

6.2. SAMENVATTING (Summary in Dutch)

Het grootste probleem waarvoor de onderzoeker op het gebied van de reukwaarneming zich geplaagd ziet, is zijn onbekendheid met de aard van de stimulus. Nog steeds is het onmogelijk met nauwkeurigheid te voorspellen of een chemische verbinding een geur zal hebben en, indien dit het geval is, welke kwalitatieve eigenschappen die geur zal hebben. Wel is bekend, dat de sterkte van de geurindruk toeneemt met de concentratie van de reukstof in de lucht die het reukgevoelige deel van de neus bereikt.

Langs vele wegen is gepoogd dit fundamentele probleem tot een oplossing te brengen en inzicht te krijgen in de kritische variabelen die de geurkwaliteit van het reukstofmolecuul beheersen. Het experimenteel onderzoek dat hier is beschreven vormt één van deze pogingen.

Bij dit onderzoek is gebruik gemaakt van een methode die zich baseert op de specificiteit van de adaptatieverschijnselen die optreden wanneer het reukzintuig aan prikkeling wordt blootgesteld. Adaptatie, dat wil zeggen vermindering van de gevoeligheid van een zintuig onder de invloed van prikkeling, is een algemeen verschijnsel. Het berust op een verminderde reactiviteit, waarvan het zintuig zich geleidelijk herstelt nadat de prikkeling is opgehouden. Zolang dit herstel niet is opgetreden blijft de transmissie van de prikkeling naar de centrale delen van het zenuwstelsel belemmerd. Op deze wijze beschermt adaptatie de centrale delen van het zenuwstelsel tegen een overmaat van monotone en oninteressante prikkeling en vervult het een functie bij de selectie van stimuli uit de omgeving van het organisme. Adaptatie kan zowel in de perifere receptororganen zelf, als in meer centrale delen van het zenuwstelsel optreden.

Om de selectieve functie goed te kunnen vervullen, dient het adaptatieve proces een zekere specificiteit te bezitten, die ervoor zorgt dat adaptatie aan een soort prikkel niet tegelijkertijd het doordringen van alle andere prikkels uitsluit. Om deze specificiteit in het geval van sensorische adaptatie te kunnen verklaren, moet men aannemen dat er een aantal verschillende relatief onafhankelijke receptormechanismen bestaan, die ieder afzonderlijk (of ieder in verschillende mate) door adaptatie aan verschillende reukstoffen beïnvloed kunnen worden.

De methode waarvan in het hier beschreven onderzoek gebruik wordt gemaakt, de kruis-adaptatieve methode, veronderstelt nu, dat de invloed die twee reukstoffen op elkaars waarneembaarheid hebben en die tot uitdrukking komt in een vermindering van de gevoeligheid voor een van deze stoffen na

adaptatie aan de andere, wordt veroorzaakt door het feit dat beide stoffen dezelfde receptormechanismen prikkelen.

Indien deze veronderstelling juist is, kan de mate van kruisadaptatie, dat wil zeggen van de wederzijdse beïnvloeding van de gevoeligheid, worden gebruikt om de geuren te groeperen op basis van hun gemeenschappelijke inwerking op dezelfde receptormechanismen. Het zoeken naar moleculaire structuren en eigenschappen die de reukstoffen binnen één op een dergelijke wijze gevormde groep gemeen hebben en die zij niet, of in veel mindere mate, delen met reukstoffen die tot een andere groep behoren, kan dan leiden tot hypothesen over de kritische variabelen die voor het stimuleren van bepaalde receptormechanismen verantwoordelijk zijn. Deze hypothesen kunnen op hun beurt leiden tot een hypothese over de werking van het receptormechanisme zelf.

Naast deze algemene doelstelling is in het onderzoek aandacht besteed aan de bestudering van de adaptatie- en kruis-adaptatieverschijnselen zelf.

In het eerste hoofdstuk is het probleem van de onbekendheid met de kritische variabelen van de stimulus uiteengezet. Verder wordt een kort overzicht gegeven van de anatomie en de histologie van het olfactorische systeem vanaf de receptoren tot en met de verbindingen in de bulbus olfactorius.

De rest van het hoofdstuk is gewijd aan een bespreking van drie verschillende methoden van geurklassifikatie:

1. Klassifikatie op basis van gelijkenis in de geurkwaliteit van de reukstoffen.

Deze methode is door tal van onderzoekers gebruikt van Linnaeus (1764) tot Woskow (1968). De bezwaren tegen deze methode van klassifikatie vloeien vooral voort uit het feit dat kwalitatieve waardering van geuren in hoge mate cultureel bepaald is. Dit betekent dat de resulterende klassifikaties vaak slechts een zeer beperkte relevantie bezitten voor de problemen die samenhangen met de aard van de receptormechanismen die bij de waarneming betrokken zijn.

