

INNE ZAGADNIENIA

Janusz Wendorff

Received: 03.11.2008

Accepted: 12.11.2008

Published: 30.11.2008

Molekularne podstawy zaburzeń migracji neuronalnej

Molecular basis of neuronal migration disorders

Klinika Neurologii, Instytut CZMP, Zakład Neurologii i Neurorehabilitacji UJK, ul. Rzgowska 281/289, 93-338 Łódź,
tel.: 0 602 448 907, e-mail: janusz_wendorff@o2.pl

Praca finansowana ze środków własnych

Streszczenie

Zaburzenia migracji neuronalnej są przyczyną szeregu zespołów neuropediatrycznych, takich jak: padaczka, mózgowie porażenie dziecięce, wodogłowie, wrodzona dystrofia mięśniowa, a także współistnieją w autyzmie i innych zaburzeniach neurorozwojowych. Migracja neuronalna podlega regulacji genetycznej, zależy również od czynników wzrostowych i może być zaburzona przez czynniki środowiskowe, np. infekcje wirusowe. Wiele białek będących produktami genów włączonych w proces migracji jest odpowiedzialnych za poszczególne jej stadia, wśród nich są m.in.: filamina, dublekortina, LIS1, fukutyna, astrotaktyna, reelina. Autor omawia niektóre zespoły chorobowe związane z brakiem poszczególnych molekuł białkowych w przebiegu zaburzeń migracji, a także przywołuje wyniki własnych badań przebiegu padaczki wczesnodziecięcej w zaburzeniach migracji neuronalnej. Najczęstszą wadą jest zespół lizencefalii z 4 odmianami genetycznymi: izolowaną lizencefalią (ILS), zespołem Millera-Diekera (MDS), lizencefalią dziedziczącą się z chromosomem X i podkorową obręczową heterotopią (XLIS). Mutacja w obrębie genu *dublekortiny* jest przyczyną zespołu „podwójnej kory” – dotyczy on kobiet, najczęściej powoduje padaczkę lekooporną, upośledzenie umysłowe o różnym nasileniu. Do zespołów związanych z końcową fazą migracji należy dystrofia mięśniowa Fukuyamy (FMD) z uogólnioną wiotkością, przykurczami, wadami korowymi w mózgu i mózdzku, a także dysplazja korowa z wodogłowieciem sprzężonym z chromosomem X. W końcowej części pracy autor cytuje wyniki własne dotyczące przebiegu padaczki wczesnodziecięcej w zaburzeniach rozwoju kory mózgowej.

SŁOWA KLUCZOWE: migracja neuronalna, mutacje genetyczne, zaburzenia rozwoju kory, przebieg padaczki, dzieci

Summary

Disorders of neuronal migration are a relatively frequent cause of neuropaediatric syndromes such as: epilepsy, cerebral palsy, hydrocephalus, congenital muscular dystrophy and they may coexist with autism and other neurodevelopmental disorders. Migration of neuroblasts depends on genetic regulation, growth factors and it may be destroyed by some environmental factors such as virus infections. Some proteins, products of genes, included in the migration process are responsible for particular phase of migration, such as: filamin, doublecortin, LIS1, fucutin, astrotactin and reelin. The author describes some neuropaediatric syndromes associated with protein missing in the migration phase of neurodevelopment. The most frequent disorder is lissencephaly with its four genetic types: isolated lissencephaly (ILS), Miller-Dieker syndrome (MDS), X-linked lissencephaly and subcortical laminar heterotopia (XLIS). Mutation in the doublecortin gene leads to “double cortex” syndrome, which affects females and most frequently causes drug-resistant epilepsy and mental retardation of different severity. Fukuyama muscular dystrophy (FMD) belongs to syndromes associated with the final phase of neuronal migration. FMD manifests general muscular hypotonia, joint contractures, cerebral and cerebellar

cortical malformations, cortical dysplasia with X-linked hydrocephalus. In the final part of the study the author presents own results concerning the course of early-infantile epilepsy in malformations of cortical development.

