

B 1336

*bibliotheek*

Bibl. Hoofdkantoor TNO

's Gravenhage

# HET GEHEUGENSPOOR!

13 OKT. 1982

## EEN NEUROBIOLOGISCH DOOLHOF



DR. F.H. LOPES DA SILVA

Bibl. Hoofdkantoor TNO  
's-Gravenhage

13 OKT. 1982

HET GEHEUGENSPoor:

EEN NEUROBIOLOGISCH DOOLHOF

Rede

uitgesproken bij de aanvaarding  
van het ambt van gewoon hoogleraar  
in de algemene en vergelijkende  
dierfysiologie  
aan de Universiteit van Amsterdam  
op 26 april 1982

door

Dr. F.H. Lopes da Silva

*De figuur op de voorpagina is overgenomen uit  
het boek "Labyrinths" van  
Greg Bright (uitgever, Landshoff)*

## HET GEHEUGENSPOOR: EEN NEUROBIOLOGISCH DOOLHOF.

Mijnheer de Rector, dames en heren,

### 1. Inleiding.

Als iemand zegt "hij heeft een geheugen als een garnaal" formuleert hij geen biologisch verantwoorde stelling. Alhoewel ik moet toegeven dat de bijdrage van garnalen tot onze huidige kennis over het proces van geheugenvorming niet groot is, hebben we veel geleerd over dit proces uit vergelijkend dierfysiologisch onderzoek aan ongewervelde dieren. Mijn verhaal gaat over de neurobiologische processen die betrokken zijn bij geheugen en leren. De representatie in de hersenen van deze processen noem ik in het vervolg geheugensporen. In dit verhaal zullen verschillende diersoorten de revue passeren: slakken, platwormen, inktvissen, ratten, en ook de mens.

Alle soorten zenuwstelsels vanaf de meest eenvoudige tot de zeer complexe hersenen van primaten bestaan in principe uit dezelfde soort elementen, namelijk zenuwcellen of neuronen, en glia cellen. Ze kunnen echter kwalitatief verschillende eigenschappen hebben t.g.v. verschillen in het aantal neuronen en de organisatie van interne verbindingen. Soms wordt verondersteld dat eenvoudige neuronale netwerken slechts in staat zijn om voorgeprogrammeerde gedragingen te genereren; dit wil zeggen, ze zouden niet in staat zijn om hun gedrag te veranderen t.g.v. voorafgaande ervaring, of

anders gezegd om te leren. Analyses in ongewervelde dieren van eenvoudige systemen, die verantwoordelijk zijn voor de programmering van gedragingen die op het eerste gezicht bijna automatisch lijken, tonen aan dat ook deze systemen kunnen leren. Bijvoorbeeld de reflectoire terugtrekking van de mantel en de kieuwen van de zeeslak *Aplysia Californica*, die plaatsvindt als de mantel licht aangeraakt wordt, kan veranderen afhankelijk van het voorafgaande patroon van stimulatie (Kandel, 1976). Indien de mantel op een eentonige wijze herhaalde malen aangeraakt wordt, wordt de reflex beweging steeds zwakker; we zeggen dat habituatie of gewenning van de reflex is opgetreden. Dit is een zeer eenvoudige vorm van leren. Hierbij wordt geleerd geen reactie meer te geven op prikkels, die geen betekenis meer hebben. Men kan dit verschijnsel ook duidelijk bij de mens waarnemen: iedereen weet dat een betekenisloos geluid, dat op eentonige wijze herhaald wordt, na een aantal malen geen uitwendig gedrag meer opwekt, zelfs niet meer verstaan wordt. Denk aan het tikken van een klok.

Een bijzondere eigenschap van de hersenen, zelfs een van de meest eenvoudige, is dus het vermogen om zich aan te passen afhankelijk van de voorafgaande ervaring, of met andere woorden: om nieuwe responsies te leren. Dit vindt plaats doordat in het zenuwstelsel biofysische veranderingen optreden, d.w.z. dat geheugensporen worden gevormd.

Welke processen liggen hieraan ten grondslag? Deze vraag is een van de centrale thema's van het hedendaagse hersen- en gedrag onderzoek: het zoeken naar het geheugenspoor in de hersenen.

Voordat we de huidige inzichten over deze vraagstelling gaan bespreken is het nuttig om aan de hand van een kort historisch overzicht na te gaan, hoe men hierover in het verleden heeft gedacht (cf. de Wit, 1982).

De algemene opvatting dat leren en geheugen functies van de hersenen zijn, is tamelijk recent. In de klassieke tijd onder invloed van Aristoteles (384-322 AC) werd gedacht, dat deze hogere processen van de geest door het hart werden geregeld. Volgens Aristoteles is het hart de plaats van waarneming, waar ook de lichaamswarmte gevormd wordt, en het bloed uitgezonden wordt. De hersenen zijn slechts een orgaan voor afkoeling van het bloed en kunnen de mate van afkoeling regelen. Als de afkoeling zeer sterk wordt, kan het hart zijn waarnemende functie niet meer uitoefenen en treedt de slaap in. Het Griekse tijdperk van de geschiedenis van de biologie wordt met Galenus (ca. 130-210) afgesloten. Deze grondlegger van de biologie en de geneeskunde komt tot de voor die tijd opzienbarende conclusie, dat de hersenen het centrale orgaan voor het denken zijn. Hij heeft gezien dat pijngevoel en spierbeweging functies van de hersenen zijn. Galenus dacht dat de levensgeest of "spiritus animalis", een zeer vluchtige substantie, in de hersenholten gevormd wordt, en dat die zich door holle zenuwbuisjes door het lichaam kan verplaatsen. De spieren verkorten zich t.g.v. de "spiritus animalis" die uit de hersenholten via de zenuwen de spieren bereikt en het samentrekkingproces aan de gang brengt. Deze opvattingen zijn tot aan de negentiende eeuw de basis van de zenuwfysiologie gebleven. Onder invloed van Galenus werd de aandacht van de middeleeuwse onderzoekers en filosofen op de

hersenholten gericht. Zo dacht Augustinus (354-430), een van de meest invloedrijke theologen van de middeleeuwen, dat er 3 hersenholten zijn en dat de "spiritus animalis" zich verplaatst van de ene holte naar de andere, en daardoor reiner wordt. De voorste hersenholte was bestemd voor het ontvangen van zintuiglijke prikkels en waarnemingen, d.w.z. de plaats van de sensus communis; de tweede was de plaats van de rede (ratio), het logisch denken (cognatio) en het verstand (aestimatio) en de derde de plaats van het geheugen (memoria) en tevens het regelcentrum van de motoriek. Costa ben Luca (9e eeuw) uit Libanon heeft zich ook gebogen over het functioneren van het geheugen. Volgens deze Arabische geleerde bestaat er een klep tussen de voorste en de achterste hersenholte, misschien bedoelde hij hiermee het corpus callosum (de Wit, 1982). Costa ben Luca dacht dat als men het hoofd buigt tijdens diep nadenken, deze klep opengaat, zodat men zich van alles kan herinneren.

