



Universiteit
Leiden
The Netherlands

Determinants of psychosis vulnerability; focus on MEF2- and glucocorticoid signaling
Speksnijder, N.

Citation

Speksnijder, N. (2013, November 28). *Determinants of psychosis vulnerability; focus on MEF2- and glucocorticoid signaling*. Retrieved from <https://hdl.handle.net/1887/22544>

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/1887/22544>

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

Cover Page



Universiteit Leiden



The handle <http://hdl.handle.net/1887/22544> holds various files of this Leiden University dissertation

Author: Speksnijder, Niels

Title: Determinants of psychosis vulnerability : focus on MEF2 - and glucocorticoid signaling

Issue Date: 2013-11-28

Addendum | Samenvatting

SAMENVATTING

Schizofrenie is een ernstige psychiatrische ontwikkelingsstoornis die voorkomt bij ongeveer 1% van de bevolking. Het wordt gekenmerkt door een grote variëteit aan symptomen waarbij, positieve, negatieve en cognitieve aspecten worden onderscheiden. Factoren die kunnen bijdragen aan de ontwikkeling van de ziekte zijn complicaties bij de zwangerschap, chronische sociale problemen en drugsgebruik. Het is bekend dat deze negatieve omgevingsinvloeden het risico op schizofrenie met name verhogen in combinatie met genetische kwetsbaarheid. Het genetische profiel draagt voor ongeveer 50% bij aan het risico op schizofrenie.

Verschillende diermodellen zijn ontwikkeld met als doel bepaalde aspecten van schizofrenie na te bootsen. Eén van deze modellen is het “amfetamine sensitisatie” model. Wanneer dieren meerdere dagen behandeld worden met amfetamine resulteert dit in een overgevoelige (of gesensitiseerde) staat van het dier. Deze sensitisatie kan aangetoond worden wanneer na een onthoudingsperiode van enkele weken, de dieren opnieuw amfetamine toegediend krijgen als zogenaamde “challenge”-injectie en daar sterker dan voorheen op reageren. Deze voor amfetamine overgevoelige toestand vertoont gelijkenissen met schizofrenie bij de mens, zoals onder andere een bij schizofrenie vergelijkbare sensitisatie van het dopamine systeem en het vermogen de expressie van sensitisatie te blokkeren met behulp van dopamine-antagonisten.

Hersengebieden die een belangrijke rol spelen in het sensitisatie proces zijn de nucleus accumbens, de prefrontale cortex en de hippocampus. Deze hersengebieden ontvangen allen directe dopaminerge input van de ventrale tegmentale regio. In **Hoofdstuk 2** is in deze drie hersenregio's de expressie van genpatronen beschreven van genetisch identieke DBA2/j muizen die extreem verschillen in het verloop van amfetamine sensitisatie. Het doel van dit onderzoek was om genen te identificeren die een rol spelen bij het ontstaan van deze sensitisatie en daardoor mogelijk een rol spelen bij schizofrenie en gevoeligheid voor psychoses. In de CA1 regio van de hippocampus vonden we de meest robuuste verschillen in genexpressie tussen laag en hoog responsieve dieren in het amfetamine sensitisatie experiment. De resultaten lieten bovendien zien dat de genen die differentieel tot expressie kwamen, target genen zijn van de glucocorticoïd receptor (GR) en myocyte enhancer factor 2 (MEF2). Dit suggereert dat beide transcriptiefactoren een rol spelen in het tot stand komen van amfetamine sensitisatie. De hippocampus is betrokken bij het onderdrukken van amfetamine-geïnduceerde sensitisatie. Dit gebeurt waarschijnlijk door het controleren van de neuronale activiteit van de nucleus accumbens en het reguleren van het vuren van dopaminerge neuronen uit de ventrale tegmentale regio. Bovendien komt de GR hoog tot expressie in de hippocampus en moduleren glucocorticoiden de amfetamine gevoeligheid.

