

PDF hosted at the Radboud Repository of the Radboud University Nijmegen

The following full text is a publisher's version.

For additional information about this publication click this link.

<http://hdl.handle.net/2066/99204>

Please be advised that this information was generated on 2017-12-06 and may be subject to change.

Nature-Nurture van dieren, voor de mens

AFSCHEIDSREDE DOOR PROF. DR. ERIC W. ROUBOS

Radboud Universiteit Nijmegen



AFSCHEIDSREDE

PROF. DR. ERIC W. ROUBOS



Voor de goede ontwikkeling en werking van ons brein is interactie tussen erfelijke aanleg (*nature*) en omgevingsinvloeden (*nurture*) essentieel. Dit blijkt duidelijk uit onderzoek naar het proces van fysiologische adaptatie. Mens en dier kunnen slechts overleven door zich permanent aan te passen aan hun steeds ver-

anderende omgeving. Daartoe beschikken ze over speciale neurale systemen. Als deze systemen falen kunnen lichamelijke en mentale stoornissen optreden. Om die stoornissen te voorkomen is meer kennis nodig over de werking van de betrokken hersengebieden. In zijn afscheidscollege besteedt Eric Roubos aandacht aan adaptatieonderzoek aan drie diersystemen: zenuwcellen in de poelslak *Lymnaea*, hypofysecellen in de kikker *Xenopus*, en een kern in de middenhersenen van knaagdieren. Dit onderzoek heeft het inzicht vergroot in de mechanismen die verantwoordelijk zijn voor het energievragend proces van aanpassing aan stress bij dieren. Deze kennis zal hopelijk bijdragen tot de ontwikkeling van betere methoden ter preventie en behandeling van stressziekten bij de mens zoals angst- en eetstoornissen en depressiviteit.

Eric Willem Roubos (Utrecht, 1947) studeerde biologie aan de Rijksuniversiteit Utrecht en aan de Vrije Universiteit te Amsterdam, waar hij in 1976 promoveerde op een proefschrift over de werking van zenuwcellen. In 1989 werd hij aangesteld als hoogleraar Dierkunde aan de Radboud Universiteit Nijmegen, waar hij tot 1 mei 2012 hoofd was van de afdeling Cellulaire Dierfysiologie van het Donders Institute for Brain, Cognition and Behaviour, en onderwijs verzorgde in de Dierkunde, Neurobiologie en Humane Biologie. Ook is hij directeur geweest van het Nijmeegs Instituut voor Neurowetenschappen en van het onderwijsinstituut Biowetenschappen van de Faculteit der Natuurwetenschappen, Wiskunde en Informatica.

NATURE-NURTURE
VAN DIEREN, VOOR DE MENS

Opgedragen aan mijn (oud-)promovendi en postdocs

Cum rerum natura nusquam magis quam in minimis tota sit.

(Want nergens is de natuur volmaakter dan in de kleinste dingen.)

Gaius Plinius de Oudere. *Naturalis Historia*, boek 11 (zie Bostock en Riley, 1855)

Nature-Nurture van dieren, voor de mens

Rede in verkorte vorm uitgesproken bij het afscheid als hoogleraar Dierkunde aan de Faculteit der Natuurwetenschappen, Wiskunde en Informatica aan de Radboud Universiteit Nijmegen op donderdag 11 oktober 2012

door prof. dr. Eric W. Roubos

Vormgeving en opmaak: Nies en Partners bno, Nijmegen
Fotografie omslag: Gerard Verschooten
Drukwerk: Van Eck & Oosterink

© Eric W. Roubos, Nijmegen, 2012

Niets uit deze uitgave mag worden vermenigvuldigd en/of openbaar worden gemaakt middels druk, fotokopie, microfilm, geluidsband of op welke andere wijze dan ook, zonder voorafgaande schriftelijke toestemming van de copyrighthouder.

Mijnheer de rector magnificus, dames en heren,

In 2003 ontving Eleanor Maguire de IgNobelprijs voor Geneeskunde, een parodie op de echte Nobelprijs, voor onderzoek dat eerst doet lachen maar dan aanzet tot nadenken. Ze had aangetoond dat Londense taxichauffeurs een heel grote hippocampus bezitten (Maguire *et al.*, 2000). De hippocampus is een hersengebied dat betrokken is bij geheugen en ruimtelijke oriëntatie. Hadden die taxichauffeurs zo'n grote hippocampus gekregen door het ingewikkelde Londense stratenplan uit het hoofd te leren, of waren ze al met een grote hippocampus geboren en daardoor voorbestemd voor het beroep van taxichauffeur? Deze vraag illustreert het *nature-nurture* vraagstuk. Nu, aan het eind gekomen van mijn academische loopbaan, dringt dit vraagstuk zich sterk aan mij op.

Het probleem is klassiek: Plato meende dat zintuiglijke waarnemingen slechts schijn zijn, onvolmaakte afspiegelingen van universele 'Ideale Vormen', die hij tegenwoordig wellicht '*nature*' of zelfs 'onze genen' zou hebben genoemd. Maar zijn leerling Aristoteles vatte de menselijke geest bij de geboorte op als een *tabula rasa*, een schone lei, die pas tijdens het leven wordt beschreven met ervaringen die zijn opgedaan in een reële buitenwereld, de *nurture* (zie *e.g.* Bos, 1999). Het belang dat Aristoteles hechtte aan de *nurture* als vormer van de mens, zien we bijvoorbeeld terug in de *Clean Slate View* van John Locke (1690) die een inspirator werd voor latere sociale wetenschappers. Met zijn '*Je pense, donc je suis*' beschouwde Descartes¹ (1637) daarentegen de hersenen als essentieel voor de menselijke identiteit, en hij poneerde, in lijn met Plato, dat die identiteit in belangrijke mate erfelijk en onveranderlijk is. Deze natuurwetenschappelijke opvatting is later uitvoerig onderbouwd, zoals zo onderhoudend beschreven staat in Dick Swaabs '*Wij zijn ons brein*' (2010). Toch heeft de tegenstelling tussen de sociale en natuurwetenschappelijke benadering van het *nature-nurture* vraagstuk tot in de moderne tijd stand gehouden (Pinker, 2002). Dat bleek in ons land onder meer uit de opschudding die ontstond toen de Leidse criminoloog Wouter Buikhuisen de mogelijkheid opperde dat antisociaal gedrag een neurobiologische basis bezit (Buikhuisen, 1979).

Pas rond de recente eeuwwisseling vindt een doorbraak plaats in het denken over de invloed van de buitenwereld op ons gedrag. In het *human genome project* wordt de DNA-code van het menselijke genoom geheel ontrafeld, en sindsdien dringt het besef door dat *nature* en *nurture* niet met elkaar in tegenspraak zijn maar juist samenwerken. In aanleg worden wij gevormd volgens door in DNA² gecodeerde erfelijke programma's, onze *nature*, maar vervolgens ontwikkelen we ons onder invloed van onze specifieke omgeving, onze *nurture*. Daarom zijn de hersenen van ieder van de 7 miljard mensen op aarde uniek, hoewel het menselijk genoom uit niet meer dan ongeveer 23.000 genen bestaat (Pennisi, 2003). Immers, gedurende het leven zijn omgevingsfactoren als klimaat, voeding, schadelijke en nuttige micro-organismen, gezin, onderwijs en arbeids-situatie voor geen twee mensen hetzelfde. Deze en veel andere factoren brengen in ieder

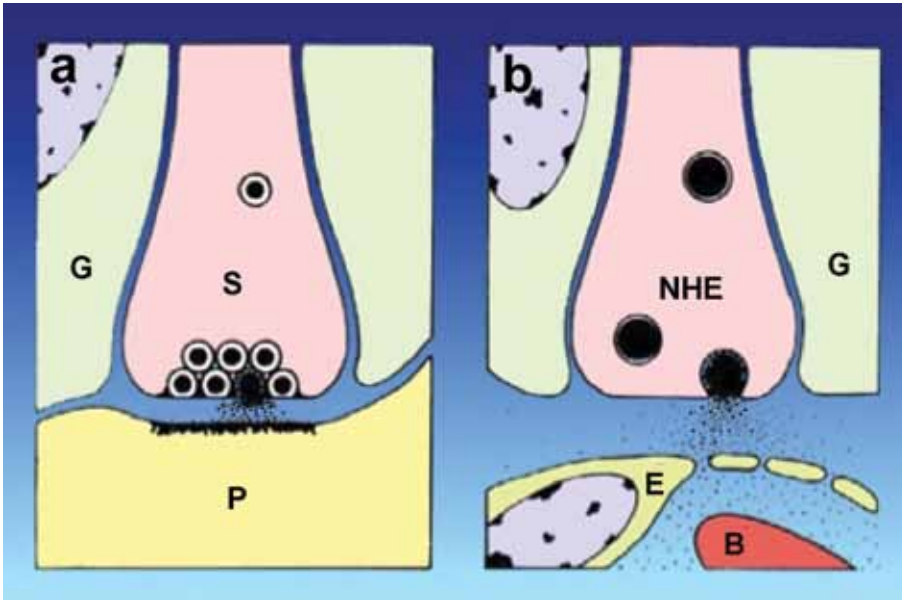
individueel een eigen set genen tot expressie die de ontwikkeling en werking van de hersenen, en daarmee het lichamelijke en geestelijke functioneren, op unieke wijze bepaalt. Dat is mogelijk omdat de hersenen een grote mate van plasticiteit bezitten, zodat een mens kan adapteren aan de steeds veranderende uitwendige omstandigheden. Dankzij deze aanpassingen kunnen we optimaal leven, overleven, ons voortplanten en als soort evolueren, al enige miljoenen jaren lang. Over hoe ons 'plastische brein' deze adaptatie aan de omgeving tot stand brengt, gaat dit college.

ADAPTATIE

Onze hersenen worden door zintuigen geïnformeerd over gebeurtenissen in de buitenwereld. Vervolgens zetten zenuwcellen, de neuronen³, via chemische boodschappers, de neurotransmitters, aanpassingsprocessen in gang. Die processen kunnen zowel fysiek als mentaal zijn. We beschermen ons met kleding tegen de kou, reageren op een aanval verbaal of met vechten of vluchten, en wie zich geheel van de buitenwereld wil afsluiten, schept met 'full 3D-immersion' een eigen *virtual reality*, een eigen schijn-buitenwereld; Plato zou het met instemming hebben bekeken.

Wanneer er behoefte is aan een zeer intensieve aanpassing, dan schakelen de hersenen het hormoonstelsel aan, zodat het lichaam wordt ingesteld op een langdurige inspanning. Adaptatie betreft dus niet alleen het brein maar ons gehele lichaam, want lichaam en geest zijn, zoals de Ouden al wisten, onlosmakelijk met elkaar verbonden (*mens sana in corpore sano*; Iuvenalis; zie Ramsay, 1918). Maar niets voor niets: langdurige adaptatie kost veel energie en wanneer die uitgeput raakt, is maladaptatie⁴ het gevolg, hetgeen kan leiden tot allerlei ziekten en stoornissen, zoals diabetes, nierfalen, angst- en eetstoornissen, en depressiviteit (e.g. McEwen, 1998).

Om te begrijpen hoe maladaptatie kan worden voorkomen, zou idealiter onderzoek moeten worden gedaan aan zenuwcellen in de hersenen van de levende mens. Dat is echter geen sinecure, want geen ander orgaan of met mensenhanden gebouwde machine is zo complex als het menselijk brein. Het bevat circa 60 miljard neuronen, bijna evenveel als er sterren zijn in ons melkwegstelsel, met ongeveer 60 biljoen onderlinge verbindingen, de synapsen, evenveel als het aantal cellen in ons gehele lichaam. Synapsen zijn de plaatsen waar zenuwcellen via een lange uitloper, het axon, met elkaar communiceren. Ze zijn heel klein, vaak niet groter dan één duizendste millimeter in doorsnee, maar met honderden tegelijk kunnen ze door het gecoördineerd afgeven van neurotransmitters de vorm en functie van hun postsynaptische neuronen drastisch veranderen (Figuur 1a). Deze synaptische activiteit is essentieel voor adaptatie. Helaas, zelfs met een gevoelige techniek als *functional magnetic resonance imaging* (fMRI) kunnen we de kleine synapsen in het levende brein niet zichtbaar maken (Huettel *et al.*, 2009). Maar er is een goed alternatief: zenuwcellen van de mens lijken erg veel op die van dieren, en principes van de werking van menselijke aanpassingsmechanismen kunnen daarom heel goed worden onderzocht in de hersenen van geschikte diermodellen.



