

Door: Amber Nous* (amber.nous@vub.be) en Maxime Vande Vyver* (maxime.vande.vyver@vub.be), neurologie, Vrije Universiteit Brussel, Brussel, België; Ilse Smolders (ilse.smolders@vub.be), farmacologie, Vrije Universiteit Brussel, Brussel, België. Onderzoeksgroep Experimentele Farmacologie en Center for Neurosciences (C4N) Vrije Universiteit Brussel.

*Deze auteurs droegen in gelijke mate bij tot dit werk.

Epileptiforme activiteit bij de ziekte van Alzheimer

In ons onderzoeksteam aan de Vrije Universiteit Brussel streven we naar een beter begrip van de rol van oplosbaar amyloïd-beta en tau eiwitten in het ontstaan van epileptische aanvallen bij de ziekte van Alzheimer. We onderzoeken dit aan de hand van Alzheimer-muismodellen en mensen die zich in verschillende stadia van het Alzheimer continuüm bevinden.

Er is steeds meer bewijs voor een rol van neuronale hyperexciteerbaarheid en epileptische afwijkingen in vroege stadia van de ziekte van Alzheimer. Het onderzoeksteam aan de Vrije Universiteit Brussel (<https://c4n.research.vub.be/ilse-smolders>) bestudeerde de gevoeligheid voor epileptische aanvallen van transgene muizen van slechts zeven weken oud met mutaties die enkel amyloïd-beta of zowel amyloïd-beta (A β) als tau homeostase aantasten. Zo willen we de eventuele rol van beide eiwitten op neuronale hyperexciteerbaarheid *in vivo* nagaan. Voorts zijn we data aan het verzamelen in goed gedefinieerde cohorten van patiënten in vroegtijdige stadia van de ziekte van Alzheimer en gaan we de frequentie van epileptische activiteit na met langetermijnselektroencefalografie (LTM-EEG), hoge densiteitsselektroencefalografie (hd-EEG) en magnetoencefalografie (MEG).

Ziekte van Alzheimer en epilepsie

Neuronale hyperexciteerbaarheid is nauw verbonden met de ziekte van Alzheimer (AD), een neurodegeneratieve aandoening die wordt gekenmerkt door A β en tau afzettingen in de hersenen (Hardy & Selkoe, 2002). Overmatige activering van neuronale netwerken kan zich manifesteren als epileptische aanvallen (Targa Dias Anastacio et al., 2022). Epileptische aanvallen zijn een comorbiditeit van AD, want 10-22% van de patiënten met AD krijgt ten minste één epileptische aanval in de loop van hun ziekte (Mendez & Lim, 2003). De prevalentie van aanvallen bij AD is twee tot zes keer hoger in vergelijking met gezonde leeftijdsgecorrigeerde controlepatiënten (Nicastro et al., 2016). Corticale en hippocampale hyperactiviteit zijn een vroegtijdig kenmerk van AD, en kunnen gelijktijdig of zelfs voor het begin van de cognitieve achteruitgang optreden (Targa Dias Anastacio et al., 2022). Veel epileptische aanvallen

worden vermoedelijk niet opgemerkt door de clinicus of omgeving van de patiënt. Vossel et al. (2016) toonden namelijk aan dat meer dan de helft van de epileptische aanvallen bij patiënten met AD niet-convulsief waren. Het spectrum aan symptomen besloeg *jamaïs vu, déjà vu*, sensorische verschijnselen, psychische verschijnselen (bijvoorbeeld intense vrees), spraak- of gedragsstilstand, afasie en amnesie, meestal consistent met een oorsprong in de mesiale temporaalkwab (Vossel et al., 2013). De mesiale temporaalkwab is een van de eerste structuren die wordt aangetast bij AD en is een van de meest epileptogene regio's van de hersenen (Lam et al., 2019). Het risico op epileptische aanvallen is hoger bij patiënten met autosomaal dominante vormen van AD en patiënten bij wie AD op jongere leeftijd ontstaat (Giorgi et al., 2020).

Wat is de rol van amyloïd-beta en tau?

