

VÝVOJ KVALITATIVNĚ NOVÝCH LÁTEK PRO LÉČBU EPILEPSIE – NADĚJE PRO 21. STOLETÍ?

doc. PharmDr. Hana Kubová, DrSc.

Oddělení vývojové epileptologie, Fyziologický ústav Akademie věd ČR, Praha

V průběhu několika posledních desetiletí byla do praxe zavedena řada nových a bezpečnějších antiepileptik. Žádná z těchto látek však není schopná epilepsii vyléčit a terapie epilepsie tak zůstává omezena na potlačování záchvatů. Stejně tak zavedení nových látek neovlivnilo skutečnost, že zhruba 30% epileptiků je farmakorezistentních. Je zde tedy jasná potřeba vývoje nových, kvalitativně odlišných terapeutických postupů, které by umožnily ovlivnit charakter a průběh epilepsie, a řešily problémy s farmakorezistencí u postižených pacientů. 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.

Klíčová slova: preklinické testování, epileptogeneza, neuroprotektce, farmakorezistence.

Neurol. pro praxi, 2006; 5: 284–286

Úvod

V posledních desetiletích se dramaticky zvýšily možnosti zvládání epileptických záchvatů. Žádná z inovací, zavedených v minulém století, však neumožnila dosáhnout nejvyššího cíle – vyléčení epilepsie. Soudobá terapie se omezuje na potlačování symptomů onemocnění, tedy epileptických záchvatů a neumožňuje odstranění příčiny onemocnění (s výjimkou epileptochirurgie) nebo prevenci jeho vzniku u jedinců, kteří jsou riziková z důvodů genetické predispozice či prodělaného neurologického infarktu. Efektivní symptomatická léčba, vedoucí k úplnému vymizení záchvatů, nesporně zvyšuje kvalitu života pacienta a významně redukuje i problémy sociální. Na druhé straně potlačení záchvatů neznamená vymizení choroby. Zavedení nových antiepileptik v posledních desetiletích velmi významně zvýšilo bezpečnost léčby a snížilo výskyt a tíži nežádoucích účinků. Nová antiepileptika však nijak významně neovlivnila skutečnost, že zhruba 1/3 pacientů reaguje na léčbu nedostatečně, bez významného snížení počtu záchvatů a stává se tak farmakorezistentními. Většina těchto pacientů přitom podstoupí neúspěšnou léčbu mnoha různými antiepileptiky či jejich kombinacemi. Rostoucí množství důkazů podporuje názor, že pokud pacient postupně dostatečně nereaguje na léčbu dvěma antiepileptiky je velice nepravděpodobné, že další antiepileptika budou úspěšná v kontrole onemocnění.

Potřeba vyvinout nové cesty farmakologického ovlivnění procesu vzniku epilepsie, zabránění zhoršování kognitivních funkcí a postupující neurodegenerace či rozvoje farmakorezistence vede k nutnosti rozšíření našich znalostí o patofyziologii epilepsie. Zlepšení našich znalostí o mechanismech a dynamice onemocnění umožní vznik kvalitativně nových terapeutických postupů. Tento stručný přehled přináší základní informace o současné koncepci výzkumu

v této oblasti a seznamuje čtenáře s nově používanou terminologií.

