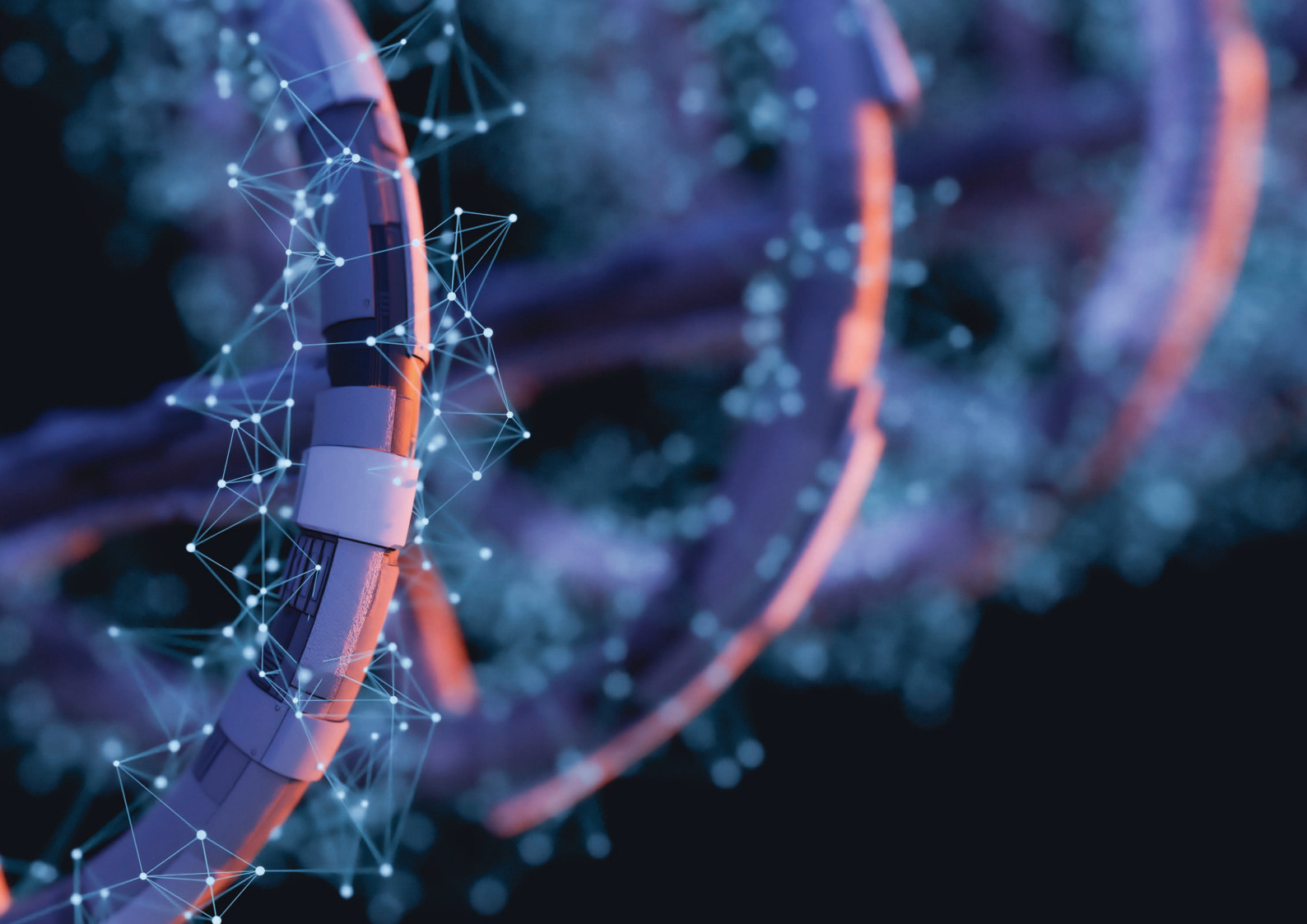




"För det första är epilepsi en multifaktoriell sjukdom, där bland annat inflammation, celltypsspecifik celldöd och en fallerande blod-hjärnbarriär tillsammans bidrar till hyperexcitabilitet."

I maj förra året publicerade Läkartidningen ett tema-nummer med epilepsi i fokus där olika aspekter av sjukdomen belystes utförligt. Man diskuterade bland annat vagusnervstimulering, ketogen diet och djup hjärnstimulering som kompletterande behandling av läkemedelsresistent epilepsi.¹ Vad som saknades bland artiklarna var en genomgång av framtida experimentella behandlingar av sjukdomen, behandlingar som skulle kunna vara tillgängliga inom fem till tio år. Syftet med denna artikel av **Esbjörn Melin**, doktorand vid Lunds universitet, är således att vidare komplettera bilden av möjliga behandlingar, med specifikt fokus på direkt och indirekt genterapi.



