

Epigenetica: een epileptogeen mechanisme na febrile convulsies?

De cellulaire processen waardoor genen worden aan- en uitgezet, reguleren de embryonale ontwikkeling maar ook de pathofysiologische condities zoals het ontstaan van tumoren en wellicht ook epilepsie. De kennis over deze processen is recent sterk toegenomen en de werking van farmaca (waaronder anti-epileptica) hierop leidt tot nieuwe inzichten in de behandeling van epilepsie. Hier worden de epigenetische veranderingen bij epilepsie beschreven en de mogelijke rol van anti-epileptica hierin.

Epigenetica, een normaal proces!

Epigenetica, letterlijk vertaald 'op de genetica', is de studie naar biochemische processen die het aflezen van de genetische code beïnvloeden, maar de code zelf niet aanpassen. Deze veranderingen vinden bijvoorbeeld plaats tijdens de embryonale ontwikkeling. Het zorgt ervoor dat cellen differentiëren, oftewel: ondanks hetzelfde DNA verandert de functie van een cel. Veranderingen in genexpressie ontstaan doordat specifieke enzymen moleculen aan het DNA en histonen (eiwitten waar omheen het DNA is gewonden) koppelen ('schrijvers') of er juist vanaf halen ('wissers'). DNA methyltransferasen (DNMT) en histon acetyltransferasen (HAT) zijn voorbeelden van 'schrijvers', histon deacetylase (HDAC) is een voorbeeld van een 'wisser' (Jaenisch & Bird, 2003).

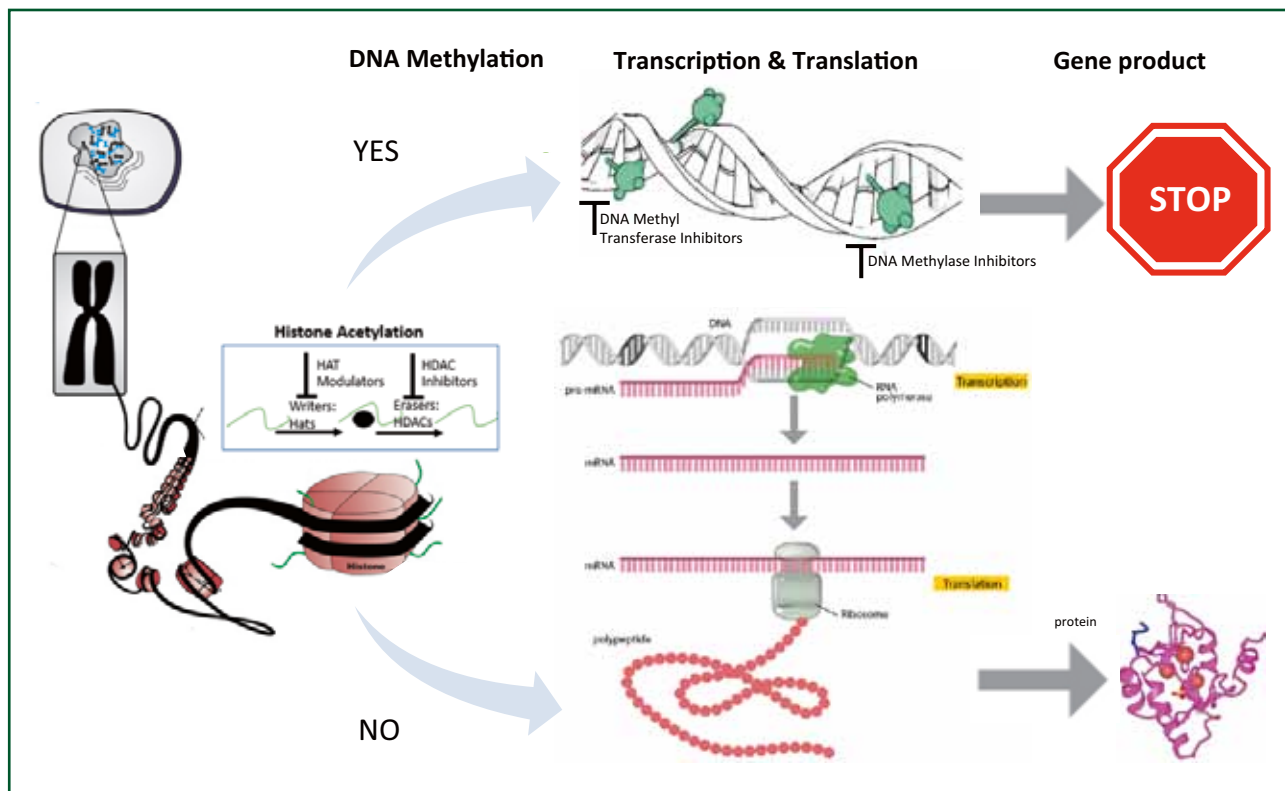
De bekendste epigenetische verandering tijdens de embryonale ontwikkeling is methylering door DNMT. Hierbij brengen DNMT subtypen 3a en 3b methylgroepen aan op het DNA (weergegeven in het groen in figuur 1); DNMT subtype 1 zorgt daarna voor het behoud van de methylgroepen op het DNA. Gemethyleerd DNA is niet meer toegankelijk voor transcriptie, oftewel: de eiwitten die betrokken zijn bij de vertaling van DNA naar boodschapper RNA (RNA polymerase, groen in figuur 1) kunnen niet meer aan het DNA binden. Als gevolg hiervan komt de eiwitproductie van het betreffende gemethyleerde gen stil te liggen (*gene silencing*). De embryonale ontwikkeling kan plaatsvinden doordat specifieke genen aan- en uitgezet worden door het respectievelijk af- en aankoppelen van methylgroepen (Jaenisch & Bird, 2003).