Historie a současnost preklinického vývoje nových antiepileptik

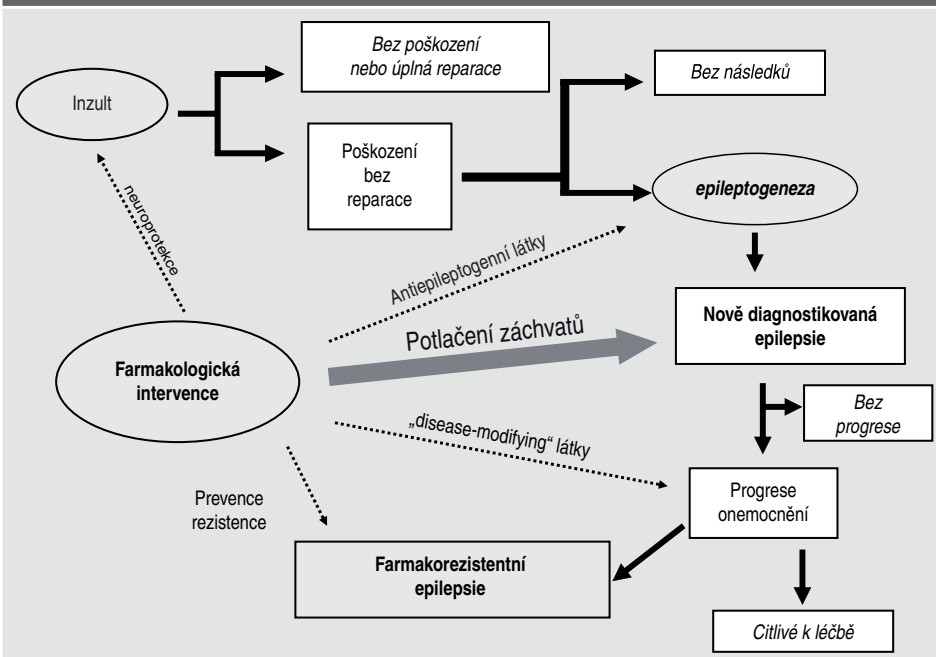
I když se počátky cílené farmakoterapie epilepsie datují do druhé poloviny 19. století, základy jednotného postupu při vyhledávání nových antiepileptik byly položeny až začátkem 70. let minulého století programem pro vyhledávání nových antikonvulziv (angl. *The Anticonvulsant Drug Development Program*, (1)). Tento program sdružoval vládní a akademická pracoviště i pracoviště farmaceutického průmyslu v USA a pravidla, vzniklá v rámci tohoto programu i na něj navazujících dalších iniciativ, byla postupně přijata i v jiných zemích. Cílem byl co nej přesnější popis antikonvulzivních a behaviorálních účinků vytipovaných látek s použitím přesně charakterizovaných a standardizovaných metod. Hlavním přínosem bylo sjednocení a velmi detailní charakterizace screeningových metod, využívaných k vyhledávání potenciálních antiepileptik. Veškerá antiepileptika, uvedená od té doby do klinické praxe, byla vyhledána s pomocí dvou základních testů – maximálního elektrošoku (*MES*) a pentylenetetrazolového testu (*mMS – minimal metrazol seizures*, tj. křeče vyvolané systémovým podáním pentylenetetrazolu, dříve metrazolu). Je nesporné, že unifikace vyhledávacího procesu měla ve své době obrovský význam. S pomocí obou testů, které dodnes slouží jako nezbytný základ vyhledávání nových látek, lze však bezpečně určit pouze účinky *antikonvulzivní* a to jen proti některým typům záchvatů. Tyto testy proto nemohou zachytit látky specificky ovlivňující jednotlivé fáze vzniku a rozvoje onemocnění epilepsií, jak bude diskutováno dále, a respektovat tak nejnovější poznatky epileptologie. Dále je nutné si uvědomit, že MES a mMS představují modely ge-

neralizovaných tonicko-klonických či myoklonických křečí. Navíc v případě těchto modelů jsou záchvaty vyvolány v intaktním mozku (zvíře je pro daný test použito pouze jednou), což je z hlediska epilepsie jakožto chronického onemocnění situace naprosto irelevantní. Modely jiných typů záchvatů se pro rutinní testování používají omezeně. Výjimku tvoří pouze model *kindlingu* (rozněcování), který využívá skutečnosti, že opakovaná stimulace prahovou intenzitou vede k progresivnímu prodlužování vyvolaných elektrografických záchvatů a dochází k postupnému šíření epileptické aktivity i mimo stimulovanou strukturu. V tomto modelu je epileptická aktivita vyvolána opakovaně u stejného zvířete a je tedy možné částečně modelovat působení testované látky na progresi „onemocnění“. Stále se ale pracuje se záchvaty reaktivními, vznikajícími v důsledku stimulace, nikoli se spontánně se objevující epileptickou aktivitou. Z předcházejících skutečností je tedy zřejmé, že stávající systém vyhledávání nových antiepileptik nemůže v žádném případě vést k objevu kvalitativně nových a odlišných látek pro léčbu epilepsie.

