



UvA-DARE (Digital Academic Repository)

(Patho)physiological regulation of adult hippocampal neurogenesis

By seizures, glucocorticoids and microRNAs

Bielefeld, P.

Publication date

2017

Document Version

Other version

License

Other

[Link to publication](#)

Citation for published version (APA):

Bielefeld, P. (2017). *(Patho)physiological regulation of adult hippocampal neurogenesis: By seizures, glucocorticoids and microRNAs*. [Thesis, fully internal, Universiteit van Amsterdam].

General rights

It is not permitted to download or to forward/distribute the text or part of it without the consent of the author(s) and/or copyright holder(s), other than for strictly personal, individual use, unless the work is under an open content license (like Creative Commons).

Disclaimer/Complaints regulations

If you believe that digital publication of certain material infringes any of your rights or (privacy) interests, please let the Library know, stating your reasons. In case of a legitimate complaint, the Library will make the material inaccessible and/or remove it from the website. Please Ask the Library: <https://uba.uva.nl/en/contact>, or a letter to: Library of the University of Amsterdam, Secretariat, P.O. Box 19185, 1000 GD Amsterdam, The Netherlands. You will be contacted as soon as possible.

A.



Addenda



Nederlandse Samenvatting

Epigenetische regulatie van hippocampale stamcellen.

Bijna een eeuw lang werd er gedacht dat onze hersenen weinig flexibel zijn, zich niet goed kunnen repareren na beschadiging, en dat alle hersencellen die voor en rondom de geboorte gevormd zijn, nooit meer vernieuwd konden worden en derhalve ons leven lang mee moeten gaan. Recent is echter duidelijk geworden dat ook het humane brein nog stamcellen bevat, die tijdens het leven nog steeds nieuwe zenuwcellen vormen. Dit proces wordt 'adulte neurogenese' genoemd.

Deze stamcellen en het proces van neurogenese blijken een cruciale rol te spelen bij het verwerken van veranderingen vanuit de omgeving zoals leren en geheugen en de reactie op schade. Dergelijke structurele aanpassingen van het brein worden plasticiteit genoemd, en zijn cruciaal voor adaptatie en overleving van een individu. Plasticiteit is een brede paraplu-term voor meerdere processen en omvat o.a. de vorming van nieuwe hersencellen (structurele plasticiteit/neurogenese) of het modificeren van bestaande verbindingen tussen verschillende hersencellen of -gebieden (functionele plasticiteit). Beide vormen van plasticiteit komen voor in de hippocampus, een hersengebied dat betrokken is bij leren en geheugen, en welke is aangedaan bij hersenziektes als depressie, dementie en epilepsie.

Het feit dat hippocampale neurogenese is aangetast in o.a. deze ziektebeelden heeft een aantal belangrijke vragen opgeroepen; hoe wordt hippocampale neurogenese op moleculair niveau gecontroleerd? Wat gaat er precies mis met hippocampale stamcellen tijdens ziektes of stress? Hoe reageren nieuwgevormde hersencellen op normale of pathologische condities? En kan hippocampale neurogenese gestimuleerd en mogelijk ontwikkeld worden als een nieuw target voor klinische en therapeutische toepassingen?

Tijdens hippocampale neurogenese volgt een complexe cascade van gebeurtenissen elkaar op, welke begint met de stamcel die zich deelt en daarbij een nieuwe dochtercel vormt, terwijl de oorspronkelijk stamcel behouden blijft. De dochtercel kan zich dan tot vele andere vormen ontwikkelen, maar onder normale condities worden er vrijwel altijd nieuwe neuronen gevormd (neurogenese). Slechts een klein percentage van alle nieuwgevormde cellen vormen andere cel types, waaronder glia cellen zoals astrocyten en oligodendrocyten (astrocytogenese). Een goede balans in dit proces is cruciaal voor het functioneren van de hippocampus, en daarmee ook voor de cognitieve capaciteit van de hersenen.

Tijdens het gehele neurogenese proces ondergaat de stamcel verschillende overgangen of transities. Allereerst wordt de stamcel geactiveerd, waarna deze zich deelt en een nieuwe dochtercel ontstaat. Deze dochtercel deelt ook meerdere malen (proliferatie fase), waarna er een selectieproces volgt en een groot deel van de nieuwe cellen afsterft (apoptotische selectie). Vervolgens zullen de overgebleven nieuwe cellen bepalen welk celtype ze zullen worden (differentiatie fase) en zichzelf daarbij ontwikkelen tot specifieke typen volwassen cellen, die uiteindelijk nauw verbonden zijn met de cellen en het netwerk waarin ze zijn opgenomen (maturing/integratie fase).