Figuur 1. (a) Een neuron geeft neurotransmitters af in een synaps (s), zeer nabij de postsynaptische cel (P): een neuron, klier cel of spiercel. (b) Een neurosecretorische cel, echter, geeft neuropeptiden af vanuit een neurohemale eindiging (NHE) aan het bloed, en werkt dus op afstand. B, bloedcel; E, endotheelcel van capillair; G, gliacel. (Naar Roubos, 1986)

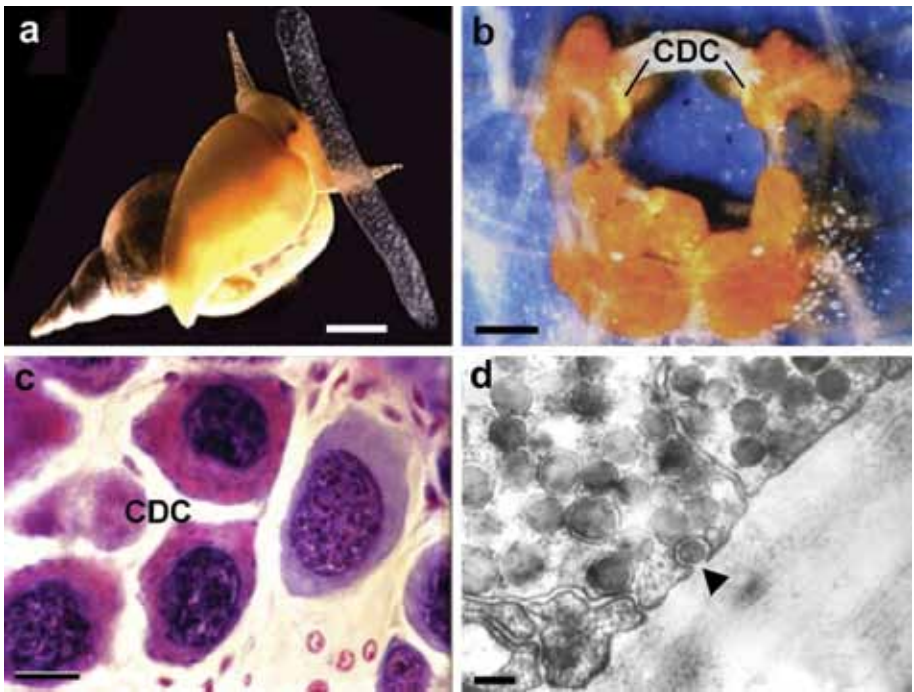
En hier krijgt mijn college een autobiografisch accent; ik ga u vertellen over drie van mijn diermodellen voor onderzoek aan adaptatie: een slak, kikkers, en ratten en muizen.

EILEG DOOR EEN SLAK

Een dinsdagmiddag in de herfst van 1963; biologiepracticum voor 5-Bèta van het Utrechts Stedelijk 'Gym'⁵. De lessen van meneer Van der Steen, die tevens als vakdidacticus in de Biologie verbonden is aan de Rijksuniversiteit Utrecht, zijn in feite hoorcolleges, en ze spreken me zeer aan. Maar als zoon van een tekenleraar vind ik de practica nog leuker, want daar mag je tekeningen maken van allerlei interessante schepsels, zoals wormen, insecten en weekdieren. Vanmiddag – de R is in de maand – staat de mossel op het programma. Van der Steen heeft een hospitant meegenomen en becommentarieert het werk van ons leerlingen op zijn karakteristieke wijze: 'Kijk joh, hier heb je Roubos. Heeft het zenuwstelsel getekend. Ziet er aardig uit. Maar hij kan het niet helpen, begrijp je even...? Hij's érfelijk belast!'. Het *nature-nurture* vraagstuk zegt me dan nog niets, en wanneer mijn vader me kort daarop vraagt of ik al weet wat ik later wil worden, ant-

woord ik, puber als ik ben: ‘Nou pa, misschien bioloog, maar zeker géén leraar!’ Mijn vader glimlacht: ‘We zullen nog wel zien...’

Tijdens mijn biologiestudie speelt Pieter Gregorius Willem Johannes van Oordt, hoogleraar in de Vergelijkende Endocrinologie in Utrecht, een belangrijke rol. ‘Fysiologie is de basis van alle Biologie’, houdt hij me voor, en daarom doe ik in mijn eerste stage fysiologisch onderzoek, aan vissen. Als ik Van Oordt na afloop vertel dat ik me nu wil specialiseren in hersenonderzoek met het elektronenmicroscop, maakt hij me opmerkzaam op ‘een slimme promovendus aan de vu’, die elektronenmicroscopisch wel tien typen zenuwcel kan onderscheiden in een weekdier. En zo krijgt Van der Steens mosselpracticum een bijzonder vervolg, want samen met een andere slimme promovendus,



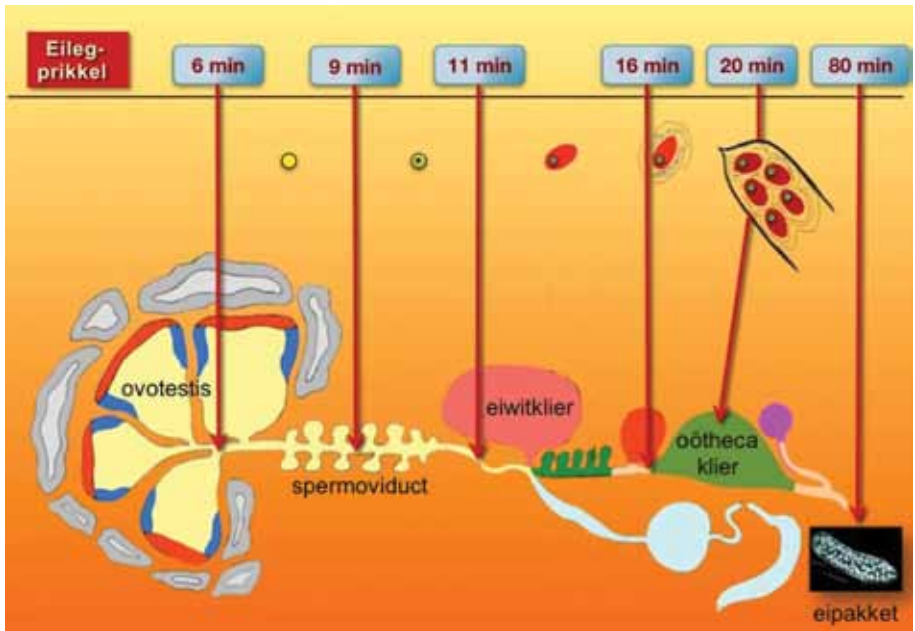
Figuur 2. De poeislak *Lymnaea stagnalis*. (a) ‘Inspectie’ van een zojuist gelegd eipakket. (Naar Joosse, 2009). (b) Caudodorsaalcellen (CDC) in het ringvormig centraal zenuwstelsel. (c) CDC in histologische coupe, met rood cytoplasma (floxinekleuring). (d) Elektronenmicroscopische opname van neurosecretorische CDC-axoneindigingen in de periferie van de cerebrale commissuur, waar secretiegranula hun peptiden-inhoud door exocytose afgeven aan het omringende bloed (pijlpunt). Balk in a = 5 cm, b = 0,5 mm, c = 25 μ m en d = 150 nm.

Wijnand Geraerts, maakt Sjoerd Wendelaar Bonga mij vertrouwd met de beginselen van de 'slakkologie' (e.g. Wendelaar Bonga, 1970; Geraerts and Bohlken, 1976), en bijna twintig jaar lang zal ik in Amsterdam hersenonderzoek doen, niet aan een mossel weliswaar, maar wel aan een weekdier: de poelslak *Lymnaea stagnalis* (Figuur 2a).

In de werkgroep Histologie en elektronenmicroscopie van de afdeling Experimentele dierkunde deden we allemaal slakkenonderzoek. Marijke de Jong bestudeerde slakkenparasieten, Taede Sminia onderzocht slakkenbloedcellen, en Benita Plesch deed onderzoek aan slakkenspiers. Wat was dat dan voor een bijzonder proefdier, die poelslak *Lymnaea*, dat het als wetenschappelijke *nurture* heeft gediend voor zulke uiteenlopende carrières als parasitoloog, rector magnificus en directeur-generaal bij Binnenlandse Zaken? Dat kwam zo: *Lymnaea* was het favoriete proefdier van ons afdelingshoofd Harry Boer en van vakgroepvoorzitter Joos Joosse. En daar was alle reden toe. Neuronen van weekdieren zijn veelal opvallend van kleur en heel groot, tot bijna een millimeter in doorsnee, waardoor ze met allerlei methoden relatief gemakkelijk kunnen worden bestudeerd. Neuronen van de pijlstaartinktvis *Loligo vulgaris*, bijvoorbeeld, bezitten reuzenuitlopers. Deze axonen zijn wel een millimeter dik zodat John Zachary ('JZ') Young (1936) er een elektrode in kon prikken waarmee hij de basis legde voor de Nobelprijs voor Fysiologie of Geneeskunde 1963 van John Eccles, Alan Hodgkin en Andrew Huxley. Zij ontdekten hoe zenuwcellen actiepotentialen maken, elektrische impulsen die langs het axon lopen om de synaps neurotransmitters te laten afgeven. En in 2000 krijgt Eric Kandel de Nobelprijs omdat hij in het zenuwstelsel van de zeeslak *Aplysia californica* ontdekte hoe neurotransmitterafgifte verantwoordelijk is voor cognitieve processen als leren en gedrag.

Het Amsterdamse neurobiologisch onderzoek aan slakken werd zo'n zestig jaar geleden gestart door mijn latere copromotor, bioloog en malacoloog⁶ Jan Lever. Lever was geïnspireerd geraakt door de ontdekking van het verschijnsel van neurosecretie bij vissen en insecten door Ernst en Berta Scharrer⁷, die daarmee het fundament hadden gelegd voor een nieuw vakgebied: de neuroendocrinologie (zie Watts, 2011). De neurosecretorische cel geeft geen neurotransmitters af in een synaps, lokaal aan een spier, een klier of een ander neuron, maar neurohormonen uit neurohemale axoneindigingen aan het bloed (Figuur 1b). Zo regelen deze neurale cellen op afstand de activiteit van allerlei perifere organen waaronder de hypofyse, die – zoals we later zullen zien – van belang is voor adaptatie aan stress.

Lever is de eerste die neurosecretorische cellen aantoonde bij een zoetwaterslak, het 3 millimeter grote slakje *Ferrissia* sp. (Lever, 1957), maar als onderzoekmodel kiest hij voor de tienmaal grotere *Lymnaea*. Deze slak werd in het Amsterdamse laboratorium gedurende meer dan veertig jaar in groten getale gekweekt, alleen al 60.000 in 1975 en circa 1 miljoen in totaal, en kan worden genarcotiseerd zodat operaties aan het brein mogelijk zijn⁸. Dit heeft veel kennis opgeleverd over allerlei fysiologische processen, inclusief de neurosecretorische regulatie van de voortplanting. *Lymnaea* is een simul-



Figuur 3. Weergave van het complexe voortplantingsgedrag van de hermafroditische slak *Lymnaea stagnalis*: ovulatie, bevruchting, verpakking met verschillende klierproducten, en depositie als eipakket van ca. 100 eicellen. Verschillende aspecten van dit gedrag worden gecontroleerd door neuropeptiden die afkomstig zijn van het eilegprohormoon van caudodorsaalcellen. (Naar Joosse, 2009)

tane hermafrodit, tegelijk geslachtsrijp mannetje en vrouwtje, en beschikt daartoe over een ingewikkeld voortplantingsapparaat (Figuur 3). Het dier legt eitjes kort na zonsopgang, wanneer waterplanten het oppervlaktewater verzadigen met zuurstof. In antwoord op deze zuurstofprikkel laat het dier ongeveer honderd eicellen ovuleren uit de hermafroditische gonade, de ovotestis. De eicellen worden bevrucht door zaadcellen uit de eigen ovotestis of van een partner, waarna ze door een aantal klieren worden omgeven met een voedselrijke vloeistof en verschillende beschermende lagen. Anderhalf uur na de ovulatie worden de eitjes als een pakketje gedeponereerd op een geschikt substraat, een blad of een steen, dat eerst door de slak is schoon gegeten voor optimale hechting. Twee weken later kruipen de jonge slakjes uit het legsel (Joosse, 2009).

Al deze aspecten van het eileggedrag – de ovulatie, klieractiviteiten, substraat schoon eten en eileg – worden direct of indirect gecontroleerd door één type zenuwcel. Als assistent van Lever ontdekt Joosse twee groepen neuronen, die hij, vanwege hun achterlijke ligging aan de bovenzijde van het zenuwstelsel, caudodorsaalcellen noemt

(Figuur 2b,c; Lever *et al.*, 1961; Joosse, 1964). Deze neurosecretorische cellen zijn via het bloed (Figuur 2d; Wendelaar Bonga, 1971; Roubos, 1984) betrokken bij de controle van het complexe eileggedrag. Om te begrijpen hoe ze dat doen, moeten we een kijkje nemen in de *nature* van het dier, in de celkern. Daar bevinden zich eiwitcoderende stukjes DNA, de genen, en regulerende stukjes DNA, de promoters. Wanneer een promotor bindt aan een speciaal eiwit, een transcriptiefactor, wordt de code van het gen-DNA overgeschreven tot mRNA²: de transcriptiefase. Deze code wordt vervolgens door ribosomen in het cytoplasma vertaald in een eiwit: de translatiefase. Op deze wijze maakt de caudodorsaalcel een groot eiwit, het eilegprohormoon (Vreugdenhil *et al.*, 1988) dat vervolgens door enzymen wordt opgesplitst in verschillende kleinere eiwitten, de neuropeptiden. Ieder peptide speelt een eigen rol bij de eileg. Eén laat via het bloed eicellen in de ovotestis ovuleren, een ander zorgt dat de eiwitklier een voedselrijke vloeistof voor het eitje produceert, een derde neuropeptide is betrokken bij het eetgedrag om het substraat schoon te maken, enzovoorts. Een caudodorsaalcel controleert dus verschillende stappen van het complexe eileggedrag door de afgifte van verschillende neuropeptiden (Figuur 3).⁹ Het dier hoeft dit niet te leren; het gedrag ligt door *nature* al bij geboorte vast in het slakkenbrein.