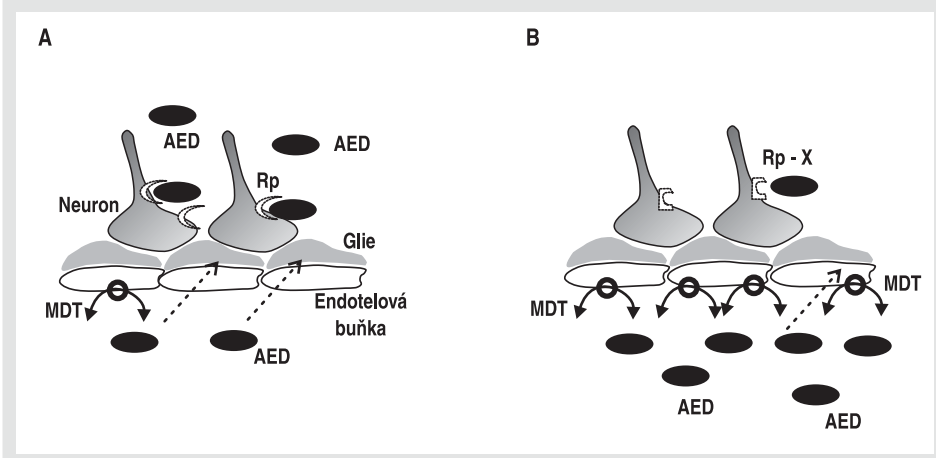
Jak si představujeme vývoj nových látek pro racionální terapii epilepsie a ovlivnění průběhu onemocnění?

Mnoho experimentálních i klinických důkazů naznačuje, že *epileptogeneza* (tj. proces vedoucí ke vzniku epilepsie) může být spuštěna v důsledku nějakého *iniciálního neurologického infarktu* (obrázek 1), jakým je například traumatické poranění mozku, ischemické poškození, status epilepticus, encefalopatie v důsledku hypoxie a jiné. Tyto epileptogenní infarkty (obrázek 1) jsou obvykle spojeny s neurodegenerací a vznikem mozkové léze. V současnosti je věnována velká pozornost možnostem *neuroprotektce* jako terapeutického postupu, který alespoň částečně ochrání neurony před poškozením a zmenší tak

Obrázek 1. Schematické znázornění jednotlivých částí procesu vedoucího od inzultu ke vzniku epilepsie a naznačuje možná místa farmakologické intervence. Jediný dosud dostupný způsob farmakologické léčby, kterým je potlačování záchvatů u již diagnostikované epilepsie, je zdůrazněn červeně. Tečkované šipky naznačují možné cesty ovlivnění procesu epileptogeneze



Obrázek 2. Dvě hypotézy popisující vznik farmakorezistentní epilepsie. První je založená na změnách transportních systémů, které se podílejí na transportu látek přes bariéru (MDT – multidrug-transporters). Podle této hypotézy dochází při zmnožení transportérů (obrázek 2B) ke snížení koncentrace antiepileptika (AED) v oblasti cílové struktury. Podle druhé hypotézy je za vznik farmakorezistence odpovědná změna cílové struktury, tedy receptoru (Rp). Odlišná struktura receptoru (Rp-X) je odpovědná za snížení vnitřní aktivity receptoru či za snížení afinity receptoru k danému antiepileptiku. Na obrázku 2A je zachycená situace za normálních podmínek, obrázek 2B ilustruje obě hypotézy



rozsah vzniklé mozkové léze. K poškození neuronů dochází od počátku trvání inzultu, neurodegenerace je však dlouhodobý proces a degenerující neurony byly v experimentálních modelech prokázány týdny i měsíce po odeznění akutní fáze inzultu. Koncept neuroprotektce je založen na představě, že zmenšení rozsahu poškození sníží rozsah funkčních důsledků iniciálního inzultu. Některé studie s použitím experimentálních modelů tuto hypotézu potvrzují, funkční důsledky jsou však obvykle sledovány pouze v omezeném rozsahu a možné ovlivnění vzniku epilepsie či charakteru onemocnění nejsou prakticky sledovány (3). Je tedy možné, že neuroprotektivní léčba vznik

ani charakter epilepsie neovlivní či dokonce zvýší pravděpodobnost vzniku onemocnění či zhorší jeho průběh.