In de Renaissance werden deze ideeën betwijfeld. De belangrijkste exponent van de Italiaanse renaissance, Leonardo da Vinci (1452-1519), heeft in het begin van de XVI eeuw een sectie van de hersenen van een os verricht. Omdat hij de relaties tussen perifere zenuwbundels en de hersenkamers wilde bestuderen, vulde hij de kamers met gesmolten was; op deze manier ontstond het eerste model van de hersenkamers. Leonardo heeft waargenomen dat de zenuwvezels de eerste kamer niet bereikten, maar dat ze in het hersenweefsel rondom de middelste kamer eindigden. Descartes in de XVII-e eeuw bedacht een nieuwe verklaring voor alle fysiologische functies die door het centrale zenuwstelsel geregeld worden.

Vanuit het hart gaat het bloed en de "spiritus animalis" naar de hersenen. De slagaderen eindigen, volgens Descartes, in een klein orgaan in het midden van de hersenen, de pijnappelklier of epifyse. Hier hebben de slagaderen kleine gaatjes, waardoor de allerfijnste "spiritus animalis" naar het kliertje gaat. Daarna bereikt de "spiritus animalis" de hersenholten, en via de zenuwen de spieren. De ziel zetelt in de pijnappelklier. Het is opmerkelijk, dat Descartes dacht, dat slechts mensen en geen andere dieren een pijnappelklier hebben. Dit zou volgens hem, de reden zijn dat dieren geen wil en geen besef hebben. Het is mogelijk dat deze opvatting van invloed is geweest op de ongekende omvang van vivisectie in de 18e en 19e eeuw. Volgens Descartes zou het geheugen gevormd worden door de "spiritus animalis", die als gevolg van mentale processen zou ontstaan. De vloeistof zou poriën in de wand van de hersenkamers openen, zodanig dat een permanente verandering zou ontstaan. Deze mechanistische beschrijving past in de gedachtengang van de XVII-e eeuw.

Het kenmerkende van deze gedachtengang was dat bij het vormen van een geheugen als mentaal proces iets tastbaars in de hersenen (in dit geval aan de wand van de kamers) moest hebben plaatsgevonden.

Als wij deze ideeën vergelijken met die van onze tijd, kunnen we de fundamentele ideeën van Descartes als volgt vertalen: de "spiritus animalis" komt overeen met de voortplanting van elektrische pulsjes (actiepotentialen) langs de zenuwuitlopers of axonen: de gaatjes in de wand van de hersenkamers zijn vergelijkbaar met de verbindingen tussen zenuwcellen die veranderingen zullen ondergaan t.g.v. voorafgaande ervaring.



Het gehele zenuwweefsel of onderdelen daarvan komen dan in de plaats van de hersenkamers.

De vragen die in dit opzicht in de huidige fysiologie worden geformuleerd, hebben betrekking op het waar en het hoe van het geheugen. In concreto: a) op welke plaatsen in het zenuwstelsel wordt de informatie opgeslagen, en b) welke chemische en/of structurele processen spelen hierbij een rol.

## 2. Localisationisten versus generalisten.

De eerste vraag heeft rechtstreeks te maken met onze ideeën over de functionele organisatie van het zenuwstelsel. Hierover bestaan twee tegenovergestelde meningen: volgens de "localisationisten" moeten er plaatsen in de hersenen zijn die specifiek betrokken zijn bij het vastleggen van nieuwe ervaringen, d.w.z. bij het vormen van het geheugen; volgens de "generalisten" is het vastleggen van het geheugen een proces waarbij zeer grote delen van de hersenen betrokken zijn, zonder dat het mogelijk is om een exacte plaats aan te geven waarin de geheugenvorming zich afspeelt. Onder de localisationisten van de negentiende eeuw heeft zich een extreem overdrijvende school bevonden, de zogenaamde frenologen. Zij stelden dat alle psychische eigenschappen, morele en intellectuele eigenschappen inbegrepen, een zekere plaats in de hersenen hebben en dat deze plaatsen op de schedel zichtbaar waren; indien zo'n eigenschap bijv. wiskundig inzicht, agressiviteit of drankzucht zeer ontwikkeld was, zou zich dat op de schedel uiten in de vorm van een knobbel op een bepaalde

plaats. Vandaar de nog steeds gangbare uitdrukking, dat er mensen zijn met een wiskunde- of een talenknobbel. In die tijd dacht men ook dat deze eigenschappen van de hersenen en van de schedel volledig erfelijk bepaald waren, iets dat goed paste bij de sociale denkwijze van de Victoriaanse tijd. De frenologische kaart van de Weense arts Gall (1758-1828) is het symbool van deze school geworden.

Een belangrijke reactie tegen de extreme opvattingen van de localisationisten was gebaseerd op de bevindingen van de Amerikaanse experimentele psycholoog Lashley (1890-1958). Deze onderzoeker toonde in een reeks van experimenten aan, dat ratten in staat zijn hun weg in een doolhof te vinden en licht prikkels van verschillende intensiteiten te onderscheiden.

Vervolgens onderzocht hij de effecten die letsels van de hersenschors op dit vermogen hebben. De belangrijkste bevindingen waren dat het vermogen van de ratten om de weg in het doolhof te leren vooral afhangt van de hoeveelheid hersenschors die functioneel intact is gebleven, en niet zozeer van de plaats van het letsel in de schors.

In dezelfde periode kwam de Russische fysioloog Pavlov (1849-1936) aan de hand van zijn studie over voorwaardelijke reflexen eveneens tot de conclusie dat er geen speciaal gebied in de schors bestaat dat verantwoordelijk is voor de "hogere functies", zoals Pavlov de voorwaardelijke reflexen noemde.

In een beroemd artikel onder de titel "In search of the Engram" (op zoek naar het geheugenspoor, d.w.z. het engram) heeft Lashley (1950) zijn belangrijkste conclusies als volgt samengevat: "This series of experiments has yielded a good bit of information about what and where the memory

trace is not. It has discovered nothing directly of the real nature of the engram. I sometimes feel, in reviewing the evidence on the localization of the memory trace, that the necessary conclusion is that learning just is not possible".

Deze conclusies van Lashley worden soms te simplistisch opgevat; alsof er in de schors geen functioneel verschillende gebieden zouden bestaan. Wat Lashley echter heeft aangetoond is dat de opvatting, dat het geheugen slechts in een bepaald hersengebied gelocaliseerd is, niet verenigbaar is met de experimentele feiten.

