

VU Research Portal

A Slow Progressive MPTP Marmoset Model for Idiopathic Parkinson's Disease

Franke, S.K.

2016

document version

Publisher's PDF, also known as Version of record

[Link to publication in VU Research Portal](#)

citation for published version (APA)

Franke, S. K. (2016). *A Slow Progressive MPTP Marmoset Model for Idiopathic Parkinson's Disease: Behaviour, Pathology and Proteomics*.

General rights

Copyright and moral rights for the publications made accessible in the public portal are retained by the authors and/or other copyright owners and it is a condition of accessing publications that users recognise and abide by the legal requirements associated with these rights.

- Users may download and print one copy of any publication from the public portal for the purpose of private study or research.
- You may not further distribute the material or use it for any profit-making activity or commercial gain
- You may freely distribute the URL identifying the publication in the public portal ?

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.

E-mail address:

vuresearchportal.ub@vu.nl

NEDERLANDSE SAMENVATTING

Dit proefschrift beschrijft de veranderingen in het gedrag, alsook op moleculair en neurochemisch niveau als gevolg van de toediening van lage doseringen van MPTP in het penseelaapje. Teneinde om progressieve en chronische Parkinson-achtige symptomen na te bootsen die de vroege fase van de ziekte van Parkinson (PD) kenmerken. Het doel van de gerapporteerde studies was om inzicht te verkrijgen in de moleculaire, cellulaire en gedragsmatige processen die ten grondslag liggen aan de klinische expressie van de meest voorkomende vorm van PD. Daarnaast werden inter- en intra-familiaire verschillen in gevoeligheid voor de stof MPTP zelf onderzocht, alsmede mogelijke compensatoire moleculaire en cellulaire mechanismen van gedragsherstel gezien na het stopzetten van MPTP toedieningen. Samengevat, het proefschrift omvat waarnemingen op meerdere niveaus na chronische MPTP blootstelling bij het penseelaapje als klinisch relevant model voor PD bij de mens.

Hoofdstuk 1 beschrijft de terminologie en basis principes gebruikt in PD onderzoek. PD is een aandoening van de hersenen gekenmerkt door bewegingsproblemen, cognitieve stoornissen, gastro-intestinale deregulering en slaapstoornissen. Neuropathologische kenmerken omvatten degeneratie van dopaminerge neuronen in de substantia nigra en dopaminerge projecties naar het striatum. Daarnaast worden eiwitaggregaten (Lewy bodies) gedetecteerd in de overlevende neuronen in post-mortem hersenweefsel van PD-patiënten. Hoewel de exacte oorzaak van PD nog steeds niet bekend is, zijn verscheidene verstoringen van cellulaire processen waargenomen, waaronder eiwit aggregatie, oxidatieve stress, proteasomale dysfunctie, mitochondriale dysfunctie, ontstekingsreacties en excitotoxiciteit. Beschikbare behandelingen kunnen heden ten dage alleen de symptomen verlichten, maar het proces van neurodegeneratie kan niet worden gestopt, vertraagd of teruggedraaid. Daarom is aanvullend onderzoek nodig. Er bestaan verschillende diermodellen die Parkinson symptomen nabootsen, waarvan het model met het neurotoxine MPTP de meest gebruikte en het beste idiopathische PD na nabootst. In dit hoofdstuk introduceren we ook het gebruik van niet-humane primaten, en bespreken de waarde en noodzaak van penseelaapjes bij PD onderzoek.

Hoofdstuk 2 betreft een klinische observaties en gedragsmetingen van penseelaapjes na chronische blootstelling aan een lage dosis MPTP. Verschillend motorische en niet-motorische verwant gedrag bleek te worden beïnvloed door blootstelling aan MPTP en deze symptomen verergerden gedurende de toedieningen. We hebben veranderingen waargenomen in motorische activiteit, slaappatronen en springgedrag, maar niet op fijne motor bewegingen. Stopzetting van de injecties met MPTP resulteerde in een verbetering van MPTP-geïnduceerde gedragingen tot op zekere hoogte, zoals bleek uit metingen in de thuiskooi, de bungalow- en de torentest. Post-mortem analyses na de herstelperiode toonde geen veranderingen in het aantal en de grootte van de tyrosine hydroxylase (TH) positieve dopamine neuronen in de substantia nigra. Ook de niveaus van TH in putamen en de caudate nucleus waren onveranderd, tevens werden er geen verschillen waargenomen in verscheidene

neurotransmitters niveaus van de caudate nucleus. Tot slot, uit de eiwitanalyse bleken geen globale veranderingen in eiwitexpressie in de substantia nigra en putamen tussen de verschillende behandelingsgroepen. Deze bevindingen geven aan dat PD symptomen kunnen plaatsvinden zonder waarneembare beschadigingen op cellulair en moleculair niveau. Bovendien blijkt dat Parkinson symptomen mogelijk reversibel zou kunnen zijn indien vroeg gediagnosticeerd en behandeld.

