

## Nederlandse samenvatting

Het vermogen om te leren is een van de belangrijkste eigenschappen van onze hersenen. Er wordt al vele jaren intensief onderzoek naar gedaan. Gek genoeg wordt nog steeds niet goed begrepen hoe de hersenen nu eigenlijk informatie opslaan. De meeste wetenschappers zijn het er over eens dat informatie wordt opgeslagen door middel van veranderingen in de verbindingen tussen zenuwcellen; de zogenaamde synapsen (zie ook figuren 2 en 3 in hoofdstuk 1). Neuronen hebben een aantal mechanismen tot hun beschikking om de eigenschappen van synapsen te veranderen en deze mechanismen worden gezamenlijk synaptische plasticiteit genoemd. Zo kunnen er veranderingen optreden in het postsynaptische gedeelte door het aantal of de aard van neurotransmitterreceptoren te veranderen. Dit type synaptische plasticiteit is vaak associatief van aard: er is een gezamenlijke activiteit in zowel het presynaptische als het postsynaptische neuron nodig. Neuronen kunnen ook de secretie van neurotransmitter aan het presynaptische zenuwuiteinde veranderen. De secretie van neurotransmitter kan zowel vergroot als verkleind worden. Er zijn een aantal typen presynaptische plasticiteit die in tijdsspanne kunnen variëren van enkele honderdsten van een seconde tot vele uren. Presynaptische plasticiteit is niet-associatief van aard: er is alleen activiteit van het presynaptische neuron nodig. Er zijn aanwijzingen dat associatieve plasticiteit belangrijk is in leren en geheugen. Dit kan echter zeker niet het enige mechanisme zijn, want als associatieve plasticiteit geblokkeerd wordt is leren nog steeds mogelijk. De rol van presynaptische plasticiteit in leren en geheugen is onduidelijk. Dit komt met name omdat het voorheen niet mogelijk was om presynaptische plasticiteit in levende dieren te manipuleren. Daardoor kon de rol van presynaptische plasticiteit in geheugen nooit goed onderzocht worden. Door de ontwikkeling van genetische manipulatie in muizen zijn er echter de wetenschappelijke gereedschappen ontwikkeld om dit wel te doen. In dit proefschrift is van deze techniek gebruik gemaakt om de rol van presynaptische plasticiteit in leren en geheugen te onderzoeken.

Er wordt in dit proefschrift gebruik gemaakt van twee verschillende mutante muizen. Als eerste wordt de *munc18-1* heterozygote mutant behandeld. *Munc18-1* is een eiwit dat essentieel is voor de secretie van neurotransmitter. De *munc18-1* heterozygoot heeft nog maar 1 intact *munc18-1* gen (normaal zijn er 2 kopieën van elk gen). In hoofdstuk 2 wordt beschreven dat dit er voor zorgt dat *munc18-1*, in de hersenen van deze mutant, met ongeveer 50% gereduceerd is. Tevens laat deze mutant een aantal veranderingen in presynaptische plasticiteit zien, terwijl associatieve plasticiteit vrijwel normaal lijkt te zijn. De veranderingen die deze mutant laat zien zijn in de middellange tot langdurende vormen van presynaptische plasticiteit. Zo laat deze mutant een versterkte tetanische depressie zien. Dit betekent dat als de synaps gedurende langere tijd sterk actief is, de secretie van neurotransmitter sterker afneemt dan in controle muizen. Een van de interessantste veranderingen in de *munc18-1* mutant is een complete blokkade van post-synaptische potentiatie, een vorm van presynaptische plasticiteit die enkele minuten duurt. Aangezien dit de enige mutant is die een blokkade van posttetanische potentiatie heeft, zou dit geschikt model kunnen zijn om de rol van posttetanische potentiatie in geheugen te onderzoeken. Ook laat deze mutant een sterke vermindering zien van de langdurige potentiatie aan de mosvezels. Waarom deze mutant deze veranderingen in presynaptische plasticiteit