Bij personen met AD vinden we kenmerkende neerslag van twee proteïnen ter hoogte van het brein, amyloïd-beta (A β) in extracellulaire plaques en tau in intracellulaire neurofibrillaire kluswens. De mechanismen die ten grondslag liggen aan voorgaand beschreven verschijnselen zijn nog steeds onderwerp van discussie. Het hyperexciteerbare fenotype van patiënten met AD werd ook bevestigd in muismodellen met autosomaal dominante AD-mutaties (Palop et al., 2007). Al voordat A β plaques in hun hersenen aanwezig waren, hadden deze muizen een verhoogde gevoeligheid voor epileptische aanvallen en spontane epileptiforme activiteit (Bezzina et al., 2015). Wat de rol is van tau, is minder duidelijk. Zowel neuronale hypo- als hyperactiviteit zijn beschreven in muizen die overproductie van tau vertonen (Harris et al., 2020). Vermindering van tau via genetische of farmacologische strategieën bleek de epileptiforme activiteit in zowel tau- als amyloïd muis-

modellen te verminderen (Chang et al., 2021). Een recente baanbrekende studie ging het effect na van beide eiwitten op corticale excitabiliteit in een muismodel dat amyloïd- en tau-mutaties combineert. Zij toonden bij muizen, met in vivo calciumbeeldvorming van laag 2/3 corticale neuronen, aan dat hogere waarden van oplosbare A β fibrillen de neuronale activiteit verhoogden, terwijl hogere gehalten aan oplosbaar tau eiwit deze activiteit verminderden. Wanneer zowel oplosbare A β als tau eiwitten verhoogd waren, overheerste het effect van tau dat van A β , wat resulteerde in een verminderd neuronaal afvuren (Busche et al., 2019). Epileptische aanvallen zijn echter complexer dan ‘slechts’ lokaal gemeten neuronale hyperexciteerbaarheid: ze zijn een symptoom van verhoogde neuronale synchronisatie en de bijdrage van niet-neuronale cellen mag niet worden onderschat (Verhoog et al., 2020). Het moet dus nog blijken wat het effect is op de aanvalsgevoeligheid en epilepsie in vivo in muismodellen die verhogingen vertonen van zowel oplosbare A β - als tau-eiwitten. Eén studie vond reeds verhoogde gevoeligheid voor epileptische aanvallen in drie weken oude muizen die zowel mutaties in amyloïd als tau pathways hebben, maar deze onderzoekers beoordeelden niet of oplosbaar tau al verhoogd was op deze leeftijd (Kazim et al., 2017). Twee van de belangrijkste neurobiologische aangrijpingspunten van klinisch gebruikte medicatie bij epilepsie, het vesiculair eiwit SV2A en bepaalde voltage-afhankelijke natriumkanalen, komen ook minder tot expressie in patiënten met AD en in muismodellen van AD (Mecca et al., 2020).

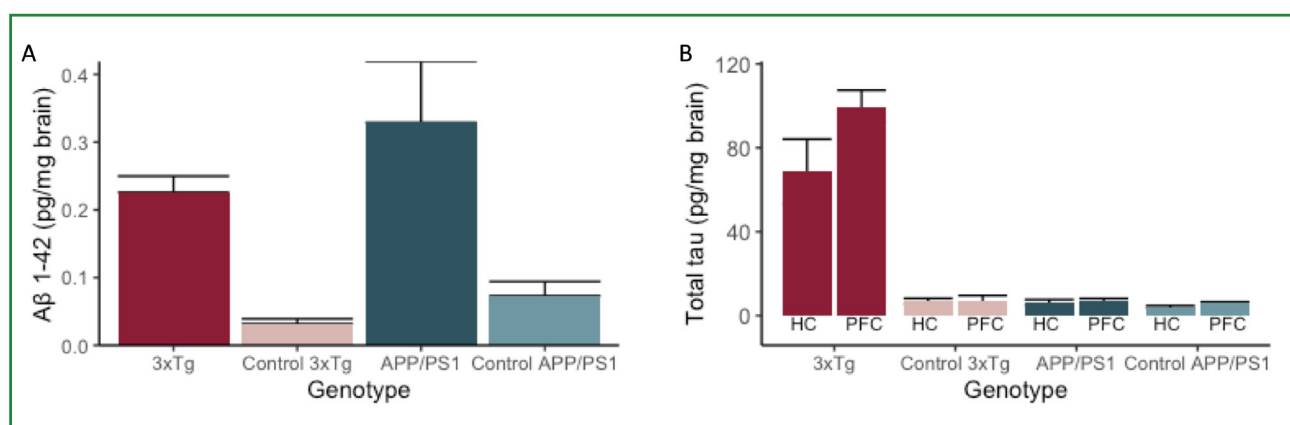
Belang van neurofysiologische metingen?

