

Debreceni Egyetem, Orvos- és Egészségtudományi Centrum,
Fül-, orr-, gége Klinika (igazgató: Sziklai István dr.)*

Külső szőrsejt elektromotilitás: cochleáris erősítő vagy melléktermék?

Áttekintő közlemény

Sziklai István dr., Farkas Zsolt dr.

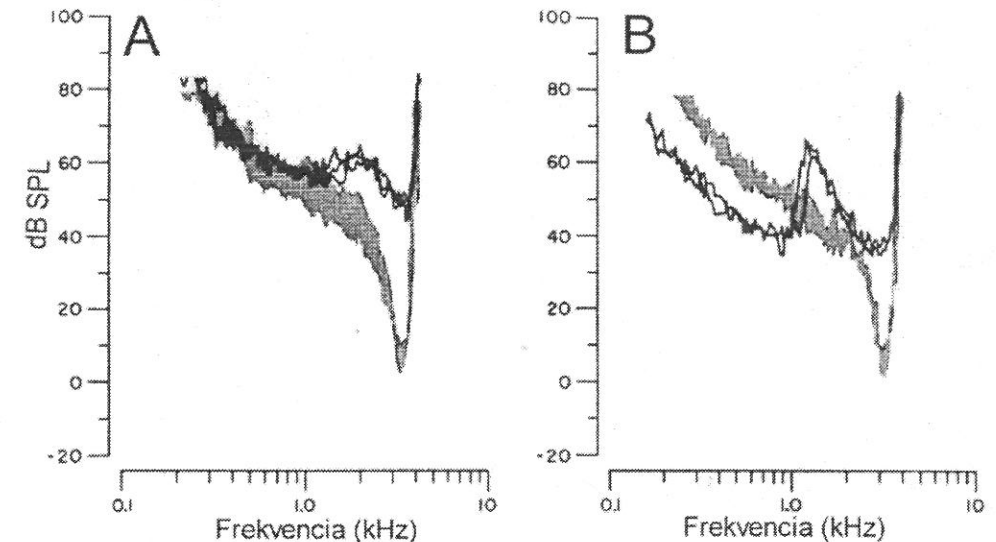
Közlésre érkezett: 2000. 05. 09.

ÖSSZEFOGLALÁS: Az emlős belsőfül nagy küszöbérzékenysége kialakulásáért a hallóhám receptor sejtjeinek funkciómegosztó működését tartjuk felelősnek. A belső szőrsejtek kizárólag szenzoros működést, míg a külső szőrsejtek szenzoros és motoros működést (sejtrövidülés és megnyúlás) látnak el. A külső szőrsejtek motoros működésének pozitív energia visszacsatoló működése, az ún. elektro-mechanikus transzdukción (elektromotilitás), a feltételezések szerint maga a cochleáris erősítő, amely a küszöb körüli erősségű hangok meghallását lehetővé teszi, és elveszíti jelentőségét a küszöb erősségnél 50 dB-lel erősebb hangok esetén. A majdnem kizárólag efferens beidegzésű külső szőrsejtek elektromotilis aktivitásának efferens gátlását feltételezzük, mert efferens ingerlés ugyanolyan nagyothallást okoz, mint a külső szőrsejtek elpusztulása. Ezzel szemben izolált külső szőrsejtek elektromotilis aktivitása, az efferens neurotransmitter acetilkolin hatására fokozódik. A két jelenség közötti ellentmondás egyik lehetséges feloldása annak feltételezése, hogy a külső szőrsejtek feszességének változása az elsőrendű változó a hallás folyamatában, amelynek következtében a Corti-szerv impedanciája, illetve a membrana basilaris rezgésekkel szembeni engedékenysége megváltozik. Ezzel szemben a külső szőrsejtek elektromotilitása csak másodlagos és nem meghatározó jellegű jelenség a hallás szempontjából.