KEY WORDS: neuronal migration, gene mutation, malformation of cortical development, course of epilepsy, children

Zaburzenia migracji neuronalnej są częstą przyczyną zespołów neurologicznych w neuropediatricznej i neurologii. Należałoby tu wymienić przede wszystkim padaczkę i zespoły padaczkowe, mózgowie porażenie dziecięce, schorzenia z dominującym objawem upośledzenia umysłowego, autyzmem oraz inne zaburzenia neurorozwojowe. Zaburzenia migracji neuronalnej mają głównie przyczynę genetyczną, są one następstwem braku szeregu białek, które zostają włączone w proces migracji na skutek mutacji genów kontrolujących tę fazę dojrzewania układu nerwowego. Oprócz wpływów genetycznych w nadzorowaniu prawidłowego procesu migracji biorą udział również czynniki wzrostowe – neureguliny, a proces ten mogą zaburzać czynniki środowiskowe, głównie infekcje wirusowe (np. wirusem cytomegalii)⁽¹⁾.

Do najbardziej istotnych okresów dojrzewania układu nerwowego należą kolejno: okres indukcji, proliferacji neuroblastów i komórek glejowych, okres migracji neuronalnej, dojrzewania neuronów, mielinizacji, okres synaptogenezy aż do zaprogramowanej śmierci komórek (apoptoza).

Ściana pierwotnej cewy nerwowej jest zbudowana z wielu warstw komórek neuroepitelialnych, które wykazują potencjalne zdolności proliferacji i różnicowania do prekursorów neuronów lub komórek glejowych. Jest to proces niezwykle aktywny – podziały komórkowe odbywają się z szybkością kilkuset tysięcy na minutę⁽²⁾.

Po zakończeniu fazy proliferacji komórki w okolicy komorowej tracą zdolności syntetyzowania DNA i migrują na zewnątrz, tworząc warstwę wtórną. Komórki te to młode postmitotyczne neurony, które nie będą się już dzielić, oraz prekursorowe komórki glejowe, które utrzymują swoją zdolność proliferacji. Neurony tej warstwy

kierują aksony do powierzchni cewy, formując warstwę brzeżną (marginalną) ubogą w komórki nerwowe.

Kolejność tworzenia warstw kory mózgowej zależy od kolejności migrujących neuronów. Najwcześniej migrują neurony tworzące warstwę wewnętrzną, natomiast jako ostatnie – tworzące warstwę powierzchniową. Komórki migrujące mają potencjalną możliwość przekształcenia się w różne komórki ostateczne, ten proces zależy od sygnałów otrzymanych z zewnątrz, przed rozpoczęciem migracji. Migracja neuronalna w mózgu i mózdku stanowi jeden z najważniejszych okresów w rozwoju układu nerwowego.

Rozpatrując proces migracji neuronalnej, musimy uwzględnić trzy istotne pytania dotyczące tego mechanizmu:

1. Wzdłuż jakich dróg poruszają się neurony migrujące?
2. W jaki sposób generowane są „siły” konieczne do poruszania się neuroblastów?
3. Jak migrujące neurony rozpoznają swój cel?

Główną drogę poruszania się neuronów stanowią włókna glejowe radialne. Upośledzenie wydzielania czynników wzrostowych neuregulin powoduje zaburzenie różnicowania gleju radialnego. Komórki glejowe zawierają na swej powierzchni receptory dla tych czynników wzrostowych: erB2, erB3, erB4 (receptory kinezy tyrozyny gleju Bergmana)⁽²⁾. Nowsze badania eksperymentalne dowodzą, że oprócz posuwania się neuronów wzdłuż włókien pierwotnego gleju w mechanizmie migracji istotna jest także dyspersja styczna „tangentialna”, w której migracja zależy głównie od białka N-CAM (*neuronal cell adhesion molecule*). W ten sposób powstaje np. warstwa interneuronów GABA⁽³⁾. Nieobecność czynników transkrypcji powoduje dramatyczne zmniejszenie liczby interneuronów.

