



UvA-DARE (Digital Academic Repository)

Adult hippocampal cell birth and death in relation to stress, aging and the vasculature

Heine, V.M.

Publication date
2004

[Link to publication](#)

Citation for published version (APA):

Heine, V. M. (2004). *Adult hippocampal cell birth and death in relation to stress, aging and the vasculature*.

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, Singel 425, 1012 WP Amsterdam, The Netherlands. You will be contacted as soon as possible.

Nederlandse Samenvatting

Tot voor kort werd altijd aangenomen, dat hersencellen in tegenstelling tot de rest van ons lichaam niet in staat zijn tot deling of zelfvernieuwing. Nieuwe inzichten maken echter duidelijk, dat dit dogma niet langer klopt. Recent werd namelijk aangetoond, dat er nog steeds celdeling voorkomt in hersenen van *volwassen* zoogdieren. Echter slechts in relatief kleine aantallen en in twee gebieden. Die nieuwe cellen blijken daadwerkelijk tot volwassen zenuwcellen uit te groeien, waarmee er dus sprake is van *adulte neurogenese*.

In dit proefschrift wordt een van die twee gebieden de *hippocampus* bestudeerd. Deze structuur speelt een rol in leer en geheugen processen en neuro-endocriene regulatie.

In de granulaire cellaag van de hippocampus, de gyrus dentatus, vinden celgeboorte (neurogenese) en celdood (apoptose) in nauwe samenhang plaats. Deze permanente cel turnover maakt, dat de gyrus dentatus uit een heterogene populatie van nieuw ontwikkelende en oude cellen bestaat. De hoeveelheid nieuwgeboren cellen en ook hun overleving wordt nauwkeurig gereguleerd. Twee factoren van belang hierbij zijn stress en veroudering.

Stress veroorzaakt hyperactiviteit van de hypothalame-hypofyse-bijnier-as (hypothalamic-pituitary-adrenal (HPA) axis) en heeft tot gevolg dat het niveau van corticosteroid hormonen in het bloed stijgt. Zowel stress als verhoogde corticosteroid niveaus kunnen de structuur en functie (zoals leren en geheugen) van de hippocampus beïnvloeden. Chronische stress vormt zelfs een risicofactor bij de ontwikkeling van depressie. Behalve bij stress wordt hyperactiviteit van de HPA-as ook vaak geconstateerd tijdens veroudering. In dit promotieonderzoek werden allereerst de effecten van chronische stress en veroudering op zowel neurogenese als apoptotische celdood in de hippocampus onderzocht.

De cel (delings) cyclus speelt een belangrijke rol in de regulatie van zowel celgeboorte als celdood. Regulatie van de celcyclus vindt plaats door de interactie tussen verschillende cel cyclus factoren, die kunnen zorgen dat een cel enerzijds een cyclus voltooid of anderzijds in een toestand van groei-arrest komt. Cel cyclus markers vormen een aantrekkelijke categorie eiwitten om de mechanismen achter deze veranderingen in neurogenese en apoptose na chronische stress en veroudering te bestuderen. Aangezien onderzoek heeft uitgewezen, dat externe stimuli zoals corticosteroiden de G_1 fase van de cel cyclus onder kweek condities kunnen beïnvloeden, hebben wij ons gericht op de eiwit

expressie van belangrijke G₁ cel cyclus regulatoren.

De observatie dat veel van de nieuwe cellen worden geboren in de nabijheid van bloedvaten, alsmede het gegeven dat angiogenese (vorming van nieuwe bloedvaten) en neurogenese veel overeenkomstige regulatoren gemeen blijken te hebben, doet vermoeden dat de microvasculatuur een belangrijke rol speelt bij neurogenese. Aangezien zowel chronische stress als veroudering de hersenvasculatuur kunnen beïnvloeden, hebben wij bestudeerd of stress tevens de vasculair geassocieerde cel proliferatie en de expressie van angiogenetische groeifactoren beïnvloedt.

In **hoofdstuk 2** worden de effecten van chronische stress op de dynamische structurele veranderingen binnen de volwassen hippocampus bestudeerd. We laten zien, dat zowel acute als chronische 'onvoorspelbare' stress, de geboorte van nieuwe cellen in de volwassen rat gyrus dentatus onderdrukt. Opmerkelijk is dat apoptose was verhoogd na acute, maar verlaagd na chronische stress. Verder blijkt dat de onderdrukking van neurogenese door stress niet permanent is. Drie weken na beëindiging van de chronische stress was de verlaagde productie alweer deels hersteld. De effecten van acute stress zijn zelfs compleet hersteld na 24 uur.

In de literatuur wordt hypercorticisme regelmatig in verband gebracht met veroudering. Omdat de verhoogde corticosteroid levels zelfs in causaal verband werden gebracht met de verlaagde proliferatie in oude dieren, werd in **hoofdstuk 3** neurogenese in Wistar ratten van vier verschillende leeftijden bestudeerd in relatie tot hun HPA-as activiteit. Zowel celgeboorte als celdood namen sterk af tijdens veroudering. Daarnaast bleken ook de migratie en differentiatie van de nieuwgeboren cellen tot neuronen of glia cellen, al vanaf de leeftijd van 6 weken sterk af te nemen. Er werd geen hypercorticisme in oude Wistar ratten waargenomen. Ook kon er geen correlatie gelegd worden tussen de verlaagde celgeboorte en verhoogde corticosteroid niveaus of stress response parameters. Dit impliceert dat andere factoren dan stress of corticosteroiden betrokken moeten zijn bij de afnames in neurogenese in oude dieren.

