

REVIUL LITERATURII

© Diana Hovanschi, Anatolie Serbenco, Stanislav Groppa

DIANA HOVANSCHI, ANATOLIE SERBENCO, STANISLAV GROPPA

STRESUL OXIDATIV ÎN EPILEPSIE

IPMS INSTITUTUL MAMEI ȘI COPILULUI
USMF „Nicolae Testemițeanu”, Catedra obstetrică și ginecologie

SUMMARY

OXIDATIVE STRESS IN EPILEPSY

Oxidative stress (OS) is the condition that occurs when the steady state balance of prooxidants to antioxidants is shifted in the direction of the former, creating the potential for organic damage. Prooxidants are, by definition, free radicals, atoms or groups of atoms with a single unpaired electron [1].

The article describes, based on the study of bibliographic sources from the last 10 years, the changes in the central nervous system caused by oxidative stress. Based on the analysis of several studies here are thoroughly described the pathophysiological, biochemical, immunological changes, etc., in patients with epilepsy caused by lipid pyrooxidation and the influence of antioxidants on the evolution of the disease. In the review presented by the authors, based on the data of literary sources, there are reported the changes that occur in the evolution of the disease (epilepsy) under the influence of antiepileptic drugs.

РЕЗЮМЕ

ОКСИДАТИВНЫЙ СТРЕСС В ЭПИЛЕПСИИ

Оксидативный стресс (ОС) - это состояние, которое возникает, когда равновесный баланс между прооксидантами и антиоксидантами смещается в направлении первых, создавая потенциал для органического повреждения. Прооксиданты по определению являются свободными радикалами, атомами или группами атомов с одним неспаренным электроном [1].

В статье на основе изучения библиографических источников за последние 10 лет описаны изменения в центральной нервной системе, вызванные оксидативным стрессом. На основе анализа нескольких исследований, здесь подробно описаны патофизиологические, биохимические, иммунологические изменения и т.д. у пациентов с эпилепсией, вызванной перекисным окислением липидов и влиянием антиоксидантов на развитие заболевания. В представленном авторами обзоре, основанном на данных литературных источников, сообщается об изменениях, происходящих в эволюции заболевания (эпилепсии) под влиянием противоэпилептических препаратов.

Introducere

Inițial, stresul oxidativ a fost descris ca un dezechilibru între generarea și eliminarea speciilor reactive de oxigen (ROS) și speciile de azot reactiv (RNS). Aceste specii reactive au fost considerate inițial exclusiv în detrimentul celulelor, dar acum se consideră că reglarea redox care implică ROS este esențială pentru modularea funcțiilor celulare critice (în principal în astrocite și microglie), cum ar fi activarea în cascadă a proteinei activate mitogene (MAP) kinazei, transportul ionic, mobilizarea calciului și activarea programului apoptosis [2].

S-a stabilit că stresul oxidativ este asociat cu modificări ale căilor de semnalizare a ROS, RNS și oxidului nitric (NO), prin care scade NO biodisponibil și crește producția de ROS și RNS [29]. Căile de stres oxidativ și nitrosativ sunt induse de răspunsurile inflamatorii și proce-

sele metabolice mitocondriale ulterioare care generează molecule de radicali liberi foarte reactivi. Într-adevăr, ROS și RNS constau din părți active care pot reacționa cu alte substraturi. Exemple de ROS și RNS sunt anionul superoxid, radicalul hidroxil și peroxinitrita. În condiții fiziologice, căile de apărare contrabalansează producția de ROS și RNS, astfel, în aceste condiții, speciile reactive au roluri fiziologice care includ semnalizarea. În condiții de producție excesivă sau în cazul în care apărările corpului sunt compromise, ROS și RNS pot reacționa cu acizii grași, proteinele și ADN-ul provocând astfel deteriorarea acestor substraturi [4].

Bolile neurodegenerative, cum ar fi boala Alzheimer, boala Parkinson și scleroza laterală amiotrofică, sunt definite prin pierderea progresivă a populațiilor specifice de celule neuronale și sunt asociate cu agregate proteice. O

caracteristică comună a acestor boli este dovada extinsă a stresului oxidativ și nitrosativ (O&NS), care ar putea fi responsabil pentru disfuncția sau moartea celulelor neuronale, care contribuie la patogeneza bolii [4] [5].

Aceste boli neurodegenerative afectează grupe diferite de populație: copii, adulți tineri și vârstnici. Ele sunt mult mai răspândite la persoanele mature și la vârstnici, ca urmare a îmbătrânirii fiziologice a celulelor, a influenței negative a factorilor de mediu și, într-o măsură mai mică, a factorilor genetici [6].

Vom menționa că vârsta este un factor de risc independent atât pentru bolile neurodegenerative, cât și pentru epilepsie [31] [8]. Epilepsia apare la aproximativ 1% dintre pacienții cu vârsta peste 65 de ani (aproximativ un sfert din epilepsiile recent diagnosticate) [8-13]. În această populație, predomină epilepsia postaccident vascular cerebral, dar patologiiile traumatice și neurodegenerative asociate cu tumori sunt de asemenea asociate cu epilepsia. [8-14]. În unele afecțiuni, cum ar fi accidentul vascular cerebral, traumatismul sau o tumoră, asocierea cu debutul epilepsiei poate fi imediat evidentă. În cazurile cu o neurodegenerare insidioasă, fără markeri clari ai bolii, legătura cu epilepsia poate fi mai greu stabilită.

Astfel, având în vedere faptul că vârsta este un factor de risc important pentru epilepsie și tulburările neurodegenerative, aceste tulburări neurodegenerative sunt factori de risc pentru epilepsie și O&NS, ce sunt legate atât de condițiile patologice (epilepsie), cât și de tulburări neurodegenerative, este evident rolul căilor O&NS în inducerea și evoluția convulsiilor.

Scopul lucrării

Scopul studiului efectuat a fost realizarea unei sinteze a literaturii de specialitate consacrate influenței stresului oxidativ asupra evoluției epilepsiei.