Zaburzenia molekularne i genetyczne włączone w proces migracji	
1. Zaburzenia wczesnego okresu migracji neuroblastów a. filamina	guzkowa heterotopia dziedzicząca się z chromosomem X
2. Zaburzenia średniego okresu migracji neuroblastów a. duplekortyna b. LIS1 c. fukutyna d. astrotaktyna	DCX (<i>double cortex</i>), <i>subcortical laminar heterotopia</i> lizencefalia typ I, typ II, zespół Millera-Diekera dystrofia mięśniowa wrodzona Fukuyamy
3. Zaburzenia końcowego okresu migracji neuroblastów a. reelina b. CAM (<i>cell adhesion molecule</i>)	pachygyria, <i>cerebellar hypoplasia</i> stenoza wodociągu Sylwiusza z pachygyrią

102 Tabela 1. Propozycja klasyfikacji etiologicznej zaburzeń rozwojowych kory mózgowej powstających w okresie migracji neuronalnej⁽³⁾

Do białek mających znaczenie w adhezji neuroblastów do włókien glejowych należy przede wszystkim astrotaktyna, produkt genu *ASTN*. Należy on do jednego z najlepiej poznanych systemów włączonych w mechanizm migracji wzdłuż włókien glejowych. Stanowi ligand konieczny do przyłączenia się neuronów do włókien glejowych. Wiele innych powierzchniowych systemów receptorowych jest również włączonych w „wędrówkę” neuronów. Wykluczenie udziału *ASTN* powoduje redukcję lokomocji neuronalnej o 60%⁽³⁾. Ekspresję *ASTN* można stwierdzić zarówno w okolicy *germinal zone*, jak i w mózdku, hipokampie i korze mózgu.

Najwcześniej opisaną (45 lat temu) mutacją genetyczną powodującą zmiany architektoniki w wielu okolicach mózgu i mózdku jest mutacja *reeler*. W mutacji *reeler* wczesne fazy migracji są prawidłowe. W prawidłowym mózgu reelina wykazuje swoją ekspansję w warstwie brzeżnej kory. W przypadku tej mutacji płytka korowa nie zostaje podzielona na 2 warstwy: warstwę *preplate* i warstwę korową. Neurony w obrębie płytki korowej układają się w sposób bardzo zaburzony, nielaminarny^(3,4).

Defekt w budowie laminarnej kory jest przyczyną padaczki i upośledzenia umysłowego o uwarunkowaniu genetycznym. Opisano około 25 zespołów klinicznych, których mechanizmem są zaburzenia migracji neuronalnej. W tabeli 1 przedstawiono propozycję klasyfikacji etiologicznej zaburzeń rozwojowych kory mózgowej dotyczącej procesu migracji (zapropozował ją Sarnat w 2000 r.), uwzględnia ona białka, których brak jest przyczyną poszczególnych zespołów⁽⁵⁾.

Fenotyp SBH (*subcortical band heterotopia*), czyli **zespół „podwójnej kory”**, dotyczy kobiet z padaczką, głównie lekooporną, i upośledzeniem umysłowym o zróżnicowanym nasileniu (18% – norma intelektualna, 25% – upośledzenie umysłowe stopnia umiarkowanego, 32% – upośledzenie umysłowe stopnia lekkiego, 10% – przypadki *borderline*)^(6,7). Rozmiar, a zwłaszcza grubość obręczy heterotropii koreluje na ogół z ciężkością upośledzenia umysłowego i aktywnością padaczki.

Klasyczna lizencefalia (gładkomózgowie) stanowi ciężką wadę rozwoju kory mózgowej spowodowaną zatrzy-

maniem migracji neuronalnej w 9.-13. tygodniu ciąży. Wada ta charakteryzuje się gładką (bez zakrętów) korą mózgu, słabo wykształconą 4-warstwową korą, powiększonymi komorami i często współistniejącą hipoplazją spoidła wielkiego⁽⁸⁻¹⁰⁾.

Do zespołu lizencefalii można zaliczyć 4 rodzaje genetycznie odmiennych zaburzeń: **zespół Millera-Diekera (MDS)**, **izolowaną lizencefalię (ILS)**, **lizencefalię dziedziczącą się z chromosomem X i podkorową obręczową heterotopię (XLIS)**. Jedna trzecia pacjentów z ILS wykazuje delecję 17p 13.3, która obejmuje obszar genu *LIS1* odpowiedzialnego za klasyczną lizencefalię i zespół Millera-Diekera (lizencefalia + zmiany dysmorficzne twarzy i inne wady wrodzone).

