

University of Groningen

Substance P and the neurokinin 1 receptor

Hart, Maria Geertrudis Cornelia van der

IMPORTANT NOTE: You are advised to consult the publisher's version (publisher's PDF) if you wish to cite from it. Please check the document version below.

Document Version

Publisher's PDF, also known as Version of record

Publication date:

2009

[Link to publication in University of Groningen/UMCG research database](#)

Citation for published version (APA):

Hart, M. G. C. V. D. (2009). Substance P and the neurokinin 1 receptor: from behavior to bioanalysis. s.n.

Copyright

Other than for strictly personal use, it is not permitted to download or to forward/distribute the text or part of it without the consent of the author(s) and/or copyright holder(s), unless the work is under an open content license (like Creative Commons).

Take-down policy

If you believe that this document breaches copyright please contact us providing details, and we will remove access to the work immediately and investigate your claim.

Downloaded from the University of Groningen/UMCG research database (Pure): <http://www.rug.nl/research/portal>. For technical reasons the number of authors shown on this cover page is limited to 10 maximum.

Nederlandse Samenvatting

Affectieve stoornissen zoals angst en depressie zijn aandoeningen die een grote invloed hebben op het welbevinden van patiënten en op hun omgeving. Uit epidemiologische studies blijkt dat een belangrijke traumatische gebeurtenis een rol kan spelen in de ontwikkelingen van deze aandoeningen. Wereldwijd worden deze aandoeningen beschouwd als een van de belangrijkste oorzaken van invaliditeit. Volgens de wereld gezondheids organisatie (WHO) zullen, in 2020, angst en depressie de op één na belangrijkste aandoening zijn, na cardiovasculaire aandoeningen. Men verwacht zelfs dat affectieve stoornissen voor vrouwen de voornaamste oorzaak van ziekte zullen zijn. Helaas is er de laatste jaren weinig vooruitgang geboekt in het begrip van de onderliggende oorzaken van depressie evenals in de ontwikkeling van nieuwe geneesmiddelen.

Chronische stress wordt gezien als een van de factoren die bij de ontwikkeling van depressie een belangrijke rol speelt. Dit uitgangspunt wordt dan ook veel gebruikt in onderzoek naar de depressie en naar de ontwikkeling van nieuwe geneesmiddelen,zo ook in dit proefschrift.

Boomfeeksen (*tupaia belangeri*) zijn kleine dieren, ongeveer zo groot als een eekhoorn, waar ze op het eerste gezicht ook veel op lijken. Maar in de classificatie staan ze tussen de primaten en insectenetters. Ze leven solitair in de regenwouden van Maleisië, waar ze in bomen leven. Het zijn dagdieren die hun territorium beschermen tegen andere indringers. Om hun territorium te beschermen vechten de manlijke boomfeeksen met elkaar.

In het model dat voor dit onderzoek is gebruikt, worden onervaren manlijke boomfeeksen in het gebied van een ouder ervaren dominant dier binnen gelaten. De jonge dieren worden als indringers gezien en opgejaagd, dit is een stressvolle ervaring voor hen. In de natuur gaat de jonge verslagen boomfeeks dan ook weg, en op zoek naar een ander leef gebied. Maar in dit onderzoek wordt het jonge verslagen dier constant geconfronteerd met het dominante dier, waar het van verloren heeft.

Door ze dagelijks deze ervaring te laten ondergaan en door ze te confronteren met verschillende dominante dieren, gaan de jonge dieren zich "depressief" gedragen. Ze gaan zich minder bewegen, ze verzorgen zichzelf minder en ze markeren hun omgeving minder of helemaal niet.

Naast deze gedragsveranderingen, veranderen er ook allerlei fysiologische parameters. Zo stijgt de concentratie van cortisol (het belangrijkste stress hormoon) in hun bloed en urine. Het onderdrukt het immuun systeem, maar heeft ook, als het langdurig verhoogd is, negatieve effecten op de hersenen.

Buiten verhoogde cortisol concentratie, stijgt ook de concentratie van noradrenaline in de ochtend urine. Dit geeft aan dat de mannetjes constant alert zijn op wat er eventueel kan gebeuren, omdat de dominante boomfeeks constant bij ze in de buurt is en ze niet weten wat er kan gebeuren.