Een tweede epigenetisch proces wordt gereguleerd door

HAT-enzymen. Afhankelijk van de nucleotiden rondom gemethyleerd DNA kunnen HAT-enzymen wel of niet binden. Bij binding veranderen de HAT-schrijvers de structuur van histonen door er een acetylgroep op aan te brengen. De mate waarin DNA is opgevouwen bepaalt de toegankelijkheid en daarmee de afleesbaarheid van het DNA. Acetylering van histonen leidt tot ontvouwing van de DNA-structuur, waardoor genexpressie kan plaatsvinden. Dit proces kan worden omgekeerd door HDAC-enzymen, die acetylgroepen weer verwijderen, waardoor het DNA weer opvouwt en de genexpressie wordt uitgezet (Jaenisch & Bird, 2003). De verhouding van deze en andere epigenetische processen (epigenetisch profiel) is voor elk individu anders, is (deels) overerfbaar en kan veranderen door externe factoren zoals leefstijl, dieet, psychisch trauma en medicatie.

Epigenetica en epilepsie

Na de embryonale fase is de novo methylatie niet meer nodig voor de verdere ontwikkeling. Indien de novo methylatie toch plaatsvindt, verandert dit het epigenetisch profiel en daarmee (voorheen stabiele) genexpressiepatronen. Deze epigenetische veranderingen lijken een rol te spelen in de pathofysiologie van tumoren en verschillende neurologische aandoeningen, waaronder multiple sclerose, amyotrofische laterale sclerose, de ziekte van Huntington en epilepsie (Petronis, 2001). Zo worden tumoren vaak gekenmerkt door een verhoogde methylatiestatus. Deze hypermethylering leidt tot het inactiveren van tumor *suppressor* genen en daarmee tot selectieve groei van tumorcellen. Echter, een verlaagde methylatiestatus



Figuur 1 Weergave hoe epigenetische processen de expressie van genen reguleren. DNA methyltransferase is een enzym dat bindt aan delen van het DNA waar veel cytosine en guanine basen voorkomen (meestal stroomopwaarts van genen). De enzymatische reactie bestaat uit het koppelen van methylgroepen aan cytosine basen. Afhankelijk van hun naburige nucleotiden kunnen de gemethyleerde cytosinen herkend worden door het enzym histon-acetyltransferase (HAT) of histon-deacetylase (HDAC), die respectievelijk een acetylgroep aan de lysine aminozuren van histonen koppelen dan wel verwijderen. In het algemeen leidt acetylering van histonen tot activatie van DNA transcriptie en daarmee tot eiwitsynthese. Stoffen die de werking van deze enzymen veranderen worden momenteel onderzocht op hun mogelijk anti-epileptisch/anti-epileptogenetisch effect (Younus & Reddy, 2017).

kan ook leiden tot een ongeremde deling van tumorcellen als die plaatsvindt op oncogenen, die daardoor verhoogd tot expressie komen.

