



# **ANSELMUS COLLOQUIUM**

---

## **ALARM IN DE DARM**

Therapie van lagedarmziektes

Samenstellers

**KH Hoogendoorn en JJ Tukker**

### **Anselmus**

De eerste apotheker in de Nederlanden wiens naam op schrift gevonden is. Hij kreeg in 1276 een werkruimte aangeboden van de toenmalige elect (een niet-gewijde bisschop) van Utrecht.

Bron: P van der Wielen. Pharm Weekbl 71: 715-718 (1934)

### **De Stichting Organisatie Anselmus Colloquium**

Stelt zich tot doel het jaarlijks organiseren van een themadag over een farmaceutisch-technologisch onderwerp en dit te belichten vanuit een therapeutische invalshoek.

### **Het organisatiecomité voor de themadagen bestaat uit:**

|                     |  |
|---------------------|--|
| dr EMG van Bommel   | OctoPlus bv                            |
| dr G Borchard       | LACDR                                  |
| dr EJ van Hoogdalem | R.W. Johnson Pharm. Research Institute |
| drs KH Hoogendoorn  | OctoPlus bv                            |
| drs L van Paassen   | Centocor bv                            |
| dr JJ Tukker        | Stichting Geneesmiddelenbulletin       |

### **Alarm in de darm**

Therapie van lagedarmziektes

Samenstellers: KH Hoogendoorn en JJ Tukker

Houten: Stichting Organisatie Anselmus Colloquium (2002)

Met lit.opg.

ISBN 90-73520-14-2

Niets uit deze uitgave mag worden overgenomen op welke wijze dan ook, zonder voorafgaande toestemming van de auteursrechthouder. Houten, december 2002.

Hoewel bij het samenstellen van deze proceedings de uiterste zorgvuldigheid is betracht, kan de Stichting Organisatie Anselmus Colloquium geen aansprakelijkheid aanvaarden voor eventuele schade die zou kunnen voortvloeien uit enige drukfout of andere onjuistheid die in deze uitgave kan voorkomen.

# INHOUDSOPGAVE

|  |    |
|--|----|
| ANATOMIE EN FYSIOLOGIE VAN DE DARM<br><b>prof. dr JH Ravesloot</b>                                 | 5  |
| DE LANGE WEG DOOR DE TUNNEL:<br>GASTROINTESTINALE MOTILITEIT EN TRANSIT<br><b>dr JAJ Schuurkes</b> | 17 |
| STUREN NAAR DE LAGE DARM<br><b>prof. dr C-M Lehr</b>   | 29 |
| BEHANDELING VAN INFLAMMATOIRE DARMZIEKTEN ANNO 2002<br><b>dr DW Hommes</b>                         | 45 |

Jan Hindrik Ravesloot werd op 19 augustus 1961 te Amsterdam geboren. Op 17 oktober 1986 werd het doctoraalexamen Geneeskunde behaald aan de Rijksuniversiteit te Leiden (RUL). Aan de RUL heeft hij aansluitend een promotieonderzoek uitgevoerd naar de rol van ionkanalen in de fysiologie van botcellen. Dit onderzoek werd uitgevoerd in het Laboratorium voor Fysiologie en Fysiologische Fysica en afgerond in oktober 1990 waarop de promotie volgde op 18 juni 1991. Vanaf januari 1990 tot januari 1993 heeft hij als post-doc zijn botcelonderzoek voortgezet op het 'Department of Cellular and Molecular Physiology' van Yale Universiteit te New Haven (CT) in de Verenigde Staten. Op 1 februari 1993 is hij in dienst getreden bij de afdeling Fysiologie van het Academisch Medisch Centrum van de Universiteit van Amsterdam. Naast het geven van onderwijs doen hij en zijn researchgroep onderzoek naar iontransportprocessen in hartcellen. Jan Hinrik Ravesloot is in januari 2001 benoemd als kernhoogleraar Fysiologie.

## INLEIDING

De menselijke tractus digestivus, ofwel het maagdarmkanaal, is in essentie een 5-7 meter lange, holle buis. De ingang van de buis is met ivoor omgeven en bevindt zich tussen de wangen, de uitgang tussen de billen. De tractus loopt voor een kort recht stukje (slokdarm) vertikaal door de borstholte, maar het grootste deel (maag, twaalfvingerige darm, nuchtere darm en kronkeldarm) meandert door de buikholte. De laatste 2 meter van de buis is sterk verwijd (dikke darm) en het einde daarvan (endeldarm) sluit aan op de anus. Via de mond komen stukken sterk verhitte dierlijke spieren, of de gemalen, gefermenteerde en vervolgens verhitte geslachtsorganen van allerlei grassoorten, en voedsel van allerlei oorsprong naar binnen, te zamen met vloeistoffen waarvan viscositeit en samenstelling varieert. De primaire functie van de darm is het mechanisch en chemisch verkleinen van haar inhoud. Secundaire functies liggen in de erotiek en contrabande.

De binnenzijde van de darm (lumen) is in feite geïnternaliseerde boze buitenwereld. De binnenbekleding van de buis is dan ook speciaal gebouwd om ongecontroleerde toegang van deze buitenwereld tot het schone lijf te voorkomen.

Kenmerkend voor de darm is haar grote autonomie waar het gaat om de regulatie van haar functies. Hiervoor is de darm uitgerust met een eigen, enterisch zenuwstelsel. De darm kan dus uitstekend voor zichzelf denken maar mag ook weer geen vrijdenker zijn: de darmfunctie is geïntegreerd in de overige levensverrichtingen door de invloed van het autonome (onwillekeurige of vegetatieve) zenuwstelsel. Wanneer mensen zich lichamelijk inspannen, of op de bewustzijnsschaal opschuiven naar de kant van alertheid/gespannenheid/opgefoetheid, wordt de darmfunctie in toenemende mate geremd door het orthosympatische deel. Wanneer mensen op de bewustzijnsschaal opschuiven naar de kant van ontspannen/sloom/slaperig wordt de darmfunctie in toenemende mate gestimuleerd door het parasympatische deel van het autonome zenuwstelsel.

Dit essay beoogt een korte samenvatting te geven van de primaire functies van het maag-darmkanaal en haar klieren: het buitenhouden van de boze buitenwereld, nimmeraflatende beweeglijkheid (motoriek), besprenkeling van de darminhoud met waterige vloeistof van wisselende samenstelling (secretie), de bewerking van de darminhoud met enzymen (digestie) en het binnenhalen van de eindproducten van de vertering (absorptie). Er is getracht zo veel mogelijk het gebruik van jargon te vermijden en een hoog abstractieniveau te realiseren.

## BUITENHOUDEN VAN DE BOZE BUITENWERELD

Waar het maagdarmkanaal ook wordt doorgesneden, overal wordt ongeveer dezelfde bouw van de darmwand aangetroffen. Van lumen naar bloedzijde is dat: een éénlagig epitheel van enterocyten beschermd door mucus, gevolgd door het bindweefsel van de submucosa die begrensd wordt door een dun spierlaagje, de muscularis mucosae. Deze vormt de scheiding tussen de mucosa en de submucosa. In de submucosa treffen we vervolgens de circulaire en longitudinale gladde spierlagen aan met daartussen de zenuwcellen die behoren tot de plexus myentericus. Verspreid in de submucosa liggen de zenuwcellen (neuronen) die horen bij de plexus submucosus. Beide plexus vormen het hoofdbestanddeel van het enterisch zenuwstelsel. Immuncellen en bloed- en lymfevaten zijn de laatste componenten van de darmwand. Als de muscularis mucosae beweegt, wordt de dikwils sterk geplooidde binnenkant van de buis bewogen. Op die plooiën staan de darmvlokken. Die vingerachtige structuren zijn niets anders dan uitgroeisels van de submucosa. De geplooidde binnenkant met daarop de villi vergroten het binnenoppervlak van de buis aanzienlijk. Vanaf de twaalfvingerige darm naar de endeldarm neemt de dichtheid van de darmvlokken overigens sterk af. In de dikke darm zijn alleen nog maar de verzakkingen in de darmwand over (de crypten) die elders de basis van de vlokken omringen.

De enterocytenlaag voorkomt dat grote moleculen en micro-organismen uit buitenwereld de darmwand kunnen penetreren. De ruimte tussen aangrenzende enterocyten is namelijk goed afgedicht door middel van kitlijsten ('tight junctions'). Alles wat de darmwand in of uit gaat zal via de tight junctions moeten gaan of via dat gedeelte van de membranen van de enterocyten dat direct aan het lumen grenst. Dat deel van de celmembraan dat aan het lumen grenst wordt het apicale membraan genoemd, de overige membraandelen worden tezamen de basolaterale membraan genoemd. Verteerde voedselbestanddelen komen dus via de apicale membraan in het inwendige van de enterocyt om vervolgens via de basolaterale membraan de enterocyt weer te verlaten. Dat is dan ook een belangrijke tweede functie van enterocyten: absorptie. De tight junctions laten alleen ionen, water en kleine ongeladen moleculen door. Mochten er onverhoopt toch bressen vallen in de epitheellaag dan vangen de immuncellen in (sub)mucosa de ongewenste gasten op. Hiertoe moeten worden gerekend de grote eiwitten die allergische darmwandreacties kunnen veroorzaken. Maar ook voor de talloze bacteriën die de darmholte bevolken is het lichaam beducht. Van maag naar anus neemt de dichtheid van deze micro-organismen sterk toe. In de maag komen zij nauwelijks voor, in de dikke darm juist heel veel.

Overigens zijn de enterocyten niet een homogene populatie van cellen. Slijmproducerende slijmbekercellen, immuunstoffenproducerende Paneth-cellen en borstelcellen (zie verder), hoewel in de minderheid, zijn ook belangrijke celtypen die schouder aan schouder met de enterocyten hun mannetje in de darmwand staan.

## BEWEEGLIJKHEID

De gladde spierlagen geven de darmwand haar nimmeraflatende beweeglijkheid. De darm verwijdt, vernauwt en kronkelt een heel leven lang. Overal in de buis komen geïsoleerde contracties van de circulaire spierlaag voor. Hierdoor ontstaan insnoeringen. Verscheidene insnoeringen op enige afstand van elkaar doen de dunne darm segmenteren. Verschuivende circulaire insnoeringen doen de maagwand hun solide inhoud 'aflikken', of ploegen de semi-solide inhoud van de dikke darm om. Als de longitudinale spierlaag samentrekt, verkort de darm en schuift de darmwand over haar inhoud heen. Deze pendelbeweging doet de voedselbrij voortbewegen door de darm, op ongeveer dezelfde wijze zoals grootmoeder een elastiek door een broeksband wurmde. Als de muscularis mucosae beweegt worden de darmvlokken bewogen. Deze vlokkenpomp zorgt samen met de andere bewegingspatronen dat de darminhoud goed geroerd wordt. Naast voortstuwing van haar inhoud is dit de andere uitdaging waar de darm voor staat: om haar inhoud goed te mengen en vervolgens intensief en herhaaldelijk met de darmwand in contact te laten komen.

Een complexere beweging waarbij meerdere spierlagen betrokken zijn is de peristaltische beweging. Deze bestaat uit een insnoering die enkele centimeters tot decimeters distaal (anaalwaarts) opschuift, daarbij de darminhoud voor zich uitduwend. Het segment van de darm dat die brij ontvangt ontspant juist de gladde spieren. Peristaltiek ligt aan de basis van het slikken en de defecatie (poepen), en verzorgt de voortstuwing (propulsie) van de voedselbrij (chyme) door de dunne darm. Alleen in maag en dikke darm is er nauwelijks peristaltiek.

Naast deze generieke bewegingen komt er een aantal specifieke bewegingen voor. Het zogenaamde 'migrerende motorische complex' (zie ook hoofdstuk 2) reinigt de darm ten tijde van vasten. Het is een peristaltische golf die hoog in de darm begint en laag eindigt en dus over vele meters voortbeweegt. De massa beweging is een intense peristaltische golf die de inhoud van de dikke darm in één klap in de endeldarm perst. Omdat darmgassen meegaan, kent men de periode van kramperige winderigheid voorafgaand aan de defecatie. Bij braken treedt een retrograde reuze-contractie op, een anti-peristaltische beweging in de bovenste dunne darm. 'Anti' betekent van lopend van anale- naar orale richting. De bovenste 1-2 meter darm wordt dus leeggemasseerd en de inhoud in de ontspannen maag opgevangen. Hiermee wordt de fase van het kokhalzen afgesloten waarna het braken begint. Braken is een zinvolle levensverrichting aangezien mensen geen instinctief idee hebben over potentiële schadelijkheid van hun voedsel. Besef hieromtrent is dikwijls met (vergalde) levens betaald en vervolgens hecht in de cultuur verankerd.

De eenvoudige darmbewegingen kunnen door de gladde spierlagen zelf worden geïnitieerd (myogeen mechanisme), want gerekte spiercellen hebben de neiging te verkleinen door zich samen te trekken. Maar in de darmwand liggen ook zogenaamde rek-receptoren, die de diameter van de buis in de gaten houden. Deze rek-receptoren zijn de voelsprieten van de plexus myentericus, die op haar beurt de gladde spiercellen kan doen aanspannen of juist ontspannen (neurogeen mecha-

nisme). Zo ontstaat een simpel reflexboogje, dat de meer ingewikkelde darmbewegingen zoals peristaltiek coördineert. De reflexboog reageert dus op mechanische prikkeling, dikwijls (over)rek van het darmsegment in kwestie. Bij de meer ingewikkelde bewegingspatronen is het autonome zenuwstelsel betrokken. Een mooi voorbeeld is de gastrocolische reflex waarbij vulling (rek) van de maag leidt tot een massabeweging. De meeste mensen bezoeken dankzij deze reflex het toilet kort na het nuttigen van een maaltijd, gewoonlijk een ontbijt met koffie. Bij de meest ingewikkelde bewegingspatronen, zoals braken en defecatie, is ook het willekeurige (somatische) zenuwstelsel betrokken. Defecatie zelf is een peristaltische beweging van de endeldarm maar die moet worden voorafgegaan door bewuste opening van de anus. Braken en defecatie vereisen voorts aanpassing van de ademhaling. Zo worden de buikspieren aangespannen om de druk in de buikholtte te vergroten. Bij de defecatie wordt daarbij de stemspleet gesloten voor optimale drukopbouw (Valsalva manoeuvre). Op deze wijze wordt de druk in de endeldarm verder vergroot en de restproducten van de vertering rustig aan de buitenwereld teruggegeven. Bij braken wordt de ontspannen maag geplet tussen naar binnenkomende buikspieren en een vallend middenrif. Resultaat is dat de maaginhoud aan de buitenwereld wordt teruggegeven met tamelijk wat geweld.

Interessante bewegingspatronen zijn er ook te vinden bij de diverse kringspieren van het maagdarmkanaal. Zo zijn daar de lippen, bovenste en onderste slokdarmsfincters, de uitgang van de maag (portier of pylorus), en ileocaecale kringspier op de overgang van dunne naar dikke darm en als laatste de anale kringspier. De kringspier zelf is een verdikte circulaire spierlaag die het lumen effectief kan afsluiten. Het is met name de regulatie van kringspieren die ingewikkeld is, maar deze wordt hier buiten beschouwing gehouden.

## BESPRENKELING MET WATER

Naast bescherming en absorptie, is wateruitscheiding een derde belangrijke functie van enterocyten. Het proces van wateruitscheiding begint met zouttransport. (Keuken)zout bestaat uit de, in oplossing geladen, chloride- ( $\text{Cl}^-$ ) en natriumionen ( $\text{Na}^+$ ). Deze ionen zijn opgelost in het lichaamswater. Dat lichaamswater kan zich in het celinwendige bevinden of juist buiten de cellen. In dat laatste geval heet het weefselvloeistof. De weefselvloeistof is rijk aan  $\text{Na}^+$ - en  $\text{Cl}^-$ -ionen. Het water in het celinwendige is daarentegen rijk aan  $\text{K}^+$ -ionen, en eveneens, zij het iets minder, aan  $\text{Cl}^-$ -ionen. Er bevinden zich  $\text{Cl}^-$ -ionen geleidende ionkanalen in de apicale enterocytmembraan. Via die ionkanalen komen de  $\text{Cl}^-$ -ionen vanuit het celinwendige als eerste in het lumen van de darm aan. De positief geladen  $\text{Na}^+$ -ionen die zich in de weefselvloeistof van de submucosa bevinden worden onweerstaanbaar aangetrokken door de negatieve lading die de  $\text{Cl}^-$ -ionen nu eenmaal met zich mee dragen. De  $\text{Na}^+$ -ionen zoeken zich vervolgens een weg naar diezelfde holte met als doel zich te paren aan de  $\text{Cl}^-$ -ionen. Daarbij nemen zij een route die niet dwars door, maar netjes langs en tussen de enterocyten loopt en dus door de



tight junctions. Tenslotte verschijnen als laatste de watermoleculen op het toneel. Zij worden aangetrokken door de ionen zoals een mot door een vlam. De watermoleculen komen uit het celinwendige maar ook uit de weefselvloeistof dat de buitenkant van de enterocyten omspoelt. Door en langs de cellen via de tight junctions stromen vierhonderd watermoleculen voor elk paar  $\text{Cl}^-$ - en  $\text{Na}^+$ -ionen naar het lumen van de darm (osmose). Als er voldoende water is getransporteerd sluiten de enterocyten de  $\text{Cl}^-$ -ionen geleidende ionkanalen.

Cholera bacteriën scheiden stoffen uit die die apicale  $\text{Cl}^-$ -ionen-geleidende ionkanalen voortdurend geopend houden. Een enorme waterige diarree is dan het gevolg. Cystische fibrose (CF)-patiënten missen die kanalen en CF-babietjes hebben dan ook met steenharde, onverplaatsbare inhoud van hun darmpjes.

Watertransport speelt zich niet alleen af in de darmwand maar ook in de grote klieren van het maagdarmkanaal zoals de speekselklieren, maagklieren, de galgangen met galblaas bij de lever en tenslotte de alvleesklier (pancreas). In alle gevallen zullen de kliercellen  $\text{NaCl}$  transporteren naar de holte van de klierbuisjes waarna water volgt. De klieren voegen aan dat water ook nog organische stoffen toe zoals enzymen en emulgatoren. Relevant voor de spijsvertering zijn amylasen, peptidasen, lipasen en galzouten. Via de klierbuisjes komt de waterige inhoud van de klieren in het lumen van de darm terecht. Door de enzymen worden de drie hoofdgroepen voedselbestanddelen chemisch afgebroken, te weten koolhydraten, eiwitten en vetten.

Wateruitscheiding is naast beweging de tweede en laatste elementaire reactie van de darmwand op een chemische prikkel vanuit het lumen. Een overmatig zuur of base, of een te hoge concentratie opgeloste stoffen (hyperosmose) zijn alle prikkels voor wateruitscheiding. Maar ook mechanische prikkeling veroorzaakt wateruitscheiding. Water verdunt de darminhoud en helpt daarmee de mogelijk schadelijke inwerking ervan op de darmwand beperken. Bovendien zal het water de inhoud makkelijker verplaatsbaar maken. Ook bij de wateruitscheiding is het enterisch zenuwstelsel betrokken. Dit keer is een hoofdrol weggelegd voor de plexus submucosus. De voelsprietten van deze plexus zijn vermoedelijk gespecialiseerde enterocyten (borstelcellen). Deze cellen zijn in staat de chemische samenstelling van de darminhoud waar te nemen. Ongeveer net zoals er cellen in tong en neus zijn die de chemische samenstelling van het mondvocht en de lucht in de neus kunnen waarnemen. Alleen wordt in de darm die informatie niet aan het bewuste (somatische) zenuwstelsel teruggekoppeld, maar aan de plexus submucosus. Die zet op haar beurt de gewone enterocyten aan tot wateruitscheiding. Tevens wordt de bloedtoevoer naar het darmsegment verhoogd om het uitgescheiden water aan te vullen. Ook dat wordt dus door het enterische zenuwstelsel geregeld.

