

## 12.STRESZCZENIE

W okresie prenatalnym i w pierwszym roku życia rozwój ośrodkowego układu nerwowego jest najbardziej intensywny. W populacji dziecięcej napady padaczkowe najczęściej występują u niemowląt. Ciężkie, lekooporne napady padaczkowe występujące w czasie intensywnego rozwoju OUN bardzo negatywnie wpływają na rozwój psychomotoryczny i umysłowy dzieci. Stany padaczkowe, które są częste u niemowląt stanowią też zagrożenie życia. W ponad 60% napady padaczkowe pierwszego roku życia mają charakter objawowy. W przypadku zespołu Westa częstość objawowych napadów zgięciowych wynosi nawet 90%. Objawowe napady padaczkowe rozpoczynają się zwykle już w pierwszych 6 miesiącach życia dziecka.

Określenie etiologii napadów padaczkowych jest niezmiernie istotne. Obok niedotlenienia płodowo-okołoporodowego, chorób genetycznych i metabolicznych duże znaczenie dla występowania napadów padaczkowych mają czynniki infekcyjne działające zarówno w okresie płodowym i okołoporodowym jak też po urodzeniu.

Zakażenia z grupy TORCH są znanym czynnikiem etiologicznym wewnątrzmacicznego uszkodzenia mózgu i dziecięcej objawowej padaczki. Zakażenie ludzkim wirusem cytomegalii jest najczęstszym wrodzonym zakażeniem wirusowym. Infekcja neurotropowym wirusem HCMV jest przyczyną wad i zwapnień w OUN, których następstwem są często lekooporne napady padaczkowe i mózgowo porażenie dziecięce. Jednak tylko u 10-15% noworodków po urodzeniu występują objawy kliniczne zakażenia HCMV. Natomiast 85-90% dzieci zakażonych cytomegalowirusem nie prezentuje objawów w okresie noworodkowym.

Właśnie u takich dzieci z subklinicznym zakażeniem HCMV objawy kliniczne tej infekcji ,w tym także napady padaczkowe, mogą się ujawnić w pierwszych miesiącach ich życia. Nowoczesne techniki biologii molekularnej umożliwiły szybką diagnozę zakażenia HCMV metodami bezpośrednimi i znane są też leki przeciw cytomegalowirusowi. Lek przeciwwirusowy- gancyklowir jest od dawna stosowany w leczeniu osób dorosłych a jego skuteczność została udowodniona także u pacjentów z neuroinfekcją. Gancyklowir nie jest oficjalnie zarejestrowany do leczenia noworodków i niemowląt, ale jest stosowany na całym świecie od 1990 roku u dzieci w tej grupie wiekowej. Jednak nadal prowadzone są intensywne badania nad zastosowaniem u najmłodszych pacjentów innych, nowych leków działających przeciw wirusowi HCMV.

Pomimo tego, że związek występowania ciężkich napadów padaczkowych u niemowląt z infekcją cytomegalowirusem rozważano po kilkunastu latach od odkrycia wirusa w 1956 roku ,to jednak problem tej objawowej padaczki u dzieci jest nadal bardzo mało poznany. Dlatego też w latach 1995-2009 w Instytucie-„ Pomnik- Centrum Zdrowia Dziecka” przeprowadzono wieloletnią, prospektywną obserwację dzieci od okresu noworodkowego i niemowlęcego ,u których w oparciu o nowoczesne techniki biologii molekularnej rozpoznano zakażenie cytomegalowirusem i u których występowały napady padaczkowe.

Obserwacjami objęto 138 dzieci (65 płci żeńskiej i 73 męskiej), które były analizowane w 3 grupach :

Grupa A :45 dzieci z padaczką objawową i zakażeniem cytomegalowirusem, u których stosowano leczenie wyłącznie lekami przeciwpadaczkowymi i u których w badaniu płynu mózgowo-rdzeniowego nie stwierdzono DNA wirusa HCMV.

Grupa B: 32 dzieci z padaczką objawową i zakażeniem cytomegalowirusem, u których w płynie mózgowo-rdzeniowym stwierdzono obecność DNA wirusa HCMV i u których oprócz leczenia przeciwpadaczkowego stosowano leczenie przeciwwirusowe gancyklowirem.

