

# Behavioral and molecular consequences of a 'double-hit' challenge on the pathogenesis of mouse models of depression and amyotrophic lateral sclerosis (ALS)

Citation for published version (APA):

Trofimov, A. (2024). Behavioral and molecular consequences of a 'double-hit' challenge on the pathogenesis of mouse models of depression and amyotrophic lateral sclerosis (ALS). [Doctoral Thesis, Maastricht University]. Maastricht University. <https://doi.org/10.26481/dis.20240205at>

## Document status and date:

Published: 01/01/2024

## DOI:

[10.26481/dis.20240205at](https://doi.org/10.26481/dis.20240205at)

## Document Version:

Publisher's PDF, also known as Version of record

## Please check the document version of this publication:

- A submitted manuscript is the version of the article upon submission and before peer-review. There can be important differences between the submitted version and the official published version of record. People interested in the research are advised to contact the author for the final version of the publication, or visit the DOI to the publisher's website.
- The final author version and the galley proof are versions of the publication after peer review.
- The final published version features the final layout of the paper including the volume, issue and page numbers.

[Link to publication](#)

## General rights

Copyright and moral rights for the publications made accessible in the public portal are retained by the authors and/or other copyright owners and it is a condition of accessing publications that users recognise and abide by the legal requirements associated with these rights.

- Users may download and print one copy of any publication from the public portal for the purpose of private study or research.
- You may not further distribute the material or use it for any profit-making activity or commercial gain
- You may freely distribute the URL identifying the publication in the public portal.

If the publication is distributed under the terms of Article 25fa of the Dutch Copyright Act, indicated by the "Taverne" license above, please follow below link for the End User Agreement:

[www.umlib.nl/taverne-license](http://www.umlib.nl/taverne-license)

## Take down policy

If you believe that this document breaches copyright please contact us at:

[repository@maastrichtuniversity.nl](mailto:repository@maastrichtuniversity.nl)

providing details and we will investigate your claim.

Download date: 27 Apr. 2024

## SUMMARY

In my work, I aimed to study the role of neuroinflammation in mechanisms of emotional abnormalities and pathology hallmarks in two mouse models of neuropsychiatric disorders. I particularly focused on clinically relevant situation of the interaction of disease-driven and environmentally induced inflammation in disease manifestations. Specifically, I used a mouse chronic stress depression model (**Chapter II**) and a transgene mouse model of amyotrophic lateral sclerosis (ALS)/ frontotemporal lobar degeneration (FTLD) with truncated highly aggregate-prone form of human Fused in Sarcoma (FUS) protein, FUS[1-359] (**Chapter III**), in which the role of disease-associated inflammation in manifestation of emotional abnormalities has been previously established. Using these paradigms, I induced systemic inflammation by the administration of a low-dose lipopolysaccharide injection (**Chapters II and III**).

Chronic stress and systemically induced inflammation are both paradigms established to model major depressive disorder, however their combined ‘double-hit’ effects remain largely unexplored. At the same time, a combination of environmentally induced inflammation and disease-driven HPA activation is a common clinical situation. I aimed to investigate behavioral and molecular consequences of stress-induced and environmental inflammation leading to manifestations of depressive-like behaviors and molecular hallmarks of MDD, i.e., levels of corticosterone

and inflammatory cytokine expression. I have shown that the administration of a low dose of LPS, when combined with a CMS, exacerbated depressive-like behavior in terms of behavioral signs of helplessness and anhedonia, a decreased sensitivity to a reward, while behavioral scores of aggression and impulsivity were found to be decreased after LPS treatment in stressed mice (**Chapter II**). LPS treatment alone did not cause overt behavioral changes in my study. Blood corticosterone level was similarly elevated in response to LPS or CMS alone at the same extent as to the combination of both factors. Pro-inflammatory cytokines were increased only in stressed LPS challenged mice. No exacerbation of CNS gene expression of pro-inflammatory cytokine *Il-1 $\beta$* , *Tnf* and serotonergic *5-Ht<sub>2a</sub>*, *Sert* was observed after LPS treatment of stressed mice. This suggests dissociated changes in depressive-like and aggressive behaviors, as well as in brain and hepatic expression of pro-inflammatory cytokine genes.

Thus, my suggestion is that various adaptive mechanisms has evolved to allow the organism to respond to stress and systemic inflammation separately, whereas a low degree inflammation likely to lead to significant behavioral abnormalities in response to stress.

