

SAMENVATTING

Hoofdstuk 1. Doel van het onderzoek is inzicht te verkrijgen in de wijze waarop veranderingen in de morfologie van het gehoor orgaan van invloed zijn op het functioneren daarvan. Daartoe werd bij "wals"-cavia's electrocochleografisch en electronen-microscopisch onderzoek verricht. Op deze wijze kunnen zowel veranderingen in het functioneren als ook veranderingen in de bouw van het gehoororgaan vastgelegd worden. Walscavia's behoren tot een cavia mutant waarbij congenitaal een progressief gehoorverlies optreedt.

Hoofdstuk 2. Omdat in dit onderzoek het verband tussen morfologie en electrofysiologie bestudeerd werd, wordt tevoren uitvoerig de bouw van het normale gehoororgaan en de normale electrofysiologie, zoals die met een macroelectrode van de cochlea geregistreerd kan worden, beschreven.

Hoofdstuk 3. De literatuur, die van walscavia's bekend is, beschrijft vrijwel alleen de morfologie van het veranderde gehoor- en evenwichtorgaan. Deze morfologische gegevens maken duidelijk, dat de aangeboren afwijking zich beperkt tot de zintuigcel van zowel gehoor- als evenwichtorgaan, en dat de overige structuren van het binnenoor pas bij dieren ouder dan 1 jaar afwijkingen gaan vertonen. Degeneratieve veranderingen in het auditieve centrale zenuwstelsel treden eerst op na 30 dagen. Het gehoor van walscavia's, zoals vastgesteld bij geconditioneerde dieren, neemt gedurende de eerste 28 levensdagen af, waarna een volledig gehoorverlies is opgetreden. De electrofysiologische informatie beperkt zich tot de bevinding dat van proefdieren ouder dan 4 weken, behalve cochleaire microfonie, geen elektrische potentialen kunnen worden afgeleid.

Hoofdstuk 4. Door de geringe morfologische afwijkingen in het gehoororgaan van jonge walscavia's zijn deze dieren geschikt voor het bestuderen van de samenhang tussen de submicroscopische veranderingen in de zintuigcel en veranderingen in de electro-fysiologie.

Teneinde interpretatie mogelijk te maken van de bij waltzers gevonden afwijkingen dienden normale proefdieren onder dezelfde omstandigheden onderzocht te worden. Dit is vooral ook van belang voor het beantwoorden van de vraag waar in de zintuigcel de aangeboren afwijking het eerst tot uiting komt.

Hoofdstuk 5. Bestudeerd werden 90 walscavia's en 36 normale cavia's. Omdat op grond van de literatuurgegevens de belangrijkste veranderingen bij de jongste proefdieren verwacht werden, werd een zodanige indeling in 8 groepen gekozen dat het accent met name op het bestuderen van deze jongste dieren kwam te liggen.

Electrocochleografische afleidingen vonden plaats bij genarcotiseerde proefdieren. Bij 2 normale proefdieren werd de invloed van deze narcose op de verschillende arteriële bloedgaswaarden onderzocht.

De techniek waarmee de elektrische potentialen van het ronde venster van de cochlea afgeleid werden, wordt in dit hoofdstuk besproken. De afgeleide potentialen zijn: de samengestelde actiepotentialaal (AP), het gelijkstroompotentialaalverschil (SP) en de cochleaire microfonie (CM).

Met behulp van een toon op toon maskeertechniek werd bij 2 normale proefdieren vastgesteld welk gebied op de basilair membraan van het gehoororgaan gestimuleerd werd door de gebruikte geluidsstimuli (4 kHz en 10 kHz toonstootjes).

In dit hoofdstuk worden verder de methoden besproken via welke de cochleae geprepareerd werden voor scanning (SEM) en transmissie (TEM) electronenmicroscopisch onderzoek.

Hoofdstuk 6. Uit de resultaten van de electrocochleografische afleidingen van *normale* proefdieren bleek dat vooral gedurende de eerste levensweek een vergroting van de amplitudo

van de AF optrad, terwijl de overige electrocochleografische potentialen niet in grootte toenamen. Een uitzondering hierop vormden pasgeboren *cavia's*; bij deze dieren was behalve de AF ook de SP amplitudo lager dan normaal.

De electrocochleografische afleidingen van de *wals - cavia's* toonden een afnemende amplitudo van de AP met toenemende leeftijd. Van deze AP was, onafhankelijk van de leeftijd, de latentietijd toegenomen. Bij dieren ouder dan 21 dagen kon geen AF meer worden afgeleid. De SP was dan nog aanwezig, zij het dat ook hiervan de amplitudo reeds vanaf de geboorte lager was dan normaal. Bij dieren ouder dan 33 dagen nam de SP in grootte snel af tot onmeetbaar lage waarden. De CM was normaal tot subnormaal tot een leeftijd van 33 dagen, daarna waren aanzienlijk sterkere geluidsstimuli nodig om CM op te wekken.