Naast een verhoogde prevalentie van epileptische aanvallen bij patiënten met AD, is ook een verhoogde prevalentie van neurofysiologische epileptiforme afwijkingen beschreven. Lam et al. (2020) vonden een prevalentie van

epileptiforme afwijkingen zoals gemeten met LTM-EEG bij 53% van AD-patiënten met epilepsie (AD-Ep), 22% van AD-patiënten zonder voorgeschiedenis of risicofactoren voor epilepsie (AD-NoEp), terwijl deze prevalentie slechts 4.7% bedroeg bij gezonde controles. Zij beschreven verschillende lokalisaties van epileptiforme activiteit in de AD-Ep groep versus de AD-NoEp groep. Bij de AD-NoEp patiënten werden de ontladingen vooral gevonden in de linker temporaalkwab, maar ook bifrontaal. In de AD-Ep groep werden epileptische ontladingen gezien in zowel de linker als rechter temporale gebieden. Vossel et al. (2016) vonden een verhoogde prevalentie van subklinische epileptiforme activiteiten bij AD patiënten (42%) in vergelijking met gezonde vrijwilligers (10.5%) door middel van LTM-EEG en MEG. Epileptiforme activiteit was overwegend aanwezig in beide temporale gebieden. Horvath et al. (2021) vonden subklinische epileptiforme ontladingen bij 54% van AD patiënten versus bij 25% van gezonde controles door gebruik te maken van LTM-EEG. De aanwezigheid van epileptiforme activiteit is geassocieerd met een snellere cognitieve achteruitgang (Horvath et al., 2021). Of de epileptiforme activiteit slechts een biomarker is die wijst op een snellere progressie of dat het bijdraagt aan cognitieve achteruitgang is nog onderwerp van discussie. Twee studies bij mensen gingen hyperactiviteit in de hersenen op EEG of functionele MRI met succes tegen met een lage dosis van levetiracetam, een veel gebruikt anti-epilepticum, en vonden dat dit de geheugenprestaties bij deze patiënten met hyperactiviteit licht verbeterde (Vossel et al., 2021). Deze studies zijn klein, evenals het effect op cognitie, maar grotere gerandomiseerde gecontroleerde studies met levetiracetam zijn lopende.

Hoe zit dat bij muizen?

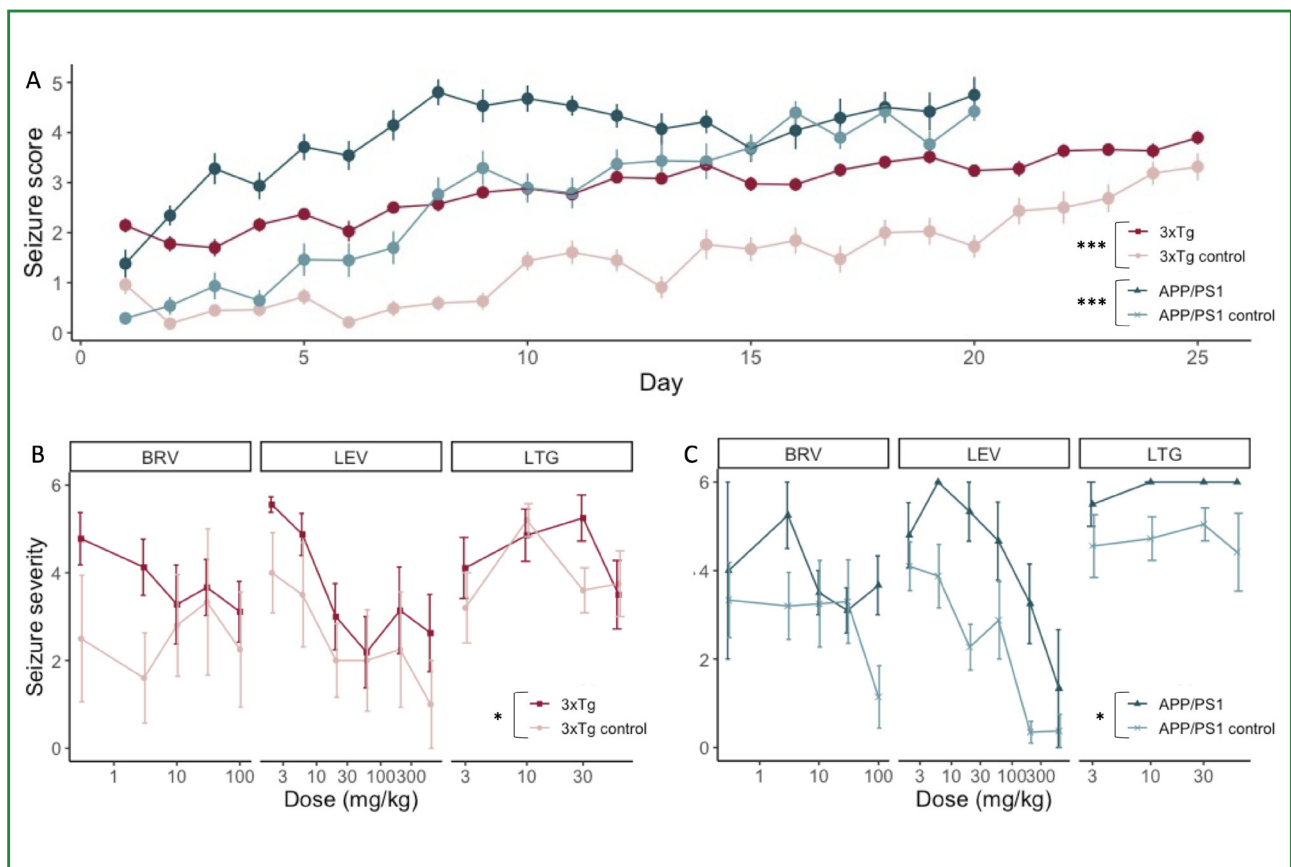
Muizen met verhoogde waarden van oplosbare A β en tau-eiwitten zijn vatbaarder voor uitgelokte aanvallen



