

Samenvatting

Achtergrond

Veroudering – Aan de definitie van veroudering is over de jaren door verschillende wetenschappers geschaafd. Veroudering wordt omschreven als een proces waarin de kans dat een organisme gedurende het leven zal sterven geleidelijk toeneemt, en de kans dat het zal voortplanten geleidelijk afneemt. Het is een proces dat reeds begint voor de geboorte. In de latere levensfase wordt het geassocieerd met nadelige veranderingen in de humane fysiologie. Onder andere door deze veranderingen hebben we op latere leeftijd een toenemende kans op het ontwikkelen van degeneratieve en chronische ziekten. Er bestaan verschillende theorieën over veroudering en wat er exact gebeurt in het lichaam. August Weismann introduceerde bijvoorbeeld de theorie van het slijten van het lichaam, waarin cellen beschadigd raken door intensief gebruik en door allerlei interne en externe factoren. Recentelijk zijn er verschillende cellulaire markers geïdentificeerd, die meer inzicht geven in het biologische verouderingsproces, bovenop de maat van chronologische veroudering. Twee van dergelijke cellulaire verouderingsmarkers zijn telomeerlengte (TL) en het aantal mitochondriale DNA kopieën ('mitochondrial DNA copy number', mtDNAcn) in leukocyten.

Telomeren zitten op de uiteinden van chromosomen en bestaan uit een herhaling van zes nucleotiden (TTAGGG), die puur de functie hebben om chromosomen tegen schade te beschermen. Bij elke celdeling verliest het DNA een aantal van deze herhaalde basepaar-sequenties, doordat het enzym dat DNA kopieert niet het uiteinde meer kan vastpakken. Dit noemen ze ook wel het '*end-replication-problem*'. De telomeren verkorten dus bij elke celdeling, totdat de cel niet meer kan delen en sterft. Daarom wordt TL ook als een marker gezien van de cellulaire leeftijd. De TL bij de geboorte is voor een groot deel erfelijk bepaald en mensen worden met sterk variërende TL geboren. Vervolgens vindt er snelle telomeerverkorting (en dus biologische veroudering) plaats, met name in de eerste 20 levensjaren. De snelheid waarmee telomeren verkorten gedurende het leven lijkt minder sterk af te hangen van genetische factoren. Telomeren kunnen ook verlengd worden door het enzym *telomerase*, dat in meer of mindere mate kan worden geactiveerd in cellen. In de literatuur zijn er verscheidene factoren beschreven die invloed kunnen hebben op TL, zoals leefstijl, schadelijke vrije radicalen in de cellen en ook stress-gerelateerde factoren. Bovendien zijn er herhaaldelijk verbanden aangetoond tussen korte telomeren en leeftijd-gerelateerde ziekten, zoals hart- en vaatziekten, kanker, dementie en suikerziekte. Het wordt dus steeds vaker gesuggereerd dat TL als een 'rode vlag' kan fungeren om zowel leeftijd- als stress-gerelateerde complicaties vroegtijdig te detecteren of te kunnen verklaren.

De tweede cellulaire verouderingsmarker die we minder uitgebreid behandelen in dit proefschrift, is het mtDNAcn. Een andere theorie van cellulaire veroudering beschrijft de mitochondriale veroudering: een vicieuze cirkel, waarin vrije radicalen zich ophopen en schade aanrichten in cellen en aan het DNA. Vervolgens verstoren dergelijke DNA-beschadigingen o.a. de energieprocessen in de cel, waardoor er meer vrije radicalen kunnen worden geproduceerd. Mitochondriën zijn de kleine energiecentrales in de cel, die een rol spelen bij de metabole homeostase en de celdeling. Alle cellen hebben vele mitochondriën in het cytoplasma, die elk multipole kopieën bevatten van mitochondriaal DNA. Het aantal kopieën van dit mitochondriaal DNA (mtDNAcn) varieert erg per cel. Tijdens veroudering is er vaker een verlaging van het mtDNAcn beschreven. Bovendien hebben verschillende studies lagere mtDNAcn gevonden in mensen met leeftijd-gerelateerde ziekten. TL en mtDNAcn zijn ook positief met elkaar gecorreleerd: dat wil zeggen dat hoe langer iemands gemiddelde TL, des te meer mitochondriale DNA kopieën iemand ook gemiddeld heeft.