In hoofdstuk 3 worden de verschillen in individuele en familiäre gevoeligheid voor MPTP in de penseelaap behandeld. Apen uit verschillende gezinnen werden geselecteerd om de inter- en intra-familiäre verschillen te onderzoeken na blootstelling met MPTP. Individuele verschillen werden waargenomen na gelijke doseringen van MPTP op het niveau van de klinische symptomen, in het bijzonder niet-motorische PD gerelateerd gedrag. Terwijl motorische activiteit, zoals bewegingsactiviteit, springgedrag en fijne motorische vaardigheden in gelijke mate waren verstoord bij alle dieren. Individuele variabiliteit in de ziekte manifestatie kon worden teruggevoerd op genealogie tot broers en zussen van dezelfde families. Daaropvolgende neurochemische analyse toonde aan dat gevoeligheid voor MPTP correleert met verschillende neurotransmitter niveaus in de caudate nucleus, in het bijzonder noradrenaline. Dit verschil wordt mogelijk veroorzaakt door de MPTP behandeling, en kan individuele verschillen in de ziekteprogressie weerspiegelen. Anderzijds, familiäre verschillen in basale niveaus van noradrenaline, hetzij van nature of door opvoeding, kunnen ook de waargenomen verschillen in gevoeligheid voor MPTP verklaren.

Hoofdstuk 4 beschrijft de eiwitanalyses van hersenweefsel van penseelaapjes op verschillende tijdstippen na MPTP inductie. De substantia nigra en putamen werden geanalyseerd na acute MPTP blootstelling, tijdens chronische MPTP blootstelling en 10 weken na het stoppen van MPTP behandeling wanneer de symptomen gedeeltelijk waren verdwenen. Hierdoor kan men onderscheid maken tussen acute toxiciteit, progressie en herstel van symptomen van de ziekte. Onbehandelde dieren dienden als controles. In-gel digestie (IDG) werd gebruikt in combinatie met de data-afhankelijke acquisitie (DDA) om veranderingen in eiwitexpressie te onthullen. Strenge statistische analyses, inclusief correctie voor herhaald testen, leidde niet tot identificatie van verschillend gereguleerde eiwitten tussen groepen vanwege de hoge variatie in de dataset. Minder strenge analyses werden uitgevoerd, om eventuele trends ontdekken in de data. Hierdoor werden 281 kandidaat eiwitten gevonden met differentiële expressie patronen in één of meer contrasten. Echter, onder deze eiwitten werd geen verrijking waargenomen voor specifieke cel functies. Drie willekeurige eiwitten (MARCKS, GAD67 en SPTN-4) werden geselecteerd voor validatie met immunoblotting. Bij slechts één eiwit (SPTN-4) werd een correlatie waargenomen tussen eiwitexpressiewaarden verkregen met massaspectrometrie en immunoblotting. Variabiliteit in de gemeten eiwitexpressie, hetzij veroorzaakt door biologische verschillen of door technische variatie, verhindert het trekken van robuuste conclusies over de moleculaire veranderingen die mogelijk correleren met MPTP-geïnduceerde progressie van de ziekte of herstel.

In hoofdstuk 5, hebben we op hersenweefsel van de mens en penseelaap getest of het verminderen van de technische variatie in massaspectrometrisch gebaseerde eiwitanalyse de kwaliteit van data kan verbeteren. Synaptische eiwitfracties uit de hippocampus van gezonde mensen en gezonde penseelaapjes werden geanalyseerd met een filter-scheidingsmethode in combinatie met SWATH analyse (FASP/SWATH). Vervolgens vergeleken we eiwit expressie profielen afkomstig van FASP/SWATH – analyse met data verkregen van IGD/DDA van de marmoset putamen en substantia nigra zoals gepresenteerd in hoofdstuk 4. FASP/SWATH analyse van de hippocampus synaptosomen resulteerde in minder variabiliteit in vergelijking met IGD/DDA van de substantia nigra en het putamen. Dit biedt dus mogelijkheden om opnieuw het putamen en de substantia nigra te onderzoeken op mogelijke verschillen in eiwit expressie. Er moet echter worden opgemerkt dat het cel-compartiment van de synapsen hier wordt vergeleken met het totale weefselextract, dit verschil in complexiteit van het monster kan hebben bijgedragen aan de verschillen in variabiliteit. Tevens was de herkomst van het hersenweefsel verschillend tussen de twee experimenten, wat kan hebben bijgedragen aan de technische variatie door de dissectie van het weefsel. Vergelijking van de eiwitprofielen van hippocampus weefsel van mensen en penseelapen verkregen met FASP/SWATH, toonde 857 verschillend gereguleerde eiwitten tussen de twee species, wat suggereert dat ondanks hun gelijkenissen er ook aanzienlijk verschillen waarneembaar zijn op het niveau van synaptische eiwitexpressie.

Hoofdstuk 6 bespreekt de klinische relevantie van het MPTP model in de penseelaap op het niveau van gedrag en eiwitexpressie. De mogelijkheden en uitdagingen van het werken met een diersoort met een grote biodiversiteit worden aangestipt, alsmede de techniek van proteome analyse als instrument om nieuwe drugtargets te identificeren. Tot slot worden toekomstperspectieven bekeken, inclusief het belang van dit proefschrift in een breder kader van het (pre)klinisch PD onderzoek.