

(Aus dem Histologischen Institut der Reichsuniversität Groningen.  
Direktor: Prof. Dr. J. de Haan.)

## Über Acetylcholinbildung in der Retina.

Von

Dr. A. Bakker,

Assistent am Institut (z. Z. in Militärdienst).

Mit 7 Textabbildungen.

### *Einleitung.*

Seit der Entdeckung *Loewis* der humoralen Übertragung von Nervenreizen haben unsere Kenntnisse ansichtlich der Bedeutung des Acetylcholins sich außerordentlich erweitert. Dieser hormonähnliche Parasympathicusstoff ist nicht nur für die physiologischen Vorgänge mancher Organe von großer Wichtigkeit, sondern es spielt derselbe auch in der Pathologie eine hervorragende Rolle. Das Acetylcholin ist insofern nicht, wie z. B. das Adrenalin, ein echtes Hormon, als es seinen Ursprung nicht in einem bestimmten Organ mit interner Sekretion findet und auch nicht frei im Blute zirkuliert. Abgesehen von künstlichen Injektionen hat es denn auch keine allgemeine Wirkung. Bildungsort und Erfolgsorgan dieses Stoffes liegen in unmittelbarer Nähe voneinander oder sind sogar morphologisch nicht zu trennen.

Physiologisch beeinflußt das Acetylcholin besonders das Kaliber der peripheren Gefäße, und zwar vorwiegend der größeren Arteriolen. Es reguliert die Motilität mancher anderer glatten Muskelfasern (Sphincter pupillae, Darmmuskulatur, Uterus) und hat die Sekretion mehrerer Drüsen unter seiner Kontrolle (Gallen-, Magensaft-, Speichel-, Pankreassaftbildung).

In der Pathologie sind es vor allem Gefäßspasmen in verschiedenen Organen, welche zum Auftreten mancherlei Krankheitsbilder Veranlassung geben und welche auf eine unzulängliche Acetylcholinbildung zurückgeführt werden müssen. Therapeutisch hat man diese Krankheiten, wie z. B. das symmetrische Gangrän von *Reynaud* oderluetische und arteriosklerotische Gefäßkrämpfe mittels Acetylcholininjektionen zur Heilung zu bringen versucht.

Auch in der Augenheilkunde hat man die Bedeutung des Acetylcholins auf ihren richtigen Wert zu schätzen gelernt. Wiederum sind es an erster Stelle Gefäßwirkungen, welche hier in Frage kommen. *Cardello*<sup>1</sup> beschreibt den Einfluß des Acetylcholins auf das Gesichtsfeld. Periphere Gesichtsfeldeinschränkungen bei Opticusatrophien (infolge Gefäßanomalien) besserten sich; Skotome verkleinerten sich. *Pohoryles*<sup>2</sup> sah nach subcutanen und retrobulbären Acetylcholininjektionen eine Herabsetzung des Druckes in den menschlichen Retinalgefäßen nach einer vorübergehenden Steigerung. Auch der Augendruck senkte sich.

Das Freiwerden von Acetylcholin im Sphincter pupillae nach Oculomotoriusreizung wurde von *Engelhart*<sup>3</sup> nachgewiesen. Am autonom denervierten Auge konnte er diesen Stoff im Corpus ciliare nicht mehr nachweisen. *Velhagen* jun.<sup>4</sup> untersuchte Extrakte von Retina und

Chorioidea. Mit Hilfe biologischer Testmethoden zeigte es sich, daß diese Extrakte Acetylcholin oder wenigstens Stoffe, welche in jeder Hinsicht Acetylcholin vollkommen ähnlich sind, enthielten.

