



## UvA-DARE (Digital Academic Repository)

### Shaping the brain through experience: effects of stressful life events on hippocampal neurogenesis, morphology and function

Oomen, C.A.

**Publication date**  
2010

[Link to publication](#)

#### **Citation for published version (APA):**

Oomen, C. A. (2010). *Shaping the brain through experience: effects of stressful life events on hippocampal neurogenesis, morphology and function*.

#### **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

In de afgelopen decennia is het meer en meer duidelijk geworden dat de hersenen in staat zijn nieuwe connecties aan te leggen en dat er zelfs tijdens het volwassen leven nieuwe neuronen geboren worden (dit wordt ook wel neurogenese genoemd). Structurele veranderingen kunnen worden geïnduceerd door sensorische ervaringen, het aanleren van nieuwe vaardigheden of bijvoorbeeld door de aanwezigheid van stress. In dit proefschrift worden de effecten van verschillende typen stress op de hersenstructuur van ratten beschreven. Daarbij is met name onderzocht hoe stress neurogenese kan beïnvloeden en zijn de functionele consequenties van stress in het vroege leven in kaart gebracht.

Stress, in de context van dit proefschrift, refereert naar een bedreigende situatie (stressor) waarop het lichaam reageert door de activering van bepaalde fysiologische systemen. Deze fysiologische respons zorgt ervoor dat een organisme optimaal kan reageren op de stressor door bijvoorbeeld te vluchten of juist in de aanval te gaan. Hierbij worden de zintuigen 'op scherp' gezet, worden energievoorraden aangesproken en worden de systemen die betrokken zijn bij vertering of voortplanting tijdelijk onderdrukt. Het is van belang dat de stressrespons na een bedreigende situatie weer wordt uitgezet, omdat een langdurige activering de balans in lichamelijke processen kan verstoren. Dit laatste is aangetoond tijdens bijvoorbeeld langdurige (chronische) stress en chronische stress vormt dan ook een risicofactor voor het ontwikkelen van ziekten zoals depressie.

Eén van de systemen die geactiveerd wordt na stress is de zogenaamde hypothalamus-hypofyse-bijnier-as, en activering leidt uiteindelijk tot de afgifte van het hormoon corticosteron door de bijnieren. Corticosteron wordt verspreid in het lichaam via het bloed en komt ook in de hersenen terecht. In de hersenen bindt corticosteron aan twee type receptoren, de mineralocorticoid receptor (MR) en glucocorticoid receptor (GR). Na binding met deze receptoren worden allerlei processen in gang gezet die onderdeel uitmaken van de stress respons, waardoor onder andere stressgerelateerde informatie goed onthouden kan worden. Belangrijk is dat corticosteron, door binding aan de GR, ook zijn eigen productie remt. Dit voorkomt een te sterke activering van het stresssysteem.

Stress kan, via corticosteron, naast functionele processen ook de structuur van de hersenen beïnvloeden. Dit gebeurt onder andere in de hippocampus -een hersengebied betrokken bij leren en geheugen- waar zich veel corticosteron receptoren bevinden. De hippocampus bestaat uit meerdere subregio's en de dentate gyrus (DG), (letterlijk: getande richel) is de regio waar informatie uit andere hersengebieden binnenkomt. De DG projecteert vervolgens naar de rest van de hippocampus (CA1-CA3) en werkt als een filter voor inkomende informatie, waarbij het waarschijnlijk een rol speelt in de scheiding van -erg vergelijkbare- inputpatronen. De DG is één van de twee gebieden in de hersenen waar adulte neurogenese plaatsvindt. Het begrip

neurogenese omvat het proces van celdeling, neuronale differentiatie en uiteindelijke migratie en maturatie van nieuwgeboren neuronen. De exacte rol van adulte neurogenese is nog niet bekend, maar er zijn veel aanwijzingen dat het betrokken is bij (ruimtelijke) leerprocessen in knaagdieren, en de hoeveelheid nieuwgeboren cellen wordt in positieve zin beïnvloed door leren, lichamelijke beweging en antidepressiva. Aan de andere kant zorgen veroudering en stress voor een sterke vermindering van neurogenese. Alhoewel de effecten van stress op neurogenese (in ratten) tijdens het volwassen leven vaak reversibel zijn, zijn er aanwijzingen dat stress vroeg in het leven een meer langdurige invloed uit kan oefenen. In knaagdieren speelt de moeder een belangrijke rol gedurende de eerste twee weken van het leven. Het is bijvoorbeeld aangetoond dat de hoeveelheid moederzorg in ratten (likken van de pups) het stresssysteem op latere leeftijd programmeert. Wanneer de moeder voor langere tijd afwezig is van het nest, wordt de stress as in pups geactiveerd tijdens een periode die belangrijk is voor met name de ontwikkeling van de DG van de hippocampus.