Kulcsszavak: külső szőrsejt, efferens beidegzés, elektromotilitás, cochleáris erősítő, otoakusztikus emisszió

Külső szőrsejt elektromotilitás és a cochleáris erősítő

Az emberi fül nagy küszöbérzékenysége (alacsony ingerküszöbe) és éles frekvenciahangoló (hangmagasság megkülönböztető) képessége mai ismereteink szerint, a hallóhám egyik receptorsejt típusának, a külső szőrsejteknek a működése hatására alakult ki. Ezek a sejtek a cochleáris erősítőnek minősített aktív belsőfül mechanika letéteményesei, amelyek a passzív, Békésy által leírt (3) cochleáris mechanikát nonlinearissá és aktívvá teszik. Matematikai számításokkal meggyőzően bizonyították (10), hogy az emlős fül képtelen lenne arra a küszöb érzékenységre, amelyet képvisel, ha csak a hanginger akusztikai energiája idézné elő a belsőfülben a hártás labirintus adekvát rezgéseit. A belsőfül aktív részvétele szükséges ehhez, azaz egy erősítő folyamatnak kell jelen lennie a cochleában. Ezt Spoendlin kísérletei is alátámasztották (19), amelynek során igazolta, hogy a belső szőrsejtek szinte kizárólag efferens innervációt, a külső szőrsejtek pedig szinte kizárólagosan csak efferens beidegzést kapnak. A külső szőrsej-



1. ábra. Frekvenciahangolás külső szőrsejt hiányában (A) és efferens ideg ingerlés hatására (B). Összehasonlításként szürke színnel az intakt cochlea frekvenciahangolási görbéje látható, mindkét ábrarészen alacsony ingerküszöbű, élesen hangolt csúccsal és a cochlea basisa felé gyorsan elfojtott magas frekvenciájú szakasszal.

tek szelektív elpusztítása ototoxikus antibiotikummal, ugyanakkor jelentős, mintegy 50 dB, percepció nagyothallást okoz (5) (1. ábra). A külső szőrsejtek elektromos erőterben mutatott sajátos viselkedésének felfedezése, amelyet utólag elektromotilitásnak neveztek el, Brownell nevéhez fűződik (4). A külső szőrsejtek ugyanis, noha ektodermális eredetű érzékszervek (receptor sejtek) egyben motoros aktivitásúak is, azaz, depolarizáló áram hatására rövidülnek, hiperpolarizáló áram hatására nyugalmi hosszúságukhoz képest megnyúlnak (1, 26). Az aktív, azaz a motorosan aktív Corti-szerv bizonyítéka, Kemp felfedezése, az otoakusztikus emisszió (14).

A külső szőrsejtek elektromotilitásának, mint cochleáris erősítőnek az alapja az a megfigyelés, hogy a külső szőrsejtekben a receptor potenciál (18) közvetlenül longitudinális, szomatikus rövidülés–megnyúlás válaszokba konvertálódik neurotransmitter felszabadulás helyett (amely a belső szőrsejtekre jellemző). Ez a motilitás válasz teljes mértékben független a sejtek kémiai energia (ATP) ellátásától és nagyon gyors. Ahhoz, hogy cochleáris erősítő feladatát el tudja látni, ugyanis az emberi fül teljes hallástartományának spektrumát át kell fognia. Ez azt jelenti, hogy a hanginger szinusz ciklusról szinusz ciklusra történő erősítése kapcsán Hz-ben kifejezett frekvenciájának megfelelő számban kell másodpercenként összehúzódnia és megnyúlnia. Kísérletes adatok mellett szólnak, hogy az emlős Corti-szerv és külső szőrsejt megfelel ennek a feltételnek (8, 12). Az alacsony frekvencia tartományban (<1000 Hz), a külső szőrsejt elektromotilitás feszültség-motilitás azaz receptor potenciál-rövidülés–megnyúlás konverziója az élettani akusztikus ingerek alkalmazásakor elő tud idézni olyan mértékű szőrsejt motilis választ, amely adekvát erősítő mechanizmus (2, 6, 7).