Stress – De Hongaarse endocrinoloog János Selye heeft het woord "stress" gedefinieerd als het non-specifieke biologische respons van het lichaam op een verandering in de omgeving. In verschillende dierproeven nam hij waar dat dieren na het toedienen van stressoren (kou, verwonding of chemische stressoren) een fysieke

alarmreactie kregen, en daarna leeftijd-gerelateerde aandoeningen ontwikkelden, zoals cardiovasculaire complicaties en atherosclerose. Ondanks dat de term stress in verschillende contexten wordt toegepast, is het samengevat als: “*Stress is naast zichzelf ook de oorzaak van zichzelf én het gevolg van zichzelf*”. Selye definieerde het als de mate van slijtage aan het lichaam, heel vergelijkbaar met de definitie van biologische veroudering.

Bij stress kan men een onderscheid maken in goede stress (*eustress*) en slechte stress (*distress*). In dit proefschrift leggen wij de focus op de slechte stress, dat kan worden onderverdeeld in acute stress (bijv. de dreiging van een leeuw), traumatische stress (bijv. oorlog of natuurrampen) en chronische stress (een blijvende stress-ervaring). Bij een gezonde stressreactie maakt het lichaam zich klaar om te verdedigen door het verhogen van de hartslag, het vrijmaken van glucose in het bloed, en door de opslag van vetten voor in tijden van schaarste. Zodra de stressor voorbij is, hervatten alle lichaamsfuncties weer hun oude balans. Deze gevoelige balans waarbij processen in het lichaam zich aanpassen aan veranderingen in de omgeving, wordt ook wel ‘*homeostase*’ genoemd. Daarnaast anticipeert het brein ook op toekomstige gebeurtenissen door middel van eerdere kennis, en dit wordt ‘*allostase*’ genoemd. Zowel chronische stress als veroudering kunnen tot een overbelasting van de allostase leiden. Evolutionair gezien is het heel nuttig dat een organisme leert van eerdere ervaringen en anticipeert op (wellicht blijvende) veranderingen in het milieu. Echter, in het geval van chronische stress kunnen deze anticiperende aanpassingen leiden tot chronische ontregelingen in verschillende stresssystemen. Zo kan een chronisch gestegen bloedsuikerspiegel omslaan in suikerziekte. De onnodige opslag van vetten, zelfs als er geen schaarste is, kan leiden tot obesitas. De Wereldgezondheidsorganisatie (WHO) waarschuwde zelfs voor een Europese epidemie van obesitas in 2030. Psycho-biologen in de 19^e en 20^e eeuw, zoals Walter Bradford Cannon en Claude Bernard, beschreven al de connectie tussen psychologische stress en fysiologische stress. In dit proefschrift maken wij ook een onderscheid tussen psychologische stress factoren en biologische stress factoren, op het niveau van fysiologische stress systemen en de metabole ontregelingen.

Biologische stress – De biologische stress factoren, die in dit proefschrift zijn onderzocht, bestonden uit de ontregelingen van de drie voornaamste fysiologische stress systemen (i.e. inflammatie, de hypothalamus-hypofyse-bijnier (HPA)-as en het autonome zenuwstelsel (ANS)) en de ontregeling van de componenten van het metaboolsyndroom.

Ontstekingen, ofwel inflammatie, zijn een respons in het lichaam op de schade die is waargenomen aan weefsels. Het dient als een beschermingsmechanisme tegen verwondingen of prikkels van buitenaf, zoals infecties. In dat geval is inflammatie acuut (duurt een paar dagen) en is het een gezond proces in het lichaam. Tenzij het regulatiemechanisme defect is. Dan kan er sprake zijn van een allergie of een auto-immuunziekte. Acute inflammatie kan ook chronisch worden, indien de schadelijke prikkels aanhouden (i.v.m. resistentie of slechte weerstand). Wanneer de prikkels niet meer aanwezig zijn, maar de ontstekingsreactie aanhoudt, spreken we van een chronische laaggradige inflammatie verspreid door het hele lichaam (systemisch). Leukocyten spelen een belangrijke rol bij inflammatie, doordat ze verscheidene mediators uitscheiden die zorgen voor initiatie en instandhouding van de ontsteking (pro-inflammatoir) of zorgen voor de remming van de ontsteking (anti-inflammatoir). Belangrijke pro-inflammatoire mediators die zijn bekeken in dit proefschrift zijn interleukine-6 (IL-6) en tumor necrosis factor-alpha (TNF- α), die op hun beurt de lever aanzetten tot de productie van c-reactief proteïne (CRP).