Activatie van de grote klieren geschiedt door darmwandhormonen of het autonome zenuwstelsel of beide. Zo zal de alvleesklier een bicarbonaatrijke, waterige vloeistof uitscheiden als de zure maaginhoud in de twaalfvingerige darm komt. Het door de darmwand geproduceerde hormoon secretine stimuleert de alvlees-

klier. Maar het parasympatische deel van het autonome zenuwstelsel zet de alvleesklier aan tot de uitscheiding van enzymen in het alkalische, waterige alvleeskliersap. Speekselklieren worden door het parasympatische zenuwstelsel gestimuleerd, terwijl de galblaas sterk op het darmwandhormoon cholecystokinine reageert. Dat laatste wordt door de darmwand uitgescheiden na een vetrijke maaltijd. Vet is niet in water oplosbaar en dus moeten de galzouten de vetdeeltjes verkleinen en vervolgens in oplossing brengen (emulgeren) alvorens de lipasen deze kunnen aanvallen. Dat emulgeren kost tijd, vandaar dat tevens de maaglediging wordt geremd. 'Zwaar tafelen' heet het in de volksmond, als het vette voedsel als een steen op de maag ligt.

De maagsapsecretie verloopt in drie fasen. Als aan voedsel gedacht wordt, gaan de maagkliertjes in de maagwand een beetje sap aanmaken, gestimuleerd door het parasympatische deel van het autonome zenuwstelsel. De door voedsel gerekte maag kent de grootste maagsapsecretie. De parasympaticus samen met maagwandhormonen (o.a. gastrine), vrijgemaakt door deels verteerde eiwitten, stimuleren de maagkliertjes het allerbeste. Een cocktail van drie stoffen, te weten acetylcholine, gastrine en histamine stuwt dan de zuur- en pepsinogeenproductie naar grote hoogte. In de laatste, intestinale fase, bevindt het voedsel zich in de dunne darm. Ook dan gaat de maagzuursecretie door, zij het op een laag pitje, gestimuleerd door darmwandhormonen.

De twaalfvingerige darm ontvangt de zure maaginhoud, die nu langzaamaan hyperosmolair gaat worden. De pancreasenzymen die daar in het lumen komen, breken namelijk het voedsel verder af en de daarbij vrijkomende kleinere moleculen verhogen de osmolariteit ter plaatse aanzienlijk. Het bicarbonaat in het pancreassap zal de H<sup>+</sup>-ionen neutraliseren. Maar aangezien dat laatste niet onmiddellijk gebeurt, is er reden genoeg om een dikke beschermende alkalische slijmlaag aan de binnenkant van de twaalfvingerige darm aan te brengen. Dat wordt gedaan door de mucosale slijmklieren van Brunner.

Er moet nóg een beschermende maatregel worden getroffen. De darmwand en de klieren bestaan zelf ook uit vet en eiwit. Het moet dus voorkomen worden dat zij zelf niet worden aangevallen door hun eigen verteringsenzymen. De klieren redden zich er uit door de enzymen in een niet-actieve vorm uit te scheiden (pro-enzymen). In de maag worden die pro-enzymen (bv. pepsinogeen) geactiveerd door het maagzuur (tot het eiwitafbrekende pepsine). In de twaalfvingerige darm door enterokinase, een proteolytisch eiwit dat door de twaalfvingerige darmwand zelf wordt uitgescheiden. Tenslotte beschermt de alomanezige slijmlaag de enterocyten tezamen met beweeglijkheid en wateruitscheiding. Niettemin zullen de enterocyten hooguit 7 dagen overleven in dit barre milieu. Vanuit de crypten migreren jonge enterocyten naar de toppen van de vlokken om hun dode, afgestoten kameralen te vervangen.

## BEWERKING MET ENZYMEN

In de mond begint de vertering van vet en zetmeel reeds door de enzymen in het speeksel. Bovendien wordt daar het voedsel mechanisch verkleind door het kauwen. Die vertering gaat nog een tijdje door in dat deel van de maag dat een opslagfunctie heeft. Het onderste deel van de maag is een soort mengkamer waar voornamelijk eiwitvertering plaatsvindt. Intensieve, verschuivende circulaire insnoeringen in het onderste deel van de maag maken een waterige pap van de solide maaginhoud dat zich in het bovenste deel van de maag bevindt. Eenmaal in de twaalfvingerige darm zal de eiwitvertering worden overgenomen door alvleesklierenzymen en zal ook de koolhydraat- en vetvertering worden herstart, eveneens door de alvleesklierenzymen.

De meeste voedselmoleculen zijn te vergelijken met een lange kralenketting, en aan te duiden met de algemene term polymeer. De meeste voedselpolymeren zijn gevormd door een chemisch condensatieproces waarbij moleculen aan elkaar worden geknoopt en water vrijkomt. De verteringsenzymen katalyseren het omgekeerde proces: het losmaken van de moleculen door middel van het toevoegen van water (hydrolyse). Luminale vertering door de enzymen afkomstig uit de klieren heeft tot doel de polymeren in stukken te knippen. De uiteindelijke reductie tot enkelvoudige kraaltjes (monomeer) of ketentjes van hooguit twee à drie kraaltjes (di-/trimeren) vindt plaats aan de apicale membraan van de enterocyten. In dit membraan zijn enzymen verankerd die de lumaal voorverkleinde voedselmoleculen tot opneembare eenheden reduceren. Deze voorstelling gaat op voor koolhydraten en eiwitten. De vetvertering wijkt er hierin zoverre van af dat de membraangebonden vertering niet voorkomt. Transport van de eindproducten van de luminale vetvertering naar de membraan van enterocyten gaat bovendien door middel van micellen. Deze worden gevormd met behulp van de galzouten. Micellen houden de vetafbraakproducten in oplossing en daardoor verplaatsbaar. De eindproducten van de vetvertering diffunderen vanuit micellen direct de enterocyt in. Het apicale enterocytmembraan is namelijk zelf lipofiel en vormt voor deze stoffen geen barrière. Dit is echter wél een barrière voor de eindproducten van de koolhydraatvertering (hexosen) en eiwitvertering (aminozuren, di- en tripetiden).

Het verteringsproces krijgt onverwachte steun van de bacteriën die de darm bevolken. Onverteerde voedselbestanddelen worden door hen aangepakt. Veelal zijn dit plantaardige vezels (veelal suikerpolymeren) waartegen onze enzymen krachteloos zijn. Maar ook onopgenomen aminozuren, vetten en suikers zijn voor bacteriën een feestmaal. Bij de bacteriële vertering komt naast voor het lichaam nog goed bruikbare stoffen ook darmgas vrij. Een mens produceert, afhankelijk van het dieet, gemiddeld ongeveer 15 milliliter darmgas per uur. Dat gas bestaat voor 99% uit het reukloze  $N_2$ ,  $O_2$ ,  $CO_2$ ,  $H_2$  en methaan. De kenmerkende poeplucht komt door  $H_2S$  en door ringvormige koolwaterstoffen zoals indolen ( $C_8H_7N$ ). De anale passage van dat gas heet flatus.

Ook de bescherming van de darmwand krijgt onverwachte steun van de bacteri-

en. Door de darm te bevolken en te ontdoen van voor 'darmvreemde' bacteriën bruikbare voedingsstoffen voorkomen zij dat potentieel gevaarlijk bacteriën de darm in grote getale kunnen koloniseren.

## BINNENHALEN VAN DE EINDPRODUCTEN VAN DE VERTERING

De verteringsprocessen vinden plaats in mond, maag, twaalfvingerige darm en in de eerste segmenten van de dunne darm. De taak van de rest van de darm is het binnenhalen van de eindproducten van de vertering, maar ook het binnenhalen van het water en de daarin opgeloste ionen en vitaminen. Hiertoe zijn de membranen van de enterocyten uitgerust met speciale membraantransporteiwitten.

De  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -pomp is zo'n belangrijk membraantransporteiwit dat aanwezig is in de basolaterale membraan. Het is, in eerste instantie, verantwoordelijk voor het in stand houden van de sterk asymmetrische verdeling van de alkalimetaalionen  $\text{Na}^+$  en  $\text{K}^+$  over de enterocytoplasmamembraan. De  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -pompen zorgen voor een uitwaartse  $\text{K}^+$ -gradiënt, dit wil zeggen 100-150 mM  $\text{K}^+$  in het celinwendige maar slechts 4-6 mM in de weefselvloeistof. De pompen zorgen tevens voor een inwaartse  $\text{Na}^+$ -gradiënt: 5-15 mM  $\text{Na}^+$  in het celinwendige tegenover 145 mM in de weefselvloeistof. De activiteit van de  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -pompen wordt sterk gestimuleerd als de intracellulaire  $\text{Na}^+$ -concentratie toeneemt. Hierdoor wordt de lage intracellulaire  $\text{Na}^+$ -concentratie niet alleen gegeneerd maar ook automatische gehandhaafd. De uitwaarts gerichte  $\text{K}^+$ -concentratiegradiënt wordt vervolgens door de enterocyten benut om een elektrische potentiaal over de celmembraan te creëren, waarbij het binnenste van de cel 40 tot 90 mV negatief is ten opzichte van de buitenkant. Het mechanisme hiervan blijft buiten beschouwing. Enterocyten hebben dus in beginsel een uitwaarts gerichte  $\text{K}^+$ -concentratiegradiënt en een inwaartse  $\text{Na}^+$ -concentratiegradiënt alsmede een negatieve membraanpotentiaal. Voor  $\text{Na}^+$ -ionen zijn er dus twee afzonderlijke doch samenwerkende drijvende krachten om het cytoplasma van de enterocyt binnen te dringen. De eerste is de reeds genoemde inwaartse gradiënt. De tweede is de negatieve membraanpotentiaal van de cel die een sterke aantrekkende kracht op de  $\text{Na}^+$ -ionen uitoefent (electrische gradiënt). Vele membraantransporteiwitten in de apicale membraan van de enterocyten benutten nu de inwaarts gerichte  $\text{Na}^+$ -electrochemische gradiënt als energiebron om andere moleculen/ionen uit het darmlumen te halen en die vervolgens in het celinwendige te concentreren. Andere membraantransporteiwitten in de basolaterale membraan moeten die stoffen uit het celinwendige verwijderen en vervolgens in de weefselvloeistof deponeren. Vanuit de weefselvloeistof komen die stoffen tenslotte in de lymfevaten en/of bloedvaten van de darmwand terecht.

Glucose is een eindproduct van de koolhydraatvertering. De enterocyten halen glucose binnen met behulp van apicale  $\text{Na}^+$ -glucosecotransporters. Door gebruik te maken van de inwaartse  $\text{Na}^+$ -concentratiegradiënt en de negatieve membraanpotentiaal kunnen de  $\text{Na}^+$ -glucosecotransporters een glucosegradiënt opbouwen waarbij de glucoseconcentratie in het celinwendige wel ~200 maal hoger kan wor-

den dan de glucoseconcentratie in het lumen van de darm. Doordat het ongeladen glucose tezamen met het eenwaardige positieve  $\text{Na}^+$ -ion de cel binnenkomt zal de membraanpotentiaal minder negatief worden (depolariseren). Als de membraanpotentiaal al te zeer minder negatief wordt neemt een belangrijke drijvende kracht voor het  $\text{Na}^+$ -glucosecotransport af. Als de cel geen tegenmaatregelen neemt, wordt de membraanpotentiaal uiteindelijk zelfs positief, waardoor  $\text{Na}^+$ -glucosecotransport geheel tot stilstand komt. In de enterocyten wordt het elektriciteit genererende  $\text{Na}^+$ -glucosecotransport electroneutraal gemaakt met behulp van  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -pompen en  $\text{K}^+$ -geleidende ionkanalen, op een tamelijk ingewikkelde wijze die hier niet verder wordt belicht. Maar in essentie komt het er op neer dat de cel de binnengekomen  $\text{Na}^+$ -ionen via de achterdeur weer wegwerkt, zodat de gradiënt blijft bestaan.

Nu glucose geconcentreerd is in het inwendige van de cel moet het vervolgens naar de weefselvloeistof van de darmwand getransporteerd worden om uiteindelijk de bloedvaten te kunnen bereiken. Het blijkt dat enterocyten voor dit doel gebruik maken van een ander glucose-specifiek membraantransporteiwit dat glucose vervoert. Net als ionkanalen laat dit membraantransporteiwit glucose passief de cel in- of uitlopen, afhankelijk van de glucoseconcentratiegradiënt. Enterocyten hebben deze 'facilitated diffusion glucose transporters' in dat deel van hun membraan dat aan de weefselvloeistof grenst (de basolaterale membraan) maar niet in dat deel van hun membraan dat aan het lumen grenst (de apicale membraan). Deze membraantransporteiwitten ondersteunen de diffusie van glucose van de hoge glucoseconcentratie in het celinwendige naar de relatief lage glucoseconcentratie in de weefselvloeistof van de darmwand.

Een dergelijk principe van apicaal en vervolgens basolateraal transport geldt grosso modo ook voor de andere eindproducten van de koolhydraatvertering (galactose en fructose) en de eindproducten van de eiwitvertering (aminozuren en di- en tripeptiden). Zij het dat deze niet alleen met  $\text{Na}^+$ - maar ook met  $\text{H}^+$ -ionen het celinwendige van de enterocyt bereiken (aminozuur- $\text{H}^+$ -cotransport). De apicale membraantransporteiwitten benutten dan de electrochemische  $\text{H}^+$ -gradiënt om de absorptie van de eindproducten van de eiwitvertering te drijven. Tevens is het van belang op te merken dat de aminozuurtransporters in de apicale membraan een 20-tal grillig gevormde aminozuurmoleculen (c.q. di/tri peptiden) kunnen herkennen en transporteren. Deze membraantransporteiwitten zouden in potentie geschikt kunnen zijn om ook farmaca te transporteren, mits die farmaca een stukje hebben dat op een aminozuur lijkt (bv. ACE-remmers, en verbindingen als gabapentine). Dit is momenteel een belangrijk thema voor de farmaceutische industrie.

De vetabsorptie verschilt enigszins van die van suikers en aminozuren. Eenmaal in het celinwendige worden de vetafbraakproducten weer gecondenseerd tot nieuwe vetten. Die vetten worden vervolgens verpakt in een eiwitmanteltje en afgegeven aan de weefselvloeistof van de darmwand om vervolgens door de lymfevaten te worden opgenomen (in de vorm van chylomicronen).

Door de absorptie van de organische moleculen samen met  $\text{Na}^+$ -ionen komt het

Cl<sup>-</sup> als vanzelf mee. Er bestaan tal van andere transportsystemen om de andere ionen en vitaminen op te nemen. Door dit transport daalt de osmotische waarde van de inhoud van het lumen, en stijgt de osmotische waarde in de darmwand. Dit heeft waterabsorptie tot gevolg. Het uiteindelijke indikken van de darminhoud geschiedt met name in de dikke darm. Dat vereist dat de overgebleven pulp intensief en langdurig met de wand van de dikke darm in contact komt. Hiertoe dienen de circulaire insnoeringen die steeds op een andere plek gevormd worden. De afwezigheid van peristaltiek maakt dat de inhoud eindeloos wordt omgeploegd en steeds waterarmer wordt. Tenslotte zal door een aantal massabewegingen de dikke darm zich ledigen in de endeldarm die daardoor gerekt raakt. Deze rek initieert een peristaltische beweging en de mens wordt de defecatieaandrang gewaar. Een typische gedragsaanpassing volgt: het onderbreken van de werkzaamheden en het opzoeken van een geëigende plek waar men zich even kan afzonderen om in alle rust de endeldarm te ledigen. Als het onmogelijk is tot defecatie over te gaan kan de aandrang genegeerd worden en zal die tenslotte uitdoven. De gevulde endeldarm zal evenwel doorgaan met het onttrekken van water aan de feces. Hierdoor slinken de fecaliën. Daardoor wordt de endeldarm minder geprikkeld en blijft de aandrang zelfs heel lang weg. In al die tijd gaat de ontwatering van de feces door, met als gevolg een steenharde ontlasting. Dit probleem kan worden opgelost door het water van buitenaf toe te voegen (klyisma).

## EPILOOG

Ondanks de behoorlijke kennis over de verrichtingen van de darm is er over een aantal thema's nog het nodige aan de weet te komen. De fijne regulatie van de darmfuncties is zo'n relatief onbekend gebied. Een duizelingwekkend aantal boodschapperstoffen, neurotransmitters en andere moleculen zijn gevonden die op een of andere manier de beweeglijkheid van de darm beïnvloeden, of haar watersecretie of beide. Het is volstrekt onduidelijk waarom dat nu zo ingewikkeld moet zijn. Ook de cellulaire elementen van de darmwand die een meer zintuiglijke functie hebben (rek- en chemosensoren) zijn momenteel onderwerp van onderzoek. Tenslotte zijn de eigenschappen van de apicale membraantransporteiwitten interessant om te weten. Niet alleen welke moleculen zij naar binnen kunnen hevelen, maar ook hoe hun activiteit wordt gereguleerd. Wie dat nu precies wil weten zal wetenschappelijk onderzoek moeten gaan doen.

Irritable bowel disease (IBD) is een verzamelnaam voor chronische inflammatoire aandoeningen van de tractus digestivus met onbekende etiologie; hieronder vallen de ziekte van Crohn, colitis ulcerosa en proctitis ulcerosa.

Irritable bowel syndrome (IBS): spastisch colon.

Bron: Everdingen JJE van, Klazinga NS, Pols J (Eds). Pinkhof Geneeskundig Woordenboek. Bohn Stafleu Van Loghum, Houten (1998)

Jan Schuurkes (1950) studeerde biochemie aan de KUN, waarna hij promoveerde tot doctor in de Geneeskunde aan de universiteit te Utrecht op het proefschrift 'Motility and hemodynamics of the canine gastrointestinal tract'. Na nog een jaar als postdoc trad hij in 1979 in dienst bij Janssen Pharmaceutica te Beerse, waar hij achtereenvolgens assistenthoofd van de afdeling farmacodynamiek was, hoofd van de afdeling gastrointestinale farmacologie en vice-president Gastrointestinal Discovery. Tegenwoordig leidt hij een team van onderzoekers die zich toeleggen op het onderzoek naar medicamenteuze therapie van maagdarfstoornissen die zowel een motorische als een secretoire component bevatten en vooral gericht zijn op de behandeling van functionele maagdarfstoornissen.

Dr Schuurkes heeft in 1997 de dr Paul Janssen-prijs gewonnen, en is (co)auteur van meer dan 70 'peer-reviewed' artikelen.



## JAJ Schuurkes

### INLEIDING

Het maagdarmkanaal kan beschouwd worden als een aaneenschakeling van compartimenten, die van elkaar gescheiden zijn door anatomische of functionele sfincters. Ieder van de compartimenten heeft een specifieke taak en kan die taak in grote mate autonoom uitvoeren, dat wil zeggen zonder bewuste tussenkomst van het centrale zenuwstelsel. Het 'bewuste' gecontroleerde deel van de maagdarmtransit, de opname van voedsel, eten en slikken en de uitscheiding van ontlasting (defecatie) vallen buiten het bestek van dit overzicht. Het 'onbewuste' deel van het transportproces door de slokdarm, de maag, dunne en dikke darm en de regulatie en mogelijke beïnvloeding hiervan zijn het onderwerp van dit hoofdstuk.

De belangrijkste functie van het maagdarmkanaal is de opname van essentiële voedingsstoffen. Door middel van chemische en mechanische processen worden de verteerbare bestanddelen omgezet in een opneembare vorm. Daarbij spelen motiliteit en secretie/absorptie beide een belangrijke rol. Secretie van mucus in samenwerking met een peristaltische contractie verzorgt het transport door de slokdarm. In de maag vinden de eerste verkleiningsprocessen plaats, chemisch door de uitscheiding van maagsap (HCl en pepsine) en mechanisch door de contracties van het distale deel van de maag. Na gecontroleerde overbrenging naar de dunne darm wordt de chemische vertering voortgezet met behulp van galafscheiding en pancreassap en een bij het proces aangepaste voortstuwende of kneedbeweging. Naar het distale deel van het maagdarmkanaal toe wordt het belang van de absorptieve functie groter. Galzoutopname (in de dunne darm) en waterabsorptie (in de dikke darm) voorkomen verlies en verminderen de fecale massa.

