

# Epilepsie

Periodiek voor professionals

## Themanummer: Translationeel *'From bench to bedside and from bedside to bench'*

- Op naar de 'Epilepsie Doorbraak Agenda' voor en door mensen met epilepsie | 3  
Shah Kishun, Desirée Jenniskens, Laura M'Rabet
- Epilepsie-onderzoek: *from bed to bench and back to bed?* | 7  
Jo Sourbron, Lieven Lagae
- Een EEG-biomarker voor betere behandeling van epilepsie | 13  
Else Tolner, Arn van den Maagdenberg, Roland Thijs, Maeike Zijlmans, Maryse van 't Klooster
- Samenhang tussen de ziekte van Alzheimer en epilepsie? | 19  
Annemieke Rozeboom, Jan Gorter, Erwin van Vliet
- Genetische therapie voor epilepsie | 22  
Bobby Koeleman, Eva Brilstra
- Ictale SPECT: neurovasculaire netwerken voor klinici | 29  
Simon Tousseyn
- Prechirurgische focuslokalisatie bij epilepsie | 34  
Brian Mouthaan
- Betere lokalisatie epileptogene weefsel door hoog-frequente netwerkanalyse | 38  
Eric van Diessen
- Agenda | 42

## Inspiratie

De inbreng van de overheid en de medische en maatschappelijke veranderingen in de epilepsiezorg vragen aandacht. U wilt op de hoogte blijven en uw vak goed uitoefenen. Verpleegkundigen, maatschappelijk werkers, medewerkers uit het onderwijs, (kinder)neurologen, kinderartsen, psychologen, neurochirurgen en andere professionals binnen de epilepsiezorg hebben de weg naar de Liga inmiddels gevonden.

Eén van de speerpunten van de Liga is het stimuleren van en informeren over wetenschappelijk onderzoek naar epilepsie. De Liga slaat daarbij een brug tussen wetenschap en praktijk. Speciaal voor dit doel is de Sectie Wetenschappelijk Onderzoek (SWO) opgericht. Als Ligalid kunt u zich aan-

## Netwerk

sluiten bij de SWO. De SWO levert een vaste bijdrage aan dit blad. Het Netwerk Epilepsie Zorg (NEZ) is een netwerk bestaande uit consulenten, verpleegkundigen en verpleegkundig specialisten die in diverse ziekenhuizen en gespecialiseerde centra werkzaam zijn.

Maar het Liga-lidmaatschap biedt meer:

- het vakblad 'Epilepsie' toegankelijk via open access op: [www.epilepsiejournal.nl](http://www.epilepsiejournal.nl)
- korting op het ILAE Congres
- korting op diverse internationale vakbladen

Alle informatie over de Liga, het lidmaatschap en aanmelden als lid vindt u op [www.epilepsieliga.nl](http://www.epilepsieliga.nl).

## Kennis

## Colofon

'Epilepsie' is een uitgave van de Nederlandse Liga tegen Epilepsie, de Nederlandse afdeling van de International League Against Epilepsy.

### Eindredactie

Pauly Ossenblok (hoofredacteur);  
Larina Mac Donald (bladmanager)

### Redactie

Charlotte van Asch, Lydia van den Berg,  
Eva Brilstra, Dederieke Festen,  
Gerrit-Jan de Haan, Govert Hoogland,  
Loretta van Itersson, Maryse van 't Klooster,  
Richard Lazeron, Marian Majoie,  
Bea Martens, Anne-Marthe Meppelink,  
Vincent Roelfsema.

### Aan dit nummer werkten verder mee:

Eric van Diessen, Jan Gorter,  
Desirée Jenniskens, Shah Kishun,  
Bobby Koeleman, Lieven Lagae,  
Arn van den Maagdenberg,  
Brian Mouthaan, Laura M'Rabet,  
Annemieke Rozeboom, Jo Sourbron,  
Roland Thijs, Else Tolner,  
Simon Tousseyn, Erwin van Vliet,  
Maeike Zijlmans.

### Lay-out:

studio dop, Utrecht

'Epilepsie' verschijnt vier maal per jaar via open access op website: [www.epilepsiejournal.nl](http://www.epilepsiejournal.nl). Op de website

of via deze link kunt u zich aanmelden voor de nieuwsbrief om op de hoogte te blijven van de nieuwste publicaties.

Wilt u reageren op de inhoud van dit blad? Laat dit dan binnen één maand na verschijning weten via e-mail ([info@epilepsieliga.nl](mailto:info@epilepsieliga.nl)) aan het redactiesecretariaat. Ingezonden kopij wordt door derden beoordeeld en door de redactie, die zich het recht voorbehoudt om kopij te weigeren of in te korten.

Indien u meer informatie wenst, kunt u rechtstreeks contact opnemen met de auteur of met het redactiesecretariaat.

### Redactiesecretariaat:

Nederlandse Liga tegen Epilepsie  
E-mail [info@epilepsieliga.nl](mailto:info@epilepsieliga.nl)  
[www.epilepsieliga.nl](http://www.epilepsieliga.nl)

De redactie is niet verantwoordelijk voor de inhoud van bijdragen die onder auteursnaam zijn opgenomen.

Niets uit deze uitgave mag zonder voorafgaande, schriftelijke toestemming van de uitgever worden overgenomen of vermenigvuldigd.

ISSN 1571 - 0408



## Van de redactie

Het is precies één jaar geleden dat het eerste nummer van 'Epilepsie' via het open access platform Openjournals.nl verscheen. Dit nummer werd ook per post verstuurd aan de leden van de Liga en alle neurologen. Dit jaar gebeurt dat niet. Registreren op de website [www.epilepsiejournal.nl](http://www.epilepsiejournal.nl) is daarom nog belangrijker. Je krijgt dan elk kwartaal de nieuwsbrief toegestuurd met aankondiging van én directe toegang tot de digitale uitgave van wéér een nieuw nummer. Dat is nu, aan het einde van dit jaar, een themanummer.

Het thema is dit jaar translationeel onderzoek. Het is een indrukwekkende afspiegeling geworden van het pre-klinische (*bench to bedside*) en het klinische (*bedside to bench*) onderzoek in Nederland en Vlaanderen. Het pre-klinische onderzoek legt de mechanismen bloot die een rol spelen bij epilepsie en het vertalen hiervan naar een betere behandeling. Voor u als behandelaar in dit themanummer een kritische beschouwing over de toepassing van diagnostische (*imaging*) technieken en de klinische interpretatie hiervan.

Pauly Ossenblok (hoofredacteur)  
[possenblok@sein.nl](mailto:possenblok@sein.nl)

# Op naar de 'Epilepsie Doorbraak Agenda' voor en door mensen met epilepsie

Goed translationeel onderzoek kan alleen met een actieve participatie van patiënten en hun omgeving. Met de fusie van het Epilepsiefonds en de Epilepsie Vereniging Nederland tot EpilepsieNL is dat nu mogelijk. Patiëntenparticipatie is nu een belangrijk speerpunt in het beleid van EpilepsieNL.

Recent hebben we 'Vertel het ons!' geopend ([www.epilepsie.nl/VertelhetOns](http://www.epilepsie.nl/VertelhetOns)) voor verhalen en ervaringen van mensen die dagelijks te maken hebben met epilepsie. Dit digitale verzamelpunt is voor ons een hulpmiddel om breed gedragen participatie van patiënten mogelijk te maken. Het eerste project waarbij we 'Vertel het ons!' gaan inzetten is de 'Epilepsie Doorbraak Agenda'. Dit wordt de eerste onderzoeksagenda in Nederland voor en door mensen met epilepsie.

In deze bijdrage beschrijven wij waarom 'Vertel het ons!' is opgezet en doen wij een oproep om mee te werken aan de 'Epilepsie Doorbraak Agenda'. Maar eerst onze visie op translationeel onderzoek.

## Translationeel onderzoek: onze visie!

'From bench to bedside and from bedside to bench' is het centrale thema van dit nummer van het periodiek 'Epilepsie'. Onze vraag hierbij is: Hoe zit dat met goede zorg voor mensen met epilepsie? Is het eindpunt 'the bedside' in het ziekenhuis of zou het de leefsituatie of thuis-situatie moeten zijn? Epilepsie is immers een chronische aandoening waar mensen mee moeten leren leven. Translationeel onderzoek zou hier meer inzicht in kunnen geven.

Translationeel onderzoek is een vorm van toegepast onderzoek met als doel resultaten uit fundamenteel onderzoek te vertalen naar toepassingen die nuttig zijn voor de mens. Translationeel onderzoek gaat dus over onderzoek voor toepassingen breder dan alleen in het ziekenhuis en houdt dan ook niet op bij het bed. Om translationeel onderzoek mogelijk te maken zijn er een aantal vereisten, namelijk:

1. Een netwerk van wetenschappers uit fundamenteel en toegepast onderzoek, uit kennisinstellingen, zorginstellingen en bedrijfsleven, liefst multidisciplinair.

2. Een fysieke broedplaats, een plek die toegang geeft tot methoden en technieken.

3. Een specifieke doelgroep waarmee de onderzoekers samenwerken om fundamenteel onderzoek te vertalen naar praktische toepassingen.

Wanneer hieraan wordt voldaan kunnen de praktische toepassingen samen worden ontwikkeld. Het liefst wil je deze ontwikkeling kort cyclisch hebben, waarbij fundamentele wetenschappers, toegepaste onderzoekers en je uiteindelijke doelgroep blijven samenwerken.

## De noodzaak van patiëntenparticipatie

De genoemde vereisten maken duidelijk dat de doelgroep essentieel is voor translationeel onderzoek: de doelgroep is nodig om tot verbetering van de zorg, kwaliteit van leven en ontwikkelingen van nieuwe therapieën te komen. De uiteindelijke 'klant' is altijd de patiënt: In deze bijdrage zijn dit mensen met epilepsie en hun omgeving. Een patiënt is niet alleen een studieobject. Het zijn mensen met ervaringen, ideeën en kennis. Zij kunnen goed meedenken over bijvoorbeeld de toegevoegde waarde van nieuwe therapieën, relevante klinische outcome parameters, een studie-opzet en de analyse van kwalitatief onderzoek. Ze kunnen onderzoekers ook inspireren met hun ervaringen en verhalen. Ervaringen van patiënten kunnen onderzoekers ook tot nieuwe inzichten en nieuwe hypothesen leiden. Ze kunnen richting geven aan onderzoek en kunnen ook een rol spelen in de versnelling van het onderzoek naar genezing of verbetering van kwaliteit van leven.

Er zijn veel initiatieven en mooie voorbeelden te noemen waarin de patiënt een actieve rol krijgt toebedeeld. Zonder volledig te willen zijn, hierbij een paar internationale en nationale voorbeelden: [Eupati](#), [Patient Focused Medicines Development](#), [Paradigm](#), [PGOsupport](#), [de patientenmatrix](#),

[James Lind Alliance](#)<sup>1</sup>. Ook in Nederland willen mensen met epilepsie zich inzetten om de zorg te verbeteren en willen ze een actieve rol spelen in het vinden van praktische toepassingen voor de recentste ontdekkingen. De fusie tussen het Epilepsiefonds en de Epilepsie Vereniging Nederland tot EpilepsieNL is inmiddels afgerond.

Hierdoor kunnen we patiëntenparticipatie en echt translationeel onderzoek in zorg en onderzoek naar epilepsie ook in Nederland mogelijk maken. Bij de afdeling Kennis & Innovatie van EpilepsieNL hoort participatie van mensen met epilepsie (in het translationeel onderzoek) nu tot de dagelijkse werkzaamheden en is het één van de speerpunten van haar beleid.

### Vertel het ons!

17 oktober 2022 is de website Vertel het ons! ([epilepsie.nl/vertelhetons](http://epilepsie.nl/vertelhetons)) geopend. Dit is de online plek waar iedereen die met epilepsie te maken heeft zijn ervaringen, verhalen, onderzoeksvragen en productideeën kan indienen. Dit gebeurt anoniem, volgens de huidige privacywetgeving. Na het indienen van het verhaal krijgt de indiener vragen over mentaal welbevinden en emoties (boosheid, angst, onzekerheid, et cetera), over zingeving (rouw, schuld, acceptatie), sociale inclusie, kwaliteit van leven, dagelijks functioneren en medische achtergrond. Deze vervolgvragen maken kwalitatief onderzoek mogelijk. Verwacht echter geen gestandaardiseerde en gevalideerde vragenlijsten. De basis voor de vragen is de methode voor bepaling van positieve gezondheid en bepaling van veerkracht. Vaak zijn dat de aspecten die niet standaard worden meegenomen in de dagelijkse hectiek van de zorg (Huber et al., 2015).

Op basis van deze gegevens worden elk kwartaal de verhalen en ervaringen geanalyseerd. Deze analyses kunnen de aanleiding zijn om specifieke thema's en onderwerpen beter uit te diepen. Dit gebeurt in workshops (focusgroepen) waarin mensen met ervaring met epilepsie de verhalen duiden en evalueren. De resultaten van deze workshops delen we door publicaties en presentaties. Daarnaast zullen de analyses en resultaten van de workshops worden besproken met (para)medici, onderzoekers en andere professionals. Dit geeft nieuwe inzichten, nieuwe hypotheses die kunnen leiden tot nieuwe R&D-projecten. In deze projecten kunnen nieuwe vragen worden geformuleerd, waarvoor het digitale verzamelpunt Vertel het ons! ingezet kan worden.

Vertel het ons! is een hulpmiddel om thema's die belangrijk zijn voor mensen met epilepsie te identificeren en daarmee de juiste activiteiten te organiseren. Het helpt ons ook om de juiste lobby naar overheidsinstellingen in te zetten. En het levert een databank van verhalen die gebruikt kan worden voor nieuwe hypothesevorming en tot verder onderzoek. Vertel het ons! zal dus een belangrijke informatiebron zijn voor EpilepsieNL naast De Epilepsielijn<sup>2</sup> en de verschillende bijeenkomsten die we organiseren. In de toekomst kunnen onderzoekers de databank van Vertel het ons! ook gebruiken. Een schematische weergave van het doel van en het proces achter Vertel het ons! is weergegeven in figuur 1.

### De Epilepsie Doorbraak Agenda

Het eerste project waarbij we Vertel het ons! gaan inzetten, is het formuleren van een breed gedragen nationale onderzoeksagenda voor epilepsie: De 'Epilepsie Doorbraak Agenda'. EpilepsieNL heeft het initiatief genomen samen met de Wetenschappelijke Adviesraad (WAR) van EpilepsieNL en de Nederlandse Liga tegen Epilepsie (de Liga) om deze 'Epilepsie Doorbraak Agenda' op te stellen. Dit doen we met en voor mensen die dagelijks te maken hebben met epilepsie, zoals patiënten, hun dagelijkse verzorgers en de professionals.

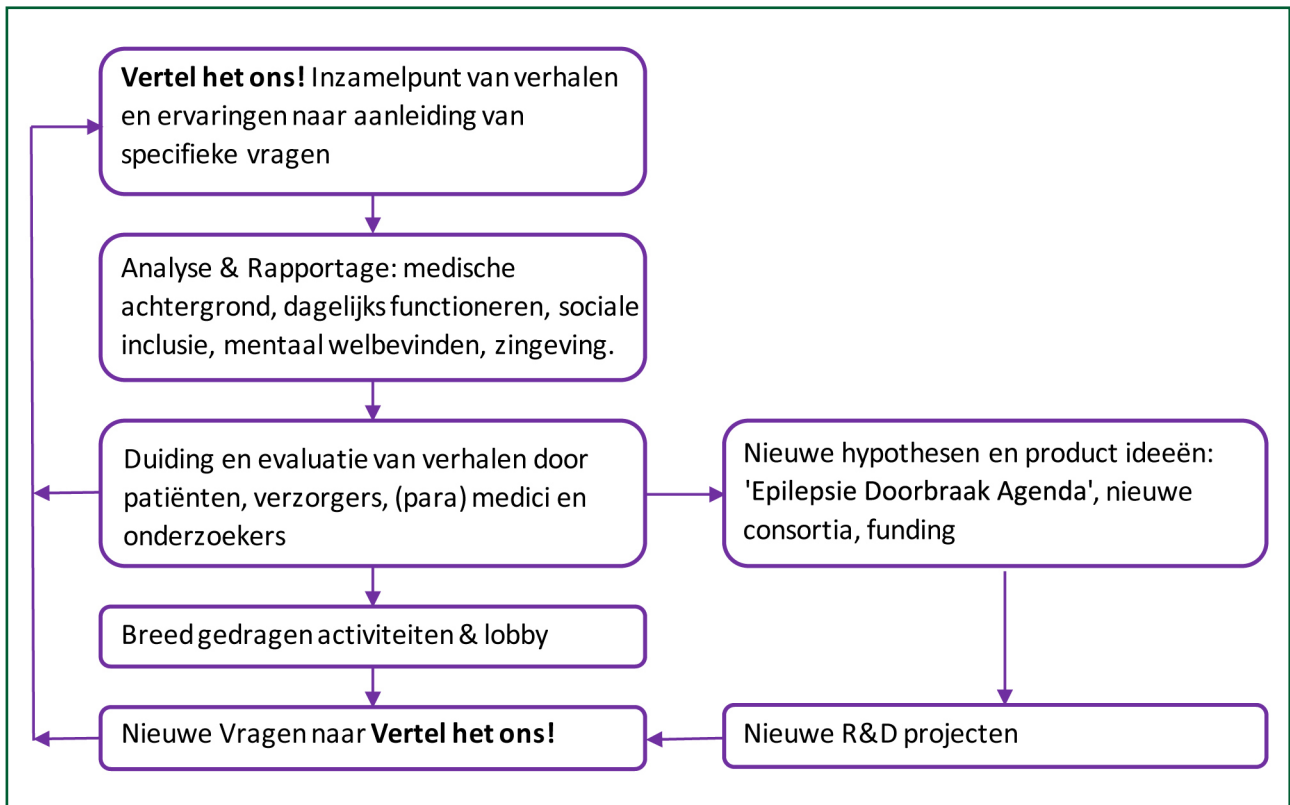
Waarom moet deze doorbraakagenda er komen? Het gemis ervan beperkt de mogelijkheden voor het verrichten van translationeel onderzoek. Als er een breed gedragen doorbraakagenda is, kunnen EpilepsieNL en de Liga deze neerleggen bij de NVN, NWO, ZonMW en andere subsidiegevers zoals de Hersenstichting. De agenda helpt onderzoekers bij projectaanvragen om de noodzaak van het onderzoek te onderbouwen. De agenda helpt ook om thema specifieke R&D-consortia te bouwen en lange termijn samenwerkingen aan te gaan. En de agenda helpt om gericht en doeltreffender fondsen te werven bij bedrijven en particulieren. Samengevat: de agenda helpt ons om epilepsie in Nederland beter op de kaart te zetten.

Hoe komen we tot de 'Epilepsie Doorbraak Agenda'?

Op dit moment vragen we in Vertel het ons! gericht naar onderzoeksvragen en -ideeën. In eerste instantie zullen mensen met epilepsie en professionals apart de ingediende onderzoeksvragen beoordelen. Daarna zullen beide groepen in een gezamenlijke bijeenkomst tot een uiteindelijke agenda, de 'Epilepsie Doorbraak Agenda', komen.

<sup>1</sup> Genoemde websites uitgeschreven: [Eupati.eu](http://Eupati.eu), [Patientfocusedmedicine.org](http://Patientfocusedmedicine.org), [imi-Paradigm.eu](http://imi-Paradigm.eu), [PGOsupport.nl](http://PGOsupport.nl), [participatiekompas.nl](http://participatiekompas.nl), [jla.nihr.ac.uk](http://jla.nihr.ac.uk).

<sup>2</sup> De Epilepsielijn is de telefoonlijn waar mensen met epilepsie terecht kunnen met vragen of voor een gesprek. De telefoongesprekken worden gevoerd door mensen van EpilepsieNL en door ervaringsdeskundigen.



Figuur 1: Doel en proces van Vertel het ons!

### Conclusie

Translationeel onderzoek is alleen mogelijk met onderzoekers, (para)medici en patiënten en hun omgeving. Alleen samen verrichten we goed translationeel onderzoek. Daarom als afsluiting een oproep!

- ✓ Ten eerste: Dien uw eigen onderzoeksvraag in, want alleen dan kan uw onderzoek op de 'Epilepsie Doorbraak Agenda' komen. Ga dus naar [epilepsie.nl/vertelhetons](http://epilepsie.nl/vertelhetons). Na het indienen van uw onderzoeksvraag en/of -idee, kunt u zich aanmelden voor het vervolgtraject en voor de nieuwsbrief waarin de resultaten zullen worden vermeld. U kunt de onderzoeksvragen en -ideeën indienen tot 31 december 2022.

- ✓ Ten tweede: We hebben uw hulp nodig. Laat uw patiënten het bestaan weten van EpilepsieNL en van Vertel het ons!. Patiënten en verzorgers moeten weten hoe en waar ze hun bijdrage kunnen leveren.

### Referenties

Huber M, van Vliet M, Giezenberg M, Winkens B, et al. (2015) Towards a 'patient-centred' operationalisation of the new dynamic concept of health: a mixed methods study *BMJ Open* 2016;5:e010091. doi:10.1136/bmjopen-2015-010091.

Lees het actuele overzicht  
van congressen over epilepsie.

Kijk voor meer informatie op [www.epilepsieliga.nl](http://www.epilepsieliga.nl).



# Voor 1 op de 3 mensen met epilepsie is medicatie alleen niet de oplossing.



Nadat ten minste 2 anti-epileptica de aanvallen niet onder controle hebben kunnen houden, moeten alternatieve behandelingsopties zoals VNS Therapy™ worden overwogen.



VNS Therapy™ is een **veilige** en **effectieve** behandeling die samen met medicatie wordt gebruikt voor mensen met medicatieresistente epilepsie (DRE).



Het is ontworpen om de **frequentie van aanvallen** te verminderen bij mensen met medicatieresistente epilepsie.



Het kan ook **aanvallen verkorten**, de **intensiteit van aanvallen** verminderen en het **herstel na aanvallen verbeteren**.



Scan om meer te weten te komen over DRE

Het VNS Therapy-systeem is geïndiceerd voor gebruik als een aanvullende behandeling om de frequentie van aanvallen te verlagen bij patiënten bij wie de epilepsie voornamelijk wordt gekenmerkt door focale aanvallen (met of zonder secundaire generalisatie) of gegeneraliseerde aanvallen die ondanks anti-epileptica moeilijk te behandelen zijn.