Neurodegenerative disorders are well known to be accompanied by pro-inflammatory changes that are thought to underlie emotional abnormalities in patients. In this context I ran the study, in which I aimed to investigate whether a systemic inflammatory challenge stress may interfere with emotional abnormalities and pathology hallmarks of FUS[1-359] transgenic mice of FUS-tg mice a model of ALS/FTLD (**Chapter III**). Induction of a systemic inflammatory response with low-dose LPS injection

during the pre-symptomatic phase of the disease exacerbates emotional abnormalities and molecular hallmarks in these mice. Thus, regardless the etiology, double-hit disease-driven and environmental inflammation results in aggravated emotional abnormalities and pathology hallmarks in mouse models of depression and ALS/FTLD.

To investigate the role inflammatory mechanisms in MDD further I studied the role of one of the main pro-inflammatory enzymes COX-2 which regulates the arachidonic and cytokines (**Chapter IV**). I used a variant of the CMS model that is based on the induction of anhedonia, a decreased sensitivity to reward, as the core depressive symptom. The anhedonic state in stressed mice in this model is defined by a decrease in sucrose preference and thus were defined as susceptible, while non-stressed control animals do not exhibit such behavior and defined as resilient and can be regarded as an internal control for the effects of stress that are not related to depressive-like changes. In this study, I stratified all the stressed animals in hedonic and anhedonic cohorts to measure the level of COX-2 expression and microglial activation, as well as the intensity of adult neurogenesis. This study suggests the role of COX-2 in individual predisposition to depression. Hippocampal COX-2 is known to play a key role in the hedonia/anhedonia dichotomy. In my study, anhedonic (i.e., depressive) mice exhibited higher number of Iba-1- and COX-2-positive and lower number of Ki67-positive cells accompanied by elevated COX-2 gene expression in the dentate gyrus and the CA1 zone of the hippocampus of compared to non-anhedonic animals. These results further support the view that neuroinflammation contributes to predisposition to depressive syndrome.

My study contains the comparison of celecoxib (a selective inhibitor of COX-2) with a classical antidepressant citalopram (a selective serotonin re-uptake inhibitor) in one animal study as a possible therapy for managing depressive outcomes (**Chapter IV**). This demonstrates similar antidepressant-like properties of celecoxib and that of citalopram suggesting that coxibs can be exploited to treat depressive disorders.

Thus, preventive measures of inflammatory factors and anti-inflammatory therapy that includes as for instance coxibs, might be useful in the prevention and treatment of depressive-like and neurodegenerative conditions. The approach of mimicking an interplay between known etiological and environmental factors in experimental animals is likely to help a better translational research with neuropsychiatric disorders. The two types of inflammation when occur simultaneously do not sum up in an additive way but result in different responses.

## SAMENVATTING

In mijn werk richtte ik me op het bestuderen van de rol van neuro-inflammatie in de mechanismen van emotionele afwijkingen en pathologische kenmerken bij twee muismodellen van neuropsychiatrische stoornissen. Ik richtte me met name op een klinisch relevante situatie van de interactie tussen ziektegerelateerde en door de omgeving veroorzaakte ontsteking bij ziekteverschijnselen. Specifiek gebruikte ik een muismodel van chronische stressdepressie (**Hoofdstuk II**) en een transgeen muismodel van amyotrofische laterale sclerose (ALS)/ frontotemporale lobaire degeneratie (FTLD) met een afgeknotte, sterk aggregatiegevoelige vorm van menselijk Fused in Sarcoma (FUS) – eiwit, FUS [1-359] (**Hoofdstuk III**), waarin de rol van ziektegerelateerde ontsteking bij het ontstaan van emotionele afwijkingen eerder is vastgesteld. Met behulp van deze paradigma's veroorzaakte ik systemische ontsteking door toediening van een lage dosis lipopolysaccharide-injectie (**Hoofdstuk II en III**).

Chronische stress en systemisch opgewekte ontsteking zijn beide gevestigde paradigma's om een grote depressieve stoornis te modelleren, maar hun gecombineerde effecten blijven grotendeels onontdekt. Tegelijkertijd is een combinatie van door de omgeving veroorzaakte ontsteking en ziektegerelateerde HPA-activatie een veelvoorkomende klinische situatie. Ik richtte me op het onderzoeken van gedrags- en moleculaire consequenties van stress-geïnduceerde en omgevingsontsteking die leiden tot manifestaties van depressieve gedragingen en moleculaire kenmerken van MDD, d.w.z. niveaus van corticosteron en inflammatoire cytokine-expressie. Ik heb aangetoond dat toediening van een lage dosis LPS, in combinatie met CMS, depressief

gedrag verergert in termen van gedragsmatige tekenen van hulpeloosheid en anhedonie, een verminderde gevoeligheid voor beloning, terwijl gedragsmatige scores van agressie en impulsiviteit werden gevonden om te worden verminderd na LPS-behandeling bij gestreste muizen (**Hoofdstuk II**). LPS-behandeling alleen veroorzaakte geen duidelijke gedragsveranderingen in mijn onderzoek. Het niveau van bloedcorticosteron werd evenveel verhoogd bij reactie op LPS of CMS alleen als bij de combinatie van beide factoren. Pro-inflammatoire cytokines werden alleen verhoogd bij gestreste LPS-uitgedaagde muizen. Er werd geen verergering van CNS-genexpressie van pro-inflammatoire cytokine *Il-1β*, *Tnf* en serotonerge *5-Ht2a*, *Sert* waargenomen na LPS-behandeling van gestreste muizen. Dit suggereert gedissocieerde veranderingen in depressieve en agressieve gedragingen, evenals in de expressie van pro-inflammatoire cytokinegenen in de hersenen en lever.