Es fragt sich nun, ob das Acetylcholin ein normaler physiologischer Bestandteil der lebenden Zellen dieser Gewebe sei oder ob dieser Stoff erst beim Extraktionsverfahren als Kunstprodukt entstehe. Vom Acetylcholin ist es wohl sehr wahrscheinlich, daß es in den lebenden Zellen in irgendeiner Weise am Protoplasma gebunden vorhanden ist. Würde man diese Bindung nicht annehmen, so wäre es schwierig, zu verstehen, weshalb nicht dieser Stoff unter dem Einfluß der ubiquitären Esterase fortwährend schnell abgebaut würde. In der glatten Muskelfaser, z. B. im Sphincter iridis, wird nun das Acetylcholin durch Nervenerregung unter natürlichen Bedingungen freigemacht. *Engelhart* konnte nach Reizung des Oculomotorius am physostigminisierten Auge Acetylcholin im Kammerwasser nachweisen.

Ob man auch in der Retina ein natürliches Freiwerden dieses Stoffes annehmen darf, ist nicht mit Sicherheit zu sagen. Man kann es nur vermuten. Man hat nämlich nachgewiesen, daß Reizung von präganglionären Nervenfasern das Freiwerden von Acetylcholin an der Synaps auslöst<sup>5</sup>. Bei der normalen Übertragung von Nervenerregungen von einem Neuron auf das andere spielt also Acetylcholin eine wichtige Rolle. Es ist nicht unwahrscheinlich, daß in der Retina etwas Ähnliches vor sich geht. Nur ist es nicht möglich, daß chemische Untersuchungen oder biologische Prüfungen von Retinaextrakten unsere Kenntnisse in dieser Hinsicht fördern können. Im allgemeinen kann man wohl sagen, daß man nur dann dazu schließen darf, daß nach Reizung von bestimmten Zellen ein physiologisches Freiwerden von Acetylcholin stattfindet, wenn im Erfolgsorgan dieser Zellen Reaktionen auftreten, welche der Wirkung dieses Stoffes, wenn künstlich verabreicht, entsprechen. Ob sich diese Anforderung an die Retina im intakten Auge je verwirklichen lassen werde, erscheint mir sehr fraglich.

Ich habe mir die Aufgabe gestellt, zu untersuchen, ob es nicht möglich wäre, mittels des *de Haanschen* Kulturverfahrens dieser Frage näher heranzutreten.

In einer früheren Arbeit<sup>6</sup> habe ich mitgeteilt, daß die überaus starke Pupillenverengung, welche am explantierten Irispräparat auftritt, allem Anschein nach dadurch ausgelöst wird, daß durch die traumatische Reizung der durchschnittenen Nerven im Irisgewebe eine sehr hohe Acetylcholinkonzentration entsteht. Die Konzentration ist so groß, daß die maximale Kontraktion des Sphincters durch hohe Atropingaben nicht aufgehoben wird. Nach einigen Kulturtagen erweitert sich die Pupille nach und nach, da die traumatische Reizung der Irisnerven erlischt. Es war mir aufgefallen, daß diese Pupillenerweiterung viel langsamer vor sich ging, wenn zusammen mit der Regenbogenhaut auch die Retina explantiert wurde. In mehr als 30 Kulturversuchen konnte

ich dieses Verhalten stets ohne eine einzige Ausnahme feststellen. Ich werde jetzt diese Versuchsergebnisse im experimentellen Teil erörtern.

#### *Experimenteller Teil.*

Die Technik des Freipräparierens der Explantate (Linse, Iris, Corpus ciliare, Retina und Chorioidea) habe ich schon früher an anderer Stelle veröffentlicht<sup>6</sup>. Wurden nicht nur die Linse und die Iris, sondern auch die Retina und die Chorioidea mit explantiert, so wurden diese beiden Gewebe mit Hilfe zarter, aus Glas angefertigter Häkchen, auf die Vorderfläche der Regenbogenhaut ausgebreitet. Jede Kulturaufstellung bestand aus zwei Kulturkammerchen mit zugehörigem Zu- und Abflußgefäß. In das eine Kulturgefäß wurde die Linse nebst Iris und Ciliarkörper des einen Auges aufgehoben, in das zweite Kulturgefäß wurde das Linse-Irispräparat des anderen Auges, zusammen mit Retina und Chorioidea, hinübergetragen. Für die weitere Beschreibung des gesamten Kulturverfahrens und der Gewinnung und Zusammensetzung der Nährflüssigkeit sehe man meine frühere Mitteilung<sup>7</sup>.