Er moet met nadruk op gewezen worden dat deze experimenten bij ratten werden uitgevoerd; wij moeten ons dus afvragen hoe ratten de weg in een doolhof leren vinden. In een typerend experiment wordt van een rat verlangd dat hij in een doolhof, die voorzien is van een aantal tweesprongen, zo snel mogelijk de goede weg vindt om zijn dagelijkse hoeveelheid voedsel of beloning te krijgen. Om het gedrag van de rat te beoordelen, meet de experimentator de tijd die de rat nodig heeft om bij het voedsel te komen en/of het aantal keren dat de rat een blinde gang binnengaat. Om zijn weg te vinden gebruikt de rat in ieder geval visuele, akoestische en olfactorische prikkels; het is namelijk aangetoond dat een rat, met zintuigletsels zeer slecht de weg in een doolhof kan leren vinden (Honzik, 1950). Bovendien moet in aanmerking genomen worden dat de projectiegebieden van de verschillende sensorische modaliteiten in de hersenschors van de rat dicht aan elkaar grenzen, waardoor een letsel in de schors, waar dan ook, altijd gepaard gaat met uitval van het vermogen van de rat sensorische informatie te gebruiken.

Uiteraard, hoe meer schors geledeerd is, hoe minder sensorische informatie de rat kan verwerken, en hoe moeilijker hij dus de weg in de doolhof leert vinden. Een belangrijk aspect van de bevindingen van Lashley blijft echter dat het zeer aantrekkelijk is te denken dat elke ervaring door meerdere geheugensporen in de hersenen vertegenwoordigd is.

Daarnaast bestaan er specifieke gebieden die betrokken zijn bij een bepaald leerproces, afhankelijk van de sensorische modaliteit van de prikkel (visueel, auditief, reuk enz.) en/of van het type motorische taak die uitgevoerd wordt.

Deze conclusie wordt versterkt als wij gegevens uit de vergelijkende dierfysiologie in aanmerking nemen. Experimenten met de octopus of achtarmige inktvis, die in warme zeeën en soms ook aan onze kusten voorkomt, leveren in dit opzicht een zeer interessante bijdrage. De Engelse zooloog J.Z. Young (1978) heeft in een reeks onderzoeken aangetoond dat deze dieren een zeer goede geheugencapaciteit hebben.

De octopus heeft twee verschillende geheugensystemen, waarmee hij aan de hand van zowel visuele als tactiele prikkels in staat is om te leren. D.m.v. het visuele geheugensysteem kan de octopus met zijn armen die voorwerpen grijpen waardoor hij voedsel krijgt, en die waardoor hij een bestraffing krijgt, vermijden.

Hetzelfde geldt voor het tactiele geheugensysteem. De vorming van de geheugensporen vindt plaats in specifieke delen van de hersenen van de octopus. Als men bijvoorbeeld een krab aan een octopus laat zien, nadert hij de prooi om deze op te eten; als nu het naderen van de krab door de octopus gepaard

gaat met een elektrische schok, dan leert de octopus snel om de krab niet meer te naderen. Indien een bepaalde onderdeel van de hersenen (de verticale kwab) verwijderd is, is de octopus niet in staat om in dezelfde leersituatie de krab te vermijden en dus de schok te voorkomen.

Deze en vele andere experimenten leiden tot de conclusie, dat naast de algemene processen die tijdens het leren in grote delen van de hersenen plaatsvinden, er ook specifieke gebieden in de hersenen bestaan, die een bijzondere rol spelen bij het vastleggen van geheugensporen. De vraag is nu: Welke soort veranderingen vindt plaats in deze gebieden van het zenuwstelsel?

### 3. Korte- en lange-termijn geheugen.

Voordat we deze vraag behandelen, moet opgemerkt worden dat het nodig is twee soorten geheugen te onderscheiden: het korte-termijn en het lange-termijn geheugen. Dit betekent, dat voor de vastlegging van een bepaalde soort ervaring in het geheugen er een zekere tijd (de consolidatieperiode) nodig is.

Dit werd bij talrijke experimenten aangetoond, zoals bij de zogenaamde "one-trial" passieve vermijdingsproef. De proef maakt gebruik van de neiging van ratten om van een verlichte ruimte een donkere ruimte in te lopen. In deze proef wordt dit gedrag eenmalig bestraft door het toedienen van een elektrische schok, als de rat de verduisterde ruimte binnen loopt. Daarna wordt de geneigdheid van de rat tot hetzelfde gedrag getest. Indien de rat het natuurlijke gedrag niet meer of pas na lange aarzeling uitvoert, dan zegt

men dat de rat "passieve vermindering" geleerd heeft. Dit betekent, dat de rat in staat is zijn normale gedragsneiging te onderdrukken. Nu is het bekend dat een aantal factoren, zoals het toedienen van een electro-convulsieve schok (ECS) of van kooldioxide, tot een tijdelijke verstoring van hersenfuncties kunnen leiden. De ratten, die binnen een uur na elke dagelijkse trial een electro-convulsieve schok of kooldioxide toegediend krijgen, leren de taak langzamer naarmate het interval tussen de trial en de behandeling korter is. Dieren die een uur of langer na afloop van de trial worden behandeld, kunnen op normale wijze de taak leren. Hieruit kan afgeleid worden, dat de behandeling met een electro-convulsieve schok of met kooldioxide het proces van consolidatie van het geheugen verstoort; het feit dat deze verstoring slechts effect heeft in de periode onmiddellijk na de training leidt dan ook tot de conclusie dat deze fase kort is, d.w.z. hij duurt minuten; daarom wordt hier over korte-termijn geheugen gesproken. Daarna is het geheugenspoor geconsolideerd en is het niet meer mogelijk dat storende factoren het geheugen nog uitwissen. Men spreekt dan van lange-termijn geheugen. Het verstoren van het korte-termijn geheugen komt ook naar voren bij de mens; we weten dat hoofdletsel vaak tot een geheugenverlies kan leiden. Zo kan een hersenschudding een geheugenverlies (amnesie) voor de gebeurtenissen direct voorafgaande aan het ongeval veroorzaken.

Iedereen weet uit eigen ervaring dat het lange-termijn geheugen zonder achteruitgang tientallen jaren kan blijven bestaan. We weten echter nog niet of er inderdaad slechts twee verschillende toestanden bij geheugenvorming

onderscheiden moeten worden. Het is best mogelijk dat er meer aan elkaar gekoppelde toestanden bestaan, die op zo'n manier met elkaar verbonden zijn dat de transitie van de ene naar de volgende een irreversibel proces is. Hoe het ook zij, het ligt voor de hand om in dit proces van geheugenvorming een eerste labiele fase van een latere stabiele fase te onderscheiden.

We kunnen nu teruggaan naar onze vraag en deze verder preciseren: welke soort veranderingen vindt er plaats tijdens deze twee soorten processen: de labiele of korte-termijn en de stabiele of lange-termijn geheugenvorming?

#### 4. De labiele fase.

We beschouwen hier ten eerste de labiele fase of het verschijnsel korte-termijn geheugen.

