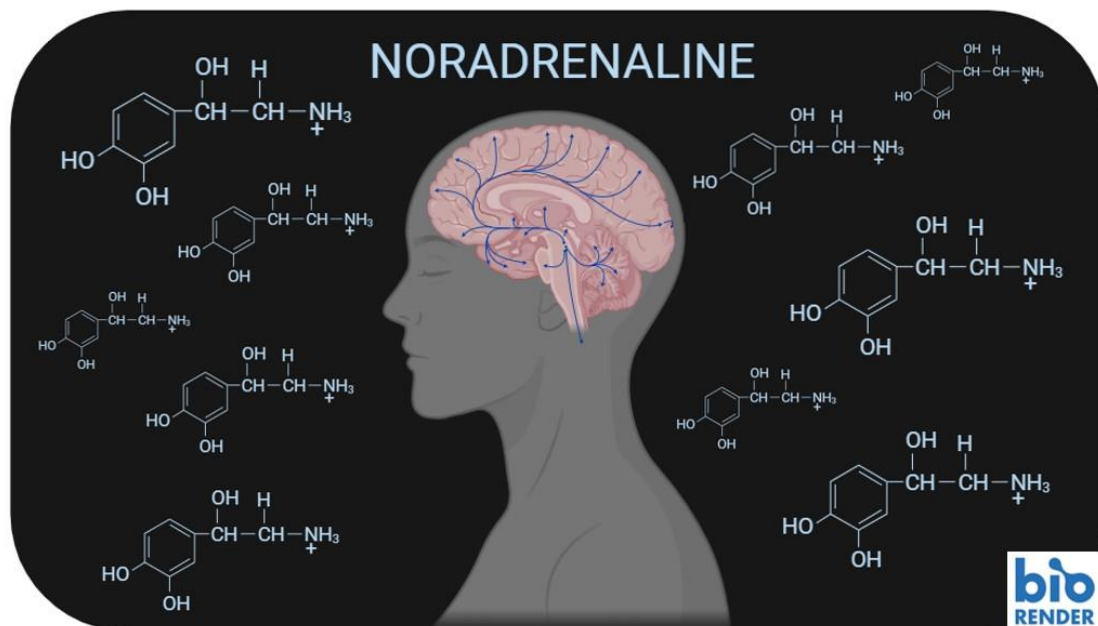


Hoe kan noradrenerge medicatie epileptische aanvallen in zebravissen onderdrukken?

Auteurs: Maïté Verstraeten en Markella Gryllionaki (Universiteit Gent, 4Brain labo). Speciale dank gaat uit naar onze promotor prof. dr. Robrecht Raedt, copromotor prof. dr. Delfien Syx en Zoë Malfait.

Wetenschappers zetten de strijd voort tegen epilepsie! Maar liefst 30% van de mensen met deze aandoening is niet geholpen met de huidige anti-epileptica. Gelukkig staat de wetenschap niet stil en zijn experts druk bezig met het zoeken naar nieuwe en efficiëntere behandelingen om epileptische aanvallen beter onder controle te krijgen.



Onder de loep: wat zijn anti-epileptica en hoe werken ze?

Anti-epileptica zijn geneesmiddelen tegen epilepsie die worden gebruikt om zowel een epileptische aanval te onderdrukken als te voorkomen. Deze medicijnen werken in op hersencellen en zorgen ervoor dat er minder snel 'kortsluitingen' (ook wel hyperexcitatie genoemd) optreden. Hoewel er verschillende soorten anti-epileptica zijn en gebruikt worden in de kliniek, zoals bijvoorbeeld levetiracetam en natriumvalproaat, reageren slechts 2 op de 3 epilepsiepatiënten hier gewenst op. De patiënten die niet geholpen zijn met anti-epileptica, noemen we drugresistente patiënten die lijden aan refractaire epilepsie. Juist voor deze drugresistente patiënten blijven wetenschappers druk bezig met het zoeken naar nieuwe en betere medicatie, zodat ook zij geholpen kunnen worden. Hopelijk brengt de toekomst meer hoop en verlichting voor velen!



Zijn er nog andere behandelingen voor epilepsie buiten anti-epileptica?