Ich werde jetzt eine kurze Beschreibung, woraus das Verhalten der explantierten Regenbogenhaut ersichtlich ist, folgen lassen. Näheres hierüber findet man in einer meiner früheren Arbeiten veröffentlicht<sup>8</sup>. Wenn die Pupille, welche unmittelbar nach dem Freipräparieren maximal verengt ist, sich im Laufe der ersten Kulturstage nach und nach erweitert hat, kann eine schwache Physostigminlösung (in der Konzentration von 1:10000) eine starke Kontraktion auslösen. Diese Pupillenverengung kann durch Atropin aufgehoben werden. Auch eine alkalische Reaktion der umgebenden Flüssigkeit wirkt der Verengung entgegen. Es weist dieses Verhalten auf das Vorhandensein eines cholinergischen Mechanismus hin. Das Physostigmin an sich vermag ja dem Sphincter pupillae nicht zu erregen. Bekanntlich nimmt man an, daß Physostigmin die fermentative Hydrolyse des Acetylcholins hemmt. Sind die Nerven in der explantierten Regenbogenhaut nach einigen Kulturwochen ganz oder jedenfalls größtenteils degeneriert, so wird kein Acetylcholin mehr gebildet werden. Es vermag das Physostigmin dann auch keine Pupillenverengung mehr auszulösen. Auch jetzt aber ist der Sphincter noch völlig kontraktionsfähig, was z. B. die Pupillenverengung nach Einträufeln von Pilocarpin beweist.

Da alle Versuche prinzipiell gleichartig verliefen, werde ich mich damit begnügen, nur einige Protokolle beispielsweise mitzuteilen.

1. *Versuch.* 4. 10. 38, 7 Uhr: Von einem pigmentierten Kaninchen wurde die Linse und Iris des einen Auges (A), zusammen mit der Retina und der Chorioidea explantiert. Vom anderen Auge (B) wurde nur die Linse und die Regenbogenhaut explantiert. Beide Pupillen maximal verengt. Durchströmungsgeschwindigkeit von A etwa 1 Tropfen in 18 Sek. (1/18), von B 1/25, d. h. 12 ccm pro Stunde. 5. 10. 38, 8 Uhr: Pupillendurchmesser (P.D.) von A  $4 \times 4\frac{1}{2}$  mm, von B  $5 \times 6$  mm. 16 Uhr: P.D. von A  $4\frac{1}{2} \times 5\frac{1}{2}$  mm, von B  $5 \times 6$  mm. Die Durchströmungsgeschwindigkeit wurde jetzt derart reguliert, daß diese für beide Kulturen 1/15 betrug. 17 Uhr: Nach Einträufeln von Physostigmin (wirksame Konzentration 1:10000) wurde

P.D. von A  $2 \times 2\frac{1}{2}$  mm, von B  $4\frac{1}{2} \times 5$  mm. Durch Atropin wurde diese Kontraktion wieder beseitigt.

Wir können aus diesem Versuch schließen, daß in beiden Kulturen ein acetylcholinartiger Stoff abgesondert wird. Aller Wahrscheinlichkeit nach dürfen wir wohl annehmen, daß es sich dabei tatsächlich um Acetylcholin handelt. Außerdem stellt es sich heraus, daß diese Substanz in der „Retina“-kultur eine höhere Konzentration erreicht, da hier die Pupillenkontraktion nach Physostigmin viel stärker als in der Kontrollkultur ausfiel.

