

SAMENVATTING EN ALGEMENE BESCHOUWING

De vele onopgeloste problemen betreffende het normale en pathologische reukepitheel, brachten ons ertoe om nieuwe gegevens met behulp van de electronen microscoop te verzamelen. Daarbij trokken de reukvesikels, de haarvormige structuren op het reukepitheel, de membrana limitans olfactoria van VON BRUNN, het pigment en de regeneratie van het epitheel onze aandacht. Bij electronen microscopisch onderzoek van het normale reukepitheel in de kat vonden wij verschillende typen van reukepitheel, vooral verschillend wat betreft hun oppervlaktestructuren, als ook de rangschikking van hun kernen.

Bij het algemeen beschreven en bekende type, hier type I genoemd, liggen de vesiculae olfactoriae boven het celoppervlak. De protoplasmalaag zonder kernen wordt naar onderen begrensd door een laag steuncelkernen, die weer begrensd is door de donker gekleurde osmiophile reukcelkernen. Basaalcellen zijn bij het volledig ontwikkelde epitheel sporadisch te vinden.

Bij type II worden de vesiculae olfactoriae in de dalen — gevormd door de wanden der steuncellen — gevonden. De bovenste rij kernen zijn hier reukcelkernen, waaronder steuncelkernen liggen, in tegenstelling tot type I. Onder de rij steunkernen ligt een enorme hoeveelheid basaalcellen, die de mogelijkheid van regeneratie doet vermoeden. In deel II van dit werk wordt dan ook de conclusie getrokken, dat dit een regeneratiestadium van het reukepitheel is.

Het bestaan van de membrana olfactoria limitans van VON BRUNN wordt bevestigd door het vinden van reukepitheel type III. In dit epitheel is een groot netwerk van tussenschotten tussen de steun- en reukcellen aanwezig. Deze tussenschotten omgeven grotendeels de reukcellen en de uitvoergangen van de klieren van Bowman. Dicht onder het oppervlak smelten ze samen tot een syncytiale cuticula bestaande uit de meest perifere delen der steuncellen; deze cuticula is op sommige plaatsen dik, op andere plaatsen dun of afwezig. Hij is doorboord door de perifere uitsteeksels van de reukcellen. Op de oppervlakte van de cuticula ziet men knotsvormige of bloemkoolachtige aanzwellingen, waarvan tubulaire protoplasma-uitsteeksels uitgaan; deze laatsten worden ook op de steuncel aangetroffen. Tussen deze aanzwellingen liggen de vesikels. Deze membraan en de tussenschotten bestaan uit een dichte, schijnbaar amorphe, osmiophile substantie, waarin donkere granula gezien kunnen worden; deze structuren worden verondersteld een intercellulair of een intracellulair product van de steuncellen te zijn.

Dit type III wordt steeds in het achterste deel van de neusholte van drie katten

gevonden. De topografische projectie van dit gebied op het achterste deel der bulbus, aangetoond door LE GROS CLARK en WARWICK, en het grote aantal actiepotentialen in dit deel der bulbus opgewekt bij ruiken van vlees en vis of vluchtige oliën, (ADRIAN 1956) maken het waarschijnlijk, dat dit type overwegend gevoelig is voor deze stoffen.

Het perifere deel van het reukneuron bevat veel draadvormige donkere structuren, die uit conglomeraties van protofibrillen schijnen te bestaan; deze structuren ontbreken in het meest perifere gedeelte vlak onder en in de vesicula olfactoria. In de vesiculae zijn geen holten, wel kleine vacuolen. Vanaf de vesikel ontspruiten minstens 36—40 reukharen, die uitgaan van een basaallichaam of diplosoom. De basale dwarsplaten van deze basaallichamen zijn onderling door electronen-dichte lijnvormige structuren verbonden. De cilia lopen — althans in de gemaakte preparaten — meest evenwijdig aan de oppervlakte. Als de vesikel in een dal ligt, lopen de cilia olfactoria eerst loodrecht omhoog, waarna ze, als ze boven de oppervlakte uitkomen, hieraan evenwijdig gaan lopen. Zij rusten op de tubulaire uitsteeksels der steuncellen. De cilia olfactoria hebben eenzelfde bouw als alle trilharen gevonden in de hele fauna en flora: een axiale fibrillenbundel bestaande uit een buitenste laag van negen dubbele fibrillen en twee fibrillen in het centrum en dit geheel omgeven door een schede van een granulaire structuur. De schede gaat over in de bedekkende cuticulaire protoplasmalaag op de vesikel. De fibrillenbundel is ook terug te vinden in het basaallichaam; hij gaat door de basale dwarsplaat en vervolgt zijn weg door de vesikel om daar grotere bundels fibrillen te vormen, die eindigen tussen of in de draadvormige structuren.