De meest voorkomende bijwerkingen van VNS Therapy zijn heesheid, kortademigheid, keelpijn en hoesten. Deze bijwerkingen treden over het algemeen alleen op tijdens de stimulatie en nemen gewoonlijk na verloop van tijd af. De meest voorkomende bijwerking van de chirurgische ingreep is infectie.

Ga voor belangrijke veiligheidsinformatie naar [www.vnstherapy.co.uk/safety-information](http://www.vnstherapy.co.uk/safety-information)

LivaNova Belgium NV  
Ikaroslaan 83  
1930 Zaventem  
België  
Tel: +32.2.720.95.93  
Fax: +32.2.720.60.53

LivaNova USA, Inc.  
100 Cyberonics Boulevard  
Houston, Texas 77058, USA  
Tel: +1.800.332.1375  
Fax: +1.281.218.9332

[www.VNSTherapy.co.uk](http://www.VNSTherapy.co.uk)

[www.livanova.com](http://www.livanova.com)

# Epilepsie-onderzoek: *from bed to bench and back to bed?*

De hoeksteen van epilepsiebehandeling is het gebruik van anticonvulsieve medicijnen. Echter, niet iedere patiënt wordt aanvalsvrij met de bestaande medicijnen. Hierdoor is onderzoek naar anticonvulsieve medicijnen met unieke werkingsmechanismen nog steeds noodzakelijk. Er zijn verscheidene strategieën mogelijk bij de zoektocht naar dergelijke middelen, waarbij translatie en *back-translatie* kunnen bijdragen aan nieuwere, innovatieve anticonvulsieve medicijnen voor patiënten met epilepsie wereldwijd.

## Epilepsiebehandeling

Epilepsie komt wereldwijd voor bij ongeveer 70 miljoen mensen en de hoeksteen van epilepsiebehandeling is het gebruik van anticonvulsieve medicijnen (*anti-seizure medication, ASM*). Verscheidene ASM werken via de blokkade van onder andere natrium/calcium ionkanalen, het versterken van de neurotransmissie van gamma-aminoboterzuur, het blokkeren van glutaminerge neurotransmissie, en het stimuleren van *synaptic vesicle protein 2A* (Löscher, 2021).

Ook al zijn er meer dan 30 verschillende ASM op de markt, 30% van de patiënten met epilepsie heeft onvoldoende aanvalscntrole met de huidige ASM. We spreken dan van farmacoresistente epilepsie (López González et al., 2015). Bovendien is epilepsie een zeer heterogene ziekte, waardoor er geen unieke ASM zijn voor iedereen met epilepsie. Hiermee wordt de behoefte voor het ontdekken en ontwikkelen van innovatieve ASM benadrukt. Tot slot wordt ook meer en meer onderzoek gedaan naar ASM die niet enkel de epileptische aanvallen onderdrukken, maar ook bijdragen aan een betere levenskwaliteit en het reduceren van de comorbiditeiten/nevenwerkingen (Holmes, 2021).

## De zebraavis als epilepsiemodel

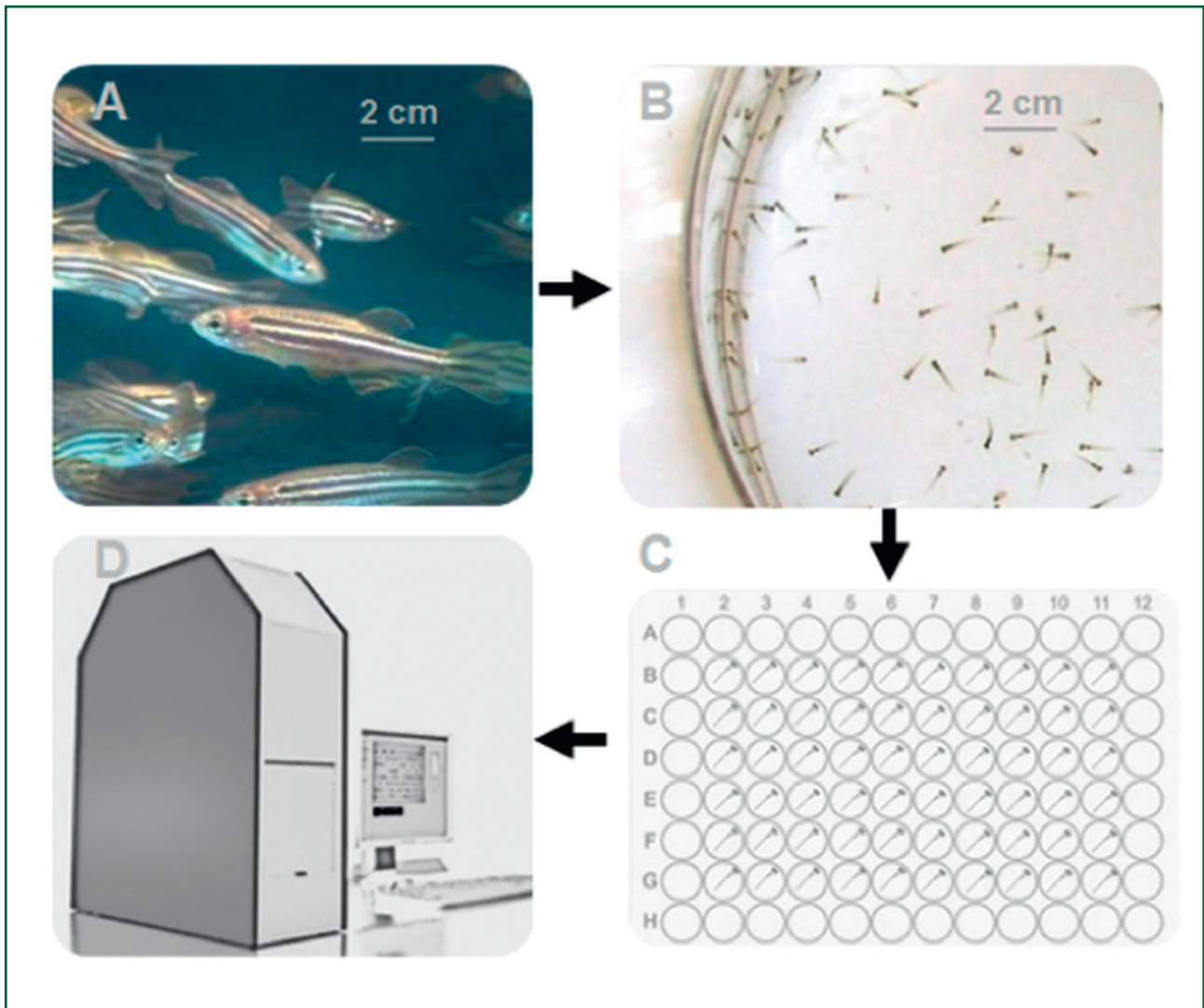
Traditioneel worden voornamelijk knaagdieren gebruikt in het onderzoek naar ASM. Hierbij wordt een onderscheid gemaakt tussen chemische, elektrische en genetische modellen (Löscher, 2011). Voor een snelle en kostenefficiënte geneesmiddelenontdekking, worden echter ook niet-zoogdiermodellen, zoals de zebraavis en drosophila ontwikkeld en gevalideerd (Partoens et al., 2021).

Onderzoek met behulp van de zebraavis gaat gepaard

met relatief lage kosten (voor huisvesten van de zebra- vissen en laboratoriumwerk) en relatief minder ethische problemen, zeker in vergelijking met knaagdieren. Bovendien leidt de hoge vruchtbaarheid en snelle voortplanting van zebra- vissen tot de mogelijkheid om een groot aantal experimenten in korte tijd uit te voeren en te herhalen. De zebra- visembryo's zijn relatief groot, nagenoeg transparant en ontwikkelen zich niet in een baarmoeder, zoals bij knaagdieren, wat farmacologische behandelingen en genetische manipulaties vergemakkelijkt vanaf de bevruchting. Zebra- vissen staan be- zien vanuit de fylogenetica dichter bij de mens dan andere niet-zoogdieren zoals drosophila en behoren tot de gewervelde dieren (Stewart et al., 2014). Ook worden meer dan 80% van de bekende epilepsie-gerelateerde genen teruggevonden in het zebra- vis- genoom. Onlangs zijn verschillende zebra- vis- epilepsiemodellen gevalideerd. Dit zijn onder andere koortsgevoelige myoclonische epilepsie (op basis van mutaties in het CHD2 gen en het SCN1A gen) (Sourbron et al., 2019) en koortsgeassocieerde epilepsie (STX1B gen mutatie) (Schubert et al., 2014). Gen manipulatie is onder andere mogelijk door gerichte genoombewerking met behulp van CRISPR/Cas9-technieken (Siekierska et al., 2019). In figuur 1 is schematisch de methode weergegeven van het zebra- vis- onderzoek naar ASM.

## Zebra- vis- model voor het Dravet syndroom

In de zoektocht naar innovatieve ASM, werd het Dravet syndroom zebra- vis- model ontwikkeld (cfr. infra). Het Dravet syndroom is een van de ernstigste vormen van epilepsie, gekenmerkt door farmacoresistente epileptische aanvallen en talrijke fysieke en aan het gedrag gerelateerde en intellectuele comorbiditeiten. Ongeveer 90%



Figuur 1: Zebrafisnonderzoek naar anticonvulsieve medicatie (gedragsanalyse via locomotoractiviteit analyses): (A) volwassen zebrafissen waarvan embryo's worden bekomen die op de derde dag ontwikkeld zijn tot zebrafislarven; (B) deze larven kunnen in een 96-well plaat worden geplaatst waarbij iedere rij larven met een verschillende stof behandeld wordt; (C) vervolgens gebeurt er een automatische locomotoranalyse; (D) via een computerprogramma. [aangepast van PhD thesis (Sourbron, 2017)]

van de patiënten met het Dravet syndroom heeft een SCN1A-mutatie. Het SCN1A-gen codeert voor het type 1 (subeenheid A) voltage-afhankelijke natriumkanal (sodium channel, voltage gated, type I alpha subunit) en is bovendien het meest voorkomende epilepsiegen.

Zebrafissen met een mutatie in het orthologe SCN1A gen (*scn1Lab*) recapituleren het epileptisch fenotype, alsook enkele comorbiditeiten en *sudden unexplained death in epilepsy patients* (SUDEP) van het Dravet syndroom (Sourbron et al., 2016). Hierdoor zijn zij een geschikt model voor de zoektocht naar ASM voor (farmacoresistente) epilepsie.

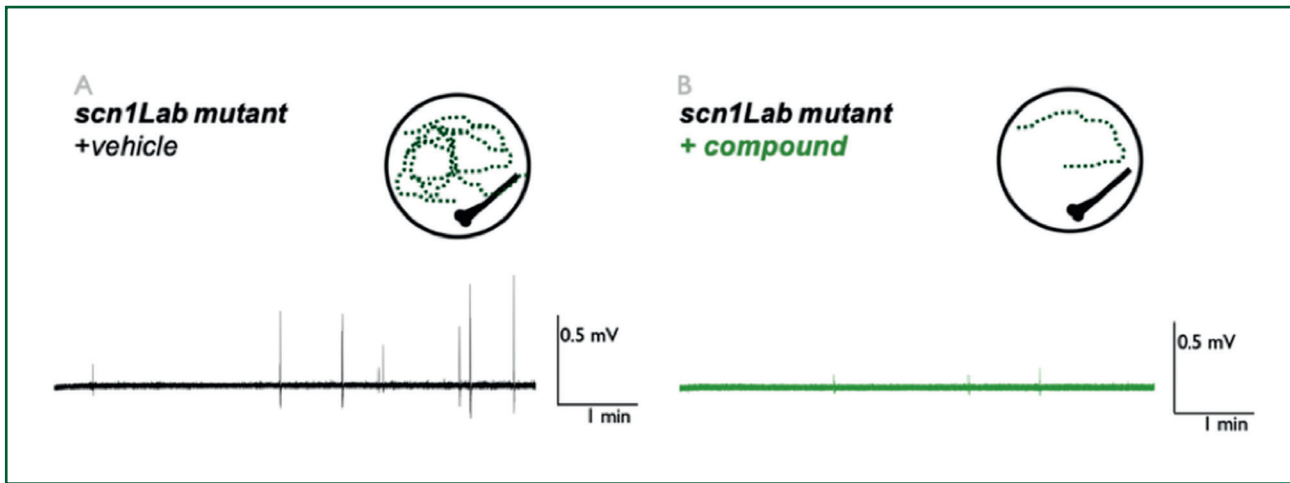
Ook al tonen potentiële ASM gunstige anticonvulsieve effecten in diermodellen, er blijven nog steeds belangrijke beperkingen om deze data te vertalen naar mensen; onder andere de farmacokinetische eigenschappen, zoals absorptie, distributie, metabolisme en excretie en de

onbekende langetermijneffecten (Löscher, 2021). Figuur 2 toont als voorbeeld het resultaat van het zebrafisnonderzoek naar ASM.

### **Bedside to bench**

Als voorbeeld van een succesvolle translatie (dat wil zeggen de 'vertaling van preklinisch onderzoek naar de praktijk') en *back-translatie* in de ontdekking van geneesmiddelen tegen epilepsie beschrijven we het serotonerge geneesmiddel fenfluramine (FA) (Schoonjans et al., 2015). FA was vroeger geregistreerd als een middel tegen obesitas (1973), maar werd uit de handel genomen vanwege cardiotoxische effecten die verband hielden met misbruik, gebruik van andere amfetaminerge medicijnen en/of hoge doses (Elangbam, 2010). In 1985 toonden Aicardi en Gastaut de anticonvulsieve werking van FA aan bij enkele patiënten met *self-induced* epileptische aanvallen. Tussen 1987 en 1996 leverden verschillende gevalsrapporten en





Figuur 2: Zebrafisonderzoek naar anticonvulsieve medicatie (epileptiforme activiteiten via hersenactiviteit analyses): (A) een placebo-behandelde (vehicle) zebrafislarve vertoont meerdere epileptiforme activiteiten (spikes); (B) een zebrafislarve die behandeld is met een potentieel anticonvulsieve stof waarbij een afname in epileptiforme activiteit wordt aangetoond. [aangepast van PhD thesis (Sourbron, 2017)]

kleine open-label studies nader bewijs voor de anticonvulsieve werking van FA, zelfs bij kinderen met farmacoresistente aanvallen. In 1996 rapporteerden Boel en Casaer het succes van laaggedoseerd FA bij de behandeling van elf kinderen met farmacoresistente of *self-induced* epilepsie (Schoonjans et al., 2015). Na analyse van de patiëntendosiers en het uitvoeren van genetische tests, werden vijf van deze patiënten gediagnosticeerd met het Dravet syndroom. In 2012 voerden Ceulemans en collega's een retrospectief onderzoek uit naar de anticonvulsieve werking van FA bij patiënten met het Dravet syndroom (Ceulemans et al., 2012). Meer dan 90% had een significante aanvalsreductie, dat wil zeggen minder dan één aanval per maand en 70% was aanvalsvrij. Twee gerandomiseerde gecontroleerde trials bevestigden naderhand de effectiviteit van FA in deze patiënten (Lagae et al., 2019; Nabbout et al., 2020).

Gezien de effectiviteit van FA, maar ook het onbekende mechanisme ervan, werd FA verder onderzocht in diermodellen van het Dravet syndroom. Dit is een voorbeeld van een *bedside to bench* benadering (Sourbron et al., 2017). FA verhoogt de afgifte van serotonine (5-hydroxytryptamine, 5-HT) in de synaptische ruimte waardoor verschillende 5-HT receptor subtypes worden gestimuleerd. Vooral nog is het exacte anticonvulsieve werkingsmechanisme van FA niet bekend en is er enige bezorgdheid betreffende mogelijke cardiotoxiciteit (door stimulatie van 5-HT<sub>2B</sub> receptoren). Wij bevestigden het anticonvulsieve effect van FA in een Dravet syndroom zebrafis model en wij toonden eveneens het anticonvulsieve effect aan van 5-HT<sub>1D</sub>-, 5-HT<sub>2A</sub>- en 5-HT<sub>2C</sub>-agonisten/stimulatoren, alsook van sigma<sub>1</sub> receptor ( $\sigma_1R$ ) modulatie (Sourbron et al., 2017). Dit werd initieel geduid bij een potentieel antagonisme van de  $\sigma_1R$  en meer recente studies tonen aan

dat dit berust op een positieve allosterische modulatie van deze receptor (Martin et al., 2021).

### Bench to bedside

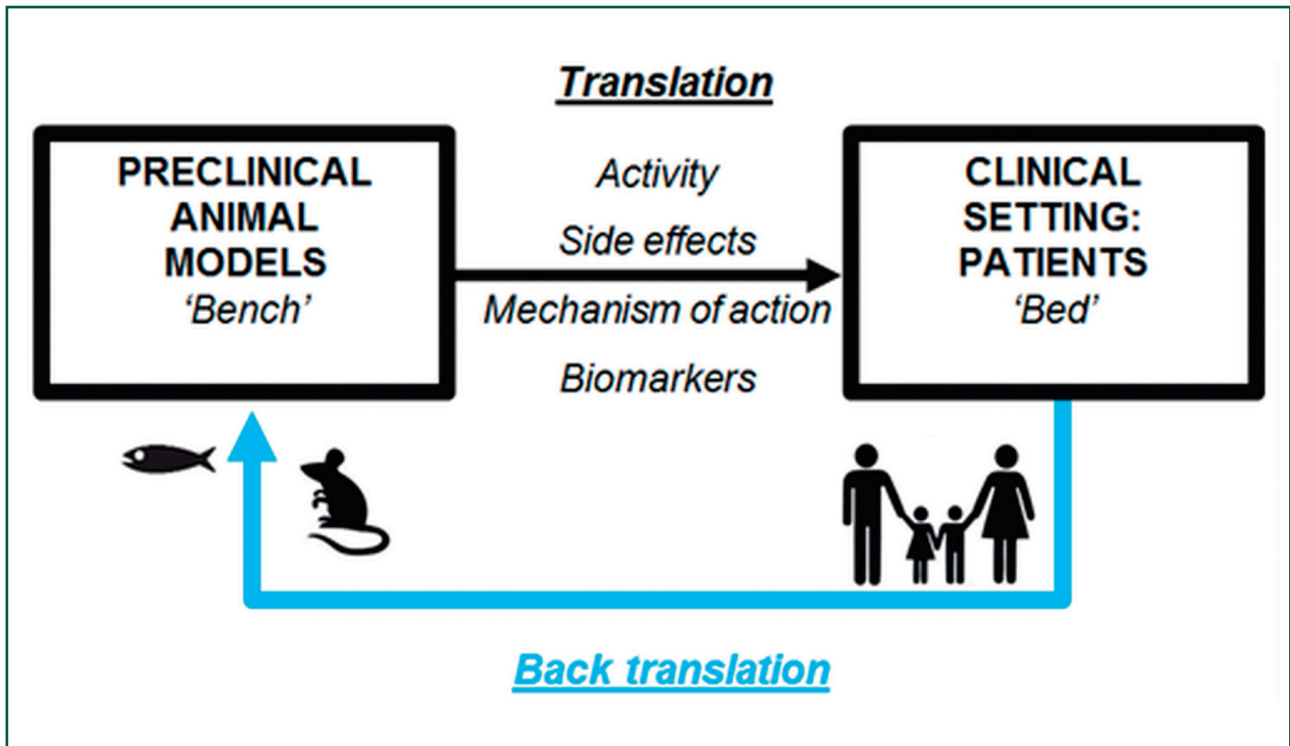
Doordat verscheidene anticonvulsieve mechanismen van FA werden aangetoond (via *back-translatie*), werd het mogelijk om andere geneesmiddelen met een gelijkaardig mechanisme te onderzoeken (*translatie*), waarbij het mogelijk is om nieuwe geneesmiddelen te ontwikkelen of *repurposing* van bestaande geneesmiddelen uit te werken (Johannessen Landmark et al., 2021). Dit is schematisch weergegeven in figuur 3.

### Nieuwe geneesmiddelen

Enkele farmaceutische firma's hebben belangstelling gekregen voor onder andere het positieve allosterische modulerend effect van de  $\sigma_1R$ , maar ook voor de stimulatie van de 5-HT<sub>2C</sub> receptor. Zo is Longboard Pharma op dit moment bezig met klinisch onderzoek om een 5-HT<sub>2C</sub> superagonist, genaamd LP352, verder te ontwikkelen als anticonvulsief geneesmiddel (Longboard website: <https://www.longboardpharma.com/our-approach/#pipeline>, geraadpleegd 04/09/2022). Hetzelfde geldt voor een andere 5-HT<sub>2C</sub> agonist: lorcaserine (EPX-200) (Sourbron et al., 2016).

### Repurposed geneesmiddelen

Onderzoeken met het gevalideerde Dravet syndroom zebrafis model hebben geleid tot het analyseren van geneesmiddelen die al op de markt zijn voor een andere aandoening. De bedoeling was om na te gaan of deze geneesmiddelen effectief zijn in het Dravet syndroom zebrafis model en ze zo dus voor een andere aandoening op de markt zouden kunnen komen (*repurposing of existing*



Figuur 3: Translatie en back-translatie in een preklinische en klinische setting in het onderzoek naar anticonvulsieve medicatie. [aangepast van PhD thesis (Sourbron, 2017)]

drugs). Op deze manier hebben wij lisuride onderzocht en dit middel bleek anticonvulsief te zijn in het Dravet syndroom zebravismodel (Sourbron et al., 2019). Dit geneesmiddel was reeds geregistreerd voor de behandeling van Parkinson (Cacabelos, 2017) gezien zijn dopaminerge activiteit, maar lisuride is ook een potente 5-HT<sub>2A/2C</sub> agonist. Bovendien is het een 5-HT<sub>2B</sub> antagonist en zou het daardoor geen aanleiding geven tot cardiotoxische effecten (Hofmann et al., 2006). Verder toonde eerder onderzoek anticonvulsieve eigenschappen van lisuride aan, zoals in de behandeling van corticale reflexmyoclonus (Obeso et al., 1983) en in enkele knaagdiermodellen voor epilepsie (Zweckberger et al., 2010). Hierdoor zou lisuride -gezien zijn geschikt farmacologisch profiel- een interessante ASM zijn voor verdere geneesmiddelenontwikkeling door middel van translationeel onderzoek.

Dergelijke strategieën, zoals hierboven beschreven voor LP352, lorcaserine en lisuride klinken veelbelovend, maar het is niet volledig uit te sluiten dat het multimodale effect van FA zorgt voor deze sterk anticonvulsieve werking, waardoor stoffen zoals lisuride die slechts op één of enkele mechanismen werken mogelijk niet dezelfde werkzaamheid zullen opleveren.

