

GALANTAMIN (REMINYL[®])-MEHANIZEM DELOVANJA

*Peter Pregelj**

POVZETEK

Galantamin ima dvojni mehanizem delovanja: zavira katalitično aktivnost encima acetilholinesteraze (AChE) in alosterično modulira nikotinske receptorje za acetilholin (nAChR). Galantamin se veže na AChE reverzibilno in kompetitivno, torej trajno ne inhibira katalitične funkcije AChE kot nekateri organofosfati, ampak tekmuje z drugimi ligandi za vezavno mesto. Dodatno galantamin z alosterično modulacijo nAChR poveča njihovo občutljivost za acetilholin. Ugotovili so, da galantamin zaščiti celice v celični kulturi pred različnimi dejavniki, ki so udeleženi pri propadnju živčnih celic pri poteku Alzheimerjeve bolezni (AB). Galantamin s povečanjem števila določenega podtipa nAChR morda poveča sproščanje živčnih prenašalcev, kot je bilo dokazano za glutamat in gama amino masleno kislino (GABA) v hipokampusu in dopamin v striatumu. Apoptoza je najverjetneje glavni mehanizem propadanja nevronov pri bolnikih z AB. Poleg delovanja na spoznavne sposobnosti z ojačanjem holinergičnega živčnega prenosa, galantamin morda deluje tudi nevroprotektivno med napredovanjem AB.

UVOD

AB je nevrodegenerativna bolezen, ki se kaže s klinično sliko demence. Svetovna populacija, zlasti pa populacija razvitih držav, se hitro stara. Prav starost posameznika je glavni dejavnik tveganja za razvoj AB. Za osebe med 65. in 85. letom starosti se stopnja tveganja za pojavljanje AB podvoji vsakih 5 let. Iz tega sledi, da bi bilo število bolnikov za polovico manjše, če bi pojavljanje bolezni odložili za 5 let. Inhibitorji AChE so registrirani za simptomatsko zdravljenje AB.

Ta zdravila dosežejo določeno izboljšanje klinične slike pri 30 do 40 % bolnikov z blago do zmerno hudo obliko AB. Učinek inhibitorjev AChE je povezan s povečanjem ravni acetilholina v živčnih stikih (9).

HOLINESTERAZE IN NJIHOVI INHIBITORJI

Dale je že na začetku prejšnjega stoletja domneval, da obstaja encim, ki hitro razgrajuje acetilholin (10). Nachmansohn je leta 1939 (24) dokazal, da različna tkiva vretenčarjev, posebno mišice in živci, vsebujejo holinesterazo. Tkiva vretenčarjev vse-

* Asist. dr. Peter Pregelj, dr.med., Psihiatrična klinika, Studenec 48, 1260 Ljubljana-Polje. E-naslov: peter.pregelj@psih-klinika.si

bujejo dva tipa holinesteraz, ki se ločita po hitrosti cepitve različnih estrov holina, po kinetiki hidrolize substrata in po občutljivosti za nekatere inhibitorje (7, 35). Med holinesteraze tako sodi butirilholinesteraza (BuChE; E.C. 3.1.1.8), ki hidrolizira butirilholin ali propionilholin hitreje kot acetilholin. Ta encim so poimenovali tudi nespecifična holinesteraza (23). Nahaja se v krvnem serumu kot topen glikoprotein, nastaja pa v jetrih. Njena fiziološka funkcija ni znana.

Druga holinesteraza pa je specifična holinesteraza, ki so jo poimenovali acetilholinesteraza (AChE; E.C. 3.1.1.7), ker hidrolizira acetilholin hitreje kot propionilholin, butirilholin pa zelo počasi. AChE je ena od ključnih funkcionalnih beljakovin v holinergičnih sinapsah, med katerimi so najbolj prečevali motorično ploščico. AChE v perifernih in centralnih holinergičnih sinapsah hidrolizira acetilholin, potem ko se le – ta sprosti iz živčnega končiča. S tem skrajša njegovo delovanje na receptorje, omogoči hitro postsinaptično repolarizacijo in tako prenos impulzov z visoko frekvenco (17). Nadalje je AChE prisotna v nevzdražnih tkivih, kot so eritrociti, ledvica, jetra in placenta (35). Pripisujejo pa ji tudi vrsto neencimskih funkcij (4, 21 za pregled glej v 13), ki so morda pomembne pri patofiziologiji razvoja demence. Acetilholin je morda vpleten tudi v uravnavanje razpoloženja in spanja (16), kar je pomembno tudi pri simptomih, ki so pri bolnikih z AB pridruženi klinični sliki demence.

