

## Nederlandse samenvatting

### Moleculaire en cellulaire neuroplasticiteit in diermodellen voor depressie

Depressie is een veelvoorkomende psychiatrische aandoening die vaak diep in het leven van mensen ingrijpt. Depressie wordt gekenmerkt door een gedeprimeerde stemming en een verlies van belangstelling in aangename activiteiten. De oorzaak van depressie is grotendeels onbekend, maar in het algemeen wordt aangenomen dat een combinatie van genetische- en omgevingsfactoren hieraan ten grondslag ligt. Van de omgevingsfactoren is stress de meest voorkomende factor.

Neurobiologisch gezien zijn er verschillende hersengebieden betrokken bij het tot stand komen van depressie symptomen. Eén van de gebieden waarin duidelijke veranderingen waarneembaar zijn bij depressieve patiënten is de hippocampus. Deze is betrokken bij verschillende cognitieve processen waaronder het semantisch geheugen en ruimtelijke oriëntatie. Daarnaast staat de hippocampus in verbinding met verschillende andere limbische hersengebieden die eveneens betrokken zijn bij gemoedstoestandregulerende processen.

In het afgelopen decennium is duidelijk geworden dat er een verband bestaat tussen depressie en neuroplasticiteit. Deze relatie is duidelijk geworden door het gebruik van verschillende preklinische diermodellen voor depressie. Hiermee is aangetoond dat stress – één van de belangrijkste oorzaken van depressie – verschillende mechanismen van neuronale plasticiteit aantast. Ook is duidelijk geworden dat antidepressiva en niet-farmacologisch gebaseerde therapieën deze processen juist stimuleren, hetgeen neuroplasticiteit meer in het focus van aandacht heeft gebracht.

In dit proefschrift heb ik gebruik gemaakt van verschillende diermodellen in knaagdieren om de relatie van depressie met neuroplasticiteit te bestuderen. Naast de directe effecten van stress heb ik ook de lange termijn effecten van stress bestudeerd. Dit verdient bijzondere aandacht omdat bij mensen de depressieve symptomen nog lang na een stressvolle levenservaring tot uitdrukking komen.

### Hoofdsuk 2: Het antidepressieve effect van ketamine door middel van regulatie van AMPA receptor activiteit

Ketamine is een N-methyl-D-aspartic acid (NMDA) receptor antagonist en wordt doorgaans gebruikt als verdovingsmiddel. Onlangs is gebleken dat deze stof, wanneer deze in lage

(sub-anesthetische) concentraties wordt toegediend, zowel een acute als een langdurige antidepressieve werking heeft in patiënten die verder niet reageren op klassieke antidepressiva, die hun eerste aangrijpingspunt hebben op het monoaminerge systeem. Van de klassieke antidepressiva is bekend dat ze pas effectief worden na chronische toediening van tenminste drie weken. De acute (binnen een uur) en langdurige werking van ketamine zijn daarmee erg interessant omdat dit impliceert dat de stof via, tot nog toe onbekende, monoamine-onafhankelijke mechanismen werkt. Om deze mechanismen te achterhalen heb ik gebruik gemaakt van de 'forced swim test'. Dit is een preklinische test in muizen die effectief is in het voorspellen van de mogelijke antidepressieve werking van een stof. Met behulp van deze test heb ik ontdekt dat lokale injectie van ketamine in de CA1 regio van de dorsale hippocampus een acute en langdurige (negen dagen na toediening) antidepressieve werking heeft. Door middel van immunoblot analyse op het synaptisch proteoom van de dorsale hippocampus, heb ik vervolgens aangetoond dat negen dagen na toediening van ketamine de phosphorylatie van Ser-845 van  $\alpha$ -amino-3-hydroxy-5-methylisoxazole-4-propionic acid (AMPA) receptor subunit GluA1 verhoogd is. Dit duidt op een verhoogde 'turn-over' snelheid – en daardoor op een mogelijke verhoogde receptor functie – van AMPA receptoren. Om aan te tonen dat het antidepressieve effect van ketamine wordt veroorzaakt door een verhoogde AMPA receptor activiteit in de hippocampus, hebben we deze situatie nagebootst door toediening van een TAT-Glu<sub>23Y</sub> peptide dat de gereguleerde endocytose van AMPA receptoren blokkeert. Toediening van dit peptide in de dorsale hippocampus had een antidepressieve werking in de 'forced swim test'. Hiermee hebben we aannemelijk gemaakt dat de antidepressieve werking van ketamine in ieder geval deels wordt veroorzaakt door een verhoogde AMPA receptor functionaliteit in de hippocampus.

