



UvA-DARE (Digital Academic Repository)

Breaking the vicious cycle of epileptogenesis

Focus on brain inflammation and matrix metalloproteinases

Broekaart, D.W.M.

Publication date

2020

Document Version

Other version

License

Other

[Link to publication](#)

Citation for published version (APA):

Broekaart, D. W. M. (2020). *Breaking the vicious cycle of epileptogenesis: Focus on brain inflammation and matrix metalloproteinases*.

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, Singel 425, 1012 WP Amsterdam, The Netherlands. You will be contacted as soon as possible.

CHAPTER

10

Nederlandse samenvatting

Nederlandse samenvatting

Epilepsie is een hersenziekte waar momenteel 65 miljoen mensen wereldwijd aan leiden en wordt gekarakteriseerd door een voortdurende predispositie voor het optreden van epileptische aanvallen. Epilepsie kan optreden bij een heterogene groep van hersenziekten veroorzaakt door diverse factoren, waaronder genetische mutaties en hersenbeschadigingen ten gevolge van trauma, hersenbloeding of status epilepticus (SE). Het proces dat leidt tot de ontwikkeling van epilepsie en de progressie van epilepsie nadat spontane aanvallen optreden, wordt epileptogenese genoemd. Tijdens deze periode treden verscheidene neurobiologische veranderingen op die resulteren in een verlaagde drempel voor aanvalsactiviteit. Patiënten zijn voornamelijk afhankelijk van anti-epileptica, maar helaas heeft meer dan 30% van de patiënten hier geen baat bij. Bovendien bestaat tot op heden geen behandeling om epilepsie te voorkomen of te genezen. Er is daarom een urgente behoefte aan nieuwe behandelingen die zich richten op het verminderen of het stoppen van de ontwikkeling van epilepsie. Eén van de meest belangrijke pathologische karakteristieken die gevonden wordt in het epileptogene brein is de activatie van het inflammatoire systeem. Bovendien leidt schade aan de bloed-hersen barrière (BHB) tot extensieve activatie van inflammatoire processen en verhoogt het de prikkelbaarheid van neuronen. Eiwitten die de extracellulaire matrix (ECM) kunnen reguleren, zoals matrix metalloproteinasen (MMP's), spelen ook een belangrijke rol in de regulatie van het inflammatoire systeem en in de integriteit van de BHB. In dit proefschrift, hebben we de betrokkenheid van het inflammatoire systeem, dysfunctie van de BHB en dysregulatie van de ECM bestudeerd tijdens epileptogenese om zo nieuwe therapeutische doelwitten te identificeren. Bovendien hebben we meerdere therapeutische strategieën onderzocht met behulp van *in vitro* en *in vivo* modellen van epilepsie.

In **hoofdstuk 2** hebben we de betrokkenheid van het aangeboren en het verworven immuunsysteem bestudeerd in temporaalkwabepilepsie en tijdens epileptogenese. We zagen een hoge expressie van verschillende markers van het aangeboren immuunsysteem, wat er op wijst dat het aanhoudend geactiveerd is in temporaalkwabepilepsie. Bovendien was de verhoogde expressie van een aantal markers gerelateerd aan het aantal spontane aanvallen in het post-SE rat model. Dit suggereert dat het aangeboren immuunsysteem kan bijdragen aan epileptogenese, mogelijk door verhoogde permeabiliteit van de BHB, terwijl het verworven immuunsysteem een minder prominente rol speelt.

In **hoofdstuk 3** en **4** hebben we het (immuno)proteasoom bestudeerd, dat verantwoordelijk is voor intracellulaire afbraak van eiwitten en betrokken is bij neuroinflammatie. Er werd hoge expressie gevonden van zowel de constitutieve en geïnduceerde subeenheden van het (immuno)proteasoom in de hippocampus van patiënten met temporaalkwabepilepsie en in patiënten met malformaties van corticale ontwikkeling (MCO), waaronder focale corticale dysplasie en tubereuze sclerose complex (TSC). Bovendien was de hoge expressie gecorreleerd met de hoeveelheid aanvallen in

MCO-patiënten. Omdat de mTOR (mammalian target of rapamycin) signaleringsroute geactiveerd is in deze pathologieën, hebben we onderzocht of het remmen van mTOR met rapamycine de expressie van het (immuno)proteasoom kan beïnvloeden. We zagen dat rapamycine de door inflammatie verhoogde expressie van (immuno)proteasome subeenheden kon verlagen in een celweek. In post-SE ratten leidde behandeling met rapamycine tot zowel minder epileptische aanvallen als verlaagde (immuno)proteasome expressie. Dit laat zien dat de mTOR signaleringsroute een interessant doelwit kan zijn voor zowel genetische als aangeworven epilepsie.