Onderzoek naar veranderingen in hippocampus-structuur na stress (in volwassenheid of in het vroege leven) is relevant in het licht van depressieonderzoek. Stress, en vooral stress tijdens de ontwikkeling, vormt een belangrijke risicofactor voor het ontwikkelen van depressie. Daarnaast is het herhaaldelijk aangetoond dat het volume van de hippocampus in depressiepatiënten is afgenomen. Of dit een oorzaak of gevolg is van depressie is niet bekend, maar er zijn aanwijzingen dat -vooral in vrouwen- deze volumereductie alleen optreedt als er ook sprake is van jeugdtrauma. In dit proefschrift is, met behulp van diermodellen, onderzocht hoe stress in het vroege leven en chronische stress in volwassenheid de structuur van de hippocampus beïnvloedt. In onze studies naar postnatale stress hebben we daarbij aandacht besteed aan verschillen tussen mannetjes en vrouwtjes en in onze studie naar chronische stress hebben we onderzocht of effecten van stress op neurogenese genormaliseerd kunnen worden door blokkering van één van de corticosteron receptoren (de GR).

In **hoofdstukken 2 t/m 4** hebben we stress geïnduceerd in jonge ratten door op dag 3 na de geboorte de moederrat gedurende 24 uur weg te halen (maternale deprivatie; MD). In **hoofdstuk 2** hebben we onderzocht wat voor invloed MD heeft op neurogenese en hippocampus-structuur op relatief jonge leeftijd (3 weken), in zowel mannelijke als vrouwelijk ratten. Onze hypothese was dat deze -relatief zware- stressor de aanmaak van nieuwe hersencellen sterk af zou remmen. Door middel van immunohistochemie hebben we de verschillende fasen van neurogenese aangekleurd en vervolgens gekwantificeerd. Uit de resultaten bleek dat maternale deprivatie weinig invloed heeft op celproliferatie en de overleving van nieuwgeboren cellen. Wel vonden we een duidelijk verschil in het aantal dubbelcortine (DCX) positieve cellen, een marker voor onvolwassen neuronen. Interessant was vooral dat na MD het aantal DCX positieve cellen is toegenomen in mannetjes, maar sterk is *afgenomen* in vrouwelijke nakomelingen. De verandering in aantal DCX cellen kan een teken zijn van een verandering in het ontwikkelingsproces, waardoor

bijvoorbeeld in de mannetjes na MD meer nieuwgeboren cellen tot neuron differentiëren in plaats van het niet-neuronale glia type (en andersom in vrouwtjes). Analyse van het aantal astrocyten (gliacellen) en gliogenese liet echter zien deze celpopulaties niet waren beïnvloed door de MD procedure. Daarnaast hebben we ook geen aanwijzingen gevonden voor grove verschillen in algehele morfologie; het volume van de DG cel laag (granule cel laag) was bijvoorbeeld niet veranderd na MD. Onze conclusie was dan ook dat MD een impact heeft op een specifieke subpopulatie van nieuwgeboren cellen, namelijk jonge neuronen die zich in het stadium van maturatie, migratie en neuriet uitgroei bevinden. Het effect van stress in het vroege leven is anders in vrouwtjes dan in mannetjes: waarbij vrouwelijke nakomelingen een duidelijke afname in het aantal jonge neuronen laten zien. Deze bevinding is interessant in het licht van de hippocampale volume reductie in depressie en de verhoogde gevoeligheid van vrouwen voor het ontwikkelen van deze ziekte.

In de **hoofdstukken 3 en 4** is vervolgens onderzocht wat de consequenties zijn van MD in ratten op latere leeftijd. In deze studies hebben we ook onderzocht op wat voor manier eventuele structurele veranderingen invloed hebben op hippocampusfunctie. Dit is zowel op netwerk niveau (door het meten van de mate van lange termijn potentiatie in de DG) als op gedragsniveau uitgevoerd. In **hoofdstuk 3** worden de resultaten van MD op de vrouwelijke nakomelingen gerapporteerd. Omdat vrouwtjes op een leeftijd van 3 weken een duidelijke afname lieten zien in het aantal jonge neuronen (hoofdstuk 2), was onze verwachting dat dit op latere leeftijd zowel op structureel als functioneel niveau een negatief effect zou hebben. In hoofdstuk 3 vonden we een afname in het totaal aantal (volwassen) granule cellen in de DG, wat duidt op een irreversibele verandering in hippocampus structuur. Het is mogelijk dat dit een gevolg is van de veranderingen in het aantal jonge neuronen zoals gevonden in hoofdstuk 2. Naast verschillen in totale celaantallen, bleek dat ook de vorm van individuele neuronen (gemeten door een 3D reconstructie van de dendrietboom) beïnvloed wordt door MD. Granule neuronen van vrouwtjesdieren die waren blootgesteld aan MD hebben meer primaire dendrieten per cel. Echter, we vonden geen aanwijzingen dat MD effect heeft op adulte neurogenese in vrouwtjes. Dit gold voor zowel celproliferatie, celoverleving als differentiatie. Samen wijzen de structurele data erop dat in vrouwelijke nakomelingen MD de morfologische ontwikkeling van vrouwtjes beïnvloedt, wat leidt tot een onomkeerbare verandering in het totaal aantal cellen van de DG. Op functioneel niveau waren er minder duidelijke verschillen zichtbaar. We vonden geen effecten van MD op synaptische plasticiteit, ruimtelijk leervermogen of contextafhankelijk geheugen voor een stressvolle gebeurtenis. Wel lieten MD-vrouwtjes een beter geheugen zien voor een -met een stressvolle gebeurtenis geassocieerde- toon.