### **Hoofdstuk 3: 'Social defeat' stress induceert veranderingen in de synaptische expressie van glutamate receptoren.**

Om een beter inzicht te krijgen in de moleculaire neurobiologie van depressie moet gebruik worden gemaakt van diermodellen met een sterke validiteit voor de ziekte in mensen. Het 'social defeat' model in ratten is hiervan een goed voorbeeld. In dit model wordt gebruik gemaakt van een hevige sociale stressor, één maal per dag, voor vijf dagen achter elkaar. Hierdoor heeft het model een sterke etiologische validiteit, aangezien psychosociale stress in mensen de vatbaarheid voor depressie sterk verhoogd. Met dit model heb ik aangetoond dat 24 uur na de laatste sociale stresservaring, het niveau van het stresshormoon corticosteron in het bloedplasma 2.5 keer zo hoog is in vergelijking tot controle ratten. Deze sociale stress vermindert ook de prestatie van deze ratten in een hippocampus afhankelijke

cognitieve gedragstaak gebaseerd op het ruimtelijk geheugen. Bovendien heb ik aangetoond dat dit verminderde ruimtelijke geheugen gepaard gaat met een verlaagde synaptische expressie van de NMDA receptor subunits GluN1 en GluN2B en de AMPA receptor subunit GluA2 in de dorsale hippocampus. Vervolgonderzoek moet uitwijzen in welke mate de veranderde expressie van deze receptor subunits leidt tot elektrofysiologische veranderingen in synaptische plasticiteit.

#### **Hoofdstuk 4: Gedragstherapie herstelt verminderde cognitieve prestaties na ‘social defeat’ stress, die samengaan met een verlaagde LTP en verhoogde synaptische expressie van AT1b2 in de hippocampus.**

In mensen komen depressieve symptomen meestal nog lang na een stressvolle levenservaring tot uitdrukking. Om een beter inzicht te krijgen in de neurobiologie van depressie en om op zoek te gaan naar moleculaire targets voor antidepressiva is het van grote meerwaarde om juist de lange termijn effecten van stress te onderzoeken. Om deze aanhoudende fase van depressie te modelleren hebben we ratten na ‘social defeat’ stress voor drie maanden in sociale isolatie gehouden. Door deze behandeling werden (hippocampusafhankelijke) cognitieve prestaties van ratten sterk verminderd. Dit zou overeen kunnen komen met de cognitieve disfuncties, zoals een verminderd geheugen, die vaak worden waargenomen in depressieve patiënten. De verminderde cognitieve capaciteit van deze ratten gaat gepaard met depressieve symptomen, zoals een verminderde anticipatie ten opzicht suikerwater. Bovendien konden zowel de verminderde cognitieve prestaties als de anhedonische symptomen hersteld worden door zowel gedragstherapie – bestaande uit dagelijkse huisvesting in een verrijkte omgeving gedurende een uur – alswel door een farmacologische behandeling, bestaande uit chronische toediening van het tricyclisch antidepressivum imipramine.