Opisano też wiele przypadków mutacji w zakresie XLIS zlokalizowanej w obrębie Xq22,3-q24. Ekspresja genu dublekortyny (*DCX*) jest szczególnie wysoka w płatach czołowych. Sklonowany gen *DCX* zawiera wiele miejsc potencjalnej fosforylacji **neuralnej**. Zarówno ludzka, jak i mysia proteina *DCX* zawiera domenę CA2x **kinazy kalmoduliny**, a białko to należy do nowej klasy wewnątrzkomórkowych protein włączonych w proces **neuralnej migracji** oparty na przewodzeniu zależnym od jonów wapnia. W przypadku jego braku migracja neuronalna jest wybitnie zaburzona⁽⁶⁾.

Bardzo istotnym zespołem dla neuropediatrów jest **dysplazja korowa z pachygyrią, polimikrogyrią i wodogłowiem sprzężonym z chromosomem X**. Uważa się jednak, że jego przyczyną są raczej zaburzenia tworzenia się synaps niż nieprawidłowa migracja neuronalna⁽¹⁰⁾. Dziedziczące się z chromosomem X wodogłowie (XLH) jest następstwem mutacji dotyczącej neuralnej molekuly adhezji komórkowej (CAM) – glikoproteiny włączonej w mechanizm adhezji komórkowej, wzrastania aksonów i formowania się synaps⁽¹⁰⁾. Fenotypowo jest to zespół wrodzonego wodogłowia u chłopców (Xq28) z nieprawidłowym rozwojem ruchowym, deformacjami tułowia, z towarzyszącą agenezją ciała modzełowego.

Do zespołów związanych z mutacjami końcowej fazy migracji należy m.in. **dystrofia mięśniowa Fukuyamy (FMD)**. Lokalizację genu FMD określono na 9q31-33. Gen ten został wyizolowany, a jego produktem jest biał-

Rodzaj zaburzenia rozwojowego kory mózgowej	Skrót	Liczba przypadków
Połowiczy przerost mózgu	HEM	2
Ogniskowa dysplazja korowa	FCD	2
Schizencefalia	SCH	3
Gładkomózgowie	LIS	2
Podkorowa heterotopia	SH	2
Okolokomorowa heterotopia	PH	2
Wielozakrętowość	PG	4
Drobnozakrętowość	MG	2
Zlokalizowana heterotopia półkulowa	LH	1

Tabela 2. Zaburzenia rozwojowe kory mózgowej w materiale badań własnych: 20 dzieci z padaczką obserwowanych przez okres 2-5 lat

ko fukutyna⁽¹¹⁾. Pacjenci z FMD wykazują od urodzenia uogólnioną wiotkość i osłabienie siły mięśniowej wraz ze **zniesionymi** odruchami głębokimi, a także przykurczami. Do innych objawów należą wodogłowie, opóźniony rozwój psychoruchowy i drgawki występujące u około 50% pacjentów. Badanie mózgu metodą MRI zwykle wykazuje rozlaną pachygyrię, mikrogyrię w mózgu i mózdzku, wodogłowie i heterotopie. Polimikrogyria w mózdzku jest najczęstszym objawem zaburzeń migracji w tym zespole.

