

Door: Else Tolner (E.A.Tolner@lumc.nl) en Arn van den Maagdenberg (A.M.J.M.van_den_Maagdenberg@lumc.nl), Neurologie en Humane Genetica, Leids Universitair Medisch Centrum; Roland Thijs, (R.D.Thijs@lumc.nl) Neurologie, Leids Universitair Medisch Centrum en Stichting Epilepsie Instellingen Nederland, Heemstede; Maeike Zijlmans (g.j.m.zijlmans@umcutrecht.nl) en Maryse van 't Klooster (m.a.vantklooster-2@umcutrecht.nl), Functionele Neurochirurgie & Epilepsie, Universitair Medisch Centrum Utrecht, Utrecht.

Een EEG-biomarker voor betere behandeling van epilepsie

Het vinden van de juiste medicatie voor mensen met epilepsie is niet eenvoudig. Variatie tussen patiënten in de mate van remming van hersenactiviteit verklaart mogelijk waarom medicijnen bij de één wel en bij de ander niet werken. Analyse van het EEG tussen aanvallen in biedt inzicht in de mate van verstoorde remming. Hier beschrijven we recent gestart translationeel preklinisch en klinisch onderzoek naar een EEG-biomarker als mogelijke indicator voor effectiviteit van medicatie.

Achtergrond van het onderzoek

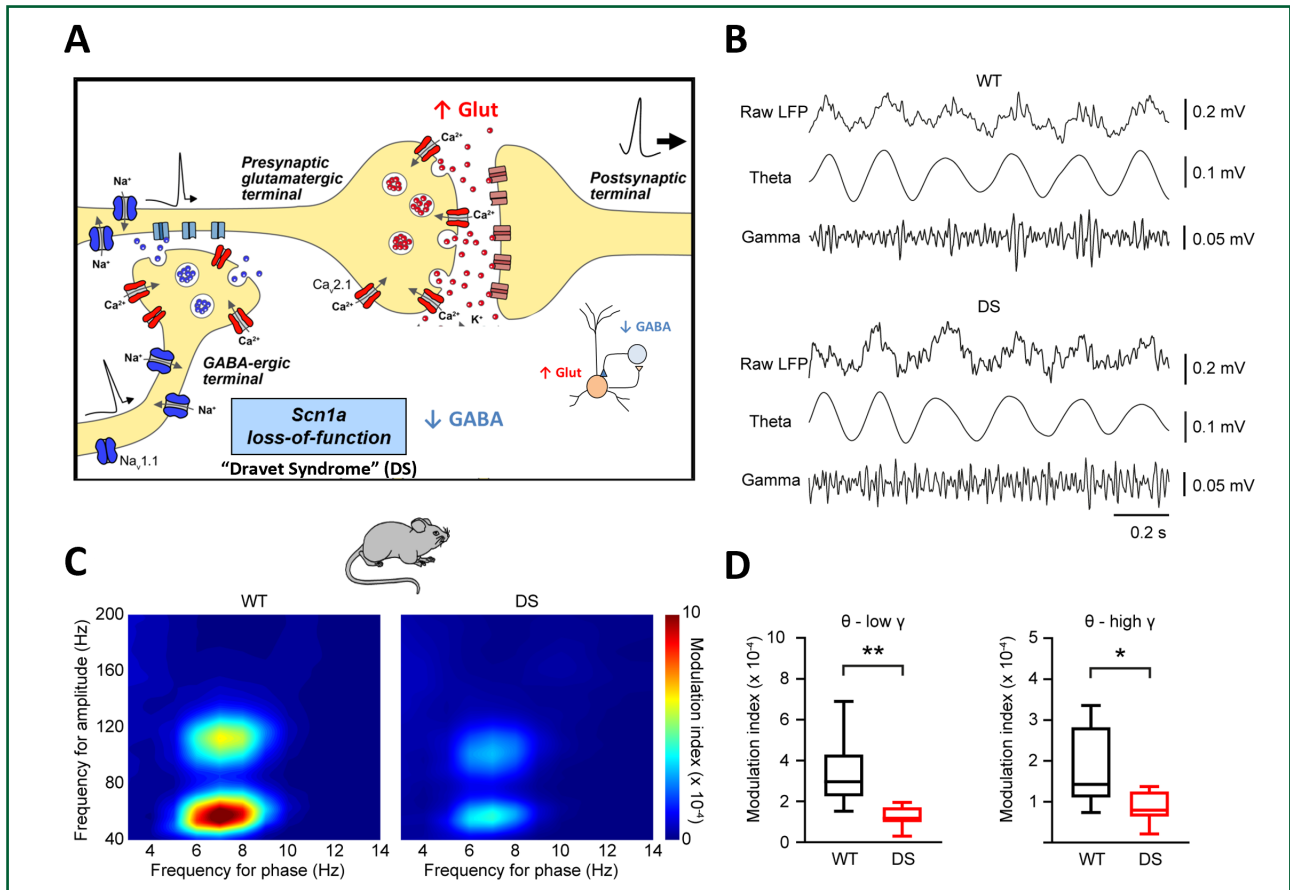
Eenderde van de patiënten blijft, ondanks medicatie, aanvallen houden. Dit percentage is nog hoger als er sprake is van temporaalkwabepilepsie. Langdurig falen van aanvalsbestrijding beperkt het dagelijks leven van mensen met epilepsie en draagt bij aan cognitieve achteruitgang. We weten dat aanvalsmedicatie slechts bij een deel van de patiënten werkt, en dat sommige medicijnen alleen bij bepaalde vormen van epilepsie effectief zijn. Bij mensen met temporaalkwabepilepsie en Dravet Syndroom (DS), waar we ons in dit project op richten, is onder anderen de remming van hersennetwerken verstoord, maar niet bij elke persoon in gelijke mate. Variatie tussen mensen in de mate van remming en in de precieze hersennetwerken die aangedaan zijn (klinische heterogeniteit) verklaart waarschijnlijk waarom een medicijn bij de één wel en bij de ander niet effectief is. Dit onderzoek combineert preklinisch en klinisch onderzoek om een EEG-biomarker te valideren als maat voor verminderde remming en effectiviteit van medicatie. Hiervoor worden in het Leids Universitair Medisch Centrum (LUMC) in muismodellen middelen getest die de bij epilepsie verhoogde hersenactiviteit op een selectieve manier remmen, via een specifiek aangrijpingspunt op een zenuwcel. Parallel aan het onderzoek in muizen analyseren we ook de EEG-gegevens van mensen met chronische epilepsie. Het gaat hier om metingen van het EEG met diepte-elektroden die bij het Universitair medisch Centrum Utrecht (UMCU) voorafgaande aan epilepsiechirurgie geplaatst zijn. Validatie