Različni inhibitorji holinesteraz različno zavrejo delovanje omenjenih encimov. Tako galantamin in donepezil zavirata delovanje AChE, rivastigmin pa dodatno zavre še katalitično aktivnost Bche. Nekateri inhibitorji holinesteraz zavrejo njihovo delovanje ireverzibilno, drugi pa reverzibilno.

HOLINERGIČNI SISTEM IN DEMENCA

V možganih izhajajo holinergični nevroni proti možganski skorji in limbičnemu sistemu iz Meynertovega jedra. Dodatno izhajajo tudi iz retikularne formacije proti možganski skorji, limbičnemu sistemu, hipotalamusu in talamusu. Pri bolnikih z AB so ugotovili specifično degeneracijo holinergičnih nevronov v Meynertovem jedru (16). Prizadetost hipokampusa in holinergične projekcije v hipokampus povezujejo tudi z motnjami spomina pri AB. Pri bolnikih s to boleznijo so ugotovili izgubo holinergičnih nevronov in holinergičnega ožvčenja možganske skorje (27). Znano je, da antiholinergične spojine lahko oslabijo spomin in učenje. Nasprotno pa inhibitorji AChE pri nekaterih bolnikih z AB začasno zavrejo upad spoznavnih sposobnosti, ali te prehodno celo izboljšajo (6). Kljub zaviranju katalitične aktivnosti AChE, pri teh bolnikih vseeno ugotavljajo napredovanje propadanja živčnih celic (2).

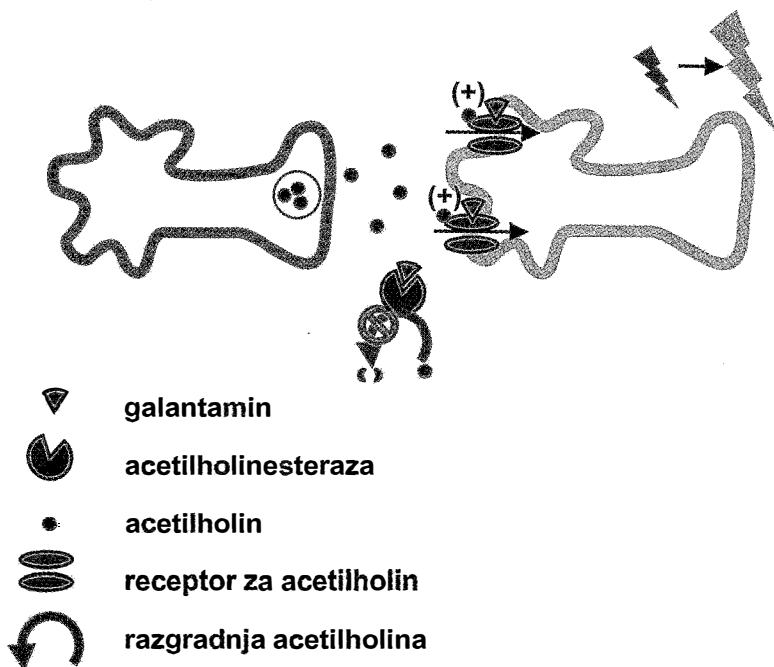
Pomembno vlogo pri zaščiti živčnih celic so pripisali nAChR. Ti receptorji se nahajajo na postsinaptičnih živčnih celicah v holinergičnih sinapsah in so po zgradbi jonski kanalčki sestavljeni iz več podenot. Ena od podenot, imenovana α , nosi vezavno mesto za acetilholin. Glede na to iz katerih podenot so ti receptorji sestavljeni, ločimo več tipov nAChR kot npr. nAChR podtipa $\alpha 7$. Ugotovili so, da agonisti nAChR, kot je

npr. nikotin, delujejo nevroprotektivno (19). Agonisti nAChR povečajo sintezo nevrotrofičnih dejavnikov (3) in zaščitijo živčne celice pred glutamatom (11), pomankanjem trofičnih dejavnikov (44), hipoksijo (34) in strupenimi učinki β -amiloida (42). Agonisti nAChR dodatno izboljšajo spomin in učenje pri poskusnih živalih kot tudi budnost in hitro obdelovanje informacij pri ljudeh (29). V času smrti so pri bolnikih z AB opazili izgubo nAChR, ki korelira z izraženostjo bolezni (43). Nasprotno pa agonisti muskarinskih receptorjev za acetilholin, kot je npr. atropin, nimajo nevroprotektivnih lastnosti (18).