### Conclusie

Niet alleen translatie, maar ook back-translatie kan bijdragen tot het vinden van innovatieve ASM (Loscher, 2016). Zo kan er via translatie van bench to bed informatie worden

bekomen over de activiteit, nevenwerkingen, biomarkers en mechanisme(n) van een potentieel geneesmiddel. Via de back-translatie is er de mogelijkheid om het diermodel te valideren maar ook om verdere inzichten te verkrijgen over de pathogenese en behandeling van een bepaalde ziekte.

Als voorbeeld hebben we hier fenfluramine beschreven waarvan de effectiviteit in 2012 in een klein cohort epilepsiepatiënten werd beschreven en door middel van back-translatie werd gerecapituleerd in enkele zebravismodellen voor epilepsie (Sourbron et al., 2017, 2016). Vervolgens gebeurde een translatie waarbij in een pre-klinische setting nieuwe inzichten werden verkregen omtrent andere potentiële geneesmiddelen (lisuride, lorcaserine, LP352). Dit onderzoek droeg ook bij aan de exploratie van het multimodale mechanisme van FA wat niet alleen leidt tot een effectieve behandeling van (farmacoresistente) epilepsie maar waarschijnlijk ook van zijn comorbiditeiten (Cross et al., 2021).

### Referenties

- Cacabelos R (2017). Parkinson's Disease: From Pathogenesis to Pharmacogenomics. *Int. J. Mol.Sci.* 18. <https://doi.org/10.3390/ijms18030551>
- Ceulemans B, Boel M, Leyssens K, Van Rossem C, et al. (2012). Successful use of fenfluramine as an add-on treatment for Dravet syndrome. *Epilepsia*, 53(7):1131-9. doi: 10.1111/j.1528-1167.2012.03495.

- Cross JH, Galer BS, Gil-Nagel A, Agarwal A, et al. (2021). Impact of fenfluramine on the expected SUDEP mortality rates in patients with Dravet syndrome *Seizure* 93, 154–159. <https://doi.org/10.1016/j.seizure.2021.10.024>
- Elangbam CS (2010). Drug-induced Valvulopathy: An Update. *Toxicol. Pathol.* 38, 837–48. <https://doi.org/10.1177/0192623310378027>
- Hofmann C, Penner U, Dorow R, Pertz HH, et al. (2006) Lisuride, a dopamine receptor agonist with 5-HT<sub>2B</sub> receptor antagonist properties: absence of cardiac valvulopathy adverse drug reaction reports supports the concept of a crucial role for 5-HT<sub>2B</sub> receptor agonism in cardiac valvular fibrosis. *Clin Neuropharmacol.* 2006 Mar-Apr;29(2):80-6. doi: 10.1097/00002826-200603000-00005.
- Holmes GL (2021). Drug Treatment of Epilepsy Neuropsychiatric Comorbidities in Children *Paediatr. Drugs* 23, 55–73. <https://doi.org/10.1007/s40272-020-00428-w>
- Johannessen Landmark C, Potschka H, Auvin S, Wilmshurst JM, et al. (2021). The role of new medical treatments for the management of developmental and epileptic encephalopathies: Novel concepts and results. *Epilepsia* 62, 857–873. <https://doi.org/10.1111/epi.16849>
- Lagae L, Sullivan J, Knupp K, Laux L, et al. (2019). Fenfluramine hydrochloride for the treatment of seizures in Dravet syndrome: a randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *Lancet* 394, 2243–2254. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(19\)32500-0](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(19)32500-0)
- López González FJ, Osorio R, Gil-Nagel Rein A, Martínezc MC, et al. (2015). Drug-resistant epilepsy: Definition and treatment alternatives. *Neurología* 30, 439–446. <https://doi.org/10.1016/j.nrl.2014.04.012>
- Loscher W (2016). Fit for purpose application of currently existing animal models in the discovery of novel epilepsy therapies. *Epilepsy Res.* 126, 157–184. <https://doi.org/10.1016/j.epilepsyres.2016.05.016>
- Löscher W (2021). Single-Target Versus Multi-Target Drugs Versus Combinations of Drugs With Multiple Targets: Preclinical and Clinical Evidence for the Treatment or Prevention of Epilepsy. *Front. Pharmacol.* 12, 730257. <https://doi.org/10.3389/fphar.2021.730257>
- Martin P, Reeder T, Sourbron, de Witte PAM, et al. (2021). An Emerging Role for Sigma-1 Receptors in the Treatment of Developmental and Epileptic Encephalopathies. *Int. J. Mol. Sci.* <https://doi.org/10.3390/ijms22168416>
- Nabbout R, Mistry A, Zuberi S, et al. (2020). Fenfluramine for Treatment-Resistant Seizures in Patients With Dravet Syndrome Receiving Stiripentol-Inclusive Regimens. A Randomized Clinical Trial. *JAMA Neurol.* 77, 300–308. <https://doi.org/10.1001/jamaneurol.2019.4113>
- Obeso JA, Rothwell JC, Quinn NP, Lang AE, et al. (1983) Cortical reflex myoclonus responds to intravenous lisuride. *Clin. Neuropharmacol.* 6, 231–240. doi: 10.1097/00002826-198309000-00005.
- Partoens M, De Meulemeester AS, Giong HK, Pham DH, et al. (2021). Modeling Neurodevelopmental Disorders and Epilepsy Caused by Loss of Function of kif2a in Zebrafish. *eNeuro* 8. <https://doi.org/10.1523/ENEURO.0055-21.2021>
- Schoonjans AS, Lagae L, Ceulemans B, et al. (2015). Low-dose fenfluramine in the treatment of neurologic disorders: experience in Dravet syndrome. *Ther. Adv. Neurol. Disord.* <https://doi.org/10.1177/1756285615607726>
- Schubert J, Siekierska A, Langlois M, May P, et al. (2014). Mutations in STX1B, encoding a presynaptic protein, cause fever-associated epilepsy syndromes. *Nat. Genet.* 46, 1327–32. <https://doi.org/10.1038/ng.3130>
- Sourbron J (2017) PhD Thesis, KU Leuven.
- Sourbron J, Partoens M, Scheldeman C, Zhang Y, et al. (2019). Drug repurposing for Dravet syndrome in *scn1Lab-/-* mutant zebrafish. *Epilepsia* 60, e8–e13. <https://doi.org/10.1111/epi.14647>
- Sourbron J, Schneider H, Kecskés A, Liu Y, et al. (2016). Serotonergic Modulation as Effective Treatment for Dravet Syndrome in a Zebrafish Mutant Model. *ACS Chem. Neurosci.* 7. <https://doi.org/10.1021/acschemneuro.5b00342>
- Sourbron J, Smolders I, de Witte P, Lagae L, et al. (2017) Pharmacological Analysis of the Anti-epileptic Mechanisms of Fenfluramine in *scn1a* Mutant Zebrafish. *Front. Pharmacol.* 8. <https://doi.org/10.3389/fphar.2017.00191>
- Stewart AM, Braubach O, Spitsbergen J, Gerlai R, et al. (2014). Zebrafish models for translational neuroscience research: from tank to bedside. *trends Neurosci.* 37, 264–78. <https://doi.org/10.1016/j.tins.2014.02.011>



**Openjournals provides a professional OpenAccess publishing platform for scholarly, peer-reviewed journals.**

[www.epilepsiejournal.nl](http://www.epilepsiejournal.nl)





Een service die informatie over UCB activiteiten in epilepsie en de ziekte van Parkinson voor neurologen samenbrengt op een online platform.



### Connect

Kom in contact met UCB en uw collega's voor medische vragen en onderwerpen van de laatste wetenschappelijke bijeenkomsten.



### Learn

Leer meer over epilepsie en Parkinson en hoe producten van UCB een aantal van uw patiënten kunnen helpen.



### Inspire

Inspireer en wordt geïnspireerd door patiëntencasuïstiek en de laatste ontwikkelingen op het gebied van behandelingen en diagnostiek.

Meer informatie? Ga naar:

[www.ucbcaresforneurology.nl](http://www.ucbcaresforneurology.nl)



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

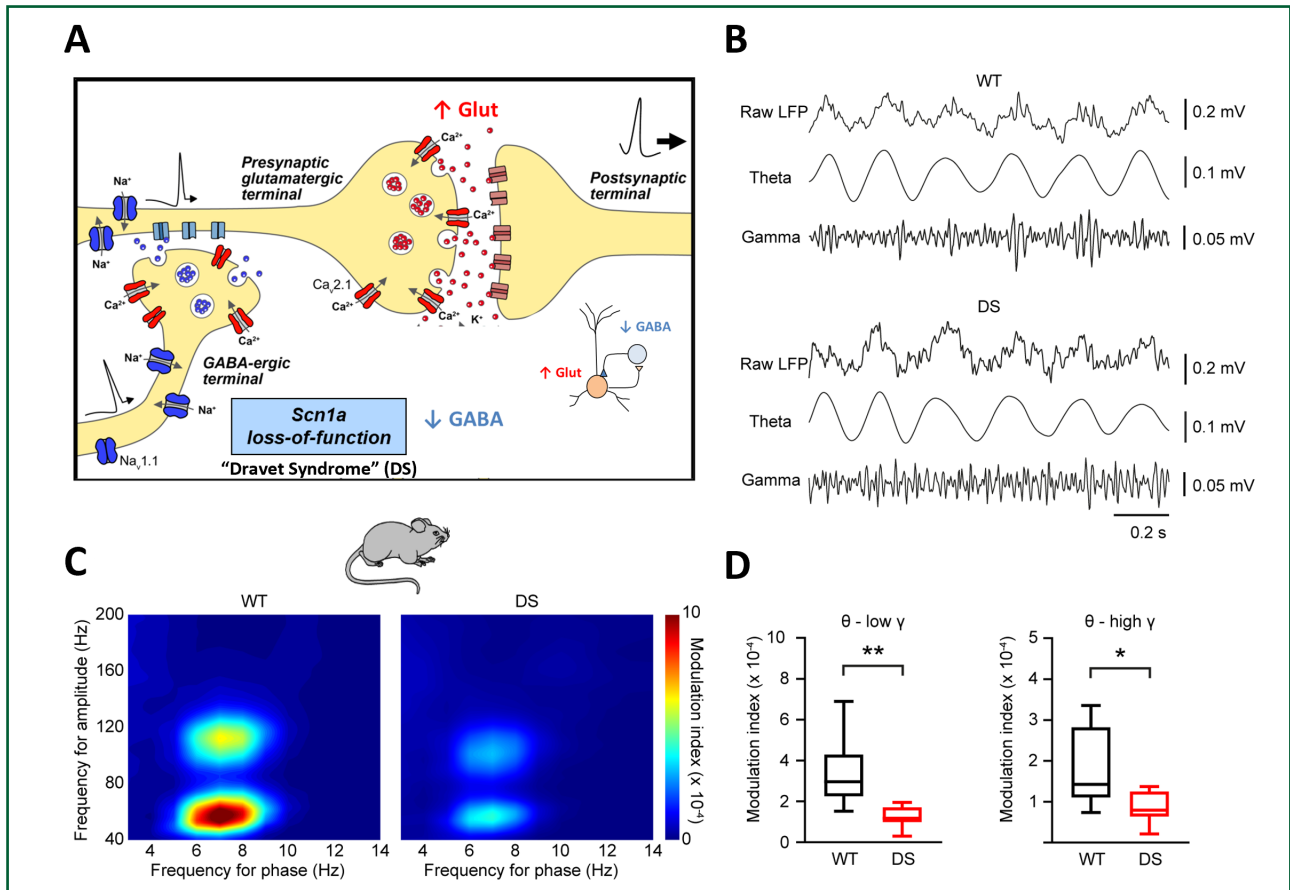
Eenderde van de patiënten blijft, ondanks medicatie, aanvallen houden. Dit percentage is nog hoger als er sprake is van temporaalkwabepilepsie. Langdurig falen van aanvalsbestrijding beperkt het dagelijks leven van mensen met epilepsie en draagt bij aan cognitieve achteruitgang. We weten dat aanvalsmedicatie 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<sub>v</sub>1.1 natriumkanal. DS-diermodellen tonen aan dat dergelijke mutaties leiden tot verminderde functie van remmende neuronen. Het gevolg is een verminderde afgifte van de remmende neurotransmitter GABA, waardoor exciterende neuronenvoortduren (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) muizen<sup>1</sup>. 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.

<sup>1</sup> 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).

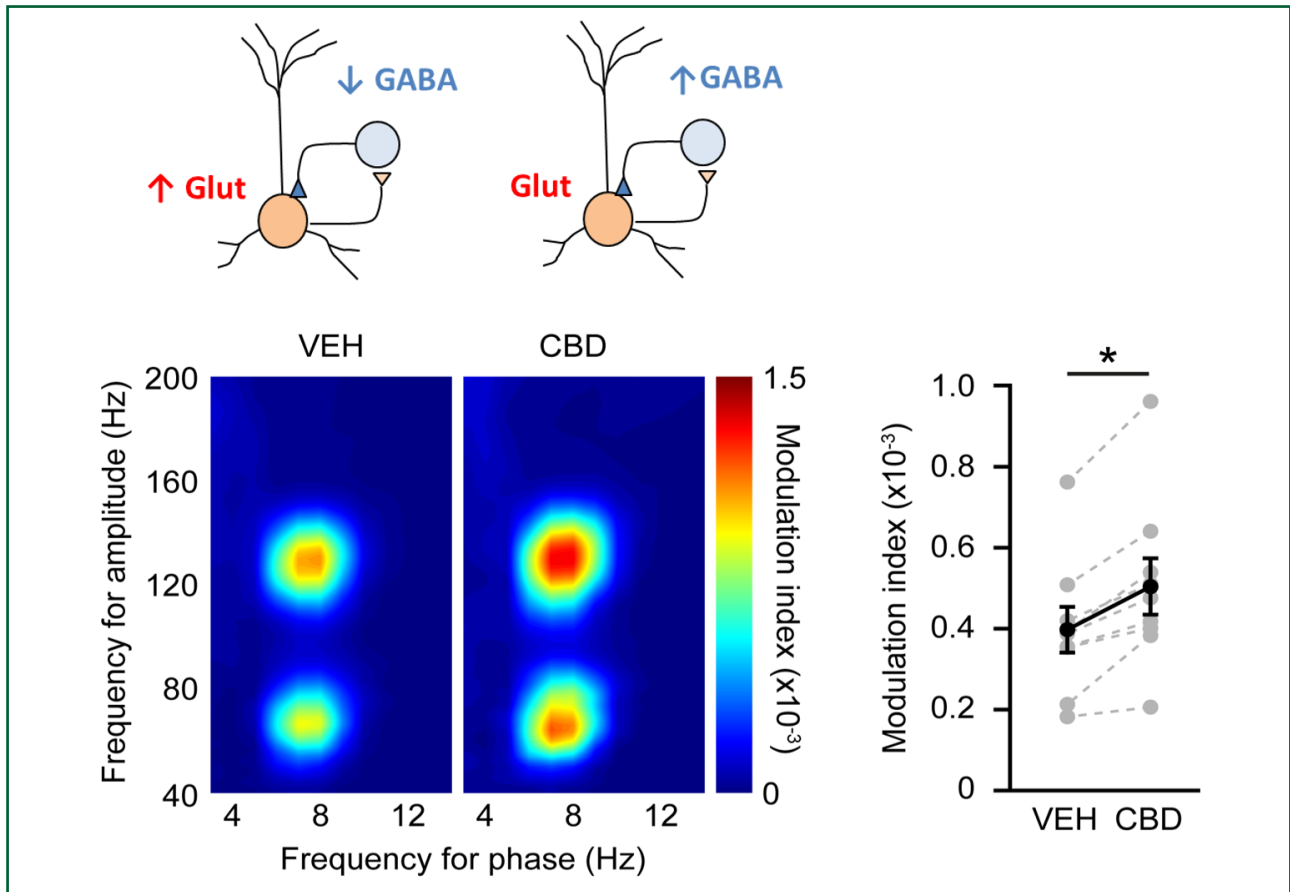


**Figuur 1. A.** Muismodellen voor DS met verlies van functie van Na<sub>v</sub>1.1 ionkanalen zoals het Scn1a knock-out (KO) model vertonen verminderde GABAerge activiteit, leidend tot versterkte glutamaterge transmissie en spontane epileptische aanvallen vanaf de vierde levensweek. **B.** Illustratie 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<sub>v</sub>1.1 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-aanvalsmiddele 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 aanvalsmiddele 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 aanvalsmiddele 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](http://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!



# 01 Epilepsie in Nederland

De prevalentie van (actieve) epilepsie in Nederland wordt geschat op **7,4/1000 personen**.<sup>1</sup>

Op een huidige bevolking van 17,8 miljoen\* betekent dit een totaal aantal van ongeveer

**130.000** personen met (actieve) epilepsie in Nederland.



Meer dan **60%** van deze mensen leven met **focale epilepsie**.<sup>2</sup>

\* CBS, september 2022

1. Wassenaar M, et al. *Epilepsy Res.* 2018;139:102-6.  
 2. Schmitz B, et al. *Epilepsia.* 2010;51(11):2231-2240.  
 3. Josephson CB, et al. *Epilepsia.* 2017;58(5):764 - 771.  
 4. Thurman DJ, et al. *Epilepsia.* 2017;58(1):17 - 26.  
 5. Beghi E. *Neuroepidemiology.* 2020;54(2):185-191.  
 6. Chen Z, et al. *JAMA Neurol.* 2018;75(3):279 - 286.

# 02 Ziekte last

Ongecontroleerde focale epilepsie heeft **een grote impact op het leven van alle patiënten**.<sup>3,4</sup>

In vergelijking met patiënten die geen aanvallen hebben, hebben patiënten met aanvallen:



Ondanks een vermindering van de ziekte last is epilepsie nog steeds een belangrijke **oorzaak van invaliditeit en mortaliteit**.<sup>5</sup>

\* Ten minste één aanval meegemaakt in de afgelopen vijf jaar in vergelijking met mensen die vijf jaar vrij van aanvallen waren.<sup>3</sup>

† Incidentieratio 9,3-13,4.<sup>4</sup>

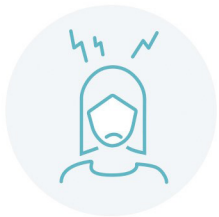
# 03 Aanvalsvrijheid



**1/3 van de patiënten** krijgt geen volledige controle over hun aanvallen.<sup>6</sup>



Bij de meer recent goedgekeurde AAM's<sup>\*</sup> (1994-2016), **bedraagt het percentage aanvalsvrijheid niet meer dan 6,5%.**<sup>7</sup>



Met elke onsuccesvolle behandeling **vermindert** de kans op aanvalsvrijheid<sup>¶</sup> **significant.**<sup>6</sup>

<sup>\*</sup> AAM: Anti-aanvalsmedicatie

<sup>¶</sup> Gedefinieerd als 12 maanden of langer vrij van aanvallen.<sup>6</sup>

6. Chen Z, et al. *JAMA Neurol.* 2018;75(3):279 – 286.

7. Krauss GL, et al. *Epilepsy Currents* 2020;20(2):85–87.

8. Birbeck GL, et al. *Epilepsia* 2002; 43(5):535-538.

9. Kwan P, et al. *Epilepsia.* 2010;51(6):1069 – 1077.

# 04 Eén doel

**Aanvalsvrijheid gedurende minstens 1 jaar** wordt systematisch in verband gebracht met een **significante verbetering van de levenskwaliteit van patiënten.**<sup>8</sup>

Voor een significante verbetering van de levenskwaliteit is aanvalsvrijheid noodzakelijk!

Voor patiënten die leven met epilepsie blijft het bereiken van aanvalsvrijheid de **ultieme doelstelling.**<sup>9</sup>

**Omdat we ons bewust zijn van het bestaan van een onvervulde medische behoefte bij epilepsie, willen wij, Angelini Pharma, onszelf als nieuwe partner introduceren bij de behandeling van epilepsie.**

# Samenhang tussen de ziekte van Alzheimer en epilepsie?

Verouderingsprocessen in de hersenen, zoals het verminderd opruimen van schadelijke eiwitten, kunnen een rol spelen bij het ontstaan en in stand houden van epilepsie en bij cognitieve achteruitgang. Epilepsie kan bijdragen tot het verergeren van ouderdomsziekten, zoals de ziekte van Alzheimer. Het begrijpen van de samenhang tussen epilepsie bij oudere mensen en de ziekte van Alzheimer kan helpen bij de bestrijding van zowel epilepsie als de versnelde achteruitgang bij Alzheimer<sup>1</sup>.

Epilepsie kan weliswaar op alle leeftijden voorkomen, maar komt het meest voor bij mensen boven de 60 jaar (Sen et al., 2020). Aangezien de wereldpopulatie steeds ouder wordt, zal het aantal ouderen met epilepsie de komende jaren verder toenemen. Veroudering gaat vaak gepaard met allerlei gezondheidsproblemen die de kans op epilepsie verhogen, zoals onder andere: hoge bloeddruk, diabetes, een hersentumor, een herseninfarct en dementie. Andersom, door epilepsie kan cognitieve achteruitgang worden versneld (Romoli et al., 2021). Het is dus van groot belang dat epilepsie vroegtijdig afgeremd of gestopt wordt om eventueel bijkomende neurologische stoornissen te voorkomen. Ondanks de beschikbaarheid en de mogelijke keuze uit een dertigtal verschillende medicijnen tegen epileptische aanvallen reageert toch een aanzienlijk deel (20 tot 30%) van ouderen met cognitieve aandoeningen en epilepsie, niet voldoende op deze vorm van therapie (Tallis et al., 2002; Rao et al., 2009). We weten nog niet voldoende af van de mechanismen die hierbij een rol spelen. Daarvoor is meer onderzoek nodig, waaronder onderzoek in ziekte-specifieke diermodellen, zodat we de kennis die we uit dit onderzoek vergaren naar de patiënt kunnen brengen, en vice versa, de kennis die we opdoen vanuit de patiënt naar het preklinisch onderzoek. Wij richten ons daarom in dit onderzoek op het onderzoeken van de mechanismen die kunnen leiden tot epilepsie bij veroudering, inclusief de ziekte van Alzheimer.

