



Universiteit
Leiden
The Netherlands

Challenging the cholinergic system : ageing, cognition & inflammation

Alvarez-Jiménez, R.

Citation

Alvarez-Jiménez, R. (2017, June 1). *Challenging the cholinergic system : ageing, cognition & inflammation*. Retrieved from <https://hdl.handle.net/1887/49260>

Version: Not Applicable (or Unknown)

License: [Licence agreement concerning inclusion of doctoral thesis in the Institutional Repository of the University of Leiden](#)

Downloaded from: <https://hdl.handle.net/1887/49260>

Note: To cite this publication please use the final published version (if applicable).

Cover Page



Universiteit Leiden



The handle <http://hdl.handle.net/1887/49260> holds various files of this Leiden University dissertation

Author: Alvarez-Jiménez, Ricardo

Title: Challenging the cholinergic system : ageing, cognition & inflammation

Issue Date: 2017-06-01



NEDERLANDSE SAMENVATTING

CHALLENGING THE CHOLINERGIC SYSTEM: AGEING, COGNITION & INFLAMMATION

Acetylcholine is een belangrijke lichaamseigen stof die betrokken is bij de impulsoverdracht van zenuwcellen, een zogenaamde neurotransmitter. Neurotransmitters binden aan receptoren (eiwitten die neurotransmitters herkennen) aan de oppervlakte van zenuwcellen en hierdoor kunnen deze onderling communiceren. Als zenuwcellen communiceren door middel van acetylcholine dan komt er acetylcholine vrij in de ruimte tussen de zenuwcellen, de synapsspleet. Het enzym (actief eiwit) dat de acetylcholine uit de synapsspleet verwijdert heet acetylcholinesterase. Acetylcholine speelt een belangrijke rol bij het uitvoeren van veel cognitieve functies: het vermogen om kennis op te nemen en te verwerken, het geheugen, de aandacht en de concentratie.

Dementie is een verzamelnaam voor ruim vijftig ziektes die alle leiden tot teloorgang van cognitieve functies; de precieze oorzaak is meestal onbekend. De ziekte van Alzheimer is de bekendste vorm van dementie. Geneesmiddelen die het enzym acetylcholinesterase remmen behoren tot de weinige goedgekeurde en effectieve behandeling voor patiënten met de ziekte van Alzheimer. Deze middelen remmen het acetylcholinesterase en zorgen dus dat er meer acetylcholine beschikbaar is in de synapsspleet. Dit zorgt voor een vermindering van de cognitieve klachten van patiënten met de ziekte van Alzheimer in de beginfase van de ziekte.

In experimentele modellen kunnen symptomen van dementie tijdelijk geïnduceerd worden in dieren en gezonde proefpersonen door toediening van medicijnen die sommige acetylcholine receptoren blokkeren. Scopolamine is een dergelijk middel en kan enkele van de symptomen van dementie tijdelijk nabootsen. Scopolamine toediening aan gezonde proefpersonen wordt veel gebruikt in geneesmiddelenontwikkeling om effecten van geneesmiddelen die het functioneren van de zenuwcellen die voor hun communicatie gebruik maken van acetylcholine, het zogenaamde cholinerge systeem, te testen. Nieuwe (genees)middelen in ontwikkeling die de werking van het

cholinerge systeem positief kunnen beïnvloeden worden tegelijkertijd met scopolamine toegediend om te testen of de nadelige effecten van scopolamine op cognitieve functies zouden kunnen worden tegengehouden of omgekeerd. Als dat namelijk zo is, dan zou een dergelijk geneesmiddel misschien ook de cognitieve functies van patiënten met de ziekte van Alzheimer kunnen verbeteren. Dit 'scopolamine model' wordt vaak gebruikt omdat de effecten sterk zijn en dus goed meetbaar, omdat er over het scopolamine model veel literatuur is en omdat het middel gemakkelijk te verkrijgen is aangezien het ook wordt voorgeschreven als behandeling van misselijkheid ten gevolge van wagenziekte en dus verkrijgbaar is bij elke apotheek. Scopolamine blokkeert alleen een deel van het cholinerge systeem, namelijk het deel dat communiceert door middel van muscarine-type acetylcholine receptoren. Cholinerge zenuwcellen bevinden zich niet alleen in de hersenen, maar overal in het lichaam. Acetylcholine wordt gebruikt door de zenuwcellen om de spieren te laten contraheren, om de zweetklieren te laten werken, en activatie van cholinerge zenuwcellen leidt ook tot maagontleding en stimulatie van de peristaltiek van de darmen, en doet het hart langzamer kloppen, om slechts enkele voorbeelden te noemen. Gezonde mensen die cholinesteraseremmers toegediend krijgen, kunnen hierdoor onder andere, misselijk worden en zelfs braken, produceren meer speeksel, kunnen hoofdpijn krijgen, pijn in gewrichten en spieren, tintelingen, en kunnen zich nerveus voelen en trillen ontwikkelen.

