

SAMENVATTING

De sacculus is, als onderdeel van het labyrint van de gewervelde dieren, reeds ongeveer een eeuw onderwerp van onderzoek; toch is er veel minder over bekend dan over het gehoororgaan of over de als zodanig bekende evenwichtorganen (i.c. booggangen en utriculus) van het labyrint.

Als we het gehoor van de beenvissen - waarvan de sacculus gewoonlijk de receptor is - buiten beschouwing laten, dan is in het algemeen de functie van de sacculus omstreden. In ieder geval is de sacculus een statoliet-orgaan zoals de utriculus (en de lagena, die echter bij hogere vertebraten ontbreekt). In het onderzoek naar de werking van statoliet-organen valt de nadruk hoofdzakelijk op de statische evenwichtfunctie. Over de dynamische evenwichtfunctie is weinig bekend. De uitkomsten van het systeem-analytisch onderzoek op dit gebied zijn niet met elkaar in overeenstemming.

Een analyse van uit de literatuur bekende resultaten van onderzoek aan statoliet-organen en van de uitkomsten van eigen gedrags- en elektrofysiologisch onderzoek aan de sacculus van de kikker (*Rana esculenta*) geeft ons inzicht in een aantal problemen (I). Deze betreffen de stimulatie (II) en de rol die het gevoeligheidsgebied van de haarcelreceptor (spatiële aspecten) speelt (III). Het onderzoek met behulp van een parallelschommel geeft ons aanleiding de overdrachtsfunctie van het sacculus-systeem (temporele aspecten) te bespreken (IV). Door toepassing van een zuiver rechtlijnige stimulatie over een grote bandbreedte (versnellingsbaan) kunnen we enerzijds inzicht verwerven in de karakteristieke relatie en het gevoeligheidsgebied van een single unit van de sacculus van de kikker, anderzijds de overdrachtsfunctie ervan bepalen (V).

I Uit een algemeen historisch overzicht blijkt dat er geen communis opinio bestaat over de functie van de sacculus. Fylogenetische en ontogenetische overwegingen sluiten een functie van de sacculus bij trillingsperceptie niet uit; anatomische en histologische aspecten wijzen meer in de richting van een evenwichtfunctie van de sacculus. De resultaten van gedragsfysiologisch en elektrofysiologisch onderzoek tussen 1899 en 1973 dragen niet voldoende experimentele evidentie aan om in het algemeen tot een evenwichtfunctie van de sacculus te mogen besluiten. Onder meer omdat in de evolutie de Amphibia met betrekking tot het labyrint een belangrijke schakel vormen tussen de vissen (waarbij de sacculus veelal een hoorfunctie heeft) en de hogere vertebraten (waarbij een evenwichtfunctie van de sacculus niet onwaarschijnlijk is) hebben we als proefdier *Rana esculenta* (de groene kikker) gekozen.

Onze gedragsfysiologische experimenten met *Rana esculenta* en *Bufo marinus* (de reuzenpad) na uni- en bilaterale doorsnijding van de nervus saccularis tonen aan dat de sacculus van deze proefdieren een statische en dynamische evenwichtsfunctie heeft.

Voor het elektrofysiologisch onderzoek naar de werking en de eigenschappen van het sacculussysteem tot en met het eerste neuron hebben we een aantal technische problemen moeten oplossen. Het moeilijkste en belangrijkste probleem is de afleiding met wolfram micro-elektroden exclusief van de vezels van de nervus saccularis van een fysiologisch intact preparaat. De bruikbaarheid en de interpretatie van de meetresultaten zijn hiervan in hoge mate afhankelijk. Voor dit doel hebben we een speciale preparatie-methode ontwikkeld.

Voor de stimulatie van het preparaat hebben we gebruik gemaakt van de klassieke kanteltafel (statische en dynamische stimulatie) en een vibrator (hoogfrequente dynamische stimulatie) naast de voor dit soort onderzoek zelden toegepaste parallelschommel. De geregistreerde actiepotentialen van de haarcel-units van de sacculus en de stimulus-meetgegevens zijn verwerkt met behulp van een computer.

Single units van de sacculus vertonen een onregelmatige activiteit. De actiepotentialaaldichtheid hangt af van de stand van het proefdier ten opzichte van de verticaal. Op relatief hoogfrequente (c.q. dynamische) stimuli reageren units tot ongeveer 500 Hz synchroon met de stimulus. Op dynamische stimulatie met kanteltafel en parallelschommel reageren units met een veel hogere actiepotentialaaldichtheid dan op statische stimuli. Een richtinggevoeligheid hebben we met zowel statische als dynamische stimuli aangetoond. Onze resultaten van het gedrags- en elektrofysiologisch onderzoek zijn met elkaar in overeenstemming.