Om deze transities tussen de verschillende fases van het neurogenese proces mogelijk te kunnen maken zijn nauwkeurige, complexe, en zeer snelle, moleculaire veranderingen nodig. Recent onderzoek heeft laten zien dat veranderingen aan het DNA, zogenoemde epigenetische veranderingen, hier een cruciale rol in kunnen spelen. Epigenetische modificatie kent vele vormen, bijvoorbeeld chromatine modificatie door DNA methylering

en inhibitie van mRNA translatie door microRNAs, twee processen die terug zullen komen in deze thesis.

Zoals eerder vermeld reageren stamcellen op veranderingen in de omgeving. Echter, wanneer deze veranderingen pathologisch en/of te sterk zijn, bijvoorbeeld in het geval van zeer ernstige stress of aandoeningen zoals epilepsie, verliest het brein de capaciteit om zich adequaat te kunnen aanpassen. Het gevolg hiervan is een ontregeling, of de-regulatie, van neurogenese, hetgeen zich uit in de productie van nieuwgevormde maar dysfunctionele cellen, of in de productie van verkeerde type hersencellen. Deze de-regulatie wordt “aberrante neurogenese” genoemd, en speelt waarschijnlijk een grote rol bij het verlies van cognitieve functies, zoals leren en geheugen, in bepaalde ziektebeelden, en mogelijk ook bij het ontwikkelen, en in stand houden, van het proces van epilepsie.

Hoe omgevingsveranderingen precies leiden tot verstoringen in neurogenese is niet goed bekend. In deze thesis probeer ik deze vraag te beantwoorden aan de hand van de volgende vragen. Allereerst proberen we te onderzoeken hoe epilepsie de expressie van belangrijke genen in de hippocampale stam cellen verandert, en wat de mogelijke gevolgen hiervan zijn voor de regulatie van het neurogenese proces. Met die kennis zouden we wellicht specifieke veranderingen in de stamcellen tijdens ziekte kunnen blokkeren en daarmee het verstoorde neurogenese proces weer kunnen herstellen.

Het tweede deel van deze thesis richt zich op de effecten van stress, specifiek op de rol van stress hormonen, in de regulatie van hippocampale neurogenese. Nog niet goed bekend is welke rol stress precies speelt bij de regulatie van neurogenese, en met name stam cellen, en wat de verschillen zijn tussen blootstelling aan milde stress en (pathologische) ernstige stress.

In **hoofdstuk 1** bespreek ik de gevolgen van de allereerste epileptische aanvallen op het functioneren van neurogenese en de nieuwgeboren hersencellen, en hoe dergelijke veranderingen bijdragen aan het al dan niet in stand houden van epilepsie, en daarmee aan de vorming van een epileptische, sclerotische, hippocampus. Tevens bespreek ik de hypothese dat de veranderingen in neurogenese, die plaatsvinden na de eerste epileptische aanvallen, wellicht een intrinsiek therapeutisch mechanisme van het brein zijn om verdere schade te beperken.

Vervolgens ga ik in op de moleculaire regulatie van neurogenese. Hierbij focus ik op microRNAs. MicroRNAs zijn zeer belangrijk voor vele verschillende fasen in het neurogenese proces. Tevens is de expressie van vele microRNAs sterk veranderd na het optreden van epileptische aanvallen.

In **hoofdstuk 2** beschrijven we een nieuw diermodel voor epileptische aanvallen, wat we hebben gevalideerd in samenwerking met 3 verschillende laboratoria. Eerder gebruikte, klassieke modellen voor epilepsie in de muis geven doorgaans alleen maar de mogelijkheid om zeer zware, zogenoemde convulsieve aanvallen, na te bootsen. Echter, wij zijn juist geïnteresseerd in de gevolgen van epileptische aanvallen van verschillende intensiteiten, omdat we verwachten dat dat verschillende effecten zal hebben op het neurogenese proces. Om dit te kunnen onderzoeken, hebben wij een nieuw diermodel ontwikkeld, waarin we gecontroleerd epileptische aanvallen van verschillende intensiteit kunnen opwekken. Verder laten we zien dat dergelijke aanvallen van verschillende intensiteit vervolgens ook leiden tot verschillen in hippocampale pathologie. Dit nieuwe

diermodel vormt de basis voor ons verdere onderzoek naar de cellulaire en moleculaire gevolgen van epileptische aanvallen in **hoofdstuk 3 en 4**.

Hoofdstuk 3 beschrijft een zogenoemde “multi-omics” aanpak om de effecten van epileptische aanvallen op zowel gen expressie, eiwit expressie en microRNA expressie in de hippocampus te bestuderen. Dit hoofdstuk bevat een werkprotocol en de verkregen dataset van onze experimentele studies, welke elders gepubliceerd zijn. De resultaten verkregen in deze multi-omics studie vormen de basis voor het verdere experimentele werk in **hoofdstuk 4**.