Dus, mijn suggestie is dat verschillende aanpassingsmechanismen zijn geëvolueerd om het organisme in staat te stellen afzonderlijk te reageren op stress en systemische ontsteking, terwijl een lichte ontsteking waarschijnlijk leidt tot significante gedragsstoornissen als reactie op stress.

Neurodegeneratieve aandoeningen gaan gepaard met pro-inflammatoire veranderingen die verondersteld worden de emotionele afwijkingen bij patiënten te veroorzaken. In deze context heb ik het onderzoek uitgevoerd, waarin ik heb geprobeerd te onderzoeken of een systemische inflammatoire uitdaging stress kan interfereren met emotionele stoornissen en pathologiekenmerken van FUS[1-359] transgene muizen van FUS-tg muizen, een model van ALS/FTLD (**Hoofdstuk III**).

Inductie van een systemische inflammatoire respons met een lage dosis LPS-injectie tijdens de pre-symptomatische fase van de ziekte verergert emotionele stoornissen en moleculaire kenmerken bij deze muizen. Dus, ongeacht de oorzaak, resulteert een dubbel-effect van door ziekte gedreven en milieu-ontsteking in verergerde emotionele stoornissen en pathologische kenmerken bij muismodellen van depressie en ALS/FTLD.

Om de rol van ontstekingsmechanismen bij MDD verder te onderzoeken, heb ik de rol bestudeerd van een van de belangrijkste pro-inflammatoire enzymen COX-2, dat de arachidonzuur- en cytokines reguleert (**Hoofdstuk IV**). Ik heb een variant van het CMS-model gebruikt dat is gebaseerd op de inductie van anhedonie, een verminderde gevoeligheid voor beloning, als het kernsymptoom van depressie. De anhedonische toestand bij gestreste muizen in dit model wordt gedefinieerd door een afname van de sucrosevoorkeur en wordt dus als vatbaar gedefinieerd, terwijl niet-gestreste controledieren dergelijk gedrag niet vertonen en veerkrachtig worden genoemd en als interne controle kunnen dienen voor de effecten van stress die niet gerelateerd zijn aan depressieve veranderingen. In deze studie heb ik alle gestreste dieren onderverdeeld in hedonische en anhedonische cohorten om het niveau van COX-2-expressie en microglia-activatie te meten, evenals de intensiteit van volwassen neurogenese. Deze studie suggereert de rol van COX-2 bij individuele predispositie voor depressie. Hippocampale COX-2 speelt een sleutelrol bij de hedonie/anhedonie-dichotomie. In mijn studie vertoonden anhedonische (dwz depressieve) muizen een hoger aantal Iba-1- en COX-2-positieve en een lager aantal Ki67-positieve cellen vergezeld van verhoogde COX-2-genexpressie in de dentate gyrus en de CA1-zone van



de hippocampus in vergelijking met niet-anhedonische dieren. Deze resultaten ondersteunen verder het idee dat neuro-inflammatie bijdraagt aan de predispositie voor het depressieve syndroom.

Mijn onderzoek bevat de vergelijking van celecoxib (een selectieve remmer van COX-2) met een klassiek antidepressivum citalopram (een selectieve serotonineheropnameremmer) in één dierstudie als mogelijke therapie voor het beheersen van depressieve uitkomsten (**Hoofdstuk IV**). Dit toont vergelijkbare antidepressieve eigenschappen van celecoxib en citalopram, wat suggereert dat coxibs kunnen worden gebruikt om depressieve stoornissen te behandelen.

Preventieve maatregelen van inflammatoire factoren en anti-inflammatoire therapie, inclusief coxibs, kunnen dus nuttig zijn bij de preventie en behandeling van depressie-achtige en neurodegeneratieve aandoeningen. De benadering van het nabootsen van een interactie tussen bekende etiologische en omgevingsfactoren bij experimentele dieren zal waarschijnlijk bijdragen aan beter vertaalbaar onderzoek naar neuropsychiatrische aandoeningen. De twee soorten ontsteking die tegelijkertijd optreden, worden niet opgeteld op een additieve manier, maar leiden tot verschillende reacties.