

University of Groningen

## Muscarinic cholinceptive systems

van der Zee, Eelke Anton

**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:*

1993

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

*Citation for published version (APA):*

van der Zee, E. A. (1993). Muscarinic cholinceptive systems: Distribution of muscarinic receptors and behaviorally induced plasticity in the brain. 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.

## SAMENVATTING

Acetylcholine (ACh) is de oudste bekende neurotransmitter in de hersenen. ACh wordt gesynthetiseerd door zenuwcellen die tezamen het basale cholinerge voorhersensysteem vormen. Deze zenuwcellen projecteren (onder meer) naar twee hersengebieden die een belangrijke rol in leer- en geheugenprocessen spelen: de hippocampus en de hersenschors (neocortex). De hippocampus speelt een belangrijke rol bij de verwerking van nieuwe informatie welke vervolgens doorgegeven en opgeslagen wordt in de hersenschors. ACh speelt een ondersteunende taak in geheugenfuncties, met name door de alertheid van het organisme te sturen.

De cholinerge doelcellen van het cholinerge systeem kunnen beschikken over twee typen cholinerge receptoren: de muscarine- en de nicotine acetylcholine receptoren. De muscarine receptoren komen veelvuldiger voor in de hersenen dan de nicotine receptoren, en zijn vooral bij leer- en geheugenprocessen betrokken. Een (sterk) verminderd functioneren van het cholinerge systeem in de hersenen is waargenomen bij veroudering en in het bijzonder bij dementie zoals de ziekte van Alzheimer.

In deze dissertatie wordt onderzoek beschreven dat zich primair gericht heeft op het verkrijgen van anatomische en neurochemische kennis van het muscarine cholinerge systeem in met name de hippocampus en de hersenschors. Hierbij is gebruik gemaakt van het monoclonale antilichaam M35 als een merker dat de muscarine receptor specifiek herkent. Het grote voordeel van deze methode in vergelijking tot (de klassieke) receptor autoradiografie is het oplossend vermogen: op (sub)cellulair niveau kan de productie, het transport en de lokatie waar de receptor functioneel is bestudeerd worden. Dit type onderzoek levert derhalve een aanzienlijke bijdrage aan onze fundamentele kennis van leer- en geheugenprocessen in de hersenen bij zowel gezonde jonge als oude, "demente" individuen waarbij het cholinerge systeem betrokken is.

De eerste twee hoofdstukken beschrijven de verdeling van muscarine receptoren in het centrale zenuwstelsel (CZS; hoofdstuk 2) en in de pancreas (hoofdstuk 3). De muscarine receptor wordt door M35 herkend vanaf het moment van assemblage in het Golgi apparaat. Vervolgens wordt het door de dendrietische uitlopers getransporteerd naar de synapsen, de plaats waar de eigenlijke signaaloverdracht plaats vindt. Vele verschillende celtypen bevatten muscarine receptoren. In het CZS bevatten de grote piramide cellen in laag 5 van de hersenschors en de interneuronen van de hippocampus veel muscarine receptoren. In de pancreas zijn het met name de endocriene cellen aan de rand van de eilandjes van Langerhans sterk aangekleurd. Cholinerge innervatie is in beide

organen essentieel voor optimaal functioneren, en de mate van cholinerge input correleert positief met de expressie van muscarine receptoren. Blijkbaar vindt in deze cellen een hoge productie en turnover plaats van muscarine receptoren.

Tijdens veroudering treden over het algemeen geringe veranderingen op in de expressie en distributie van muscarine receptoren in zenuwcellen (hoofdstukken 4 en 5). In ongeveer de helft van de oude ratten werd een afname waargenomen in de aanwezigheid van muscarine receptoren in zenuwcellen. Echter, in nagenoeg alle oude dieren werd een significante toename in de productie van muscarine receptoren in gliacellen gevonden. Deze gliacellen (astrocyten) hebben een zenuwcel-ondersteunende functie, en hun verhoogde muscarine receptor expressie compenseert wellicht voor het verlies aan muscarine receptoren in zenuwcellen.