De oude hypothese is, dat in deze toestand de elektrische activiteit in zenuwnetwerken in stand blijft in de "reverberatory circuits" van de Canadese psychofysioloog Hebb. Hoe moeten we ons dit voorstellen? In dit opzicht is de studie van de octopus weer leerzaam geweest. Zo kan hem geleerd worden om een krab niet met zijn armen aan te raken, op straffe van een onaangename elektrische schok. De pijninformatie moet in verband gebracht worden met de visuele informatie over de krab en het gedragsprogram; daar al deze informatie met elkaar in verband gebracht moet worden is het nodig dat de zenuwsignalen of de gevolgen daarvan, ergens gedurende een bepaalde tijd aanwezig blijven, hetzij in "reverberatory circuits", hetzij in biochemische vorm aan de contactplaatsen tussen de zenuwcellen, waarover

later meer. In het zenuwstelsel moet dus een systeem bestaan, dat deze informatie in een actieve toestand voor een zekere tijd vast houdt, een soort "holding device" in de terminologie van Young. Volgens hem functioneert het systeem van de verticale kwab van de hersenen van de octopus als "holding device" voor de bovenbeschreven visuele taak.

Zonder deze kwab kunnen octopussen niet leren om een krab niet aan te vallen, zelfs als het aanraken van de krab een elektrische schok veroorzaakt, en het gaat hier niet om een verandering in de pijndrempel.

Bij zoogdieren vinden soortgelijke processen ook plaats, zoals geïllustreerd kan worden aan de hand van het volgende voorbeeld. Een rat is in een doolhof met bijv. acht armen geplaatst en wordt gedwongen een bepaalde arm binnen te gaan, waarin hij voedsel krijgt (gedwongen keuze). Vervolgens wordt hij in de uitgangspositie geplaatst en is dan vrij om iedere arm binnen te gaan. Echter alleen de arm van de gedwongen keuze levert een beloning op. Bij elke volgende test wordt de rat geconfronteerd met een andere keuze. De rat moet dus de informatie over welke arm beloning oplevert, vasthouden om zijn vrije keuze correct te maken. Ratten met letsels in de hippocampus zijn hier niet toe in staat (Olton et al., 1979, 1981).

Een ander voorbeeld komt uit waarnemingen bij de mens. Patienten met grote laesies van zowel de rechter als van de linker hippocampus verliezen een groot deel van het vermogen om hun geheugensporen te consolideren. Het is alsof hun "holding device" niet meer functioneert, zoals door de Canadese neuropsychologe Brenda Milner in



detail geanalyseerd is (1970). We weten nu dat de hippocampus een centrale plaats inneemt als een hersengebied waarin convergentie plaatsvindt tussen verschillende soorten modaliteiten van sensorische informatie en signalen uit de hersenstam en het diencephalon, die informatie over de algemene alertheid en motivationele toestand van het dier overbrengen (Lopes da Silva en Arnolds, 1978). Dus de hippocampus heeft een strategische positie t.a.v. de mogelijkheid om verschillende soorten signalen te combineren en ze voor een relatief korte tijd vast te houden. We moeten hier voorzichtig zijn om niet in de kuil van een neo-localisationisme te vallen. Hoewel de hippocampus door zijn patroon van verbindingen een uitstekend substraat lijkt te zijn voor korte-termijn geheugenvorming, wil dat nog niet zeggen dat andere hersengebieden geen rol spelen bij dergelijke processen. Het is heel goed mogelijk, dat de hippocampus in dit opzicht tegenwoordig zo in de belangstelling staat, omdat deze structuur makkelijk te onderzoeken is met de huidige methodieken van hersen- en gedragonderzoek. Samenvattend: Het korte-termijn geheugen is afhankelijk van neuronale activiteit in bepaalde circuits. Deze neuronale activiteit zal uiteindelijk moeten leiden tot permanente veranderingen d.w.z., tot de vorming van een lange-termijn geheugen.

Welke processen spelen hierbij een rol? In dit opzicht zijn er twee begrippen die de gedachten van de onderzoekers hebben bepaald. Een is het idee, dat elk geheugenspoor gecodeerd zou zijn in bepaalde macromoleculen, met name in het ribonucleinezuur of kortweg RNA. Het tweede is het idee dat de contactpunten tussen zenuwcellen,

de z.g. synapsen de fysische basis van het geheugenspoor vormen. Laten we deze twee basisideeen achtereenvolgens behandelen.

##### 5. Macromoleculen en kannibalisme.

De hypothese dat het geheugen gecodeerd zou zijn in de moleculaire structuur van RNA komt voort uit de kennis van de genetische code. Een te simpele analogie tussen de twee soorten geheugens-genetische en neurofysiologische- was de oorzaak van vele experimenten en wilde speculaties. Ik noem hier slechts een paar van deze experimenten: die van de Zweed Hyden en medewerkers (1962, 1964), die bij ratten, getraind in het beklimmen van een touw, een verandering vonden in de samenstelling van het RNA in de gliacellen en de zenuwcellen van bepaalde kernen in de hersenstam (kern van Deiters). Deze onderzoekers speculeerden, dat het RNA van gliacellen het substraat zou kunnen zijn voor korte-termijn geheugen, terwijl het RNA van de neuronen het substraat zou zijn voor lange-termijn geheugen. Zij maakten echter geenszins duidelijk hoe alle specifieke informatie in het RNA-alfabet gecodeerd wordt.

De specificiteit van dit type RNA veranderingen is o.a. door de Amerikaanse neurofysioloog Roy John (1967) in twijfel getrokken. De RNA veranderingen lijken meer het gevolg te zijn van de stimulatie waaraan de dieren blootgesteld waren, dan dat zij fungeerden als specifieke etiketten bij de vorming van geheugensporen. Andere experimenten op dit gebied zijn de kannibalistische proeven van de Amerikaanse bioloog McConnell (1962, 1964), die rapporteerde dat platwormen, Planaria,

geconditioneerd kunnen worden. Als deze wormen een elektrische schok krijgen, bewegen ze zich daarbij heftig. Als de schok gepaard gaat met een lichtprikkel reageren de wormen op het licht net als op de schok. McConnel heeft platwormen die "geleerd" hadden op het licht te reageren als voedsel aan naieve platwormen gegeven; hij heeft waargenomen dat de op deze manier gevoederde platwormen de lichtresponsie sneller "leerden" dan naieve wormen. Uit controle experimenten (Hartry et al., 1964) is echter gebleken, dat kannibalistische platwormen die gevoed werden met andere platwormen ongeacht of deze getraind waren of niet, in staat waren om sneller de licht-schok reactie te vertonen. Er is dus geen sprake van dat een specifiek geheugenspoor door het voedsel wordt overgedragen; misschien dat het eten van platwormen een algemeen stimulerend effect op gedrag zou kunnen hebben, uiteraard op gedrag van deze wormen zelf. In dit verband dienen ook de experimenten van Ungar (1966) genoemd te worden. Die experimenten zouden aantonen dat de hersenen van ratten die iets aangeleerd hebben -bijv. het springen om een pijnlijke schok te vermijden- een klein eiwitmolecuul (een peptide) bevatten dat specifieke informatie zou bezitten over datgene wat aangeleerd is. Bovendien werd beweerd, dat injectie van dit peptide in naieve ratten tot gevolg had dat deze ratten het vermijdingsgedrag vertoonden. Het komt zeker niet als verrassing, dat dit soort experimenten hebben geleid tot wilde speculaties. Door middel van een spuit met de gewenste "leerstof" zou het mogelijk zijn om bijvoorbeeld een taal of wiskunde of neurofysiologie te leren. U ziet de farmaceutische industrie al om de hoek kijken. Op de methodiek en de interpretatie van bovengenoemde

experimenten wordt echter ernstige kritiek geleverd.

