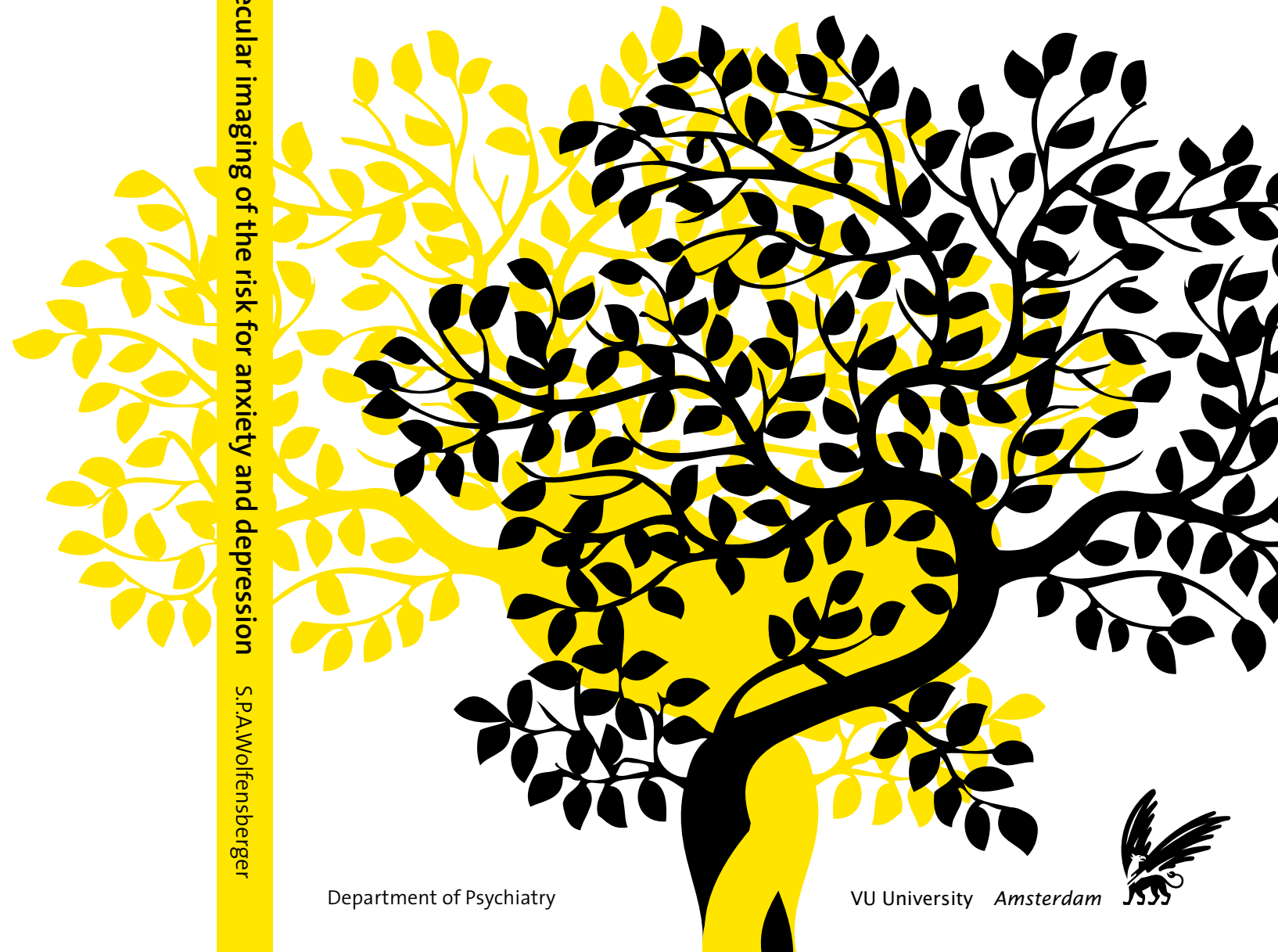


# Functional, structural, and molecular imaging of the risk for anxiety and depression

S.P.A.Wolfensberger

Functional, structural, and molecular imaging of the risk for anxiety and depression S.P.A.Wolfensberger