Efferens neurotranszmitterek hatása a külső szőrsejt elektromotilitására

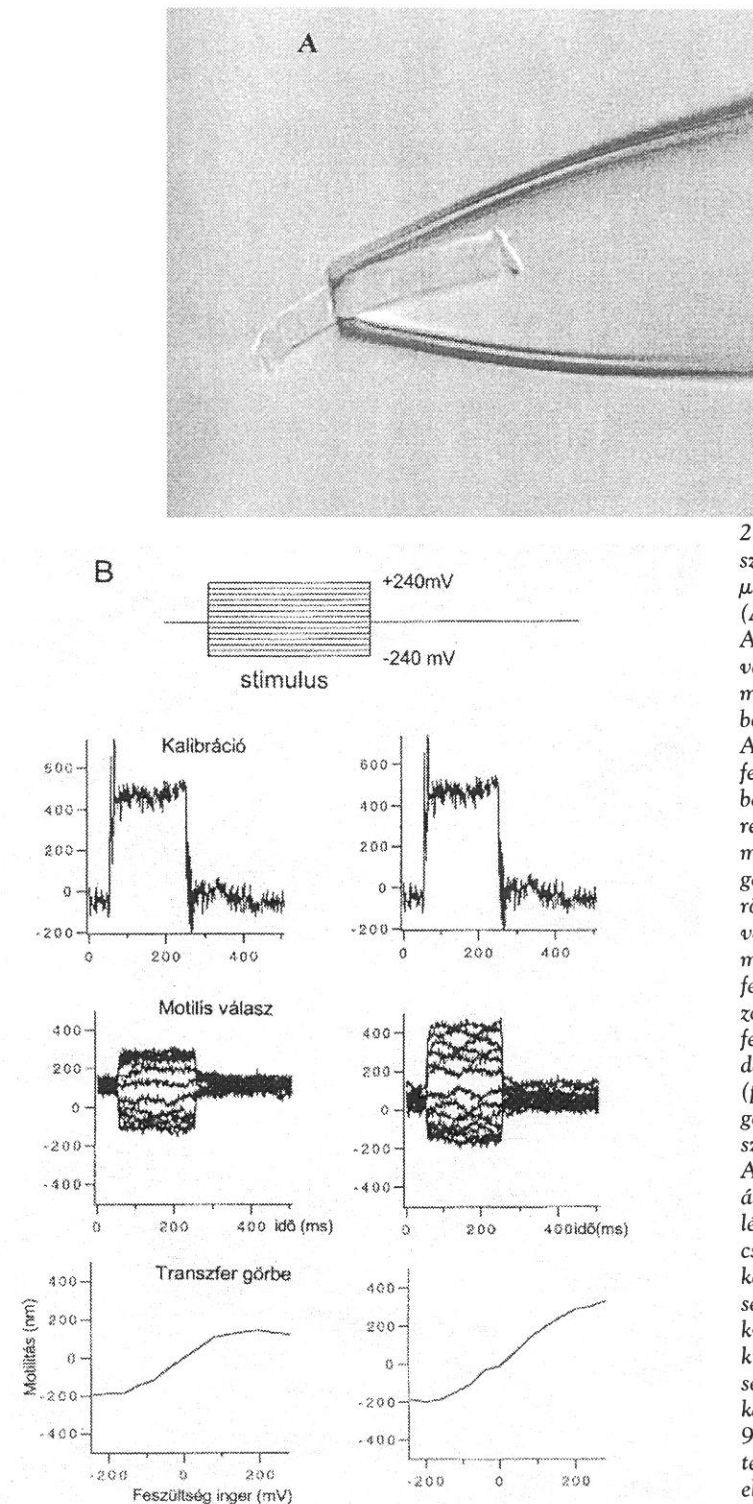
A mediális olivocochleáris efferens idegrostok aktivációja jól ismert a perifériás hallástevékenység gátlását idézi elő. Ez azt jelenti, hogy mind a belfül működéssel kapcsolatos elektromos tevékenység (CAP: compound action potential, az elvezető n. cochleáris idegrostok akciós potenciál tevékenysége) (16, 20), mind a m. basilaris rezgések amplitúdója csökken (11, 17). Hasonlóképpen az otoakusztikus emisszió amplitúdójának nagysága is csökken (13).