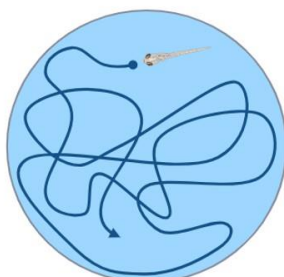
Ja, gelukkig wel! Voor deze patiënten die niet geholpen zijn met anti-epileptica kan epilepsiechirurgie mogelijk een oplossing bieden, waarbij het epileptische hersenweefsel uit de patiënt wordt verwijderd. Een alternatieve behandeling (vooral bij kinderen) is het volgen van een ketogeen dieet, een dieet waarbij er een hoge inname van vetten en een zeer lage inname van koolhydraten is. Dit is tevens de oudste vorm van therapie voor epilepsie, maar kan wel voor verlichting van de epileptische symptomen en aanvallen zorgen. Het grote nadeel is dat dit dieet zeer restrictief en moeilijk vol te houden is. Een andere optie is neuromodulatie, waarvan nervus vagus stimulatie (NVS) een voorbeeld is. Hierbij worden er aan de hand van een generator verschillende stimulerende pulsen naar de nervus vagus, de 10^e hersenzenuw, gestuurd. Deze therapie kan zorgen voor verbetering van de symptomen en de epileptische aanvallen. Er wordt verondersteld dat dit werkt door vrijlating van noradrenaline, een molecuule die zowel als fight-or-flight-hormoon in het lichaam en als neurotransmitter in de hersenen werkt, en daar dus zijn anti-epileptische werking uitoefent. Wat nu exact de mechanismen zijn die ervoor zorgen dat de epileptische aanvallen verminderen in patiënten, is niet duidelijk. Hierdoor is het noodzakelijk om dit systeem verder te onderzoeken en keren wetenschappers terug naar de basis. Men voert dan eerst preklinisch onderzoek in proefdieren uit vooraleer men over kan gaan naar klinische studies in gezonde proefpersonen en patiënten.

“Zebravissen kunnen bijdragen tot het ontrafelen van de onderliggende mechanismen van epilepsie en het ontwikkelen van efficiëntere anti-epileptica.”

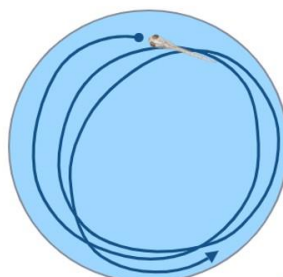
Prof. dr. Delfien Syx, professor aan de Universiteit Gent (Centrum Medische Genetica Gent)

Onderzoek met zebrovissen biedt een waaier aan voordelen

Meestal wordt neurologische onderzoek uitgevoerd in knaagdieren zoals muizen en ratten, maar zebrovissen bieden misschien wel nóg meer voordelen: ze zijn makkelijk te kweken en te huisvesten, ze leggen veel eitjes en ze kunnen chemische stoffen uit het water opnemen via hun kieuwen, waardoor veel soorten medicatie tegelijkertijd getest kan worden. Zo kunnen we bijvoorbeeld door het toevoegen van de chemische stof PTZ (pentyletetrazole) in het water epileptische aanvallen induceren bij zebrovissen. Om deze epileptische aanvallen in de zebrovissen te onderzoeken, gebruiken we toestellen die filmen hoe snel de zebrovissen zwemmen, hoe lang ze stil liggen in het water, hoe ver ze kunnen zwemmen, enz. De figuur toont de vergelijking in het zwemgedrag tussen een controle-zebravis en een PTZ-zebravis.



controle-zebravis zonder epileptische aanvallen



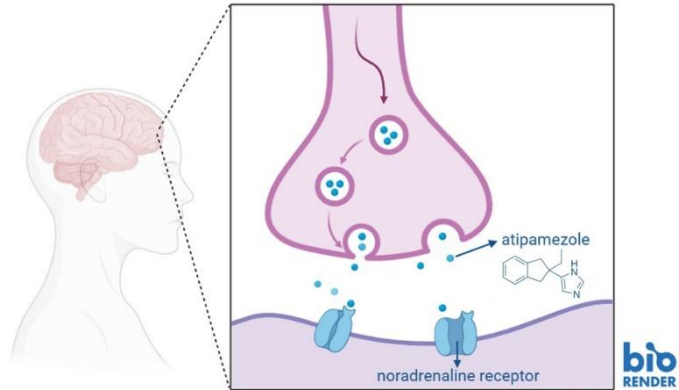
PTZ-zebravis met epileptische aanvallen



Terwijl een normaal zebravisje korte en onregelmatige zwembewegingen zal maken, zal een PTZ-zebravis tijdens een epileptische aanval een lange circulaire beweging aan hoge snelheid vertonen. Aan de hand van deze karakteristieke zwembewegingen in zebrovissen, kunnen we verder onderzoek naar epilepsie voeren.