van de EEG-biomarker in muismodellen is nodig om de onderliggende mechanismen te begrijpen en om op een gecontroleerde manier effecten van klinische gangbare medicatie ter behandeling van epilepsie op de biomarker te onderzoeken. Dit is niet mogelijk in mensen met epilepsie, die klinisch heterogeen zijn en veelal verschillende medicijnen gebruiken.

Model voor Dravet Syndroom

Het preklinische onderzoek in het LUMC begon met EEG-metingen in een DS-muismodel. DS is een ernstige epileptische encefalopathie; het merendeel van deze kinderen heeft een mutatie in het SCN1A gen dat codeert voor een onderdeel van het Na_v1.1 natriumkanal. DS-diermodellen tonen aan dat dergelijke mutaties leiden tot verminderde functie van remmende neurononen. Het gevolg is een verminderde afgifte van de remmende neurotransmitter GABA, waardoor exciterende neurononen ontremd raken (Yu et al., 2006). Deze bevinding biedt, naast inzicht in de pathogenese van het DS, een aangrijpingspunt voor therapie. Hieronder wordt een overzicht gegeven van bevindingen gedaan op basis van EEG-metingen in zogeheten globale Scn1a knock-out (KO) muizen¹. Figuur 1A illustreert dat als gevolg van verlies van functie van de remmende GABAerge transmissie de mate van prikkelbaarheid van stimulerende (glutamaterge) zenuwcellen verhoogd raakt. De verstoorde balans tussen GABAerge en glutamaterge transmissie verhoogt het risico op epileptische aanvallen.

¹ De bevindingen zijn recent gepubliceerd in het tijdschrift *The Journal of Neuroscience* (Jansen et al., 2021), en vormen een belangrijke basis voor het in 2022 gestarte project in de huidige preklinisch-klinische samenwerking tussen het LUMC, UMCU en SEIN, dat mede mogelijk wordt gemaakt door de volgende fondsen: EpilepsieNL (2015-10 & 2022-07) en ZonMw (Brain@home, 114025101).