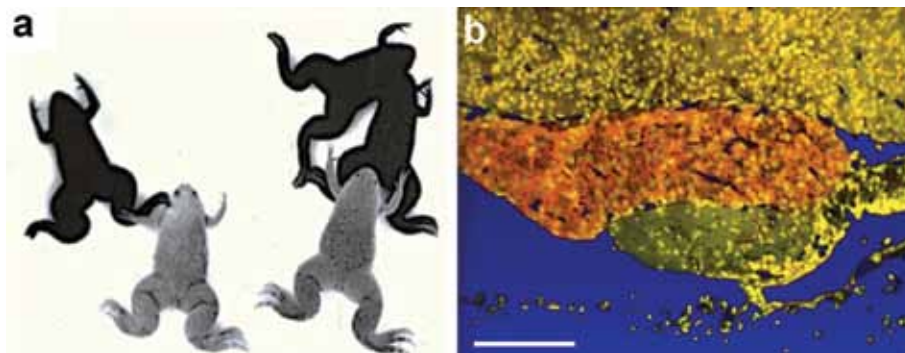
Maar dit eileggedrag treedt lang niet altijd op, en hier komt de *nurture* om de hoek kijken. Wanneer de milieuomstandigheden voor de eitjes niet gunstig zijn, bijvoorbeeld als het water te weinig zuurstof bevat of te koud of te vuil is, of wanneer een predator op de loer ligt, dan blijven de caudodorsaalcellen inactief en worden er geen eitjes gelegd. Het slakkenbrein voorkomt dus dat het nageslacht onder ongunstige omstandigheden ter wereld komt. Ziehier, in een *nutshell*, of beter in een *snailshell*, hoe de buitenwereld, de *nurture*, bepaalt of het complexe gedrag dat door *nature* in zenuwcellen is geprogrammeerd, ook werkelijk tot expressie komt (Joosse, 2009).

Maar hóe grijpt *nurture* op een zenuwcel aan? Dat leert ons een tweede diermodel: de kikker *Xenopus*.

KLEURANPASSING DOOR EEN KIKKER

In 1989 verruil ik het Amsterdamse slakkenonderzoek voor Nijmeegs kikkeronderzoek. Aan de Zuid-Afrikaanse klauwkikker, *Xenopus laevis*, had ik al eerder gewerkt, als student in Utrecht, op het Janskerkhof, waar Jan Peute en Van Oordts latere opvolger Henk Goos, onderzoek deden aan neurosecretorische cellen. Maar medio jaren zeventig schakelden de Utrechtse over op vissenonderzoek, en werd het Utrechtse *Xenopus*-onderzoek naar het Nijmeegs Universeel Laboratorium overgebracht door Bruce Jenks en mijn voorganger als hoogleraar in de Dierkunde, Bram van Overbeeke. Zij bestudeerden pigmentadaptatie in de kikkerhuid onder invloed van het α -melanoforen-stimulerend hormoon, α MSH. Dit hormoon wordt gemaakt in melanotrope cellen in de hypofyse (Figuur 4).

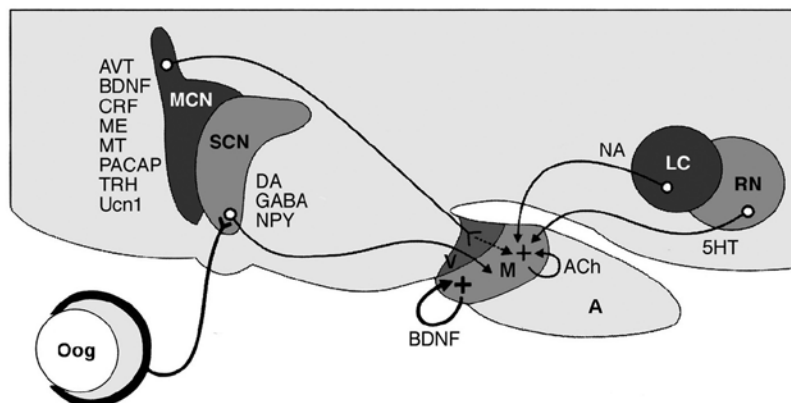
In een donkere omgeving wordt het α MSH afgegeven aan het bloed om in huidcellen – de melanoforen – het zwarte pigment melanine te verspreiden. Zo wordt het



Figuur 4. (a) Exemplaren van de Zuid-Afrikaanse klauwkikker, *Xenopus laevis*, aangepast aan een zwarte (bovenste drie) of witte ondergrond. (b) De pigmentaanpassing staat onder controle van het α -melanoforen-stimulerend hormoon uit de endocriene melanotrope cellen (oranje gekleurd met acridine-oranje) in de middenkwab van de hypofyse. Balk = 200 μm .

dier donker en camoufleert het zich voor zijn belagers. Op een witte ondergrond is er geen MSH-afgifte en ziet de huid er licht uit. Deze pigmentverandering is een fraai fysiologisch model voor adaptatiestudies dat goed aansluit bij het organismale dierfysiologisch onderzoek aan vissen van Wendelaar Bonga, die mij via Groningen was voorgegaan naar Nijmegen, en bij het onderzoek naar stress en welzijn bij vissen door Gert Flik. Onze vruchtbare samenwerking leidde al snel tot een nieuwe, moleculair-dierfysiologische, afdeling onder leiding van Gerard Martens. Tot op de dag van vandaag leveren hij en zijn medewerkers belangrijke bijdragen aan de kennis over de moleculaire aspecten van het neuronale secretieproces (e.g. Jansen *et al.*, 2012).

Maar voordat ik u meer vertel over α MSH en de melanotrope cel, eerst wat achtergrondinformatie over het opmerkelijke proefdier *Xenopus*. Deze kikker verwerft al voor de Tweede Wereldoorlog bekendheid als goedkope zwangerschapsindicator (zie Hogben, 1946). Ook is het het eerste gewervelde dier waarvan de embryonale ontwikkeling in detail is beschreven (Nieuwkoop en Faber, 1956), en de eerste vertebraat die in het laboratorium is gekloneerd (Gurdon *et al.*, 1958), een prestatie waarvoor aan John Gurdon drie dagen voor het uitspreken van deze rede de Nobelprijs voor Fysiologie of Geneeskunde werd toegekend (<http://nos.nl/op3/artikel/427296-nobelprijswinnaar-heeft-leraar-tuk.html>)¹⁰. In 1992 wordt *Xenopus* de eerste amfibie te land, ter zee en in de ruimte, als aan boord van de spaceshuttle Endeavor, overigens tevergeefs, wordt getracht om aan te tonen dat de aardse zwaartekracht een rol speelt bij de ontwikkeling van eicel tot embryo. En in 2000 wordt het extreem adaptieve vermogen van het dier op wel zeer bijzondere wijze onderstreept wanneer André Geim een levende, in onze afdeling Cellulaire Dierfysiologie gekweekte *Xenopus* laat zweven in het ultrasterke mag-



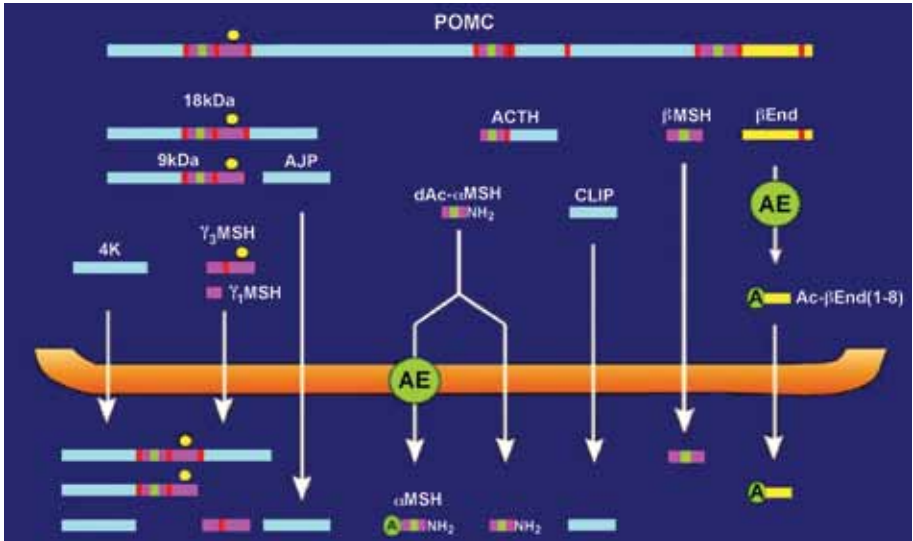
Figuur 5. Schema van oog, hersencentra, zenuwbanen, neurohormonen en neurotransmitters die betrokken zijn bij de regulatie van de melanotrope cellen in de middenkwab (M) van de hypofyse van *Xenopus*. 5HT, 5-hydroxytryptamine (serotonine); A, hypofyse-achterkwab; ACh, acetylcholine; AVT, arginine-vasotocine; BDNF, brain-derived neurotrophic factor; CRF, corticotropin-releasing factor; DA, dopamine; GABA, γ -aminoboterzuur; LC, locus coeruleus; MCN, magnocellulaire nucleus; me, metenkefaline; MT, mesotocine; NA, noradrenaline; NPY, neuropeptide Y; PACAP, pituitary adenylate cyclase-activerend polypeptide; RN, raphe nucleus; SCN, suprachiasmatische nucleus; TRH, thyrotropin-releasing hormone; ucn1, urocortine-1; v, hypofyse-voorkwab. (Naar Roubos *et al.*, 2010)

neetveld van het Nijmeegse magnetenlab. Dat is nog eens wat anders dan een taxirit in de Londense City, en Geim ontvangt er de IgNobelprijs voor Natuurkunde voor. Tien jaar later ontvangt hij de echte Nobelprijs voor Natuurkunde, voor het fabriceren van tweedimensionaal grafeen, waarmee Geim de enige wetenschapper is die beide Nobelprijzen heeft ontvangen (<http://www.improbable.com/2010/10/05/geim-becomes-first-nobel-ig-nobel-winner/>); met dank aan, onder andere, onze Nijmeegse *Xenopus*.

Ook wij, Nijmeegse dierfysiologen, hebben, met steun van NWO-SRON, gewerkt aan 'frogs in space' (zie Kramer, 2002; Corstens, 2006), maar *Xenopus* is door ons toch vooral onderzocht in het water, in de aquaria in het Universeel Laboratorium en sinds 2004 in het prachtige nieuwe Huygensgebouw. Over dat onderzoek ga ik u nu vertellen.

DE MELANOTROPE CEL

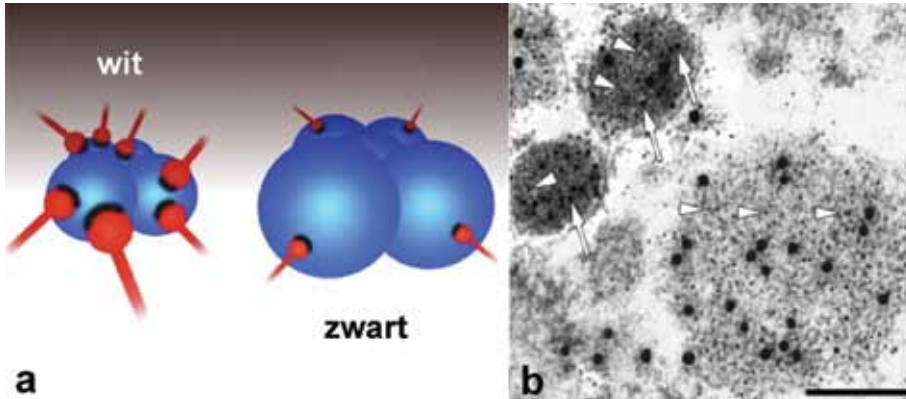
Het vermogen van *Xenopus laevis* om de pigmentering van de huid aan te passen aan de lichtintensiteit van de omgeving, berust op de werking van ongeveer 60.000 melanotrope cellen in de hypofyse-middenkwab. Informatie over de lichtintensiteit van de ondergrond bereikt via de ogen de magnocellulaire en suprachiasmatische kernen in de hypothalamus (Figuur 5). Deze hersengebieden zenden respectievelijk stimulerende neurohormonen en remmende neurotransmitters naar de melanotrope cellen. Daar



Figuur 6. Klieving in de melanotrope cel van *Xenopus laevis* van het precursoreiwit pro-opiomelanocortine (POMC) in een groot aantal peptiden waaronder α -melanoforen-stimulerend hormoon (α MSH) dat enzymatisch geacetyleerd (biologisch actief) wordt tijdens afgifte. 4K, 9kDa, en 18kDa zijn naamloze peptiden; Ac- β End(1-8), acetyl- β -endorfine(1-8); ACTH, adrenocorticotroop hormoon; AE, acetyleringsenzym; AJP, acid joining peptide; β End, β -endorfine; MSH, β -melanoforen-stimulerend hormoon; CLIP, corticotropin-like intermediate lobe peptide; dAc- α MSH, desacetyl- α -melanoforen-stimulerend hormoon; γ_3 MSH, γ_3 -melanoforen-stimulerend hormoon. (Naar van Strien *et al.*, 1995)

sturen deze factoren verscheidene intracellulaire processen, door activatie van speciale herkenningsmoleculen op de buitenzijde van de cel, de receptoren. Eén van die processen is de aanmaak van een groot eiwit, het pro-opiomelanocortine of POMC, dat net als het eilegprohormoon in de caudodorsaalcellen van de slak, enzymatisch in verschillende neuropeptiden wordt geknipt (Figuur 6).