De steuncel is op dwarsdoorsnede zeshoekig; de reukceldendrieten liggen ingedrukt in de wanden van de steuncellen. In overeenstemming met GASSER worden ook door ons in de steuncel circulair en longitudinaal lopende structuren van het endoplasmatisch reticulum gevonden. In de steuncel worden oppervlakkig ook secretieproducten gezien. Wij opperen, dat de secretieholten zich mogelijk ontledigen via kleine openingen in het cuticulaire celoppervlak of via de tubulaire protoplasma-uitsteeksels. De steuncel vertakt zich naar onderen in uitlopers van allerlei vormen. Deze vertakkingen zijn vaak gevuld met pigmentgranula en een dichte massa osmiophile, korrelige protoplasmastructuren in verbinding staande met de tussenschotten der membrana olfactoria. In reukepitheel van jonge katten en mensen en ook in pathologisch en regenererend reukepitheel worden zeer weinig pigment granula gevonden. Bij het volledig ontwikkelde reukepitheel van de kat wordt het pigment meest basaal in rijtjes in de vertakkingen van de steuncellen en subepitheliaal in de klieren van Bowman gevonden. Bij de mens worden door de hele steuncel heen de granula aangetroffen en ook in de klieren van Bowman. Zowel in de klieren van Bowman als in de steuncellen kunnen deze granula kleiner worden, doordat ze vervloeien en zo secreet vormen.

In overeenstemming met de onderzoeken in vivo van SCHULTZE en HOPKINS worden door ons bij mens en kat met de electronen microscoop twee soorten haarvormige structuren op het epitheel gevonden. Deze onderzoekers vermelden echter in vivo een grotere lengte van de haren. Vermoedelijk zijn de „haren” door de kunstbewerkingen afgebroken of opgelost, dan wel omgebogen, zodat in de preparaten de

ware lengte niet vastgesteld kan worden. De tubulaire protoplasma-uitsteeksels op de steuncellen, aan de basis breder en perifeer steeds dunner wordend, vormen een plexus. Zij zijn niet identiek met microvilli. Het secreet wordt in dit netwerk vastgehouden. Voorts vormt het een skelet, waarop de vesikels en de cilia olfactoria rusten.

In een basaalcel worden soms groepen van axonen gevonden, elke groep omgeven door membranen, die volgens GASSER gevormd schijnen te worden door zeer diepe invaginaties van de protoplasma-membraan. Deze protoplasma-membraan gaat sub-epitheliaal geleidelijk over in de celmembraan van de Schwannse cellen. Dit is ook in overeenstemming met onze bevindingen.

Bij de volwassen kat en mens zien wij groepen van kliercellen van Bowman in verschillende secretiestadia. Deze worden aangetroffen in niet scherp gescheiden lagen. Het diepste liggen de indifferente cellen in het zogenaamde depôtstadium. Deze indifferente cellen, die practisch geen granula en weinig mitochondriën bevatten, worden bij jonge katten en baby's gevonden en zijn speciaal bij pathologisch en regenererend reukepitheel duidelijker zichtbaar. Hierboven en ook voor een klein gedeelte er tussen liggen vooral in volledig ontwikkeld reukepitheel de praesecretoire en actieve secretoire kliercellen. De praesecretoire kliercellen zijn vol met secretoire granula. Bij de secretoire kliercellen worden deze granula door vervloeiing, beginnend aan de periferie der korrels, in secreet omgezet. Het oppervlak van de kliercellen, de intercellulaire kanaaltjes en de klierbuizen zijn bedekt met kleine, haavormige, tubulaire uitsteeksels, korter en kleiner in diameter dan die van de steuncellen. De secreetlaag, die op deze structuren ligt, suggereert een mogelijke functie van deze uitsteeksels bij de secretie. De secreetvorming schijnt te beginnen in het apicale deel der cel, en later pas basaal in de cel.

Nog hoger wordt het stadium gezien waarin de cellen van de klier van Bowman practisch geheel in rust zijn na de secreetvorming. De kleine holten zonder secreet in deze cellen zijn omgeven door kleine puntvormige granula, welke waarschijnlijk resten van de pigmentgranula zijn. De kernen, in tegenstelling tot de celkernen in de andere stadia, zijn door hun verschillende osmiophilie donker en minder donker gekleurd. Celgroepen in dit stadium reiken soms tot in het epitheel. Intra-epitheliaal boven de basaallaag is de klierbuis niet meer omgeven door kliercellen, maar door reukcellen en steuncellen, die in epitheel type III verbonden zijn met het netwerk van tussenschotten uitgaande van de membrana olfactoria. Zo blijkt, dat de kliercellen met de reuk- en steuncellen één systeem vormen. Dit maakt een mogelijke overgang van de kliercellen via de basaalcellen in de reuk- en steuncellen aannemelijker.