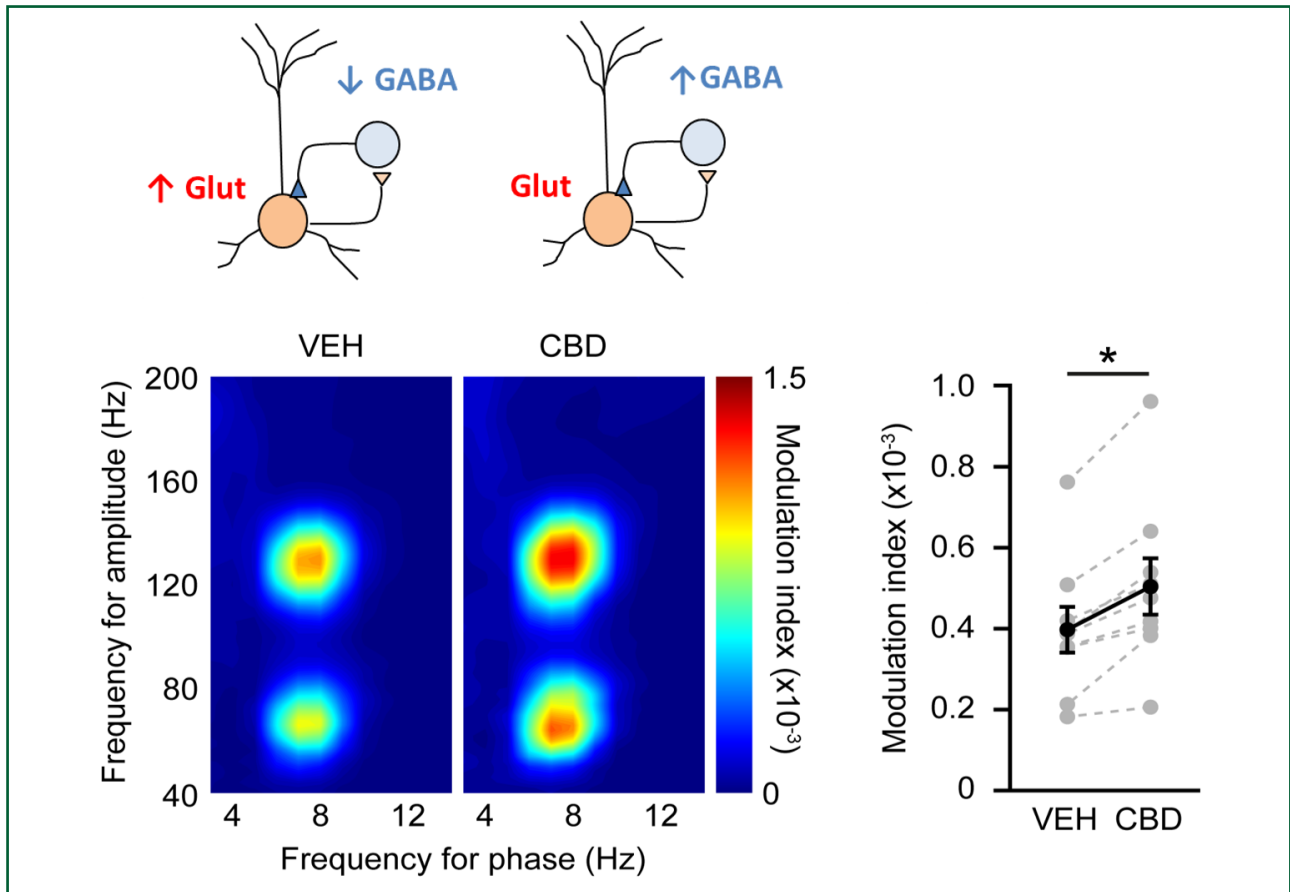


Figuur 1. A. Muismodellen voor DS met verlies van functie van $Na_v1.1$ ionkanalen zoals het *Scn1a* knock-out (KO) model vertonen verminderde GABAerge activiteit, leidend tot versterkte glutamaterge transmissie en spontane epileptische aanvallen vanaf de vierde levensweek. **B.** Illustratie van EEG-activiteit ('local field potential' LFP) van een *wild-type* (WT) muis, en de aan het EEG-signaal bijdragende theta en gamma activiteitsgolven, waarbij te zien is dat de fase van theta de amplitude van gamma oscillaties moduleert; deze theta-gamma 'phase amplitude coupling' (PAC) is sterk verminderd in DS muizen. **C.** Theta-gamma PAC tijdens REM slaap van drie weken oude WT (N=9) en DS (N=19) muizen, met theta frequentie tussen 5-10 Hz op de x-as, en de gamma frequenties op de y-as opgesplitst in 'laag gamma' (40-80 Hz) en 'hoog-gamma' (80-160 Hz). **D.** Theta-gamma PAC is significant verminderd in de DS muizen voor zowel lage als hoge gamma frequenties (Jansen et al., 2021).