In **hoofdstuk 4** bestuderen we de effecten van epileptische aanvallen op verschillende stadia van het neurogenese proces. Door gebruik te maken van het diermodel uit **hoofdstuk 2** kunnen we nu voor het eerst laten zien dat de zwaarte van de epileptische aanval bepaalt in hoeverre het neurogenese proces wordt gedereguleerd. Verder tonen we aan dat sommige veranderingen, waaronder de toename in proliferatie, niet afhankelijk is van de ernst van het eerste epileptische insult, maar dat andere veranderingen, zoals de verkeerde localisatie van nieuwe hersencellen in de hippocampus, wel bepaald worden door de ernst van het eerste insult.

Vervolgens hebben we de ‘milde’ epileptische aanvallen verder bestudeerd; dit type epileptische aanvallen zijn non-convulsief en vrijwel niet bestudeerd in bestaande literatuur maar wel klinisch relevant. We laten zien dat milde aanvallen de differentiatiefase van het neurogenese proces verstoort, dwz de fase waarin nieuwe cellen bepalen welk cel type ze worden, maar dat de hippocampale stamcellen zelf ook aangetast worden; er treedt namelijk een verschuiving op naar de vorming van meer glia cellen, met name astrocyten, in plaats van neuronen. Hierbij gaan de stamcellen zelf verloren.

Vervolgens gebruiken we deze informatie en die uit de multi-omics studie in **hoofdstuk 3** om de rol van 2 belangrijke, specifieke microRNAs, tw microRNA-124 en -137, in dit proces te bestuderen. Door het toedienen van specifieke blokkers tegen deze microRNAs vlak na een epileptisch insult, kunnen we sommige aspecten van het neurogenese proces herstellen. Op grond hiervan concluderen we dat microRNA-124 en -137 een belangrijke rol spelen bij de regulatie van hippocampale stamcellen in reactie op een epileptisch insult.

In **hoofdstuk 5** bestuderen we de regulatie van neurogenese door stress. Het stress hormoon glucocorticoid wordt gedurende de dag in korte pulses van ongeveer een uur lang, afgegeven aan de bloedbaan. Een actuele hypothese is dat met name deze pulsatiele afgifte een belangrijke rol speelt in de regulatie van neurogenese. We tonen aan dat afwijkingen in glucocorticoid afgifte, door een constante in plaats van pulsatiele toediening aan stamcellen, ervoor zorgt dat de promoter regio van vele genen gemethyleerd wordt. Deze ‘promoter methylatie’ leidt vervolgens tot een andere respons van de hippocampale stamcellen als ze opnieuw blootgesteld worden aan glucocorticoiden. Dit suggereert dat een constant verhoogde blootstelling aan glucocorticoiden, zoals bij veel stress-gerelateerde aandoeningen voorkomt, (de dynamiek van) het neurogenese proces in de hippocampus verstoort.

Verder bestuderen we hoe veroudering zorgt voor een verlies aan neurogenese, en welke rol de stress hormoon receptor, de glucocorticoid receptor (GR) hierin speelt. De stamcellen in de hippocampus kunnen onderverdeeld worden in 2 verschillende populaties; een die wel de GR heeft, en een die deze receptor mist. Deze 2 verschillende

populaties stamcellen nemen beide af tijdens veroudering. Echter, de populatie die de GR tot expressie brengt, neemt veel langzamer af en deze cellen worden nog steeds gevonden op latere leeftijd, terwijl de populatie zonder GR al vrij snel compleet is verdwenen. Dit suggereert dat de GR wellicht een beschermende rol speelt bij het behouden van stamcellen op latere leeftijd.

In **hoofdstuk 6** gaan we dieper in op alle bevindingen die zijn gedaan in deze thesis, en proberen we deze in een bredere context te plaatsen samen met andere studies uit het veld rond deze thema's. Verder gaan we dieper in op toekomstige wetenschappelijke (vervolg-) studies, en een mogelijke therapeutische rol voor microRNAs bij epilepsie.



About the Author

&

List of Publications

About the author

Pascal Bielefeld was born on the 30th of november 1987 in The Hague. After moving several times he ended up in Tiel, where he completed his secondary education at the RSG Lingecollege.

In 2006 he started a Bachelors education in Biomedical Sciences at the Utrecht University, followed by a Masters education in Biomedical Sciences - Neuroscience & Cognition, also at the Utrecht University in 2010. During the first year of his Masters training he did a 9-month internship at the Biomedical MR Imaging and Spectroscopy department at the University Medical Center in Utrecht, lead by dr. Rick Dijkhuizen. Under supervision of Wim Otte he studied the effects of epileptic seizures, and subsequent hemispherectomy therapy, on neuronal reorganization in the rat brain, using (f)MRI. After finishing his first internship he wrote his master thesis at the University of Amsterdam, under supervision of dr. Carlos Fitzsimons, entitled: 'The dual role of seizure-induced granule cells: an integrative theory'. This thesis eventually resulted in the publication of his first review paper in The European Journal of Neuroscience. His second internship took place at the Wallenberg Neuroscience Center in Lund, Sweden. Here, under supervision of Professor Merab Kokaia and Fredrik Berglind, he studied potential optogenetic therapies that could be used to silence epileptic seizures. Both his internships culminated in the publication of a scientific paper, after which his mind was set on obtaining a PhD.

