

Nederlandse samenvatting:

Het brein is het meest complexe en meest bestudeerde orgaan in ons lichaam. Stimuli uit de buitenwereld worden in het brein geïntegreerd met interne signalen als herinneringen en emoties waardoor we op een gepaste manier kunnen reageren op onze omgeving. Dit op het eerste gezicht simpele gegeven vereist een enorm arsenaal aan cognitieve vermogens zoals het waarnemen en beoordelen van stimuli, het vestigen van aandacht op belangrijke stimuli en negeren van ruis tot aan het daadwerkelijk nemen van beslissingen op basis van die stimuli.

De meeste hogere cognitieve vermogens worden geassocieerd met activiteit van hersencellen (neuronen) in de cerebrale cortex, de kenmerkende gevouwen structuur aan de buitenkant van het brein. Tussen verschillende zoogdieren bestaan er enorme verschillen in de grootte van de cortex. Bij kleine insectenetters bedraagt de totale oppervlakte maar 3-5 cm², bij mensen bedraagt de totale oppervlakte maar liefst 1100 cm². Met de oppervlakte verschilt ook het aantal neuronenvrij aanzienlijk tussen verschillende zoogdieren; het aantal neuronenvrij van de rat wordt geschat op tussen de 21 en 30 miljoen, bij mensen ligt dat aantal tussen de 19 en 23 miljard.

Om de complexe cognitieve vermogens van het brein te begrijpen is het exacte aantal neuronenvrij echter niet erg informatief, de structuur van het brein is in die zin veel belangrijker. Neuronenvrij ontvangen informatie op hun *dendrieten* en sturen informatie naar andere neuronenvrij via hun *axonen* in de vorm van actie potentialen. Er bestaan grofweg twee typen neuronenvrij; *inhibitoire* neuronenvrij verminderen de activiteit van andere neuronenvrij waarmee zij verbonden zijn, *excitatoire* neuronenvrij verhogen juist de activiteit. Dit lijkt een beperkt repertoire en de enorme rekenkracht van het brein hangt dan ook niet zo zeer samen met de eigenschappen van individuele neuronenvrij maar veel meer met de complexe manier waarop neuronenvrij met elkaar verbonden zijn. Het complexe netwerk in het brein en het grote aantal connecties die individuele neuronenvrij maken stelt het brein in staat informatie te integreren en ligt ten grondslag aan onze cognitieve vermogens. Een belangrijke eigenschap van de cortex is de onderverdeling in 6 corticale lagen. Elk van deze lagen bevat verschillende typen neuronenvrij die op een karakteristieke manier met elkaar verbonden zijn, zowel als het gaat om de verbindingen met andere neuronenvrij binnen dezelfde laag als wanneer het gaat om de verbindingen met neuronenvrij uit andere lagen.

In hoofdstuk 2 van dit proefschrift is de complete axonale structuur van neuronen uit laag 5 van de sensorische cortex geanalyseerd. In laag 5 kunnen twee verschillende neuronen worden gevonden die kunnen worden onderscheiden op basis van hun apicale dendriet, het verst van het cellichaam gelegen gedeelte van de dendriet. De *slender-tufted* neuronen hebben een apicale dendriet met relatief weinig vertakkingen terwijl de apicale dendriet van *thick-tufted* neuronen in laag 5 zeer wijdverspreid is. Om de exacte axonale structuur te bepalen werden de cellen gevuld met een stof die later aangekleurd kan worden. Hierbij is het belangrijk om op te merken dat dit gebeurde in intacte, verdoofde dieren. Hierdoor kon de hele cel worden gevuld en was het mogelijk een volledige drie dimensionale reconstructie te maken van de axonen. De resultaten lieten zien dat de twee typen neuronen parallelle, gescheiden projecties hebben. Thick-tufted neuronen sturen hun informatie voornamelijk naar naastgelegen neuronen binnen laag 5 terwijl slender-tufted neuronen vooral naar de meer aan de oppervlakte gelegen lagen 2 en 3 projecteren. Dit resultaat laat zien dat deze twee typen neuronen onderdeel uitmaken van parallelle informatiestromen.