Grupa C: 61 dzieci, z padaczką objawową i zakażeniem cytomegalowirusem, u których w płynie mózgowo-rdzeniowym nie stwierdzono obecności DNA wirusa HCMV i które były leczone przeciwpadaczkowo oraz przeciwwirusowo gancyklowirem.

Celami pracy jest analiza badanych dzieci z objawową padaczką spowodowaną zakażeniem cytomegalowirusem pod względem charakterystyki napadów padaczkowych, wyników badań EEG, neuroobrazowych i badań diagnostycznych oraz objawów klinicznych zakażenia HCMV, przedstawienia efektów leczenia padaczki z uwzględnieniem leczenia przeciwwirusowego gancyklowirem, oceny rozwoju psychoruchowego i umysłowego badanych dzieci a także określenia czynników rokowniczych i opracowanie algorytmu diagnostyczno-terapeutycznego dla praktycznego zastosowania w tej padaczce.

Związek infekcji cytomegalowirusowej z występowaniem u dzieci napadów padaczkowych i diagnozę takiej objawowej padaczki ustalano zarówno u noworodków i niemowląt, u których rozpoznano początkowo cytomegalię objawową, a które następnie demonstrowały napady padaczkowe jak i u tych noworodków i niemowląt, u których w ramach diagnostyki różnicowej etiologii napadów padaczkowych wykonano kompleksowe badania w kierunku zakażenia cytomegalowirusem rozpoznając infekcję HCMV oraz także inne jej objawy (np. zapalenie siatkówki i naczyńki, SNHL). Pacjenci byli leczeni w Klinice Neurologii

i Epileptologii, Patologii Noworodka i Niemowlęcej i pozostawali pod wieloletnią, wielospecjalistyczną opieką ambulatoryjną IP CZD.

Kryteriami włączenia do badania były napady padaczkowe u dzieci z zakażeniem cytomegalowirusem potwierdzonym badaniami serologicznymi i badaniami DNA HCMV w różnych płynach ustrojowych, w tym w płynie mózgowo-rdzeniowym. Kryteriami wyłączenia były chromosomopatie (np. trisomia 21), stwardnienie guzowate, nieprawidłowe wyniki badań metabolicznych, inne zakażenia TORCH. Diagnozę padaczki ustalano w oparciu o dane z wywiadu, ocenę nagrań zaburzeń napadowych przez rodziców, własne obserwacje kliniczne hospitalizowanych dzieci oraz ocenę klasycznych zapisów elektroencefalograficznych i wideo-EEG. Badania EEG i wideo-EEG były wykonywane wielokrotnie i w zależności od potrzeby u wszystkich badanych dzieci. Również u wszystkich pacjentów przeprowadzano badania neuroobrazowe (rezonans magnetyczny, tomografia komputerowa).

W diagnostyce różnicowej zaburzeń napadowych zawsze brano pod uwagę refluks żołądkowo-przełykowy, zaburzenia rytmu serca, onanizm niemowlęcy, napadowy kręcz szyi, stereotypie ruchowe, drżenia i napady afektywnego bezdechu, łagodne przysenne mioklonie, reakcję przestrawu .

Zakażenie cytomegalowirusem rozpoznawano w oparciu o zastosowanie u wszystkich badanych dzieci metod pośrednich-serologicznych (ocena miana swoistych przeciwciał klasy IgG i IgM - test ELISA) oraz bezpośrednich -badanie DNA wirusa HCMV w różnych płynach ustrojowych (płyn mózgowo-rdzeniowy, leukocyty krwi obwodowej, mocz). Przeciwciała HCMV IgM i HCMV IgG w surowicy wykrywano metodą MEIA z użyciem testów AxSYM CMV IgM i Ax SYM CMV IgG (Abbott GmbH Diagnostica Wisbaden, Germany). Dodatkowo IgM oznaczał

indeks  $\geq 0,500$ , ujemne- indeks  $\leq 0,399$ , natomiast wyniki pośrednie interpretowano jako niejednoznaczne. W przypadku przeciwciał klasy IgG wartość progowa wyników dodatnich wynosiła  $\geq 15 \text{ AU ml}^{-1}$ , natomiast miana  $<15 \text{ AU ml}^{-1}$  uznawano za ujemne. Dla porównania mian swoistych przeciwciał dzieci i ich matek wykonywano również odczyny serologiczne w kierunku zakażenia cytomegalowirusem u matek noworodków oraz niemowląt do 3 miesiąca życia. Badanie DNA HCMV w moczu, leukocytach krwi obwodowej, płynie mózgowo-rdzeniowym przeprowadzono jakościowymi metodami polimerazowej reakcji łańcuchowej (PCR), których szczegółowa metodyka została opisana w polskim piśmiennictwie.