Verder heb ik aangetoond dat deze verminderde cognitieve capaciteit lang na social defeat stress, gepaard gaat met een verlaagde lange-termijn-potentiatie (LTP) in CA3-CA1 synapsen in de dorsale hippocampus. Deze plasticiteitsverandering is te herstellen middels de gedrags- en farmacologische therapie. Om te achterhalen welke moleculaire veranderingen in de synaps hieraan ten grondslag zouden kunnen liggen, werd met behulp van iTRAQ proteomics de samenstelling van het synaptische ‘proteoom’ in de dorsale hippocampus geanalyseerd. Dit is een zeer gevoelige techniek, die het mogelijk maakt om synaptische eiwitten te detecteren en kleine veranderingen in eiwitexpressie te kwantificeren. Hiermee heb ik gevonden, dat lang na ‘social defeat’ stress, de synaptische expressie van de Na,K ATPase subunit AT1b2 met ~40% verhoogd is ten opzichte van

controle ratten. Zowel gedragstherapie als chronische toediening van imipramine zijn in staat om de verminderde LTP en verhoogde AT1b2 expressie te normaliseren. Of de verhoogde expressie van AT1b2 ook de oorzaak is van de verminderde cognitieve prestaties zal in vervollexperimenten onderzocht moeten worden.

### **Hoofdstuk 5: Neurogenese in de hippocampus is verminderd lang na social defeat stress**

In verschillende stress geïnduceerde modellen voor depressie in knaagdieren is in voorgaande studies een verminderde neurogenese in de hippocampus waargenomen. Bovendien zijn verschillende soorten antidepressiva in staat om deze verminderde neurogenese te herstellen. Deze bevindingen hebben geleid tot de neurogenese theorie van depressie. In dit hoofdstuk heb ik gekeken of neurogenese ook aangetast is in de aanhoudende fase van de depressieve symptomen, dus lang na de laatste 'social defeat' ervaring. Hiervoor heb ik door middel van stereologische technieken het aantal doublecortin (DCX) immunopositieve cellen bepaald. DCX is een marker voor nieuwgeboren immature neuronen. Op basis van de morfologie van de dendritische bomen van deze cellen heb ik specifiek het aantal jonge (klasse-I) en meer volgroeide (klasse-II) DCX positive (DCX<sup>+</sup>) cellen bepaald. Het aantal DCX<sup>+</sup> cellen was sterk verminderd lang na 'social defeat' stress, hetgeen vooral werd veroorzaakt door een afname van klasse-II cellen, terwijl het aantal klasse-I cellen onveranderd was. In tegenstelling tot verhoogde niveaus stresshormoon corticosteron direct na de 'social defeat', was op de lange termijn het niveau genormaliseerd tot dat van controle dieren. Verder heb ik laten zien dat chronische behandeling met imipramine de vermindering in neurogenese herstelt door een toename van zowel klasse-I als klasse-II cellen te bewerkstelligen. Hieruit kunnen we concluderen dat, ondanks dat de stresshormoon niveaus genormaliseerd zijn, neurogenese blijvend is aangetast na 'social defeat' stress door een afname van klasse-II cellen. Het is opmerkelijk dat imipramine de verminderde neurogenese in dit late stadium nog kan herstellen.

### **Conclusie**

In dit proefschrift heb ik laten zien dat in verschillende diermodellen voor depressie, diverse plasticiteitsprocessen in de hippocampus zijn aangetast. Interessant daarbij is dat deze processen niet direct gekoppeld zijn aan het monoaminerge systeem. Dus met dit onderzoek zijn nieuwe mechanismen gekarakteriseerd, die mogelijk kunnen worden gebruikt voor farmacologische interventies. Bovendien heb ik aangetoond dat andere moleculaire processen betrokken zijn bij de lange termijn effecten van stress, in vergelijking tot de acute

effecten die betrokken zijn bij de inductie van depressieve symptomen. De karakterisatie van deze lange termijn effecten is interessant voor ontwikkeling van nieuwe antidepressiva, aangezien depressieve patiënten over het algemeen pas lang na een stressvolle levenservaring worden behandeld. Een andere interessante bevinding is dat gedragstherapie een vergelijkbare efficiëntie heeft in het verminderen van stressgeïnduceerde depressieve symptomen in vergelijking tot chronische behandeling met imipramine. Bovendien was de gedragstherapie net zo efficiënt in het herstellen van aangetaste plastische processen in de hippocampus. Deze bevinding heeft mogelijk een implicatie voor de behandelingsstrategie van depressie, die in de toekomst wellicht meer op activiteitentherapie gericht zou kunnen worden.