

Nederlandse samenvatting

Functionele genetica van pre-eclampsie: het Nederlandse ontvankelijkheidsgen *STOX1*

Dit proefschrift beschrijft de identificatie van *STOX1*, het gen, gevonden in Nederlandse vrouwen, dat ontvankelijkheid voor pre-eclampsie tot gevolg heeft. Pre-eclampsie is de meest voorkomende zwangerschapsgebonden ziekte die voorkomt in 5-8% van alle zwangerschappen en de grootste veroorzaker van moederlijke en foetale ziekte en sterfte. De moederlijke verschijnselen ontstaan vanaf de 20^{ste} week van de zwangerschap en bestaan uit een hoge bloeddruk die tijdens de zwangerschap ontstaat en eiwituitscheiding in de urine. Het ontstaan van de ziekte kan echter gevonden worden in het begin van de zwangerschap wanneer de placenta ontstaat. In de vroege placenta invaderen foetale extravilleuze trofoblast cellen, dit zijn trofoblast cellen die buiten de villi gelegen zijn, het moederlijke baarmoederweefsel naar het binnenste deel van de spierlaag van de baarmoeder om ontwikkeling van de placenta en implantatie van de foetus te bewerkstelligen. Hierdoor kan de foetus de benodigde voedingsstoffen ontvangen en afvalstoffen kwijtraken. De extravilleuze trofoblasten die het baarmoederweefsel binnendringen, bereiken uiteindelijk de moederlijke spiraalvaten en veranderen deze in vaten met een hoge capaciteit en lage weerstand. Omdat deze fysiologische verandering bewerkstelligd wordt door foetale cellen kan de foetus in wezen zijn eigen voedselvoorziening reguleren. In pre-eclampsie is deze invasie van extravilleuze trofoblast cellen onvolledig, welke leidt tot verlaagde bloedstroom in de placenta en het vrijkomen van vasoactieve en andere stoffen in de bloedbaan. De moeder zal dit proberen te compenseren, welke uiteindelijk vanaf de 20^{ste} week leidt in de moeder tot falen van meerdere organen inclusief verhoogde bloeddruk door het vrijkomen van de vasoactieve stoffen.

Er kan onderscheid gemaakt worden tussen late en vroege pre-eclampsie waarbij de late vorm na de 34^{ste} week optreedt en ontstaat door de interactie tussen een normale placenta en een al bestaande moederlijke verminderde lichamelijke gesteldheid. De vroege vorm die ontstaat vóór 34 weken start met abnormale vorming van de baarmoeder zoals hierboven beschreven, heeft een hoog herhalingsrisico, gaat vaak samen met groeivertraging van de foetus in de baarmoeder en heeft binnen families een duidelijke genetische component.

In verschillende populaties hebben genetische studies naar pre-eclampsie plaatsgevonden waaronder ook in de Nederlandse. Deze 'genome-wide linkage' analyse was gepubliceerd in 2001 en beschreef een tweetal chromosomale gebieden, 10q en 22q, welke geassocieerd werden met pre-eclampsie. Deze associatie was echter alleen een trend en nog niet significant. Dit alles is beschreven in **Hoofdstuk 1**.

De associatie met chromosoom 10q en 22q gevonden in Nederlandse pre-eclamptische vrouwen is verder geanalyseerd, welke beschreven is in **Hoofdstuk 2**. Dit hoofdstuk beschrijft ook de ontdekking van een 'parent-of-origin' effect in het chromosomale gebied gelegen op 10q22. Bij een 'parent-of-origin' effect is er een onderscheid in de allelen (omdat alle genen in tweevoud aanwezig zijn is een allel de vorm van één van de genen) welke van de moeder en welke van de vader zijn geërfd. Een van de mogelijkheden voor een 'parent-of-origin' effect is 'imprinting' waarbij het allel van de moeder of de vader een markering (een 'imprint') heeft. Hierdoor vindt er een remming van transcriptie (afschrijving van het DNA waardoor er uiteindelijk van het gen een eiwit gemaakt kan worden) plaats van dat specifieke allel. Eén gen dat gelokaliseerd is in het chromosomale gebied beschreven in hoofdstuk 2, *CTNNA3*, was inderdaad onderhevig aan 'imprinting', maar alleen in specifieke celtypes, beschreven in **Hoofdstuk 3**. Dit gen was echter niet het gen welke de chromosomale associatie met pre-eclampsie zou kunnen verklaren. Een ander gen kon dit echter wel, beschreven in **Hoofdstuk 4**. Dit hoofdstuk beschrijft de ontdekking van *STOX1*, een gen dat behoort tot de 'winged helix' gen familie. 'Winged helix' genen zijn voornamelijk transcriptie-factoren (eiwitten die de genen afschrijven). Een grote subfamilie binnen deze gen familie zijn de 'forkhead' (*FOX*) genen welke een vergelijkbaar 'winged helix' eiwitdomein bezitten als *STOX1*, dit domein zorgt voor de binding van de transcriptie-factor aan het DNA. Dit hoofdstuk beschrijft ook een mogelijke geassocieerde functie voor *STOX1*, er werd namelijk overvloedige expressie gevonden in de kernen van zogenaamde polyploïde cellen. Deze cellen zijn groter dan normale cellen omdat bij deling alleen de chromosomen delen en dus vermeerderen terwijl de cel zelf dit niet doet. In trofoblast cellen gaat dit proces samen met het veranderen van een invasief fenotype naar een niet-invasief fenotype.