Rezultate obținute

Rolul homeostaziei radicalilor liberi în tulburările neuronale este de interes major, deoarece celulele din SNC sunt deosebit de vulnerabile la efectele nocive ale ROS și ale speciilor de azot reactiv (RNS). Mecanismele de apărare antioxidante ale SNC sunt foarte limitate. Acest lucru este deosebit de important, deoarece creierul este bogat în mitocondrii și se caracterizează prin activitate metabolică aerobă ridicată, consum sporit de oxigen, raport înalt între suprafața membranei și volumul citoplasmatic, concentrație mare de acizi grași polinesaturați și o rețea neuronală vulnerabilă la perturbări.

Creierul este, de asemenea, bogat în fier, iar afectarea creierului eliberează ioni de fier capabili să catalizeze reacțiile radicalilor liberi [15]. Mai mult, radicalii superoxidici pot apărea și din autooxidarea catecolaminelor și în citoplasmă de către enzime, cum ar fi xantina oxidază [16]. Este important de menționat că antioxidanții endogeni și capacitatea de reparare slăbesc odată cu înaintarea în vârstă [32]. Dintre celulele creierului, neuronii sunt deosebit de vulnerabili la insultele oxidative din cauza nivelului scăzut de enzime antioxidante, în special catalază (CAT)

și glutatation peroxidază (GPX) și a antioxidanților neenzimatici, respectiv vitamina E și glutatationul (GSH) [33].

În SNC există doi neurotransmițători cu acțiune contrară majori: glutamatul care acționează excitativ și acidul γ -aminobutiric care acționează inhibitor (GABA). Glutamatul excitator, care ar putea acționa toxic la concentrații mai mari, este considerat a fi unul dintre principalii contribuitori la dezvoltarea stresului oxidativ [35].

Stresul oxidativ este capabil să deterioreze diverse componente celulare sau ținte moleculare, inclusiv acizi nucleici, lipide, proteine și carbohidrați [36]. Oxidarea glucidelor monozaharide are ca rezultat formarea oxaldehidelor, care pot contribui la agregarea proteinelor [21].

Radicalii liberi pot declanșa perturbarea acizilor nucleici. Ei pot să altereze fragmentele ADN sau modifica direct bazele purinei și piridinei, ceea ce duce la ștergeri și alte mutații. Deteriorarea ADN-ului activează enzima de reparare a AND-poli-ADP-riboză polimerază-1 (PARP-1), care prin supraactivare își epuizează substratul nicotinamidă adenină dinucleotidă (NADH), încetinind rata glicolizei, transportului de electroni și formării ATP, ducând în cele din urmă la afectarea funcțională sau moarte celulară [22]. Există, de asemenea, mtDNA, care este o țintă și mai vulnerabilă pentru daunele radicalilor liberi din cauza diminuării mecanismelor de reparație și a lipsei de histone și datorită vecinătății sale cu locul de generare a ROS. Întreruperea mtDNA poate cauza disfuncția mitocondrială care duce la funcționarea perturbată a celulei. În cele din urmă, ARN este cel mai susceptibil la deteriorarea oxidativă, întrucât este monocatenar, nu este protejat de legarea hidrogenului și este mai puțin protejat de proteine. Daunele ARN pot duce la alterarea proteinelor sau la regregarea expresiei genice [23]. Una dintre afecțiunile mitocondriale este epilepsia mioclonului cu sindromul de fibre roșii zdrenți (MERRF), care este legată de mutații punctuale în gena tRNALys mitocondrială [24] [25]. Crizele parțiale sunt de asemenea frecvent observate în encefalopatia mitocondrială cu acidoză lactică și cu sindromul MELAS (episoade asemănătoare), care este asociată cu mutații ale genei tRNALeu mitocondrială [26] [27]. Crizele parțiale sunt, de asemenea, frecvent observate în encefalopatia mitocondrială cu acidoză lactică și sindromul episoadelor asemănătoare accidentului vascular cerebral (MELAS), care este asociat cu mutații în gena tRNALeu mitocondrială [26] [27]. Acizii grași polinesaturați din lipoproteine și fosfolipide ale membranelor biologice sunt, de asemenea, foarte sensibili la deteriorarea oxidativă, ceea ce duce la peroxidarea lipidelor (LP). LP afectează membranele biologice și, prin urmare, este foarte dăunătoare pentru structura și funcția lor. [28]

În acest proces se formează un număr mare de subproduse, deoarece hidroperoxidii nesaturați generați de peroxidarea acizilor grași polinesaturați se pot descompune pentru a forma aldehide reactive diferite, cea mai cunoscută fiind malondialdehida (MDA). Aldehidele reactive se pot lega covalent de proteine, modificându-și astfel funcția și inducând daune celulare [29].

O altă consecință posibilă a creșterii producției de ROS este deprecierea Na^+/K^+ -ATPazei, care menține în mod normal gradientii ionici ai membranelor neuronale. Acești gradientii chimici și electrice generează fondul activității electrice, care este esențial pentru funcțiile normale ale sistemului nervos. O scădere a Na^+/K^+ -Activitatea ATPase ar putea scădea pragul convulsiv și, prin urmare, duce la o creștere a eliberării neurotransmițătorilor excitațori, ca glutamatul și aspartatul sau la o scădere a neurotransmițătorilor inhibitori, cum ar fi GABA.

Glutamatul este prezent mai ales în spațiul intracelular. Concentrația crescută de glutamat în compartimentul extracelular poate fi toxică pentru neuroni [30]. Creșterea concentrației extracelulare de glutamat în cazul leziunii sau bolii SNC este legată de o serie de mecanisme potențiale, inclusiv eliberarea excesivă și absorbția celulară afectată. Generarea de ROS poate, de asemenea, contribui la inducerea activității convulsive prin inactivarea directă a glutaminsintazei (GS), permițând astfel o creștere excesivă a glutamatului. Activarea excesivă a receptorilor glutamatului, cauzată fie de agoniștii receptorilor de glutamat, fie de glutamat, poate induce neurotoxicitate, care este descrisă de termenul excitotoxicitate. Aceasta se manifestă prin stimularea excesivă a receptorilor de glutamat.