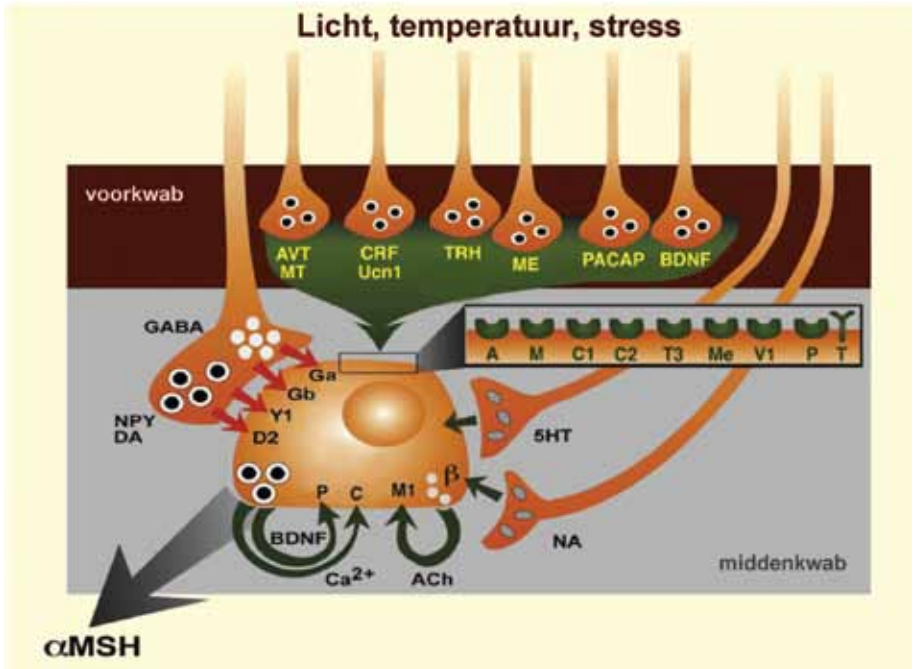
Over de meeste van deze neuropeptiden is weinig bekend, maar één kennen we bijzonder goed: dat is het α MSH dat de huid donker maakt wanneer de kikker op een donkere ondergrond gaat zitten. Wanneer het dier daar wekenlang blijft, moet steeds opnieuw α MSH worden aangemaakt. Daartoe neemt de eiwitsynthese in de melanotrope cellen sterk toe, wat zich uit in sterke celgroei. Dit mooie voorbeeld van neurale plasticiteit wordt weerspiegeld door het systeem dat de cel reguleert: de remmende synapsen vanuit de suprachiasmatische kern. Ze zijn klein en weinig in aantal wanneer de cel groeit, maar worden groot en talrijk wanneer de kikker naar een lichte ondergrond verkast en de α MSH-productie wordt geremd.



Figuur 7. (a) Schematische weergave van melanotrope cellen (blauw) die geremd worden door synapsen (rood) van neuronen in de suprachiasmatische kern. Links: op een witte ondergrond; veel grote, actief-remmende synapsen op kleine inactieve cellen. Rechts: op een zwarte ondergrond: weinig kleine, inactieve synapsen op grote actieve cellen. (b) Triple-immuno-elektronenmicroscopie met goudpartikel-markers (zwart) voor BDNF (grote partikels), POMC (middelgrote partikels, pijlen) en α MSH (kleine partikels; pijlpunten) in secretiegranula van melanotrope cellen. Balk = 100 nm. (Naar Wang *et al.*, 2004)

De melanotrope cel heeft ons veel geleerd over de regulatie van deze plasticiteit. De ontwikkeling van specifieke delen van de hersenen wordt gestimuleerd door hersengroefactoren, waaronder *brain-derived neurotrophic factor* (BDNF; Kramer *et al.*, 2002; Jenks *et al.*, 2012). Opmerkelijk is dat de melanotrope cellen dit BDNF zelf produceren, en dat ze het, in antwoord op een zwarte ondergrondprikkel, tegelijk met α MSH, uit secretieblaasjes afgeven aan het celoppervlak (Figuur 7a). Hier bindt het BDNF aan zijn receptor (Kidane *et al.*, 2007), die via een aantal biochemische stappen de groei van de cel en de aanmaak van POMC stimuleert. Uit dit POMC wordt nieuw α MSH gemaakt zodat het dier zich kan blijven aanpassen aan de donkere ondergrond. Als de kikker naar een lichte ondergrond terugkeert remt de suprachiasmatische kern de melanotrope cel waardoor de BDNF-afgifte stopt en de cel inactief wordt en krimpt (Figuur 7b; Kuribara *et al.*, 2011). Licht regelt dus via BDNF de plasticiteit van de melanotrope cel.

Behalve licht sturen nog andere externe factoren de activiteit van de melanotrope cel, zoals de omgevingstemperatuur en stress, wanneer het dier zich ook camoufleert (Tonosaki *et al.*, 2004; Ubink *et al.*, 1997). Deze factoren werken via tenminste vier hersencentra: de al eerder genoemde magnocellulaire en suprachiasmatische kernen, en de *locus coeruleus* en de raphekern (Figuur 5). Deze centra produceren neurotransmitters en neurohormonen die via eigen receptoren verschillende aspecten van melanotrope activiteit aansturen (Figuur 8).



Figuur 8. Neurotransmitters en neurohormonen vanuit verschillende hersencentra grijpen aan op de melanotrope cel via, respectievelijk, synapsen in de middenkwab en neurohemale eindigingen in de voorkwab van de hypofyse. Middels specifieke receptoren controleren ze verschillende aspecten van melanotrope celactiviteit. 5HT, 5-hydroxytryptamine (serotonine); α MSH, α -melanoforen-stimulerend hormoon; A, arginine-vasopressine receptor; ACh, acetylcholine; AVT, arginine-vasopressine; β , β -adrenerge receptor; BDNF, brain-derived neurotrophic factor; C, calcium-sensing receptor; C1, corticotropin-releasing factor receptor 1; C2, corticotropin-releasing factor receptor 2; Ca^{2+} , calcium ionen; CRF, corticotropin-releasing factor; D2, dopamine D2 receptor; DA, dopamine; GABA, γ -aminoboterzuur; Ga, GABA α receptor; Gb, GABA β receptor; M, mesotocine receptor; M1, muscarine 1 receptor; ME, metenkefaline; me, metenkefaline receptor; MT, mesotocine; NA, noradrenaline; NPY, neuropeptide Y; P, P75 receptor; PACAP, pituitary adenylyl cyclase-activerend polypeptide; T, TrkB receptor; T3, thyrotropin-releasing hormone receptor 3; TRH, thyrotropin-releasing hormone; ucn1, urocortine-1; V1, vasoactive intestinal polypeptide (en PACAP) receptor 1; Y1, NPY Y1 receptor. (Naar Roubos et al., 2005)

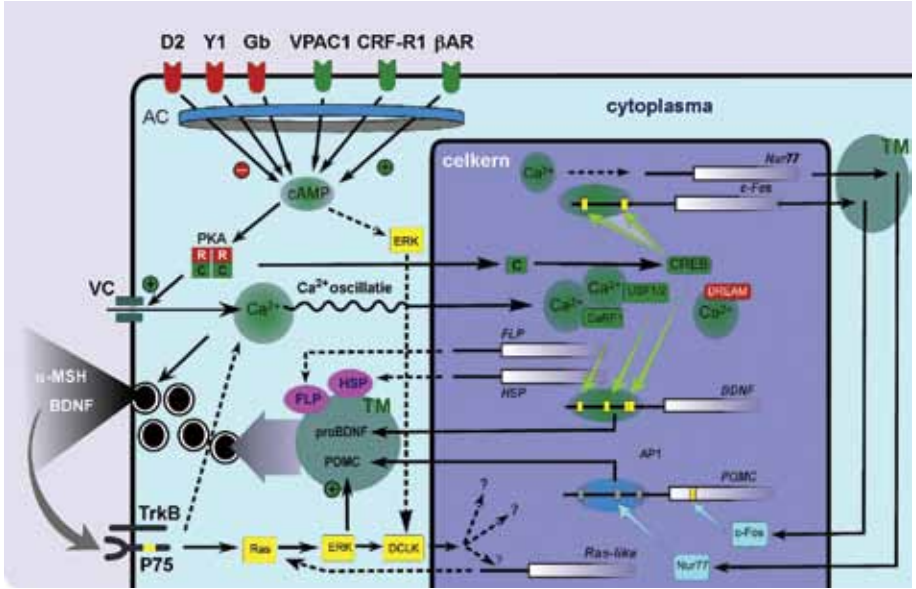
Dit brengt ons op een volgend interessant aspect van de werking van de hersenen: de verwerking door een neuron van complexe informatie. Hoe kunnen zoveel chemische boodschappers verschillende intracellulaire processen aansturen zonder dat er in de melanotrope cel een verkeerschaos ontstaat? Dat kan door de aanwezigheid van verschillende intracellulaire signaaltransductieroutes. Zo werkt BDNF via de ras-ERK route, terwijl *corticotropin-releasing factor* (CRF) de cellen activeert via zogeheten calciumoscillaties. Deze ritmische veranderingen van de intracellulaire calciumconcentratie werden in levende melanotrope cellen voor het eerst aangetoond door Wim Scheenen, met confocale microscopie. Ze blijken via het cytoplasma de celkern binnen te gaan om daar specifieke genen tot expressie te brengen (Scheenen *et al.*, 1993). Mede dankzij intensieve samenwerking met het laboratorium van Hubert Vaudry in Rouen, zijn de verscheidene signaaltransductieroutes in de melanotrope cel in detail beschreven (*e.g.* Galas *et al.*, 2005; Kolk *et al.*, 2002; Jenks, 2009; Jenks *et al.*, 2011; Kuribara, 2011; Kuribara *et al.*, 2011; Figuur 9).

Behalve aan deze biochemische processen is ook veel aandacht besteed aan de elektrische eigenschappen van de melanotrope cel. In de cel zijn verschillende ionkanalen gekarakteriseerd, waarvan vervolgens met hulp van Stan Gielen een mathematisch model is gemaakt. Mede dankzij dit model is inzicht verkregen in de manier waarop deze ionkanalen gezamenlijk de secretorische activiteit van de cel bepalen (Cornelisse *et al.*, 2001; Zhang *et al.*, 2005).

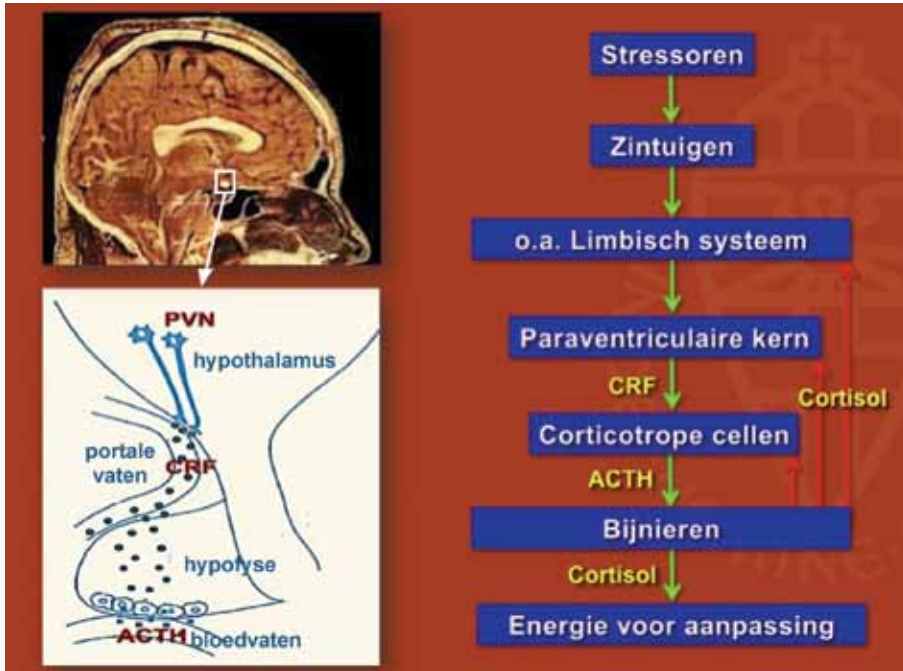
Ziehier, hoe de melanotrope cel van de kikker *Xenopus* ons veel kennis heeft verschaft over de adaptieve respons van een zenuwcel op complexe omgevingsinformatie, ofwel hoe *nurture* de *nature* van een zenuwcel kan beïnvloeden.

STRESSADAPTATIE DOOR RAT, MUIS EN MENS

Maar intussen, rond het begin van deze eeuw, raken de mogelijkheden van externe financiering van fundamenteel onderzoek dat niet op korte termijn tot een medische toepassing of economisch rendement leidt, meer en meer beperkt. Daarom was ook hier aanpassing vereist. Het was zeker geen gemakkelijke stap van fundamenteel onderzoek aan een kikker, naar medisch gemotiveerd onderzoek aan zoogdieren. Het vergde nieuwe technieken, nieuwe diermodellen en nieuwe samenwerkingen. Maar de stap werd succesvol gezet, mede dankzij samenwerking met Matthijs Verhage aan de VU over synaptische activiteit in de muis (Heeroma *et al.*, 2003), Gilles van Lijptelaar over absence epilepsie bij de WAGrij-rat (Van de Bovenkamp-Jansen, 2004), Alexander Cools over verslaving bij ratten (Van der Elst *et al.*, 2005), Henk Barendregt over *mindfulness* en stress (Calle *et al.*, 2005) en Berend Olivier aan de Universiteit Utrecht over de stressrespons bij muizen (Korosi, 2006), en recentelijk met Kris Vissers over stress en neuropathische pijn (Rouwette, 2012) en Ard Peeters over stress en depressief gedrag (Sterrenburg, 2012). Dit heeft geresulteerd in een nieuwe, zeer vruchtbare onderzoekslijn in onze afdeling, onder dagelijkse leiding van Tamás Kozicz, over adaptatie aan stress bij zoogdieren.

