
Voordracht gehouden in de gewone vergadering van de Afdeling Natuurkunde der Koninklijke Nederlandse Akademie van Wetenschappen op 30 november 1992

NEUROPEPTIDEN EN REGENERATIE VAN ZENUWWEEFSEL

W.H. Gispen

Rudolf Magnus Instituut, Rijksuniversiteit Utrecht

Samenvatting

Het is bekend dat hypofysaire peptidehormonen de hersenen rechtstreeks, dat wil zeggen niet via perifere endocriene klieren kunnen beïnvloeden. Zo bleken fragmenten van deze peptiden, die geen endocriene activiteit bezitten, het gedrag van proefdieren zowel na centrale als systemische toediening te beïnvloeden. Vandaar dat de vraag werd opgeroepen of neuronen doelwit kunnen zijn van circulerende peptiden en zo ja of neuronen op eenzelfde wijze reageren op deze peptiden als organen in de periferie. Als voorbeeld neem ik de peptiden die verwant zijn aan ACTH/MSH (melanocortinen). ACTH roept in de bijnierschorscel zowel een "trofe" reactie (verhoogde O₂-opname, stimulering eiwitsynthese etc.) als een "fysiologische" reactie (steroidsynthese en -afgifte) op. Als we in de hersenen de gedragseffecten vergelijken met de fysiologische reactie van de bijnier, oefenen melanocortinen dan ook een met de bijnier vergelijkbare trofe werking op neuronen uit? Omdat hersenweefsel zo ongelofelijk complex is werd voor de beantwoording van die vraag uitgeweken naar het perifere zenuwstelsel. Immers, in dat zenuwstelsel kennen we de plaats en aard van de neuronen, en kunnen we relatief eenvoudig neurofysiologische en functionele vragen stellen en beantwoorden.

Herstel na traumatische schade

Het regeneratief vermogen van het perifere zenuwstelsel is beperkt, maar herstel en dus reïnnervatie is mogelijk als de schade beperkt blijft tot de neuronale uitlopers (axonen en dendrieten). Het blijkt dat talrijke humorale en structurele eiwitten en

peptiden van neuronale of gliale oorsprong of vanuit het innervatiegebied dit herstelproces stimuleren. Strand en medewerkers (1981) waren de eersten die rapporteerden dat ACTH een neurotrofe invloed op het herstelproces na een afklemletsel in de n. ischiadicus van bijnierloze ratten had. Door gebruik te maken van eenvoudige testen die de sensorimotor-functie in ratten meten, konden wij vaststellen dat met name peptidefragmenten van de N-terminus van ACTH/MSH, waaronder het synthetische analogon van ACTH_{4,9} (ORG 2766; Met(O₂)-Glu-His-Phe-D-Lys-Phe), herstel van schade van de n. ischiadicus in de rat bevorderen. De dosis-effect-relatie is omgekeerd U-vormig met een optimum tussen 7.5 en 75 µg/kg wanneer het peptide s.c. om de 48 uur wordt toegediend. Orale toediening is niet effectief, maar het is mogelijk om herstel te bevorderen door het peptide aan te bieden vanuit subcutaan aangebrachte osmotische minipompjes of bio-afbreekbare capsules. De peptidebehandeling moet aanvangen in de periode direct volgend op de verwonding en hoeft niet lang te duren om maanden later nog een verbetering van de herstellende nervus ischiadicus te hebben. Op grond van een aantal experimentele gegevens stelden we de hypothese op dat de peptidebehandeling een factor uit het eigen herstelrepertoire van de zenuw nabootst of versterkt. Als dat zo is dan zou een peptidebehandeling ook effectief kunnen zijn bij zenuwschade anders dan na een mechanisch letsel. Immers, het endogene trofe repertoire van een zenuw is beperkt en de zenuw zou er een beroep op kunnen doen in alle gevallen van bedreiging, onafhankelijk van de aard van die bedreiging. Het was daarom dat wij de neurotrofe werking van deze peptiden ook onderzochten in diermodellen van ziekten van het perifere zenuwstelsel.