Uneori Ca^{2+} poate atinge niveluri ridicate în celulele neuronale deja în faza de leziune. Se anticipează că convulsiile prelungite, precum statutul epileptic, au ca rezultat o producție suficientă de ROS pentru a copleși apărările antioxidante mitocondriale endogene [36].

De regulă, în faza de accidentare, nivelurile Ca^{2+} sunt insuficiente pentru a provoca moartea celulelor. Cu toate acestea, mai târziu, în faza latentă, Ca^{2+} rămâne ridicat și inițiază multe efecte mediate de alți mesageri și, în consecință, determină modificări de lungă durată ale neuronilor, inclusiv moartea lor. Dacă celulele neuronale supraviețuiesc în faza latentă, nivelul Ca^{2+} rămâne în continuare crescut în faza cronică și, prin urmare, joacă un rol important în menținerea convulsiilor recurente spontane [31].

În general, toate modificările oxidative pot perturba funcția enzimelor, receptorilor, neurotransmițătorilor și proteinelor structural, fapt ce contribuie la declinul progresiv al celulelor, la schimbări neuroplastice aberante și, în final, chiar la moartea celulelor [36].

Epilepsie și stres oxidativ. Producerea radicalilor liberi are un rol esențial în reglarea funcției biologice, în afectarea structurilor celulare, precum și în patogeneza bolilor neurodegenerative ale sistemului nervos central [32] [33]. Stresul oxidativ și cel nitrosativ sunt considerate mecanisme posibile în patogeneza epilepsiei [34]. Cercetările arată că statutul epileptic modifică potențialul redox și scade nivelul de ATP, ceea ce poate duce la un colaps al producției și aprovizionării cu energie a creierului [35]. Există date despre convulsii generalizate asociate cu mutații mitocondriale în mai multe forme de epilepsie, inclusiv ADN-polimerază mitocondrială (POLG1) [36] și

tRNAPhe (MT-TF) [37]. Mai multe mutații ale ADN-ului mitocondrial, care compromit lanțul respirator mitocondrial sau sinteza ATP mitocondrială, au fost asociate cu fenotipurile epileptice [38].

Utilizarea modelelor animale a făcut contribuții importante la înțelegerea convulsiilor la oameni. De exemplu, injecția cu o singură doză de acid kainic (KA), agonist glutamatergic la șobolani, s-a dovedit a provoca statusul epilepticus (SE). S-a demonstrat că, la 16 ore de la injecția cu KA, enzima aconitază, care participă la ciclul Krebs, devine inactivă, scăzând disponibilitatea agenților reductori, NADH și FADH₂, pentru lanțul de transport al electronilor mitocondriali și compromițând sinteza ATP [39]. Injecțiile S-temice sau intracerebrale KA pot duce la o activitate epileptică consistentă. În cadrul unui experiment în care KA a fost injectat direct în zona CA3 a hipocampului, a fost demonstrată o creștere a sintezei de NO, contribuind la moartea celulelor prin apoptoză în zona respectivă, după inducerea unui SE în lobul temporal experimental [40]. Prin urmare, în modelul de inducție KA se atestă creșterea producției de ROS, disfuncția mitocondrială și apoptoza neuronilor în mai multe zone ale creierului, în special a celor din hipocamp [41]. Un alt studiu care a utilizat KA în regiunea CA3 a produs convulsii și scăderea activității nicotinamidei adenină dinucleotidă citocrom c reductază (NCCR), un marker pentru complexe I și III ale ETC. Acest lucru a fost observat în întregul hipocamp, la 180 de minute după inducție [42]. Pilocarpina (un agonist muscarinic) este un alt model de inducție chimică. Stimularea excitotoxică cu acest preparat are ca rezultat producerea excesivă de ROS, formarea peroxidării lipidelor și a nitritului în hipocamp, striat și cortexul frontal. Pilocarpina este considerată un model adecvat pentru studierea epilepsiei lobului temporal (ELT). Animalele sunt tratate sistematic cu o doză de pilocarpină care induce o criză acută a sistemului limbic. Starea de statut epileptic se rezolvă de obicei cu administrarea de diazepam. Această intoxicație acută este urmată de o perioadă de „latență” (adică fără convulsii), care durează de obicei între 1-2 săptămâni. Este urmată curând de o afecțiune a crizelor spontane cronice, similară cu ELT uman. Din perspectivă patologică, animalele tratate cu pilocarpină prezintă modificări foarte asemănătoare cu scleroza hipocampală, o afecțiune similară cu cea atestată la majoritatea pacienților cu ELT. Există dovezi care indică creșterea producției ROS în SE, indusă de pilocarpină sau KA, ceea ce reduce cantități considerabile de O_2^- și provoacă supraîncărcarea mecanismelor de protecție endogene (GPx, SOD și CAT). Drept urmare, are loc deteriorarea oxidativă a proteinelor, fosfolipidelor și ADN-ului mitocondrial [43]. Mai mult, există date recente care demonstrează implicarea OS-ului mitocondrial în deteriorarea oxidativă a ADN-ului, care se produce în etape diferite ale epileptogenezei declanșate de pilocarpină sau KA [45].