## Alzheimer en epilepsie

De ziekte van Alzheimer is een ziekte die wordt gekenmerkt door onder andere neurodegeneratie en cognitieve achteruitgang. Er bestaan diverse diermodellen voor de ziekte van Alzheimer en uit eerder onderzoek (met name in muizen) is gebleken dat de relatie tussen de ziekte en het

optreden van epileptische aanvallen veel sterker is dan oorspronkelijk verondersteld werd (Palop et al., 2007). Deze bevindingen zijn aanleiding geweest tot verdere epidemiologische studies bij mensen met de ziekte van Alzheimer en uit deze studies bleek ook dat zowel de populatie met een familiale vorm als de sporadische vorm van de ziekte van Alzheimer veel vaker epileptische aanvallen kreeg dan eerder werd verondersteld. De prevalentie van epilepsie is waarschijnlijk voorheen onderschat doordat niet-convulsieve aanvallen (vaak) niet werden herkend (Tallis et al., 2002). Bovendien treden er ook subklinische aanvallen op die alleen kunnen worden gedetecteerd met intracranieële EEG-elektrodes (Lam et al., 2017).

Naast de (sub)klinische aanvallen worden de epileptiforme ontladingen in verband gebracht met cognitieve problemen. Opvallend is een studie waarbij mensen met een milde vorm van de ziekte van Alzheimer, zonder een voorgeschiedenis van epileptische aanvallen, zijn onderzocht op epileptiforme activiteit door monitoring met behulp van zowel video-EEG als MEG. Bij meer dan 40% van de mensen met Alzheimer werd epileptiforme activiteit gevonden en deze groep ging op cognitief vlak sneller achteruit dan de groep zonder epileptiforme activiteit (Vossel et al., 2016).

## Ophoping van schadelijke eiwitten

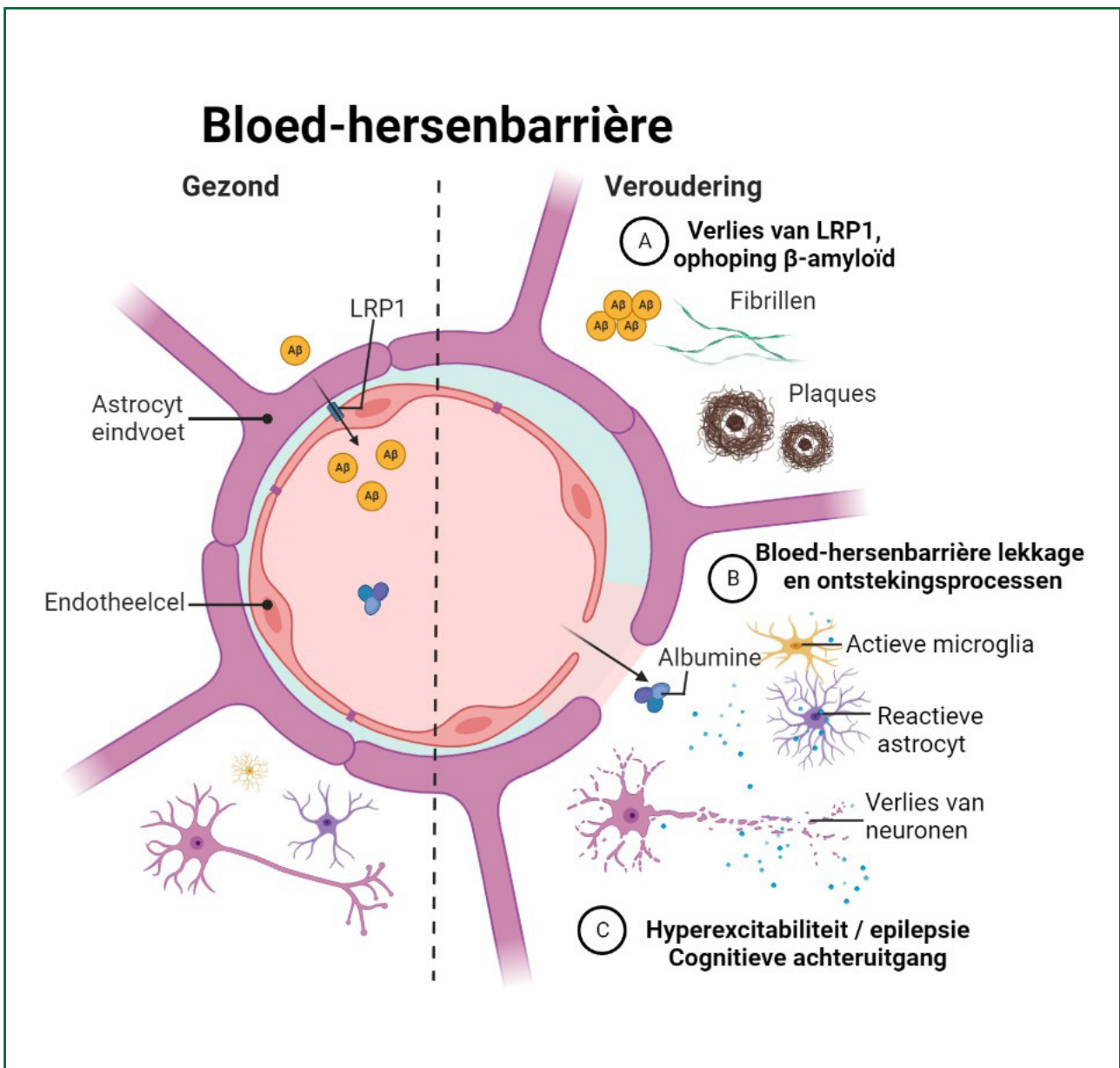
Het fysiologisch evenwicht (=homeostase) in de hersenen kan op oudere leeftijd worden verstoord door de ophoping van neurotoxische eiwitten. Bèta-amyloïd en tau zijn eiwitten die karakteristiek ophopen in de hersenen van mensen met de ziekte van Alzheimer. Een belangrijke, maar niet onomstreden hypothese omtrent het ontstaan van de ziekte van Alzheimer, is de zogenaamde amyloïd-cascade hypothese waarbij bèta-amyloïd eiwitten eerst

<sup>1</sup> Dit onderzoek wordt mede mogelijk gemaakt door EpilepsieNL (project 20-11).

fibrillen vormen die uiteindelijk samenklonteren tot plaques tussen de hersencellen. Een toename van het bèta-amyloïd eiwit wordt geassocieerd met de productie van ontstekingsiwitten waarvan bekend is dat die ook een rol spelen bij de verhoging van de prikkelbaarheid van naburige neuronale netwerken (Vezzani et al., 2011). Het feit dat verhoging van expressie van bèta-amyloïd (en tau) ook plaatsvindt bij mensen met temporaalkwabepilepsie en het feit dat de frontaal- en temporaalkwab bij zowel mensen met de ziekte van Alzheimer als bij mensen met temporaalkwabepilepsie aangetast is, samen met de cognitieve problemen die zich in beide ziektes voordoen, suggereert een samenloop van ziekteprocessen (Noebels, 2011).

### Verstoring van de bloed-hersenbarrière

De hersenen zijn beschermd tegen het binnendringen van schadelijke stoffen via de bloed-hersenbarrière. Ook speelt de bloed-hersenbarrière een belangrijke rol bij het afvoeren van schadelijke stoffen vanuit de hersenen naar de bloedbaan. De barrière wordt gevormd door nauw aansluitende endotheelcellen met daaromheen astrocyten, microgliale cellen en neuronen die samen de neurovasculaire eenheid worden genoemd (figuur 1). Een verstoord functioneren van deze eenheid kan ertoe leiden dat schadelijke stoffen die in de hersenen gevormd worden (zoals overtollig bèta-amyloïd en tau), niet normaal afgevoerd worden en zich ophopen tot plaques en tangles, zoals bij de ziekte van Alzheimer (Cockerill et al., 2018).



Figuur 1 De bloed-hersenbarrière, gevormd door endotheelcellen en eindvoetjes van astrocyten, verandert tijdens veroudering (onder andere door verlies van LRP1 op endotheelcellen, waardoor bèta-amyloïd kan ophopen in de hersenen, verminderde functie van de bloed-hersenbarrière, en ontstekingsprocessen) wat kan bijdragen aan verhoogde prikkelbaarheid van de hersenen (hyperexcitabiliteit), het ontstaan van epilepsie en cognitieve achteruitgang.

## Vermindering van LRP1 in bloedvaten

In endotheelcellen bevinden zich allerhande eiwitten (waaronder transporters en receptoren) die het fysiologisch evenwicht in de hersenen in stand houden. Een eiwit waar wij in onze onderzoeksgroep met name in geïnteresseerd zijn is LRP1 (=low-density lipoprotein receptor-related protein 1). Dit eiwit is een multifunctionele receptor die in diverse typen hersencellen aanwezig is, waaronder ook de endotheelcellen van bloedvaten in de hersenen.

Daar is het onder meer betrokken bij de regulatie van het transport van lipoproteïnen en cholesterol. Eerder onderzoek met muizen heeft aangetoond dat na het verlies van LRP1 in de cerebrale endotheelcellen de niveaus van de oplosbare variant van bèta-amyloïd verhoogd is in het hersenweefsel en de cognitie verslechterde (Storck et al., 2016). Onze hypothese is dat schadelijke stoffen (waaronder bèta-amyloïd) ophopen in het hersenweefsel waardoor ontstekingsreacties op gang kunnen komen. Uit eerder onderzoek blijkt dat deze ontstekingsreacties kunnen leiden tot lekkage van de bloed-hersenbarrière en verhoogde prikkelbaarheid van neuronale netwerken waardoor epilepsie en cognitieve achteruitgang kunnen ontstaan (van Vliet & Marchi, 2022). Of dit werkelijk een causaal verband heeft zal verder moeten worden onderzocht.

Aangespoord door bovenstaand onderzoek hebben wij ons meer verdiept in de rol van LRP1 bij zowel veroudering en de ziekte van Alzheimer als epilepsie. Indien dit eiwit een belangrijke rol blijkt te spelen bij de ontwikkeling van beide ziektes, kan dit een nieuw doelwit zijn voor behandeling.

## Van dier naar mens en vice versa

Om de hoeveelheid van het LRP1 eiwit in de hersenen bij epilepsie te bestuderen, hebben we immunocytochemische methodes gebruikt en onderzocht wat er met de hoeveelheid LRP1 gebeurt in diverse celtypen, waaronder de endotheelcellen van bloedvaten van de rat. Voor dit onderzoek hebben we gebruikt gemaakt van een diermodel voor temporaalkwabepilepsie. Op diverse tijdstippen tijdens de ontwikkeling van epilepsie hebben we de expressie van LRP1 in de hippocampus onderzocht. Dit hebben we vergeleken met de expressie van LRP1 in de geresecteerde hippocampus van mensen met temporaalkwabepilepsie en in de hippocampus van mensen met de ziekte van Alzheimer of van mensen die zijn overleden na een status epilepticus.

In hersenweefsel van het diermodel voor temporaalkwabepilepsie vonden we dat LRP1 zowel tijdens de vroege als de chronische fase (wanneer spontane epileptische aanvallen optreden) verminderd tot expressie kwam in bloedvaten ten opzichte van controledieren (ongepubliceerde

data). Ook vonden we dat de expressie van LRP1 in bloedvaten is afgenomen in de hippocampus van mensen met temporaalkwabepilepsie, de ziekte van Alzheimer en na een status epilepticus ten opzichte van autopsie controle-materiaal (ongepubliceerde data). De resultaten die we verkregen uit het diermodel lijken dus erg op wat we in het humane brein vonden bij epilepsie, de ziekte van Alzheimer en na een status epilepticus.

We zijn op het moment van dit schrijven bezig om te onderzoeken of het verlies van LRP1 in de bloed-hersenbarrière van een mutante muis op latere leeftijd zal leiden tot het ontwikkelen van epilepsie. Met behulp van video-EEG opnames zal onderzocht worden wat het effect is van het uitschakelen van LRP1 in de cerebrale endotheelcellen van transgene muizen die bèta-amyloïd eiwit tot overexpressie brengen, de zogenaamde 5xFAD muis, een diermodel voor Familiële Alzheimer's disease (FAD). Daarnaast wordt onderzocht of de epilepsie in verband staat met cognitieve achteruitgang, zoals wordt gezien in het klinische beeld. Aan het eind van het experiment wordt het brein onderzocht om de neuropathologie en mogelijke ontstekingsprocessen in kaart te brengen.

## Conclusie

Ophoping van ouderdomseiwitten zoals bèta-amyloïd en het verlies van LRP1 in de bloedvaten van de hersenen kunnen mogelijk bijdragen aan een verstoorde homeostase en verhoogde prikkelbaarheid. Of het verlies van LRP1 op latere leeftijd zal leiden tot epileptische aanvallen en cognitieve achteruitgang wordt momenteel onderzocht.

## Referenties

- Cockerill I, Oliver JA, Xu H, Fu BM, et al. (2018). 'Blood-Brain Barrier Integrity and Clearance of Amyloid-beta from the BBB', *Adv Exp Med Biol*, 1097: 261-78.
- Lam AD, Deck G, Goldman A, Eskandar EN, et al. (2017). 'Silent hippocampal seizures and spikes identified by foramen ovale electrodes in Alzheimer's disease', *Nat Med*, 23: 678-80.
- Noebels J. (2011). 'A perfect storm: Converging paths of epilepsy and Alzheimer's dementia intersect in the hippocampal formation', *Epilepsia*, 52 Suppl 1: 39-46.
- Palop JJ, Chin J, Roberson ED, Wang J, et al. (2007). 'Aberrant excitatory neuronal activity and compensatory remodeling of inhibitory hippocampal circuits in mouse models of Alzheimer's disease', *Neuron*, 55: 697-711.
- Rao SC, Dove G, Cascino GD, Petersen RC (2009). 'Recurrent seizures in patients with dementia: frequency, seizure types, and treatment outcome', *Epilepsy Behav*, 14: 118-20.
- Romoli M, Sen A, Parnetti L, Calabresi P (2021).

'Amyloid-beta: a potential link between epilepsy and cognitive decline', *Nat Rev Neurol*, 17: 469-85.

Sen A, Jette N, Husain M, Sander JW (2020).

'Epilepsy in older people', *Lancet*, 395: 735-48.

Storck SE, Meister S, Nahrath J, Meissner JN, et al. (2016).

'Endothelial LRP1 transports amyloid-beta(1-42) across the blood-brain barrier', *J Clin Invest*, 126: 123-36.

Tallis R, Boon P, Perucca E, Stephen L (2002). 'Epilepsy in elderly people: management issues', *Epileptic Disord*,

4 Suppl 2: S33-9.

van Vliet EA, Marchi N (2022). 'Neurovascular unit dysfunction as a mechanism of seizures and epilepsy during aging', *Epilepsia*, 63: 1297-313.

Vezzani A, French J, Bartfai T, Baram TZ (2011).

'The role of inflammation in epilepsy', *Nat Rev Neurol*, 7: 31-40.

Vossel KA, Ranasinghe KG, Beagle AJ, Mizuiri D, et al.

(2016). 'Incidence and impact of subclinical epileptiform activity in Alzheimer's disease',

*Ann Neurol*, 80: 858-70.

Door: Bobby Koeleman (b.p.c.koeleman@umcutrecht.nl) en Eva Brilstra, Genetica, Divisie Lab, UMC Utrecht Hersencentrum, Universitair Medische Centrum, Utrecht.

# Genetische therapie voor epilepsie

Naarmate van steeds meer ziektebeelden de genetische achtergrond bekend wordt, ontstaat de mogelijkheid om gerichte behandeling te geven, niet alleen afgestemd op de persoon, maar ook gericht op het onderliggende moleculaire proces. In deze bijdrage staan we stil bij *precision medicine* bij epilepsie, dat op drie niveaus kan plaatsvinden.

Genetische therapie is in opkomst en wordt door vele wetenschappers gezien als de oplossing voor genetische aandoeningen die niet of slecht reageren op de huidige en traditionele (*drug*) therapie. Ook voor epilepsie komt genetische therapie dichterbij. In deze bijdrage geven wij een overzicht van de toepassingen van genetische therapie bij epilepsie, waarvan een aantal in de preklinische fase, maar ook een aantal in de klinische trial fase zijn opgenomen. Genetische therapie is bij de monogenetische, ernstige vormen van epilepsie van toepassing, en gericht op correctie of modulatie van het genetische defect. In figuur 1 is weergegeven dat therapie gericht kan zijn op de drie niveaus van gen naar functioneel eiwit (Weuring et al., 2021).

## Farmacologische interventie op eiwitniveau

Het eerste en huidige niveau van behandeling is farmacologische interventie gericht op het eiwitniveau met behulp van drugs en organische verbindingen. In de afgelopen decennia zijn vele nieuwe anti-epileptica ontwikkeld, maar ondanks de exponentiele toename heeft het niet geleid tot een significant betere *drug response* (Brodie, 2017). Uitzonderingen zoals fenfluramide bij Dravet syndroom bestaan en zullen in de toekomst een zorgvuldige afweging noodzakelijk maken tussen enerzijds farmacologische

behandeling en een mogelijke eenmalige curatieve genetische therapie, waarbij vooral het voorkomen van bijwerkingen van beide behandelingen tegen elkaar afgezet moeten worden.

## Het functionele effect van mutaties

Bij genetische therapie van monogenetische epilepsie is het belangrijk om onderscheid te maken tussen de twee soorten mutaties die de strategie bepalen. Ten eerste zijn er mutaties die als effect een 'verhoogde functie' (*gain of function* GoF) hebben, of een toxisch product veroorzaken. Een voorbeeld is SCN8A epileptische encefalopathie, waarbij de heterozygote missense mutaties leiden tot de productie van een abnormaal actief ionkanaal, dat neuronale hyperactiviteit veroorzaakt. Een behandeling moet in dit geval gericht zijn op inhibitie van het abnormale ionkanaal, zonder verstoring van het normale ionkanaal dat gecodeerd wordt door het normale SCN8A gen kopie. Ten tweede zijn er 'verlies van functie' mutaties (*Loss of Function* LoF), waarbij de mutatie leidt tot een dis- of non-functioneel eiwit, en haplo-insufficiëntie: een 50% reductie van normaal functioneel eiwit. De therapie is hier dan ook gericht op het verhogen van expressie of activiteit van het normale eiwit. Voorbeelden van deze twee strategieën worden hieronder verder besproken

voor RNA- en genterapie, die in ontwikkeling zijn voor epilepsie.

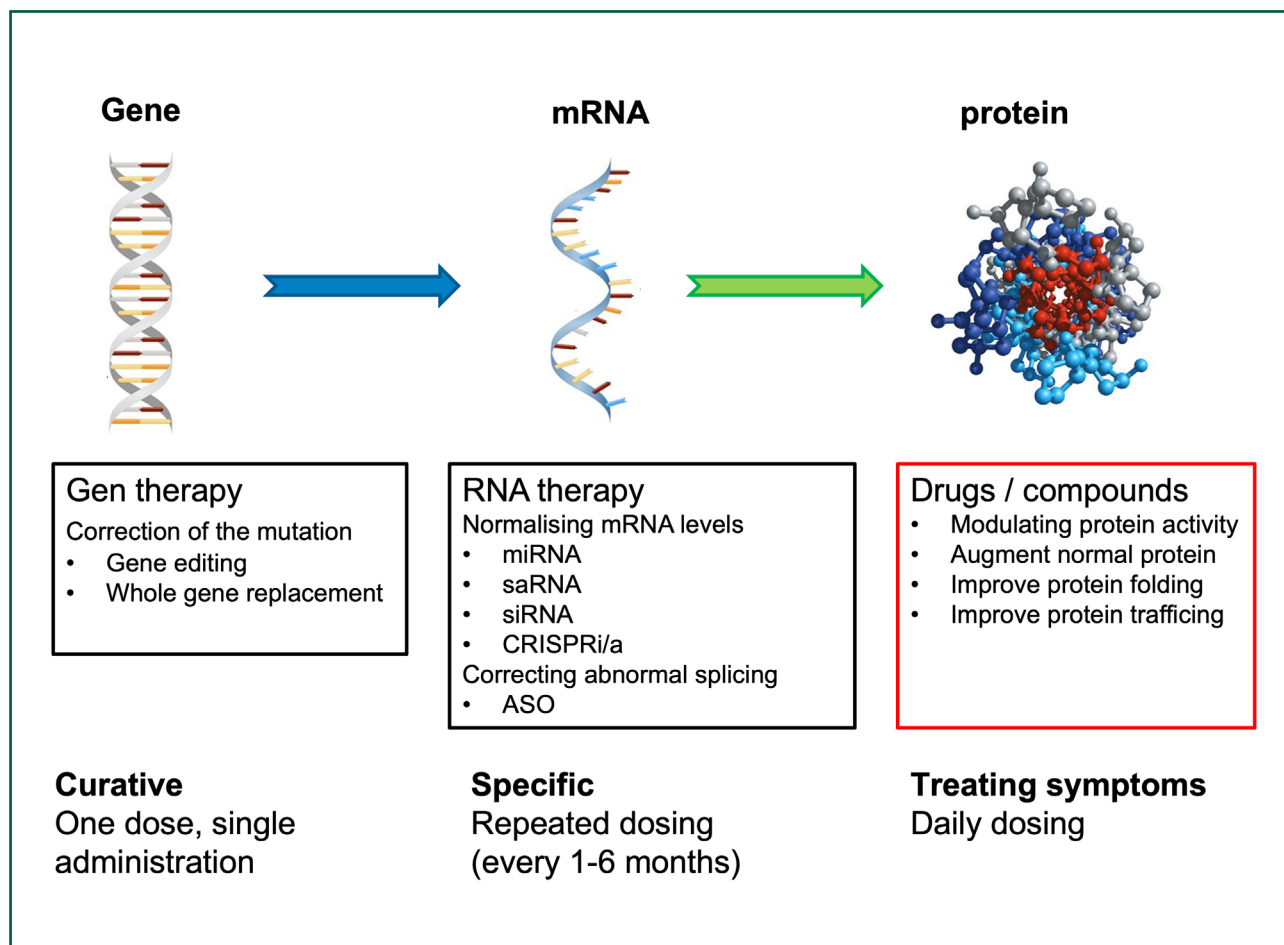
### RNA-therapie

Het tweede niveau van behandeling is een genetische therapie waarbij de behandeling gericht is op het mRNA dat codeert voor het eiwit. RNA-therapie kan zich specifiek richten op het mRNA geproduceerd door het ziektegen, specifiek een toxisch of disfunctioneel mRNA inhiberen, of in het geval van een verlies van functie mutaties, de expressie of translatie van het normale mRNA verhogen. De meeste therapeutische RNAs werken via de RNA interference (RNAi) pathway en verlagen de genexpressie door interactie met het (pre-)mRNA. De binding van een small interfering RNA (siRNA) of micro-RNA (miRNA) aan het (pre-)mRNA resulteert in een verhoogde degradatie van het mRNA.