Figuur 1: Concentraties oplosbaar A β 1-42 en oplosbaar totaal Tau in hersenhomogenaten van zeven weken oude 3xTg en APP/PS1 muizen. A) Zowel in 3xTg als in APP/PS1 muizen zijn de A β 1-42 niveaus verhoogd in vergelijking met controles in homogenaten van de hippocampus en prefrontale cortex. B) In zeven weken oude 3xTg muizen zijn de totale Tau niveaus reeds verhoogd in vergelijking met controles. Bij zeven weken oude APP/PS1 muizen verschilt de totale Tau spiegel niet van de controles (Vande Vyver et al., 2022).

(Vande Vyver et al., 2022). We gebruikten jonge, slechts zeven weken oud muizen van twee verschillende transgene stammen en hun respectievelijke wildtype controles: APP/PS1-muizen, die alleen amyloïd-gerelateerde mutaties hebben, en drievoudig transgene (3xTg) muizen die zowel amyloïd-gerelateerde als tau-mutaties hebben. Voor details over de materialen en methodes, verwijzen we naar het artikel van Vande Vyver et al. (2022). Eerst controleerden we de afwezigheid van amyloïd plaques in beide stammen. Vervolgens bevestigden we dat oplosbaar A β_{1-42} verhoogd was in de hippocampus en prefrontale cortex van beide AD-genotypes (APP/PS1 $p=0.03$, 3xTg $p<0.01$), terwijl oplosbare vormen van tau alleen in 3xTg muizen verhoogd waren ($p<0.001$) (figuur 1). Vervolgens onderwierpen wij groepen van zeven weken oude muizen ($n = 19$ in iedere groep) van beide genotypen aan het 6 Hz corneale kindling model en vergeleken de ernst van hun aanvallen -gescoord volgens een aangepaste schaal van Racine- met die van hun respectievelijke controlemuizen. Deze schaal geeft een score tussen 0 en 6, afhankelijk van de ernst van de epileptische aanval, gaande van de afwezigheid van klinische tekens van een epileptische aanval tot een gegeneraliseerd tonisch-clonisch insult. Beide AD-stammen hadden zwaardere geïnduceerde aanvallen in vergelijking met hun