Er is tot nu toe weinig bekend over het epigenetisch profiel van patiënten met epilepsie (Henshall & Kobow, 2015). Eén van de eerste genomewijde analyses op hersenweefsel van patiënten met temporaalkwabepilepsie heeft aangetoond dat het methylatiepatroon van 146 genen is veranderd. Dat wil zeggen, bij 119 van deze genen is de promotor verhoogd gemethyleerd. Van deze 119 genen blijken er tien die alleen in mild sclerotische hippocampi gehypermethyleerd zijn en 46 die alleen in ernstig sclerotische hippocampi gehypermethyleerd zijn. In mild sclerotische hippocampi zijn de genen met een veranderde methylatiegraad met name betrokken bij neurale ontwikkeling, remodelering en maturatie van cellen (Miller-Delaney et al., 2015). Zoals besproken door de auteurs is er een aantal beperkingen aan deze studie (bijvoorbeeld groepsgrootte, mogelijk effect anti-epileptica, mogelijk effect post-mortem interval in autopsie controles) en dient deze eerste bevinding daarom gevalideerd te worden in een ander, groter cohort. Ook de hoeveelheid en activiteit van DNMT en de relatie hiervan tot de methylatiestatus van DNA is

nauwelijks onderzocht. In een dergelijke studie hebben Zhu et al. (2012) verhoogde hoeveelheden van het de novo methylerend enzym DNMT3a en het 'onderhouds' methylerend enzym DNMT1 gevonden in de neocortex van patiënten met temporaalkwabepilepsie. Als 'controle' werd hiervoor histologisch normaal neocortex weefsel gebruikt dat verkregen was ten tijde van de neurochirurgische behandeling van patiënten met intracranieële hypertensie. In een soortgelijke studie, zijn vergelijkbare resultaten gevonden (De Nijs et al., 2019). Als controle werd post-mortem verkregen neocortex- en hippocampusweefsel gebruikt van mensen waarbij tot het moment van overlijden geen neurologische aandoening was gediagnosticeerd (n=10). Binnen de temporaalkwabepilepsie patiëntgroep werden patiënten zonder hippocampus sclerose (n=14), met hippocampus sclerose (n=10) en met hippocampus sclerose plus febrile convulsies in de voorgeschiedenis (n=13) als aparte groepen geanalyseerd. Naast een hypermethylering in de neocortex vonden we in de hippocampus van alle patiëntgroepen een hypomethylering. Deze afname van de hoeveelheid gemethyleerd DNA ging gepaard met een verlaagde expressie van het DNMT3a2 gen (figuur 2C). Opmerkelijk was dat in patiënten met febrile con-

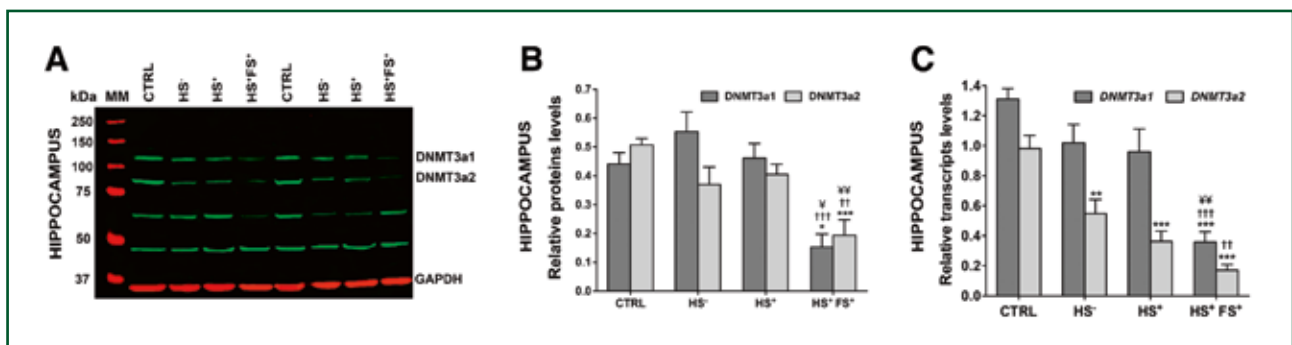
vulsies in de voorgeschiedenis niet alleen deze genexpressie het sterkst was afgenomen maar ook dat het DNMT3a2 eiwitgehalte significant was afgenomen (figuur 2A-B). Daarnaast was in deze patiënten ook de gen- en eiwitexpressie van DNMT3a1 significant afgenomen. Een post-mortem controle effect als bijdrage aan de gevonden verschillen lijkt onwaarschijnlijk, omdat er in de patiëntgroep regionaal tegenovergestelde bevindingen waren (hypermethylatie in de neocortex versus hypomethylatie in de hippocampus) en omdat patiënten met febrile convulsies in de voorgeschiedenis significant verschilden van de andere patiëntgroepen. Dit onderzoek laat zien dat de expressie van DNMT3a en de methylatiestatus sterk zijn afgenomen in de hippocampus van patiënten met temporaalkwabepilepsie en in het bijzonder in patiënten met febrile convulsies in de voorgeschiedenis. Omdat epigenetische processen niet alleen farmacologisch maar ook door dieet en leefstijl kunnen worden beïnvloed, lijkt onderzoek naar een mogelijke rol van deze processen in het ontstaan van epilepsie na febrile convulsies een logisch vervolg.