In een nadere analyse beschouwen we de begrippen 'spontane activiteit' en 'rustactiviteit' in relatie met 'positie-activiteit' van statoliet-organen en relateren we de begrippen 'fasisch' en 'tonisch' aan de respons op respectievelijk dynamische en statische stimuli, waarbij het begrip 'adaptatie' in dit verband onjuist blijkt te zijn. Uit een kritische analyse blijkt dat onze experimentele resultaten niet zonder meer passen in de algemeen aanvaarde conceptie van de haarcel. Op grond van een aantal veronderstellingen trachten we deze discrepantie te overbruggen en de oorzaak van de verschillen tussen statische en dynamische respons op haarcel-niveau inzichtelijk te maken.

De kwantitatieve gegevens van de parallelschommelmetingen tonen aan dat de single unit-respons consequent varieert met de amplitude en de frequentie van de oscillatie. Eveneens blijken onderdrempelige vibraties (relatief hoogfrequente trillingen) bij gelijktijdige (laagfrequente) schommelstimulatie een grotere respons te veroorzaken dan optreedt bij schommelstimulatie alleen. De single unit-

respons van fysiologisch intacte preparaten blijkt bij elke frekventie (van zowel de vibrator als de parallelschommel) een vaste fase-relatie met de stimulus te hebben. Fysiologisch niet-intacte preparaten (b.v. geopend labryntkapsel, of schijnbaar normaal functionerend doch te oud) geven een respons die - onder gelijke stimulusomstandigheden - 90° is verschoven in vergelijking met de respons van een intact preparaat. Bovendien is de fase-relatie bij een bepaalde frekventie tussen stimulus en respons bij een niet-intact preparaat niet constant; de fase verandert afhankelijk van de stand van het proefdier ten opzichte van de verticaal.

Tot slot gaan we de relaties na van de resultaten van het elektrofysiologisch onderzoek aan statoliet-organen met die van het gedragsfysiologisch onderzoek met betrekking tot statoliet-organen, inclusief het onderzoek waarbij de oogbeweging en -stand tengevolge van statoliet-stimulatie worden gemeten. Naast overeenkomstige resultaten van deze onderzoeken zijn er een aantal verschillen en tegenstrijdigheden die wijzen in de richting van enkele basale problemen bij het onderzoek aan statoliet-organen. Om ons doel - op basis van de stimulus-responsrelatie inzicht te krijgen in de werking en eigenschappen van het sacculus-statolietsysteem perifeer van de primaire afferenten - te bereiken, moeten we eerst deze basale problematiek beschouwen.

II In de eerste plaats heeft de haarcel een gevoeligheidsgebied; daarom is de actiepotentiaal-respons van een haarcel-unit bij willekeurige stimulatie niet alleen afhankelijk van de grootte, doch eveneens van de richting van de stimulerende kracht. Parallelschommelstimulatie met kleine amplitude geeft ter plaatse van de gemeten haarcellen een langs een bijna rechte lijn variërende kracht. Hierdoor is de problematiek te scheiden met betrekking tot grootte en tot richting van de kracht. Onderzoek naar de relatie tussen respons en de grootte van de versnelling (bij constante richting) voert tot de overdrachtsfunctie. Onderzoek naar de relatie tussen respons en richting van de versnelling (bij constante grootte) voert tot het gevoeligheidsgebied.

In de tweede plaats zijn grootte en richting van de stimulus ter plaatse van het macula-vlak onbekend. Om dit probleem op te lossen bepalen we eerst de versnellingsstimulus van het stimulatie-toestel uitgedrukt in een op dit toestel gebaseerd werkvlak-coördinatenstelsel. Op basis van literatuurgegevens nemen we de de meest waarschijnlijke ligging van het macula-vlak in het proefdier en in dit vlak de richting van de striola aan. In dit aangenomen vlak voeren we nu een macula-coördinatenstelsel in waarvan één as samenvalt met de striola-richting. Voorts stellen we een transformatie op om de stimulus - uitgedrukt in werkvlak-coördinaten - ongeacht de stand van het proefdier op het werkvlak, uit te drukken in macula-coördinaten.

III Het gevoeligheidsgebied is de meetkundige representatie van de richting-afhankelijke gevoeligheid van de haarcel in het macula-vlak.

Bij statische stimulatie geven we het proefdier verschillende standen ten opzichte van de verticaal en brengen de gemiddelde actiepotentiaaldichtheid in verband met de gravitatiekracht-projectie op het macula-vlak. Op deze wijze is het gevoeligheidsgebied van een haarcel-unit te construeren; de nauwkeurigheid bij statische stimulatie is echter gering door de betrekkelijk geringe dichtheid van de actiepotentialen en door de grote spreiding erin.