Mindezekkel a megfigyelésekkel szemben, *in vitro*, izolált külső szőrsejtekkel végzett kísérletek során azt találták, hogy az efferens neurotranszmitter acetylcholin (ACh) hatására a külső szőrsejt elektromotilis aktivitása fokozódik (9, 21, 22) (2. ábra). Ez a motilitás fokozódás egyaránt érvényes mind a kis feszültség értékekkel elérhető motilitás válasz amplitúdójára (ez az ún. gain hatás, azaz élettani helyzetre vonatkoztatható cochleáris erősítő hatás a küszöberősségű ingerek szintjén), mind pedig a maximális ingerekkel elérhető maximális motilis válaszra. Ez utóbbi azonban nem magyarázható az elektromotilitás biofizikai modellje alapján (7).

A külső szőrsejt elektromotilis működése, leegyszerűsítve, két fő változó függvénye, ha a receptor potenciált (amely hangenergia-függő) és az azt generáló makromechanikai (m. tectoria–Corti-szerv–m. basilaris mozgások) cochleáris történések nem tekintjük. Ezek egyrészt a hipotetikus ún. motoros molekulák aktuális erő generáló képessége, másrészt pedig a sejtek motilitással szemben álló egészségt szintű merevsége, azaz a motoros molekulák terhelése. *In vitro*, izolált szőrsejt vizsgálat során megfigyelték, hogy ACh hatására a külső szőrsejt merevsége csökken, miközben elektromotilis teljesítő képességük (gain és amplitúdó) nő. Másként szólva, az efferens neurotranszmitter hatására a cochleáris erősítő külső szőrsejt elektromotilitás határfoka azért nő, mert a sejtek merevsége egyidejűleg csökken (azaz a motoros molekulák mechanikai terhelése csökken) (9). Az efferens neurotranszmitter ezen hatása, összhangban az efferens idegrostok elektromos ingerlése során észlelhető változások két különböző időskálán kialakuló hatása közül a lassúval, kb. 20 másodperc alatt fejlődik ki (20). Ezen idő alatt, kísérletes eredmények bizonyosága szerint a külső szőrsejtben olyan folyamatok játszódnak le, amelyek az intracelluláris kalcium koncentráció tranziens emelkedésével és azt követően kalciumfüggő enzimek és ciklikus GMP-függő intracelluláris folyamatok aktiválásával hozhatók összefüggésbe (23–25). Eredménye a külső szőrsejt szubkortikális rácszatában (cytoskeletonjában) bizonyos fehérjék, valamint egyelőre hipotetikus receptor fehérjék foszforilációja, amely kisebb sejtmereséghez vezető sejtmembrán illetve cytoskeleton geometria kialakulásához vezet (3. ábra).

