



Universiteit
Leiden
The Netherlands

Stress, emotion and cognition : role of mineralo- and glucocorticoid receptors

Brinks, V.

Citation

Brinks, V. (2009, February 19). *Stress, emotion and cognition : role of mineralo- and glucocorticoid receptors*. Retrieved from <https://hdl.handle.net/1887/13503>

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/1887/13503>

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

Chapter 8

Summary

Samenvatting

SUMMARY

Stress hormones such as corticosteroids are potent modulators of emotional and cognitive functioning. Their effects can be beneficial under normal conditions, but become impairing if the corticosteroid action is excessive, prolonged or inadequate. Such dysregulated corticosteroid function is thought to compromise information processing underlying the integration of emotional and cognitive processes. As a consequence, some individuals develop stress-related disorders such as depression and PTSD. These disorders are characterized by altered emotional and cognitive processing together with disrupted corticosteroid function.

This raises the following questions: (1) why are some individuals more prone to the development of stress-related diseases? And (2), are the glucocorticoid stress system, emotion and cognition interdependent?

Determining genetic factors contributing to the vulnerability of stress related diseases in addition to assessing the interaction between emotion, cognition and glucocorticoid stress system will help to understand the development, resilience to and even treatment of stress related diseases. Experiments described in this thesis focus on the role of two distinct receptor types in the limbic brain areas, i.e. the mineralo- (MR) and glucocorticoid receptors (GR). These receptors control stress system activity, facilitate recovery from stress and mediate the actions of corticosteroids on emotion and cognition.

The main objective of this thesis is therefore to study the interaction between the glucocorticoid stress system, emotion and cognition, focussing on MR and GR functions.

In **chapter 2**, the influence of the differential activation of brain MR and GR on emotional responses and cognitive processes is described. This differential activation of both receptor types is achieved by substituting adrenalectomized mice with different amounts of corticosterone released from subcutaneously implanted pellets that result in different degrees of MR and GR occupation with the ligand in the brain. My results show that changes in emotion are correlated with cognitive performance. Moreover, learning and memory performance is correlated with both anxiety and motivation as revealed by principal component analysis. These two domains of emotion appear especially important in the early phase of the learning process.

The results also show that distinct MR and GR activation in the limbic brain affects emotional and cognitive processes in a differential manner. When

confronted with a novel situation, continuous predominant MR activation achieved with the constant release of the steroid from the pellet is beneficial for the emotional state. This state is expressed by low anxiety, high motivation and high directed exploration, which allows to gain detailed knowledge of the environment. Remarkably, this condition of predominant MR activation does not result in better learning and memory. For this purpose concurrent activation of the GR colocalized with MR is required that facilitates consolidation of the experience, so the individual is prepared for the same confrontation in the future. Indeed, mice with continuous predominant MR and additional moderate GR activation are fast learners in a positively motivated spatial learning task. They display low anxiety and arousal together with high directed explorative behaviour as well as improvement of memory performance. Thus, moderate GR activation contributes to the facilitation of memory. Further increase to continuous GR activation by higher circulating corticosterone concentrations, however, induces strong emotional arousal at the expense of cognitive performance. This increase in emotional arousal (anxiety) and impaired cognitive functioning has been shown by others, but it has to our knowledge never been tested in one experimental design.

The findings reported in **chapter 2** show a clear correlation between emotion and cognition and underline the importance of a balanced MR/GR activation in the limbic brain for emotional and cognitive functioning that is critical for optimal performance in a complex environment and thus, is beneficial for mental health.

Next we assessed if naturally occurring differences in MR and GR expression would correspond to endocrine and behavioural stress sensitivity, emotional and cognitive functioning. Two inbred mouse strains (BALB/c and C57BL/6J) were characterised for MR and GR protein and mRNA expression in the hippocampus, amygdala and PFC and further tested for emotional and cognitive behavioural patterns in the elevated plus maze and modified holeboard (**chapter 3**). The results show that lower hippocampal MR and GR mRNA expression, but elevated GR mRNA in prefrontal cortex and GR protein in the amygdala of BALB/c mice coincides with increased stress susceptibility, high emotional expression and contribution of emotions to superior cognitive performance in a positively motivated spatial learning task. High MR and GR expression in C57BL/6J mice corresponds with lower stress susceptibility and reduced cognitive performance. Learning is stimulus-response driven and lacks emotional contribution in this strain. Therefore, high susceptibility to stress and an enhanced emotional contribution seems to be beneficial for cognitive functioning.