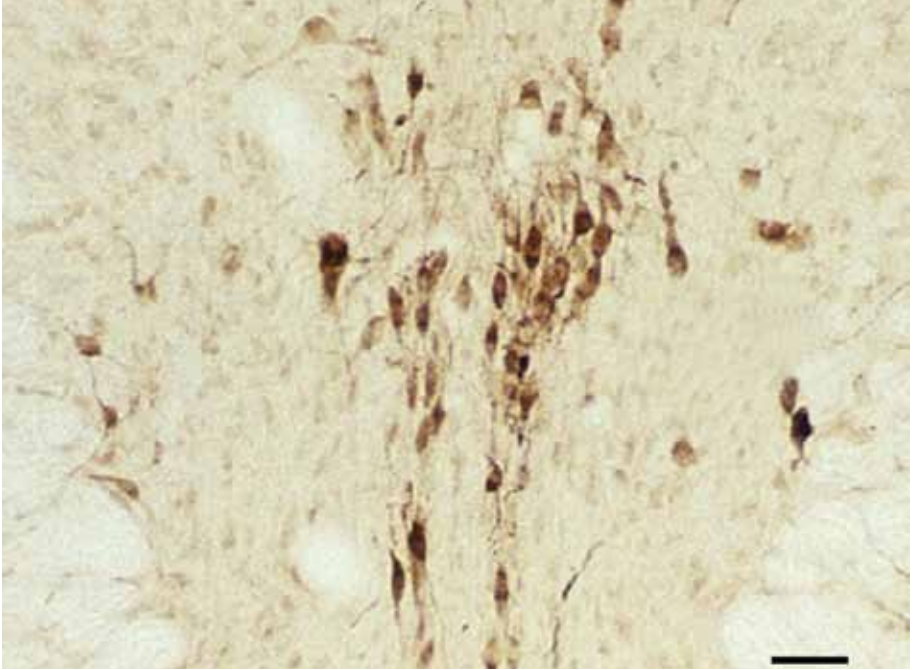


Figuur 9. Overzicht van de intracellulaire signaaltransductieroutes waarlangs neurotransmitters en neurohormonen melanotrope processen als peptide-afgifte en genexpressie controleren. Sommige transmitters stimuleren (groen) en andere remmen (rood) het adenylyl cyclase (AC). Dit enzym vormt cAMP dat proteïnekinase A (PKA) activeert, waardoor voltage-afhankelijke Ca^{2+} kanalen (VC) in de plasmamembraan Ca^{2+} ionen de cel laten binnenstromen. Dit Ca^{2+} stimuleert exocytose van onder andere α MSH en *brain-derived neurotrophic factor* (BDNF), en genereert via Ca^{2+} opslagplaatsen Ca^{2+} oscillaties, die de kern in gaan om genen tot expressie te brengen, zoals BDNF en, waarschijnlijk indirect, POMC. De transmitters dopamine, neuropeptide γ en γ -aminoboterzuur remmen de Ca^{2+} instroom. BDNF induceert genexpressie via TrkB- en p75-receptoren en de ras/ERK route. Tussen de routes vinden interacties plaats. AP1, CREB1, CREB, DREAM en USF1/2 zijn transcriptiefactoren; *c-Fos* en *Nur77* zijn *early immediate genes*; β AR, β -adrenerge receptor; CRF-R1, *corticotropin-releasing hormone* receptor 1; D2, dopamine D2 receptor; DCLK, *doublecortin-like kinase*; gb, *GABA_B* receptor; FLP, *ferritin-like protein* gen; HSP, *heat shock protein* gen; POMC, pro-opiomelanocortine; TM, translatie-machinerie (ribosomen/ruwwandig endoplasmatisch reticulum); VPAC1, *vasoactive intestinal polypeptide* receptor 1; Y1, *NPY-1*-receptor. Voor details, zie Kuribara (2011).



Figuur 10. De rol van de hypothalamus-hypofyse-bijnier-as in de stressrespons bij de mens. Stressoren activeren via zintuigen en hersengebieden zoals het limbisch systeem en de hypothalame paraventriculaire kern. Deze stimuleert door *corticotropin-releasing factor* (CRF) de hypofysaire adrenocorticotrope cellen tot secretie van adrenocorticotroop hormoon (ACTH) dat de bijnier aanzet tot cortisolproductie. Cortisol zorgt dat het lichaam energie vrijmaakt voor het uitvoeren van aanpassingsprocessen en beëindigt deze processen uiteindelijk door negatieve feedback naar de hersenen.

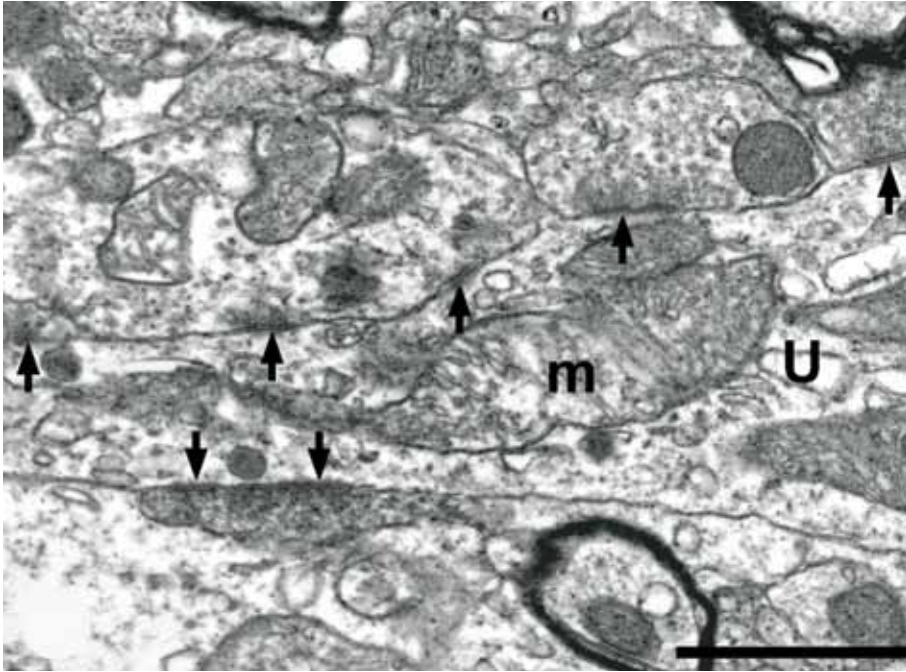
Wat is dat eigenlijk, stress? ‘Stress’ werd in 1936 door de Canadees-Oostenrijkse arts Hans Selye (1907-1982) gedefinieerd als ‘het niet-specifieke antwoord van het lichaam op een uitdaging, ongeacht of deze veroorzaakt wordt door of leidt tot een prettige of een onprettige situatie’. Stress kan dus negatief maar ook positief zijn, omdat het prestatieverhogend werkt. Maar, zoals Selye (1978) al opmerkte, aanpassing aan stress kost energie en kan daarom leiden tot uitputting en schade aan lichaam en geest. Ook hierover heeft onderzoek aan dieren ons veel geleerd. Stressprikkel, die veelal via het limbische systeem de hersenen binnenkomen, activeren de hypothalamus-hypofyse-bijnier-as (Figuur 10). Hierbij stimuleert de hypothalame paraventriculaire kern via CRF de hypofysaire afgifte van adrenocorticotropine, ACTH. Dit hormoon zet vervolgens de



Figuur 11. Neuronen in de Edinger-Westphalkern in de middenhersenen van de muis, immunocytochemisch aangekleurd voor urocortine. Balk = 50 μ m.

bijnieren aan tot de productie en afgifte van corticosteron bij de meeste dieren en van cortisol bij de mens. Deze steroïdhormonen helpen het lichaam om tijdens stress ten behoeve van de adaptatierespons energie vrij te maken uit koolhydraten, vetten en eiwitten.

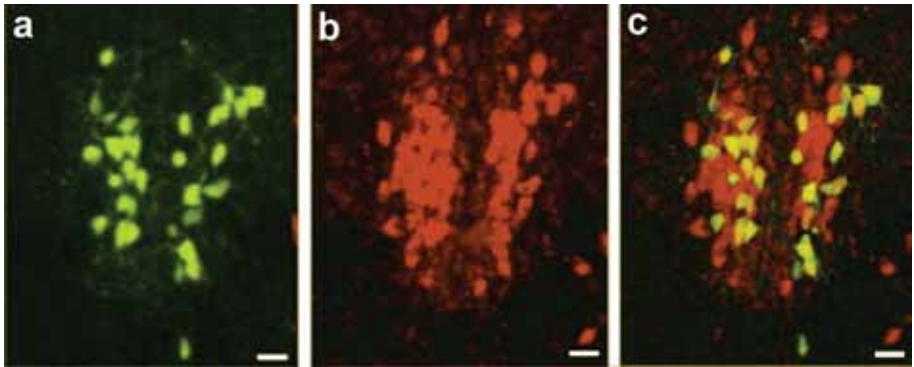
Maar de stressrespons is niet beperkt tot het limbische systeem en de hypothalamus-hypofyse-bijnier-as. Tamás Kozicz heeft een hersencentrum voor het voetlicht gebracht dat bij dysfunctioneren medeverantwoordelijk lijkt te zijn voor het ontstaan van maladaptatie en daaruit voortvloeiende stressziekten (Kozicz, 2007; Kozicz *et al.*, 2008). Dat centrum is de Edinger-Westphalkern, die gelegen is in een evolutionair oud deel van het brein, de middenhersenen (Figuur 11). De kern komt niet alleen voor bij knaagdieren en de mens maar ook bij kikkers (Calle *et al.*, 2005), wat aangeeft dat het een evolutionair sterk geconserveerd en dus belangrijk hersengebied is. Al lang was bekend dat de kern betrokken is bij de pupilreflex, via de neurotransmitter acetylcholine, maar in 1995 ontdekten Wylie Vale en medewerkers dat de kern ook een tot dan toe onbekende neurotransmitter produceert, het urocortine. Dit neuropeptide grijpt aan op de



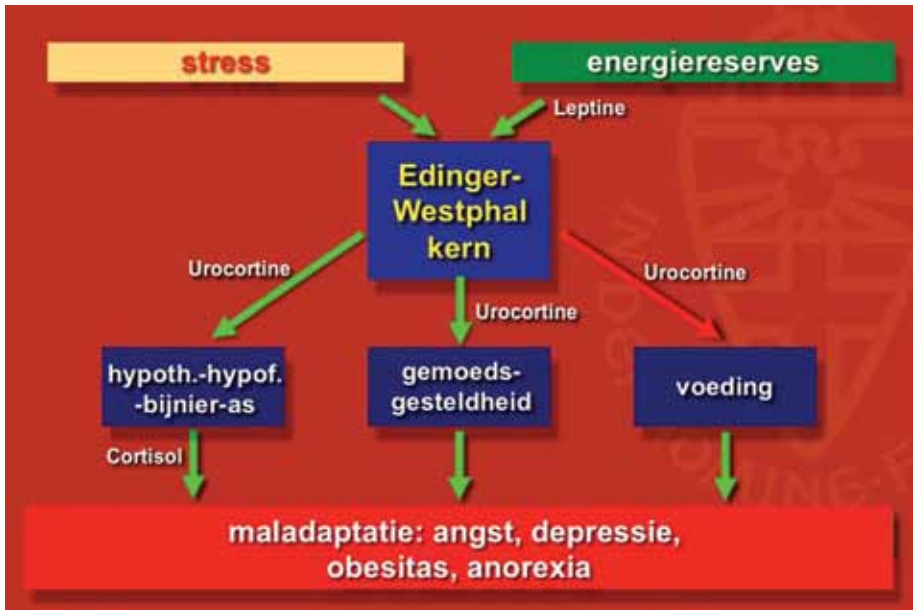
Figuur 12. Elektronenmicroscopie van de Edinger-Westphalkern in de rat, met verschillende synapsen (pijlen) op een uitloper (u) van een urocortineneuron. m, mitochondrion. Balk = 1 μm . (Naar van Wijk *et al.*, 2009)

zelfde receptoren en doelwitten als CRF, en daarom stimuleert het de afgifte van ACTH en daardoor van cortisol (Vaughan *et al.*, 1995). De urocortineneuronen worden geactiveerd door acuutwerkende stressoren, maar ze worden inactief wanneer de stress chronisch is en weken of nog langer aanhoudt. Deze inactivering gebeurt waarschijnlijk door negatieve steroidfeedback uit de bijnier, die de hoeveelheid urocortine in de kern verlaagt (Korosi, 2006). Behalve op de bijnier heeft de Edinger-Westphalkern ook effect op hersengebieden als de dorsale raphekern en het laterale septum. Deze gebieden spelen een rol bij het ontstaan van angst en depressief gedrag (Kozicz, 2007).

En nu maken we de stap naar de mens: Kozicz onderzocht de Edinger-Westphalkern van mannen die suïcide hadden gepleegd; het bleek dat de kern negen maal meer urocortine mRNA bevatte dan de kern in mannen die een natuurlijke dood waren gestorven. Dit suggereert dat urocortine een rol speelt in het ontstaan van depressief gedrag. Minstens even opmerkelijk was echter dat vrouwelijke suïciden geen urocortineverhoging lieten zien (Kozicz *et al.*, 2008). Dit onderstreept het belang van een sekse-specifieke benadering van mentale stoornissen door de farmaceutische industrie en de medische wereld¹¹.



Figuur 13. Multiple fluorescentie van neuronen in de Edinger-Westphalkern van de rat, aangekleurd voor de leptine-receptor (groen; a) en urocortine (rood; b). In (c) (*overlay* van a en b) kleuren urocortineneuronen die in het bezit zijn van leptinereceptoren, geel. Balk = 20 μm . (Naar Xu *et al.*, 2011)



Figuur 14. Voorgesteld schema van de wijze waarop de Edinger-Westphalkern stressprikkel en informatie over energie-reserves integreert en verwerkt tot een adaptieve respons. Dysfuncties van dit systeem leiden tot eetstoornissen en depressie.