respectievelijke controles ($p<0.001$) (figuur 2A). Wij tonen in vivo aan dat een muismodel waarbij zowel tau als A β verhoogd zijn een hogere vatbaarheid voor epileptische aanvallen heeft. Dit wijst op een duidelijke discrepantie in muismodellen van tau en A β waarbij er verminderde neuronale activiteit is, maar een toegenomen gevoeligheid is voor epileptische aanvallen (Busche et al., 2019; Vande Vyver et al., 2022). Dit geeft nogmaals aan dat epileptische aanvallen meer zijn dan de som van activiteit van neuronen. Wij tonen bij ons in vivo muismodel aan dat tau het effect van A β op de vatbaarheid voor aanvallen niet domineert, aangezien een model met zowel verhoogde A β als tau ook ernstiger aanvallen vertoont dan haar respectievelijke wildtype controles. Vervolgens testten wij in deze gekindelde muizen het anticonvulsieve effect van drie klinisch gebruikte geneesmiddelen (levetiracetam, brivaracetam en lamotrigine) die eenmalig werden toegediend. Zonder behandeling zal een 6 Hz stimulus in al deze gekindelde muizen een gegeneraliseerde aanval uitlokken. We maten de ernst van de epileptische aanvallen na toediening van anti-epileptica en zowel 3xTg als APP/PS1 muizen hadden na toediening van deze geneesmiddelen ernstigere epileptische aanvallen in vergelijking met hun respectievelijke controles (3xTg: $p=0.04$, APP/PS1: $p=0.01$) (Figuur 2B-C).



Figuur 2: A) Corneal kindling induceert ernstigere epileptische aanvallen in beide AD muizenstammen ($n = 19$ per groep) in vergelijking met de respectievelijke controlemuizen (3xTg: $p<0.001$; APP/PS1 $p<0.001$). B en C) Na de toediening van anti-epileptica waren de epileptische aanvallen van 3xTg als de APP/PS1 muizenstammen ernstiger dan die van de respectievelijke controlemuizen (3xTg: $p = 0.04$; APP/PS1: $p=0.01$). Statistische analyse gebeurde aan de hand van een linear mixed effects model (Vande Vyver et al., 2022).

Verhoogde prevalentie van epileptiforme activiteit

In een lopend klinisch onderzoek werd de prevalentie van subklinische epileptiforme activiteit bepaald in goed gedefinieerde cohorten van patiënten in het AD-continuüm die nog nooit eerder een epileptische aanval hebben gehad: patiënten met AD dementie in een vroeg stadium, patiënten met milde cognitieve stoornissen (MCI) als gevolg van AD en preklinische AD-deelnemers, in vergelijking met een goed gedefinieerd cohort van gezonde controles. Voorts wordt de invloed van epileptiforme activiteit op de cognitieve achteruitgang bij deze patiëntengroepen geëvalueerd. Hiervoor ondergaan de proefpersonen een volledig neuropsychologisch onderzoek, hersen-MRI en een lumbaalpunctie voor analyse van de belangrijkste AD-biomarkers in het cerebrosпинаal vocht of amyloïd PET. Proefpersonen die behoren tot het AD continuüm worden gediagnosticeerd volgens de NIA-AA onderzoeks-criteria (Sperling et al., 2011). Alle onderzoeken moeten strikt normaal zijn in de controlegroep. Indien de controlepersonen amyloïd positief zijn, worden ze geclassificeerd als preklinische AD-deelnemers. Proefpersonen ondergaan dan LTM-EEG, hd-EEG (50 minuten) en MEG (50 minuten) om epileptiforme activiteit op te sporen. Door LTM-EEG, MEG en hd-EEG te combineren, vonden wij een prevalentie van epileptiforme activiteit bij 6 van de 41 patiënten die tot het AD-continuüm behoren (15%), vergeleken met 0 van de 11 gezonde controles (0%) ($p=0.322$). Epileptiforme activiteit was aanwezig bij 2 van de 7 patiënten met dementie als gevolg van AD (29%), 3 van de 29 MCI als gevolg van AD (10%), 1 van de 5 preklinische AD-subjecten (20%) en 0 van de 11 gezonde controles (0%) ($p=0.173$). Tot dusver was geen enkele techniek significant superieur aan de andere bij het opsporen van epileptiforme activiteit in het AD-continuüm, waarbij LTM-EEG epileptiforme activiteit opspoorde bij 4 van de 40 proefpersonen (10%), hd-EEG bij 1 van de 22 proefpersonen (5%) en MEG bij 3 van de 13 proefpersonen (23%) ($p=0.228$). AD-patiënten met epileptiforme activiteit waren significant jonger en hadden op jongere leeftijd hun eerste symptomen dan AD-patiënten zonder (respectievelijk 66 +/- 6 jaar versus 72 +/- 7 jaar ($p=0.048$) en 61 +/- 4 jaar versus 69 +/- 8 jaar; respectievelijk $p=0.013$). Over de invloed van epileptiforme activiteit op cognitieve achteruitgang kunnen wij geen uitspraak doen, omdat het onderzoek nog loopt.