De verregaande autonomie van het maagdarmkanaal kan eenvoudig aangetoond worden door geïsoleerde delen van het kanaal te bestuderen in een opstelling waarbij het preparaat onder optimale condities zijn contractiele activiteit blijft behouden. Als we de druk in een segment van de dunne darm van de cavia laten stijgen zal het segment daarop reageren met een contractie die de inhoud van het segment zal voortstuwen. Opmerkelijk is hierbij dat die voortstuwing altijd gebeurt in de anale richting, dus van proximaal naar distaal. In het ingebouwde motiliteitsprogramma, de peristaltische reflex, ligt de richting vast. De neuronen, sensoren en effectoren in de wand zelf kunnen dit proces autonoom besturen.

Hetzelfde geldt voor het bepalen van de gepaste respons. Afhankelijk van de inhoud (samenstelling, deeltjesgrootte) zal het maagdarmkanaal een gepast antwoord voorschieten, indien het beschikt over het juiste programma. Een segment van de dunne darm van de cavia weet reproduceerbaar te antwoorden op een vloeii-

bare inhoud. Zodra een vaste inhoud (bv. een onverteerbare pellet) wordt aangeboden, blijkt de dunne darm niet in staat daarop te reageren met een voortstuwend actie. Dit in tegenstelling tot de dikke darm. Een dikkedarmsegment stuwt vaste inhoud heel snel door maar weet daarentegen niet goed om te gaan met een vloeibare stimulus.

Deze programma's kunnen uitgevoerd worden door de samenwerkende actie van gladde spiercellen, contraherend en relaxerend, die aangestuurd worden door een neuronaal circuit verdeeld in verschillende netwerken in de wand van het maagdarmkanaal.

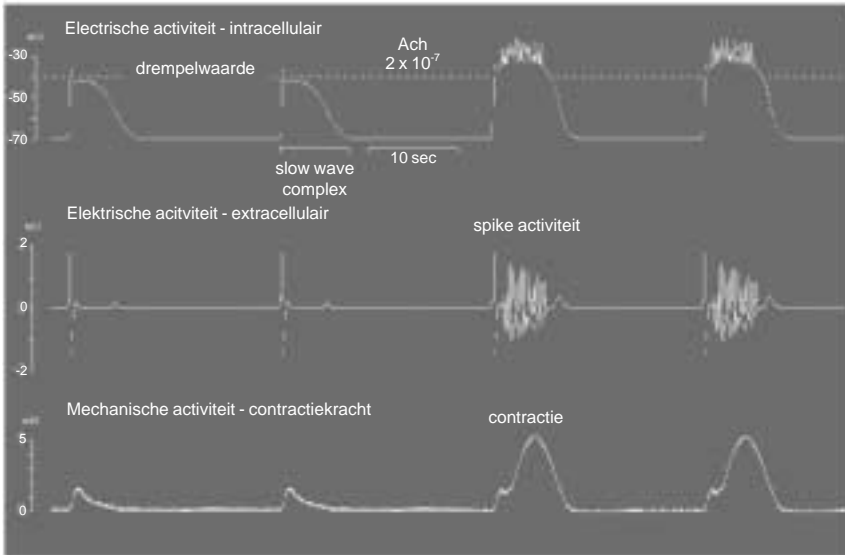
De eerste paragraaf van dit hoofdstuk wordt besteed aan de basale mechanismen die verantwoordelijk zijn voor de motiliteit. In de tweede paragraaf zullen de verschillende motiliteitsproblemen aan bod komen die optreden in nuchtere of gevoede toestand, om in de derde paragraaf aandacht te besteden aan de farmacologische of therapeutische mogelijkheden om de motiliteit van het maagdarmkanaal te beïnvloeden, zowel te vertragen als te versnellen.

## DE BASALE MECHANISMEN

### TONISCHE ACTIVITEIT

De spierlagen van het maagdarmkanaal vertonen een ritmische activiteit die is gesuperponeerd op een basale tonus. In sommige deelgebieden is de tonische activiteit het belangrijkste, bijvoorbeeld daar waar het opslaan van inhoud belangrijk is, zoals in het bovenste deel van de maag (fundus) en in het rectosigmoidaal gebied, of daar waar scheiding van compartimenten belangrijk is, zoals bij de onderste slokdarmsfincter en de interne anale sfincter.

De recentelijk ontwikkelde technieken om tonische activiteit te meten in het maagdarmkanaal zoals de 'sleeve-perfusie manometrie' voor sfincters en de 'barostat' voor maag- en colonvolumemeting hebben veel bijgedragen tot ons begrip van het belang van de tonische activiteit. De regulatie van de tonische activiteit wordt volop bestudeerd. Het is duidelijk dat vele boodschapperstoffen (neurotransmitters, hormonen, enz.) de gladde spierlaag direct (op de gladde spiercellen) of indirect (via de neuronen) beïnvloeden en de mate van contractie (d.w.z. de basale tonus) bepalen. Daar waar tonische activiteit van groot belang is onderscheiden de gladde spiercellen zich door een relatief hoge rustpotentialiaal van het celmembraan. Deze rustpotentialiaal zorgt ervoor dat via calciuminflux de actine-myosine filamenten voortdurend in een deels gecontraheerde toestand verkeren. Naast voor prikkels die de tonus kunnen verhogen, zijn de gladde spiercellen ook gevoelig voor prikkels die een relaxatie kunnen veroorzaken zoals stikstof oxide (NO), vasoactieve intestinale peptide (VIP) en ATP. Het beïnvloeden van de tonus kan dus plaatsvinden door het veranderen van de sterkte van een contractie-inducerende stimulus ofwel door het veranderen van de sterkte van een relaxatie-inducerende stimulus, danwel een mengvorm.



**Figuur 1.** Elektrische en mechanische activiteit van de gladde spiercellen van de distale hondenmaag. Spike activiteit (actiepotentialen) werden geïnduceerd door toediening van acetylcholine (Ach;  $2 \cdot 10^{-7}$  M).

## FASISCHE ACTIVITEIT

De min of meer regelmatig optredende contracties van de maag, dunne en dikke darm, samen ook wel genoemd de fasische activiteit, worden ook veroorzaakt door een samenspel van neuronale en niet-neuronale factoren. Tot die niet-neuronale factoren rekenen we de interstitiële cellen van Cajal (ICC's), cellen die voorkomen in associatie met neuronale netwerken tussen en in de spierlagen van het maag-darmkanaal. Aan deze cellen wordt een pacemakerfunctie toegeschreven. Ze genereren spontaan schommelingen in de membraanpotentiaal die worden doorgegeven aan de gladde spiercellen. De schommelingen zijn op zich niet sterk genoeg om de gladde spiercel te doen contraheren en worden 'slow waves' genoemd. Het intrinsieke ritme van de cellen en dus de frequentie waarmee de slow waves optreden is per species verschillend en hangt ook af van de plaats in het maag-darmkanaal (bv. bij de mens 3 per minuut in de maag en 12 per minuut in het bovenste deel van de dunne darm). Het intrinsieke ritme in de maag zelf is het hoogst op de grens tussen corpus en fundus en neemt af in de richting van het antrum. Het deel met de hoogste frequentie legt zijn ritme op aan de delen met een lagere frequentie. Met andere woorden, het fungeert als de primaire pacemaker en de geleiding verloopt dus onder normale omstandigheden van corpus-fundusgrens naar pylorus. De geleiding in circulaire richting verloopt sneller dan in longitudinale richting hetgeen van belang is voor de constructie van een ringvormige voortlopende contractie. De slow waves veranderen de membraanpotentiaal in die mate dat de spiercellen kunnen reageren op bijvoorbeeld een neurotransmitter zoals acetylcho-

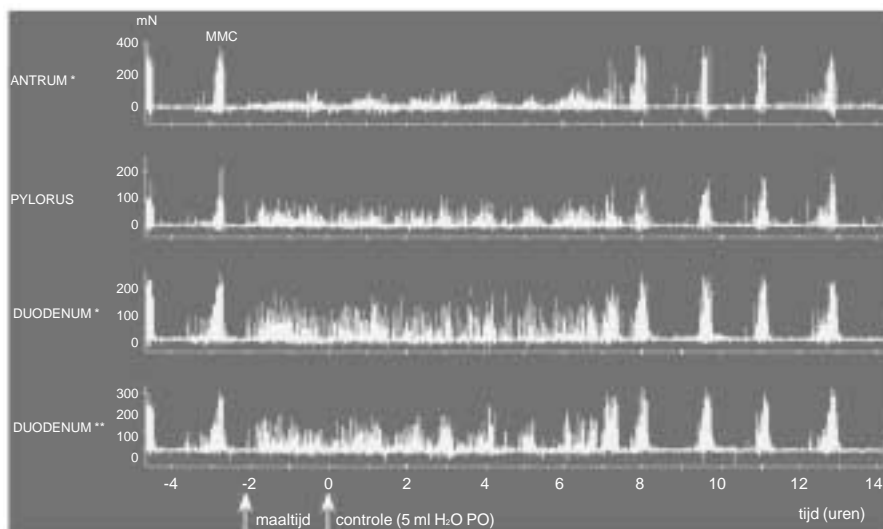
line. Tijdens de slow wave-activiteit wordt de drempelpotentiaal nodig voor calciuminflux bijna bereikt (er vindt geen contractie plaats). Indien in die periode acetylcholine via de muscarinereceptoren de gladde spiercel activeert, zal de drempelpotentiaal overschreden worden, openen ionkanalen zich (de actiepotentiaal) en vindt er een contractie plaats. De slow waves bepalen de 'timing' van de contracties, hun richting van voortgeleiding en de snelheid van voortgeleiding. Als iedere slow wave gevolgd wordt door een actiepotentiaal zien we een contractiepatroon waarbij de frequentie van de contracties maximaal is. De slow waves bepalen dus ook de maximale frequentie. De neurotransmitters of andere boodschappers bepalen of er een contractie zal optreden en hoe sterk die contractie kan zijn. Omdat de contracties steeds gekoppeld aan de slow waves optreden, zal het voortlooppatroon van de contracties overeenkomen met het geleidingspatroon van de slow wave. Dus bijvoorbeeld op de maag lopen de contracties van de corpus/fundus-grens over de pylorus naar het antrum. De peristaltiek van de slokdarm wordt als uitzondering niet gedreven door het vrijmaken van neurotransmitters uit de lokale, myenterische zenuwen maar wordt direct aangestuurd door de activiteit van de Nervus vagus. Dit is van belang voor een optimale coördinatie tussen de bewuste slikbeweging en het verdere transport van de bolus door de slokdarm tot de aankomst in de maag.

#### DE PERISTALTISCHE REFLEX

Het meest bestudeerde motiliteitsprogramma van het maagdarmkanaal is de peristaltische reflex. Het principe berust op 1. het waarnemen van de inhoud (sensore neuronen/cellen), 2. het doorsturen van de boodschap naar het netwerk voor informatie-integratie en het bepalen van een gepaste response (interneuronen), en 3. het uitvoeren van de beslissing (motorneuronen). Voor de uitvoering is de activiteit van zowel de buitenste longitudinale spierlaag als de binnenste circulaire spierlaag van belang. De bolus wordt voortgestuwd door een contractie van de circulaire spierlaag aan de proximale zijde van de bolus en een gelijktijdige relaxatie van diezelfde spierlaag aan de distale zijde van de bolus. Terzelfdertijd trekken de longitudinale spieren aan de distale zijde samen terwijl die aan de proximale zijde verslappen. Dit leidt tot het voortbewegen van de inhoud van proximaal naar distaal.

## MOTILITEITSPATRONEN

De motiliteit van het maagdarmkanaal wordt in grote mate bepaald door de inhoud. Een duidelijk voorbeeld hiervan is het verschil in activiteit in nuchtere toestand ten opzichte van de gevoede toestand.



**Figuur 2.** Motiliteitspatronen gemeten bij één hond met rekstrookjes; \* op 4 cm, \*\* op 8 cm distaal van de pylorus. Het gevoede motiliteitspatroon wordt onderbroken door een maaltijd (75 g PAL). MMC = migrerend motor complex ofwel activiteitsfront. De nuchtere activiteit komt terug na de digestieve periode van (in dit voorbeeld) 9 uur.

## MOTILITEIT VAN DE NUCHTERE STAAT

De kenmerkende motiliteitspatronen van de nuchtere staat, het zogenaamde migrerend motiliteitscomplex (MMC), komt voor op de maag en over de gehele lengte van de dunne darm (zie figuur 2). Het bestaat uit een groep zeer krachtige contracties, die ontstaan ofwel in de maag ofwel in het bovenste deel van de dunne darm. Van daaruit verplaatst deze groep contracties zich distaal om na een periode van 90 minuten te eindigen in het distale deel van de dunne darm, het ileum. Dan ontstaat er weer een nieuw activiteitsfront dat zich weer naar distaal verplaatst. Dit patroon, waarbij dus op iedere plaats van de maag en dunne darm iedere 90 minuten sterke activiteit kan worden gemeten, blijft behouden tot inname van voedsel het onderbreekt.

In een periode van 90 minuten vindt er dus sterke contractiele activiteit plaats afgewisseld door een rustfase (nagenoeg geen contracties) en een fase met onregelmatige activiteit die gelijkenis vertoont met de motiliteit in de gevoede toestand. De toename van activiteit is niet beperkt tot de motiliteit. Ook de maagzuursecretie, de pancreassapproductie en de galinstroom nemen toe vooral tijdens de fase

van onregelmatige activiteit. In het plasma neemt de concentratie van motiline ook toe om een piek te bereiken tijdens de fase van de sterke contracties. Motiline speelt een rol bij het opwekken van het MMC in de maag. De rol van dit hormoon voor de dunnedarmmotiliteit is vermoedelijk gering.

Ons huidig eetpatroon met 3-4 maaltijden en veelvuldige snacks daartussendoor voorkomt dat veel personen tijdens de dag een MMC zullen ervaren, welke soms duidelijk waarneembaar is door darmrommelingen of contractiegewaarwording en ook wel 'honger' wordt genoemd. Dat wil zeggen dat het nuchtere patroon voornamelijk een patroon is dat 's nachts zal voorkomen.

De functie van de sterke contracties zou enerzijds in de maag zorg dragen voor de maagontleding van onverteerbare resten, en door de sterk propulsieve aard in het duodenum zorg dragen voor het voorkómen van bacteriële overgroei. Het nachtelijke vóórkomen roept vragen op naar de relatie tussen het MMC en het nachtelijke zuurbranden van refluxpatiënten, en de mogelijke relatie met de verschillende fasen van de slaapcyclus.

De motiliteit van slokdarm en dikke darm wordt in veel mindere mate beïnvloed door het al of niet nuchter zijn. In de nuchtere fase beperkt de slokdarm zich tot het regelmatig transporteren van speeksel via een slikbeweging of tot het verwijderen uit de slokdarm van opstijgende maaginhoud (secundaire peristaltiek).

De dikke darmactiviteit blijft aanwezig. In nuchtere staat blijft in de dikke darm een zekere vullingsgraad behouden. De activiteit is wel iets zwakker dan na inname van een maaltijd. De belangrijkste vermindering van activiteit wordt gezien tijdens de slaap, wat erop wijst dat de invloed van het centraal zenuwstelsel op de motiliteit in nuchtere toestand zich vooral manifesteert op de dikke darm.

#### MOTILITEIT VAN DE GEVOEDE FASE

De slokdarmperistaltiek zorgt voor het transport van het voedsel naar de maag. Dit proces wordt gecoördineerd door de Nervus vagus die ook een actieve verslapping van de onderste slokdarmsfincter en van de maagwand induceert. Dit is de receptieve relaxatie die van belang is voor het opvangen van het voedsel. Het proces van receptieve relaxatie wordt gevolgd door een ook vage gecontroleerd proces van 'adaptieve' relaxatie. Het relaxerende deel van de maag (het corpus-fundusgebied) bepaalt met de daar heersende spiertonus, de mate waarin het voedsel wordt voortgestuwd naar het antrum voor de mechanische verkleining en daarmee de snelheid van de maaglediging. Het proces van gecontroleerde maagtonus wordt enerzijds gestuurd door de slikbewegingen (vagale receptieve relaxatie) en anderzijds door de inhoud van het bovenste deel van de dunne darm, het duodenum. Vet in het duodenum induceert een grote maagrelaxatie die verdere lediging tegenhoudt totdat de darminhoud is verwerkt.

Een te grote spanning in het bovenste deel van de maag induceert voorbijgaande relaxaties van de onderste slokdarmsfincter (Transient Lower Esophageal Sphincter Relaxations of TLESR's). Deze relaxaties laten lucht toe te ontsnappen (boeren) en leiden tot spanningsvermindering. Het is tijdens dit soort relaxaties dat

maagzuur de mogelijkheid heeft mee op de stijgen in de slokdarm en daar de karakteristieke symptomen van zuurbranden kan veroorzaken.

De peristaltiek van het onderste deel van de maag, corpus-antrum, zorgt voor de mechanische verkleining en de menging met het maagsap voor de chemische vertering. De peristaltische activiteit en de maagsapproductie worden mede gestuurd door het maaghormoon gastrine. In de gevoede toestand tijdens de fase van maagleiding treedt er een koppeling op tussen de laagfrequente activiteit in het antrum (3 per min bij de mens) en de hoogfrequente activiteit in het duodenum (12 per min bij de mens). Dit patroon van antroduodenale coördinatie zorgt voor een optimaal distaal transport met een minimale kans op terugvloeien van dunnedarminhoud naar de maag.

Het transport in de dunne darm vindt ook plaats met een aan de inhoud aangepaste snelheid. Niet-calorische inhoud reist sneller dan een hoog-calorische inhoud. Daarbij treden ook retroperistaltische bewegingen op. In tegenstelling tot de maag waar een primaire pacemaker zorg draagt voor het aborale transport, wordt de dunne darm gekenmerkt door de aanwezigheid van verschillende pacemakers waarvan de positie in de tijd varieert. De vanuit het pacemakergebied vertrekkende golven kunnen zich dus voortbewegen in aborale of in orale richting. Deze elektrische activiteit in samenspraak met de neuronale beïnvloeding die tot contractie leidt, zorgt voor een aangepaste verwerking met een overwegend distaal gericht transport. Naast de motorische activiteit speelt ook de secretoire activiteit een belangrijke rol bij het tot stand komen van een aangepaste behandeling van de inhoud. De galblaascontracties en pancreassapsecretie worden mede gecontroleerd door twee voor de dunne darm belangrijke hormonen, cholecystokinine (CCK) en secretine. Door verdergaande chemische verkleining en aangepaste transportsnelheid wordt een optimale absorptie mogelijk.

Dit proces van distaal transport, dat wederom in hoofdzaak gestuurd wordt door de Nervus vagus, verandert in een overwegend retro-peristaltische activiteit ter voorbereiding op het braken. Daarbij wordt de inhoud van de dunne darm teruggebracht naar de maag die actief verslapt. Sterke contracties van de abdominale spieren en de maag zorgen voor het voortstuwen in orale richting door een niet-contraherende slokdarm. Het braakproces is één van de min of meer vastliggende patronen dat uitgelokt kan worden zowel door intraluminaire factoren (inhoud, mucosale schade) als door invloeden vanuit het centraal zenuwstelsel of door bepaalde farmaca (bv. het chemotherapeutikum cis-platinum). Het op dit proces medicamenteus ingrijpen kan dan ook op verschillende niveaus liggen zoals, de darmwand, chemoreceptor-triggerzone en vagale nuclei.

