

Streszczenie

Malformacje rozwojowe (MCD – malformations of cortical development), takie jak heterotopie czy ogniskowa dysplazja korowa (FCD) są niezwykle istotnym i trudnym problemem badawczym i klinicznym. Istotnym, ponieważ odpowiadają one za większość przypadków lekoopornej padaczki, w szczególności u dzieci. Trudnym zaś – ze względu na wielorakość objawów, wariantów rozwojowych i wciąż nie do końca poznanych mechanizmów.

W odpowiedzi na to wyzwanie powstał szereg zwierzęcych modeli dysplazji. Ich celem jest odtworzenie w kontrolowanych warunkach, zbadanie, zrozumienie – a w perspektywie, powstrzymanie – zmian, prowadzących do przejścia układu nerwowego od prawidłowej ścieżki rozwojowej do powstania malformacji, a w rezultacie – do epileptogenezy.

W niniejszej pracy wykorzystany został taki właśnie model, w postaci dysplazji mózgu wywołanej przez prenatalną ekspozycję szczurów na działanie promieniowania gamma. Jego ważną cechą jest czasowa specyficzność: możliwość dobrania tak dawki, jak i stadium ontogenezy, w którym rozwój zostanie zaburzony. Ekspozycja na promieniowanie gamma nastąpiła w dniu 13., 15., 17. lub 19. rozwoju płodowego, u szczurów trwającego 22-23 dni. Poszczególne grupy zwierząt, w zależności od dnia ekspozycji, oznaczono tu symbolami E13, E15, E17 i E19. Każdy z tych etapów rozwoju obejmuje szereg procesów, których zaburzenie prowadzi do zróżnicowanych profili dysplazji, jak również do zróżnicowanych zmian podatności na drgawki wywołane przez różnorodne epileptogenne czynniki, takie jak prokonwulsanty (pilocarpina, kwas kainowy) czy elektrostymulacja.

Opis wspomnianych profili dysplazji jest wciąż niepełny, stąd celem pracy było w pierwszej kolejności jego uzupełnienie, poprzez systematyczną i ilościową analizę anatomiczną z użyciem tomografii rezonansu magnetycznego, następnie odpowiedź na pytanie o funkcjonalne korelaty tej zmienności w postaci bazowych wzorców aktywności elektrogragicznej (EEG) u szczurów z grup E13-E19 oraz o zmienność na poziomie komórkowym – w tym ostatnim przypadku nasze wysiłki skupiły się na zmianach w astrocytach, których rola w epilepsji jest coraz częściej dyskutowana, a o których w kontekście użytego tu modelu wiadomo stosunkowo niewiele. Druga część badań skupiona była na poznaniu zmian w ekspresji genów w formacji hipokampa – który wraz z korą mózgową należy do struktur w największym stopniu zaburzonych przez dysplazję – w poszczególnych grupach, oraz na ocenie wpływu drgawek wywołanych podaniem pilokarpiny lub wielokrotną stymulacją elektryczną (*submaximal electroshock*). Do tego celu zastosowano mikromacierze cDNA i metodę qPCR.

W toku tych doświadczeń wykazano zmniejszenie objętości mózgowia (zasadniczo korelujące z etapem ontogenezy, na którym nastąpiło napromienienie – im wcześniejszy punkt czasowy, tym większa redukcja), oraz wystąpienie charakterystycznych dla poszczególnych grup zmian w postaci heterotopii,

dysgenezy spoidła wielkiego i hipoplazji kory. Ich nasilenie oraz częstotliwość występowania determinowane były w różny sposób: najcięższe zmiany występowały u grup napromienionych wcześniej (E13, E15), natomiast największa częstotliwość, sięgająca 100% osobników – w E17. Najpóźniej napromieniona grupa E19 charakteryzowała się rzadkimi i niewielkimi zmianami anatomicznymi. Profile spektralne EEG – analizowane w zakresie poszczególnych pasm aktywności (delta, theta, alfa-beta oraz gamma) – również uległy zmianie u zwierząt z dysplazją, przy czym ani obecność heterotopii, ani redukcja objętości mózgu lub poszczególnych struktur nie była determinującym czynnikiem. Maksymalne nasilenie zmian w EEG zaobserwowano dla grupy E15. Z kolei zmiany komórkowe – w postaci obniżonej immunoreaktywności na astrocytarny marker GFAP oraz zmniejszonej ekspresji białek związanych z astrocytami – charakterystyczne były dla grup napromienionych późno, w szczególności dla E19.

Opisane tutaj badania molekularne pozwoliły z kolei na identyfikację zestawu 22 genów, których ekspresja modulowana była przez wywołaną napromienieniem dysplazję mózgu. Największa intensywność tych zmian towarzyszyła profilom dysplazji wywołanym wcześniej. Geny te były również modulowane przez epileptogenne czynniki. Analiza funkcjonalna oraz przegląd literatury pod kątem poznanych funkcji pozwoliły na identyfikację hipotetycznych procesów i mechanizmów regulatorowych związanych z funkcjonowaniem zaburzonych przez dysplazję genów – w ogólnym zarysie, są to procesy związane z kontrolą i przebiegiem procesów zapalnych, migracji neuronalnej i rozwoju mózgu, niektóre z opisaną we wcześniejszych badaniach rolą w epilepsji lub jej modelach.

Uzyskane wyniki tworzą skomplikowany obraz dysplazji jako wielowątkowego procesu, silnie osadzonego w kontekście rozwojowym, kształtowanego w różnych proporcjach przez populacje komórkowe (astrocyty, interneurony, oligodendrocyty) i procesy zarówno rozwojowe, jak i związane z regulacją odpowiedzi zapalnej.

