

DE POSTNATALE ONTWIKKELING VAN HET ELECTRORETINOGRAM

BIJ DE CAVIA EN HET KONIJN

**DE POSTNATALE ONTWIKKELING VAN HET ELECTRORETINOGRAM
BIJ DE CAVIA EN HET KONIJN**

PROEFSCHRIFT

TER VERKRIJGING VAN DE GRAAD VAN DOCTOR
IN DE GENEESKUNDE AAN DE MEDISCHE FACUL-
TEIT TE ROTTERDAM, OP GEZAG VAN DE DECAAN
DR. A. QUERIDO, HOOGLERAAR IN DE FACULTEIT
DER GENEESKUNDE, TEGEN DE BEDENKINGEN
VAN DE FACULTEIT DER GENEESKUNDE TE VER-
DEDIGEN OP 5 JUNI 1969 TE 16.00 UUR.

DOOR

CHARLES PIERRE JEAN JOSEPH MARIE MEGENGOS LEGEIN

GEBOREN TE GINNEKEN-BAVEL IN 1939

DE POSTNATALE ONTWIKKELING VAN HET ELECTRORETINOGRAM
BIJ DE CAVIA EN HET KONIJN

PROMOTOR: PROF. DR. M. W. VAN HOF

aan mijn ouders,

vrouw en kinderen

Dit proefschrift is samengesteld uit twee delen:

Deel A HET EFFEKT VAN LICHTONTHOUDING OP HET ELECTRO-
RETINOGRAM VAN DE CAVIA (pag. 2-37)

Deel B DE POSTNATALE ONTWIKKELING VAN HET MET SINUSVORMIG
GEMODULEERD LICHT OPGEWEKTE ELECTRORETINOGRAM VAN
DE CAVIA EN HET KONIJN (pag. 38-83)

SUMMARY

84

A. HET EFFEKT VAN LICHTONTHOUDING OP HET ELECTRORETINOGRAM
VAN DE CAVIA

INHOUD

1. Inleiding	3
2. Probleemstelling	7
3. Methodiek	8
4. Het ERG van de onder normale omstandigheden opgegroeide cavia	11
5. Het effect van lichtonthouding gedurende de postnatale periode	16
6. Het effect van lichtonthouding bij de volwassen cavia	24
7. Bespreking van de resultaten	26
8. Conclusies	33
9. Literatuur	35
Inhoudsopgave van deel B	38

PROMOTOR: PROF. DR. M. W. VAN HOF

aan mijn ouders,

vrouw en kinderen

Dit proefschrift is samengesteld uit twee delen:

Deel A HET EFFEKT VAN LICHTONTHOUDING OP HET ELECTRO-
RETINOGRAM VAN DE CAVIA (pag. 2-37)

Deel B DE POSTNATALE ONTWIKKELING VAN HET MET SINUSVORMIG
GEMODULEERD LICHT OPGEWEKTE ELECTRORETINOGRAM VAN
DE CAVIA EN HET KONIJN (pag. 38-83)

SUMMARY

84

A. HET EFFEKT VAN LICHTONTHOUDING OP HET ELECTRORETINOGRAM
VAN DE CAVIA

INHOUD

1. Inleiding	3
2. Probleemstelling	7
3. Methodiek	8
4. Het ERG van de onder normale omstandigheden opgegroeide cavia	11
5. Het effect van lichtonthouding gedurende de postnatale periode	16
6. Het effect van lichtonthouding bij de volwassen cavia	24
7. Bespreking van de resultaten	26
8. Conclusies	33
9. Literatuur	35
Inhoudsopgave van deel B	38

INLEIDING

De ontwikkeling van het electroretinogram (in het vervolg aangeduid als ERG) in de postnatale periode is bij een aantal zoogdieren onderzocht.

KEELER, SUTCLIFFE en CHAFFEE (1928) vonden dat bij de muis op de 13e dag na de geboorte het ERG nog weinig ontwikkeld is: een a-golf met daarop gesuperponeerd een brede vlakke b-golf. Pas op de 21e dag na de geboorte bleek het beeld vrijwel overeen te komen met dat van het volwassen dier.

BONTING, CARAVAGGIO en GOURAS (1961) vonden dat bij de rat op de 12e dag na de geboorte een ERG - van nog geringe amplitude - afgeleid kon worden. Tot de 21e dag volgde een sterke toename van zowel de a- als b-golf, daarna een langzamere toename tot ongeveer de 35e dag. Iets soortgelijks vonden HELLNER en UTERMANN (1965): op de 9e - 10e dag een a-golf, op de 13e dag een b-golf, gevolgd door een amplitude toename tot de 30e dag.

Het konijn werd uitvoerig onderzocht door NOELL (1958). Op de 8e dag na de geboorte kon een ERG opgewekt worden, zij het alleen een cornea negatieve potentiaal. Tussen de 11e en 18e dag ontwikkelde zich pas een b-golf.

Bij de kat (ZETTERSTRØM, 1955) bleek op de 6e tot 10e dag voor het eerst een ERG afgeleid te kunnen worden. 9 - 10 weken na de geboorte was de amplitude gelijk aan die van het volwassen dier.

Volgens PARRY, TANSLEY en THOMSON (1955) duurt het bij de hond vanaf de geboorte 21 dagen alvorens een ERG te registreren valt, terwijl de amplitude toename doorgaat tot de 40e - 50e dag. HORSTEN en WINKELMAN (1960) echter vonden met zeer sterke lichtflitsen aanzienlijk kortere tijden.

De bovengenoemde dieren hebben dus gemeen dat er na de geboorte eerst een periode van tenminste een week bestaat waarin geen ERG opgewekt kan worden, gevolgd door een periode waarin de amplitude toeneemt. Al deze dieren worden met gesloten oogleden geboren en deze openen zich eerst enige tijd na de geboorte (bv. bij het konijn na 8 dagen) hetgeen betekent dat het visuele systeem in ieder geval tot die tijd niet kan functioneren.

Geheel anders is de situatie bij de cavia. Dit dier wordt na een voor een knaagdier lange dracht van 9 weken geboren. De oogleden zijn bij de geboorte reeds geopend. De retina is in vergelijking tot die van de pasgeboren kat, rat en konijn reeds sterk ontwikkeld. Het pasgeboren dier is in

staat voedsel tot zich te nemen en zonder de moeder tot volwassenheid te komen. Gezien de imprintings experimenten van HESS (1959) funktioneert het visuele systeem reeds op de eerste dag na de geboorte. BORNSCHEIN (1959) beschreef dat na de geboorte reeds een normaal ERG opgewekt kon worden. VAN HOF en USAMI (1968) bevestigden dit bij 24 uur oude dieren, maar vonden bovendien dat 0 - 6 uur na de geboorte nog geen normaal ERG afleidbaar was.

In de literatuur zijn talrijke onderzoeken, gebruikmakend van gedrags- en elektrofysiologische methoden, beschreven die betrekking hebben op de betekenis die het aanbieden van licht en beelden op het netvlies voor de ontwikkeling van het visuele systeem heeft. Bij dergelijke onderzoeken heeft men in het algemeen de vraag voor ogen in hoeverre een zintuig met het daarachter geschakeld neuronaal apparaat qua structuur en werking endogeen gegeven zijn dan wel, althans voor een deel, zich vormen onder invloed van prikkels aangeboden aan het zintuig. Relatief weinig onderzoek is er in dit opzicht verricht met betrekking tot de postnatale ontwikkeling van het ERG.

ZETTERSTRØM (1955) beschreef dat bij katten in donker geboren en opgegroeid de ontwikkeling van het ERG aanvankelijk vertraagd is. Op de leeftijd van 4 - 5 weken echter

blijkt er geen verschil te bestaan ten opzichte van onder normale omstandigheden opgroeiende dieren. Bovendien bleek dat in de periode hiervoor het ERG met behulp van een aantal lichtflitsen gelijk gemaakt kon worden aan dat van normaal opgroeiende dieren van dezelfde leeftijd.

BAXTER en RIESEN (1961) vonden, eveneens bij katten, dat zeer langdurig verblijf in het donker (1 jaar) het ERG deed verkleinen.

Uit een voorlopig onderzoek van VAN HOF en USAMI (l.c.) bleek dat een in het donker geboren en opgegroeide cavia op de leeftijd van drie maanden een ERG vertoont aanzienlijk kleiner dan dat van een in het licht opgegroeid dier van dezelfde leeftijd.

PROBLEEMSTELLING

Het nu te beschrijven onderzoek heeft betrekking op het effect van lichtonthouding op het ERG van de cavia.

Getracht zal worden de resultaten in relatie te brengen tot de bovengenoemde gegevens uit de literatuur.

De volgende vragen werden bestudeerd:

1. Welke zijn de gevolgen van lichtonthouding op het ERG van de cavia in de postnatale periode en in hoeverre zijn deze gevolgen reversibel?
2. Zijn de waargenomen veranderingen het gevolg van een primaire remming van de normale ontwikkeling van het ERG of treden de veranderingen secundair op na een aanvankelijk normale ontwikkeling?
3. Heeft lichtonthouding een grotere invloed op het ERG in de postnatale fase dan op volwassen leeftijd?

METHODIEK

Het ERG werd afgeleid tussen een naaldelektrode in de voorste oogkamer en een elektrode bevestigd aan het oor. De dieren waren genarcotiseerd met urethaan (1500 mg per kg lichaamsgewicht intraperitonaal). De pupil was verwijd met een mydriaticum. De experimenten begonnen na een half uur donker adaptatie. Deze tijd werd ook aangehouden bij de dieren afkomstig uit het donker om de condities van de dieren gedurende het experiment zoveel mogelijk gelijk te doen zijn.

Zowel bij dieren die bij normale kamerverlichting opgegroeid waren (12 uur licht, 300 Lux, per etmaal) als bij dieren die een bepaalde periode in het absolute donker hadden vertoefd werden ERG's geregistreerd. Bij de dieren die uit het donker kwamen werd de naaldelektrode in de voorste oogkamer gebracht bij rood licht.

Fig. 1 geeft een schematisch overzicht van de proefopstelling. De lichtflitsen aangeboden aan het oog waren afkomstig van een Grass fotostimulator type PS2, de duur van de lichtflits bedraagt ongeveer 10 μ sec. Dit apparaat is in te stellen op vijf verschillende lichtintensiteiten, aangeduid als intensiteit 1, 2, 4, 8 en 16, die zo zijn gekozen dat

bij iedere hogere intensiteit ongeveer de dubbele hoeveelheid licht afgegeven wordt als bij de voorgaande.

De afstand tussen flitslamp en oog bedroeg 40 cm; vlak voor het oog was een wit transparant scherm geplaatst.

De luminantie van het voor het oog geplaatste scherm kan aldus gekwantificeerd worden: bij gebruikmaking van intensiteit 1 van de Grass fotostimulator verlaagt een pakket grijsfilters, dat geplaatst voor de lamp slechts 2.43×10^{-3} van het aangeboden licht doorlaat, de luminantie van het scherm zodanig dat onder de gegeven proefomstandigheden juist geen ERG meer meetbaar is.

De potentiaal verschillen werden geregistreerd met een Grass Polygraaf, frekwentie karakteristiek 0,22 - 300 c.p.s. (-3dB).

De werkwijze was altijd zo dat vijf series van ruim honderd lichtflitsen aangeboden werden. Begonnen werd steeds met een serie lichtflitsen met lichtintensiteit 1, daarna 2 enz. De flitsfrekwentie bedroeg 1 per seconde. Van iedere flitsserie werd uit 100 flitsperioden met behulp van een Nuclear Chicago Data Retrieval Computer (D.R.C.) een gemiddeld ERG verkregen. De analyse periode bedroeg steeds 250 msec. De D.R.C. werd gestart met een impuls afkomstig van een fotocel naast het oog. De gemiddelde curve werd uitgeschreven door een x - y schrijver.

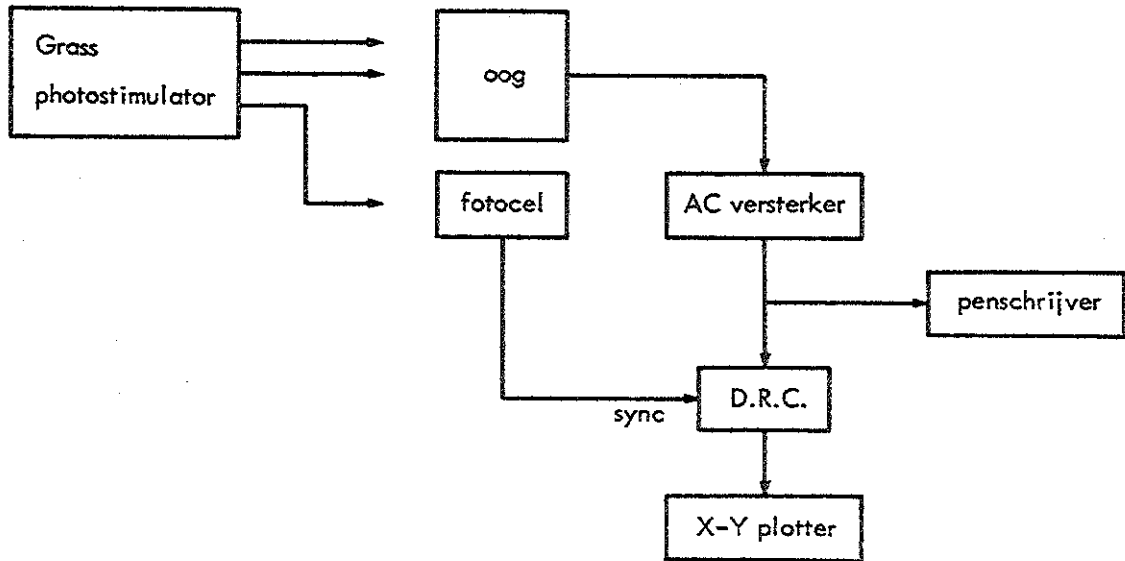


Fig. 1. Schematische weergave van de proefopstelling gebruikt voor het afleiden van het ERG.

HET ERG VAN DE ONDER NORMALE OMSTANDIGHEDEN OPGEGROEIDE
CAVIA

Fig. 2 geeft een voorbeeld van de curven verkregen bij een volwassen cavia. Dit voorbeeld is representatief in die zin dat bij de laagste lichtintensiteit de cornea negatieve potentiaal nauwelijks te zien is en dat een cornea positieve potentiaal, de zgn. b-golf domineert. Naarmate de intensiteit toeneemt wordt de a-golf duidelijker en wordt bovendien het patroon van de b-golf gecompliceerder door het optreden van kleine in de literatuur als "wavelets" aangeduide golfjes. Teneinde kwantitatief deze elektroretinogrammen te kunnen beschrijven werden de in Fig. 3 aangegeven grootheden gemeten. Hierbij geeft aV het maximale spanningsverschil aan tussen de basislijn en het laagste punt van de eerste cornea negatieve deflectie (a-golf), bV het maximale spanningsverschil tussen het laagste punt van de a-golf en het hoogste punt van de b-golf, at stelt het tijdsverloop voor tussen het moment waarop de lichtflits werd aangeboden en het moment waarop het laagste punt van de a-golf wordt bereikt, bt het tijdsverschil tussen het moment van aanbieden van de lichtflits en het bereiken van het maximum van de b-golf. Bij een groep normale volwassen cavia's werden bij de verschillende lichtintensiteiten zowel aV als bV waarden bepaald.

Het meten van de tijdverschillen tussen het moment van de lichtflits en de maximale uitslag van a- en b-golf bleek niet bij alle lichtintensiteiten mogelijk gezien de veelal geringe amplitude van de a-golf bij de laagste lichtintensiteiten. Vandaar dan ook dat in het vervolg deze tijden uitsluitend bepaald werden bij een intensiteit waarbij in alle gevallen de toppen duidelijk tevoorschijn komen, te weten intensiteit 8. Bij normale cavia's bedragen deze tijden resp.: 15 msec en 38 msec.

In Fig. 4 zijn de gemiddelde aV en bV waarden en de bijbehorende standaardfouten van deze groep uitgezet.

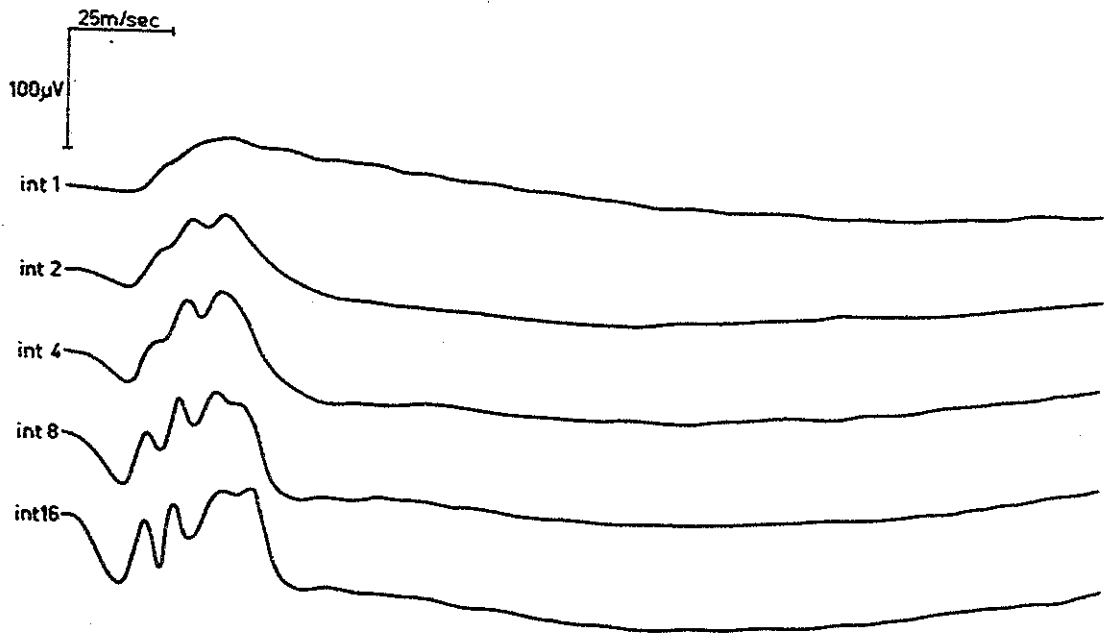


Fig. 2. Voorbeelden van het ERG van de normale cavia afgeleid met verschillende lichtintensiteiten.