DELOVANJE GALANTAMINA NA ACETILHOLINESTERAZO

Galantamin ima dvojni mehanizem delovanja: zavira katalitično aktivnost encima AChE in alosterično modulira nAChR (30, 22). Galantamin se veže na AChE reverzibilno in kompetitivno, torej ne inhibira trajno katalitične funkcije AChE, kot jo nekateri organofosfati, ampak tekmuje z drugimi ligandi za vezavno mesto. Galantamin z inhibicijo AChE poveča koncentracijo acetilholina v holinergični sinapsi (40), saj zavre razgradnjo acetilholina. Povečanje koncentracije acetilholina v holinergični sinapsi pa poveča aktivacijo postsinaptičnega nevrona (Slika 1).

Slika 1. Mehanizem delovanja galantamina. Galantamin deluje zaviralno na katalitično aktivnost encima acetilholinesteraze, s čimer zavre razgradnjo acetilholina. Alosterično modulira nikotinske receptorje za acetilholin in tako poveča njihovo občutljivost za acetilholin (Poenostavljeno po 30, 22).



DELOVANJE GALANTAMINA NA RECEPTORJE ZA ACETILHOLIN

Galantamin z alosterično modulacijo nAChR poveča njihovo občutljivost za acetilholin (1, 33). Nekompetitivno se veže na vezavno mesto α podenote nAChR, ki se razlikuje od vezavnega mesta za sam acetilholin (33). Tako se na α podenoti nAChR lahko hkrati vežeta acetilholin in galantamin, ki ojača delovanje acetilholina (Slika 1). Ugotovili so, da galantamin povzroči zmerno, a trajno povečanje znotrajcelične koncentracije kalcija (2), ki jo povezujejo z večjim preživetjem celic v kulturi (12). Povečanje znotrajceličnega kalcija z galantaminom je morda povezano z vstopom kalcija skozi nAChR, saj se ob prisotnosti galantamina ti kanalčki odprejo (25).

ZAŠČITA ŽIVČNIH CELIC IN GALANTAMIN

Povečanje števila nAChR podtipa $\alpha 7$ z nikotinom ali drugimi nikotinskimi agonisti povezujejo z nevroprotektivnim delovanjem teh spojin (15). Ugotovili so, da galantamin zaščiti celice v celični kulturi pred različnimi dejavniki, ki so udeleženi pri propadnju živčnih celic pri AB. Galantamin zaščiti celice pred toksičnim delovanjem β -amiloida in tapsigargina, ki povzroča sproščanje kalcija iz endoplazmatskega retikuluma in povzroča programirano celično smrt – apoptozo (2). Izgleda, da je nevroprotektivno delovanje galantamina nepovezano z inhibicijo AChE, saj so ugotovili zaščitno delovanje galantamina v koncentracijah, ki so nižje od tistih, ki povzročajo inhibicijo katalitične aktivnosti AChE (40). Koncentracije galantamina, ki so delovale zaščitno, so bile podobne tistim, ki so bile potrebne za doseganje alosterične modulacije nAChR (30, 2). Nevroprotektivne lastnosti galantamina so dokazali tudi na transgenih živalih. Pri transgenih miših, s pomanjkanjem živčnega rastnega dejavnika in posledično zmanjšano holinergično aktivnostjo, je galantamin povrnil število holinergičnih nevronov v Meynertovem jedru na skoraj normalno vrednost. Na istem modelu so ugotovili, da galantamin prepreči nalaganje apolipoproteina (8). Čeprav je takrin precej močnejši inhibitor AChE, nima nevroprotektivnega delovanja, niti pri celičnih kulturah (2), niti pri transgenih živalih (8). Ti podatki podpirajo hipotezo, da galantamin zaščiti živčne celice z modulacijo nAChR in ne z zmerno inhibicijo AChE (2). Spet z drugimi raziskavami nakazujejo zaščitno delovanje galantamina v razmerah hipoksije preko delovanja na specifične kalcijeve kanalčke in postavljajo v ozadje delovanje na nAChR in AChE (37).