Pascal started his PhD at the University of Amsterdam in 2012, under supervision of Professor Paul Lucassen and Carlos Fitzsimons, at the Brain Plasticity department, where he studied the (patho)physiological regulation of adult hippocampal neurogenesis.

As of June 2017 he continued his research as a postdoctoral fellow in the same group, shifting topics to study the effects of traumatic brain injury on adult hippocampal neurogenesis as part of a large joined European collaboration - the REACT NSC, funded by the European Union.

List of Publications

Bielefeld P, Sierra A, Encinas J.M, Maletic-Savetic M, Anderson A, Fitzsimons C.P (2017). A standardized protocol for stereotaxic intrahippocampal administration of kainic acid combined with electroencephalographic seizure monitoring in mice. *Frontiers in Neuroscience* 11:160.

Bielefeld P, Schouten M, Lucassen P.J, & Fitzsimons C.P (2017). Transcription factor oscillations in neural stem cells: implications for accurate control of gene expression. *Neurogenesis* 4(1) [e1262934].

Beck H, **Bielefeld P**, Fitzsimons C.P (2017) Granule cells: Granule-cell properties in seizure discharge. In: *Reference module in Neuroscience and Biobehavioral Psychology*. Academic Press, Elsevier.

De Luca G.M.R, Desclos E, Breedijk R.M.P, Dolz-Edo L, Smits G.J, Nahidiazar L, **Bielefeld P**, Picavet L, Fitzsimons C.P, Hoebe R, Manders E.M.M (2017). Configurations of the Re-scan Confocal Microscope (RCM) for biomedical applications. *Journal of Microscopy*.

Bielefeld P, Mooney C, Henshall D, Fitzsimons C.P (2016). MiRNA-mediated regulation of Adult Hippocampal Neurogenesis; Implications for Epilepsy. *Brain Plasticity*.

Bielefeld P, Pustjens B, Schouten M, Fitzsimons C.P (2016) MiRNA-mediated regulation of adult hippocampal neurogenesis and implications for hippocampus-dependent cognition. In: *D. De Pietri Tonelli (Ed.), Essentials of noncoding RNA in neuroscience: ontogenetics, plasticity of the vertebrate brain*. Academic Press, Elsevier.

Schouten M, Papaloukas N, **Bielefeld P**, Fratantoni S.A, Fitzsimons C.P (2016). Epigenetic mechanisms regulating the transition from embryonic stem cells towards a differentiated neural progeny. In: *G. Steinhoff (Ed.), Regenerative Medicine - from protocol to patient -1*. Biology of Tissue Regeneration. -3rd edition (pp 151-173). Springer.

Schouten M, **Bielefeld P**, Fratantoni S.A, Hubens C.J, Piersma S.R., Pham T.V, Fitzsimons C.P (2016). Multi-omics profile of the mouse dentate gyrus after kainic acid-induced status epilepticus. *Scientific Data* 3 [160068]

Schouten M, Fratantoni S.A, Hubens, C.J, Piersma S.R, Pham T.V, **Bielefeld P**, Voskuyl R.A, Lucassen P.J, Jimenez C.R, Fitzsimons C.P (2016). MicroRNA-124 and -137 cooperativity controls caspase-3 activity through BCL2L13 in hippocampal neural stem cells. *Scientific Reports* 5 [12488]

Bielefeld P, van Vliet E, Gorter J.A, Lucassen P.J, Fitzsimons C.P (2014). Different subsets of newborn granule cells: a possible role in epileptogenesis? *European Journal of Neuroscience* 39(1), 1-11

Berglind F, Ledri M, Sorensen A.T, Nikitidou L, Melis M, **Bielefeld P**, Kirik D, Deisseroth K, Andersson M, Kokaia M (2014). Optogenetic inhibition of chemically induced hypersynchronized bursting in mice. *Neurobiology of Disease* 65, 133-41

Schouten M, Aschrafi A, **Bielefeld P**, Doxakis E, Fitzsimons C.P (2013). microRNAs and the regulation of neuronal plasticity under stress conditions. *Neuroscience* 241, 188-205.

Addenda

Otte W.M*, **Bielefeld P*** Dijkhuizen R.M, Braun K.P.J (2012). Focal neocortical epilepsy affects hippocampal volume, shape, and structural integrity: a longitudinal MRI and immunohistochemistry study in a rat model. *Epilepsia* 53(7), 1264-73 *equal contribution.