Hoe oefent noradrenaline zijn anti-epileptische werking uit?

Aangezien het noradrenalinestelsel reeds zijn anti-epileptische werking heeft bewezen door zijn werking bij NVS, willen experts dit verder onderzoeken en medicatie vinden die op dit systeem inwerkt. Momenteel bestaat er geen enkel anti-epilepticum dat het noradrenalinestelsel moduleert. In de hersenen zorgen verschillende cellen, receptoren en neurotransmitters voor de juiste communicatieoverdracht. Om deze communicatieoverdracht vlot te laten verlopen, moeten de juiste chemische stoffen binden op de juiste receptoren in de hersenen. Vergelijk het met een sleutel en een slot: als de juiste sleutel op het juiste slot zit, dan gaat de deur open! Wanneer we spreken over noradrenerge stoffen, bedoelen we chemische stoffen die binden op de noradrenalinereceptoren. Een voorbeeld van zo'n noradrenerge stof is atipamezole. Uit recentelijk onderzoek is gebleken dat atipamezole de epileptische aanvallen in zebrafissen kan onderdrukken. Veelbelovend voor toekomstig onderzoek, dus!



Conclusie

Onderzoek naar epilepsie blijft nodig! Het noradrenalinestelsel blijkt een belangrijke en veelbelovende component te zijn in epilepsiebehandeling, hoewel nog geen enkele anti-epileptische medicatie hierop inwerkt. Het moduleren van dit systeem levert in zebrafissen echter veelbelovende resultaten op. Het verder ontrafelen van de precieze mechanismen waardoor noradrenerge stoffen (waaronder atipamezole) epileptische aanvallen in zebrafissen kunnen onderdrukken, is nodig om nieuwe anti-epileptische medicatie voor patiënten te vinden. Dit zou een grote stap vooruit betekenen, aangezien nog steeds een aanzienlijk deel van de patiënten niet geholpen wordt door een of meerdere behandelingen, wat een enorme impact heeft op hun dagelijkse leven. Verder onderzoek binnen het veld van de epilepsie blijft nodig!

Bibliografie

- Thijs, R. D., Surges, R., O'Brien, T. J. & Sander, J. W. Epilepsy in adults. *Lancet* **393**, 689–701 (2019).
- Gawel, K. *et al.* Seizing the moment: Zebrafish epilepsy models. *Neurosci. Biobehav. Rev.* **116**, 1–20 (2020).
- Ioannou, P. *et al.* The burden of epilepsy and unmet need in people with focal seizures. *Brain Behav.* **12**, (2022).
- Leibetseder, A., Eisermann, M., LaFrance, W. C., Nobili, L. & Von Oertzen, T. J. How to distinguish seizures from non-epileptic manifestations. *Epileptic. Disord.* **22**, 716–738 (2020).
- Seidenberg, M., Pulsipher, D. T. & Hermann, B. Association of epilepsy and comorbid conditions. *Future Neurol.* **4**, 663–668 (2009).