We kunnen concluderen, dat er tot nu toe geen hard bewijsmateriaal bestaat, om te kunnen zeggen hoe geheugensporen in macromoleculen binnen zenuwcellen gecodeerd zijn.

## 6. Synaptische plasticiteit.

Er bestaan echter andere soorten biochemische processen die bij de vorming van geheugensporen zeker een rol spelen. Voordat wij deze processen zullen bespreken, moeten we echter eerst het tweede basisidee onderzoeken, namelijk dat de fysische realisatie van het geheugenspoor te vinden is in veranderingen van synapsen.

Ten eerste een paar grondbegrippen t.a.v. het functioneren van synapsen: de overdracht van prikkels van neuron op neuron geschiedt via de synapsen. De zenuwcel die de prikkels doorgeeft en dus aan de synaps voorafgaat, wordt presynaptische neuron genoemd; zijn axon vormt dan het presynaptische membraan. Het neuron dat de prikkels ontvangt en dus op de synaps volgt, wordt postsynaptisch neuron genoemd; zijn dendriet, waarop de prikkel terecht komt, vormt dan het postsynaptische membraan.

Het geleiden van prikkels langs het oppervlak van een cel is een elektrische gebeurtenis, het doorgeven van die prikkels naar een volgende cel geschiedt in verreweg de meeste synapsen op chemische wijze.

Dit impliceert, dat als een prikkel langs een zenuwvezel het pre-synaptische uiteinde bereikt, de elektrische potentiaal van de zenuwmembraan

verandert (depolariseert). Deze potentiaalverandering is het signaal dat tot het vrijkomen van een transmitterstof leidt. De transmitterstof bevindt zich in kleine blaasjes, de synaptische blaasjes. Deze kunnen, t.g.v. de depolarisatie van de membraan, op bepaalde plaatsen met de axonmembraan fuseren, waardoor de membraan open gaat en de inhoud van de blaasjes in de ruimte tussen de 2 neuronen, de synaptische spleet, vrijkomt. Dit proces wordt "exocytose" of uitstorting genoemd. Gezegd dient te worden, dat er nog geen zekerheid bestaat over het preciese verloop van zo'n proces. Het is echter bekend, dat voor het barsten van de synaptische blaasjes  $Ca^{++}$  ionen nodig zijn. Aan de postsynaptische membraan bevinden zich receptormoleculen, die zich met de transmitterstof verbinden; dit veroorzaakt een verandering in de doorlaatbaarheid van de membraan. Op deze wijze kan de elektrische potentiaal van de postsynaptische membraan minder negatief worden, d.w.z. gedepolariseerd worden, of integendeel meer negatief worden, d.w.z. gehyperpolariseerd worden. In het eerste geval zeggen we dat het neuron geexciteerd is, en in het tweede zeggen we dat het neuron geïnhibeerd is. Of er excitatie of inhibitie ontstaat hangt af van de soort transmitterstof en van de receptormoleculen. Aan de hand van vele fysiologische experimenten werd aangetoond, dat de efficiëntie van een synaps afhankelijk is van vele factoren en dat synaptische verbindingen niet statisch zijn, maar in de loop der tijd kunnen veranderen: ze hebben plastische eigenschappen. Dit soort gegevens ondersteunen in belangrijke mate de hypothese dat veranderingen in synaptische geleiding de neurofysiologische basis van het leren en dus van het ontstaan van geheugensporen

vormen. Als men tot op moleculair niveau wil onderzoeken welke fysiologische processen aan het verschijnsel van synaptische plasticiteit ten grondslag liggen, is het nodig om met "eenvoudige" systemen te werken. Twee actuele lijnen van onderzoek kunnen in dit verband genoemd worden: -een wordt gevolgd in het onderzoek aan evertibraten, zoals door de Amerikaanse neurobioloog Kandel en medewerkers (1977, 1981) gedaan wordt en waarin de zeeslak *Aplysia Californica* als diermodel fungeert; -het andere soort onderzoek richt zich vooral op de synaptische plasticiteit in de meest eenvoudige delen van de schors, met name in de hippocampus, van zoogdieren, vooral ratten en cavia's. In deze structuur is het mogelijk om nadat de neuronen meermalen gestimuleerd zijn met een reeks stroomstoten een toename van synaptische activiteit waar te nemen. Dit fenomeen noemt men lange-termijn potentiatie, afgekort LTP.

#### 7. Lange-termijn potentiatie en fosforylering.

De potentiatie van synaptische transmissie in de hippocampus na het toedienen van een zeer korte reeks van stroomstoten, bijvoorbeeld 50 in een seconde, kan van zeer lange duur zijn, zoals we met Wytse Wadman in ratten geconstateerd hebben. Het feit dat het mogelijk is om dunne plakjes van de hippocampus buiten het lichaam, d.w.z. in vitro, met normale fysiologische eigenschappen in leven te houden, heeft geleid tot het bestuderen van synaptische plasticiteit in deze preparaten. Deze plakjes hebben t.o.v. het intacte proefdier als voordeel dat ze elektrisch en chemisch

uitstekend manipuleerbaar zijn (Andersen, 1981, Lynch en Schubert, 1980, Tielen et al., 1982). Samen met Willem Gispen en Dop Bar van de Afdeling Moleculaire Neurobiologie van het Rudolf Magnus Instituut en Ad Tielen en Wim Mollevanger van het Medisch Fysisch Instituut TNO, hebben we ons de vraag gesteld of tijdens de ontwikkeling van de synaptische potentiëatie in hippocampusplakjes, er biochemische veranderingen in de synaps aangetoond kunnen worden. Hierbij dachten we voornamelijk aan de fosfoproteïnen in de synaptische uiteinden, die een belangrijke rol spelen in de prikkelbaarheid van de cel (Greengard, 1976). We hebben inderdaad gevonden, dat al een paar minuten nadat een bepaalde vorm van elektrische prikkeling is aangeboden de toestand van de fosfoeiwitten in de synaptische uiteinden op een zeer duidelijke wijze verandert, en tevens dat de fosfolipiden van de membraan zelfs 4 uur na deze prikkeling nog steeds veranderd zijn (Bar et al., 1980, 1982; Lopes da Silva et al., 1982). Deze veranderingen hebben betrekking op de inbouw van fosfaat in deze moleculen. Het aantal plaatsen langs deze moleculen die door fosfaat bezet zijn, is bepalend voor de vorm van de moleculen; hun vorm is van belang voor hun functionele toestand. Het is met name zo, dat deze veranderingen kunnen leiden tot een toename van de doorlaatbaarheid van de membraan voor  $Ca^{++}$  ionen en dus tot een (semi-)permanente toename in de transmitterstofafgifte. Andere groepen in de Verenigde Staten (Browning et al., 1976, 1979, 1982; Routtenberg en Ehrlich, 1975) hebben gelijksoortige resultaten geboekt.

