

Nederlandse Samenvatting

Gliacellen in het brein kunnen worden onderverdeeld in microglia en twee typen macroglia, namelijk oligodendrocyten en astrocyten. Alhoewel elk brein meer gliacellen bevat dan neuronen is er in de wetenschap voornamelijk meer aandacht geweest voor de werking van neuronen. De oorzaak daarvan is de ontdekking dat neuronen met elkaar communiceren via elektrische signalen, terwijl gliacellen niet op elektrische signalen reageren. Gliacellen werden daardoor beschouwd als een soort cement, dat neuronen met elkaar verbindt. Deze cellen ontleen hun naam dan ook niet voor niets aan het Griekse woord voor lijm: 'glia'.

Nieuw ontwikkelde immunohistologische en beeldvormingstechnieken brachten verandering in de eenzijdige focus op neuronen, en toonden aan dat gliacellen wel degelijk bij diverse breinfuncties betrokken zijn. Inmiddels worden microglia gezien als de immuuncellen van het brein, weten we dat oligodendrocyten axonen myeliniseren, en worden astrocyten gelinkt aan een groot aantal verschillende functies, waaronder de regulatie van bloeddorstroming in het brein, het opnemen en afleveren van nutriënten aan neuronen via contacten met de bloed-hersen barrière, is er betrokkenheid bij hersen-metabolisme, en hebben astrocyten tevens immunologische functies tijdens ontstekingen en verwondingen.

Zowel oligodendrocyten als astrocyten kunnen contact maken met meerdere neuronen. Dit plaatst deze cellen in een positie waarin ze actief neuronale communicatie tussen groepen neuronen kunnen coördineren, en waarin ze mogelijk ook een actieve rol spelen in de regulatie van synaptische en plastische processen. Zo is aangetoond dat astrocyten zowel via afscheiding van moleculen als via direct contact betrokken zijn in het ontstaan van nieuwe synapsen. Daarnaast kunnen astrocyten zogenoemde 'gliotransmitters' afscheiden, moleculen waarvan gedacht wordt dat ze een belangrijke rol spelen in de regulatie van synaptische transmissie. Myeline beïnvloedt de snelheid waarmee elektrische signalen (actie-potentialen) via axonen grote afstanden in het brein afleggen. Variatie in oligodendrocyte-activiteit en myelineformatie zou dus belangrijke gevolgen kunnen hebben voor de timing waarmee

actiepotentialen synapsen bereiken, en daarmee dus ook voor de integratie van informatie uit verschillende breingebieden. Recente theorieën stellen zelfs dat oligodendrocyten hier een actieve, regulerende rol in spelen. De isolerende eigenschappen van myeline zijn grotendeels afhankelijk van de dikte van die stof, en van diens specifieke lipiden-samenstelling. In tegenstelling tot andere membranen, bestaat de myeline membraan voor maar liefst 70% van het drooggewicht uit vetten. Omdat vetten een belangrijk onderdeel vormen van het myeline membraan, spelen zij mogelijk ook belangrijke rollen in myeline-gerelateerde processen. Het brein is voornamelijk zelfvoorzienend in de synthese van vetten, waarbij astrocyten worden gezien als de belangrijkste bron voor de aanmaak en levering van vetten in het centrale zenuwstelsel.

Ondanks het groeiende bewustzijn van de betrokkenheid van gliacellen in diverse breinfuncties, is er nog weinig kennis over de genetische bijdrage van gliacellen aan het ontstaan van neurologische ziektes, met name polygenetische ziektes zoals psychiatrische stoornissen. Om meer inzicht te verkrijgen in mogelijke rollen van gliacellen bij het ontstaan van psychiatrische ziektes, hebben we een multidisciplinaire aanpak toegepast waarmee de relatie tussen gliagenen en humane psychiatrische stoornissen kon worden onderzocht, evenals mogelijke cellulaire mechanismes die hieraan ten grondslag liggen, door het uitvoeren van onderzoek aan muismodellen.

