



Universiteit
Leiden
The Netherlands

Contextual glucocorticoid signaling in-vivo: a molecular perspective

Buurstede, J.C.

Citation

Buurstede, J. C. (2023, December 7). *Contextual glucocorticoid signaling in-vivo: a molecular perspective*. Retrieved from <https://hdl.handle.net/1887/3665950>

Version: 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/1887/3665950>

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

SAMENVATTING

Wat we collectief “stress” noemen, is hoe we de reactie van ons lichaam op een stressor ervaren. Deze reactie is erop gericht om met de huidige stressor om te gaan en ons voor te bereiden op soortgelijke stressoren in de toekomst. De stressrespons is voor een belangrijk deel afhankelijk van glucocorticoïd hormonen. Over het algemeen is de acute respons op glucocorticoïden gunstig, maar chronische blootstelling is vaak nadelig. Om de preventie en behandeling van stress-gerelateerde aandoeningen te verbeteren, is het belangrijk om de effecten en werkingsmechanismen van glucocorticoïden beter te begrijpen. Hoewel we al uitgebreide kennis hebben over glucocorticoïden en glucocorticoïd receptor (GR) signalering (besproken in **hoofdstuk 1**), hebben we vijf “aspecten van context” geïntroduceerd en bestudeerd, die volgens ons belangrijke misvattingen of hiaten binnen het onderzoeksgebied aankaarten.

De rol van de mineralocorticoïd receptor

Glucocorticoïden kunnen twee transcriptiefactoren activeren, de GR en de mineralocorticoïd receptor (MR). Veel studies zijn uitgevoerd met het idee dat de MR volledig verzadigd is bij basale glucocorticoïd niveaus, en dat de MR daarom niet betrokken is bij de respons op stressoren. Echter hebben we eerder laten zien dat MR-specifieke DNA-binding op een dosis-afhankelijke manier optreedt in de hippocampus van de rat. In **hoofdstuk 2** hebben we deze bevindingen opgevolgd en een aantal van de geassocieerde MR-specifieke target genen gevalideerd in muizen zonder expressie van de MR in de hippocampus. Vervolgens toonden we aan dat Jdp2 - een van de gevalideerde MR-specifieke target genen - reageerde na restraint stress. Op basis van deze bevindingen concludeerden we met vertrouwen dat we de transcriptionele bijdrage van de MR in de context van de stressrespons en GR-functie niet zomaar kunnen negeren.

Duur van blootstelling aan glucocorticoïden

Het is bekend dat chronische stress ons lichaam negatief beïnvloedt, wat aangeeft dat de duur van blootstelling aan glucocorticoïden van belang is. Om dit verder te onderzoeken hebben we de bevinding dat de transcriptie van glucocorticoïd-responsieve genen in de lever van muizen afhankelijk werd van actieve androgeensignalering na chronische blootstelling aan glucocorticoïden opgevolgd. In **hoofdstuk 3** hebben we de oorspronkelijke bevinding bevestigd en geconstateerd dat chronische blootstelling aan corticosteron het levertranscriptoom ingrijpend veranderde op een grotendeels androgeen-afhankelijke manier. Daarentegen veranderde acute blootstelling de expressie van veel minder genen in totaal, en de veranderingen die we zagen waren niet afhankelijk van androgeensignalering. Een directe interactie tussen de GR en de

androgeen receptor (AR) werd niet waargenomen, maar we vonden wel een aanwijzing dat chronische GR-activatie zelf de AR-expressie in de lever verhoogde en zo de androgeen-afhankelijkheid na verloop van tijd creëerde. Op basis van deze bevindingen concluderen we dat de duur van blootstelling aan glucocorticoïden inderdaad een sterke invloed heeft op de transcriptionele en waarschijnlijk ook op de functionele uitkomst in de lever. Dit is in lijn met de algemene opvatting dat acute blootstelling aan glucocorticoïden vaak gunstig is en dat chronische blootstelling gekoppeld is aan nadelige effecten.

Interactie met andere transcriptiefactoren

Glucocorticoïden zijn betrokken bij vele processen, en werken vaak samen met andere factoren om hun effecten te bewerkstelligen. In het geval van geheugenconsolidatie hebben glucocorticoïden hiervoor de opwinding-geïnduceerde afgifte van noradrenaline nodig. Aangezien de transcriptiefactoren GR en pCREB twee mediators van deze signaalroutes zijn, werd verondersteld dat een genomische interactie deel uitmaakt van het onderliggende mechanisme. In **hoofdstuk 4** werd een corticosteron behandeling gecombineerd met objectlocatie training en bestudeerden we de potentiële GR-pCREB interacties op het niveau van DNA-binding en de daaropvolgende transcriptoom veranderingen. We vonden geen bewijs voor een interactie tussen beide transcriptiefactoren. Het effect van corticosteron was grotendeels vergelijkbaar voor zowel DNA-binding als genexpressie, ongeacht de trainingsstatus, en we vonden geen effect van training op pCREB DNA-binding of genexpressie. Onze studie identificeerde een set nieuwe, waarschijnlijk directe, GR-target genen die kandidaat mediators zijn van de corticosteron effecten op geheugenconsolidatie. Deze gegevens wezen op een rol van niet-neuronale cellen in de effecten van glucocorticoïden op het geheugenconsolidatieproces. Hoewel we onze hypothese niet konden bevestigen, leverde deze studie bruikbare inzichten en interessante aanknopingspunten voor vervolgstudies op.