Het verband tussen de grotere gevoeligheid en het minder snel uitgeput zijn van reukepitheel met een grotere hoeveelheid pigment, gevonden door ADRIAN, en ook de afwezigheid of sterke vermindering van reuk bij albino's, gevonden door HUTCHINSON en OGLE, wijst op het grote belang van het pigment bij het reukproces. Het blijkt, dat de pigmentgranula in de steuncellen en kliercellen kunnen vervloeien tot secreet. In de klieren van Bowman zijn zij actief secretoir, maar in de steuncellen en de basaalcellen meestal in rust. Een grote hoeveelheid pigment in een bepaald gedeelte van het reukepitheel wijst dus op de mogelijkheid om er meer secreet te produceren, dan in

andere gedeelten. Deze observaties maken het waarschijnlijk dat het secreet van de klieren van Bowman bij kat en mens onontbeerlijk is bij het ruiken.

Van de verschillende mogelijke pathologische veranderingen van het reukepitheel bestudeerden wij speciaal de resultaten van chemische beschadigingen. Voorts waren in een deel van ons materiaal infectieuze laesies aanwezig. In de literatuur wordt vaak een overgangsvorm naar trilhaarepitheel beschreven. Bij grote vergrotingen echter observeren wij, dat de cilia van een kleinere lengte en diameter zijn dan die van het respiratorische epitheel. Wij willen deze cilia dus microcilia noemen. De vesiculae olfactoriae zijn afwezig en de tubulaire protoplasma-uitlopers zijn verkort. De microcilia zouden mogelijk kunnen ontstaan uit de praeciliaire tubulaire protoplasma-uitsteeksels der steuncellen. Onder zo'n uitsteeksel verschijnt een diplosoom, waaruit waarschijnlijk een fibrillenbundel groeit in de as van dit buisje, zodat de protoplasma-uitloper tot schede van de fibrillenbundel van een microcilium kan worden. Bij chronische infectie groeien deze microcilia uit tot echte cilia, zodat dit gebied bedekt met cilia op het respiratorisch epitheel lijkt. Evenwel kunnen subepitheliaal de klieren van Bowman en de zenuwbundels toch jarenlang blijven bestaan. De microcilia fungeren mogelijk als verdedigingsmechanisme tijdens een neusinfectie.

De basaalcellen worden dikwijls vervangingscellen genoemd. Het is echter volgens sommige auteurs onmogelijk om deze onrijpe cellen te differentiëren met zenuwweefsel kleurmethoden, zoals wij ook ondervonden. Volgens NAGAHARA (1940) groeit bij de muis en volgens SCHULTZ (1941) bij de apen de centrale uitloper van de regenererende reukcellen het eerst uit. 43 dagen na de kunstmatig opgewekte regeneratie vinden wij in het reukepitheel van de kat een syncytiale laag cellen voorzien van langgerekte osmiophile kernen en basaal centrale uitlopers, profibrillen bevattend. Sommige cellen bevatten ronde, matig osmiophile kernen en secretieresten. Na 46 dagen van regeneratie zijn de toekomstige reukcellen met hun vesiculae olfactoriae in statu nascendi zichtbaar. Deze cellen bevatten osmiophile kernen en zijn voorzien van centrale uitlopers. In normaal reukepitheel bestaat ook een verschillende graad van osmiophilie van reuk- en steuncelkernen. Het lijkt waarschijnlijk, dat de basaalcellen, die osmiophile kernen en centrale uitlopers bevatten, de toekomstige reukcellen zijn en de cellen, die secretieresten en matig osmiophile kernen bevatten de toekomstige steuncellen zijn. Dezelfde beelden worden gevonden bij het menselijk reukepitheel.

43 dagen na de kunstmatig opgewekte regeneratie zijn bij de kat in de basale syncytiale laag cellen met secreetresten zichtbaar. Deze resten nemen in hoeveelheid af in de cellen, die verder van de hals der klierbuis afliggen. De indifferente klierzellen liggen voor het merendeel in de diepste lagen van het sub-epitheliale weefsel en het secreet wordt geleidelijk gevormd in de hoger gelegen cellen. Deze basaalcellen zijn dus waarschijnlijk rustende klierzellen en kunnen hun oorsprong hebben uit de meer secreet bevattende klierzellen om de buis. Aangezien de subepitheliaal gelegen klierbuizen in het epitheel

dringen — bij beiden ontbreekt een membrana propria — en de intra-epitheliale uitvoergangen omgeven worden door reuk- en steuncellen, is het aannemelijk, dat de klierzellen van onderen af overgaan in de basale laag. Embryologisch ontstaan de klier- en basale cellen gelijktijdig uit het neurectodermale embryonale reukepitheel.