Elektromotilitás fokozódás és hallásromlás ellentmondása

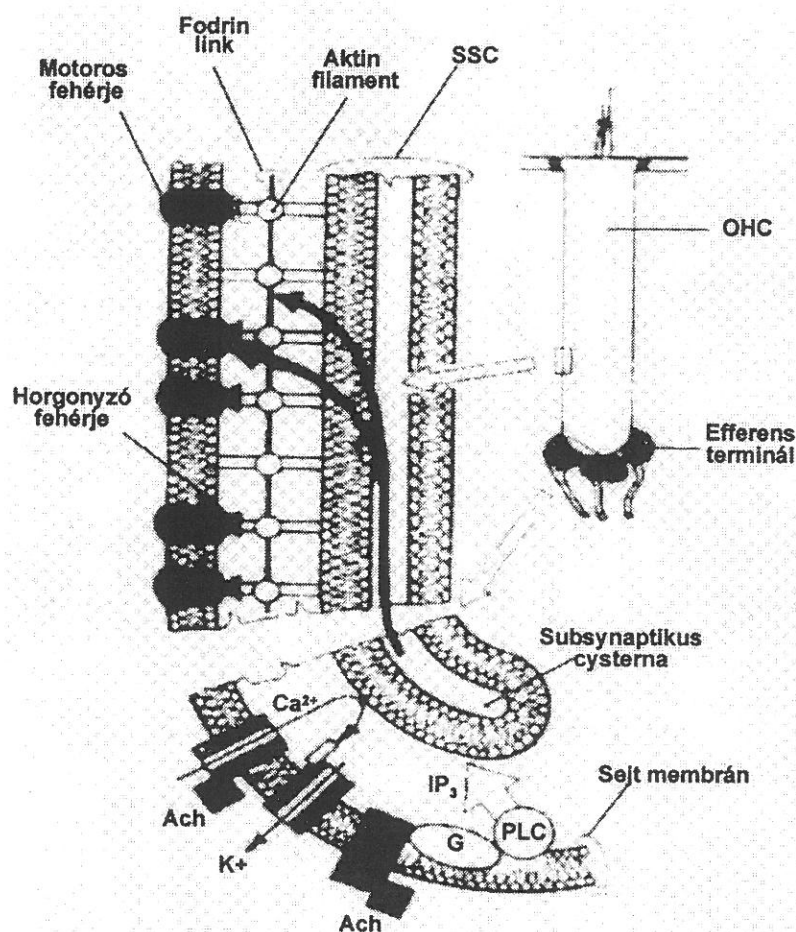
Az izolált külső szőrsejt efferens hatásra kialakuló elektromotilitás fokozódása, valamint az elektromotilitásnak a hangok belfülben történő nagy érzékenységgű és éles hangolású feldolgozásában feltételezetten játszott szerepe között ellentmondás van. Az elektromotilitás *in vivo* létezése melletti legfőbb bizonyíték, az otoakusztikus emisszió, ugyanis pontosan ellentétes változásokat mutat, mint azt egy pozitív energia



2. ábra. Izolált külső szőrsejt (sejthossz: 65 μm) a mikrokamrában (A), elektromotilitása ACh előtt és után, valamint az elektromotilitás transzfergörbéje (B).

A transzfergörbe azt fejezi ki, hogy a mV-ban kifejezett (és a receptor potenciálnak megfelelő) feszültséginger milyen mértékű sejt rövidülés–megnyúlás válaszá alakul át. A magas feszültségértékek felé mind hiperpolarizáló irányban (negatív feszültség-inger), mind depolarizáló irányban (pozitív feszültség-inger) a transzfergörbe szaturálódik.

A feszültség-inger (az ábra legfelső panelja) 7 lépésben emelkedő és csökkenő ingersorozatot képeznek, és a kialakuló sejt motilitás választ kvantitatív módon kiértékelhetővé a sejt ingerlést megelőző kalibráció teszi. Ez fix 900 nanométer elsőtedés a fotódióda rése előtt, amelyhez a sejt-elmozdulás mértéke hasonlítható.



3. ábra. Szőrsejt rajz a hipotetikus Ach hatással, amint foszforilációt idéz elő a plazmamembrán alatti cytoskeletonban (szubkortikális rácsozat).