Inhibitie van het mRNA door si- of miRNA is voor epilepsie van toepassing voor de GoF mutaties. Deze vorm van therapie is in ontwikkeling voor SCN2A en SCN8A epileptische encefalopathie in de vorm van allel-specifieke antisense oligonucleotides (ASO) (LI et al., 2021; Lenk et al, 2020). Voor zowel SCN2A als SCN8A is het preklinisch werk verricht met ASO's, die zowel het wildtype mRNA als het

mRNA met de mutatie kunnen binden. Het is belangrijk om in de toekomst ASO's te ontwerpen die specifiek en uitsluitend het mRNA met de mutatie inhiberen. Voor klinische toepassing zou dat betekenen dat voor iedere mutatie een nieuwe ASO ontworpen, getest en goedgekeurd moet worden. Om dit nadeel te omzeilen kunnen ASO's zodanig ontworpen worden dat ze binden aan een deel van het mRNA waar frequente en neutrale coderend polymorfisme gelokaliseerd zijn. Het mRNA van een persoon die heterozygoot is voor deze variatie zal twee vormen van mRNA hebben: een vorm met het wildtype allel en een vorm met het alternatieve allel. Twee ASO's kunnen nu ontworpen worden die met hoge specificiteit binden aan een van de twee allelen. Voor de behandeling van de patiënt zal vervolgens bepaald moeten worden op welke van de twee allelen de mutatie zich bevindt. Met het juiste allel-specifieke ASO kan nu specifiek het abnormale mRNA geïnhibeerd worden. Het moge duidelijk zijn dat door dit ontwerp de twee ASO's gebruikt kunnen worden voor alle verschillende mutaties, maar uitsluitend als de patiënt heterozygoot is voor het polymorfisme waarop de ASO ontworpen is (Hill et al., 2021).

Voor de genen met LoF mutaties is RNA-inhibitie niet van toepassing. In die gevallen is het soms mogelijk om het



Figuur 1 Definitie van therapie niveau. De drie niveaus waarop behandeling van epilepsie mogelijk is: op DNA-, RNA-, en eiwitniveau.

gen dat codeert voor een inhibitor van het doelgen te inhiberen ('inhibitie van de inhibitor'). Zo zijn er studies gedaan naar inhibitie van RACK1 en MHD2, die de SCN1A expressie verlagen (Dong et al., 2014; Chen et al, 2017). Een verrassende toepassing is de inhibitie van SCN8A in ziektemodellen van het Dravet syndroom. Bij Dravet syndroom is de aanname dat het verlies van functie van SCN1A leidt tot een te lage neuronale inhibitie, welke gecompenseerd kan worden door inhibitie van neuronale activatie via SCN8A (Lenk, 2020; Weuring et al, 2020).

Verhoging van mRNA levels voor LoF mutaties is ook mogelijk door het inhiberen van foutieve splicing van het pre-mRNA. Deze aanpak is in vergevorderd stadium gebracht door STOKE therapeutics (<https://www.stoketherapeutics.com/>). Het principe van deze RNA-behandeling is gebaseerd op het natuurlijk voorkomen van mRNA producten die foutief gespliced zijn. Hierdoor kan een abnormale sequentie als exon geïncorporeerd worden, zoals bij SCN1A bekend is (Wengert et al., 2022; Liang et al, 2021). Een mutatie kan ook de normale splicing beïnvloeden, waardoor 50% van het mRNA foutief is. In beide gevallen leidt foutieve pre-mRNA splicing in de meeste gevallen tot afbraak van het abnormale mRNA, een verminderde beschikbaarheid van normaal mRNA en een verlaging van translatie van het eiwit. Abnormale splicing kan voorkomen worden door de binding van een ASO aan de specifieke splicing sequenties, waardoor een normale, correcte splicing wordt geïnduceerd. STOKE therapeutics heeft deze aanpak in een vergevorderd stadium voor SCN1A ontwikkeld in de vorm van STK-001 die in klinische fase 1/2a is in de Monarch en Admiral studies ([www.Monarchstudy.com](http://www.Monarchstudy.com)).

Synthetische long-noncoding RNAs (SINEUP) zijn ook ontwikkeld met als doel de mRNA functionaliteit te verhogen. SINEUP zijn antisense long noncoding RNAs die aan de 5' untranslated regio van mRNA binden, waardoor het mRNA gestabiliseerd wordt en minder wordt afgebroken. Op deze manier wordt op post-transcriptie niveau de hoeveelheid mRNA verhoogd dat beschikbaar is voor translatie, wat leidt tot een hogere eiwit expressie. SINEUP is in ontwikkeling door Transine Therapeutics om STXBP1 encefalopathie te behandelen ([Aesnet.org/abstractslisting/sineups--a-novel-therapeutic-strategy-for-stxbp1-encephalopathy-based-on-non-coding-rna--preliminary-in-vitro-studies](https://aesnet.org/abstractslisting/sineups--a-novel-therapeutic-strategy-for-stxbp1-encephalopathy-based-on-non-coding-rna--preliminary-in-vitro-studies)).

Tenslotte is een CRISPR-toepassing relevant voor LoF mutaties zoals bij het Dravet syndroom: CRISPRa. Bij deze vorm wordt gebruik gemaakt van een gemuteerd Cas9 eiwit dat het genomische DNA niet meer kan knippen. Dit dead Cas9 (dCas9) wordt gekoppeld aan trans-

criptiefactoren en een guide RNA dat het gericht maakt voor activatie van een doelgen. Binding van het dCas9-transcriptie factor complex kan de expressie van het doelgen specifiek en op genomisch niveau verhogen. Deze aanpak is getest in een muismodel van Dravet syndroom (Colasante et al, 2020; Yamagata et al, 2020). De behandeling bleek effectief, maar met een laag effect. Deze studie laat zien dat verhoging van SCN1A expressie mogelijk is, maar voor behandeling in mensen zal mogelijke toxiciteit en immunogeniciteit van herhaaldelijke toediening van bacteriële dCas9 eiwitten verder bestudeerd moeten worden (Weuring et al., 2021).

Dit laatste aspect is het grootste nadeel van iedere RNA-therapie. Het effect van therapeutische RNAs is tijdelijk, en om een langdurig effect te krijgen zal de administratie (in de meeste gevallen door intrathecale injectie) iedere paar maanden herhaald moeten worden. Een voordeel hiervan is dat de behandeling reversibel en te doseren is.

### Genetische therapie

Genetische therapie waarbij de mutatie wordt gecorrigeerd, of een functioneel transgen wordt geïntegreerd in het genoom, heeft de mogelijkheid om volledig curatief te zijn na een enkele behandeling. Deze belofte heeft bijgedragen aan de exponentiele toename aan studies en bedrijven die gericht zijn op de ontwikkeling van genetische therapie. Introductie van een transgen (*gene replacement*) is gericht op het compenseren van een tekort aan genproduct door de introductie van een extra genkopie; het transgen. Het doel is om dit transgen in het genoom van de patiënt te integreren, waarvoor in de meeste gevallen een adeno-associated virus (AAV) wordt gebruikt. Het transgen staat onder controle van een eigen promotor waardoor enige controle op het niveau van expressie wordt verkregen. Veel onderzoek wordt gedaan naar cel-specifieke promotoren, waardoor alleen expressie van het transgen in het juiste celtype kan worden verkregen.

Correctie van de mutatie door *gene editing* is een van de meest veelbelovende CRISPR-technieken (Tanenhaus, 2022). De eerste CRISPR-technieken maken gebruik van een Cas9 eiwit dat dubbelstrengs DNA knipt. Bij *gene editing* wordt gebruik gemaakt van een recent ontwikkeld Cas9 eiwit die het DNA *nicked*, een basepair uit een van de twee DNA-strands knipt, die vervolgens door de eigen DNA-correctie machinerie gerepareerd wordt met behulp van een *template* of voorbeeld RNA. Met deze techniek kan in theorie iedere base in het genoom veranderd worden en kunnen heterozygote mutaties gecorrigeerd worden.

Voor epilepsie zijn de belangrijkste vormen van genetische



therapie gericht op het inbrengen van een artificieel ontworpen, functioneel gen. De belangrijkste ontwikkeling is die van Encoded Therapeutics (Inc.), die gebruik maakt van AAV virale toediening (Doudna, 2020). Omdat het SCN1A-gen te groot is voor de standaard AAV virale toediening heeft Encoded een artificieel transcriptie factor gemaakt, die specifiek aan de promotor van SCN1A bindt en daardoor de mRNA expressie van SCN1A verhoogt. De expressie van het transgen staat onder controle van een GABAergic neuron selectieve regulator, waardoor alleen expressie in het juiste celtype, de GABAergic neuronen wordt verkregen.

De eerste toepassingen van *gene editing* in de mens zijn een feit. Voor epilepsie zijn we nog in het preklinische stadium. In onze groep hebben we *gene editing* in non-neurale en stamcel cellijnen ontwikkeld voor KCNQ2 en

SCN1A encefalopathie (Wout et al., 2022). Het grootste obstakel van deze toepassing is, net zoals bij de CRISPRa experimenten in de muis, de lage efficiëntie van het inbrengen van de CRISPR-machinerie. Ons onderzoek richt zich dan ook voor een deel op het verhogen van de efficiëntie van dit proces. Op dit moment is een herhaalde toediening van de *gene editing* machinerie noodzakelijk om in voldoende cellen een succesvolle mutatie correctie te verkrijgen. *Gene editing* in de mens lijkt daardoor vooralsnog voorbehouden aan ex-vivo applicaties, waarbij cellen waarin de mutatie succesvol is gecorrigeerd, na een selectie weer terug in de patiënt getransplanteerd worden.

### Discussie en conclusies

Ondanks alle limitatie en huidige technologische beperkingen verwachten wij dat gen- en RNA-therapie in de toekomst een belangrijke rol gaat spelen in de behande-



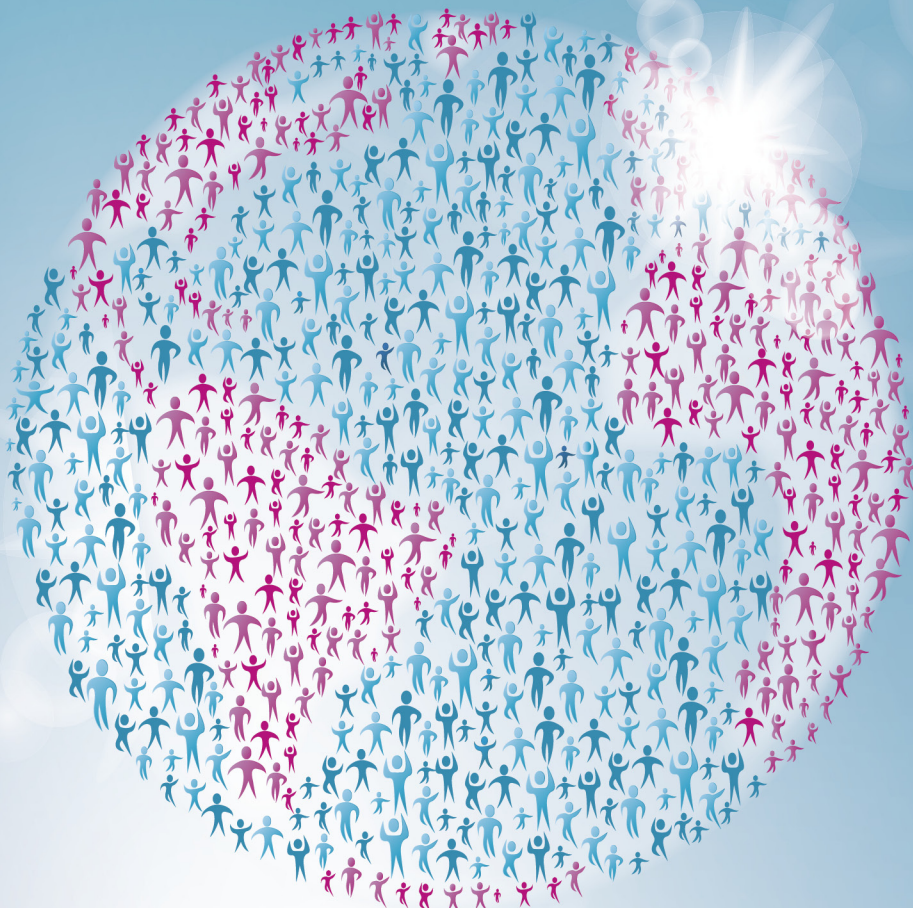
'Epilepsie, periodiek voor professionals' is het vakblad van De Nederlandse Liga tegen Epilepsie. 'Epilepsie' verschijnt vier maal per jaar via open access op website: [www.epilepsiejournal.nl](http://www.epilepsiejournal.nl).

Naast publicatie op de website, wordt per uitgave de 'Epilepsie' nieuwsbrief verstuurd.

Op de hoogte blijven van de nieuwste publicaties van 'Epilepsie, periodiek voor professionals'?

[Meld u dan nu aan voor de nieuwsbrief!](#)

# SAMEN STRIJDEN WE TEGEN EPILEPSIE



Eisai zet zich in voor het ontwikkelen en beschikbaar maken van (nieuwe) medicamenteuze behandelingen. Dit om het leven van mensen met epilepsie en hun familie te verbeteren. Hiermee geeft Eisai invulling aan haar Human Health Care missie, de betrokkenheid van het bedrijf om innovatieve oplossingen te bieden op het gebied van ziekte, preventie, genezing, de zorg voor gezondheid en het welzijn van mensen wereldwijd.

>80

jaar maken we onze medicijnen beschikbaar voor mensen die het nodig hebben!



69 klinische studies in epilepsie\*<sup>2</sup>

>10k werknemers wereldwijd!



5 verschillende aanvalstypes zijn bestudeerd\*<sup>2</sup>

15 locaties voor R&D en geneesmiddelenonderzoek wereldwijd!



2 anti-epileptica op de Nederlandse markt<sup>3,4</sup>

\*Interventionele, door Eisai mogelijk gemaakte studies, inclusief die naar indicaties waarvoor geen registratie is verleend, nog niet zijn voltooid of zijn afgerond. Omvat focaal beginnende aanvallen, secundair gegeneraliseerde aanvallen, primair gegeneraliseerde tonisch-clonische aanvallen, refractaire aanvallen en Lennox-Gastaut-syndroom.

**Referenties**

1. Eisai Global. Eisai at a glance [www.eisai.com/company/glance/index.html](http://www.eisai.com/company/glance/index.html) (geraadpleegd oktober 2022).
2. ClinicalTrials.gov (geraadpleegd oktober 2022).
3. Inovelon SmPC mei 2021.
4. Fycompa SmPC augustus 2022.



ling van ernstige monogenetische epilepsiesyndromen. Voor de implementatie van deze therapieën zijn kennis over het natuurlijk verloop, vroege en accurate genetische diagnostiek, een zorgvuldige regulering en het waarborgen van de veiligheid essentieel. De potentie voor epilepsie is enorm. De huidige ontwikkelingen zijn gericht op een klein aantal van de belangrijkste epilepsiegenen, maar er zijn honderden verschillende epilepsiegenen waarvoor eenzelfde toepassing mogelijk is. Het wachten is dan ook op een succesvolle applicatie en formulering van een gen- of RNA-therapie. Het is daarna mogelijk om met een kleine aanpassing, zoals aanpassing van de RNA-sequentie van een ASO, of de guide RNA voor CRISPR-technieken, de succesvolle therapie geschikt te maken voor een ander epilepsiegen. Hierdoor kan het tijdrovende en kostbare preklinische traject significant verkort worden en zal het mogelijk worden om echte precisetherapie, ontworpen voor de individuele patiënt toe te passen in de kliniek. De toediening van de therapie, via virale-, liposomale-, of andere nanopartikelen, is ook generiek te gebruiken voor verschillende doelgenen. Het NWA-project Nanospreso-NL (<https://www.nwo.nl/onderzoeksprogrammas/nationale-wetenschapsagenda/onderzoek-op-routes-door-consortia-orc/toekenningen/2020/21>) is een goed voorbeeld van deze aanpak. Het project wil een lokale academische productielijn van liposomale DNA- en RNA-geneesmiddelen maken met een gestandaardiseerde machine in de ziekenhuisapotheek. Hierdoor wordt de bereiding van direct klinisch toepasbare genetische therapie mogelijk in het ziekenhuis, als het ware naast het bed van de patiënt. Zo zien wij de veelbelovende toekomst voor snelle en goedkope ontwikkeling van gerichte genetische therapie.

## Referenties

- Brodie MJ (2017) Outcomes in newly diagnosed epilepsy in adolescents and adults: Insights across a generation in Scotland. *Seizure*;44:206-210.
- Colasante G, Lignani G, et al. (2020): dCas9-Based Scn1a Gene Activation Restores Inhibitory Interneuron Excitability and Attenuates Seizures in Dravet Syndrome Mice. *Mol Ther*. Jan 8;28(1):235-253.
- Chen YH, Liu SJ, Gao MM, Zeng T, et al. (2017) MDH2 is an RNA binding protein involved in downregulation of sodium channel Scn1a expression under seizure condition. *Biochim. Biophys. Acta-Mol. Basis Dis*.1863, 1492-1499.
- Dong ZF, Tang LJ, Deng GF, Zeng T, et al. (2014) Transcription of the human sodium channel SCN1A gene is repressed by a scaffolding protein RACK1. *Mol. Neurobiol*. 50, 438-448.
- Doudna JA (2020) The promise and challenge of therapeutic genome editing. *Nature*. Feb;578(7794):229-236.
- Hill SF, Meisler MH (2021) Antisense Oligonucleotide Therapy for Neurodevelopmental Disorders. *Dev Neurosci*. 43(3-4):247-252.
- Lenk GM, Jafar-Nejad P, et al. (2020). Scn8a Antisense Oligonucleotide Is Protective in Mouse Models of SCN8A Encephalopathy and Dravet Syndrome. *Ann Neurol*. Mar;87(3):339-346.
- Li M, Jancovski N, Jafar-Nejad P, et al. (2021): Antisense oligonucleotide therapy reduces seizures and extends life span in an SCN2A gain-of-function epilepsy model. *Clin Invest*. Dec 1;131(23).
- Liang L, Fazel Darbandi S, et al. (2021): Developmental dynamics of voltage-gated sodium channel isoform expression in the human and mouse brain. *Genome Med*. Aug 23;13(1):135.
- Tanenhuis A, Stowe T, et al. (2022): Cell-Selective Adeno-Associated Virus-Mediated SCN1A Gene Regulation Therapy Rescues Mortality and Seizure Phenotypes in a Dravet Syndrome Mouse Model and Is Well Tolerated in Nonhuman Primates. *Hum Gene Ther*. Jun;33(11-12): 579-597.
- Wengert ER, Wagley PK, et al. (2022): Targeted Augmentation of Nuclear Gene Output (TANGO) of Scn1a rescues parvalbumin interneuron excitability and reduces seizures in a mouse model of Dravet Syndrome. *Brain Res*. Jan 15;1775.
- Wearing WJ, Singh S, et al. (2020): NaV1.1 and NaV1.6 selective compounds reduce the behavior phenotype and epileptiform activity in a novel zebrafish model for Dravet Syndrome. *PLoS One*;15(3):e0219106.
- Wearing WJ, Dilevska I, et al. (2021a): CRISPRa-Mediated Upregulation of scn1laa During Early Development Causes Epileptiform Activity and dCas9-Associated Toxicity. *CRISPR J*. Aug;4(4):575-582.
- Wout J, Wearing WJ, Dirks N, et al (2022): Efficient and accurate prime editing strategy to correct genetic alterations in hiPSC using single EF-1alpha driven all-in-one plasmids Biorxiv doi: <https://doi.org/10.1101/2022.05.04.490422>
- Yamagata T, Raveau M, et al. (2020): CRISPR/dCas9-based Scn1a gene activation in inhibitory neurons ameliorates epileptic and behavioral phenotypes of Dravet syndrome model mice. *Neurobiol Dis*. Jul;141:104954.



# Behandelopties bij complexe epilepsie

E-learning voor (kinder) neurologen, kinderartsen, AVG en  
verpleegkundig specialisten  
*Geaccrediteerd met 2 punten door de NVN en VSR*

De Stichting Epilepsie Onderwijs Nederland heeft een e-learning ontwikkeld om meer inzicht te geven in complexe epilepsie in de tweede lijn en hoe therapieresistente epilepsie effectief behandeld kan worden.

De e-learning bestaat uit meerdere modules over verschillende niet-medicamenteuze behandelopties. Hier willen we een goed en betrouwbaar beeld geven wanneer een specifieke behandeling dient te worden overwogen en wie daarvoor in aanmerking komen.

In elke module staat de vraag centraal wat u als behandelaar moet weten om uw patiënt goed voor te lichten over de specifieke behandeloptie en als een patiënt een bepaalde behandeling ondergaat, hoe u hier vervolgens mee te maken kunt krijgen.

Scan de QR-code of ga naar [www.sepiion.nl/elearning/](http://www.sepiion.nl/elearning/)

## Onderwerpen en docenten van de e-learning

Inleiding complexe epilepsie *Marian Majoie, neuroloog*  
Nervus vagus stimulatie *Inge Brummelhuis, verpleegkundig specialist*  
Ketogeen dieettherapie *Michel Willemsen, kinderneuroloog*  
Epilepsiechirurgie & Deep Brain Stimulation *Louis Wagner, neuroloog*  
Praktische zaken *Marian Majoie, neuroloog*  
Eindredactie *Mariëlle Vlooswijk, neuroloog*

## Kosten

Dankzij een unrestricted educational grant van LivaNova en Nutricia zijn er geen kosten verbonden aan het volgen van de e-learning

# Ictale SPECT: neurovasculaire netwerken voor klinici

Hoewel ictale *single-photon emission computed tomography* van de hersenen reeds vele jaren gebruikt wordt als vooronderzoek voor epilepsiechirurgie, komen in deze bijdrage enkele nieuwe inzichten ter sprake die cruciaal zijn voor de klinische interpretatie van dit onderzoek.

