

Stimulating fits

Citation for published version (APA):

Rijkers, K. (2011). *Stimulating fits*. [Doctoral Thesis, Maastricht University]. Datawyse / Universitaire Pers Maastricht. <https://doi.org/10.26481/dis.20110114kr>

Document status and date:

Published: 01/01/2011

DOI:

[10.26481/dis.20110114kr](https://doi.org/10.26481/dis.20110114kr)

Document Version:

Publisher's PDF, also known as Version of record

Please check the document version of this publication:

- A submitted manuscript is the version of the article upon submission and before peer-review. There can be important differences between the submitted version and the official published version of record. People interested in the research are advised to contact the author for the final version of the publication, or visit the DOI to the publisher's website.
- The final author version and the galley proof are versions of the publication after peer review.
- The final published version features the final layout of the paper including the volume, issue and page numbers.

[Link to publication](#)

General rights

Copyright and moral rights for the publications made accessible in the public portal are retained by the authors and/or other copyright owners and it is a condition of accessing publications that users recognise and abide by the legal requirements associated with these rights.

- Users may download and print one copy of any publication from the public portal for the purpose of private study or research.
- You may not further distribute the material or use it for any profit-making activity or commercial gain
- You may freely distribute the URL identifying the publication in the public portal.

If the publication is distributed under the terms of Article 25fa of the Dutch Copyright Act, indicated by the "Taverne" license above, please follow below link for the End User Agreement:

www.umlib.nl/taverne-license

Take down policy

If you believe that this document breaches copyright please contact us at:

repository@maastrichtuniversity.nl

providing details and we will investigate your claim.

Summary

Summary

Vagus nerve stimulation (VNS) is used to treat medically refractory epilepsy. Despite years of research it is still not clear why patients develop epileptic seizures and why VNS can reduce these seizures. The aims of this research were to gain more insight into the pathophysiology of epilepsy and into VNS. With regard to epilepsy, two factors that may be involved in the development of seizures were investigated: interleukin-1 beta (IL-1 β) and calcium. With regard to VNS a clinically relevant animal model was developed in which the mechanism of action of VNS can be studied.

Pathophysiology of epilepsy

Several mechanisms appear to play a role in the pathophysiology of epilepsy. The role of the pro-inflammatory cytokine IL-1 β is suspected to be important, but based on the scientific literature so far available it cannot be concluded that IL-1 β is critically involved in epilepsy or epileptogenesis (**CHAPTER 2**). The suspected role of IL-1 is mainly based on animal studies using different models that mimic epilepsy or seizures. The most important findings of these studies are that IL-1 β is expressed after a seizure and that seizures can be reduced by blocking IL-1 β . In contrast to these studies we were unable to detect IL-1 β in the brains of chronic epileptic rats (**CHAPTER 3**). The lack of IL-1 β may be related to the fact that the epilepsy model we used, the amygdala kindled rat, is not associated with excitotoxic neuronal damage and associated inflammation, a phenomenon frequently encountered in the other epilepsy and seizure models.

In contrast to the suspected role of IL-1 β in epileptogenesis, research over the past 20 years has clearly shown that intracellular free calcium plays a key role in this process that transforms a healthy brain into a hyperexcitable brain. In line with this important role, neurological conditions in which high intracellular free calcium levels are present, such as stroke and traumatic brain injury, are associated with an increased risk of epilepsy. It is still unclear why some of these stroke or brain trauma patients develop epilepsy, while the majority does not. Apparently some individuals are more vulnerable to seizures than others. We observed individual variability in seizure susceptibility in two animal models as well. We have shown in these animal models that polymorphisms in the calcium-related genes CACNA1E (encoding the α 1e subunit of the voltage-gated calcium channel) and Camk2d (encoding the delta chain of calcium/calmodulin dependent kinase II) may contribute to the individual variability in seizure susceptibility (**CHAPTER 4**).

Vagus nerve stimulation

Epilepsy patients are generally treated with antiepileptic drugs. Approximately 25% of patients does not respond to these drugs and continues to have seizures; these

patients are considered to be pharmacoresistant. If curative resective neurosurgery (surgical removal of the part of the brain where the seizures originate) is not an option, patients can be treated with VNS resulting in >50% seizure frequency reduction in 11.7% of patients. VNS consists of continuous cyclic stimulation of the cervical part of the vagus nerve. For this purpose, an electrode is placed around this nerve and connected to a subcutaneously placed pulse generator. Besides this chronic effect of VNS on seizure frequency, VNS has an acute seizure suppressing effect in some patients as well. VNS has been applied in a number of experimental studies in which its anticonvulsive effectiveness has been shown. However, the animal models used do not mimic the clinical situation very well. Moreover, the experimental studies that have been conducted so far have not revealed the mechanism of action of VNS. In order to develop a clinically relevant animal model in which this mechanism of action can be studied we treated amygdala kindled rats with acute VNS. This treatment affected different seizure characteristics in a subpopulation of rats, but as in the clinical situation, not all rats responded to the treatment (**CHAPTER 5**).

