

Stimulation der autonomen Augennerven des Hundes durch Adenosintriphosphat

M. GOLDSCHMIDT*

Universitäts-Augenklinik Zürich (Direktor: Prof. Dr. R. Witmer)

Eingegangen am 4. November 1969

Stimulation of the Autonomic Nerves of the Dog's Eye with Adenosintriphosphate

Summary. 1. Retrobulbar injection of adenosintriphosphate (ATP) with addition of glucosis produces a quick dilation of the pupil.

2. The development of the mydriasis depends on the addition of Mg^{++} to the ATP-solution.

3. Pilocarpin miosis will change to mydriasis after retrobulbar injection of ATP.

4. A direct stimulation of the muscles of the iris by instillation, subconjunctival injection or iontophoresis of ATP is impossible due to an enzymatic change of ATP into adenosinediphosphate (ADP) when in touch with the stroma of the cornea.

Zusammenfassung. 1. Die retrobulbäre Injektion von Adenosintriphosphat mit Glukose bewirkt beim Hund eine rasche Pupillenerweiterung, bei hoher Dosierung sogar eine blitzartige maximale Mydriase.

2. Diese Mydriase ist abhängig vom Zusatz von Mg^{++} zum Adenosintriphosphat.

3. Eine Pilocarpinmiosis wird durch die retrobulbäre Injektion von ATP-Lösung leicht überwunden.

4. Eine direkte Stimulation der Irismuskulatur durch Instillation, subkonjunktivale Injektion oder Iontophorese ist nicht möglich, da ein enzymatischer Abbau des ATP im Korneastroma stattfindet.

Untersuchungen von Szent-Giorgyi und Meyerhof über die Muskel-funktion in Zusammenhang mit Adenosintriphosphat an isolierten Muskelfasern und Gesamt-Muskelpräparaten waren der Anlaß, das Adenosintriphosphat (ATP) auf seine Beziehung zum autonomen Nervensystem am Hundeauge zu prüfen. Die Arbeiten von Skou haben wesentlich zur Interpretation der Ergebnisse beigetragen.

Es muß betont werden, daß das ATP sowie die anderen in den Versuchen verwendeten Substanzen physiologische Wirkstoffe des menschlichen Organismus sind.

Der wesentliche Vorgang beim Abbau des ATP in ADP und AMP besteht in der Freisetzung einer Energie von 11—13 kcal. Diese außer-ordentlich hohe Energieentwicklung beim Abbau des ATP war der

* Prof. emeritus, Gast der Universitäts-Augenklinik Zürich.

eigentliche Anlaß zu unseren Untersuchungen. Wir stellten uns die Frage, ob eine Stimulation des autonomen Nervensystems des Auges durch ATP möglich wäre.

Methodik

Obwohl unser Versuch sich nicht mit der Muskulatur der Iris beschäftigt, sondern hauptsächlich eine Stimulation der autonomen Nerven beabsichtigt, wurde trotzdem die qualitative und quantitative Zusammensetzung der Versuchslösungen von Szent-Giorgyi übernommen, jedoch mit dem wichtigen Zusatz von Glucose (anstatt Zusatz von Na^{++}), die uns außerdem die Herstellung der Isotonie gestattet hat.

Zusammenfassung der Lösung

Modifizierte Lösung I		Lösung II nach Szent-Giorgyi	
ATP	0.2	ATP	0.2%
KCl	0.746	KCl	0.1 m
Mg Cl_2	0.020	Mg Cl_2	0.001 m
Glycosum	1.35		
Alcohol benz.	12.0		
Aqua dest. ad	100.0		

Die Versuchstiere waren 20 Hunde, die sich zu experimentell chirurgischen Zwecken in Narkose befanden. Das Alter der Hunde betrug 2—5 Jahre, das Gewicht 20—30 kg.

Die Narkose wurde folgendermaßen durchgeführt:

- a) Zur Vorbereitung Combilene und Polamivet.
- b) Zur eigentlichen Narkose Pentotal und Lachgas, manchmal Zusatz von Celocurin.