In **hoofdstuk 2** hebben we gekeken naar variaties in genen die met name tot expressie komen in gliacellen en mogelijk bijdragen aan het ontstaan van schizofrenie. Met dit doel zijn lijsten opgesteld met genen die betreffende hun functie specifiek geassocieerd zijn met astrocyten, oligodendrocyten en microglia. Op basis van deze lijsten hebben we een genetische, functionele groepsanalyse toegepast op humane data van genetische puntmutaties, en hebben we getest of gecombineerde effecten van genen die specifiek aan één van de glia celtypes zijn gerelateerd associëren met schizofrenie. We hebben hiervoor gebruik gemaakt van de grootste genomwijde associatie-dataset voor schizofrenie, bestaande uit 13 689 casussen en 18 226 gezonde

controles. Onze resultaten toonden aan dat astrocyte en oligodendrocyte gen-groepen, maar niet microglia gen-groepen, van invloed zijn op de hoogte van het risico op het verkrijgen van schizofrenie. De astrocyte en oligodendrocyte gen-groepen bestonden uit groepen gliagenen, die betrokken zijn bij synaps-communicatie, myeline membraan integriteit, de ontwikkeling van gliacellen, en epigenetische controle. De resultaten tonen aan dat genetische veranderingen in specifieke gliacel functies de kans op het verkrijgen van schizofrenie verhogen, en dat de neuronale hypothese van schizofrenie uitgebreid moet worden naar de rol van gliacellen.

In **hoofdstuk 3** hebben we de genetische functionele groepsanalyse met gliagenen en gliafuncties toegepast om relaties met humane, genetische puntmutaties in het syndroom van Gilles de la Tourette (hierna: Tourette) te onderzoeken. We vonden een specifieke associatie met slechts één groep van astrocyte-genen, betrokken in koolhydraatmetabolisme. Deze associatie werd grotendeels gedreven door een subgroep van 33 genen, die betrokken zijn bij glycolyse en glutamaat metabolisme. Dit is interessant omdat dit juist astrocyte-functies zijn waarvan gedacht wordt dat ze een belangrijke rol spelen in het functioneren van de synaps. Tourette is een erfelijke ontwikkelingsziekte waarin genetische aanleg een belangrijke rol speelt. Er is echter nog steeds veel onduidelijk over de processen die mogelijk bijdragen aan het ontstaan van deze ziekte. Hier laten we voor de eerste keer zien dat metabolische ondersteuning van neuronen door astrocyten mogelijk verstoord is in Tourette.

Samengevat laten wij in **hoofdstuk 2 en 3** zien dat de door ons ontwikkelde gliagenlijsten gebruikt kunnen worden om nieuwe inzichten te verkrijgen in mogelijke bijdrages van gliagenen aan psychische aandoeningen. Onze resultaten voor schizofrenie, een ziekte die al uitgebreid is onderzocht en bestudeerd, komen goed overeen met enkele bestaande theorieën. Dit bevestigt de validiteit van deze aanpak. De resultaten voor Tourette tonen aan dat onze glialijsten mogelijk ook gebruikt kunnen worden om bij erfelijke psychische stoornissen, waarvan nog weinig bekend is

over betrokken genetische en moleculaire processen, nieuwe aangrijpingspunten te identificeren voor verdere studies en behandeling.

In **hoofdstuk 4** hebben we ons onderzoek van humane, genetische puntmutaties verlegd naar experimentele muismodellen. Hier was ons uitgangspunt dat de genetische verschillen tussen recombinante, gefokte muizenlijnen wellicht een goede gelegenheid bieden om moleculaire en functionele correlaten van variatie in oligodendrocyte- en myeline-gerelateerde genen te bestuderen. Eén van de grootste en best onderzochte muizenlijnen zijn de BXD, die afstammen van de fok en inteelt van de ouderlijke C57BL/6J (C57) en DBA/2J (DBA) stammen. Een groot voordeel van de BXD-muizenlijnen is dat experimentele expressie data, alsook fenotypische data voor veel complexe eigenschappen, beschikbaar zijn in publiekelijk toegankelijke databases. Deze data kan dus gebruikt worden voor het opstellen en toetsen van nieuwe hypothesen. In dit hoofdstuk hebben we met behulp van de openbare GeneNetwork database (www.genenetwork.org) variatie in de expressie van myeline-genen in de BXD-stammen bekeken. De expressie van myeline-genen vertoonde grote verschillen over de 70 BXD-stammen in de analyse, en dit correleerde met gedragstaken die activiteit en/of angst meten. De ouderlijke stammen C57 en DBA bevonden zich op de tegenovergestelde uiteinden van het expressie spectrum, waarbij C57 een hogere expressie van myeline transcripten liet zien. Verdere experimenten in het lab toonden aan dat C57 en DBA ook verschillen vertonen in eiwit-samenstelling van de myeline-membraan, in de myeline- en axonale structuur, en in geleidingssnelheid van gemyeliniseerde axonen. Dit wijst erop dat de verschillen in myeline-expressie en compositie mogelijk bijdragen aan functionele- en/of gedragsverschillen in C57 en DBA. We concluderen dat de BXD-muizenlijnen mogelijk een interessant genetisch model zijn voor vervolgonderzoek naar specifieke myeline-substraten die bijdragen aan verschillen in cognitieve en gedragseigenschappen, en aan de hier gemeten variatie in neuronale connectiviteit.