Cholinoceptieve cellen kunnen ook uitgerust zijn met nicotine receptoren. Door middel van colocalisatie-studies is in hoofdstuk 4 aangetoond dat één en dezelfde cholinoceptieve cel zowel muscarine als nicotine receptoren tot expressie laat komen. Hierbij is over het algemeen sprake van een positieve relatie: cellen met veel muscarine receptoren hebben ook veel nicotine receptoren. Beide receptortypen bewerkstelligen verschillende processen die zich blijkbaar binnen één cel kunnen afspelen. Deze gegevens duiden aan dat het zinvol is, vanuit een therapeutisch oogpunt, om zowel muscarine als nicotine receptoren farmacologisch te stimuleren teneinde een cholinoceptieve cel aan te zetten tot een optimale respons.

Na het in kaart brengen van de distributie en de morfologie van het muscarine cholinoceptieve systeem wordt in hoofdstuk 6 de relatie bestudeerd tussen dit systeem en het inhiberende systeem in de hippocampus dat GABA als neurotransmitter gebruikt. Hiervoor zijn drie merkers gebruikt die selectief voorkomen in GABAerge zenuwcellen van de hippocampus: de neuropeptide Somatostatine, het calcium-bindende eiwit Parvalbumine en het enzyme GAD dat voor de synthese van GABA zorgt. De GABAerge zenuwcellen blijken nagenoeg allemaal te behoren tot het muscarine cholinoceptieve systeem, en behoren tot sterkst aangekleurde cellen in de hersenen. Dit betekent dat juist de GABAerge cellen onder sterke invloed staan van het cholinerge systeem.

In hoofdstuk 7 wordt aandacht geschonken aan een het eiwit Proteïne Kinase  $C\gamma$  (PKC $\gamma$ ), dat fungeert als een belangrijke intracellulaire boodschapper die ondermeer door de muscarine receptor geactiveerd wordt. PKC $\gamma$  is een van de verschillende PKC subtypen die een belangrijke rol spelen bij leer- en geheugenprocessen. PKC $\gamma$  wordt alleen in de hersenen gevonden en is hier tevens het meest voorkomende subtype. Colocalisatie studies (hoofdstukken 7 en 8) tonen een nauwe relatie aan tussen de expressie van PKC $\gamma$  en de aanwezigheid van muscarine receptoren. In de hippocampus en de hersenschors blijkt PKC $\gamma$  vrijwel uitsluitend voor te komen in cellen die ook muscarine receptoren produceren. Deze resultaten suggereren dat PKC $\gamma$  in belangrijke mate via muscarine receptoren wordt geactiveerd en dat PKC $\gamma$  derhalve een cruciale rol speelt bij de verwerking van de cholinerge signaaloverdracht. Op grond van deze gegevens kan gespeculeerd worden dat herstel van verminderde cholinerge neurotransmissie, zoals tijdens veroudering en dementie, bereikt kan worden door directe stimulering van PKC $\gamma$ .

De bovengenoemde resultaten van deze dissertatie zijn verkregen door studie aan individuen

die weinig tot geen externe tot verhoogde hersenactiviteit gedurende hun hele levensduur beschikbaarheid van water de een dier getraind wordt de verdeling van muscarine receptoren voltooiën van de door proefdierverschillen waarbij verschillende hersengebieden gereflecteerd in veranderingen muscarine receptoren en worden door de gedrags- en oriëntatietest, waarbij de hippocampus en de hersenschors onaangename elektrische schok Na een conditioneringstaak schok volgt die ontweken treden veranderingen op in voorheen weinig tot geen productie. De receptoren nodig zijn bij cholinerge afnemen: de GABAerge cellen receptoren. De wijze waarop voorspelbaar maar is niet p