SSC: sejtmembrán alatti ciszternális rendszer; G: G-protein; OHC: külső szőrsejt; IP₃: inositol trifoszfát 3 (intracelluláris kalcium csatorna agonista); PLC: foszfolipáz. Maga a szubkortikális rácsozat aktinból, fodrin összeköttetésekkel, horgonyzó fehérjékből áll (ezek ún. cytoskeletális fehérjék). Az intracelluláris szignál a kalciumion felszabadulása a szubsynaptikus és a sejtmembrán alatti ciszternális rendszerből. Az ún. motor fehérje a kézirat megírásának idején, még ismeretlen összetételű fehérje volt, amely a külső szőrsejt rövidülés–megnyúlás jellegű motilis működését kivitelezte. A fehérje genetikai kódját közben megfejtették és elnevezték magát a fehérjét „Prestin”-nek (27)

visszacsatolást végző rendszer produktumától várnánk. Kontralaterális efferens ingerlés hatására az otoakusztikus emisszió amplitúdója csökken (13, 16). *In vitro*, azonban az efferens neurotranszmitter Ach fokozza a külső szőrsejt elektromotilitásának mértékét (21).

Hogyan lehetséges, hogy a külső szőrsejt motilitás fokozódása az otoakusztikus emisszió szuppressziójával jár?

Nervus cochleáris idegrostok compound akciós potenciál (CAP) tevékenységének mérésével Ach hatására kialakuló csökkenést állapítottak meg, egyidejű cochleáris mik-

rofon potenciálfokozódással (20). Utóbbit ma egyértelműen a külső szőrsejt gerénálta extracelluláris potenciálnak tekintjük. Ha a cochleáris mikrofon potenciál nő, akkor ez azt jelenti, hogy a külső szőrsejtben erősebb receptor áram keletkezik, azaz a szőrsejt motilis aktivitása nő. Ezzel ellentmondásban van a CAP egyidejű csökkenése, hiszen a fokozottabb energia visszacsatolás érzékenyíti a belső szőrsejtet és azok receptor potenciálja nő, amely a CAP fokozódásával jár együtt. Ugyancsak *in vivo*, a membrana basilaris kitéréseinek amplitúdó csökkenését írták le Ach hatására (17).

Mindezek azt tanúsítják, hogy az efferens gátlás más úton érvényesül, mint a külső szőrsejt elektromotilitásának befolyásolása. Tény marad azonban, hogy a cochleáris erősítő a külső szőrsejtnek kötött funkció, és gyakorlatilag csak a külső szőrsejtnek kapnak sejtestükön efferens beidegést.

Az elektromotilitással, mint cochleáris erősítővel szemben alternatív nézet, hogy a hallás szabályozásában az elsőrendű változó tényező a m. basilaris feszességének befolyásolása (15). A külső szőrsejt Ach hatására kialakuló feszesség csökkenése ebben az összefüggésben tekintve azt jelentheti, hogy az elsőrendű változó a külső szőrsejtben lezajló sejtfeszesség változás, mint amely meghatározza az ingerfelvétel hatékonyságát. Ebben az esetben az elektromotilitás csak egyidejű olyan folyamat, illetve a külső szőrsejt olyan állapotváltozása, amely nem a meghatározóan fontos eleme a mechanoelektrikus transzdukciónak a hallásélesség és frekvencia diszkrimináció szempontjából.

Köszönetnyilvánítás

Ez a munka az OTKA T 025050, valamint az ETT támogatásával készült. Köszönet illeti Prof. Dallos Pétert, az animációs ábra elkészítéséért a foszforiláció szemléltetésére.