In de volgende hoofdstukken werden mogelijke mechanismen bestudeerd, die betrokken kunnen zijn bij de door stress en veroudering geïnduceerde verlaagde proliferatie.

Tijdens stress neemt de afgifte van corticosteroiden toe. Naast een grote hoeveelheid perifere effecten hebben diverse *in vitro* studies aangetoond, dat corticosteroiden een anti-mitotische werking hebben, o.a. door beïnvloeding van de G₁ phase van de cel cyclus mogelijk leidend tot een groei-arrest toestand. Om die reden vroegen wij ons af of steroiden in relatie tot hippocampale neurogenese, vergelijkbare effecten zou vertonen in

een *in vivo* situatie. In **hoofdstuk 4** werden de effecten van chronische onvoorspelbare stress bestudeerd op de eiwit expressie van drie belangrijke G_1 cel cyclus regulatoren in de subgranulaire laag van de volwassen rat gyrus dentatus. Hoewel het aantal cellen dat cycline E en D_1 tot expressie brengt niet veranderde, veroorzaakte chronische stress een verhoging in het aantal cellen dat de cycline-afhankelijke kinase remmer (cyclin-dependent kinase inhibitor) p27Kip1 tot expressie brengt. Dit is een duidelijke indicatie dat G_1 arrest een rol speelt in de stress geïnduceerde onderdrukking van hippocampale proliferatie.

Aangezien een hoog percentage aan nieuwe cellen in de nabijheid van de vasculatuur proliferereert, bestudeerden wij in **hoofdstuk 5** de invloed van deze microvasculatuur op de adulte proliferatie in de gyrus dentatus. We laten zien dat 32% van de prolifererende cellen in de 10-weken oude rat vasculair geassocieerd is. Dit percentage is significant verlaagd na chronische stress. Tevens bleek dat na een herstel periode van 3 weken, het aantal vasculair geassocieerde prolifererende cellen minder goed herstelde dan het aantal prolifererende cellen dat verder van bloedvaten verwijderd is. Aangezien de vasculaire groeifactor VEGF (vascular endothelial growth factor) neurotrophe effecten vertoont, lijkt VEGF en zijn receptor van belang te zijn voor de ontwikkeling van nieuwe neuronen. Met behulp van immunocytochemie laten we zien dat een groot aantal astrocyten gelegen in de hilus VEGF tot expressie brengt, waarvan de uitlopers tot in de granulaire cellaag reiken en zelfs in nauw contact staan met de neuronale cellichamen. Chronische stress verlaagde de eiwit expressie van VEGF in de granulaire cellaag, alsook van haar receptor Flk-1. Deze resultaten tonen betrokkenheid van een VEGF gemedieerd signaal transductiepad tijdens inhibitie van hippocampale neurogenese door stress aan.

Veroudering wordt niet alleen geassocieerd met verhoogde stress waardes, maar ook met haemodynamische en vasculaire veranderingen. Deze kunnen op hun beurt weer effect hebben op die groep nieuwe cellen die bij bloedvaten proliferereert. In **hoofdstuk 6** bestuderen we adulte proliferatie en veranderingen in de mate van associatie met de vaatwand. We laten zien, dat het vasculaire bed in de DG relatief vergroot is tijdens veroudering. Daarentegen zien we een regio-afhankelijke verlaging in het aantal prolifererende cellen dat geassocieerd is met de bloedvaten. Tussen de leeftijden 2 en 6 weken, blijkt het aandeel van 'actief' delende cellen te stijgen. Aan de andere kant zien we in de oude dieren voornamelijk geïsoleerd gelegen nieuwgeboren cellen, die niet met de vaatwand geassocieerd zijn. Aangezien ook het aantal p27Kip1-positieve cellen afneemt, wordt gedacht dat de totale populatie aan voorloper cellen tijdens veroudering afneemt.

Onze resultaten gepresenteerd in dit proefschrift leveren een beter inzicht in de door stress en veroudering geïnduceerde veranderingen in neurogenese en de cel

cyclus, en zorgen voor een beter begrip van de externe factoren die celgeboorte kunnen beïnvloeden. Tevens onderbouwt onze data het belang van de microvasculatuur in het proces van adulte neurogenese. Verlagen in de neurotrofe factoren afkomstig van het endotheel zoals VEGF dragen bij tot de afname in proliferatie tijdens chronische stress en veroudering. Dus, alhoewel verhoogde corticosteroid niveaus effect hebben op zowel cel cyclus regulatoren alsook de vasculatuur, is het waarschijnlijk dat een samenspel van externe en interne factoren de cel turnover binnen de gyrus dentatus bepaalt. Meer kennis van deze en andere regulerende factoren kunnen bijdragen aan 1) een beter begrip van de ontwikkeling, behandeling en reversibiliteit van stress gerelateerde aandoeningen aan de hippocampus, zoals depressie en 2) de ontwikkeling van nieuwe transplantatie studies van gezonde voorloper cellen naar een oude of beschadigde omgeving.