Conclusie

Ons preklinisch werk toonde aan dat uitgelokte epileptische aanvallen ernstiger zijn zowel in een muismodel met verhoogde oplosbare $A\beta_{1-42}$ als in een model dat verhoogde oplosbare $A\beta_{1-42}$ en tau combineert in vergelijking met de controlemuizen. De klinisch gebruikte geneesmiddelen waren minder werkzaam om de epileptische aanvallen te

onderdrukken in de AD-muizen in vergelijking met de gezonde controles. In de tussentijdse analyse van het klinische cohort vonden wij een verhoogde prevalentie van epileptiforme activiteit bij AD-subjecten in vergelijking met controles, hoewel het niveau van statistische significantie niet werd bereikt en de prevalentie van epileptiforme activiteit, evenals de hoeveelheid spikes, vrij laag was. Pas na voltooiing van de studie zullen wij de vraag kunnen beantwoorden of andere technieken nodig zijn (bijvoorbeeld het gebruik van foramen ovale elektroden, welke intracraanieel worden geplaatst door het foramen ovale en geschikt zijn om elektrische activiteit van de mesiale temporaalkwab te meten) om de AD-patiënten met epileptiforme activiteit of hippocampale aanvallen te identificeren. Het is mogelijk dat we met onze EEG-methoden diepe mesiale temporaalkwab activiteit missen, maar mogelijk kunnen er subtiele, kwantitatieve EEG-veranderingen opgepikt worden, die indirect gelinkt zijn aan neuronale hyperactiviteit (Lam et al., 2019).

Er komen interessante jaren aan voor het onderzoek naar hersenhyperactiviteit bij AD. Proefdieronderzoek zal proberen om reeds blootgelegde mechanismes verder te disseceren en na te gaan of dit potentieel nieuwe therapeutische aangrijpingspunten zijn. Vooruitgang in analyse van big data en artificiële intelligentie laat toe om nieuwe EEG-parameters te zoeken die de ziekte vroegtijdig kunnen opsporen. Daarnaast zijn er klinische studies lopende waarbij anti-epileptica op grote schaal uitgetest worden bij personen met AD. Verder onderzoek kan ook helpen bij het beantwoorden van de vraag of patiënten met AD baat kunnen hebben bij gebruik van anti-epileptica.

References

- Bezzina C, Verret L, Juan C, et al. (2015) Early onset of hypersynchronous network activity and expression of a marker of chronic seizures in the Tg2576 mouse model of Alzheimer's disease. *PLoS ONE*, 10(3), e0119910. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0119910>.
- Busche MA, Wegmann S, Dujardin S, et al. (2019) Tau impairs neural circuits, dominating amyloid- β effects, in Alzheimer models in vivo. *Nature Neuroscience*, 22(1), 57–64. <https://doi.org/10.1038/s41593-018-0289-8>.
- Chang CW, Shao E, Mucke L (2021) Tau: Enabler of diverse brain disorders and target of rapidly evolving therapeutic strategies. *Science*, 371(904). <https://doi.org/10.1126/science.abb8255>.
- Giorgi FS, Saccaro LF, Busceti CL, et al. (2020) Epilepsy and Alzheimer's Disease: Potential mechanisms for an association. *Brain Research Bulletin*, 160(April), 107–120. <https://doi.org/10.1016/j.brainresbull.2020.04.009>
- Hardy, J, Selkoe, DJ (2002) The Amyloid Hypothesis of Alzheimer's Disease: Progress and Problems on the