Waldbaum și colab. și-au propus să investigheze dacă leziunile acute induse de formarea ROS contribuie mecanic la formarea epilepsiei cronice. Aceștia au cercetat posibile

modificări mitocondriale și celulare produse în „perioada de latență”, dintre leziunea inițială a creierului și apariția convulsiilor spontane recurente, cu implicație în progresia simptomelor către epilepsie cronică. Ei au stabilit că procesele adaptive de reparație mtDNA apar imediat după creșterea ROS indusă de SE acută. Cu toate acestea, creșterea cronică a producției de ROS este însoțită de eșecul în inducerea reparației mtDNA [44]. Deși producția mitocondrială de H_2O_2 revine la nivelurile de control în timpul „perioadei de latență”, măsurătorile indicilor sistemelor de operare mai sensibile sugerează apariția sistemelor de operare în curs de desfășurare, în special în compartimentul mitochondrial, în această perioadă [45]. Indicii markerilor stresului oxidativ (GSH) și ai markerilor specifici ai stării redox în mitocondrii (coenzima A) s-au dovedit a fi cu scădere în hipocamp după inducerea de SE de litiu-pilocarpină și se reduc definitiv în timpul epileptogenezei și epilepsiei cronice, chiar și atunci când măsurătorile producției de H_2O_2 și deteriorarea mtDNA revin la nivelurile de control [42]. Aceasta poate contribui la o disfuncție mitocondrială semnificativă, dăunând excitabilității neuronale prin disfuncția ETC și scăderea producției de ATP. Deteriorarea ADN-ului mtDNA și H-ul mitocondrial anormal, producția de O_2 s-a atastat în hipocampul șobolanilor la trei luni după SE. Astfel de date indică implicarea OS-ului mitocondrial în epilepsie și sugerează, de asemenea, că leziunile mitocondriale ar putea contribui la epileptogeneză [44]. Astfel de dovezi confirmă ipoteza că disfuncția mitocondrială cauzată de producția radicalilor liberi ar crește susceptibilitatea la convulsii [46].

Disfuncția mitocondrială și mecanismele O&NS în timpul epileptogenezei rămân neelucidate până la capăt. Întrucât fosforilarea oxidativă mitocondrială este principala sursă de ATP pentru neuroni, iar mitocondrii participă în homeostazia calciului intracelular, disfuncția sa poate afecta puternic excitabilitatea neuronală și transmiterea sinaptică [46]. Astfel, scăderea nivelului de ATP intracelular și modificările aduse de calciul neuronal pot fi factori care contribuie la sensibilitatea crescută la convulsii epileptice asociate cu disfuncția mitocondrială. Aceste schimbări pot puternic afecta excitabilitatea neuronală și transmisia sinaptică, a cărei puritate trebuie să fie extrem de relevantă pentru generarea convulsiilor [47]. Walbaum și Patel propun un model care leagă modificările acute de epilepsia cronică, în timp ce Costello și Delanty consideră că epilepsia este un proces dinamic caracterizat printr-o perioadă de „latență” a epileptogenezei după afectarea creierului, de exemplu, o leziune la nivelul capului care apare înainte de prima confiscare neprovocată. Ulterior, riscul unor noi convulsii este din ce în ce mai mare și, prin urmare, „convulsiile ar putea genera convulsii” [48].

6.3. Medicamente antiepileptice. Utilizarea medicamentelor antiepileptice (AED) cu efecte neuroprotectoare a fost indicată în modele umane sau animale de insulte excitotoxice/nonexcitotoxice [49]. Clasic, obiectivul principal al controlului epilepsiei s-a concentrat pe

suprimarea activității convulsive după ce s-a dezvoltat epilepsia, dar provocarea rămâne să controlăm epilepsia dobândită prin prevenirea epileptogenezei, proces prin care creierul devine epileptic [58].

Într-un articol consacrat efectelor medicamentelor antiepileptice în modele experimentale de epileptogeneză, A. Legido a folosit modelul de aprindere, care implică stimularea electrică subconvulsivă repetată la creier, ceea ce duce la convulsii spontane. Medicamentele clasice, precum fenobarbitalul, diazepamul și acidul valproic, au fost mai efective decât fenitoina și carbamazepina (care a fost practic inefective). Etosuximida a avut efect pozitiv doar pe un singur model. Noile medicamente antiepileptice, vigabatrin, levetiracetam, tiagabină și zonisamidă, atenuează convulsiile. Felbamatul are un efect nesemnificativ, lamotrigina și topiramatul sunt inefective [50]. Studii pe animale privind efectul fenitoinii pe peroxidarea lipidelor creierului, inițiate de un mecanism de generare a radicalilor liberi, au arătat că tratamentul cu fenitoină previne apariția stării convulsive [51].

Temkin a efectuat o metaanaliză consacrată efectelor AED pentru prevenirea convulsiilor și studierii eficacității lor asupra convulsiilor provocate. Au fost evaluate datele furnizate de șapte studii de medicamente sau combinații ale lor folosite pentru prevenirea convulsiilor asociate cu febră, alcool, malarie, asfizie perinatală, medii de contrast, tumori, craniotomie și leziuni cerebrale traumatice. S-a stabilit că AED-urile erau efective sau au avut rezultate promițătoare predominant în caz de convulsii provocate (acute, simptomatice). Pentru convulsiile (epileptice) neprovocate, nici unul dintre medicamentele cercetate nu a fost efectiv, iar unele au avut o importanță clinică redusă [52].

La rândul lor, Hamed și Abdellah au analizat relația dintre elementele esențiale ale homeostaziei creierului (oligoelemente, electroliți, peroxidarea lipidelor membranare și antioxidanți), excitotoxicitatea neuronală și AED. Autorii au identificat diferite efecte printre tratamentele AED în care carbamazepina (CBZ) s-a dovedit a fi un preparat antiepileptic mai bun pentru controlul convulsiilor legate de radicalii liberi și nivelul oligoelementelor a fost mai bine reglementat cu CBZ, decât cu valproat (VPA) și fenitoină (PHT) în timpul terapiei [53].

Cercetând realizările ce țin neuro protecție, antioxidanți, radicali liberi, stres oxidativ și AED, Azam și colab. au ajuns la concluzia că utilizarea substanțelor cu radicali liberi în tratamentul epilepsiei oferă perspective mari în ceea ce privește crearea medicamentelor antiepileptice noi. Deși au fost elaborate noi medicamente pentru epilepsie, rata de eșec a terapiilor neuroprotectoare prezentate în studiile clinice este ridicată [49].

