

Aus dem  
CharitéCentrum für Audiologie / Phoniatrie, Augen- und HNO-Heilkunde  
Klinik für Augenheilkunde  
Direktorin: Prof. Dr. med. Antonia Jousen

## **Habilitationsschrift**

### **Einfluss von physischer Aktivität auf die Plastizität des Gehirns**

zur Erlangung der Lehrbefähigung  
für das Fach Experimentelle Neurologie

vorgelegt dem Fakultätsrat der Medizinischen Fakultät  
Charité-Universitätsmedizin Berlin

von

**Dr. rer. nat. Susanne Wolf**  
geboren in Suhl

Eingereicht: Juni 2019

Dekan: Prof. Dr. med. Axel R. Pries

1. Gutachter: Herr Prof. Dr. Wolfgang J. Streit, Florida
2. Gutachter: Herr Prof. Dr. Ari Waisman, Mainz

Diese kumulative Schrift gründet sich auf die folgenden Originalarbeiten:

- 1.) **Susanne A. Wolf**, Barbara Steiner, Antje Wengner, Martin Lipp, Thomas Kammertoens, and Gerd Kempermann. Adaptive peripheral immune response increases proliferation of neural precursor cells in the adult hippocampus. *The FASEB J*: 3121–3128, published on 11 May 2009, doi.org/10.1096/fj.08-113944
- 2.) **Wolf, S. A.**, Bick-Sander, A., Fabel, K., Leal-Galicia, P., Tauber, S., Ramires Rodriguez, G., Muller, A., Melnik, A., Waltinger, T. P., Ullrich, O., and Kempermann, G. Cannabinoid receptor CB1 mediates baseline and activity-induced survival of new neurons in adult hippocampal neurogenesis. *Cell Commun Signal*. 2010 Jun 17;8:12. doi: 10.1186/1478-811X-8-12.
- 3.) **Wolf, S. A.**, Melnik, A., and Kempermann, G. Physical exercise increases adult neurogenesis and telomerase activity, and improves behavioral deficits in a mouse model of schizophrenia. *Brain Behav Immun*. 2011 Jul;25(5):971-80. Epub 2010 Oct 21, doi: 10.1016/j.bbi.2010.10.014.
- 4) Daniele Mattei\*, Anaïs Djodari-Irani\*, Ravit Hadar, Andreas Pelz, Lourdes Fernandez de Cossío, Thomas Goetz, Marina Matyash, Helmut Kettenmann, Christine Winter\*, **Susanne A. Wolf\***: Minocycline rescues decrease in neurogenesis, increase in microglia cytokines and deficits in sensorimotor gating in an animal model of schizophrenia. *Brain Behavior and Immunity* 05/2014. DOI:10.1016/j.bbi.2014.01.019
- 5) Luisa Möhle\*, Daniele Mattei\*, Markus M. Heimesaat\*, Stefan Bereswill, André Fischer, Marie Alutis, Timothy French, Dolores Hambardzumyan, Polly Matzinger, Ildiko R. Dunay\*, **Susanne A. Wolf\***: Ly6Chi Monocytes Provide a Link between Antibiotic-Induced Changes in Gut Microbiota and Adult Hippocampal Neurogenesis. *Cell Reports* 05/2016; 15(9). DOI:10.1016/j.celrep.2016.04.074

\*geteilte Autorenschaft

**Inhaltsverzeichnis**

**ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS..... 4**

**EINLEITUNG ..... 5**

ADULTE NEUROGENESE ..... 6

FREIWILLIGE KÖRPERLICHE AKTIVITÄT – LAUFEN IM LAUFRAD ERHÖHT DIE PROLIFERATION VON VORLÄUFERZELLEN..... 9

ENRICHED ENVIRONMENT – REIZREICHE UMGEBUNG ERHÖHT DIE ÜBERLEBENSRATE VON VORLÄUFERZELLEN ..... 9

**ZIELSTELLUNG DER ARBEIT..... 10**

**ERGEBNISSE AUS DEN FÜNF VERWENDETEN PUBLIKATIONEN ..... 11**

1) FASEB J. 23, 3121–3128 (2009). DOI: 10.1096/FJ.08-113944..... 11

ADAPTIVE PERIPHERAL IMMUNE RESPONSE INCREASES PROLIFERATION OF NEURAL PRECURSOR CELLS IN THE ADULT HIPPOCAMPUS ..... 11

2) CELL COMMUN SIGNAL. 2010 JUN 17; 8:12. DOI: 10.1186/1478-811X-8-12. .... 13

CANNABINOID RECEPTOR CB1 MEDIATES BASELINE AND ACTIVITY-INDUCED SURVIVAL OF NEW NEURONS IN ADULT HIPPOCAMPAL NEUROGENESIS. .... 13

3) BRAIN BEHAV IMMUN. 2011 JUL; 25(5):971-80. DOI: 10.1016/J.BBI.2010.10.014 ..... 14

PHYSICAL EXERCISE INCREASES ADULT NEUROGENESIS AND TELOMERASE ACTIVITY, AND IMPROVES BEHAVIORAL DEFICITS IN A MOUSE MODEL OF SCHIZOPHRENIA..... 14

4) BRAIN BEHAVIOR AND IMMUNITY 05/2014; DOI:10.1016/J.BBI.2014.01.019 ..... 15

MINOCYCLINE RESCUES DECREASE IN NEUROGENESIS, INCREASE IN MICROGLIA CYTOKINES AND DEFICITS IN SENSORIMOTOR GATING IN AN ANIMAL MODEL OF SCHIZOPHRENIA. .... 15

5) CELL REPORTS 05/2016; 15(9). DOI:10.1016/J.CELREP.2016.04.074 ..... 17

LY6C<sup>HI</sup> MONOCYTES PROVIDE A LINK BETWEEN ANTIBIOTIC-INDUCED CHANGES IN GUT MICROBIOTA AND ADULT HIPPOCAMPAL NEUROGENESIS. .... 17

**DISKUSSION ..... 19**

**ZUSAMMENFASSUNG..... 26**

**REFERENZEN ..... 27**

**DANKSAGUNG..... 38**

**ANTEILSERKLÄRUNG AN DEN VERWENDETEN PUBLIKATIONEN ..... 39**

**ANHANG – ORIGINALE DER VERWENDETEN PUBLIKATIONEN ..... 42**

**ERKLÄRUNG §4 ABS. 3 (K) DER HABOMED DER CHARITÉ ..... 98**

**Abkürzungsverzeichnis**

|              |                                       |
|--------------|---------------------------------------|
| 2-AG         | 2-arachidonylglycerol                 |
| AD           | Alzheimer's Disease                   |
| AEA          | Anandamide                            |
| AM251        | Cannabinoid Rezeptor 1 Agonist        |
| APP          | Amyloid precursor protein             |
| A $\beta$    | Amyloid beta protein                  |
| BDNF         | Brain derived neurotrophic factor     |
| BrdU         | Bromodeoxyuridine                     |
| CA           | Cornu ammonis                         |
| CB           | Cannabinoid Rezeptor                  |
| CBD          | Cannabidiol                           |
| CD           | Cluster of differentiation            |
| CREB         | cAMP response element-binding protein |
| Dcx          | Doublecortin                          |
| DNA          | Desoxyribonuclein acid                |
| FAAH         | Fatty acid amide hydrolase            |
| IGF-1        | Insuline-like growth factor           |
| IL-1b        | Interleukin beta                      |
| LPS          | Lipopolysaccharid                     |
| mRNA         | Messenger ribonuclein acid            |
| NeuN         | Neuronal nuclei                       |
| NGF          | Neuronal growth factor                |
| PolyI:C      | polyinosin-polycytidilic Säure        |
| SGZ          | Subgranuläre Zone                     |
| SVZ          | Subventriculäre Zone                  |
| TNF $\alpha$ | Tumornekrosisfaktor alpha             |
| TRPV1        | Vanillin Rezeptor                     |

## Einleitung

Physische Aktivität ist eine der Voraussetzung den Körper gesund zu erhalten und bringt nachweislich auch einen großen Gewinn für die psychische Gesundheit. Durch welche zellulären und molekularen Mechanismen dieser Gewinn vermittelt wird, ist Gegenstand neurowissenschaftlicher Forschungen. Wichtig für die Entwicklung des Hirns und für die Erhaltung von Plastizität des Gehirns ist kognitive Aktivität. Aber auch physische Aktivität hat ein Einfluss auf die Grundstruktur und auf die Funktion und vor allen Dingen auf die Plastizität des Hirns. Der wichtigste Mechanismus der zellbasierten Hirnplastizität ist die adulte hippocampale Neurogenese. Neue Neurone werden das gesamte Leben hindurch generiert und zwar im Hippocampus, einer Region die eine funktionelle Basis für Lernen und Gedächtnis darstellt.

Noch bis heute teilt sich die Neurogeneseforschung in zwei Lager: Auf der einen Seite sind renommierte Wissenschaftler und Arbeitsgruppen, die die hippocampale Neurogenese beim erwachsenen Menschen nachweisen und von der fundamentalen Bedeutung der Neubildung von Neuronen im Hippocampus für Lernen und Gedächtnis überzeugt sind. Auf der anderen Seite stehen ebenso renommierte Wissenschaftler und Arbeitsgruppen, die teilweise mit ähnlichen Methoden zeigen, dass es beim Menschen keine Neurogenese im Erwachsenenalter gibt und dass demzufolge die Bedeutung für die Funktion des erwachsenen Gehirns auch gering bis nicht existent ist.

In meiner Arbeit habe ich ausschließlich Tiermodelle benutzt. Hier gibt es keinen Zweifel an der Existenz der adulten hippocampalen Neurogenese. Ebenso wird die Bedeutung von hippocampaler Neurogenese bei der Entwicklung des menschlichen Gehirns bis zur Pubertät nicht angezweifelt. Vor allem tierexperimentelle Studien, aber auch einige Untersuchungen beim Menschen haben vorgeschlagen, dass der Hippocampus und die dort stattfindende Neurogenese ein primäres Target bei neurodegenerativen und psychiatrischen Erkrankung ist. In tierexperimentellen Studien wurde gezeigt, dass sowohl freiwillige physische Aktivität als auch das klassische Paradigma der Umgebungsanreicherung (enriched environment) adulte hippocampale Neurogenese stimuliert. Physische Aktivität steigert sehr stark die Zellproliferation, während die Umgebungsanreicherung vor allem das Überleben von neugeborenen Neuronen unterstützt. Das impliziert, dass ein genereller Stimulus wie Laufen vor allem den Pool an

Vorläuferzellen erhöht und dass ein komplexer Stimulus durch reizreiche Umgebung hauptsächlich in der Rekrutierung von neugenerierten Zellen in das bestehende neuronale Netzwerk resultiert. Beide Typen der Aktivität haben überlappenden Effekte auf die Neurogenese. In einigen Studien habe ich den Unterschied zwischen reizreicher Umgebung und physische Aktivität untersucht. Der Fokus dieser vorliegenden Habilitationsschrift liegt auf der Modulation von Neurogenese durch physische Aktivität in verschiedenen Pathologien. Die Arbeit ist in der Ich-Form verfasst. Selbstverständlich basiert jede Publikation auf Teamarbeit. Die Eigenleistungen bei jeder Publikation sind im Kapitel Anteilserklärung auf Seite 39 dargestellt.

### **Adulte Neurogenese**

Neurogenese ist die Bildung von neuen Neuronen aus neuronalen Stammzellen und Vorläuferzellen. Dieser Prozess wurde 1965 erstmalig von Altmann und Das beschrieben. In dieser Arbeit wurde Thymidin titriert und gezeigt, dass Zellen im Zentralnervensystem proliferieren (Altman and Das 1965). Spätere Studien haben mithilfe der Inkorporation von Bromodeoxyuridine (BRDU) in die DNA von Zellen während der S-Phase zeigen können, dass adulte Neurogenese im Hippocampus existiert (Altman and Das 1967, Kaplan and Hinds 1977).

Neuronale Stammzellen sind somatische multipotente Stammzellen die sich selbst erneuern können und die neue neuronale Progenitorzellen hervorbringen können die dann weiter differenzieren. Neuronale Stammzellen sowie andere somatische Stammzellen sind gewebespezifisch und haben nur eine limitierte Selbsterneuerungsrate und ein restriktiv letztes Differenzierungspotenzial. Neuronale Stammzellen generieren Neurone, Astrozyten und Oligodendrozyten im adulten Säugerhirn (Gage 2000).

Es gibt zwei Stammzellennischen im Zentralnervensystem, die subventrikuläre Zone (SVZ) die die Ventrikel auskleidet (Altman 1969, Corotto, Henegar et al. 1993, Alvarez-Buylla and Garcia-Verdugo 2002) und die subgranuläre Zone (SGZ) im Gyrus Dentatus des Hippocampus (Altman and Das 1967, Kempermann and Gage 2000, Toda, Parylak et al. 2018). Die Stammzellen der SGZ sind charakterisiert durch die Marker Nestin und GFAP. Diese sich wenig teilenden Stammzellen produzieren hochproliferative Tochterzellen, welche die neuronale Marker Calretinin und Doublecortin exprimieren. Diese bereits in der neuronalen Linie gebundenen Vorläuferzellen reifen weiter bis zum postmitotischen Stadium, das durch die Expression von Calretinin und NeuN

gekennzeichnet ist (Abbildung 1) (Kempermann and Gage 2000, Jessberger and Kempermann 2003). Studien, die retrogrades „tracing“ nutzen, bestätigten, dass diese neu erzeugten Neuronen funktionelle Zellen sind, die synaptischen Input erhalten (Kaplan and Bell 1984, Markakis and Gage 1999) und Projektionen *in vitro* und *in vivo* zur Cornus Amonis (CA)3-Region schicken (Stanfield and Trice 1988, van Praag, Schinder et al. 2002). Die unmittelbare Umgebung der SGZ wird durch verschiedene Faktoren reguliert, z.B. „Sonic Hedgehog“ und vaskulärer endothelialer Wachstumsfaktor (VEGF) (Alvarez-Buylla and Lim 2004). Durch Einzelzellsequenzierung ist die neuronale Nische im Hippocampus in jüngster Zeit noch genauer beschrieben worden. (Artegiani, Lyubimova et al. 2017)

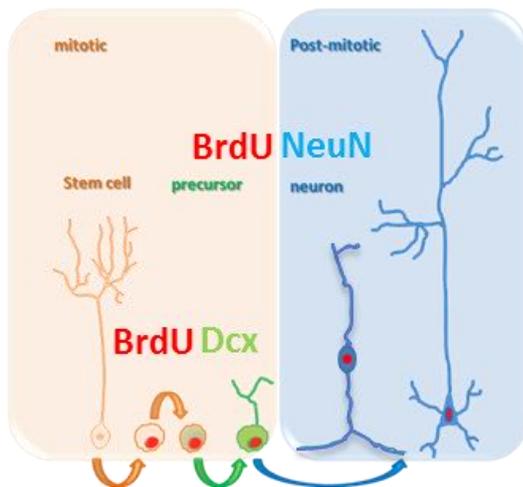
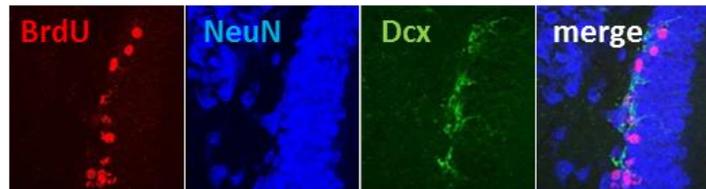


Abbildung 1: Proliferierende Zellen, die mit BrdU (rot) markiert sind, entstehen in der SGZ des Gyrus dentatus, reifen und integrieren sich in die mit NeuN markierte granuläre Zellschicht (blau). Doublecortin (Dcx, grün) ist ein Marker für die späten mitotischen neuronalen Vorläuferzellen und NeuN (blau) ist ein Marker für reife Neuronen. Die Grafik (aus Möhle et al. 2016) visualisiert die Schritte der neuronalen Reifung und die Farben stimmen mit den Fluorochromen in der repräsentativen mikroskopischen Aufnahme überein.