- Mesraoua, B. *et al.* Dramatic outcomes in epilepsy: depression, suicide, injuries, and mortality. *Curr. Med. Res. Opin.* **36**, 1473–1480 (2020).
- Mesraoua, B. *et al.* Drug-resistant epilepsy: Definition, pathophysiology, and management. *J. Neurol. Sci.* **452**, 120766 (2023).
- Rahman, M., Awosika, A. O. & Nguyen, H. Valproic acid. (2024).
- Grone, B. P. & Baraban, S. C. Animal models in epilepsy research: legacies and new directions. *Nat. Neurosci.* **18**, 339–343 (2015).
- De Calbiac, H., Dabacan, A., Muresan, R., Kabashi, E. & Ciura, S. Behavioral and physiological analysis in a zebrafish model of epilepsy. *J. Vis. Exp.* (2021) doi:10.3791/58837.
- Bauer, B., Mally, A. & Liedtke, D. Zebrafish embryos and larvae as alternative animal models for toxicity testing. *Int. J. Mol. Sci.* **22**, 13417 (2021).
- Kalueff, A. V., Stewart, A. M. & Gerlai, R. Zebrafish as an emerging model for studying complex brain disorders. *Trends Pharmacol. Sci.* **35**, 63–75 (2014).
- Howe, K. *et al.* The zebrafish reference genome sequence and its relationship to the human genome. *Nature* **496**, 498–503 (2013).
- Hason, M. & Bartůněk, P. Zebrafish Models of Cancer—New insights on modeling human cancer in a Non-Mammalian vertebrate. *Genes* **10**, 935 (2019).
- Cleal, M. *et al.* The Free-movement pattern Y-maze: A cross-species measure of working memory and executive function. *Behav. Res. Methods* **53**, 536–557 (2020).
- Blaser, R. E. & Peñalosa, Y. M. Stimuli affecting zebrafish (*Danio rerio*) behavior in the light/dark preference test. *Physiol. Behav.* **104**, 831–837 (2011).
- Basnet, R. M., Zizioli, D., Taweedet, S., Finazzi, D. & Memo, M. Zebrafish Larvae as a behavioral model in Neuropharmacology. *Biomedicines* **7**, 23 (2019).
- Bennun, A. The noradrenaline-adrenaline-axis of the fight-or-flight exhibits oxytocin and serotonin adaptive responses - ProQuest. *Int. J. Med. Biol. Front.* **Vol. 21**, 387–408 (2015).
- Lin, H. & Vartanian, O. A neuroeconomic framework for creative cognition. *Perspect. Psychol. Sci.* **13**, 655–677 (2018).
- Farrar, M. J., Kolkman, K. E. & Fetcho, J. R. Features of the structure, development, and activity of the zebrafish noradrenergic system explored in new CRISPR transgenic lines. *J. Comp. Neurol.* **526**, 2493–2508 (2018).
- 系统管理员, Suwen, Z. & Guisheng, Z. New findings on adrenergic receptors shed light on partial agonism and biased signalling. (2020).
- Wang, S., Wang, Z. & Mu, Y. Locus coeruleus in Non-Mammalian vertebrates. *Brain Sci.* **12**, 134 (2022).
- Fontana, B. D. *et al.* Zebrafish models for attention deficit hyperactivity disorder (ADHD). *Neurosci. Biobehav. Rev. Biobehav. Rev.* **100**, 9–18 (2019).
- Singh, C., Oikonomou, G. & Prober, D. A. Norepinephrine is required to promote wakefulness and for hypocretin-induced arousal in zebrafish. *eLife* **4**, (2015).

Demin, K. A. *et al.* Acute effects of amitriptyline on adult zebrafish: Potential relevance to antidepressant drug screening and modeling human toxidromes. *Neurotoxicol. Teratol.* **62**, 27–33 (2017).

Okanari, K. *et al.* Behavioral and neurotransmitter changes on antiepileptic drugs treatment in the zebrafish pentylenetetrazol-induced seizure model. *Behav. Brain Res.* **464**, 114920 (2024).

Hillman, K. L., Lei, S., Doze, V. A. & Porter, J. E. Alpha-1A adrenergic receptor activation increases inhibitory tone in CA1 hippocampus. *Epilepsy Res.* **84**, 97–109 (2009).

Giorgi, F. S., Pizzanelli, C., Biagioni, F., Murri, L. & Fornai, F. The role of norepinephrine in epilepsy: from the bench to the bedside. *Neurosci. Biobehav. Rev. Biobehav. Rev.* **28**, 507–524 (2004).

Dailey, J. W., Mishra, P. K., Ko, K. H., Penny, J. E. & Jobe, P. C. Noradrenergic abnormalities in the central nervous system of Seizure-Naive genetically Epilepsy-Prone rats. *Epilepsia* **32**, 168–173 (1991).

Berger, A. *et al.* How is the norepinephrine system involved in the antiepileptic effects of vagus nerve stimulation? *Front. Neurosci.* **15**, (2021).

Raedt, R. *et al.* Increased hippocampal noradrenaline is a biomarker for efficacy of vagus nerve stimulation in a limbic seizure model. *J. Neurochem.* **117**, 461–469 (2011).

Atzori, M. *et al.* Locus ceruleus norepinephrine release: a central regulator of CNS Spatio-Temporal activation? *Front. Synaptic Neurosci.* **8**, (2016).