Conform lui Schmidt și Loscher, există o serie de studii clinice care nu au reușit să dovedească un efect semnificativ al mai multor AED în epilepsie posttraumatică. Astfel de rezultate sugerează necesitatea de a studia în continuare mecanismele de bază ale epilepsiei. În ceea ce privește prevenirea epilepsiei, este important să se identifice markeri de diagnosticare și substanțe care ar ajuta la

identificarea pacienților care pot dezvolta epilepsie după un traumatism suportat [54].

Epilepsie și antioxidanți. Crizele induse pot fi prevenite parțial cu tratament folosind substanțe antioxidante, cum ar fi mimetice SOD, melatonină și vitamina C [32]. Kong și colab. au investigat rolul oxidării ARN în epileptogeneză. Folosind pilocarpina pentru a induce SE, ei au observat o creștere semnificativă a oxidării ARN la neuroni vulnerabili la creierul de șobolan imediat după SE, urmată de moarte neuronală [32]. S-a constatat că un supliment zilnic de antioxidanți (coenzima Q10) reduce semnificativ oxidarea ARN în cazul șobolanilor protejați de SE și pierderea neuronală. Aceste rezultate sugerează că oxidarea ARN poate fi un factor important care contribuie la procesul de degenerare în convulsii induse de neuron și epileptogeneză [32].

S-a demonstrat că antioxidanții catalitici reduc daunele oxidante la animalele cu epilepsie, deși nu au efecte asupra duratei sau latenței convulsiei. Pretratarea cu EUK-134 (un superoxid sintetic dismutază / catalază mimică) previne deteriorarea neuronală și scade nivelul markerilor de deteriorare oxidativă, inclusiv nitrarea de proteine, care rezultă din convulsii induse de KA [55].

Sudha și colab. au studiat parametrii stresului oxidativ (peroxidarea lipidelor, superoxid dismutaza (SOD), glutatión peroxidaza (GP), glutatión reductaza (GR) și catalaza) și nivelurile de substanțe antioxidante (vitamina C, vitamina E, vitamina A și indicii activității ceruloplasminei) determinați la pacienții epileptici în raport cu datele grupului de control. Peroxidarea lipidelor la pacienții cu epilepsie a fost semnificativ mai mare, în comparație cu controalele. Mai mult, concentrațiile plasmatiche de ceruloplasmă au fost semnificativ crescute în aceste cazuri. Concentrațiile plasmatiche de vitaminele C și A au fost cu mult mai scăzute în epileptici în comparație cu controalele. La pacienții examinați, nivelurile de GR au fost considerabil mai mari decât în timpul tratamentului, iar concentrațiile plasmatiche de vitaminele A, E și C au rămas în limite normale. Rezultatele indică faptul că statutul de antioxidanți în sângele pacienților epileptici, care a fost scăzut comparativ cu grupul de control, s-a îmbunătățit după tratamentul cu AED, ceea ce sugerează că radicalii liberi pot fi implicați în epilepsie [56].

Wojtal și colab. au revizuit rolul NO în acțiunea anticonvulsivă a AED-urilor. Influența diversilor inhibitori de sintaza NO (INOS) asupra activității anticonvulsivante AED a fost testată pe modele experimentale de epilepsie animală. Rezultatele au arătat că unele NOSI au fost în măsură să modifice (prin potențare, inhibare sau lipsă de efect) proprietățile anticonvulsive ale AED, dar efectele NOSI nu au fost inversate de L-arginină, un precursor al NO [57].

Creșterea răspunsului inflamator, observată la pacienții epileptici (creierul îmbătrânit), este asociată cu modificările structurale (reducerea dimensiunii neuronale și pierderea substanței albe) și funcții afectate în zone precum cortexul prefrontal [58] și lobul temporal [59], care este legat de un declin progresiv al funcțiilor cognitive și

de memorie, precum și de epilepsie [59]. Studiile prospective sugerează că markeri inflamatori (de exemplu, proteina C-reactivă de înaltă sensibilitate, interleukina-6, fibrinogenul) sunt predictorii importanți ai rezultatelor cognitive adverse, iar rapoarte recente leagă biomarkerii inflamatori cu atrofia cerebrală accelerată de vârstă [62]. Într-adevăr, epilepsia cronică pare a fi asociată cu un risc crescut de expunere la factori de risc inflamator legați de îmbătrânirea cognitivă anormală și demență. Dovada că persoanele cu epilepsie pot fi deosebit de vulnerabile la inflamații provin atât din studii umane, cât și la animale. De exemplu, convulsiile induse experimental declanșează un răspuns inflamator important în zonele neuronale implicate în debutul și propagarea convulsiilor [77] [78]. Au fost depistați markeri inflamatori crescători în ser, LCR și creierul persoanelor cu epilepsie. Există constatări relevante ale creșterii IL-6 în urma convulsiilor tonico-clonice recente [79] [80]. În general, există o corelație între stresul oxidativ și inflamația la persoanele cu epilepsie, ceea ce sporește apariția bolilor neurodegenerative.

Metabolizarea lipidelor prezintă un interes deosebit datorită concentrațiilor mari în SNC. Într-un articol despre efectele de modificare a metabolismului lipidic pe mecanismul leziunilor cerebrale și tulburărilor, Adibhatla și Hatcher descriu importanța aterosclerozei care rezultă din acumularea de lipide derivate din LDL în peretele arterial. Lipidele au fost asociate cu fiziopatologia multor tulburări neurologice și boli neurodegenerative [61].

Secvența evenimentelor de ischemie cerebrală începe cu pierderea de energie, ceea ce duce la eliberarea excesivă de neurotransmițători; stimularea ridicată a receptorilor glutamatului duce la creșterea nivelului Ca⁺⁺ intracelular și activarea fosfolipazei A2 (PLA2) [61]. Activarea PLA2 are ca rezultat hidroliza fosfolipidelor membranare și eliberarea acizilor grași liberi, incluzând acid arahidonic, un precursor al eicosanoidelor care semnalizează celulele importante [61]. ROS este produs prin metabolismul acidului arahidonic care reacționează cu lipidele celulare pentru a genera peroxizi lipidici. ROS poate fi, de asemenea, format neenzimatic (autooxidarea catecolaminelor) [60]. ROS produce oxidarea acizilor grași polinesaturați, urmată de producerea de aldehide conjugate. Cea mai studiată aldehydă este 4-hidroxi-2-nonenal (HNE).