EEG toont verstoorde neuronale remming

Activiteit in de hippocampus, een structuur diep in de hersenen waar epileptische aanvallen vaak beginnen, heeft invloed op hersenactiviteit in de cortex. Dit is meetbaar met een EEG. Zo zijn theta-oscillaties gestuurd door hippocampale remming gekoppeld aan corticale gamma-oscillaties, de zogeheten theta-gamma 'Phase Amplitude Coupling' (PAC), dat een rol speelt bij cognitie. In figuur 1B is deze koppeling tussen de laagfrequente theta en hoogfrequente gamma oscillaties in het EEG-signaal (theta-gamma PAC) weergegeven. Om inzicht te krijgen in de mate van verstoord remming bij epilepsie, zijn continue diepte-EEG metingen gedaan in vrij bewegende jonge muizen met het DS en gezonde *wild-type* (WT) controlemuizen vanaf week drie na de geboorte. Het EEG werd gemeten met micro-elektroden geplaatst in de hippocampus en de cortex. Omdat bekend is dat de modulatie van corticale EEG gamma-oscillaties laag is tijdens perioden met weinig theta-activiteit, zijn de EEG-analyses uitgevoerd tijdens perioden van REM slaap,

wanneer er juist veel theta-activiteit is. Figuren 1B, 1C en 1D tonen dat bij drie weken oude DS-muizen - voordat er spontane epileptische aanvallen ontstaan - de koppeling tussen de fase van de EEG theta-oscillaties en de amplitude van gamma-oscillaties, zowel voor de lagere als de hogere gamma frequenties, significant is verminderd. Dit was niet het gevolg van verandering in de amplitude (power) van de EEG-signalen, die niet anders was bij DS muizen in vergelijking met WT controle dieren. Nader onderzoek toont aan dat deze vermindering van theta-gamma PAC bleef bestaan bij DS-muizen die spontane epileptische aanvallen ontwikkelden, terwijl het deel van de DS-muizen dat geen spontane aanvallen bleken te ontwikkelen (ongeveer een derde van de muizen) een normalisatie lieten zien van de theta-gamma PAC. Deze bevindingen wijzen erop dat een verzwakte theta-gamma koppeling in het EEG een vroege indicator is van een verstoord remmende hersenfunctie (in het model als gevolg van het verlies van $Na_v1.1$ functie) en van het risico - voor een deel van de muizen - op aanvallen bij DS.



Figuur 2. Acute behandeling met cannabidiol (CBD) verbetert theta-gamma PAC in DS muizen. Na een eenmalige systemische behandeling met vehiculum (VEH) of CBD (100 mg/kg) bij DS-muizen tussen postnataal dag 35-52 is de koppeling tussen de fase van theta (5-10 Hz) en gamma (40-160 Hz) significant verhoogd ($p = 0,0009$, gepaarde t-test). [Figuur uit Jansen et al., 2021]

Acute behandeling met cannabidiol

Benzodiazepines versterken de werking van de remmende neurotransmitter GABA. Andere anti-aanvalsmiddeleten zoals valproïnezuur doen dit ook maar dan in mindere mate. Alhoewel het stimuleren van GABA-receptoren de epilepsie en andere symptomen kan verbeteren, leidt dergelijke 'tonische' stimulatie tot bijwerkingen en mogelijke afname van effectiviteit bij chronische behandeling. Een alternatieve therapeutische optie voor DS is cannabidiol (CBD), een niet-psychoactief bestanddeel van cannabis, dat een significante vermindering in aanvalsfrequentie en -ernst kan geven in patiënten met DS (Devinsky et al., 2017). In een DS-muismodel blijkt het effect van CBD geassocieerd te zijn met het herstel van de exciteerbaarheid van remmende neuronen in de hippocampus, terwijl de exciteerbaarheid van exciterende neuronen juist afneemt (Kaplan et al., 2017).

Op basis van de bevinding dat de mate van theta-gamma PAC geassocieerd is met de hoeveelheid remming, zou aanvalsmiddeleten die remming herstelt de afgezwakte theta-gamma PAC bij DS moeten herstellen. Om deze hypothese te toetsen, gaven we onze DS-muizen op een leeftijd van vijf weken, waarbij theta-gamma PAC stabiel is verminderd, een injectie met CBD (100 mg/kg).

Vervolgens analyseerden we de mate van theta-gamma PAC tijdens REM slaap. In lijn met onze hypothese, bleek dat in vergelijking met de controle groep er een bescheiden maar consistente toename van de theta-gamma PAC was. Dit is geïllustreerd in figuur 2, waar te zien is dat de behandeling met CBD leidt tot een versterking van koppeling tussen theta (tussen 5-10 Hz) en gamma activiteit (tussen 40-80 en 80-160 Hz) in het EEG. De conclusie was dat een acute behandeling met CBD zorgt voor verbetering van theta-gamma PAC in DS-muizen.

