

Door: Erwin van Vliet, neurobiologie, Amsterdam UMC en Swammerdam Instituut voor Levenswetenschappen, Universiteit van Amsterdam, Amsterdam.

Inleiding

Op 30 maart 2023 heeft de jaarlijkse bijeenkomst van de Sectie Wetenschappelijk Onderzoek (SWO) van de Nederlandse Liga tegen Epilepsie plaatsgevonden in het Amsterdam UMC (AMC), met als thema: *Metabolism in epilepsy: diets and microbiome*.

Voor een breed publiek van onder andere neurologen, andere behandelaars, zorgmedewerkers, (jonge) onderzoekers en industriële partners, hebben diverse (inter)nationale sprekers een overzicht gegeven van de stand van zaken betreffende diëten en het microbioom. De laatste jaren staat dit (weer) sterk in de belangstelling. Zo heeft prof. dr. Jong Rho (UC San Diego School of Medicine) laten zien dat er steeds meer aanwijzingen zijn dat metabole ontregeling zowel een oorzaak als een gevolg kan zijn van epileptische aanvallen. Ook heeft hij laten zien dat op metabolisme gebaseerde behandelingen veel moleculaire en cellulaire effecten kunnen hebben, waaronder op het

microbiom dat vervolgens ook weer invloed kan hebben op de hersenen. Veel van de vermeende werkingsmechanismen van dieettherapieën (zoals het ketogeen dieet) zijn daarom relevant voor het onderdrukken van aanvallen en mogelijk ook voor ziektemodificatie.

De wetenschap die ten grondslag ligt aan voedingstherapieën voor epilepsie heeft de afgelopen jaren een aanzienlijke vooruitgang geboekt. Door de toegenomen belangstelling en investeringen in onderzoek zijn er meer klinische studies en experimenten uitgevoerd om de werkingsmechanismen van voedingstherapieën voor epilepsie beter te begrijpen. In dit nummer van 'Epilepsie, periodiek voor professionals' twee bijdragen van deelnemers aan de SWO-bijeenkomst, over de experimentele ontwikkeling van een vernieuwend ketogeen dieet en over het poliklinisch in plaats van klinisch instellen van de ketogeen dieettherapie.

Door: Hester Meeusen* (h.meeusen@amsterdamumc.nl) en Rozemarijn Kalf* (r.s.kalf@amsterdamumc.nl), Neuro-pathologie, Amsterdam UMC, Amsterdam; Jose Silva (jose-pablo.silva@danone.com), Danone Nutricia Research, Utrecht; Ardy van Helvoort (ardy.vanhelvoort@danone.com), Danone Nutricia Research, Utrecht en NUTRIM, Maastricht Universitair Medisch Centrum, Maastricht; Jan Gorter (j.a.gorter@uva.nl), Swammerdam Instituut voor Levenswetenschappen, Universiteit van Amsterdam, Amsterdam; Erwin van Vliet (e.a.vanvliet@uva.nl), Swammerdam Instituut voor Levenswetenschappen, Universiteit van Amsterdam, Amsterdam en Neuropathologie, Amsterdam UMC, Amsterdam; Eleonora Aronica (e.aronica@amsterdamumc.nl), Neuropathologie, Amsterdam UMC, Amsterdam

*Gedeeld eerste auteurschap

Experimenteel onderzoek naar een nieuwe variant van het ketogeen dieet

Het ketogeen dieet is een strikt dieet dat bestaat uit een hoog vetgehalte wat kan leiden tot milde en ernstige bijwerkingen. In samenwerking met Danone Nutricia Research is op basis van *in vitro* experimenten een nieuwe variant van het ketogeen dieet ontwikkeld en dit dieet is getest in een experimenteel model van temporaalkwabepilepsie. De resultaten van deze studie¹ zijn veelbelovend en daarmee zou deze variant van het ketogeen dieet een effectievere behandelingsmethode kunnen zijn voor patiënten met epilepsie.

Vasten, het ketogeen dieet en epilepsie

De observatie dat vasten effectief kan zijn als behandelingsmethode voor verschillende medische aandoeningen gaat ver terug in de geschiedenis (Sinha & Kossoff, 2005). Zo is er bewijs dat in de tijd van Hippocrates (570BC-495BC), de Griekse arts en grondlegger van de moderne geneeskunde, vasten werd gebruikt als een effectieve behandeling voor epileptische aanvallen (Wheless, 2008).

