

Cover Page



Universiteit Leiden



The handle <http://hdl.handle.net/1887/20128> holds various files of this Leiden University dissertation.

**Author:** Blad, Clara Catelijne

**Title:** A quest for connections : ligands for the HCA2, adenosine A3 and GPR88 receptors

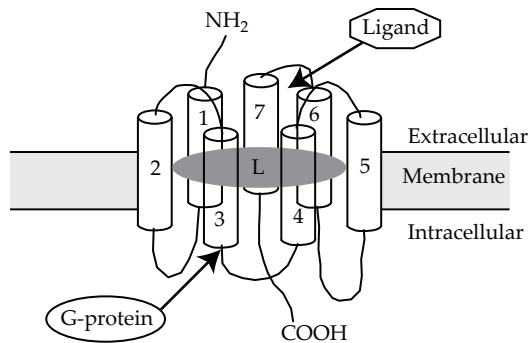
**Date:** 2012-11-15

## Samenvatting voor algemeen publiek

Anno 2012 begrijpen we tamelijk veel van het menselijk lichaam: we hebben het erfelijk materiaal in kaart gebracht, we kunnen met geavanceerde instrumenten de levende organen in beeld brengen, en we hebben een heel scala aan medicijnen, die in veel gevallen ook helpen tegen de aandoening in kwestie. We weten nu ook dat ongeveer een derde van deze medicijnen werken via een bepaald soort ontvanger-eiwitten, die G-eiwit-gekoppelde receptoren (GPCR) genoemd worden.

### G-eiwit-gekoppelde receptoren

De mens heeft zo'n 800 verschillende GPCRs, die betrokken zijn bij vrijwel alle lichaamsfuncties. Medicijnen maken gebruik van deze receptoren, maar hun originele functie is communicatie tussen verschillende cellen van het lichaam. Hierbij maken de verzendende cellen een stof aan, en vangen andere cellen het signaal op via receptoren. Bekende stoffen die via receptoren werken zijn bijvoorbeeld endorfinen, smaakstoffen, dopamine, adrenaline, THC (de werkzame stof in marihuana) en cafeïne. Nicotinezuur is ook een stof die op een GPCR inwerkt, en dit is belangrijk voor dit proefschrift.



**Figuur 1:** G-eiwit-gekoppelde receptor (GPCR). Deze receptoren gaan zeven keer door de celmembran (nummers 1-7). Het ligand komt van de buitenkant van de cel, en het G-eiwit neemt het signaal over aan de binnenkant.

### De ontdekking van nicotinezuur

In de jaren '50 van de twintigste eeuw waren receptor-eiwitten al bekend, maar er was nog niet zo veel kennis van de individuele receptoren die specifieke signaalstoffen opvangen. Meer dan nu berustte het ontdekken van nieuwe medicijnen toen op *trial and error*. Het medicijn nicotinezuur, dat aderverkalking (atherosclerose) kan voorkomen of vertragen, werd bij toeval ontdekt in de vijftiger jaren door de Canadese psychiater dr. Hoffer. Hij zag namelijk dat de schizofrene patienten die hij ermee behandelde, lagere cholesterolwaarden kregen. Daarna zette zijn vroegere professor, dr. Altschul, het onderzoek voort, en hij wordt nu meestal genoemd als de ontdekker van nicotinezuur als medicijn. Behandeling van hoog cholesterol met nicotinezuur verkleint de kans op een hartinfarct of een beroerte. Waarschijnlijk werkt dit medicijn zo goed omdat het een drievoudige werking heeft: 1) verlaging van slecht cholesterol (LDL), 2) verhoging van goed cholesterol (HDL),

---

en 3) remming van ontstekingsreacties in de bloedvaten. Een minpunt is dat nicotinezuur een huidreactie veroorzaakt, die lijkt op verbranding door de zon.

## De nicotinezuur-receptor

Pas veel later, begin twinstigste eeuw, werd ontdekt dat nicotinezuur een GPCR activeert, die daarna ook meteen bekend werd als de nicotinezuur-receptor. Intussen zijn er meer cholesterolverlagende middelen op de markt, maar nicotinezuur is nog steeds het beste middel om het goede (HDL) cholesterol te verhogen. Helaas is de bijwerking op de huid, ook wel *flushing* genoemd, zo vervelend dat veel patienten al snel hun pillen niet meer innemen. Een mogelijke oplossing zou kunnen zijn, om een nieuw medicijn te ontwikkelen dat de nicotinezuur-receptor ook activeert, maar geen huidreactie geeft.

## Op zoek naar de klik

Het grootste gedeelte van mijn proefschrift gaat over de zoektocht naar nieuwe activators, ook wel liganden of agonisten genoemd, voor de nicotinezuur-receptor. Hiervoor maken we gebruik van menselijke cellen die onder laboratoriumcondities kunnen groeien in een petrischaal, als producenten en 'huisvesting' voor de receptor-eiwitten. We hebben het gen voor de nicotinezuur-receptor in flinke hoeveelheden in deze cellen gestopt, waardoor ze veel receptor-eiwitten aanmaken. Vervolgens kunnen we de cellen blootstellen aan stoffen, die bij ons in het laboratorium zijn gemaakt (of, in sommige gevallen, kant en klaar gekocht). We kunnen daarbij meten of de nicotinezuur receptor wordt geactiveerd door deze stoffen, en zo ja, hoe sterk ze op de receptor inwerken.