Die Aufnahmen wurden von mir selbst erstellt

Adulte Neurogenese ist unter physiologischen Bedingungen z.B. zur Aufrechterhaltung der kognitiven Funktion notwendig (Gould and Gross 2002, Song, Stevens et al. 2002). Die Neurogenese wurde mit hippocampusabhängigen Funktionen in Verbindung gebracht (Bruehl-Jungerman, Rampon et al. 2007, Deng, Aimone et al. 2010, Aimone, Li et al. 2014). Es bleibt jedoch unklar, ob Neurogenese eine Voraussetzung für eine korrekte Mustertrennung im Gyrus Dentatus des Hippocampus und / oder für die Gedächtnisauflösung ist (Jessberger, Toni et al. 2008, Aimone, Deng et al. 2011, Sahay, Scobie et al. 2011, Franca, Bitencourt et al. 2017, Castillon, Lunion et al. 2018). Die neuen Neuronen helfen dabei, "katastrophale Störungen" neuer Erinnerungen mit älteren im Bereich CA3 zu vermeiden (Aimone, Wiles et al. 2006, Wiskott, Rasch et al. 2006, Aimone, Wiles et al. 2009) welche zu dauerhaften Veränderungen im Netzwerk führen. Neue Neurone ermöglichen eine aktivitätsabhängige Anpassung der

Moosfaserverbindung zwischen dem Gyrus Dentatus und CA3 aufgrund früherer Aktivität und Erfahrung (Kempermann 2002, Hvoslef-Eide, Oomen et al. 2015). In Situationen, welche die Integration neuer Informationen in bekannte Kontexte erfordern, wäre eine verbesserte Flexibilität durch kontinuierliche dauerhafte Netzwerkänderungen von Vorteil (Garthe, Behr et al. 2009). Zum Beispiel kann in räumlichen Verhaltensaufgaben wie dem Wasserlabyrinth von Morris diese Flexibilität durch sogenannte "Umkehrungen" getestet werden. Beim "Umkehrlernen" wird die Position der Fluchtplattform verändert; der allgemeine räumliche und emotionale Kontext bleibt jedoch stabil. Alle Erinnerungen, die sich auf die alte Plattformposition beziehen, müssen aktualisiert werden - während sie getrennt von den vorher erlernten gehalten werden. Das Gesamtziel, dem Wasser zu entkommen, bleibt gleich. Daher wurde die Hypothese aufgestellt, dass räumliche Lern- und Gedächtnisaufgaben die adulte hippocampale Neurogenese aktivieren und zu einem verbesserten Gedächtnis und erhöhter synaptischer Plastizität führen (Wolfer, Stajlar-Bozicevic et al. 1998, Wolf, Kronenberg et al. 2006, Diederich, Schabitz et al. 2009, Sampedro-Piquero, Moreno-Fernandez et al. 2018, Woost, Bazin et al. 2018).

Pathologische Ereignisse können auch die Neurogenese erhöhen. Neurologische Störungen, z.B. traumatische Hirnverletzung (Dash, Mach et al. 2001, Lu, Mahmood et al. 2003) oder experimentell induzierter Schlaganfall durch Okklusion der mittleren Hirnarterie erhöhen die Neurogenese in SVZ und SGZ (Arvidsson, Kokaia et al. 2001, Arvidsson, Collin et al. 2002, Jin, Sun et al. 2003) oder experimentell erzeugte Epilepsie (Parent, Elliott et al. 2006) durch Injektionen von Kainatsäure (Jessberger, Romer et al. 2005). Diese neu generierten Zellen integrieren sich selten richtig in das neuronale Netzwerk - sie führen vielmehr zu "katastrophalen Interferenzen" (Parent and Lowenstein 2002, Jessberger, Zhao et al. 2007).

Körperliches Training und angereicherte Umgebung führen zu einem Anstieg der Neurogenese (Kempermann, Kuhn et al. 1997, Van Praag, Christie et al. 1999, Fabel, Wolf et al. 2009, van Praag, Fleshner et al. 2014) und verhindert altersbedingte Abnahme der Vorläuferzellaktivität (Kronenberg, Bick-Sander et al. 2006). Daher ist es wichtig, zwischen einer durch physiologische oder pathologische Ereignisse ausgelösten Neurogenese zu unterscheiden. Neurogenese per se ist nicht vorteilhaft. Sie muss im richtigen Kontext geschehen.

### **Freiwillige körperliche Aktivität – Laufen im Laufrad erhöht die Proliferation von Vorläuferzellen**

Labornager, die ein Laufrad in ihrem Käfig nutzen, legen innerhalb von 12 Stunden 5 bis 8 Kilometer zurück. Freiwillige körperliche Aktivität ist ein sehr robuster Stimulus für die adulte hippocampale Neurogenese bei Nagetieren von der Geburt bis zum Alter (Kempermann, van Praag et al. 2000, van Praag 2008, Liu and Nusslock 2018). Der akute Anstieg der Proliferation findet vor allem auf der Ebene der Progenitorzellen statt, die Doublecortin exprimieren. Dieser Kurzzeiteffekt nimmt über mehrere Wochen ab (Kronenberg, Reuter et al. 2003, Plumpe, Ehninger et al. 2006). Langfristig läuft die Proliferation von Vorläuferzellen auf einem erhöhten Niveau. Vermutlich in Abwesenheit von geeigneten überlebensfördernden Stimuli wird dieses erhöhte Potential jedoch nicht ohne Weiteres in eine Zunahme der Netto-Neurogenese übersetzt. Körperliche Aktivität ist ein notwendiger, aber nicht ausreichender Mechanismus, um die Neurogenese Erwachsener auf lange Sicht aufrecht zu erhalten.

### **Enriched environment – reizreiche Umgebung erhöht die Überlebensrate von Vorläuferzellen**

Reizreiche Umgebung – „Environmental Enrichment“ - ist mehr als nur eine Umkehrung der Verarmung bei Laborhaltung. Baroncelli und Kollegen spekulierten, dass "Während die Aktivität von Mäusen und Ratten in der Wildnis hauptsächlich durch die Notwendigkeit angetrieben wird, Aktivität in einer angereicherten Umgebung in der Regel durch eine Kombination aus Neugier und Spiel ausgelöst wird" (Baroncelli, Braschi et al. 2010). Der positive Effekt der Umweltanreicherung auf die Neurogenese (Kempermann, Brandon et al. 1998, Ohline and Abraham 2018) ist weitgehend auf eine überlebensfördernde Wirkung auf die Nachkommenschaft der sich teilenden Vorläuferzellen zurückzuführen, und in geringerem Maße auf eine erhöhte Teilung der Vorläuferzellen (Brandt, Jessberger et al. 2003, Kronenberg, Reuter et al. 2003, Pallas-Bazarra, Jurado-Arjona et al. 2016). Angereicherte Umgebungen sind schlechte Modelle der wilden Bedingungen. Es wurde vorgeschlagen, dass einer der Schlüsselparameter, der in der Laborsituation fehlt, die Menge an körperlicher Aktivität ist, die ein Tier in der Wildnis erleben würde. Die meisten angereicherten Umgebungen, die in Studien verwendet wurden, enthielten Laufräder, welche die Unterscheidung zwischen den beiden Paradigmen verdeckten. Nur der direkte Vergleich beider Paradigmen zeigt, wie unterschiedlich sie tatsächlich sind. Die

sequenzielle Kombination der potenzsteigernden Effekte der körperlichen Aktivität mit dem überlebensfördernden Effekt der Umwultanreicherung zeigte, dass die beiden Effekte tatsächlich additiv sind (Fabel, Wolf et al. 2009, Xie, Wu et al. 2013). Meine Kollegen und ich konnten zeigen, dass ein stimuliertes Potential sogar noch mehr Neuronen als das Ausgangspotential ergab, obwohl nur eine Teilmenge neuer Zellen überlebt.

### **Zielstellung der Arbeit**

Ganz sicher moduliert physische Aktivität viele Organe und Organsysteme und Teile des Körpers außer dem Gehirn. Physische Aktivität erhöht den Blutfluss, stärkt die Muskulatur und die Knochen, verbessert den Metabolismus und die Funktion des Immunsystems sowie auch die Funktion der Stress-Achse. Es liegt auf der Hand, dass der Effekt von physischer Aktivität auf Neurogenese vor allem auch durch systemische Faktoren vermittelt wird. Ob diese Boten aus der Peripherie zum Gehirn Zellen oder lösliche Faktoren oder beides sind wird zurzeit untersucht. Diese Faktoren zu identifizieren ist nicht nur eine akademische Fragestellung, sondern es wäre auch für viele Patienten und Ärzte von großem Interesse, ob physische Aktivität positive Effekte auf bestimmte Krankheitsbilder hat. Welches akademische Lager am Ende Recht hat und ob hippocampale adulte Neurogenese wichtig ist für die positive Wirkung von physischer Aktivität ist für Patienten und für den klinischen Alltag sekundär. Eine direkte Translation vom Tierexperiment zur Anwendung beim Patienten ist immer gewagt. Gleichzeitig kommt die medizinische Forschung aufgrund von ethischen, moralischen und ökonomischen Vorgaben nicht gänzlich ohne Tiermodelle aus. Die Übertragbarkeit auf den Menschen muss für jede Studie kritisch und individuell geprüft werden. Auf dem Gebiet der adulten Neurogenese ist dieser Prozess schon lange angestoßen und ich finde es positiv, dass Befürworter und Skeptiker im Dialog sind und bleiben, um zumindest auf diesem Forschungsgebiet nicht leichtfertig ein finales Urteil in Stein zu meißeln.

Das Ziel dieser vorliegenden Arbeit ist es, einerseits Faktoren wie freiwillige körperliche Aktivität und Immunreaktionen zu untersuchen, die adulte Neurogenese beeinflussen und gleichzeitig mögliche „Vermittler“ zwischen Peripherie und Gehirn zu identifizieren, die Neurogenese modulieren können. Dazu habe ich verschiedene Tiermodell genutzt, die Pathologien oder bestimmte Symptome menschlicher Erkrankungen nachbilden. Ein besonderer

Fokus meiner Arbeit liegt in der Untersuchung der Bedeutung von Neurogenese für mentale Gesundheit. Ich habe daher neben der Neurogenese auch häufig das Verhalten der Tiere untersucht. Sowohl in psychiatrischen als auch neurologischen Erkrankungen spielt der Status des Immunsystems eine entscheidende Rolle. Daher habe ich auch die Immunzellen des Zentralen Nervensystems, die Mikroglia mit in meine Untersuchungen einbezogen. Die fünf hier dargestellten Arbeiten stellen einen Querschnitt meiner Forschung der letzten 10 Jahre dar, deren Fokus auf dem Zusammenspiel von Immunsystem und Gehirn liegt.

### **Ergebnisse aus den fünf verwendeten Publikationen**

In den beiden ersten Arbeiten habe ich Faktoren untersucht, die die induzierte Neurogenese beeinflussen

**1) FASEB J. 23, 3121–3128 (2009). DOI: 10.1096/fj.08-113944**

#### **Adaptive peripheral immune response increases proliferation of neural precursor cells in the adult hippocampus**

*Susanne A. Wolf, Barbara Steiner, Antje Wengner, Martin Lipp, Thomas Kammertoens, and Gerd Kempermann*

Seit der positive Einfluss von körperlicher Aktivität auf die Neurogenese bekannt wurde, begann die Suche nach den Mechanismen, die diesem Effekt zugrunde liegen. Es wurde früh festgestellt, dass starke Stressoren die adulte hippocampale Neurogenese stark herunterregulieren und dass daran erhöhte Glucocorticoidspiegel beteiligt sind (Gould 1994, Gould and Tanapat 1999, Mirescu and Gould 2006, Ekstrand, Hellsten et al. 2008, Schoenfeld and Gould 2013). Gleichzeitig ist angereicherten Umgebung oder freiwillige körperliche Aktivität, die beide die adulte Neurogenese steigern, auch mit erhöhten Glucocorticoidspiegeln assoziiert (Borer, Bestervelt et al. 1992). Der Einfluss von Glucocorticoiden auf die Neurogeneserate könnte somit dosisabhängig sein.

Immunantworten rangieren hoch unter ethologisch relevanten Stressoren (Kusnecov and Goldfarb 2005). Die Injektion von Lipopolysaccharid (LPS), welches das angeborene Immunsystem aktiviert, verringert die adulte hippocampale Neurogenese (Monje, Toda et al.

2003, Littlefield, Setti et al. 2015). Andererseits wurde gezeigt, dass autoreaktiven (ZNS)-spezifische T-Zellen zur Erhaltung der physiologischen Neurogeneserate beitragen (Ziv, Ron et al. 2006). Zur Zeit der Studie gab es keine Information über die Wirkung einer adaptiven (nicht ZNS spezifischen) T-Zell-abhängigen Immunantwort während einer peripheren Entzündung auf die adulte Neurogenese.

**In der ersten Studie (Wolf et al. 2009)** habe ich Beispiele für adaptive und angeborene Immunantworten auf ihre Wirkung auf adulte hippocampale Neurogenese und die mögliche Beteiligung von Corticosteron bei der Vermittlung solcher Effekte untersucht. Als Modell für die periphere T-Zell-Aktivierung wurde experimentelle Antigen-induzierte Arthritis (AIA) in den Kniegelenken von weiblichen C57Bl/6 Mäusen induziert. Es wurde weiterhin Mäusen Staphylococcus Enterotoxin (SEB) als spezifisches Modell für die Aktivierung peripherer T-Zellen oder LPS als Modell für eine primäre angeborene Immunantwort injiziert. Vorläuferzellproliferation und Neurogenese im Gyrus dentatus wurden zu verschiedenen Zeitpunkten nach dem Einsetzen der Immunantwort beurteilt. Das Glucocorticoid von Nagern – Corticosteron - wurde nach allen o.g. Interventionen im Hippocampus gemessen. Die direkte Wirkung von hohem und niedrigem Corticosteron auf Proliferation und Differenzierung von Vorläuferzellen wurde in primären Hippocampus-Vorläufer-Zellkulturen getestet. Neben anderen Faktoren, habe ich in dieser Studie zeigen können, dass eine adaptive Immunantwort durch moderate Erhöhung des Glucocortikoidspiegel die Neurogenese-Rate modulieren kann und dadurch das Potenzial des hippocampalen neuronalen Netzwerks für die Anpassung an extrinsische Stimuli erhöht.

Ein weiteres System, welches auf extrinsische und intrinsische Stimuli reagiert und die Neurogeneserate sowie kognitive Fähigkeiten beeinflussen kann, ist das endogene Cannabinoidsystem.

**2) Cell Commun Signal. 2010 Jun 17; 8:12. Doi: 10.1186/1478-811X-8-12.**

**Cannabinoid receptor CB1 mediates baseline and activity-induced survival of new neurons in adult hippocampal neurogenesis.**

*Wolf SA, Bick-Sander A, Fabel K, Leal-Galicia P, Tauber S, Ramirez-Rodriguez G, Müller A, Melnik A, Waltinger TP, Ullrich O, Kempermann G.*

**In der zweiten Studie (Wolf et al. 2010)** untersuchte ich daher die Rolle des Cannabinoidsystems auf das Grundlevel und die trainingsinduzierten Neurogenese. In der Studie konnte ich zeigen, dass der Cannabinoidrezeptor CB1, der auf neuronalen Vorläuferzellen exprimiert wird, ein Zielrezeptor bei der induzierten neuronalen Vorläuferproliferation sein kann. Viele Bestandteile des endogenen Cannabinoidsystems wie die CB1- und CB2-Rezeptoren und ihre endogenen Liganden Anandamid (AEA) und 2-Arachidonylglycerol (2-AG) sowie das AEA-abbauende Enzym Fettsäureamidhydrolase (FAAH) und das 2-AG synthetisierende Enzyme Diacylglycerol-Lipasen finden sich in der neuronalen Entwicklungs- und adulten Neurogenese (Aguado, Monory et al. 2005, Harkany, Guzman et al. 2007, Goncalves, Suetterlin et al. 2008).