2. *Versuch.* 20. 12. 37, 15 Uhr: Versuchstier ist ein schwarzes Kaninchen. Kultur A mit Retina und Chorioidea, Kultur B ohne Retina und ohne Chorioidea. Durchströmungsgeschwindigkeit von A und B  $1/40$ . 21. 12. 37, 9 Uhr: Die Retina hat sich zurückgezogen und bedeckt die Vorderfläche der Iris nicht mehr. P.D. von A  $5\frac{1}{2} \times 6$  mm, von B  $6\frac{1}{2} \times 7$  mm. 22. 12. 37, 9 Uhr: P.D. von A  $6\frac{1}{2} \times 7$  mm, von B  $7 \times 8$  mm. 3. 1. 38, 15 Uhr: P.D. von A  $6 \times 7$  mm, von B  $8 \times 9\frac{1}{2}$  mm. Jetzt (also nach 14 Tagen) wird die Kultur beendet. Nach Physostigmin (1:10000) zeigt die „Retina“-kultur eine deutliche Pupillenverengung. Die Pupille von B dagegen verkleinert sich nicht.

Aus diesem Versuch geht hervor, daß in der Retina noch Acetylcholin gebildet wird, wenn dies in der Regenbogenhaut nicht mehr der Fall ist. Außerdem gibt mir dieser Versuch Veranlassung, darauf hinzuweisen, daß, je besser die Retina die Iris bedeckt, d. h. je inniger der Kontakt zwischen beiden Geweben ist, um so langsamer sich die Pupille im Laufe der Kultur erweitert. Es läßt sich dieses Verhalten leicht dadurch erklären, daß, je dichter in der Kultur Bildungsort und Erfolgsorgan (Sphincter) des Acetylcholins zueinander gebracht werden, um so schneller diese Substanz in den Muskel hineinzudringen vermag und um so größer ihre Wirkung sein muß.

Es fragt sich nun, ob das gebildete Acetylcholin lediglich von der Retina herrührt oder ob dieser Stoff auch in der Chorioidea produziert wird. Zur Lösung dieser Frage habe ich zusammen mit der Regenbogenhaut nur die Retina explantiert und die Chorioidea entfernt. Die Ergebnisse dieses Experimentes zeigt folgendes Protokoll.

3. *Versuch.* 1. 10. 38, 7 Uhr: Versuchstier ist ein dunkles Kaninchen. Kultur A: Linse, Iris, Corpus ciliare, Retina (ohne Chorioidea); Kultur B: Linse, Iris; Corpus ciliare. Beide Pupillen sind maximal verengt. Durchströmungsgeschwindigkeit von A  $1/18$ , von B  $1/36$ . 15 Uhr: P.D. von A  $2\frac{1}{2} \times 3\frac{1}{2}$  mm, P.D. von B  $4 \times 5$  mm. Um 20 Uhr sind diese Zahlen für A  $3 \times 4$  mm, für B  $4\frac{1}{2} \times 5\frac{1}{2}$  mm. Auch weiter bleibt der P.D. von B immer größer als von A. Als nach 2 Tagen die Kultur beendet wird, zeigt die Pupille von B wiederum eine geringere Verengung nach Physostigmin als diejenige von A. Das ganze Benehmen der Kultur A ist denjenigen Kulturen, wobei auch die Chorioidea mit explantiert wurde, vollkommen gleich. Hieraus ergibt sich, daß die Chorioidea keine pupillenverengende Wirkung auf die explantierte Iris ausübt.

Wurde die Retina gesondert explantiert und in ein Kulturgefäß, in dem sich ein Linse-Irispräparat befand, übertragen, so empfand auch jetzt die Pupille den kontrahierenden Einfluß dieser Retina.

Vollständigkeitshalber habe ich weiter das Verhalten der Pupille untersucht, wenn nur die Chorioidea, unter Hinweglassen der Retina,

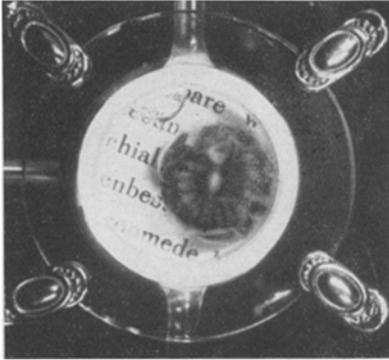


Abb. 1. Kultur A 17 Stunden nach Beginn der Durchströmung. Retina bedeckt einen großen Teil der Iris. Pupille noch sehr eng infolge gebildeten Acetylcholins in der Retina. Wahre Größe.