HNE este considerată un potențial inductor al morții celulelor apoptotice și cauzează disfuncția celulară prin numeroase mecanisme (absorbția extracelulară a calciului, epuizarea GSH, alterarea funcției mitocondriale care duce la eliberarea citocromului C și la activarea ulterioară a cascadei caspazei și pierderea funcției proteasomului) [63]. Într-un studiu care demonstrează că apoptoza celulară poate activa un răspuns inflamator, ducând la mai multe daune oxidative, Rong și colab. au investigat efectele superoxidului dismutază / catalază mimetică sintetică (EUK-134) pe indicii de stres oxidativ, comparativ cu manifestările patologice produse de convulsia indusă de acidul kainic (KA). EUK-134 a prevenit stresul oxidativ și deteriorarea creierului de șobolan atenuat indusă de KA și a arătat că excitotoxicitatea indusă de kainat este cauzată,

cel puţin parţial, de acţiunea speciilor de oxigen reactiv. De asemenea, stresul oxidativ are loc înainte de moartea neuronală semnificativă [55]. Creşterea producţiei de ROS iniţiază un ciclu patologic cu pierderea apărărilor antioxidante care contribuie la deteriorarea progresivă a celulelor, ceea ce creşte în continuare producţia de radicali liberi care provoacă daune tuturor componentelor celulei (proteine, carbohidraţi, acizi nucleici şi lipide). În consecinţă, are loc distrugerea celulară, producând o creştere a stresului oxidativ. Acest ciclu poate duce la scăderea progresivă a funcţiei fiziologice şi, în final, la moartea celulelor [60]. Studiile epidemiologice au arătat că nivelurile crescute de fosfolipază A2 în sânge asociate lipoproteinei sunt predictorii ai riscului crescut de accident vascular cerebral [64]. Niveluri crescute de peroxidare lipidică şi ale produselor secundare neurotoxice ale peroxidării lipidelor (HNE) au fost stabilite în regiunile vulnerabile ale creierului în cazul bolii Alzheimer (AD), precum şi nivelurilor crescute de HNE în ţesutul cerebral prelevat de la pacienţi cu epilepsie [65].

Stresul oxidativ şi cel nitrosativ au un efect important la debutul şi menţinerea convulsiilor, aşa cum s-a discutat anterior. Totuşi, acest efect pare să aibă un impact diferit asupra grupurilor de diferite vârste (copii, adulţi tineri şi vârstnici). SNC este extrem de sensibil la stresul oxidativ, în special la pacienţii cu epilepsie şi la vârstnici. Urmează ca studiile experimentale viitoare să confirme relaţia dintre stresul oxidativ, persoanele în vârstă şi epilepsia.

BIBLIOGRAFIE

1. Stamler J.S., Simon D.J., Jaraki O. et al. S-nitrosylation of tissue-type plasminogen activator confers vasodilating and antiplatelet properties on the enzyme, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, vol. 89, no. 17, pp. 8087-8091, 1992.
2. Emerit J., Edeas M., and Bricaire F. Neurodegenerative diseases and oxidative stress, *Biomedicine and pharmacotherapy*, vol. 58, no. 1, pp. 39-46, 2004.
3. Tabima D.M., Frizzell S. and Gladwin M.T. Reactive oxygen and nitrogen species in pulmonary arterial hypertension, *Biology and Free Radical Medicine*, vol. 52, no. 9, pp. 1970-1986, 2012.
4. Maes M., Galecki P., Chang Y.S. and Berk M. A review of oxidative and nitrosative stress (O&NS) pathways in major depression and their possible contribution to (neuro) degenerative processes in this disease, *advances in Neuropsihofarmacology and Biological Psychiatry*, vol. 35, no. 3, pp. 676-692, 2011.
5. Barnham K.J., Masters C.L. and Bush A.I. Neurodegenerative diseases and oxidative stress. *Nature Review Drug Discovery*, vol. 3, no. 3, pp. 205-214, 2004.
6. Verucel L. Epilepsy and neurodegenerative diseases in adults: a clinical review. *Epileptic Disorders*, vol. 8, supplement 1, pp. S44 - S54, 2006.
7. McCullagh C.D., Craig D., McIlroy S.P. and Passmore A.P. Risk factors for dementia. *Advances in psychiatric treatment*, vol. 7, no. 1, pp. 24-31, 2001.
8. Rowan A.J. Epilepsy in the elderly. *Epilepsy and Behavior*, vol. 1, supplement 1, pp. S12 - S14, 2000.
9. Masnou P. Epilepsy of the elderly subject. *The Letter of Neurology*. vol. 5, pp. 337-341, 2001.
10. Van Cott A.C. Epilepsy and EEG in the elderly. *Epilepsy*, vol. 43, Supplement 3, pp. 94-102, 2002.
11. Stephen L.J. and Brodie M.J. Epilepsy in the elderly. *The Lancet*, vol 355, no. 9213, pp. 1441-1446, 2000.
12. Tallis R., Boon P., Perucca E. and Ştefan L. Epilepsy in the elderly: management problems. *Epileptic Disorders*, vol. 4, Supplement 2, pp. S33 - S39, 2002.
13. Trinka E. Epilepsy: comorbidity in the elderly. *Acta Neurologica Scandinavica, Supplement*, vol 180, pp. 33-36, 2003.
14. Sirvfn T.T. Acute and chronic seizures in patients older than 60 years. *Mayo Clinic Proceedings*, vol. 76, no. 2, pp. 175-183, 2001.
15. Halliwell B. Reactive oxygen species and central nervous system. *J. Neurochem.*, 1992, 59 (5), 1609-1623.
16. Halliwell B. The role of free radicals in neurodegenerative diseases: therapeutic implications for treatment with antioxidants. *Drug Aging*, 2001, 18 (9), 685-716.
17. Halliwell, B.; Gutteridge, J. *Free Radicals in Biology and Medicine*, 4th Edition. 2007, Chapter 4: Cellular responses to oxidative stress: adaptation, deterioration, repair, senescence and death. 2007, 187.
18. Shivakumar B.R; Anandatheerthavarada, H.K; Ravindranath V. Free radical scavenging systems in the brain of the developing rat. *Int. J. Dev. Neurosci.*, 1991, 9 (2), 181-185.
19. Coyle J.T; Puttfarcken P. Oxidative stress, glutamate and neurodegenerative disorders. *Science*, 1993, 262 (5134), 689-695.
20. Waldbaum S.; Patel M. Mitochondrial dysfunction and oxidative stress: a link that contributes to acquired epilepsy? *J. Bioenerg. Biomembr.*, 2010, 42 (6), 449-455.
21. Sayre L.M; Moreira P.I; Smith M.A; Perry G. Metal ions and oxidative protein modification in neurological diseases. *Ann Ist Super Sanita*, 2005, 41 (2), 143-164.
22. Facchinetti F; Dawson V.L; Dawson T.M. Free radicals as mediators of neuronal damage. *Mol cellular. Neurobiol.*, 1998, 18 (6), 667-682.
23. Nunomura A.; Moreira P.I; Takeda A.; Smith M.A; Perry G. Oxidative RNA damage and neurodegeneration. *Curr. Med. Chem.*, 2007, 14 (28), 2968-2975.
24. Zeviani M.; Muntoni F; Savarese N.; Serra G.; Tiranti V.; Carrara F; Mariotti C.; DiDonato S. A MERRF / MELAS overlap syndrome associated with a new point mutation in the mitochondrial mitochondrial DNA (Lys) gene. *Euro. J. Hum. Genet.*, 1993, 1 (1), 80-87.
25. Shoffner J.M; M.T lot; Lezza A.M; Seibel P; Ballinger S.W; Wallace D.C Myoclonic epilepsy and ragged