De activiteit van de HPA-as speelt ook een belangrijke rol in de stress respons, waarbij de hypothalamus, de hypofyse en de bijnieren een cascade aan hormonen gaan produceren, met als eindproduct het stresshormoon cortisol. Dit is een steroïd hormoon dat metabole, cardiovasculaire, immuunprocessen en gedrag reguleert in mensen. Om de HPA-as activiteit te onderzoeken kan men cortisol meten in het bloed, speeksel of urine. Onder normale omstandigheden volgt cortisol een ritme gedurende de dag, waarbij het piekt in het eerste uur na het ontwaken (*cortisol awakening response, CAR*) en afneemt gedurende de dag, tot

het laagste niveau in de avond. Terwijl het CAR iets zegt over de gevoeligheid en dynamiek van de HPA-as, geeft het niveau van avond-cortisol informatie over de basale HPA-as activiteit. Deze activiteit wordt tevens strak gereguleerd door een negatief feedback mechanisme in het brein. In dit proefschrift hebben wij dit dagritme in cortisol bekeken in het speeksel van mensen.

Het ANS controleert de homeostase van verscheidene 'onbewuste' lichaamsfuncties, zodat fysiologische responsen adequaat zijn afgesteld op de veranderende omgeving. Het heeft o.a. invloed op hartslag (HR), energiegebruik en metabolisme. De twee takken van de ANS zijn het sympathische zenuwstelsel (SNS), dat het lichaam voorbereidt op gevaar en stress ('*fight or flight*' respons), en het parasympathische zenuwstelsel (PNS), dat het lichaam in een staat van rust brengt ('*rest and digest*' respons). ANS activiteit kan worden gemeten met electrocardiografie en impedantie cardiografie, door middel van sensoren die op het lichaam worden geplakt. Hieruit worden verschillende maten afgelezen die informatie geven over de twee takken van het ANS. In dit proefschrift hebben we HR gebruikt als maat voor de combinatie van het SNS en PNS, terwijl de pre-ejectie periode (PEP) ons informatie gaf over de SNS-activiteit en de respiratoire sinus arrhythmie (RSA) over de PNS-activiteit.

Stress kan ook leiden tot metabole ontregelingen, die worden geclusterd in het metabool syndroom (MetS), dat tegelijk een groep van risicofactoren vormt voor cardiovasculaire aandoeningen en diabetes mellitus type 2. De vijf componenten van het MetS zijn: abdominale obesitas (buikomvang: ≥ 102 cm in mannen en ≥ 88 cm in vrouwen); hoge bloedwaarden van triglyceriden (≥ 1.7 mmol/L of specifieke medicatie hiervoor); verlaagd high-density-lipoproteïne (HDL) cholesterol (het 'goede' cholesterol: < 1.03 mmol/L in mannen en < 1.30 mmol/L in vrouwen of specifieke medicatie hiervoor); verhoogde bloeddruk (systolisch ≥ 130 mmHg en/of diastolisch ≥ 85 mmHg of antihypertensiva); hoge bloedwaarden van nuchter glucose (≥ 5.6 mmol/L of antidiabetica). Om te voldoen aan de criteria van metabool syndroom, moet men volgens internationale consensus tenminste drie van deze ontregelingen hebben. Wij hebben in dit proefschrift zowel de vijf componenten afzonderlijk onderzocht, maar ook het aantal ontregelde componenten (maat voor de ernst) en de aanwezigheid van MetS als een geclusterd syndroom.

Psychologische stress – Psychologische stress factoren bestonden uit gestelde diagnoses van depressieve en angststoornissen en daarnaast psychiatrische karakteristieken, zoals antidepressiva gebruik, ernst en duur van de klachten en andere psychosociale factoren. Depressieve stoornissen worden gekenmerkt door een sombere stemming en interesseverlies gedurende minimaal twee weken. In de 4^e editie van het *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders* (DSM-IV) wordt een depressie gedefinieerd als het hebben van tenminste vijf van de volgende symptomen: 1) een sombere stemming gedurende het grootste deel van de dag en bijna elke dag; 2) verminderd(e) interesse of plezier; 3) significant gewichtsverlies of toename; 4) insomnia of hypersomnia; 5) psychomotorische agitatie of vertraging; 6) vermoeidheid of verlies van energie; 7) gevoelens van waardeloosheid of schuld; 8) verminderd vermogen tot nadenken of concentreren of besluiteloosheid; 9) suïcidegedachten.