Awards

Best Preclinical Science Award - SWO midwintermeeting 2017, Nederlandse Liga tegen Epilepsie

Best Poster Award - Dutch Neuroscience Meeting, 2015



Dankwoord

Acknowledgements

Dear **Carlos**,

When I first started working for you 5 years ago I had only got to know you as a very friendly, helpful, thesis supervisor, who for some reason had high expectations of me and decided to hire me for a PhD position I never thought I would have. Already during the applications it became clear to me that working for you would be challenging. I was carelessly enjoying my springtime in Sweden, when I received an email stating to come to Amsterdam the next week and present a whole PhD proposal during the second round of job interviews. Preparing this, while also working a demanding internship, resulted in the first of many-to-follow sleepless nights over the next 5 years. Maybe, this should have been a warning sign, as it maybe should have been a warning sign when I heard that your reputation among students at the university did not match my idea of you as a person (I never forget the moment you came to see me to tell me you made a student cry and you did not know how to act). Luckily, I soon found out that your strict attitude in class and group meetings, and the tough questions that accompany that attitude, are just your way of training people to be as critical as they can be, all in the name of science. Behind this critical, sometimes “grumpy” man, there is a second version of you that maybe not all people get to see and know, but who I have come to appreciate greatly. You have always had my back, and were there for me when things were tough. You may come across as a guy who always puts work first, but you were also the one who told me to take time off and be with my family for as long as I wanted when things weren’t going that great.

Looking back, I can wholeheartedly say I have never regretted the decision of accepting your offer. If there’s one thing you taught me it’s to always stay positive when facing challenges. Even though the first 2 years were rough, and most things seemed to fail, you always believed things would change for the better, and more importantly you always kept believing in me. We have had our struggles on the workfloor, and the off hour experiments Marijn and I carried out couldn’t always get your approval right away, but I’m glad everything turned out the way it did and I think we can be very proud of what we have established over the past years, especially considering the small group of people we had to do it with.

Another downside of working in such a small group reflected majorly in the financial situations you had to fight, but you never gave up and look where we are now! You have landed another amazing grant, which I hope we together will turn into something amazing once again! Thank you for everything you have done for me in the past 5 years, I wouldn’t be the person that I am now without you, and I certainly wouldn’t be the scientist that I am now!

Beste **Paul**,

Als eerste wil ik je bedanken voor de kans die je mij gegeven hebt door mij 5 jaar geleden uit te kiezen uit een grote groep sollicitanten. Ik had nooit gedacht dat 1 sollicitatie genoeg zou zijn om een PhD positie te bemachtigen, en tot op vandaag vraag ik me nog wel eens af hoe ik door de verschillende rondes heen ben gekropen. Terugkijkend op de afgelopen 5 jaar heb ik ontzettend veel geleerd, waarvoor ik ook jou onwijs dankbaar ben.

Ook wil ik je bedanken voor alle moeite die je hebt gestopt in het verdedigen van mijn positie in de DB. Het was door mijn grote mond niet altijd even makkelijk om mijn baas te zijn, en dit heeft tot de nodige confrontaties geleid. Ik ben je erg dankbaar dat je mijn positie altijd hebt verdedigd, en we er samen voor hebben gezorgd dat uiteindelijk alles

soepel is verlopen.

Zoals altijd gaat het afronden van ook deze thesis weer samen met een hele hoop stress en chaos, mede doordat de zomervakantie weer eens een periode bleek te zijn waarin mensen niet per se het best bereikbaar zijn of het snelst werken. Dank voor al je hulp met het halen van alle deadlines, en het kalmeren van mijn zenuwen. Ik hoop dat we in de komende 3 jaar onze succesvolle samenwerking kunnen blijven voortzetten!

Beste **Marijn**,

Waar te beginnen? Als paranimf ben je samen met Carlos de enige die vanaf dag 0 tot nu deel uitmaakt van mijn PhD avontuur. Uiteraard wil ik je bedanken voor alle hulp en de fantastische tijd die we hebben gehad als klein Fitzsimons labje. Toen ik 5 jaar geleden begon was jij al een tijdje op weg, en had je als een ware baas het hele lab opgezet op science park. Helaas, voor mij, had je niet de technieken opgezet die ik nodig had, maar jouw ervaring in het opzetten van totaal nieuwe technieken in een lab waar niets aanwezig was bleek enorm waardevol. Met name de mental, en liquid, support heb ik altijd enorm gewaardeerd. Samen hebben we 4 jaar lang de UvA op stelten gezet, zowel op de werkvloer als daarbuiten.

Ik ben blij dat ik jou altijd als senior PhD voorbeeld heb gehad, al was het alleen maar om onze gedeelde vreemde werktijden, onze voorliefde voor uitslapen en koffiepauzes, een sterke neiging om overal waar we kwamen de bar op te zoeken, en een totaal gebrek aan opruim skills. Werken in onze gezamenlijke teringzooi ging ons altijd erg goed af, tot het moment dat anderen besloten ook ineens moleculair werk te willen doen, en wij ons labje moesten gaan delen. Opruimen is echter iets wat we nooit geleerd hebben...