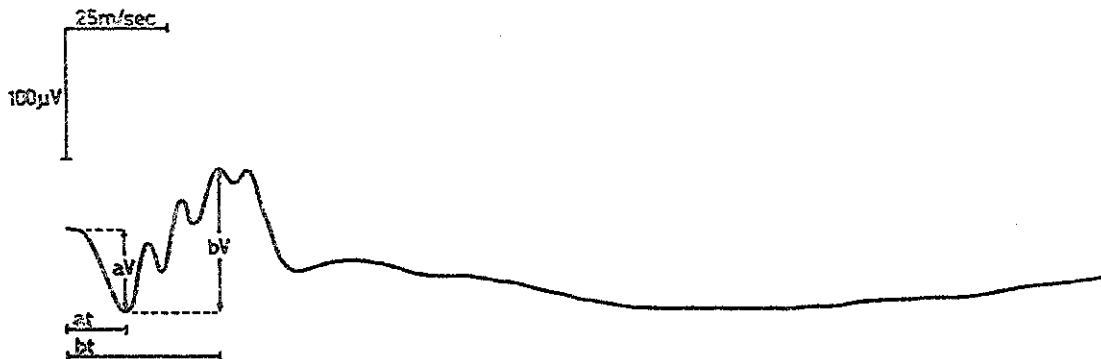


Fig. 3. aV: spanningsverschil tussen het 0 niveau en de top van de eerste cornea negatieve deflectie (a-golf).

bV: spanningsverschil tussen de top van de eerste cornea negatieve deflectie en die van de hoogste daarop volgende cornea positieve deflectie (b-golf).

at: tijd tussen het aanbieden van de lichtflits en de top van de eerste cornea negatieve deflectie.

bt: tijd tussen het aanbieden van de lichtflits en de top van de hoogste cornea positieve deflectie.

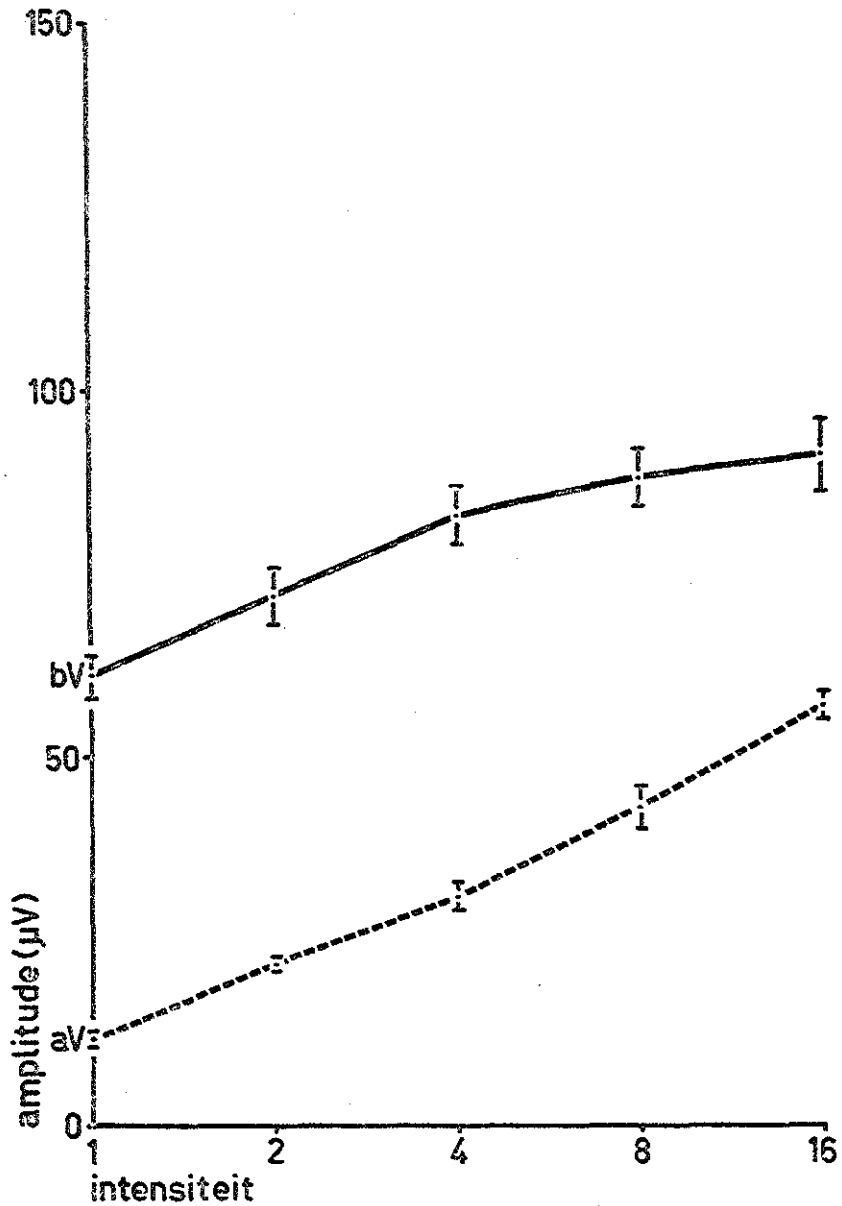


Fig. 4. Gemiddelde waarden en standaardfouten van aV en bV uitgezet tegen de lichtintensiteit verkregen bij een groep van 20 normale volwassen cavia's.

HET EFFEKT VAN LICHTONTHOUDING OP HET ERG GEDURENDE DE
POSTNATALE PERIODE

Zoals reeds vermeld in de inleiding is door VAN HOF en USAMI (1968) beschreven dat de amplitude van het ERG van 3 maanden oude cavia's die geboren en opgegroeid zijn in het donker, kleiner is dan die van normaal opgegroeide 3 maanden oude cavia's. Wanneer men de dieren na hun verblijf in het donker eerst gedurende 4 dagen aan normale kamer- verlichting blootstelde bleek dat er slechts van een ge- deeltelijk herstel sprake was. In bovengenoemd onderzoek werd alleen de amplitude gemeten bij intensiteit "8". In de nu te beschrijven experimenten werd bij de intensiteiten 1, 2, 4, 8 en 16 het retinogram geregistreerd. Zowel de amplitude van de a-golf als van de b-golf werd van ieder gemiddeld retinogram bepaald en bovendien de latente tijd van de top van de a-golf en de b-golf bij intensiteit "8". Fig. 5 toont de gemiddelde aV en bV waarde met standaard- fout uitgezet tegen de lichtintensiteit van een groep van 20 cavia's - 3 maanden oud en geboren en opgegroeid in het donker. Vergelijking van deze figuur met de controle groep in Fig. 4 toont dat de amplitude van de a-golf bij de hogere intensiteiten weliswaar iets kleiner is dan bij de in het donker opgegroeide dieren maar dat het meest opval- lende verschil wordt gevonden in de amplitude van de b-golf.

Fig. 6 toont dezelfde gegevens met betrekking tot een groep van 20 drie maanden oude cavia's geboren en opgegroeid in het donker, maar die alvorens het ERG werd afgeleid eerst gedurende 10 dagen (een arbitrair gekozen periode) blootgesteld werden aan een normale kamerverlichting. Het blijkt dat er een duidelijk herstel van de amplitude van de b-golf is, maar dat er bij de hogere intensiteiten nog een verschil is met de controle groep.

Hoe moet nu de relatief lage amplitude van de b-golf na drie maanden lichtonthouding geïnterpreteerd worden?

Twee mogelijkheden dienen overwogen te worden.

1. Er is sprake van een primaire ontwikkelingsremming. De retina van deze dieren funktioneert niet normaal doordat bij gebrek aan licht de normale ontwikkeling belemmerd is.
2. Er is sprake van een secundair effect, d.w.z. aanvankelijk ontwikkelt het netvlies zich normaal maar daarna treden onder invloed van lichtonthouding veranderingen op die leiden tot een gedeeltelijk functie verlies.

Om uit te maken welke van de twee genoemde mogelijkheden de juiste is werd een onderzoek verricht bij twee groepen 4 dagen oude cavia's. De ene groep onder normale omstandig-

heden geboren en opgegroeid, de andere groep geboren en opgegroeid in het donker. Iedere groep bestond uit 20 dieren. De periode van 4 dagen werd gekozen omdat de dieren dan in een goede conditie verkeren en de normaal opgegroeide dieren een in alle opzichten "volwassen" ERG vertonen (VAN HOF en USAMI, l.c.). Fig. 7 toont de gegevens van de normale 4 dagen oude cavia's, Fig. 8 toont die van de 4 dagen oude cavia's geboren en opgegroeid in het donker. Zoals de figuren laten zien is de b-golf in beide figuren gelijk.

De kleinere b-golf bij drie maanden oude dieren die geboren en opgegroeid zijn in het donker moet dan niet gezien worden als een achterblijven in ontwikkeling maar als een secundair funktieverlies ten gevolge van lichtonthouding volgend op een aanvankelijk normale ontwikkeling.

Fig. 9 toont gegevens met betrekking tot de latente tijden van de top van de a-golf en de top van de b-golf van de besproken groepen dieren. Er blijken geen duidelijke verschillen te bestaan tussen de diverse groepen.

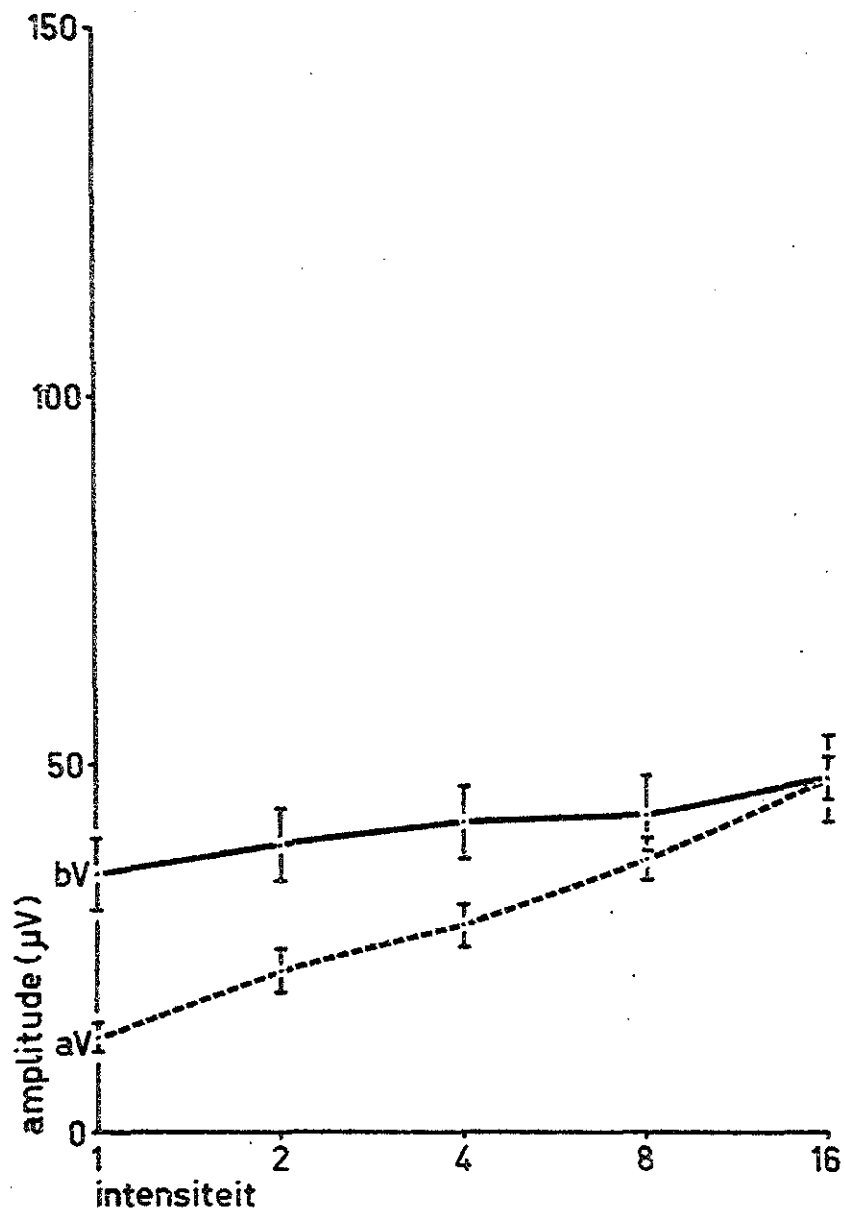


Fig. 5. Gemiddelde waarden en standaardfouten van aV en bV uitgezet tegen de lichtintensiteit verkregen bij een groep van 20 in het donker geboren en opgegroeide cavia's op de leeftijd van 3 maanden.

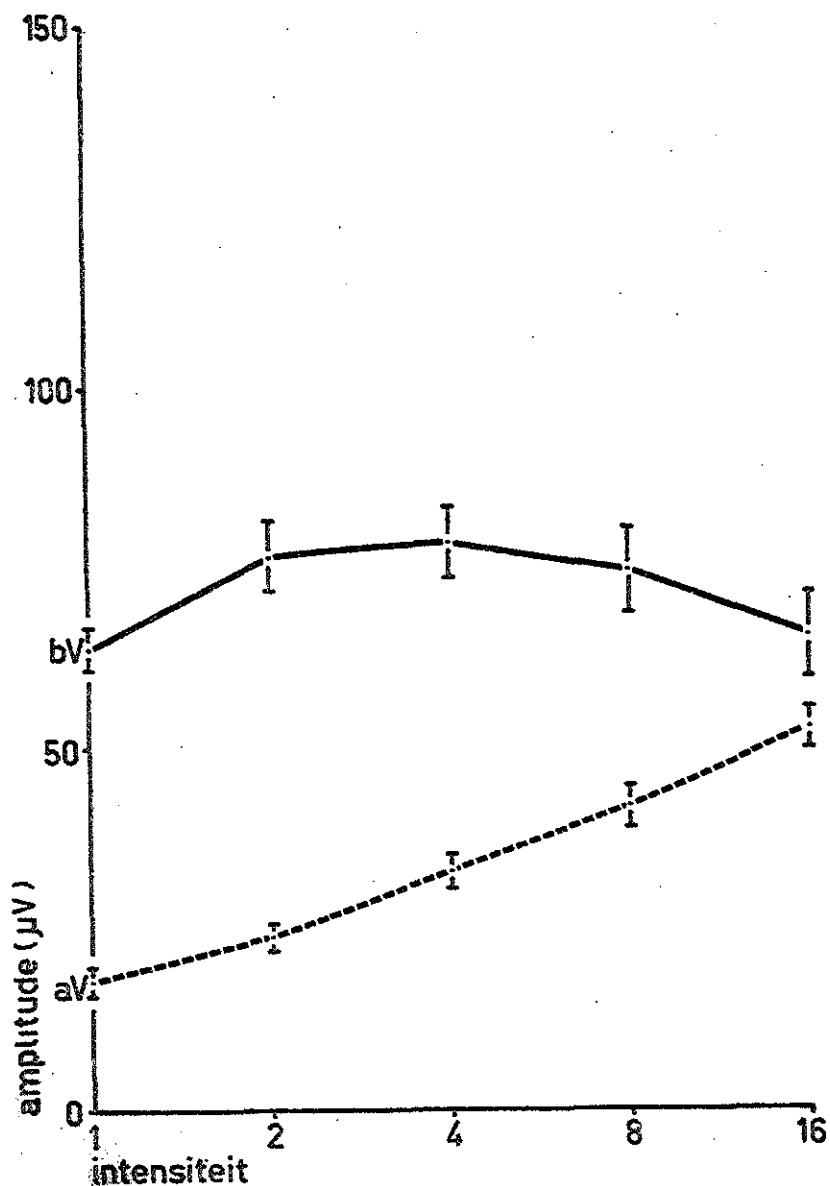


Fig. 6. Een groep van 20 cavia's groeide in het donker op tot de leeftijd van 3 maanden. Daarna werden de dieren 10 dagen blootgesteld aan normale kamerverlichting. Vervolgens werden ERG's afgeleid. In de curve zijn de gemiddelde aV en bV waarden en de standaardfouten uitgezet tegen de lichtintensiteit

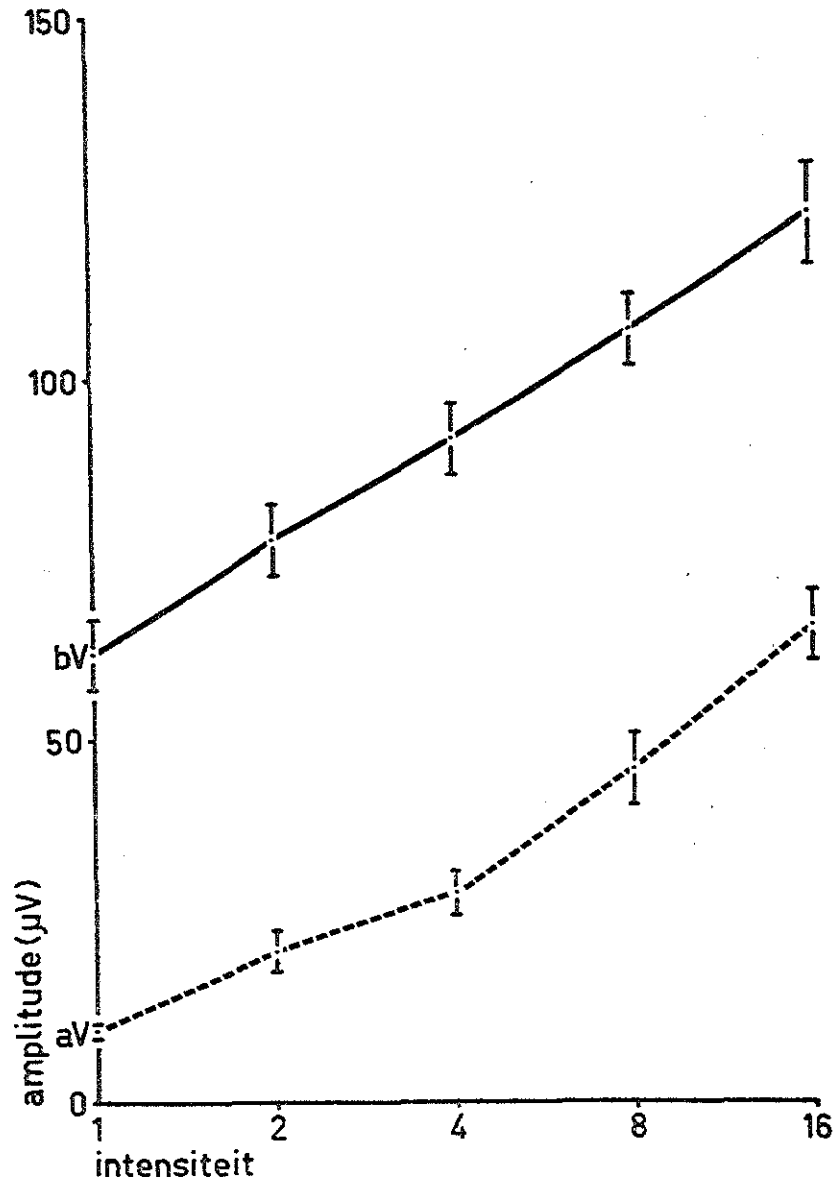


Fig. 7. Gemiddelde aV en bV waarden en standaardfouten uitgezet tegen de lichtintensiteit verkregen bij een groep van 20 cavia's op de leeftijd van 4 dagen. De dieren groeiden op bij kamerverlichting.