POMEN DVOJNEGA DELOVANJA GALANTAMINA

Večje število nAChR podtipa $\alpha 7$ v hipokampusu, neokorteksu in bazalnih ganglijih (28) in ojačanje spomina s selektivnimi $\alpha 7$ nikotinskimi agonisti (npr. BMXB) (41) nakazuje morebitno vlogo nAChR podtipa $\alpha 7$ pri procesih učenja in pomnjenja. Ugotovili so tudi, da je izguba nAChR povezana s tvorbo senilnih leh in pentelj pri bolnikih z AB v hipokampusu in področjih ob njem (27). Domnevajo tudi, da je pri teh bolnikih

zmanjšanje za kalcij prepustnih nAChR podtipa $\alpha 7$ v entorinalni skorji povezano z motnjami spomina (27). Galantamin s povečanjem števila za kalcij prepustnih nAChR podtipa $\alpha 7$ (2) morda poveča sproščanje živčnih prenašalcev, kot je bilo pokazano za glutamat in GABA-o v hipokampusu (32) in dopamin v striatumu (20). To povečanje sproščanja živčnih prenašalcev lahko razloži ugoden učinek galantamina na pozornost, mišljenje in vedenje bolnikov z AB (39).

Apoptoza je najverjetneje glavni mehanizem propadanja nevronov pri bolnikih z AB (14). Dolgotrajni ugoden učinek galantamina na ohranjanje dnevnih aktivnosti in spoznavnih sposobnosti bolnikov z AB za dobo enega (28, 5), treh ali celo štirih let (36), bi morda lahko nakazoval nevroprotektivni učinek galantamina (2).

ZAKLJUČEK

Izgleda, da galantamin s svojim dvojnimi mehanizmom delovanja na AChE in nAChR ne vpliva le na holinergični živčni sistem ampak, posredno tudi na živčne sisteme z drugimi prenašalci (32, 20). Zanimivi so tudi podatki, ki nakazujejo vlogo galantamina v zaščiti živčnih celic pred različnimi škodljivimi dejavniki, ki sodelujejo v razvoju AB (8, 2). Morebitna zaščita živčnih celic je smiselna le ob zgodnjem odkrivanju in pravočasnem zdravljenju bolnikov z AB. Predklinične raziskave nakazujejo različno stopnjo zaščite živčnih celic z različnimi zdravili za zdravljenje AB (37), vendar pa bodo potrebne dodatne klinične raziskave, ki bodo pojasnile morebiten klinični pomen razlik v stopnji zaščite živčnih celic med posameznimi zdravili.

LITERATURA

1. Albuquerque EX, Pereira EF, Alkondon M, Schrattenholz A, Maelicke A. Nicotinic acetylcholine receptors on hippocampal neurons: distribution on the neuronal surface and modulation of receptor activity. *J Receptor Signal Transduc Res.* 1997;17:243-66.
2. Arias E, Ales E, Gabilan NH, Cano-Abad MF, Villarroya M, Garcia AG, Lopez MG. Galantamine prevents apoptosis induced by b-amiloid and thapsigargin: involvement of nicotinic acetylcholine receptors. *Neuropharmacol.* 2003;46:103-14.
3. Bellurado N, Mudo G, Blum M, Fuxe K, Central nicotinic receptors, neurotrophic factor and neuroprotection. *Behavior Brain Res* 2000;113:21-34.
4. Ben Aziz-Aloya, R, Seidman S, Timberg R, Sternfeld M, Zakut H, Soreq H. Expression of a human acetylcholinesterase promoter-reporter construct in developing neuromuscular junctions of *Xenopus* embryos. *Proceedings National Academy Sciences USA.* 1993;90:2471-5.
5. Blesa R, Davidson M, Kurz A, Reichman W, Van Baelen B, Schwalen S. Galantamine provides sustained benefits in patients with "advanced moderate" Alzheimer's disease for at least 12 months. *Demential Geriatric Cognition Disorders* 2003;15:79-87.