In mannelijke nakomelingen (**hoofdstuk 4**) leidt MD tot een vermindering van adulte neurogenese en met name celproliferatie. Wat betreft overleving en neuronale maturatie van cellen is er een kleine afname zichtbaar, maar alleen in het caudale gedeelte van de DG. Dit zou kunnen betekenen dat

de verminderde celproliferatie in MD-dieren ten dele wordt genormaliseerd door positieve invloeden van micro-omgeving; tenminste in het rostrale gedeelte van de DG. Dit kan echter alleen het geval zijn als aangenomen wordt dat proliferatie ook al verminderd is op het moment van toediening van het BrdU-label. MD had geen effect op totale granule cel aantallen, maar wel op de morfologie van individuele neuronen: cellen hebben minder primaire dendrietten per cel en Sholl analyse liet zien dat dendrietmassa dicht bij het cellichaam is afgenomen. Op functioneel niveau presteren MD-mannetjes minder goed in een ruimtelijke leertaak, maar hebben ze een *verbeterd* context en toon-afhankelijk geheugen voor een stressvolle gebeurtenis. Dit ging samen met een verhoogde synaptische plasticiteit (LTP) in de DG in aanwezigheid van het stresshormoon corticosteron. Dit wijst erop dat in mannetjes, ondanks de negatieve gevolgen van MD voor neurogenese en ruimtelijk leren, vroege stress ook kan leiden tot verbeterd functioneren -in een stressvolle context- later in het leven.

Tenslotte hebben we in **hoofdstuk 5** de effecten van blootstelling aan 21-dagen chronische, onvoorspelbare stress in volwassen mannelijke ratten bestudeerd, op verschillende fasen van adulte neurogenese. Hierbij vonden we dat chronische stress in het volwassen leven leidt tot een vermindering van neurogenese, met name wat betreft de overleving en neuronale maturatie van nieuwe cellen. Korte behandeling van deze dieren met de GR-antagonist mifepristone (een hoge dosis gedurende 4 dagen) normaliseerde de effecten van chronische stress op neurogenese, zowel wat betreft cel overleving als neuronale maturatie. In controle dieren (zonder stress) had mifepristone geen effect op neurogenese. Interessant is dat mifepristone in humane studies de symptomen van depressie verlicht na een behandeling van maar 4 dagen.

We concluderen uit onze studies dat zelfs een stressor met hoge impact - zoals langdurige maternale afwezigheid vroeg in het leven- de hersenen van mannelijke nakomelingen kan programmeren om optimaal te functioneren in een stressvolle context tijdens volwassenheid. Deze programmering leidt tot een verbeterde stressradar waardoor stressvolle gebeurtenissen beter worden opgemerkt en opgeslagen. Dit heeft hypothetisch een positieve invloed op de overlevingskans van een organisme. Opmerkelijk is dat dit niet op lijkt te gaan voor de vrouwelijke nakomelingen. In vrouwtjes vonden we onomkeerbare structurele veranderingen in de hippocampus, wat interessant is in het licht van de verminderde hippocampusvolumes in vrouwelijke depressie patiënten na jeugdtrauma. Helaas kunnen we geen antwoord geven op de mogelijke functionele gevolgen van deze structurele veranderingen, maar we suggereren dat deze vrouwtjes wellicht extra gevoelig zijn voor een tweede stressor, later in het leven. Tenslotte bespreken we dat de resultaten van het laatste experimentele hoofdstuk wellicht mogelijkheden biedt voor de behandeling van stressgeïnduceerde vermindering van structurele plasticiteit zoals neurogenese. We bespreken de voorlopige bevindingen in ons lab (een vervolgstudie op hoofdstuk 5), die laten zien dat onze behandeling met de GR-antagonist mifepristone waarschijnlijk de prolifererende celpopulatie kan aanzetten tot

extra celdelingen, wat tot de gevonden normalisatie heeft geleid. Dit kan - terugkomend op de resultaten van onze studie naar postnatale stress- mogelijk veelbelovend zijn voor de mannelijke nakomelingen van deze studies (omdat in mannen voornamelijk structurele plasticiteit is beïnvloed door MD), terwijl we voorstellen dat voor de behandeling van vroege stress in vrouwen een vroege interventie wellicht tot meer resultaten kan leiden.