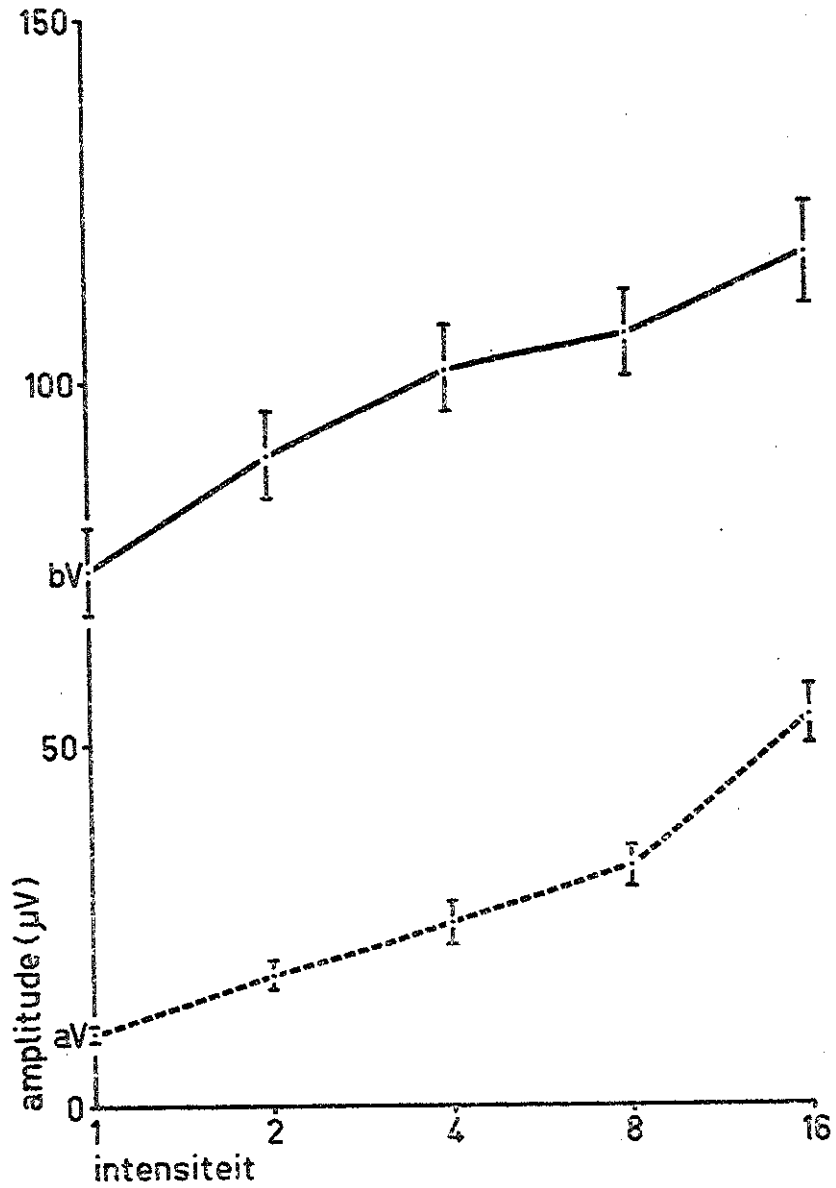


Fig. 8. Gemiddelde aV en bV waarden en standaardfouten uitgezet tegen de lichtintensiteit verkregen uit een groep van 20 in het donker opgegroeide cavia's van 4 dagen oud.

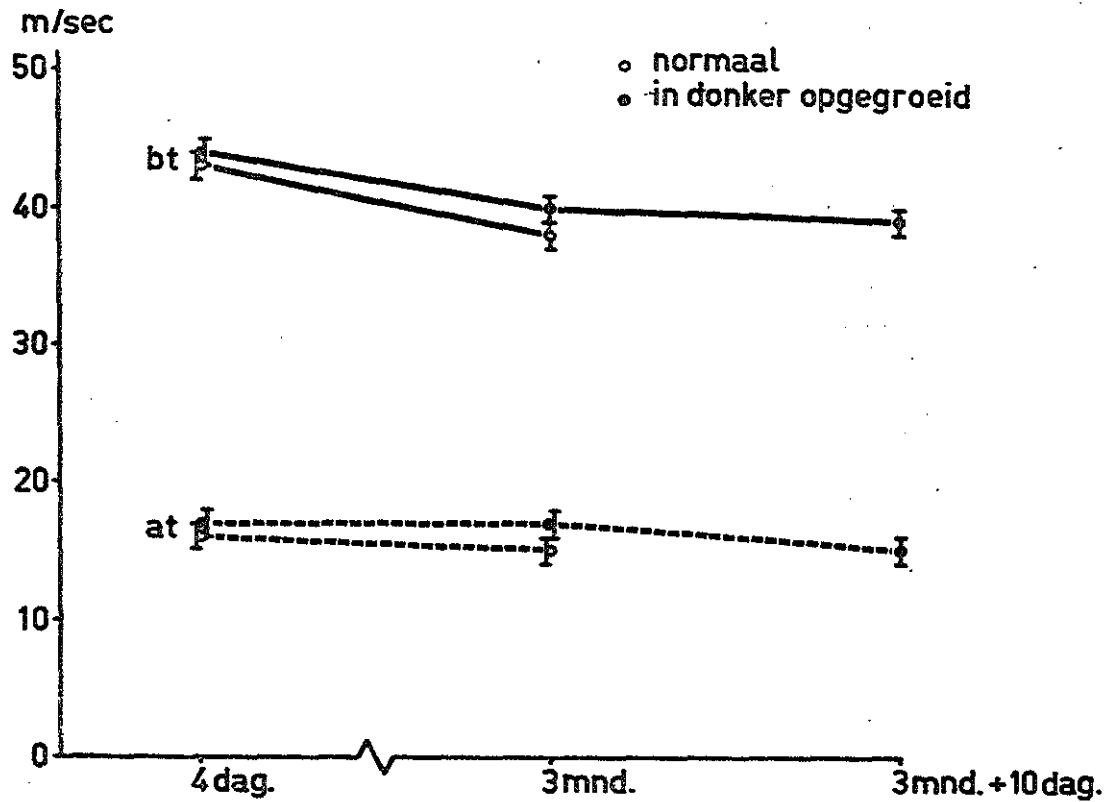


Fig. 9. Gemiddelde at en bt waarden met bijbehorende standaardfouten uitgezet tegen de leeftijd van de dieren in de verschillende groepen. Aangegeven zijn twee groepen die in het licht opgroeiden (4 dagen en 3 maanden oud op het moment van afleiden van het ERG) en drie groepen die in het donker opgroeiden (4 dagen, 3 maanden en 3 maanden met daarna 10 dagen kamerverlichting).

HET EFFEKT VAN LICHTONTHOUDING OP HET ERG VAN DE VOLWASSEN
CAVIA

Om de vraag te kunnen beantwoorden of het netvlies in de postnatale periode gevoeliger is voor lichtonthouding dan in een latere periode werden 3 maanden oude cavia's die onder normale verlichtingscondities opgegroeid waren gedurende een periode van 3 maanden in het donker gebracht. In Fig. 10 zijn de aV en bV waarden verkregen onmiddellijk na het eind van het verblijf in het donker weergegeven. Vergelijking met Fig. 4 toont slechts geringe, zij het significante, verschillen. Ook de at en bt waarden bleken onveranderd. Het is duidelijk dat het effect van drie maanden lichtonthouding aanzienlijk groter is in de postnatale periode (Fig. 5) dan op de volwassen leeftijd.

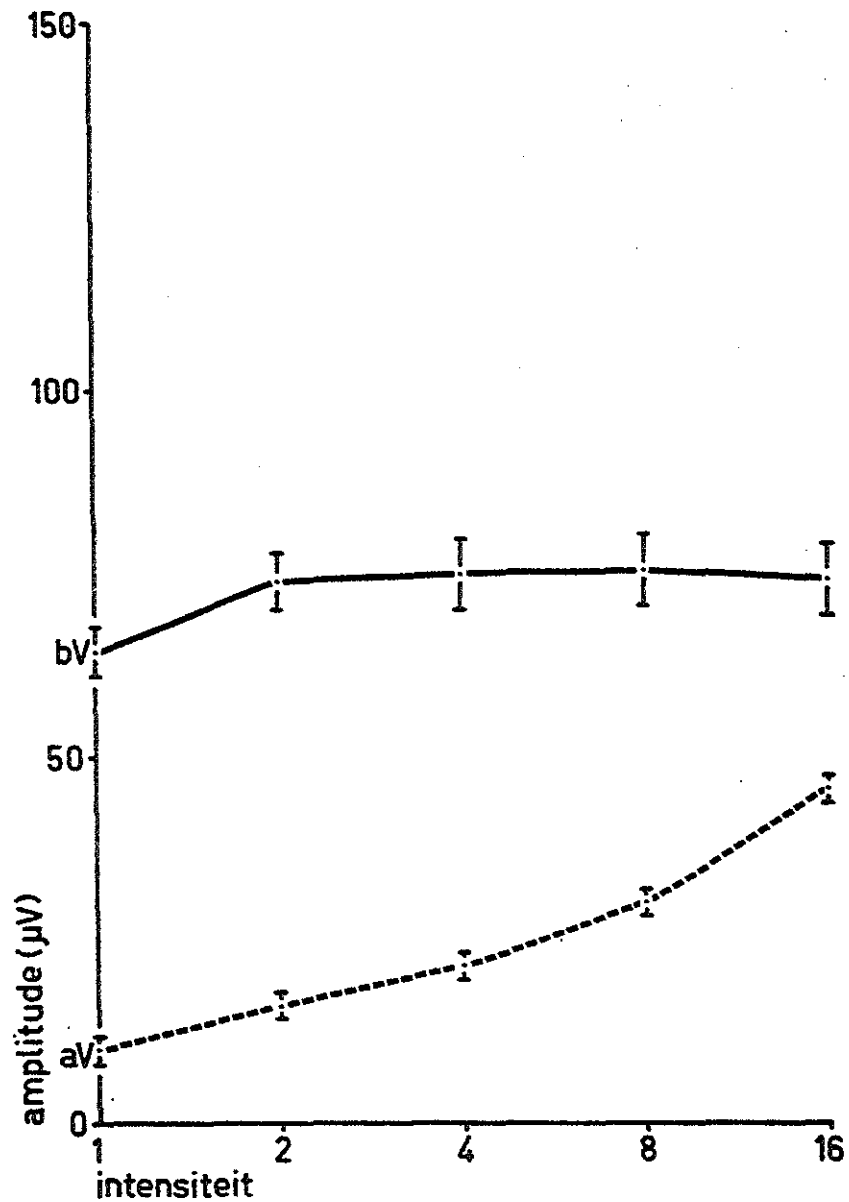


Fig. 10. Gemiddelde aV en bV waarden met bijbehorende standaardfouten uitgezet tegen de lichtintensiteit. De ERG's werden verkregen van cavia's die op volwassen leeftijd 3 maanden in het donker gebracht waren.

BESPREKING VAN DE RESULTATEN

In bovenbeschreven experimenten werd vastgesteld dat de kleine b-golf bij cavia's geboren en opgegroeid in het donker tot de leeftijd van 3 maanden niet een uiting is van een geremde ontwikkeling van het ERG. Uit een onderzoek van VAN HOF en USAMI (l.c.) bleek dat cavia's minder dan 6 uur na de geboorte vrijwel geen ERG vertonen. Hoe moet dat in verband gebracht worden met de bevinding dat 4 dagen na de geboorte ondanks lichtonthouding een normaal ERG afgeleid kan worden? Het meest voor de hand liggend lijkt dat de algemene conditie van het enige uren oude, met urethaan genarcotiseerde, dier zo slecht is dat hierdoor het normale functioneren van de retina belemmerd wordt.

Vervolgens willen wij ons nu bezighouden met de vraag in hoeverre onze bevindingen overeenkomen met andere gegevens uit de literatuur. Het dier waarbij de invloed van lichtonthouding het meest onderzocht is, is de kat. Zoals in de inleiding reeds vermeld, wordt dit dier geboren met gesloten ogen en een nog verre van volgroeide retina (HELLSTRØM en ZETTERSTRØM, 1956 en ZETTERSTRØM, 1955). Het ERG ontwikkelt zich bij de kat wat de b-golf betreft in de eerste 9 à 10 weken na de geboorte. In de experimenten van ZETTERSTRØM werd de lichtonthouding gedurende maximaal

tien weken toegepast. Het bleek nu dat in de eerste vier weken het ERG achter bleef ten opzichte van dat bij in het licht opgroeiende dieren, maar dat daarna geen verschil te vinden was. Met andere woorden, de verschillen tussen normaal en in donker opgegroeide dieren waren gering want werd een dier van bv. 3 weken oud uit het donker gehaald dan bleken 30 lichtflitsen (toegediend in een periode van 10 tot 20 minuten) reeds voldoende om het ERG "te normaliseren". Lichtonthouding gedurende de ontwikkelingsfase van het ERG leidt dus ten hoogste tot geringe, met lichtflitsen op te heffen, afwijkingen en dit dan nog slechts gedurende de eerste vier weken na de geboorte.

De hierboven beschreven bevindingen bij de cavia zijn hiermee in overeenstemming, immers het vermogen van het netvlies om op lichtflitsen te reageren in de vorm van een ERG ontwikkelt zich kennelijk in utero gedurende de voor een knaagdier relatief lange dracht van 9 weken. Noch bij de cavia, noch bij de kat interfereert lichtonthouding met de ontwikkeling van deze vorm van functioneren van het netvlies.

De techniek van ZETTERSTRØM wijkt af van die die door ons werd gebruikt. Zij bood 30 lichtflitsen aan en mat de amplitude opgewekt door de eerste lichtflits van deze serie. Op deze wijze werd het achterblijven in ontwikkeling

gedurende de eerste 4 weken geconstateerd. Wanneer de cavia een soortgelijke ontwikkelingsfase doormaakt dan zal deze vallen in de intrauterine periode, want BORNSCHEIN (1959), die vrijwel dezelfde methode als ZETTERSTRØM gebruikte, vond reeds bij 5 tot 24 uur oude cavia's een in alle opzichten normaal ERG.

BAXTER en RIESEN (1961) bestudeerden eveneens katten maar na een lichtonthoudingsperiode van zeer lange duur (1 jaar). Bij 1 jaar oude in het donker opgegroeide dieren was het ERG duidelijk verkleind. Twee dagen blootstelling aan licht waren nodig om een normaal ERG te kunnen opwekken. Deze aanvankelijke verkleining was te zien bij frekwenties van 1 lichtflits per seconde, echter niet wanneer de frekwentie 1 per minuut bedroeg. De afwijkingen werden niet in de a-golf gezien, maar uitsluitend in de b-golf. Zowel dit gelijk blijven van de a-golf als wel het verkleind zijn van de b-golf stemt overeen met onze bevindingen bij de cavia. Echter, bij de cavia blijkt 10 dagen additioneel licht nog niet voldoende om een in alle opzichten normaal ERG te verkrijgen. Aangezien BAXTER en RIESEN vonden dat de verschillen tussen normale en in donker opgegroeide katten duidelijk waren bij 1 lichtflits per 10 seconden en niet bij 1 flits per minuut en dan nog wel bij "hoge" en niet bij "lage" lichtintensiteiten, mag men niet uit onze expe-

rimenten concluderen dat de cavia retina zich langzamer herstelt dan de retina van de kat. Immers het laat zich op grond van wat deze auteurs vonden zeer wel denken dat de afwijkingen duidelijker worden naarmate de lichtflitsen met hogere frekwentie en in langere series worden gegeven. In dit verband bezien wordt het zeer plausibel dat bij de aan 10 dagen additioneel licht blootgestelde cavia het juist de hoogste lichtintensiteiten zijn die de afwijkende ERG's opleveren.

Zo bezien stemmen de resultaten verkregen bij de kat en de cavia althans kwalitatief goed overeen, namelijk dat de retina ontwikkeling die voor het ERG noodzakelijk is zich ook voltrekt bij het in het donker opgroeiende dier, maar dat wanneer de normaal ontwikkelde retina daarna langdurig licht wordt onthouden het vermogen tot het produceren van een normale b-golf afneemt. Terwijl voor zover nu te zeggen enkele dagen additioneel licht tot tenminste gedeeltelijk herstel leidt.

Wat betreft lichtonthouding bij volwassen onder normale omstandigheden opgegroeide dieren is een vergelijking met de kat moeilijker. Weliswaar hebben CORNWELL en SHARPLESS (1967) aangetoond dat de volwassen kat na lichtonthouding een afname van het b-golf amplitude te zien geeft en dat

deze b-golf vermindering reversibel is maar hun proefomstandigheden zijn zo anders dan die van BAXTER en RIESEN dat niet te zeggen valt of de volwassen kat minder gevoelig voor lichtonthouding is dan het jonge in donker opgegroeide dier.

Zoals hierboven beschreven manifesteert het effect van lichtonthouding zich het duidelijkst in het kleiner worden van de b-golf. Uit de literatuur (DAVSON 1963) is bekend dat de a-golf het gevolg is van activiteit op het niveau van de receptoren, de b-golf daarentegen wordt gelocaliseerd tussen de laag van receptoren en ganglioncellen. In dit verband zijn de bevindingen van WEISKRANTZ (1958) bij de kat en van RASCH, SWIFT, RIESEN en CHOW (1961) eveneens bij de kat van belang. Zij vonden o.a. dat dieren vanaf de geboorte opgegroeid in het donker in de retina een versmalling van de binnenste plexiforme laag vertoonden. In het licht van deze gegevens ligt het voor de hand aan te nemen dat lichtonthouding meer invloed heeft op het neuronale systeem van de retina dan op de receptoren.

In de literatuur (RIESEN, 1966) wordt met betrekking tot lichtonthouding wel gesproken van een "critische fase", waarmee bedoeld wordt een periode in de postnatale ontwikkeling van het individu waarin lichtonthouding het

meeste effect heeft.

Voor het bestaan van een dergelijke fase pleit het feit dat lichtonthouding in de postnatale periode de b-golf sterk verkleint, terwijl dit nauwelijks het geval is bij lichtonthouding op de volwassen leeftijd. Het begin van deze kritische fase behoeft echter niet samen te vallen met het tijdstip van de geboorte, gezien het feit dat de ontwikkeling van het ERG zowel bij de cavia als de kat ook zonder licht plaats vindt. Het lijkt dan ook juister te veronderstellen dat de kritische fase aanvangt op een tijdstip waarop een bepaalde mate van ontwikkeling bereikt is, een moment dat, afhankelijk van de diersoort, korter of langer na de geboorte kan vallen. Dat iets dergelijks ook in het meer centraal gelegen deel van het visuele systeem het geval is blijkt uit het werk van WIESEL en HUBEL (1963). Zij leidden aktiepotentialen af van enkele cellen in de visuele schors van pasgeboren nog niet aan lichtpatronen blootgestelde katten af en vonden dat de reacties van deze corticale cellen op lichtpatronen merkwaardig sterk overeenkwamen met die van volwassen dieren. Daarna vonden zij (1965) dat zeer vele cellen bij dieren van drie maanden oud opgegroeid met dichtgehechte oogleden niet reageren en dat van diegene die reageren vele hun specificiteit voor de oriëntatie van lijnstukken hadden verloren.