sammen mit Retina und Chorioidea explantiert. Die Retina bedeckt einen breiten peripheren Saum der Regenbogenhaut. Iris explantiert. Pupille von A und B

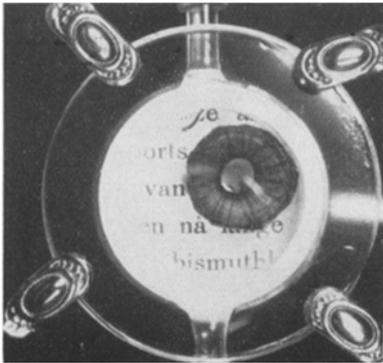


Abb. 2. Kultur B ohne Retina, auch nach 17 Stunden. Hier schon eine mäßige Mydriasis. Wahre Größe.

die Retina mit explantiert wird, der P.D. viel kleiner als derjenige der Kontrollkultur ist, wo nur die Iris ohne Retina in Kultur gebracht worden ist. Dieser Unterschied bleibt wochenlang bestehen.

Man soll besonders darauf achten, daß die Durchströmung der „Retina“kultur nicht langsamer als diejenige der Kontrollkultur gehe, da hierdurch selbstverständlich eine größere Produktion vom Acetyl-

cholin, unter Hinweglassen der Retina, mit explantiert wurde. In diesem Fall war die Pupillenweite ebenso groß wie diejenige der Kontrollkultur. Auch diesem Versuch kommt also Beweiskraft zu für die Annahme, daß die Chorioidea in vitro kein Acetylcholin produziert.

Die folgenden Versuche erschaffen uns einen deutlichen Eindruck von den Pupillenbewegungen im Laufe der ersten Kulturstage. Auch hier äußert sich die Anwesenheit der Retina in eine pupilleverengende Wirkung.

4. Versuch. 7. 1. 38, 15 Uhr: Von einem pigmentierten Kaninchen wurden Linse und Iris des einen Auges (A) zusammen mit Retina und Chorioidea explantiert. Vom anderen Auge (B) nur Linse und Iris explantiert. Pupille von A maximal kontrahiert. Durchströmungsgeschwindigkeit von beiden Kulturen  $1/60$ . 18 Uhr: P.D. von A  $2 \times 3$  mm, von B  $4\frac{1}{2}$  mm. 8. 1. 38, 8 Uhr: P.D. von A nur  $2\frac{1}{2} \times 3$  mm, von B schon 5 mm. Wie groß schon jetzt (nach 17 Stunden) der Unterschied in der Pupillenweite beider Explantate ist, geht aus den Abb. 1 und 2 deutlich hervor. Unter dem Einfluß der Beleuchtung während des Photographierens haben sich die P.D. ein wenig verkleinert. Die Differenz beider Durchmesser hat sich jedoch nicht geändert.

Obwohl die beiden Explantate unter vollkommen gleichen Bedingungen verblieben, sehen wir hier, und desgleichen auch in allen übrigen Kulturen, daß immer da, wo

cholin in erstgenannter Kultur vorgetäuscht werden könnte. Je schneller nämlich die Durchströmung geht, desto mehr Acetylcholin wird aus dem Irisgewebe weggespült und desto schneller erweitert sich, *ceteris paribus*, die Pupille.

Daß letzteres zutrifft, konnte immer leicht festgestellt werden, wenn zwei vollkommen gleiche Kulturen miteinander verglichen wurden, z. B. zwei Kulturen ohne Retina oder zwei Kulturen mit Retina. In

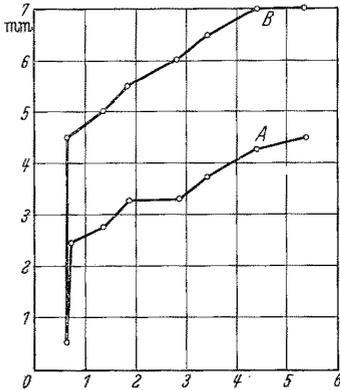


Abb. 3. Kurve A zeigt den Verlauf der Pupillenerweiterung der Retinakultur, Kurve B denjenigen der Kontrollkultur. Die pupillerverengende Wirkung der Retina tritt deutlich hervor.