Die Pupillenweite der narkotisierten Hunde betrug bei Zimmerbeleuchtung durchschnittlich 5 mm bei ca. 6 mm Irisbreite. Sie zeigte während der Narkose keine Veränderung gegenüber vorher. Den Tieren wurden 5,0 ml der Lösung I retrobulbär, zum Teil ohne wesentlichen, zum Teil mit stärkerem Druck, tief in die Orbita injiziert. In keinem Versuch trat eine Blutung auf. Sämtliche Tiere zeigten in Atmung und Herztätigkeit keine Veränderung (einmalige Oscillographie), die Narkosen verliefen ohne irgendwelche Komplikationen.

Ergebnisse

1. *Versuch.* Nach retrobulbärer Injektion von 5,0 ml der Lösung I auf der nasalen Seite (zur Schonung des Ganglion ciliare) trat nach ca. $\frac{1}{2}$ min eine Erweiterung der Pupille auf, die sich rasch zu einer vollständigen Mydriase entwickelte, die ca. 1 Std anhielt. Wurden je 5,0 ml auf der nasalen und temporalen Seite injiziert, so trat die Mydriase blitzartig auf. Sie dauerte ca. 1—2 Std, also länger als bei 5,0 ml Injektion (Abb. 1).

2. *Versuch.* Es entsteht nach gleicher Injektionstechnik mit Lösung II (ohne Glucose) ebenfalls eine Erweiterung der Pupille, die jedoch erst nach ca. 10 min auftritt und nicht zur maximalen Mydriase führt.

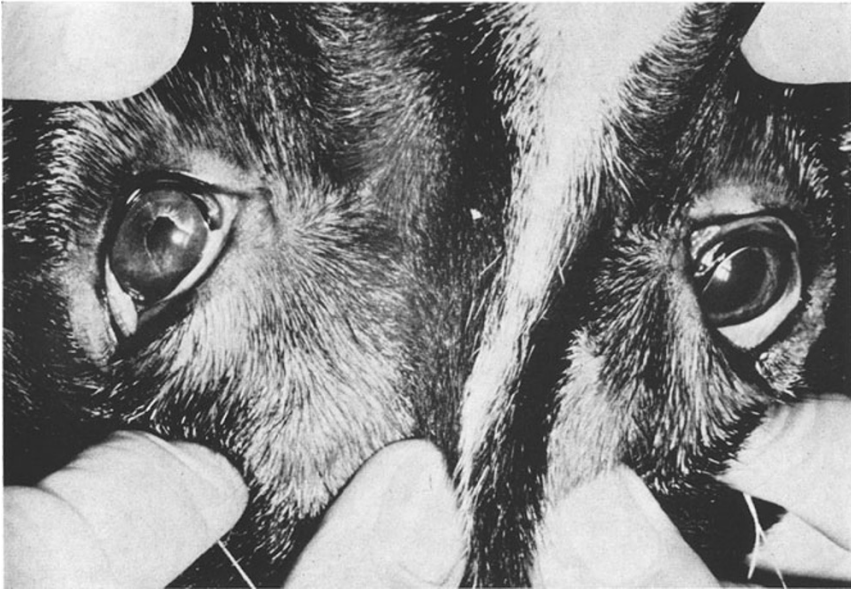


Abb. 1. Hund nach Injektion von 5,0 ml ATP-Lösung I retrobulbär bis zur Spitze der linken Orbita: maximale Mydriasis links

3. *Versuch.* Instilliert man in das Auge einige Tropfen 2%iges Pilocarpin und injiziert nach Auftreten der maximalen Miosis 5,0 ml der Lösung I, dann entwickelt sich nach etwas längerem Intervall als in Versuch I ebenfalls eine totale Mydriasis, die nach ca. 1 Std wieder in eine mittlere Miosis übergeht.

4. *Versuch.* Läßt man bei der Lösung I oder II das $MgCl_2$ fort, so tritt auch nach längerer Beobachtungszeit keine Erweiterung der Pupille auf.

5. *Versuch.* Auch eine Injektion von KCl oder Glucose, zusammen mit Alcohol benz. aber ohne ATP, hat *keine* mydriatische Wirkung.