In summary, **chapters 2** and **3** demonstrate a clear contribution of the glucocorticoid stress system to the integration of emotion and cognition. The steroid replacement experiments in **chapter 2** show that moderate levels of corticosterone suggesting predominant MR and moderate GR occupancy coincide with an emotional state optimal for cognitive performance expressed as fast acquisition of the task. **In chapter 3** the comparative study between two mouse strains shows that in highly stress susceptible mice emotions positively contribute to optimal cognitive performance. In this comparison, the differential expression of MR and GR in hippocampus, prefrontal cortex and amygdala likely plays a coordinating role for these emotional and cognitive processes.

The research in **chapters 4** and **5** aims to determine how the glucocorticoid stress system of BALB/c and C57BL/6J mice would influence learning and memory of a negative event. Mice of both strains were subjected to a specifically designed fear conditioning paradigm in which formation and extinction of memory of an adverse, most likely traumatic experience could be measured (**chapter 4**). Generalized and stimulus-specific fear-responses expressed as scanning and freezing behaviour were assessed in alternating episodes of context and cue. C57BL/6J and BALB/c mice display a distinctly different acquisition of contextual fear, indicative of active and passive coping respectively. In addition, they display very distinct fear memory. C57BL/6J clearly differentiates between context (low freezing) and cue (high freezing). BALB/c mice show a generalized fear response, a similar strong freezing response to context and cue.

These results lead to the question whether stress sensitivity including the corticosterone response to this stressful task contributes to the distinct fear memory pattern of BALB/c and C57BL/6J mice. We therefore assessed the impact of corticosteroids in the acquisition and consolidation phase of fear memory in both strains. BALB/c and C57BL/6J mice were injected with corticosterone shortly before or directly after fear conditioning. The retrieval and extinction of context- and cue related fear memories were observed on later days (**chapter 5**).

During acquisition, naïve mice of both strains show similar fear responses during context, but not cue episodes. The strain-specific behavioural response pattern during memory testing is similar in **chapters 4** and **5**. BALB/c mice show generalized strong fear memory, while C57BL/6J mice discriminate between freezing during context- and cue episodes. In BALB/c mice corticosterone treatment *after* acquisition results in less stable consolidation, reduced fear memory and thus facilitated extinction, while it hardly affects fear memory of C57BL/6J mice. In contrast, corticosterone treatment *before* acquisition facilitates specifically cue-related fear memory of C57BL/6J mice, while BALB/c

mice are relatively unaffected. Since the differential action of corticosterone *before* and *after* acquisition takes place within a very short time frame, I assume that a rise corticosterone *before* the adverse event affected the acquisition process via the recently described fast (non-genomic) membrane MR.

In **Chapter 6** the role of MR in emotion and cognition is further specified using MR^{CaMKCre} mutant C57BL/6J mice which have ablated forebrain MR and increased GR expression. These MR^{CaMKCre} mice, together with control C57BL/6J mice, were studied for behavioural responses and learning and memory performance in a one trial holeboard test followed by the aforementioned fear conditioning paradigm. Ablation of limbic MR leads to higher emotional arousal and less locomotion immediately after exposure to a novel environment, although only when stressed. This finding suggests that forebrain MR ablation may have abolished fast non-genomic corticosterone actions. If indeed these membrane MRs are involved, these receptors can be activated by the stress-induced high level of corticosterone, which is present in the control mice. However, it cannot be excluded that also the increased expression of GR contributes to the altered behavioural reactivity.

MR ablation furthermore enhances cue-related freezing during fear acquisition and persistently augments fear memory specific for the context. Also here, the increased number of GR might be involved in the facilitation of context-related fear memories. In addition, extinction of fear is delayed or prevented. Thus, ablation of forebrain MR shifts emotional and cognitive processing towards stronger memories for fearful events. The lack of MR function and thus the larger contribution of GR in this model is an excellent example of the relevance of a balanced and coordinated action of corticosterone by MR and GR.

From this thesis the following conclusions can be made:

1. Emotional contribution improves cognitive performance.
2. The extent of GR relative to MR activation modulates the contribution of emotion to cognition.
3. Corticosterone treatment can have impairing and facilitating effects on emotional memory depending on the genetic background of the mice and the time of administration.
4. BALB/c and C57BL/6J mice are a good model to study the role of the glucocorticoid stress system on stress related disorders such as PTSD.