Het gaat er naar uitzien dat bij het activeren van sommige synapsen, misschien zelfs van alle

synapsen, biochemische en moleculaire veranderingen in het synaptische apparaat leiden tot langdurige veranderingen in synaptische geleiding. Zeer recent heeft het biochemische onderzoek van Henk Zwiers en Pierre de Graan van de Afdeling Moleculaire Neurobiologie uitgewezen, dat het fosfoeiwit, waarvan de fosforyleringsgraad tijdens potentiering (LTP) in hippocampusplakjes verandert, een subunit van het eiwit tubuline is. Tubuline is een van de eiwitten van de neurotubuli van het cytoskeleton. Een verandering in de fosforyleringsgraad van deze subunit van tubuline kan leiden tot zodanige vormveranderingen aan het synaptische uiteinde, dat de synaptische blaasjes dichter bij de celmembraan komen waardoor de exocytose bevorderd wordt (de Lorenzo, 1982).

#### 8. Een model

Samenvattend: aan de hand van deze microfysiologische en moleculaire verschijnselen kunnen we een model van de vorming van het geheugenspoor in de hersenen construeren. In dit model bestaat de specificiteit van het geheugenspoor niet uit een specifiek macromolecuul, maar uit de soort synaps, waarin de verandering plaats heeft gevonden, met andere woorden: een geheugenspoor zal ontstaan door selectie uit een groot aantal mogelijke circuits.

Tijdens een leerproces ontstaat een bepaald patroon van elektrische activiteit in een groot aantal zenuwnetwerken, dat betrekking heeft op zowel de sensorische als de motorische en de motivationele aspecten van de taak. In deze netwerken vinden snelle veranderingen in de



toestand van membraangebonden fosfoeiwitten en fosfolipiden plaats, waardoor de activiteit in bepaalde circuits versterkt wordt. Op deze wijze kunnen zowel excitatieve als inhibitieve processen beïnvloed worden. Dit kan leiden tot de vorming van nieuwe functionele verbindingen tussen sensorische informatie en gedragingen, en nieuwe geheugensporen kunnen zo ontstaan.

Deze processen worden tevens beïnvloed door de mate van waakzaamheid van het dier en ook door hormonale factoren. Het onderzoek van de Wied en medewerkers van het Rudolf Magnus Instituut heeft bijvoorbeeld aangetoond dat bij ratten waarbij de hypofyse was verwijderd, leerstoornissen kunnen ontstaan. Deze stoornissen kunnen hersteld worden door de dieren te behandelen met brokstukken van peptide-hormonen (bijv. ACTH, vasopressine). Het is waarschijnlijk zo, dat deze neuropeptiden bepaalde aspecten van het leergedrag, bijv. door een verhoogde waakzaamheid of verbeterde motivatie, beïnvloeden. Neurochemische proeven bevestigen dat deze stoffen een versnelde omzetting van bepaalde neurotransmitters, een veranderde inbouw van fosfor in synaptische eiwitten en verhoogde synthese van eiwitten bewerkstelligen. Bovendien is het ook waarschijnlijk dat monoamines, aanwezig in de hersenen, zoals dopamine en serotonine een rol spelen bij de modulatie van synaptische efficiëntie in verschillende typen leerprocessen, zowel in positieve als in negatieve richting.

## 9. De stabiele fase

Tot hier toe heb ik de verschijnselen die betrokken zijn bij de vorming van het korte-termijn geheugen, ook "working memory" genoemd, behandeld.

De vraag hoe de consolidatie van het geheugenspoor plaats vindt, en dus hoe het lange-termijn geheugen gevormd wordt, is echter nog niet beantwoord.

### 9.1. De groei-hypothese

Een eerste mogelijkheid is dat alle veranderingen die in de synapsen tijdens de labiele fase van het geheugenspoor plaatsvinden, leiden tot de groei van nieuwe contactplaatsen tussen neuronen. Dit is de essentie van de groei-hypothese van het leren die door Hebb in 1949 naar voren werd gebracht. Het is bekend dat na het ontstaan van een laesie in het zenuwstelsel zenuwvezels naar het gebied van de laesie kunnen uitspruiten. Sommigen denken daarom dat tijdens leerprocessen ook nieuwe synapsen gevormd worden. Voor de groei van nieuwe synapsen tijdens leerprocessen bestaat echter geen experimenteel bewijs. M.b.v. de elektronenmicroscopie heeft men ook gezocht naar ultrastructurele veranderingen. In twee recente studies werd de mogelijkheid naar voren gebracht dat tijdens potentiering (LTP) het aantal synapsen in de doorntjes op de dendrieten (Fifkova en van Harreveld, 1977) of langs de dendrieten zelf (Lee et al., 1980) kan toenemen. Een paar weken geleden heeft de Engelse bioloog Crick het idee gelanceerd, dat de doorntjes op de dendrieten tijdens de vorming van geheugensporen van vorm

kunnen veranderen. Hij heeft de vraag gesteld: "Do dendritic spines twitch?". Hoe het ook zij, als voorlopige hypothese kunnen we nu slechts het volgende stellen: de transitie van de labiele naar de stabiele fase van het geheugenspoor bestaat waarschijnlijk uit ultrastructurele veranderingen in het synaptische uiteinde. Verder onderzoek is nodig om deze hypothese te testen.