2. Klassifikatie op basis van het gemeenschappelijk lot dat de geureigenschappen van reukstoffen ondergaan onder abnormale waarnemingscondities. Hier worden in de eerste plaats een aantal onderzoeken besproken over de gedeeltelijke geurblindheid (partiële anosmie), een sterke vermindering van de gevoeligheid voor bepaalde geurkwaliteiten, die wordt toegeschreven aan het uitvallen van een of meer receptormechanismen. Tegenover de nadelen van deze onderzoeken, waarin gezocht moet worden naar toevallige uitvalsverschijnselen, wordt gewezen op de voordelen van het kruis-adaptatieve onderzoek, waarin funktionele veranderingen in de geurwaarneming meer systema-

tisch kunnen worden aangebracht.

3. Klassifikatie op basis van de verschillende zenuwactiviteit die door prikkeling met verschillende reukstoffen in delen van het receptieve systeem te weeg wordt gebracht.

Het electrofysiologisch onderzoek van het reuk-epitheel en van de bulbus olfactorius verschaft informatie over de specificiteit in de reactiepatronen van de receptorcellen en de secundaire cellen in het olfactorische systeem. Deze specificiteit is vrij groot, zoals blijkt uit de mogelijkheid om voor ieder willekeurig gekozen stoffenpaar een fiber van de olfactorische zenuw (axon van de receptorcel) te vinden, die anders reageert op stimulatie met de ene stof dan op stimulatie met de andere stof.

In principe kunnen geuren geklassificeerd worden op basis van dergelijke electrofysiologische gegevens. Het aantal receptorcellen en cellen in de bulbus is echter zeer groot en het aantal tot nu toe onderzochte cellen is nog veel te klein om als basis voor een betrouwbare klassifikatie te kunnen dienen. Deze zeer directe aanpak van het klassifikatieprobleem houdt grote beloften in.

Het verdient ook aanbeveling uitspraken over geurindelingen die langs andere weg zijn verkregen te verifiëren met electrofysiologisch onderzoek.

Aan het eind van het eerste hoofdstuk wordt besloten de kruis-adaptatieve methode te gebruiken. Tot slot volgt dan nog een overzicht van de indeling van het proefschrift.

Het tweede hoofdstuk is voornamelijk gewijd aan een historisch overzicht van het onderzoek naar adaptatie- en kruis-adaptatieverschijnselen van het reukzintuig.

Vier belangrijke verschijnselen komen achtereenvolgens in dit overzicht aan de orde:

1. De adaptatietijd die nodig is voor een volledig verlies van de geurindruk.
Het feit dat het reukzintuig bij voortdurende prikkeling met eenzelfde reukstof betrekkelijk snel zodanig aan gevoeligheid inboet dat de prikkel niet meer wordt waargenomen, heeft veel onderzoekers bezig gehouden. De tijd nodig voor het verlies van de geurindruk blijkt van stof tot stof te verschillen. Verder blijkt deze tijd toe te nemen met de intensiteit van de adapterende prikkel.
2. De verhoging van het drempelniveau tijdens adaptatie.
Hoewel de tijd nodig voor het verdwijnen van de geurindruk een indicatie vormt van de snelheid van het adaptatie-proces, geeft de bestudering van dit

verschijnsel geen inzicht in het verloop van het gevoeligheidsverlies dat in de periode tussen het begin van de adapterende prikkel en het ophouden van de geurindruk plaatsvindt.

Veel onderzoekers hebben dit verloop bestudeerd door in een drempelonderzoek de gevoeligheid van het reukzintuig na een aantal adapterende prikkels van verschillende duur te bepalen.

De resultaten van dit onderzoek tonen aan dat de verhoging van de reukdrempel, die door voortdurende adaptatie veroorzaakt wordt, een negatief versneld verloop heeft.

Verder is het niveau van de reukgevoeligheid op een gegeven moment tijdens de adaptatieperiode afhankelijk van de intensiteit van de adapterende stimulus. Hoe sterker de stimulus, des te groter het gevoeligheidsverlies. De mening van sommige onderzoekers, dat vermindering van de reukgevoeligheid alleen door relatief sterke adapterende prikkels te weeg kan worden gebracht, blijkt ongegrond.