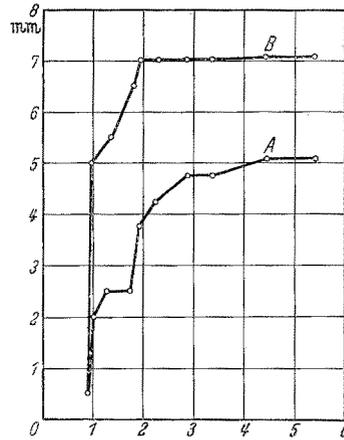


Abb. 4. A und B haben dieselbe Bedeutung wie in Abb. 3. Hier zeigen die beiden Kurven einen steileren Verlauf, wohl infolge der schnelleren Durchströmung.

beiden Fällen erweitert sich dann immer die Pupille der schneller durchströmten Kultur stärker als diejenige der langsamer durchströmten. Man soll bei diesen Kulturversuchen immer nur dann die verschiedenen Ergebnisse miteinander vergleichen, wenn das Material vom *selben* Tier herrührt, denn zwischen verschiedenen Versuchstieren gibt es immer graduelle Unterschiede. In allen meinen Versuchen habe ich dann auch immer das Material des einen Auges mit demjenigen des anderen Auges desselben Kaninchens verglichen.

Wie sich die Veränderungen der Pupillenweite bei dieser Kultur im Laufe der weiteren Kulturstage vollzogen haben, ist aus Abb. 3 ersichtlich. War die Pupille nicht rund, wie meistens der Fall ist, so wurde der Mittelwert des kleinsten und des größten Durchmessers genommen und diesen in die Graphik eingetragen. Auch nach 5 Tagen bleibt der P.D. der „Retina“-kultur bedeutend hinter demjenigen der Kontrollkultur zurück. Erst nach einigen Wochen wird der Unterschied kleiner.

5. Versuch. 30. 3. 38, 20 Uhr: Von einem pigmentierten Kaninchen Linse, Iris, Chorioidea und Retina des einen Auges (A) in Kultur gebracht. Vom anderen Auge (B) nur die Linse und Iris ohne Retina, explantiert. Durchströmungs-

geschwindigkeit von A  $1/30$ , von B  $1/32$ . Pupillen anfänglich, wie immer, maximal kontrahiert. 24 Uhr: P.D. von A  $1\frac{1}{2} \times 2\frac{1}{2}$  mm, P.D. von B bereits  $4\frac{1}{2} \times 5\frac{1}{2}$  mm.

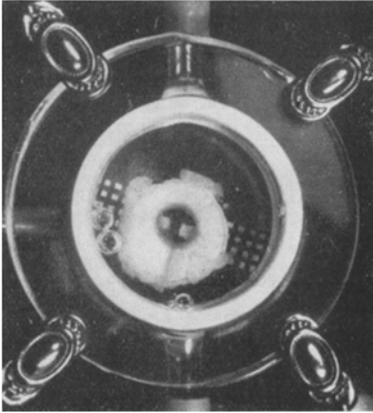


Abb. 5. Irisexplantat (A) eines albinotischen Kaninchens nach 3 Kulturtagen. Große Retinaetzen bedecken die Peripherie der Iris. Im Vergleich zu Abb. 6 Pupille noch ziemlich eng. Wahre Größe.