Iniciální léze však nevede jen k neurodegeneraci, spouští rovněž velmi dynamické kaskády procesů v přežívajících neuronech a gliích. Tyto procesy postupně vedou ke strukturálním i funkčním změnám v mozku. Některé z nich jsou patrně spojeny s postupnou obnovou či kompenzací funkčních změn, vyvolaných iniciálním inzultem. Zároveň však dochází ke změnám excitability v postižených strukturách a následně k objevení se spontánních epileptických záchvatů. Dalším možným místem

farmakologické intervence je tedy proces epileptogeneze. Vhodný **antiepileptogenní** zásah na této úrovni by mohl zabránit vzniku epilepsie i bez toho, že by snížil rozsah léze. Úroveň současných znalostí však neumožňuje jasně oddělit změny vedoucí k obnově funkcí a změny odpovědné za vznik epilepsie. Nelze proto vyloučit, že některé zásahy blokuji epileptogenezu by zároveň negativně neovlivnily i další mozkové funkce, například paměť.

Epilepsie, vzniklá v důsledku působení iniciálního inzultu, může být dobře ovlivnitelná dostupnými antiepileptiky a probíhat bez známek progresu onemocnění. U některých postižených jedinců se však může onemocnění postupně zhoršovat, citlivost na léčbu klesá a vzniká farmakorezistence. Tento nežádoucí proces by mohl zablokovat látky modifikující průběh a charakter onemocnění, tzv. **„disease-modifying drugs“**. Tento účinek však nebyl dosud spolehlivě prokázán v žádné experimentální studii. Nedostatek údajů o patofyziologických procesech podmiňujících progresi onemocnění a postupující neurodegeneraci brání cílené konstrukci látek, které by mohly tyto procesy specificky modifikovat (5).

Specifická léčba farmakorezistentní epilepsie – co můžeme očekávat v blízké budoucnosti?

Mechanismus vzniku farmakorezistence není znám, existuje však několik hypotéz, z nichž některé již byly potvrzeny experimentálními studiemi. Teprve další studie však musí potvrdit, zda nalezené mechanismy mohou být využity i v léčbě farmakorezistentních epilepsií (2).

První hypotéza je zaměřená na změny transportních systémů, které se podílejí na transportu látek přes bariéru (angl. **multidrug-transporter hypothesis**). Tato hypotéza vychází z poznatků dalších oborů, především z onkologie, kde byla také poprvé popsána korelace mezi zvýšenou expresí **P-glykoproteinu** (P-gp) a sníženou akumulací chemoterapeutik v nádorové tkáni. Gen kódující P-gp byl klonován a pojmenován **multidrug resistance-1** (MDR1) **gene**. Kromě P-gp byly postupně identifikovány i jiné transportéry podobných vlastností (**breast cancer resistance protein** – BCRP a další, označované hromadně jako **multi-resistant proteins** (MRP)). Studie na tkáních, získaných od pacientů s farmakorezistentní epilepsií během epileptochirurgie i od experimentálních zvířat prokázaly významně zvýšenou expresi MDR1 a P-gp v endotelálních buňkách, které jsou nejvýznamnější částí hematoencefalické bariéry. Kromě endotelových buněk byla exprese těchto genů nalezena i v astrocytech, kde se normálně nevyskytují. Výběžky gliových buněk, které obklopují cévní stěnu a podílejí se tak na stavbě hematoencefalické bariéry, mohou tvořit

druhou bariéru omezující penetraci antiepileptik do mozku. Podrobnější studie zaměřené na distribuci transportních proteinů navíc ukazují, že zvýšená exprese je patrná pouze v epileptogenním ohnisku, nikoli v ostatní tkáni, což vysvětluje přítomnost centrálních účinků antiepileptik i u rezistentních pacientů. Následné farmakologické studie identifikovaly skupiny látek, schopných blokovat P-gp nebo MRP. V současnosti existují tři generace těchto blokátorů: do **1. generace** patří například verapamil, nifedipin, tamoxifen či cyklosporin, tyto látky jsou však často toxické či ovlivňují farmakokinetiku ostatních farmak nepředvídatelným způsobem z důvodů velmi komplikovaných farmakokinetických interakcí. Látky **2. generace** (biricodar, dexverapamil, valsopodar či elacridat) jsou lépe tolerovány a látky **3. generace** (zosuquidar, teriquidar, laniquidar) se pak vyznačují vysokou specificitou a afinitou pro P-gp. Experimentální epileptologické studie prokázaly, že u farmakorezistentních potkanů vede podání blokátorů P-gp nebo MRP společně s antiepileptiky ke zvýšení koncentrací těchto antiepileptik v mozkové tkáni. Podobně i u farmakorezistentních pacientů vedlo přidání verapamilu ke zlepšení kontroly záchvatů a kvality života. Zdá se tedy, že využití těchto blokátorů by mohlo představovat jednu z možných nových cest v terapii farmakorezistentní epilepsie.