5. The MR is a promising drug target that can be used for treating PTSD related pathology.

In conclusion, **corticosteroids modulate the integration of emotion and cognition via a combined MR and GR-mediated action**. The findings suggest that BALB/c and C57BL/6J mice provide animal models for specific aspects of PTSD and other stress-related diseases.

SAMENVATTING

Stress leidt tot de afgifte van corticosteroiden door de bijnierschors. De corticosteroid hormonen regelen energiemetabolisme en hebben een sterke ontstekingsremmende en immunosuppressieve werking. De hormonen dringen gemakkelijk de hersenen binnen en beïnvloeden met name de functie van hippocampus, amygdala en prefrontale cortex in emotie, cognitie en de aanpassing aan stress. Emotionele en cognitieve processen worden bevorderd door corticosteroiden, maar verstoord door een te sterk ofwel een te zwak werkend hormoon. Hoe het corticosteroid signaal kan veranderen van beschermend naar beschadigend is niet precies bekend. Recent onderzoek heeft laten zien dat bij een ontregelde corticosteroidwerking neuronale functies worden verstoord die ten grondslag liggen aan de integratie van emotie en cognitie. Bij sommige individuen leidt dit vervolgens tot stressgerelateerde aandoeningen zoals depressie of posttraumatische stress-stoornis (PTSS).

Waarom de een wel en de ander niet ziek wordt van stress is niet bekend. Men denkt dat corticosteroiden hiervoor van belang zijn, gezien hun rol in de wisselwerking tussen genetische factoren en de invloed van eerdere stressvolle ervaringen. De experimenten beschreven in dit proefschrift richten zich op de betekenis van corticosteroiden voor stress-gerelateerde psychopathologie onderzocht in diersystemen. Corticosteroiden werken door binding aan de mineralo- (MR) en glucocorticoid receptoren (GR), waarna genexpressie beïnvloed kan worden. Recentelijk zijn ook snelle membraaneffecten gevonden die door deze receptortypen tot stand komen, hoewel ze klassiek als intracellulaire (nucleaire) receptoren te boek staan. MR en GR komen overvloedig tot expressie in limbische hersengebieden met een belangrijke functie in emotionele en cognitieve processen.

Het doel van het onderzoek beschreven in dit proefschrift is om vast te stellen welke bijdrage MR- en GR leveren aan de corticosteroid effecten op de integratie van emotionele en cognitieve processen.

Hoofdstuk 1 bevat een gedetailleerde beschrijving van de achtergrond van het onderzoek. Hier wordt ook de vraagstelling en de hypothese geformuleerd en onderbouwd.

In **hoofdstuk 2** wordt de invloed van differentiële MR- en GR-activatie op emotioneel en cognitief functioneren bestudeerd aan de hand van een apertief gestimuleerde taak die het geheugen voor plaats en ruimte test. Differentiële activatie van de receptortypen kan worden verkregen door in bijnierloze muizen

tabletten met verschillende corticosteronconcentraties subcutaan te implanteren. Een toenemende corticosteronconcentratie in het bloed leidt geleidelijk tot een grotere bezetting van GR ten opzichte van MR, omdat de GR een lagere affiniteit voor het ligand heeft. De resultaten laten zien dat emotie en cognitie gecorreleerd zijn. Zo beschrijft de componentenanalyse dat leren en geheugen afhankelijk is van zowel angstgerelateerd gedrag als van motivatie. Deze twee emotionele componenten zijn vooral relevant in de eerste leerfase.

Een belangrijke vondst was dat differentiële MR- en GR-activatie een verandering tot stand brengt in emotionele reactie en cognitieve processen. Overwegende MR activatie gaat gepaard met een mate van emotionaliteit die bevorderlijk is voor de verwerking van gedetailleerde informatie uit de omgeving. Er is dan weinig angstgerelateerd gedrag, maar de dieren zijn zeer gemotiveerd, zoals afgeleid kan worden uit de hoge mate van exploratief gedrag. Tezamen hebben hoge motivatie en geringe angst een gunstige invloed op cognitieve prestaties. Opvallend is dat de MR-afhankelijke emotionaliteit in deze muizen niet per se resulteert in beter leren en geheugen. Hiervoor is een hogere corticosteronspiegel nodig die, naast activatie van de MR, ook de GR activeert. Muizen die aldus in de limbische structuren met een hogere MR- en GR-activatie zijn toegerust, vertonen ook weinig angstgerelateerd en veel exploratief gedrag, maar leren en onthouden de taak juist opmerkelijk goed. Echter, verdere limbische GR-activatie door nog hogere corticosteronconcentraties in het bloed, leidt tot een dermate hoge emotionele reactiviteit dat cognitieve prestaties belemmerd worden. Deze combinatie van extreme emotionele reactiviteit en verminderd cognitief presteren is eerder aangetoond, maar - naar mijn beste weten - nog nooit dosisafhankelijk in één experimentele opstelling vastgesteld.