Acetylcholine kan niet alleen aan muscarine-type, maar ook aan nicotine-type acetylcholine receptoren binden. Nicotinerge receptoren bevinden zich in andere delen van de hersenen en zijn ook betrokken bij cognitieve functies. Het genotsmiddel nicotine stimuleert ook nicotinerge acetylcholine receptoren, maar niet de muscarine-type receptoren, wat de reden is dat deze receptoren voor acetylcholine 'nicotinerge' worden genoemd. In de laatste jaren is er ook veel interesse in middelen die cognitieve functies zouden kunnen doen verbeteren door een selectieve binding aan het deel van het cholinerge systeem dat gebruik maakt van nicotinerge receptoren. Die middelen zouden namelijk niet leiden tot bijwerkingen elders in het lichaam zoals de cholinesterase remmers wel doen. Nicotinerge middelen worden

niet alleen ontwikkeld voor de behandeling van cognitieve symptomen bij dementie, maar ook voor cognitieve symptomen ten gevolge van psychiatrische aandoeningen zoals schizofrenie. Bij schizofrenie treden naast hallucinaties en wanen, (positieve symptomen) ook een achteruitgang van cognitieve functies op (negatieve symptomen). Gedacht wordt dat deze negatieve symptomen van schizofrenie te maken hebben met het niet goed functioneren van het nicotinerge deel van het cholinerge systeem. Dit zou de reden kunnen zijn waarom zo'n hoog percentage van de patiënten gediagnosticeerd met schizofrenie rookt en waarom sommige schizofrenie patiënten zo veel roken. Naast Alzheimer dementie en schizofrenie, zou ook bij de dementie die optreedt bij sommige patiënten met de ziekte van Parkinson het niet goed functioneren van het nicotinerge deel van het cholinerge systeem een rol kunnen spelen. Toediening van middelen die het nicotinerge cholinerge systeem stimuleren laat verbetering zien van de motorische en cognitieve symptomen in experimentele modellen van de ziekte van Parkinson. Ongetwijfeld vraagt u zich af: waarom geven we niet aan al die patiënten een nicotine pleister of nicotine kauwgum? Het antwoord is simpel, namelijk vanwege de bijwerkingen, maar ook en met name vanwege de sterk verslavende effecten van nicotine en de gezondheidsrisico's.

De huidige uitdaging voor de farmaceutische industrie is het om selectievere en specifiekere middelen te ontwikkelen die alleen aan bepaalde type nicotinerge receptoren werken, bijvoorbeeld alleen in bepaalde delen van de hersenen, maar niet aan andere, bijvoorbeeld degene die op spieren zitten, en met name niet aan de receptoren die te maken hebben met het verslavende effect van nicotine.

De eerste nicotine-type cholinerge geneesmiddelen die ontwikkeld worden voor de behandeling van cognitieve symptomen van dementie en schizofrenie zijn in de afgelopen jaren voor het eerst aan mensen gegeven. In de vroege fasen van het geneesmiddelenonderzoek, nog voordat een nieuw middel aan patiënten gegeven wordt, wordt vaak eerst onderzocht of een geneesmiddel doet wat het hoort te doen in gezonde proefpersonen. Dat is het type onderzoek waarin het Centre for Human Drug Research (CHDR)

in Leiden gespecialiseerd is. Wanneer de effecten van geneesmiddelen die mogelijk de cognitieve functies doen verbeteren worden onderzocht in gezonde proefpersonen wordt vaak het scopolamine model gebruikt om vast te stellen dat het middel inderdaad werkt en belangrijker, welke dosis de juiste is, voordat een grote studie in patiënten wordt uitgevoerd. Voor het aantonen van de effecten van nicotinerge middelen wordt ook het scopolamine model gebruikt, maar wij vonden dit niet logisch. Scopolamine blokkeert per slot van rekening de muscarine-type receptoren terwijl nicotine-type cholinerge geneesmiddelen de nicotine-type receptoren stimuleren.

Mecamylamine heeft een gelijksoortig werkingsmechanisme als scopolamine, echter het middel bindt aan nicotinerge receptoren (in plaats van aan muscarinerge receptoren zoals scopolamine). Nicotinerge blokkade leidt in gezonde vrijwilligers en dieren ook tot een tijdelijke verslechtering van de cognitieve functies, alleen is het profiel van cognitieve verstoring anders dan de cognitieve verstoring die ten gevolge van scopolamine optreedt. Vanuit farmacologisch oogpunt zou het gebruik van mecamylamine als model voor tijdelijke cognitieve symptomen om de effecten van geneesmiddelen die ontwikkeld worden voor de behandeling van dementie aan te tonen logischer zijn dan het gebruik van scopolamine. In de afgelopen jaren verrichtte het CHDR onderzoek naar het profiel van cognitieve symptomen ten gevolge van scopolamine en mecamylamine, naar het gebruik van mecamylamine als model voor tijdelijke cognitieve klachten en naar het proberen aan te tonen dat er ook geneesmiddelen zijn die de tijdelijke cognitieve symptomen ten gevolge van mecamylamine toediening positief kunnen beïnvloeden.