Het doet ook de vraag rijzen hoe de Edinger-Westphalkern wordt aangestuurd. Om dat te onderzoeken kwam onze kennis over slakken- en kikkerneuronen goed van pas. Net als de caudodorsaalcel en de melanotrope cel ontvangt de Edinger-Westphalkern vele signalen. Deze zijn vooral afkomstig uit hersencentra die betrokken zijn bij de opwekking van emoties als angst en vreugde, zoals de *nucleus arcuatus* en de *bed nucleus van de stria terminalis*. De signalen worden synaptisch op de urocortineneuronen overgedragen (Figuur 12). Dit gebeurt met een grote synaptische plasticiteit, net als bij de melanotrope cellen van *Xenopus*: in rust zijn de synapsen schaars maar bij chronische stress nemen ze sterk in aantal toe (Sterrenburg, 2012).

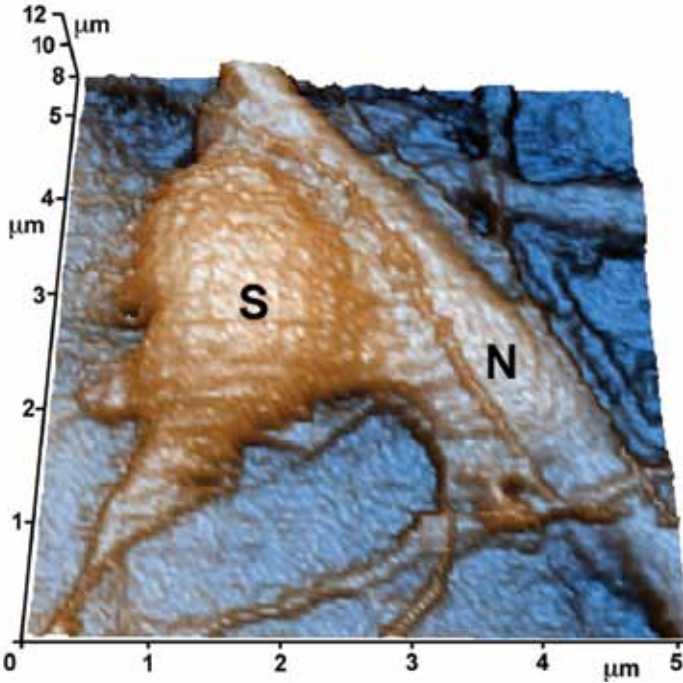
Behalve signalen uit de hersenen ontvangt de Edinger-Westphalkern ook informatie uit het lichaam, door het hormoon leptine, dat wordt geproduceerd door vetcellen. Hoe meer vetweefsel, hoe meer leptine aan het bloed wordt afgegeven. Dit leptine bereikt de hersenen en remt daar centra die eetlust opwekken. Daardoor nemen eetlust en dus vetopslag af. Leptine zorgt dus voor een goede balans tussen energieopname en energieverbruik (Roubos *et al.*, 2012). Verstoring van deze balans veroorzaakt problemen. Zo leidt ongevoeligheid van de hersenen voor leptine tot obesitas. Interessant is dat de urocortineneuronen in de Edinger-Westphalkern van de muis over leptinereceptoren beschikken (Figuur 13) en dat leptine de elektrische activiteit van deze neuron reduceert. Ook laat leptine het urocortine in deze neuron accumuleren. Dit alles wijst er op dat leptine de afgifte van urocortine remt (Xu, 2011; Xu *et al.*, 2011).

Zou het kunnen zijn dat de Edinger-Westphalkern betrokken is bij de keuze door ons brein van het type stressrespons, bijvoorbeeld vechten of vluchten, en dat deze keus wordt gemaakt op basis van de hoeveelheid beschikbare energie? Falen van dit proces zou kunnen bijdragen aan maladaptatie en, als gevolg daarvan, aan het optreden van stressziekten als angststoornissen en depressie, en eetstoornissen als obesitas en anorexia (Figuur 14).

TENSLLOTTE

We naderen nu het eind van deze adaptieve reis van weekdier naar mens. In dit college heb ik u verteld over adaptatieonderzoek aan drie diermodellen. Alle drie tonen ze fascinerende interacties tussen *nature* and *nurture*. De slak liet zien hoe één type neuron een complex gedrag controleert dat weliswaar in het DNA is geprogrammeerd maar alleen optreedt onder optimale *nurture* omstandigheden. De kikker demonstreerde hoe complexe omgevingsinformatie door neurale cellen wordt waargenomen en verwerkt. Rat en muis, tenslotte, maakten aannemelijk dat de hersenen het aanpassingsgedrag kunnen afstemmen op de beschikbare hoeveelheid energie.

Bij al deze *nature-nurture* interacties speelt de grote plasticiteit van het neuron een centrale rol. En daarmee kom ik terug bij de titel van dit college: *Nature-nurture*, van dieren, voor de mens. Een belangrijke resterende vraag is immers of de verkregen kennis over dierlijke neuronale plasticiteit ook opgaat voor de mens. Om die vraag te beant-



Figuur 15. 3D-weergave van een levende synaps (s) op een uitloper van een neuron (N) uit de hippocampus van de muis. *Scanning ion conductance* microscopie. (Met dank aan W.J.J.M. Scheenen)

woorden zullen nieuwe methoden moeten worden ontwikkeld om de plasticiteit van menselijke zenuwcellen en hun synapsen zichtbaar te maken. Een in dit opzicht veelbelovende techniek is *scanning ion conductance* microscopie, zoals die momenteel gepioneerd wordt door Wim Scheenen aan levende hippocampus-neuronen van de muis (Figuur 15). Het belang van microscopisch onderzoek aan dieren voor de mens werd trouwens al eeuwen geleden onderkend. In de inleiding van zijn Nederlandse vertaling uit 1755 van Henry Bakers *The microscope made easy* (1742), schrijft de medicus Martinus Houduyn: ‘Het onderzoek van de werken der natuur, hoe beminnelijk [ook] voor iedereen die de wysheid van den Schepper uit de schepzelen tragt te ontdekken, moet nog beminnelijker zyn wanneer het zig niet bepaalt tot enkele bespiegelingen, maar [...] in kleine en voor ’t bloote oog byna onzichtbaare schepzelen wonderen ontdekt, die tot verklaring strekken van zaaken, de huishouding van het dierlyk leven betreffende, en dus dienen kunnen tot nuttigheid van den mensch.’

Onze huidige tijd, vol maatschappelijke en technologische veranderingen, stelt hoge eisen aan ons aanpassingsvermogen. Meer kennis over de werking van de hersenen van dieren en ontwikkeling van nieuwe methoden voor humaan hersenonderzoek, kunnen ons helpen om de *nature-nurture* aspecten van het menselijk adaptief vermogen beter te begrijpen. Vervolgens kunnen nieuwe hypothesen worden opgesteld omtrent de oorzaken van maladaptatie en de manieren om de mentale en fysieke gevolgen van mislukte adaptatie te genezen of, beter nog, te voorkomen.

DANKWOORD

Mijnheer de rector, dames en heren,

Met dit afscheidscollege heb ik een ode willen brengen aan mijn vakgebied de Dierkunde en meer in het bijzonder aan de Neurobiologie en haar diermodellen, maar ook aan al degenen die mij op mijn academische reis hebben geleid en begeleid. Een aantal van hen wil ik expliciet bedanken.

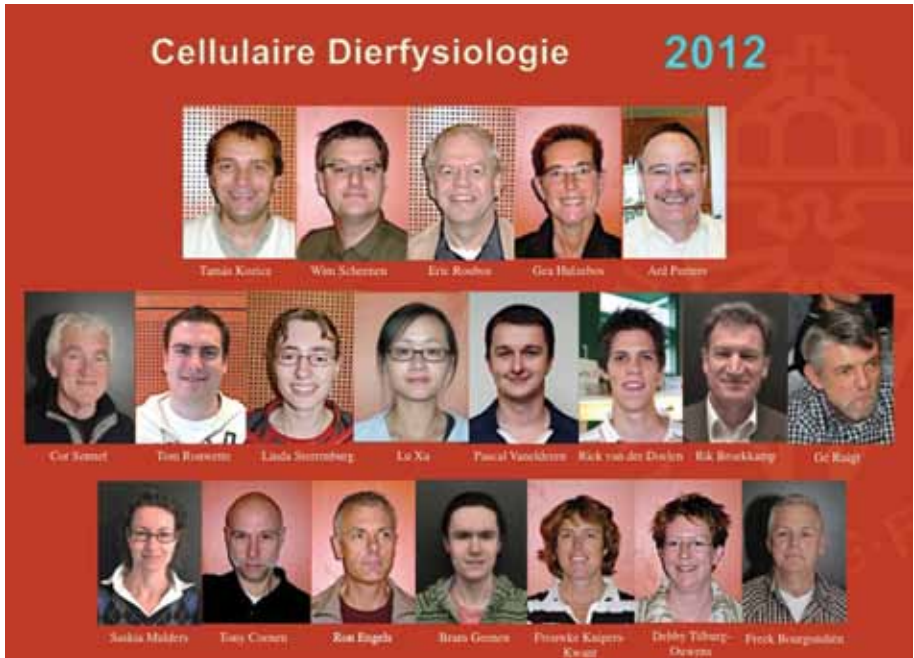
Het stichtingsbestuur en het college van bestuur van onze universiteit dank ik voor het in mij gestelde vertrouwen. Het was een voorrecht hier te mogen werken. Roelof de Wijkerslooth, tot voor kort voorzitter van het college: zoals je onlangs memoreerde, het is één dezer dagen vijftig jaar geleden dat we elkaar voor het eerst ontmoetten, in de vierde klas van dat Stedelijk Gym in Utrecht. Ik kan me niet meer herinneren wat meneer Van der Steen van jouw mosseltekening vond, maar jouw immer stimulerende aandacht en steun voor biologisch onderzoek en onderwijs heb ik altijd zeer gewaardeerd.

Besturen van de Faculteit der Natuurwetenschappen, Wiskunde en Informatica met de huidige decaan Stan Gielen, directoraten van het Donders Institute for Brain, Cognition and Behaviour en van het Nijmeegs Instituut voor Biowetenschappen met de respectieve huidige directeuren Paul Tiesinga en Gert Flik, en besturen van de voormalige Subfaculteit Biologie: u allen ben ik zeer erkentelijk voor het faciliteren van onderwijs en onderzoek van mijn afdeling.

De facultaire en universitaire collega's in onderwijs en onderzoek, en de leden van ondersteunende diensten dank ik voor de samenwerking, de collegialiteit en de prima ondersteuning.

Mijn grote dank gaat ook uit naar de vele externe organisaties die ons onderzoek hebben gesponsord, zoals de EU, CNRS, EURON en SRON, en niet in het minst naar NWO voor meer dan drie decennia onafgebroken steun.

Velen hebben aan mijn wetenschappelijke *nurture* bijgedragen. Wijlen mijn leermeesters Van der Steen, Van Oordt, Boer, Joosse en Lever wezen mij de weg in de Dierkunde. Ook Henk Goos, Jan Peute en Wijnand Geraerts, mijn leermeesters en later collega's, die mij de liefde voor de endocrinologie en de neurobiologie hebben bijgebracht, ben ik zeer erkentelijk, evenals de leden van de afdeling Histologie en elektronenmicroscopie aan de Vrije Universiteit.



Figuur 16. Leden van de afdeling Cellulaire Dierfysiologie per 30 april 2012.

Sjoerd Wendelaar: jouw *nurture*, eerst als begeleider, later als *collega proximus* en tegenwoordig als *collega emeritus* en vriend, is voor mij van grote betekenis.

Tot mijn huidige *collegae proximi*, Gert Flik en Gerard Martens, zeg ik: gezamenlijk hebben wij de Dierfysiologie gediend, van molecuul tot organisme; dank jullie wel voor een prachtige tijd. Blijf de Dierkunde hoog in het vaandel voeren. Het ga jullie goed.

Leden en oud-leden van Cellulaire Dierfysiologie. Bruce Jenks: dank voor je bereidheid om samen met mij, bijna een kwart eeuw lang onderzoek te doen aan die bijzondere kikker *Xenopus*, die vooral ook jouw kikker was. Met je cursus Neurobiologie leverde je ook een belangrijke bijdrage aan het onderwijs van de afdeling. Zeer erkentelijk ben ik ook voor de voortreffelijke samenwerking met mijn andere stafmedewerkers, Tamás Kozicz, Wim Scheenen en wijlen Hans Leenders. Tamás en Wim, over jullie onderzoek heb ik vanmiddag met trots verteld, maar ik dank jullie ook voor je aandeel in het onderwijs. Ik wens jullie, evenals collega Ard Peeters, die onze afdeling niet alleen materieel maar, samen met zijn team van gastmedewerkers, ook gedragsfysiologisch heeft verrijkt, een succesvolle toekomst. Ook dank ik de analisten, oud-analisten en overig ondersteunend personeel van de afdeling; jullie kennis en enthousiasme vormden een stabiele

pijler onder ons onderwijs en onderzoek, en jullie stonden ook garant voor de welhaast spreekwoordelijke gezelligheid op de afdeling, en dat geldt ook voor onze secretaresses, Else Schaberg en Gea Hulzebos. Zonder jullie kunde en toewijding had ik mijn werk niet met zoveel plezier kunnen doen.

(Oud-)promovendi en postdocs, jullie hadden het leeuwenaandeel in ons onderzoek. Ik ben jullie erkentelijk voor het vertrouwen dat je in mij, als je promotor, hebt gesteld. En het plezier waarmee wij hebben samengewerkt zal ik niet licht vergeten. Aan jullie draag ik dit afscheidscollege op.