Druhá hypotéza předpokládá změnu ve struktuře cílové pro mechanismus účinku antiepileptika, tedy ve struktuře receptoru či iontového kanálu (angl. **drug-target hypothesis**). Podkladem pro vznik této hypotézy byly důkazy o významně sníženém účinku carbamazepinu na sodíkové kanály ve tkáních získaných od pacientů s farmakorezistentní

epilepsií a tyto nálezy byly potvrzeny i v modelech temporální epilepsie u laboratorních zvířat. Další studie pak potvrdily změny v molekulární struktuře sodíkových kanálů, které mohou vysvětlit pokles citlivosti těchto kanálů k účinkům antiepileptik. Obdobně byly změny v molekulární struktuře popsány i u GABA_A receptorů, které jsou cílovou strukturou pro řadu antiepileptik, u zvířat s temporální epilepsií. Změna podjednotkového složení GABA_A receptorů, která byla popsána v hippocampu těchto zvířat, může významně měnit vazbu antiepileptik na receptor nebo jejich vnitřní aktivitu. Výsledkem tedy může být významný pokles účinnosti klasických antiepileptik. Jednou z možností řešení tohoto problému může být konstrukce nových látek s vysokou afinitou právě k takto změněným receptorům.

Obě hypotézy, vysvětlující vznik farmakorezistence u pacientů s epilepsií, musejí být ověřeny. V současnosti chybí studie sledující časový profil změn a jejich závislost na charakteru iniciálního inzultu, trvání a charakteru léčby a stejně tak chybí i údaje farmakogenetické. Obě hypotézy však představují nový možný směr, kterým by se mohl dále vyvíjet výzkum kvalitativně nových antiepileptik. Nové poznatky získané v této oblasti budou nepochybně využitelné i v diagnostice, především při vyhledávání

„rizikových pacientů“, u kterých je zvýšené riziko vzniku farmakorezistence (4).

Závěr

Nové poznatky o patofyziologii vzniku epilepsie a rozvoji farmakorezistence u epileptických pacientů spolu s rostoucími znalostmi genetických faktorů ukazují nové směry terapie epilepsie v budoucnosti. Sledování možností a hlavně důsledků kvalitativně nových způsobů farmakologické intervence je však na počátku. Hlavním úkolem výzkumu je v tomto okamžiku zavedení relevantních a reprodukovatelných experimentálních modelů a postupů, vhodných pro studium terapeutických postupů zejména s ohledem na možné vedlejší účinky léčby jak byly zmiňovány v předchozím textu. Studie tohoto typu jsou velmi finančně i časově náročné, proto je nezbytné vytvořit systém multicentrických studií tak, jak je známe z kliniky. Nová organizace experimentů pomůže zvýšit efektivitu a urychlí výzkum.

doc. PharmDr. Hana Kubová, DrSc.

Oddělení vývojové epileptologie,
Fyziologický ústav Akademie věd ČR
Vítězská 1083, 142 20 Praha 4-Krč
e-mail: kubova@biomed.cas.cz

Literatura

1. French JA. Antiepileptic drug development. In: Ed. Wyllie E. The treatment of epilepsy. Principles & Practice, 3rd edition. New York: Lippincott Williams & Wilkins, 2001: 719–727.
2. Löscher W. How to explain multidrug resistance in epilepsy? *Epilepsy Curr* 2005; 5: 107–112.
3. Pitkänen A, Kubová H. Antiepileptic drugs in neuroprotection. *Expert Opin Pharmacother* 2004; 5: 777–798.
4. Schmidt D, Löscher W. Drug resistance in epilepsy: Putative neurobiologic and clinical Mechanisms. *Epilepsia* 2005; 46: 858–877.
5. Walker MC, White HS, Sander JW. Disease modification in partial epilepsy. *Brain* 2002; 125: 1937–1950.