## Epilepsie, een netwerkziekte?

Focale epilepsie wordt steeds vaker beschouwd als een aandoening van hersennetwerken die zich niet beperkt tot één gebied maar waarbij meerdere, soms wijdverspreide, hersengebieden betrokken zijn, zelfs bij patiënten met een welomschreven hersenlaesie. Het epileptische netwerk vormt dan een groep van structureel en functioneel verbonden hersenregio's die de complexe dynamiek van aanvallen verklaren en essentieel zijn voor het ontstaan en in stand houden van epileptische aanvallen. In het netwerkconcept heeft een interventie op één van de knooppunten invloed op alle andere netwerkknooppunten. Meer inzicht in de eigenschappen van het epileptische netwerk kan dus bijdragen aan een nauwkeurigere lokalisatie van deze 'kritische' knooppunten en de neurochirurgische behandeling van patiënten met medicatie-resistente focale epilepsie (MRFE) bevorderen.

## Vooronderzoeken voor epilepsiechirurgie

Epilepsiechirurgie, waarbij de epileptogene zone (EZ) wordt verwijderd, kan bij geselecteerde MRFE-patiënten de aanvallen doen verdwijnen of verminderen. Om de plaats van de EZ vast te stellen, kunnen verschillende niet-invasieve onderzoeken nodig zijn. Deze beeldvormende technieken, zoals positron emissie tomografie (PET), *single-photon emission computed tomography* (SPECT), magneto-encefalografie (MEG) en simultaan-gemeten elektroencefalografie en functionele magnetische resonantie beeldvorming (EEG-fMRI), bieden unieke mogelijkheden om normale en abnormale activiteit van neuronale ensembles en hun interacties tussen en tijdens aanvallen beter te begrijpen. Als deze niet-invasieve onderzoeken de EZ onvoldoende zeker aantonen, kan bij 30-40% van de patiënten in het preoperatieve traject een invasief hersenonderzoek, zoals stereo-elektroencefalografie (SEEG), geïndiceerd zijn (Kovac et al, 2017). Bij zo'n SEEG-onderzoek worden meerdere diepte-elektroden stereotactisch in de

hersenen geïmplant, waarna een aanvalsregistratie volgt om de EZ te bepalen.

## Ictale SPECT perfusiepatronen

SPECT is een beeldvormingstechniek die gebruik maakt van een isotopen-injectie tijdens een aanval en tijdens een rusttoestand om veranderingen in hersenperfusie vast te stellen (Van Paesschen, 2004). Subtractie van ictale en interictale SPECT beelden, gecoregistreerd met MRI (SISCOM), laat gebieden van toegenomen (hyperperfusie) en afgenomen (hypoperfusie) hersendoorbloeding zien. Er wordt aangenomen dat hyperperfusie gerelateerd is aan epileptische neuronale aanvalsactiviteit en kan helpen bij het lokaliseren van de EZ.

Patronen van SISCOM hyperperfusie kunnen eenvoudig maar ook meervoudig en complex zijn. Bijvoorbeeld er zijn bij patiënten met een corticale aanlegstoornis verschillende hyperperfusiepatronen beschreven, zoals een eenlobbige hyperperfusie-cluster, een tweelobbige cluster met 'zandloper' aspect of meerdere verspreide clusters, waarbij de cluster met maximale hyperperfusie helaas niet steeds met de aanlegstoornis overlapt (Dupont et al., 2006). Dergelijke multifocale patronen bemoeilijken de klinische interpretatie met name bij patiënten zonder of met meerdere epileptogene lesies. De perfusiepatronen worden daarnaast beïnvloed door het tijdstip van isotopen-injectie na aanvalsbegin (El Tahry et al., 2018) en de aanvalsemio-logie tijdens de injectie (Varghese et al., 2009). Ook SISCOM hypoperfusie is vaak multifocaal en wijdverspreid en de betekenis ervan is onvoldoende begrepen.

## Vergelijking met andere modaliteiten

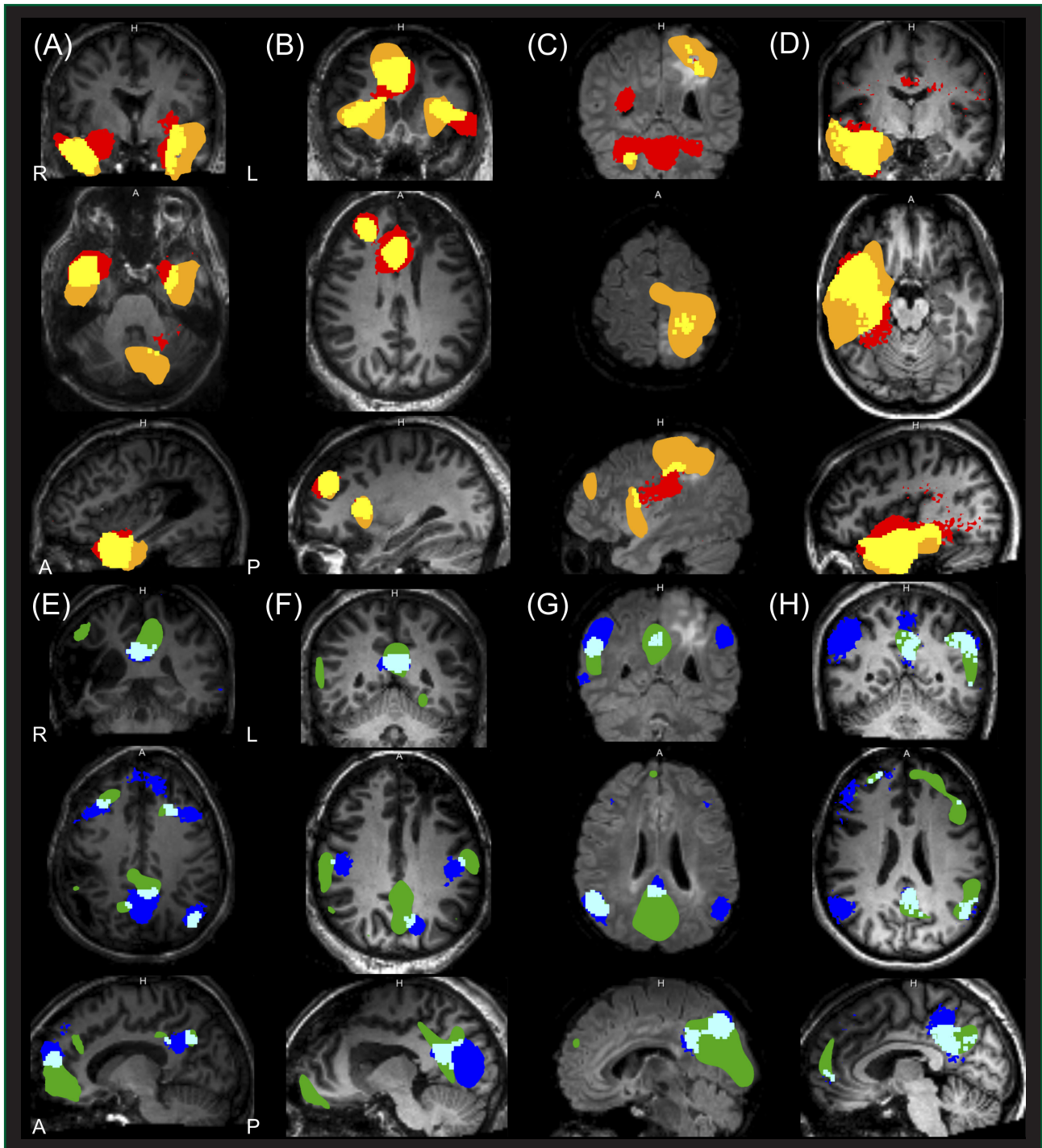
Hoewel vele studies gebeurd zijn naar de a posteriori diagnostische accuraatheid van SISCOM, is weinig bekend over hoe a priori SISCOM patronen te interpreteren. Enerzijds zou multifocale hyperperfusie, gezien de lage temporele

resolutie van SPECT, kunnen wijzen op zones van aanvalsbegint (ZAB) en/of aanvalsspreiding (propagatie); ofwel op de kritische knooppunten van het epileptische netwerk. Anderzijds stelt zich de vraag of wijdverspreide veranderingen van hersendoorbloeding niet willekeurig en dus klinisch irrelevant zijn. In drie hierna samengevatte studies is gepoogd een antwoord te bieden op deze vraag door SISCOM perfusiepatronen te vergelijken met andere niet-

invasieve en invasieve onderzoeksmodaliteiten (Tousseyn et al., 2015 en 2017; Krishnan et al., 2021). Voor een uitgebreide beschrijving van methodologie en resultaten, wordt verwezen naar de genoemde publicaties.

### 1. SISCOM en EEG-fMRI

In een studie van Tousseyn et al. (2015) werden hemodynamische veranderingen gerelateerd aan epileptische aan-



Figuur 1. Illustraties van het gemiddelde van vier patiënten van (A-D) SISCOM-hyperperfusie (oranje) en EEG-fMRI-activatie (rood) (95e percentiel) met overlap in geel en van (E-H) SISCOM-hypoperfusie (groen) en EEG-fMRI-deactivatie (blauw) (5e percentiel) met overlap in turkoois, weergegeven in een coronale, axiale en sagittale doorsnede van de MRI. Let op de congruente hyperperfusie en activatie in bijvoorbeeld basale ganglia, cerebellum en insula en congruente hypoperfusie en deactivatie in bilateraal pariëtale en mesiofrontale associatiegebieden. R, rechts; L, links; A, anterior; P, posterior. [Aangepast uit Tousseyn et al., 2015]

vallen en interictale pieken vergeleken. Achtentwintig MRFE-patiënten ondergingen zowel SISCOM als een piek-gerelateerde EEG-fMRI studie. Dit type EEG-fMRI onderzoek brengt veranderingen in zuurstofvoorziening tijdens spontaan-optredende epileptische activiteit in kaart. Wijdverspreide toename (activatie) en afname (deactivatie) in zuurstofvoorziening zijn eerder beschreven tijdens focale epileptische pieken (van Houdt et al., 2013).

Significante en positieve correlaties tussen hemodynamische veranderingen gerelateerd aan aanvallen en pieken werden in 96% van de patiënten vastgesteld. In 71% van de gevallen was de spatiële overlap tussen SISCOM hyperperfusie en EEG-fMRI activatie statistisch significant. In figuur 1(A-D) is voor vier patiënten de overlap weergegeven (geel) tussen SISCOM-hyperperfusie (oranje) en EEG-fMRI-activatie (rood) (95<sup>e</sup> percentiel). Deze illustraties geven aan hoe verschillende de overlap kan zijn tussen de verschillende anatomische gebieden. Bijvoorbeeld in figuur 1A is de overlap bitemporaal en cerebellair, in figuur 1B bilateraal insulair en mesiofrontaal, in figuur 1C gekruist parietofrontaal en cerebellair en in figuur 1D unilateraal temporaal. Congruente veranderingen waren aanwezig in de EZ maar ook op afstand. De overlap tussen ictale hypoperfusie en interictale deactivatie, weergegeven in figuur 1(E-H) was significant bij 79% van de patiënten.

Deze studie toont dus aan dat verandering in hersendoorbloeding gerelateerd aan aanvallen en zuurstofvoorziening tijdens epileptische pieken zich voordoet binnen een gemeenschappelijk ruimtelijk netwerk. Overlap was aanwezig in regio's dichtbij en op afstand van de EZ. Deze observatie suggereert dat beide activiteiten bij voorkeur vergelijkbare anatomische paden gebruiken en dat epileptische pieken zich misschien wel als 'mini-aanvallen' gedragen.

## 2. SISCOM en elektrische responsen

Het doel van de studie van Tousseyn et al. (2017) was om na te gaan of gebieden met SISCOM hyper- en hypoperfusie overeenkomen met elektrisch verbonden hersennetwerken. Een totaal van 36 SISCOM-onderzoeken werden geanalyseerd bij 31 MRFE-patiënten die ook een SEEG ondergingen. Repetitieve elektrische stimulatie is een onderdeel tijdens het SEEG-onderzoek, als provocatiemiddel voor aanvallen en om functies (eloquent gebied) op te sporen. Deze stimulaties wekken ook reacties op afstand van de stimulatieplaats op (cortico-corticale geëvokeerde potentialen; CCEP) wanneer de meetplek effectief verbonden is met de stimulatieplaats. CCEP-studies werden uitgevoerd na stimulatie van de ZAB en de opgewekte reacties op de SEEG-meetplek werden vergeleken met SISCOM perfusiewaarden op deze locaties. In 67% van de onderzoeken waren de CCEP-reacties sig-

nificant groter in hersengebieden met hyperperfusie vergeleken met gebieden zonder perfusieverandering. De meerderheid van de SEEG-contactpunten in hersengebieden met hyperperfusie op afstand van de ZAB had significant verhoogde CCEP-reacties (figuur 2, boven). Daarentegen vertoonden contactpunten in hypoperfusie voornamelijk niet-significante reacties (figuur 2, onder). In 61% van de onderzoeken werden positief significante correlaties gevonden tussen perfusiescores en CCEP-reacties. Wanneer de gestimuleerde ZAB zelf hyperperfusie liet zien, toonde 82% van de onderzoeken positief significante correlaties. Na stimulatie van hyperperfusie-gebieden buiten de ZAB, werden eveneens positief significante correlaties tussen perfusieveranderingen en CCEP-reacties gezien, wat wijst op bi-directionele connectiviteit. Er zijn dus sterke wederkerige verbindingen tussen de ZAB en andere regio's met hyperperfusie, terwijl verbindingen van de ZAB naar hypoperfusie-gebieden zwakker waren. Negatief significante correlaties tussen perfusiescores en CCEP-reacties werden gevonden na stimulatie in hypoperfusie-gebieden. Dit suggereert dat hypoperfusie een onderling-verbonden netwerk voorstelt, losgekoppeld van hyperperfusie.

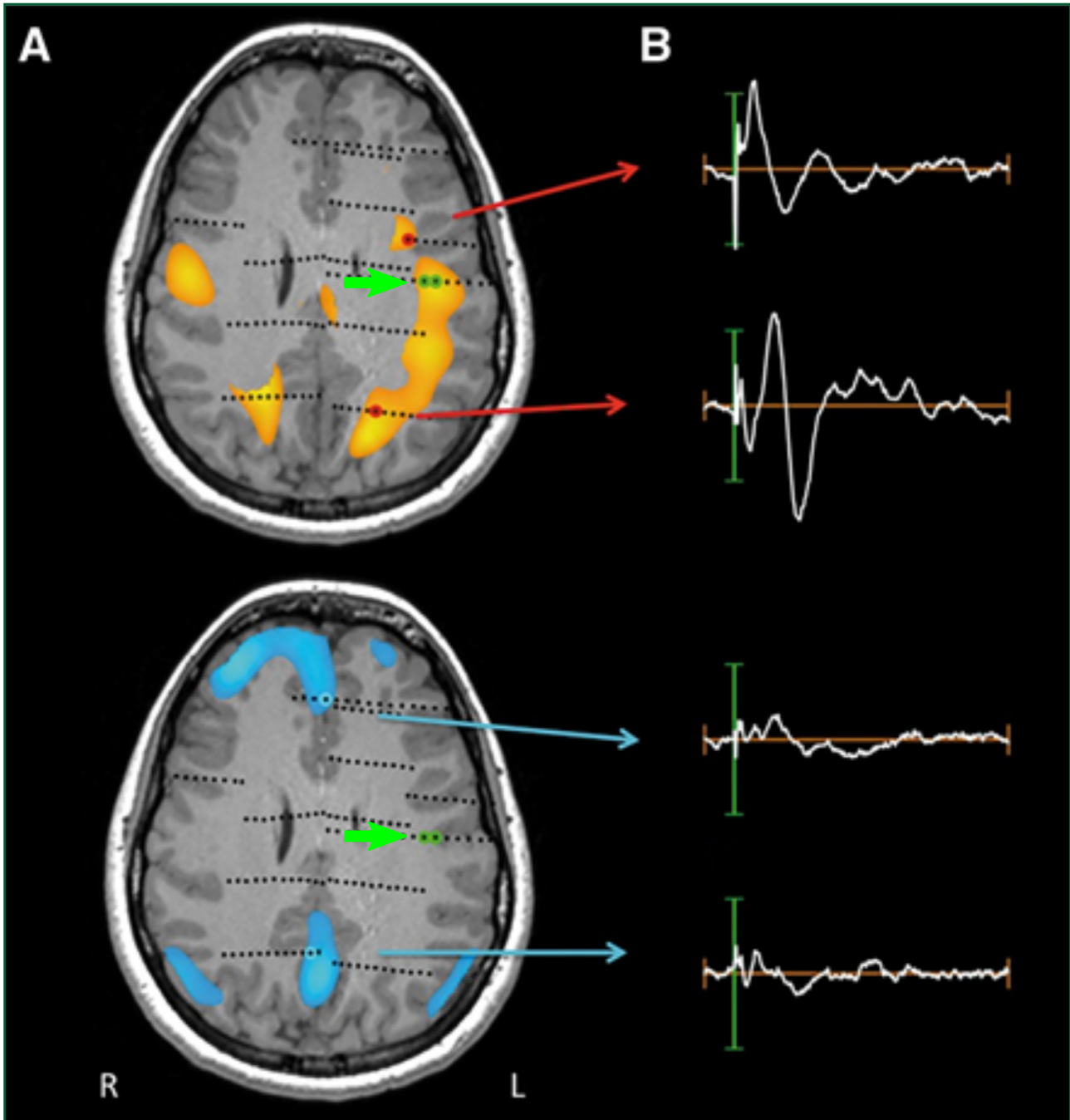
Deze studie kon dus aantonen dat SISCOM perfusieveranderingen niet willekeurig zijn, maar ondersteund worden door (wederkerige) neuronale verbindingen.

## 3. SISCOM en SEEG frequentie-analyse

De relatie tussen SISCOM perfusiepatronen en onderliggende elektrofysiologie tijdens aanvallen is niet uitgebreid bestudeerd. In een studie van Krishnan et al. (2021) werd deze relatie onderzocht in een cohort van 70 MRFE-patiënten die eerst SISCOM ondergingen en daaropvolgend SEEG voor lokalisatie van de EZ. Aanvallen geregistreerd tijdens SEEG (SEEG-aanvallen) werden gematcht met semiologisch vergelijkbare aanvallen tijdens de preoperatieve ictale SPECT-evaluatie (SPECT-aanvallen) door de semiologische veranderingen in het verloop van elke aanval te vergelijken. Veranderingen in SEEG-frequenties tijdens aanvallen werden geanalyseerd over zeven traditionele frequentiebanden op elke SEEG-locatie. Neurovasculaire relaties (SEEG/SPECT) werden beoordeeld door de ictale SEEG frequentie-veranderingen op elke SEEG-locatie te vergelijken met SISCOM perfusieveranderingen. Bij alle patiënten werd een significante correlatie waargenomen tussen ictale SEEG veranderingen en SISCOM perfusiescores. Hersengebieden met hogere SISCOM perfusie vertoonden een hogere toename in de 'snellere' theta tot ripple-frequenties in vergelijking met regio's met lagere perfusiescores. Hersenregio's met lagere SISCOM-perfusie hadden een (niet-significante) hogere toename in de 'tragere' delta-frequenties in vergelijking met gebieden met hogere perfusie.

De studie van Krishnan et al. (2021) levert opnieuw concrete aanwijzingen dat zowel SISCOM hyperperfusie als hypoperfusie elk een sterke en specifieke elektrofyysiologische onderbouwing hebben (“elektrofysiologische vingerafdruk”). De aanwezigheid van snelle SEEG-activiteit tijdens aanvallen in hyperperfusie-gebieden wordt traditioneel beschouwd als een marker van de EZ. Integratie van

SISCOM en SEEG werpt dus licht op de lokalisatie en dynamiek van neurovasculaire epileptische hersennetwerken. De betekenis van de ictale SEEG-vertraging in hypoperfusie blijft onduidelijk. Er bestaan hypothesen over een associatie tussen trage activiteit in frontopariëtale associatiegebieden met hypoperfusie en bewustzijnsindaling tijdens aanvallen (Englot et al., 2010).



Figuur 2 Geïllustreerd zijn verhoogde CCEP-reacties in gebieden met SISCOM hyperperfusie (boven) vergeleken met SISCOM hypoperfusie (onder) na stimulatie van de zone met aanvalsbegint (ZAB). Locatie van SEEG-elektroden (zwarte stippen) gesuperponeerd op SISCOM. (A) Axiale snede van de MRI met de gestimuleerde contactpunten in de ZAB (groene pijl wijst naar groengekleurde contactpunten), SISCOM-hyperperfusie (bovenaan, oranjegeel) en hypoperfusie (onderaan, blauw). De twee contactpunten met ictale hyperperfusie die rood zijn gekleurd corresponderen met de responses rechts (rode pijl). De twee contactpunten met hypoperfusie blauw corresponderen met responses rechts (blauwe pijl). (B) Gemiddelde CCEP-reacties in de respectievelijke elektrodecontacten na stimulatie van de ZAB. De verticale as vertegenwoordigt 100  $\mu\text{V}$  op het moment van de stimulatietrigger. De horizontale as staat voor één seconde bij 0  $\mu\text{V}$ . [Aangepast uit: Tousseyn et al., (2017)]



### Klinische relevantie

Bovenstaande bevindingen zetten ons ertoe aan om SISCOM-perfusiepatronen te interpreteren met een hersennetwerk-perspectief en in combinatie met andere beschikbare onderzoeken in het epilepsiechirurgie traject. Het is immers nooit uit te sluiten dat ruis de beelden beïnvloedt. Bij het maken van een implantatie-strategie voor SEEG lijkt het dus niet voldoende om alleen het gebied met maximale SISCOM hyperperfusie in overweging te nemen. SEEG gericht op het hele netwerk van gebieden met SISCOM hyperperfusie zou een meer complete bemonstering van relevante gebieden mogelijk kunnen maken, omdat het correleert met aanvalsgerelateerde elektrofysiologische signalen (“vingerafdrukken”).

### Toekomstperspectief

Behandelaars kunnen op dit moment soms lastig bepalen waar in de hersenen zij het beste een behandeling toedienen en of deze behandeling enkel een lokaal effect heeft of in het hele epilepsienetwerk. Verder onderzoek zal moeten uitwijzen of alle gebieden met toegenomen hersendoorbloeding (hyperperfusie) tijdens aanvallen ook effectief de voor behandeling kritische knooppunten van een epilepsienetwerk aanduiden, of toch gebieden met aanvalsbegin dan wel aanvalspropagatie. In het eerste geval

(de netwerkhypothese) zouden de epileptische aanvallen behandeld kunnen worden door het beïnvloeden, via chirurgische interventie of neuromodulatie, van eender welk gebied met SISCOM hyperperfusie. In het tweede geval zou een succesvolle behandeling met name op de ZAB gericht moeten zijn.