# 8

Nederlandse samenvatting



Dit proefschrift beschrijft de resultaten van onderzoek naar hersengebieden die betrokken zijn bij angst en depressie met behulp van verschillende beeldvormende (neuroimaging) technieken. De gebruikte technieken worden hier kort toegelicht. Om functionele en structurele verschillen in de hersenen zichtbaar te maken werd gebruik gemaakt van zowel functionele- als structurele magnetic resonance imaging (MRI), dat wil zeggen beeldvorming van de hersenen, waarbij gebruik wordt gemaakt van magnetische resonantie. Functionele MRI (fMRI) is een speciale MRI techniek, die gebruik maakt van zeer kleine regionale veranderingen in de bloeddoodstroming, welke wordt veroorzaakt door neuronale activiteit in het betreffende hersengebied tijdens het maken van een neuropsychologische taak.

Om de binding van bepaalde stoffen (liganden) aan specifieke receptoren in de hersenen te kwantificeren werd gebruik gemaakt van positron emissie tomografie (PET). Bij deze techniek wordt een zeer kleine hoeveelheid van de stof radioactief gelabeld met een positron emitter en, na intaveneuze injectie, worden opname en klaring in de hersenen afgebeeld en gemeten met een PET scanner. Door toepassing van geschikte tracer modellen kan vervolgens de binding van deze ligand (tracer) aan de receptor gekwantificeerd worden.

In sectie A en B van dit proefschrift worden de functionele en structurele neuroimaging studies bij eenëiige of wel monozygote (MZ) tweelingen met hoog en laag risico voor angst en depressie besproken. In sectie C, wordt een nieuwe PET ligand voor neurokinine1(NK1)-receptoren *in vivo* onderzocht. De NK1 receptor is betrokken bij angst en depressie.

Deze benadering kan de basis vormen voor toekomstig beeldvormend genetisch (imaging genetics) onderzoek gericht op functionele, structurele en moleculaire (receptor ligand) veranderingen, om op die manier de bijdrage van genetische- en omgevingsrisicofactoren voor angst en depressie te ontwarren.

#### **Samenvatting secties A en B**

##### *De MZ discordant/concordant tweelingstudie*

In sectie A en B, werd de hypothese getest of genetische- en omgevingsrisicofactoren voor angst en depressie a) van invloed zijn op gedeeltelijk verschillende hersenstructuren en/of b) in het geval dat deze risicofactoren van invloed zijn op dezelfde hersenstructuren, dit wordt bereikt op een geheel andere, wellicht tegengestelde, manier.

Daartoe werden twee imaging technieken gebruikt in MZ tweelingparen sterk concordant of discordant voor het risico op angst en depressie om verschillen in structuur en functie aan te tonen tussen de tweelingparen. Dit risico op angst en depressie werd berekend op basis van longitudinale onderzoeksgegevens over angst, depressie, neuroticisme en somatische angst, verzameld in 1991, 1993, 1997 en 2000. Eerder werd een sterk voorspellende waarde op klinische angst en depressie aangetoond op basis van deze onderzoeksgegevens, die voortkwamen uit het Composite International Diagnostic Interview.

Omdat MZ tweelingparen als genetisch identiek beschouwd kunnen worden, zou hun risico voor angst en depressie moeten worden veroorzaakt door differentiële blootstelling aan omgevingsinvloeden. Hieruit vloeit voort dat de intrapair vergelijking van de discordante tweelingen verschillen laat zien in neuronale activiteit en hersenstructuur, die gevoelig zijn voor omgevingsfactoren. Er werden in totaal 10 MZ tweelingparen geselecteerd, discordant voor het risico op angst en depressie.

Bij de MZ tweelingparen die geselecteerd werden als hoog of laag concordant, was het risico op angst en depressie ofwel zeer hoog in beide leden van het paar (zelfs al waren ze blootgesteld aan verschillende omgevingsfactoren) ofwel zeer laag in beide leden. Het vergelijken van deze twee groepen creëert een genetische contrast, hetgeen werd bevestigd door te controleren of de ouders van deze tweelingen inderdaad ook hoog versus laag risico scores hadden. Vandaar dat de laag-/hoog-groepsvergelijking van concordante tweelingen de verschillen laat zien in neuronale activiteit en hersenstructuur, die gevoelig zijn voor genetische factoren. Er werden in totaal 10 concordant hoge en 15 concordant lage MZ tweelingparen geselecteerd.