## 9.2. RNA en eiwitsynthese

Een ander aspekt dat onze aandacht verdient, is dat voor de definitieve consolidatie van het geheugenspoor in het lange-termijn geheugen, zelfs tot honderd jaar, synthese van macromoleculen-RNA en eiwitten- van belang blijkt te zijn. Dit werd o.a. aangetoond bij een bijzonder soort leerproces, namelijk inprenting bij kuikens. Het inprenten moet plaatsvinden in een gevoelige jeugdperiode. Net uit het ei gekomen kuikens vertonen een typische volgreactie m.b.t het eerste bewegende voorwerp dat ze zien. In het algemeen zal dit de moederkip zijn. Dankzij deze inprenting volgt het jonge dier de moeder overal. Indien het kuiken i.p.v. de moeder het eerst een ander bewegend voorwerp ziet -bijv. een mens- dan wordt deze gevolgd, zoals werd aangetoond door Lorenz, een van de grondleggers van de ethologie. In de experimenten van de Engelse biologen Horn, Rose en medewerkers (1973, 1979) werden pas uitgekomen kuikens geïnjecteerd met radioactief uracil, een van de basen van RNA, en daarna werden ze gestimuleerd met een bepaalde lichtprikkel, waarmee de kuikens ingeprent werden. Het is gebleken dat bij kuikens die op deze wijze ingeprent waren een verhoging van de RNA-synthese

in een hersengebied waarin de visuele prikkels worden verwerkt, optrad. Het is nog niet helemaal duidelijk hoe de toename in RNA synthese bij de consolidatie van het geheugenspoor een rol speelt. Waarschijnlijk heeft dit verschijnsel ook met ultrastructurele vormveranderingen te maken.

#### 10. Het proces van het terugroepen

Alhoewel een tip van de sluier over de fysiologische en moleculaire aspecten van de vorming van geheugensporen begint te worden opgelicht, weten we nog bitter weinig over het proces waarmee oude herinneringen uit het geheugen worden teruggeroepen. In dit verband zijn de waarnemingen van de Canadese neurochirurg Penfield (1975) interessant. Reeds lang geleden heeft Penfield aangetoond dat bij operaties voor de behandeling van epilepsie, elektrische prikkeling van bepaalde gebieden van de schors bij patienten een herinneringsproces kan opwekken. De gebieden waarin deze effecten opgewekt kunnen worden, zijn de temporele kwab en de hippocampus. Op grond hiervan werd de hypothese geformuleerd dat de hippocampus en aanverwante gebieden een rol spelen bij het aftasten van de geheugenopslag en het terugroepen van oude herinneringen.

#### 11. Algemene conclusie

Tenslotte: Vanuit een historisch perspectief heb ik hier een aantal hoogtepunten van onze huidige kennis over de vorming van het geheugenspoor geschetst. Er blijven echter nog zo veel vragen over dat vele onderzoekers zich nog lange tijd met

deze materie bezig zullen moeten houden. Ik wil nog benadrukken dat het vraagstuk dat hier behandeld is, niet alleen vanuit algemene neurobiologisch standpunt zeer interessant is, maar dat het tevens belangrijke toepasbare aspecten heeft. Men kan hierbij denken aan het belang van leerprocessen voor de ontwikkelingsbiologie en ontwikkelingspsychologie, aan de medische betekenis van een grondige kennis van de aard van het geheugen, in een tijd waarin gerontologische aspecten steeds belangrijker worden, en aan ziektebeelden zoals de epilepsie waarin, naar ik meen, abnormale veranderingen in synaptische efficiëntie plaats vinden.

Dames en heren,

Het zal sommigen van u misschien verbaasd hebben dat ik, een medicus, aan de subfaculteit Biologie werd aangesteld om onderwijs en onderzoek te verrichten in de Dierfysiologie. Ik beschouw dit als een teken, dat de grenzen tussen de traditionele (sub)faculteiten niet onveranderlijk zijn. In een universiteit die leeft zullen de grenzen tussen de vakken steeds in beweging moeten blijven. In mijn vak gebruik ik niet alleen de denkwijze, de methodiek en de technieken van de fysiologie, maar ook die van de anatomie, de biochemie, de biofysica, de informatica, de ethologie en de neurologie. Mijn doel is het bevorderen van de wetenschappelijke kennis van het dierlijke organisme, in het bijzonder ten aanzien van het zenuwstelsel, het vinden van mogelijke toepassingen van deze kennis t.b.v. maatschappelijke vraagstukken en het opleiden van onderzoekers en/of beroepsbeoefenaars in de

levenswetenschappen. De voedingsbodem voor mijn onderzoek is multidisciplinair en strekt zich uit tot buiten de grenzen van de tradionele vakgebieden. Ik realiseer mij dat met mijn benoeming op deze leerstoel het Bestuur en de leden van de subfaculteit Biologie en het College van Bestuur van de Universiteit een onorthodoxe keuze hebben gemaakt. Ik stel er prijs op hiervoor mijn erkentelijkheid uit te spreken. Mijns inziens is dit een duidelijk teken, dat deze Universiteit leeft.

Op deze plaats wil ik mijn leermeesters, Willem Storm van Leeuwen en Henk van der Tweel, speciaal noemen en hen bedanken voor hun steun, samenwerking en vriendschap.

Leden van de vakgroep Algemene Dierkunde en bewoners van het oude Dierfysiologisch Instituut, nu gedoopt met de fantasieloze naam Gebouw II van Anna's Hoeve. Ik ben zeer erkentelijk voor de plezierige manier, waarop jullie mij in je midden hebt ontvangen en me geleerd hebben de weg in een ander doolhof, namelijk die van de Universitaire bureaucratie, te leren vinden.

Leden van de werkgroep Neurofysiologie. Ik ben bijzonder verheugd, dat zich een uiterst enthousiaste jonge ploeg van wetenschappers aan het vormen is, die nieuwe wegen binnen de neuro-wetenschappen wil inslaan. Dat we nu al tot in de kleine uren van de ochtend goed met elkaar kunnen samenwerken, geeft hoop voor de toekomst.

Een wetenschappelijke groep, werkzaam in de neuro-wetenschappen kan niet geïsoleerd werken, vandaar dat we al vele jaren zeer intensief

samenwerken met de vakgroep Bio-Informatica van de TH Twente, in het bijzonder met Jan Holsheimer en Koos Mars (nu in Leiden), de werkgroep Moleculaire Neurobiologie van de RU Utrecht, in het bijzonder met Willem-Hendrik Gispen, de werkgroep Neuro-anatomie van de VU, in het bijzonder met Ton Lohman, de werkgroep Hersenonderzoek van het Medisch-Fysisch Instituut te Utrecht, in het bijzonder met Ad Tielen, en de werkgroep epilepsie-onderzoek van CLEO, in het bijzonder met Harry Meinardi en Rob Voskuyl. Ik hoop dat onze uiterst plezierige en stimulerende vorm van samenwerking, ondanks de geografische afstand, ook in de toekomst voortgezet en zelfs geïntensiveerd zal worden.

Dames en heren studenten,

Wetenschappelijke kennis en onderzoek vormen het bindmiddel tussen docenten en studenten. We wisselen kennis en inzichten uit, en we stellen voortdurend vragen aan elkaar. Het is juist dit proces van contact tussen studenten en docenten dat de drijvende kracht van de universiteit vormt. Ik hoop, dat de fysiologie en in het bijzonder de neurobiologie uw belangstelling zal trekken.

Ik dank u voor uw aandacht.

