

Voordracht gehouden in de gewone vergadering van de Afdeling Natuurkunde van de Koninklijke Nederlandse Akademie van Wetenschappen op maandag 19 december 1994

Moleculaire aspecten van neurale en synaptische plasticiteit

W.H. Gispen
Rudolf Magnus Instituut voor Neurowetenschappen,
Universiteit Utrecht

Inleiding

In de neurowetenschappen speelt het begrip plasticiteit een belangrijke sturende rol in zowel de theorievorming als het ontwerpen van experimenten. Door het veelvuldig gebruik zonder goede omschrijving dreigt het begrip uitgehold te worden. In het kader van de voordracht wordt het begrip gedefinieerd als het vermogen van zenuwcellen om zich aan te passen aan veranderende of veranderde omstandigheden. Zo gedefinieerd speelt neurale plasticiteit een rol in de ontwikkeling, in het herstel van schade van het zenuwstelsel en in het vastleggen van opgedane ervaring in netwerken van zenuwcellen. Het belang van plasticiteit van zenuwcellen is pas in de laatste decennia van deze eeuw onderkend. Het denken over de hersenen als weefsel werd daarvoor in sterke mate beïnvloed door de bevindingen van Ramon y Cabal zo'n honderd jaar geleden. Hij stelde vast dat hersenweefsel geen syncytium is, maar bestaat uit discrete cellen (neuronen). Deze neuronenvormen netwerken waarbij al snel een statisch beeld van kabels (zenuwen) en een telefooncentrale (hersenen) werd gevormd. De dynamiek zou liggen in de aard en wijze van prikkelgeleiding en overdracht. Eenmaal aangelegde neuronenvormen kunnen niet meer delen. Het is allang bekend dat schade aan het cellichaam leidt tot dood van de zenuwcel. Dat neuronenvormen zich kunnen herstellen wanneer de schade aan uitlopers plaats heeft gevonden (dendrietten – input; axonen – output) was wel bekend voor zenuwen in het perifere zenuwstelsel, maar niet voor zenuwcellen in het centrale zenuwstelsel (hersenen-ruggemerg). Ook aan dat concept heeft Ramon y Cabal gewerkt, maar door het gebrek aan goede technieken en experimentele mogelijkheden heeft het tot ver in deze eeuw

geduurd voordat experimentele gegevens voorhanden waren die de plasticiteit van centrale neuronen bevestigden. Een belangrijk aspect van neurale plasticiteit is het vermogen van neuronen om het gesprek, dat zij met elkaar in netwerken via functionele contacten (synapsen) voeren, als gevolg van de door het netwerk uitgevoerde taken te versterken of te verzwakken. Deze synaptische plasticiteit wordt veelal gebruikt als neurobiologische onderbouwing van het vermogen van netwerken om nieuw geleerde informatie over langere periodes als een soort geheugenspoor vast te leggen.

Het groei-geassocieerde eiwit B-50/GAP43

In de werkgroep Moleculaire Neurobiologie van de Medische Farmacologie en de Fysiologische Chemie (Universiteit Utrecht) werd in 1976 voor het eerste een eiwit B-50 geïdentificeerd dat specifiek voorkomt in de presynaptische axonale eindigingen. Later werd vastgesteld dat het eiwit een specifiek substraat is voor het proteïne kinase C (PKC) dat een belangrijke rol speelt in intracellulaire communicatie na receptor-activatie aan de buitenkant van de celmembraan. In 1981 werd vanuit Amerika gerapporteerd dat een eiwit GAP43 speciaal door neuronen werd aangemaakt wanneer het axon mechanisch werd beschadigd. In 1987 werd onafhankelijk door meerdere groepen de structuur van B-50 en GAP43 opgehelderd. De twee eiwitten bleken identiek (MW23.5 IEP4.5 Ser⁴¹ PKC fosforylering, Dr. P. Schotman, Utrecht). In ongefosforyleerde vorm bindt het eiwit calmoduline. Influx van Ca²⁺ verbreekt de binding van calmoduline aan B-50/GAP43. In vrije vorm controleert calmoduline samen met Ca²⁺ een aantal belangrijke regulatiestappen in de cel. Het ongefosforyleerde B-50/GAP43 zonder calmoduline wordt door het PKC gefosforyleerd. Omdat receptor activatie leidt tot een cyclisch fosforyleren en defosforyleren van het eiwit, kan het eiwit op lokaal niveau een rol spelen in de beschikbaarheid van vrij calmoduline. Anderen wijzen op de mogelijkheid dat het B-50/GAP43 de interactie tussen in het membraan aanwezige G-eiwitten en receptoren in positieve zin beïnvloedt. In beide gevallen speelt het eiwit dus een rol in de vertaling van uitwendige prikkels naar intercellulaire gevolgen.

Ontwikkeling en herstel van schade

Op het gevaar af te veel te generaliseren, wordt wel verondersteld dat moleculen die een rol spelen tijdens de ontwikkeling van zenuwcellen ook belangrijk zijn voor het herstel van die cellen. Immers, het herstel van straten kan ook goed met stenen gedaan worden die bij de oorspronkelijke aanleg werden gebruikt. Nu blijkt dan ook dat op het moment dat een zenuwcel begint te differentiëren (aanleg van uitlopers etc.), het eiwit B-50/GAP43 wordt aangemaakt. In de loop van de leeftijd van de cel neemt de produktie af, maar na beschadiging wordt het eiwit zeer snel weer in grote mate aangemaakt. Kennelijk om het herstel te bevorderen. Hoe dat nu precies in zijn werk gaat is nog niet duidelijk.