W celu wykluczenia najczęstszych zaburzeń metabolicznych rutynowo u wszystkich dzieci wykonywano badania z krwi i z moczu takie jak: test metaboliczny z moczu oznaczający kwas fenylopirogronowy, substancje redukujące, próbę Meyera, aminokwasy metoda krążkową, skrining selektywny metodą chromatografii gazowej- spektrometrii masowej (GC-MS), tandemowej spektrometrii masowej (MS/MS) w kierunku zaburzeń aminokwasów, kwasie organicznych i tłuszczów, deficytu biotynidazy, testy w kierunku deficytu oksydazy sulfatynowej (sulfitest), badanie izoform transferyny w kierunku wrodzonych zaburzeń glikolizacji, badanie w kierunku wrodzonych błędów metabolizmu puryn i pirymidyn (SAICAR), oznaczanie długołańcuchowych kwasów tłuszczowych (VLCFA), oraz analizę stężenia aminokwasów we krwi i w płynie mózgowo-rdzeniowym.

Dzieci, u których rozpoznano napady padaczkowe były leczone różnymi lekami przeciwpadaczkowymi, zgodnie z ustalonym typem napadów i ogólnymi zasadami leczenia padaczki. Początkowo wprowadzano jeden lek przeciwpadaczkowy (np. VPA, VGB lub PB),

a przy braku efektu terapeutycznego i występowania napadów modyfikowano leczenie stopniowo włączając drugi i trzeci lek przeciwpadaczkowy. W przypadkach bardzo lekoopornych napadów stosowano leczenie 4 lekami przeciwpadaczkowymi, kurację Synacthenem depot domięśniowo i dietę ketogenną. Ocenę efektów leczenia padaczki dotyczącą częstości występowania napadów określano na podstawie dzienniczków napadów prowadzonych przez rodziców oraz własnych obserwacji klinicznych. Rezultaty terapeutyczne analizowano także w oparciu o powtarzane badania EEG. Leki przeciwpadaczkowe były odstawiane, gdy przez 30-36 miesięcy nie występowały napady padaczkowe a w zapisach EEG stwierdzano poprawę lub normalizację czynności bioelektrycznej mózgu. Ze względów etycznych u wszystkich dzieci z objawową padaczką i neuroinfekcją cytomegalowirusową potwierdzoną wykryciem DNA wirusa HCMV w płynie mózgowo-rdzeniowym zastosowano leczenie gancyklowirem (GCV). U pozostałych dzieci z padaczką i objawami zakażenia cytomegalowirusowego udokumentowanego zarówno wynikami badań serologicznych jak i obecnością DNA wirusa HCMV w leukocytach i w moczu, ale bez wykrycia DNA wirusa w płynie mózgowo-rdzeniowym, leczenie GCV stosowano tylko w przypadku wyrażenia zgody przez rodziców. Każdorazowo rodzice lub prawni opiekunowie podpisywali świadomą zgodę po uzyskaniu wyczerpującej informacji pisemnej i ustnej na temat zakażenia HCMV i działania GCV, którego stosowanie zaakceptowała Komisja Bioetyczna Centrum Zdrowia Dziecka. Rodzice pacjentów z grupy A nie wyrazili zgody na leczenie dzieci gancyklowirem.