Diabetische Neuropathie

Diabetische neuropathie is een veelvuldig voorkomende complicatie bij patiënten die lijden aan suikerziekte van het type 1 of 2. Het neuropathisch syndroom kan zichzelf in verschillende vormen presenteren, maar de meest voorkomende neuropathie is een gecombineerde sensorimotor-autonome neuropathie. Er bestaat uitgebreide literatuur over de pathogenese van diabetische neuropathie. Er bestaan ruwweg drie zienswijzen. De eerste hypothese veronderstelt dat chronische hyperglycaemie leidt tot activatie van de polyolweg met als gevolg een depletie van myo-inositol. Reductie van myo-inositol zou verantwoordelijk zijn voor een verlaging van de activiteit van Na⁺-K⁺ATP-ase dat weer zou leiden tot de waargenomen vertraging van de impulsgeleidingssnelheid over de aangedane zenuw. De tweede theorie legt de nadruk op de vasculaire pathologie bij suikerziekte die verantwoordelijk is voor een verminderde doorbloeding en O₂-voorziening van de zenuw met als gevolg een verminderde zenuw-functie. De derde theorie stelt een overmatige glycosylering van neurale eiwitten verantwoordelijk voor de zenuwdysfunctie. Waarschijnlijk zal een combinatie van bovengenoemde ontregelingen ten grondslag liggen aan de diabetische neuropathie. In diermodellen van deze aandoening wordt vaak gewerkt met ratten waarbij, hetzij door streptozotocine hetzij door een genetisch defect veroorzaakte autoimmun-reactie, de insulineproducerende β-cellen in de eilandjes van Langerhans te gronde gaan. In het eerste geval wordt veelal geen insuline gegeven, in het tweede geval hebben de ratten exogeen insuline nodig om te overleven. In beide gevallen ontstaat zo'n vier weken na het begin van de verhoging van de bloedsuikerspiegel een diabetische neuropathie die o.a. gekarakteriseerd wordt door de afname van de motorische en sensibele geleidingssnelheid van de n. ischiadicus. De grootte van de afname in

geleidingssnelheid kan worden verminderd door de ratten vanaf het begin van de inductie de suikerziekte chronisch om de 48 uur subcutaan te behandelen met 75 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ACTH_{4,9}. Van groter potentieel klinisch belang is de waarneming dat in beide gevallen een reeds bestaande neuropathie kan worden verbeterd als de peptide-behandeling pas wordt gestart nadat de geleidingssnelheid reeds verminderd was. Op basis van deze dierexperimentele gegevens werd door B. Bravenboer en D.W. Erkelens (A.Z.U. Utrecht) een oriënterende klinische studie verricht, waarin 62 patiënten verdeeld over 2 groepen, gedurende een jaar dagelijks placebo of 3 mg s.c. ACTH_{4,9} kregen toegediend. Belangrijke inclusiecriteria waren een afwijkende vibratie en temperatuurzin. Op 0, 4, 8 en 12 maanden werden een aantal neurologische en neurofysiologische parameters gemeten. De enige significante verbetering in de met peptide behandelde patiënten ten opzichte van de placebo-behandelde patiënten bleek een verlaging van de vibratiedrempel te zijn. Het zou kunnen zijn dat in deze eerste studie de variabiliteit in de steekproef, de grootte van de steekproef en de duur van de behandeling van te grote invloed op het eventuele resultaat van de behandeling zijn geweest. Op dit moment is een multicenter "dose-finding" studie in uitvoering.