Ich zeigte zusätzlich, dass, wenn CB1 abwesend oder blockiert ist, körperliche Aktivität im Laufrad die Proliferation von neuronalen Vorläuferzellen nicht induzieren konnte. CB1 Rezeptoren werden durch Übungs- und Lernaufgaben hochreguliert. Es ist nicht überraschend, dass die Aktivierung dieser Rezeptoren auch die Stimmung bei Tieren und Menschen beeinflusst. Aufgrund seiner physiologischen Rolle bei der Plastizität des Gehirns könnte das Endocannabinoidsystem zur Kontrolle der adulten hippocampalen Neurogenese bei Gesundheit und Krankheit beitragen. Eine Reihe von Argumenten weisen darauf hin, dass Cannabinoide möglicherweise einige ihrer Wirkungen über ihre Auswirkungen auf die adulte Neurogenese ausüben (Übersicht in (Wolf and Ullrich 2008)).

Die mögliche Verknüpfung von Neurogenese und dem mentalen Befinden brachte mich dazu, die Regulation von Neurogenese in einem Tiermodell für Schizophrenie zu untersuchen. In den zwei folgenden Arbeiten stelle ich die Ergebnisse vor.

**3) Brain Behav Immun. 2011 Jul; 25(5):971-80. Doi: 10.1016/j.bbi.2010.10.014**

**Physical exercise increases adult neurogenesis and telomerase activity, and improves behavioral deficits in a mouse model of schizophrenia.**

*Wolf SA, Melnik A, Kempermann G.*

Es wird schon lange spekuliert, dass hippocampale Neurogenese bei psychiatrischen Erkrankungen betroffen ist (Kempermann and Kronenberg 2003). Gleichzeitig wurde über Zellverlust und verringerte Hippocampusvolumen in einigen psychiatrischen Kohorten wie zum Beispiel bei Schizophreniepatienten berichtet (Falkai and Bogerts 1986, Wexler, Zhu et al. 2009). Daher vermutete ich, dass wenn mentale Störungen und Neurogenese miteinander verknüpft sind, Maßnahmen, welche die Neurogenese fördert, auch im Umkehrschluss positive Auswirkungen auf mentale Zustände haben müssten. **In der dritten Studie (Wolf et al. 2011)** testete ich diese Hypothese an einem Mausmodell für Schizophrenie.

Es gab zu dieser Zeit auch einige präklinische Hinweise darauf, dass Schizophrenie mit verminderter Neurogenese verbunden ist (Arango, Kirkpatrick et al. 2001). Wie eine gestörte adulte Neurogenese zur Schizophrenie beitragen könnte, wurde in mehreren theoretischen Abhandlungen skizziert (Reif, Schmitt et al. 2007, Toro and Deakin 2007, Eisch, Cameron et al. 2008, Kempermann, Krebs et al. 2008). Darüber hinaus sind verbesserte Verhaltenssymptome bei Schizophrenie mit positiven Veränderungen der Hippocampus Struktur und -funktion assoziiert (Pajonk, Wobrock et al. 2010). Beeinträchtigte kognitive Funktionen und negative Symptome bei schizophrenen Patienten konnten durch ein Trainingsprogramm erfolgreich verbessert werden (Beebe, Tian et al. 2005, Duraiswamy, Thirthalli et al. 2007, Firth, Cotter et al. 2015). Während induzierte Neurogenese allein die beobachteten Volumeneffekte im Hippocampus nicht erklären kann, könnte die Neurogenese ein wichtiger Teil der plastischen Reaktion auf körperliche Aktivität sein.

In der dritten und vierten Studie nutzen meine Kollegen und ich ein lang etabliertes Tiermodell für Schizophrenie, welches auf einer Immunreaktion während der Schwangerschaft beruht. Injektion von trächtige Nagetiere mit dem viralen „mimic“ polyinosin-polycytidilic

Säure (Poly I: C) führt zu einem breiten Spektrum von schizophrenie-relevanten Verhaltensdefizite (Zusammengefasst in (Meyer and Feldon 2010).

Ich konnte in der Studie zeigen, dass durch freiwillige physische Aktivität (Laufband) sowohl eine gestörte Neurogenese als auch Verhaltensauffälligkeiten bei den Mäusen mit schizophrenie-ähnlichem Phänotyp normalisiert werden konnte. In der Arbeit 2011 habe ich vorgeschlagen, dass freiwillige physische Aktivität die Telomerase-Aktivität in den neuronalen Vorläuferzellen der Mäuse erhöht, die schizophrenie-ähnliches Verhalten zeigen, und somit die Neurogeneserate normalisiert. Ich habe hier vorgeschlagen, dass dieser nützliche, größtenteils präventive und teilweise auch stärkende Effekt der Aktivität durch den aktivitätsabhängigen funktionellen Beitrag der hippocampalen Neurogenese erklärt werden könnte.

Nachdem ich in der ersten Studie den Einfluss des peripheren Immunsystems auf die Neurogenese untersucht hatte, wollte ich nun herausfinden, inwieweit die Immunzellen des Gehirns an der veränderten Neurogeneserate im murinen Schizophreniemodell beteiligt sind.

#### **4) Brain Behavior and Immunity 05/2014; DOI:10.1016/j.bbi.2014.01.019**

**Minocycline rescues decrease in neurogenesis, increase in microglia cytokines and deficits in sensorimotor gating in an animal model of schizophrenia.**

*Daniele Mattei\*, Anaïs Djodari-Irani\*, Ravit Hadar, Andreas Pelz, Lourdes Fernandez de Cossío, Thomas Goetz, Marina Matyash, Helmut Kettenmann, Christine Winter\*, **Susanne A. Wolf\****

**In der vierten Studie (Matei et al. 2014)** untersuchte ich die Wirkung von Minocycline auf das Verhalten der Mäuse, den Phänotyp der Mikroglia und die Neurogeneserate im gleichen Modell wie in der dritten Studie. Im letzten Jahrzehnt gab es mehrere Studien, die Schizophrenie als ein Krankheit beschreiben, welche mit entzündlichen Reaktionen assoziiert ist (Riedel, Spellmann et al. 2007, Fineberg and Ellman 2013). Sowohl bei menschlichen Patienten als auch bei Tiermodellen wurden Mikrogliazellen als die intrinsisch immunkompetenten Zellen des Gehirns mit der Pathophysiologie dieser neurologischen Entwicklungsstörung in Verbindung gebracht (Harry and Kraft 2012, Blank and Prinz 2013). Anhand von *post-mortem* Gewebestudien und in vivo PET-Studien wurde in einer Subpopulation von an Schizophrenie leidenden Patienten die

Mikroglia Zelldichte und Aktivität erhöht (Falkai, Honer et al. 1999, Steiner, Mawrin et al. 2006, Busse, Busse et al. 2012). Auch im Tiermodell der Schizophrenie wurden Mikroglia untersucht und es kam zu unterschiedlichen Ergebnissen abhängig von der untersuchten Hirnregion und des Alters (Juckel, Manitz et al. 2011, Van den Eynde, Missault et al. 2014).

Vor wenigen Jahren wurde erstmals gezeigt, dass vor allem durch die Phagozytose von apoptotischen neuronalen Vorläuferzellen Mikroglia für die Homöostase der Neurogenese wichtig sind (Sierra, Beccari et al. 2014). Mikroglia balancieren apoptotische und proliferative Ereignisse zum Beispiel über TNF- $\alpha$ -Signalgebung (Chen and Palmer 2013). Physiologische Mikrogliaaktivität und Zytokinspiegel im Hippocampus werden benötigt, um die grundlegende Neurogeneserate aufrecht zu erhalten (Ekdahl, Kokaia et al. 2009, Vay, Flitsch et al. 2018). Ein Anstieg von pro-inflammatorischen Zytokinen während einer Immunantwort wird für die Neurogenese als schädlich angesehen. Folglich konnte man zeigen, dass entzündungshemmend Medikamente den Rückgang der Neurogenese normalisieren (Kohman and Rhodes 2013). Bei an Schizophrenie leidenden Patienten haben Miyaoka und Kollegen signifikante und robuste klinische Verbesserungen mit dem Tetracyclin Minocycline erreichen können (Miyaoka, Yasukawa et al. 2008). Minocycline wurde seither in einigen klinischen Studien erfolgreich als Zusatztherapie zu Antipsychotika bei der Behandlung der Schizophrenie eingesetzt (Dean, Data-Franco et al. 2012). Wie Minocycline die Funktion der Mikroglia und Neurogenese beeinflusst ist noch nicht vollständig verstanden. Ich habe in dieser Arbeit die Auswirkungen der Behandlung mit Minocycline auf die Neurogenese parallel zur Mikrogliaaktivität und zum Verhalten der Tiere untersucht.

Ich konnte zeigen, dass die Minocycline-Behandlung das Expressionsniveau von TNFR2 in den neuronalen Progenitorzellen, und die Net-Neurogenese normalisierte. Minocycline verringerte die Level der pro-inflammatorischen Zytokine TNF- $\alpha$  und IL-1 $\beta$  in Mikroglia, die ich frisch aus dem Hippocampus isolierte. Ebenso konnte ich durch Gabe von Minocycline die Defizite in der sensorisch-motorischen Ansteuerung normalisieren. In einer weiteren Studie habe ich den Phänotyp der Mikroglia im gleichen Tiermodell mit und ohne Minocycline noch genauer durch eine RNA-Sequenzierungsanalyse untersucht (Mattei, Ivanov et al. 2017). Auch hier bestätigte sich der positive Effekt von Minocycline auf Verhalten und vor allem auf die Expressionsmuster der Mikroglia auf Ebene des Transkriptomts ebenso wie auf funktionelle Parameter wie die

Phagozytose. Minocycline ist somit ein Antibiotikum, welches sich bei Erkrankungen mit neuro-inflammatorischer Beteiligung wie z.B. in den vorgestellten Tiermodellen der Schizophrenie oder in bestimmten Patientenkohorten, die unter Schizophrenie leiden, als positives add-on Medikament erwiesen hat.

In der fünften und letzten Arbeit (**Moehle et al. 2016**) untersuchten meine Kollegen unter meiner Leitung den Einfluss von anhaltender Antibiotikagabe in gesunden Tieren auf die Gedächtnisleistung, auf myeloide Immunzellen und auf Neurogenese.

**5) Cell Reports 05/2016; 15(9). DOI:10.1016/j.celrep.2016.04.074**

**Ly6C<sup>hi</sup> Monocytes Provide a Link between Antibiotic-Induced Changes in Gut Microbiota and Adult Hippocampal Neurogenesis.**

*Luisa Möhle, Daniele Mattei, Markus M. Heimesaat, Stefan Bereswill, André Fischer, Marie Alutis, Timothy French, Dolores Hambardzumyan, Polly Matzinger, Ildiko R. Dunay\*,  
**Susanne A. Wolf\****

Obwohl Antibiotika sehr nützlich sind und zahlreiche Menschen- und Tierleben gerettet haben, haben sie auch ungewollte Nebenwirkungen. Eine bekannte Nebenwirkung ist die Beeinflussung der Darmflora durch Antibiotika. Kürzlich kristallisierte sich das Konzept der Darm-Hirn-Achse heraus, das die Verbindung von Darmflora und Verhalten hervorhebt (Diaz Heijtz, Wang et al. 2011, Mayer, Knight et al. 2014). Um in Tiermodellen die Abwesenheit von Darmbakterien auf verschiedene Funktionen und Organsysteme zu untersuchen, wird ein Cocktail von Antibiotika über mehrere Wochen verabreicht (Heimesaat, Bereswill et al. 2006).

Auch in der vorliegenden **fünften Studie (Möhle et al. 2016)** habe ich das Paradigma der freiwilligen körperlichen Aktivität genutzt und sein pro-proliferatives Potential auf die Neurogeneserate der Mäuse nach Antibiotika-Behandlung getestet. Ich konnte zeigen, dass bei Mäusen, die im Erwachsenenalter mit einem Antibiotikacocktail über 5-7 Wochen behandelt wurden, die Neurogenese um 40% verringert und die Gedächtnisleistung beeinträchtigt war. Die Rekonstitution der Darmflora mit einer Stuhltransplantation war nur teilweise erfolgreich, während Mäuse, die Zugang zu einem Laufrad hatten, deutlich eine Zunahme der Neurogenese und der damit verbundenen Gedächtnisleistung zeigten. Ich konnte zum wiederholten Male zeigen, dass freiwillige körperliche Aktivität ein gutes Werkzeug ist, um neue Neuronen zu

produzieren, die sich bei Bedarf auch in pathologischen Zuständen wie Antibiose in das Netzwerk integrieren.

Erstaunlicherweise waren in diesem Versuchsaufbau Probiotika potenter in der Induktion von Neurogenese als das Laufen im Laufrad. Probiotika als auch Laufen rettet den durch Antibiotika induzierten Verlust der Neurogenese durch die Stimulation von Ly6C<sup>hi</sup>-Monozyten, einer besonders migratorisch aktiven Monozytenpopulation. Auch der Transfer dieser Monozyten (aus Knochenmark gesunder Mäuse entnommen) führte bei den antibiotikabehandelten Mäusen zu einer Normalisierung der Neurogeneserate. Ebenso normalisierte sich die durch Antibiotikabehandlung entstandene defizitäre Gedächtnisleistung durch Zelltransfer, Probiotika oder die freiwillige Nutzung des Laufrades.