Hoewel *STOX1* ook een 'parent-of-origin' effect laat zien is er geen 'imprinting' gevonden, beschreven in **Hoofdstuk 5**. Het 'parent-of-origin' effect zou mogelijk veroorzaakt kunnen worden door genen die in de signaaltransductie route (het doorgeven van signalen binnen een cel, voornamelijk via eiwitten) van *STOX1* liggen en wel onderhevig zijn aan 'imprinting'. Een andere mogelijkheid is dat de 'imprint' van *STOX1* niet in de buurt van *STOX1* zelf ligt maar bij een ander gen. Hierbij zouden de histonen (eiwitten waaromheen het DNA in de kern van de cel gewonden is) rondom *STOX1* wel een ander methylatie en acetylactie patroon moeten laten zien (eiwitten kunnen op bepaalde stukken extra functionele groepen, bijvoorbeeld een methyl- of een acetylgroep, hebben zitten). Dit is tot nu toe niet gevonden, maar als het een celtype specifiek effect is zoals bij de 'imprinting' van *CTNNA3* (Hoofdstuk 3) kan 'imprinting' van *STOX1* zelf nog niet worden uitgesloten.

STOX1 heeft de mogelijkheid andere genen te activeren, welke beschreven is in **Hoofdstuk 6**. Twee genen, *CTNNA3* en *LRRTM3*, de laatste gelegen in het intron (stukje van het gen wat uiteindelijk afgesplitst wordt en waar dus geen eiwit van gemaakt wordt) van *CTNNA3*, worden allel-afhankelijk geactiveerd door *STOX1*. Hierbij laat het *STOX1* wildtype minder activatie zien dan de Y153H mutante vorm, de vorm gevonden in Nederlandse pre-eclampsische vrouwen beschreven in hoofdstuk 4. Deze effecten werden alleen waargenomen in vroege extravilleuze trofoblasten en niet in trofoblasten afkomstig van een placenta van een voldragen zwangerschap en lijkt dus te duiden op een celtype specifiek effect. *CTNNA3* is betrokken bij de cel-cel adhesie (mechanisme waarbij twee cellen bij elkaar worden gehouden), welke verhoogd is in pre-eclampsische placenta's. Hoofdstuk 6 kijkt verder nog naar de signaal transductieroute die de regulatie van *STOX1* verzorgt. Dit lijkt de PI3K-Akt route te zijn, ook gevonden voor leden van de *FOX* genen.

Hoofdstuk 7 beschrijft *STOX1* in relatie tot een andere ziekte, namelijk de late vorm van de ziekte van Alzheimer (LOAD). Alzheimer wordt gekarakteriseerd door de formatie van amyloide plaques (afzettingen van amyloid eiwit) en neurofibrillaire 'tangles' van het tau eiwit (knopen van dunne draden tau eiwit in de neuronen) in de hersenen van een patiënt. Hoewel pre-eclampsie en LOAD twee volledig verschillende ziektes zijn is de chromosomale associatie van LOAD ook gelegen op hetzelfde chromosoom gebied als pre-eclampsie.

STOX1 expressie bleek verhoogd te zijn in de hippocampus (hersengebied betrokken bij het opslaan van nieuwe herinneringen) van LOAD patiënten. *STOX1* lijkt betrokken te zijn bij de vorming van amyloid β uit het amyloid precursor proteïne (APP). Ook in neuronale cellen wordt *LRRTM3* door *STOX1* geactiveerd. *LRRTM3* op zijn beurt activeert *BACE1*, de β -secretase die APP doormidden knipt wat leidt tot verhoogde amyloid β spiegels wat weer leidt tot amyloide plaques. De activatie van *LRRTM3* door *STOX1* is niet afhankelijk van het allel, waarmee opnieuw het celtype specifieke effect van *STOX1* in extravilleuze trofoblasten benadrukt wordt. Verder beschrijft dit hoofdstuk de expressie van *STOX1* in de microtubuli (buisvormige eiwitstructuren, van essentieel belang bij de celdeling) van delende cellen. Dit is in overeenkomst met de vondst dat *STOX1* tot expressie komt in polyploïde cellen.

Hoofdstuk 8 beschrijft vervolgens de veranderende kijk op de genetica van pre-eclampsie in een breder perspectief. In **Hoofdstuk 9**, ten slotte, worden alle resultaten nogmaals samengevat en bediscussieerd.

Concluderend kan er gesteld worden dat het van belang is dat de volledige signaal transductieroute rondom *STOX1* en daarmee de functie van *STOX1* wordt opgehelderd, zoals onder andere in trofoblast invasie en de cel cyclus. Dit zou tevens de chromosomale locaties gevonden in andere populaties kunnen ophelderen en andere factoren kunnen identificeren die het volledige pre-eclampsische fenotype kunnen verklaren wat niet mogelijk is met de *STOX1* Y153H mutatie alleen. Het *STOX1* eiwit laat al een verhoging van expressie zien in mensen waar nog geen dementie was geconstateerd. Hiermee geeft *STOX1* dus de mogelijkheid om vroege pathofysiologische veranderingen te herkennen in het ontstaan van Alzheimer. Maar *STOX1*, evenals *CTNNA3* en *LRRTM3*, zullen vanwege het celtype specifieke effect niet kunnen fungeren als biomarker voor pre-eclampsie, de opregulatie zal gemaskeerd worden door andere celtypes die dit effect niet of in andere mate vertonen. Als er uiteindelijk duidelijkheid komt wat er precies mis gaat in pre-eclampsie in de vroege zwangerschap zullen er ook mogelijkheden komen om deze ziekte te kunnen detecteren voordat de eerste verschijnselen optreden door middel van biomarkers, evenals in een vroeg stadium te kunnen ingrijpen middels medicatie en zo mogelijk de zwangerschap alsnog normaal te laten verlopen.