Tijdens de maaltijd wordt niet alleen het bovenste deel van het maagdarmkanaal beïnvloed. Het distale deel van de dunne darm, het ileum, reageert ook met een toegenomen activiteit die de resten van de vorige maaltijd aan het einde van de dunne darm transporteren naar de dikke darm. Maar ook in het colon neemt de activiteit toe: de zogenaamde gastrocolische reflex. Daarbij spelen ook weer hormonale invloeden zoals van CCK een rol.

Onze kennis van de motiliteit van de dikke darm is nog zeer onvolledig. Veel van de vroegere metingen werden uitgevoerd in een lege darm, hetgeen mogelijk een verkeerd beeld geeft van de normale activiteit. Nieuwe technieken worden ontwikkeld om onze kennis van de motiliteit van de dikke darm te vergroten.

Een opvallende activiteit die op het colon voorkomt is de HAPC (Hoge Amplitude Propulsieve Contractie). Een dergelijke activiteit bestaat uit één of meerdere, uiterst krachtige, peristaltische golven die in staat zijn om de inhoud van de dikke darm over relatief grote afstand voort te stuwen. Ze gaan vaak vooraf aan een defecatie. Deze contracties komen vooral voor kort na het opstaan of na het ontbijt. Tijdens de nacht komen deze HAPC's niet voor. Als wij ontwaken en daarmee ook het colon, treden deze contracties iets frequenter op dan gedurende de rest van de dag. Het aantal HAPC's is duidelijk verminderd bij patiënten met constipatie.

Naast de gastrocolische reflex en de HAPC's zijn de segmentale haustrale bewegingen van groot belang. Zij zorgen voor menging samengaand met traag transport waardoor voornamelijk de waterresorptie mogelijk wordt gemaakt. De haustrale insnoeringen, kenmerkend voor de dikke darm, zijn geen anatomische vernauwingen, maar een door trage tonische contracties tot stand gebrachte compartimentalisatie.

## DE BEÏNVLOEDING VAN HET TRANSPORT

De complexiteit van het proces biedt een aanknopingspunt voor een grote hoeveelheid farmaca om de snelheid van transport te beïnvloeden. Specificiteit voor een bepaald deel van het maagdarmkanaal is daarbij soms gewenst. Voor de verschillende delen van het maagdarmkanaal en hun verschillende functies zal hieronder aan de hand van enkele mogelijkheden beschreven worden hoe men met bepaalde farmaca het transport kan beïnvloeden, zowel versnellend als vertragend. Het valt buiten het bestek van dit hoofdstuk om de farmacologische beïnvloeding van de secretoire en absorptieve processen te beschrijven. Dat betekent echter niet dat die processen geen bepalende invloed kunnen hebben op de transportsnelheid zoals duidelijk is in het geval van secretoire diarree.

De slokdarmperistaltiek kan beïnvloed worden voornamelijk door het activeren van de vageal cholinerge stimulus, dit wil zeggen door cholinerge agonisten die echter de neuronale controle (timing van de acetylcholine vrijzetting) buiten spel zetten. Een meer fysiologische aanpak is het gebruik van farmaca die op indirecte manier de vrijzetting van acetylcholine bevorderen, bijvoorbeeld 5-HT<sub>4</sub>-agonisten. Daardoor wordt de contractiekracht en propulsieve activiteit verbeterd, maar met behoud van de voor de coördinatie belangrijke neuronale controle.

De druk in de onderste slokdarmsfincter kan zowel in positieve als in negatieve richting beïnvloed worden. Het verminderen van de druk is van belang bij patiënten met achalasie om transport door het sfinctergebied mogelijk te maken. Selectieve neuronale blokkade, stikstofoxidedonoren of calciumantagonisten wor-



den hiervoor ingezet. Het verhogen van de sfincterdruk, van belang om reflux te voorkomen, kan bereikt worden met 5-HT<sub>4</sub>-agonisten of met cholinerge muscarine-agonisten.

De voorbijgaande relaxaties van de onderste slokdarmsfincter (TLESR) bieden maagzuur de gelegenheid in de slokdarm te komen. Remming van deze relaxaties kan gebeuren door remmers van stikstofoxidesynthase (NOS), maar ook door atropine en door cholecystokinine-antagonisten (CCK-2-receptor). Het laatste duidt op een mogelijke rol van cholecystokinine ook in dit deel van het maagdarmkanaal. Het remmen van de voorbijgaande relaxaties zou slechts in beperkte mate mogen gebeuren omdat hetzelfde mechanisme ook verantwoordelijk is voor de relaxatie die gekoppeld is aan een slikbeweging en remming hiervan tot pseudo-achalasia kan leiden.

Het verhogen van de maagtonus zou van nut kunnen zijn om de voedselinname te beperken. Cholinerge agonisten, NO-synthase remmers, GABA-B-agonisten, en SSRI's (Selectieve Serotonin Reuptake Inhibitoren) kunnen de tonus van de maag verhogen terwijl anticholinergica, NO-donoren, calciumantagonisten en 5-HT<sub>1A</sub>-agonisten de tonus kunnen verlagen. Dit laatste is vooral van nut bij patiënten met dyspeptische klachten waarbij vroege verzadiging en een vol gevoel een rol spelen.

De maagperistaltiek kan sterk bevorderd worden door het gebruik van 5-HT<sub>4</sub>-agonisten die daarmee ook de maaglediging versnellen. Deze stoffen werken door het faciliteren van de neuronale acetylcholinevrijstelling en versterken daardoor het fysiologische patroon, aangepast aan de inhoud. In de gevoede fase wordt het gevoede patroon versterkt, in de nuchtere fase het nuchtere patroon. Een geheel andere manier om de maagontlediging te versnellen is het gebruik van motiline-agonisten zoals erythromycine. Dit farmacon induceert de sterke propulsieve contracties die karakteristiek zijn voor de nuchtere fase. Het gevolg is een duidelijk versnelde maaglediging maar niet noodzakelijk een vermindering van de dyspeptische symptomen. Overstimulatie kan de klachten doen toenemen in plaats van verminderen. Een derde manier is het wegnemen van een remmende invloed met bijvoorbeeld de dopamine-2-antagonist domperidon.

Naast een directe werking op de maag heeft domperidon ook een anti-emetische werking wanneer deze deel uitmaken van de dyspeptische klachten of bijvoorbeeld bij reizigersziekte. Voor chemotherapie- of bestralingsgeïnduceerd braken worden vooral de 5-HT<sub>3</sub>-antagonisten ingezet naast centrale D2-antagonisten en dexamethason. Recente bevindingen met neurokinine-1-antagonisten doen vermoeden dat deze stoffen het centrale proces remmen en dus bruikbaar zouden zijn als anti-emetica, ongeacht de emetische stimulus.

Het bevorderen van de dunnedarmtransit is het best aangetoond met 5-HT<sub>4</sub>-agonisten. Het remmen van de transit kan bereikt worden met perifere opiaatagonisten of met 5-HT<sub>3</sub>-antagonisten. Deze zelfde fenomenen treden ook op op de dikke darm zodat de 5-HT<sub>4</sub>-agonisten aangewezen zijn bij constipatie of de constipatie-predominante vorm van irritable bowel syndrome (IBS) terwijl de opiaatagonisten en de 5-HT<sub>3</sub>-antagonisten gebruikt kunnen worden bij de diarree-dominante

vorm van IBS. Van 5-HT<sub>4</sub>-agonisten is bekend dat zij het aantal HAPC's kunnen doen toenemen, hetgeen hun effectiviteit bij constipatie zou kunnen verklaren.

Het remmen van de gastrocolische reflex zou mogelijk zijn met CCK-1-antagonisten, hetgeen hun toepassing in bepaalde vormen van IBS nuttig maakt.

De bovenvermelde voorbeelden dienen slechts als illustratie en bedoelen niet een volledige opsomming te geven van alle farmacologische mogelijkheden die het transport door het maagdarmkanaal beïnvloeden. De veelheid aan receptoren en mechanismen doet veronderstellen dat er zeer veel verschillende wegen tot interventie bestaan, hetgeen uiteindelijk zou moeten leiden tot een optimale therapie voor de individuele patiënt.

## REFERENTIES

*Kumar D, Gustavsson S (Eds). An Illustrated Guide to Gastrointestinal Motility. John Wiley & Sons Ltd., 1988*

*Smout AJPM, Akkermans LMA (Eds). De Normale en Gestoorde Bewegingen van het Maagdarmkanaal. Janssen Pharmaceutica B.V., Tilburg, 1991.*



Claus-Michael Lehr (1961) studeerde farmacie aan de universiteit van Mainz en Hamburg, waar hij in 1987 afstudeerde. In 1991 promoveerde hij aan de universiteit Leiden, waarna hij een postdocschap had aan de University of Southern California en te Leiden. In 1993 werd hij universitair hoofddocent Farmaceutische Technologie te Marburg, en in 1995 gewoon hoogleraar in Saarbrücken, waar hij hoofd is van de afdeling Biofarmacie en Farmaceutische Technologie. In 1998 richtte hij het onderzoeksbedrijf Across Barriers GmbH op, een bedrijf gespecialiseerd in transportonderzoek van farmaca over gecultiveerde weefsels (darm, longen en huid).

Claus Lehr is lid van de Executive Committee van de Duitse farmaceutische vereniging APV, en lid van het bestuur van Eufeps. Hij is lid van de adviesraden van diverse wetenschappelijke tijdschriften.

## STUREN NAAR DE LAGE DARM, WAAROM EN HOE?

De fysiologische taken van de dikke darm zijn het heropnemen van water en electrolyten, het vormen van de vaste ontlasting en het vasthouden van deze ontlasting tot het moment van defecatie. In tegenstelling tot de dunne darm, is het colon in beginsel niet voorbestemd voor de opname van voedingsstoffen, en daarmee mogelijkwijs dus ook niet de beste plaats voor opname van geneesmiddelen. Toch kan het sturen van geneesmiddelen naar deze verre plaats gewenst zijn, namelijk in de volgende situaties (naar Kinget *et al*, 1998):

1. een aantal ziekten van het colon kan effectiever worden behandeld, als het geneesmiddel lokaal wordt afgeleverd. Naast constipatie, colorectale kanker en geïrriteerd colon (IBD), gaat dit vooral op voor de zogenaamde inflammatoire aandoeningen, zoals de ziekte van Crohn en ulceratieve colitis (IBS);
2. anthelmintica en diagnostica blijken effectiever te zijn en in lagere doses gegeven te kunnen worden als ze direct in het doelgebied kunnen worden gebracht;
3. als er uitgestelde opname vanuit therapeutisch oogpunt gewenst is, bijvoorbeeld bij aandoeningen waarbij piekwaarden in de bloedconcentratie vroeg in de ochtend nodig zijn (zoals bij nachtafma, angina of artritis), kan het uitstellen van het tijdstip van geneesmiddelopname na orale toediening via gerichte sturing naar het colon toegevoegde waarde leveren;
4. met de toenemende vooruitgang op het gebied van biotechnologie en genetische manipulatie, hetgeen resulteert in een toenemende hoeveelheid beschikbare peptiden en eiwitten, die ook tegen aanvaardbare kosten beschikbaar zullen komen en potentieel nuttig kunnen zijn in therapie, is er ook toegenomen interesse in het colon als plaats voor geneesmiddelopname. Ten gevolge van een lagere activiteit van de brush border peptidasen en een veel lagere activiteit van de resterende pancreasenzymen, wordt het colon beschouwd als meer geschikt voor de aflevering van peptiden en eiwitten dan de dunne darm (Lee, 1991).

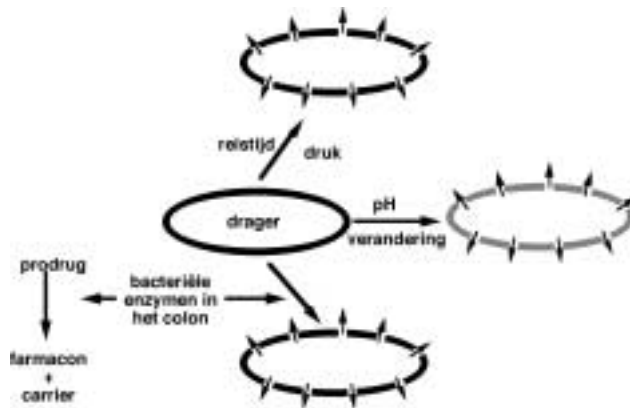
Aflevering in het colon kan geschieden na orale en na rectale toediening (Steed *et al*, 1989). Er dient dan wel gebruik gemaakt te worden van speciaal hiervoor ontworpen toedieningsvormen. De tweede route is aan te bevelen bij geneesmiddelen die misselijkheid of braken veroorzaken, of irritatie veroorzaken na orale inname. De rectale toedieningsvormen (zetspillen en klysma's) zijn echter niet altijd effectief, omdat er een grote variatie wordt gezien in de lokale spreiding van deze toedieningsvormen. Zetspillen zijn alleen in het rectum goed werkzaam, juist vanwege

hun beperkte spreiding. De mogelijkheid om first-pass metabolisme in de lever te omzeilen door directe opname in de onderste holle ader, lijkt vanuit anatomisch oogpunt mogelijk vanuit het onderste gedeelte van het rectum. Maar de klinische relevantie van deze mogelijkheid is nog nooit duidelijk gemaakt, en wordt ook tegengewerkt door de aanwezigheid van bloedvatanastomosen.

Aan de andere kant kunnen klyisma's uitsluitend lokale behandeling bieden in het sigmoid en het dalende been van het colon, door de aanwezigheid van de flexura linealis. Het toedienen van grotere hoeveelheden vloeistof om de beperkte lokale spreiding te verbeteren, veroorzaakt veelal een defecatiereflex. Daarom is orale toediening te prefereren boven de rectale, die in de zuidelijke Europese landen enige populariteit geniet (dit in tegenstelling tot de Verenigde Staten!). Bovendien geeft de orale toediening meer mogelijkheden tot sturing. Hiervoor moeten echter eerst enkele fysiologische barrières worden overwonnen. Vroegtijdige afgifte, opname en afbraak van het actieve bestanddeel in het hogere gedeelte van het maagdarmkanaal is het belangrijkste obstakel en moet worden overwonnen door ontwikkelen van de juiste toedieningsvorm en technologie voor een succesvolle sturing naar het colon.

In dit hoofdstuk zullen vijf verschillende strategieën worden besproken die ontwikkeld zijn om succesvolle sturing naar het colon te bereiken. Deze strategieën zijn gebaseerd op:

1. pH-verskil tussen dunne en dikke darm;
2. enzymatische activiteit van de microflora in het colon;
3. de redelijk constante reistijd van een toedieningsvorm door de dunne darm;
4. de toenemende druk in het lumen van het colon door sterke peristaltische drukgolven;
5. het gebruik van extreem kleine (nano- tot micrometer grootte) geneesmiddeldragers.



Figuur 1. Schematische weergave van de diverse standaardstrategieën die toegepast worden voor de aflevering van anti-inflammatoire geneesmiddelen in het colon.

De eerste vier strategieën betreffen prodrugs of geneesmiddeldragers waarbij het vrijkomen van de actieve bestanddelen afhangt van bepaalde fysiologische factoren of veranderingen daarin, die met name karakteristiek zijn voor het colon, meestal in de gezonde situatie (Lamprecht *et al*, 2002). De haalbaarheid is al aangetoond in diverse klinische onderzoeken, en heeft soms geleid tot de registratie en marketing van geneesmiddelen (Leopold, 1999). Het potentieel van farmaceutische nanotechnologie bij colonsturing voor de behandeling van inflammatoire aandoeningen is recent aangetoond door onderzoeken in ons eigen laboratorium (Lamprecht *et al*, 2001a). De incapsulering van farmaca met geschikte polymeren kan voor specifieke stapeling in de aangedane gebieden zorgen, en tevens voor een langere verblijftijd in de ontstoken gebieden van het colon. Dit kan resulteren in een betere en langere werking en minder systemische bijwerkingen van het toegediende geneesmiddel.

## pH-AFHANKELIJKE GENEESMIDDELAFLIVERING

Er zijn diverse commerciële toedieningsvormen ontwikkeld voor colon-specifieke aflevering die hun werking danken aan het fysiologische verschil in lumenale pH tussen de zure maag en het distale eind van de dunne darm. Als het gebied van geneesmiddelvrijzetting vanuit de gecoate toedieningsvorm in het colon gelegen is, moet in de gaten worden gehouden dat tussen het laatste gedeelte van het ileum en het transversale gedeelte en het dalende been van het colon, een gebied ligt met een licht lagere pH (het proximale colon), waar geneesmiddelaafgifte kan worden beïnvloed, en daarmee ook de reproduceerbaarheid in deze afgifte. Als het terminale ileum of proximale colon het doelgebied van afgifte is, moet de afgiftesnelheid in de hand worden gehouden met een dikkere coating die naast een pH-gestuurde ook een tijdgestuurde aflevering door oplossen van het polymeer mogelijk maakt. Als

consequentie zal geneesmiddelvrijzetting vanuit toedieningsvormen met pH-gestuurde afgifte naar het terminale ileum of colon ook afhangen van de reistijd door de dunne darm. Deze toedieningsvormen vertonen dan ook meestal een gecombineerde technologie, zowel gestuurd door wijzigingen in de pH, als door tijd gestuurd. Sturing door tijd kan bereikt worden door een geschikt coatingsmateriaal te kiezen.

Naast kennis van de normale fysiologische verschillen in de waarde van de pH door het hele maagdarmkanaal, is het ook belangrijk te begrijpen welke invloed de ziekte kan hebben op de pH en dus in het functioneren van toedieningsvormen die voor hun werk afhankelijk zijn van de pH-wijzigingen. Plaatselijk kan een wijziging in pH enzymsystemen beïnvloeden, en zo ook de werkzaamheid van een toedieningsvorm, die voor zijn werk afhankelijk is van de werking van een enzym.

| STOFNAAM    | MERKNAAM                  | POLYMEER  | DESINT PH | LEVERANCIER |
|-------------|---------------------------|---|-----------|-------------|
| BUDESONIDE  | BUDENOFALK <sup>®</sup>   | DIBUTYLFTALAAAT<br>EUDRAGIT <sup>®</sup> L/S/RL/RS      | 6.0       | TRAMEDICO   |
|             | ENTOCORT <sup>®</sup>     | ETHYLCELLULOSE  | 5.5       |             |
| ASTRAZENECA |                           | EUDRAGIT <sup>®</sup> L100-55                           |           |             |
| MESALAZINE  | ASACOL <sup>®</sup>       | EUDRAGIT <sup>®</sup> S                                 | 7.0       | BYK         |
|             | PENTASA <sup>®</sup>      | ETHYLCELLULOSE  | -         | FERRING     |
|             | SALOFALK <sup>®</sup>     | HYDROXYPROPYLMETHYLCELLULOSE<br>EUDRAGIT <sup>®</sup> L | 6.0       | TRAMEDICO   |
| SULFALAZINE | SALAZOPYRINE <sup>®</sup> | CELLULOSEACETAATFTALAAAT                                | 6.2-6.5   | PHARMACIA   |

Tabel 1. Gecoate orale toedieningsvormen voor de behandeling van ulceratieve colitis verkrijgbaar op de Nederlandse markt (overgenomen uit van Loenen, 2002).

Vele commerciële vormen voor toediening per os voor de behandeling van inflammatoire darmaandoeningen zijn gecoat met pH-gevoelige maagsapresistente coatings zoals Eudragit<sup>®</sup> L of S (zie tabel 1). Deze polymeren lossen op bij een pH tussen 6 en 7, en zijn bedoeld om het geneesmiddel vrij te zetten zodra de pH deze waarde te boven gaat. Desintegratie van de toedieningsvorm kan plaatsvinden in het hele gebied tussen het ileum en de flexura linealis, wat een gebrek aan specificiteit inhoudt. Indien een toedieningsvorm is gecoat met Eudragit<sup>®</sup> S, dat bedoeld is om de geneesmiddelvrijgifte uit te stellen tot het terminale ileum of stijgende been van het colon, is de vrijgifte in het colon niet voldoende reproduceerbaar, zoals uit humane experimenten is gebleken. Tabel 2 laat zien dat tabletten desintegreren in het hele gebied tussen terminaal ileum en flexura linealis. De auteurs van het betreffende artikel concluderen dan ook dat er een tekort aan doelgebiedspecificiteit is, hoewel andere onderzoeken de haalbaarheid van deze stuurmethode wel lijken aan te tonen.