#### Sectie A: Functionele Neuroimaging

Eerdere functionele neuroimaging studies lieten een veranderde activatie van de amygdala op emotionele stimuli zien, waarbij zowel hyperactiviteit als hypo-activiteit werd gerapporteerd bij angst en depressie patiënten in vergelijking met gezonde controles. In hoofdstuk 2, werd de hypothese getest of deze tegenstrijdige bevindingen zijn gebaseerd op het verschil in effect van genetische- en omgevingsrisicofactoren op het functioneren van de amygdala. Om deze hypothese te testen, werd de amygdala reactie op een emotionele gezichtentaak bepaald tijdens fMRI in MZ tweelingparen die discordant, concordant hoog of concordant laag zijn, voor het risico op angst en depressie. Tijdens de taak werden er verschillende emotioneel beladen gezichten getoond, nl angstige, boze, blijde en neutrale gezichten, afgewisseld met een baseline. Het hoofdeffect (alle gezichten versus baseline) van de taak liet een robuuste bilaterale amygdala-activiteit zien over alle groepen. Er werd een toegenomen amygdala response gevonden op negatieve stimuli (boos/angstige gezichten) in de discordant tweelingen met hoog risico op angst en depressie in vergelijking met hun discordant co-tweelingen met een laag risico. In tegenstelling hiermee lieten concordant hoge paren een afgestompt of 'blunted' amygdala reactiviteit zien op zowel positieve als negatieve gezichten in vergelijking met concordant lage paren. Post-hoc analyses toonden aan dat deze bevindingen onafhankelijk waren van het serotonine transporter (5-HTTLPR) genotype.

Deze bevindingen wijzen erop dat de amygdala hyperactiviteit werd gevonden bij deelnemers met een hoog risico op angst en depressie gebaseerd op omgevingsfactoren, terwijl amygdala hypoactiviteit juist werd gevonden bij deelnemers die een hoog risico op angst en depressie hadden voornamelijk op basis van genetische factoren. De hyperactiviteit van de tweelingen met verhoogd risico op basis van omgeving verdween na correctie voor het angstniveau ('state anxiety'), wat aangeeft dat hyperreactiviteit door emotionele stimuli samengaat met een verhoogde staat van

angst. Het angstniveau was eveneens verhoogd in de tweelingen met een hoog risico op angst en depressie op basis van een genetisch risico. Echter, de reponse van de amygdala op emotionele stimuli ten op zichte van neutrale stimuli was bij deze groep lager en deze hypoactiviteit verdween ook niet nadat met state anxiety rekening was gehouden. Deze resultaten zouden kunnen duiden op een verhoogde baseline activiteit van de amygdala bij deelnemers met een hoog genetisch risico op angst en depressie, welke zou kunnen dienen om verdere activatie ten gevolge van een algemene verhoging van het angstniveau of op basis van een specifieke emotionele stimulus (boos gezicht) te verminderen.

In hoofdstuk 3, werd emotionele verwerking en hersenactiviteit onderzocht tijdens een coderings- en herkenningstaak met behulp van emotioneel geladen woorden (negatief, neutraal, positief en een baseline) in dezelfde onderzoeksgroep als in hoofdstuk 2. Psychologische theorieën over ernstige depressie hebben de rol benadrukt van een negatieve bias in de informatie-verwerking in de etiologie en het beloop van de aandoening. Een dergelijke emotioneel negatieve bias wordt zowel gezien bij de interpretatie als bij de opslag van emotionele informatie. Deze bevinding zou mogelijk kunnen wijzen op het bestaan van een emotionele bias voorafgaand aan de ontwikkeling van een klinische depressie en op die manier gezien kunnen worden als een risicofactor voor de verdere ontwikkeling van deze ziekte. Om te onderzoeken of de emotionele bias vooraf gaat aan de ontwikkeling van een depressie is het noodzakelijk om mensen te onderzoeken met een verhoogd risico op angst en depressie, maar die geen depressie of angst diagnose hebben. Tot op heden zijn functionele MRI studies, waarbij de deelnemer een bepaalde neuropsychologische test uitvoert tijdens het scannen, schaars, in groepen met een hoog risico op depressie en angst. De studies die beschikbaar zijn hebben zich voornamelijk gericht op het uitvoerende ofwel executieve functioneren.