Terugkijkend op de eerste jaren van mijn PhD kan ik me niet heel veel meer herinneren, wat voor een groot deel toch ook zeker jouw schuld is. Ik weet vrijwel zeker dat we net zoveel tijd in de kroeg en club hebben doorgebracht als op het lab, en onze spontane doordeweekse stapavondjes in de 80 en de trouw waren meer vaste prik dan spontaan te noemen.

Ondanks dit alles zijn we er samen toch maar mooi in geslaagd onze PhDs succesvol af te ronden, en hebben we tussen de katers door een aantal mooie experimenten bedacht en uitgevoerd. De interne strijd met Carlos, die meestal gewoon opgelost werd door onze ideeën stiekem in onze eigen vrije avonden uit te voeren, heeft uiteindelijk tot een zeer grote en belangrijke data set geleid die beiden onze boekjes vorm (of juist geen vorm?) heeft gegeven. Het was enorm fijn om met jou een team vormen, en ik ben je enorm dankbaar voor alles wat je me hebt geleerd. Wie weet kruizen onze paden in de toekomst nog eens, en kunnen we dit nog eens overdoen!

Beste **Jan en Gideon**,

De technicians waar niemand zonder kan! Bedankt voor al jullie hulp de afgelopen jaren, en sorry voor alle teringzooi waar jullie je doorheen hebben moeten worstelen. Samen zorgden jullie ervoor dat alles in het lab op rolletjes liep, al waren die rolletjes door overmacht (lees: inkoop, UvA, DB), soms ver te zoeken. Ik wil best beloven dat ik de komende 3 jaar beter mijn best zal doen alles netjes achter me te laten, maar ik weet net zo goed als jullie dat ik deze belofte waarschijnlijk toch wel zal verbreken. Ik zal mijn best doen!

Addenda

Dear students of mine (**Ilse, Pablo, Diede, Lynnet, Alisa, Sedef, Anneke, Ruth, Karlijne, Marit, Emma, Junlin**),

Over the past 5 years I've had the privilege to have you as my students, and I can only say it has been a great time. Each and every one of you worked hard, and I think we can all agree that you guys all delivered excellent work. For some of you this means that your work has already been published, while for others it will be soon. Unfortunately not all of your work was as fruitful as we hoped it to be, but as they always say: "That's science". I hope I've been able to show you that science, besides being super frustrating, can also be a lot of fun! Thank you very much for all the work you put in. I wish you all the best in your future careers, and I hope to see you all back at some point somewhere.

Lieve **Eva**,

Onze die-hard Lucassen lab member. Je was er al toen ik begon, en je bent er nog steeds. Ooit komt er een dag dat zelfs jij zal vertrekken, maar voorlopig heb ik nog het genoeg om met je samen te mogen werken. Bedankt voor alle steun de afgelopen jaren. Omdat je enige tijd op me voor liep wist je me precies te vertellen wat me te wachten stond, en wanneer er wat mental support nodig was. Ook de wijntjes waren een zeer welkome afleiding! Nu we samen super volwassen post-docs zijn hebben we de partydagen achter ons gelaten, maar ik weet zeker dat er nog genoeg gezelligheid zal volgen!

Lieve **Kit**,

Je was de eerste nieuwe PhD die na mij kwam, en daarom ook een soort van mijn eerste kindje voor wie ik een rolmodel moest zijn. Gelukkig hield je ook van bier, wijn, en feestjes, wat dit een stuk makkelijker maakte. Onze avonturen op congressen zijn legendarisch en zullen nooit vergeten worden (en om je nog te vriend te houden zullen ze hier ook niet gedeeld worden). Je vertelkunsten zijn beroemd binnen het SILS, hoewel het nog nader te bepalen is of dit positief of negatief opgevat dient te worden. Een verhaaltje van Kit duurt al snel 30 minuten, waarna je eigenlijk nog steeds niet weet waar het nou daadwerkelijk over ging. Desalniettemin zal ik je oneindige verhalen, en jou, gaan missen. Terwijl ik dit schrijf ben je zelf ook aan het strugglen om je boekje af te krijgen. Er rest mij niets meer dan je hier heel veel succes mee te wensen (je zal het nodig hebben), je te bedanken voor 4 fantastische jaren, en je een hele mooie tijd in Nashville te wensen.

Lieve **Lianne**,

Jij was de volgende die het lab kwam binnenwandelen, en ook jij pastte prima binnen ons alcoholische gezelschap. Het pastte zelfs zo goed dat alle feestjes ertoe geleid hebben dat je een semi-Fitzsimons member werd door Marijn aan de haak te slaan. Samen hebben we mooie avonturen beleefd op congres, waarvan Route28 toch wel een hoogtepuntje was. Ik denk niet veel mensen kunnen zeggen dat een heel congres door hun toedoen is verplaatst van de zomer naar de winter periode, alleen maar om de overlast van iets te gezellige PhD studenten op het eiland te verminderen. Verder moet ik je nog speciaal bedanken voor de vrijheid die je me hebt gegeven om te "netwerken" met het Karolinska instituut, en de gratis upgrade van stapelbed in een hostel naar luxe hotelkamer die ik daaraan over heb gehouden. Ook jou wil ik heel veel succes wensen met het afronden van je thesis, al twijfel ik er geen moment aan dat dit bij jou, als super georganiseerde machine, van een leien dakje zal verlopen.

