



Universiteit
Leiden
The Netherlands

Mineralocorticoid receptor gene variants : implications for stress, blood pressure and personality

Leeuwen, N. van

Citation

Leeuwen, N. van. (2010, November 9). *Mineralocorticoid receptor gene variants : implications for stress, blood pressure and personality*. Retrieved from <https://hdl.handle.net/1887/16122>

Version: Corrected Publisher's Version

License: [Licence agreement concerning inclusion of doctoral thesis in the Institutional Repository of the University of Leiden](#)

Downloaded from: <https://hdl.handle.net/1887/16122>

Note: To cite this publication please use the final published version (if applicable).

Samenvatting

Een depressie is een stemmingsstoornis die gekenmerkt wordt door verlies aan levenslust en een zwaarmoedige stemming. Veel mensen hebben wel eens een dipje maar pas als deze gevoelens langdurig aanhouden zou er sprake kunnen zijn van een depressie. Een depressie is een veel voorkomende ziekte en de zieke belemmert normaal functioneren. In Nederland krijgt 15% van de bevolking gedurende zijn leven een of meerdere depressieve episodes. Tijdens deze periodes is het vaak niet mogelijk te werken of studeren. Factoren die betrokken zijn bij het ontstaan van de ziekte en het mechanisme achter de ziekte zijn veelvuldig onderzocht maar nog steeds niet volledig achterhaald. Het is wel bekend dat stress een belangrijke rol speelt. Ook zijn sommige families vatbaarder en dat duidt op een genetische component. Tweelingen studies waarbij 100% genetisch identieke een-eiige tweelingen vergeleken werden met twee-eiige tweelingen die genetisch gemiddeld 50% identiek zijn bevestigden inderdaad dat er een genetisch component aanwezig is bij het ontstaan van een depressie.

Van groot belang is de vondst dat een depressie geassocieerd is met een verstoring van de Hypothalamus-Hypofyse-Bijnier-as (HHB-as). Dit is een belangrijk systeem in het lichaam dat de reactie op stress coördineert en reguleert. Tijdens stress is de verhoogde secretie van cortisol door verhoogde activiteit van de HHB-as van essentieel belang voor de aanpassing aan de stressvolle situatie. Cortisol zorgt er via negatieve terugkoppeling ook voor dat het systeem zelf weer uitgeschakeld wordt. Cortisol oefent zijn effect uit via binding aan een cortisol receptor. Er bestaan twee typen receptoren voor cortisol; de hoog affine zogenoemde mineralocorticoïd receptor (MR) en de laag affine glucocorticoïd receptor (GR). De MR in de hersenen is vrijwel altijd bezet door cortisol, terwijl de GR pas geactiveerd wordt als er hoge concentraties cortisol in het lichaam circuleren. Deze twee receptoren voor cortisol, de GR en MR spelen een centrale rol in de regulatie van de HHB-as en zijn daarnaast van groot belang voor gedragsmatige adaptatie.

Het doel van het onderzoek beschreven in dit proefschrift was te onderzoeken of genetische variatie in de mineralocorticoïd receptor betrokken is bij het ontstaan van een depressie.

Eerst werd het coderende gedeelte van het MR gen gescreend op de aanwezigheid van genetische variatie. Vervolgens werd met computerprogramma's de koppeling tussen de genetische variatie en de mogelijke functionaliteit van de genetische variatie getest. Dit is beschreven in **hoofdstuk 2**. Er bleken zeven Single Nucleotide Polymorphisms (SNPs) aanwezig te zijn in het coderende gedeelte van het MR gen. Een SNP is een variatie in het DNA die veelvuldig voorkomt in de populatie en waarbij 1 nucleotide veranderd is. De genetische variatie in het MR gen bleek voor een groot deel aan elkaar gekoppeld te zijn en bovendien bleken een aantal SNPs mogelijk functioneel. Enkele mogelijk belangrijke SNPs zijn MR-2G/C (rs20170951), MRI180V (rs5522) en rs2871. De SNP MR-2G/C bevindt zich net buiten het coderende gedeelte in de Kozak regio (belangrijk bij eiwit productie) van het gen en beïnvloedt mogelijk de translatie van het mRNA naar eiwit. De SNP MRI180V bevindt zich in het coderende gedeelte van het gen in exon 2 en verandert het aminozuur

op positie 180 van een isoleucine naar een valine. Tenslotte, rs2871, één van de SNPs in het niet coderende gedeelte van exon 9, bevindt zich in een stuk mRNA dat een 'loop' kan vormen en dit heeft mogelijk gevolgen voor de stabiliteit van het mRNA.