Helaas is vasten niet toepasbaar op de lange termijn en daarom wordt onderzoek gedaan naar alternatieven. De biochemische veranderingen als gevolg van vasten kunnen worden nagebootst met een ketogeen dieet (KD). Daarbij worden door vetverbranding in de lever zogenaamde ketonen geproduceerd, die een belangrijke rol lijken te spelen in het voorkomen van aanvallen. De eerste wetenschappelijke artikelen over de effectiviteit van een KD komen uit de jaren twintig van de vorige eeuw. In die tijd werd het eerste KD ontwikkeld als behandeling voor epilepsie bij kinderen (Wilder, 1921). Toen de eerste medicijnen tegen epilepsie op de markt kwamen, is de populariteit van het KD echter afgenomen (Sinha & Kossoff, 2005). Pas in de jaren negentig na de succesvolle behandeling van de tweejarige Charlie, een jongetje met ernstige epilepsie, kwam het KD weer terug in de belangstelling. Na een maand behandelen met het KD was hij zonder aanvullende medicatie aanvalsvrij en toen na een aantal jaar het KD werd stopgezet, kwamen de aanvallen niet terug (Wheless, 2008).

De klassieke variant van het KD wordt gekenmerkt door een verhouding van vet en koolhydraten plus eiwitten met een ratio van 3:1 of 4:1 (Neal et al., 2008). Met deze samenstelling van het dieet is het de bedoeling om het lichaam in een staat van ketose te brengen, waarbij vet wordt gebruikt als energiebron, in plaats van koolhydraten. In deze metabole staat worden in de lever ketonen geproduceerd (beta-hydroxybutyraat, acetoacetaat en aceton), die vervolgens via de bloedbaan naar de hersenen getransporteerd worden (Rho, 2017). Enerzijds fungeren deze ketonen als energiebron, anderzijds is in preklinische modellen aangetoond dat ze een anti-epileptogeen en neuro-protectief effect hebben.

Het ketogeen dieet in de praktijk

De effectiviteit van het KD is aangetoond in verschillende preklinische modellen en in klinisch onderzoek. Na de succesvolle behandeling van Charlie werd door zijn ouders de Charlie Foundation opgericht. Mede door dit succes kwam het KD-onderzoek in een stroomversnelling terecht: er kwamen meer dan 200 wetenschappelijke artikelen uit

die onder andere het effect van het KD beschreven. In de eerste gerandomiseerde gecontroleerde studie bij kinderen met refractaire epilepsie werd aangetoond dat na drie maanden behandeling met het KD de aanvalsfrequentie daalde met 50% bij 38% van de patiënten (Neal et al., 2008). Daarnaast werd bij 7% van de patiënten een aanvalsreductie van 90% gerapporteerd. Veel van de huidige studies zijn op dit moment gericht op de behandeling met het KD van kinderen met refractaire epilepsie. Daarnaast wordt het KD steeds frequenter toegepast als behandelingsmethode bij adolescenten en volwassenen met refractaire epilepsie. (Schoeler & Cross, 2016).

Ruimte voor verbetering

Het hoge vetpercentage dat nodig is voor de metabole switch naar ketose brengt ook nadelige gevolgen met zich mee. Zo zijn er uiteenlopende bijwerkingen gerapporteerd zoals onder andere constipatie, misselijkheid, groei problemen, hypoglycemie, hypercholesterolemie, nierstenen en leververvetting (Henderson et al., 2006). Daarnaast is het dieet zeer restrictief, wat leidt tot verminderde therapietrouw. Tot op heden zijn er diverse alternatieven voor het klassieke KD ontwikkeld, waaronder het *modified Atkins dieet* (MAD) (Miranda et al., 2012). De voedingsvoorschriften van het MAD zijn minder strikt, waardoor er voornamelijk meer ruimte is voor eiwitname en iets meer ruimte voor koolhydraatname ten opzichte van het klassieke KD. Dit kan bijwerkingen verminderen en ten goede komen aan de groei bij jonge patiënten. Het doel blijft om het lichaam in een staat van ketose te brengen.