De techniek die werd gebruikt om de axonen te reconstrueren werd speciaal voor dit doel ontwikkeld en wordt verder toegelicht in hoofdstuk 3. De voornaamste vooruitgang van de nieuwe techniek is het feit dat het reconstrueren semi-automatisch gebeurt. Dit heeft een aantal belangrijke voordelen ten opzichte van handmatige reconstructie. Allereerst wordt de hoeveelheid tijd die een reconstructie kost sterk verminderd waardoor het mogelijk wordt axon reconstructies uit te voeren op grotere schaal. Daarnaast is de kans op onvolledige reconstructies als het gevolg van menselijke fouten sterk verminderd. Tot slot zorgt de techniek ervoor dat het mogelijk is de precieze axonale structuur te bepalen met micrometer precisie.

In hoofdstuk 4 van dit proefschrift wordt de aandacht verlegd van de sensorische cortex naar de prefrontale cortex. Dit deel van het brein wordt in verband gebracht met hogere cognitieve functies als het selectief richten van de aandacht en het nemen van complexe beslissingen. Daarnaast worden veel hersenziekten in verband gebracht met verminderd functioneren van dit gebied. In vergelijking met de sensorische gebieden van de cortex is er relatief weinig bekend over het corticale netwerk van de prefrontale cortex. Veel van de kennis over de functies van de prefrontale cortex is afkomstig van laesie studies, waarbij het effect van het verwijderen van grote delen van het gebied wordt bestudeerd. Er is daardoor niet veel bekend over de eigenschappen van de prefrontale cortex op

het niveau van individuele neuronen. In hoofdstuk 4 is de aanwezigheid van kort opeenvolgende actie potentialen, zogenaamde *bursts*, onderzocht. Deze bursts worden verondersteld een belangrijke rol te spelen bij het integreren van informatie die op verschillende delen van neuronen binnenkomt. Dit gebeurt onder andere door een calcium signaal dat ervoor zorgt dat neuronen als het ware langer gevoelig blijven voor input van andere neuronen. Zo'n calcium signaal ontstaat onder andere wanneer actie potentialen elkaar snel genoeg opvolgen, zoals in een burst. Uit de experimenten is gebleken dat bursts geregeld voorkomen in de prefrontale cortex, maar vaker in neuronen in laag 5 vergeleken bij neuronen in laag 2 en 3. Deze resultaten suggereren dat hoog-frequente bursts van actie potentialen ook in de prefrontale cortex een belangrijk onderdeel uitmaken waarop neuronen informatie verwerken.

In het laatste hoofdstuk wordt onderzocht of de bursts die in hoofdstuk 4 worden beschreven ook kunnen worden geobserveerd tijdens cognitief gedrag. Hiervoor werden ratten getraind in een aandachtstaak waarbij ze een kort aangeboden visuele stimulus moeten detecteren. De aanwezigheid van bursts tijdens deze taak werd bepaald door de expressie van een eiwit te bepalen waarvan bekend is dat het specifiek tot uiting komt tijdens bursts van actie potentialen. De interesse ging met name uit naar eventuele verschillen in de expressie tussen de lagen, ook omdat de experimenten uit hoofdstuk 4 hadden aangetoond dat er verschillen zijn tussen de lagen als het gaat om de hoeveelheid bursts. Het manipuleren van de hoeveelheid tijd dat de stimulus werd aangeboden had een groot effect op de prestatie van de ratten. Er kon echter geen effect worden gevonden op de expressie van het eiwit.

Samengevat hebben de studies in dit proefschrift bijgedragen aan nieuwe inzichten in de anatomische en fysiologische eigenschappen van de cortex. De ontwikkelde techniek waarmee axonen op grote schaal kunnen worden gereconstrueerd zal het toekomstige begrip van de corticale structuur zeker helpen verbeteren. De experimenten uitgevoerd in de prefrontale cortex tonen aan dat eigenschappen van corticale neuronen die tot nu toe voornamelijk waren beschreven in sensorische gebieden ook in de prefrontale cortex kunnen worden geobserveerd. Gezien de betrokkenheid van de prefrontale cortex bij veel hersenziekten is meer gedetailleerde kennis van het netwerk van neuronen in dit gebied van groot belang.