## Diskussion

Adulte hippocampale Neurogenese ermöglicht lebenslange Anpassung des hippocampalen neuronalen Netzwerks an Komplexität und Neuheit (Kempermann 2008, Garthe, Behr et al. 2009, Toda, Parylak et al. 2018). Während dieses Prozesses werden durch systemische Reize, wie körperliche Aktivität die proliferativen Vorläuferzellen aktiviert (Van Praag, Christie et al. 1999, Kempermann, Fabel et al. 2010, Moon and van Praag 2014, Liu and Nusslock 2018); während durch kognitive Reize, wie zum Beispiel durch die Bereicherung der Umwelt, neue Neuronen aus dem Pool von unreifen neuronalen Vorläuferzellen in das neuronale Netzwerk integriert werden (Kempermann, Brandon et al. 1998, van Praag, Kempermann et al. 2000, Fabel, Wolf et al. 2009). In diesem Sinne würde körperliche Aktivität dem Gehirn anzeigen, dass das Individuum mit hoher Wahrscheinlichkeit kognitiv herausfordernden Situationen begegnet. Das hippocampale System reagiert, indem es neue neuronale Vorläuferzellen auf Anfrage erzeugt (Hillman, Erickson et al. 2008). Ich schlug in (Wolf, Steiner et al. 2009) vor, dass adaptive Immunantworten ähnlich funktionieren könnten: Immunologische Aktivität signalisiert einen möglichen Bedarf für neue Vorläuferzellen in die neurogenen Regionen. Das passt auch zu den Ergebnissen anderer Studien. Mäuse ohne T-Zellen (SCID-Mäuse, defizient sowohl für T- und B-Zellen als auch Nacktmäuse, defizient nur für reife T-Zellen) wiesen Lerndefizite verglichen mit Wildtyp-Mäusen im Morris-Wasserlabyrinth und weiteren hippocampus-abhängigen Verhaltenstests auf (Kipnis, Cohen et al. 2004, Brynskikh, Warren et al. 2008). Eine Untergruppe von CD4 Zellen – Th17 Zellen konnten Neurogenese in einem Mausmodell, welches defizient für alpha/beta T Zellen ist wieder normalisieren (Niebling et al. 2014). Die Th17 Zellen waren spezifisch für ein speziell im ZNS exprimiertes Protein, welches sich in der Myelinscheide befindet (myeline basic protein MBP). Dies stützte eine lang kontrovers diskutierte Studie aus dem Labor von Michal Schwartz, bei der sie schon 2005 zeigte, dass besonders MBP spezifische T Zellen die Neurogeneserate nach einer Verletzung im zentralen Nervensystem unterstützen können (Schwartz and Kipnis 2005, Schwartz and Shechter 2010). In einer relativ neuen

Studie wurde auf die Wichtigkeit von CD8 Zellen auf die durch Umweltanreicherung induzierte Neurogenese hingewiesen (Zarif, Nicolas et al. 2018). In dieser Studie wurde gezeigt, dass die CD4positive-T-Zelldepletion die globale Neurogenese beeinflusst (so wie auch von mir in (Wolf, Steiner et al. 2009) erstmals beschrieben), aber die durch eine reizreiche Umgebung (enriched environment) induzierte Zunahme der Neurogenese in Mäusen ohne CD4 + T-Zellen weitgehend erhalten bleibt. In den letzten Jahre wurde auch mehr und mehr die Bedeutung von T Zellen im Plexus Choroideus als Vermittler von Signalen aus der Peripherie ins ZNS diskutiere (Baruch and Schwartz 2013, Schwartz and Baruch 2014). Durch tiefe Sequenzierung von CD4 und CD8 positiven Zellen aus dem Plexus Choroideus wurde gezeigt, dass die Immunzellen durch Umweltanreicherung (enriched environment) der Tiere eine unterschiedliche Signatur zeigen (Zarif, Hosseiny et al. 2018, Zarif, Nicolas et al. 2018). Zum Beispiel wurde die Gene des Glucocorticoid-Rezeptor-Signalwegs in CD4 + -T-Zellen aus dem Plexus Choroideus in der Gruppe der Tiere, deren Umwelt angereichert wurde, höher exprimiert. Das passt sehr gut zu meiner Hypothese, dass ein moderat erhöhter Glucocorticoid-Wert (wie zum Beispiel durch körperliche Aktivität hervorgerufen) zur Erhaltung oder Stimulation von adulter hippocampaler Neurogenese beiträgt. Es wurde schon früh gezeigt, dass Stresshormone adulte hippocampale Neurogenese modulieren (Cameron and Gould 1994). Ich vermute, dass auch bei Immunreaktionen Glucocorticoide ein Vermittler zwischen Peripherie und Gehirn sind und je nach Menge und Dauer der Produktion von Glucocorticoiden Neurogenese stimulieren oder behindern. Ein milder, akuter Stressor wie eine nicht lebensbedrohliche Infektion oder die Flucht vor einem Feind oder das Bewegen in einer unbekanntem Umgebung erhöhen die Glucocorticoidspiegel kurzfristig und könnten Neurogenese stimulieren. Ein chronisch erhöhter Glucocorticoidspiegel wie z.B. bei chronischem Stress (Schoenfeld and Gould 2013) oder chronischen psychiatrischen Erkrankungen wie Depression (Kempermann and Kronenberg 2003, Dillon and Pizzagalli 2018) können die Neurogeneserate verringern. Diese Hypothese wurde in der letzte Dekade mehrfach bestätigt (Claflin, Schmidt et al. 2017).

Weitere mögliche Botenstoffe, die Neurogenese modulieren können, sind die Liganden des Endocannabinoidsystems. Viele Bestandteile des endogenen Cannabinoidsystems wie die CB1- und CB2-Rezeptoren und ihre endogenen Liganden Anandamid (AEA) und 2-Arachidonylglycerol (2-AG) sowie das AEA-abbauende Enzym Fettsäureamidhydrolase (FAAH) und das 2-AG synthetisierende Enzyme Diacylglycerol-Lipasen finden sich in der neuronalen Entwicklungs- und adulten Neurogenese (Aguado, Monory et al. 2005, Harkany, Guzman et al. 2007, Goncalves, Suetterlin et al. 2008).

Mehrere Studien haben die Rolle des Cannabinoidsystems in der adulten Neurogenese untersucht. Die Stimulation von CB1 schien die adulte Neurogenese entweder zu verstärken oder zu verringern (Aguado, Monory et al. 2005, Aguado, Romero et al. 2007). Zum Beispiel verringerte der synthetische CB1-Agonist HU210 die Anzahl der intermediären Vorläuferzellen in einer Studie (Mackowiak, Chocyk et al. 2007), förderte jedoch die neuronale Differenzierung in einer anderen (Jiang, Zhang et al. 2005). In weiteren Studien förderte die CB1-Rezeptoraktivierung die Proliferation von Vorläuferzellen und die Bildung von Neurosphären *ex vivo* in CB1-defizienten Vorläuferzellen, und die Proliferation von hippocampalen Vorläuferzellen war in FAAH-defizienten Mäusen erhöht (Aguado, Monory et al. 2005, Aguado, Palazuelos et al. 2006, Aguado, Romero et al. 2007). Darüber hinaus steuert der Endocannabinoid-Signalweg die Differenzierung neuronaler Vorläuferzellen im adulten Gehirn, indem er die astrogliale Differenzierung neu geborener Zellen fördert. Jin et al. zeigten, dass SR141716 die Zellproliferation über den Vanillin-Rezeptor 1 TRPV1 verstärkt. Die Abwesenheit des CB1-Rezeptors führte zu einer verminderten Proliferation (Jin, Xie et al. 2004). In ähnlicher Weise war auch in meiner Studie (Wolf, Bick-Sander et al. 2010) bei erwachsenen CB1-defizienten Mäusen die Proliferation neuraler Vorläuferzellen vermindert. Ich zeigte zusätzlich, dass, wenn CB1 abwesend oder blockiert ist, körperliche Aktivität im Laufrad die Proliferation von neuronalen Vorläuferzellen nicht induzieren konnte. Ich schlug in der Studie vor, dass das Endocannabinoidsystem ein weiterer Signalweg ist, der die Stimulation von Neurogenese durch physische Aktivität steuert. Auch diese Hypothese konnte in den letzten zehn Jahren durch die Arbeit anderer Arbeitsgruppen gestützt

werden (Fuss and Gass 2010, Hill, Titterness et al. 2010, Biedermann, Auer et al. 2016, Garcia-Arencibia, Molina-Holgado et al. 2018).

Sowohl Cannabinoide als auch Immunreaktionen regulieren die Neurogeneserate und haben Einfluss auf Verhalten und kognitive Leistungen. Die ersten beiden Studien untersuchten diese Regulationsmechanismen. Während der Arbeit an beiden Projekten bin ich immer wieder auf Studien gestoßen, die sich mit mentaler Gesundheit und Neurogenese beschäftigen. Dies brachte mich dazu, an einem Tiermodell für schizophrene Symptomatik sowohl die Neurogeneserate und die Immunzellen des Hirns als auch den Einfluss von physischer Aktivität zu untersuchen.

Ich zeigte in (Wolf, Melnik et al. 2011) belastungsinduzierte positive Effekte auf Verhalten und Neurogenese in einem murinen Modell der Schizophrenie. Dies unterstützt die Beobachtung dass sich bei Schizophreniepatienten kognitive Symptome nach dem aeroben Training verbesserten (Pajonk, Wobrock et al. 2010, Firth, Cotter et al. 2015). Eine humane *post-mortem*-Studie hatte die allgemeine Idee nahegelegt, dass schizophrenie-ähnliche Zustände mit reduzierter adulter Hippocampus-Neurogenese assoziiert sind (Reif, Fritzen et al. 2006). Interessanterweise wurde in der von Pajonk und Kollegen durchgeführten Studie der Verhaltensvorteil mit einem Anstieg des Hippocampusvolumens verbunden. Wie jede Assoziationen zwischen Hippocampus-Funktion und Pathologie auf der einen Seite und Hippocampus-Volumen auf der anderen Seite, kann die Pathologie der Schizophrenie oder der Gewinn durch physische Aktivität nicht allein durch adulte Neurogenese erklärt werden (Selemon and Goldman-Rakic 1999, Mattei, Schweibold et al. 2015, Galderisi, Mucci et al. 2018, Gurusamy, Gandhi et al. 2018, van der Stouwe, van Busschbach et al. 2018). Nichtsdestotrotz weisen auch andere Studien darauf hin, dass die adulte Neurogenese durch freiwilliges Training im Tiermodell sowie kognitive Leistungen und schizophreneartige Symptome normalisiert werden (van Praag, Fleshner et al. 2014, Zhang and van Praag 2015). Ich möchte hier direkt aus einem Übersichtsartikel zitieren, an dem ich als Seniorautorin beteiligt war (Kempermann, Fabel et al. 2010): "Körperliche Aktivität könnte als eine Art von intrinsischer verhaltensbasierter Signalgebung für das Gehirn gesehen werden, dass die

Wahrscheinlichkeit einer kognitiven Herausforderung erhöht ist. In der freien Natur ist körperliche Bewegung eine notwendige Voraussetzung für die räumliche Erforschung und somit die Schaffung räumlicher Repräsentationen, die im Hippocampus kodiert sind (z. B. Ortszellen). Wenn dies weiter bestätigt wird, hat diese Idee offensichtliche Auswirkungen auf unser Urteil darüber, welche Art von Aktivität wir für nützlich oder "gesund" halten. Wenn körperliche Aktivität und ihre Folgen evolutionär untrennbar mit Kognition verbunden sind, wird das Training zur Verbesserung der Kognition unweigerlich von körperlichen Übungen profitieren." Auch andere Autoren schlagen vor, dass für die Produktion neuer hippocampaler Neuronen eher körperliche Aktivität als kognitive Stimulation erforderlich ist (Kobilo, Yuan et al. 2011, Mustroph, Chen et al. 2012, Gregoire, Bonenfant et al. 2014).

Vor der Verwendung invasiver experimenteller Strategien zur Transplantation neuronaler Stammzellen in psychiatrische Patienten (Kigawa, Hashimoto et al. 2014) möchte ich auf das Potenzial körperlicher Aktivität zur Verbesserung der Symptome hinweisen. Ob die positive Wirkung von körperlicher Aktivität auf den mentalen Zustand durch eine Steigerung der Neurogenese kausal hervorgerufen wird oder ob beide Phänomene nur parallel auftreten, könnte für eine wissenschaftliche Debatte relevant sein, ist aber weniger wichtig bei der Suche nach therapeutischen Interventionen.

Eine mögliche therapeutische Intervention, die direkt auf die Immunzellen des Gehirns - die Mikroglia - abzielt, ist die Behandlung mit dem Antibiotikum Minocycline. Bei menschlichen Schizophreniepatienten hatte Minocycline bei einer ähnlichen Dosierung, wie ich sie in meiner Studie (Mattei, Djodari-Irani et al. 2014) verwendet haben, positive Wirkungen gezeigt (De Picker, Morrens et al. 2017, Inta, Lang et al. 2017, Solmi, Veronese et al. 2017). In einer *in vitro*-Studie wurde gezeigt, dass Minocycline die Produktion von TNF- $\alpha$  aus IFN-gamma-aktivierten Mikroglia hemmt (Seki, Kato et al. 2013). Meine Daten aus (Mattei, Djodari-Irani et al. 2014, Mattei, Ivanov et al. 2017) unterstützen die Verwendung von Minocycline als Zusatztherapie bei Schizophreniepatienten. Darüber hinaus liefern die Studien Hinweise auf die Wirkungsweise von Minocycline auf neurobiologische Faktoren wie die Produktion von Mikrogliazytokinen und somit auf die

TNFR-Expression neuronaler Vorläuferzellen und die Neurogeneserate. Diese Daten passten gut zu den Ergebnissen, dass Mikroglia apoptotische und proliferative Ereignisse bei neuronalen Vorläuferzellen über TNF- $\alpha$ -Signalgebung balancieren (Chen and Palmer 2013). Besonders erstaunlich war die fast vollständige Normalisierung des mikroglialen Transkriptoms nach Minocycline-Gabe in PolyI:C-Tieren, welche mit der Normalisierung von Entzündungsmarkern und Verhalten einhergingen, wie ich in (Mattei, Ivanov et al. 2017) zeigen konnte. Auch in anderen Tiermodellen für Neurodegeneration führte Minocycline zu einer Normalisierung von Verhalten und mikroglialen Parametern (Fan, Xu et al. 2007, Kobayashi, Imagama et al. 2013, Cheng, Hou et al. 2015, Scholz, Sobotka et al. 2015). Gleichzeitig muss man beachten, dass Minocycline sicher nicht nur ausschließlich direkt auf die Mikrogliazellen wirkt, sondern auch auf andere Zellen des ZNS sowie auf die periphere Situation wie z.B. im Darm auf das Mikrobiome (Moller, Bard et al. 2016). Bei einer systemischen Gabe von Minocycline (oder jeder anderen Substanz) sind sekundäre und primäre Effekte gar nicht oder sehr schwierig differenzierbar.

Ob das Mikrobiome eine Wirkung auf Neurogenese hat, habe ich in (Mohle, Mattei et al. 2016) untersucht. Auch wenn physische Aktivität die Neurogeneserate erhöht, kann die therapeutische Anwendung mühsam zu vermitteln sein (Ashdown-Franks, Williams et al. 2018). Die Gabe von Probiotika scheint hier eine relativ einfache und gut zugängliche Lösung zu bieten. Dies habe ich in (Mohle, Mattei et al. 2016) vorgeschlagen, da ich zeigen konnte, dass die Gabe von Probiotika sogar noch ein höheres Potential hatte als die freiwillige körperliche Aktivität, die Neurogeneserate nach Antibiotikagabe zu normalisieren. Es gibt außer dieser bisher nur wenige Studien, die den Zusammenhang von Mikrobiome und Neurogenese untersucht (Ogbonnaya, Clarke et al. 2015, O'Leary, Ogbonnaya et al. 2018). Wir denken, dass es eine neue vielversprechende therapeutische Strategie sein kann, durch wenig invasive Maßnahmen Neurogenese und somit auch mentale Gesundheit zu erhalten oder wiederherzustellen. Aber auch auf diesem Gebiet sind noch viel Arbeit und vor allem auch klinische Studien notwendig, um tatsächlich einen anhaltenden positiven Effekt von Probiotika oder bestimmten

Nahrungsergänzungsmitteln auf die mentale Gesundheit und kognitive Aktivität nachzuweisen (Heberden 2016, Hueston, Cryan et al. 2017, Val-Laillet, Besson et al. 2017). Inwieweit die Stimulation der Neurogenese dabei eine Voraussetzung oder eine Nebenerscheinung ist, bleibt auch noch Gegenstand weiterer Forschung. Es gibt Arbeiten die hippocampale Neurogenese in Nagetieren zeigen (Kaplan and Bell 1984, Cameron, Woolley et al. 1993, Seki and Arai 1993, Kempermann, Kuhn et al. 1997, Gage, Kempermann et al. 1998, Kuhn and Peterson 2008), und in nicht-humanen Primaten (Gould, Reeves et al. 1999, Kornack and Rakic 1999) und 1998 auch erstmalig im Menschen (Eriksson, Perfilieva et al. 1998). Auch neuere Studien haben gezeigt, dass atmosphärisches C14 in NeuN-positiven Kernen aus postmortalem hippocampalem Gewebe nachweisbar ist, und somit eine Proliferation von neuronalen Zellen stattgefunden haben muss, da sich analog zu BRDU, auch C14 nur in proliferierenden Zellen anreichert. In der Arbeit wurde gezeigt, dass die mittlere Fluktuationsrate von Neuronen innerhalb der sich erneuernden Subpopulation im menschlichen Hippocampus im Erwachsenenalter 1,75% pro Jahr beträgt, was ungefähr 700 neuen Neuronen pro Tag in jedem Hippocampus entspricht (Spalding, Bergmann et al. 2013). Im Frühjahr 2018 sind zwei Publikationen erschienen, die mit gleichen Methoden zu unterschiedlichen Aussagen gekommen sind. Die Arbeitsgruppe um Álvarez-Buylla hat an Schnitten von postmortalen Hirnen und frischem OP Gewebe keine Neurogenese im Hippocampus finden können (Sorrells, Paredes et al. 2018). Eine weitere Studie erschien nur wenige Wochen nach dieser Arbeit. Maura Boldrini und ihre Kollegen färbten ebenfalls Hippocampi von frisch verstorbenen Menschen, allerdings erst ab einem Alter von 14 Jahren - also exakt ab der Schwelle, ab der Shawn Sorrells und Kollegen keine neuen Neuronen mehr finden konnte. Boldrini und Kollegen aber - unter Verwendung genau derselben Markermoleküle - fanden anhaltend hohe Neubildung von Neuronen im menschlichen Hippocampus (Boldrini, Fulmore et al. 2018). Es ist ganz sicher von zentraler Bedeutung, adulte hippocampale Neurogenese im menschlichen Hirn eindeutig nachzuweisen, um die Relevanz von Ergebnissen aus den Tiermodellen für translationale Ansätze zu überprüfen (Kempermann, Gage et al. 2018).