Een intrigerend resultaat is de aantoonbaarheid van muscarine neurotransmitter zelf. Dit bij veroorzaakt kan worden door een belangrijke rol als in cholinerge systemen op het algemeen voorkomende ne muscarine receptor express

Hoofdstuk 10 bevat, met onderzochte resultaten, gegevens levend in het wild gevangen als getrainde laboratorium uitgevoerd om te bestuderen de relatief onnatuurlijke om vergelijking leert ons dat de weinig verschilt tussen laboratorium cholinoceptieve systeem in

ge input correleert positief  
llen een hoge produktie en

gen op in de expressie en  
en 5). In ongeveer de helft  
van muscarine receptoren in  
te toename in de produktie  
(astrocyten) hebben een  
otor expressie compenseert

ceptoren. Door middel van  
e cholinoceptieve cel zowel  
er het algemeen sprake van  
ok veel nicotine receptoren.  
blijkbaar binnen één cel  
n therapeutisch oogpunt, om  
eneinde een cholinoceptieve

t muscarine cholinoceptieve  
en het inhiberende systeem  
zijn drie merkers gebruikt  
ocampus: de neuropeptide  
GAD dat voor de synthese  
lemaal te behoren tot het  
e cellen in de hersenen. Dit  
et cholinerge systeem.

ein Kinase Cy (PKC $\gamma$ ), dat  
door de muscarine receptor  
e een belangrijke rol spelen  
onden en is hier tevens het  
8) tonen een nauwe relatie  
scarine receptoren. In de  
e komen in cellen die ook  
Cy in belangrijke mate via  
cruciale rol speelt bij de  
gegevens kan gespeculeerd  
als tijdens veroudering en

door studie aan individuen

die weinig tot geen externe visuele, tactiele of sensorische prikkels hebben gekregen die aanzetten tot verhoogde hersenactiviteit zoals tijdens een leerproces. Deze "naïeve" proefdieren zijn gedurende hun hele leven in een vertrouwde omgeving gehuisvest onder permanente beschikbaarheid van water en voer. Verandert de expressie van muscarine receptoren en PKC $\gamma$  als de een dier getraind wordt d.m.v. een leertaak? Een grote mate van plasticiteit en dynamiek in de verdeling van muscarine receptoren en PKC $\gamma$  in de hersenen treedt aan het licht tijdens en na het voltooiën van de door proefdieren uitgevoerde (leer)taken. Meerdere gedragstesten zijn uitgevoerd, waarbij verschillende hersengebieden een centrale rol spelen (hoofdstukken 8 en 9). Dit wordt gereflecteerd in veranderingen in de mate van expressie en verschuivingen in de distributie van muscarine receptoren en PKC $\gamma$ , die specifiek optreden in die hersengebieden die geactiveerd worden door de gedragstest. Zo vinden de voornaamste veranderingen na een ruimtelijke orientatietest, waarbij de rat een vast patroon van verstopt voedsel moet vinden, plaats in de hippocampus en de hersenschors (hoofdstuk 8). Na blootstelling aan een eenmalige, kortstondige onaangename elektrische schok vinden de veranderingen plaats in de hersenschors (hoofdstuk 9). Na een conditioneringstaak, waarbij de rat moet leren dat na een zoemtoon een lichte elektrische schok volgt die ontweken kan worden door naar de andere kant van het testapparaat te springen, treden veranderingen op in de amygdala en de hippocampus (hoofdstuk 10). Zenuwcellen die voorheen weinig tot geen muscarine receptoren tot expressie lieten komen worden aangezet tot produktie. De receptoren worden vervolgens naar de dendrieten getransporteerd, daar waar zij nodig zijn bij cholinerge signaaloverdracht. De expressie van muscarine receptoren kan ook afnemen: de GABAerge cellen in de hippocampus vertonen juist een vermindering van muscarine receptoren. De wijze waarop het muscarine cholinoceptieve systeem verandert blijkt in hoge mate voorspelbaar maar is niet permanent; na verloop van enkele weken is de beginsituatie herstelt.