De alternatieven voor het klassieke KD zijn, ondanks het feit dat veel patiënten een significante afname in aanvalsfrequentie laten zien, in veel gevallen minder effectief dan het klassieke KD (Sondhi et al., 2020). Hier is dus nog winst te behalen. Bij de ontwikkeling van een nieuwe variant op het KD ligt de focus daarom op een gebruiksvriendelijker dieet met hogere kans op goede therapietrouw door een samenstelling die minder vetname vereist en minder bijwerkingen geeft, met behoud van de effectiviteit van het klassieke KD. Het is mogelijk de hoeveelheid vet te verlagen door de toevoeging van diverse nutriënten aan het bestaande KD. Wij hebbende geoptimaliseerde samenstelling van een nieuwe variant van het KD onderzocht.

Onderzoek in levercellen en hersencellen

Voor het samenstellen van de nieuwe KD-variant, zijn wij begonnen met onderzoek in cellen, ofwel *in vitro* onderzoek. Het voordeel van dit type onderzoek is dat in een

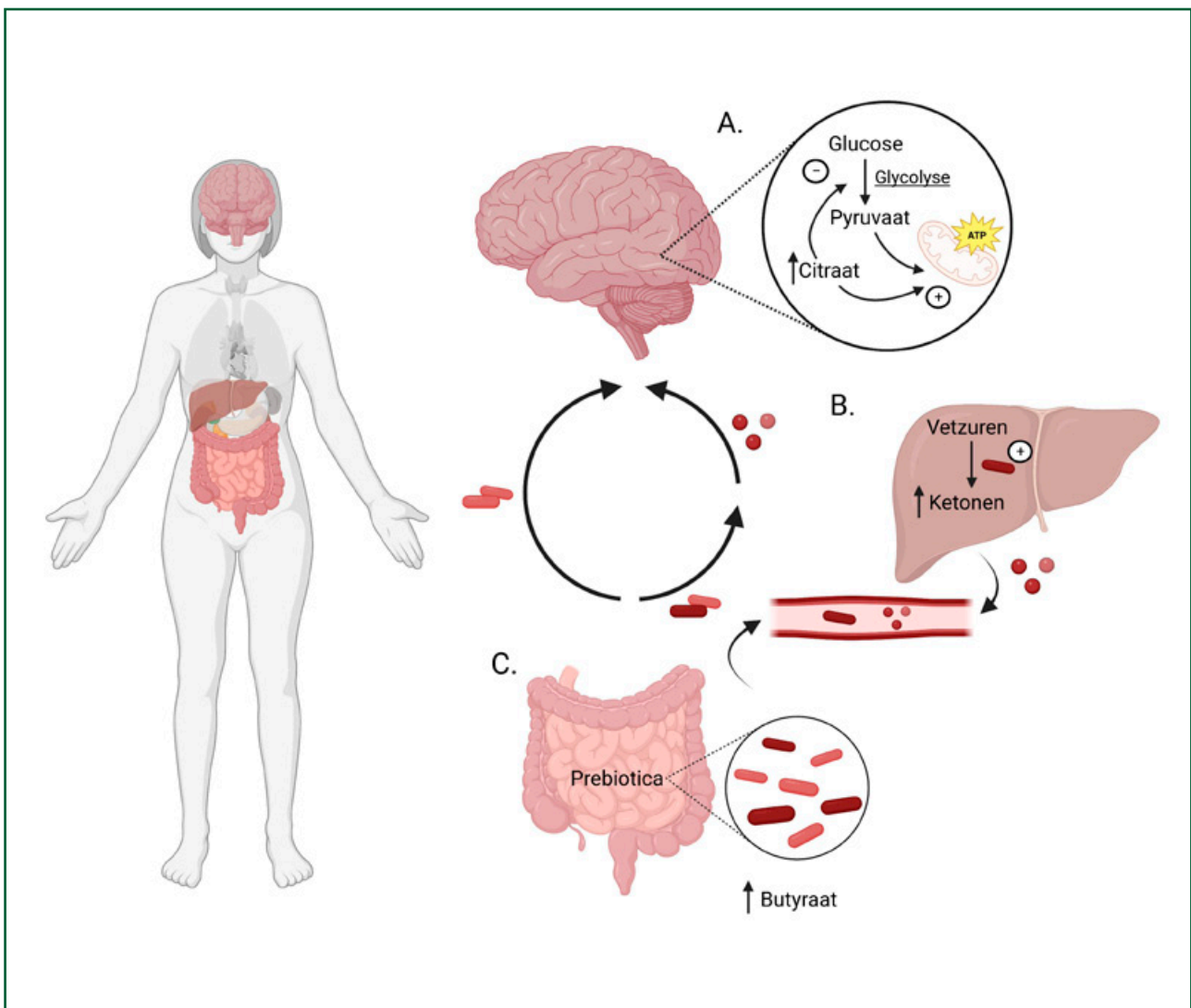
1 Het project dat tot deze resultaten heeft geleid, is gefinancierd door het NWO-Industrial Doctorates project NWA.ID.17.161, een samenwerking tussen Amsterdam UMC, Universiteit van Amsterdam en Nutricia Research.