Die adulte hippocampale Neurogenese und ihre Regulationsmechanismen sowie das Potential für therapeutische Ansätze bleibt auf jeden Fall ein spannendes Forschungsgebiet.

### **Zusammenfassung**

Im Tierreich sind ein gesunder Geist und Körper die Voraussetzung für das Überleben. Obwohl das Paradigma "Überleben des Stärkeren" für den Menschen nicht mehr gilt, ist die Gesundheit von Geist und Körper sehr wichtig für das Wohlbefinden und die Lebensqualität im Allgemeinen. Ohne Zweifel ist eine gesunde Bevölkerung auch produktiver und die Kosten für medizinische Behandlungen sind begrenzt. Körperliche Aktivität erhält und verbessert viele Organsysteme des Körpers. In den späten 1990er Jahren wurde deutlich, dass körperliche Aktivität auch die Plastizität des Gehirns beeinflussen kann, indem die Anzahl der neu gebildeten Zellen im Hippocampus verbessert wird - ein Bereich, der auch als Tor zur Gedächtnisbildung bekannt ist.

In dieser Monographie präsentiere und diskutiere ich fünf Publikationen, die sich mit der Regulation von zellbasierter Plastizität des Gehirns (Neurogenese) durch verschiedene Stimuli befassen. Hierzu nutze ich Tiermodelle für Schizophrenie sowie Knockout-Stämme für Teile des Immun- und Endocannabinoid-Systems. Ein zentraler Stimulus, den ich in fast allen Arbeiten untersuche ist freiwillige körperliche Aktivität. Alle Publikationen betonen, dass körperliche Aktivität für Neurogenese, kognitive Funktion und Verhalten auch unter pathologischen Bedingungen vorteilhaft ist. Darüber hinaus zeigen die Ergebnisse, wie die multidisziplinäre Untersuchung von Mechanismen, die der Neurogenese und der neuronalen Plastizität zugrunde liegen zu potenziellen therapeutischen Zwecken genutzt werden könnte. In der letzten Arbeit schlage ich vor, dass zusätzlich oder als Alternative zur physischen Aktivität auch die Gabe von Probiotika Neurogenese und Kognition positiv beeinflussen können.

## Referenzen

- Aguado, T., K. Monory, J. Palazuelos, N. Stella, B. Cravatt, B. Lutz, G. Marsicano, Z. Kokaia, M. Guzman and I. Galve-Roperh (2005). "The endocannabinoid system drives neural progenitor proliferation." *Faseb J* **19**(12): 1704-1706.
- Aguado, T., J. Palazuelos, K. Monory, N. Stella, B. Cravatt, B. Lutz, G. Marsicano, Z. Kokaia, M. Guzman and I. Galve-Roperh (2006). "The endocannabinoid system promotes astroglial differentiation by acting on neural progenitor cells." *J Neurosci* **26**(5): 1551-1561.
- Aguado, T., E. Romero, K. Monory, J. Palazuelos, M. Sendtner, G. Marsicano, B. Lutz, M. Guzman and I. Galve-Roperh (2007). "The CB1 cannabinoid receptor mediates excitotoxicity-induced neural progenitor proliferation and neurogenesis." *J Biol Chem* **282**(33): 23892-23898.
- Aimone, J. B., W. Deng and F. H. Gage (2011). "Resolving new memories: a critical look at the dentate gyrus, adult neurogenesis, and pattern separation." *Neuron* **70**(4): 589-596.
- Aimone, J. B., Y. Li, S. W. Lee, G. D. Clemenson, W. Deng and F. H. Gage (2014). "Regulation and function of adult neurogenesis: from genes to cognition." *Physiol Rev* **94**(4): 991-1026.
- Aimone, J. B., J. Wiles and F. H. Gage (2006). "Potential role for adult neurogenesis in the encoding of time in new memories." *Nat Neurosci* **9**(6): 723-727.
- Aimone, J. B., J. Wiles and F. H. Gage (2009). "Computational influence of adult neurogenesis on memory encoding." *Neuron* **61**(2): 187-202.
- Altman, J. (1969). "Autoradiographic and histological studies of postnatal neurogenesis. IV. Cell proliferation and migration in the anterior forebrain, with special reference to persisting neurogenesis in the olfactory bulb." *J Comp Neurol* **137**(4): 433-457.
- Altman, J. and G. D. Das (1965). "Autoradiographic and histological evidence of postnatal hippocampal neurogenesis in rats." *J Comp Neurol* **124**(3): 319-335.
- Altman, J. and G. D. Das (1967). "Postnatal neurogenesis in the guinea-pig." *Nature* **214**(93): 1098-1101.
- Alvarez-Buylla, A. and J. M. Garcia-Verdugo (2002). "Neurogenesis in adult subventricular zone." *J Neurosci* **22**(3): 629-634.
- Alvarez-Buylla, A. and D. A. Lim (2004). "For the long run: maintaining germinal niches in the adult brain." *Neuron* **41**(5): 683-686.
- Arango, C., B. Kirkpatrick and J. Koenig (2001). "At issue: stress, hippocampal neuronal turnover, and neuropsychiatric disorders." *Schizophr Bull* **27**(3): 477-480.
- Artegiani, B., A. Lyubimova, M. Muraro, J. H. van Es, A. van Oudenaarden and H. Clevers (2017). "A Single-Cell RNA Sequencing Study Reveals Cellular and Molecular Dynamics of the Hippocampal Neurogenic Niche." *Cell Rep* **21**(11): 3271-3284.
- Arvidsson, A., T. Collin, D. Kirik, Z. Kokaia and O. Lindvall (2002). "Neuronal replacement from endogenous precursors in the adult brain after stroke." *Nat Med* **8**(9): 963-970.
- Arvidsson, A., Z. Kokaia and O. Lindvall (2001). "N-methyl-D-aspartate receptor-mediated increase of neurogenesis in adult rat dentate gyrus following stroke." *Eur J Neurosci* **14**(1): 10-18.
- Ashdown-Franks, G., J. Williams, D. Vancampfort, J. Firth, F. Schuch, K. Hubbard, T. Craig, F. Gaughran and B. Stubbs (2018). "Is it possible for people with severe mental illness to sit less and move more? A systematic review of interventions to increase physical activity or reduce sedentary behaviour." *Schizophr Res*.
- Baroncelli, L., C. Braschi, M. Spolidoro, T. Begenisic, A. Sale and L. Maffei (2010). "Nurturing brain plasticity: impact of environmental enrichment." *Cell Death Differ* **17**(7): 1092-1103.

- Baruch, K. and M. Schwartz (2013). "CNS-specific T cells shape brain function via the choroid plexus." Brain Behav Immun **34**: 11-16.
- Beebe, L. H., L. Tian, N. Morris, A. Goodwin, S. S. Allen and J. Kuldau (2005). "Effects of exercise on mental and physical health parameters of persons with schizophrenia." Issues Ment Health Nurs **26**(6): 661-676.
- Biedermann, S. V., M. K. Auer, L. Bindila, G. Ende, B. Lutz, W. Weber-Fahr, P. Gass and J. Fuss (2016). "Restricted vs. unrestricted wheel running in mice: Effects on brain, behavior and endocannabinoids." Horm Behav **86**: 45-54.
- Blank, T. and M. Prinz (2013). "Microglia as modulators of cognition and neuropsychiatric disorders." Glia **61**(1): 62-70.
- Boldrini, M., C. A. Fulmore, A. N. Tartt, L. R. Simeon, I. Pavlova, V. Poposka, G. B. Rosoklija, A. Stankov, V. Arango, A. J. Dwork, R. Hen and J. J. Mann (2018). "Human Hippocampal Neurogenesis Persists throughout Aging." Cell Stem Cell **22**(4): 589-599 e585.
- Borer, K. T., L. L. Bestervelt, M. Mannheim, M. B. Brosamer, M. Thompson, U. Swamy and W. N. Piper (1992). "Stimulation by voluntary exercise of adrenal glucocorticoid secretion in mature female hamsters." Physiol Behav **51**(4): 713-718.
- Brandt, M. D., S. Jessberger, B. Steiner, G. Kronenberg, K. Reuter, A. Bick-Sander, W. von der Behrens and G. Kempermann (2003). "Transient calretinin expression defines early postmitotic step of neuronal differentiation in adult hippocampal neurogenesis of mice." Mol Cell Neurosci **24**(3): 603-613.
- Bruel-Jungerman, E., C. Rampon and S. Laroche (2007). "Adult hippocampal neurogenesis, synaptic plasticity and memory: facts and hypotheses." Rev Neurosci **18**(2): 93-114.
- Brynskikh, A., T. Warren, J. Zhu and J. Kipnis (2008). "Adaptive immunity affects learning behavior in mice." Brain Behav Immun **22**(6): 861-869.
- Busse, S., M. Busse, K. Schiltz, H. Bielau, T. Gos, R. Brisch, C. Mawrin, A. Schmitt, W. Jordan, U. J. Muller, H. G. Bernstein, B. Bogerts and J. Steiner (2012). "Different distribution patterns of lymphocytes and microglia in the hippocampus of patients with residual versus paranoid schizophrenia: further evidence for disease course-related immune alterations?" Brain Behav Immun **26**(8): 1273-1279.
- Cameron, H. A. and E. Gould (1994). "Adult neurogenesis is regulated by adrenal steroids in the dentate gyrus." Neuroscience **61**(2): 203-209.
- Cameron, H. A., C. S. Woolley, B. S. McEwen and E. Gould (1993). "Differentiation of newly born neurons and glia in the dentate gyrus of the adult rat." Neuroscience **56**(2): 337-344.
- Castillon, C., S. Lunion, N. Desvignes, A. Hanauer, S. Laroche and R. Poirier (2018). "Selective alteration of adult hippocampal neurogenesis and impaired spatial pattern separation performance in the RSK2-deficient mouse model of Coffin-Lowry syndrome." Neurobiol Dis **115**: 69-81.
- Chen, Z. and T. D. Palmer (2013). "Differential roles of TNFR1 and TNFR2 signaling in adult hippocampal neurogenesis." Brain Behav Immun **30**: 45-53.
- Cheng, S., J. Hou, C. Zhang, C. Xu, L. Wang, X. Zou, H. Yu, Y. Shi, Z. Yin and G. Chen (2015). "Minocycline reduces neuroinflammation but does not ameliorate neuron loss in a mouse model of neurodegeneration." Sci Rep **5**: 10535.
- Clafin, D. I., K. D. Schmidt, Z. D. Vallandingham, M. Kraszpuski and M. B. Hennessy (2017). "Influence of postnatal glucocorticoids on hippocampal-dependent learning varies with elevation patterns and administration methods." Neurobiol Learn Mem **143**: 77-87.
- Corotto, F. S., J. A. Henegar and J. A. Maruniak (1993). "Neurogenesis persists in the subependymal layer of the adult mouse brain." Neurosci Lett **149**(2): 111-114.

- Dash, P. K., S. A. Mach and A. N. Moore (2001). "Enhanced neurogenesis in the rodent hippocampus following traumatic brain injury." *J Neurosci Res* **63**(4): 313-319.
- De Picker, L. J., M. Morrens, S. A. Chance and D. Boche (2017). "Microglia and Brain Plasticity in Acute Psychosis and Schizophrenia Illness Course: A Meta-Review." *Front Psychiatry* **8**: 238.
- Dean, O. M., J. Data-Franco, F. Giorlando and M. Berk (2012). "Minocycline: therapeutic potential in psychiatry." *CNS Drugs* **26**(5): 391-401.
- Deng, W., J. B. Aimone and F. H. Gage (2010). "New neurons and new memories: how does adult hippocampal neurogenesis affect learning and memory?" *Nat Rev Neurosci* **11**(5): 339-350.
- Diaz Heijtz, R., S. Wang, F. Anuar, Y. Qian, B. Bjorkholm, A. Samuelsson, M. L. Hibberd, H. Forsberg and S. Pettersson (2011). "Normal gut microbiota modulates brain development and behavior." *Proc Natl Acad Sci U S A* **108**(7): 3047-3052.
- Diederich, K., W. R. Schabitz, K. Kuhnert, N. Hellstrom, N. Sachser, A. Schneider, H. G. Kuhn and S. Knecht (2009). "Synergetic effects of granulocyte-colony stimulating factor and cognitive training on spatial learning and survival of newborn hippocampal neurons." *PLoS One* **4**(4): e5303.
- Dillon, D. G. and D. A. Pizzagalli (2018). "Mechanisms of Memory Disruption in Depression." *Trends Neurosci* **41**(3): 137-149.
- Duraiswamy, G., J. Thirhalli, H. R. Nagendra and B. N. Gangadhar (2007). "Yoga therapy as an add-on treatment in the management of patients with schizophrenia--a randomized controlled trial." *Acta Psychiatr Scand* **116**(3): 226-232.
- Eisch, A. J., H. A. Cameron, J. M. Encinas, L. A. Meltzer, G. L. Ming and L. S. Overstreet-Wadiche (2008). "Adult neurogenesis, mental health, and mental illness: hope or hype?" *J Neurosci* **28**(46): 11785-11791.
- Ekdahl, C. T., Z. Kokaia and O. Lindvall (2009). "Brain inflammation and adult neurogenesis: the dual role of microglia." *Neuroscience* **158**(3): 1021-1029.
- Ekstrand, J., J. Hellsten and A. Tingstrom (2008). "Environmental enrichment, exercise and corticosterone affect endothelial cell proliferation in adult rat hippocampus and prefrontal cortex." *Neurosci Lett* **442**(3): 203-207.
- Eriksson, P. S., E. Perfilieva, T. Bjork-Eriksson, A. M. Alborn, C. Nordborg, D. A. Peterson and F. H. Gage (1998). "Neurogenesis in the adult human hippocampus." *Nat Med* **4**(11): 1313-1317.
- Fabel, K., S. A. Wolf, D. Ehninger, H. Babu, P. Leal-Galicia and G. Kempermann (2009). "Additive effects of physical exercise and environmental enrichment on adult hippocampal neurogenesis in mice." *Front Neurosci* **3**: 50.
- Falkai, P. and B. Bogerts (1986). "Cell loss in the hippocampus of schizophrenics." *Eur Arch Psychiatry Neurol Sci* **236**(3): 154-161.
- Falkai, P., W. G. Honer, S. David, B. Bogerts, C. Majtenyi and T. A. Bayer (1999). "No evidence for astrogliosis in brains of schizophrenic patients. A post-mortem study." *Neuropathol Appl Neurobiol* **25**(1): 48-53.
- Fan, R., F. Xu, M. L. Previti, J. Davis, A. M. Grande, J. K. Robinson and W. E. Van Nostrand (2007). "Minocycline reduces microglial activation and improves behavioral deficits in a transgenic model of cerebral microvascular amyloid." *J Neurosci* **27**(12): 3057-3063.
- Fineberg, A. M. and L. M. Ellman (2013). "Inflammatory cytokines and neurological and neurocognitive alterations in the course of schizophrenia." *Biol Psychiatry* **73**(10): 951-966.
- Firth, J., J. Cotter, R. Elliott, P. French and A. R. Yung (2015). "A systematic review and meta-analysis of exercise interventions in schizophrenia patients." *Psychol Med*: 1-19.
- Franca, T. F. A., A. M. Bitencourt, N. R. Maximilla, D. M. Barros and J. M. Monserrat (2017). "Hippocampal neurogenesis and pattern separation: A meta-analysis of behavioral data." *Hippocampus* **27**(9): 937-950.