6. Bonner LT, Peskind ER. Pharmacologic treatment of dementia. *Medical Clinics of North America*. 2002; 86:657-74.
7. Brzin M, Sketelj J, Klinar B. Cholinesterases. In: Lajtha A, ed. *Handbook of neurochemistry*. 4th ed. New York: Plenum Press; 1983. p. 251-92.
8. Capsoni S, Giannotta S, Cattaneo A. Nerve growth factor and galantamine ameliorate early signs of neurodegeneration in anti-nerve growth factor mice. *Proc National Academy Science USA*. 2002;99:12432-7.
9. Clark CM, Karlawish JH. Alzheimer disease: current concepts and emerging diagnostic and therapeutic strategies. *Ann Intern Med*. 2003;138:400-10.
10. Dale HH. The action of certain esters of choline and their relation to muscarine. *J Pharmacol Exp Therap* 1914;6:247-90.
11. Donnelly-Roberts DL, Xue IC, Arneric SP, Sullivan JP. In vitro neuroprotective properties of the novel cholinergic channels activator (ChCA), ABT-418. *Brain Res* 1996;719:36-44.
12. Franklin JL, Johnson EM jr. Suppression of programmed neuronal death by sustained elevation of cytoplasmic calcium. *Trends Neurosci*. 1992;15:501-8.
13. Grisar, D, Sternfeld M, Eldor A, Glick D, Soreq H. 1999. Structural roles of acetylcholinesterase variants in biology and pathology. *European J Biochem* 264: 672-86.
14. Jellinger KA, Stadelmann C. Problems of cell death in neurodegeneration and Alzheimer's disease. *J Alzheimers Disease*. 2001;3:31-40.
15. Jonnala RR, Buccafusco JJ. Relationship between the increased cell surface alpha/ nicotinic receptor expression and neuroprotection induced by several nicotinic receptor agonists. *J Neurosci Res*. 2001;66:565-72.
16. Kaplan. HI, Sadock BJ. Dementia. In: Kaplan. HI and Sadock BJ, eds. *Synopsis of psychiatry*. 8th ed. Baltimore: Lippincott Williams & Wilkins; 1997. p. 328-45.
17. Katz, B, Miledi R. The binding of acetylcholine to receptors and its removal from the synaptic cleft. *J of Physiology* 1973;231:549-74.
18. Kihara T, Sawada H, Nakamizo T, Kanki R, Yamashita H, Maelicke A, Shimohama S. Galantamine modulates nicotinic receptor and blocks A α -enhanced glutamate toxicity. *Biochem Biophysical Res Communications* 2004;325:976-82.
19. Kihara T, Shimohama S, Sawada H, Kimura J, Kume T, Kochiyama H, Maeda T, Akaike A. Nicotinic receptor stimulation protects neurons against beta-amyloid toxicity. *Ann Neurol* 1997;42:159-63.
20. Lazarewicz M, Spiros A, Finkel L, Carr R, Geerts H. Understanding the dual mode of action of galantamine using a virtual synaptic cleft. Eighth International Conference of Alzheimer's Disease and Related Disorders; 2002, Stockholm, Abst.447.
21. Massoulie, J, Pezzementi L, Bon S, Krejci E, Vallette FM. 1993. Molecular and cellular biology of cholinesterases. *Progress Neurobiol* 41: 31-91.
22. Melicki M, Samochocki M, Jostock R et al. Allosteric sensitization of nicotinic