Zaburzenia rozwoju kory mózgowej (MDC) stanowią częstą przyczynę padaczki opornej na leczenie zarówno w wieku dziecięcym, jak i u dorosłych. Szereg badań przeprowadzonych w ostatnich latach, opartych na obserwacjach elektrokortyograficznych, immunocytochemicznych i elektrofizjologicznych, potwierdza istnienie procesu epileptogenezy w różnych formach MDC⁽¹²⁻¹⁴⁾. Mechanizm tej epileptogenezy w MDC nie został dostatecznie wyjaśniony. Obecnie wykazano, że tkanki dysplastyczne zachowują właściwości niedojrzałej tkanki i zachowują mechanizmy generowania napadów podobne jak w niedojrzałym mózgu. Dotyczy to m.in. „niedojrzałej” odpowiedzi receptorów, prowadzącej do synchronizacji neuronalnej, powodującej paradoksalną czynność pobudzającą ujawniającą się po aktywacji układu GABA, podobnie jak w niedojrzałym mózgu. Uważa się, że ta własność niedojrzałych neuronów zależy od względnie wysokiego stężenia jonów chlorowych GABA regulowanego przez kotransportery kationowe, które podlegają regulacji wraz z rozwojem układu nerwowego. W 2007 roku Aronica i wsp. wykazali metodami immunocytochemicznymi różnice w ekspresji transporterów chloru w skrawkach z malformacji mózgu dysplastycznych tkanek, podobnie jak w niedojrzałym mózgu⁽¹⁵⁾. Według autorów mechanizm ten jest jednym

z podstawowych odpowiedzialnych za lekooporność padaczki w zaburzeniach migracji.

W 2004 roku w Klinice Neurologii ICZMP w Łodzi podjęliśmy badanie oceniające przebieg padaczki w okresie 2-5 lat u dzieci z zaburzeniami rozwojowymi kory mózgowej⁽¹⁶⁾. Celem badania było określenie, czy w okresie kilkuletnim na niezmienionym poziomie utrzymuje się lekooporność w padaczce u dzieci z zaburzeniami rozwojowymi kory mózgowej, czy przebieg padaczki zależy od rodzaju malformacji rozwojowej kory mózgu, czy też od innych czynników, np. czasu wystąpienia pierwszego napadu. Jako lekooporność określano występowanie co najmniej dwóch napadów w miesiącu mimo podawania leków przeciwpadaczkowych. Większość dzieci wykazujących lekooporność miała napady codzienne. Materiał obejmował 20 przypadków hospitalizowanych i poddanych diagnostyce w Klinice Neurologii, a następnie obserwowanych przez 2-5 lat w Poradni Przeciwpadaczkowej w ICZMP. Rodzaje tych zaburzeń rozwojowych kory mózgowej przedstawiono w tabeli 2.

Ta 2-5-letnia obserwacja wykazała, że 12/20 dzieci przez cały czas obserwacji spełniało kryteria lekooporności, u 4/20 uzyskano co najmniej roczną remisję napadów bez dalszego jej nawrotu, a u 4/20 remisję 12-miesięczną z dalszym nawrotem lekooporności. Grupa z lekoopornością przez cały okres obserwacji i grupa z remisjami nie różniły się rodzajem zaburzeń rozwojowych kory mózgowej. Istotną różnicę stwierdzono natomiast w czasie wystąpienia pierwszego napadu (tabela 3). Jeżeli początek padaczki był stosunkowo późny (po 6. miesiącu życia), to u dzieci tych istniało większe prawdopodobieństwo pojawienia się co najmniej 12-miesięcznej remisji napadów padaczkowych.

Podsumowując przedstawione dane na temat zaburzeń migracji neuronalnej, można stwierdzić, że:

	Rodzaj zaburzenia rozwojowego kory mózgowej	Początek padaczki *		
		Noworodkowy	Do 6 miesięcy	Po 6 miesiącach
	HEM – 1 SCH – 2 PG – 2 SH – 2 FCD – 2 LIS – 1 MG – 2	4	4	4
Skuteczność leczenia przez co najmniej 12 miesięcy n=8	HEM – 1 LIS – 1 PH – 2 PG – 2 LH – 1 SCH – 1	1	3	4

* P<0,05

- wiedza na temat molekularnych podstaw zaburzeń migracji rozwija się bardzo szybko, a w przedstawionej pracy wskazano tylko niektóre jej aspekty;
- poznanie mechanizmów prowadzących do zespołów zaburzeń rozwojowych kory mózgowej umożliwia bardziej racjonalne podejście w przyszłości do terapii pacjentów z lekooporną padaczką i innymi zespołami klinicznymi;
- dalszy przebieg padaczki w przebiegu zaburzeń rozwojowych kory mózgowej rozpoznanej w pierwszych miesiącach życia jest na ogół niekorzystny, ale przyпадki te mogą charakteryzować się także dłuższymi remisjami, co należy wziąć pod uwagę w planowaniu leczenia operacyjnego.