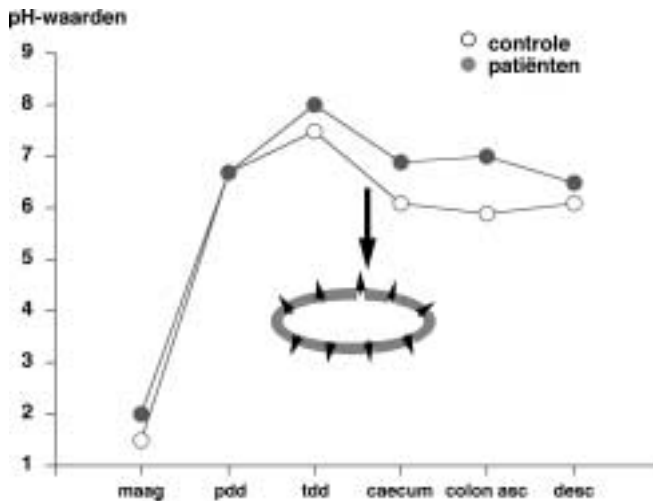


| persoon | maag lediging | tijd in lagere dunne darm | aankomst ileocaecum | bij reistijd door dunne darm | verblijftijd in colon ascend | plaats na 12 uur |
|---------|---------------|---------------------------|---------------------|------------------------------|------------------------------|------------------|
| 1       | 3.0           | 1.8                       | 6.1                 | 3.1                          | 2.1                          | flexura hepatica |
| 2       | 1.6           | > 15                      | > 15                | > 13                         | -                            | ileoecum         |
| 3       | 1.4           | 5.5                       | 8.7                 | 7.3                          | 0.5                          | flexura linealis |
| 4       | 6.1           | 3.6                       | 10.2-12.0           | 5.1                          | -                            | colon ascendens  |
| 5       | 2.0           | 1.1                       | 4.9                 | 2.9                          | 0.2                          | flexura hepatica |
| 6       | 1.3           | > 12                      | > 12                | > 10                         | -                            | ileoecum         |
| 7       | 1.3           | 0.0                       | 5.0-5.5             | 4.0                          | 0                            | flexura hepatica |

Tabel 2. Reistijden in maag en darm (in uren) voor tabletten gecoat met Eudragit® S (gegevens volgens Ashford et al, 1993).

De pH van gezonde personen lijkt goed gedocumenteerd te zijn over de gehele lengte van het maagdarmkanaal. Dit is echter niet het geval bij patiënten die lijden aan IBS. In de dunne darm is de pH normaliter gewoonlijk ongeveer neutraal, dit wil zeggen tussen 6.5 en 6.8, maar bij de ileocaecale overgang is er gewoonlijk een lichte pH-val van ongeveer 0.4, waarna de pH weer stijgt en in het colon oploopt van 6.4 naar 7.0. Deze laatste waarde wordt alleen in het terminale colon bereikt (zie figuur 2). In tegenstelling hiermee is de pH in de darm van IBS-patiënten gewoonlijk lager dan bij gezonde personen. In diverse patiënten met IBS lag de colon-pH tussen 5.0 en neutraal (Press *et al*, 1998) Echter, drie patiënten hadden een veel lagere pH in het colon: 2.3, 2.9 en 3.4. Vergelijkbare gegevens werden gevonden bij vier andere patiënten met de ziekte van Crohn. Het lijkt dus dat de ontwikkeling van pH-afhankelijke systemen alleen maar kan worden toegepast bij gezonde personen, aangezien de pH in het colon (van 6.4 tot 7 bij 'normale' personen) bij patiënten met een inflammatoire aandoening wel eens tussen 2 en 5 kan liggen. Op die manier kan dus nooit de gewenste geneesmiddelafgifte worden bereikt.

Om dit probleem te omzeilen, is er een suggestie gedaan voor een toedieningsvorm die gebaseerd is op een kern met het geneesmiddel, en daaromheen een zuur-oplosbaar alkalisch polymeer zoals aminoalkylmethacrylaat (Eudragit® E) of polyvinylacetaaldiaminoacetaat en een maagsapresistente coating (Leopold en Eikeler, 1998).



Figuur 2. Verloop van de pH bij patiënten met ulceratieve colitis en de ziekte van Crohn in vergelijking met gezonde vrijwilligers. De pH-afhankelijke geneesmiddelaafgifte vindt plaats als er een bepaalde plaats in de darm wordt gepasseerd, als aangegeven in de figuur (pdd= proximale dunne darm; tdd= terminale dunne darm; m = controles, I = ulceratieve colitis en Crohn patiënten).

## TIJDGESTUURDE AFGIFTE

Geneesmiddelvrijgifte vanuit een tijdgestuurde toedieningsvorm gebeurt typisch na een vooraf ingestelde wachttijd ('lag-time'), die ongeveer overeenkomt of iets langer is dan de reistijd van de toedieningsvorm door de dunne darm. In geval van gecoate toedieningsvormen die tijdgestuurd hun geneesmiddel dienen af te geven, hangt deze lag-time meestal af van de coatingsdikte en kan de vrijgifte in gang worden gezet door pH-verandering of verandering in de osmotische druk, waardoor de coating kapot gaat door zwellen van de inhoud.

Tijdgestuurde geneesmiddelvrijgifte met pH-geïnduceerde afgifte wordt aangezet door pH-veranderingen binnen de toedieningsvorm zelf, en is niet afhankelijk van de pH in het lumen van het maagdarmkanaal. De colonspecifieke toedieningsvormen die gebaseerd zijn op het tijdsafhankelijke oplossen van de alkalische polymeerlagen in een zure omgeving zijn een voorbeeld van deze benadering. Een voorbeeld zijn de maagsapresistent gecoate (Eudragit® E) capsules die gevuld zijn met een vast organisch zuur dat oplost zodra het in contact komt met de lumenale vloeistof. Dit zet het oplossen van het coatingsmateriaal in gang, gevolgd door vrijgifte van het geneesmiddel (Ishibashi *et al*, 1998).

Een goed begrip over de verplaatsing van een toedieningsvorm door het maagdarmkanaal bij patiënten met IBS is een onmisbaar hulpmiddel wanneer er een toedieningsvorm voor gerichte geneesmiddelaafgifte in het colon ontwikkeld moet worden. Als de reistijd erg kort is, is er een grote kans dat de afgifte niet volledig is en de therapie dus minder efficiënt. De gemiddelde reistijd van zowel pellets als tabletten in de dunne darm (vanaf het verlaten van de maag tot het bereiken van het colon) is ongeveer 3 uur. In contrast hiermee is de reistijd van tabletten of niet-

uiteenvallende capsules korter dan van pellets met een doorsnede van 1 mm of kleiner. Vergelijkbare resultaten zijn gemeld voor verschillende groottes van tabletten: bijvoorbeeld kleine tabletten (6 mm) werden in het colon langer vastgehouden dan grotere tabletten (Adkin *et al*, 1993). Vergelijkbare resultaten over dit verschijnsel met betrekking tot de relatie tussen reistijd en tabletgrootte werden in een ander onderzoek gemeld, waar grote enkelvoudige toedieningsvormen sneller door het colon reisden dan kleinere pellets. Deze snellere passagetijd van grotere deeltjes door het colon wordt ook wel 'streaming' genoemd. In het colon zijn zowel duidelijke vloeibare als vaste fasen gelijktijdig aanwezig, en beide fasen hebben een ander stroomgedrag, met als gevolg dat vloeistoffen en vaste stoffen zich anders verplaatsen.

Bovendien kan de reistijd in de darm bij een IBS-patiënt zich duidelijk onderscheiden ten gevolge van de mucosale inflammatie en de veranderingen in het normale mechanisme van opname van stoffen. Een normaal pathofysiologisch bijdragend verschijnsel bij IBS-patiënten is diarree. Het ontstoken weefsel geeft afwijkingen te zien in zowel de hoeveelheid als de samenstelling van de luminale inhoud. Ook is de fysische samenstelling van de ontlasting van belang, en deze kan de afgifte vanuit de toedieningsvorm sterk beïnvloeden doordat bijvoorbeeld een over- of ondermaat aan vloeistof het zwellen van de toedieningsvorm kan beïnvloeden. Enige gegevens betreffende de darmreistijden bij patiënten met de ziekte van Crohn zijn weergegeven in tabel 3, waar verschillen in reistijden tussen de passieve en de actieve vorm van de ziekte zijn aangegeven (Rao *et al*, 1988). Onderzoek naar de reistijden van een toedieningsvorm door de dunne darm gaf aan dat er geen verschil is tussen gezonde proefpersonen en patiënten met de ziekte van Crohn. De auteurs concludeerden dat de totale reistijd bij patiënten en gezonde personen hetzelfde was, maar dat de reistijd in het proximale colon bij patiënten iets langer was dan bij gezonde personen.

|                                  | colitis totaal |           |        | colitis distaal |           |        |
|----------------------------------|----------------|-----------|--------|-----------------|-----------|--------|
|                                  | actief         | rustig    | p      | actief          | rustig    | p      |
| $t_{1/2}$ van maaglediging (min) | 46 ± 22        | 41 ± 6    | n.s.   | 51 ± 23         | 78 ± 33   | <0.05  |
| mond-tot-caecum reis (min)       | 298 ± 62       | 310 ± 60  | n.s.   | 313 ± 87        | 293 ± 82  | n.s.   |
| reis door hele darm (h)          | 64 ± 22        | 56 ± 29   | n.s.   | 68 ± 49         | 78 ± 55   | n.s.   |
| gem dagelijkse feces (g)         | 253 ± 72       | 159 ± 62  | <0.02  | 192 ± 99        | 144 ± 79  | <0.05  |
| frequentie stoelgang p dag       | 4.1 ± 1.0      | 1.9 ± 1.0 | <0.002 | 3.0 ± 0.8       | 1.2 ± 0.7 | <0.001 |

Tabel 3. Reis- en verblijftijden en fecesproductie gedurende de rustige en de actieve fase van de colitis ulcerosa (overgenomen van Rao *et al*, 1987).

De reistijd van een toedieningsvorm kan zowel invloed hebben op de plaats van geneesmiddelvrijgifte als de duur van blootstelling aan geneesmiddel op de plaats van de ontsteking. Toedieningsvormen die gebaseerd zijn op een tijdgestuurd prin-

cipe zijn uitermate kwetsbaar voor variaties in de reistijd. Vanuit een theoretisch standpunt zijn de afwijkende reistijden bij Crohn-patiënten voor het correct functioneren van een dergelijke toedieningsvorm veel minder problematisch wanneer het werkingsprincipe van de toedieningsvorm gebaseerd is op enzymatische beïnvloeding van de geneesmiddelvrijgifte. Terwijl de fecaliën door de transversale en dalende benen van het colon trekken, zijn in beginsel maximale hoeveelheden van het farmacon ter beschikking voor aflevering naar de onstoken mucosa. Als de reïssnelheid door het sigmoid colon echter sterk verhoogd is, kan de hoeveelheid farmacon die afgeleverd wordt, sterk verminderd zijn.

## ENZYMGESTUURDE GENEESMIDDELAFGIFTE

Enzymgestuurde geneesmiddelafgifte is volledig gebaseerd op de aanwezigheid van enzymen die geproduceerd worden door microorganismen die in het colon verblijven. De microflora in het colon produceert een grote verscheidenheid aan enzymen, waaronder azoreductase, diverse glucosidasen en, zij het in lagere concentraties, esterasen en amidasen. Deze kunnen voor geneesmiddelaflevering worden gebruikt. Diverse prodrugs, hydrogelen, en bioafbreekbare coatings zijn ontwikkeld om van deze enzymen gebruik te maken.

De eisen van de registratie-autoriteiten zijn een belangrijke barrière in de ontwikkeling van enzymgestuurde geneesmiddelafgifte, omdat ieder nieuw ontwikkeld polymeer iedere keer weer goedkeuring moet verkrijgen. De groep van bioafbreekbare materialen omvat azopolymeren, polymeren gebaseerd op melk- en/of glycolzuur, en matrices die bestaan uit conventionele polymeren gebruikt voor gereguleerde afgifte, gebaseerd op acrylaten of cellulose-polymeren, gecombineerd met bio-afbreekbare 'gatenvormers'.

Analoog naar het concept van de azoprodrugs, zoals sulfazalazine, werden de azopolymeren ontwikkeld als eerste coatingmaterialen in onderzoek voor sturing naar het colon. De microbiële afbraak van deze polymeren hangt sterk samen met hun hydrofiliciteit, en enige weerstand tegen maag- of darmsap wordt gezien als het polymeer meer lipofiel van karakter is. Zowel de enzymatische afbraak van het polymeer alsmede de geneesmiddelvrijgifte hangen af van de mate van zwellen.

Diverse punten verdienen de aandacht bij de ontwikkeling van azopolymeren voor colonspecifieke geneesmiddelaflevering. Toxiciteit ten gevolge van microbiële of chemische reductie van de azoverbindingen in primaire aromatische aminen kan een beslissend punt zijn. Reductie van polymere azoverbindingen verloopt vaak te traag. Bovendien, de reductie hangt vaak niet af van de aanwezigheid van azoreductase, maar kan ook plaatsvinden in een gebied met lage redoxpotentiaal zoals in het colon.

Diverse polysacchariden zijn onderzocht als geschikte kandidaten voor coatings voor colonspecifieke sturing. Wanneer galactomannanen worden toegepast als coatingmaterialen, kan men zien dat de microbiële afbraak snel is indien de verhouding mannose:galactose hoog is. Galactomannanen uit de vrucht van St-Jansbrood

met een mannose:galactose verhouding van 4:1 lijkt daarvoor zeer geschikt te zijn, maar de wateroplosbaarheid van dit polysaccharide moet door middel van chemische modificatie naar beneden worden gebracht. Een andere kandidaat is chitosan, een kationogeen polysaccharide bereid uit de schaal van krabachtigen, dat een substraat is voor afbraak door microbiële enzymen in het colon. Als het wordt toegepast als coatingsmateriaal voor colongerichte sturing, dan moet het zuuroplosbare polymeer wel door een maagsapresistente coating worden beschermd.

Bij aankomst in het colon worden de polymeren structureel verzwakt, daarbij zwellend en fermentatie van de koolhydraten tot gevolg hebbend, en dit leidt uiteindelijk tot geneesmiddelvrijgifte. Galactomannanen zoals guar gom, hebben in combinatie met Eudragit® RL, RS en NE heel bevredigende coatings opgeleverd. Maar er zijn grote hoeveelheden van de acrylpolymeren en dikke coatingslagen nodig om tot een bevredigend resultaat te komen en om vroegtijdige vrijgifte te voorkomen.

Hoewel de gewoonlijk aanvallende enzymen als azoreductase en diverse glycosidasen alleen in het terminale ileum en het colon aanwezig zijn, en vroegtijdige geneesmiddelvrijgifte normaal niet optreedt, is de activiteit van de microbiële enzymen sterk gevoelig voor dieet, geneesmiddelinname (vooral antibiotica en bepaalde laxantia) en andere omgevingsfactoren. Met als gevolg dat de reproduceerbaarheid van de enzymatische afbraak van polymeren een probleem kan opleveren, vooral in het geval van IBS.

De enzymen in het colon kunnen wisselen in activiteit gedurende de verschillende fasen van de ziekten, met als gevolg een sterke inter- en intraindividuele variatie. De aangetoonde therapeutische effectiviteit van diverse prodrugs suggereert dat de variatie in enzymatische activiteit niet erg belangrijk is, vooral wanneer deze strategieën toegepast worden in de licht actieve fase. Er is een aantal onderzoeken gewijd aan het effect van het niveau van de IBS op de microflora van de darm. In het algemeen zijn zowel de soorten micro-organismen alsook het aantal bij ulceratieve colitis onveranderd ten opzichte van gezonde personen. Er is een vergelijkbare glycosidase-activiteit bij patiënten met ulceratieve colitis vergeleken met gezonde personen. Bij de ziekte van Crohn echter, zijn er verschillen gevonden in zowel de concentratie van de microflora als in hun enzymatische activiteit (in het algemeen is de glycosidase-activiteit verminderd bij patiënten). Deze waarnemingen in ogenschouw genomen, lijkt het verstandiger enzymgestuurde systemen toe te passen bij ulceratieve colitis, maar niet bij de ziekte van Crohn. Wat de technologische trucs ook zijn, men moet zich realiseren dat ieder geneesmiddel dat afgeleverd moet worden in het colon, ook bij het geïnflammeerde weefsel van de IBS-patiënt moet komen. Echter, ook mechanische factoren zoals de hydrodynamica rond de toedieningsvorm zijn verre van homogeen en worden beïnvloed door de condities in het colon. Het zou dan ook wel eens kunnen dat wrijving een belangrijke rol speelt in het sturen van de toedieningsvorm door de darm. Er zijn onderzoeken die hebben aangetoond dat door aanwezigheid van kleine hoeveelheden, vaak hoogviskeuze vloeistoffen, de toedieningsvorm lijkt te gaan slingeren ('mean-

deren') of een soort fractale bewegingen uit te voeren. De conclusie die men op grond van dit soort waarnemingen kan nemen, is dat het oplosproces van moeilijk oplosbare anti-inflammatoire verbindingen vermoedelijk maar in heel beperkte en begrensde gebieden plaatsvindt. De normale aanpak waarmee geneesmiddelopname vanuit het colon tot nu toe is beschreven, zou voor deze situatie wel eens onrealistisch kunnen zijn. Het is nog onduidelijk wat het feit dat het colon bestaat uit een sterk wisselende en heterogene omgeving, voor gevolg heeft voor geneesmiddelaflevering.

## DRIJKGESTUURDE GENEESMIDDELVIJGIFTE

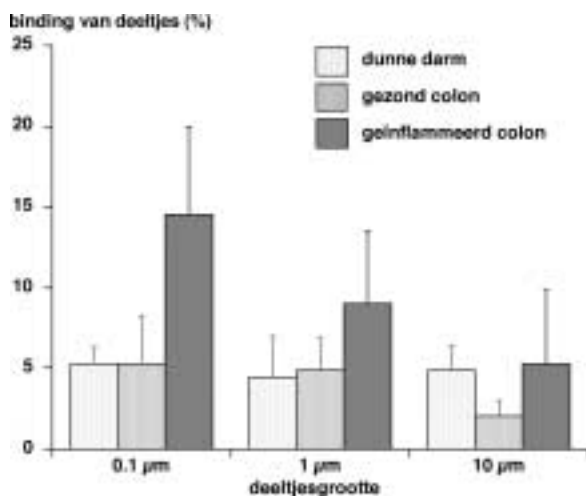
Peristaltische golven in het distale colon zorgen voor een in vergelijking vrij hoge intraluminaire druk. Een toedieningsvorm die gebruikt maakt van dit merkwaardige fysiologische signaal dat de toedieningsvorm het doelgebied van het colon heeft bereikt, werd door een aantal Japanse onderzoekers geïntroduceerd (Niva *et al.*, 1995; Muraoka *et al.*, 1998). Dit systeem bestaat uit een capsule gecoat met ethylcellulose, die uiteindelijk onder de toenemende intraluminaire druk in het colon barst, en zijn inhoud in de vorm van een vloeistof laat vrijkomen.