Guillain Barré Syndroom

Bij patiënten die lijden aan het syndroom van Guillain Barré treedt dysfunctie van de perifere zenuwen op, waarschijnlijk als gevolg van een autoimmuunrespons die de Schwanncel beschadigt, resulterend in demyelinisatie. In een diermodel van deze ziekte worden Lewis-ratten geïnoculeerd met een extract van humaan perifeer myeline, waardoor deze ratten een allergische neuritis (EAN) ontwikkelen. Wanneer nu van meet af aan 75 $\mu\text{g}/\text{kg}$ s.c. ACTH_{4,9} analogon om de 48 uur wordt toegediend is het klinisch beeld van de EAN minder ernstig en de geforceerde en spontane motoriek veel minder gestoord. Histologisch onderzoek liet zien dat in de suralis van EAN ratten die het peptide hadden gekregen veel minder verlies van gemyeliniseerde axonen optrad dan in die van EAN ratten behandeld met placebo. Vooralsnog nemen we aan dat het om een neuroprotectie van de perifere zenuw tegen de EAN gaat.

Cisplatin Neuropathie

Neuropathie is één van de belangrijkste bijwerkingen van de behandeling met het chemotherapeuticum cisplatin. Cisplatin wordt nog steeds voorgeschreven voor met name de behandeling van testiculaire en ovariumkankers. Zo'n 40 - 100% van de aldus behandelde patiënten lijden aan een sensibele perifere neuropathie. Zoals boven beschreven wordt de vermindering van geleidingssnelheid als een maat van experimenteel opgewekte neuropathie genomen. In de rat leidt intoxicatie met cisplatin tot een zeer grote daling van de sensibele maar niet van de motorische geleidingssnelheid van de n. ischiadicus. Gelijktijdig behandelen met het ACTH_{4,9}-analogon beschermt de perifere zenuw tegen cisplatin-intoxicatie. Deze bescherming kan zowel bij jonge als oude ratten worden vastgesteld en was ook aanwezig wanneer relatief hoge doseringen van cisplatin werden gegeven. Deze neuropathie laat de anti-kanker werking van het cisplatin onverlet. Op grond van deze veelbelovende resultaten van het dierexperimentele onderzoek werd door de Nederlandse Ovariumkanker Werkgroep een multicenter, gerandomiseerde, dubbel-blinde trial uitgevoerd waaraan 55 vrouwen met ovariumkanker met toestemming deelnamen. De snelheid van tumor-regressie was gelijk in zowel placebo- als peptidebehandelde patiënten. Maar zoals

verwacht vertoonden de placebo-behandelde patiënten na 4 en 6 kuren met cisplatin een sterke verhoging van de vibratie-perceptie drempel. Daarentegen werd zo'n verandering niet aangetoond bij patiënten die telkens voor en na het infuus met cisplatin 1 mg/m² ACTH_{4,9} subcutaan toegediend gekregen hadden. Van groot belang was voorts dat de laatste groep van patiënten significant minder klachten van neurologische aard had. Deze eerste studie liet dus zien dat het ACTH_{4,9} analogon de cisplatin neurotoxiciteit bij patiënten kan voorkomen of verminderen. Op dit ogenblik wordt op een aantal plaatsen in de wereld, waaronder Nederland, klinisch vervolgonderzoek verricht om meer inzicht te verkrijgen in de klinische bruikbaarheid van het peptide bij de behandeling van cisplatin-neuropathie.

Conclusie

De initiële schade en het patroon van afwijkingen van de perifere zenuw is verschillend na mechanische schade, diabetische neuropathie, cisplatin-intoxicatie en experimentele allergische reacties. Toch blijkt onder de vier genoemde omstandigheden behandeling met het ACTH_{4,9} analogon effectief. Het lijkt er dus op dat peptiden afgeleid van ACTH en MSH het herstellervermogen van de perifere zenuw in het algemeen bevordert. Een mogelijke verklaring voor zo'n algemene werking kan liggen in het feit dat een zenuw bij dreiging een beroep doet op een gegeven regeneratief repertoire en dat het peptide een signaal in dat repertoire versterkt of nabootst. Onder omstandigheden waarbij de natuurlijke balans tussen regeneratie en degeneratie in de richting van laatstgenoemd proces doorslaat, kan het peptide door de regeneratieve krachten te versterken onafhankelijk van de oorzaak van de degeneratie de balans ten faveure van de regeneratie herstellen.