- Fuss, J. and P. Gass (2010). "Endocannabinoids and voluntary activity in mice: runner's high and long-term consequences in emotional behaviors." *Exp Neurol* **224**(1): 103-105.
- Gage, F. H. (2000). "Mammalian neural stem cells." *Science* **287**(5457): 1433-1438.
- Gage, F. H., G. Kempermann, T. D. Palmer, D. A. Peterson and J. Ray (1998). "Multipotent progenitor cells in the adult dentate gyrus." *J Neurobiol* **36**(2): 249-266.
- Galderisi, S., A. Mucci, R. W. Buchanan and C. Arango (2018). "Negative symptoms of schizophrenia: new developments and unanswered research questions." *Lancet Psychiatry* **5**(8): 664-677.
- Garcia-Arencibia, M., E. Molina-Holgado and F. Molina-Holgado (2018). "Effect of endocannabinoid signalling on cell fate: life, death, differentiation and proliferation of brain cells." *Br J Pharmacol*.
- Garthe, A., J. Behr and G. Kempermann (2009). "Adult-generated hippocampal neurons allow the flexible use of spatially precise learning strategies." *PLoS ONE* **4**(5): e5464.
- Goncalves, M. B., P. Suetterlin, P. Yip, F. Molina-Holgado, D. J. Walker, M. J. Oudin, M. P. Zentar, S. Pollard, R. J. Yanez-Munoz, G. Williams, F. S. Walsh, M. N. Pangalos and P. Doherty (2008). "A diacylglycerol lipase-CB2 cannabinoid pathway regulates adult subventricular zone neurogenesis in an age-dependent manner." *Mol Cell Neurosci* **38**(4): 526-536.
- Gould, E. (1994). "The effects of adrenal steroids and excitatory input on neuronal birth and survival." *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **743**: 73-92; discussion 92-73.
- Gould, E. and C. G. Gross (2002). "Neurogenesis in adult mammals: some progress and problems." *J Neurosci* **22**(3): 619-623.
- Gould, E., A. J. Reeves, M. Fallah, P. Tanapat, C. G. Gross and E. Fuchs (1999). "Hippocampal neurogenesis in adult old world primates." *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **96**: 5263-5267.
- Gould, E. and P. Tanapat (1999). "Stress and hippocampal neurogenesis." *Biol Psychiatry* **46**(11): 1472-1479.
- Gregoire, C. A., D. Bonenfant, A. Le Nguyen, A. Aumont and K. J. Fernandes (2014). "Untangling the influences of voluntary running, environmental complexity, social housing and stress on adult hippocampal neurogenesis." *PLoS One* **9**(1): e86237.
- Gurusamy, J., S. Gandhi, D. Damodharan, V. Ganesan and M. Palaniappan (2018). "Exercise, diet and educational interventions for metabolic syndrome in persons with schizophrenia: A systematic review." *Asian J Psychiatr* **36**: 73-85.
- Harkany, T., M. Guzman, I. Galve-Roperh, P. Berghuis, L. A. Devi and K. Mackie (2007). "The emerging functions of endocannabinoid signaling during CNS development." *Trends Pharmacol Sci* **28**(2): 83-92.
- Harry, G. J. and A. D. Kraft (2012). "Microglia in the developing brain: a potential target with lifetime effects." *Neurotoxicology* **33**(2): 191-206.
- Heberden, C. (2016). "Modulating adult neurogenesis through dietary interventions." *Nutr Res Rev* **29**(2): 163-171.
- Heimesaat, M. M., S. Bereswill, A. Fischer, D. Fuchs, D. Struck, J. Niebergall, H. K. Jahn, I. R. Dunay, A. Moter, D. M. Gescher, R. R. Schumann, U. B. Gobel and O. Liesenfeld (2006). "Gram-negative bacteria aggravate murine small intestinal Th1-type immunopathology following oral infection with *Toxoplasma gondii*." *J Immunol* **177**(12): 8785-8795.
- Hill, M. N., A. K. Titterness, A. C. Morrish, E. J. Carrier, T. T. Lee, J. Gil-Mohapel, B. B. Gorzalka, C. J. Hillard and B. R. Christie (2010). "Endogenous cannabinoid signaling is required for voluntary exercise-induced enhancement of progenitor cell proliferation in the hippocampus." *Hippocampus* **20**(4): 513-523.
- Hillman, C. H., K. I. Erickson and A. F. Kramer (2008). "Be smart, exercise your heart: exercise effects on brain and cognition." *Nat Rev Neurosci* **9**(1): 58-65.

- Hueston, C. M., J. F. Cryan and Y. M. Nolan (2017). "Stress and adolescent hippocampal neurogenesis: diet and exercise as cognitive modulators." Transl Psychiatry **7**(4): e1081.
- Hvoslef-Eide, M., C. A. Oomen, B. M. Fisher, C. J. Heath, T. W. Robbins, L. M. Saksida and T. J. Bussey (2015). "Facilitation of spatial working memory performance following intra-prefrontal cortical administration of the adrenergic alpha1 agonist phenylephrine." Psychopharmacology (Berl) **232**(21-22): 4005-4016.
- Inta, D., U. E. Lang, S. Borgwardt, A. Meyer-Lindenberg and P. Gass (2017). "Microglia Activation and Schizophrenia: Lessons From the Effects of Minocycline on Postnatal Neurogenesis, Neuronal Survival and Synaptic Pruning." Schizophr Bull **43**(3): 493-496.
- Jessberger, S. and G. Kempermann (2003). "Adult-born hippocampal neurons mature into activity-dependent responsiveness." Eur J Neurosci **18**(10): 2707-2712.
- Jessberger, S., B. Romer, H. Babu and G. Kempermann (2005). "Seizures induce proliferation and dispersion of doublecortin-positive hippocampal progenitor cells." Exp Neurol **196**(2): 342-351.
- Jessberger, S., N. Toni, G. D. Clemenson Jr, J. Ray and F. H. Gage (2008). "Directed differentiation of hippocampal stem/progenitor cells in the adult brain." Nat Neurosci **11**(8): 888-893.
- Jessberger, S., C. Zhao, N. Toni, G. D. Clemenson, Jr., Y. Li and F. H. Gage (2007). "Seizure-associated, aberrant neurogenesis in adult rats characterized with retrovirus-mediated cell labeling." J Neurosci **27**(35): 9400-9407.
- Jiang, W., Y. Zhang, L. Xiao, J. Van Cleemput, S. P. Ji, G. Bai and X. Zhang (2005). "Cannabinoids promote embryonic and adult hippocampus neurogenesis and produce anxiolytic- and antidepressant-like effects." J Clin Invest **115**(11): 3104-3116.
- Jin, K., Y. Sun, L. Xie, A. Peel, X. O. Mao, S. Batteur and D. A. Greenberg (2003). "Directed migration of neuronal precursors into the ischemic cerebral cortex and striatum." Mol Cell Neurosci **24**(1): 171-189.
- Jin, K., L. Xie, S. H. Kim, S. Parmentier-Batteur, Y. Sun, X. O. Mao, J. Childs and D. A. Greenberg (2004). "Defective adult neurogenesis in CB1 cannabinoid receptor knockout mice." Mol Pharmacol **66**(2): 204-208.
- Juckel, G., M. P. Manitz, M. Brune, A. Friebe, M. T. Heneka and R. J. Wolf (2011). "Microglial activation in a neuroinflammatory animal model of schizophrenia--a pilot study." Schizophr Res **131**(1-3): 96-100.
- Kaplan, M. S. and D. H. Bell (1984). "Mitotic neuroblasts in the 9-day-old and 11-month-old rodent hippocampus." J Neurosci **4**(6): 1429-1441.
- Kaplan, M. S. and J. W. Hinds (1977). "Neurogenesis in the adult rat: electron microscopic analysis of light radioautographs." Science **197**(4308): 1092-1094.
- Kempermann, G. (2002). "Why new neurons? Possible functions for adult hippocampal neurogenesis." J Neurosci **22**(3): 635-638.
- Kempermann, G. (2008). "The neurogenic reserve hypothesis: what is adult hippocampal neurogenesis good for?" Trends Neurosci **31**(4): 163-169.
- Kempermann, G., E. P. Brandon and F. H. Gage (1998). "Environmental stimulation of 129/SvJ mice causes increased cell proliferation and neurogenesis in the adult dentate gyrus." Curr Biol **8**(16): 939-942.
- Kempermann, G., K. Fabel, D. Ehninger, H. Babu, P. Leal-Galicia, A. Garthe and S. A. Wolf (2010). "Why and how physical activity promotes experience-induced brain plasticity." Front Neurosci **4**: 189.
- Kempermann, G. and F. H. Gage (2000). "Neurogenesis in the adult hippocampus." Novartis Found Symp **231**: 220-235.
- Kempermann, G., F. H. Gage, L. Aigner, H. Song, M. A. Curtis, S. Thuret, H. G. Kuhn, S. Jessberger, P. W. Frankland, H. A. Cameron, E. Gould, R. Hen, D. N. Abrous, N. Toni, A. F. Schinder, X. Zhao, P.

- J. Lucassen and J. Frisen (2018). "Human Adult Neurogenesis: Evidence and Remaining Questions." Cell Stem Cell **23**(1): 25-30.
- Kempermann, G., J. Krebs and K. Fabel (2008). "The contribution of failing adult hippocampal neurogenesis to psychiatric disorders." Curr Opin Psychiatry **21**(3): 290-295.
- Kempermann, G. and G. Kronenberg (2003). "Depressed new neurons--adult hippocampal neurogenesis and a cellular plasticity hypothesis of major depression." Biol Psychiatry **54**(5): 499-503.
- Kempermann, G., H. G. Kuhn and F. H. Gage (1997). "More hippocampal neurons in adult mice living in an enriched environment." Nature **386**: 493-495.
- Kempermann, G., H. van Praag and F. H. Gage (2000). "Activity-dependent regulation of neuronal plasticity and self repair." Prog Brain Res **127**: 35-48.
- Kigawa, Y., E. Hashimoto, W. Ukai, T. Ishii, K. Furuse, H. Tsujino, T. Shirasaka and T. Saito (2014). "Stem cell therapy: a new approach to the treatment of refractory depression." J Neural Transm **121**(10): 1221-1232.
- Kipnis, J., H. Cohen, M. Cardon, Y. Ziv and M. Schwartz (2004). "T cell deficiency leads to cognitive dysfunction: implications for therapeutic vaccination for schizophrenia and other psychiatric conditions." Proc Natl Acad Sci U S A **101**(21): 8180-8185.
- Kobayashi, K., S. Imagama, T. Ohgomori, K. Hirano, K. Uchimura, K. Sakamoto, A. Hirakawa, H. Takeuchi, A. Suzumura, N. Ishiguro and K. Kadomatsu (2013). "Minocycline selectively inhibits M1 polarization of microglia." Cell Death Dis **4**: e525.
- Kobilo, T., C. Yuan and H. van Praag (2011). "Endurance factors improve hippocampal neurogenesis and spatial memory in mice." Learn Mem **18**(2): 103-107.
- Kohman, R. A. and J. S. Rhodes (2013). "Neurogenesis, inflammation and behavior." Brain Behav Immun **27**(1): 22-32.
- Kornack, D. R. and P. Rakic (1999). "Continuation of neurogenesis in the hippocampus of the macaque monkey." Proc. Natl. Acad. Sci. USA **96**: 5768-5773.
- Kronenberg, G., A. Bick-Sander, E. Bunk, C. Wolf, D. Ehninger and G. Kempermann (2006). "Physical exercise prevents age-related decline in precursor cell activity in the mouse dentate gyrus." Neurobiol Aging **27**(10): 1505-1513.
- Kronenberg, G., K. Reuter, B. Steiner, M. D. Brandt, S. Jessberger, M. Yamaguchi and G. Kempermann (2003). "Subpopulations of proliferating cells of the adult hippocampus respond differently to physiologic neurogenic stimuli." J Comp Neurol **467**(4): 455-463.
- Kuhn, H. G. and D. A. Peterson (2008). Detection and phenotypic characterization of adult neurogenesis. Adult Neurogenesis. F. H. Gage, G. Kempermann and H. Song. Cold Spring Harbor, Cold Spring Harbor Laboratory Press. **52**: 25-47.
- Kusnecov, A. W. and Y. Goldfarb (2005). "Neural and behavioral responses to systemic immunologic stimuli: a consideration of bacterial T cell superantigens." Curr Pharm Des **11**(8): 1039-1046.
- Littlefield, A. M., S. E. Setti, C. Priester and R. A. Kohman (2015). "Voluntary exercise attenuates LPS-induced reductions in neurogenesis and increases microglia expression of a proneurogenic phenotype in aged mice." J Neuroinflammation **12**: 138.
- Liu, P. Z. and R. Nusslock (2018). "Exercise-Mediated Neurogenesis in the Hippocampus via BDNF." Front Neurosci **12**: 52.
- Lu, D., A. Mahmood, R. Zhang and M. Copp (2003). "Upregulation of neurogenesis and reduction in functional deficits following administration of DEtA/NONOate, a nitric oxide donor, after traumatic brain injury in rats." J Neurosurg **99**(2): 351-361.