Dear **Hui**,

When I met you at first I thought you were the typical Chinese scientist who came to Europe just to work. You were always in the lab in the evening, and taking naps in the afternoon. It didn't take long before I actually got to know the other side of you. You

were one of the funniest guys I've ever met, even though your drunk jokes were always on the edge of being a little bit too much... Thank you for a great time, and all the best in your Post-Doc!

Dear **Sofia** (malaka),

You have been gone for a while now, but you were there from the moment I started. Like Hui, you are a person with 2 completely different sides. In the lab there was always the stressed, OCD-like Sofia, who wanted to do everything in her own way. This sometimes caused issues with some people, which was something we could really bond over, since I have the tendency to do the same;) But outside of work, I got to know the other side of you, and we shared many great memories. Thank you for the great times we had at festival, bars, dinners, and spontaneous nights out. Now that you're back in the Netherlands, I hope we will see each other again some time soon!

Lieve **Mara**,

Geen betere plek dan deze om je bedanken voor een geweldige tijd, en om sorry te zeggen voor het feit dat je tegenover me hebt moeten zitten de afgelopen jaren. Als best wel heftige OCDer moet het een hel voor je zijn geweest om op mijn bureau uit te kijken, maar je hebt je kranig geweest. Misschien kunnen we kijken of we met de verhuizing je uit je lijden kunnen verlossen? Net als alle anderen in de groep hou jij ook wel van een drankje, wat tot menig mooie momenten heeft geleid. Vooral de Nasty heeft het zwaar moeten ontgelden, ook al hebben we de schilderijen daar nog net uit je kleptomane handjes kunnen redden. Ook voor jou begint het einde in zicht te komen, en mocht je het zwaar krijgen en nog wat wijntjes nodig hebben, ik ben er voor je!

Lieve **Sylvie**,

Vanaf het moment dat je bij de groep kwam, en je in de gelukkige positie kwam een kantoor met mij te moeten delen, was het duidelijk dat ik prima met je overweg zou kunnen. We hebben allebei een vrij sterke mening en een grote mond, iets waar niet iedereen altijd even goed tegen kan. Het was fijn iemand erbij te hebben die ook niet bang was om dingen aan te pakken, en mijn kleine beetje tact dat ik bezit heb ik deels van jou geleerd. Ook jouw tijd zit er zo goed als op, waarmee er een einde gaat komen aan onze generatie PhDs. Heel veel succes met de laatste loodjes, en de volgende stap in je carrière!

Lieve **Silvie en Kitty**,

Als laatste aanwinsten van de groep ligt het lot nu in jullie handen. Nog even en alle senior PhDs zijn er van door en vanaf dat moment zullen jullie het voorbeeld moeten zijn voor een nieuwe generatie. In het jaar dat jullie er nu zijn hebben we helaas niet heel veel kunnen delen omdat dit boekje toch echt een keer af moest, maar we hebben nog jaren om hier iets aan te doen! Het was fantastisch om met jullie naar Bordeaux te gaan, en ik hoop nog vele gezellige congressen samen mee te maken.

Beste **Chris, Rob, en Miriam**,

Dank jullie wel voor alle support met alle muis-gerelateerde zaken. **Chris**, zonder jou geen (levende) muizen, en zonder muizen, geen wetenschap. Dank je wel voor het draaiende houden van de stallen, en voor al je hulp met de DMII. **Rob en Miriam**, we hebben onze struggles gehad, en het is niet altijd even makkelijk geweest. De combinatie van ethisch lastig onderzoek, onze karakters, en mijn rommelige administratie skills, hebben tot enkele problemen geleid, maar ik ben blij met hoe we hier altijd met zijn allen uit zijn gekomen. Het heeft wat extra bloed, zweet, en tranen gekost, maar uiteindelijk kunnen

Addenda

we het er denk ik over eens zijn dat er mooi werk is geleverd, en ik ben jullie dankbaar voor alle hulp die jullie geleverd hebben. Nu breekt er een nieuw hoofdstuk aan, en zullen we de komende tijd nog veel van elkaar afhankelijk zijn. Ik hoop dat we onze fijne samenwerking zo kunnen doorzetten!

Dear **Aniko and Harm**,

Being the other PIs within our group, we have not had that much contact but I would like to thank you for all your input on my work over the past years. During our labmeetings you have always provided me with new insights, and I hope that this will stay the same in the coming years!