In de studie beschreven in dit hoofdstuk, boden de performance data geen ondersteuning voor het bestaan van een negatieve emotionele respons bias in deelnemers met een hoog risico op angst en depressie. Op neuronaal niveau, echter, werd verhoogde activiteit gevonden in de linker frontale gyrus inferior op negatieve woorden bij deelnemers met een hoog risico, hetzij door middel van genetische-, hetzij door middel van omgevingsfactoren. Dit was het meest opvallend tijdens de herkenningstaak. Met andere woorden, genetische en omgevingsfactoren leken te convergeren. Dit kan betekenen dat verhoogde activering van de linker frontale gyrus inferior in een herkenningstaak met behulp van emotioneel geladen woorden, gebruikt zou kunnen worden als een kwetsbaarheidsmarker voor angst en depressie, ongeacht de onstaanswijze.

#### Deel B: Structurele Neuroimaging

In hoofdstuk 4 werd bij tweelingen met een hoog risico op angst en depressie een volume vermindering waargenomen in de temporaalkwab, met name in de linker posterior hippocampale regio. Echter, dit werd uitsluitend gevonden bij tweelingen met een hoog risico door omgevingsfactoren. Een

groepsvergelijking tussen hoog en laag concordante paren, welke meer verschillen in genetische kwetsbaarheid weergeeft, liet geen volume vermindering zien in de temporaalkwab en de hippocampus posterior in de paren met een hoog risico op angst en depressie. Deze resultaten geven aan dat schade aan de structuren van de temporaalkwab specifiek zouden kunnen zijn voor een omgevingsgedreven pathogenese van angst en depressie. De volgende mogelijk verklaringen voor deze resultaten werden overwogen. De discordante tweelingen met hoog risico voor angst en depressie rapporteerden vaker, en ernstiger blootstelling aan life stressors vroeg in het leven. In lijn met de glucocorticoid(stresshormoon)-cascade-hypothese, zouden deze life stressors zeer wel verantwoordelijk kunnen zijn voor een deel van de omgevingseffecten op de grijze stof van de temporaal kwab, met name de hippocampus regio, welke een hoge dichtheid aan glucocorticoid receptoren heeft. Een alternatieve verklaring is epigenetische herprogrammering. Epigenetische herprogrammering kan in genetisch identieke tweelingen leiden tot grote fenotypische divergentie door het selectief onderdrukken of stimuleren van expressie van bepaalde genen. Er zijn opmerkelijke verschillen in gen-expressie profiel gevonden in met name oudere tweelingen.

Epigenetische drift is dus een potentiële bron voor het ontstaan van discordantie in de amygdala activiteit, de volumina van de linker temporaal kwab en het risico op angst en depressie. Ten slotte is het mogelijk dat beide verklaringen convergeren en dat life stress en de hypothalamus-hypofyse-bijnierschors (HPA)-as activatie op een of andere manier een directe impact hebben op epigenetische herprogrammering. Toekomstige (longitudinale) studies zouden gericht kunnen zijn op deze belangrijke vragen.

### Samenvatting sectie C

#### *Moleculaire Neuroimaging*

NK1-receptoren zijn betrokken bij diverse neuropsychiatrische en andere aandoeningen, en zijn potentieel belangrijke targets voor de ontwikkeling van geneesmiddelen, omdat ze een rol spelen in o.a. angst, depressie en pijn perceptie.