Angststoornissen worden gekarakteriseerd door gevoelens van angst die voor problemen zorgen in het dagelijks functioneren. In de DSM-IV worden de volgende angststoornissen onderscheiden die wij hebben onderzocht: een paniekstoornis wordt gekenmerkt door hevige paniekaanvallen, waarbij de patiënt anticipeert op deze aanvallen en het gedrag aanpast om herhaalde aanval te voorkomen; sociale fobie en agorafobie zijn psychiatrische stoornissen waarbij er een onredelijke angst is voor respectievelijk sociale situaties en openbare gelegenheden; bij een gegeneraliseerde angststoornis is er sprake van excessieve bezorgdheid over allerlei aspecten van het leven van de patiënt gedurende minstens zes maanden.

Doelen van dit proefschrift

In de laatste decennia hebben onderzoekers beschreven dat de processen die we zien in veroudering en stress nauw met elkaar samenhangen: zij worden gekarakteriseerd door de slijtage van het lichaam ('*Wear*

and tear'). Het is daarom gesuggereerd dat psychologische en biologische stress gelinkt zijn aan het verouderingsproces. Deze stressfactoren kunnen niet daadwerkelijk chronologische veroudering versnellen, maar spelen mogelijk een belangrijke rol in cellulaire veroudering. De voornaamste doelen van dit proefschrift waren dan ook het onderzoeken van de associaties tussen A) cellulaire veroudering en biologische stress; B) cellulaire veroudering en psychologische stress, inclusief de potentiële mediators die deze met elkaar kunnen verbinden. Daarnaast hebben we systematisch onderzocht welke van deze biologische en psychologische stress factoren geassocieerd waren met TL of met de verandering in TL over tijd.

Resultaten

Voor de analyses die in dit proefschrift zijn uitgevoerd hebben we verzamelde data gebruikt van 2981 mensen uit de *Nederlandse Studie naar Depressie en Angst* (NESDA) uit Nederland en van 989 mensen uit de *“Coronary Artery Risk Development in Young Adults Study”* (CARDIA) uit de Verenigde Staten. Hoofdstukken 2 t/m 4 en 6 t/m 9 laten de bevindingen zien uit de NESDA studie, terwijl hoofdstuk 5 is uitgevoerd met data van de CARDIA studie. We hebben cross-sectionele analyses uitgevoerd om de associaties te bekijken tussen biologische en psychologische stress en cellulaire veroudering. Dit houdt in dat we op één tijdstip keken naar de associaties tussen deze factoren. Daarnaast werden ook longitudinale analyses verricht om de veranderingen te bekijken over de tijd. **Hoofdstuk 1** van dit proefschrift geeft een uitgebreid overzicht van de achtergronden, de gebruikte maten en de doelen van ons onderzoek, zoals hierboven samengevat in het Nederlands.

In **Hoofdstuk 2** hebben we de cross-sectionele relaties bekeken tussen TL en fysiologische stress markers (inflammatie, HPA-as en ANS) met behulp van data van de NESDA studie. Eerst onderzochten we de afzonderlijke fysiologische stress markers, en vonden dat hogere niveaus van de inflammatoire markers CRP en IL-6, hogere cortisol ochtendwaarden (AUCi) en hogere HR geassocieerd waren met korte TL. Bovendien vonden we een dosis-respons relatie tussen de cumulatieve ontregeling van deze vier stress markers en kortere telomeren. Dit ondersteunt onze hypothese dat chronische stress gepaard gaat met een ontregeld fysiologisch stressrespons en dat dit significant samenhangt met cellulaire veroudering.