De preklinische bevindingen tonen aan dat theta-gamma PAC een potentiële biomarker is voor een verminderde remming en epileptogenese in het DS-muismodel. We hebben angetoond dat corticale theta-gamma PAC was verminderd bij jonge DS-muizen, en alleen verminderd bleef wanneer spontane aanvallen hadden plaatsgevonden. De behandeling met CBD leidde tot gedeeltelijk herstel van theta-gamma PAC. De koppeling tussen hippocampus en cortex werd daarbij gedeeltelijk hersteld door cannabidiol.

Translatie naar klinisch onderzoek

Voor het valideren van theta-gamma PAC als indicator voor de effectiviteit van aanvalsmiddeleten wordt in het

DS-muismodel gangbare aanvalsmedicatie gebruikt. Bijvoorbeeld benzodiazepines waarvan bekend is dat zij in staat zijn de verminderde remming van hersenactiviteit bij epilepsie te herstellen. Naast het DS-muismodel zal ook een muismodel voor temporaalkwabepilepsie worden gebruikt. Dit om de vertaalslag te verbeteren naar klinische data van mensen met chronische epilepsie. Voor het klinische onderzoek wordt gebruik gemaakt van reeds bestaande EEG-gegevens van mensen met medicatie-resistente temporaalkwabepilepsie, die een hersenoperatie hebben ondergaan. Het betreft diepte-EEG verkregen uit metingen met elektrodes geplaatst in de cortex en hippocampus tijdens pre-chirurgische evaluaties waarbij medicatie werd afgebouwd. In de analyses zullen theta-gamma PAC karakteristieken worden gerelateerd aan effecten van medicatie-afbouw en de locatie van het epileptisch focus (Demuru et al., 2020). Naast de analyses van het diepte-EEG zal ook worden onderzocht of theta-gamma PAC kan worden vastgesteld met standaard oppervlakte EEG-metingen. Dit is echter een uitdaging, omdat hoog-frequente spieractiviteit interfereert met het gamma-band signaal.

Conclusie

Bij succesvolle validatie in zowel de preklinische als de klinische studies, verwachten we dat de EEG-biomarker 'theta-gamma PAC' potentieel kan bijdragen aan het herkennen van de effectiviteit van aanvalsmedicatie. Hiermee

zou sneller kunnen worden ingeschat of een behandeling aanslaat of dat moet worden besloten om een andere medicatie te testen. Ook kan wellicht worden voorkomen dat mensen met epilepsie in eerste instantie een verkeerd medicijn krijgen, waarmee de weg naar de meest effectieve behandeling wordt verkort.

Referenties

- Demuru M, Kalitzin S, Zweiphenning W, van Blooijis D, et al. (2020). The value of intra-operative electrographic biomarkers for tailoring during epilepsy surgery: from group-level to patient-level analysis. *Sci Rep* 10, 14654.
- Devinsky O, Cross JH, Laux L, Marsh E, et al. (2017) Cannabidiol in Dravet Syndrome Study, G. Trial of Cannabidiol for Drug-Resistant Seizures in the Dravet Syndrome. *N Engl J Med* 376, 2011-2020.
- Jansen NA, Perez C, Schenke M, et al. (2021). Impaired theta-gamma Coupling Indicates Inhibitory Dysfunction and Seizure Risk in a Dravet Syndrome Mouse Model. *J Neurosci* 41, 524-537.
- Kaplan JS, Stella N, Catterall WA, Westenbroek RE (2017). Cannabidiol attenuates seizures and social deficits in a mouse model of Dravet syndrome. *Proc Natl Acad Sci U S A* 114, 11229-11234.
- Yu FH, Mantegazza M, Westenbroek RE, et al. (2006). Reduced sodium current in GABAergic interneurons in a mouse model of severe myoclonic epilepsy in infancy. *Nat Neurosci* 9, 1142-1149.

Innoveren en informeren Nieuwe website is online!

M De website van de Liga is vernieuwd!
Wat is er nieuw?



Publicaties

Helder overzicht van de recentste wetenschappelijke onderzoeken die nu lopen.

Actueel

De laatste informatie omtrent medicatie, seminars, opleidingen en trainingen.

www.epilepsieliga.nl

De Nederlandse Liga tegen Epilepsie biedt zorgprofessionals relevante kennis en informatie over epilepsiezorg. Wilt u op de hoogte blijven en uw vak goed uitoefenen? [Word dan lid van de Liga](#) en profiteer van de vele voordelen die het lidmaatschap heeft te bieden!