laat zien is niet geheel duidelijk en wijst op nieuwe rollen voor het eiwit munc18-1 in deze vormen van presynaptische plasticiteit. In hoofdstuk 3 is onderzocht of deze veranderingen gevolgen hebben voor het leervermogen van deze mutant. Het lange-termijn geheugen is gemeten in het water doolhof. In dit doolhof zit een ontsnappingsplatform verstopt onder het melkachtig gekleurde wateroppervlak. De muis kan het ontsnappingsplatform dus niet zien maar zal de ruimtelijke locatie na enkele ervaringen leren en er dan snel naar toe zwemmen. Deze taak meet voornamelijk het lange-termijn geheugen. Verassend genoeg blijkt de munc18-1 muis normaal te presteren in deze taak. Het blijkt dus dat het gemis van een aantal vormen van presynaptische plasticiteit geen gevolgen heeft voor lange-termijn geheugen. Werkgeheugen is een flexibele, kortdurende (seconden tot minuten) vorm van geheugen en wordt ook wel kladblok geheugen. Het werkgeheugen van deze mutant is gemeten in het 8-armige radiaal doolhof. In dit doolhof zijn een aantal voedselbeloningen verstopt. Het doel van de taak is al deze beloningen op te halen. Daardoor moet de muis gedurende het verzamelen onthouden waar al gezocht is en waar nog niet. Gedurende de training bleek de munc18-1 mutant veel fouten te maken, en nagenoeg op kansniveau te presteren. Het werkgeheugen van deze mutant lijkt dus zwaar verstoord te zijn. Er zijn aanwijzingen dat versterkte synaptische depressie en afwezigheid van mosvezel potentiatie geen effect hebben op werkgeheugen. Het is dus mogelijk dat het gemis van posttetanische potentiatie het defect in werkgeheugen veroorzaakt. Dit is een aantrekkelijke gedachte omdat posttetanische potentiatie en werkgeheugen een zelfde tijdsperiode hebben. Jammer genoeg wordt de interpretatie van deze resultaten vermoeilijkt doordat de munc18-1 mutant ook een sterk verhoogde locomotorische activiteit laat zien. Het zou kunnen dat deze verhoogde activiteit de prestatie in het radiaal doolhof heeft verstoord, maar de prestatie in het water doolhof niet. Aangezien vrijwel elke leertaak in muizen sterk afhankelijk is van locomotoriek is het uitermate lastig dit probleem te ontwijken. In hoofdstuk 4 wordt een andere gedragsverandering in de munc18-1 mutant beschreven. Deze mutant laat namelijk gedurende de slaap zo nu en dan abnormale motorische activiteit zien. Deze abnormale activiteit bestaat uit slaapwandelen en mondt dan vaak uit in ongecoördineerde sprongen waarna de muis vaak wakker wordt. In hoofdstuk 4 is onderzocht in welke fase van de slaap dit gebeurt. Dit is gedaan met een EEG registratie van de hersenactiviteit. Het bleek dat deze motorische activiteit samenvalt met REM slaap. REM slaap is die fase van slaap waar gedroomd wordt en waarbij de hersenen erg actief zijn. Zonder een speciaal mechanisme waardoor de motorische signalen van de hersenen onderdrukt worden, zou men uitvoeren waarover men droomt. Normale mensen zijn door die inhibitie nagenoeg verlamt tijdens REM slaap maar er zijn patiënten bekend die de inhibitie missen. Deze patiënten voeren dan ook hun dromen uit, wat natuurlijk gevaarlijk is voor hen zelf en hun (slaap)partners. De munc18-1 heterozygoot lijkt hetzelfde te laten zien en zou een nieuw genetisch model voor deze ziekte kunnen zijn.

De functie van lange-termijn potentiatie en depressie in de mosvezels van de hippocampus werden onderzocht met behulp van de rab3A knock-out muis. Deze mutant mist namelijk deze vormen van presynaptische plasticiteit. In hoofdstuk 5 wordt beschreven dat deze mutant, verassend genoeg, normaal leert in alle leertaken (water doolhof, radiaal doolhof en angstconditionering) die hem worden voorgeschoteld. Het lijkt dus dat lange-termijn potentiatie en depressie aan de mosvezels geen rol speelt in werkgeheugen en lange-termijn geheugen. In hoofdstuk 6 is onderzocht of er in het laatste

geval sprake is van compensatie door andere vormen van lange-termijn plasticiteit. Er was namelijk al eerder gevonden, in ratten, dat een blokkade van associatieve postsynaptische plasticiteit het lange-termijn geheugen ook niet blokkeert. Ook muizen blijken een normaal lange-termijn geheugen te hebben wanneer associatieve plasticiteit geblokkeerd wordt. Echter, wanneer beide vormen van lange-termijn plasticiteit tegelijkertijd geblokkeerd worden is het lange-termijn geheugen verdwenen. Dit laatste experiment laat zien dat zowel associatieve plasticiteit als mosvezel plasticiteit betrokken zijn bij lange-termijn geheugen, maar dat de een voor de ander kan compenseren.

Samenvattend kan worden gezegd dat presynaptische plasticiteit een rol lijkt te spelen in leren en geheugen. Posttetanische potentiatie zou belangrijk kunnen zijn bij werkgeheugen, maar er is nieuw onderzoek nodig om dit te bevestigen. Lange-termijn veranderingen aan de mosvezels lijken belangrijk bij lange-termijn geheugen. Aangezien er compensatie kan optreden door associatieve plasticiteit is dit echter lastig aan te tonen. Er zijn waarschijnlijk moeilijkere leertaken nodig om de functie van mosvezelplasticiteit direct aan te tonen.