Met het proefdier achtereenvolgens in verschillende standen op de parallelschommel bepalen we de respons van een haarcel-unit op een stimulus met constante frekwentie en begin-amplitude. Tijdens de schommelbeweging geschiedt de stimulatie dus in een vaste, echter bij iedere stand verschillende richting. Als we tussen versnellingsgrootte en respons een lineair verband veronderstellen, dan mogen we de respons normeren en kunnen we de contour van het gevoeligheidsgebied vastleggen. De relatie tussen de maximale respons en de richting van de versnellingsamplitude in het macula-vlak is door middel van parallelschommelstimulatie niet nauwkeurig te bepalen. In de respons komt de verticale beweging (met dubbele frekwentie) van de schommel duidelijk tot uiting; zelfs bij kleine amplitude blijkt de stimulus verre van rechtlijnig te zijn.

IV In de literatuur vinden we verschillende overdrachtsfuncties, c.q. modellen van statoliet-systemen. Aan de hand van de eigen resultaten (parallelschommel) bespreken we de literatuurgegevens. Bij een vaste stand van het proefdier stimuleren we met verschillende schommelfrekquenties. We berekenen het fase-verschil tussen stimulus en respons bij de verschillende frekwenties. Door de geringe bandbreedte van de schommel (van 0,33 tot 0,5 Hz) kunnen we nauwelijks meer dan één punt van de overdrachtsfunctie bepalen. Wel kunnen we nagaan of en hoe deze meetwaarde past in de bestaande modellen, waarvan een deel niet op elektrofysiologische metingen is gebaseerd. Mede op basis van de transiënt-respons bij het starten van de schommelbeweging en de gegevens uit ons onderzoek met statische en vibratie-stimuli geven we een concept over de meest eenvoudige overdrachtsfunctie.

V Met behulp van een nieuw type stimulus-apparaat - de versnellingsbaan - hebben we de bezwaren tegen de parallelschommel (verticale bewegingscomponent, geringe bandbreedte) kunnen ondervangen. Een cabine, waarin de meetopstelling zich bevindt, rust met speciale 'luchtvoeten' op stalen rails die zuiver horizontaal en rechtlijnig lopen. Met perslucht wordt tussen 'luchtvoeten' en rails een luchtlaagje van 40 μm in stand gehouden; de zeer geringe wrijving maakt het

mogelijk de cabine met geringe kracht te bewegen. Aan weerszijden van de cabine is een stel veren, die onder voorspanning staan, aangebracht. Geven we de cabine een beginuitwijking dan ontstaat een uitdempende sinusoidale beweging zoals bij de parallelschommel, echter zonder verticale component. De oscillatie is zuiver rechtlijnig; de bandbreedte kan - door het monteren van andere veer-stellen - variëren tussen 0,04 en 2,85 Hz.

Bij een vaste stand van het proefdier blijkt de maximale respons van een haarcel-unit meer dan lineair af te nemen bij dalende versnellingsamplitude. We geven een methode aan hoe dit verband te onderzoeken bij stimulatie in de polarisatie-richting. Dit verband is voor het betreffende unit de 'karakteristieke relatie'.

Eveneens construeren we het gevoeligheidsgebied in het macula-vlak, daarbij rekening houdend met het niet-lineaire verband. Het invoeren van een ruimtelijk gevoeligheidsgebied vergroot het inzicht in de spatiële problematiek. Het is niet evident dat de vorm van het ruimtelijk gevoeligheidsgebied een bol is.

Uit de meetgegevens volgt de fase-karakteristiek. Op basis hiervan berekenen we de overdrachtsfunctie van het haarcel-statolietsysteem van de sacculus van de kikker. We vinden als meest eenvoudige, tevens echter meest waarschijnlijke overdrachtsfunctie (betrokken op versnelling en maximale actiepotentiaal-dichtheid) :

$$H(s) = \frac{k (s + 0,23)}{(s + 3,54) (s + 267)}$$

waarin k de unit-afhankelijke gevoeligheid voorstelt. De uit de overdrachtsfunctie volgende versterkingskarakteristiek, transiënt-respons en vibratie-gevoeligheid zijn in overeenstemming met de experimentele meetwaarden. De respons $R(t)$ op een langs een rechte variërende versnelling $a(t)$ wordt dan:

$$R(t) = R_0 + k L^{-1} \frac{(s + 0,23) a(s)}{(s + 3,54) (s + 267)}$$

waarin R_0 de unit-afhankelijke spontane activiteit voorstelt.