Een studie naar effecten van radiofrequente thermocoagulatie, een lokale minimaal invasieve behandeling, op hersennetwerk activiteit bij epilepsiepatiënten (CONTACT-studie) zal vanaf 2023 starten in het Academisch Centrum voor Epileptologie Kempenhaeghe en MUMC+, Universiteit Maastricht en Technische Universiteiten Eindhoven en Delft (EpilepsieNL subsidie 23-08). In dit onderzoek zal bestudeerd worden of er een verband is tussen veranderingen in hersenactiviteit in het epilepsienetwerk en de klinische uitkomst van radiofrequente thermocoagulatie.

### Conclusie

De aangehaalde studies tonen aan dat complexe SPECT perfusiepatronen tijdens aanvallen niet willekeurig zijn maar overeenkomen met interictale epileptische netwerken, een onderliggende bi-directionele elektrische verbondenheid hebben en ictale patiënt-specifieke elektrofysiologische dynamieken onthullen.

# Epilepsie

Bezoek de website [www.epilepsiejournal.nl](http://www.epilepsiejournal.nl) voor directe toegang tot de digitale uitgave van ‘Epilepsie’.

Vergeet vooral niet om de volgende opties aan te vinken:

- Ja, ik stem ermee in dat mijn gegevens worden verzameld en verwerkt volgens de [privacy verklaring](#).
- Ja, ik wil op de hoogte worden gehouden van publicaties en nieuwsberichten.
- Ja, ik zou graag worden gecontacteerd om inzendingen voor dit tijdschrift te reviewen.

## Epilepsie

Periodiek voor professionals

Registreren Inloggen

HUIDIG NUMMER ARCHIEVEN NIEUWSBERICHTEN OVER ▾

Q ZOEK

### Over dit tijdschrift

‘Epilepsie, periodiek voor professionals’ is het kwartaalblad van de Nederlandse Liga tegen Epilepsie, de Nederlandse afdeling van de ‘International League Against Epilepsy’.

ARTIKEL INDIENEN

## Referenties

- Dupont P, Van Paesschen W, Palmini A, et al. (2006) Ictal perfusion patterns associated with single MRI-visible focal dysplastic lesions: implications for the noninvasive delineation of the epileptogenic zone. *Epilepsia*. 47:1550-1557.
- El Tahry R, Wang ZI, Thandar A, et al. (2018) Magnetoencephalography and ictal SPECT in patients with failed epilepsy surgery. *Clin Neurophysiol* 129:1651-1657.
- Englot DJ, Yang L, Hamid H, et al. (2010). Impaired consciousness in temporal lobe epilepsy: role of cortical slow activity. *Brain*. 133:3764-3777.
- Kovac S, Vakharia VN, Scott C, et al. (2017). Invasive epilepsy surgery evaluation. *Seizure*. 44:125-136.
- Krishnan B, Tousseyn S, Sateesh Nayak C, et al. (2021) Neurovascular networks in epilepsy: Correlating ictal blood perfusion with intracranial electrophysiology. *Neuroimage*; doi: 10.1016/j.neuroimage.2021.117838.
- Tousseyn S, Dupont P, Goffin K, et al. (2015) Correspondence between large-scale ictal and interictal epileptic networks revealed by single photon emission computed tomography (SPECT) and electroencephalography (EEG)-functional magnetic resonance imaging (fMRI). *Epilepsia*. 56:382-392.
- Tousseyn S, Krishnan B, Wang ZI, et al. (2017) Connectivity in ictal single photon emission computed tomography perfusion: a cortico-cortical evoked potential study. *Brain*. 140:1872-1884.
- van Houdt PJ, de Munck JC, Leijten FSS, et al. (2013) EEG-fMRI correlation patterns in the presurgical evaluation of focal epilepsy: a comparison with electrocorticographic data and surgical outcome measures. *Neuroimage*. 75:238-248.
- Van Paesschen W (2004) Ictal SPECT. *Epilepsia*. 45:35-40.
- Varghese GI, Purcaro MJ, Motelow JE, et al. (2009) Clinical use of ictal SPECT in secondarily generalized tonic-clonic seizures. *Brain*. 132:2102-2113.

Door: Brian Mouthaan (b.e.mouthaan-3@umcutrecht.nl), neurologie & neurochirurgie, Universitair Medisch Centrum Utrecht, Utrecht.

# Prechirurgische focuslokalisatie bij epilepsie

Doel van mijn promotieonderzoek was om kennis te vergaren over het gebruik en de nauwkeurigheid van prechirurgische diagnostische technieken bij epilepsiechirurgie<sup>1</sup>. De uitkomst toont het ontbreken van uniformiteit en een teleurstellende evidentie van de onderzochte diagnostische technieken, en onderstreept de complexiteit van epileptische focuslokalisatie en diagnostische besluitvorming.

## Het prechirurgische evaluatietraject

Epilepsiechirurgie is gebaseerd op de veronderstelling dat er zich in de hersenen een epileptische haard bevindt van waaruit epileptische aanvallen ontstaan, de epileptogene zone. Het succes van epilepsiechirurgie is grotendeels afhankelijk van het nauwkeurig lokaliseren van deze epileptogene zone. Om dit te bewerkstelligen wordt een prechirurgisch traject gestart dat bestaat uit verscheidene diagnostische onderzoeken. Een eerste analyse betreft meestal een MRI voor het aantonen van structurele hersenafwijkingen. Daarnaast vindt er een langdurige electroencefalografie (EEG) registratie met video (LTM-VEEG)

plaats voor het registreren van interictale en ictale EEG activiteit in relatie tot de semiologie van de aanvallen. De resultaten worden vervolgens in een multidisciplinair team geanalyseerd om een eerste hypothese te vormen over de locatie van de epileptogene zone. Deze eerste hypothese is vaak onvoldoende nauwkeurig om een definitief besluit over resectie of stoppen van het traject te rechtvaardigen waardoor er naar behoefte extra non-invasieve onderzoeken ingezet kunnen worden zoals geprotocolleerde MRI-scans, hogere-velddsterkte MRI, fluorodeoxyglucose-positron emission tomography (FDG-PET), high-resolution electric source imaging (HR-ESI), magnetic source imaging

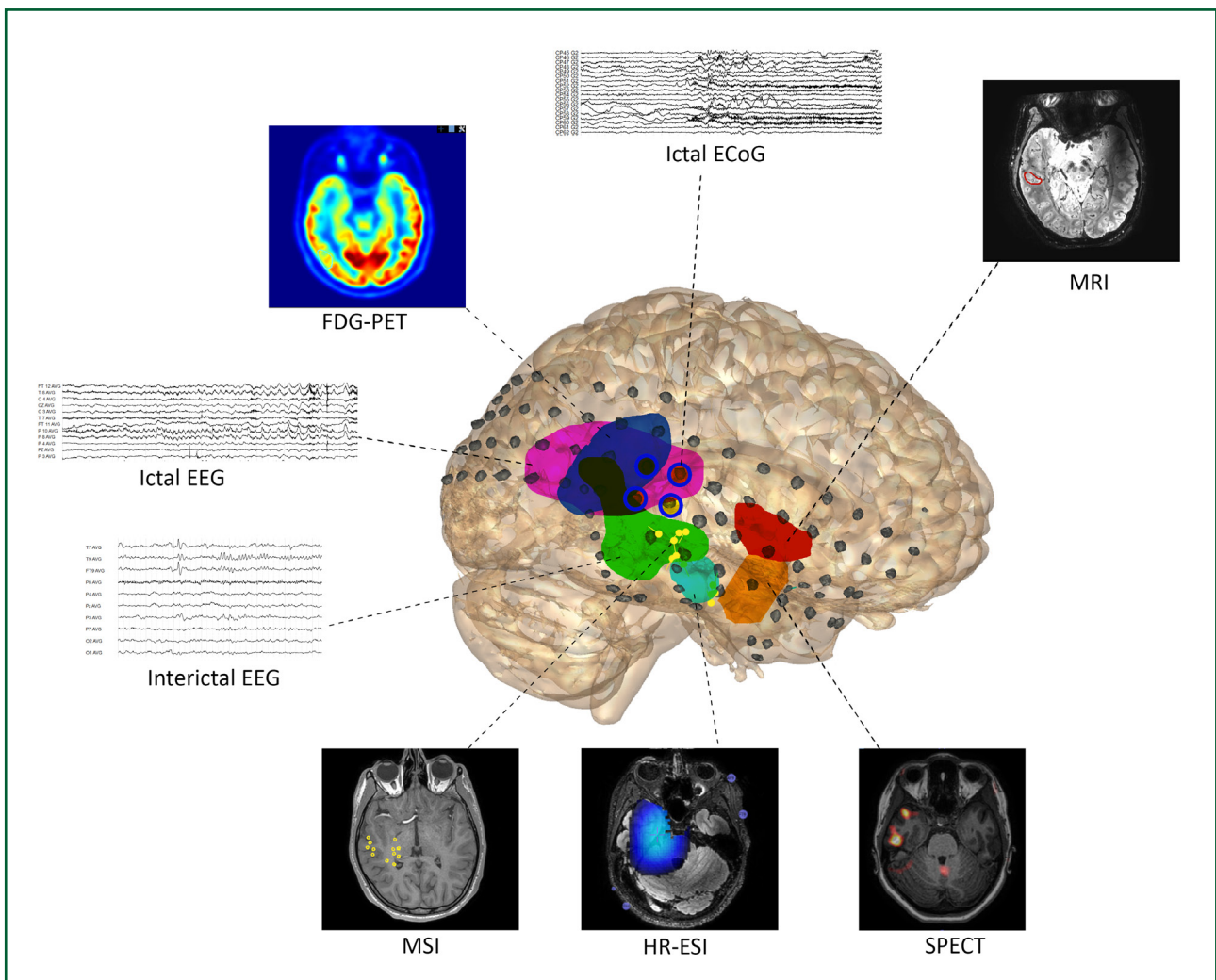
<sup>1</sup> Op donderdag 8 september promoveerde Brian Mouthaan aan de Universiteit Utrecht op het proefschrift: *Presurgical focus localization in epilepsy*. Promotor: Professor K.P.J. Braun, kinderneuroloog UMC Utrecht, Co-promotoren: Dr. F.S.S. Leijten, klinisch neurofysioloog UMC Utrecht, Dr. P. van Eijsden, neurochirurg UMC Utrecht.

(MSI), single photon-emission computed tomography (SPECT) en EEG-functionele MRI. Nieuwe onderzoeksresultaten worden vervolgens opnieuw multidisciplinair besproken om de hypothese over de epileptogene zone te verbeteren. Dit proces van hypothesevorming en nieuwe diagnostiek kan zich per patiënt meerdere malen voltrekken. Ook kan voor bepaalde patiënten een invasief EEG onderzoek gepland worden (grid- of stereo-EEG). Intra-operatieve electro-corticografie (ECoG) kan ten tijde van de operatie de grenzen van de epileptogene zone verduidelijken. In figuur 1 is een illustratief voorbeeld weergegeven van de resultaten verkregen tijdens een epilepsiechirurgie traject. Deze zijn als projectie op een 3D-hersensbeeld weergegeven en tonen de betrokkenheid van een uitgebreid gebied. Dit ‘veronderstelde’ epileptogene gebied wordt aan de buitenzijde van het brein volledig door het intracranële elektrodengrid (weergegeven door middel van grijze stippen) bedekt. Er is geen consensus over de plaats en volgorde

van elk van deze diagnostische technieken in het prechirurgische traject. Het gebruik en de nauwkeurigheid van deze diagnostische technieken werd in dit onderzoek daarom nader onderzocht.

### Verschillen tussen Europese epilepsiechirurgiecentra

Een eerste stap betrof het vaststellen van de klinische praktijk van prechirurgische diagnostiek bij de verschillende Europese epilepsiechirurgiecentra. Er werd een peiling gedaan onder 24 centra van het Europese E-PILEPSY consortium, een voorloper van het ERN EpiCARE dat destijds als doel had om de toegankelijkheid tot epilepsiechirurgie in Europa te vergroten en het traject te harmoniseren (<https://epi-care.eu/>). Er bleek een grote variatie te zijn tussen centra in het gebruik van diagnostische technieken. In slechts 15 van de 24 centra (63%) werd standaard gebruik gemaakt van 3 T(esla) veldsterkte MRI, in drie centra slechts op indicatie en in de overige zes centra werd alleen



Figuur 1. Het resultaat van diverse diagnostische onderzoeken is weergegeven als projectie op het 3D-hersensmodel. Elk gekleurd gebied representeert een veronderstelde epileptogene regio (geïndiceerd door het betreffende diagnostisch onderzoek), zoals door het interictale EEG (groen), ictale EEG (paars), MSI (geel), HR-ESI (cyaan), MRI (rood), SPECT (oranje), FDG-PET (blauw) en ictale ECoG (blauwe cirkels om grijze stippen). De grijze stippen representeren de locaties van de intracranële elektroden verspreid over een groot hersengebied (met dank aan Nicole van Klink, Universitair Medisch Centrum, Utrecht).

1.5 T MRI gebruikt. Er was een grote verscheidenheid aan typen gebruikte MRI-sequenties: 26 verschillende sequenties werden gerapporteerd. Minder verschil was er op het gebied van PET en SPECT. Bijna alle centra (92%) gebruikten interictale PET, altijd met de 18F-fluorodeoxyglucose (FDG)-marker. Toegang tot ictale SPECT werd door 19 van de 24 centra (79%) gemeld. De helft van de centra pasten ESI of MSI toe: vijf centra gebruikten ESI, drie MSI en vier gebruikten beide technieken. Centra verschilden sterk in hun gebruikte fysische methode om bronlokalisatie te doen (Mouthaan et al., 2016a).

Opvallend was dat weinig centra hun prechirurgische diagnostische evaluatietraject volledig conform de beschikbare internationale richtlijnen en aanbevelingen uitvoerden (voor referenties, zie Mouthaan et al., 2016a). Slechts 25% procent van de centra gebruikten de destijds aanbevolen MRI-sequenties met de benodigde snijvlakoriëntatie, snijvlakdikte en voxelgrootte. Daarnaast volgden 18% van de centra die epilepsiechirurgie bij kinderen verrichten niet de aanbevelingen voor het gebruik van PET of SPECT. Ictale SPECT-scans werden niet vergeleken met interictale SPECT-scans door 37% van de centra, ondanks dat dit wel geadviseerd wordt in de richtlijnen (Mouthaan et al., 2016a).

Hoe is deze grote variatie binnen Europa te verklaren? Europese centra verschillen in de beschikbaarheid van technologie, expertise en financiële middelen. Daarnaast blijken de aanbevelingen voor prechirurgische diagnostiek gebaseerd te zijn op een beperkte systematische analyse van de wetenschappelijke literatuur, onvoldoende bewijs en een gebrek aan consensus. Dit biedt ruimte voor een eigen inrichting van de diagnostiek. Een reden om de wetenschappelijke evidentie van enkele diagnostische technieken nader te onderzoeken, hier in het bijzonder die van MRI en die van HR-ESI en MSI.

### MRI in het diagnostisch traject

Door middel van een literatuurstudie en meta-analyse werd de invloed van magnetische veldsterkte en sequentieselectie op het vermogen tot laesiedetectie met MRI onderzocht (Rados et al., 2022). Hierbij werden 18 studies op het gebied van veldsterkte meegenomen en 25 op het gebied van sequenties. Alle studies werden met de *Quality Assessment of Diagnostic Accuracy Studies* (QUADAS-2) methodologie kritisch beoordeeld. De studies bleken belangrijke methodologische beperkingen te hebben die de uitkomsten fundamenteel beïnvloedden. Dit betroffen met name patiëntselectiebias (selectie van alleen geopereerde of MRI-negatieve patiënten), inconsistenties en gebrek aan transparantie wat betreft technische instellingen (veldsterkten en radiofrequente coils), en het beoordelen van de testdata met kennis van de referentiestandaard.

Desondanks werd een meta-analyse verricht. Bij MRI-negatieve patiënten werd er een toegevoegde waarde van hogere veldsterkte vastgesteld. 3T leverde 18% meer detectie van laesies op dan 1 of 1.5 Tesla, en 7T gaf een aanvullende detectiekans van 22% ten opzichte van lagere veldsterktes. Dit geldt echter niet voor patiënten met hippocampale sclerose. Voor deze aandoening is 1.5 T MRI voldoende voor detectie, met een detectiegraad van 90% bij gebruik van standaard MRI-sequenties (3DT1, T2, FLAIR). Epilepsie-specifieke MRI protocollen en visuele beoordeling door neuroradiologen die ervaring hebben met epilepsie bleken minstens zo belangrijk te zijn voor een hogere detectiegraad. Er waren te weinig studies naar aanvullende MRI-sequenties om een meta-analyse te kunnen verrichten. De toegevoegde waarde van dergelijke technieken lijkt daarom nog onduidelijk (Rados et al., 2022).

### Interictale bronlokalisatie en diagnostiek

Er werd een systematische literatuurstudie met meta-analyse verricht naar de diagnostische accuratesse van interictale HR-ESI en MSI voor epileptische bronlokalisatie. Aanvalsvrijheid na resectie werd als referentiestandaard gebruikt. Er werden acht studies over MSI en drie studies over HR-ESI opgenomen (Mouthaan et al., 2019). Ook hier vertoonden alle studies, op basis van de QUADAS-2 methodologie, problemen zoals selectiebias en verificatiebias. Dit laatste betekent dat de resultaten van het onderzoek waarvan de waarde getest werd (in dit geval bronlokalisatietechnieken) ook gebruikt werd bij het besluit tot opereren, waarmee de referentiestandaard werd beïnvloedt. Een dergelijke bias is uiteraard heel moeilijk te ondervangen met retrospectief klinisch diagnostisch onderzoek. HR-ESI/MSI bevindingen die geen eenduidige bron toonden, werden regelmatig door studies buiten beschouwing gelaten. Het wél meenemen van deze *indeterminate test results* leidt tot een significante verlaging van de sensitiviteit van HR-ESI/MSI. Resultaten met gedeeltelijke concordantie tussen bronlokalisatie en geresecceerd hersengebied werden inconsistent gerapporteerd, waarbij de keuze om deze als een concordant dan wel discordant resultaat te classificeren een significant effect had op de specificiteit. Als alle methodologische problemen buiten beschouwing werden gelaten, werd een hoge sensitiviteit van 82% en redelijke specificiteit van 53% gevonden voor het correct aanmerken van epileptogene en non-epileptogene regio's door HR-ESI en MSI (Mouthaan et al., 2019).

### De problemen bij diagnostisch onderzoek

De literatuurstudies en meta-analyses laten zien dat de resultaten van individuele studies – die wellicht vanuit een specifieke vraagstelling van hoge kwaliteit waren – door inherente methodologische beperkingen vaak minder ge-

schikt zijn om diagnostische nauwkeurigheid van de onderzochte technieken aan te tonen. Een fundamenteel probleem is dat diagnostische accuratesse gebaseerd is op de veronderstelling dat een testresultaat in het ultieme geval een directe weerspiegeling is van de ziekte, in dit geval de epileptogene zone. Dit is echter niet de klinische praktijk. Elke diagnostische techniek heeft zijn sterktes en beperkingen. Bij hippocampale pathologie zullen elektrische en magnetische bronnen buiten de hippocampus worden geprojecteerd vanwege beperkte corticale geleiding en lage signaal-ruis verhouding. Dit rechtvaardigt een meer vrijelijke interpretatie van testresultaten die in de context van andere ondersteunende diagnostische informatie toch waardevol zijn. In wetenschappelijk onderzoek wordt de absolute diagnostische nauwkeurigheid van een test idealiter onderzocht in een experimentele situatie die blind is voor overige klinische of diagnostische informatie. Dit representeert echter niet de praktijk. Bij de prechirurgische evaluatie staat een testresultaat nooit op zichzelf; de testuitslag wordt tijdens multidisciplinaire bijeenkomsten collectief (her)beoordeeld in de context van reeds beschikbare klinische en diagnostische informatie. Diagnostische tests die laat in het traject ingezet worden, genieten daardoor het voordeel van meer ondersteunende informatie, zodat de toegevoegde diagnostische waarde overschat kan worden.

### Specifiek geval: Tubereuze sclerose

Als alternatieve maat voor de diagnostische waarde van een test werd gekeken naar de invloed van een test op de klinische besluitvorming (Mouthaan et al., 2022). In een retrospectief cohort van 24 epilepsiechirurgiekandidaten met tubereuze sclerose (TSC), die zowel HR-ESI als LTM-VEEG ondergingen, werd geconstateerd dat HR-ESI een sterke invloed had op het epilepsiechirurgie traject door het aanpassen of bevestigen van de hypothese over de epileptogene zone in respectievelijk 52% en 38% van de patiënten. HR-ESI bleek de klinische besluitvorming te beïnvloeden bij 7/14 geopereerde patiënten (50%). Bij vier van deze patiënten was HR-ESI positief ondersteunend door de epileptogene zone te bevestigen waarna resectie resulteerde in aanvalsvrijheid. Bij drie patiënten werd de invloed van HR-ESI van kritische waarde geacht; HR-ESI zorgde voor een aanpassing van de veronderstelde epileptogene zone waarna operatie van dit gebied resulteerde in aanvalsvrijheid. Een bevinding was dat semiologie bij TSC patiënten bijna altijd niet- of foutief-lokaliserend was, en dat HR-ESI van interictale pieken vaker lokaal concordant was met de bewezen epileptogene zone in aanvalsvrije patiënten dan een ictaal EEG (67% versus 33%). Deze bevindingen suggereren een potentieel voor toepassing van HR-ESI in het initiële traject als aanvulling op, of zelfs vervanging van, LTM-VEEG (Mouthaan et al., 2022).

Wellicht biedt dit ook perspectief voor het diagnostisch traject bij andere epileptogene aandoeningen.