Wegens de waarschijnlijke verplaatsing van de rustende klierzellen van Bowman naar de laag van de basaalcellen, wordt verondersteld, dat de klierzellen, die een zeer osmiophiele kern en soms een osmiophiel uitsteeksel bezitten, de voorlopers van de reukcellen zijn. De klierzellen, die matig osmiophiele kernen, kleine pigmentgranula en secretieresten bezitten, zijn vermoedelijk de voorlopers van de steuncellen. Dit is alles overeenkomstig met de verschillende graad in osmiophilie van de steun- en reukcelkernen in normaal reukepitheel. Men kan zich verwonderen, dat sensorische cellen ontstaan uit klierzellen, maar het embryonale karakter van normaal en regenererend reukepitheel maakt dit aannemelijk. BERGER (1926) beschreef in het esthesio-neuro-epithelium rosetten van cellen gelijkend op steuncellen en bipolaire reukcellen liggend om een buis.

Er wordt verondersteld, dat de onrijpe steuncellen zich in de basaallaag delen. De toekomstige reukcellen zijn reeds zo hoog gedifferentieerd wegens de aanwezigheid van protofibrillen in hun centrale uitlopers in de basaallaag, dat zij zich niet meer kunnen delen. Bij herhaalde regeneratie na recidiverende heftige infecties met verwoesting van de reukcellen, zal de voorraad van klierzellen van Bowman uitgeput raken, wegens het vermoedelijk ontbrekende of afnemende vermogen tot deling; hierdoor zal de regio olfactoria afnemen in omvang. Dit kan de oorzaak van de afname der reukzin bij oudere personen zijn, gevonden door VERSTEEG (1956). SMITH (1937) vond een gedeeltelijk of totaal verlies van zenuwvezels in de bulbus olfactorius van oudere personen, wat op hetzelfde feit wijst.

Een duidelijke analogie vinden wij tussen de embryologische ontwikkeling van het reukepitheel en de regeneratie, vooral van de oppervlaktestructuren. Embryonaal verschijnt ook eerst het centrale uitsteeksel van de reukneuroblast, pas later ontwikkelt zich de perifere uitloper met vesikel. VAN DER STRICHT beschreef reeds bij dwarsdoorsneden van het epitheel grotere en kleinere polygonale reukgebieden tijdens de embryonale ontwikkeling. Uit de kleinere polygonen, die al kleiner en ronder worden, ontstaan de sensorische cellen. Er bevinden zich in de reukvelden in statu nascendi centrosomen, die zich verdelen in centriolen en naar de periferie bewegen en zo worden tot diplosomen waaruit de cilia olfactoria ontspruiten. Dit zien wij eveneens bij de regeneratie van het oppervlak van het reukepitheel van de mens na een infectie en bij de kunstmatig opgewekte regeneratie van het reukepitheel van de kat. Aanvankelijk liggen de kernen tijdens de embryonale ontwikkeling en bij de regeneratie vlak onder het oppervlak. De osmiophiele reukcelkern met de centrioolachtige structuren lijken op deze manier het oppervlak tot de vorming van een vesicula olfactoria te induceren. Hierna schijnen de reukkernen met het grootste deel van het protoplasma vrij snel van uit hun heuveltjes naar de diepere lagen te migreren. Hierbij worden de perifere uitlopers bij het oppervlak kleiner en steeds smaller en tenslotte komen de vesiculae olfactoriae in statu nascendi diep in het dal tussen de aangrenzende aanstaande steuncelgebieden te liggen. Later kunnen de perifere

uitlopers langzaam uitgroeien en kunnen de reukvesikels meer op het niveau van het toekomstige steunceloppervlak komen te liggen. De steuncellen schijnen zich te begeven naar de bovenste laag, terwijl ze met hun perikaryon en Golginetwerk tijdens hun migratie de reukkern indeuken. Er bestaat zo in het syncytium een tegengesteld gerichte migratie van de reukkernen en steunkernen.

Reukepitheel type II van de kat met de vesikels in dalen en een syncytium van de bovenste lagen schijnt een regeneratiestadium te zijn. Er zijn dus bij de kat twee normale reukepitheeltypen aangetroffen: één zonder en één met de membrana olfactoria van VON BRUNN. Alle andere beschreven vormen zijn dus waarschijnlijk pathologische en regenererende vormen van het reukepitheel.