- receptors by galantamine, a new treatment strategy for Alzheimer's disease. *Biol Psychiatry*. 2001;49:279-88.
23. Mendel B, Rudney H. Studies on cholinesterase. Cholinesterase and pseudo-cholinesterase. *Biochem J* 1943;37:59-63.
 24. Nachmansohn D. Cholinesterase dans le systeme neureux central. *Bull Soc Chem Biol* 1939;21:761-96.
 25. Pereira EF, Reinhardt-Maelicke S, Schratzenholz A, Maelicke A, Albuquerque EX. Identification and functional characterization of a new agonist site on nicotinic acetylcholine receptors of cultured hippocampal neurons. *J Pharmacol Exp Therap* 1994;265:1474-91.
 26. Perry EK, Haroutunian V, Davis KL, Levy R, Latos P, Egger S, Honaver M, Dean A, Griffiths M, McKeith IG. Nucleocortical cholinergic activities differentiate Lewy body dementia from classical Alzheimer's disease. *Neuroreport* 1994;5:747-9.
 27. Perry EK, Morris CM, Court JA, Chenga A, Fairbairn AF, McKeith IG et al. Alterations in nicotine binding sites in Parkinson's disease, Lewy body dementia and Alzheimer's disease: possible index of early neuropathology. *Neurosci* 1995;64:385-95.
 28. Raskind M, Peskind ER, Wessel T, Yuan W. Galantamine in AD: a 6-month randomized placebo-controlled trial with a 6-month extension. The Galantamine USA-1 Study Group *Neurology* 2000;54:2261-8
 29. Rusted JM, Newhouse PA, Levin ED. Nicotinic treatment for degenerative and neuropsychiatric disorders such as Alzheimer's disease and Parkinson's disease. *Behav Brain Res* 2000;113:121-9.
 30. Samochocki M, Zerlin M, Jostock R, et al. Galantamine is an allosterically potentiating ligand of the human alpha4/beta2 nAChR. *Acta Neurol Scand Suppl* 2000;176:68-73.
 31. Samochocki M, Zerlin M, Jostock R, Groot-Komelink PJ, Luyten WH, Albuquerque EX, Maelicke A. Galantamine is an allosterically potentiating ligand of the human alpha4/beta2 nAChR. *Acta Neurol Scand* 2000;176(Suppl.):68-73.
 32. Santos MD, Alkondon M, Pereira EF, Aracava Y, Eisenberg HM, Maelicke A et al. The nicotinic allosteric potentiating ligand galantamine facilitates synaptic transmission in the mammalian central nervous system. *Mol Pharmacol* 2002;61:1222-34.
 33. Schratzenholz A, Pereira EF, Roth U, Weber KH, Albuquerque EX, Maelicke A. Agonist response of neuronal nicotinic acetylcholine receptors are potentiated by novel class of allosterically acting ligands. *Mol Pharmacol* 1996;49:1-6.
 34. Shimohama S, Greenwald DL, Shafron DH, Akaika A, Meada T, Kanaeko S, et al. Nicotinic alpha 7 receptors protect against glutamate neurotoxicity and neuronal ischemic damage. *Brain Res*. 1998;779:359-63.
 35. Silver A. *The biology of cholinesterase*. North-Holland Publishing Corp. Amsterdam 1974.
 36. Sjödin C, Jedenius E, Andreasen N. Four year treatment with galantamine in

- Swedish patients with Alzheimer's disease. Eighth International Conference of Alzheimer's Disease and Related Disorders; 2002, Stockholm, Abst.348.
37. Sobrado M, Roda JM, Lopez MG, Egea J, Garcia AG. Galantamine and memantine produce different degrees of neuroprotection in rat hippocampal slices subjected to oxygen-glucose deprivation. *Neurosci Lett* 2004;365:132-6.
 38. Soto C, Castano E, Frangione B, Inestrosa N. The alpha-helical to beta-strand transition in the amino-terminal fragment of the amyloid beta-peptide modulates amyloid formation. *J Biol Chem* 1995;270:3063-7.
 39. Tariot PN, Solomon PR, Morris JC, Kershaw P, Lilienfeld S, Ding C. The Galantamine USA-10 Study Group. A month, randomized, placebo-controlled trial of galantamine in AD. *Neurol* 2000;54:2269-76.
 40. Thomsen T, Kaden B, Fischer JPB, Bickel U, Barz H, Cervos-Navarro J et al. Inhibition of acetylcholinesterase activity in human brain tissue and erythrocytes by galantamine, physostigmine and tacrine. *Europ J Chem Clin Biochem* 1991;29:487-92.
 41. Tomski S, Murphy R. Kinetics of aggregation of synthetic beta-amyloid peptide. *Arch in Biochem and Biophysics*. 1992;294:630-8.
 42. Wang HY, Lee DH, Davis CB, Shank RP. Amyloid peptide A β (1-42) binds selectively and with picomolar affinity to α -/ nicotinic acetylcholine receptors. *J Neurochem* 2000;75:1155-61.
 43. Wilcock GK, Lilienfeld S, Gaens E. Efficacy and safety of galantamine in patients with mild to moderate Alzheimer's disease: multicenter randomised controlled trial. Galantamine International-1 Study Group. *BMJ*. 2000;321:1445-9.
 44. Yamashita H, Nakamura S. Nicotine rescues PC12 cells from death induced by nerve growth factor deprivation. *Neurosci Lett* 1996;213:145-7.