

## Impulsantworten des Nervus opticus auf Reizung der Netzhaut mit Acetylcholin

Eine elektrogene Wirkung von Acetylcholin (ACh) an der Netzhaut ist in Form eines langsamen Potentials als Antwort auf Umströmung der Netzhaut mit ACh-haltiger Lösung gefunden worden<sup>1</sup>. Dieser Befund unterstützt als qualitativ neues Argument die Annahme cholinerge Synapsen in der Retina, wofür das Vorkommen von ACh, ACh-Esterase und Cholinacetylase in der Netzhaut (in GEREBTZOFF<sup>2</sup>) und deren belichtungsabhängiges Verhalten<sup>3,4</sup> sprechen. Weitere Untersuchungen über die elektrogene Wirkung von ACh an der Netzhaut waren der Fragestellung der Auslösbarkeit von Ganglienzellimpulsen durch ACh-Gabe gewidmet<sup>5</sup>.

**Methodik.** Nach Dekapitation des dunkeladaptierten Frosches (*Rana temporaria*) wurden die Nervi optici in ihrem Verlauf freipräpariert, am Chiasma durchtrennt und der Bulbus mit seinem zugehörigen Sehnerv enukleiert. Nach äquatorialer Halbierung des Bulbus erfolgte in modifizierter Tyrodelösung die Abtragung von Sklera und Pigmentepithel. Die isolierte Netzhaut wurde mit der Ganglienzellseite nach unten auf ein Stück Filtrierpapier aufgeschwemmt, das Präparat danach auf eine schräge Ebene und der Nervus opticus über darüber angebrachte Silberdrähte gelegt.

Die Umströmung der Netzhaut geschah durch Auftröpfen der Lösung auf den oberen Rand der schräg liegenden Netzhaut und Sammeln der Lösung in einem Abfluss am Fusse der schießen Ebene. Die Applikation des Acetylcholinchlorid erfolgte durch Gabe eines zu 0,04 ml bestimmten Tropfens ACh-haltiger Lösung auf die Netzhaut bei unterbrochener Umströmung.

Die Entladungen des Sehnervs wurden über die erwähnten Silberelektroden abgeleitet und auf dem Bildschirm eines Oszillographen direkt sichtbar gemacht bzw. unter Zwischenschaltung eines elektronischen Mittelwertbildners in eine Spannung transformiert, deren Amplitude – bei geeigneter Wahl der Grösse der Zeitkonstante – durch die Frequenz (und Amplitude sowie Dauer) der Entladungen bestimmt war. Der Funktionszustand des Präparates konnte mittels seiner Antworten auf Reize verschiedenfarbigen Lichtes unterschiedlicher Intensität, Dauer und Häufigkeit kontrolliert werden<sup>7</sup>.

**Ergebnisse.** Nach einer in der beschriebenen Art und Weise vorgenommenen Applikation von ACh auf die Netzhaut war als Antwort darauf eine vorübergehend erhöhte Impulsaktivität vom Nervus opticus ableitbar. In Figur 1A ist dieser Befund in einer direkt aufgezeichneten Massenableitung des Sehnerven dargestellt. Der Netzhaut wurden 0,44 µmol ACh appliziert, der Zeitpunkt markierte sich in dem durch das Auftröpfen ausgelösten Artefakt. Die Zunahme der Opticusentladungen setzte ca. 0,8 sec danach ein und war nach 3 sec (Ende des Kathodenstrahl durchlaufes) noch nicht abgeklungen. Die durch Mittelwertbildung mögliche Registrierung der Änderung der Entladungsfrequenz als Spannungsänderung (siehe Methodik) wurde für die Aufzeichnung der Impulsantworten auf gleiche ACh-Reizung in Figur 1B benutzt. Diese der Auswertung einfacher zugängigen Kurven werden im folgenden zur Darstellung herangezogen.

Die elektrogene Wirkung des ACh war in ihrem Ausmass von der ACh-Konzentration der applizierten Lösung bestimmt. Figur 2 zeigt diese Abhängigkeit der ACh-Reizantwort für logarithmisch gesteigerte Pharmakakonzentrationen im Bereich zwischen 2,8 mM bis 44 mM. Bei dem aus technischen Gründen jeweils verwendeten konstanten Lösungsvolumen von 0,04 ml ergeben sich damit wirksame ACh-Mengen ab ca. 0,11 µmol.

Bei wiederholten ACh-Gaben wurde die Grösse der ausgelösten Impulsaktivitätssteigerung des Nervus opti-

cus vom zeitlichen Abstand zur vorhergegangenen Reizung mitbestimmt. Nach Gabe von z.B. 0,88 µmol ACh war nach 2 min noch keine völlige Wiederherstellung der Antwortfähigkeit feststellbar.