- red fiber disease (MERRF) is associated with a mitochondrial mutation in mitochondrial DNA (Lys). *Cell*, 1990, 61 (6), 931-937.
26. Goto Y.; Nonaka I.; Horai S. A new cDNA mutation associated with mitochondrial myopathy, encephalopathy, lactic acidosis, and stroke-like episodes (MELAS). *Biochim. Biophys. Acta*, 1991, 1097 (3), 238-240.
 27. Canafoglia L.; Franceschetti S.; Antozzi C.; Carrara F.; Farina L.; Granata T.; Lamantea E.; Savoardo M.; Uziel G.; Villani F.; Zeviani M.; Avanzini G. Epileptic phenotypes associated with mitochondrial disorders. *Neurology*, 2001, 56 (10), 1340-1346.
 28. Poon H.F.; Calabrese V.; Scapagnini G.; Butterfield D.A. Free radicals and brain aging. *Clin. Geriatr. Med.*, 2004, 20 (2), 329-359.
 29. Patel M. Mitochondrial dysfunction and oxidative stress: the cause and consequence of epileptic seizures. *Free root. Biol. Med.*, 2004, 37 (12), 1951-1962.
 30. Chamoun R.; Suki D.; Gopinath S.P.; Goodman J.C.; Robertson C. The role of extracellular glutamate measured by cerebral microdialysis in severe traumatic brain injury. *J. Neurosurg.*, 2010, 113 (3), 564-570.
 31. Delorenzo R.J.; Sun Y.E.S.; Deshpande L.S. Cellular mechanisms underlying acquired epilepsy: the calcium hypothesis in inducing and maintaining epilepsy. *Pharmacol. Ther.*, 2005, 105 (3), 229-266.
 32. Kong Q. and Lin C.L.G. Oxidative damage to RNA: mechanisms, consequences and diseases. *Sciences of cellular and molecular life*, vol. 67, no. 11, pp. 1817-1829, 2010.
 33. Malinska D., Kulawiak B., Kudin A.P. et al. Complex III-dependent superoxide production of cerebral mitochondria contributes to the formation of convulsions-related ROS, *Biochimica et Biophysica Acta*, vol. 1797, no. 6-7, pp. 1163-1170, 2010.
 34. Chang S.J. and Yu B.C. Mitochondrial brain problems: mitochondrial dysfunction and oxidative status in epilepsy. *Journal of Bioenergetics and Biomembranes*, vol 42, no. 6, pp. 457-459, 2010.
 35. Wasterlain C.G., Fujikawa D.G., Penix L. and Sankar R. The pathophysiological mechanisms of brain damage in status epilepticus. *Epilepsy*, vol 34, supplement 1, pp. S37 - S53, 1993.
 36. Zsurka G., Baron M., Stewart J.D. et al. Cloned mitochondrial DNA mutations expanded in epileptic individuals with mutated DNA polymerase. *Journal of Neuropathology and Experimental Neurology*, vol 67, no. 9, pp. 857-866, 2008.
 37. Zsurka G., Hampel K.G, Nelson I. et al., Severe epilepsy as a major symptom of new mutations in the mitochondrial tRNA^{Phe} gene. *Neurology*, vol 74, no. 6, pp. 507-512, 2010.
 38. Zsurka G. and Kunz W.S. Mitochondrial dysfunction in neurological disorders with epileptic phenotypes. *Journal of Bioenergetics and Biomembranes*, vol 42, no. 6, pp. 443-448, 2010.
 39. Liang L.P., Ho Y.S. and Patel M. Production of mitochondrial superoxide in kainate-induced hippocampal damage. *Neuroscience*, vol 101, no. 3, pp. 563-570, 2000.
 40. Chuang Y.C., Chen S.D., Lin T.K. et al. Nitrogen oxide upregulation synthase II contributes to apoptotic cell death in the hippocampal CA3 subfield through a cytochrome c / caspase-3 signaling cascade after induction of the experimental status of the epileptic temporal lobe in rats. „*Neuropharmacologie*”, vol. 52, nr. 5, pp. 1263-1273, 2007.
 41. Shin E.J., Jeong J.H., Chung Y.H. et al. The role of oxidative stress in epileptic seizures, *Neurochemistry International*, vol. 59, no. 2, pp. 122-137, 2011.
 42. Waldbaum S. and Patel M., Mitochondrial dysfunction and oxidative stress: a link that contributes to acquired epilepsy? *Journal of Bioenergetics and Biomembranes*, vol 42, no. 6, pp. 449-455, 2010.
 43. Folbergrova 'and Kunz W.S. Mitochondrial dysfunction in epilepsy. *Mitochondrion*, vol. 12, no. 1, pp. 35-40, 2011.
 44. Jarrett S.G., Liang L.P., Hellier J.L., Staley K.J. and Patel M., Mitochondrial DNA damage and base excision repair damage during epileptogenesis, *Neurobiology of the disease*, vol. 30, no. 1, pp. 130-138, 2008.
 45. Waldbaum S., Liang L.P. and Patel M., Persistent insufficiency of mitochondrial and tissue redox status in lithium-pilocarpine-induced epileptogenesis, *Journal of Neurochemistry*, vol. 115, no. 5, pp. 1172-1182, 2010.
 46. Patel M., Mitochondrial dysfunction and oxidative stress: the cause and consequence of epileptic seizures, *Biology and Free Radical Medicine*, vol. 37, no. 12, pp. 1951-1962, 2004.
 47. Kudin A.P., Zsurka G., Elger C.E. and Kunz W.S., Mitochondrial involvement in temporal lobe epilepsy, *Experimental Neurology*, vol. 218, no. 2, pp. 326-332, 2009.
 48. Costello D.J. and Delanty N., Oxidative Lesion in Epilepsy: Potential for Antioxidant Therapy? *Expert Review of Neu-rotherapeutics*, vol 4, no. 3, pp. 541-553, 2004.
 49. Azam F., Prasad M.V.V. and Thangavel N., Targeting the oxidative stress component in epilepsy therapy, *Current Topics in Medicinal Chemistry*, vol. 12, no. 9, pp. 994-1007, 2012.
 50. Legido A., Prevention of epilepsy, *Journal of Neurology*, vol. 34, no. 2, pp. 186-195, 2002.
 51. Willmore L.J. and Triggs W.J., Effect of phytoin and corticosteroids on seizures and lipid peroxidation in experiential posttraumatic epilepsy, *Journal of Neurosurgery*, vol. 60, no. 3, pp. 467-472, 1984.
 52. Temkin N.R., Antiepileptogenesis and seizure prevention studies with antiepileptic drugs: meta-analysis of controlled studies, *Epilepsy*, vol. 42, no. 4, pp. 515-524, 2001.
 53. Hamed S.A. and Abdellah M.M., Traces of elements and homeostasis with electrolytes and their relationship with the activity of antioxidant enzymes in the hyperexcitability of the brain of epileptic