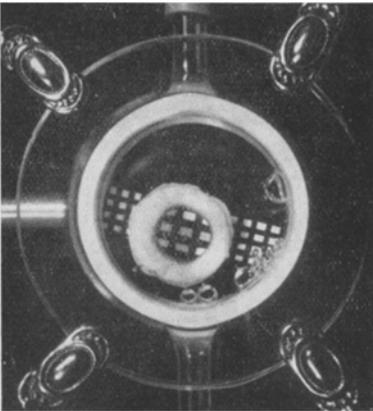


Abb. 6. Kontrollkultur (B) des anderen Auges, ebenfalls nach 3 Tagen. Hier schon eine bedeutende Mydriasis durch Fehlen der Acetylcholin bildenden Retina. Wahre Größe.

Der weitere Verlauf der Pupillenerweiterung in den ersten Kulturtagen ist aus Abb. 4 ersichtlich. Es ergibt sich, daß auch bei schnellerer Durchströmung die Pupillenweite der „Retina“kultur beträchtlich hinter derjenigen der Kontrollkultur zurückbleibt.

Vergleicht man die zwei Graphiken miteinander, so bekommt man auch daraus den Eindruck, daß die Pupillen der beiden Explantate mit der größeren Durchströmungsgeschwindigkeit sich schneller erweitern. Daß dieser Unterschied in der Pupillenweite tatsächlich auf die verschiedenen Durchströmungsgeschwindigkeiten beruht, geht aus dem Vergleich nicht zwingend hervor, da es hier Material von *verschiedenen* Versuchstieren betrifft. In allen Versuchen konnte jedoch ausnahmslos dasselbe Verhalten festgestellt werden. Hierdurch bin ich überzeugt, daß die oben genannte Erklärung die richtige ist.

6. Versuch. 30. 11. 37, 15 Uhr: Versuchstier: Albinotisches Kaninchen. Kultur A: Linse, Iris, Corpus ciliare, Retina, Chorioidea. Kultur B: Desgleichen, aber ohne Retina und Chorioidea. Pupillen maximal verengt. 19 Uhr: P.D. von A  $3 \times 3\frac{1}{2}$  mm, P.D. von B  $4\frac{1}{2} \times 5$  mm. 1. 12. 37, 9 Uhr: P.D. von A  $3\frac{1}{2} \times 4$  mm, P.D. von B  $5\frac{1}{2} \times 6$  mm. 2. 12. 37, 9 Uhr: P.D. von A  $4 \times 4\frac{1}{2}$  mm, P.D. von B  $7 \times 7\frac{1}{2}$  mm. 3. 12. 37, 16 Uhr: P.D. von A 5 mm, P.D. von B  $7 \times 8$  mm.

Wie sich in diesem Augenblick die P.D. der beiden Explantate

verhielten, zeigen die Abb. 5 und 6 in überzeugender Weise. Wir sehen somit, daß das pigmentlose Material sich gleichartig wie das pigmentierte verhält.

Aus allen Versuchen ergibt sich eindeutig, daß immer da, wo die Retina mit explantiert wird, eine pupillenverengende Wirkung aus-

geübt wird. Versuche mit Physostigmin haben den Beweis erbracht, daß diese Wirkung darauf beruht, daß ein acetylcholinartiger Stoff gebildet wird. Da sich bei mikroskopischer Prüfung der explantierten überlebenden Retina leicht feststellen läßt, daß manche Netzhaut-elemente ihre normale Struktur in der Kultur bewahrt haben, so können wir wohl sagen, daß auch eine normale Funktion dieses Gewebes durchaus nicht unmöglich ist. Die biologisch nachweisbare Tätigkeit der explantierten Netzhaut und ihr mikroskopisches Bild sind also in guter Übereinstimmung miteinander. Wie die überlebende Retina nach