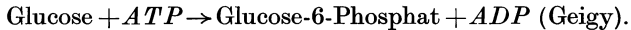
6. *Versuch.* Er sollte abklären, ob mit Lösung I und II eine direkte Stimulation der Irismuskeln erreicht werden kann. Für diese Versuche wurden Kaninchen verwendet. Einträufeln von beiden Lösungen bis zu 10facher Konzentration in den Konjunktivalsack mit und ohne Abrasio corneae waren ohne Einfluß auf die Pupillenweite. Ebenso negativ verliefen Versuche mit Iontophorese und subkonjunktivaler Injektion der beiden Lösungen.

7. *Versuch.* Da aus den Versuchen unter Nr. 6 gefolgert werden kann, daß eine direkte Wirkung des ATP auf die Irismuskulatur nicht möglich ist, wurden 20 frische Schweinehornhäute für 24 Std bei Zimmer-

temperatur mit 10 ml der Lösung I inkubiert. 5,0 ml der so vorbehandelten Lösung wurden einem Hund retrobulbär injiziert. Erst nach 10 min trat eine geringe Mydriase ein, die nach weiteren 20 min wieder verschwand.

Diskussion

Die Zusammensetzung sowohl der Lösung I als auch der Lösung II scheint von entscheidender Wichtigkeit. Neben dem ATP spielt die minimale Menge von Mg^{++} eine bedeutende Rolle, da ohne dessen Zusatz eine Stimulation nicht stattfindet. Mg^{++} dient als Aktivator oder Coferment eines Enzymsystems (ATP-ase), das wahrscheinlich im Endoplasma der Reticulumzellen lokalisiert ist. Die Folge des Zusammentreffens von ATP mit dem aktivierten Enzym bewirkt die Hydrolyse, d. h. die Abspaltung des energiereichen Phosphatrestes und dadurch Stimulation der autonomen Nerven. Das Mg^{++} kann auch durch andere zweiwertige Metalle ersetzt werden, wobei das Ca^{++} die geringste Wirkung aufweist (Skou). Die Spaltung des ATP durch die Membran-ATP-asen bewirkt auch eine Erhöhung der Durchlässigkeit der Zellwand für den aktiven Transport der K^+ und Na^+ Ionen. Das Zusammenwirken all dieser Faktoren ist wahrscheinlich für die retrobulbäre Stimulierung und Weiterleitung des Reizes zu den Muskelendplatten der Irismuskulatur nötig. Die Verwendung von Glucose in Lösung I bedarf noch einer besonderen Diskussion. Der chemische Prozeß von $ATP + Glucose$ wird durch folgende Gleichung dargestellt:



Für diese Reaktion muß eine Hexokinase im Enzymsystem vorhanden sein. Unsere Versuche ergaben mit Lösung I (Zusatz von Glucose) eine wesentlich raschere Mydriase, als mit Lösung II (ohne Zusatz von Glucose). Man kann wohl annehmen, daß mit Glucose zusätzlich die Glykolyse gefördert und höhere Energie entwickelt wird. Aus Versuch 6 kann abgeleitet werden, daß eine direkte Wirkung des ATP auf die Muskelendplatten des M. dilatator pupillae wohl deshalb nicht möglich ist (z. B. durch Instillation der Lösungen in den Konjunktivalsack), weil das ATP bereits im Stroma der Cornea enzymatisch in ADP abgebaut wird (Versuch 7).

Es kann angenommen werden, daß bei der Injektion von 5,0 ml in den retrobulbären Raum die Umspülung der autonomen Nerven sehr intensiv ist. Beide autonomen Nerven haben zum größten Teil keine Myelinscheiden. Der Sphincter pupillae ist angeblich der wesentlich stärkere Muskel als der Dilator, dessen Muskulatur sogar lange Zeit angezweifelt wurde, heute aber sichergestellt ist (Wolfrum). Vielleicht ist der Nachweis von Redslob von Bedeutung, wonach der Dilator eine dreifach größere Fläche einnimmt als der Sphincter. Außerdem