Een intrigerend resultaat wordt beschreven in hoofdstuk 9: de veranderingen in aantoonbaarheid van muscarine receptoren wordt niet alleen veroorzaakt door ACh als directe neurotransmitter zelf. Dit betekent dat veranderingen in het functioneren van muscarine receptoren veroorzaakt kan worden door toedoen van andere neurotransmitters. Waarschijnlijk speelt PKC $\gamma$  een belangrijke rol als intermediair in de interactie tussen het cholinerge systeem en de niet-cholinerge systemen op het niveau van de regulatie van muscarine receptoren. De exciterende en algemeen voorkomende neurotransmitter glutamaat lijkt verantwoordelijk voor de veranderingen in muscarine receptor expressie, met name tijdens het aanleren van nieuwe kennis.

Hoofdstuk 10 bevat, naast een globale samenvatting en een (technische) evaluatie van de onderzoeksresultaten, gegevens over de vergelijking van laboratorium ratten met soortgenoten die levend in het wild gevangen zijn. Hierbij is de expressie van muscarine receptoren in zowel naïeve als getrainde laboratorium ratten afgezet tegen die van wilde dieren. Dit vergelijkende onderzoek is uitgevoerd om te bestuderen in hoeverre de bovengenoemde resultaten het gevolg kunnen zijn van de relatief onnatuurlijke omstandigheden waaronder laboratorium ratten hun leven doorbrengen. De vergelijking leert ons dat de distributie en mate van expressie van muscarine receptoren en PKC $\gamma$  weinig verschilt tussen laboratorium en wilde ratten. Opmerkelijk is echter dat het muscarine cholinoceptieve systeem in de hippocampus van wilde ratten meer overeenkomsten vertoont met

die van naïeve laboratorium ratten, terwijl de hersenschors meer lijkt op die van getrainde laboratorium ratten. Mogelijk is er meer (of een snellere) geheugenopslag in de hersenschors bij wilde ratten, en wordt de hippocampus relatief snel "geleegd" om plaats te maken voor nieuwe informatie. Een alternatieve verklaring ligt mogelijk in het gedrag van de wilde rat, die door routine-matig gedrag in een bekende omgeving weinig hippocampale activiteit ontwikkelt.

Voor het muscarine cholinoceptieve systeem in zowel de hippocampus als de hersenschors is een algemeen anatomisch principe opgesteld voor het functioneren en de dynamiek in de expressie van muscarine receptoren. Tenslotte wordt een deel van de onderzoeksresultaten in een verklarend werkmodel gepresenteerd. Hierin worden de vermoedelijke cellulaire processen die ten grondslag liggen aan de waargenomen verschuivingen in de expressie van muscarine receptoren en PKC $\gamma$  in de hippocampus en de hersenschors beschreven. Op grond van dit model kunnen experimenten opgezet worden die moeten leiden tot nieuwe inzichten in de complexe hersenprocessen waarin het cholinerge systeem centraal staat.

In de eerste plaats mogelijk heeft gemaakt bedankt voor het geduld waarmee je nieuwe experimenten bedank ik mijn promotoren de door Prof. Dr. Do Tomohiro Matsuyama (geleverd door onze analytische) zijn perfecte organisatie komen.

Ik heb met veel plezier Compaan en Bauke Bu opgenomen. Bauke, jou geweest. Gineke en Jos inzicht en soms zelfs combinatie met de anderen paranimfen gevonden.

Eveneens had dit w Ik wil daarom Cerien S Hans Supèr, Heleen M leuke en vruchtbare samenwerking Lex brachten de nodige Hans in samenwerking opgeleverd. Hieruit bleek tegen vergissingen. He Roozendaal en Anja V slechts deels door mij te je deze trend voort.

Publikatie van nieuw Dick Visser en Ever reproduceerden heb ik