In pathologisch reukepitheel van de volwassen mens blijkt het, dat de reuk- en steuncellen niet noodzakelijk vernietigd behoeven te worden door een infectie. De oppervlaktestructuren zijn slechts beschadigd: de vesiculae olfactoriae zijn verdwenen en de tubulaire uitsteeksels zijn verkort. Onder de oppervlakte zijn verschillende centrioolachtige structuren zichtbaar. De eerste rij kernen onder het oppervlak zijn osmiophile, langgerekte kernen, die aan hun basis zijn ingedeukt door of liggen tussen steuncellen. Deze reukcelkernen schijnen te migreren naar de oppervlakkige laag, waar zij mogelijk de groei van de uitstekende structuren induceren.

Wij zijn ons bewust van het feit, dat dit werk slechts een begin van een volledig onderzoek van de gehele pathologie van het reukorgaan vormt. Mag onze poging anderen er toe brengen om hiermee verder te gaan, teneinde het bestaande hiaat op te vullen.

CONCLUSIES:

1. Er zijn bij de kat twee reukepitheeltypen, één zonder en één met de membrana limitans olfactoria van VON BRUNN. Dit laatste type schijnt achter in de neus te zijn gelegen en is waarschijnlijk gevoelig voor de geur van vluchtige oliën, vlees en vis. Behalve deze twee zijn alle andere beschreven vormen waarschijnlijk pathologische of regenererende vormen van reukepitheel.
2. De tussenschotten van de membrana limitans olfactoria omgeven grotendeels de steuncellen, de reukcellen en uitvoergangen van de klieren van Bowman.
3. Van de vesicula olfactoria, zijnde het perifeer uiteinde der reukcel, ontspruiten $\pm 36-40$ cilia olfactoria. Deze hebben dezelfde bouw als de respiratorische cilia, maar de axiale fibrillenbundel eindigt niet in het basaallichaam, doch gaat er door heen en door de vesicula olfactoria naar het intra-epitheliale gedeelte van de dendriet der reukcel. De basale dwarsplaten zijn onderling verbonden door donkere lijnvormige structuren.
4. Bij actief en volledig ontwikkeld reukepitheel vindt men veel secretoire pigmentgranula in de steuncellen en de klieren van Bowman. Het secreet van de klieren van Bowman zou van belang voor de reuk kunnen zijn. De klieren van Bowman worden in verschillende secretiestadia gevonden: het depôt-, het praesecretoire-, het secretoire- en het ruststadium.
5. Op de oppervlakte worden tubulaire protoplasma-uitsteeksels van de steuncellen

- gevonden; deze uitsteeksels steunen de vesiculae olfactoriae met hun cilia. Analoge kleinere tubulaire uitsteeksels worden op de kliercellen en in de kliergangen gevonden. Ze hebben mogelijk een functie in verband met de secretie. Zij zijn niet identiek met de microvilli. Voorts worden bij pathologisch en regenererend reukepitheel z.g. micro-cilia gevonden, die kunnen ontstaan uit de tubulaire protoplasma-uitlopers.
6. Er wordt verondersteld, dat uit de kliercellen van Bowman de basale of vervangcellen ontstaan, die de aanstaande reuk- en steuncellen zijn. Bij herhaalde regeneratie na herhaalde heftige infectie zal door de mogelijke afwezigheid of afname van mitoses in de kliercellen van Bowman het depôt van deze cellen uitgeput raken. Dientengevolge kan de regio olfactoria verkleind worden en de reukzin afnemen.
 7. De kunstmatig veroorzaakte regeneratie van de oppervlakkige structuren, o.a. de vesiculae olfactoriae en de tubulaire uitsteeksels der steuncellen, geschiedt op analoge wijze als de embryologische ontwikkeling. Er ontstaat een syncytium vlak onder de oppervlakte met centrioolachtige structuren. Ook groeit eerst het centrale uitsteeksel van de reukcel uit.
 8. Er wordt bij de regeneratie van het reukepitheel der kat een indeuking van de reukcellen gevonden, mogelijk veroorzaakt door een uitgroeien van de steuncellen naar perifeer en mogelijke migratie van de reukcellen van de oppervlakkige naar de middelste lagen.
 9. Bij regeneratie van het reukepitheeloppervlak van de mens na een oppervlakkige infectieuze beschadiging schijnt er een migratie te bestaan van de reukcelkernen naar de oppervlakkige laag om mogelijk met behulp van centrioolachtige vormsels de groei van de uitstekende structuren te induceren.