie lekami przeciwpadaczkowymi (LPP) niesie z sobą ryzyko wystąpienia działań niepożądanych. Ponadto, mimo obecnych na rynku ponad 20 LPP, zarówno LPP starej generacji (LPP SG), jak i LPP nowej generacji (LPP NG), nadal 30-40% pacjentów rozwija lekooporność. Z danych piśmiennictwa wynika, że LPP mogą prowadzić do podwyższania stężenia osoczowej homocysteiny (Hcy), która jest czynnikiem ryzyka m.in. chorób sercowo-naczyniowych, neurodegeneracyjnych oraz może zwiększać ryzyko poronień. Z kolei badania na liniach komórek nowotworowych wykazały, że LPP mogą indukować apoptozę. Uważa się ponadto, że genetycznie kontrolowana śmierć komórki (apoptoza) może być jedną z dróg obumierania neuronów hipokampa w przypadku przedłużających się napadów padaczkowych, a w szczególności, gdy dojdzie do rozwinięcia się stanu padaczkowego. Co więcej, z danych piśmiennictwa wynika, że *ABCB1/MDR1*, gen lekooporności typu-1 (ang. *multidrug resistance-1 gene*), analizowany głównie w kontekście nieskuteczności leczenia chorób nowotworowych, może również modulować szlaki apoptozy.

Celem pracy była analiza częstości występowania polimorfizmów C1236T, C3435T oraz G2677(A/T) genu *ABCB1/MDR1* u pacjentów z padaczką o nieznannej etiologii leczonych LPP, jak również u chorych przed włączeniem terapii tymi lekami oraz u kontrolnych ochotników w populacji polskiej. U tych osób analizie poddano również stężenie osoczowych biotoli: Hcy i metioniny (Met) oraz poziom komórek z aktywnymi kaspazami w limfocytach krwi obwodowej.

Badaniu poddano 85 osób z rozpoznaną padaczką o nieznannej etiologii (dawniej z padaczką kryptogenną) w wieku 18-69 lat (średnia wieku $35,8 \pm 13,0$), w tym 38 kobiet i 47 mężczyzn. Wśród badanych chorych: 11 osób oczekiwało na włączenie leczenia LPP z powodu nowo zdiagnozowanej choroby, natomiast 74 pacjentów otrzymywało leczenie różnymi LPP (LPP SG oraz LPP NG), zarówno w monoterapii, jak i w politerapii. Grupę kontrolnych ochotników stanowiły 84 osoby: 42 kobiety i 42 mężczyzn w wieku od 21 do 66 lat (średnia wieku $33,8 \pm 10,6$).

Badanie polimorfizmów C1236T, C3435T oraz G2677(A/T) genu *ABCB1/MDR1* przeprowadzono metodą HRM (ang. *High Resolution Melting*), potwierdzoną sekwencjonowaniem. Analizę poziomu komórek apoptotycznych wykonano metodą cytometrii przepływowej, przez identyfikację komórek wykazujących obecność aktywnych kaspaz (m.in. kaspazy-3, -6, -7). Stężenie osoczowej Hcy i Met oznaczono metodą wysokosprawnej chromatografii cieczowej z detekcją elektrochemiczną (HPLC/EC, ang. *High Pressure Liquid Chromatography/Electrochemical Detection*).

W wyniku przeprowadzonych badań wykazano, że u chorych na padaczkę zarówno schorzenie ($p < 0,05$), jak też stosowana farmakoterapia LPP ($p < 0,01$) prowadzą do wzrostu stężenia osoczowej Hcy

oraz, że LPP wpływają na poziom komórek w późnej apoptozie ($p < 0,05$). Stwierdzono również, że do zwiększania poziomu komórek z aktywnymi kaspazami predysponują: wariant CT *ABCB1/MDR1* C3435T ($p < 0,05$), napady ogniskowe ($p < 0,05$) oraz stosowanie politerapii ($p < 0,05$). Wydaje się ponadto, że chorzy z genotypem CT C3435T są bardziej narażeni na rozwinięcie hiperhomocysteinemii (Hcy, $p < 0,05$). Co więcej, w proces wzbudzania kontrolowanej genetycznie śmierci komórki u chorych na padaczkę podczas leczenia LPP ($p < 0,001$) wydaje się być zaangażowana Hcy przez indukowanie późnej apoptozy.

Dalsza analiza polimorfizmów genu *ABCB1/MDR1* wraz z oznaczaniem poziomu czynników apoptotycznych może przyczynić się w przyszłości do stosowania korzystniejszych terapii u chorych na padaczkę i do personalizacji leczenia.