After establishing the effectiveness of VNS in this kindling model, we aimed at exploring the mechanism of anticonvulsive action by investigating the level of surgery-induced and VNS-induced changes in brain stem nuclei where vagus nerve efferents originate from and where afferents project to. We observed significant changes indicative of axonal damage in the vagus nerve motor neurons as a result of vagus nerve electrode placement. We were unable to confirm VNS-induced neuronal activation, possibly due to methodological issues (**CHAPTER 6**).

In humans, side effects of VNS are common but generally mild. As a side effect of vagus nerve electrode placement in our rats we observed Horner's syndrome (**CHAPTER 7**). This syndrome is well-known after surgery in the region of the carotid artery including after vagus nerve electrode placement, but had not been described before in rats.

Conclusions

Regarding epilepsy, there appears to be an important pathophysiological role for the immune system. IL-1 β may be a player, but its key role has not been established yet. Besides the contribution of the immune system to seizure generation, the epileptogenic effect of high intracellular calcium plays an important role and genetic differences with regard to calcium homeostasis may contribute to the large variability in individual seizure susceptibility. VNS is a well-established treatment option for refractory epilepsy with moderate effects on seizure frequency. A clinically relevant animal model is available now in which the effectiveness is comparable to the clinical situation. The first explorative mechanistic studies in this model suggest that the VNS signal enters the brain but also that vagus nerve damage is likely to be present as a result of surgery and chronic electrode placement. Much more research,

preferably using chronic VNS, is needed. This research must provide more insight in VNS by understanding the mechanism of action. This may also lead to the discovery of a more effective target for anticonvulsive neuromodulation therapy.

Samenvatting

Samenvatting

Nervus vagus stimulatie (NVS) wordt gebruikt voor de behandeling van farmacotherapieresistente epilepsiepatiënten. De afgelopen tientallen jaren is er wetenschappelijk onderzoek gedaan naar de ontstaanswijze van epilepsie en naar het werkingsmechanisme van NVS. Desondanks is het nog altijd niet duidelijk waarom mensen epilepsie krijgen, noch waarom NVS deze aanvallen kan reduceren. Doel van dit onderzoek was dan ook om meer inzicht te krijgen in de pathofysiologie van epilepsie waarbij twee verschillende factoren onderzocht werden: interleukine 1 beta (IL-1 β) en calcium. Daarnaast werd een klinisch relevant diermodel voor NVS ontwikkeld, waarin het werkingsmechanisme van deze behandeling verder onderzocht kan worden.

Pathofysiologie van epilepsie

Een aantal verschillende mechanismen spelen een rol in de pathofysiologie van epilepsie. Het vermoeden bestaat dat de pro-inflammatoire cytokine IL-1 β een kritieke rol speelt. Hoewel er veel epilepsiestudies zijn waarin IL-1 β een belangrijke rol speelt, kan deze hypothese op dit moment nog niet ondersteund worden door direct wetenschappelijk bewijs (**HOOFDSTUK 2**). De hypothetische rol van IL-1 β is voornamelijk gebaseerd op proefdierstudies. In deze studies, waarin verschillende diermodellen voor epilepsie zijn gebruikt, wordt vaak verhoogde IL-1 β expressie gevonden kort na een epileptische aanval, of wordt de aanval geblokkeerd wanneer IL-1 β geblokkeerd wordt. In tegenstelling tot deze studies konden wij IL-1 β in het amygdala kindling model voor epilepsie niet aantonen (**HOOFDSTUK 3**). Mogelijkerwijs komt IL-1 β in onze studie niet tot expressie omdat het kindling model niet geassocieerd is met excitotoxiciteit, en daarmee ook niet met neuroinflammatie. Excitotoxiciteit en daarmee geassocieerde neuroinflammatie worden wel gezien in andere diermodellen voor epilepsie.

In tegenstelling tot de vooralsnog hypothetische rol van IL-1 β , is de rol van intracellulair vrij calcium bij het ontstaan van epilepsie de afgelopen 20 jaar duidelijk aangetoond. Neurologische aandoeningen waarbij hoge intracellulaire vrije calciumconcentraties voorkomen, zoals beroerte of traumatisch hersenletsel, zijn geassocieerd met een verhoogd risico op epilepsie. Het is niet duidelijk waarom sommige van de patiënten na een beroerte of ernstig hersentrauma epilepsie ontwikkelen, terwijl dit bij de meerderheid niet gebeurt. Blijkbaar zijn sommige individuen meer vatbaar voor het ontstaan van epileptische aanvallen dan anderen. In het dierexperimenteel epilepsie onderzoek worden ook individuele verschillen in aanvalssusceptibiliteit gezien. Polymorphismen in de twee calcium-gerelateerde genen CACNA1E (coderend voor een subunit van een calcium kanaal) en Camk2d (coderend voor een onderdeel van het calcium/calmoduline afhankelijk kinase II)

dragen mogelijk bij aan de individuele variabiliteit in aanvalssusceptibiliteit (**HOOFDSTUK 4**).