In **hoofdstuk 5, 6 en 7**, bestudeerden we de expressie van verschillende MMP's; ECM regulatoire eiwitten die betrokken zijn bij inflammatie en regulatie van de BHB en een belangrijke rol lijken te spelen bij de ontwikkeling van epilepsie. We zagen verhoogde RNA en eiwit expressie van MMP₂, MMP₃, MMP₉ en MMP₁₄ samen met hun endogene inhibitoren, TIMP's, in chirurgisch verkregen hippocampi van medicatieresistente temporaalkwabepilepsie patiënten. Deze verhoogde expressie kwam ook voor in corticale tubers van TSC-patiënten, waar het geassocieerd was met BHB-beschadiging. Bovendien was verhoogde MMP-expressie ook waar te nemen in het post-SE rat model zowel voor als na het tot stand komen van spontane aanvallen. Dit geeft aan dat de dysregulatie van het MMP/TIMP proteolytisch systeem niet alleen klinisch relevant is, maar ook een interessante tijdspanne heeft waarin behandeling mogelijk is. In **hoofdstuk 5 en 6** is het therapeutisch potentieel van de inflammatie-geassocieerde microRNA's (miRNA's) 155, 146a en 147b bestudeerd. In celculturen van astrocyten afkomstig van TSC tubers, zorgde overexpressie van de anti-inflammatoire miR146a of miR147b tot een afname van de door inflammatie verhoogde MMP₃ expressie en tot een toename van de door inflammatie verlaagde TIMP expressie. In humane foetale astrocyten leidde inhibitie van de pro-inflammatoire miR155, die verhoogd aanwezig is in het epileptogene brein, tot een afname van door inflammatie verhoogde MMP₃ expressie. Deze data laten zien dat miRNA's als potentieel therapeutische strategie kunnen dienen voor pathologieën waar herseninflammatie en ECM dysregulatie aanwezig zijn, zoals epilepsie.

De effecten van MMP-inhibitie zijn verder onderzocht in **hoofdstuk 7**, waar de nieuwe MMP_{2/9} remmer IPR-179 is getest in twee *in vivo* modellen van epilepsie. In het rapid kindling rat model leidde behandeling met IPR-179 tot minder ernstige epileptische aanvallen tijdens de kindling fase. In afwezigheid van het middel, lieten dieren die eerder behandeld waren met IPR-179 een permanente verlaging van aanvalshevigheid zien, wat suggereert dat het middel een anti-epileptogeen effect heeft. In het intrahippocampaal kainaat muis model leidde IPR-179 behandeling tot een afname in aanvalsduur en tot een vermindering van het aantal aanvallen. Bovendien waren deze effecten nog steeds meetbaar 7 weken nadat de IPR-179 behandeling was gestaakt. Daarnaast kon de aanvalsgéïnduceerde cognitieve achteruitgang sterk worden verminderd in IPR-179 behandelde muizen. Deze behandeling had geen negatieve bijwerkingen in beide diersmodellen. Dit geeft aan dat

IPR-179 een veelbelovende MMP-remmer is die zowel anti-ictogene als anti-epileptogene effecten heeft, zonder negatieve bijverschijnselen. Momenteel wordt deze remmer verder ontwikkeld met als doel het in klinische testen verder te onderzoeken.

De bevindingen van deze studies zijn bediscussieerd in **hoofdstuk 8**. Samengevat laat dit proefschrift zien dat neuroinflammatoire processen, BHB-integriteit en ECM-regulatie belangrijke rollen spelen in de ontwikkeling en de progressie van epilepsie. Er zijn verschillende potentiële targets geïdentificeerd, zoals het aangeboren immuunsysteem, het (immuno)proteasoom en diverse MMP's. Tevens zijn verscheidene therapeutische doelwitten geëvalueerd met behulp van zowel *in vitro* als *in vivo* modellen. De mTOR remmer rapamycine, microRNA 155, 146a en 147b en de MMP-inhibitor IPR-179 zijn veelbelovende therapeutische strategieën die verder bestudeerd kunnen worden in (pre)klinische studies.