Jurgens, C. W., Knudson, C. A., Carr, P. A., Perez, D. M. & Doze, V. A. α 1 Adrenergic receptor regulation of interneuron function. *FASEB J.* **23**, (2009).

Zuscik, M. J. *et al.* Overexpression of the α 1B-adrenergic receptor causes apoptotic neurodegeneration: Multiple system atrophy. *Nat. Med.* **6**, 1388–1394 (2000).

Ciltas, A. C. *et al.* The anticonvulsant effects of alpha-2 adrenoceptor agonist dexmedetomidine on Pentylenetetrazole-Induced seizures in rats. *Neurochem. Res.* **47**, 305–314 (2021).

Fitzgerald, P. J. Is elevated norepinephrine an etiological factor in some cases of epilepsy? *Seizure* **19**, 311–318 (2010).

Wu, H.-Q., Tullii, M., Samanin, R. & Vezzani, A. Norepinephrine modulates seizures induced by quinolinic acid in rats: selective and distinct roles of α -adrenoceptor subtypes. *Eur. J. Pharmacol.* **138**, 309–318 (1987).

Ozdemir, E. Adrenergic receptor system as a pharmacological target in the treatment of epilepsy (Review). *Med. Int.* **4**, (2024).

Rassier, G. T. *et al.* Evaluation of qPCR reference genes in GH-overexpressing transgenic zebrafish (*Danio rerio*). *Sci. Rep.* **10**, (2020).

Hu, Y., Xie, S. & Yao, J. Identification of Novel Reference Genes Suitable for qRT-PCR Normalization with Respect to the Zebrafish Developmental Stage. *PLoS One* **11**, e0149277 (2016).

Vanhouwaert, S. *et al.* Expressed Repeat Elements Improve RT-qPCR Normalization across a Wide Range of Zebrafish Gene Expression Studies. *PLoS One* **9**, e109091 (2014).

Sveinsdóttir, H. S. *et al.* Novel non-stimulants rescue hyperactive phenotype in an *adgrl3.1* mutant zebrafish model of ADHD. *Neuropsychopharmacology* **48**, 1155–1163 (2022).

- Yang, X. *et al.* High-throughput screening in larval zebrafish identifies novel potent sedative-hypnotics. *Anesthesiology* **129**, 459–476 (2018).
- Ruuskanen, J. O. *et al.* Conserved structural, pharmacological and functional properties among the three human and five zebrafish α 2-adrenoceptors. *Br. J. Pharmacol.* **144**, 165–177 (2005).
- Ruuskanen, J. O., Peitsaro, N., Kaslin, J. V. M., Panula, P. & Scheinin, M. Expression and function of α 2-adrenoceptors in zebrafish: drug effects, mRNA and receptor distributions. *J. Neurochem.* **94**, 1559–1569 (2005).
- Myren-Svelstad, S. *et al.* Elevated photic response is followed by a rapid decay and depressed state in ictogenic networks. *Epilepsia* **63**, 2543–2560 (2022).
- Effect of various antiepileptic drugs in zebrafish PTZ-Seizure model. (2014).
- Benoit, E., Lyons, D. G. & Rihel, J. Noradrenergic tone is not required for neuronal activity-induced rebound sleep in zebrafish. *J. Comp. Physiol. [B]* (2023) doi:10.1007/s00360-023-01504-6.
- Fletcher, A. & Forster, E. A. A proconvulsant action of selective α 2-adrenoceptor antagonists. *Eur. J. Pharmacol.* **151**, 27–34 (1988).
- Nissinen, J. *et al.* Disease-modifying effect of atipamezole in a model of post-traumatic epilepsy. *Epilepsy Res.* **136**, 18–34 (2017).
- Ampatzis, K. & Dermon, C. R. Regional distribution and cellular localization of β 2-adrenoceptors in the adult zebrafish brain (*Danio rerio*). *J. Comp. Neurol.* **518**, 1418–1441 (2010).
- Xu, H. *et al.* Genome-wide identification of suitable zebrafish *Danio rerio* reference genes for normalization of gene expression data by RT-qPCR. *J. Fish Biol.* **88**, 2095–2110 (2016).
- Wang, Z. *et al.* Zebrafish β -adrenergic receptor mRNA expression and control of pigmentation. *Gene* **446**, 18–27 (2009).