Vervolgens is in **hoofdstuk 3** onderzoek beschreven waarin is nagegaan of natuurlijke variatie in de mate van MR- en GR-expressie overeenkomt met zowel stressgevoeligheid op endocrien en gedragsniveau als op het niveau van emotie en cognitie. Hiervoor is het gedrag van twee *inbred* muizenstammen (BALB/c en C57BL/6J) geobserveerd, waarna MR- en GR-expressie in de hippocampus, amygdala en prefrontale cortex is gemeten. Een patroon van lagere hippocampale MR- en GR mRNA-expressie, maar hoger GR mRNA in de PFC en meer GR eiwit in de amygdala van BALB/c muizen dan die van de C57BL/6J muizen blijkt gecorreleerd met een verhoogde stressgevoeligheid, met meer emotionele reacties en met betere cognitieve prestaties. In deze muizenstammen blijkt dus hogere stressgevoeligheid en emotioneel gedrag positief bij te dragen aan het cognitief functioneren.

Samenvattend benadrukken de bevindingen in **hoofdstuk 2** het belang van een gebalanceerde MR/GR-activatie in de limbische hersengebieden voor emotioneel en cognitief functioneren in een complexe taak. Verder wijzen de resultaten in **hoofdstukken 2 en 3** erop dat corticosteroiden bepalend zijn voor de mate van interactie tussen emotie en cognitie. Het experiment met corticosteroid-substitutie en differentiële MR-en GR-activatie in **hoofdstuk 2** laat zien dat een gemiddeld voorkomende corticosteronconcentratie, en dus hoge MR- en matige GR-activatie, leidt tot een emotionele toestand die optimaal is voor cognitief presteren gezien de snelle acquisitie van de taak. De vergelijking van twee *inbred* muizenstammen in **hoofdstuk 3** laat zien dat in muizen met hoge stress- en emotie-reactiviteit positief correleert met cognitief presteren. Het differentiële expressiepatroon van MR en GR in de hippocampus, amygdala en prefrontale cortex lijkt hierbij een belangrijke rol te spelen.

De experimenten in **hoofdstuk 4 en 5** richten zich op de vraag hoe corticosteron in BALB/c- en C57BL/6J-muizen het leren en onthouden van een negatieve ervaring beïnvloedt. Muizen van beide stammen zijn blootgesteld aan een angstconditioneringsprocedure waarin het ontstaan en de uitdoving van de herinnering aan een negatieve, waarschijnlijk traumatiserende ervaring bepaald kan worden (**hoofdstuk 4**). Gegeneraliseerd, maar ook stimulus-specifiek angstgeheugen is gemeten door herhaaldelijk de gedragsrespons op de omgeving (context) en op de geconditioneerde stimulus te meten. Angstgedrag wordt gekenmerkt door immobiliteit en kan zowel door *freeze*- als *scan*-gedrag tot expressie worden gebracht.

C57BL/6J- en BALB/c-muizen vertonen in verschillende mate angstgedrag tijdens context-lernen, hetgeen indicatief is voor een actieve of juist passieve omgang met de stressvolle, angstige situatie. Ook het angstgeheugen is erg verschillend tussen deze stammen. C57BL/6J muizen maken duidelijk onderscheid tussen context (veel immobiliteit) en stimulus (minder immobiliteit), terwijl BALB/c muizen geen onderscheid maken tussen context en stimulus. De BALB/c stam vertoont dus meer gegeneraliseerd angstgedrag in vergelijking tot de C57BL/6J- stam.