## Referenties.

- Andersen, P. Brain slices: a neurobiological tool of increasing usefulness. Trends in Neurosciences (TINS) 1981, 4: 53-56.
- Bar, P.R., Schotman, P., Gispen, W.H., Tielen, A.M. and Lopes da Silva, F.H. Changes in synaptic membrane phosphorylation after tetanic stimulation in the dentate area of the rat hippocampal slice. Brain Res., 1980, 198: 478-484.
- Bar, P.R., Tielen, A.M., Lopes da Silva, F.H., Zwiers, H. and Gispen, W.H. Membrane phospholipids of rat hippocampus: sensitivity to tetanic stimulation and enkephalin. Brain Res., 1982 (in press).
- Browning, M., Baudry, M. and Lynch, G. Evidence that high frequency stimulation influences the phosphorylation of pyruvate dehydrogenase and that the activity of this enzyme is linked to mitochondrial calcium sequestration. In: Brain Phosphoproteins: characteristic and function (Eds. W.H. Gispen and A. Routtenberg), Progr. Brain Res. (in press).
- Browning, M., Bennett, W. and Lynch, G. Phosphorylase kinase phosphorylates a protein affected by repetitive synaptic stimulation. Nature, 1979, 273: 273-275.
- Browning, M., Dunwiddie, T., Bennett, W., Gispen, W.H. and Lynch, G. Synaptic phosphoproteins: specific changes after repetitive stimulation of the hippocampal slice. Science, 1979, 203: 60-62.



- Crick, F. Do dendritic spines twitch? Trends in Neurosciences (TINS), 1982, 5/2, : 44-46.
- Descartes, R. Discours de la Methode (1637) Classiques Illustres Vanbourdolle Librairie Hachette, Paris, 1937, 94 pp.
- Fifkova, E. and van Harreveld, A. Long-lasting morphological changes in dendritic spines of dentate granular cells following stimulation of the entorhinal area. J. Neurocyt. 1977, 6: 211-230.
- Greengard, P. Possible role for cyclic nucleotides and phosphorylation membrane proteins in post-synaptic actions of neurotransmitters. Nature, 1976, 260: 101-108.
- Hartry, A.L., Keith-Lee, P. and Morton, W.D. Planaria: memory transfer through cannibalism reexamined. Science, 1964, 146: 274-275.
- Hebb, D.O. The organization of behaviour. A neuropsychological theory. John Wiley & Sons, New York, 1949, 335 pp.
- Honzik, C.H. In physiological psychology. (Eds. C.T. Morgan and E. Stellar), McGraw Hill, 1950.
- Horn, G. McCabe, B.J. and Bateson, P.P.G. An autoradiographic study of the chick brain after imprinting. Brain Res., 1979, 168: 361-374.
- Horn, G., Rose, S.P.R. and Bateson, P.P.G. Experience and plasticity in the central nervous system. Science, 1973, 181: 506-514.
- Hyden, H. and Egyhazi, E. Nuclear RNA changes of nerve cells during a learning experiment in rats. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S. 1962, 48: 1366-1373.

- Hyden, H. and Egyhaza, E. Glial RNA changes during a learning experiment with rats. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.: 1963, 49: 618-624.
- Hyden, H. and Egyhazi, E. Change in RNA content and base composition in cortical neurons of rats in a learning experiment involving transfer of handedness. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S. 1964, 52: 1030-1035.
- Kandel, E.R. Cellular basis of behaviour. W.H. Freeman & Co. San Francisco, 1976, 727 pag.
- Kandel, E.R. Calcium and the control of synaptic strength by learning, Nature, 1981, 293: 697-700.
- Lashley, K.S. Brain mechanisms and intelligence. A quantitative study of injuries to the brain. Dover Publ. New York, 1963, 186 pp. + IV plates.
- Lashley, K.S. In search of the engram. In: Key papers on Brain Physiology and Psychology (Ed. C.R. Evans and A.D.J. Robertson) Univ. of California Press, Berkeley, 1966: 1-31.
- Lee, K.S., Schottler, F., Oliver, M. and Lynch, G. Ultrastructural effects of repetitive synaptic stimulation in the hippocampal slice preparation. J. Neurophysiol. 1960, 44: 247-258.
- Lopes da Silva, F.H. and Arnolds, D.E.A.T. Physiology of the hippocampus and related structures. Ann. Rev. Physiol. 1978, 40: 185-216.
- Lopes da Silva, F.H., Bar, P.R., Tielen, A.M. and Gispen, W.H. Plasticity in synaptic transmission and changes of membrane-bound protein phosphorylation. In: Brain Phosphoproteins: characteristic and function

- (Eds.: W.H. Gispen and A. Routtenberg),  
 Progr. Brain Res. (in press).
- de Lorenzo, R. The calcium-calmodulin kinase hypothesis of neurotransmission. In: Brain Phosphoproteins: characteristic and function. (Eds. W.H. Gispen and A. Routtenberg). Progr. Brain Res. (in press).
- Lynch, G. and Schubert, P. The use of in vitro brain slices for multidisciplinary studies of synaptic function. Ann. Rev. Neuroscience, 1980, 3: 1-22.
- McConnell, J.V. Memory transfer through cannibalism in planarians. J. Neuropsychiat. 1962, 3, suppl. 1: 542-548.
- McConnell, J.V. Cannibalism and memory in flatworms. New Scientist, 1964, 21: 465-468.
- Olton, D.S., Becker, J.T. and Handelmann, G.E. Hippocampus, space and memory. The Behavioral and Brain Sciences, 1979, 2: 313-365.
- Olton, D.S. and Feuztle, W.A. Hippocampal function required for non spatial working memory. Exp. Brain Res. 1981, 41: 380-389.
- Pavlov, I.P. Selected Works. Foreign Languages Publ. House, Moscow, 1955, 654 pp.
- Penfield, W. The mystery of the mind. Princeton Univ. Press, New Jersey, 1975, 123 pp.
- Roy John, E. Mechanisms of memory. Acad. Press, New York, 1967, 468 pp.
- Tielen, A.M., Lopes da Silva, F.H., Bar, P.R. and W.H. Gispen. Long-lasting posttetanic potentiation in the dentate area of rat hippocampal slices and correlated changes in synaptic membrane phosphorylation. In:

Neuronal plasticity and memory formation.  
Ed. C. Ajmone Marsan and H. Matthys.  
Raven Press, New York, 1982 (in press).

Ungar, G. Chemical transfer of learning: its  
stimulus specificity. Fed. Proc. Abstr.  
1966, 25: 109.

de Wit, H.C.D. Ontwikkelingsgeschiedenis van de  
biologie. Deel I, Centrum voor  
landbouwpublicaties en landbouwdocumentatie,  
Wageningen, 1982, 415 pag.

Young, J.Z. Programs of the brain. Oxford Univ.  
Press, Oxford 1978, 325 pp.