Hiermede is ook in overeenstemming het feit dat konijnen

die de eerste zes weken na de geboorte in het donker waren opgegroeid (VAN HOF, 1969) een normale orientatie discriminatie op de leeftijd van zes maanden bezaten vergeleken met konijnen die onder normale omstandigheden opgegroeid waren. Zoals beschreven door SCHADE c.s. (1964) vindt de voornaamste ontwikkeling van het konijnezenuwstelsel plaats gedurende de eerste zes weken na de geboorte. Deze feiten pleiten ook voor de geringe invloed van lichtonthouding op de ontwikkeling van het visuele systeem.

CONCLUSIES

1. Cavia's geboren en opgegroeid in het donker gedurende 3 maanden vertonen een ERG waarvan de b-golf aanzienlijk kleiner in amplitude is dan die bij dieren van dezelfde leeftijd, maar opgegroeid onder normale verlichtingscondities.
2. Cavia's van 4 dagen oud, ongeacht of ze onder normale verlichtingscondities dan wel in het donker opgroeien vertonen een ERG waarvan de b-golf amplitude overeenkomt met die van normaal opgegroeide volwassen dieren. De kleine b-golf bij drie maanden oude, in donker geboren en opgegroeide dieren moet dan berusten op een functie vermindering volgend op een aanvankelijk normale ontwikkeling en niet op een primaire ontwikkelingsremming.
3. Een periode van 10 dagen kamerverlichting na 3 maanden lichtonthouding herstelt grotendeels de onder 1. genoemde afwijking van de b-golf.
4. De gevolgen van 3 maanden lichtonthouding op het ERG zijn veel groter in de postnatale fase dan op volwassen leeftijd.

5. De verkregen resultaten alsmede gegevens uit de literatuur steunen de zienswijze dat de fase waarin het netvlies het meest gevoelig is voor lichtonthouding niet noodzakelijkerwijze begint op het moment van de geboorte, maar op een tijdstip waarop een bepaalde mate van funktionele ontwikkeling bereikt is.

1. Baxter, B.L. en Riesen, A.H. (1961). Electroretinogram of the visually deprived cat. Science N.Y., 134, 1626-1627.
2. Bonting, S.L., Caravaggio, L.L. en Gouras, P. (1961). The rhodopsin cycle in the developing vertebrate retina I. Relation of rhodopsin content, electroretinogram and rod structure in the rat. Exp. Eye Res. 1, 14-24.
3. Bornschein, H. (1959). Zur postnatalen Entwicklung der Netzhautfunktion. Wiener Klin. Wochsch. 71, 956-958.
4. Cornwell, A.C. en Sharpless, S.K. (1967). Electrophysiological retinal changes and visual deprivation. Vision Res. 8, 389-401.
5. Davson, H. (1963). The physiology of the eye. J. & A. Churchill Ltd, Londen.
6. Hellner, K.A. en Utermann, D. (1965). Quantitative electroretinographische Untersuchungen über die Entwicklung der normalen und dystrophische Rattenretzhaut. Vision Res. 5, 535-544.
7. Hellstrøm, B. and Zetterstrøm, B. (1956). The effect of light on the manifestation of the ERG and on histochemically demonstrable SH groups in the retina. Exp. Cell Res. 10, 248-251.

8. Hess, E.H. (1959). Imprinting. *Science*, 130, 133-141.
9. Horsten, G.P.M. en Winkelman, J.E. (1960). Development of the ERG in relation to histological differentiation of the retina in man and animals. *Arch. Ophth.* 63, 232-242.
10. Keeler, C.E., Sutcliffe, E. en Chaffee, E.L. (1928). A description of the ontogenetic development of retinal action currents in the house mouse. *Proc. Nat. Acad. Sciences Wash.* 14, 811-815.
11. Noell, W.K. (1958). Differentiation, metabolic organization and viability of the visual cell. *Arch. Ophth.* 60, 702-753.
12. Parry, H.B., Tansley, K. en Thomson, L.C. (1955). ERG during development of hereditary retinal degeneration in the dog. *Brit. J. Ophth.* 39, 349-352.
13. Rasch, E., Swift, H., Riesen, A.H. en Liang Chow, K. (1961). Altered structure and composition of retinal cells in dark reared mammals. *Exp. Cell Res.* 25, 348-363.
14. Riesen, A.H. (1966). "Sensory deprivation" in *Progress in Physiological Psychology*, Vol. 1. Edited by Stellar, E. and Sprague, J.M., Acad. Press, N.Y.

15. Schadé, J.P., Backer, H. van, Colon, E. (1964).
Quantitative analysis of neuronal parameters in the
maturing cerebral cortex. Progress in Brain Res. 4,
150-174.
16. Van Hof, M.W. en Usami, E. (1968). The ERG in the nor-
mal and dark reared guinea pig. Acta Soc. Ophth. Jap.
72, 283-286.
17. Van Hof, M.W. Discrimination of striated patterns of
different orientation in rabbits deprived of light
after birth. Wordt gepubliceerd in Exp. Neurol. 1969.
18. Weiskrantz, L. (1958). Sensory deprivation and the
cat's optic nervous system. Nature Lond. 181, 1047-1050.
19. Wiesel, T.N. en Hubel, D.H. (1963). Single cell res-
ponses in striate cortex of kittens deprived of
vision in one eye. J. Neurophysiol. 26, 1003-1017.
20. Wiesel, T.N. en Hubel, D.H. (1965). Extent of recovery
from the effect of visual deprivation in kittens. J.
Neurophysiol. 28, 1060-1072.
21. Zetterstrøm, B. (1955). The effect of light on the
appearance and development of the ERG in newborn
kittens. Acta Physiol. Scand. 35, 272-279.

B. DE POSTNATALE ONTWIKKELING VAN HET MET SINUSVORMIG-
GEMODULEERD LICHT OPGEWEKTE ELECTRORETINOGRAM VAN
DE CAVIA EN HET KONIJN

INHOUD

1. Inleiding	39
2. Vraagstelling	42
3. Methodiek	43
4. Het met lichtflitsen opgewekte electroretino- gram van het volwassen en pasgeboren konijn	54
5. Het met sinusvormig gemoduleerd licht opgewekte electroretinogram bij het volwassen en pasgeboren konijn	65
6. Het met sinusvormig gemoduleerd licht opgewekte electroretinogram bij de volwassen en pasgeboren cavia	72
7. Vergelijking van de resultaten verkregen bij de cavia en het konijn met die van de witte rat	75
8. Bespreking van de resultaten	77
9. Conclusies	80
10. Literatuur	82

INLEIDING

Na het baanbrekend werk van DE LANGE (1957) is het gebruik van sinusvormig gemoduleerd licht vooral in psychofysische experimenten naar voren gekomen. In de zgn. De Lange curves wordt het verband uiteengezet tussen de modulatie diepte van het sinusvormig gemoduleerd licht en de flikkerfusie frequentie. Het verloop van dergelijke curves hangt af van een aantal factoren o.a. de gemiddelde helderheid en grootte van het testobject, de spektrale samenstelling van het licht, de lokalisatie van het beeld op het netvlies.

In de literatuur zijn ook onderzoeken beschreven waarin sinusvormig gemoduleerd licht toegepast werd bij het bestuderen van het electroretinogram (in het vervolg aangeduid als ERG). In navolging van VAN DER TWEEL en VISSER (1960) en VAN DER TWEEL (1961) wordt dan niet de modulatie diepte tegen de flikkerfrequentie uitgezet maar de amplitude van de response opgewekt met sinusvormig gemoduleerd licht, bij constante modulatie diepte, tegen de modulatie frequentie. Een dergelijke "amplitude-modulatie frequentie" curve van het ERG, in het vervolg aangeduid als A-MF curve, kan de functionele eigenschappen van het netvlies weergeven. Zo vonden GOURAS en GUNKEL (1964) dat het verloop van dergelijke curves bij normale proefpersonen, staafjes achromaten en nachtblinden op karakteristieke wijze verschilden. De-

zelfde auteurs beschreven (1962) dat de A-MF curve van het overwegend staafjes oog van de witte rat een top vertoont bij een veel lagere frekwentie dan die van het kegeltjes oog van de eekhoorn. Dit is in overeenstemming met het feit dat de top van de psycho-fysisch gevonden scotopische De Lange curves bij een lagere frekwentie ligt dan die van de photopische curves. De verwachting ligt dan ook voor de hand dat in het algemeen zal gelden dat het verloop van een A-MF curve van het ERG in belangrijke mate bepaald zal worden door de mate waarin staafjes en/of kegeltjes geprikkeld worden.

In de werkgroep, waarin het hierna te beschrijven onderzoek werd verricht, is één van de onderwerpen van studie de invloed van lichtonthouding op de eigenschappen van het visuele systeem. Bij een dergelijk onderzoek wordt de netvlies functie meestal bestudeerd aan de hand van het door lichtflitsen opgewekte ERG. Nu blijkt uit het onderzoek van NOELL (1958) dat, althans bij het konijn, de ontwikkeling van het scotopische en photopische ERG in de postnatale periode niet parallel loopt. Op de leeftijd van 18 dagen wordt een "volwassen" photopisch ERG verkregen, het scotopisch ERG is pas na 90 dagen vergelijkbaar met dat van een volgroeid dier. Dit feit in combinatie met de bovenomschreven verwachting dat het verloop van de A-MF curve bepaald

wordt door de verhouding waarin staafjes en kegeltjes geprikkeld worden leidde tot de gedachte dat dergelijke curves een aanzienlijke bijdrage zouden kunnen leveren tot het concluderen of een netvlies op een bepaald moment al dan niet tot normale ontwikkeling is gekomen en gebruikt kunnen worden bij onderzoekingen over het effect van lichtonthouding. De bovenstaande overwegingen leidden tot het hier te beschrijven onderzoek, dat bedoeld is als een noodzakelijke voorbereiding voor het toepassen van sinusvormig gemoduleerd licht bij het bestuderen van het effect van lichtonthouding op het visuele systeem.

VRAAGSTELLING

1. Hoe is het verloop van de A-MF curve bij de volwassen cavia en het volwassen konijn?
2. Hoe is de postnatale ontwikkeling van deze curves in vergelijking tot die van het met lichtflitsen opgewekte electroretinogram?
3. Kunnen de uit 1. verkregen resultaten in verband gebracht worden met de uit de literatuur bekende gegevens omtrent de A-MF curve van de witte rat - een dier met een overwegend staafjes retina - en van de eekhoorn - een dier met een kegeltjes oog?

METHODIEK

In dit onderzoek worden zoals in de inleiding vermeld de resultaten van lichtflits prikkelen vergeleken met die van prikkelen met sinusvormig gemoduleerd licht. De methode gevolgd bij het lichtflits prikkelen is identiek met die uit deel A en voor de beschrijving zij dan ook verwezen naar pag. 8-11.

De proefdieren werden bij het onderzoek met sinusvormig gemoduleerd licht op dezelfde wijze als aangegeven op pag. 8-11 voorbereid. Fig. 11 geeft in schematische vorm weer de opstelling zoals die bij deze experimenten werd gebruikt. Het dier werd zodanig voor de later te beschrijven fotostimulator opgesteld dat het te onderzoeken oog zich op een afstand van 5 cm midden voor het scherm (35 x 35 cm) bevond. Electroretinogrammen werden afgeleid tussen een naaldelectrode in de voorste oogkamer en een electrode aan het oor. Met deze afleidingen werd pas begonnen nadat het dier gedurende een half uur geadapteerd was aan de tevoren ingestelde luminantie van het scherm. Deze gemiddelde luminantie was zodanig dat de verlichtingssterkte gemeten op de plaats van het oog 15 Lux bedroeg.

Door middel van een funktiegenerator werd met sinusvormige spanningen van verschillende frekwentie de servogestuurde lichtintensiteitsmodulator gecommandeerd. Bij ieder experi-

ment werden aan het proefdier de volgende frekventies aangeboden 1, 2, 3, 4 1/2, 6, 9, 12, 18, 23, 28, 32 en 42 perioden per seconde. Behoudens bij enkele voor-experimenten werd er met een constante modulatie diepte van 50% gestimuleerd. Ter verduidelijking zij nog vermeld dat onder modulatie diepte verstaan wordt (zie Fig. 12):

$$\text{Modulatie diepte (\%)} = \frac{\Delta I}{I} \times 100$$

waarin met I bedoeld wordt de gemiddelde lichtintensiteit van het aangeboden licht en met ΔI de maximale waarde van de lichtintensiteitsvariatie vanaf het niveau I.

Betreffende de in het schema aangeduide modulator ') het volgende (Fig. 13): Licht afkomstig van een halogeenlamp (24V, 150W) passeert via een condensor een elektromechanisch aangedreven sluiters. Het optisch systeem na de sluiters bevat een gedeeltelijk doorlatende spiegel, een tweede condensor, een projectie objektief (E-IKOR, Anastigmat 1:3,5, f:35 mm) en een zgn. "Helio" scherm (Optische Industrie "Oude Delft"). De luminantie van het scherm is continu regelbaar en wordt bepaald door de positie van de sluiters. Voor de elektronische positiesturing van de sluiters wordt

') ontwerp F.van der Mark, Fysiologisch Laboratorium, M.F.R.

als referentie element een fotocel (Ferranti MS 1AE) toegepast. Belicht via de gedeeltelijk doorlatende spiegel geeft deze fotocel een stroomsterkte in de "summing junction" van de operationele versterker (op. ampl. I) lineair evenredig met de luminantie op het "Helio" scherm, resulterend in een eveneens lineair evenredige spanning op de output van deze versterker. De als servoversterker geschakelde tweede versterker (op. ampl. II) stuurt de electromechanische sluiteraandrijving via de energieversterker (driver amplifier), terwijl de output van de operationele versterker I als negatief terugkoppelsignaal in de servoversterker wordt ingevoerd.

Het op deze wijze verkregen teruggekoppelde systeem vertoont een lineair verband tussen ingangsstuurspanning en luminantie van het scherm. Door invoering van een gelijkspanning (DC-level) kan vanaf een daarmee evenredig luminantieniveau continu gemoduleerd worden op commando van een elektrische spanningsfunctie (input waveform).

Hysteresis als gevolg van wrijving in de sluiteraandrijving wordt geëlimineerd door invoering van een wisselspannings signaal van hoge frekwentie t.o.v. de modulatiefrekwentie (800 c.p.s. "dither"). Bij sinusvormige modulatie over het volle luminantiegebied is het frekwentiebereik 0-150 perioden per seconde (-3dB). De stijgtijd over het volle helderheidsgebied, bij optimaal ingestelde snelheidsterugkop-

pelings (overshoot max. 2%), bedraagt 2,5 msec

Van het oog afgeleide potentialen passeren na versterking, (Grass Polygraaf: frekwentiebereik 0.22 - 300 c.p.s. (-3dB)), een bandpass filter (Krohnkite, $Q = 2$) en door middel van een Nuclear Chicago Data Retrieval Computer (D.R.C.) wordt een gemiddeld ERG over 100 perioden bepaald. Dit ERG wordt uitgeschreven door een x-y schrijver. De D.R.C. werd gestart door de funktiegenerator.

Op de Grass Polygraaf werd geregistreerd:

- A tijdsmarkering (sec)
- B referentiesignaal van de Ferranti fotocel
- C signaal afgeleid van het oog
- D idem, na passage van het bandpass filter

Voorbeelden hiervan worden gegeven in Fig. 14 en 15.

Fig. 14 toont een dergelijke registratie verkregen bij een cavia (modulatiefrekwentie 2 perioden per seconde).

In Fig. 15 is dezelfde registratie weergegeven bij een konijn (modulatiefrekwentie 18 perioden per seconde)

Uit de gegevens - na middeling verkregen - werd een A-MF curve samengesteld. De hierna te volgen methodiek bestaat uit het uitzetten van de gemeten amplitude als funktie van de modulatiefrekwentie (dit bij constante I en ΔI).

Alvorens de experimenten te beginnen werd eerst ter controle een A-MF curve van de meetopstelling bepaald, waarbij

het verzwakte (door middel van een General Radio Microvolter) output signaal van de funktiegenerator als ingangssignaal werd toegevoegd. Het resultaat is weergegeven in Fig. 16. Hieruit blijkt de constante versterking in het door ons onderzochte frekwentiegebied.

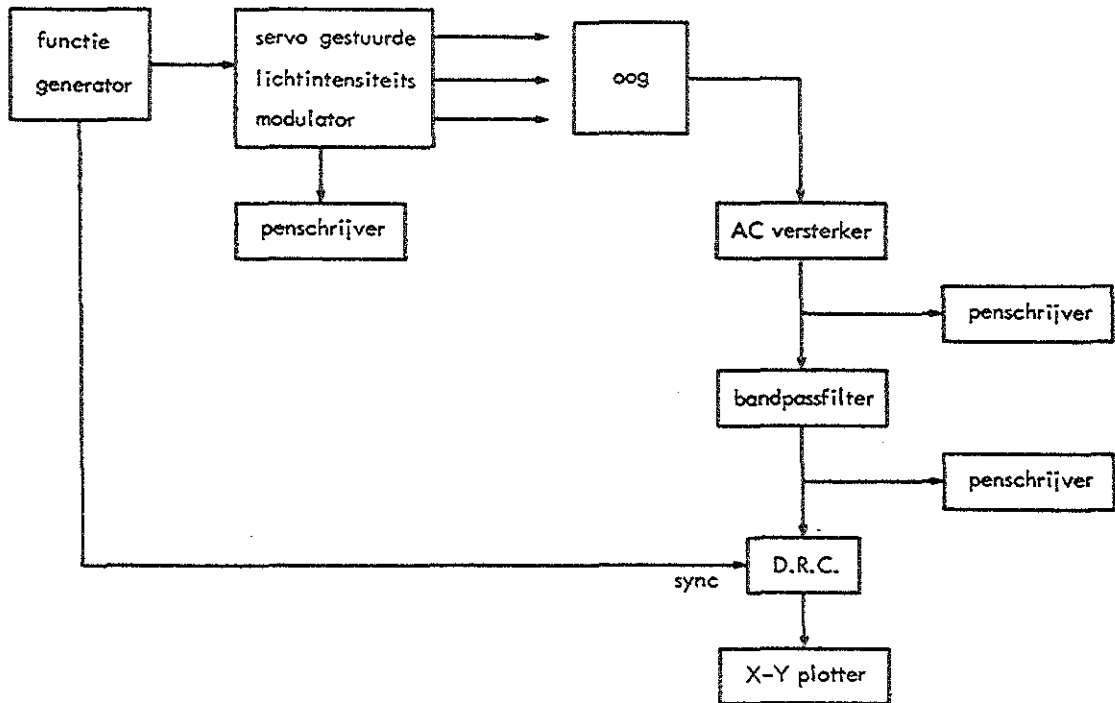


Fig. 11. Schematische weergave van de proefopstelling gebruikt voor het afleiden van het ERG opgewekt met sinusvormig gemoduleerd licht.