De leeftijd van blootstelling aan glucocorticoïden

Het vroege leven is een bijzonder gevoelige periode voor de versturende effecten van stress. Bij mensen is blootstelling aan excessieve en/of chronische stressoren tijdens deze periode een bewezen risicofactor voor stress-gerelateerde stemmingsstoornissen. Bij knaagdieren kan stress tijdens het vroege leven leiden tot gedrags- en cellulaire veranderingen die zichtbaar worden op volwassen leeftijd. Eerder werd aangetoond dat deze deels omkeerbaar waren door interventie met de GR-antagonist RU486 tijdens de puberteit. Het moleculaire mechanisme dat leidt tot het verhoogde risico, of dat ten grondslag ligt aan de omkering van de geassocieerde stoornissen, is tot nu toe onbekend gebleven. In **hoofdstuk 5** onderzochten we de toegankelijkheid van

het hippocampale DNA en de transcriptoom veranderingen na vroege levensstress om inzicht te krijgen in deze processen. We vonden dat vroege levensstress het transcriptoom van de hippocampus kan veranderen, maar we vonden geen bewijs voor veranderingen in de toegankelijkheid van het hippocampale DNA. De transcriptoom veranderingen waren echter niet consistent tussen meerdere cohorten en we zagen geen normalisatie van de veranderingen in genexpressie na interventie met RU486 tijdens de puberteit. Na onderzoek van twee replicatiecohorten waarin vrijwel alle controleerbare bronnen van variatie waren geëlimineerd (onder andere het paradigma van stress in het vroege leven, het laboratorium en de onderzoeker), beschouwen we nu de langdurige transcriptionele effecten van vroege levensstress van stochastische aard. Het mechanisme dat ten grondslag ligt aan de gedragsveranderingen tijdens de volwassenheid geïnduceerd door vroege levensstress blijft daarom even raadselachtig als het aanvankelijk was.

Type GR-ligand

De vele veranderingen die typisch waargenomen worden in een uitgebreide analyse van genexpressie na glucocorticoïd behandeling maken het moeilijk om genen te identificeren die causaal zijn aan het bestudeerde proces. Op zoek naar een manier om het kaf van het koren te scheiden, oarmden we de verschillen en gelijkenis van GR-liganden. Blootstelling aan glucocorticoïden resulteert in een lange lijst van differentieel tot expressie komende genen. Daarvan zijn er waarschijnlijk maar een handvol rechtstreeks betrokken bij het onderzochte proces. Dit geldt ook voor de verbetering van geheugenconsolidatie door glucocorticoïden. In **hoofdstuk 6** hebben we een krachtige benadering - farmacologische filtering - toegepast om de transcriptionele effecten van GR te onderzoeken met als doel een shortlist van GR-target genen te identificeren die geassocieerd zijn met geheugenconsolidatie. We gebruikten de eigenschappen van selectieve GR modulators (CORT108297 en CORT118335), naast de endogene agonist corticosteron en de klassieke antagonist RU486, om GR-afhankelijke transcriptionele veranderingen te identificeren. In ons project reduceerde het farmacologische filter de lange lijst van genen met veranderde expressie tot een korte hanteerbare lijst van negen GR-target genen die waarschijnlijk betrokken zijn bij de verbetering van geheugenconsolidatie door glucocorticoïden. Vergelijkbaar met de resultaten beschreven in **hoofdstuk 4**, suggereren ook deze resultaten een rol voor GR in niet-neuronale microglia cellen.

Context is van belang

Corticosteron stond centraal in alle studies die we uitvoerden, maar het uiteindelijke resultaat van GR-activatie verschilde sterk in alle experimenten. In **hoofdstuk 7** bespraken we de verschillen, de overlap en de implicaties daarvan. De verschillen

betroffen onder meer de dosering, het type weefsel, de activering van andere transcriptiefactoren, de duur en de leeftijd van de blootstelling. Met andere woorden, de context waarin corticosteron zijn effecten uitoefent is van belang en het is aan ons als onderzoeker om ons hiervan bewust te zijn bij het ontwerpen van nieuwe studies en het interpreteren van beschikbare data. In zekere zin is daardoor de redenering die leidde tot de uitgevoerde experimenten net zo waardevol als de specifieke resultaten die worden gerapporteerd. Hoewel ons onderzoek zich slechts richtte op enkele specifieke processen, kunnen de lessen die uit deze experimenten zijn geleerd veel breder worden toegepast op de biologie van glucocorticoid signalering en op de biologie van de andere leden van de nucleaire familie waar de GR deel van uitmaakt.