- Mackowiak, M., A. Chocyk, K. Markowicz-Kula and K. Wedzony (2007). "Acute activation of CB1 cannabinoid receptors transiently decreases PSA-NCAM expression in the dentate gyrus of the rat hippocampus." *Brain Res* **1148**: 43-52.
- Markakis, E. and F. H. Gage (1999). "Adult-generated neurons in the dentate gyrus send axonal projections to the field CA3 and are surrounded by synaptic vesicles." *J. Comp. Neurol.* **406**(4): 449-460.
- Mattei, D., A. Djodari-Irani, R. Hadar, A. Pelz, L. F. de Cossio, T. Goetz, M. Matyash, H. Kettenmann, C. Winter and S. A. Wolf (2014). "Minocycline rescues decrease in neurogenesis, increase in microglia cytokines and deficits in sensorimotor gating in an animal model of schizophrenia." *Brain Behav Immun* **38**: 175-184.
- Mattei, D., A. Ivanov, C. Ferrai, P. Jordan, D. Guneykaya, A. Buonfiglioli, W. Schaafsma, P. Przanowski, W. Deuther-Conrad, P. Brust, S. Hesse, M. Patt, O. Sabri, T. L. Ross, B. J. L. Eggen, E. Boddeke, B. Kaminska, D. Beule, A. Pombo, H. Kettenmann and S. A. Wolf (2017). "Maternal immune activation results in complex microglial transcriptome signature in the adult offspring that is reversed by minocycline treatment." *Transl Psychiatry* **7**(5): e1120.
- Mattei, D., R. Schweibold and S. A. Wolf (2015). "Brain in flames - animal models of psychosis: utility and limitations." *Neuropsychiatr Dis Treat* **11**: 1313-1329.
- Mayer, E. A., R. Knight, S. K. Mazmanian, J. F. Cryan and K. Tillisch (2014). "Gut microbes and the brain: paradigm shift in neuroscience." *J Neurosci* **34**(46): 15490-15496.
- Meyer, U. and J. Feldon (2010). "Epidemiology-driven neurodevelopmental animal models of schizophrenia." *Prog Neurobiol* **90**(3): 285-326.
- Mirescu, C. and E. Gould (2006). "Stress and adult neurogenesis." *Hippocampus* **16**(3): 233-238.
- Miyaoka, T., R. Yasukawa, H. Yasuda, M. Hayashida, T. Inagaki and J. Horiguchi (2008). "Minocycline as adjunctive therapy for schizophrenia: an open-label study." *Clin Neuropharmacol* **31**(5): 287-292.
- Mohle, L., D. Mattei, M. M. Heimesaat, S. Bereswill, A. Fischer, M. Alutis, T. French, D. Hambardzumyan, P. Matzinger, I. R. Dunay and S. A. Wolf (2016). "Ly6C(hi) Monocytes Provide a Link between Antibiotic-Induced Changes in Gut Microbiota and Adult Hippocampal Neurogenesis." *Cell Rep* **15**(9): 1945-1956.
- Moller, T., F. Bard, A. Bhattacharya, K. Biber, B. Campbell, E. Dale, C. Eder, L. Gan, G. A. Garden, Z. A. Hughes, D. D. Pearse, R. G. Staal, F. A. Sayed, P. D. Wes and H. W. Boddeke (2016). "Critical data-based re-evaluation of minocycline as a putative specific microglia inhibitor." *Glia* **64**(10): 1788-1794.
- Monje, M. L., H. Toda and T. D. Palmer (2003). "Inflammatory blockade restores adult hippocampal neurogenesis." *Science* **302**(5651): 1760-1765.
- Moon, H. Y. and H. van Praag (2014). "Muscle over mind." *Cell Metab* **20**(4): 560-562.
- Mustroph, M. L., S. Chen, S. C. Desai, E. B. Cay, E. K. DeYoung and J. S. Rhodes (2012). "Aerobic exercise is the critical variable in an enriched environment that increases hippocampal neurogenesis and water maze learning in male C57BL/6J mice." *Neuroscience* **219**: 62-71.
- Niebling, J., E. R. A, S. Schallenberg, K. Kretschmer and G. Kempermann (2014). "Myelin-specific T helper 17 cells promote adult hippocampal neurogenesis through indirect mechanisms." *F1000Res* **3**: 169.
- O'Leary, O. F., E. S. Ogbonnaya, D. Felice, B. R. Levone, C. C. L, P. Fitzgerald, J. A. Bravo, P. Forsythe, J. Bienenstock, T. G. Dinan and J. F. Cryan (2018). "The vagus nerve modulates BDNF expression and neurogenesis in the hippocampus." *Eur Neuropsychopharmacol* **28**(2): 307-316.
- Ogbonnaya, E. S., G. Clarke, F. Shanahan, T. G. Dinan, J. F. Cryan and O. F. O'Leary (2015). "Adult Hippocampal Neurogenesis Is Regulated by the Microbiome." *Biol Psychiatry* **78**(4): e7-9.

- Ohline, S. M. and W. C. Abraham (2018). "Environmental enrichment effects on synaptic and cellular physiology of hippocampal neurons." Neuropharmacology.
- Pajonk, F. G., T. Wobrock, O. Gruber, H. Scherk, D. Berner, I. Kaizl, A. Kierer, S. Muller, M. Oest, T. Meyer, M. Backens, T. Schneider-Axmann, A. E. Thornton, W. G. Honer and P. Falkai (2010). "Hippocampal plasticity in response to exercise in schizophrenia." Arch Gen Psychiatry **67**(2): 133-143.
- Pallas-Bazarra, N., J. Jurado-Arjona, M. Navarrete, J. A. Esteban, F. Hernandez, J. Avila and M. Llorens-Martin (2016). "Novel function of Tau in regulating the effects of external stimuli on adult hippocampal neurogenesis." EMBO J **35**(13): 1417-1436.
- Parent, J. M., R. C. Elliott, S. J. Pleasure, N. M. Barbaro and D. H. Lowenstein (2006). "Aberrant seizure-induced neurogenesis in experimental temporal lobe epilepsy." Ann Neurol **59**(1): 81-91.
- Parent, J. M. and D. H. Lowenstein (2002). "Seizure-induced neurogenesis: are more new neurons good for an adult brain?" Prog Brain Res **135**: 121-131.
- Plumpe, T., D. Ehninger, B. Steiner, F. Klempin, S. Jessberger, M. Brandt, B. Romer, G. R. Rodriguez, G. Kronenberg and G. Kempermann (2006). "Variability of doublecortin-associated dendrite maturation in adult hippocampal neurogenesis is independent of the regulation of precursor cell proliferation." BMC Neurosci **7**: 77.
- Reif, A., S. Fritzen, M. Finger, A. Strobel, M. Lauer, A. Schmitt and K. P. Lesch (2006). "Neural stem cell proliferation is decreased in schizophrenia, but not in depression." Mol Psychiatry **11**(5): 514-522.
- Reif, A., A. Schmitt, S. Fritzen and K. P. Lesch (2007). "Neurogenesis and schizophrenia: dividing neurons in a divided mind?" Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci **257**(5): 290-299.
- Riedel, M., I. Spellmann, M. J. Schwarz, M. Strassnig, C. Sikorski, H. J. Moller and N. Muller (2007). "Decreased T cellular immune response in schizophrenic patients." J Psychiatr Res **41**(1-2): 3-7.
- Sahay, A., K. N. Scobie, A. S. Hill, C. M. O'Carroll, M. A. Kheirbek, N. S. Burghardt, A. A. Fenton, A. Dranovsky and R. Hen (2011). "Increasing adult hippocampal neurogenesis is sufficient to improve pattern separation." Nature **472**(7344): 466-470.
- Sampedro-Piquero, P., R. D. Moreno-Fernandez, M. C. Manas-Padilla, S. Gil-Rodriguez, A. L. Gavito, F. J. Pavon, C. Pedraza, M. Garcia-Fernandez, D. Ladron de Guevara-Miranda, L. J. Santin and E. Castilla-Ortega (2018). "Training memory without aversion: Appetitive hole-board spatial learning increases adult hippocampal neurogenesis." Neurobiol Learn Mem **151**: 35-42.
- Schoenfeld, T. J. and E. Gould (2013). "Differential effects of stress and glucocorticoids on adult neurogenesis." Curr Top Behav Neurosci **15**: 139-164.
- Scholz, R., M. Sobotka, A. Caramoy, T. Stempfl, C. Moehle and T. Langmann (2015). "Minocycline counter-regulates pro-inflammatory microglia responses in the retina and protects from degeneration." J Neuroinflammation **12**: 209.
- Schwartz, M. and K. Baruch (2014). "The resolution of neuroinflammation in neurodegeneration: leukocyte recruitment via the choroid plexus." EMBO J **33**(1): 7-22.
- Schwartz, M. and J. Kipnis (2005). "Protective autoimmunity and neuroprotection in inflammatory and noninflammatory neurodegenerative diseases." J Neurol Sci **233**(1-2): 163-166.
- Schwartz, M. and R. Shechter (2010). "Protective autoimmunity functions by intracranial immunosurveillance to support the mind: The missing link between health and disease." Mol Psychiatry **15**(4): 342-354.
- Seki, T. and Y. Arai (1993). "Highly polysialylated neural cell adhesion molecule (NCAM-H) is expressed by newly generated granule cells in the dentate gyrus of the adult rat." J. Neurosci. **13**(6): 2351-2358.
- Seki, Y., T. A. Kato, A. Monji, Y. Mizoguchi, H. Horikawa, M. Sato-Kasai, D. Yoshiga and S. Kanba (2013). "Pretreatment of aripiprazole and minocycline, but not haloperidol, suppresses

oligodendrocyte damage from interferon-gamma-stimulated microglia in co-culture model." *Schizophr Res* **151**(1-3): 20-28.

Selemon, L. D. and P. S. Goldman-Rakic (1999). "The reduced neuropil hypothesis: a circuit based model of schizophrenia." *Biol Psychiatry* **45**(1): 17-25.

Sierra, A., S. Beccari, I. Diaz-Aparicio, J. M. Encinas, S. Comeau and M. E. Tremblay (2014). "Surveillance, phagocytosis, and inflammation: how never-resting microglia influence adult hippocampal neurogenesis." *Neural Plast* **2014**: 610343.

Solmi, M., N. Veronese, N. Thapa, S. Facchini, B. Stubbs, M. Fornaro, A. F. Carvalho and C. U. Correll (2017). "Systematic review and meta-analysis of the efficacy and safety of minocycline in schizophrenia." *CNS Spectr* **22**(5): 415-426.

Song, H., C. F. Stevens and F. H. Gage (2002). "Astroglia induce neurogenesis from adult neural stem cells." *Nature* **417**(6884): 39-44.

Sorrells, S. F., M. F. Paredes, A. Cebrian-Silla, K. Sandoval, D. Qi, K. W. Kelley, D. James, S. Mayer, J. Chang, K. I. Auguste, E. F. Chang, A. J. Gutierrez, A. R. Kriegstein, G. W. Mathern, M. C. Oldham, E. J. Huang, J. M. Garcia-Verdugo, Z. Yang and A. Alvarez-Buylla (2018). "Human hippocampal neurogenesis drops sharply in children to undetectable levels in adults." *Nature* **555**(7696): 377-381.

Spalding, K. L., O. Bergmann, K. Alkass, S. Bernard, M. Salehpour, H. B. Huttner, E. Bostrom, I. Westerlund, C. Vial, B. A. Buchholz, G. Possnert, D. C. Mash, H. Druid and J. Frisen (2013). "Dynamics of hippocampal neurogenesis in adult humans." *Cell* **153**(6): 1219-1227.

Stanfield, B. B. and J. E. Trice (1988). "Evidence that granule cells generated in the dentate gyrus of adult rats extend axonal projections." *Exp. Brain Res.* **72**(2): 399-406.

Steiner, J., C. Mawrin, A. Ziegeler, H. Biela, O. Ullrich, H. G. Bernstein and B. Bogerts (2006). "Distribution of HLA-DR-positive microglia in schizophrenia reflects impaired cerebral lateralization." *Acta Neuropathol* **112**(3): 305-316.

Toda, T., S. L. Parylak, S. B. Linker and F. H. Gage (2018). "The role of adult hippocampal neurogenesis in brain health and disease." *Mol Psychiatry*.

Toro, C. T. and J. F. Deakin (2007). "Adult neurogenesis and schizophrenia: a window on abnormal early brain development?" *Schizophr Res* **90**(1-3): 1-14.

Val-Laillet, D., M. Besson, S. Guerin, N. Coquery, G. Randuineau, A. Kanzari, H. Quesnel, N. Bonhomme, J. E. Bolhuis, B. Kemp, S. Blat, I. Le Huerou-Luron and C. Clouard (2017). "A maternal Western diet during gestation and lactation modifies offspring's microbiota activity, blood lipid levels, cognitive responses, and hippocampal neurogenesis in Yucatan pigs." *FASEB J* **31**(5): 2037-2049.

Van den Eynde, K., S. Missault, E. Franssen, L. Raeymaekers, R. Willems, W. Drinkenburg, J. P. Timmermans, S. Kumar-Singh and S. Dedeurwaerdere (2014). "Hypolocomotive behaviour associated with increased microglia in a prenatal immune activation model with relevance to schizophrenia." *Behav Brain Res* **258**: 179-186.

van der Stouwe, E. C. D., J. T. van Busschbach, B. de Vries, W. Cahn, A. Aleman and G. H. M. Pijnenborg (2018). "Neural correlates of exercise training in individuals with schizophrenia and in healthy individuals: A systematic review." *Neuroimage Clin* **19**: 287-301.

van Praag, H. (2008). "Neurogenesis and exercise: past and future directions." *Neuromolecular Med* **10**(2): 128-140.

Van Praag, H., B. R. Christie, T. J. Sejnowski and F. H. Gage (1999). "Running enhances neurogenesis, learning and long-term potentiation in mice." *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **96**(23): 13427-13431.

van Praag, H., M. Fleshner, M. W. Schwartz and M. P. Mattson (2014). "Exercise, energy intake, glucose homeostasis, and the brain." *J Neurosci* **34**(46): 15139-15149.

- van Praag, H., G. Kempermann and F. H. Gage (2000). "Neural consequences of environmental enrichment." Nat Rev Neurosci **1**(3): 191-198.
- van Praag, H., A. F. Schinder, B. R. Christie, N. Toni, T. D. Palmer and F. H. Gage (2002). "Functional neurogenesis in the adult hippocampus." Nature **415**(6875): 1030-1034.
- Vay, S. U., L. J. Flitsch, M. Rabenstein, R. Rogall, S. Blaschke, J. Kleinhaus, N. Reinert, A. Bach, G. R. Fink, M. Schroeter and M. A. Rueger (2018). "The plasticity of primary microglia and their multifaceted effects on endogenous neural stem cells in vitro and in vivo." J Neuroinflammation **15**(1): 226.
- Wexler, B. E., H. Zhu, M. D. Bell, S. S. Nicholls, R. K. Fulbright, J. C. Gore, T. Colibazzi, J. Amat, R. Bansal and B. S. Peterson (2009). "Neuropsychological near normality and brain structure abnormality in schizophrenia." Am J Psychiatry **166**(2): 189-195.
- Wiskott, L., M. J. Rasch and G. Kempermann (2006). "A functional hypothesis for adult hippocampal neurogenesis: avoidance of catastrophic interference in the dentate gyrus." Hippocampus **16**(3): 329-343.
- Wolf, S. A., A. Bick-Sander, K. Fabel, P. Leal-Galicia, S. Tauber, G. Ramirez-Rodriguez, A. Muller, A. Melnik, T. P. Waltinger, O. Ullrich and G. Kempermann (2010). "Cannabinoid receptor CB1 mediates baseline and activity-induced survival of new neurons in adult hippocampal neurogenesis." Cell Commun Signal **8**: 12.
- Wolf, S. A., G. Kronenberg, K. Lehmann, A. Blankenship, R. Overall, M. Staufenbiel and G. Kempermann (2006). "Cognitive and physical activity differently modulate disease progression in the amyloid precursor protein (APP)-23 model of Alzheimer's disease." Biol Psychiatry **60**(12): 1314-1323.
- Wolf, S. A., A. Melnik and G. Kempermann (2011). "Physical exercise increases adult neurogenesis and telomerase activity, and improves behavioral deficits in a mouse model of schizophrenia." Brain Behav Immun **25**(5): 971-980.
- Wolf, S. A., B. Steiner, A. Akpınarlı, T. Kammertoens, C. Nassenstein, A. Braun, T. Blankenstein and G. Kempermann (2009). "CD4-positive T lymphocytes provide a neuroimmunological link in the control of adult hippocampal neurogenesis." J Immunol **182**(7): 3979-3984.
- Wolf, S. A., B. Steiner, A. Wengner, M. Lipp, T. Kammertoens and G. Kempermann (2009). "Adaptive peripheral immune response increases proliferation of neural precursor cells in the adult hippocampus." FASEB J **23**(9): 3121-3128.
- Wolf, S. A. and O. Ullrich (2008). "Endocannabinoids and the brain immune system: new neurons at the horizon?" J Neuroendocrinol **20 Suppl 1**: 15-19.
- Wolfer, D. P., M. Stagljär-Bozicevic, M. L. Errington and H. P. Lipp (1998). "Spatial Memory and Learning in Transgenic Mice: Fact or Artifact?" News Physiol Sci **13**: 118-123.
- Woost, L., P. L. Bazin, M. Taubert, R. Trampel, C. L. Tardif, A. Garthe, G. Kempermann, U. Renner, G. Stalla, D. V. M. Ott, V. Rjosk, H. Obrig, A. Villringer, E. Roggenhofer and T. A. Klein (2018). "Physical Exercise and Spatial Training: A Longitudinal Study of Effects on Cognition, Growth Factors, and Hippocampal Plasticity." Sci Rep **8**(1): 4239.
- Xie, H., Y. Wu, J. Jia, G. Liu, F. Zhang, Q. Zhang, K. Yu, Y. Hu, Y. Bai and R. Hu (2013). "Enriched environment preconditioning induced brain ischemic tolerance without reducing infarct volume and edema: the possible role of enrichment-related physical activity increase." Brain Res **1508**: 63-72.
- Zarif, H., S. Hosseiny, A. Paquet, K. Lebrigand, M. J. Arguel, J. Cazareth, A. Lazzari, C. Heurteaux, N. Glaichenhaus, J. Chabry, A. Guyon and A. Petit-Paitel (2018). "CD4(+) T Cells Have a Permissive Effect on Enriched Environment-Induced Hippocampus Synaptic Plasticity." Front Synaptic Neurosci **10**: 14.