van andere anti-epileptica is nog minder bekend. Navarrete-Modesto et al. (2019) hebben onlangs in een overzichtsar-tikel beschreven hoe dertien verschillende anti-epileptica betrokken zijn bij epigenetische modificaties zoals methy-latie, expressie van DNMT en histon modificaties.

Voor de behandeling van tumoren zijn farmaca ontwikkeld die aangrijpen op epigenetische mechanismen, in het bij-zonder op de enzymactiviteit van HDAC 'wissers' en HAT 'schrijvers'. Doel hierbij is pathologische epigenetische veranderingen te remmen/normaliseren om zo tumorgroei te remmen. Dit type farmaca (waaronder DNMT- en HDAC remmers) worden nu ook getest op hun mogelijk anti-epileptisch effect.

Conclusie

Uit recent onderzoek blijkt dat het epigenetisch profiel van hersenweefsel van patiënten met temporaalkwabepilepsie regio-specifieke verschillen vertonen, vergeleken met dat van post-mortem controles zonder epilepsie. Binnen de patiëntgroep onderscheiden patiënten met febrile convulsies in de voorgeschiedenis zich door een significant



Figuur 2 DNMT3a expressie in hippocampi van mensen zonder epilepsie (CTRL), patiënten met temporaalkwabepilepsie zonder hippocampus sclerose (HS⁻), temporaalkwabepilepsie met hippocampus sclerose (HS⁺) en temporaalkwab epilepsie met hippocampus sclerose en febrile convulsies in de voorgeschiedenis (HS⁺FS⁺; De Nijs et al., 2019). A. Western blot van DNMT3a subtypen (groen) en GAPDH (rood) als referentie eiwit. B. Eiwit expressie op basis van kwantitatieve analyse Western blots, per sample genormaliseerd naar GAPDH expressie niveau. C. RNA expressie op basis van kwantitatieve analyse real-time PCR. Gemiddelden + SEM; *p < 0.05, **p < 0.01 en ***p < 0.001 significant verschillend ten opzichte van CTRL; ††p < 0.01 en †††p < 0.001 significant verschillend ten opzichte van HS; ‡p < 0.05 en ‡‡p < 0.01 significant verschillend ten opzichte van HS⁺. MM = moleculair gewicht marker.

Epigenetische veranderingen en medicatie

Een mogelijke oorzaak voor de gevonden epigenetische veranderingen bij patiënten met farmacotherapie-resistente focale epilepsie is het gebruik van anti-epileptica. Zo wordt van valproaat gedacht dat het de structuur van histonen en daarmee de afleesbaarheid van DNA verandert. Dit effect betreft met name de methylatiestatus van specifieke genen in de hippocampus (Navarrete-Modesto et al., 2019). Als activator van HDAC 'wisser' enzymen zorgt valproaat ervoor dat de histon acetylering, aangebracht door HAT 'schrijvers', ongedaan wordt gemaakt (zie ook figuur 1). Mogelijk draagt deze activiteit bij aan het anti-epileptisch effect van valproaat. Over de epigenetische effecten

verlaagde expressie van het DNA methylerend enzym DNMT3a in de hippocampus.

Onlangs zijn er aanwijzingen gevonden dat anti-epileptica epigenetische processen kunnen beïnvloeden. Of dit ook bijdraagt aan hun klinisch effect blijft vooralsnog een vraag. Vanuit oncologisch onderzoek is een aantal farmaca ontwikkeld die op epigenetische mechanismen aangrijpen. Toekomstig onderzoek zal moeten uitwijzen of deze experimentele farmaca ook als anti-epilepticum kunnen dienen.