Dames en heren studenten, uit binnen- en buitenland. Dat u bij mij hebt willen studeren heb ik altijd als een eer ervaren. Blijf het beste geven aan wetenschappelijke nieuwsgierigheid en toewijding, zodat het u, de hoop en trots van deze universiteit, goed zal gaan.

Tansu Celikel, my successor as head of the department, now the department of Neurophysiology, you will be the captain of a very fine ship with an excellent crew. I wish you a beautiful sea and a very prosperous journey.

Wetenschap kent geen grenzen. Ik heb het voorrecht gehad om met velen te mogen samenwerken, in Nederland en daarbuiten, te veel om hier op te noemen. Maar voor één maak ik graag een uitzondering; je suis particulièrement reconnaissant à Hubert Vaudry de l'Université de Rouen, pour son support, collégialité et amitié durant plus de 35 ans de coopération très fructueuse.

Vrienden en familie dank ik voor hun interesse en stimulering. Twee vrienden wil ik met name bedanken. Rolf Haddering: tijdens onze studie in Utrecht was je mijn steun en toeverlaat, vooral bij botanie en plantensystematiek. En Han Boxma: ook jij ontleedde die middag in 1963 een mossel; jij werd chirurg, ik bioloog; een hechtere medisch-biologische vriendschap kan ik me niet voorstellen.

Toen mijn benoeming aan deze universiteit een feit werd, belde ik mijn vader. 'Pa', zei ik, 'ik heb goed nieuws: ik word hoogleraar'. 'Zie je wel,' schaterde hij, 'tóch leraar'! Zijn *nature* en *nurture* leven in mij voort.

En dat geldt uiteraard ook voor mijn moeder, hier vooraan: Ma, dat je de pensioenering van je enig kind meemaakt is wel bijzonder. En onze weddenschap dat je minstens 110 wordt, die ga ik winnen want jouw *nurture*, de belangrijkste van al, wil ik nog lang niet missen!

Tot slot: Ellen, Sander en Lisette. Jullie dank ik boven alles, voor al jullie liefde en steun. Ik weet zeker dat van nu af aan mijn *nature* zich optimaal aan jullie *nurture* zal aanpassen.

*Mijnheer de rector magnificus, dames en heren,
ik heb gezegd.*

EINDNOTEN

- 1 René Descartes' *Discours de la Méthode* is ook voor de filatelie van belang. Op 24 mei 1937 herdachten de Franse Posterijen met een speciale postzegel de publicatie, driehonderd jaar eerder, van dit beroemde werk. Naast zijn portret, gegraveerd naar een schilderij van Frans Hals, werd echter vermeld: Discours sur la Méthode. Na de ontdekking van de taalfout werd op 10 juni 1937 een gecorrigeerde versie uitgebracht. Omdat van beide zegels veel exemplaren zijn verkocht (4,5 en 5 miljoen, respectievelijk) is de foutdruk niet kostbaar, maar hij is niettemin opmerkelijk (Mangin en Mangin, 1999).
- 2 DNA = deoxyribonucleïnezuur, m(essenger)RNA = boodschapper ribonucleïnezuur.
In het licht van de huidige populariteit van menselijk DNA-onderzoek is het vermeldenswaard dat menselijke nucleïnezuren al bijna anderhalve eeuw geleden, in 1868, werden ontdekt. Dat gebeurde in etter (leukocyten) van gebruikt chirurgisch verband, door de Zwitserse arts Johann Friedrich Miescher (1844-1895) in het laboratorium van Felix Hoppe-Seyler aan de Universiteit van Tübingen (zie Dahm, 2008).
- 3 De benaming 'neuron' werd voor het eerst gebruikt in 1891, door de Duitse anatoom Heinrich Wilhelm Gottfried von Waldeyer-Hartz (1836-1921), die in 1888 ook de term 'chromosoom' had geïntroduceerd.
- 4 Maladaptatie is een belangrijke risicofactor voor het ontwikkelen van een depressieve stoornis. Depressie is in de westerse wereld de derde oorzaak van zelfmoord, en komt in Nederland voor bij 6,2 procent van de populatie tussen 18 en 65 jaar en bij vrouwen bijna twee maal zo vaak als bij mannen (de Graaf *et al.*, 2010). Externe factoren als een relatiebreuk of een als negatief ervaren arbeidssituatie, maar ook traumatische ervaringen in de vroege jeugd of zelfs *in utero* kunnen een negatieve impact hebben op het (latere) adaptief vermogen.
- 5 Het Utrechts Stedelijk Gymnasium (USG) werd opgericht op 4 december 1474 als de 'Hiëronymusschool', en werd in de zestiende eeuw omgedoopt tot 'Grote School' ter vooropleiding voor de Utrechtse universiteit. Gedurende mijn schooltijd werd het USG geleid door de classicus dr J(an) A.G. van der Veer, die ook de geschiedenis van de school beschreef (Van der Veer, 1974). Het 'gym' was lange tijd gevestigd aan de Homeruslaan 40 in Oudwijk, Utrecht-Oost. Het karakteristieke, in gele baksteen opgetrokken gebouw stamt uit 1932 en werd ontworpen door Johannes Izak Planjer. Wegens ruimtegebrek is de school in 2011 verhuisd naar een nieuwbouwpand aan de Ina Boudier-Bakkerlaan.
- 6 Malacologie is het onderdeel van de Dierkunde dat zich bezighoudt met de studie van mollusken (weekdieren). Deze vormen met ongeveer 100.000 levende soorten na de insecten de grootste stam in het dierenrijk. Malacologisch onderzoek betreft onder andere taxonomie, fysiologie, ecologie en evolutie van weekdieren. Lever had, onder andere, grote belangstelling voor een subdiscipline, de conchologie: de studie van de skeletten van mollusken, zoals schelpen en slakkenhuizen.
- 7 Al rond 1900 speculeerden evolutiewetenschappers over het bestaan van neuroglandulaire cellen. In 1919 identificeerde Carl Caskey Speidel (1893-1982) glandulaire neuronen in het ruggenmerg van de rog en postuleerde hun secretorische karakter, maar hij werd niet geloofd door biologen die meenden dat secretorische cellen óf hormonen afgeven aan het bloed en dus endocriene cellen zijn, óf elektrische impulsen genereren en derhalve als zenuwcellen moeten worden beschouwd. Ernst en Berta Scharrer onderbouwden Speidels hypothese dat neurosecretorische cellen beide eigenschappen bezitten, door dit type neuronen aan te tonen in vissen (E. Scharrer, 1928) en in verscheidene ongewervelden, zoals insecten en de zeeslakken *Aplysia limacina* en *Aplysia depilans* (B. Scharrer, 1935, 1937), en introduceerden een nieuw

vakgebied, de Neuroendocrinologie, dat de structurele en functionele relaties bestudeert tussen het zenuwstelsel en het endocriene systeem.

- 8 *Lymnaea* kan diervriendelijk worden genarcotiseerd door plaatsing in een met koolzuursneeuw gevuld bekeerglas. De overlevering wil dat deze methode werd bedacht op een warme zomermiddag op een terras aan het Amsterdamse Rembrandtplein, waar Lever en zijn studenten Joosse en Boer verkoeling zochten onder het genot van een (koolzuurhoudend) pilsje; teruggekeerd in het laboratorium werd een geslaagde proef op de som genomen door een poelslak te benevelen in een glas bier.
- 9 Later zijn ook elders, in en buiten het centrale zenuwstelsel van *Lymnaea*, neuronen gevonden die het eilegprohormoon van de caudodorsaalcellen produceren (van Minnen *et al.*, 1989). Er zijn aanwijzingen dat de neuropeptiden die door deze neuronen worden gemaakt ook een rol spelen bij het eileggedrag (Hermann *et al.*, 1997).
- 10 John Bertrand Gurdon liet zien dat eicellen die hij had voorzien van een celkern van een darmcel van *Xenopus*, zich ontwikkelden tot normale klauwkikkers. Daarmee toonde hij aan dat het DNA in één cel alle informatie bevat om een compleet dier te vormen. Pas veel later, in 1996, lukte deze klonering ook bij een zoogdier, het Schotse schaap Dolly.
- 11 Terwijl de Edinger-Westphalkern in *post mortem* hersenen van mannelijke zelfmoordslachtoffers een sterk verhoogde hoeveelheid urocortine mRNA bevat, vertoont de kern in vrouwelijke slachtoffers een verhoging van het mRNA van BDNF (de hersengroeifactor die de melanotrope cellen van *Xenopus* helpt adapteren aan de verhoogde vraag naar aMSH) (Kozicz *et al.*, 2008). De kern lijkt daarom een interessant doelwit voor het ontwikkelen van geslachtsspecifieke medicijnen tegen adaptatieziekten.

LITERATUUR

- Baker, H. (1742) 'The microscope made easy'. R. Dodsley, Londen. In: *Het Nuttig Gebruik van het Mikroskoop*. M. Houttuyn (vert.), De Erven Houttuyn, Amsterdam, 1770. 498 pp.
- Bos, A.P. (1999) *De Ziel en haar Voertuig: Aristoteles' Psychologie Geherinterpreteerd en de Eenheid van zijn Oeuvre Gedemonstreerd*. Damon, Leende. 144 pp.
- Bostock, J., Riley, H.T. (vert.) (1855) *Pliny the Elder: The Natural History*. Taylor en Francis, London.
- Bovenkamp-Janssen, M.C. van de (2004) *Cellular and Molecular Determinants of Spike-Wave Initiation and Maintenance in the Absence Epileptic WAG/Rij Rat*. PhD thesis. Radboud Universiteit Nijmegen. 123 pp.
- Buikhuisen, W. (1979) *Kriminologie in Biosociaal Perspectief*. Kluwer, Deventer. 94 pp.
- Calle, M., Corstens, G.J.H., Wang, L., Kozicz, T.L., Denver, R.J., Barendregt, H.P., Roubos, E.W. (2005) 'Evidence that urocortin 1 acts as a neurohormone to stimulate *αMSH* release in the toad *Xenopus laevis*'. *Brain Res.* 1040: 14-28.
- Cornelisse, L.N., Scheenen, W.J.J.M., Koopman, W.J.H., Roubos, E.W., Gielen, C.C.A.M. (2001) 'Minimal model for intracellular calcium oscillations and electrical bursting in melanotrope cells of *Xenopus laevis*'. *Neural Comput.* 13: 113-137.
- Corstens, G.J.H. (2006) *Cellular and Molecular Aspects of Xenopus Melanotrope Cell Functioning*. PhD thesis. Radboud Universiteit Nijmegen. 143 pp.
- Dahm, R. (2008) 'Discovering DNA: Friedrich Miescher and the early years of nucleic acid research'. *Hum. Genet.* 122: 565-581.
- Descartes, R. (1637) *Discours de la Méthode, pour bien Conduire sa Raison, et Chercher la Vérité dans les Sciences*. Deel IV. Ian Maire, Leiden.
- Elst, M.C. van der, Verheij, M.M., Roubos, E.W., Ellenbroek, B.A., Veening, J.G., Cools, A.R. (2005) 'A single exposure to novelty differentially affects the accumbal dopaminergic system of apomorphine-susceptible and apomorphine-unsusceptible rats'. *Life Sci.* 76: 1391-1406.
- Geraerts, W.P.M., Bohlken, S. (1976) 'The control of ovulation in the hermaphroditic freshwater snail *Lymnaea stagnalis* by the neurohormone of the caudodorsal cells'. *Gen. Comp. Endocrinol.* 28: 350-357.
- Galas, L., Bidaud, I., Bulant, M., Jenks, B.G., Ouwens, D.T., Jégou, S., Ladram, A., Roubos, E.W., Nicolas, P., Tonon, M.C., Vaudry, H. (2005) 'In situ hybridization localization of *TRH* precursor and *TRH* receptor mRNAs in the brain and pituitary of *Xenopus laevis*'. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 1040: 95-105.
- Graaf, R. de, Have, M. ten, Dorsselaer, S. van (2010). 'The Netherlands mental health survey and incidence study-2 (NEMESIS-2): design and methods'. *Int. J. Meth. Psych. Res.* 193: 125-141.
- Gurdon, J.B., Elsdale, T.R., Fischberg, M. (1958) 'Sexually mature individuals of *Xenopus laevis* from the transplantation of single somatic nuclei'. *Nature* 182: 64-65.
- Heeroma, J.H., Plomp, J.J., Roubos, E.W., Verhage, M. (2003) 'Development of the mouse neuromuscular junction in the absence of regulated secretion'. *Neuroscience* 120: 733-744.
- Hermann, P.M., Lange, R.P. de, Pieneman, A.W., Maat, A. ter, Jansen, R.F. (1997) 'Role of neuropeptides encoded on *CDC1-1* gene in the organization of egg-laying behavior in the pond snail, *Lymnaea stagnalis*'. *J. Neurophysiol.* 78: 2859-2869.