- patients, *Journal of Pharmacological Sciences*, vol. 96, no. 4, pp. 349-359, 2004.
54. Loscher W. and Schmidt D., *New Horizons in the Development of Antiepileptic Drugs*, *Epilepsy Research*, vol. 50, no. 1-2, pp. 3-16, 2002.
 55. Rong Y., Doctrow S.R., Tocco G. and Baudry M., EUK-134, a superoxide of synthetic and mimetic catalase dismutase, prevents oxidative stress and attenuates kainate-induced neuropathology. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United. State of America*, vol 96, no. 17, pp. 9897-90902, 1999.
 56. Sudha K., Rao A.V. and Rao A., Oxidative stress and antioxidants in epilepsy. *Clinica Chimica Acta*, vol. 303, no. 1-2, pp. 19-24, 2001.
 57. Is Wojtal K., Gniatkowska-Nowakowska A., and Czuczwar S.J., Is nitric oxide involved in the anticonvulsant action of antiepileptic drugs? *Polish Journal of Pharmacology*, vol. 55, no. 4, pp. 535-542, 2003.
 58. Hesdorffer D.C., Hauser W.A., Annegers J.F., Kokmen E. and Rocca W.A., Dementia and unprovoked seizures with onset in adults, *Neurology*, vol. 46, no. 3, pp. 727-730, 1996. H.
 59. Mangge, Almer G., Truschnig-Wilders G., Schmidt A., Gasser R. and Fuchs D., "Inflammation, adiponectin, obesity and cardiovascular risk, *Current Medicinal Chemistry*, vol. 17, no. 36, pp. 4511-4520, 2010.
 60. Adibhatla R.M. and Hatcher J.F., Transformation of lipid metabolism into brain lesions and disorders, *Subcellular biochemistry*, vol. 49, pp. 241-268, 2008.
 61. Muralikrishna Adibhatla R., Hatcher J.F. and Dempsey R.J., Phospholipase A2, hydroxyl radicals and lipid peroxidation in transient cerebral ischemia, *Antioxidants and redox signaling*, vol. 5, no. 5, pp. 647-654, 2003.
 62. Adibhatla R.M. and Hatcher J.F., Phospholipase A2, reactive oxygen species and lipid peroxidation in CNS pathologies, *Journal of Biochemistry and Molecular Biology*, vol. 41, no. 8, pp. 560-567, 2008.
 63. Uchida K., 4-Hydroxy-2-nonenal: a product and a mediator of oxidative stress, *Progres in Research Lipid*, vol. 42, no. 4, pp. 318-343, 2003.
 64. Vittos O., Toana B., Vittos A. and Moldoveanu E., Phospholipase A2-lipo-protein (Lp-PLA2): a review of its role and significance as a cardiovascular biomarker, *Bio-markers*, vol. 17, no. . 4, pp. 289-302, 2012.
 65. Williams T.I., Lynn BC., Markesbery W.R. and Lovell M.A., Elevated levels of 4-hydroxynonenal and acrolein, neurotoxic markers of lipid peroxidation in the brain, mild cognitive impairment, and early Alzheimer's disease, *Neurobiology of aging*, vol. 27, no. 8, pp. 1094-1099, 2006.