3. Herstel van de reukgevoeligheid na adaptatie.

Zowel de absolute duur als het verloop van het herstel van de reukgevoeligheid na adaptatie zijn onderzocht.

De resultaten van dit onderzoek tonen aan dat de duur van het herstel afhankelijk is van de duur en van de intensiteit van de voorafgaande adapterende prikkel en dat hij varieert van stof tot stof. Het verloop van het herstel bestaat uit twee fasen. Na een zeer snel herstel direkt na het stopzetten van de adapterende stimulus, treedt een tweede fase in, waarin het herstel uiterst langzaam verloopt.

4. Kruis-adaptatie.

De invloed van prikkeling met de ene stof op de gevoeligheid voor een andere stof is door een aantal onderzoekers onder de loupe genomen.

Het blijkt dat stoffen de gevoeligheid voor elkaar kunnen verminderen en dat zij dat wederzijds in gelijke mate of in ongelijke mate kunnen doen. Soms oefenen stoffen in het geheel geen effect uit op de gevoeligheid voor elkaar.

Verder blijkt er geen duidelijke relatie te bestaan tussen de mate van kruis-adaptatie die twee stoffen op elkaar uitoefenen en de subjectief ervaren gelijkenis van hun geurkwaliteiten.

Het laatste deel van het tweede hoofdstuk is gewijd aan een bespreking van de aard van de adaptatie processen.

Aan het verschijnsel dat hier beschreven is als adaptatie en dat tot uiting komt

in een verminderde responsiviteit van het organisme, kunnen een groot aantal verschillende processen ten grondslag liggen.

De volgende mogelijkheden worden kort aangeduid:

1. Reflex mechanismen die de toegang tot het reukepitheel voor de reukmoleculen belemmeren (zwellings, mucus afscheiding).
2. Physico-chemische processen in de mucus olfactorius.
3. Processen aan de reukgevoelige membranen van de receptorcel.
4. Processen in de receptorcel.
5. Processen op het niveau van de bulbus olfactorius.
6. Processen in hogere olfactorische centra.
7. Processen in andere delen van de hersenen.

Op grond van de experimentele gegevens die ter beschikking staan kan uit deze veelheid van mogelijke processen en mechanismen geen eenduidige keuze gemaakt worden. Wel is er enig onderzoek over de vraag of sensorische adaptatie plaats vindt in de receptorcellen, in hoger gelegen delen van het receptieve systeem of in beide.

Op grond van gegevens over het herstel van de contralaterale reukgevoeligheid na monorhinale adaptatie wordt geconcludeerd dat waarschijnlijk zowel adaptatie processen in de receptoren als in de hoger gelegen delen van het receptieve systeem tot de adaptatieve verschijnselen bijdragen, maar dat zij min of meer gescheiden kunnen worden onderzocht, omdat het herstel van de adaptatie in de hoger gelegen delen van het systeem aanmerkelijk sneller verloopt dan het herstel van de adaptatie die op receptor niveau plaats vindt. Bovendien blijkt de meer centrale component van het adaptatieve proces relatief een veel belangrijke rol te spelen wanneer sterke stimuli gebruikt worden, dan wanneer de adaptatieve stimulus zwak is.

Op grond van deze conclusies wordt het onderzoek dat in het historisch overzicht is beschreven opnieuw bezien. Het blijkt dat vrijwel alle onderzoekers hebben gewerkt met zeer krachtige en langdurige adapterende prikkels en dat zij de gevoeligheid van het zintuig vrijwel onmiddellijk na het stopzetten van de adapterende prikkel hebben bepaald. De vraag rijst in hoeverre zij daarmee niet in hoofdzaak de adaptatie in de meer centrale delen van het receptieve systeem hebben gemeten en het wordt betwijfeld of de resultaten, die op deze wijze zijn verkregen, wel relevant zijn voor het doen van uitspraken over de mechanismen die bij de prikkeling van de receptoren een rol spelen. Op grond van deze overwegingen wordt besloten in het onderzoek naar de kruis-adaptatieve relaties uitsluitend te werken met adapterende prikkels van lage intensi-

teit en de gevoeligheidsmeting niet direct na het ophouden van de adapterende stimulus te verrichten zodat het snelle herstel van de centrale component zich grotendeels kan hebben voltrokken voordat de gevoeligheidsmeting plaats vindt.