R116301 is een selectieve antagonist met hoge affiniteit voor de NK1 receptor. In **hoofdstuk 5** is een verkennende studie (pilot) uitgevoerd bij drie gezonde vrijwilligers, ter evaluatie van [<sup>11</sup>C]R116301 als een potentiële PET ligand voor de NK1 receptor, waarbij met name de aanwezigheid van een specifiek signaal werd onderzocht. Dit werd gedaan met behulp van twee dynamische [<sup>11</sup>C]R116301 scans met een duur van 90 minuten. De tweede scan bij dezelfde vrijwilliger vond 5 uur na de start van de eerste scan plaats, vóór en na een orale dosis van 125 mg aprepitant, waarmee het specifieke signaal geblokkeerd zou moeten worden. De data uit deze scansessies werden geanalyseerd door de ratio te nemen van de opname in het striatum en het cerebellum (de kleine hersenen), met behulp van gestandaardiseerde waarden voor opname (SUV). Het striatum is de regio met de hoogste dichtheid aan NK1 receptoren. Het cerebellum is juist een regio zonder NK1 receptoren, en kan om die reden als referentie regio fungeren. Baseline (scan zonder interventie) SUV ratios op 60-90 minuten na

injectie varieerden van 1,22 tot 1,70. Na toediening van aprepitant werd volledige blokkade van dit specifieke signaal bereikt. De toediening van aprepitant had geen significante invloed op de opname in het cerebellum, hetgeen de afwezigheid van NK1-receptoren in het cerebellum bevestigd. Deze voorlopige resultaten geven aan dat [<sup>11</sup>C]R116301 mogelijkheden biedt als een radioligand voor de *in vivo* evaluatie van NK1-receptoren in de humane hersenen.

Omdat een specifiek signaal werd gevonden in hoofdstuk 5, beschrijft **hoofdstuk 6** de evaluatie van verschillende kwantitatieve uitkomstmaten van [<sup>11</sup>C]R116301 binding in gezonde vrijwilligers met behulp van zowel de data van de blokkade studie als de data van een test-retest studie met als doel het meest geschikte model voor kwantificatie te vinden. Zoals eerder beschreven werden er twee dynamische [<sup>11</sup>C]R116301 scans uitgevoerd met een duur van 90 minuten, waarbij de tweede scan 5 uur na de start van de eerste scan plaatsvond in 11 gezonde vrijwilligers. De data uit hoofdstuk 5, de eerste 3 gepaarde PET scans uit de blokkade studie (vóór en na een orale dosis van 125 mg aprepitant) werden gebruikt voor verdere analyse, terwijl bij de andere 8 gepaarde PET scans geen interventie werd uitgevoerd (test-retest). De conclusie was dat de meest stabiele resultaten werden verkregen met een methode die 'simplified reference tissue model' wordt genoemd, afgekort SRTM. Deze methode heeft in principe het voordeel dat het afnemen van bloed uit de polslagader niet noodzakelijk is. Hierdoor is het scannen minder belastend voor vrijwilligers. Gebruik makend van deze methode, lieten de test-retest resultaten goede variabiliteit zien ( $14,0 \pm 10,7\%$ ) en uitstekende betrouwbaarheid (ICC intraclass correlatiecoëfficiënt = 0,93) voor SRTM afgeleide  $BP_{ND}$ , een maat voor binding van de ligand aan de receptor. De ratio van striatum en cerebellum SUV minus 1, een benadering van  $BP_{ND}$ , bleek een uitstekende variabiliteit ( $6,2 \pm 3,1\%$ ) met een uitstekende betrouwbaarheid (0,98) te laten zien en correleerde goed met SRTM ( $r^2 = 0,96$ ), met een acceptabele (15%) bias. Tot slot, SRTM bleek het optimale model om [<sup>11</sup>C]R116301 binding te kwantificeren, terwijl semi-kwantitatieve methoden zoals SUV ratios gebruikt zouden kunnen worden voor standaard klinische toepassingen in de toekomst.

### Conclusie

De belangrijkste resultaten van dit proefschrift waren dat genetische- en omgevingsrisicofactoren voor angst en depressie van invloed kunnen zijn op gedeeltelijk verschillende hersenstructuren (amygdala en hippocampus), maar dat deze risicofactoren ook kunnen convergeren op dezelfde hersenstructuur (frontaal kwab). Daarom zou toekomstig beeldvormend onderzoek in de hersenen bij angst en depressie moeten worden uitgevoerd bij vrijwilligers die geselecteerd zijn op een ofwel genetisch ofwel omgevings bepaalde risicofactor.

Toekomstige studies met een zelfde design zouden functionele, structurele MRI en moleculaire neuro-imaging kunnen toepassen op andere neuropsychiatrische stoornissen die ook gebaseerd zijn op een gecombineerde genetische en omgevings gedreven etiologie.