gecontroleerde omgeving verschillende celtypes gekweekt kunnen worden die delen van de functie van een orgaan nabootsen.

In het *in vitro* gedeelte worden twee belangrijke aspecten van de nieuwe KD-variant onderzocht: enerzijds de productie van ketonen in de lever en anderzijds het verlagen van het glucosemetabolisme in de hersenen (figuur 1A,B). Ketonproductie vindt plaats in de lever, die wordt nagebootst in een levercellijn. Wanneer de levercellen blootgesteld worden aan verschillende soorten vetzuren produceren ze ketonen (figuur 1B). De effectiviteit van verschillende vetzuren en vetzuurcombinaties zijn in deze *in vitro* methode getest, om de optimale vetzuursamenstelling voor ketonproductie in de lever te identificeren. Hieruit kwam onder andere naar voren dat het korteketenvetzuur butyraat zeer efficiënt omgezet kan worden in ketonen.

Daarnaast hebben we aangetoond dat butyraat in een lage dosering de ketonproductie kan verhogen bij de verbranding van andere vetzuren (ongepubliceerde data, figuur 1C). Omdat butyraat geproduceerd wordt door microbiota in de darmen via gisting van prebiotische vezels, kan de hoeveelheid vet in het dieet verlaagd worden als vezels aan het dieet toegevoegd worden.

Het is moeilijk om hersenen te modelleren op celniveau omdat er veel verschillende celtypes aanwezig zijn die functioneel met elkaar in verbinding staan. Zo zijn neuronen afhankelijk van astrocyten om energiebronnen zoals glucose uit de bloedbaan op te nemen en in een andere vorm, bijvoorbeeld lactaat, aan te leveren aan de neuronen (Pellerin et al., 1998). Mede door deze afhankelijkheid is het belangrijk om deze celtypes samen te bestuderen.



Figuur 1. De mogelijke werkingsmechanismen van het nieuwe ketogene dieet (KD). A) Hersencellen: Door de toevoeging van specifieke nutriënten, zoals citraat, aan het nieuwe KD wordt het glucosemetabolisme geremd, maar blijft de energieproductie behouden via een alternatieve route. B) Levercellen: Vetzuren worden in de levercellen omgezet in ketonen. Deze ketonen worden vervolgens naar het brein getransporteerd en hebben een neuroprotectieve en anti-epileptische werking. C) Daarnaast zijn aan het nieuwe KD prebiotische vezels toegevoegd die in de darmen worden omgezet in butyraat. In de lever kan butyraat de ketose van andere vetzuren bevorderen. [N.B. Figuur gemaakt in Biorender.com.].

Hiervoor wordt primair hersenschors (cortex) materiaal van de rat gebruikt, waarbij neuronen en astrocyten samen in kweek kunnen worden gebracht (Pacico & Mingorance-Le Meur, 2014). Hiervoor wordt restmateriaal gebruikt van dieren uit andere onderzoeken. Met dit model onderzoeken wij de effecten van verschillende nutriënten, onder andere citraat, op de energiehuishouding van astrocyten en neuronen samen (figuur 1A). Uit dit onderzoek is gebleken dat citraat kan zorgen voor een aandrijving in de energiehuishouding die niet afhankelijk is van het glucosemetabolisme of ketonen. In de nieuwe variant van het KD blijft de ketonproductie nog steeds belangrijk, maar met de toevoeging van deze nutriënten wordt de werking van het dieet minder afhankelijk van de ketonen, waardoor het totale vetgehalte verder omlaag gebracht kan worden.