Nervus vagus stimulatie

Epilepsiepatiënten worden in eerste instantie behandeld met medicijnen. Uiteindelijk reageert ongeveer 25% van de patiënten niet goed op deze medicijnen en blijft aanvallen houden. Deze patiënten zijn ‘farmacotherapieresistent’. Als voor hen curatieve resectieve neurochirurgie, waarbij het epileptogene focus wordt verwijderd, geen optie is, kan deze groep behandeld worden met NVS. Dit resulteert in >50% aanvalsfrequentiereductie in 11.7% van de patiënten. NVS bestaat uit continu cyclische elektrische stimulatie van de linker nervus vagus in de hals. Hiervoor wordt een elektrode geïmplanteerd rondom deze zenuw en verbonden met een subcutaan geplaatste pulsgenerator. Naast een chronisch effect op aanvalsfrequentie kan NVS bij sommige patiënten acuut een aanval onderdrukken. NVS is een aantal keer toegepast in diermodellen. Doel van deze studies was voornamelijk de effectiviteit van NVS aan te tonen. Fundamenteel onderzoek naar het werkingsmechanisme van NVS is schaars. Tot nu toe is dan ook nog niet duidelijk waarop dit mechanisme berust. Om een klinisch relevant diermodel voor deze anticonvulsieve behandeling te ontwikkelen, werd de amygdala kindled rat behandeld met acute NVS. Dit leidde tot afname van aanvalsduur en –ernst in een aantal dieren (**HOOFDSTUK 5**). Net zoals in de klinische praktijk reageerden niet alle dieren op de behandeling met NVS.

Dit klinisch relevante diermodel voor de anticonvulsieve werking van NVS werd vervolgens gebruikt voor het bestuderen van het werkingsmechanisme. Hiertoe werd een aantal hersenstamkernen onderzocht op chirurgie-gerelateerde veranderingen en op NVS-gerelateerde veranderingen. Deze hersenstamkernen bevatten ofwel de cellichamen van de efferente zenuwvezels, of ze bevatten de uitlopers van de afferente zenuwvezels. In de cellichamen van de efferente motorneuronen werden significante veranderingen gezien die mogelijk gerelateerd zijn aan axonale schade als gevolg van elektrodeplaatsing. Het was niet mogelijk om NVS-geïnduceerde neuronale activatie in een van de kernen aan te tonen, mogelijk omwille van methodologische redenen (**HOOFDSTUK 6**).

Onder epilepsiepatiënten komen bijwerkingen van NVS frequent voor, maar over het algemeen zijn deze niet ernstig van aard. Horner’s syndroom is een zeldzame complicatie van NVS-elektrodeplaatsing in mensen. Ook bij ratten kan Horner’s syndroom optreden als gevolg hiervan. Dit syndroom is bekend na chirurgie in het gebied van de arteria carotis, maar was bij ratten nog niet eerder beschreven (**HOOFDSTUK 7**).

Conclusies

Het immuunsysteem lijkt een belangrijke rol te spelen in de pathofysiologie van epilepsie. IL-1 β zou een sleutelrol kunnen spelen, maar meer onderzoek is nodig om dit aan te tonen. Naast deze relatief recent geopperde bijdrage van het immuunsysteem, blijft een verhoogde intracellulaire calcium concentratie een belangrijke rol spelen in de epileptogenese, en genetische verschillen met betrekking tot de calcium homeostase zouden kunnen bijdragen aan de individuele verschillen in aanvalssusceptibiliteit.

NVS is een geaccepteerde behandeling voor farmacotherapieresistente epilepsie met matig goede effecten op aanvalsfrequentie. De NVS-behandelde amygdala kindled rat is nu beschikbaar als klinisch relevant diermodel waarin het werkingsmechanisme van NVS verder onderzocht kan worden. De eerste exploratieve mechanistische studie suggereert dat het NVS-signaal het brein bereikt, maar ook dat schade aan de zenuw optreedt als gevolg van plaatsing en/of van chronische aanwezigheid van de elektrode. Meer onderzoek, bij voorkeur gebruik makend van chronische NVS, is nodig om het werkingsmechanisme volledig te kunnen begrijpen. Deze kennis zou ook kunnen leiden tot de ontdekking van een meer effectieve 'target' voor anticonvulsieve neuromodulatietherapie.