Na enkele weken van dit soort stressvolle dagen, blijkt dat er in de hersenen ook veel is veranderd. Zo zijn in de hippocampus, een hersen gebied dat bij veel processen een belangrijke rol speelt, de contacten tussen de hersencellen sterk verminderd. Daarnaast worden er minder nieuwe hersencellen aangemaakt als de dieren dagelijks aan de psychosociale stress worden blootgesteld. Ook is de concentratie van bepaalde metabolieten (een maatstaf voor de algemene activiteit van de hersenen) sterk verlaagd. In eerdere studies is aangetoond dat de dieren door behandeling met antidepressiva, ondanks de dagelijkse stress, minder veranderingen vertonen in hun gedrag. Daarnaast worden allerlei functies van hun hersenen minder aangetast.

Dit model maakt het niet alleen mogelijk de gevolgen van chronische stress te onderzoeken, maar vooral ook om potentiële nieuwe behandelingen voor depressie te onderzoeken. Een belangrijke reden om dergelijk onderzoek te doen in dit model, is dat erkende geneesmiddelen voor bijvoorbeeld angst de negatieve effecten van de chronische stress niet volledig kunnen omkeren.

Vandaar dat dit model wordt gebruikt om de werking van "nieuwe" antidepressiva te onderzoeken. Dit type wordt als nieuw beschouwd omdat het op farmacologisch gebied een ander mechanisme in de hersenen aangrijpt dan de zogenaamde klassieke antidepressiva (de nu erkende geneesmiddelen) gebruikt. Traditionele antidepressiva werken voornamelijk op het monoaminerge systeem. Neurotransmitters zoals serotonine, noradrenaline en dopamine vallen in deze groep. Het nieuwe antidepressivum, gebruikt in dit proefschrift is een Neurokinine 1 antagonist. Neurokinines zijn kleine eiwitten, ook wel peptides genoemd, die bestaan uit ongeveer 11 aminozuren. Substance P is de bekendste ervan en oefent zijn werking voornamelijk via de Neurokinine 1 Receptor uit. Het nieuwe antidepressivum gebruikt in dit proefschrift blokkeert de Neurokinine Receptor.

Om de effectiviteit van het nieuwe antidepressivum te testen, heb ik gekeken naar het effect ervan in de boomfeeks. Hierbij heb ik vooral gekeken naar het gedrag en de fysiologische parameters, waarvan bekend is dat ze veranderen onder invloed van chronische psychosociale stress. Het doel van deze deze metingen was het uitzoeken van mogelijk nieuwe behandel methoden tegen depressie, dat is van groot belang aangezien maar 70 % van de patiënten goed reageert op de bestaande behandel methoden.

Uit dit proefschrift blijkt inderdaad dat de Neurokinine 1 antagonist vele door chronische stress veroorzaakte veranderingen in het lichaam kan tegengaan of normaliseren zoals de traditionele antidepressiva. Het gedrag, zoals zelfverzorging en markering worden genormaliseerd door de behandeling. Bovendien worden allerlei parameters die veranderen in de hersenen ten gevolge van stress -zoals de

grote van hun hippocampus, het aantal nieuwe hersencellen dat per dag wordt aangemaakt en hersen metaboliëten- genormaliseerd.

De chronische psychosociale stress heeft ook een verstrend effect op het functioneren van het immuun systeem. De klassieke antidepressiva kunnen die verstoring gedeeltelijk tegengaan, maar de Neurokinine 1 antagonist niet.

Daarnaast hebben klinische studies de positieve effecten van Neurokinine 1 antagonisten niet kunnen bevestigen in de behandeling van depressie. Wel was duidelijk geworden dat Neurokinine 1 antagonisten betrokken zijn in hersen processen die een rol spelen in de verwerking van emoties zoals angst en depressie in muizen. De gedachte ging daarom vervolgens uit naar een combinatie behandeling met de traditionele antidepressiva en de Neurokinine antagonisten samen. Eerdere studies hebben aangetoond dat deze combinatie zeer hoopgevend is. In dit proefschrift wordt onderzocht of deze combinatie ook toepasbaar is in cavia's. Er is namelijk een variëteit is tussen diersoorten in de reactie op geneesmiddelen. Kleine structuur verschillen tussen eiwitten in de hersenen kunnen namelijk de werkzaamheid van een geneesmiddel beïnvloeden. Van bepaalde receptoren in de hersenen is bekend dat ze verschillen tussen muis, rat, cavia, boomfeeksen en mensen. Dit geldt ook voor de Neurokinine 1 receptor, die van de mens is vrijwel hetzelfde als die in boomfeeksen en cavia's. Daarentegen is de Neurokinine 1 receptor in ratten en muizen anders dan die in mensen. Dit betekent dat de Neurokinine 1 antagonisten voor de kliniek niet onderzocht kunnen worden in ratten en muizen. Om toch een goed model voor Neurokinine 1 antagonisten te hebben, is het belangrijk te onderzoeken of de bevindingen in muizen in cavia's kunnen worden herhaald. Als dit het geval is, dan zou een combinatie therapie van antidepressiva en Neurokinine receptoren ook werkzaam in de kliniek kunnen zijn.