## GROOTTE-GECONTROLEERDE STURING DOOR MIDDEL VAN NANO- EN MICRODEELTJES

Geïnspireerd door de eerder aangehaalde stromingseigenschappen, waardoor grotere deeltjes sneller kunnen verplaatsen dan kleinere ('streaming'), zijn diverse onderzoeken gestart om de deeltjesgrootte van de geneesmiddeldragers te verkleinen, met behoud van de andere aspecten van de strategie. Om precies te zijn, microdeeltjes werden ontworpen om de reistijd te vertragen en de afgiftetijd te verlengen. Microsferen van chitosan met prednisolon zijn bijvoorbeeld toegepast vanwege hun bioadhesieve eigenschappen, met als gevolg een verlengde afgifte van prednisolon. Toepassing van zo'n plakkend polymeer kan een vasthouden van de toedieningsvorm op de plaats van inflammatie ten gevolge hebben, en dientengevolge ook een dosisverlaging. In een ander geval is een combinatie van twee geneesmiddelen naar het colon gestuurd; in dit geval werd er een bioafbreekbaar polyester gebruikt om toxicologische problemen te voorkomen, wanneer de deeltjes in de beschadigde delen van de darm zouden worden opgenomen.

Diverse onderzoeken hebben een indicatie gegeven voor de actieve betrokkenheid van macrofagen en dendritische cellen bij de actieve vorm van IBS. Ingrijpen in het gedrag van deze cellen is een belangrijke therapeutische strategie bij patiënten met IBS. Sindsdien is gerapporteerd dat bioafbreekbare microsferen in voldoende mate kunnen worden opgenomen door M-cellen en macrofagen. Vanuit deze resultaten kan men oordelen dat directe opname van anti-inflammatoire verbindingen door macrofagen, daar gebracht door microsferen, een opvallend beter immunosuppressief effect lijkt te hebben en uitermate nuttig is bij de behandeling

van IBS-patiënten. Andere onderzoeken hebben specifiek gestuurd naar macrofagen en beschadigingen in het aangedane weefsel bij IBS voor een specifiek lokaal afleveren van het geneesmiddel. Sturen naar het aangedane weefsel en de naar buiten tredende macrofagen lijkt een hoopvolle strategie te zijn. Deze strategie berust op het feit dat het volle geneesmiddellarsenaal precies op de plaats van actie wordt ingezet. Als er een stap verder wordt geminiaturiseerd, is er sprake van nanodeeltjes, en dan kan verondersteld worden dat deze deeltjes nog beter in het ontstoken weefsel worden opgenomen dan microdeeltjes. Omdat bij deze colloïdale deeltjes geen sedimentatie plaatsvindt, zouden ze wel eens minder last kunnen hebben van het streaming-fenomeen, ten gevolge van hun diffusie-eigenschappen.

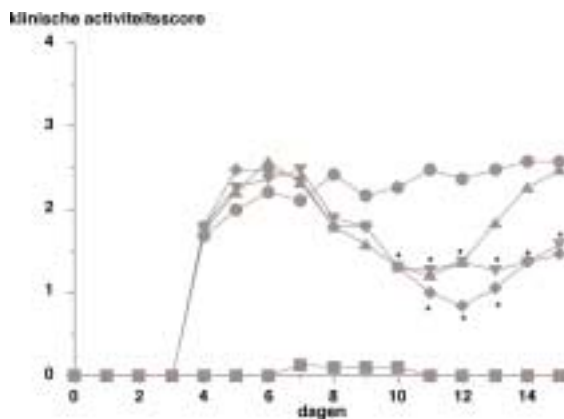


Figuur 3. Kwantitatieve schatting van de depositie van deeltjes in de colitisgroep in verschillende delen van het colon. Resultaten geven het percentage aan van de toegediende hoeveelheid (naar Lamprecht, 2002b).

Een van deeltjesgrootte-afhankelijke depositie van deeltjes in het maagdarmkanaal van ratten werd in eerder werk getoond (Jani *et al*, 1989). Hierin werd de depositie van fluorescent gelabelde polystyreendeeltjes bestudeerd met verschillende deeltjesgrootte over de gehele lengte van het darmkanaal van gezonde ratten en ratten met een experimenteel geïnduceerde colitis. Er werd een toename gevonden van de opname van de deeltjes met afnemende deeltjesgrootte (Lamprecht *et al*, 2001b). Deeltjes met een grootte van 10 µm bleven vrijwel niet hechten aan de mucosa van het colon. Maar in tegenstelling tot bij de gezonde rat, was de hechting bij de colitisgroep vier keer zo hoog. Afname van de deeltjesgrootte leidde echter zowel bij gezond als bij geïnflammeerd weefsel tot een sterkere hechting. Deeltjes van 1 µm doorsnede toonden een vijfmaal grotere binding bij de ratten met geïnduceerde colitis. De hoogste depositie in het geïnflammeerde weefsel werd gevonden

voor deeltjes met een grootte van 0.1  $\mu\text{m}$  die een 6.5-voudig grotere binding toonden vergeleken met de controlegroep. Opmerkelijk is dat, vergeleken met de niet-aangedane gebieden in het colon, een hogere mate van binding plaatsvond in de aangedane gebieden, voor alle deeltjesgroottes. Echter, dit effect was verreweg het grootst voor de nanodeeltjes (figuur 3).

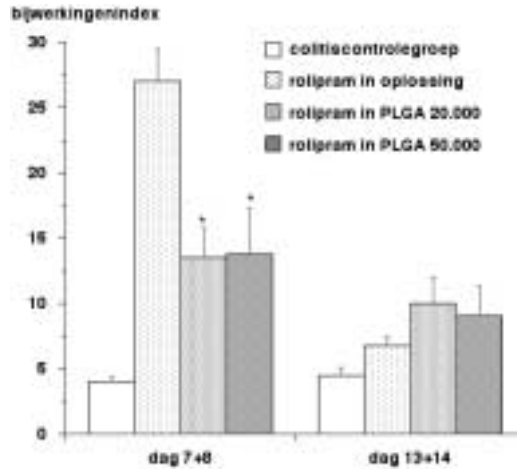
In een ander onderzoek (Lamprecht *et al*, 2001a) werden nanodeeltjes vervaardigd van een bioafbreekbaar polymeer en opgeladen met het anti-inflammatoire middel rolipram. Gekeken werd naar de verzachtende werking van het middel toegediend in nanodeeltjes of als oplossing, in gelijke dosering (figuur 4).



Figuur 4. Klinische activiteitscore gedurende de gehele duur van het experiment bepaald bij telkens 6 dieren: ■ gezonde controlegroep; ● colitiscontrolegroep; ▲ rolipram oplossing; ▼ rolipram in PLGA nanodeeltjes MW 20.000; ◆ rolipram in PLGA nanodeeltjes MW 50.000; \*  $p < 0.05$  vergeleken met de controlegroep met fysiologisch zout (naar Lamprecht *et al*, 2001a).

Aanvankelijk daalde zowel de score van de inflammatie als de myeloperoxidase activiteit aanzienlijk na orale toediening van zowel de oplossing als de deeltjes. Echter indien de medicatie na vijf dagen werd gestopt, en de dieren zonder verdere behandeling werden gehouden, gaf de groep die met de oplossing behandeld was een sterke relaps te zien, terwijl daarentegenover de groep die nanodeeltjes had gekregen slechts lage niveaus van inflammatie te zien gaf. Bovendien gaf de groep die de oplossing kreeg een aanzienlijke hoeveelheid bijwerkingen te zien, terwijl in de deeltjesgroep rolipram kennelijk werd weerhouden van systemische opname, zoals duidelijk werd uit de verlaagde bijwerkingenscore (figuur 5). Een essentieel voordeel van deze benadering schijnt te zijn het intensievere contact tussen de geneesmiddeldragers en de aangedane weefsels, waardoor lokaal een hogere geneesmiddelconcentratie kan voorkomen. Bovendien werden de nanodeeltjes niet alleen sterker in het geïnfammeerde gebied opgestapeld gezien, echter konden zij ook goed hechten aan de mucus, wat een verhoogde specificiteit voor het geulceerde weefsel had, daar in ontstoken weefsel een hogere mucusproductie plaatsvindt.





**Figuur 5.** Neurotropische bijwerkingen na toediening van rolipram in nanodeeltjes op dag 7 en 8, of in de relapsfase (dag 13-14); \* =  $p < 0.05$  vergeleken met de colitiscontrolegroep en met rolipram in oplossing (naar Lamprecht et al, 2001a).

Geneesmiddeldragers in nanogrootte zorgen dus kennelijk voor een hoge accumulatie van het geneesmiddel in het aangedane weefsel, en dat biedt twee grote voordelen. Ten eerste is het geneesmiddel geconcentreerd op de plaats van werking, wat het lokale effect van de dosis verhoogt en mogelijke systemische bijwerkingen verlaagt. Ten tweede, wanneer de nanodeeltjes ook nog zo worden vervaardigd dat ze vertraagde afgifte geven, kunnen de deeltjes ook nog eens een extra verlengde farmacologische werking geven in het geïnflammeerde gebied. Deze farmaceutische nanotechnologie biedt interessante mogelijkheden met betrekking tot het ontwerpen van nieuwe geneesmiddeldragers voor de behandeling van IBS.

## CONCLUSIES EN TOEKOMSTVERWACHTINGEN

De mogelijkheid om met enig succes geneesmiddelen af te leveren in het colon hangt af van een aantal factoren. Hieronder vallen de wisselwerkingen tussen het mechanisme van geneesmiddelvrijgifte en variabelen als pH, reistijd door de darm, en darmflora, omdat alle geneesmiddelaflerversystemen bedoeld voor aflevering in het colon, op één of andere manier van één van deze variabelen afhangen om hun inhoud ter plaatse af te leveren. In het bijzonder vormt de reistijd door het colon juist bij de actieve vorm van de ziekte van Crohn een bijzondere uitdaging, als men wil dat voldoende hoeveelheden geneesmiddel de plaats van de aandoening bereiken. In het algemeen zijn gecoate toedieningsvormen met een simpel ontwerp geschikt, omdat ze eenvoudig te maken zijn. Ingewikkelder ontwerpen kunnen hele andere problemen veroorzaken, omdat ze moeilijker te maken zijn, maar ook omdat ze in werking minder betrouwbaar zijn. Wanneer fysiologische factoren

worden gebruikt als signaal om het afgifteproces te sturen, dan moet men goed in het achterhoofd houden dat deze factoren door de ziekte kunnen variëren. Zo kan in geval van IBS de heersende pH in het colon aanzienlijk dalen, een feit dat men zich pas recentelijk. Van dergelijke weefselafhankelijke factoren kan juist goed gebruik worden gemaakt, zoals het concept van nanodeeltjes laat zien, dat bedoeld is om naar geïnflammeerd weefsel gestuurd te worden. Kortom, het uitsluitend vertrouwen op beginselen als pH-veranderingen of darmreistijd werken prima in gezonde vrijwilligers, maar kunnen bij patiënten met IBS de plank geheel mis slaan. Gebaseerd op de toenemende kennis van de fysiologie van het colon, zowel in gezonde als in zieke toestand, zullen nieuwe technologieën moeten worden onderzocht. Op dit moment staan wij nog maar aan het begin van de mogelijkheden om te sturen naar specifieke gebieden in het maagdarmkanaal, gebaseerd op (patho)fysiologische veranderingen.

## REFERENTIES

- Adkin DA, et al. Colonic transit of different size tablets in healthy subjects. *J Control Rel* 1993; 23: 147-156.
- Ashford M, et al. An in vivo investigation into the suitability of pH-dependent polymers for colonic targeting. *Int J Pharm* 1993; 95: 193-199.
- Ishibashi T, et al. Scintigraphic evaluation of a new capsule-type colon specific drug delivery system in healthy volunteers. *J Pharm Sci* 1998; 87: 531-535.
- Jani P, et al. The uptake and translocation of latex nanospheres and microspheres after oral administration to rats. *J Pharm Pharmacol* 1989; 41: 809-821.
- Kinget R, et al. Colonic drug targeting. *J Drug Target* 1998; 6: 129-144.
- Lamprecht A, et al. Biodegradable nanoparticles for the targeted drug delivery in treatment of inflammatory bowel disease. *J Pharmacol Exp Therap* 2001a; 299: 775-781.
- Lamprecht A, et al. Size dependent bioadhesion of micro- and nanoparticulate carriers to the inflamed colonic mucosa. *Pharm Res* 2001b; 18: 788-793.
- Lamprecht A, et al. Carrier systems for the treatment of inflammatory bowel disease. *Drugs of the Future* 2002; in press.
- Lee VHL. Changing needs in drug delivery in the era of peptide and protein drugs. In: *Peptide and Protein Drug Delivery*. (VHL Lee, ed). New York, Marcel Dekker 1991: 1-56.
- Leopold, C. Coated dosage forms for colon-specific drug delivery. *PSTT* 1999; 2: 197-204.
- Leopold CS, Eikeler D. Eudragit E as coating material for the pH-controlled drug release in the topical treatment of inflammatory bowel disease (IBD). *J Drug Target* 1998; 6: 85-94.
- Loenen, AC van (red). *Farmaceutisch Kompas*. College voor zorgverzekeringen, Amstelveen. 2002.
- Muraoka M, et al. Evaluation of intestinal pressure-controlled colon delivery capsule containing caffeine as a model drug in human volunteers. *J Control Rel* 1998; 52: 119-129.
- Niva K, et al. Preparation and evaluation of a time-controlled release capsule made of ethylcellulose for colon delivery of drugs. *J Drug Target* 1995; 3: 83-89.
- Press AG, et al. Gastrointestinal pH profiles in patients with inflammatory bowel disease. *Aliment Pharmacol Ther* 1998; 12: 673-678.
- Rao SSC, et al. Symptoms and stool patterns in patients with ulcerative colitis. *Gut* 1988; 29: 342-345.
- Steed KP, et al. Drug delivery to the large intestine. In: *Physiological Pharmaceutics, Biological Barriers to Drug Absorption*. (CG Wilson and N Washington, eds). Chichester, Ellis Horwood 1989: 91-108.

Daan Hommes (1963) ging na het behalen van het Atheneum b medicijnen studeren in Gent en Amsterdam, waar hij in 1990 het artsdiploma behaalde. Na een deelopleiding in de klinische epidemiologie (McMaster, Canada) vervulde hij diverse posities aan het AMC, waar hij in 1995 promoveerde tot doctor in de geneeskunde op het proefschrift 'Pharmacological modulation of the immune response in Infalammatory Bowel Disease'. Hij ging zich in Amsterdam specialiseren tot algemeen internist, vervolgens tot gastro-enteroloog, en werd in mei 2002 ingeschreven in het register. Sinds 2002 is hij hoofd van de afdeling Inflammatoire Darmaandoeningen bij het AMC.

## DW Hommes

### INTRODUCTIE

De behandeling van inflammatoire darmziekten is de laatste jaren aan grote veranderingen onderhevig geweest. Deze ontwikkelingen hebben twee redenen. Ten eerste, van een aantal traditionele immunosuppressiva is degelijk onderzoek gepubliceerd omtrent effectiviteit en veiligheid, hetgeen heeft geleid tot een bredere klinische toepassing in de dagelijkse praktijk. Specialisten die deze groep patiënten behandelen zijn geneigd om vroeger in het beloop van de ziekte te kiezen voor een solide onderhoudsmedicijn om het veelvuldig gebruik van corticosteroiden en/of chirurgie te voorkomen. Ten tweede is er in de laatste tien jaar een wezenlijk inzicht ontstaan in de pathofysiologische processen die zich afspelen in de zieke darmwand bij patiënten met inflammatoire darmziekten. Dankzij diermodellen van colitis is het mogelijk geweest om de rol van diverse ontstekingsmediatoren te bestuderen, en dit heeft geleid tot de identificatie van tal van nieuwe aangrijpingspunten voor behandeling. Het belangrijkste voorbeeld hiervan is infliximab voor de ziekte van Crohn, waarbij antistoffen gericht tegen tumor necrose factor alfa (TNF  $\alpha$ ) effectief zijn gebleken in de behandeling van de actieve vorm van de ziekte van Crohn, al of niet met fistels. Er is een enorme onderzoekstrein met fase II-onderzoeken op gang gekomen waarin wordt gekeken of de neutralisatie van de diverse specifieke ontstekingsmediatoren leidt tot genezing van darmzweren en fistels. Tot nu toe heeft dat alleen voor infliximab tot registratie in Nederland geleid.

In dit overzichtsartikel worden kort ingegaan op traditionele behandelingszichten, waarna een overzicht wordt gegeven van de meest recente ontwikkelingen.

### HUIDIGE MEDICAMENTEUZE BEHANDELING

Essentieel in de behandeling van inflammatoire darmaandoeningen is een juiste diagnose evenals een adequate vaststelling van de ziekteactiviteit. De diagnose is nog altijd een samenstelling van anamnese, lichamelijk onderzoek, en endoscopisch, radiologisch en aanvullend histopathologisch onderzoek. Vooral bij ziekteactiviteit gelokaliseerd in het colon blijkt de diagnose bij 10% van patiënten lastig, zodat hiervoor de term 'indetermined colitis' is gereserveerd. Na het stellen van een waarschijnlijkheidsdiagnose volgt het kiezen van een behandelingsvorm, waarbij een onderscheid gemaakt dient te worden tussen remissie-inductie therapie en onderhoudstherapie. Voor het induceren van remissie staat een periode van

6 tot maximaal 12 weken. Voor het behoud van remissie wordt een medicijn gekozen dat opvlamming van ziekte kan voorkomen en meestal wordt dit medicijn bij de start van de remissie-inductietherapie geïnitieerd. Ondanks de eenvoud van deze medicamenteuze beslisvorming, is het in de dagelijkse praktijk vaak moeilijk om te bepalen of, en wat de mate van ziekteactiviteit is. Vooral een verhoogde prikkelbaarheid van de darm bij patiënten met inflammatoire darmziekten kan opvlamming van de ziekte bij patiënten nabootsen. Endoscopische inventarisatie is daarom regelmatig geïndiceerd, in het bijzonder wanneer er een intensivering van immuunsuppressieve therapie ter discussie staat.

| COLITIS<br>ULCEROSA | REMISSIE-INDUCTIE<br>MILDE ACTIVITEIT                                       | REMISSIE-INDUCTIE<br>MATIGE / ERNSTIGE<br>ACTIVITEIT             | ONDERHOUDSTHERAPIE         |
|---------------------|---|--|----------------------------|
| distale colitis     | mesalazine<br>- lokaal<br>- oraal<br>steroïden, lokaal<br>mesalazine, oraal | mesalazine +<br>steroïden<br>(oraal/lokaal)<br>steroïden i.v.    | mesalazine<br>azathioprine |
| pancolitis          | steroïden, oraal<br>steroïden   | mesalazine +<br>steroïden<br>steroïden i.v.<br>ciclosporine i.v. | mesalazine<br>azathioprine |

Tabel 1. Schematisch overzicht van de huidige medicamenteuze behandeling van inflammatoire darmziekten bij colitis ulcerosa en de ziekte van Crohn (rechterpagina).