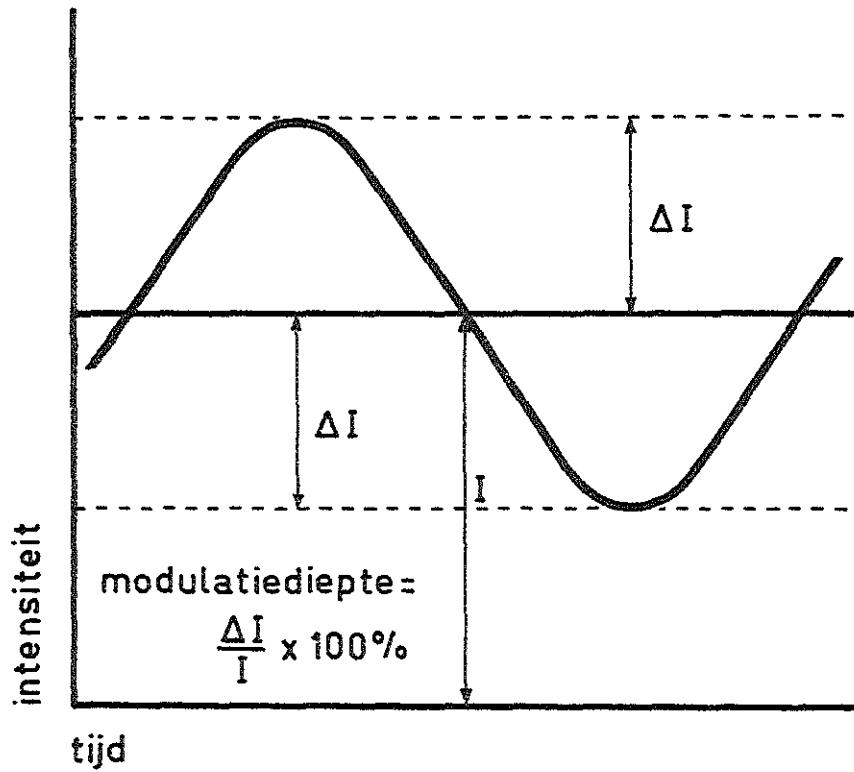


Fig. 12. Modulatie diepte.

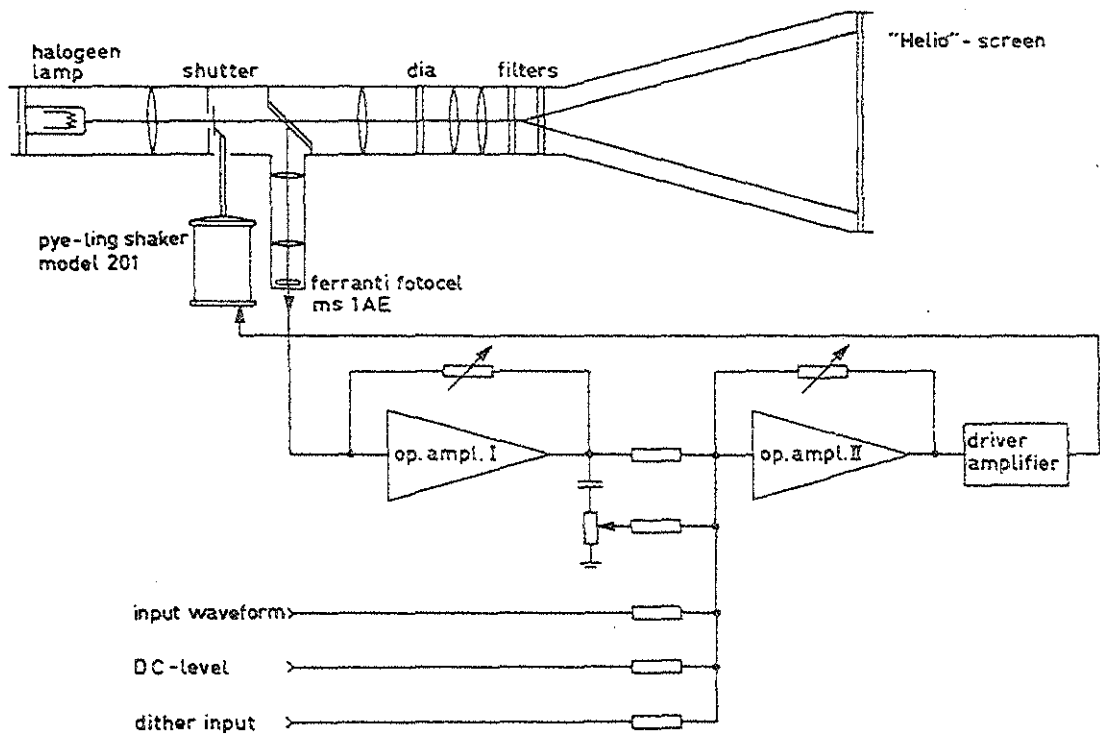


Fig. 13. Schematische weergave van de servogestuurde lichtintensiteitsmodulator.

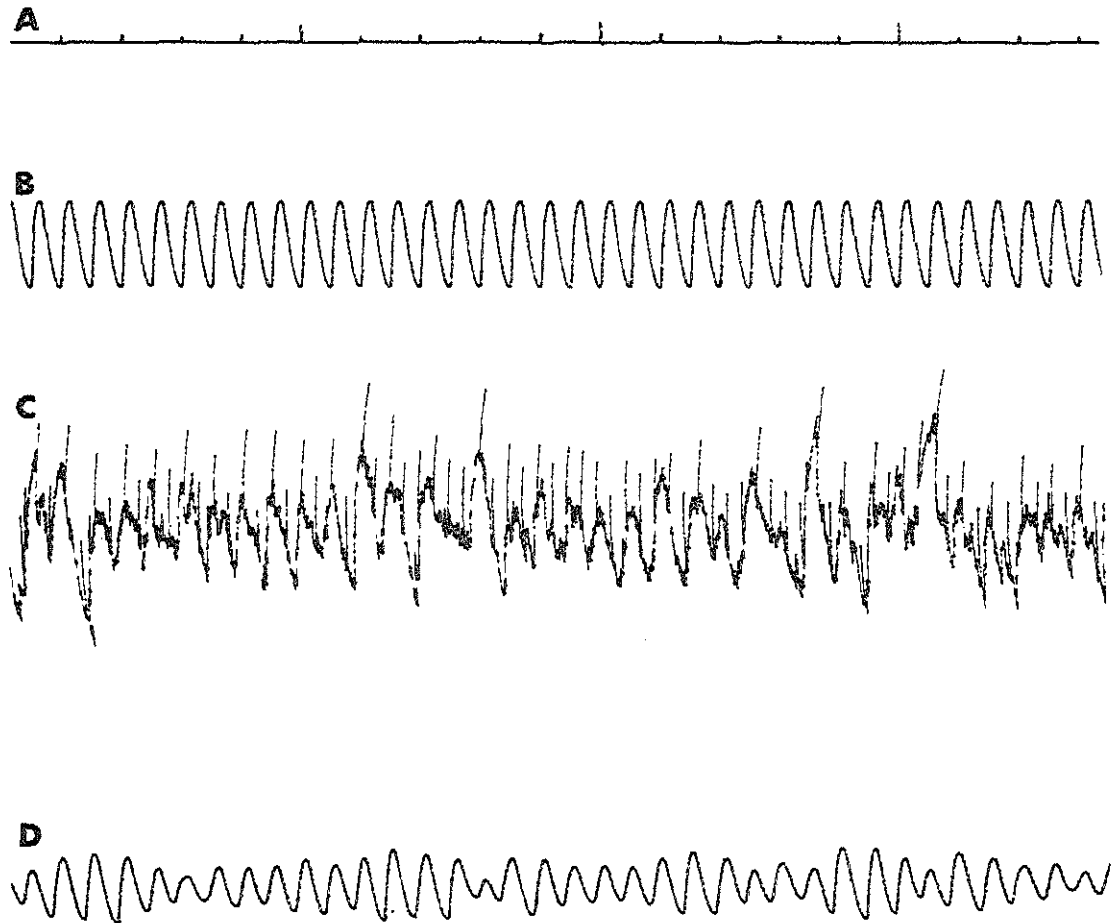


Fig. 14. Direkte registratie tijdens een experiment met een cavia.

- A. Tijdsmarkering (sec)
- B. Referentie-sigitaal van de Ferranti fotocel
- C. Signaal afgeleid van het oog na versterking
- D. Idem, na passage van bandpass filter.

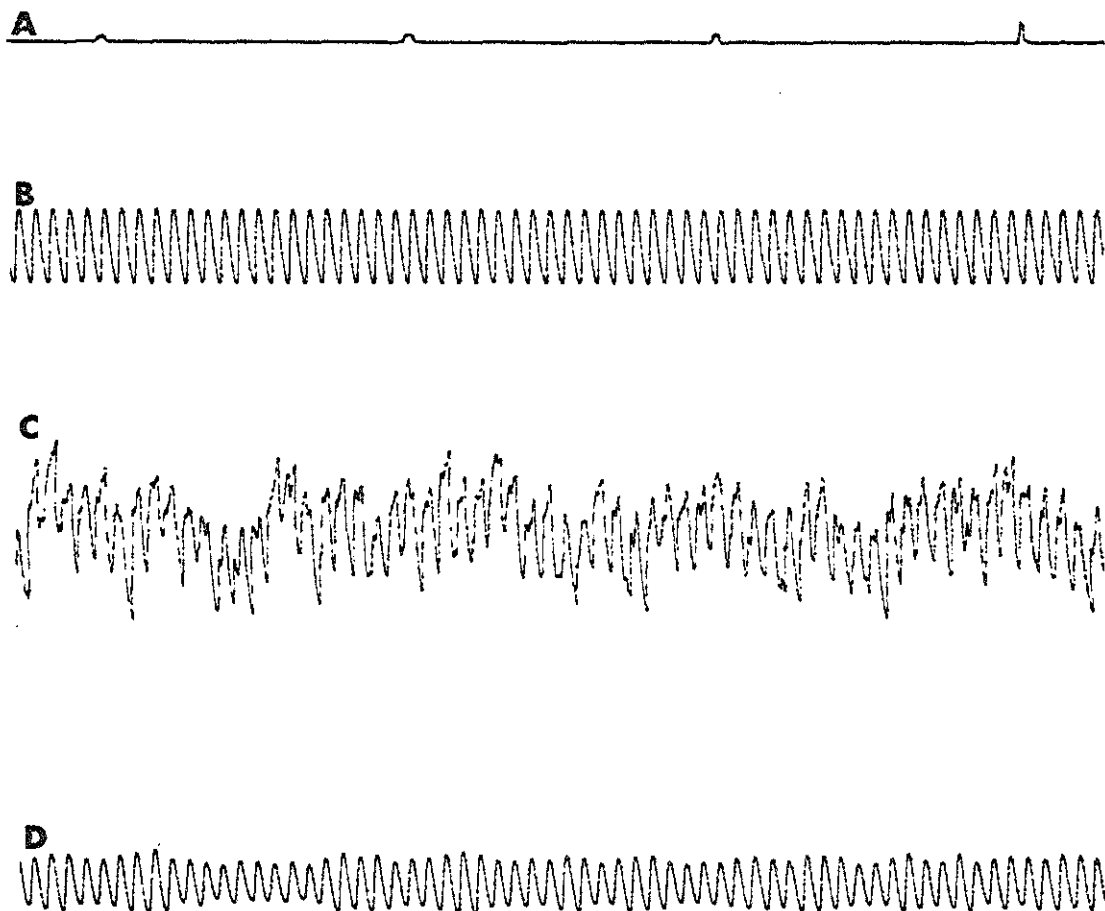


Fig. 15. Direkte registratie tijdens een experiment met een konijn.

- A. Tijdsmarkering (sec)
- B. Referentie-sigitaal van de Ferranti fotocel
- C. Signaal afgeleid van het oog na versterking
- D. Idem, na passage van bandpass filter.

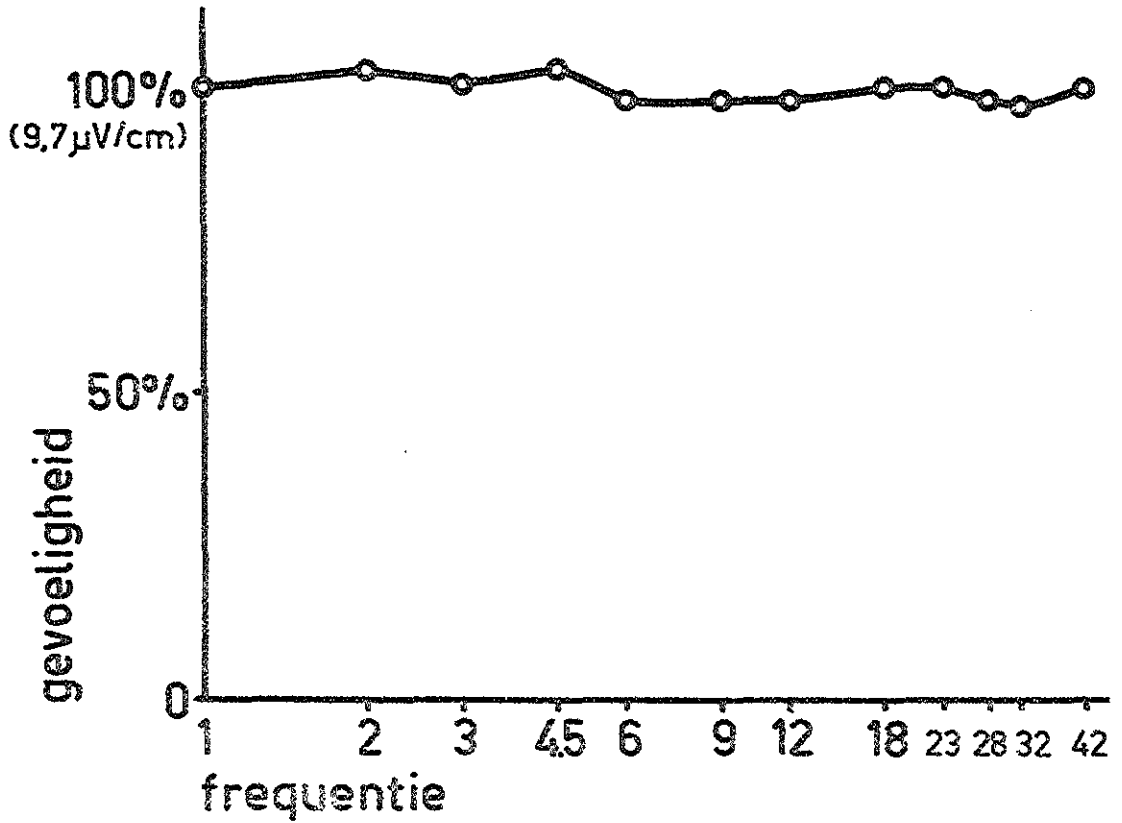


Fig. 16. Amplitude-modulatiefrequentie curve van de meetopstelling.

HET MET LICHTFLITSEN OPGEWEEKTE ELECTRORETINOGRAM VAN HET
VOLWASSEN EN PASGEBOREN KONIJN

Het konijn wordt geboren met gesloten oogleden en een nog niet volledig ontwikkelde retina (NOELL, 1958). Omstreeks de 10e dag openen zich de oogleden, de cornea is dan vaak nog enigszins troebel maar klaart binnen enkele dagen op. In het hier verrichte onderzoek werd het ERG behalve bij volwassen konijnen ook afgeleid bij konijnen van 2, 4 en 6 weken oud. De procedure die bij het registreren van het ERG gevolgd werd was geheel gelijk aan die beschreven voor de cavia (pag. 8 e.v.). Iedere leeftijdsgroep bestond uit 20 dieren. De genoemde leeftijden werden zo gekozen omdat het werk van NOELL aanduidt dat de retina ontwikkeling op de leeftijd van 4 weken grotendeels voltooid is.

Fig. 17 geeft voorbeelden van het ERG verkregen bij een volwassen dier met behulp van lichtflitsen van opklimmende lichtintensiteit. Ook hier blijkt weer dat vooral de a-golf bij vergroten van de lichtintensiteit toeneemt. Verder geeft de figuur weer dat de op de b-golf gesuperponeerde "wavelets" aanzienlijk minder uitgesproken zijn dan bij de cavia.

De gemeten grootheden (Fig. 18) zijn dezelfde als bij de cavia nl. aV en bV (gemeten bij lichtintensiteit 1, 2, 4, 8, 16) at en bt (alleen gemeten bij intensiteit "8"; voor

de argumentatie hiervan zie pag. 12).

Fig. 9 geeft voorbeelden van ERG's van 4 konijnen, ieder behorend tot een verschillende leeftijdsgroep. De figuur illustreert dat bij het 2 weken oude dier het ERG klein van amplitude is en dat de toppen van zowel a- als b-golf aanzienlijk later vallen dan bij de oudere dieren.

Fig. 20 geeft de gemiddelde waarden en standaardfouten van aV en bV aan, verkregen bij een groep volwassen dieren, uitgezet tegen de lichtintensiteit. Om de ERG's van deze dieren met die van de andere leeftijdsgroepen te kunnen vergelijken werden van de 2, 4 en 6 weken oude dieren de gegevens op analoge wijze uitgezet (Fig. 21, 22 en 23). Vergelijking van deze figuren toont dat de aV en bV waarden van het 4 weken oude konijn vrijwel overeenkomen met die van het volwassen dier.

De at en bt waarden verkregen bij de verschillende leeftijdsgroepen zijn weergegeven in Fig. 24. Ook deze waarden blijken duidelijk te veranderen tussen de 2e en 4e week. Verder toont deze figuur dat de bt van de volwassen dieren iets groter is dan die van de 6 weken oude dieren. In de individuele curves (vergelijk Fig. 9) manifesteert dit zich in een iets minder steil oplopende flank van de b-golf. Hoewel gezien dit laatste punt kennelijk na de 6e week nog wel enkele veranderingen optreden kan toch gezegd worden dat het ERG zich grotendeels ontwikkelt in de eerste 4

weken na de geboorte. Deze bevinding komt in grote lijnen overeen met wat door NOELL (1958) werd beschreven.