## Halfzachte liganden

Twee van deze stoffen, zogenaamde partiële agonisten, hadden een minder sterke werking op de receptor in vergelijking met nicotinezuur, maar verlaagden wel het slechte cholesterol in muizen. Daarnaast hebben we gekeken naar een verandering in de huidtemperatuur, wat een maat is voor *flushing*. Als nicotinezuur werd toegediend aan muizen ging de huidtemperatuur ongeveer drie graden omhoog, terwijl de partiële agonisten geen effect hadden. Er zijn twee mogelijke verklaringen voor het verbeterde werkingsprofiel van de partiële agonisten. Het zou kunnen dat er minder activatie van de receptor nodig is om cholesterolverlaging te krijgen, en relatief meer om de bijwerking op de huid in gang te zetten. Hierdoor zouden partiële agonisten minder *flushing* veroorzaken door hun subtielere werking op de receptor. De tweede mogelijkheid is dat de partiële agonisten de receptor in een andere 'stand' zetten, waardoor het uiteindelijke effect op de (huid)cellen anders is. De balans tussen de activatie van twee andere eiwitten in de cel, namelijk het G-eiwit en ERK, zou daarbij betrokken kunnen zijn. We hebben laten zien dat nicotinezuur via de receptor twintig keer krachtiger inwerkt op ERK dan op het G-eiwit, terwijl dit verschil veel kleiner is voor de partiële agonisten (vijf tot tien keer). Of dit de reden is voor de verminderde *flushing*-reactie is echter op dit moment nog niet duidelijk.

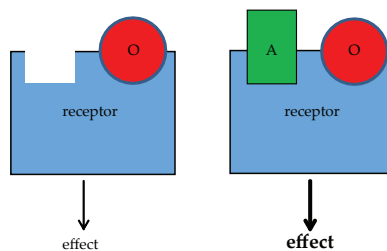
## Samenwerken

Ik beschrijf ook een serie stoffen die de nicotinezuur-receptor zelfstandig kunnen activ-

eren, maar daarnaast kunnen samenwerken met andere agonisten, en hun werking versterken. Deze ‘allostere’ agonisten binden op een andere plek aan het receptor-eiwit, en daardoor blijft de plek voor nicotinezuur en andere ‘orthostere’ agonisten vrij en kunnen ze tegelijk aankoppelen aan de receptor. Als dit soort allosterie agonisten geschikt gemaakt kunnen worden voor gebruik bij mensen, dan zouden ze gecombineerd kunnen worden met nicotinezuur. De dosis nicotinezuur zou dan tien keer lager kunnen zijn, omdat de werking op de receptor zo veel sterker is. Nog veel interessanter is het idee, dat allosterie agonisten de werking van lichaamseigen liganden voor de nicotinezuur-receptor zouden kunnen versterken. We hebben als eerste laten zien dat het lichaamseigen ligand beta-hydroxy-butyraat sterker werkt, en bij lagere concentraties, als een allosterie agonist tegelijkertijd aanwezig is. Zo zou toediening van een allosterie agonist als medicijn ervoor kunnen zorgen dat er geen nicotinezuur meer hoeft te worden toegediend, omdat de stoffen die het lichaam zelf produceert sterker gaan werken.

## Andere receptoren

Aan het eind van mijn proefschrift beschrijf ik nog onderzoek naar twee andere GPCRs: de adenosine A<sub>3</sub> receptor en GPR88. Ik heb laten zien dat het experimentele anti-kanker medicijn isopentenyl adenosine zijn effect gedeeltelijk te danken heeft aan de activatie van de adenosine A<sub>3</sub> receptor. We hebben ook gekeken naar de aanwezigheid van dit ligand in spierweefsel, omdat het misschien een lichaamseigen ligand zou kunnen zijn, maar dit is waarschijnlijk niet het geval. GPR88 is een zogenaamde wees-receptor: het is nog niet bekend door welke stof(fen) dit eiwit wordt geactiveerd. Ik heb geprobeerd een agonist te vinden voor GPR88 door ruim 4000 stoffen te testen, maar helaas is het niet gelukt daartussen een ligand te ontdekken.



**Figuur 2:** Orthostere en allosterie liganden. Het orthostere ligand (O) kan zelfstandig de receptor activeren, en dat geeft dan een bepaald effect. Als een allosterie ligand (A) tegelijk bindt, kan het effect veranderen, bijvoorbeeld sterker worden.

## Toekomst

Er is vandaag de dag zeer veel informatie beschikbaar over de werking van het menselijk lichaam, en elke dag komt er meer bij. Maar er valt nog veel te ontdekken. Op het gebied van de nicotinezuur-receptor is het nog steeds niet helemaal duidelijk of het medicijn nicotinezuur met name via deze receptor werkt, of dat het effect van nicotinezuur op andere lichaamsprocessen belangrijker is voor de werking als geneesmiddel. Het zou kunnen dat activatie van de nicotinezuur-receptor een positief effect heeft op ontstekingsziekten als MS en psoriasis, maar bewijs ontbreekt nog. Naast agonisten, is het ook belangrijk om zogenaamde antagonisten, blokkerende stoffen, te ontdekken voor de nicotinezuur-

---

receptor. Die zijn namelijk nog niet bekend. De A<sub>3</sub> receptor agonist isopentenyl adenosine zou een goed anti-kanker medicijn kunnen worden, vooral omdat het geen negatief effect heeft op gezonde lichaamcellen (zoals veel bestaande anti-kanker middelen wel hebben). Het word nu nog niet gebruikt bij mensen. GPR88 is nog steeds een wees-receptor, maar nieuwe technieken zouden kunnen helpen eindelijk een ligand te vinden. Als men het gen voor deze receptor uitschakelt bij muizen, krijgen ze een soort schizofrene trekjes. Daarom denken we dat agonisten voor deze receptor interessant zouden kunnen zijn voor de behandeling van psychiatrische aandoeningen.