In **Hoofdstuk 3** vonden we significante cross-sectionele relaties tussen TL en het metabool syndroom en de componenten ervan binnen de NESDA studie. Kortere TL bleek geassocieerd te zijn met grotere buikomvang, dislipidemie (hoge triglyceride en lage HDL cholesterol waarden) en hoge nuchtere bloedsuiker waarden. Ook hier namen we een dosis-respons relatie waar: hoe meer MetS componenten er aanwezig waren in een persoon, des te korter waren de telomeren. Vervolgens onderzochten we de longitudinale link tussen MetS en TL. We begonnen met het kijken naar de effecten van TL, gemeten op Jaar 0, op MetS componenten gemeten op Jaar 2 en Jaar 6. Kortere telomeren op Jaar 0 bleken geassocieerd te zijn met een slechter metabool profiel in de daaropvolgende jaren (i.e. abdominale obesitas, dislipidemie en hyperglycemie).

Vice versa, in **Hoofdstuk 4** onderzochten we of MetS componenten, gemeten op Jaar 0, de veranderingen voorspelden in TL over de zes jaren. We zagen consistente patronen: MetS op Jaar 0 voorspelde kortere TL over de zes jaren, maar géén snellere cellulaire veroudering. Ten slotte analyseerden we of de 6-jaars veranderingen in MetS parallel liepen met 6-jaars veranderingen in TL. Dit was voornamelijk het geval bij een toename in buikomvang en verkorting van de telomeren, en in mindere mate voor toename in triglycerides en glucose. Er lijkt dus in beide richtingen een link te zijn tussen metabole ontregelingen en cellulaire veroudering, dat met name wordt gedreven door de aanwezigheid (of toename) van buikvet.

In **Hoofdstuk 5** breidden we deze analyses uit in de CARDIA studie door de cross-sectionele en longitudinale associaties te bekijken tussen MetS (componenten) en twee cellulaire verouderingsmarkers, TL en mtDNAcn gedurende 10 jaren. Beide cellulaire verouderingsmarkers namen af over tijd en hingen met

elkaar samen. Gemiddeld over 10 jaar waren hogere triglyceriden in het bloed geassocieerd met lagere mtDNAcn en alleen lager HDL-cholesterol was geassocieerd met kortere TL. Wanneer we naar de longitudinale link keken, zagen we dat grotere buikomvang, hogere glucose waarden en vastgestelde MetS op Jaar 0 voorspellend waren voor een snellere afname in mtDNAcn over de 10 jaren. Geen enkele MetS component op Jaar 0 voorspelde echter de 10-jarige verkorting van telomeren. Andersom voorspelden de cellulaire verouderingsmarkers op Jaar 0 ook geen metabole verslechtingen. Ten slotte onderzochten we of er parallele veranderingen waren in metabole componenten en cellulaire veroudering, en zagen dat alleen een toename in buikomvang samenhang met een afname in TL, consistent met de eerdere bevindingen in de NESDA studie.

Vervolgens onderzochten we de cross-sectionele associaties tussen TL en depressieve en angststoornissen. Het is al eerder aangetoond dat patiënten met deze psychiatrische stoornissen meer risico hebben op het krijgen van verouderingsziekten, zoals hart- en vaatziekten, dementie en suikerziekte. Cellulaire veroudering zou dit verhoogde risico mogelijk kunnen verklaren. In **Hoofdstuk 6** laten we zien dat zowel de mensen met een huidige depressie of mensen die in remissie waren van een depressie kortere telomeren hadden dan gezonde mensen die nooit een depressie hebben gehad. Bovendien lijkt er sprake te zijn van een dosis-respons relatie: hoe ernstiger en langduriger de depressieve symptomen, des te korter de telomeren. Bij het onderzoeken van de link tussen angststoornissen en TL (**Hoofdstuk 7**) zagen we significant kortere telomeren binnen de patiënten met een huidige diagnose van paniekstoornissen met agorafobie, sociale fobie of gegeneraliseerde angststoornis, ten opzichte van de gezonde controles. Mensen met een angststoornis in het verleden verschilden niet van de groep met een huidige diagnose, maar de tijd sinds remissie was wel positief geassocieerd met TL. Ook vonden we een dosis-respons relatie tussen de ernst van de angstsymptomen en kortere telomeren, maar niet met de duur van de ziekte. Over het algemeen vonden we geen verband tussen het gebruik van antidepressieve of kalmerende medicatie en TL.