Beste **Ricardo, Willemieke, Erik, Guido, Dmitri en Lars**,

De harde kern van het feest gespuis op de UvA in de eerste jaren! Waar er van bovenaf altijd wordt geroepen dat de verschillende CNS groepen beter moeten mixen, denk ik dat onze vele avonturen bewezen hebben dat dit geen probleem zou hoeven zijn. Bedankt voor alle mooie nachtelijke avonturen, waarvan er ongetwijfeld, tot mijn grote schrik, nog wat fotos gedeeld zullen worden op het feest!

And to all other people at SILS that I've had the pleasure to work with, thank you all for everything I've learned and for the great times I had!

Naast alle collega's is er nog een grote groep mensen die ik moet bedanken voor alle steun en afleiding die ik de afgelopen jaren gekregen heb, en zonder wie ik deze 5 jaar nooit overleefd zou hebben.

Lieve **Bart en Tessa**,

Als sinds dag 1 van de Neuroscience master, inmiddels ruim 7 jaar geleden, mag ik jullie tot mijn beste vrienden rekenen, waarvoor ik enorm dankbaar ben. Samen hebben we vele avonturen gedeeld, welke altijd weer een zeer welkome afleiding waren van de PhD sleur. De vakanties, de (afgelaste) festivals in het buitenland, de vele bier- en wijnproeverijen, en de heerlijke etentjes hebben ervoor gezorgd dat het behalve hard werken ook zeker genieten was! Helaas kon er maar 1 de paranimf zijn, maar jullie verdienen het allebei! Met de jaren kwamen ook de relaties, en met relaties kwamen **Lau en Mat**. Ook jullie bedankt voor alle mooie avonturen de afgelopen tijd!

Uiteraard kan ik dit moment ook niet voorbij laten gaan om alle Amsterdammers te bedanken die de afgelopen jaren mijn leven een stuk leuker hebben gemaakt. Lieve **Kat, Akke, Dorine, Caseysimone, en Daisy**. Bedankt voor alle gezelligheid en voor het aanhoren van mijn depressieve verhalen over het leven als een PhD student. Dankzij jullie ben ik me ook nog een beetje een Amsterdammer gaan voelen:)

Voor de nodige afleiding in de weekenden ben ik ook nog een aantal mensen grote dank schuldig. **Lotte, Helen, Pol, Thomas, Evelien, en Emile**: dank jullie wel voor alle mooie feestjes die we samen hebben gepakt, de etentjes, de biertjes, en het befaamde kerstdiner. Hoewel we allemaal weer wat jaartjes ouder zijn, hoop ik dat we deze tradities nog af en toe kunnen voortzetten.

Then there are still some people left to thank that came from far, but somehow still managed to stay friends with me over the years. **Anne, Alyssa, Olivier, Phoebe, Natalie, Anastasia**: who thought that friendships formed on Erasmus exchange would last so many years? Im very glad I can still count you as my friends, and I hope we will continue

to see each other in the coming years.

Lieve **Pap, Mam, en Nanette,**

Zonder jullie was dit natuurlijk ook allemaal niet gelukt. Jullie hebben me altijd gesteund, ook al was het niet altijd even makkelijk om uit te leggen wat ik nu precies allemaal aan het doen was. Ja, mn stage is nu eindelijk echt voorbij, en na 10 jaar studeren begin ik eindelijk aan een “echte” baan. Nu dit boekje eindelijk af is zal ik ook weer wat meer tijd te hebben om weer eens wat vaker langs te komen, beloofd!

Lieve **Opa,**

Bedankt voor alle steun de afgelopen jaren, en voor alle interesse in wat ik aan het uitspoken was. Mede dankzij de steun van jou en oma heb ik al deze jaren met een gerust hart kunnen werken aan dit boekje. Het feit dat ik weet hoe trots je bent doet me heel veel goeds!

Lieve **Oma Bielefeld,** terwijl ik streed om dit boekje af te ronden, streed jij tegen hele andere dingen in de hoop deze dag toch nog mee te mogen maken. Helaas is dit niet gelukt, maar ik hoop dat je van boven met een grote lach en vol trots toekijkt. Zonder alle steun van jou en opa was dit nooit gelukt. Dank je wel!

Uiteraard is er nog 1 iemand die ik heel erg moet bedanken voor alle steun de laatste tijd. Lieve **Ruth,** wie had ooit kunnen denken dat jij de persoon zou zijn die deze plek in de thesis zou innemen? We zijn het schoolvoorbeeld van hoe vriendschap uit kan groeien tot iets heel moois, en ik ben je onwijs dankbaar voor alles wat je me de afgelopen tijd gegeven hebt. Zonder jouw steun en positivisme had ik het al menig maal opgegeven. Over een aantal jaar zullen de rollen omgedraaid zijn en ik hoop dat ik er dan net zo voor jou kan zijn als jij er voor mij geweest bent. Ik hou van je!