Uit mijn onderzoek is gebleken dat een combinatie therapie van antidepressiva en Neurokinine 1 antagonisten waarschijnlijk geen meerwaarde voor de kliniek zal hebben, aangezien er geen effect werd gevonden in cavia's. Een mogelijke verdere verklaring is dat er niet alleen een verschil is tussen de structuren van de receptor in de verschillende organismen, maar ook in de rol die de receptor in de hersenen speelt.

Uit het bovenstaand onderzoek is gebleken dat de kennis over de functie van Substance P in hersenen tekort schiet. Een reden hiervoor is, dat het meeste onderzoek aan Substance P indirect is. Dat wil zeggen, dat Substance P niet zelf wordt gemeten, maar de gevolgen in de hersenen van het verhogen of verlagen van Substance P in de hersenen. Ook wordt niet gekeken naar de invloed van bekende processen op Substance P. Dit komt doordat de concentratie van Substance P in de hersenen heel laag is en dus moeilijk te meten is met bestaande

analyse methodes. Daarnaast is Substance P groter dan de klassieke neurotransmitters (bv. serotonine en dopamine). Dit maakt bepaling van Substance P met de door mij toegepaste onderzoeksmethoden lastig. In dit proefschrift wordt een verbeterde onderzoeksmethode beschreven, die het mogelijk maakt om in de toekomst het de concentraties van Substance P direct te onderzoeken, alsook de gevolgen van een verandering in de concentratie.

Een van de voor dit proefschrift toegepaste onderzoeksmethoden is microdialyse. Dit is een methode waarbij gebruik gemaakt wordt van een halfdoorlaatbaar membraam. Kleine moleculen komen er makkelijk doorheen, maar grotere moleculen hebben daar problemen mee. Deze techniek werkt goed om veranderingen in neurotransmitter concentraties in de hersenen te bestuderen. Om Substance P in de hersenen beter te bestuderen ben ik op zoek gegaan naar membranen die Substance P beter doorlaten. Daarnaast heb ik gekeken of de membranen ook geschikt zijn om veranderingen in de concentratie van Substance P in de hersenen te kunnen volgen. Van de vijf geteste membranen blijkt er slechts één geschikt te zijn om Substance P te bestuderen met behulp van microdialyse.

Een ander probleem dat bij het bestuderen van Substance P meespeelt is dat Substance P lastig te meten is met de huidige beschikbare analyse methoden. Dit effect wordt versterkt door het feit dat Substance P in hele lage concentraties in de hersenen voorkomt.

De enige bestaande mogelijkheid om Substance P te meten was met behulp van een zogenoemde antilichaam methode. Hoewel de antilichamen zo gemaakt zijn dat ze alleen maar aan Substance P zouden kunnen binden, blijkt dat in de praktijk niet het geval te zijn. In dit proefschrift wordt een nieuwe techniek om Substance P betrouwbaar te kunnen meten beschreven, namelijk massaspectrometrie. Het blijkt dat door een eenvoudige chromatografische scheidingsmethode te koppelen aan een massaspectrometer het mogelijk is om Substance P te meten in hersenvloeistof monsters. Met deze methode is de data in dit proefschrift gemeten en vergeleken met de antilichaammethode. Het blijkt dat conclusies getrokken uit de data verkregen met behulp van de oude methode, soms effecten meeneemt die komen van peptiden die op Substance P lijken. Hierdoor zouden belangrijke processen in de hersenen ten onrechte toegeschreven kunnen worden aan Substance P. Helaas is al veel onderzoek gedaan met de oude methode. Veel van dat werk zal overgedaan moeten worden, omdat de kans groot is dat er verkeerde conclusies uit getrokken zijn.

Met de nieuwe methode is niet alleen mogelijk om Substance P concentraties in de hersenen te bepalen, maar ook die concentraties van andere peptiden in de hersenen. Dit is van groot belang, omdat meer en meer blijkt dat de peptiden in de

hersenen een erg belangrijke rol spelen in de fijn-reguleren van allerlei processen. Het meten van peptide concentraties is daarom een belangrijke stap vooruit op de route naar de ontwikkeling van nieuwe geneesmiddelen.