Referenties

1. Strand FL, Rose KJ, Zucarelli LA, Kume J, Alves SE, Antonawich FJ, Garrett LY: Neuropeptide hormones as neurotrophic factors. *Physiol Rev* 1991; 71: 1017-1046.
2. Gispen WH: Therapeutic potential for melanocortins in peripheral nerve disease. *TIPS* 1990; 11: 221-222.
3. Gispen WH: Neuropeptiden en zenuwherstel. *Natuur en Techniek* 1991; 4: 296-305.
4. Edwards PM, Van der Zee CEEM, Verhaagen J, Schotman P, Jennekens FGI, Gispen WH: Evidence that the neurotropic actions of α -MSH may derive from its ability to mimic the actions of a peptide formed in degenerating nerve stumps. *J Neurol Sci* 1984; 64: 333-340.
5. Bär PR, Schrama LH, Gispen WH: Neurotrophic effects of ACTH/MSH-like peptides in the peripheral nervous system. In: De Wied D (ed): *Neuropeptides, Basics and Perspectives*. Elsevier Science Publishers, Amsterdam, 1990, 175.
6. Van der Zee CEEM, Gerristen van der Hoop R, Gispen WH: Beneficial effect of the peptide Org 2766 (ACTH 4-9 analogon) in the treatment of peripheral neuropathy in streptozocin-diabetic rats. *Diabetes* 1989; 38: 225-230.
7. Bravenboer B, Kappelle AC, Van Buren T, Erkelens DW, Gispen WH: ACTH4-9-analogue ORG2766 improves existing neuropathy in the BB/wor model. *Diabetes* 1992; 41: 139a (abstract).

8. Bravenboer B, Kappelle AC, Van Buren T, Erkelens DW, Gispen WH: ACTH4-9 analogue ORG 2766 can improve existing neuropathy in streptozocin-induced diabetic rats. *Acta Diabetologica* 1992; accepted.
9. Bravenboer B, Hendriksen PH, Oey L, Van Huffelen AC, Gispen WH, Erkelens DW: ACTH4-9 analogue in randomized, double-blind, placebo controlled trial in diabetic patients with neuropathy. *Diabetologia* 1992; 35 (Suppl.1): 50.
10. Duckers HJ, Verhaagen J, Gispen WH: Beneficial effects of Org2766 treatment in the experimental allergic neuritis model. Conference of the New York Academy of Sciences: The melanotropic peptides 1992; p24a (abstract).
11. Duckers HJ, Verhaagen J, Gispen WH: A neurotrophic analog of ACTH4-9 protects against experimental allergic neuritis. *Annals of the New York Academy of Sciences* 1992; in press.
12. De Koning P, Neijt JP, Jennekens FGI, Gispen WH: Evaluation of cis-diamminedichloroplatinum (II) (Cisplatin) neurotoxicity in rats. *Toxicol Appl Pharmacol* 1987; 89: 81-87.
13. De Koning P, Neijt JP, Jennekens FGI, Gispen WH: ORG 2766 protects from cisplatin-induced neurotoxicity in rats. *Exp Neurol* 1988; 97: 746-750.
14. Gerritsen van der Hoop R, De Koning P, Boven E, Neijt JP, Jennekens FGI, Gispen WH: Efficacy of the neuropeptide Org 2766 in the prevention and treatment of cisplatin-induced neurotoxicity in rats. *Eur J Cancer Clin Oncol* 1988; 24: 637-642.
15. Hamers FPT, Gerritsen van der Hoop R, Steerenburg PA, Neijt JP, Gispen WH: Putative neurotrophic factors in the protection of cisplatin-induced peripheral neuropathy in rats. *Toxicol Appl Pharmacol* 1991; 111: 514-522.
16. Gerritsen van der Hoop R, Vecht CJ, Van der Burg MEL, Elderson A, Boogerd W, Heimans JJ, Els D, Vries P, Van Houwelingen JC, Jennekens FGI, Gispen WH, Neijt JP: Prevention of cisplatin neurotoxicity with an ACTH(4-9) analog in patients with ovarian cancer. *N Engl J Med* 1990; 322: 89-94.