Referenties

De Nijs L, Choe K, Steinbusch H, Schijns OEMG, Dings J, Hove van den DLA, Rutten BPF, Hoogland G (2019)

- DNA methyltransferase isoforms expression in the temporal lobe of epilepsy patients with a history of febrile seizures. *Clin Epigenetics* 2019;11:118.
- Henshall DC, Kobow K (2015) Epigenetics and Epilepsy. *Cold Spring Harb Perspect Med* 2015;5(12):a022731.
- Jaenisch R, Bird A (2003) Epigenetic regulation of gene expression: how the genome integrates intrinsic and environmental signals. *Nature genetics* 2003;33:245.
- Miller-Delaney SE, Bryan K, Das S, McKiernan RC, Bray IM, Reynolds JP, Gwinn R, Stallings RL, Henshall DC (2015) Differential DNA methylation profiles of coding and non-coding genes define hippocampal sclerosis in human temporal lobe epilepsy. *Brain* 2015;138(3):616-631.
- Navarrete-Modesto V, Orozco-Suárez S, Feria-Romero IA, Rocha L (2019) The molecular hallmarks of epigenetic effects mediated by antiepileptic drugs. *Epilepsy research* 2019;149:53-65.
- Petronis A (2001) Human morbid genetics revisited: relevance of epigenetics. *Trends in Genetics* 2001;17(3):142-146.
- Younus I, Reddy DS (2017) Epigenetic interventions for epileptogenesis: a new frontier for curing epilepsy. *Pharmacology & therapeutics* 2017;177:108-122.
- Zhu Q, Wang L, Zhang Y, Zhao FH, Luo J, Xiao Z, Chen GJ, Wang XF (2012) Increased expression of DNA methyltransferase 1 and 3a in human temporal lobe epilepsy. *Journal of Molecular Neuroscience* 2012;46(2):420-426.

Door: Loretta van Iterson (l.viterson@lwoe.nl), psychologie, Stichting Epilepsie Instellingen Nederland, Heemstede, Landelijk Werkverband Onderwijs en Epilepsie (LWOE)-school De Waterlelie, Cruquius; Marian Fenenga, cluster manager, LWOE-school De Waterlelie, Cruquius.

Ambulant onderwijskundige begeleiding van kinderen met epilepsie

Neurologen diagnosticeren kinderen en jongeren met een breed spectrum aan epilepsieën, en neuropsychologen beschrijven het cognitieve beeld bij de epilepsie. Ambulant onderwijskundig begeleiders van het Landelijk Werkverband Onderwijs en Epilepsie begeleiden deze kinderen en jongeren vervolgens in het onderwijs. Ze maken de vertaalslag van wat de epilepsie, de cognitieve problemen en comorbiditeiten voor de lerende kinderen en jongeren in het onderwijs betekenen.

In het voorjaar 2019 bespraken de ambulant onderwijskundig begeleiders (a-OKB'ers) van het aan Stichting Epilepsie Instellingen Nederland (SEIN) verbonden Landelijk Werkverband Onderwijs en Epilepsie (LWOE)-De Waterlelie hun leerlingen om de bereikte en nieuwe begeleidingsdoelen vast te stellen. De dossiergegevens en besprekingen over 528 (54,2% van in totaal 974) leerlingen van 14 a-OKB'ers vormen de basis voor deze inventarisatie van epilepsiebeelden en comorbiditeiten (tabel 1). De term 'kinderen' zal worden gebruikt voor de voorschoolse en basisschoolleeftijd (3,5 tot 13 jaar, n=359), 'jongeren' voor de leeftijd van het voortgezet onderwijs (12-19 jaar, n=136) en 'studenten' voor Middelbaar Beroepsonderwijs (MBO, 16-26 jaar, n=36). Vraagstellingen zijn algemeen of specifiek en hangen af van leeftijd en type onderwijs, alsook van de zwaarte van de epilepsie. Een aantal epilepsiebeelden zal nader worden beschreven.

Vraagstellingen

Algemene vraagstellingen betreffen voorlichting over de epilepsie en de effecten van de epilepsie op school, leren en sociale en emotionele ontwikkeling. Ook zijn er begeleidingsvragen gerelateerd aan de schoolcarrière, zoals schoolkeuze. Begeleiding bij het vinden van een geschikte school wordt gevraagd bij de driejarigen, bij leerlingen in groep 8 die naar het voortgezet onderwijs gaan, of bij studenten die een geschikte opleiding en een reële stage zoeken. Daling van cognitieve vaardigheden bij langere duur van de epilepsie (van Iterson et al., 2014) kan leiden tot stagnerende schoolcarrières in basis- of voortgezet onderwijs en begeleidingsvragen naar een passende school voor speciaal onderwijs. Daarnaast helpen begeleiders bij het opstellen van een aanvalsprotocol voor school.

Comorbiditeiten

Meer specifieke vraagstellingen komen voor indien er