Weitere Untersuchungen hatten das Ziel festzustellen, ob die ACh-Reizantworten dieses Präparates die gleichen typischen Veränderungen erfahren können, wie es für cholinerge Reaktionen bekannt ist. Dazu wurde das Verhalten der ACh-ausgelösten Opticusentladungen unter dem Einfluss von Pharmaka untersucht, die in spezifischer Weise in den Wirkungsmechanismus von ACh eingreifen. Es konnte demonstriert werden, dass die Antwortreaktion des Sehnerven nach ACh-Applikation auf die Netzhaut erheblich vergrössert war, wenn der Umströmungslösung der Netzhaut Prostigmin (0,02 mM) zugesetzt wurde (Figur 3A'). Der gegenteilige Effekt trat nach Atropinierung der Netzhaut auf (Umströmung mit 0,2 mM Atropinlösung) (Figur 3B').

**Diskussion.** Die an der Netzhaut wirksamen ACh-Mengen zur Auslösung von Entladungen des Nervus opticus stimmen größenordnungsmässig mit den ACh-Dosen überein, die an anderen cholinergen Synapsen, mit vergleichbarer Technik appliziert, wirksam waren<sup>8</sup>. Eine Beschränkung der ACh-Wirkung in der Netzhaut auf Synapsen vorausgesetzt, ergeben sich als Angriffspunkte die in der äusseren und inneren plexiformen Schicht gelegenen Synapsen. Davon sind die Ganglienzellsynapsen der inneren plexiformen Schicht als erste in Betracht zu ziehen, da Impulse der Ganglienzellfortsätze die registrierte ACh-Reizantwort darstellen. Dieser

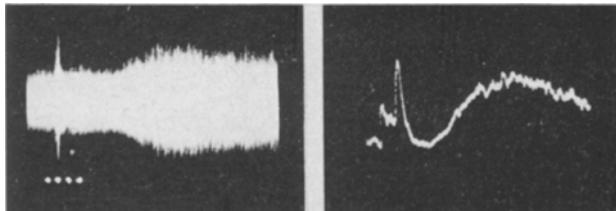


Fig. 1. Impulsantworten des Sehnerven (Massenableitung) auf Reizung der Netzhaut mit 0,44 µmol ACh. In (A) sind die Sehnervenentladungen direkt registriert. Für (B) waren die Entladungen so transformiert, dass eine in ihrer Amplitude frequenzabhängige Spannungsschwankung als Reizantwort aufgezeichnet wurde. Der Zeitpunkt der Applikation von ACh markiert sich links als Artefakt. Zeitmarkierung 200 msec.

<sup>1</sup> P. DETTMAR, in *Advances in Electrophysiology and -pathology of the Visual System*, Proc. 6th ISCEG-Symp., Erfurt 1967 (Ed. E. SCHMÖGER; VEB Georg Thieme, Leipzig 1968).

<sup>2</sup> M. A. GEREBTZOFF, *Cholinesterases* (Pergamon-Press, London 1959).

<sup>3</sup> H. C. CHANG, W. M. HSIEH, L. Y. LEE und T. H. LI, Proc. Soc. exp. Biol. Med. 43, 140 (1940).

<sup>4</sup> P. H. GLOW und S. ROSE, Nature 202, 422 (1964).

<sup>5</sup> Nach dem Abschluss unserer zu dieser Fragestellung durchgeföhrten Untersuchungen wurden uns die von STRASCHILL<sup>6</sup> an der Katze erhobenen Befunde bekannt, nach denen bei i.a. Applikation von ACh eine Erhöhung der Spontanimpulsaktivität der Ganglienzellen auftritt.

<sup>6</sup> M. STRASCHILL, Vision Res. 8, 35 (1968).

<sup>7</sup> Die Versuche wurden im August/September 1966 im Laboratorium für Sinnesorgane des Institutes für Probleme der Informationsübertragung der Akademie der Wissenschaften der SU in Moskau durchgeführt.

<sup>8</sup> J. C. ECCLES, P. FATT und K. KOKETSU, J. Physiol. 126, 524 (1954).