Het werk in dit proefschrift was erop gericht om het cholinerge systeem verder te onderzoeken door het aanwenden van middelen die invloed hebben op het cholinerge systeem. De effecten die de middelen hebben op cognitieve functies kunnen gemeten worden door cognitieve testen uit te voeren en hersenfuncties te meten voor, tijdens en na de geneesmiddel toediening. Hierdoor kunnen de effecten van verschillende concentraties van het middel op het functioneren van de hersenen geobjectiveerd worden. Dit proefschrift is verdeeld in 8 hoofdstukken: In het eerste hoofdstuk vindt u

een algemene introductie en theoretische achtergrond van de onderzoeken. Wij vergelijken daarna in hoofdstuk 2 de gevoeligheid van gezonde ouderen blootgesteld aan scopolamine met die van gezonde (jonge) volwassenen. Met de leeftijd treedt er een achteruitgang op van het functioneren van het cholinerge systeem in de hersenen en algemeen werd aangenomen dat de reden dat ouderen een verhoogde gevoeligheid lijken te hebben voor scopolamine gelegen is in dit minder goede functioneren van het cholinerge systeem. Uit onze analyses moest blijken of gezonde ouderen inderdaad gevoeliger zijn voor scopolamine dan jongeren. Interessant genoeg vonden wij een verschil in de snelheid waarmee het middel verwijderd wordt uit het lichaam van ouderen (klaring van het middel) ten opzichte van jongeren, waardoor de ouderen na toediening van een lagere dosis eenzelfde hoogte van bloedconcentraties hebben als jongeren die een hogere dosis kregen. Voor de huidige hypothese dat ouderen gevoeliger zouden zijn voor scopolamine, hebben wij geen aanwijzingen kunnen vinden. In andere woorden, wij hebben er aanwijzingen voor dat een verhoogde gevoeligheid voor scopolamine bij ouderen een consequentie is van hogere concentraties van het middel in bloed en niet van minder muscarine-type receptoren in de gebieden van de hersenen betrokken bij cognitieve functies. We hebben wel significante verschillen gevonden tussen beide groepen voordat scopolamine werd toegediend, dus onder normale omstandigheden. Een tragere elektrische activiteit gemeten met behulp van een elektro-encefalogram (die meet elektrische activiteit van de hersenen) was gerelateerd aan de leeftijd; dit was overigens al bekend. Ook neemt de reactietijd op cognitieve tests af met het toenemen van de leeftijd, al was er geen verschil in het aantal correcte antwoorden tussen ouderen en jongeren. In de toekomst zouden wij eenzelfde onderzoek willen doen naar de verschillen in gevoeligheid voor het anti-nicotinerge mecamylamine tussen jongere en oudere volwassenen. In het derde hoofdstuk werden de effecten van mecamylamine (als anti-nicotinerg middel) vergeleken met die van scopolamine (anti-muscarinerg middel). Scopolamine liet sterkere effecten zien op het cognitieve functioneren dan mecamylamine. Het is echter belangrijk om hierbij te vermelden dat een vrij hoge dosis scopolamine toegediend kan worden met relatief weinig ernstige bijwerkingen, terwijl na toediening

van mecamylamine een ernstige daling van de bloeddruk kan optreden bij doses boven 30 mg. Dit beperkte de hoogte van de dosis mecamylamine die toegediend kon worden. Scopolamine veroorzaakte een sterkere mate van verminderd cognitief functioneren, maar ook duidelijk meer slaperigheid. Het is dus moeilijk te zeggen of de gemeten cognitieve effecten gevolg zijn van slaperigheid of van een 'pure' verminderde concentratie of geheugen. Beide middelen lieten een achteruitgang zien in testen die geheugen, het oplossen van problemen, reactietijd en motorische coördinatie meten. Scopolamine, maar niet mecamylamine, had invloed op de oogbewegingen. De meeste mecamylamine effecten konden, door midden van gelijktijdige toediening van nicotine, omgekeerd of tegen gegaan worden (zie hoofdstuk vier). Dit was de eerste keer dat het aangetoond is in mensen dat nicotine de effecten van mecamylamine kan omkeren. De validiteit van het gebruik van het 'mecamylamine model' om de werking van geneesmiddelen die het nicotinerge systeem positief beïnvloeden kon hiermee dus aangetoond worden. Het omkeren van de effecten van mecamylamine bevestigt indirect dat mecamylamine de nicotinerge acetylcholine receptoren blokkeert en dat nicotine het systeem stimuleert. In de toekomst kan nicotine vervangen worden door nieuwe nicotinerge geneesmiddelen om de effectiviteit ervan te testen in mensen.