## MESALAZINE (5-ASA)

De 5-aminosalicylaten (*sulfasalazine*, *mesalazine*, *5-ASA*) vormen een groep medicijnen die van oudsher de basis vormen van de behandeling voor colitis ulcerosa en minder ernstige vormen van de ziekte van Crohn. Het eerste preparaat, sulfasalazine, werd in de jaren veertig van de 20e-eeuw bij de behandeling van artritis toegepast en gaf daarbij verlichting van klachten bij patiënten die eveneens aan colitis ulcerosa leden. Colonbacteriën zetten sulfasalazine om in het werkzame 5-ASA en sulfapyridine, welke laatste voornamelijk met bijwerkingen bleek geassocieerd. Als 5-ASA als zodanig oraal wordt toegediend, wordt het in de proximale dunne darm opgenomen. Momenteel zijn er daarom diverse 5-ASA formuleringen op de markt met alle een specifiek afgiftemechanisme (slow release, delayed release, etc.). Een belangrijk werkingsmechanisme is de blokkade door mesalazine van de producten van de arachidonzuursynthese (prostaglandinen, leukotrienen). Mesalazine is geschikt voor zowel remissie-inductie als voor onderhoudstherapie bij colitis ulcerosa (Sutherland *et al*, 2000a en b). Lokale behandeling met een mesalazineklysma of -zetpil is goed mogelijk voor linkszijdig gelokaliseerde ziekte

(Sutherland, 1990). Mesalazine speelt bij behandeling van matig ernstige tot ernstige ziekte van Crohn geen rol, en tevens staat de rol van mesalazine als onderhoudstherapeutikum nogal ter discussie.

| ZIEKTE VAN CROHN | REMISSIE-INDUCTIE MILDE ACTIVITEIT           | REMISSIE-INDUCTIE MATIGE / ERNSTIGE ACTIVITEIT                | ONDERHOUDSTHERAPIE           |
|------------------|--|---|------------------------------|
| darmactiviteit   | mesalazine<br>steroiden                      | steroiden +<br>azathioprine<br><br>methotrexaat<br>infliximab | azathioprine<br>methotrexaat |
| fistels          | metronidazol<br>ciprofloxacine<br>infliximab | infliximab  | infliximab                   |

## CORTICOSTEROÏDEN

*Corticosteroiden* vormen heden ten dage nog een belangrijke peiler bij het induceren van remissie bij zowel colitis ulcerosa als de ziekte van Crohn. Echter, de meeste patiënten worden op den duur ofwel steroïdafhankelijk (36%) ofwel steroïdresistent (20%) (Munkholm *et al*, 1994). Daarom heeft slechts een minderheid van de patiënten (44%) een langdurige respons op corticosteroiden. Met een afbouwschema vanaf 40 mg predniso(lo)n oraal over 8 tot 12 weken lukt het in een groot deel van de patiënten om remissie van ziekte te verkrijgen. Ook lokale behandeling met steroïden is mogelijk bij distaal gelokaliseerde ziekte in de vorm van een zetpil of klysma, de laatste eventueel gecombineerd met mesalazine. Dagelijks terugkomende problemen zijn de grote hoeveelheid bijwerkingen van steroïden (botafbraak, diabetes, hypertensie, stemmingswisselingen, etc.). Corticosteroiden zijn niet geschikt om opvlamming van de ziekte te voorkomen. Het gebruik van *budesonide* kan de systemische bijwerkingen in belangrijke mate verminderen ten gevolge van het 'first-pass' fenomeen waarbij meer dan 90% van het middel door de lever wordt geëlimineerd (Kane *et al*, 2002). Oraal budesonide is echter alleen zinvol voor de behandeling van Crohnse ziekte-activiteit gelokaliseerd in het terminaal ileum en het rechter colon.

## AZATHIOPRINE (6-MERCAPTOPYRINE)

De precieze werkingmechanismen van *azathioprine* en zijn actieve metaboliet 6-mercaptopurine zijn onbekend. Verondersteld wordt dat de actieve metaboliet, 6-thioguanine nucleotide, de synthese van RNA, DNA en eiwitten remt via incor-

poratie in het DNA gevolgd door veranderingen in transcriptie en DNA-reparatie. Eén van de belangrijke gevolgen is de cytotoxiciteit voor geactiveerde T-cellen, want deze zijn noodzakelijk voor het remmen van ontsteking. Het duurt gemiddeld drie maanden voordat azathioprine effectief werkt. Goed uitgevoerde gecontroleerde studies bij colitis ulcerosa ontbreken, ongecontroleerde data laten in 60-80% van de patiënten effect zien met een belangrijke afname van steroïd-behoefte. Ook als onderhoudsbehandeling is azathioprine/6-MP effectief. Bij de ziekte van Crohn is de effectiviteit evenals de veiligheid van azathioprine/6-MP aangetoond: in ongeveer 70% van patiënten met actieve ziekte werd gezien dat ziekteactiviteit verminderde en steroïden konden worden afgebouwd, en verder werd er een gunstig effect gezien op de fistelziekte (Pearson *et al*, 2000). Indien remissie-inductie plaatsvindt met steroïden direct in combinatie met azathioprine treedt er een significante verbetering op ten opzichte van behandeling met steroïden alleen. Eveneens blijkt dat onderhoudsbehandeling met enkel azathioprine opvlamming van ziekte voorkomt in een groot deel van de patiënten. De dosering die meestal wordt aangehouden is 2 tot 2.5 mg/kg, lagere doseringen zijn niet werkzaam. Bijwerkingen worden in ongeveer 8% gezien (m.n. pancreatitis, hepatotoxiciteit en leukopenie). Recent staan twee ontwikkelingen met betrekking tot azathioprine bij inflammatoir darmlijden in de belangstelling: het meten van tussenproducten om de effectiviteit te verbeteren en de kans op bijwerkingen te verlagen en het bepalen van bekende polymorfismen van het TPMT-enzym (ThioPurine-MethylTransferase), welke verantwoordelijk is voor het metaboliseren van azathioprine (Lennard, 2002). Voorlopig zijn er nog geen aanbevelingen voor de dagelijkse praktijk.

## METHOTREXAAT

Sinds enkele jaren heeft *methotrexaat* (MTX) een belangrijke plaats verworven in het immuunsuppressieve arsenaal voor de behandeling van de ziekte van Crohn. Methotrexaat werkt niet bij colitis ulcerosa. Met een parenterale dosering (i.m. of s.c.) van 25 mg per week wordt bij 40% van steroïdafhankelijke patiënten remissie bereikt, en indien er na 3 maanden behandeling naar 15 mg per week wordt afgebouwd, kan deze remissie langdurig worden behouden (Feagan *et al*, 1995 en 2000). Essentieel is een juiste voorlichting aan de patiënt, evenals een gedegen instructie voor de toediening van methotrexaat. Gelijktijdige toediening van foliumzuur kan bijwerkingen voorkomen. Tevens dient er elk kwartaal controle laboratorium-onderzoek verricht te worden. Inmiddels is er op het AMC in Amsterdam een ruime ervaring bij een grote patiëntengroep met moeilijk behandelbare vorm van de ziekte van Crohn, waarbij de resultaten gunstig zijn: milde bijwerkingen komen frequent voor maar waren slechts bij 10% reden om de MTX-toediening geheel te staken (ongepubliceerd werk, opvraagbaar bij de auteur). Voornamelijk in combinatie met infliximab werd een hoge respons gezien. Een enquête naar tevredenheid en gebruiksgemak onder deze patiënten leert dat patiënten liever wekelijks MTX spuiten dan azathioprine gebruiken.



## CICLOSPORINE

Ongeveer 15% van alle patiënten met colitis ulcerosa wordt een keer opgenomen in het ziekenhuis vanwege een ernstige colitis die behandeling met steroïden i.v. behoeft. Een derde deel zal ondanks deze behandeling direct een colectomie moeten ondergaan, en éénderde deel zal, na een aanvankelijke respons, binnen een jaar moeten worden geopereerd. Diverse studies hebben inmiddels aangetoond dat, indien er geen of te weinig effect is van 7-10 dagen steroïden i.v., *ciclosporine* een effectief middel is. In de hierboven genoemde groep wordt een respons van 80% gezien gemiddeld 6 dagen na start van ciclosporine 4 mg/kg.dag (Ligtiger *et al*, 1994). Gezien de toxiciteit van het middel dienen bloeddruk, lever- en nierfunctie evenals elektrolyten nauwkeurig in de gaten gehouden te worden. Na intraveneuze behandeling kan ciclosporine enige maanden oraal worden gecontinueerd, maar bij het AMC adviseert men dit niet langer dan zes maanden te doen. Dit is niet alleen vanwege het toxische profiel maar ook vanwege het neoplastische risico (lymfomen). Bij behandeling van de ziekte van Crohn wordt doorgaans afgeraden ciclosporine te gebruiken vanwege de gerapporteerde matige effectiviteit en hoge toxiciteit. Daarom is behandeling met ciclosporine alleen geïndiceerd voor remissie-inductie bij gehospitaliseerde colitis ulcerosa patiënten.

## NIEUWE BEHANDELINGSVORMEN VOOR INFLAMMATOIRE DARMZIEKTEN.

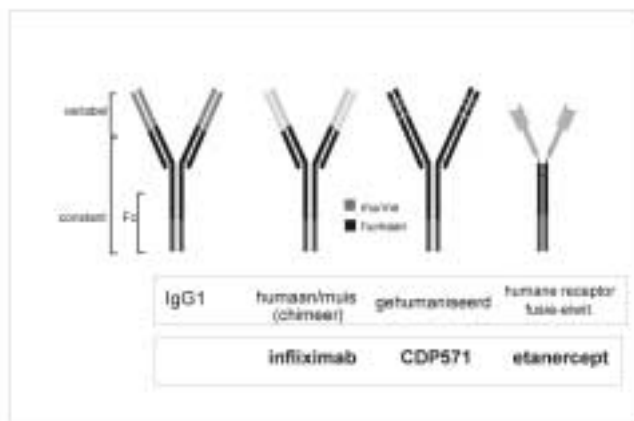
Er is grote behoefte aan nieuwe behandelingsvormen voor patiënten met inflammatoir darmlijden. Zoals al eerder werd vermeld heeft de meerderheid van patiënten op lange duur geen baat bij corticosteroïden, en ondergaat een groot deel van de moeilijk behandelbare patiënten één of meerdere operaties. De meest intensieve onderhoudsbehandelingen zijn slechts in staat om de 'relapse-rate' met 50% te reduceren. Eén van de problemen met de hierboven beschreven medicamenten is niet alleen dat de werkingsmechanismen niet precies bekend zijn. Daarom is het ook niet goed mogelijk te voorspellen hoe patiënten op de individuele therapieën reageren. De geschiedenis van het ontstaan van nieuwe behandelingen begon begin jaren negentig met het karakteriseren van immunofenomenen in de darmwand bij de ziekte van Crohn en colitis ulcerosa (zie figuur 1). Grote vooruitgang werd vervolgens geboekt bij het bestuderen van diermodellen van experimentele colitis, in het bijzonder bij transgene en knock-out muismodellen. Het resultaat was een solide model voor mucosale immuniteit en de pro-inflammatoire veranderingen tijdens actieve ziekte. Bovenal verschaftte een recente doorbraak in het genetisch onderzoek bij inflammatoir darmlijden een diepgaand inzicht in de ontstaanswijze van de ziekte van Crohn. Mutaties in het zogenaamde NOD2-gen op chromosoom 16 bleken een sterke risicofactor voor het krijgen van de ziekte (Ogura *et al*, 2001; Hugot *et al*, 2001). Het genproduct is een intracellulair endotoxinebindend eiwit welk waarschijnlijk een rol speelt bij de primaire immuunrespons tegen pathogene bacteriën. De ziekte lijkt dus te ontstaan door een niet-adequate immuunrespons

bij een genetisch vatbaar individu. De mutaties zijn slechts bij een minderheid van patiënten aanwezig. Maar er zal ongetwijfeld in de nabije toekomst ook meer duidelijkheid zijn over de rol van overige al geïdentificeerde IBS-kandidaatgenen.

## THERAPIE MET ANTILICHAMEN

De typen therapeutische eiwitten die momenteel het meest in de belangstelling staan zijn onder andere recombinant humane antilichamen, monoklonale antilichamen en zogenaamde fusie-eiwitten. De achtergrond van deze vormen van eiwitten wordt in dit kader niet behandeld maar kan elders worden gevonden (Haanen, 2002; van de Loosdrecht, *et al*, 2002). Tevens wordt in dit kader kort ingegaan op de antisense oligonucleotiden. De essentie van de ontwikkeling van deze therapieën ligt in de identificatie van een 'target', een ontstekingsmediator welke een kritische functie heeft in het ontstaan en onderhouden danwel reguleren van ontsteking. Tumor necrose factor alfa (TNF  $\alpha$ ) is zo'n eiwit welke reeds een decennium bekend staat als een centraal en specifiek ontstekings-eiwit (van Deventer, 1999). Diverse strategieën om TNF  $\alpha$  te neutraliseren zijn gerapporteerd.

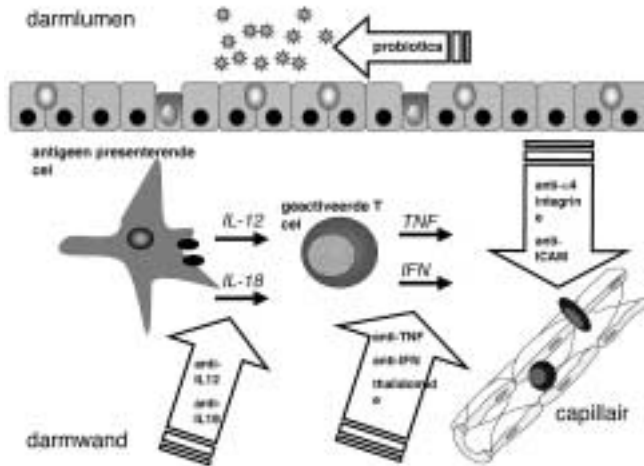
De belangrijkste is infliximab, een chimeer anti-TNF  $\alpha$ -antilichaam met 75% humaan en 25% murine eiwit. Andere anti-TNF  $\alpha$ -strategieën zullen eveneens kort worden behandeld.



Figuur 1. Voorbeelden van antilichamen die momenteel gebruikt worden bij de ziekte van Crohn.

## INFLIXIMAB

Sinds mei 1999 is *infiximab* (Remicade®) geregistreerd in Nederland voor behandeling van de ziekte van Crohn. Aan deze registratie ging acht jaar onderzoek vooraf. De rol van TNF  $\alpha$  als centrale en specifieke ontstekingsmediator bij de



Figuur 2. Op diverse wijzen is de immunerespons in darmwand bij IBD-patiënten medicamenteus te beïnvloeden. In de figuur worden enkele interventies aangegeven die momenteel worden geëvalueerd.

ziekte van Crohn werd vooral duidelijk door immunohistochemie en kwantificering in bipten en feces van patiënten met de actieve vorm van deze ziekte. In 1992 kreeg er voor het eerst een patiënt een infuus met antistoffen tegen het TNF  $\alpha$  toegediend. Het was een jong meisje met de steroïdresistente vorm van de ziekte van Crohn. Na één infuus van 10 mg/kg volgde een dramatische verbetering van ziekte-activiteit. Dit effect was niet alleen klinisch, maar ook daalde de bloedspiegel van het 'C-reactive protein' (CRP) scherp en volgde endoscopische genezing van de darmulceraties (Derkx *et al*, 1993). Aangemoedigd door dit resultaat volgde hierop een 'open-label'-studie met 10 steroïd-resistente Crohn-patiënten. Opnieuw deed zich een vergelijkbaar resultaat voor in het merendeel van de patiënten (van Dullemen *et al*, 1995). Hierna volgde een groot gerandomiseerd placebogecontroleerd onderzoek in 108 patiënten (Targan *et al*, 1997). Er werd een vermindering van ziekteactiviteit gezien in 81% van de patiënten die werden behandeld met 5 mg/kg infliximab. Na 4 weken was 48% van deze groep in remissie gekomen. Opmerkelijk was het feit dat de respons binnen twee weken reeds werd waargenomen. Wat nog met geen ander medicijn eerder werd gezien was dat de behandeling met infliximab resulteerde in endoscopische verbetering. Het gunstige behandelingsresultaat was onafhankelijk van leeftijd, gewicht, ziektehistorie, darmlokalisatie of comedatie. De patiënten die in bovengenoemde groep responderden werden gedurende een jaar om de acht weken gereïnfundeerd met 10 mg/kg of placebo ter evaluatie van infliximab als onderhoudsbehandeling. Er werd duidelijk behoud van respons gezien in de met infliximab behandelde groep. Met in totaal 5 infusen werd er gedurende een jaar een sterk verlaagde ziekteactiviteit bereikt danwel waren de patiënten in remissie (Rutgeerts *et al*, 1999). Uit deze studie bleek de dosering van 5 mg/kg het meest effectief te zijn. Ook voor actieve fistel-

ziekte, welke frequent wordt gezien bij de ziekte van Crohn, bleek infliximab een krachtig middel te zijn met een snelle respons bij tweederde van de patiënten (Present *et al*, 1999). Infliximab wordt momenteel intraveneus toegediend (5 mg/kg), met een inloopsnelheid van twee uur (bv. op een dagbehandeling). De meest voorkomende bijwerkingen die worden gezien zijn hoofdpijn, bovenste luchtweginfectie, misselijkheid, hoesten, en buikpijn. De vorming van anti-chimère antistoffen (HACA's) treedt vaak op (35-70%), en zijn geassocieerd met het optreden van infuusreacties (17%) en verminderde respons. In minder dan 4% worden ernstige bijwerkingen gerapporteerd (o.a. longontsteking en sepsis). De Mantoux-test (eventueel in combinatie met een thoraxfoto) is als screening ingevoerd na rapportage van reactivatie van latente TBC. De combinatie met methotrexaat laat een hoge respons zien mogelijk ten gevolge van een synergisme zoals beschreven is bij reumatoïde artritis (Hommes *et al*, 2002).

#### ANDERE OP ANTILICHAMEN GEBASEERDE STRATEGIEËN BIJ IBS

Het *CDP571* is een gehumaniseerd monoklonaal antilichaam met 95% humaan en 5% murine eiwit. Theoretisch is dit antilichaam minder immunogeen dan infliximab. De resultaten met *CDP571* zijn tot nu toe niet zo veelbelovend als infliximab. In de grootste gerandomiseerde studie bij patiënten met de ziekte van Crohn werd er in 54% van de patiënten behandeld met 10 mg/kg een klinische verbetering gezien versus 27% in de placebogroep (Sandborn *et al*, 2001a). Er werd tevens een verbetering gezien van fistels. Deze was echter niet significant. Grotere fase III-studies worden momenteel uitgevoerd. *Etanercept* is een fusie-eiwit van de p75 TNF-receptor met een Fc-deel van het humane IgG1, welke met succes werd toegepast bij patiënten met reumatoïde artritis. De verwachtingen waren daarom ook hoog gespannen toen de evaluatie bij Crohn begon, echter een placebo-gecontroleerde studie kon geen effectiviteit aantonen (Sandborn *et al*, 2001b). *Onercept*, een recombinant p55 TNF-receptor, is geheel humaan en daarom ook minder immunogeen dan infliximab. De resultaten van een kleine gerandomiseerde studie bij patiënten met de ziekte van Crohn, waarbij onercept 3 keer per week subcutaan werd toegediend, liet bemoedigende resultaten zien met een klinische verbetering in 67% van de patiënten. Momenteel loopt er een grote fase II-studie om de effectiviteit te bevestigen. *Natalizumab* is een recombinant IgG4 monoklonaal antilichaam met muisdeel gericht tegen het humane anti- $\alpha$ -4-integrine. Integrinen zijn adhesiemoleculen aanwezig op onder andere T-cellen welke noodzakelijk zijn voor lymfocytenmigratie door het endotheel naar de lamina propria. Experimentele studies hebben aangetoond dat blokkade van deze interactie tussen endotheel en T-cellen, voorkomt dat T-cellen migreren en daarmee een belangrijk anti-inflammatoir effect sorteren. Momenteel zijn er twee gerandomiseerde studies bij patiënten met de ziekte van Crohn afgerond (Ghosh *et al*, 2001; Gordon *et al*, 2001). In beide studies wordt er effectiviteit gezien, in het bijzonder bij een dosering van 3 mg/kg met een interval van 4 weken (remissie van 46% na 6 weken). Deze bemoedigende resultaten hebben geleid tot evaluatie van natalizumab in een grote fase III-studie

die momenteel wordt uitgevoerd. Een kleine pilotstudie liet ook in colitis ulcerosa een gunstig effect zien.