Irodalom

1. Ashmore, J. F.: A fast motile response in guinea pig outer hair cells: the cellular basis of the cochlear amplifier. *J Physiol (Lond)*, 388, 323–347, 1987.
2. Ashmore, J. F.: The cellular machinery of the cochlea. *Exp Neurophysiol*, 79, 113–134, 1994.
3. Békésy, G.: Experiments in Hearing. McGraw Hill Book Co., USA 1960.
4. Brownell, W. E.: Observations on a motile response in isolated outer hair cells. In: Webster WR, Aitkin L. M. (eds.) Mechanisms of hearing. Monash University Press, Clayton, Australia, pp. 5–10, 1983.
5. Dallos, P, Harris, D. M.: Properties of auditory nerve responses in the absence of outer hair cells. *J Neurophysiol*, 41, 365–383, 1978.
6. Dallos, P, Evans, B. N., Hallworth, R.: Nature of the motor element in electrokinetic shape changes of cochlear outer hair cells. *Nature*, 350, 155–157, 1991.
7. Dallos, P, Hallworth, R., Evans, B. N.: Theory of electrically driven shape changes in cochlear outer hair cells. *J Neurophysiol*, 70: 299–323, 1993.
8. Dallos, P, Evans, B. N.: High frequency motility of outer hair cells and the cochlear amplifier. *Science*, 267, 2006–2009, 1995.
9. Dallos, P, He D. Z. Z., Lin, X., Sziklai, I., Mehta, S., Evans, B. N.: Acetylcholine, outer hair cell electromotility, and the cochlear amplifier. *J Neurosci*, 17, 2212–2226, 1997.
10. De Boer, E.: Power amplification in an active model of the cochlea: short-wave case. *J Acoust Soc Am* 73, 577–579, 1983.

11. Dolan D. F., Nuttal A. L.: Basilar membrane movement by sound is altered by electrical stimulation of the crossed olivocochlear bundle. *ARO Abstr.*, 17:356, 1994.
12. Frank, G., Hemmert, W., Gummer, A. W.: Limiting dynamics of high frequency electromechanical transduction of outer hair cells. *Proc Natl Acad Sci USA*, 96, 4420–4425, 1999.
13. Giraud, A. A., Collet, L., Chéry-Croz, S., Magnan, J., Chays A.: Evidence of a medial olivocochlear involvement in contralateral suppression of otoacoustic emissions in humans. *Brain Res*, 705, 15–23, 1995.
14. Kemp, D. T.: Stimulated acoustic emissions from within the human auditory system. *J Acoust Soc AM*, 64, 1386–1391, 1978.
15. Kolston, P.J., de Boer E., Viergever, M. A., Smoorenburg, G. F.: Realistic mechanical tuning in a micro-mechanical cochlear model. *J Acoust Soc Am*, 86, 133–140, 1989.
16. Liberman, C.: Rapid assesment of of sound evoked olivocochlear feedback: Suppression of compound action potentials by contralateral sound. *Hear Res*, 38, 47–58, 1989.
17. Murugasu, E., Russell, I. J.: The role of calcium on the effects of intracochlear acetylcholine perfusion on basilar membrane displacement in the basal turn of the guinea pig cochlea. *Auditory Neurosci*, 2, 263–276, 1996.
18. Santos-Sacchi J., Dilger, J. P.: Whole cell currents and mechanical responses of isolated outer hair cells. *Hear Res*, 35, 143–150, 1988.
19. Spoendlin, H.: Innervation patterns in the organ of Corti in the cat. *Acta Otolaryngol (Stockh)*, 67, 239–254, 1969.
20. Sridhar T. S., Brown M. C., Liberman M. C., Sewell W. F.: A novel cholinergic slow effect of efferent stimulation on cochlear potentials in the guinea pig. *J Neurosci*, 15, 3667–3678, 1995.
21. Sziklai, I., Dallos, P.: Acetylcholine controls the gain of the voltage-to-movement converter in isolated outer hair cells. *Acta Otolaryngol (Stockh)*, 113, 326–329, 1993.
22. Sziklai, I., He D. Z. Z., Dallos, P.: Effect of acetylcholine and GABA on the transfer function of electromotility in isolated outer hair cells. *Hear Res*, 95, 87–99, 1996.
23. Sziklai, I., He D. Z. Z., Lin, X., Dallos, P.: Phosphorylation mediates ACh-induced gain and magnitude increase of electromotility in isolated OHCs. *ARO Abstr*, 20: 298, 1997.
24. Szónyi, M., Csermely, P., Sziklai, I.: Acetylcholine-induced phosphorylation in isolated outer hair cells. *Acta Otolar (Stockh)*, 119: 185–188, 1999a.
25. Szónyi, M., He D. Z. Z., Ribári, O., Sziklai, I., Dallos, P.: Cyclic GMP and outer hair cell electromotility. *Hear Res*, 137, 29–42, 1999b.
26. Zenner, H. P., Zimmerman, U., Kepp, U.: High frequency motility of outer hair cells. *Arch Otorhinolaryngol*, 243, 343–344, 1986.
27. Zheng, J., Shen, W., He D. Z. Z., Long, K. B., Madison, L. D., Dallos, P.: Prestin is the motor prote- in of cochlear outer hair cells. *Nature*, 405: 149–155, 2000.