De SNPs MR-2G/C en MRI180V werden op basis van de locatie en mogelijke functie geselecteerd voor verder onderzoek. De functionaliteit van deze twee SNPs werd getest met *in vitro* cel systemen. De resultaten van de *in vitro* testen zijn in verschillende hoofdstukken van dit proefschrift beschreven. Het C allel van MR-2G/C geeft in de *in vitro* cel systemen meer eiwit dan het G allel zonder dat de hoeveelheid mRNA beïnvloed werd, zoals beschreven in **hoofdstuk 4**. De verhoogde MR expressie met het C allel leidde vervolgens tot een verhoogde transactivatie, beschreven in **hoofdstuk 3 en 4** en een verhoogde ligand binding, beschreven in **hoofdstuk 5**. De invloed van MRI180V op transactivatie was reeds getest. Het V allel vermindert de transactivatie dit blijkt te gebeuren zonder dat de MR expressie of de ligand binding wordt beïnvloed (**hoofdstuk 5**).

MR-2G/C en MRI180V bleken voor een deel aan elkaar gekoppeld, dit werd beschreven in **hoofdstuk 2, 3, 5 en 6**. De combinatie van twee (gedeeltelijk) gekoppelde SNPs wordt een haplotype genoemd. Zonder koppeling zijn er 4 verschillende combinaties (haplotypes) mogelijk terwijl in onze studies maar 3 combinaties (haplotypes) geobserveerd werden, de combinatie MR-2 G en MRI180 V (=G nucleotide) kwam niet voor. Om uit te sluiten dat de SNPs elkaars functionaliteit beïnvloeden werden ook de haplotypes *in vitro* getest, dit is beschreven in **hoofdstuk 5**. De twee SNPs bleken elkaar niet te beïnvloeden in de gebruikte tests.

Per hoofdstuk werd er met associatie-studies gekeken naar één van de mogelijke functies van genetische variatie in de MR.

In **hoofdstuk 3** werd gekeken of de *in vitro* functionele SNPs MR-2G/C en MRI180V de regulatie van de HHB-as kunnen beïnvloeden in gezonde vrijwilligers. Hiervoor werd gebruik gemaakt van de dexamethason suppressie test (DST). Dexamethason is een synthetisch glucocorticoïd en kan, net als hoge hoeveelheden cortisol, de cortisol productie door de HBB-as onderdrukken. Met dexamethason wordt de negatieve terugkoppeling van de HHB-as getest. In onze studie werd gebruik gemaakt van een lage dosering dexamethason (0.25mg) en dit leidde tot verminderde maar niet geheel onderdrukte cortisol spiegels de dag na inname. De één uur durende piek in cortisol na wakker worden werd zonder dexamethason niet beïnvloed door de SNPs maar na inname van dexamethason was er wel een duidelijk effect van beide SNPs aanwezig. Dit effect was afhankelijk van het geslacht van de vrijwilliger. De onderdrukking was het sterkst in vrouwen met het MR-2G/C GG genotype terwijl mannen met dit genotype juist een verhoging lieten zien t.o.v. mannen met de andere genotypes. Mannen met het MRI180V AA genotype hadden hogere waarden dan mannen met het AG genotype terwijl deze SNP geen effect had in vrouwen. Haplotype analyse leverde geen aanvullende informatie op, het effect werd voornamelijk veroorzaakt door MR-2G/C.

In **hoofdstuk 4** werd de invloed van MR-2G/C op zout regulatie en bloeddruk getest. Behalve de belangrijke rol van de MR in de HHB-as heeft de MR ook een belangrijke rol in zout en bloeddrukregulatie via het renine angiotensine systeem (RAS). Het hormoon aldosteron bindt aan

de MR in de nier en leidt tot water- en zout retentie. Het G allel was geassocieerd met toegenomen activatie van het RAS en hogere bloeddruk.