- Road to Therapeutics. *Science*, 297(5580), 353–356. <https://doi.org/10.1126/science.1072994>.
- Harris SS, Wolf F, de Strooper B, et al. (2020) Tipping the Scales: Peptide-Dependent Dysregulation of Neural Circuit Dynamics in Alzheimer's Disease. *Neuron*, 1–19.
- Horvath AA, Papp A, Zsuffa J, et al. (2021) Subclinical epileptiform activity accelerates the progression of Alzheimer's disease: A long-term EEG study. *Clin. Neurophysiol.* 132 (8): 982–1989. <https://doi.org/10.1016/j.clinph.2021.03.050>.
- Kazim SF, Chuang SC, Zhao W, et al. (2017) Early-onset network hyperexcitability in presymptomatic Alzheimer's disease transgenic mice is suppressed by passive immunization with anti-human APP/A β antibody and by mGluR5 blockade. *Frontiers in Aging Neuroscience*, 9(71). <https://doi.org/10.3389/fnagi.2017.00071>.
- Lam AD, Cole AJ, Cash SS (2019) New Approaches to Studying Silent Mesial Temporal Lobe Seizures in Alzheimer's Disease. *Frontiers in Neurology*, 10, 959. <https://doi.org/10.3389/FNEUR.2019.00959/BIBTEX>.
- Lam AD, Sarkis RA, Pellerin KR, et al. (2020) Association of epileptiform abnormalities and seizures in Alzheimer disease. *Neurology*, 95(16), E2259–E2270. <https://doi.org/10.1212/WNL.0000000000010612>.
- Mecca AP, Chen MK, O'Dell RS, et al. (2020) In vivo measurement of widespread synaptic loss in Alzheimer's disease with SV2A PET. *Alzheimer's and Dementia*, 16(7), 974–982.
- Mendez M, Lim G (2003) Seizures in elderly patients with dementia: epidemiology and management. *Drugs & Aging*, 20(11), 791–803. <https://doi.org/10.2165/00002512-200320110-00001>.
- Nicastro N, Assal F, Seeck M (2016) From here to epilepsy: The risk of seizure in patients with Alzheimer's disease. *Epileptic Disorders*, 18(1), 1–12. <https://doi.org/10.1684/epd.2016.0808>.
- Palop JJ, Chin J, Roberson ED, et al. (2007). Aberrant Excitatory Neuronal Activity and Compensatory Remodeling of Inhibitory Hippocampal Circuits in Mouse Models of Alzheimer's Disease. *Neuron*, 55(5), 697–711. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2007.07.025>.
- Sperling RA, Aisen PS, Beckett, LA, et al. (2011) Toward defining the preclinical stages of Alzheimer's disease: recommendations from the National Institute on Aging-Alzheimer's Association workgroups on diagnostic guidelines for Alzheimer's disease. *Alzheimer's & Dementia: The Journal of the Alzheimer's Association*, 7(3), 280–292. <https://doi.org/10.1016/J.JALZ.2011.03.003>.
- Targa Dias Anastacio H, Matosin N, Ooi L (2022). Neuronal hyperexcitability in Alzheimer's disease: what are the drivers behind this aberrant phenotype? *Translational Psychiatry*, 12(1), 1–14. <https://doi.org/10.1038/s41398-022-02024-7>.
- Vande Vyver M, Barker-Haliski M, Aourz N, et al. (2022) Higher susceptibility to 6 Hz corneal kindling and lower responsiveness to antiseizure drugs in mouse models of Alzheimer's disease. *Epilepsia*. <https://doi.org/10.1111/epi.17355>.
- Verhoog QP, Holtman L, Aronica E, et al.(2020). Astrocytes as Guardians of Neuronal Excitability: Mechanisms Underlying Epileptogenesis. *Frontiers in Neurology*, 11(November). <https://doi.org/10.3389/fneur.2020.591690>.
- Vossel KA, Beagle AJ, Rabinovici GD, et al. (2013) Seizures and Epileptiform Activity in the Early Stages of Alzheimer Disease. *JAMA Neurol*, 70(9), 1158–1166. <https://doi.org/10.1001/jamaneurol.2013.136>.
- Vossel KA, Ranasinghe KG, Beagle AJ, et al. (2016) Incidence and impact of subclinical epileptiform activity in Alzheimer's disease. *Annals of Neurology*, 80(6), 858–870. <https://doi.org/10.1002/ana.24794>.
- Vossel K, Ranasinghe KG, Beagle AJ, et al. (2021) Effect of Levetiracetam on Cognition in Patients With Alzheimer Disease With and Without Epileptiform Activity. *JAMA Neurology*, 78(11), 1345–1354. <https://doi.org/10.1001/jamaneurol.2021.3310>.



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!

www.epilepsieliga.nl

Publicaties

Helder overzicht van de recentste wetenschappelijke onderzoeken die nu lopen.



Actueel

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