Bij het morfologisch onderzoek van *normale cavia's* bleek dat in de basale zone van de binnenste haarcellen gedurende de eerste 2 levensdagen geen "synaptic bars" maar alleen "synaptic vesicles" aanwezig waren. Synaptic bars werden wel gezien in de zintuigcellen van oudere dieren, waarin zij gedurende de eerste week in aantal en grootte toenamen.

De morfologische afwijkingen bij *walscavia's* betroffen in eerste instantie alleen de haarceltop: het niveau van de cuticula, met uitzondering van het stereocilia dragende gedeelte, was verhoogd. Met toenemende leeftijd nam deze afwijking toe, waarbij ook de stereocilia in hun geheel naar boven verplaatst werden. In tweede instantie werden afwijkingen in de basale zone van de binnenste haarcellen zichtbaar: een volledig ontbreken van "synaptic bars". Daarna degenereerden de innerverende afferente zenuwvezels. Tenslotte vernauwde zich het subapicale gebied van zowel de binnenste als de buitenste haarcellen en werd de haarceltop uitgestoten. De mate van distorsie van de haarceltop en het percentage haarcelverlies van elke *cavia* werden gekwantificeerd in cochleogrammen. De onderzijde van de tectoriaal membraan toonde soms een verdubbeling van de afdrukken van de stereocilia van de buitenste haarcellen. Afdrukken van deze stereocilia konden zelfs aangetoond worden

in de tectoriaal membraan van een walscavia ouder dan 1 jaar, waarbij het gehele orgaan van Corti reeds lang gedegenerereerd was.

Hoofdstuk 7.

i - De anaesthesie, zoals tijdens de experimenten gegeven, bleek dusdanig geringe veranderingen in de pO_2 en pCO_2 alsmede in de pH van arterieel bloed te veroorzaken, dat hiervan geen invloed op de electrocochleografische registraties te verwachten was.

ii - In de discussie over de electrocochleografische resultaten van de *normale* cavia's wordt geconcludeerd dat in het gehoororgaan een rijpingsproces optreedt gedurende de eerste levensweek. Dit proces is of gerelateerd aan de zintuigcel zelf of aan de afvoerende afferente zenuwvezel. Bij dieren ouder dan 7 uur worden zowel de binnenste als de buitenste haarcellen "normaal" gestimuleerd. Op grond van de gevonden morfologische veranderingen in de basale zone van de haarcellen (synaptic bars) van deze dieren kan aangenomen worden dat het rijpingsproces in de normaal gestimuleerde zintuigcel optreedt en de eerste levensweek voortduurt.

iii - De electrocochleografische veranderingen zoals gevonden bij *walscavia's* kunnen verklaard worden door 1) verminderde stimulatie van de binnenste haarcellen, 2) verminderde "bioelectrische" transmissie via de normaal geactiveerde binnenste haarcel, of 3) door een niet synchroon optreden van de depolarisaties van de afferente zenuwvezels. Op grond van de normale vorm van de AP en het feit dat ook de SP afwijkt lijkt deze laatste hypothese minder waarschijnlijk. De gevonden morfologische afwijkingen in de top van de zintuigcel van jonge waltzers lijken vooral te passen bij een verminderde stimulatie van de haarcel. Aangezien echter de eerste expressie van de aangeboren afwijking waarschijnlijk in de celmembraan of de direct hierbinnen gelegen actine filamenten gelocaliseerd is, moet ook de tweede mogelijkheid als de oorzaak van de gevonden

electrocochleografische veranderingen overwogen worden. In elk geval lijkt dit proces van verminderde excitatie tot degeneratie van de afferente zenuwvezels van de binnenste haarcellen en van de centrale auditieve zenuwbanen te leiden. Kennelijk is voor een normale ontwikkeling van dit deel van het centrale zenuwstelsel een adequate auditieve prikkel onontbeerlijk. Pas veel later, als ook de buitenste haarcellen niet meer gestimuleerd worden, degenereren ook hier de afferente zenuwvezels. In de haarcel zelf degenereren dan ook het cytoskelet, de stereocilia en de celmembraan.

Door de gevonden electrocochleografische afwijkingen bij waltzers te relateren aan de gekwantificeerde morfologische afwijkingen, kan aannemelijk gemaakt worden dat gedurende het morfologische degeneratieproces niet alleen de binnenste haarcellen van het orgaan van Corti verminderd gestimuleerd worden, maar dat ook, met toenemende leeftijd, een verminderde "electrische" transmissie door de haarcel optreedt leidende tot een volledig (electrocochleografisch) gehoorverlies.