Experimenten met neuronen in celkweek en antisense oligonucleotiden, die specifiek de produktie van B-50/GAP43 onderdrukken, tonen aan dat onder die omstandigheden geen uitlopers gevormd worden. Een causaal verband? Niet onomstotelijk vastgesteld, immers, er zijn ook voorbeelden te noemen waarbij uitgroei plaatsvindt in afwezigheid van B-50/GAP43.

In een samenwerking tussen het Rudolf Magnus Instituut en de Rockefeller Universiteit (New York, USA) kon Dr. J. Verhaagen laten zien dat met defect virus getransfecteerde niercellen, die door de virus-promotor gedreven B-50 produceren, zeer lange uitlopers maken die van de niercellen fenotypisch een neuron maken. Maar doen getransfecteerde neuronen dat ook? Een andere moleculair biologische benadering is het gebruik van transgene of 'knock-out' muizen. In het eerste geval kun je afhankelijk van de promotor in bepaalde neuronen een overproductie van B-50/GAP43 bewerkstelligen. In het tweede geval kun je zenuwcellen zo manipuleren dat ze geen B-50/GAP43 kunnen maken. Uit recent Nederlands en Amerikaans onderzoek is vast komen te staan dat overproductie van B-50/GAP43 wel degelijk de organisatie van b.v. het reukepitheel of de neuromusculaire overgang beïnvloedt. Het onderzoek met een B-50/GAP43 knock out muis is nog niet in detail gepubliceerd, maar van wat er van presentaties op congressen duidelijk wordt, is dat neuronen wel in staat zijn om te differentiëren maar dat de uitlopers 'de weg kwijt zijn' en dus abnormale netwerken vormen. Het veld is alom in beweging en het zal niet lang duren voordat de hypothese over de causaliteit van B-50/GAP43 in uitgroei en herstel kan worden verworpen of aangenomen.

Synaptische plasticiteit

Dr. A.B. Oestreicher liet zien dat in hersenen van een volwassen rat of mens het B-50/GAP43 specifiek aan de binnenkant van de presynaptische membraan ligt. Omdat een presynaptische axonale eindiging in feite niets anders te doen heeft dan de aanwezige chemische boodschappers (neurotransmitters) in de synaptische spleet af te geven en zo de postsynaptische cel te prikkelen, lag het voor de hand na te gaan of B-50/GAP43 in het volwassen stadium bij de afgifte van neurotransmitters is betrokken. In de membraan van geïsoleerde, afgesnoerde axonale eindigingen (synaptosomen) kunnen met behulp van streptolysine-0 gaten worden gemaakt waardoor radioactief ATP, Ca^{2+} en antilichamen tegen B-50/GAP43 naar binnen kunnen diffunderen. Door een hoge Ca^{2+} concentratie te gebruiken vindt er exocytose van de neurotransmitter plaats. Door monoclonale antilichamen tegen B-50/GAP43 te gebruiken die al of niet de te fosforyleren Ser⁴¹ afdekken, kan bestudeerd worden in hoeverre fosforylering van B-50/GAP43 een rol speelt bij de afgifte van transmitters. Dr. P.N.E. de Graan liet zo zien dat remming van de fosforylering de afgifte van neurotransmitters onderdrukt. Wat gebeurt er nu in een synaps die als gevolg van voorafgaande ervaring harder gaat werken, b.v. meer afgifte van boodschappers uit het axon en een grotere respons in de dendriet? Die condities zijn in vivo te creëren door het geven van een prikkel met zeer hoge frequentie (tetanus). Zo'n prikkel leidt tot lange termijn potentiatie van de betrokken synapsen. Uit eigen onderzoek en dat van anderen is gebleken dat in de periode dat de presynaptische cel na een tetanus meer boodschappers dan normaal afgeeft, de fosforylering van het B-50/GAP43 is verhoogd. Er is een sterke positieve correlatie tussen de verandering in de fosforyleringsgraad en de elektrische respons. B-50/GAP43 is dus ook betrokken bij synaptische plasticiteit.

Axongroei en synaptische plasticiteit

Op het eerste gezicht schreef ik een rol toe aan het eiwit B-50/GAP43 die tijdens differentiatie anders zou zijn dan in het volwassen neuron. Groei versus transmitterafgifte. Maar juist de betrokkenheid in de lange termijn potentiatie van synapsen doet vermoeden dat een

zelfde mechanisme een rol zou kunnen spelen. Immers bij axongroei vindt membraanrecycling plaats en datzelfde verschijnsel doet zich voor bij exocytose. Sterker nog, een gepotentieerde synaps verandert van vorm. Het presynaptische gedeelte groeit en splitst zich in tweeën waardoor over een groter oppervlak kan worden gecommuniceerd. B-50/GAP43 zou dan in het proces van membraanrecycling bij groei en afgifte een zelfde rol kunnen spelen. De tijd zal het ons leren.

Nawoord

Dat de lezing plaatsvond in aanwezigheid van ondermeer de leden H.S. Jansz, J. Lever en D. de Wied stemt mij dankbaar, aangezien zij met name, ieder op hun eigen wijze, mij op mijn weg naar en in de wetenschap hebben geïnspireerd.