In **hoofdstuk 5** werd onderzocht of de MR haplotypes, die MR-2G/C en MRI180V bevatten, de reactie op acute psychosociale stress kunnen beïnvloeden en of deze haplotypes geassocieerd waren met chronische stress. Individuen homozygoot voor het haplotype dat de MR-C en MRI180 allelen bevat hadden de hoogste speeksel cortisol, plasma ACTH en hartslag reactie tijdens de psychosociale stressor. Dit haplotype gaf *in vitro* de hoogste expressie van het MR eiwit en de hoogste transactivatie. Chronische stress werd gemeten met vragenlijsten en de subschalen “sociale isolatie” en “hoge werkdruk” bleken geassocieerd met de MR haplotypes, dit keer was het echter het haplotype met de allelen MR-C en MRI180V die in dragers van dit haplotype tot meer chronische stress leidde. Deze studie was hypothese genererend van opzet en suggereert dat meer MR eiwit tot hogere reacties op acute psychosociale stress leidt en dat MR haplotypes betrokken zijn bij de verwerking van chronische stress.

In **hoofdstuk 6** werden twee MR haplotypes beschreven en getest in een kleine groep van honderd patiënten met angst en/of stemmingstoornissen en vijftig gezonde vrijwilligers. Vanwege de relatief kleine aantallen patiënten en controles was ook deze studie exploratief en hypothese genererend van opzet. Associatie-studies werden uitgevoerd met haplotypes in het begin van het gen (5', -2 G/C en 180) en met haplotypes in het einde van het gen (3', in exon 9). De twee haplotypes waren niet geassocieerd met angst en/of stemmingstoornissen maar in de patiënten groep was wel een associatie met het persoonlijkheidskenmerk neuroticisme.

Hoofdstuk 7 is de algemene discussie van het proefschrift.

Eerst werd de locatie van de MR SNPs geanalyseerd, MR SNPs bleken niet in het gehele gen aanwezig te zijn, maar voornamelijk voor te komen in het promoter gebied, exon 2 en aan het eind in exon 9. Genetische veranderingen op andere locaties veroorzaken waarschijnlijk ernstige aandoeningen.

Vervolgens werd de voorspellende waarde van *in vitro* functionaliteits studies voor effecten *in vivo* bediscussieerd. De *in vitro* functionele SNPs bleken zoals verwacht geassocieerd te zijn met *in vivo* effecten; het daarom zinvol om *in vitro* studies uit te voeren. Echter een gedetailleerde hypothese genereren op basis van *in vitro* gegevens blijft moeilijk, wat geïllustreerd wordt met de man – vrouw verschillen *in vivo*. Bij veel associaties waren sexe verschillen in de effecten aanwezig en in sommige gevallen was de associatie zelfs tegenovergesteld bij mannen vergeleken met vrouwen. In de huidige *in vitro* testen zijn geen geslachtshormonen toegevoegd om de verschillen tussen mannen en vrouwen te onderzoeken en het is dus niet mogelijk om deze effecten te voorspellen. In vervolgstudies zou het effect van een geslachtshormoon in de *in vitro* studies onderzocht dienen te worden. Ook zou onderzoek aan andere leeftijdsgroepen in de associatie- studies een optie kunnen zijn. Deze suggestie maar ook andere suggesties voor vervolgonderzoek zijn in **hoofdstuk 7** beschreven.

Kort samengevat, in dit proefschrift werd genetische variatie in de MR beschreven. Er is genetische variatie in de MR aanwezig en deze variatie is functioneel in *in vitro* studies. De genetische variatie was geassocieerd met cortisolspiegels na dexamethason, de reactie op psychosociale stress, gedurende chronische stress en bij neurotisme. Gezien de kleine groepen deelnemers in de studies waren deze studies exploratief en zouden de gevonden associaties verder bestudeerd moeten worden. Wij postuleren dat genetische variatie betrokken is bij de reactie op stress en in gedrag. Verder bleek de genetische variant MR-2G/C geassocieerd te zijn met bloeddruk en zoutregulatie; deze laatste associatie hebben we reeds kunnen bevestigen in meerdere cohorten.