PIŚMIENNICTWO:

BIBLIOGRAPHY:

1. Cepeda C., André V.M., Vinters H.V. i wsp.: Are cytomegalic neurons and balloon cells generators of epileptic activity in pediatric cortical dysplasia? *Epilepsia* 2005; 46 suppl. 5: 82-88.
2. Assimakopoulou M.H., Panteliadis C.P., Papavassiliou A.G.: Cellular and molecular basis of nervous system development. W: Panteliadis C.P., Korinthenberg R. (red.): *Paediatric Neurology: Theory and Practice*. Thieme Verlag, Stuttgart 2005: 1-13.
3. Pearlman A.L., Faust P.L., Hatten M.E., Brunstrom J.E.: New directions for neuronal migration. *Curr. Opin. Neurobiol.* 1998; 8: 45-54.
4. Parnavelas J.G.: The origin and migration of cortical neurons: new vistas. *Trends Neurosci.* 2000; 23: 126-131.
5. Sarnat H.B., Flores-Sarnat L.: A new classification of malformations of the nervous system: an integration of morphological and molecular genetic criteria as patterns of genetic expression. *Eur. J. Paediatr. Neurol.* 2001; 5: 57-64.
6. Sossey-Alaoui K., Hartung A.J., Guerrini R. i wsp.: Human *doublecortin (DCX)* and the homologous gene in mouse encode a putative Ca^{2+} -dependent signaling protein which is mutated in human X-linked neuronal migration defects. *Hum. Mol. Genet.* 1998; 7: 1327-1332.
7. Dubeau F., Tampieri D., Lee N. i wsp.: Periventricular and subcortical nodular heterotopia. A study of 33 patients. *Brain* 1995; 118: 1273-1287.
8. Lo Nigro C., Chong C.S., Smith A.C.M. i wsp.: Point mutations and an intragenic deletion in *LIS1*, the lissencephaly causative gene in isolated lissencephaly sequence and Miller-Dieker syndrome. *Hum. Mol. Genet.* 1997; 6: 157-164.
9. Sokolowska D., Wendorff J., Juchniewicz B. i wsp.: Padaczka w przebiegu bezzakrętowości – olbrzymiozakrętowości w 1 i 2 roku życia – opis przypadków. *Epileptologia* 2002; 10: 65-75.
10. Graf W.D., Born D.E., Sarnat H.B.: The pachygyria-poly-microgyria spectrum of cortical dysplasia in X-linked hydrocephalus. *Eur. J. Pediatr. Surg.* 1998; 8 suppl. 1: 10-14.
11. Kobayashi K., Nakahori Y., Miyake M. i wsp.: An ancient retrotransposal insertion causes Fukuyama-type congenital muscular dystrophy. *Nature* 1998; 394: 388-392.
12. Guerrini R., Holthausen H., Parmeggiani L., Chiron C.: Epilepsy and malformations of the cerebral cortex. W: Roger J., Bureau M., Dravet C. i wsp. (red.): *Epileptic Syndromes in Infancy, Childhood and Adolescence*. John Libbey, Eastleigh 2002: 457-479.
13. Mattia D., Olivier A., Avoli M.: Seizure-like discharges recorded in human dysplastic neocortex maintained *in vitro*. *Neurology* 1995; 45: 1391-1395.
14. Cepeda C., André V.M., Levine M.S. i wsp.: Epileptogenesis in pediatric cortical dysplasia: the dysmature cerebral developmental hypothesis. *Epilepsy Behav.* 2006; 9: 219-235.
15. Aronica E., Boer K., Redeker S. i wsp.: Differential expression patterns of chloride transporters, $Na^+K^+2Cl^-$ -cotransporter and K^+Cl^- -cotransporter, in epilepsy-associated malformations of cortical development. *Neuroscience* 2007; 145: 185-196.
16. Wendorff J., Ircha J., Zubiel M. i wsp.: Course of epilepsy in children with malformation of cortical development. *Eur. J. Paediatr. Neurol.* 2003; 2: A-15.