Genterapi

– en framtida behandling av epilepsi?

Prevalensen för epilepsi är ungefär 1 procent² och enligt Svenska Epilepsiförbundet finns för närvarande minst 81.000 personer med diagnosen epilepsi i Sverige. Majoriteten av patienterna svarar tillfredsställande på medicinering men en tredjedel blir inte anfallsfria trots behandling. I denna grupp varierar sjukdomens svårighetsgrad och i vissa fall krävs omfattande medicinering för att minska antalet epilepsianfall. Då flertalet av medicinerna minskar excitabiliteten i hjärnan, samtidigt som de administreras systemiskt, blir konsekvensen biverkningar i form av dåsighet och kognitiv nedsättning.

Trots att utvecklingen av nya preparat pågått under årtionden är förekomsten av läkemedelsresistent epilepsi oför-

ändrad sedan tidigt 1990-tal. Bristen på utveckling tros ha två bidragande orsaker. För det första är epilepsi en multifaktoriell sjukdom, där bland annat inflammation, celltypsspecifik celldöd och en fallerande blod-hjärnbarriär tillsammans bidrar till hyperexcitabilitet. Det finns således ingen ensam faktor som kan åtgärdas för att avhjälpa tillståndet. Det spekuleras även kring vissa djurmodellers bristande translationella värde, det vill säga att resultaten vid screening av nya läkemedel kanske inte direkt kan översättas till människa.³

I de fall då anfallens fokus kan definieras väl och anses operabla, är kirurgi ett alternativ med god prognos. Effektivare remittering och intensiv forskning bärddar för en snabb utveckling inom detta område, men endast en begränsad an-

del av de läkemedelsresistenta patienterna är kandidater för epilepsikirurgi. Behovet av nya behandlingsformer för denna patientgrupp är därför fortsatt stort.

En möjlig behandling som diskuterats under flera år är genterapi.⁴ Man kan dela upp genterapi i två typer: direkt genterapi och indirekt genterapi. Vid direkt genterapi förs en ny gen in i patientens celler med hjälp av en viral vektor, medan man vid indirekt genterapi först genmodifierar celler som sedan implanteras. En stor fördel jämfört med konventionell farmakologisk behandling är möjligheten att, genom att administrera celler eller en viral vektor till ett epileptiskt fokus, behandla en definierad region i hjärnan och därmed minska eventuella bieffekter och nedsatt kognitiv funktion.

”Då cellerna är instängda i implantatet är de åtskilda från kroppens immunförsvar vilket minskar risken för bortstötning, samtidigt som de näringsämnen som behövs för cellernas överlevnad tillåts passera genom membranet.”

INDIREKT GENTERAPI MED MODIFIERADE CELLER

Cellterapi som behandling av neurologiska sjukdomar har utvecklats under flera år. I sammanhanget kan man nämna de kliniska studier i Parkinsons sjukdom som planeras de närmaste åren på ett flertal platser runt om i världen.⁵ För behandling av fokal epilepsi, det vill säga då epilepsianfallen utgår ifrån en begränsad region i hjärnan, skulle modifierade celler kunna frisätta terapeutiska ämnen som lokalt minskar excitabiliteten. Till exempel har vi visat att celler som blivit modifierade till att uttrycka ämnet *glial cell-line derived neurotrophic factor* (GDNF) minskar mängden epilepsianfall i epileptiska råttor efter implantation i hippokampus.⁶

Cellerna som utsöndrade GDNF var i detta fallet inkapslade av ett semipermeabelt membran, en metod som kallas *encapsulated cell biodelivery* (ECB). Det finns några viktiga fördelar med denna metod jämfört med implantat av fria celler eller direkt genterapi med en viral vektor. Då cellerna är instängda i implantatet är de åtskilda från kroppens immunförsvar vilket minskar risken för bortstötning, samtidigt som de näringsämnen som behövs för cellernas överlevnad tillåts passera genom membranet. Vidare finns möjlighet att avbryta behandlingen om den skulle visa sig vara ineffektiv eller på något sätt innebära en fara för patienten som inte kunde förutses vid implantationstillfället.