Het eerste deel van het derde hoofdstuk is gewijd aan een gedetailleerde beschrijving van de gewijzigde Stuiver-olfactometer waarmee de stimuli in het onderzoek zijn aangeboden. Verder is aandacht besteed aan de keuze van de reukstoffen, de selectie van de proefpersonen, de series waarin de geurprikkelers zijn aangeboden en de methodische vooronderstellingen van het onderzoek. In het tweede deel van het hoofdstuk wordt een aantal technische en methodische moeilijkheden besproken, zoals de invloed van adsorptie van de reukstoffen aan de glaswand van de olfactometer, effecten van luchtvervuiling en de mogelijke invloed van verwachtingspatronen bij de proefpersonen. Enkele van deze moeilijkheden worden met de resultaten van speciaal voor dit doel ingericht empirisch onderzoek geïllustreerd.

Het vierde hoofdstuk is gewijd aan het onderzoek van adaptatie-verschijnselen. Steeds is in de experimenten die in dit hoofdstuk aan de orde komen sprake van eigen-adaptatie, dat wil zeggen van de invloed van prikkeling met een bepaalde reukstof op de gevoeligheid voor diezelfde reukstof.

In dit onderzoek blijkt duidelijk, dat adaptatie ook optreedt wanneer kort durende prikkels van lage intensiteit als adapterende stimuli worden gebruikt en dat het na aanbieding van een dergelijke adapterende stimulus geruime tijd (minstens 60 seconden) duurt voordat de gevoeligheid volledig is hersteld.

Ook wordt aangetoond dat, ondanks het feit dat stimuli van lage intensiteit zijn gebruikt, de mogelijkheid van adaptatie in centrale delen van het receptieve systeem niet kan worden uitgesloten. Wel is het duidelijk dat de perifere adaptatie bij deze stimuli relatief meer bijdraagt in de gevonden gevoeligheidsvermindering dan wanneer sterke stimuli worden gebruikt.

Het hoofdstuk wordt besloten met een reeks experimenten over het herstel van de reukgevoeligheid na adaptatie. De herstelcurven die voor verschillende stoffen worden gevonden, wijken vaak sterk van elkaar af in vorm. Sommige vertonen een eigenaardige bifasische vorm, waarbij een aanvankelijke snelle stijging van de gevoeligheid wordt gevolgd door een periode (tussen 60 en 90 seconden na de beëindiging van de adapterende stimulus), waarin de gevoeligheid niet of nauwelijks toeneemt. Na deze periode treedt opnieuw een herstel van de gevoeligheid op. De indruk bestaat zelfs dat er sprake is van een echte negatieve tus-

senphase in het herstel.

Achtereenvolgens worden vier hypothesen besproken, waarmee het optreden van vorm verschillen in de curven verklaard zou kunnen worden.

1. De vorm van de curven wordt bepaald door de aanwezigheid van specifieke reukreceptoren die ieder een eigen hersteltijd hebben. Een bezwaar van deze hypothese is, dat het moeilijk valt een eventuele negatieve fase in het herstel te verklaren op basis van het herstel van specifieke receptoren, tenzij men de mogelijkheid aanvaardt dat een van de betrokken receptoren een inhiberende werking op de andere uitoefent. Het geleidelijk herstel van deze receptor zou dan tot de negatieve fase in de herstelcurve kunnen leiden.
2. De vorm van de curven wordt bepaald door een gecombineerde werking van reukreceptoren en vrije zenuweinden van de trigeminus die door de reukstof geprikkeld worden.

Deze hypothese wordt uitgebreid besproken. Sommige stoffen blijken de trigeminus reeds te prikkelen bij concentraties die te laag zijn voor een echte geur indruk. De mogelijkheid bestaat dat de inwerking op de trigeminus vezels als secundair effect een reflexmatige verhoging van de bloeddorstroming in de neus met zich meebrengt, die leidt tot een vernauwing van de toegangswegen tot het reukepitheel en die zodoende mede verantwoordelijk is voor de verminderde waarneembaarheid van de prikkel na adaptatie. Verder zou het feit, dat de trigeminus bij herhaalde prikkeling niet snel adapteert, maar integendeel eerder meer geïrriteerd raakt, een verklaring kunnen bieden voor de negatieve fase in het herstel. Deze negatieve fase zou kunnen betekenen dat op dat punt in het herstel (tussen 60 en 90 seconden) de tussentijd tussen de prikkels te lang is om tot verdere irritatie van de trigeminus te leiden. De waargenomen intensiteit van de prikkel zou door dit wegvallen van de irritatie kunnen afnemen, ondanks het voortschrijdend herstel van de eigenlijke reukreceptoren. Een bezwaar van deze hypothese is dat eenzelfde negatieve fase door andere onderzoekers (Perrin 1965) is geconstateerd in het herstel van het electro-olfactogram (EOG) van het konijn, terwijl het uitgesloten moet worden geacht dat de ongerichte vrije zenuweinden van de trigeminus direct tot het EOG bijdragen.