- Hogben, L. (1946) 'History of the Hogben test'. *Br. Med. J.* 12: 554.
- Huettel, S.A., Song, A.W., McCarthy, G. (2009) *Functional Magnetic Resonance Imaging*, 2 ed. Sinauer, Sunderland, MA.
- Jansen, E.J., Bakel, N.H. van, Loohuis, N.F., Hafmans, T.G., Arentsen, T., Coenen, A.J.M., Scheenen, W.J.J.M., Martens, G.J.M. (2012) 'Identification of domains within the V-ATPase accessory subunit Ac45 involved in V-ATPase transport and Ca²⁺-dependent exocytosis'. *J. Biol. Chem.* 287: 27537-27546.
- Jenks, B.G. (2009) 'Regulation of proopiomelanocortin gene expression: an overview of the signaling cascades, transcription factors, and responsive elements involved'. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 1163: 17-30.
- Jenks, B.G., Galas, L., Kuribara, M., Desrues, L., Kidane, A.H., Vaudry, H., Scheenen, W.J.J.M., Roubos, E.W., Tonon, M.C. (2011) 'Analysis of the melanotrope cell neuroendocrine interface in two amphibian species, *Rana ridibunda* and *Xenopus laevis*: a celebration of 35 years of collaborative research'. *Gen. Comp. Endocrinol.* 170: 57-67.
- Jenks, B.G., Kuribara, M., Kidane, A.H., Kramer, B.M.R., Roubos, E.W., Scheenen, W.J.J.M. (2012) 'The role of brain-derived neurotrophic factor in the regulation of cell growth and gene expression in melanotrope cells of *Xenopus laevis*'. *Gen. Comp. Endocrinol.* 177: 315-321.
- Joosse, J. (1964) 'Dorsal bodies and dorsal neurosecretory cells of the cerebral ganglia of *Lymnaea stagnalis*'. *Arch. Néerl. Zool.* 16: 1-103.
- Joosse, J. (2009) 'Het slakkenonderzoek aan de Vrije Universiteit - 1956-1995'. In: *75 Jaar Nederlandse Malacologische Vereniging: Schitterende Schelpen en Slijmerige Slakken*. G.C. Cadée, S. van Leeuwen, J.J. ter Poorten, eds. pp. 56-64.
- Kidane, A.H., Dooren, S.H. van, Roubos, E.W., Jenks, B.G. (2007) 'Expression and physiological regulation of BDNF receptors in the neuroendocrine melanotrope cell of *Xenopus laevis*'. *Gen. Comp. Endocrinol.* 153: 176-181.
- Kolk, S.M., Kramer, B.M.R., Cornelisse, L.N., Scheenen, W.J.J.M., Jenks B.G., Roubos, E.W. (2002) 'Multiple control and dynamic response of the *Xenopus* melanotrope cell'. *Comp. Biochem. Physiol.* B132: 257-268.
- Korosi, A. (2006) *Neurobiology of Stress Adaptation in the Mouse: Roles of Corticotropin-Releasing Factor and Urocortin 1*. PhD thesis. Universiteit Utrecht. 157 pp.
- Kozicz, T., Tilburg-Ouwens, D., Faludi, G., Palkovits, M., Roubos, E.W. (2008) 'Gender-related urocortin 1 and brain-derived neurotrophic factor expression in the adult human midbrain of suicide victims with major depression'. *Neuroscience* 152: 1015-1023.
- Kozicz, T.L. (2007) 'On the role of urocortin 1 in the non-preganglionic Edinger-Westphal nucleus in stress adaptation'. *Gen. Comp. Endocrinol.* 153: 235-240.
- Kramer, B.M.R. (2002) *Regulation of Background Adaptation in Xenopus laevis: Peptides and Pathways*. PhD thesis. Radboud Universiteit Nijmegen, 143 pp.
- Kramer, B.M.R., Cruisjes, P.M.J.M., Ouwens, D.T.W.M., Coolen, M.W., Martens, G.J.M., Roubos, E.W., Jenks, B.G. (2002) 'Evidence that brain-derived neurotrophic factor acts as an autocrine factor on pituitary melanotrope cells of *Xenopus laevis*'. *Endocrinology* 143: 1337-1345.
- Kuribara, M. (2011) *Environmental Activation of Melanotrope Cells of Xenopus laevis*. PhD thesis. Radboud Universiteit Nijmegen. 143 pp.

- Kuribara, M., Hess, M.W., Cazorla, H., Roubos, E.W., Scheenen, W.J.J.M., Jenks, B.G. (2011) 'Brain-derived neurotrophic factor stimulates growth of pituitary melanotrope cells in an autocrine way'. *Gen. Comp. Endocrinol.* 170: 156-161.
- Lever, J. (1957) 'Some remarks on neurosecretory phenomena in *Ferrissia* sp. (Gastropoda, Pulmonata)'. *Proc. Kon. Ned. Akad. Wet., Ser. C* 60: 510-522.
- Lever, J., Kok, M., Meuleman, E.A., Joosse, J. (1961). 'On the location of Gomori-positive neurosecretory cells in the central ganglia of *Lymnaea stagnalis*'. *Proc. Kon. Ned. Akad. Wet., Ser. C* 64: 640-647.
- Locke, J. (1690) *Two Treatises of Government*. P. Laslett, ed., Cambridge University Press.
- Maguire, E.A., Gadian, D.G., Johnsrude, I.S., Good, C.D., Ashburner, J., Frackowiak, R.S., Frith, C.D. (2000) 'Navigation-related structural changes in the hippocampi of taxi drivers'. *Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A.* 97: 4398-4403.
- Mangin, J.-P., Mangin, M.-A. (1999) 'Guide Mondial des Timbres Erronés'. Yvert et Tellier, Amiens. 735 pp.
- McEwen, B.S. (1998) 'Stress, adaptation, and disease. Allostasis and allostatic load'. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 840: 33-44.
- Minnen J. van, Smit, A.B., Joosse, J. (1989) 'Central and peripheral expression of genes coding for egg-laying inducing and insulin-related peptides in a snail'. *Arch. Histol. Cytol.* 52 Suppl: 241-252.
- Nieuwkoop, P.D., Faber, J. (1956) *Normal Table of Xenopus laevis (Daudin)*. North-Holland Publishing, Amsterdam. 243 pp.
- Pennisi, E. (2003) 'A low number wins the genesweep pool'. *Science* 300: 1484.
- Pinker, S. (2002) *The Blank Slate: the Modern Denial of Human Nature*. Putnam, New York. 509 pp.
- Ramsay, G.G. (1918) Vert.: D.I. Juvenalis, Satire 10: *The Vanity of Human Wishes*. ca. 100 v. C. http://www.tertullian.org/fathers/juvenal_satires_10.htm
- Roubos, E.W. (1984) 'Cytobiology of the ovulation-neurohormone producing Caudo-Dorsal Cells of the snail *Lymnaea stagnalis*'. *Int. Rev. Cytol.* 89: 295-346.
- Roubos, E.W. (1986) 'Structuur en functioneren van het peptiderge Neuron'. In: *Neuropeptiden, Hersenen, Gedrag en Verslaving*. J. Joosse, P.E. Voorhoeve, eds. Pudoc, Wageningen. pp. 43-70.
- Roubos, E.W., Dahmen, M., Kozicz, T.L., Xu, L. (2012) 'Leptin and the hypothalamo-pituitary-adrenal stress axis'. *Gen. Comp. Endocrinol.* 177: 28-36.
- Roubos, E.W., Scheenen, W.J.J.M., Jenks, B.G. (2005) 'Neuronal, neurohormonal, and autocrine control of *Xenopus* melanotrope cell activity'. In: *Trends in Comparative Endocrinology and Neurobiology*. H. Vaudry, E.W. Roubos, L. Schoofs, G. Flik, D. Larhammar, eds. Ann. N.Y. Acad. Sci. 1040: 172-183.
- Roubos, E.W., Wijk, D.C.W.A. van, Kozicz, T., Scheenen, W.J.J.M., Jenks, B.G. (2010) 'Plasticity in melanotrope cell regulations in *Xenopus laevis*'. *Eur. J. Neurosci.* 32: 2082-2086.
- Rouwette, T.P.H. (2012) *Neuropathic Pain and the Brain - Differential Involvement of Corticotropin-Releasing Factor and Urocortin 1 in Acute and Chronic Pain Processing*. PhD thesis. Radboud Universiteit Nijmegen. 161 pp.
- Scharrer, B. (1935) 'Über das Hanströmsche Organ X bei Opisthobranchiern'. *Pubbl. Staz. Zool. Napoli* 15: 132-142.

- Scharrer, B. (1937) 'Über sekretorisch tätige Nervenzellen bei wirbellosen Tieren'. *Naturwissenschaften* 25: 131-138.
- Scharrer, E. (1928) 'Die Lichtempfindlichkeit blinder Elritzen. Untersuchungen über das Zwischenhirn der Fische. I'. *Z. Vergl. Physiol.* 7: 1-38.
- Scheenen, W.J.J.M., Jenks, B.G., Willems, P.H.G.M., Roubos, E.W. (1993) 'Spontaneous calcium oscillations in melanotrope cells of *Xenopus laevis*'. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 680: 603-605.
- Selye, H. (1936) 'A syndrome produced by diverse nocuous agents'. *Nature* 138: 32-34.
- Selye, H. (1978) *The Stress of Life*. Gereviseerde uitgave. McGraw-Hill, New York.
- Speidel, C.C. (1919) 'Gland-cells of internal secretion in the spinal cord of the skates'. *Publ. Carneg. Inst.* 13: 1-31.
- Sterrenburg, L. (2012) *The Stress Response of Forebrain and Midbrain Regions: Neuropeptides, Sex-specificity and Epigenetics*. PhD thesis. Radboud Universiteit Nijmegen. 151 pp.
- Strien, F.J.C. van, Devreese, B., Beumen, J. van, Roubos, E.W., Jenks, B.G. (1995) 'Biosynthesis and processing of the N-terminal part of proopiomelanocortin in *Xenopus laevis*: characterisation of γ -MSH peptides'. *J. Neuroendocrinol.* 7: 807-815.
- Swaab, D.F. (2010) *Wij zijn ons Brein*. Contact, Amsterdam. 480 pp.
- Tonosaki, Y., Cruijnsen, P.M.J.M., Nishiyama, K., Yaginuma, H., Roubos, E.W. (2004) 'Low temperature stimulates α -melanophore-stimulating hormone secretion and inhibits background adaptation in *Xenopus laevis*'. *J. Neuroendocrinol.* 16: 894-905.
- Ubink, R., Jenks, B.G., Roubos, E.W. (1997) 'Physiologically induced Fos expression in the hypothalamo-hypophyseal system of *Xenopus laevis*'. *Neuroendocrinology* 65: 413-422.
- Vaughan, J., Donaldson, C., Bittencourt, J., Perrin, M.H., Lewis, K., Sutton, S., Chan, R., Turnbull, A.V., Lovejoy, D., Rivier, C., Rivier, J., Sawchenko, P., Vale, W.W. (1995) 'Urocortin, a mammalian neuropeptide related to fish urotensin I and to corticotropin-releasing factor'. *Nature* 378: 287-292.
- Veer, J.A.G. van der (1974) *De Geschiedenis van het Utrechts Stedelijk Gymnasium van 1474 tot 1974*. Jaarboek 1974 Oud-Utrecht. 64 pp.
- von Waldeyer-Hartz, H.W.G. (1888) 'Über Karyokinese und ihre Beziehungen zu den Befruchtungsvorgängen'. *Arch. Mikrosk. Anat. Entwicklungsmechan.* 32: 1-122.
- von Waldeyer-Hartz, H.W.G. (1891) 'Über einige neuere Forschungen im Gebiete der Anatomie des Centralnervensystems'. *Deutsche Med. Wochensh. Berlin* 17: 1213-1356.
- Vreugdenhil, E., Jackson, J.F., Bouwmeester, T., Smit, A.B., Minnen, J. van, Heerikhuizen, H. van, Klootwijk, J., Joosse, J. (1988) 'Isolation, characterization, and evolutionary aspects of a cDNA clone encoding multiple neuropeptides involved in the stereotyped egg-laying behavior of the freshwater snail *Lymnaea stagnalis*'. *J. Neurosci.* 8: 4184-4191.
- Wang, L.C., Meijer, H., Humbel, B.M., Jenks, B.G., Roubos, E.W. (2004) 'Activity-dependent dynamics of coexisting BDNF, POMC and MSH in melanotrope cells of *Xenopus laevis*'. *J. Neuroendocrinol.* 16: 19-25.
- Watts, A.G. (2011) 'Structure and function in the conceptual development of mammalian neuroendocrinology between 1920 and 1965'. *Brain Res. Rev.* 66: 174-204.

- Wendelaar Bonga, S.E. (1970) 'Ultrastructure and histochemistry of neurosecretory cells and neurohaemal areas in the pond snail *Lymnaea stagnalis* (L.)'. *Z. Zellforsch. Mikrosk. Anat.* 108: 190-224.
- Wendelaar Bonga, S.E. (1971) 'Formation, storage, and release of neurosecretory material studied by quantitative electron microscopy in the fresh water snail *Lymnaea stagnalis* (L.)'. *Z. Zellforsch. Mikrosk. Anat.* 113: 490-517.
- Wijk, D.C.W.A. van, Xu, L., Spiegelberg, L., Struik, R.F., Meijer, H., Kozicz, T.L., Gaszner, B., Roubos, E.W. (2009) 'Ultrastructural and immunocytochemical characterization of the rat non-preganglionic Edinger-Westphal nucleus'. *Gen. Comp. Endocrinol.* 164: 32-39.
- Xu, L. (2011) *The Non-Preganglionic Edinger-Westphal Nucleus: an Integration Center for Energy Balance and Stress Adaptation*. PhD thesis. Radboud Universiteit Nijmegen. 152 pp.
- Xu, L., Scheenen, W.J.J.M., Leshan, R.L., Patterson, C.M., Elias, C.F., Bouwhuis, S., Roubos, E.W., Myers, M.G. Jr., Kozicz, T. (2011) 'Leptin signaling modulates the activity of urocortin 1 neurons in the mouse non-preganglionic Edinger-Westphal nucleus'. *Endocrinology* 152: 978-988.
- Young, J.Z. (1936) 'The structure of nerve fibres in cephalopods and Crustacea'. *Proc. R. Soc. Lond. B*121: 319-337.
- Zhang, H.Y., Langeslag, M., Voncken, M., Roubos, E.W., Scheenen, W.J.J.M. (2005) 'Melanotrope cells of *Xenopus laevis* express multiple types of high-voltage-activated Ca²⁺ channels'. *J. Neuroendocrinol.* 17: 1-9.