Att behandlingen med GDNF minskade mängden epilepsianfall i råttor tror vi beror på att den har flera verkningss-

mekanismer, vilka inkluderar hämning av inflammation, minskad excitabilitet och en förstärkning av blod-hjärnbarriären. Principen med ECB har även använts för att administrera en annan neurotrofisk faktor, *brain-derived neurotrophic factor* (BDNF), i en modell av kronisk epilepsi med en minskad mängd anfall som resultat.⁷ I likhet med GDNF har även denna faktor multipla verkningssmekanismer. I denna studie visade man dessutom att BDNF administrerad med hjälp av ECB minskade kognitiva defekter jämfört med kontroldjuren.

Båda studierna ovan genomfördes i modeller av temporallobsepilepsi som anses ha högt translationellt värde. Det som anses höja detta värde är förekomsten av läkemedelsresistenta spontana epilepsianfall, det vill säga stokastiskt förekommande epileptiska episoder, liknande sjukdomstillståndet i människa. Genom att leta efter en effekt på dessa spontana anfall i råttor, hoppas vi ha större chans att finna en effekt även i människor.

DIREKT GENTERAPI MED VIRALA VEKTORER

En alternativ metod för att öka mängden av ett terapeutiskt ämne i närheten av ett epileptiskt fokus är att använda sig av direkt genterapi. Det innebär att en viral vektor för in en terapeutisk gen i *patientens* celler som sedan börjar producera ämnet som genen kodar för. Fördelen med att kroppens egna nervceller producerar det terapeutiska ämnet är att frisättningen blir mer fysiologisk, och därigenom förhoppningsvis mer funktionell. Till exempel kan en genterapeutisk neuropeptid frisättas vid en synaps och agera lokalt med närliggande receptorer, i stället för att som vid ECB vara beroende av volymtransmission för att vara verksam. En annan fördel med direkt genterapi är att uttrycket av det terapeutiska ämnet kan specificeras till en specifik celltyp med hjälp av specifika promotorer. Till exempel är det möjligt att rikta in behandlingen på enbart excitatoriska celler. Detta är ett av argumenten för varför direkt genterapi skulle kunna vara mer effektivt än nuvarande tillgängliga farmakologiska behandlingar.

Ett ämne som har visat sig vara uppreglerat vid epilepsi är neuropeptid Y (NPY). Förekomsten av NPY ökar i epileptisk vävnad och det frisätts vid högfrekvent nervsignaler, såsom vid ett epilepsianfall, både hos råttor och i människor med epilepsi. Flera studier har visat att om man administrerar NPY i hjärnans ventrikelsystem, minskar mängden inducerade epilepsianfall i råttor och möss. Man tror därför att NPY skulle kunna vara en del av ett endogent skyddssystem för att minska episoder av ökad retbarhet.⁸

I det centrala nervsystemet interagerar NPY med tre typer av receptorer: Y1, Y2 och Y5. Samtliga av dessa receptorer är G-proteinkopplade och signalerar genom $G_{i/o}$ -mekanismen. Mycket tyder på att Y1-receptorn bidrar till epileptisk aktivitet, medan Y2- och Y5-receptorerna minskar uppkomsten av densamma. Y2-receptorn är specifikt lokaliserad presynaptiskt och minskar där frisättningen av glutamat, vilket är en kritisk komponent i hyperexcitabiliteten. Den inhibitoriska effekten av NPY skulle därför kunna förbättras genom att samtidigt öka mängden NPY och Y2-receptorer i vävnaden.

NPY kan inte administreras systemiskt, eftersom före-

komsten av receptorer utanför det centrala nervsystemet skulle kunna medföra ospecifika biverkningar, och Y2-receptorn – i egenskap av membranbundet protein – kan inte tillföras utifrån. Kombinatoriskt uttryck av både NPY och Y2-receptorn med en viral vektor framstår här som en lovande lösning. Vi och andra har visat att denna kombinatoriska metod effektivt minskar mängden epilepsianfall i råttor, både i form av akut inducerade anfall⁹ och i spontana återkommande anfall¹⁰.

KOMBINERAD NPY- OCH Y2-GENTERAPI

Vi genomförde nyligen en extensiv studie i en modell av temporallobepilepsi med slutsatsen att kombinatorisk NPY- och Y2-genterapi, med en kliniskt gångbar viral vektor, kan minska mängden av och längden på epilepsianfall i råttor. Studien genomfördes med ett translationellt tankesätt, vilket innebär att vi utnyttjade de analysmetoder som används på kliniken och planerade försöken i enlighet med detta. Behandlingen av råttorna påbörjades efter att de blivit diagnostiserade med återkommande spontana epileptiska anfall och således då epilepsisjukdomen var etablerad, eftersom det är då kombinatorisk NPY-/Y2-genterapi skulle kunna komma ifråga på kliniken. Vidare använde vi oss av magnetrontgen för att individualisera behandlingen av råttorna. Varje råtta fick en optimerad injektion av den virala vektorn unilateralt i det område som vi bedömde att fokus fanns i. Med detta tillvägagångssätt hoppas vi kunna öka det translationella värdet hos studien eftersom en effekt med enbart unilateral administration skulle vara mer attraktivt ur ett kliniskt perspektiv, då det innebär att enbart fokus för anfällen behandlas.