3. De vorm van de curven wordt bepaald door veranderingen in de bloeddorstroming van de neus.

Veranderingen in vaso-constrictie en vaso-dilatatie kunnen ook zonder dat zij door trigeminus veroorzaakt worden de bereikbaarheid van het reukepitheel beïnvloeden.

Sommige auteurs (Kottmeyer 1957; Schneider and Wolf 1960) wijzen erop dat reukstimuli veranderingen in de doorbloeding van de neus te weeg kunnen brengen. Het lijkt echter onwaarschijnlijk dat de effecten van de zwakke prikkels die in het onderzoek gebruikt worden, sterk genoeg zijn om zonder tussenkomst van de trigeminus dergelijke veranderingen tot stand te brengen.

4. De vorm van de curven wordt bepaald door adsorptieve en desorptieve eigenschappen van de moleculen of door hun mate van oplosbaarheid in het mucus van het reuk-epitheel.

Hoewel er duidelijke aanwijzingen zijn dat stoffen sterk verschillen in de mate waarin ze door het mucus worden opgenomen, is er nog te weinig van de samenstelling van het mucus en van de reukgevoelige delen van de receptoren bekend om deze hypothese te kunnen verifiëren.

Geconcludeerd wordt dat geen van de vier hypothesen elkaar uitsluiten en dat alleen electrofysiologisch onderzoek de juistheid van een of meer van hen kan aantonen.

Het vijfde en laatste hoofdstuk bevat de beschrijving van twee reeksen experimenten, waarin de onderlinge kruis-adaptatieve beïnvloeding binnen twee groepen van zeven reukstoffen is onderzocht.

Op grond van dit onderzoek konden een aantal regels worden opgesteld, die voor kruis-adaptatieve relaties blijken te gelden. De belangrijkste regels zijn:

1. Geen enkele adapterende stof verhoogt de gevoeligheid voor een andere stof.
2. Geen enkele andere stof kan de gevoeligheid voor een bepaalde stof in sterkere mate verminderen dan die stof zelf.
3. Een stof kan een grotere invloed hebben op de gevoeligheid voor een andere stof dan op de gevoeligheid voor zichzelf.
4. De meeste kruis-adaptatieve relaties tussen stoffen zijn niet reciprook.
De ene stof beïnvloedt de gevoeligheid voor de andere stof in sterkere mate dan andersom.
5. De gevoeligheid voor een stof die een sterke eigen-adaptatie vertoont, wordt doorgaans ook door adaptatie aan andere stoffen sterk beïnvloed.

Het blijkt moeilijk op grond van de gegevens tot een duidelijke en éénduidige indeling van de reukstoffen in groepen te komen. Over het algemeen kunnen de resultaten van het onderzoek daarom weinig bijdragen tot het formuleren van hypothesen over het reukmechanisme. Wel worden enkele van dergelijke hypo-

thesen besproken, zoals de "steric odor theory" van Amoore (1963) en de hypothese dat funktionele groepen in het molecuul een belangrijke rol spelen bij het bepalen van de geureigenschappen. Nagegaan wordt in hoeverre de gegevens uit dit hoofdstuk deze hypothesen bevestigen of tegenspreken. Beide genoemde hypothesen lijken goed met een aantal aspecten van de resultaten te verenigen. Op grond van enkele van de algemene regels die uit het onderzoek naar voren zijn gekomen wordt afgeleid dat het aantal receptormechanismen, dat gestimuleerd kan worden waarschijnlijk sterk varieert van stof tot stof.

Uit het hoofdstuk wordt tenslotte de conclusie getrokken dat de kruis-adaptatieve relaties te complex zijn en dat het aantal onafhankelijke receptor-mechanismen dat bij de reukwaarneming betrokken is te groot is, om kruis-adaptatie een erg vruchtbare methode van geurgroepering te doen zijn. Niettemin kan kruis-adaptatie-onderzoek een belangrijk hulpmiddel zijn bij het beantwoorden van specifieke vragen over de interactie van reukstoffen. De formulering van de algemene regels die voor kruis-adaptatieve relaties gelden kan de weg openen voor een groot aantal van dergelijke vragen.