SUMMARY

István Sziklai, Zsolt Farkas

Outer hair cell electromotility: cochlear amplifier or side-effect?

Keywords: efferent innervation, electromotility, outer hair cell, cochlear amplifier, otoacoustic emission

The development of the high sensitivity of the mammalian inner ear is thought to be due to the functional differentiation between the receptor cells of the organ of Corti. Inner hair cells are pure sensory receptors, whereas outer hair cells are sensory-motor cells. They are capable of performing somatic contractions and elongations which are driven by their receptor potential. A positive energy feedback to the basilar membrane by the motor activity of the outer hair cells, the so called electromechanical transduction (electromotility), is assumed to be the "cochlear amplifier", which provides the high sensitivity (low threshold of the audible sounds' perception) of the auditory periphery. The amplifier function becomes negligible at sound intensities of 50 dB above threshold. Outer hair cells receive almost exclusively efferent innervation and it is well-known that the efferent influence is inhibitory upon hearing. On the contrary, the efferent neurotransmitter acetylcholine evokes an electromotile activity increase in isolated outer hair cells. This apparent controversy may be resolved by assuming that – as it is already demonstrated experimentally – the primary variable in the peripheral auditory processing is hair cell stiffness versus hair cell electromotility resulting in an impedance change and basilar membrane stiffness change. This would imply outer hair cell electromotility as a side effect of the mechano-electrical transduction taking place in the organ of Corti.

ZUSAMMENFASSUNG

I. Sziklai, Zs. Farkas

Elektromotilität der äußeren Haarzellen: kochlearer Verstärker oder Nebenprodukt?

Schlüsselworte: äußere Haarzellen, efferente Innervation, Elektromotilität, kochlearer Verstärker, otoakustische Emission.

Für die hohe Schwellenempfindlichkeit des Säuger-Innenohres halten wir die Funktionsteilung der Rezeptorzellen im Sinnesepithel für verantwortlich. Die inneren Haarzellen sind ausschließlich sensorisch wirksam, die äußeren haben sensorische und motorische (Verkürzung und Dehnung) Funktion. Die Motorik der äußeren Haarzellen ist eine rückkoppelnde Tätigkeit, die sog. elektro-mechanische Transduktion (Elektromotilität) ist den Hypothesen nach der kochleare Verstärker, der die schwelennahen Töne hörbar macht und bei Lautstärken von 50 dB und darüber an Bedeutung verliert. Wir vermuten bei der elektromotilen Aktivität der fast ausschließlich efferent innervierten äußeren Haarzellen eine efferente Hemmung, da die efferente Reizung eine ebensolche Schwerhörigkeit verursacht wie die Schädigung der äußeren Haarzellen. Dagegen wird jedoch die elektromotile Aktivität isolierter äußerer Haarzellen durch die Wirkung des efferenten Neurotransmitters Acetylcholin verstärkt. Eine mögliche Erklärung dieser beiden gegensätzlichen Erscheinungen wäre, daß die Veränderung der Straffheit der äußeren Haarzellen die vorrangige Veränderung im Hörprozeß ist, in deren Folge sich die Impedanz des Corti'schen Organs bzw. die Elastizität der Basalmembran den Schwingungen gegenüber verändert. Andererseits ist die Elektromotilität der äußeren Haarzellen nur ein sekundärer und nicht der bestimmende Vorgang beim Hören.