GCV stosowano w 1 godzinnym wlewie dożylnym co 12 godzin w dawce początkowej 5mg/kg/dawkę. Indywidualna dawka była ustalana na podstawie wyników badań farmakokinetycznych poziomu GCV , które

były wykonywane bezpośrednio po zakończeniu wlewu (poziom GCV 5-8ug/ml) oraz po 4,5 godzinie (poziom GCV 0,5-1 ug/ml). Leczenie przeciwwirusowe przeprowadzano w kilku (1-4) kuracjach z przerwą 1 miesiąca. Planowano, że minimalna długość kuracji GCV będzie trwała 2 tygodnie, a maksymalna 6 tygodni w zależności od obserwowanych objawów niepożądanych stosowania GCV np. neutropenia i/lub trudności w uzyskaniu dostępu żylnego. W czasie leczenia GCV kilkakrotnie kontrolowano morfologię krwi z rozmazem, aktywność aminotransferaz oraz stężenie kreatyniny w surowicy krwi a celem profilaktyki neutropenii w czasie trwania kuracji GCV podawano preparat kwasu folinowego.

Prowadzono prospektywną obserwację dzieci od okresu noworodkowego i niemowlęcego oceniając częstość występowania napadów padaczkowych, rozpoznając zespoły padaczkowe, zespoły neurologiczne i oceniając rozwój psychoruchowy dzieci w wieku co najmniej 2 lat.

Ocena psychologiczna była dokonywana na podstawie wywiadu od rodziców, obserwacji dziecka, historii choroby oraz specyficznych testów. Do 3 roku życia dzieci stosowano Skalę Rozwoju Psychomotoryki według Brunet-Lezine oraz Skalę Inteligencji dla Małych Dzieci według Psyche-Cattella. Od 3 do 5 roku życia dzieci były oceniane według Skali Inteligencji Termana i Merilla, a powyżej 5 roku życia według Skali Wechslera. Metody oceny psychologicznej były dostosowane nie tylko do wieku pacjentów, ale również do ich stanu neurologicznego (na przykład niedowład spastyczny czterokończynowy).

Analizę danych (67 atrybutów, 138 rekordów) przeprowadzono w oparciu o metody statystyczne z zastosowaniem środowiska R wykorzystując test t-Studenta dla zmiennych o rozkładzie normalnym, test

$\chi^2$  Kruskala-Wallisa,  $\chi^2$  Pearsona (P),  $\chi^2$  największego prawdopodobieństwa (ML), test Shapiro-Wilk, współczynnik korelacji rang Kendalla i Spearmana, tablice kontyngencji, analizę wariancji ANOVA, test Fishera- Snedecora (F-Snedecora), regresję logistyczną. W procesie testowania hipotez statystycznych przyjęto poziom istotności  $\alpha=0,05$ . Obliczano również liczebność, wartości minimalne i maksymalne, średnią arytmetyczną, odchylenie standardowe, medianę, kwartyle Q-25, Q-75 oraz iloraz szans (program STATISTICA wersja 8).

Z pierwszych ciąż urodziło się 81 (58,7%) badanych dzieci. Większość stanowiły noworodki donoszone-131 (94,9%) dzieci urodziło się o czasie, a tylko 7 (5,1%) porodem przedwczesnym przed 37 tygodniem ciąży. Mediana długości trwania ciąży wynosiła 38 tygodni. Siłami natury urodziło się 93 (67,4%) dzieci, a 45 (32,6%) cięciem cesarskim. Mediana masy urodzeniowej dzieci to 3100g (najmniejsza masa urodzeniowa 940g, największa 4800g).Pomiędzy wszystkimi analizowanymi grupami dzieci nie stwierdzono różnic istotnych statystycznie dotyczących takich czynników okołoporodowych jak tydzień ciąży, masa urodzeniowa, punktacja w skali Apgar. Badane dzieci urodziły się w dobrym stanie, bez objawów niedotlenienia okołoporodowego – 127 (92%) pacjentów zostało ocenione na 8-10 punktów w skali Apgar w 1,3,5 i 10 minucie życia.

Zakażenie cytomegalowirusem rozpoznawano w badanej grupie u dzieci w wieku od 1-go do 12-go miesiąca życia, mediana wieku diagnozy to 4 miesiąc życia. U 25 dzieci (18,1%) zakażenie cytomegalowirusem rozpoznano w 1 pierwszym miesiącu życia-cytomegalia wrodzona.U 29 (21%) w 2-gim miesiącu życia i u 15 (9,4%) w 3-cim miesiącu życia. W pierwszym kwartale życia zakażenie wirusem