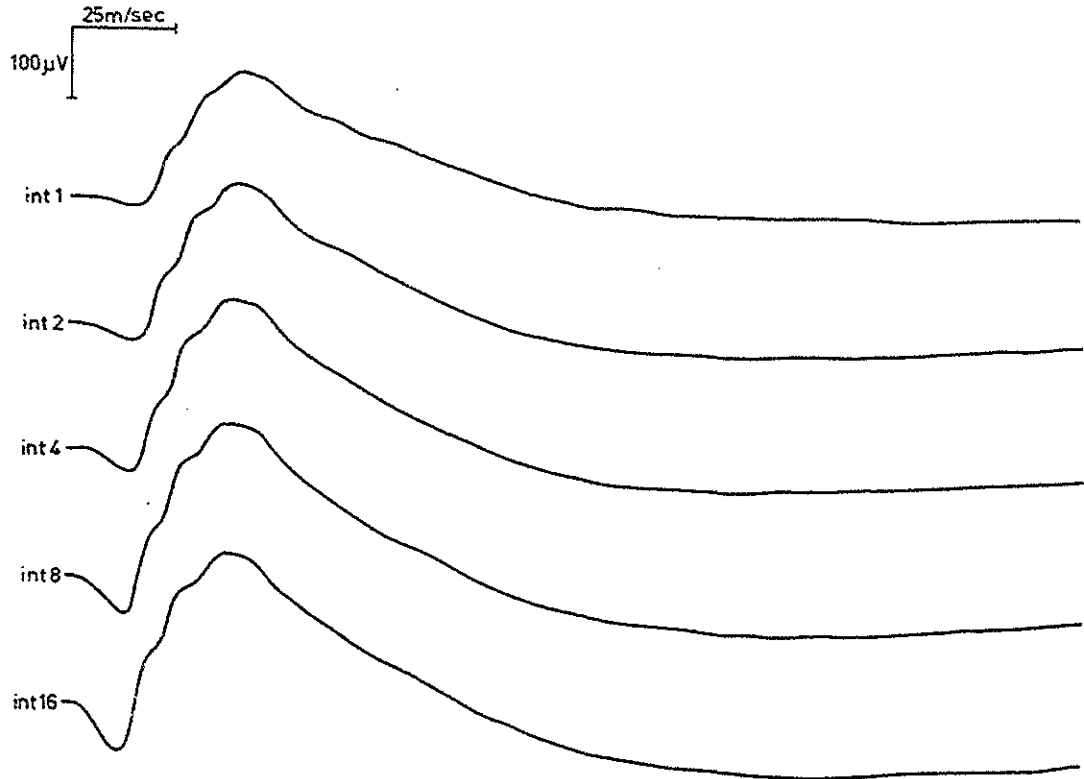


Fig. 17. ERG van het volwassen konijn.

De intensiteit van het licht neemt van boven naar beneden toe.

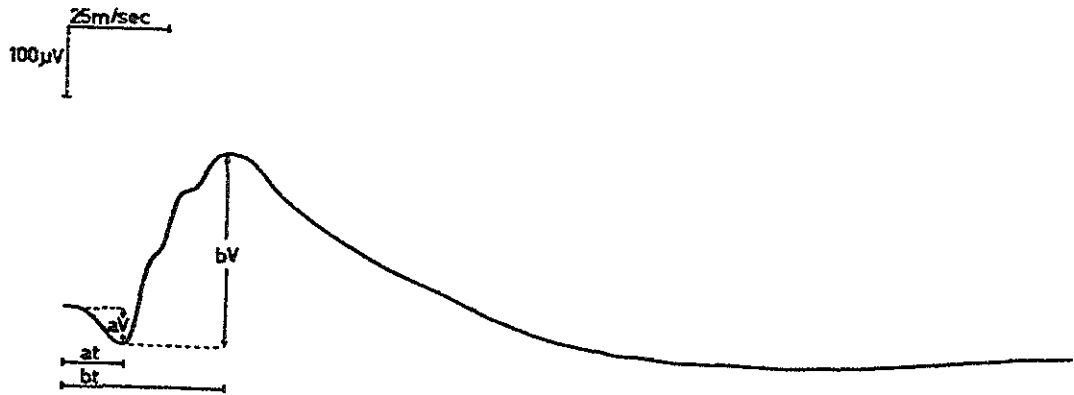


Fig. 18. Gemeten grootheden.

aV maximale spanningsverschil tussen het 0 niveau en de eerste cornea negatieve deflectie (a-golf)

bV absolute spanningsverschil tussen het maximum van de a-golf en het maximum van de cornea positieve deflectie (b-golf)

at tijdsverloop tussen aanbieden van de lichtflits en het maximum van de a-golf

bt tijdsverloop tussen aanbieden van de lichtflits en het maximum van de b-golf

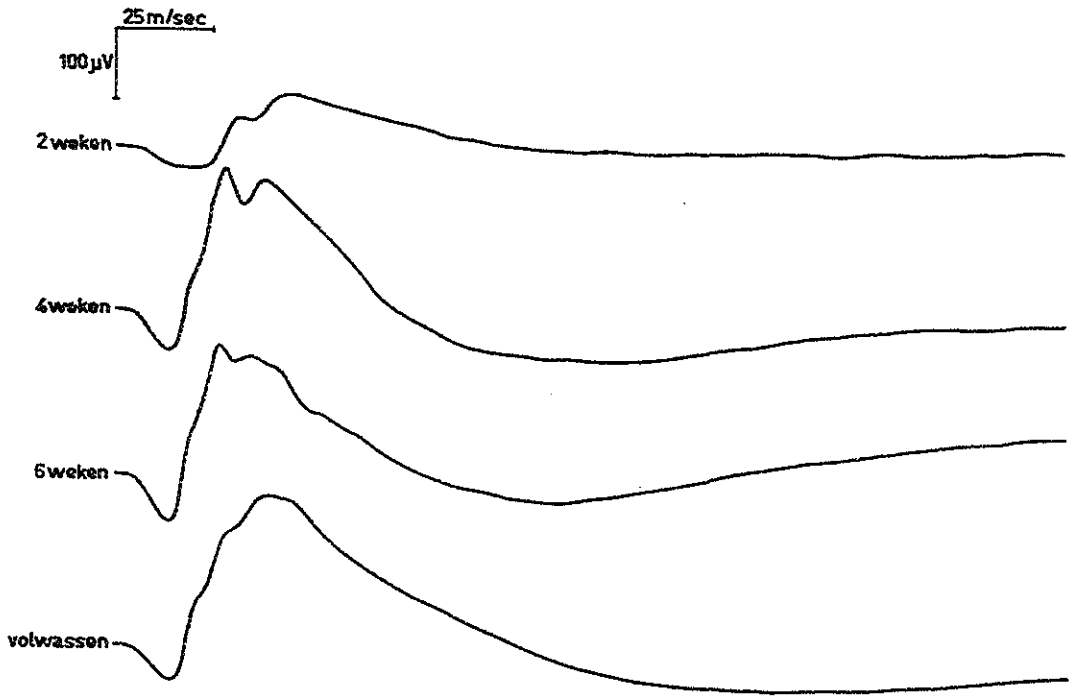


Fig. 19. Voorbeelden van ERG's van konijnen van verschillende leeftijd bij gelijke lichtintensiteit (intensiteit "8").

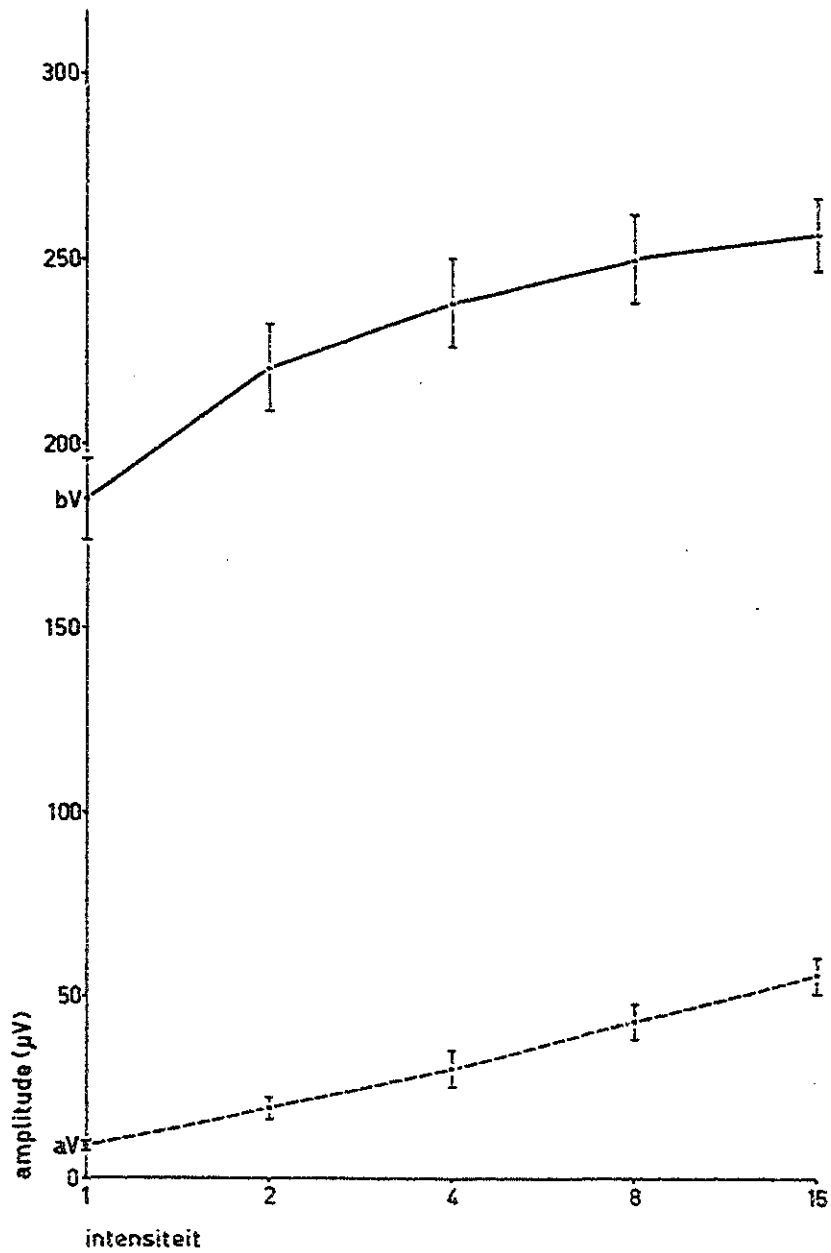


Fig. 20. Gemiddelde aV en bV waarden en standaardfouten van een groep van 20 volwassen konijnen uitgezet tegen de lichtintensiteit.

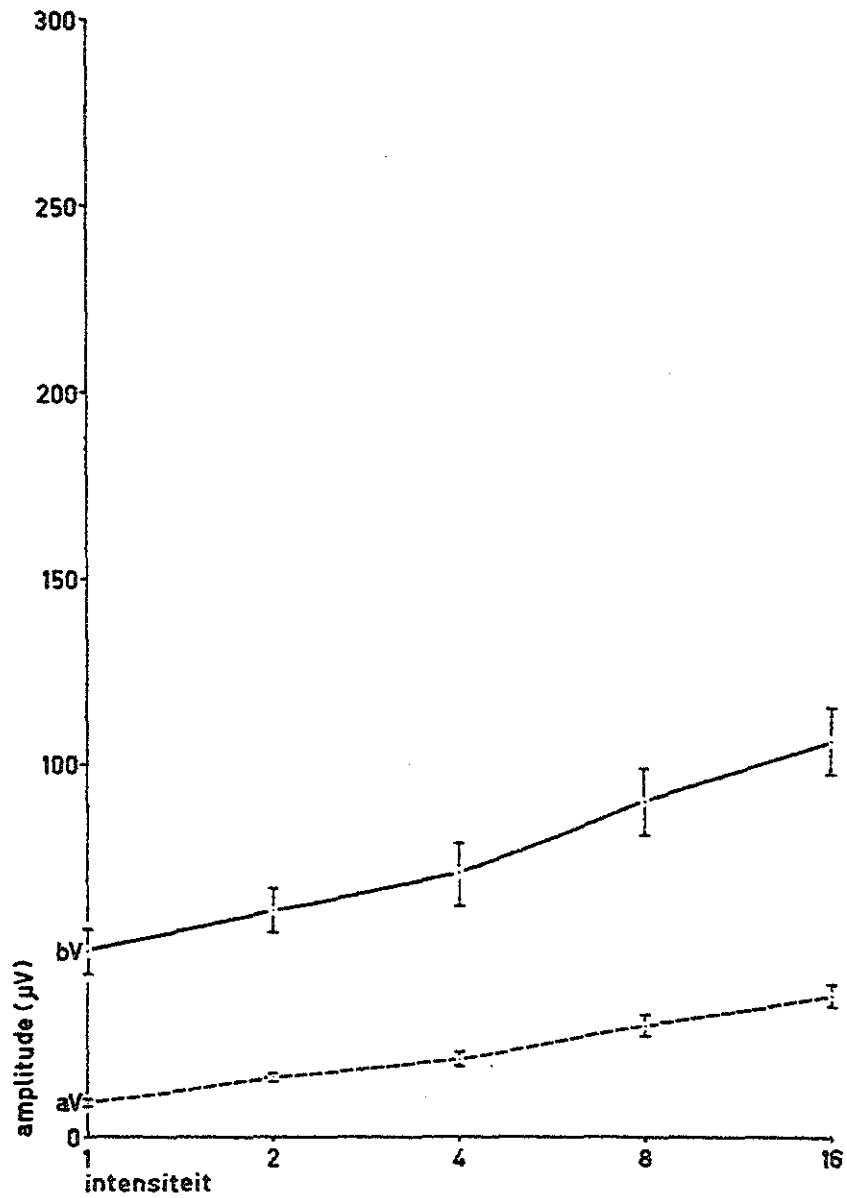


Fig. 21. Gemiddelde aV en bV waarden met standaardfouten van een groep konijnen van 2 weken oud uitgezet tegen de lichtintensiteit.

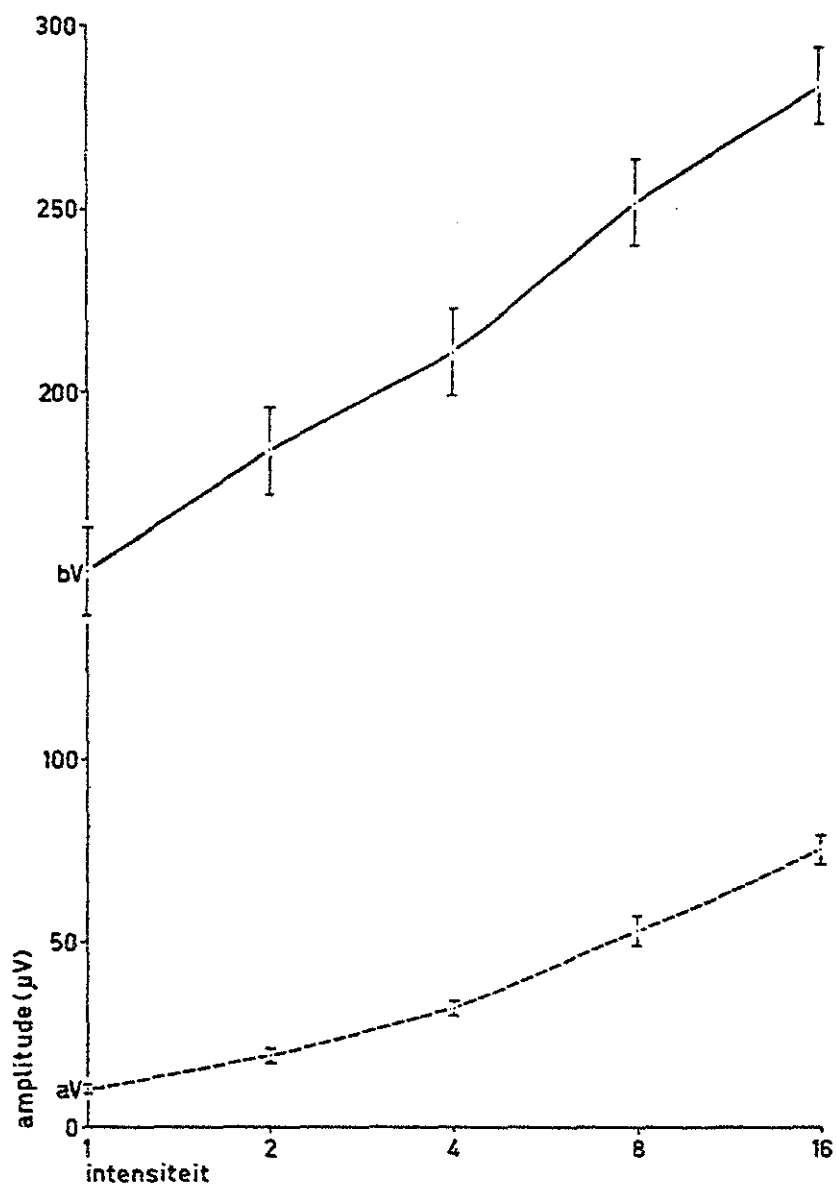


Fig. 22. Gemiddelde aV en bV waarden van een groep van 4 weken oude konijnen uitgezet tegen de lichtintensiteit.

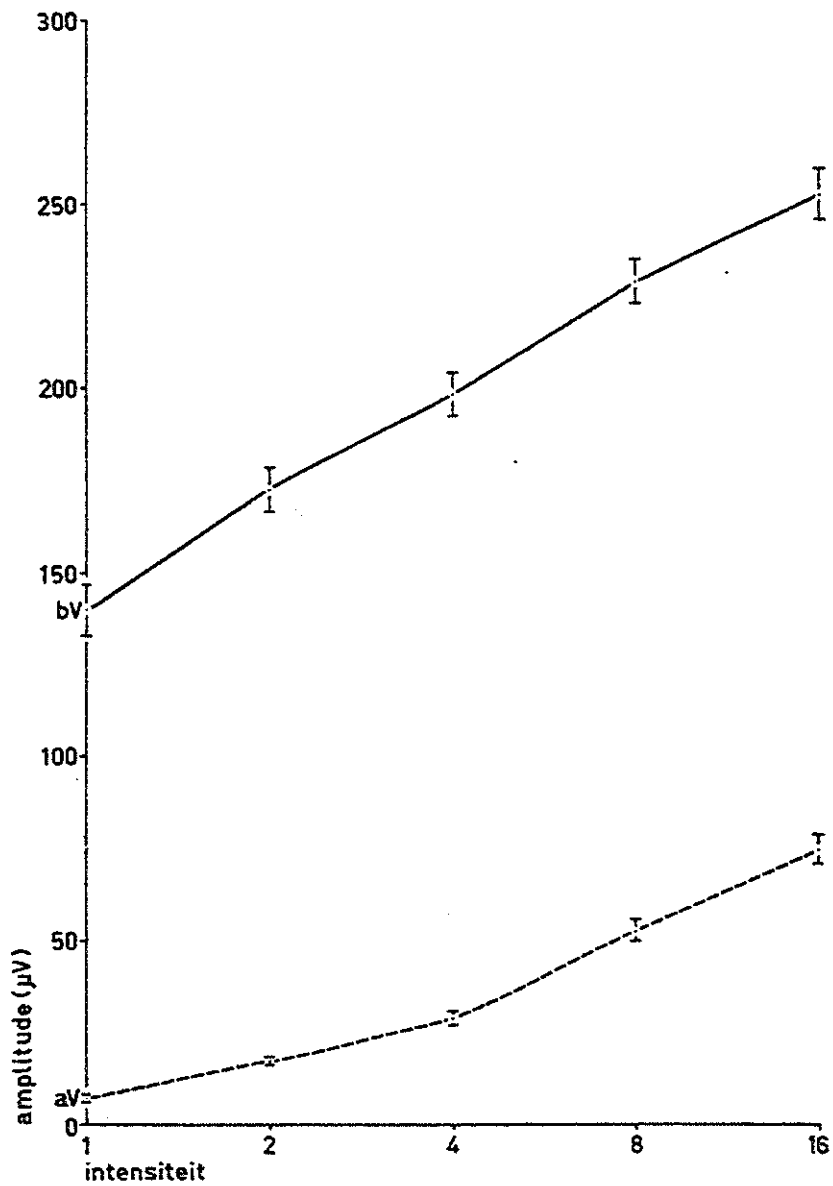


Fig. 23. Gemiddelde aV en bV waarden van een groep van 6 weken oude konijnen uitgezet tegen de lichtintensiteit.

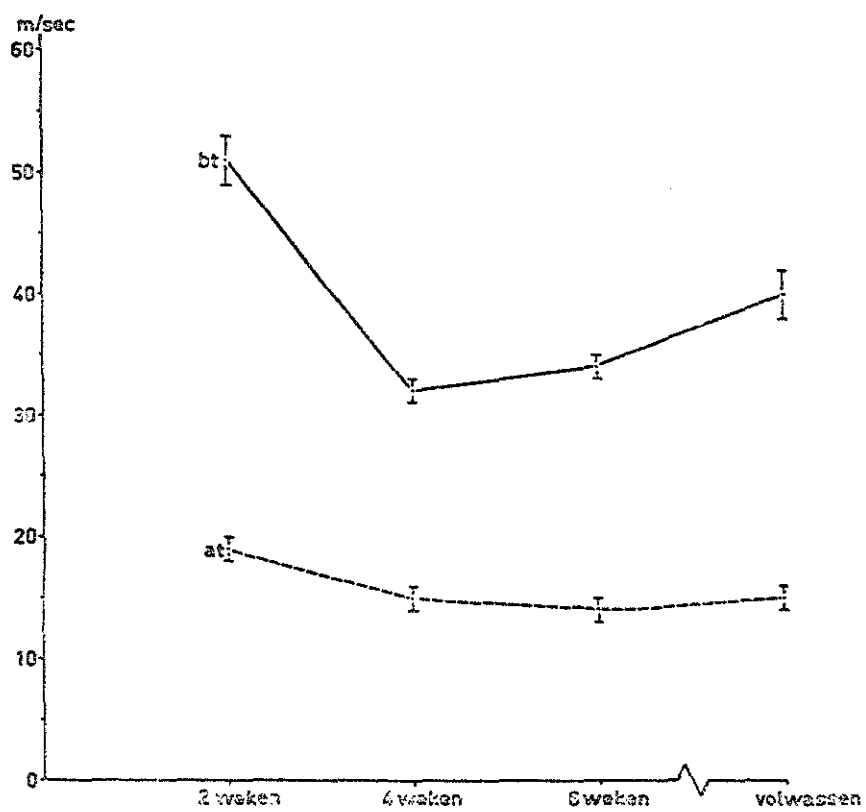


Fig. 24. Gemiddelde at en bt waarden bij groepen konijnen van verschillende leeftijd.

HET MET SINUSVORMIG GEMODULEERD LICHT OPGEWEKTE ELECTRO-
RETINOGRAM VAN HET VOLWASSEN EN PASGEBOREN KONIJN

A-MF curves werden verkregen, op de wijze zoals in de inleiding en methodiek beschreven, van volwassen konijnen als ook van konijnen van 2, 4 en 6 weken oud. Van iedere leeftijdsgroep werden zes dieren aan de experimentele procedure onderworpen. Uit de per groep gemeten gegevens werd een gemiddelde A-MF curve samengesteld. Alvorens dit te doen werden enkele voor-experimenten gedaan om te komen tot een verantwoorde keus van de modulatie diepte. In Fig. 25 zijn de A-MF curves behorend bij modulatie diepten van 25%, 50% en 75% verkregen bij één dier bijeengezet. De gemiddelde luminantie van het scherm werd niet gewijzigd. Bij al deze voor-experimenten bleek dat de modulatie diepte weliswaar de amplitude sterk beïnvloedde maar geen duidelijke invloed had op de ligging van de optimale frequenties. Arbitrair werd toen 50% modulatie diepte gekozen voor het vergelijkend onderzoek van de verschillende leeftijdsgroepen. De gemiddelde A-MF curves van de dieren uit de vier leeftijdsgroepen zijn uitgezet in de Figuren 26-29.

Bij vergelijking van deze figuren valt op dat ook hier de voornaamste ontwikkeling valt voor de leeftijd van 4 weken. De curves verkregen bij de 4 en 6 weken oude, alsook bij de volwassen dieren tonen een amplitude maximum bij 3 - 4,5

Herz. De grootte van de amplitudines stemt ook goed overeen.

Vastgesteld kan dus worden dat zowel voor het "lichtflits" ERG als het "sinusvormig gemoduleerd licht" ERG geldt dat de ontwikkeling grotendeels plaats vindt gedurende de eerste 4 weken na de geboorte.

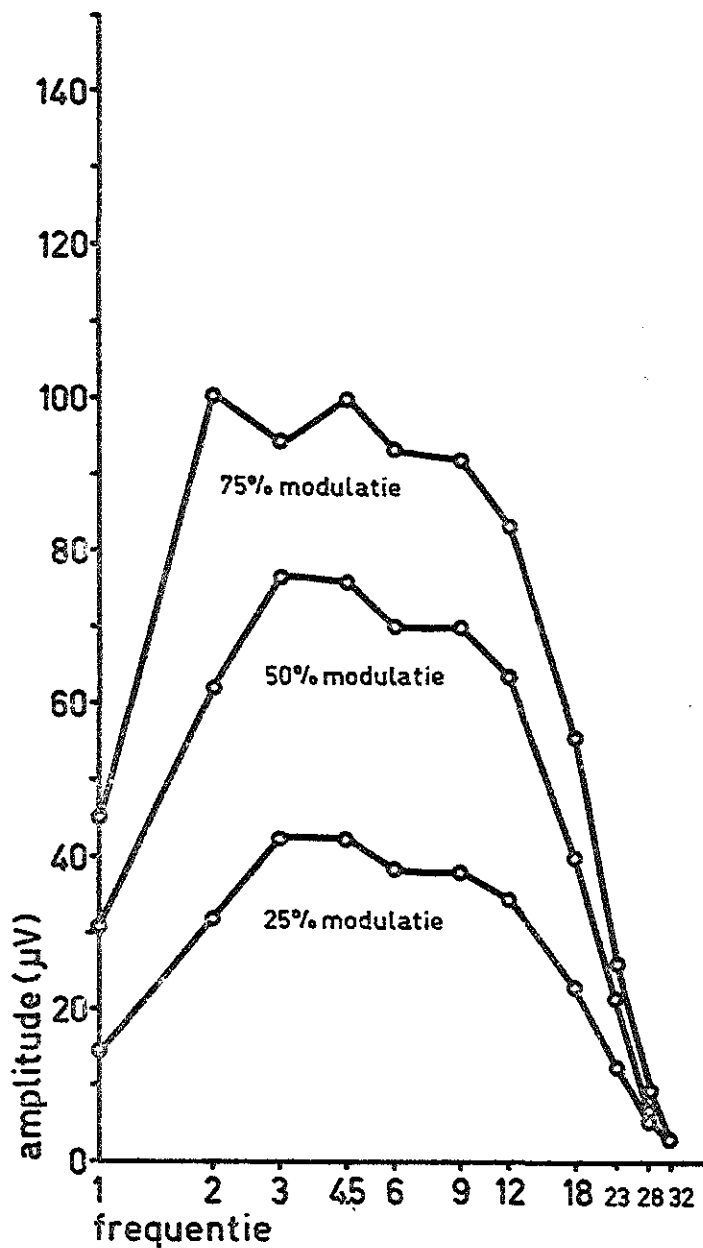


Fig. 25. Amplitude-modulatiefrekwentie curves van één volwassen konijn bij verschillende modulatie diepten.

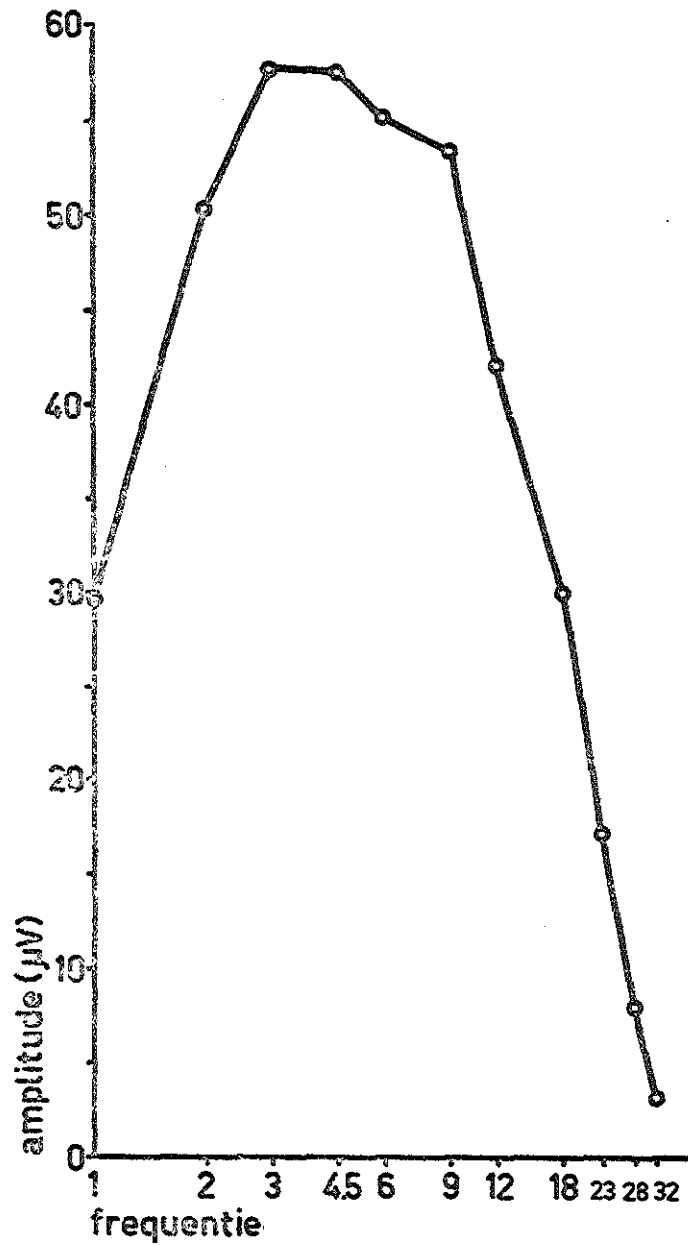


Fig. 26. Gemiddelde amplitude-modulatiefrequentie curve van volwassen konijnen.

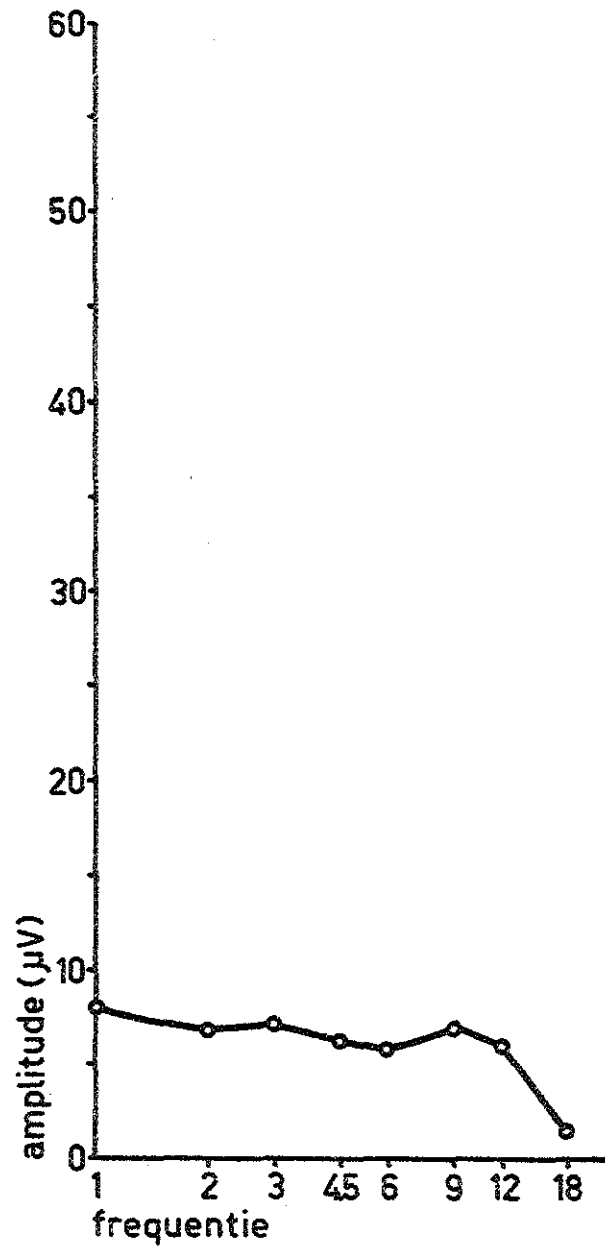


Fig. 27. Gemiddelde amplitude-modulatiefrekwentie curve van 2 weken oude konijnen.

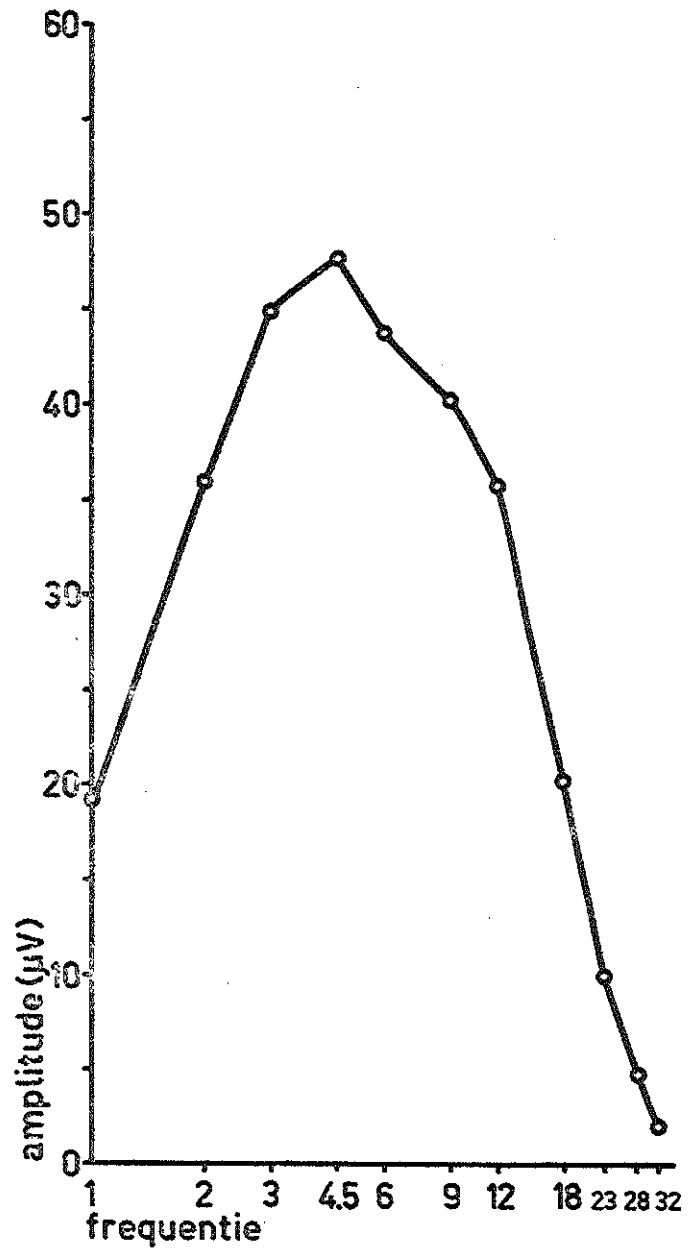


Fig. 28. Gemiddelde amplitude-modulatiefrequentie curve van 4 weken oude konijnen.

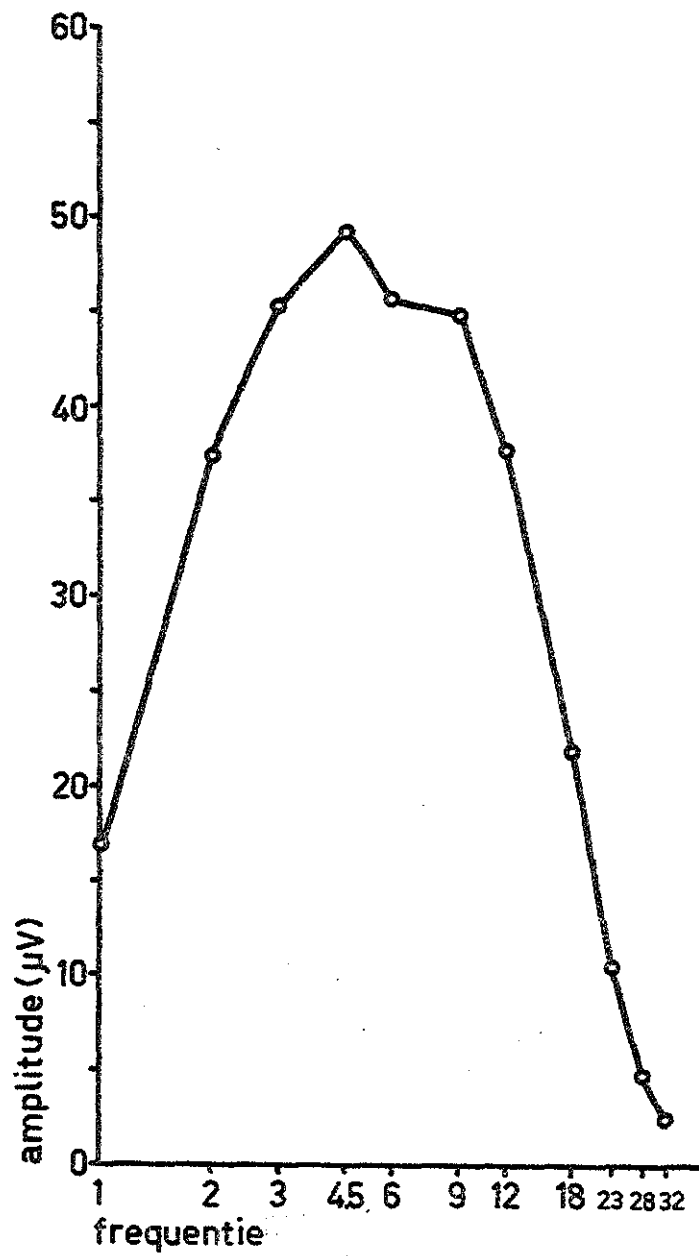


Fig. 29. Gemiddelde amplitude-modulatiefrequentie curve van 6 weken oude konijnen.

HET MET SINUSVORMIG GEMODULEERD LICHT OPGEWEKTE ELECTRO-
RETINOGRAM VAN DE VOLWASSEN EN DE 4 DAGEN OUDE CAVIA

A-MF curves bij de volwassen en de 4 dagen oude cavia werden op analoge wijze verkregen als in de hiervoor besproken experimenten bij het konijn. De 4 dagen oude cavia werd gekozen omdat het "lichtflits" ERG van de 4 dagen oude cavia ook wat de details in vorm betreft ("wavelets") overeenkomt met dat van het volwassen dier (VAN HOF en USAMI, 1968). Om vergelijking met het konijn mogelijk te maken werden hier eveneens de 50% modulatie diepte gekozen en dezelfde modulatiefrequenties.

De A-MF curve voor de volwassen cavia is afgebeeld in Fig. 30, die voor de 4 dagen oude cavia in Fig. 31. Beide zijn gemiddelden verkregen bij 6 dieren.

Uit het verloop van deze en vorige curves blijkt in de eerste plaats dat de optimale frequentie van de volwassen cavia lager ligt dan die van het konijn. Verder blijkt dat het verloop van de curve, alsmede de amplitudines, bij het volwassen en 4 dagen oude dier vrijwel overeenkomen. Dat wil dus zeggen dat ook hier overeenkomst bestaat met de resultaten verkregen met lichtflitsen.

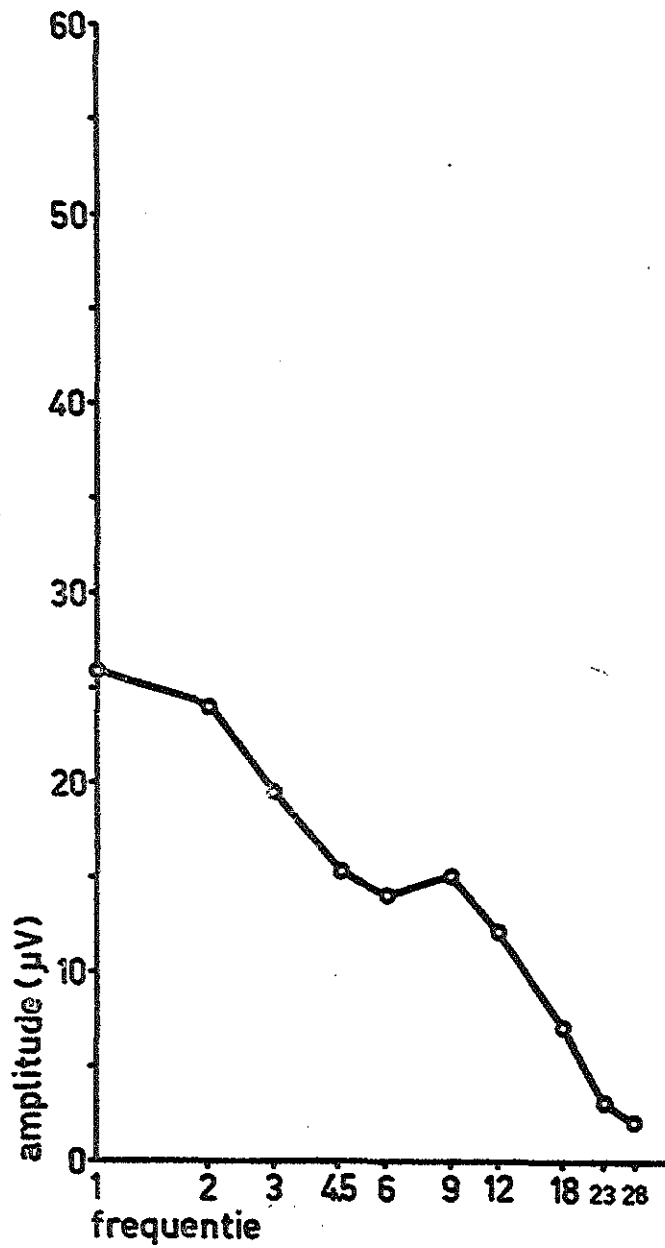


Fig. 30. Gemiddelde amplitude-modulatiefrequentie curve van volwassen cavia's

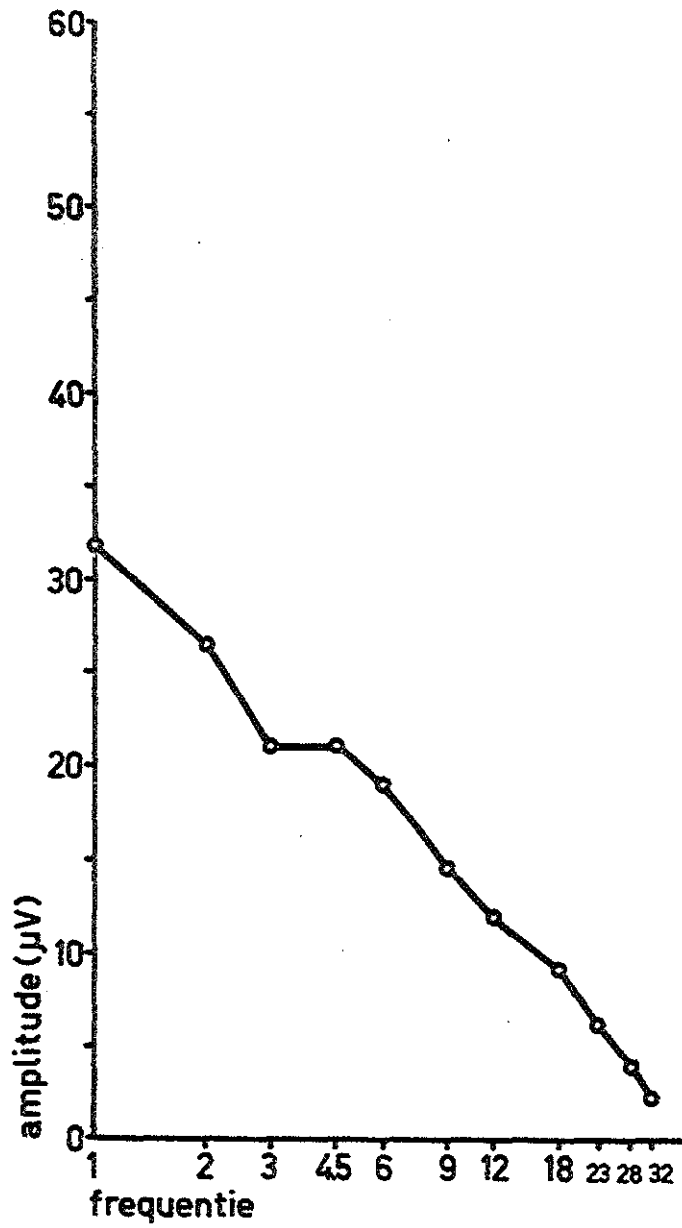


Fig. 31. Gemiddelde amplitude-modulatiefrekwentie curve van 4 dagen oude cavia's

VERGELIJKING VAN DE RESULTATEN VERKREGEN BIJ DE CAVIA EN
HET KONIJN MET DIE VAN DE WITTE RAT

GOURAS en GUNKEL (1962) beschreven dat de A-MF curve van de albino-rat (een dier met een voornamelijk staafjes retina) en van de eekhoorn (een dier met een kegeltjes retina) een optimale frekwentieresponse hebben bij resp. 1 en 9 Herz. Teneinde hun resultaten met die van ons te vergelijken zou het wenselijk geweest zijn met onze proefopstelling zowel van de witte rat als van de eekhoorn A-MF curves te maken. Helaas stonden eekhoorns niet ter beschikking en werden uitsluitend witte ratten ter vergelijking bestudeerd.

Van een groep van 6 witte ratten werd een gemiddelde A-MF curve gemaakt. Fig. 32 geeft deze curve weer. De hoogste waarde ligt althans bij de hier gebruikte frekwenties bij 1 per seconde. Hoewel GOURAS en GUNKEL ook beneden 1 per seconde metingen verrichtten en dus onze resultaten vergelijken bij die van hen onvolledig zijn, stemmen ze, voor zover de frekwentiegebieden elkaar dekken, overeen.

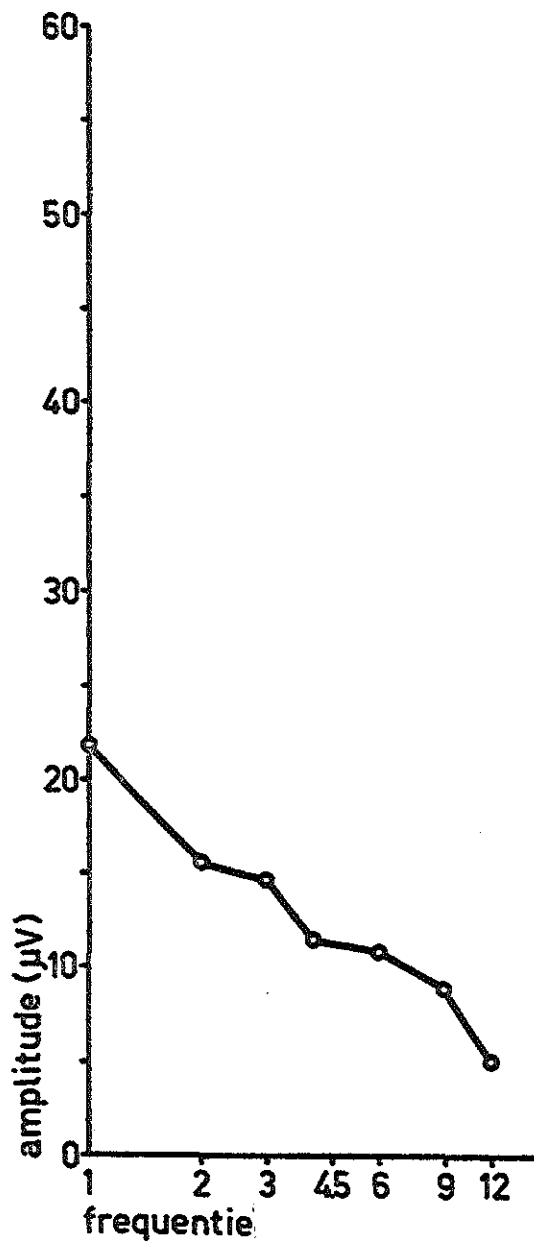


Fig. 32. Gemiddelde amplitude-modulatiefrequentie curve van volwassen albinoratten.

BESPREKING VAN DE RESULTATEN

Het werk van GOURAS en GUNKEL maakt het aannemelijk dat de A-MF curve, bij een bepaald diersoort verkregen, onder meer afhankelijk is van de aard van receptoren. Het overwegend staafjes oog van de rat heeft een optimale frekwentie bij 1 Herz, het kegeltjes oog van de eekhoorn bij 9 Herz. Uiteraard zullen deze waarden mede bepaald worden door andere factoren, zoals o.a. de gebruikte luminositeit. De curve van de witte rat gemaakt met onze proefopstelling stemt echter goed overeen met die van GOURAS en GUNKEL. Voor het moment aannemend dat de in de toekomst te bepalen eekhoorn-curve ook zal overeenstemmen ') dan mag gezegd worden dat de optimale frekwentie van het konijn ligt tussen die van de witte rat en cavia enerzijds en die van de eekhoorn anderzijds. Dit zou kunnen betekenen dat het netvlies van het konijn een groter percentage kegeltjes bezit dan dat van de cavia en de rat. Uiteraard is deze interpretatie nog sterk speculatief en vereist verdere morfologische studie, maar wel maken de hier gedane bevin-

') Uit het inmiddels voortgezet onderzoek van Drs. J.H. Reuter (Fysiologisch Laboratorium M.F. Rotterdam) blijkt dat ook met onze proefopstelling de optimale frekwentie van de eekhoorn A-MF curve bij 9 Herz ligt.

dingen het nog eens duidelijk dat onderzoek met sinusvormig gemoduleerd licht een belangrijke bijdrage kan leveren voor vergelijkend fysiologisch onderzoek.

Van belang is dat de A-MF curve van het 4 weken oude konijn hetzelfde verloop vertoont als die van het volwassen konijn. In de literatuur (SHEPPARD, 1968) komen beschouwingen voor over een verschillende ontwikkelingsnelheid in de postnatale periode van de staafjes en de kegeltjes. Het "kegeltjes ERG" zou bij het konijn reeds op de 20ste dag na de geboorte volledig ontwikkeld zijn, het "staafjes ERG" pas op de 90ste dag. Wanneer dit juist zou zijn, zou men op grond van de overwegingen in de eerste alinea verwachten, dat de A-MF curve van het 4 weken oude konijn naar hogere frekwenties verschoven zou zijn t o. v. die van het volwassen konijn.

De bewering dat er van een ongelijke ontwikkeling van "staafjes" en "kegels" sprake is, is echter een onjuiste interpretatie van experimenten verricht door NOELL (1958). Wat NOELL beschreef was dat lichtflitsen die een intensiteit hadden die voor het menselijk oog in het photopisch gebied lagen bij het konijn van 20 dagen oud reeds een ERG opleverden, dat ook qua amplitude met dat van het volwassen konijn overeenkwam. Verder beschreef hij dat lichtflitsen die voor het menselijk oog als scotopisch geklassificeerd moeten

worden pas bij het 90 dagen oude dier een ERG opleverden dat overeenkwam met dat van het volwassen dier. Ons inziens rechtvaardigt dit nog niet de conclusie van een ongelijke ontwikkelingsnelheid van "staafjes en kegeltjes"; een interpretatie die NOELL dan ook niet geeft.

CONCLUSIES

1. Het met lichtflitsen opgewekte ERG van het konijn vertoont bij 4 weken oude dieren reeds een amplitude die overeenkomt met die van volwassen dieren.

2. De A-MF curve van het volwassen konijn heeft een top bij frekwentie 3 - 4,5. De curve van het 4 weken oude dier vertoont een identiek verloop.

Deze resultaten wijzen erop dat bij het konijn de postnatale ontwikkeling van de A-MF curve gelijke tred houdt met die van het met lichtflitsen opgewekte electroretinogram.

- 3 De A-MF curve van de 4 dagen oude en de volwassen cavia zijn gelijkvormig en hebben in het door ons onderzochte frekwentiegebied een maximum bij frekwentie 1.

Gezien de in een vorig onderzoek verkregen resultaten over de postnatale ontwikkeling van het met lichtflitsen opgewekte electroretinogram ligt de conclusie voor de hand dat ook bij de cavia de postnatale ontwikkeling van het met sinusvormig licht opgewekte electroretinogram hiermee parallel loopt.

4. Op grond van het verloop van de A-MF curves wordt ge-

argumenteerd dat het cavia oog minder kegeltjes bevat dan dat van het konijn.

LITERATUUR DEEL B

1. Gouras, P. en Gunkel, R.D. (1962) The resonant frequencies of rod and cone electroretinograms. Invest. Ophthal 1, 122-126.
2. Gouras, P. en Gunkel, R.D. (1964). The frequency response of normal, rod achromat and nyctalope ERG's to sinusoidal monochromatic light stimulation. Doc. Ophthal. 18, 137-150.
3. Hof, M.W van, en Usami, E (1968). The ERG in the normal and dark reared guinea pig. Acta Soc. Ophthal. Jap. 72, 283-286.
4. Lange, H. de (1957). Attenuation characteristics and phaseshift characteristics of the human fovea-cortex system in relation to flicker fusion phenomena. Thesis, Delft.
5. Noell, W.K. (1958). Differentiation, metabolic organization and viability of the visual cell. Arch. Ophthal. 60, 702-753.
6. Noell, W K. (1958). Studies on visual cell viability and differentiation. Ann. New York Academy of Sciences 74, 337-361.
7. Sheppard Jr., J J (1968). Human Color Perception: 80-81. Publ.: American Elsevier Publ. Company

8. Tweel, L.H. van der en Visser, P. (1960). Electrical response of the retina to modulated light. *Electroretinographia*. (Symposium Luhacovice, 1959), *Acta Facultatis Medicae Universitatis Brunensis* 4.
9. Tweel, L.H. van der (1961). Some problems in vision regarded with respect to linearity and frequency response. *Ann. New York Academy of Sciences* 89, 829-856.

SUMMARY

The first part of this thesis deals with the effect of light deprivation on the electroretinogram (ERG) of the guinea-pig.

1. It is found that in animals born and reared in darkness for three months the amplitude of the ERG is considerably smaller than that in animals of the same age but reared under normal conditions. This phenomenon is most marked in the b-wave. A ten-day period of normal illumination gives incomplete recovery.
2. As described in other studies the 4 days old guinea-pig shows an ERG identical with that in adult animals. This finding is confirmed in the present investigation. In 4 days old animals born and reared in darkness, the ERG shows no differences with that found in animals reared under normal conditions. From this is concluded that the relatively small amplitude of the ERG after a three months postnatal light deprivation period is not due to an impairment of the functional development of the retina.
3. Studies in normally raised adult animals showed that the retina is more sensitive to light deprivation during the postnatal period than at adult age.

In the second part of this thesis a series of experiments

is described in which the ERG's evoked with light flashes are compared with those obtained with sinusoidally modulated light. This was done in guinea-pigs and rabbits. The average luminance and the modulation depth (50%) was the same in all experiments in which sinusoidally modulated light was applied.

1. In adult rabbits the response to the sinusoidal light stimulus is maximal at a frequency of 3-4,5 cycles per second. The same stimuli were applied to new-born rabbits (2, 4 and 6 weeks after birth); at the age of 4 weeks the response is the same as in adult animals. This coincides with findings obtained with light flash stimulation: the ERG in 4 weeks old rabbits shows the same amplitude and latency of the a- and b-wave as that in adult animals.
2. Adult and 4 days old guinea-pigs show the same response to sinusoidally modulated light. The optimal frequency is lower than that in the rabbit. The largest response was found at the lowest frequency used in these experiments: 1 per second.
3. From these results two tentative conclusions are drawn:
 - a) In the rabbit the percentage of retinal cones is higher than in the guinea-pig.
 - b) Postnatally the rabbit's rod and cone system develop at the same rate.

Curriculum vitae

op verzoek van de Medische Faculteit.

De schrijver van dit proefschrift werd in 1939 geboren te Ginneken-Bavel, bracht zijn jeugd door in Bergen op Zoom en behaalde aldaar in 1958 het diploma Gymnasium 8, waarna aan de Leidse Universiteit de studie in de geneeskunde werd aangevangen. In 1963 werd het doctoraal examen aldaar met succes afgelegd, waarna de studie voor het artsexamen werd voortgezet in Rotterdam in het kader van het Klinisch Hoger Onderwijs. Begin 1966 werd aldaar het artsexamen afgelegd, waarna hij tot medio '67 als Reserve Officier van Gezondheid werkzaam was bij de Keuringsraad Delft. Hierna was hij gedurende ruim een jaar werkzaam op het Fysiologisch Laboratorium der Medische Faculteit te Rotterdam (Prof. Dr. M.W. van Hof). Momenteel is hij assistent op de afdeling oogheelkunde van de Medische Faculteit te Rotterdam (Prof. Dr. H.E. Henkes).