### Invasieve interictale bronlokalisatie

Bij patiënten die een pre-operatief invasief onderzoek met subdurale gridelektroden ondergaan wordt het gebied van aanvalsoorsprong, de Seizure Onset Zone (SOZ), afgegrensd. Als alternatief werd het 'op afroep identificeren van epileptogene hersengebieden' door middel van *single pulse electrical stimulation* (SPES) onderzocht bij twaalf patiënten die een subdurale gridregistratie ondergingen (Mouthaan et al., 2016). Hierbij worden er tijdens interictale periodes via de grid-elektroden korte (1 ms-durende) elektrische stimulaties gegeven, waarbij vervolgens gekeken wordt naar responsies in het invasieve EEG binnen verschillende signaalfrequentiebanden. Er werd vastgesteld dat vroege responsies (<100 ms na stimulatie) de verbindingsstructuur van de SOZ en de geleiding van een aanval in beeld kunnen brengen. Elektroden met veel vroege responsies waren sterker geassocieerd met de SOZ-elektroden dan met niet-SOZ-elektroden. Responsies in de frequentieband 80-250 Hz vertoonden een hogere specificiteit voor SOZ-elektroden dan die in de lagere frequentieband (<80 Hz). Stimulatie van SOZ-elektroden resulteerde in veel vroege responsies in elektroden waar geleiding van de aanval te zien is. Kortom, vroege responsies kunnen pathologische aspecten blootleggen en hebben daardoor klinische waarde voor het in kaart brengen van epileptogene hersenweefsel bij patiënten die een gridregistratie ondergaan. Hoe de diagnostische waarde van deze interictale SPES-bevindingen zich verhoudt tot de waarde van ictale gridregistraties – waarbij per definitie op aanvallen moet worden gewacht – moet nader worden onderzocht in grotere en prospectieve studies.

### Tot slot

Het prechirurgische diagnostische arsenaal is zeer breed en het gebruik van diagnostische technieken varieert sterk tussen Europese centra, met een wisselende naleving van beschikbare richtlijnen. De wetenschappelijk evidentie voor de diagnostische waarde van de onderzochte modaliteiten is teleurstellend, door inherente methodologische beperkingen van studies. In de huidige praktijk leidt het gebruik van deze technieken echter wel degelijk tot een hoge mate van aanvalsvrijheid; epilepsiechirurgie is zonder meer de meest effectieve behandeloptie bij patiënten met focale epilepsie. De toenemende complexiteit van de prechirurgische evaluatie – waarbij steeds meer MRI-negatieve patiënten worden onderzocht en steeds vaker invasieve monitoring wordt verricht – vraagt echter om een betere fundering van de technieken en de volgorde van toepassing daarvan.

Toekomstig onderzoek dient van hoge kwaliteit te zijn met op zijn minst een transparante analyse en zo min mogelijk bias van resultaten. Beïnvloeding van de referentiestandaard en klinische besluitvorming door het testresultaat, is echter moeilijk te voorkomen. Daarnaast zouden de nauwkeurigheid, risico's, kosten, en patiëntenbelasting van interictale technieken vergeleken moeten worden met die van ictale methoden. Zo zou HR-ESI, MSI en wellicht ook EEG-fMRI wel eens meerwaarde kunnen hebben in de vroege fase van het traject, en daarmee een inherent langdurige ictale video-EEG registratie soms overbodig maken. Hetzelfde geldt voor SPES waar het de invasieve EEG-registratie betreft. Kortom, er is behoefte aan een betere wetenschappelijke onderbouwing van de huidige gebruikte diagnostische methoden, de ontwikkeling van nieuwe lokaliserende technieken, biomarkers voor de epileptogene zone en aan nieuwe diagnostische richtlijnen gebaseerd op beschikbaar bewijs. Meer expert consensus zou dan ook makkelijker te bereiken zijn.

### Referenties

Mouthaan BE, Rados M, Barsi P, et al. (2016a). Current use of imaging and electromagnetic source localization

procedures in epilepsy surgery centers across Europe. *Epilepsia*, 57(5), 770–776.

Mouthaan BE, van 't Klooster MA, Keizer D, et al. (2016b). Single Pulse Electrical Stimulation to identify epileptogenic cortex: Clinical information obtained from early evoked responses. *Clinical neurophysiology*, 127(2), 1088–1098.

Mouthaan BE, Rados M, Boon P, et al. (2019). Diagnostic accuracy of interictal source imaging in presurgical epilepsy evaluation: A systematic review from the E-PILEPSY consortium. *Clinical neurophysiology*, 130(5), 845–855.

Mouthaan BE, Jansen FE, Colon AJ, et al. (2022). High-resolution electric source imaging for presurgical evaluation of tuberous sclerosis complex patients. *Clinical neurophysiology*, 133, 126–134.

Rados M, Mouthaan BE, Barsi P, et al. (2022). Diagnostic value of MRI in the presurgical evaluation of patients with epilepsy: influence of field strength and sequence selection: a systematic review and meta-analysis from the E-PILEPSY Consortium. *Epileptic disorders*, 24(2), 323–342.

Door: Eric van Diessen (E.vanDiessen-3@umcutrecht.nl), kinderneurologie, Wilhelmina Kinderziekenhuis, Universitair Medisch Centrum Utrecht, Utrecht.

# Betere lokalisatie epileptogene weefsel door hoog-frequente netwerkanalyse

Op 6 oktober 2022 promoveerde Willemiek Zweiphenning met het proefschrift getiteld *“High Frequency Oscillations and Functional Networks to Localize the Epileptogenic Tissue for Surgery”* aan de Universiteit Utrecht<sup>1</sup>. Haar proefschrift brengt twee innovatieve deelgebieden binnen de klinische neurofysiologie voor het lokaliseren van het epileptogene weefsel samen: hoog-frequente oscillaties en EEG-netwerk analyse van intracraniele registraties. Het uiteindelijke doel is om middels een combinatie van deze technieken epilepsiechirurgie in de toekomst verder te verbeteren.

### Rationale onderzoek

Epilepsiechirurgie is de enige curatieve behandeling bij focale epilepsie. De afgelopen jaren wordt dit in toenemende mate erkend en wordt epilepsiechirurgie steeds vroeger in het medisch traject overwogen. Door middel van een uitgebreide en nauwkeurige pre-chirurgische evaluatie zijn

de resultaten van epilepsiechirurgie goed: afhankelijk van de etiologie wordt in 50 tot 80% van de patiënten aanvalsvrijheid bereikt twee jaar na interventie. Het succes van epilepsiechirurgie hangt af van een nauwkeurige afgrenzing van de epileptogene zone (EZ). Aangezien de EZ een conceptueel begrip is – dat niet door één specifieke meting

<sup>1</sup> Promotores: prof. dr. G.J.M. Zijlmans en prof. dr. K.P.J. Braun. Co-promotor: dr. E.G.A.L. van Diessen

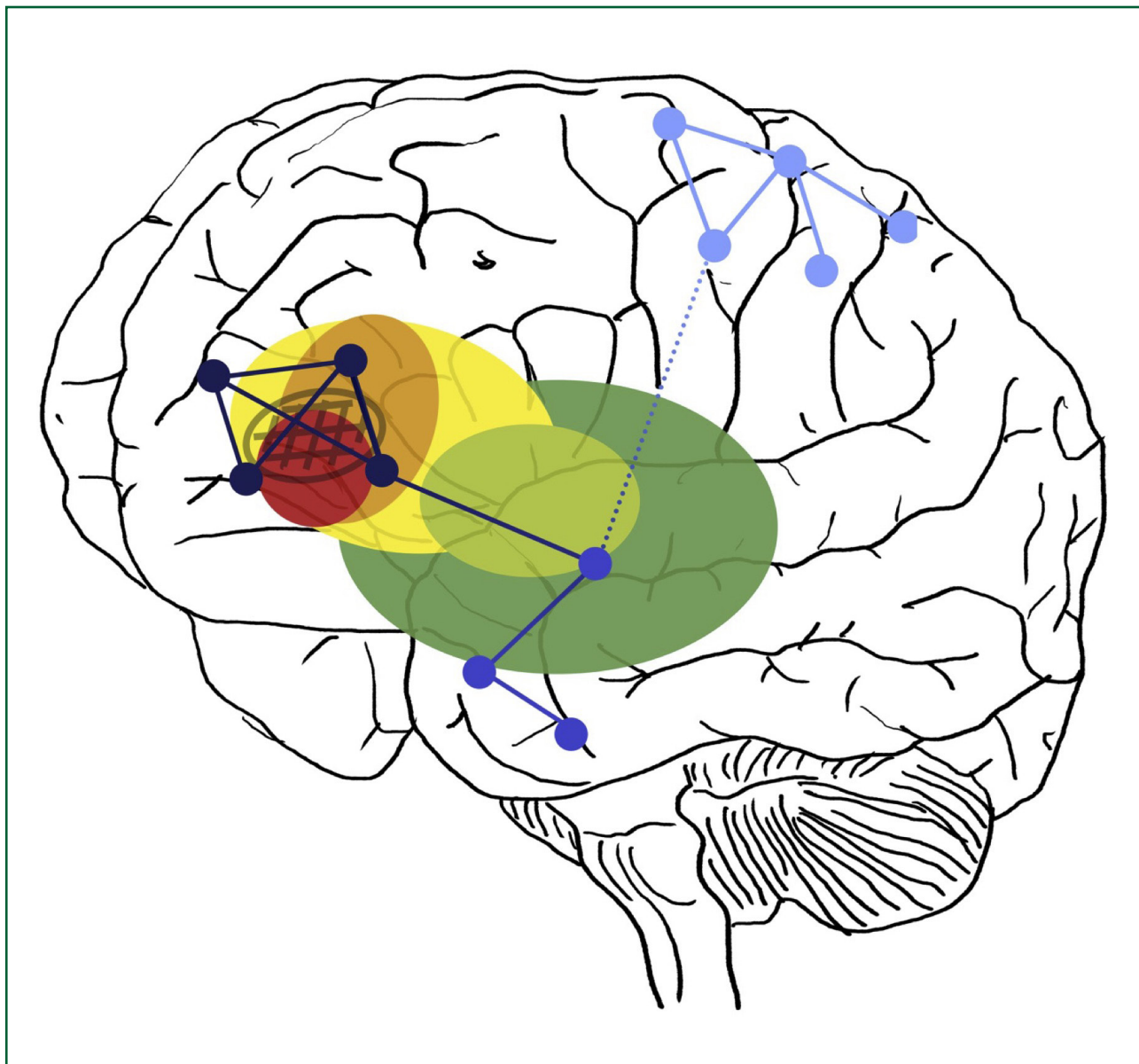
of klinische variabele kan worden geïdentificeerd – is concordantie van (non-)invasieve EEG-registraties, beeldvorming en semiologie van groot belang. Recent onderzoek toont dat twee nieuwe EEG-signaalanalyse technieken van toegevoegde waarde kunnen zijn bij het vaststellen van de EZ: hoogfrequente oscillaties (HFOs) en functionele netwerkanalyse. Figuur 1 laat zien hoe de verschillende overlappende zones, die standaard worden bepaald, worden aangevuld door het resultaat van de netwerkanalyse en de HFO-analyse.

Het promotieonderzoek van Willemieke Zweiphenning richtte zich op deze twee nieuwe, veelbelovende EEG-sig-

naalanalyse technieken: HFOs en functionele netwerkanalyse. Het doel hierbij was tweeledig. Ten eerste, om de implementatie van HFOs in de klinische praktijk te faciliteren. Ten tweede, om te onderzoeken of interictale functionele netwerkanalyse (in het hoge frequentiegebied) de predictie van de EZ, en daarmee het chirurgisch resultaat, zou kunnen verbeteren.

### Implementeren HFO in de klinische praktijk

Onderdeel van dit proefschrift is de eerste gerandomiseerde gecontroleerde HFO-trial, recent gepubliceerd in *Lancet Neurology* (Zweiphenning et al., 2022a) en uitgebreid



Figuur 1. De EZ zoals die met behulp van (invasieve) elektro-cortico-grafie werd gedefinieerd. De vijf overlappende zones die bij de preoperatieve evaluatie werden vastgesteld zijn als volgt weergegeven. Rood: seizure onset zone, het gebied van de cortex dat de klinische aanvallen initieert. Geel: irritatieve zone, het gebied van de cortex dat interictale pieken genereert. Lichtgroen: symptomatogenic zone, het gebied van de cortex dat, indien geactiveerd, de eerste ictale symptomen veroorzaakt. Donkergroen: functional deficit zone, het gebied van de cortex dat in de interictale periode niet normaal functioneert. Weergegeven zijn het primaire netwerk (donkerblauw), het propagatienetwerk (blauw) en het “niet-betrokken netwerk” (lichtblauw). Recent werd hier de HFO-zone aan toegevoegd (oranje): het gebied van de cortex dat interictale HFOs genereert.

beschreven in een eerdere editie van dit blad (Van 't Klooster et al., 2022). De primaire onderzoeksvraag van de trial was of het sturen van epilepsiechirurgie op basis van HFOs in plaats van interictale pieken in het intraoperatieve electrocorticogram niet leidt tot een inferieure uitkomst (geen aanvalsvrijheid na epilepsiechirurgie). Hoewel de studie geen non-inferioriteit kon aantonen voor de HFO-onderzoeksarm, werd na statistische correctie duidelijk dat patiënten met een focus buiten de temporaalkwab mogelijk een verbeterde uitkomst kunnen hebben na epilepsiechirurgie gebaseerd op HFO-data (Zweiphenning et al, 2022a). Deze resultaten stellen de klinische waarde van HFOs als biomarker voor epilepsie ter discussie, maar bieden ook perspectief voor een complexere casuïstiek. Een blijvende uitdaging hierbij is om HFOs op een juiste manier te integreren in medische beslismomenten. Een goed voorbeeld hiervan is de conclusie van een andere studie uit dit proefschrift: met het onderscheiden en corrigeren voor de aanwezigheid van fysiologische HFOs verbetert de predictieve waarde van pathologische HFOs voor het voorspellen van het epileptogene weefsel (Zweiphenning et al, 2022b).

### Hoogfrequente netwerken

De gedachte dat de EZ deel uitmaakt van een epileptisch netwerk is niet nieuw. Cognitieve problemen bij patiënten met focale epilepsie suggereren dat (functionele) hersennetwerken aangedaan zijn, zelfs in afwezigheid van aanvallen. Om meer duidelijkheid te krijgen over de mate en soort netwerkverstoring werd een uitgebreide meta-analyse verricht. De resultaten hiervan lieten een verstoring zien van de normale hersennetwerkorganisatie waarbij er sprake was van een verminderde integratie en toegenomen segregatie. Dit lijkt erop te wijzen dat lange verbindingen die hersengebieden op afstand verbinden verdwijnen of afnemen in sterkte, terwijl ze op korte afstand toenemen. Naast een verklarend model voor de cognitieve en gedragsproblemen bij patiënten met focale epilepsie kan een nadere analyse van deze hersennetwerken mogelijk ook bijdragen aan het lokaliseren en beter afgrenzen van de epileptogene zone. Aangezien de EEG-registraties voor HFOs met een hoge *sample frequency* werden opgenomen, ontstond een unieke mogelijkheid om functionele netwerken te onderzoeken in een hoger frequentiedomein. Hierbij is de aanname dat iedere frequentieband unieke hersennetwerkeigenschappen bevat. In twee exploratieve studies werd aangetoond dat de vermeende EZ in de interictale fase minder functionele netwerkverbindingen heeft met omliggende hersenweefsel. Mogelijk is de EZ 'functioneel geïsoleerd' op het moment dat er geen epileptische aanvallen zijn. Interessant gegeven is dat deze veranderingen met name werden aangetoond in het frequentiedomein waarin ook pathologische HFOs kunnen voorkomen.

In hoeverre deze hoogfrequente netwerkinformatie meerwaarde kan hebben bij een beter begrip van HFOs en het lokaliseren van de epileptogene zone wordt momenteel nog onderzocht.

### HFOs en netwerken: een gezamenlijke toekomst?

In de discussie van dit proefschrift wordt uiteengezet hoe een netwerkperspectief kan leiden tot een beter begrip van focale epileptogene EEG-afwijkingen en uiteindelijk de klinische context van een patiënt. Hierbij worden fundamentele aannames die in dit proefschrift centraal staan kritisch tegen het licht gehouden, voor geïnteresseerden het nalezen waard (Zweiphenning, 2022c). Essentieel bij toekomstig onderzoek binnen dit vakgebied is schone, accurate data en studies met voldoende te includeren patiënten. Om hier een positieve bijdrage aan te leveren wordt in dit proefschrift tot slot een methode aangedragen om EEG-data op een gestructureerde wijze op te slaan volgens de FAIR Data Principles: vindbare, toegankelijke, interoperabele en herbruikbare gegevens voor onderzoek. Met als uiteindelijke doel: het faciliteren van delen van data en het aangaan van (nieuwe) samenwerkingsverbanden.

### Conclusie

De beschreven HFO- en netwerkstudies in het proefschrift van Willemieke Zweiphenning tonen zowel de uitdagingen als de toekomstige mogelijkheden voor implementatie bij het verbeteren van de uitkomst na epilepsiechirurgie. De praktische aanbevelingen uit dit proefschrift zullen daarnaast behulpzaam zijn bij de technische en statistische uitdagingen van deze veelbelovende EEG-signaalanalyse technieken in de klinische praktijk.

### Referenties

- Van 't Klooster M, Zweiphenning W, Zijlmans M (2022). De HFO-trial: resultaten van een Randomised Controlled Trial in epilepsiechirurgie. *Epilepsie, periodiek voor professionals*, 21(3), 11-12
- Zweiphenning W, Van 't Klooster M, van Klink N, Leijten FSS, et al. (2022a) Intraoperative electrocorticography using high-frequency oscillations or spikes to tailor epilepsy surgery in the Netherlands (the HFO trial): a randomised, single-blind, adaptive non-inferiority trial. *Lancet Neurology*; 21(11):982-93.
- Zweiphenning W, von Ellenrieder N, Dubeau F, Martineau L, et al. (2022b) Correcting for physiological ripples improves epileptic focus identification and outcome prediction. *Epilepsia*; 63(2):483-96.
- Zweiphenning W (2022c). High Frequency Oscillations and Functional Networks to Localize the Epileptogenic Tissue for Surgery. UMC Utrecht Brain Center, volume 395, pp. 1 - 313. <https://dspace.library.uu.nl/handle/1874/422703>





Midwinter meeting  
Sectie Wetenschappelijk Onderzoek

**Metabolism in epilepsy: diets and microbiome**

Thursday 30 March 2023

Academic Medical Center Amsterdam  
Meibergdreef 9, Fonteinzaal, room G.0-209

**Program**

- 9.00        **Registration**
- 9.30        Welcome
- 9.45        EpilepsieNL projects
- 10.30      Outpatient initiation of the ketogenic diet in children with pharmaco-resistant epilepsy: an effectiveness, safety and economic perspective  
*R. Neuteboom and E.J.T.M. van der Louw, Erasmus University Medical Center, Rotterdam*
- 11.00      **Coffee break**
- 11.30      A pilot trial with modified Atkins' diet in adult patients with refractory epilepsy  
*E. Carrette, Ghent University Hospital, Ghent*
- 12.00      Data blitz
- 13.00      **Lunch/poster session**
- 13.45      Can epilepsy be treated by antibiotics?  
*H.M.H. Braakman, Radboudumc, Nijmegen*
- 14.15      The role of the gut microbiota on the beneficial effects of ketogenic diets  
*M. Nieuwdorp, Amsterdam UMC, Amsterdam*
- 14.45      **Coffee break**
- 15.15      The metabolic basis of epilepsy  
*J.M. Rho, University of California, USA*
- 16.15      Young investigator research awards
- 16.30      **Closure & drinks**

**EpilepsieNL**

Registration (free) before 31 January via [e.a.vanvliet@uva.nl](mailto:e.a.vanvliet@uva.nl)

De weergegeven data van de congressen en cursussen kunnen wijzigen. U doet er goed aan om deze te verifiëren.

## 16 – 20 januari 2023

### 12<sup>th</sup> EPODES Advanced Course

Locatie: Brno, Tsjechië

Informatie: <https://www.ilae.org/congresses/12th-epodes-advanced-course>

## 8 – 11 februari 2023

### 14<sup>th</sup> International Newborn Brain Conference

Locatie: Clearwater, Florida, VS

Informatie: <https://www.ilae.org/congresses/14th-international-newborn-brain-conference>

## 23 februari – 3 maart 2023

### 16<sup>th</sup> Latin American Summer School on Epilepsy

Locatie: São Paulo, Brazilië

Informatie: <https://www.ilae.org/congresses/16th-latin-american-summer-school-on-epilepsy-lasse-2023>

## 7 – 10 maart 2023

### International Conference on Artificial Intelligence in Epilepsy and Neurological Disorders

Locatie: Breckenridge, Colorado, Verenigde Staten

Informatie: <https://www.ilae.org/congresses/international-conference-on-artificial-intelligence-in-epilepsy-and-neurological-disorders>

## 29 – 31 maart 2023

### International Congress on Structural Epilepsy & Symptomatic Seizures

Locatie: Göteborg, Zweden

Informatie: <http://www.stess2023.se/>

## 30 maart 2023

### SWO-meeting: Metabolism in epilepsy: diets and microbiome

Locatie: Amsterdam UMC

Informatie: <https://www.epilepsieliga.nl/over-ons/swo/>

## 31 maart 2023

### Update@Kempenhaeghe.nl – International Symposium

Locatie: Heeze

Informatie: [www.kempenhaeghe-events.nl](http://www.kempenhaeghe-events.nl)

## 20 – 24 juni 2023

### 15<sup>th</sup> European Paediatric Neurology Society Congress (EPNS)

Locatie: Praag, Tsjechië

Informatie: <https://www.ilae.org/congresses/15th-european-paediatric-neurology-society-congress-epns>

## 2 – 6 september 2023

### 35<sup>th</sup> International Epilepsy Congress

Locatie: Dublin, Ierland

Informatie: <https://www.ilae.org/congresses/35th-international-epilepsy-congress>

## 8 – 13 oktober 2023

### 10<sup>th</sup> Eilat Educational Course: Pharmacological treatment of epilepsy

Locatie: Jerusalem, Israël

Informatie: <https://www.ilae.org/congresses/10th-eilat-educational-course-pharmacological-treatment-of-epilepsy>

## 1 – 5 december 2023

### 77<sup>th</sup> American Epilepsy Society Annual Meeting

Locatie: Orlando FLorida, VS

Informatie: <https://www.aesnet.org/>

## 3 – 8 maart 2024

### 4<sup>th</sup> International Training Course on Neuropsychology in Epilepsy

Locatie: Lyon, Frankrijk

Informatie: <https://www.ilae.org/congresses>

## 5 – 8 mei 2024

### Seventeenth Eilat Conference on New Antiepileptic Drugs and Devices (EILAT XVII)

Locatie: Madrid, Spanje

Informatie: <https://www.ilae.org/congresses/seventeenth-eilat-conference-on-new-antiepileptic-drugs-and-devices-eilat-xvii>

De productie van dit blad is mede mogelijk gemaakt door financiële ondersteuning van:

