



## UvA-DARE (Digital Academic Repository)

### At the crossroads of epilepsy and Alzheimer's disease

*Investigating the role of LRP1 in the cerebral vasculature*

Rozeboom, A.

#### Publication date

2025

[Link to publication](#)

#### Citation for published version (APA):

Rozeboom, A. (2025). *At the crossroads of epilepsy and Alzheimer's disease: Investigating the role of LRP1 in the cerebral vasculature*. [Thesis, fully internal, Universiteit van Amsterdam].

#### General rights

It is not permitted to download or to forward/distribute the text or part of it without the consent of the author(s) and/or copyright holder(s), other than for strictly personal, individual use, unless the work is under an open content license (like Creative Commons).

#### Disclaimer/Complaints regulations

If you believe that digital publication of certain material infringes any of your rights or (privacy) interests, please let the Library know, stating your reasons. In case of a legitimate complaint, the Library will make the material inaccessible and/or remove it from the website. Please Ask the Library: <https://uba.uva.nl/en/contact>, or a letter to: Library of the University of Amsterdam, Secretariat, P.O. Box 19185, 1000 GD Amsterdam, The Netherlands. You will be contacted as soon as possible.

## Appendix

## **Summary**

### **At the Crossroads of Epilepsy and Alzheimer's Disease: Investigating the Role of LRP1 in the Cerebral Vasculature**

There is increasing evidence that patients with epilepsy have an increased risk of developing Alzheimer's disease (AD). Epilepsy is also relatively more common in people with AD, possibly due to neuronal hyperexcitability and structural brain changes associated with neurodegeneration. Furthermore, epileptiform activity may even accelerate the progression of AD. Therefore, managing epileptiform activity is crucial. However, about one third of all patients with epilepsy do not achieve seizure freedom following anti-seizure medications (ASMs). Although epilepsy in older individuals can often be effectively treated with initial monotherapy, a significant proportion of patients is drug resistant, leading to reduced quality of life and increased risk of seizure-related injuries in this vulnerable population. Understanding the neurobiological mechanisms underlying epilepsy and cognitive dysfunction is essential for developing of new therapies. The disorders share some overlapping features, such as epileptiform activity, cognitive dysfunction, and neuropathological alterations such as cell death, gliosis, and neuroinflammation. Furthermore, accumulation of amyloid beta ( $A\beta$ ) in the brain, a neuropathological hallmark of AD, has been observed in (a subset of) patients with temporal lobe epilepsy (TLE). Low-density lipoprotein receptor-related protein 1 (LRP1), a multifunctional transmembrane receptor expressed in brain endothelial cells, is involved in many physiological processes, including the clearance of brain  $A\beta$  via the blood-brain barrier (BBB). LRP1 expression in brain capillaries diminishes during aging and in AD. In this thesis, we studied LRP1 expression in the brains of people with epilepsy and with AD, and investigated the effects of brain endothelial LRP1 knockdown on epileptiform activity and cognitive dysfunction in two animal models.

In **chapter 2**, we investigated LRP1 expression in epilepsy and its relation to brain  $A\beta$  accumulation. Reduced capillary LRP1 expression was observed in human and rat epileptogenic brain tissue. In AD patients, we also observed decreased brain capillary LRP1 expression, accompanied by high levels of brain (soluble)  $A\beta$ . In the hippocampus of epilepsy patients, we did not observe any notable accumulation of (soluble)  $A\beta$ . In addition, increased LRP1 expression was observed in hippocampal neurons and glial cells in a subset of individuals with epilepsy. These findings suggest that there are alternative mechanisms for  $A\beta$  clearance mechanisms besides LRP1 and that  $A\beta$  plays a less prominent role than suggested in some previous studies.

In **Chapter 3**, we investigated the effects of inducible knockout (KO) of brain endothelial LRP1 on epileptiform activity in the 5xFAD mouse model using hippocampal electroencephalography (EEG). In control mice, brain endothelial

LRP1KO triggered epileptiform spikes without inducing seizures. In 5xFAD mice, some animals exhibited seizures in addition to frequent spikes. However, brain endothelial LRP1KO did not cause a further increase in the number of spikes in these mice. Furthermore, we observed that in control mice, brain endothelial LRP1KO was associated with gliosis, without increasing (soluble) A $\beta$  levels in the brain. However, in 5xFAD mice, brain endothelial LRP1KO did not worsen neuropathology compared to 5xFAD control mice. These results indicate that brain endothelial LRP1 contributes to the increased spike frequency, presumably via gliosis-related processes, rather than through A $\beta$  accumulation.

In **chapter 4**, we investigated the effects of inducible brain endothelial LRP1KO on cognitive dysfunction in the 5xFAD mouse model. In control mice, brain endothelial LRP1KO was associated with cognitive dysfunction. These results highlight the importance of brain endothelial LRP1. However, brain endothelial LRP1KO in 5xFAD mice did not further impair cognitive function. Additionally, we observed altered expression of hippocampal proteins related to neuroplasticity and cognition in these mice. Further research is needed to elucidate the precise mechanisms by which reduced LRP1 affects brain plasticity and cognition.

Finally, **chapter 5** summarizes the main findings of this thesis. Taken together, we show in this thesis that LRP1 is downregulated at the BBB in both experimental epilepsy and patients with epilepsy. Furthermore, inducible knockout of brain endothelial LRP1 in transgenic mice leads to epileptiform activity and cognitive dysfunction associated with gliosis rather than brain A $\beta$  accumulation or the increase of its soluble form. Future research should focus on therapeutic strategies aimed at preventing or restoring the loss of brain endothelial LRP1, potentially reducing epilepsy and cognitive decline.

## Nederlandse samenvatting

### **Op het kruispunt van epilepsie en de ziekte van Alzheimer:**

#### **Onderzoek naar de rol van LRP1 in de bloedvaten van de hersenen**

Er zijn aanwijzingen dat patiënten met epilepsie een verhoogd risico hebben op het ontwikkelen van de ziekte van Alzheimer. Ook komt epilepsie relatief vaker voor bij mensen met de ziekte van Alzheimer, mogelijk als gevolg van neuronale hyperexcitabiliteit en structurele hersenveranderingen die gepaard gaan met neurodegeneratie. Bovendien kan epileptiforme activiteit mogelijk zelfs de progressie van de ziekte van Alzheimer versnellen. Het managen van epileptiforme activiteit is daarom cruciaal. Toch bereikt ongeveer een derde van alle patiënten met epilepsie geen aanvalsvrijheid met behulp van medicijnen tegen epileptische aanvallen. Hoewel epilepsie bij oudere patiënten vaak effectief kan worden behandeld met een initiële monotherapie, is een aanzienlijk deel therapie resistent. Dit leidt tot een verminderde kwaliteit van leven en een verhoogd risico op aanval-gerelateerde verwondingen in deze kwetsbare groep. Het begrijpen van de neurobiologische mechanismen die ten grondslag liggen aan epilepsie en cognitieve dysfunctie is essentieel voor het ontwikkelen van nieuwe behandelingen. De aandoeningen vertonen tot op zekere hoogte overlappende aspecten, zoals epileptiforme activiteit, cognitieve dysfunctie, en neuropathologische veranderingen zoals celdood, gliose en neuroinflammatie. Ook is de ophoping van amyloïd- $\beta$  ( $A\beta$ ) in de hersenen, een neuropathologisch kenmerk van de ziekte van Alzheimer, waargenomen bij (een deel van) patiënten met temporale kwabepilepsie (TLE). De *low-density lipoprotein receptor-related protein 1* (LRP1) in brein endotheelcellen is een multifunctionele transmembraanreceptor die betrokken is bij vele fysiologische processen, waaronder het opruimen van  $A\beta$  in de hersenen via de bloed-hersenbarrière (BBB). De expressie van LRP1 in hersencapillairen neemt af tijdens veroudering en bij de ziekte van Alzheimer. In dit proefschrift hebben we de expressie van LRP1 in de hersenen van mensen met epilepsie en de ziekte van Alzheimer bestudeerd en het effect van het uitschakelen van LRP1 in brein endotheelcellen op epileptiforme activiteit en op cognitieve dysfunctie in twee diermodellen onderzocht.

**Hoofdstuk 2** richt zich op de expressie van LRP1 bij epilepsie en de relatie met  $A\beta$  ophoping in de hersenen. Een verminderde hoeveelheid van LRP1 in capillairen werd waargenomen in de hersenen van mensen en ratten met epilepsie. We observeerden in de hersenen van patiënten met de ziekte van Alzheimer ook een verminderde hoeveelheid LRP1 in capillairen en een grote hoeveelheid (oplosbaar)  $A\beta$ . In de hippocampus van mensen met epilepsie was er geen duidelijke ophoping van (oplosbaar)  $A\beta$ . Daarnaast werd er een verhoogde hoeveelheid LRP1 gevonden in hippocampale neuronen en gliacellen in een subgroep van mensen met epilepsie. Deze bevindingen suggereren dat er naast LRP1 ook alternatieve mechanismen zijn

voor het opruimen van A $\beta$  en dat A $\beta$  een minder prominente rol speelt bij epilepsie dan wordt gesuggereerd in sommige eerdere studies.

In **Hoofdstuk 3** hebben we de effecten van het uitschakelen van LRP1 specifiek in hersen-endothelcellen op epileptiforme activiteit in het 5xFAD-muismodel onderzocht, waarbij gebruik werd gemaakt van hippocampale elektroencefalografie (EEG) registraties. In controle muizen veroorzaakte het uitschakelen van LRP1 epileptiforme spikes, maar geen epileptische aanvallen. In de 5xFAD muizen kwamen naast spikes bij een deel van de dieren wel aanvallen voor. Het uitschakelen LRP1 in deze groep muizen veroorzaakte echter geen verdere toename in het aantal spikes. Daarnaast observeerden we dat in controle muizen het uitschakelen van LRP1 in brein endothel cellen samenging met gliose, zonder een toename van de hoeveelheid (oplosbaar) A $\beta$  in het brein. Bij de 5xFAD muizen veroorzaakte het uitschakelen van LRP1 in het brein endothel echter geen verergering van de neuropathologie ten opzichte van 5xFAD controle muizen. Deze resultaten wijzen erop dat LRP1 in het cerebrale endothel bijdraagt aan de verhoogde frequentie van spikes, vermoedelijk via gliose-gerelateerde processen, en niet zozeer door de ophoping van A $\beta$ .

In **hoofdstuk 4** onderzochten we de invloed van het uitschakelen van LRP1 in het brein endothel op cognitieve dysfunctie in het 5xFAD muismodel. Het uitschakelen van LRP1 in het brein endothel bij controlemuizen ging gepaard met cognitieve dysfunctie. Deze resultaten benadrukken het belang van LRP1 in brein endothel. In 5xFAD muizen veroorzaakte het uitschakelen van LRP1 in het brein endothel echter geen verdere verslechtering van de cognitieve functie. Daarnaast observeerden we in de hippocampus veranderingen in de hoeveelheid eiwitten die gerelateerd zijn aan neuroplasticiteit en cognitie in deze muizen. Verdere studies zijn nodig om de precieze mechanismen te achterhalen hoe het uitschakelen van LRP1 de hersenplasticiteit en cognitie kan beïnvloeden.

Tot slot staan in **hoofdstuk 5** de belangrijkste bevindingen van dit proefschrift. Samengevat laten we in dit proefschrift zien dat de hoeveelheid LRP1 in het brein endothel is verminderd bij zowel experimentele epilepsie als bij patiënten met epilepsie. Tevens hebben we geobserveerd dat het uitschakelen van LRP1 in het brein endothel van transgene muizen leidt tot epileptiforme activiteit en cognitieve dysfunctie geassocieerd met gliose en niet zozeer met de hersen ophoping van A $\beta$  of toename van de oplosbare A $\beta$  vorm. Toekomstig onderzoek zou zich moeten richten op therapeutische strategieën die het verlies van LRP1 in het brein endothel zou kunnen voorkomen of herstellen, zodat dit mogelijk epilepsie en cognitieve achteruitgang kan verminderen.

## Dankwoord (Acknowledgements)

Graag wil ik iedereen bedanken die mij op welke manier dan ook in de afgelopen jaren heeft geholpen bij maken van dit proefschrift. Jullie steun, vertrouwen en hulp hebben mij enorm geholpen.

Mijn promotor, Dr. Van Vliet, **Erwin**, dankjewel dat jullie mij de kans hebben gegeven om een promotietraject te doen. Ondanks jouw drukke agenda door je functie als onderwijsdirecteur bij de bachelor Psychobiologie, hebben we in het lab samen vele operaties uitgevoerd bij het SILS en microscoopessies gehad op het AMC. Daarnaast zijn we op veel congressen geweest en organiseerden we samen een sessie op de Dutch Neuroscience meeting. Na talloze e-mails van jou met interessante papers, overleggen, en feedback is dit proefschrift nu dan echt afgerond. Jouw positiviteit en optimisme werken aanstekelijk. Bedankt voor je support, hulp en vertrouwen in mij. Ik wens jou, Linda, Nikki, Tess, Oreo, Liam, kippen, katten en schapen veel geluk toe!

Dr. Gorter, **Jan**, bedankt voor jouw scherpe blik, hulp, feedback en alle inzichten die hebben bijgedragen aan dit proefschrift. Ik vond het leuk om te mogen helpen bij het lesgeven op de UvA, zoals bij het regenwormen practica om de effecten van anti-epileptica op de elektrische signalen van de zenuwen te testen. Bedankt voor alles!

Prof. Aronica, **Eleonora**, bedankt dat ik altijd welkom was op het AMC om de hersenen van patiënten en muizen breintjes te bestuderen onder de microscoop. Ik heb genoten van de EpiEpiNet meeting die ik mocht bijwonen in Lissabon. Bedankt dat ik welkom was bij de kerstdiners op het AMC, voor je hulp en support tijdens de PhD!

Prof. Kessels, **Helmut**, bedankt voor mijn tijd bij jou in het lab op het SILS. Het begon allemaal wat vreemd, omdat ik 1 maand voor de pandemie begon aan mijn PhD. Na heel wat online labmeetings, hebben we gelukkig toch de EEG en Phenotyper experimenten kunnen uitvoeren. Bedankt voor je feedback en support de afgelopen jaren!

Dear doctoral committee, Prof. **Paul Lucassen**, Prof. **Sandrine Florquin**, Dr. **Harm Krugers**, Prof. **Claus Pietrzik**, and Prof. **Jaap van Buul**. Thank you for your time and effort to read my thesis and I look forward to discussing it with you.

Lieve **Karin**, we begonnen dapper samen aan het EEG project, maar helaas konden we het niet samen afmaken. Het waren lange dagen in het lab die ook veel voorbereiding van ons vroegen, zoals het solderen van de elektrodes. Elke

labmeeting deed jij vanuit je geliefde muziekstudio met je professionele microfoons haha. We hebben elkaar nog veel gesproken en dat waardeer ik heel erg. Ik hoop dat jij ook binnenkort je proefschrift kan afronden. En ik wens je alle succes toe!

Lieve **Riëtte**, al sinds onze bachelor zijn we vriendinnen en gelukkig kwam je na een aantal jaar in het buitenland te hebben gewoond weer terug naar Nederland. Nu hebben we beide onze kattenvriendjes en zijn we zelfs collega's. Tijdens de pandemie heb ik genoten van onze etentjes en de tennislessen samen met de andere meiden. Bedankt dat ik altijd op jou support kan rekenen!

Dear **Anais**, thank you for supporting me throughout the PhD journey. We've shared so many fun moments at conferences, from practicing my presentation late at night in the hotel room to enjoying the treats you brought from Spain, your homemade sweets, and coffee breaks. I'm so proud of you, and I wish you the best of luck as you finish your own PhD journey.

Alle collega's van het **SILS**, **Thije**, **Léa**, **Lucas**, bedankt voor alle lunchmomentjes, borrels, ONWAR meetings, andere gezellige SILS spelletjes activiteiten samen en de hulp bij het EEG experiment. Ik hoop dat jullie ook snel een mooi PhD boekje zullen afhebben en wil jullie daar veel succes bij wensen! **Georgia**, we started at the same time and I enjoyed our time together, I wish you all the best! **Niek**, bedankt dat ik bij jou altijd terecht kon met vragen. We zijn samen naar FENS in Parijs geweest, dat was ontzettend leuk! **Kim**, **Anne**, **Caitlin**, ik vond het erg fijn om met jullie samen te werken, bedankt voor jullie hulp en harde werk! **Max**, **Iris**, jullie zijn pas net begonnen aan de PhD journey, dus ik wil jullie veel succes wensen. **Marene**, bedankt voor je hulp met  $\Delta$ FosB! **Taco**, **Marlies**, **Natalie**, **Pascal**, **Sylvie**, **Bart**, **Wim**, **Gavin**, **Rob**, en alle andere mensen van het **SILS**, dank voor alle hulp in het lab, labmeetings, journal clubs en borrels!

Alle collega's van het **AMC**, **Lucia**, **Alessia**, **Mirte**, **James**, **Diede**, **Till**, dank dat ik altijd welkom was, alle lunches en voor jullie hulp in het lab! **Jasper**, mega bedankt voor je hulp met alle kleuringen en het snijden van de breintjes. **Mark**, dankjewel voor de gezelligheid op kantoor, in het lab en succes met de postdoc. **Roos**, dankjewel voor je gezelligheid en ik wens je nog heel veel succes met alles! **Hester**, we leerden elkaar kennen tijdens mijn stage bij Nutricia, daar hebben we een hele leuke tijd samen gehad. Ik kijk uit naar je verdediging. Ik wens jou, Nora, Joris en Sascha alle geluk toe! Alle collega's van **Nutricia**, bedankt voor mijn tijd bij jullie waarin ik zoveel heb geleerd dat van pas kwam tijdens de PhD.

Beste Prof. **Charlotte Teunissen**, **Lynn**, bedankt voor de hulp bij het MesoScale Discovery experiment! Dear Prof. **Claus Pietrzik**, thank you for supporting us with the transgenic mice and joining us at the conference session.

Lieve jaarclub meiden, **JC F'elle, Bieb, Cel, Char, Es, Jip, Juul, Lee, Lot, Mies, Nien, Ries, San**, en **Spits**, en alle **+1's**, dankjewel dat jullie er altijd voor me zijn en me steunen wanneer ik het nodig heb. Ik ben heel dankbaar voor alle leuke dingen die we samen doen, alle clubweekenden en vakanties, zoals de mooie reis die we samen hebben gemaakt naar Colombia. Love you!

Lieve **vrienden** en **vriendinnen**, **(St)haut #PROFEBO, Aniek, Anne, Bas I, Bas T, Bram, Eefje, Eva, Floor, Marleen, Merel, Michiel, Mirt, Corstian, Jose**, alle **aanhang, Coen & Das**, bedankt voor alle leuke momenten, festivals, vakanties en weekendjes weg samen!

**Maxime**, we kennen elkaar al zo lang, dankjewel dat je er altijd weer voor me bent!

Dr. **Ilia**, my first research internship was with you at the UMC Utrecht, and I'm grateful that our friendship has lasted ever since. I'm so proud of you for completing your PhD journey. I'm looking forward to all the cooking experiments we'll keep having together in the kitchen and to spending time with our beloved pet-friends.

Lieve collega's van **ZonMw**. Sinds vorig jaar ben ik bij jullie komen werken en ik heb het heel erg naar mijn zin, bedankt voor alle gezelligheid!

Lieve **Joyce, Armand**, en de paarden **Bless, Zodi** en **Tom**. Ik ben heel dankbaar dat ik de afgelopen jaren altijd welkom was bij jullie op het land bij de tomatenplanten, de kippen, en voor onze koffiemomentjes!

Lieve **familie, Oma, Loes, Ernst, Ruud, Carol**, bedankt voor jullie support de afgelopen jaren en dat jullie altijd in mij geloven. Lief **zusje, Marjolein**, de afgelopen jaren hebben we veel tijd samen doorgebracht en ik ben daar erg dankbaar voor. Ik ben trots op je! **Pap**, bedankt voor je support en dat je altijd voor mij klaar staat. **Mam**, bedankt voor al je ondernemingen om mij als kind zoveel te leren, alle sport- en muzieklessen. Ik ben dankbaar voor de kansen die ik heb gekregen mede door jullie allemaal.

Mijn lief, **Jor**, jij bent echt mijn steun en toeverlaat geweest de afgelopen jaren. Jij leefde mee met elk experiment, vele presentaties en het hele proces van dit proefschrift in elkaar zetten. Ik ben heel dankbaar voor de reis naar Peru en Bolivia die we vorig jaar hebben gemaakt. Samen met onze lieve kater **Moos** genieten we van het leven. Ook al jouw lieve **vrienden**, je **hockeyteam**, je **familieleden, Co & Joop** wil ik bedanken voor het meeleven met mijn PhD journey en alle gezelligheid de afgelopen jaren. De reis die we samen met jouw ouders, **Steeff, Sas, Owen & Vince** hebben gemaakt naar Schotland zal ik nooit vergeten.