Deze resultaten roepen de vraag op of de verschillen in stressgevoeligheid voor deze taak, inclusief de corticosteronrespons, een bijdrage leveren aan het verschil in angstgeheugen tussen BALB/c- en C57BL/6J-muizen. Om deze vraag te beantwoorden is de invloed van corticosteron op de acquisitie- en consolidatie-fase van het angstgeheugen in beide stammen bepaald (**hoofdstuk 5**). BALB/c- en C57BL/6J-muizen zijn met corticosteron geïnjecteerd, net voor of direct na acquisitie van de angstconditioneringstaak. Op

de daarop volgende dagen is gekeken naar het ophalen en de uitdoving van het angstgeheugen.

Gedurende acquisitie vertonen beide stammen hetzelfde gedrag tijdens de context-intervallen, maar een verschillende stimulusrespons. Het stamspecifieke gedrag tijdens de geheugentesten in **hoofdstuk 4** is ook hier herkenbaar: BALB/c muizen hebben een gegeneraliseerd, sterk angstgeheugen, terwijl C57BL/6J muizen differentiëren tussen context- en stimulus-gerelateerd geheugen. In BALB/c muizen resulteert corticosteron-injectie **na** acquisitie in een minder stabiele consolidatie, in verminderd angstgeheugen en dus in gefaciliteerde uitdoving. In C57BL/6J muizen daarentegen, heeft corticosteron-injectie **na** acquisitie geen effect. Aan de andere kant, corticosteronbehandeling **voor** acquisitie heeft een versterkend effect op het angstgeheugen van C57BL/6J muizen, terwijl het bij BALB/c muizen bijna geen effect heeft. Omdat het verschil in corticosteron effect door behandeling voor en na acquisitie plaatsvindt in korte tijd, neem ik aan dat verhoging in corticosteron vóór de negatieve ervaring de acquisitie ervan heeft beïnvloed door middel van de snelle, niet genomische, membraan MR effecten, die recent zijn ontdekt.

In Hoofdstuk 6 wordt de specifieke rol van MR in emotie en cognitie beschreven door in de experimenten gebruik te maken van MR^{CaMKCre} C57BL/6 muizen. Deze muizen hebben in de voorhersenen geen MR, maar wel een verhoogde GR expressie. In deze mutanten en in de controlemuizen is emotionele expressie, en leren en geheugen van een negatieve ervaring gemeten. Afwezige MR functie leidt tot hogere “emotional arousal” en minder locomotie bij blootstelling aan een nieuwe omgeving, maar alleen na acute stress. Dit zou een aanwijzing kunnen zijn dat snelle, niet genomische effecten de verschillen in gedrag veroorzaken tussen MR^{CaMKCre}- en controle muizen. Echter, een mogelijk invloed van de verhoogde GR expressie op emotionele gedragingen kan niet worden uitgesloten.

Tevens leidt afwezige MR-functie tot verhoogd stimulus-specifiek angstgedrag tijdens acquisitie, tot een aanhoudend sterk angstgeheugen voor de context en tot verminderde uitdoving. De relatief verhoogde GR-expressie in MR^{CaMKCre} muizen zou ook hier een bijdrage hebben kunnen leveren door bevordering van context-gerelateerd angstgeheugen. Over het algemeen lijkt verstoring van MR-functie gepaard te gaan met emotionele en cognitieve processen die leiden tot een sterker geheugen voor een angstige gebeurtenis. De verhoogde bijdrage van GR in de MR^{CaMKCre} muizen is een goed voorbeeld van de relevantie van een gebalanceerde werking van corticosteroiden via MR en GR.

De experimenten in dit proefschrift leiden tot de volgende conclusies:

1. Emotie verbetert de cognitieve prestatie.
2. De mate van GR- versus MR activatie beïnvloedt de integratie van emotie en cognitie.
3. Corticosteronbehandeling kan de herinnering aan een emotionele gebeurtenis verminderen *of* verbeteren afhankelijk van de genetische achtergrond van de muizen en het tijdstip van toediening van het hormoon.
4. BALB/c en C57Bl/6J muizen zijn uitstekende diermodellen om de rol van corticosteron in de pathogenese en behandeling van stress gerelateerde aandoeningen zoals PTSS te bestuderen.
5. De resultaten geven een aanwijzing dat de MR een aangrijpingspunt van farmaca kan zijn om PTSS gerelateerde symptomen te behandelen.

De conclusie van dit proefschrift is dat **corticosteroiden de integratie van emotie en cognitie beïnvloeden door middel van een complementaire MR- en GR-werking**. Bovendien blijken BALB/c- en C57BL/6J-muizen goede diermodellen te zijn om specifieke psycho-biologische aspecten van PTSS en andere stressgerelateerde ziekten.