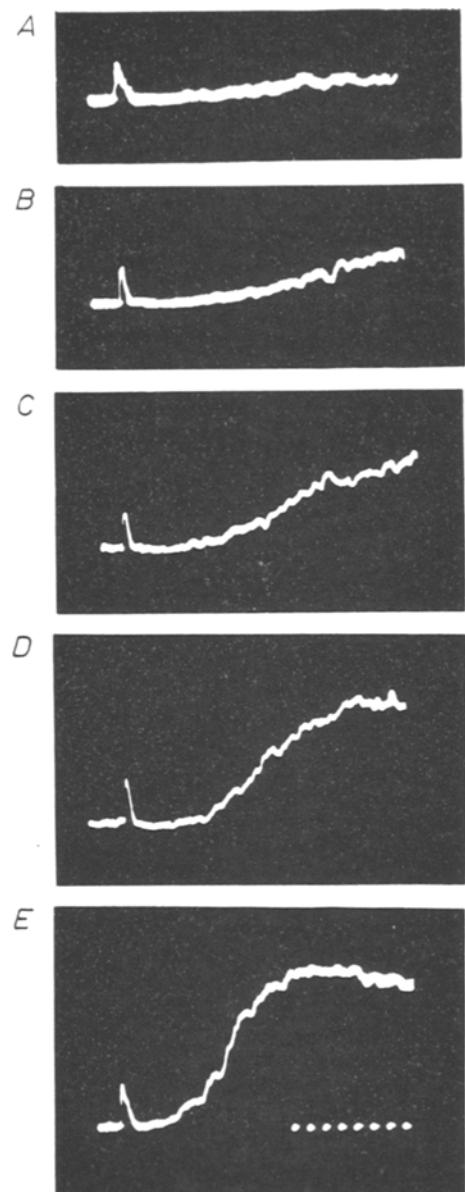


Fig. 2. ACh-ausgelöste Sehnervenentladungen in ihrer Abhängigkeit von der applizierten ACh-Menge. (A) 0,11  $\mu\text{mol}$ ; (B) 0,22  $\mu\text{mol}$ ; (C) 0,44  $\mu\text{mol}$ ; (D) 0,88  $\mu\text{mol}$ ; (E) 1,76  $\mu\text{mol}$  ACh. Die dargestellten Spannungsschwankungen spiegeln in ihrer Amplitude die Frequenz der Sehnervenimpulse (Massenableitung) wider. Der Ausschlag im linken Kurventeil markiert den Zeitpunkt der ACh-Applikation. Zeitmarkierung 200 msec.

Zuordnung steht der histochemische Befund gegenüber, dass die ACh-Esterase bei der Mehrzahl der untersuchten Froschnetzhäute nur in der äusseren plexiformen Schicht nachgewiesen wurde<sup>9</sup>. Demnach wäre eine indirekte Auslösung der Impulse über durch ACh in der äusseren Synapsenschicht generierte Reaktionen zu erwägen.

**Summary.** Application of ACh on the isolated perfused retina of the frog elicited spikes of the optic nerve. The extent of this spike activity depended on the amount of ACh applied. The retinal response to ACh was varied by prostigmine and atropine as expected by their phar-

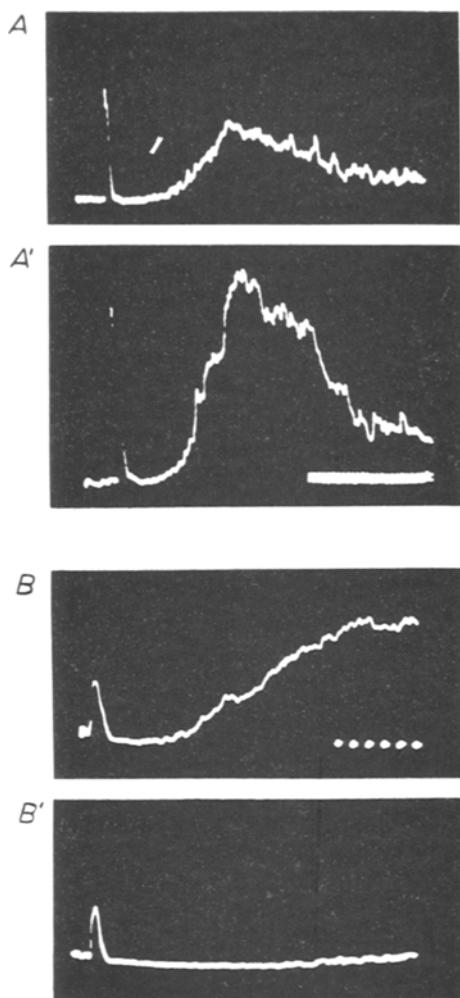


Fig. 3. (A) Vergrösserung der ACh-Reizantwort des Sehnerven durch Prostigmin. Reizung der Netzhaut mit 0,88  $\mu\text{mol}$  ACh nach Umströmung mit Standardlösung (A) und nach 5 min Umströmung mit prostigminhaltiger (0,02 mM) Lösung (A'). Registriertechnik und Zeitmarkierung wie für Figur 2. (B) Verminderung der ACh-Reizantwort des Sehnerven durch Atropin. Reizung der Netzhaut mit 0,88  $\mu\text{mol}$  ACh nach Umströmung mit Standardlösung (B) und nach 10 min Umströmung mit atropinhaltiger (0,2 mM) Lösung (B'). Registriertechnik und Zeitmarkierung wie für Figur 2.

macological properties. From these experiments it cannot be concluded that ACh is acting on the synapses of the firing ganglion cells directly.

J. TRIFONOW, M. A. OSTROWSKI  
und P. DETTMAR

*Institut für Probleme der Informationsübertragung  
und Institut für Höhere Nerventätigkeit und  
Neurophysiologie der Akademie der Wissenschaften  
der Sowjetunion, Moskau, und Physiologisches Institut  
der Karl-Marx-Universität, Leipzig C 1 (DDR),  
25. November 1968.*

<sup>9</sup> M. A. OSTROWSKI, Zh. obshch. Biol. 6, 474 (1961).