Som ett steg i ledet att utveckla en NPY-baserad behandling har vi även validerat effekten av NPY i humanvävnad. NPY visade sig minska glutamatfrisättning i vävnad från temporallobsresektioner, vilket ger en tydlig indikation på att metoden är funktionell även i människa.¹¹ I en uppföljande studie har vi även undersökt om NPY kan minska epileptiform aktivitet i vävnad från temporallobsresektioner, med positivt resultat.

Y2-receptorn är en metabotrop receptor vilket ger långverkande och modifierande effekter på nervsignaler, men det finns även exempel på genterapi där jonkanaler används för att minska hyperexcitabilitet. Nyligen publicerade en grupp i Storbritannien en studie där en kaliumkanal överuttrycktes i hippocampus i möss med en minskning av mängden epilepsianfall som resultat.¹² I framtiden kan man tänka sig att flera genterapimetoder används i kombination, kanske som komplement till konventionella läkemedel, utifrån patientens specifika behov.

SLUTSATS

En tredjedel av alla patienter med epilepsi har anfall trots behandling, en kvot som varit i princip oförändrad sedan tidigt 1990-tal. Med dagens framsteg inom molekylärbiologi är det dags att tänka i nya banor och prova nya vägar. Genterapi, både direkt och indirekt, framstår som lovande framtida behandlingar av epilepsi. Fördelen med lokal behandling av den anfallsinitierande zonen kan inte underskattas, sam-

tidigt som administration "innanför" blod-hjärnbarriären öppnar för att utnyttja nya verkningsmekanismer. Om man väger samman de positiva prekliniska resultat som redovisats i denna artikel, med framstegen i diagnostik på den kliniska sidan, är det inte osannolikt att vi inom några år börjar reducera andelen av patienterna som i dag inte svarar tillfredsställande på behandling.



ESBJÖRN MELIN
Doktorand, Lunds universitet
esbjorn.melin@med.lu.se
Foto: OLLE DAHLBÄCK

REFERENSER

1. Kumlien E, Hallböök T & Dahlin M. Andra behandlingsalternativ vid svårbehandlad epilepsi. *Läkartidningen* 2018; 115(E6MD):925–927.
2. Fiest KM et al. Prevalence and incidence of epilepsy. *Neurology* 2017; 88(3):296 LP-303.
3. Simonato M et al. The challenge and promise of anti-epileptic therapy development in animal models. *The Lancet Neurology* 2014; 13(9):949–960.
4. Kullmann DM et al. Gene therapy in epilepsy—is it time for clinical trials? *Nature Reviews Neurology* 2014; 10(5):300–304.
5. Barker RA et al. Human Trials of Stem Cell-Derived Dopamine Neurons for Parkinson's Disease: Dawn of a New Era. *Cell Stem Cell* 2017; 21(5):569–573.
6. Nanobashvili A et al. Unilateral ex vivo gene therapy by GDNF in epileptic rats. *Gene Therapy* 2018.
7. Falcicchia C et al. Seizure-Suppressant and Neuroprotective Effects of Encapsulated BDNF-Producing Cells in a Rat Model of Temporal Lobe Epilepsy. *Molecular Therapy: Methods & Clinical Development* 2018; 9(June):211–224.
8. Vezzani A & Sperk G. Overexpression of NPY and Y2 receptors in epileptic brain tissue: An endogenous neuroprotective mechanism in temporal lobe epilepsy? *Neuropeptides* 2004; 38(4):245–252.
9. Woldbye DPD et al. Adeno-associated viral vector-induced overexpression of neuropeptide Y Y2 receptors in the hippocampus suppresses seizures. *Brain* 2010; 133(9):2778–2788.
10. Nikitidou Ledri L et al. Translational approach for gene therapy in epilepsy: Model system and unilateral overexpression of neuropeptide Y and Y2 receptors. *Neurobiology of Disease* 2016; 86:52–61.
11. Ledri M et al. Differential Effect of Neuropeptides on Excitatory Synaptic Transmission in Human Epileptic Hippocampus. *Journal of Neuroscience* 2015; 35(26):9622–9631.
12. Snowball A et al. Epilepsy gene therapy using an engineered potassium channel. *The Journal of Neuroscience* 2019; 1118–1143.