Bij de start van dit onderzoek was het nog onbekend dat GR en MEF2 invloed op elkaar kunnen uitoefenen. **Hoofdstuk 3** beschrijft onderzoek naar een mogelijke interactie tussen beide transcriptiefactoren *in vitro* in neuronaal gedifferentieerde PC-12 cellen. Na behandeling van de cellen met de GR agonist dexamethason, bleek MEF2 gefosforyleerd te worden op serine 408. Dit is een modificatie waarvan bekend is dat het de werking van MEF2 verandert van stimulatie naar inhibitie van transcriptie. Verder werd de DNA-binding van MEF2 vóór het c-JUN gen significant verhoogd. Dit wees op een actieve transcriptionele repressie van c-JUN die correleerde met de downregulatie van c-JUN op mRNA niveau. Tot slot lieten we zien dat downregulatie van MEF2, met behulp van lentivirale knockdown, resulteerde in verminderde expressie van c-JUN, zoals dat eerder was waargenomen na DEX behandeling. Bovendien had DEX behandeling na knockdown van MEF2 geen effect meer op de expressie van c-JUN. Deze resultaten suggereren dat de c-JUN downregulatie door glucocorticoïden via GR en MEF2 tot stand komt.

Aangezien de transcriptiefactoren GR en MEF2 een belangrijke rol spelen bij de regulatie van synaptische plasticiteit, hetgeen een belangrijk aspect is van sensitisatie met psychostimulantia, is vervolgens onderzocht of GR de MEF2 activiteit reguleert in een omgeving van neuronale depolarisatie. Neuronale depolarisatie is een belangrijke voorwaarde om synaptische plasticiteit te bewerkstelligen en van MEF2 is bekend dat het wordt geactiveerd in een depolariserende omgeving. De resultaten beschreven in **Hoofdstuk 4** lieten zien dat de door depolarisatie geïnduceerde expressie van het MEF2 target gen NR4A1, significant wordt onderdrukt indien tevens GR geactiveerd wordt door dexamethason. Verrassend genoeg bleek, dat terwijl GR activatie of depolarisatie op zichzelf leidde tot verhoogde MEF2-DNA binding vóór NR4A1, deze verhoogde DNA binding weer verdween bij combineren van depolarisatie en GR activatie. Deze resultaten tonen aan dat glucocorticoïden via GR de door depolarisatie-geïnduceerde synaptische plasticiteit in balans kunnen houden.

In **Hoofdstuk 5** is gebruik gemaakt van de eerdere resultaten om te onderzoeken of *in vivo* de fosforylatie van MEF2 in de hippocampus en striatum verandert bij amfetamine sensitisatie. Ook is vastgesteld op welke punt tijdens het sensitisatieproces deze fosforylatie plaatsvindt. De resultaten lieten zien dat de locomotor activiteit op elk gemeten tijdstip na amfetamine behandeling verhoogd is. MEF2 fosforylatie echter was alleen verhoogd na 5 dagelijkse behandelingen met amfetamine. De verhoogde fosforylatie van MEF2 werd tot onze verrassing waargenomen in de hippocampus en niet in het striatum. Vervolgens is het effect van het manipuleren van MEF2 fosforylatie op locomotor activiteit gemeten. Hiertoe kregen de dieren intracerebroventriculair een injectie met roscovitine, dat een remmer is van het kinase CDK5 verantwoordelijk voor de fosforylatie van MEF2. Roscovitine behandeling versterkte het effect van amfetamine op de locomotor activiteit en resulteerde in meer

fosforylatie van MEF2. Dit suggereert dat de door roscovitine geïnduceerde verandering in locomotor activiteit correleert met verhoogde MEF2 fosforylatie. De resultaten geven derhalve een aanwijzing dat MEF2 activiteit betrokken is bij amfetamine sensitisatie en psychose gevoeligheid

De resultaten beschreven in dit proefschrift leiden tot een model (Figuur 7.2) waarin stress en glucocorticoïden via GR de activiteit van MEF2 kunnen veranderen. Dit heeft gevolgen voor de regulatie van de target genen van MEF2, die een rol spelen bij de synaptische plasticiteit. De regulatie van MEF2 in plasticiteit kan derhalve mede ten grondslag liggen aan de glucocorticoïd-afhankelijke mate van amfetamine sensitisatie. Verrassend genoeg laten de *in vivo* resultaten zien dat de effecten op MEF2 voorkomen in de CA1 regio van de hippocampus. Deze bevinding benadrukt nog eens de belangrijke rol van de hippocampus wat betreft de werking van MEF2 en GR in amfetamine sensitisatie. Samengevat, in dit promotieonderzoek is een nieuw mechanisme geïdentificeerd waarin glucocorticoïden via GR de activiteit van MEF2 beïnvloedt. Dit mechanisme kan een nieuw aanknopingspunt geven in het mechanisme van amfetamine sensitisatie en gevoeligheid voor psychose.