Een nieuwe variant getest in een epilepsie model

Alle verkregen inzichten uit het *in vitro* onderzoek zijn uiteindelijk vertaald naar een nieuwe variant van het KD met toevoeging van specifieke nutriënten, waardoor het vetgehalte lager is dan het klassieke KD. In het huidige onderzoek is deze nieuwe KD-variant getest in een experimenteel epilepsie model dat het verloop van epileptische aanvallen, epileptogenese, nabootst: het *rapid kindling* model (Lothman & Williamson, 1993). In dit model is de nieuwe variant van het KD vergeleken met zowel een standaard dieet, als het klassieke KD. Tot onze verrassing zagen we dat de nieuwe variant een veel sterker remmend effect had op de epileptogenese dan het klassieke KD (ongepubliceerde data). De nieuwe variant van het KD had nog meer bijkomende voordelen: de vetgehaltenes in het bloed waren lager en er was veel minder vetophoping in de lever in vergelijking met het klassieke KD (ongepubliceerde data). Dit zou de risico's op leverziekte kunnen verlagen. Dit geeft de hoop dat bij patiënten met epilepsie de nieuwe variant van het KD enerzijds effectiever zou kunnen zijn bij het remmen van de epileptogenese en anderzijds dat er een lagere kans op bijwerkingen is, zoals in de lever.

Vervolgonderzoek

Op dit moment doen we verder onderzoek naar de nieuwe variant van het KD en de factoren die kunnen bijdragen aan de hiervoor beschreven effecten. We hopen met deze studies beter te begrijpen waarom de nieuwe variant van het KD zo effectief is bij de onderdrukking van de progressie van epileptische aanvallen en waarom de lever beter beschermd is. Na het aantonen van de veiligheid en effectiviteit van de nieuwe KD variant, zal deze getest kunnen worden in mensen.

Conclusie

Het KD is een behandelingsmethode met gunstige effecten bij een deel van de mensen met (refractaire) epilepsie.

Met name het nieuwe KD heeft in een experimenteel model veelbelovende resultaten laten zien in het vertragen van de progressie van epileptische aanvallen. Na verder onderzoek en klinische validatie kan het nieuwe KD een effectieve behandelingsmethode worden voor patiënten met epilepsie, met minder bijwerkingen en betere therapietrouw.

Referenties

- Henderson CB, Filloux FM, Alder SC, et al. (2006) Efficacy of the ketogenic diet as a treatment option for epilepsy: meta-analysis. *J Child Neurol*, 21: 193-198.
- Lothman EW, Williamson JM (1993) Rapid kindling with recurrent hippocampal seizures. *Epilepsy Res*, 14: 209-220.
- Miranda MJ, Turner Z, Magrath G (2012) Alternative diets to the classical ketogenic diet – can we be more liberal? *Epilepsy Res*, 100: 278-285.
- Neal EG, Chaffe H, Schwartz RH, et al. (2008) The ketogenic diet for the treatment of childhood epilepsy: a randomised controlled trial. *Lancet Neurol*, 7: 500-506.
- Pacico N, Mingorance-Le Meur A (2014) New *in vitro* phenotypic assay for epilepsy: fluorescent measurement of synchronized neuronal calcium oscillations. *PLoS One*, 9: e84755.
- Pellerin L, Pellegrini G, Bittar PG, et al. (1998) Evidence supporting the existence of an activity-dependent astrocyte-neuron lactate shuttle. *Dev Neurosci*, 20: 291-299.
- Rho JM (2017) How does the ketogenic diet induce anti-seizure effects? *Neuroscience Letters*, 637: 4-10.
- Schoeler NE, Cross JH (2016) Ketogenic dietary therapies in adults with epilepsy: a practical guide. *Pract Neurol*, 16: 208-214.
- Sinha SR, Kossoff EH (2005) The ketogenic diet. *Neurologist*, 11: 161-170.
- Sondhi V, Agarwala A, Pandey RM, et al. (2020) Efficacy of Ketogenic Diet, Modified Atkins Diet, and Low Glycemic Index Therapy Diet Among Children With Drug-Resistant Epilepsy: A Randomized Clinical Trial. *JAMA Pediatr*, 174: 944-951.
- Wheless JW (2008) History of the ketogenic diet. *Epilepsia*, 49 Suppl 8: 3-5.
- Wilder RM (1921) The effects of ketonemia on the course of epilepsy. *Mayo Clin Proc*, 2: 307-308.