Hierna wilden we in **Hoofdstuk 8** onderzoeken of de link tussen depressieve en angststoornissen en TL wellicht verklaard kan worden door de ontregelingen in fysiologische stresssystemen, MetS componenten of leefstijlfactoren, die allemaal reeds aangetoond zijn in de patiëntenpopulatie. We bekeken de eigenschappen van mensen op Jaar 0 in de NESDA studie, en vonden dat hogere ontstekingsstoffen, buikomvang, dyslipidemie en het roken van sigaretten allemaal een deel verklaarden van het verband tussen deze psychiatrische stoornissen en korte TL. Dit betekent dat een deel van deze associatie loopt via deze zogenaamde mediators, maar dat er ook een direct verband overblijft dat niet kan worden verklaard door biologische stressfactoren.

Tot slot hebben we in **Hoofdstuk 9** systematisch bekeken welke psychologische en biologische stressfactoren samenhangen met TL op Jaar 0, en voorspellend waren voor de 6-jaars verandering in TL. Cross-sectioneel vonden we dat kortere TL op Jaar 0 samenhang met een hogere leeftijd, het mannelijke geslacht, niet-Europese origine, sigaretten roken, heftige levensgebeurtenissen in het afgelopen jaar, hogere tryglyceriden en glucose en lagere sympathische activiteit (langere PEP). Al deze factoren verklaarden samen 11% van de variatie in TL. In de longitudinale analyses vonden we dat de 6-jaars veranderingen in TL met name voorspeld werden door TL op Jaar 0: mensen met lange TL op de Jaar 0 hadden meer kans om kortere TL te krijgen, dan mensen met reeds korte TL op Jaar 0. Hiermee werd 52% van de variantie verklaard in de 6-jaars veranderingen in TL. Een additionele 4% van de variantie werd nog verklaard door hogere leeftijd, lange slaap, jeugdtrauma's en maag- en darmziekten.

Conclusies

Alle verbanden die in dit proefschrift zijn onderzocht worden gepresenteerd in **Tabel 1 in Hoofdstuk 10**. Hierin laten we zien welke associaties er zijn bevestigd (+), welke nog onduidelijk zijn (+/-) en welke niet zijn bevestigd (-). Hierin zijn de verbanden zichtbaar tussen biologische en psychologische stressfactoren en TL

op Jaar 0 (2^e kolom) en de 6-jaars veranderingen in TL (3^e kolom). De resultaten van dit proefschrift wijzen erop dat TL ten eerste een brede en valide marker is, dat samenhangt met de huidige staat van allerlei biologische en psychologische stress maten. Patiënten met een depressie of angststoornis lijken cellulair meer te zijn verouderd dan mensen die deze psychiatrische stoornissen nooit hebben gehad. Dit lijkt voor een gedeelte ook verklaard te worden door de ontregelingen in fysiologische stresssystemen, MetS componenten en leefstijl, zoals weergegeven in **Figuur 1 in Hoofdstuk 10**. Ten tweede laten we zien dat TL op Jaar 0 een sterke voorspeller is van de telomeerverkorting over tijd, wat mogelijk kan wijzen op een sterke regulatie in het telomeer-telomerase systeem. Ten slotte zien we bij het analyseren van parallele veranderingen over tijd dat een toename van buikomvang, en in mindere mate van triglyceriden en glucose, samenhangt met cellulaire veroudering.

Al met al vermoeden we dat TL onder sterke homeostatische regulaties valt, waardoor de kortere telomeren mogelijk eerder worden gerepareerd dan de lange telomeren. Zo schommelt de gemiddelde TL mogelijk rond een optimale waarde, maar neemt langzaam af met een toename in leeftijd of stress-gerelateerde factoren. Het feit dat wij relatief weinig voorspellers van cellulaire veroudering (dus verandering in TL over tijd) hebben geïdentificeerd, kan erop wijzen dat het wellicht lastig is om in te grijpen in dit cellulaire proces van slijtage in het lichaam. Dit kan echter onderzocht worden in toekomstige studies met een experimentele opzet. Hierin kunnen de effecten worden bekeken van interventies die zich bijvoorbeeld richten op het stoppen met roken, de afname in buikvet en de reductie van stress. Dit proefschrift draagt hopelijk bij aan de wetenschappelijke kennis omtrent de link tussen somatische en psychische gezondheid. Daarnaast streven we ernaar om richting te geven aan toekomstige onderzoek naar de verbanden tussen veroudering en stress.