ist nach den Untersuchungen von Duke Elder und den physiologischen Ergebnissen von Boros und Takats die Doppelversorgung des Sphincter pupillae sehr wahrscheinlich. Auch der Dilator verfügt über eine Doppelversorgung (Lomatzsch). Ob durch die Doppelversorgung beider Irismuskeln ein quantitativer anatomischer oder physiologischer Unterschied für die sympathische oder parasympathische Stimulation besteht, konnte durch unsere Versuche nicht nachgewiesen werden. Die Annahme ist naheliegend, daß die Stimulation des Parasympathicus eine Kontraktion des Sphincters bewirkt, hingegen ruft die Stimulation des Sympathicus eine Kontraktion des Dilators hervor (Alpha-Receptoren) und eine Erschlaffung des Sphincters (Beta-Receptoren).

Mit der Methode der Blockierung der Alpha-Receptoren und der Beta-Receptoren könnte mit Hilfe der ATP-Stimulationsmethode eine weitere Klärung der autonomen Innervation der inneren Augenmuskeln versucht werden. Die Ergebnisse dieser Arbeit könnten bei gewissen therapeutischen Maßnahmen eine Rolle spielen. Die retrobulbäre Injektion von 5,0—10,0 ml ATP-Glucoselösung dürfte das am stärksten und raschesten (blitzartig) wirkende Mydriaticum sein. Es kommt jedoch als Therapeuticum nur dann in Betracht, wenn die üblichen Mydriatica versagen, z. B. bei Versuchen, hintere Synechien zu sprengen. Besonders muß betont werden, daß das ATP keine toxischen Eigenschaften besitzt, da es selbst Wirksubstanz des menschlichen Organismus ist.

Ich bin Herrn Prof. R. Witmer zu großem Dank verpflichtet. Die gastfreundliche Aufnahme an der Augenklinik und sein Interesse an meiner Arbeit haben deren Zustandekommen ermöglicht. Herrn Prof. Waser, dem Direktor des pharmakologischen Institutes bin ich für seinen Rat während der Durchführung der Arbeit dankbar. Auch dem Vorstand der experimentellen Versuchsstation der chirurgischen Universitätsklinik Herrn PD Dr. F. Largiadèr danke ich für seine Bereitwilligkeit, mir die Versuchstiere zur Verfügung zu stellen. Herrn Dr. Dolder von der pharmazeutischen Abteilung des Kantonsspitals bin ich für die Herstellung der Lösungen zu Dank verpflichtet.

Literatur

- Boros, B., Takats, I.: Frage der Doppelinervation des Sphincter iridis im Lichte des Cannonschen Denervationsgesetzes. *Albrecht v. Graefes Arch. Ophthal.* **152**, 319 (1952).
- Duke Elder, St.: *System of ophthalmology*, vol. II, p. 184. London: Henry Kimpton 1961.
- Geigy, *Wissenschaftliche Tabellen*, 7. Aufl., S. 333, 385. Basel: J. R. Geigy AG., Pharma 1969.
- Lomatzsch, P.: Sympathikolytische Effekte an isolierten inneren Augenmuskeln. *Albrecht v. Graefes Arch. Ophthal.* **166**, 537 (1964).
- Meyerhof, in: Weber, H. H., u. Portzell, H., Kontraktion, ATP-Cyclus und fibrilläre Proteine des Muskels. *Ergebn. Physiol.* **47**, 369 (1952).
- Redslob, E.: Le dilatateur de la pupille. *Bull. Soc. franc. Ophthal.* **41**, 3 (1928).

- Skou, J. C.: Enzymatic basis for active transport of Na^{++} and K^+ across cell membrane. *Physiol. Rev.* **45**, 595 (1965).
- Influence of kations on ATP. *Biochim. biophys. Acta* **23**, 401 (1957).
- Szent-Giorgyi, A.: Chemistry of muscular contraction, second edit. New York 1951.
- Wolfrum: Über den Bau der Irisvorderfläche des menschlichen Auges mit vergleichenden anatomischen Bemerkungen. *Albrecht v. Graefes Arch. Ophthal.* **109**, 106 (1922).

Prof. em. M. Goldschmidt
Universitäts-Augenklinik
Rämistraße 100
CH-8006 Zürich