Zarif, H., S. Nicolas, M. Guyot, S. Hosseiny, A. Lazzari, M. M. Canali, J. Cazareth, F. Brau, V. Golzne, E. Dourneau, M. Maillaut, C. Luci, A. Paquet, K. Lebrigand, M. J. Arguel, D. Daoudlarian, C. Heurteaux, N. Glaichenhaus, J. Chabry, A. Guyon and A. Petit-Paitel (2018). "CD8(+) T cells are essential for the effects of enriched environment on hippocampus-dependent behavior, hippocampal neurogenesis and synaptic plasticity." Brain Behav Immun **69**: 235-254.

Zhang, Z. and H. van Praag (2015). "Maternal immune activation differentially impacts mature and adult-born hippocampal neurons in male mice." Brain Behav Immun **45**: 60-70.

Ziv, Y., N. Ron, O. Butovsky, G. Landa, E. Sudai, N. Greenberg, H. Cohen, J. Kipnis and M. Schwartz (2006). "Immune cells contribute to the maintenance of neurogenesis and spatial learning abilities in adulthood." Nat Neurosci **9**(2): 268-275.

## **Danksagung**

Ich bin allen meinen Lehrern und Mentoren, die meine Sichtweise auf die Wissenschaft und das Leben im Allgemeinen geprägt haben, zutiefst dankbar. Polly Matzinger und Gerd Kempermann waren die beiden einflussreichsten und wichtigsten Personen für meine wissenschaftliche Karriere. Sie lieferten Einsichten, waren eine große Quelle der Inspiration und kritisierten meine Arbeit auf eine Weise, die mein Potenzial anerkannten und mich weiterwachsen ließ. Ich möchte ihnen für ihr Vertrauen in mich und die Freiheit danken, die sie mir gegeben haben, um meine eigene Forschungsrichtung zu fördern. Ich bedanke mich bei Helmut Kettenmann für die Möglichkeit, die Welt der Mikroglia kennenzulernen und eine lange und fruchtbare Zusammenarbeit am Max-Delbrück-Zentrum. Ebenso bedanke ich mich herzlich für die Unterstützung meines Habilitationsvorhabens durch Antonia Jousen und Ullrich Dirnagl.

Wo auch immer ich war, ich habe großartige Kollegen und technische Mitarbeiter gefunden. Ich schätze ihre Unterstützung, Freundlichkeit und ihren Sinn für Humor. Ich möchte ihnen für die unzähligen Stunden im wissenschaftlichen Streit, die vielen gemeinsamen theoretischen und praktischen Erkenntnisse und den enormen Spaß danken. Nicht zuletzt möchte ich den Studenten, die ich betreuen durfte, für Ihre Geduld und Ausdauer und großartige Ideen danken.

### **Anteilserklärung an den verwendeten Publikationen**

Die Habilitandin Susanne Wolf hatte folgenden Anteil an den folgenden Publikationen:

**1.) Susanne A. Wolf**, Barbara Steiner, Antje Wengner, Martin Lipp, Thomas

Kammertoens, and Gerd Kempermann. Adaptive peripheral immune response increases proliferation of neural precursor cells in the adult hippocampus. The FASEB J: 3121–3128, published on 11 May 2009, doi.org/10.1096/fj.08-113944

Susanne Wolf hat die Studie initiiert, und das experimentelle Design erstellt. Die Induktion der Rheumatoiden Arthritis sowie die Messung der in vivo Glucocorticoide wurde von ihr in Kooperation durchgeführt. Alle anderen Experimente sind von der Habilitandin entweder selbst durchgeführt oder deren Durchführung angeleitet worden. Alle Daten wurden von der Habilitandin analysiert und zusammengestellt. Das Manuskript wurde in Zusammenarbeit mit den Koautoren federführend von der Habilitandin erstellt.

**2.) Wolf, S. A.**, Bick-Sander, A., Fabel, K., Leal-Galicia, P., Tauber, S., Ramires

Rodriguez, G., Muller, A., Melnik, A., Waltinger, T. P., Ullrich, O., and Kempermann, G. Cannabinoid receptor CB1 mediates baseline and activity-induced survival of new neurons in adult hippocampal neurogenesis. Cell Commun Signal. 2010 Jun 17;8:12. doi: 10.1186/1478-811X-8-12.

Auch bei diesem Projekt ging die Initiative/die Idee von der Habilitandin aus. Sie erstellte das experimentelle Design der Studie und führte die Experimente entweder selbst durch oder leitete Teile der Durchführung (z.B. durch eine technische Assistentin oder durch KoautorInnen) an. Das Manuskript wurde von der Habilitandin in Zusammenarbeit mit den Koautoren erstellt. Die Revision des Manuskriptes und die Korrespondenz mit dem Editor führte die Habilitandin eigenständig durch.

**3.) Wolf, S. A.**, Melnik, A., and Kempermann, G. Physical exercise increases

adult neurogenesis and telomerase activity, and improves behavioral deficits in a mouse model of schizophrenia. Brain Behav Immun. 2011 Jul;25(5):971-80. Epub 2010 Oct 21, doi: 10.1016/j.bbi.2010.10.014.

So wie die anderen Projekte, beruhte dieses auf einer Idee und einer Initiative der Habilitandin. Sie warb damit auch eigene Drittmittel durch die Hartmann-Müller-Stiftung ein. Prof. Kempermann stand beratend zur Seite. Die Habilitandin leitete den

Masterstudenten Andre Melnik bei der Durchführung der Experimente an, erstellte das Manuskript und übernahm die Korrespondenz mit dem Editor der Zeitschrift sowie die Revision des Manuskriptes.

- 4) Daniele Mattei\*, Anaïs Djodari-Irani\*, Ravit Hadar, Andreas Pelz, Lourdes Fernandez de Cossío, Thomas Goetz, Marina Matyash, Helmut Kettenmann, Christine Winter\*, **Susanne A. Wolf\***: Minocycline rescues decrease in neurogenesis, increase in microglia cytokines and deficits in sensorimotor gating in an animal model of schizophrenia. *Brain Behavior and Immunity* 05/2014. DOI:10.1016/j.bbi.2014.01.019

Dieses Projekt war die Idee der Habilitandin. Sie initiierte es, übernahm das experimentelle Design und betreute den Doktoranden Daniel Mattei, die klinische Wissenschaftlerin Dr. Anais Djodari-Irani und die Studentin Lourdes Fernandez bei der experimentellen Arbeit und der Auswertung der Daten. Christine Winter stellte die Tiere zur Verfügung und betreute die Durchführung der in vivo Experimente. Die Habilitandin erstellte das Manuskript federführend und übernahm die Revision des Projektes.

- 5) Luisa Möhle\*, Daniele Mattei\*, Markus M. Heimesaat\*, Stefan Bereswill, André Fischer, Marie Alutis, Timothy French, Dolores Hambarzumyan, Polly Matzinger, Ildiko R. Dunay\*, **Susanne A. Wolf\***: Ly6Chi Monocytes Provide a Link between Antibiotic-Induced Changes in Gut Microbiota and Adult Hippocampal Neurogenesis. *Cell Reports* 05/2016; 15(9). DOI:10.1016/j.celrep.2016.04.074

Die Idee für diese Arbeit entstand schon 2003 während eines Aufenthaltes der Habilitandin am NIH in Bethesda in der Forschungsgruppe von Polly Matzinger. Mit viel Geduld und Energie verfolgte die Habilitandin die Idee bis sich 2014 durch die Zusammenarbeit mit Ildiko Dunay und Markus Heimesaat die Gelegenheit zur Durchführung ergab. Markus Heimesaat hat alle Tiere zur Verfügung gestellt und die Antibiose und die Auswertung des Mikrobiome-Status angeleitet. Ildiko Dunay hat ihre Monozyten- und FACS Expertise beigesteuert.

Die Habilitandin hat das Konzept entworfen sowie das experimentelle Design. Sie hat den Doktoranden Mattei angeleitet, und mit ihm gemeinsam sämtliche in vivo Versuche

durchgeführt, sie hat die Auswertung der Daten durchgeführt und angeleitet sowie selbst Verhaltensexperimente und in vitro Experimente durchgeführt. Sie hat federführend das Manuskript vor allem gemeinsam mit Dunay und Matzinger geschrieben, sämtliche Abbildungen erstellt und die Revision des Manuskriptes übernommen. Durch den SFB TR 43, bei dem die Habilitandin seit 2011 Co-PI im Projekt mit Helmut Kettenmann war, konnte sie die Publikationskosten von 5000 Euro erfolgreich einwerben.

Bei allen Projekten hat die Habilitandin an Ihren Ideen festgehalten und konnte Kooperationspartner überzeugen und begeistern, mit ihr am jeweiligen Projekt zusammenzuarbeiten. So konnten die Projekte häufig nur durch die von der Habilitandin initiierten Kooperationen durchgeführt werden. Mein herzlicher Dank gilt daher allen Ko-autor\*innen und technischen Mitarbeiter\*innen!

Unterschrift der Habilitandin

---

## Anhang – Originale der verwendeten Publikationen

- 1.) **Susanne A. Wolf**, Barbara Steiner, Antje Wengner, Martin Lipp, Thomas Kammertoens, and Gerd Kempermann. Adaptive peripheral immune response increases proliferation of neural precursor cells in the adult hippocampus. *The FASEB J*: 3121–3128, published on 11 May 2009, doi.org/10.1096/fj.08-113944
- 2.) **Wolf, S. A.**, Bick-Sander, A., Fabel, K., Leal-Galicia, P., Tauber, S., Ramires Rodriguez, G., Muller, A., Melnik, A., Waltinger, T. P., Ullrich, O., and Kempermann, G. Cannabinoid receptor CB1 mediates baseline and activity-induced survival of new neurons in adult hippocampal neurogenesis. *Cell Commun Signal*. 2010 Jun 17;8:12. doi: 10.1186/1478-811X-8-12.
- 3.) **Wolf, S. A.**, Melnik, A., and Kempermann, G. Physical exercise increases adult neurogenesis and telomerase activity, and improves behavioral deficits in a mouse model of schizophrenia. *Brain Behav Immun*. 2011 Jul;25(5):971-80. Epub 2010 Oct 21, doi: 10.1016/j.bbi.2010.10.014.
- 4) Daniele Mattei\*, Anaïs Djodari-Irani\*, Ravit Hadar, Andreas Pelz, Lourdes Fernandez de Cossío, Thomas Goetz, Marina Matyash, Helmut Kettenmann, Christine Winter\*, **Susanne A. Wolf\***: Minocycline rescues decrease in neurogenesis, increase in microglia cytokines and deficits in sensorimotor gating in an animal model of schizophrenia. *Brain Behavior and Immunity* 05/2014. DOI:10.1016/j.bbi.2014.01.019
- 6) Luisa Möhle\*, Daniele Mattei\*, Markus M. Heimesaat\*, Stefan Bereswill, André Fischer, Marie Alutis, Timothy French, Dolores Hambardzumyan, Polly Matzinger, Ildiko R. Dunay\*, **Susanne A. Wolf\***: Ly6Chi Monocytes Provide a Link between Antibiotic-Induced Changes in Gut Microbiota and Adult Hippocampal Neurogenesis. *Cell Reports* 05/2016; 15(9). DOI:10.1016/j.celrep.2016.04.074

- 1.) **Susanne A. Wolf**, Barbara Steiner, Antje Wengner, Martin Lipp, Thomas Kammertoens, and Gerd Kempermann. Adaptive peripheral immune response increases proliferation of neural precursor cells in the adult hippocampus. The FASEB J: 3121–3128, published on 11 May 2009, <https://doi.org/10.1096/fj.08-113944>















- 2.) **Wolf, S. A.**, Bick-Sander, A., Fabel, K., Leal-Galicia, P., Tauber, S., Ramires Rodriguez, G., Muller, A., Melnik, A., Waltinger, T. P., Ullrich, O., and Kempermann, G. Cannabinoid receptor CB1 mediates baseline and activity-induced survival of new neurons in adult hippocampal neurogenesis. *Cell Commun Signal*. 2010 Jun 17;8:12. doi:

<https://doi.org/10.1186/1478-811X-8-12>



























- 3.) **Wolf, S. A.**, Melnik, A., and Kempermann, G. Physical exercise increases adult neurogenesis and telomerase activity, and improves behavioral deficits in a mouse model of schizophrenia. *Brain Behav Immun.* 2011 Jul;25(5):971-80. Epub 2010 Oct 21, doi: <https://doi.org/10.1016/j.bbi.2010.10.014>.



















- 4) Daniele Mattei\*, Anaïs Djodari-Irani\*, Ravit Hadar, Andreas Pelz, Lourdes Fernandez de Cossío, Thomas Goetz, Marina Matyash, Helmut Kettenmann, Christine Winter\*, **Susanne A. Wolf\***: Minocycline rescues decrease in neurogenesis, increase in microglia cytokines and deficits in sensorimotor gating in an animal model of schizophrenia. *Brain Behavior and Immunity* 05/2014. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bbi.2014.01.019>



















- 5.) Luisa Möhle\*, Daniele Mattei\*, Markus M. Heimesaat\*, Stefan Bereswill, André Fischer, Marie Alutis, Timothy French, Dolores Hambardzumyan, Polly Matzinger, Ildiko R. Dunay\*, **Susanne A. Wolf\***: Ly6Chi Monocytes Provide a Link between Antibiotic-Induced Changes in Gut Microbiota and Adult Hippocampal Neurogenesis. Cell Reports 05/2016; 15(9). DOI: <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2016.04.074>

























**Erklärung**

§4 Abs. 3 (k) der HabOMed der Charité

Hiermit erkläre ich, dass die vorgelegte Habilitationsschrift ohne fremde Hilfe verfasst, die beschriebenen Ergebnisse selbst gewonnen sowie die verwendeten Hilfsmittel, die Zusammenarbeit mit anderen Wissenschaftlern/Wissenschaftlerinnen und mit technischen Hilfskräften sowie die verwendete Literatur vollständig in der Habilitationsschrift angegeben wurden, und mir die geltende Habilitationsordnung bekannt ist. Ein früheres Habilitationsverfahren an der Humboldt-Universität zu Berlin wurde am 16.11.2016 eingestellt. Die zweijährige Frist gem. § 8 Abs. 9 HabOMed nach Abbruch des ersten Verfahrens wird somit eingehalten. Ich erkläre ferner, dass mir die Satzung der Charité – Universitätsmedizin Berlin zur Sicherung guter wissenschaftlicher Praxis bekannt ist, und ich mich zur Einhaltung dieser Satzung verpflichte.

07.06.2019

Datum

Unterschrift