Om het hierboven genoemde 'mecamylamine challenge model' te kunnen gebruiken in de praktijk, moesten de effecten in gezonde proefpersonen eerst gekwantificeerd worden. Het vijfde hoofdstuk van het proefschrift probeert de gekwantificeerde effecten te relateren aan de mecamylamine concentraties die gemeten werden in het bloed. Door middel van wiskundige modellen kunnen de bloedconcentraties gerelateerd worden aan de geneesmiddeleffecten (net zoals in hoofdstuk 2). Met behulp van die wiskundige modellen kan ook berekend worden wat de effecten zullen zijn bij bloedconcentraties die niet daadwerkelijk gemeten zijn. Kennis over welke effecten verwacht kunnen worden bij bepaalde concentraties kan helpen bij het opzetten van nieuwe studies en bij de interpretatie van de effecten van nieuwe nicotinerge middelen die we van plan zijn te testen gebruikmakend van dit model. Ook geven deze modellen belangrijke informatie over de

gevoeligheid van de testen voor mecamylamine, zelfs bij lage doseringen. Nog belangrijker is dat we nu weten welke bloeddrukdaling we zouden kunnen verwachten wanneer we de dosering zouden willen verhogen.

De remmende invloed die acetylcholine zou kunnen hebben op ontsteking is de laatste jaren een 'hot topic' in de wetenschappelijke literatuur. Hoe het cholinerge systeem inflammatie zou kunnen remmen en de mate waarin, is echter nog grotendeels onbekend. Het is wel bekend dat cholinerge zenuwcellen als eerste getroffen worden bij de ziekte van Alzheimer en dat ontstekingsprocessen in de hersenen daarbij een rol spelen. Hiermee rijst ook de vraag of de huidige behandeling van symptomen van de ziekte van Alzheimer die het cholinerge systeem stimuleren ook een ontstekingsremmend effect hebben. In hoofdstuk zes hebben we onderzocht wat voor effecten choline, een andere stof die nicotine-type acetylcholine receptoren bindt en stimuleert, heeft op ontsteking (inflammatie). Eerst namen wij bloed af van gezonde proefpersonen en stimuleerden we het bloed *ex vivo*, dat wil zeggen buiten het lichaam, met verschillende middelen die ontsteking veroorzaken, in de aanwezigheid en afwezigheid van choline. Daarna werden de verschillende eiwitten gemeten (interleukinen) die afweercellen in de context van de inflammatoire reactie produceren. Choline remde enkele interleukinen die deel uitmaken van het inflammasoom, een recent ontdekt complex van eiwitten gerelateerd aan ontsteking dat ook in de hersenen van patiënten met de ziekte van Alzheimer wordt aangetroffen. Dit zou kunnen betekenen dat de nieuwe geneesmiddelen die nog specifiek en krachtiger het cholinerge systeem stimuleren, misschien ook in lichte mate de ontstekingsachtige processen in de hersenen kunnen verminderen en daarmee de progressie van de ziekte van Alzheimer enigszins kan vertragen. Het zevende hoofdstuk is gerelateerd aan een objectieve manier om effecten van cholinerge geneesmiddelen te meten door middel van het elektroencefalogram (EEG). De effecten van cholinerge en anti-cholinerge middelen op de elektrische activiteit in de hersenen zijn al uitgebreid beschreven, maar wij deden hier onderzoek naar een nieuwe methode die gebruik maakt van computer-learning technieken om de gevoeligheid van het EEG voor het vaststellen van de invloed van nieuwe geneesmiddelen die ontwikkeld

worden voor de ziekte van Alzheimer door middel van beïnvloeding van het cholinerge systeem te doen toenemen. De resulterende EEG index is een gevoeliger maat voor geneesmiddelen met cholinerge activiteit die muscarine-type acetylcholine receptoren beïnvloeden dan de huidige bestaande EEG methode.

Samenvattend beschrijft dit proefschrift hoe met behulp van anti-cholinerge middelen de effecten van nieuwe geneesmiddelen die het cholinerge systeem stimuleren gemeten kunnen worden en hoe wij die tests verder hebben ontwikkeld. Ook beschreven wij hoe de effecten van geneesmiddelen met cholinerge en anti-cholinerge effecten beter gekwantificeerd kunnen worden. Het proefschrift geeft ook weer wat de complexiteit is van het cholinerge systeem en de invloed van veroudering erop, alsmede de samenhang met cognitieve functies en de invloed op ontsteking.