Zowel de humane- als muis-data in de voorgaande hoofdstukken benadrukken het belang van myeline-integriteit voor connectiviteit in het brein, en daarmee het functioneren van het centrale zenuwstelsel. In **hoofdstuk 5** hebben we verder onderzoek gedaan naar de rol van oligodendrocyten en astrocyten in myeline-membraansynthese. Omdat vetten een belangrijk onderdeel uitmaken van de myeline membraan, hebben wij ons hierbij specifiek gericht op de rollen van vetten en lipiden die door glia worden geproduceerd. Door genetisch te interfereren met lipidenmetabolisme via verwijdering van SCAP in oligodendrocyten (CNP-SCAP) en/of astrocyten (GFAP-SCAP) *in vivo*, vonden we dat myeline membraansynthese door oligodendrocyten zowel intrinsieke lipidsynthese nodig heeft, oftewel lipiden die door oligodendrocyten zelf worden aangemaakt, alsook opname van extracellulaire vetten. We hebben verder gevonden dat met name astrocyten deze extracellulaire vetten aan oligodendrocyten leveren, een proces dat vooral tijdens de latere fases van myelinisatie noodzakelijk is. Interessant is dat wanneer het lipidenmetabolisme specifiek in astrocyten werd verstoord, de oligodendrocyten ook extracellulaire vetten opnamen die via het bloed uit voeding afkomstig leken. Hiermee overeenkomstig zorgde een dieet met een hoog vetgehalte bij deze muizen voor verbeteringen in myelinisatie en geleidingssnelheid van gemyeliniseerde axonen. Wanneer SCAP gelijktijdig in zowel oligodendrocyten als astrocyten werd verwijderd was myeline nagenoeg afwezig. Dit toont aan dat deze twee celtypes verantwoordelijk zijn voor de productie en aanlevering van vetten voor de myeline membraan in het centrale zenuwstelsel.

Op basis van deze bevindingen stellen wij dat intrinsieke productie van vetten in oligodendrocyten voldoende is voor de synthese van de myeline membraan tijdens de eerste postnatale weken, maar dat verdere uitbreiding van de myeline membraan hierna ook levering van vetten door astrocyten nodig heeft. Wij denken dat onze resultaten een nieuw perspectief bieden voor een groot aantal ziektes waarin lipidenmetabolisme een rol speelt. Dit heeft niet alleen betrekking op ziektes met

duidelijke beschadigingen aan myeline, maar ook andere ziektes in het centrale zenuwstelsel, zoals schizofrenie, stemmingsstoornissen en dementie.

Samengevat hebben wij in deze thesis via een multidisciplinaire aanpak de bijdrage van gliagenen aan het ontstaan van polygenetische psychische aandoeningen in mensen onderzocht, en in muizen mogelijke cellulaire mechanismes die hieraan ten grondslag liggen. We waren succesvol in het identificeren van specifieke gliafuncties die mogelijk bijdragen aan primaire processen in ziektes en stoornissen van het centrale zenuwstelsel. Deze gliafuncties omvatten synaps regulatie en ondersteuning door astrocyten, en betrokkenheid van oligodendrocyte lipide- en myeline-genen die mogelijk integriteit van het myeline membraan beïnvloeden. Onze resultaten laten zien dat gliagenen van grote invloed zijn op fysiologische processen in het brein en bij psychiatrische ziektes. Dit zou belangrijke gevolgen kunnen hebben voor ons verdere begrip en de behandeling van neurologische en psychiatrische ziektes. Verdere studies van de hier gerapporteerde bevindingen kunnen helpen om verdere inzichten te verkrijgen in de mechanismes waarmee de hier genoemde gliafuncties een rol spelen in zowel fysiologische als pathologische context. Toekomstig onderzoek kan zich ook richten op het verfijnen van mogelijke therapeutische behandelingen, zoals bijvoorbeeld de hier genoemde diëten met een hoog vetgehalte.