T-cellen in de lamina propria van IBS-patiënten worden voor een belangrijk deel aangestuurd door antigeen presenterende cellen (bv. de dendritische cel) om te differentiëren in een T-helper fenotype (Th1 en Th2). Bij de ziekte van Crohn hebben geactiveerde cellen voornamelijk een Th1-fenotype, met productie van cytokinen als IL-2, IL-12, IFN  $\alpha$  en TNF  $\alpha$ . Th2 cellen zijn voornamelijk belangrijk bij een humorale immuniteit en produceren o.a. IL-4, IL-5, en IL-6. De ziekte van Crohn lijkt een Th1-gemedieerde ziekte, en colitis ulcerosa heeft karakteristieken van een Th2-gemedieerde ziekte. Met deze kennis is het te begrijpen dat de antigeen presenterende cel een belangrijke schakel is bij de immuunrespons, en de belangrijkste cytokinen die hierbij verantwoordelijk zijn voor de T-helpercel-differentiatie zijn IL-12, IFN  $\alpha$  en IL-18. In diermodellen hebben *anti-IL-12*-antistoffen laten zien experimentele colitis te remmen (Neurath *et al*, 1995), en een fase II-studie wordt momenteel uitgevoerd. De voorlopige data van een doseringsstudie bij Crohn-patiënten met een chimeer antilichaam gericht tegen IFN  $\alpha$  (HuZAF) laat verrassende resultaten zien: 4 weken na een infuus is 40% in de lage dosisgroep (1.0 mg/kg) en 71% in de hoge dosisgroep (4.0 mg/kg) in remissie (tegen 33% remissie in de placebogroep). Ook hier is inmiddels een grote fase III-studie in gang gezet. Tenslotte liet behandeling van een experimentele colitis in muizen met *anti-IL-18 antilichamen* remming van ontsteking zien (Siegmond *et al*, 2001). Klinische evaluatie van anti-IL-18 is nog niet begonnen.

Een centraal anti-inflammatoir cytokine welke een cruciale rol speelt bij mucosale tolerantie is het IL-10. Het IL-10 is ontdekt als een remmende factor (cytokine synthesis inhibitory factor) geproduceerd door Th2-cellen, welke in staat bleek de cytokine synthese van Th1- en NK-cellen te onderdrukken. Bevestiging over de belangrijke rol van IL-10 bij IBS werd verkregen bij een model van IL-10 deficiënte muizen die spontaan colitis bleken te ontwikkelen (Kuhn *et al*, 1993). Bij intraveneuze toediening van recombinant IL-10 bleek er een bescheiden verbetering (van Deventer *et al*, 1997), maar bij hogere doseringen bleek er juist een toename van het pro-inflammatoire IFN  $\alpha$ . Waarschijnlijk is het IL-10 een krachtige ontstekingsremmer, maar moet het in een juiste dosering op de juiste plek komen. Binnenkort start een onderzoek in patiënten met de ziekte van Crohn met een genetisch gemodificeerde *Lactococcus lactis* welke in staat is om het IL-10 lokaal af te geven (Steidler *et al*, 2000).

Binnen dit kader moeten ook de antisense oligonucleotiden worden genoemd gezien de opkomst van dit type farmacomodulatie en de eerste klinische resultaten die bij IBS een feit zijn. Het zijn kleine stukjes enkelstrengs DNA (20-30 basen) die specifiek en complementair met messenger RNA binden. Dit soort DNA-RNA-hybriden voorkomen translatie in het ribosomaal apparaat en worden versneld afgebroken. In een fase II-studie bij de ziekte van Crohn, waarbij als target het adhesiemolecuul ICAM-1 (InterCellular Adhesion Molecule) werd gekozen, werden ICAM-1 antisense-oligonucleotiden (*ISIS 2302*) intraveneus toegediend. In

deze kleine studie (20 patiënten) werd er een therapeutisch effect gezien ten opzichte van placebo (Yacyszyn *et al*, 1998). Twee grotere studies lieten echter geen significante verbetering zien. Momenteel is er een studie gaande waarbij gestreefd wordt naar hoge serumconcentraties.

## THERAPIE MET KLEINE MOLECULEN

### THALIDOMIDE, REMT PRODUCTIE VAN TNF

*Thalidomide* werd in de jaren vijftig in Nederland op de markt gebracht als slaapmiddel en anti-emeticum, met ernstige aangeboren afwijkingen als gevolg. Een aantal toevalligheden hebben de interesse voor het thalidomide weer doen aanwakkeren. Nog voor het van de markt gaan was reeds bekend dat thalidomide effectief was bij morbus Hansen (lepra), en onder zeer strikte controle bleef het gebruikt worden voor deze indicatie. Onderzoek naar het onderliggend mechanisme liet zien dat het thalidomide in staat was de TNF  $\alpha$ -productie te onderdrukken. Dit leidde tot het toepassen van thalidomide bij diverse aandoeningen waar dit mechanisme van belang was zoals graft-versus-host ziekte, reumatoïde arthritis, pyoderma gangrenosum, sarcoïdose, cutane lupus erythematodes, Kaposi sarcoom, morbus Behçet, en ook colitis ulcerosa en de ziekte van Crohn. In 1999 verschenen er twee studies waarin actieve ziekte van Crohn werd behandeld met thalidomide (Ehrenpreis *et al*, 1999; Vasiliasuskas *et al*, 1999). Na vier weken dagelijkse inname van een lage dosering (50-100 mg) werd er in 58% van de behandelde patiënten een respons gezien, tegen 55% in de hoger gedoseerde groep (200-300 mg). Het bereiken van verminderde ziekteactiviteit bij 12 weken behandeling lag op 70% bij de lage dosis en op 64% bij de hoge dosis. Tevens werd er genezing van fistelziekte gezien alsmede een steroidsparend effect. In de dagelijkse praktijk is thalidomide een goed alternatief bij moeilijk te behandelen ziekte van Crohn. Een goede voorlichting is echter een vereiste.

### CNI-1493, EEN SIGNAALTRANSDUCTIEREMMER

Regulatie van genen is afhankelijk van intracellulaire regelsystemen ofwel signaaltransductiepaden. In de laatste jaren vindt er een enorme ontwikkeling plaats op het gebied van signaaltransductie, hetgeen wezenlijk inzicht verschaft de moleculaire gebeurtenissen tijdens een celrespons na een externe stimulus. Dit vormt de basis van een nieuwe farmacologische benadering van ontsteking: modulatie van signaaltransductie om genexpressie te beïnvloeden. Veranderde genexpressie is aanwezig bij tal van ontstekingsziekten zoals pancreatitis, reuma, psoriasis en IBS. Door recent onderzoek is bekend geworden dat signaaltransductiefenomenen aan de basis staan van de initiatie van tal van ontstekingsprocessen. Een belangrijk signaleringspad is de zogenaamde familie van MAP-kinasen (Mitogen Activated Protein kinases). Diverse kinasen uit deze familie vormen momenteel een aantrek-

kelijke doelwit voor de farmaceutische industrie. Een klein molecuul, het *CNI-1493*, welke sterke anti-inflammatoire eigenschappen bleek te bezitten tijdens preklinisch onderzoek, remt de MAP-kinasepaden p38 en JNK (c-Jun N-terminal Kinase). In een open-label studie bij patiënten met de ziekte van Crohn bleek het eveneens een krachtige ontstekingsremmer te zijn (Hommes *et al*, 2002). Zowel de index voor ziekte-activiteit, als de endoscopische score daalden significant binnen 2 weken met genezing van ulceraties. Momenteel wordt er een grote fase II studie uitgevoerd. Een reeks van andere remmers van signaaltransductiepaden wordt getest in een preklinische setting en wij mogen de resultaten bij IBD-patiënten in de komende jaren verwachten.

## PROBIOTICA

Probiotica zijn levende micro-organismen die een gunstig effect hebben op gezondheid door veranderingen in de microbiële omgeving van bijvoorbeeld de darm. Helemaal opgehelderd is het werkingsmechanisme zeker niet, doch factoren als het lokaal induceren van anti-ontstekingsmechanismen, competitieve interacties met pathogenen en het produceren van antimicrobiële factoren zijn alle relevant. Twee gerandomiseerde studies bij colitis ulcerosa met een niet-pathogene *E coli* lieten een even gelijkwaardige effectiviteit zien als 5-ASA om opvlamming van ziekte te voorkomen (Kruis *et al*, 1997; Rembacken *et al*, 1999). Ook eerste resultaten met de bifidobacterie, lactobacillen en *Streptococcus stearothermophilus* lieten bij colitis ulcerosa en zogenaamde pouchitis gunstige resultaten zien (Gionchetti *et al* 2000; Venturi *et al*, 1999). De rol van probiotica bij steroïdafhankelijke patiënten is nog niet bekend.

## CONCLUSIE

De behoefte aan nieuwe effectieve en met name niet-toxische medicijnen voor patiënten met de ziekte van Crohn of colitis ulcerosa is groot. De toekomst is met name gericht op een adequate preventie van opvlamming van ziekte, en het selecteren van patiënten met een hoog risico op exacerbaties. Op basis van een zich steeds meer uitbreidende kennis omtrent mucosale immuniteit bij inflammatoire darmziekten worden er in toenemende mate medicijnen gemaakt met als doel tot specifieke ontstekingsremming te komen. Het moet nog opgehelderd worden waarom sommige van deze strategieën, om bijvoorbeeld pro-inflammatoire cytokinen te neutraliseren, wèl effectief zijn en andere, op papier even veelbelovend, niet (voorbeeld van infliximab en etanercept). Wel is duidelijk dat na een halve eeuw van 5-ASA en corticosteroiden er een wezenlijke verandering van IBS behandeling heeft plaatsgevonden en nog steeds plaatsvindt die vandaag de dag al terug te vinden is in de spreekkamer.

## REFERENTIES

- Derkx B, Taminiou J, Radema S, Stronkhorst A, Wortel C, Tytgat G, van Deventer S. Tumour-necrosis-factor antibody treatment in Crohn's disease [letter] [see comments]. *Lancet* 1993; 342: 173-174.
- van Deventer SJ, Elson CO, Fedorak RN. Multiple doses of intravenous interleukin 10 in steroid-refractory Crohn's disease. *Crohn's Disease Study Group*. *Gastroenterology* 1997; 113: 383-389.
- van Deventer SJ. Review article: targeting TNF alpha as a key cytokine in the inflammatory processes of Crohn's disease--the mechanisms of action of infliximab. *Aliment Pharmacol Ther* 1999; 13 Suppl 4: 3-8.
- van Dullemen HM, van Deventer SJ, Hommes DW, Bijl HA, Jansen J, Tytgat GN, Woody J. Treatment of Crohn's disease with anti-tumor necrosis factor chimeric monoclonal antibody (cA2). *Gastroenterology* 1995; 109: 129-135.
- Ehrenpreis ED, Kane SV, Cohen LB, Cohen RD, Hanauer SB. Thalidomide therapy for patients with refractory Crohn's disease: an open-label trial. *Gastroenterology* 1999; 117: 1271-1277.
- Feagan BG, Rochon J, Fedorak RN, Irvine EJ, Wild G, Sutherland L, Steinhart AH, Greenberg GR, Gillies R, Hopkins M, . Methotrexate for the treatment of Crohn's disease. *The North American Crohn's Study Group Investigators*. *N Engl J Med* 1995; 332: 292-297.
- Feagan BG, Fedorak RN, Irvine EJ, Wild G, Sutherland L, Steinhart AH, Greenberg GR, Koval J, Wong CJ, Hopkins M, Hanauer SB, McDonald JW. A comparison of methotrexate with placebo for the maintenance of remission in Crohn's disease. *North American Crohn's Study Group Investigators*. *N Engl J Med* 2000; 342: 1627-1632.
- Ghosh S, Goldin E, Malchow H, et al. A randomised, double blind, placebo-controlled, pan-European study of a recombinant humanised antibody to alpha 4 integrin (Antegren) in moderate to severely active Crohn's disease. *Gastroenterology* 2001; 120: A127-A128.
- Gionchetti P, Rizzello F, Venturi A, Brigidi P, Matteuzzi D, Bazzocchi G, Poggioli G, Miglioli M, Campieri M. Oral bacteriotherapy as maintenance treatment in patients with chronic pouchitis: a double-blind, placebo-controlled trial. *Gastroenterology* 2000; 119: 305-309.
- Gordon FH, Lai CW, Hamilton MI, Allison MC, Srivastava ED, Fouweather MG, Donoghue S, Greenlees C, Subhani J, Amlot PL, Pounder RE. A randomized placebo-controlled trial of a humanized monoclonal antibody to alpha4 integrin in active Crohn's disease. *Gastroenterology* 2001; 121: 268-274.
- Haanen JBAG. Met muis meer mens. *Pharm Weekbl* 2002; 137: 1724-1729.
- Hommes DW, van de Heistee BH, van der SM, Bartelsman JF, van Deventer SJ. Infliximab treatment for Crohn's disease: one-year experience in a Dutch academic hospital. *Inflamm Bowel Dis* 2002; 8: 81-86.
- Hommes D, van den BB, Plasse T, Bartelsman J, Xu C, Macpherson B, Tytgat G, Peppelenbosch M, van Deventer S. Inhibition of stress-activated MAP kinases induces clinical improvement in moderate to severe Crohn's disease. *Gastroenterology* 2002; 122: 7-14.
- Hugot JP, Chamaillard M, Zouali H, Lesage S, Cezard JP, Belaiche J, Almer S, Tysk C, O'Morain CA, Gassull M, Binder V, Finkel Y, Cortot A, Modigliani R, Laurent-Puig P, Gower-Rousseau C, Macry J, Colombel JF, Sahbatou M, Thomas G. Association of NOD2 leucine-rich repeat variants with susceptibility to Crohn's disease. *Nature* 2001; 411: 599-603.
- Kane SV, Schoenfeld P, Sandborn WJ, Tremaine W, Hofer T, Feagan BG. Systematic review: the effectiveness of budesonide therapy for Crohn's disease. *Aliment Pharmacol Ther* 2002; 16: 1509-1517.
- Kruis W, Schutz E, Fric P, Fixa B, Judmaier G, Stolte M. Double-blind comparison of an oral *Escherichia coli* preparation and mesalazine in maintaining remission of ulcerative colitis. *Aliment Pharmacol Ther* 1997; 11: 853-858.
- Kuhn R, Lohler J, Rennick D, Rajewsky K, Muller W. Interleukin-10-deficient mice develop chronic enterocolitis. *Cell* 1993; 75: 263-274.
- Lennard L. TPMT in the treatment of Crohn's disease with azathioprine. *Gut* 2002; 51: 143-146.
- Lichtiger S, Present DH, Kornbluth A, Gelernt I, Bauer J, Galler G, Michelassi F, Hanauer S. Cyclosporine in severe ulcerative colitis refractory to steroid therapy. *N Engl J Med* 1994; 330: 1841-1845.
- Loosdrecht AA van de, Ossenkoppele GJ. Nieuwe wapens in de strijd: monoklonale antistoffen en dendritische-celvaccins. *Pharm Weekbl* 2002; 137: 1730-1736.
- Munkholm P, Langholz E, Davidsen M, Binder V. Frequency of glucocorticoid resistance and dependency in Crohn's disease. *Gut* 1994; 35: 360-362.
- Neurath MF, Fuss I, Kelsall BL, Stuber E, Strober W. Antibodies to interleukin 12 abrogate established experimental colitis in mice. *J Exp Med* 1995; 182: 1281-1290.
- Ogura Y, Bonen DK, Inohara N, Nicolae DL, Chen FF, Ramos R, Britton H, Moran T, Karaliuskas R,



- Duerr RH, Achkar JP, Brant SR, Bayless TM, Kirschner BS, Hanauer SB, Nunez G, Cho JH. A frameshift mutation in *NOD2* associated with susceptibility to Crohn's disease. *Nature* 2001; 411: 603-606.
- Pearson DC, May GR, Fick G, Sutherland LR. Azathioprine for maintaining remission of Crohn's disease. *Cochrane Database Syst Rev* 2000; CD000067.
- Present DH, Rutgeerts P, Targan S, Hanauer SB, Mayer L, van Hogezaand RA, Podolsky DK, Sands BE, Braakman T, DeWoody KL, Schaible TF, van Deventer SJ. Infliximab for the treatment of fistulas in patients with Crohn's disease. *N Engl J Med* 1999; 340: 1398-1405.
- Rembacken BJ, Snelling AM, Hawkey PM, Chalmers DM, Axon AT. Non-pathogenic *Escherichia coli* versus mesalazine for the treatment of ulcerative colitis: a randomised trial. *Lancet* 1999; 354: 635-639.
- Rutgeerts P, D'Haens G, Targan S, Vasiliauskas E, Hanauer SB, Present DH, Mayer L, van Hogezaand RA, Braakman T, DeWoody KL, Schaible TF, van Deventer SJ. Efficacy and safety of retreatment with anti-tumor necrosis factor antibody (infliximab) to maintain remission in Crohn's disease. *Gastroenterology* 1999; 117: 761-769.
- Sandborn WJ, Feagan BG, Hanauer SB, Present DH, Sutherland LR, Kamm MA, Wolf DC, Baker JP, Hawkey C, Archambault A, Bernstein CN, Novak C, Heath PK, Targan SR. An engineered human antibody to TNF (CDP571) for active Crohn's disease: a randomized double-blind placebo-controlled trial. *Gastroenterology* 2001a; 120: 1330-1338.
- Sandborn WJ, Hanauer SB, Katz S, Safdi M, Wolf DG, Baerg RD, Tremaine WJ, Johnson T, Diehl NN, Zinsmeister AR. Etanercept for active Crohn's disease: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Gastroenterology* 2001b; 121: 1088-1094.
- Siegmund B, Fantuzzi G, Rieder F, Gamboni-Robertson F, Lehr HA, Hartmann G, Dinarello CA, Endres S, Eigler A. Neutralization of interleukin-18 reduces severity in murine colitis and intestinal IFN-gamma and TNF-alpha production. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2001; 281: R1264-R1273.
- Steidler L, Hans W, Schotte L, Neirynek S, Obermeier F, Falk W, Fiers W, Remaut E. Treatment of murine colitis by *Lactococcus lactis* secreting interleukin-10. *Science* 2000; 289: 1352-1355.
- Sutherland LR. Topical treatment of ulcerative colitis. *Med Clin North Am* 1990; 74: 119-131.
- Sutherland L, Roth D, Beck P, May G, Makiyama K. Oral 5-aminosalicylic acid for inducing remission in ulcerative colitis. *Cochrane Database Syst Rev* 2000a; CD000543.
- Sutherland L, Roth D, Beck P, May G, Makiyama K. Oral 5-aminosalicylic acid for maintaining remission in ulcerative colitis. *Cochrane Database Syst Rev* 2000b; CD000544.
- Targan SR, Hanauer SB, van Deventer SJ, Mayer L, Present DH, Braakman T, DeWoody KL, Schaible TF, Rutgeerts PJ. A short-term study of chimeric monoclonal antibody cA2 to tumor necrosis factor alpha for Crohn's disease. Crohn's Disease cA2 Study Group. *N Engl J Med* 1997; 337: 1029-1035.
- Vasiliauskas EA, Kam LY, Abreu-Martin MT, Hassard PV, Papadakis KA, Yang H, Zeldis JB, Targan SR. An open-label pilot study of low-dose thalidomide in chronically active, steroid-dependent Crohn's disease. *Gastroenterology* 1999; 117: 1278-1287.
- Venturi A, Gionchetti P, Rizzello F, Johansson R, Zucconi E, Brigidi P, Matteuzzi D, Campieri M. Impact on the composition of the faecal flora by a new probiotic preparation: preliminary data on maintenance treatment of patients with ulcerative colitis. *Aliment Pharmacol Ther* 1999; 13: 1103-1108.
- Yacyshyn BR, Bowen-Yacyshyn MB, Jewell L, Tami JA, Bennett CF, Kisner DL, Shanahan WR, Jr. A placebo-controlled trial of ICAM-1 antisense oligonucleotide in the treatment of Crohn's disease. *Gastroenterology* 1998; 114: 1133-1142.

AANTEKENINGEN

## AANTEKENINGEN

AANTEKENINGEN

## AANTEKENINGEN

AANTEKENINGEN

## AANTEKENINGEN

AANTEKENINGEN