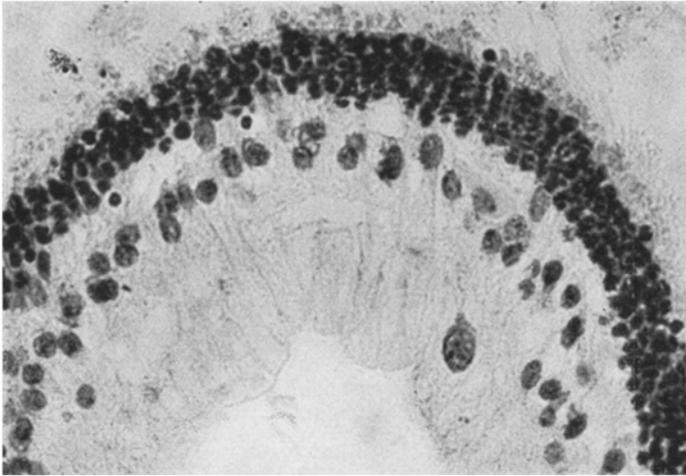


Abb. 7. Explantierte Retina nach 9 Kulturtagen. Man sieht hier die guterhaltene innere und äußere Körnerschicht und die multipolaren Ganglienzellen der Nervenfaserschicht. Vergr. 460mal.

9 Kulturtagen aussieht, zeigt Abb. 7. Die Stäbchen- und Zäpfchenschicht ist teilweise degeneriert. Das Absterben dieser Elemente läßt sich an manchen Explantaten nachweisen und fängt oft schon nach einigen Tagen an. Weshalb gerade diese Teile der Retina degenerieren, kann ich nicht sagen. Wahrscheinlich verbleibt diese Schicht unter ungünstigen Nahrungsbedingungen, denn sie befindet sich in der Kultur zwischen der Regenbogenhaut und der Hauptmasse der zurückgeschlagenen Retina (meistens noch durch die Chorioidea bedeckt). Auch die Zellen der äußeren Körnerschicht degenerieren dann und wann. In der Abbildung sehen sie aber völlig normal aus. Die typische Anordnung des Chromatins in zwei getrennten Schollen, wie wir diese als eine normale Struktur der Kerne der äußeren Körnerschicht kennen, ist sogar deutlich sichtbar. Im Gegensatz zum Verhalten der genannten Zellen, welche bisweilen der Nekrose anheimfallen, können wir feststellen, daß die Elemente der inneren Körnerschicht und die multipolaren

Ganglienzellen der Nervenfaserschicht auch in älteren Kulturen immer gut erhalten bleiben.

*Diskussion.*

Wenn in meinen Versuchen von einer Acetylcholinbildung in der Regenbogenhaut oder in der Retina die Rede ist, so will ich damit nur besagen, daß es sich um einen *acetylcholinartigen* Stoff handelt. Ganz allgemein gesprochen kann man wohl sagen, daß man nur dann berechtigt ist, die Anwesenheit des Acetylcholins anzunehmen, wenn es chemisch-analytisch gelingt, diesen Stoff nachzuweisen. Der chemische Nachweis der äußerst kleinen Mengen Acetylcholins, um die es sich hier handelt, liegt jedoch nicht im Bereich des möglichen. Die heutigen Methoden sind dazu unzulänglich. So lange aber keine anderen Stoffe bekannt sind, welche Acetylcholin in jeder Hinsicht vollkommen ähnlich sind, dürfen wir bei einem cholinergischen Mechanismus wohl annehmen, daß der beobachteten Wirkung tatsächlich Acetylcholin zugrunde liegt.

Die maximale Kontraktion der Pupille, welche sich unter dem Einfluß des Acetylcholins an der explantierten Regenbogenhaut vollzieht, muß sicherlich einer *direkten* Einwirkung dieser Substanz auf den Sphinctermuskel zugeschrieben werden. *Imachi*<sup>9</sup> glaubt, daß die Pupillenverengung durch Cholin Körper nicht nur auf eine Parasympathicusreizung des Sphincter iridis, sondern auch auf die sich da hinzugesellende Irishyperämie beruht. Er gründet diese Meinung auf die beobachtete erhöhte Fluoresceinausscheidung im Auge nach intravenöser Fluoresceinjektion, wenn Acetylcholin verabreicht wurde. Bei der explantierten Regenbogenhaut kommt dieser Faktor gewiß nicht in Betracht. *Lipschütz* und *Schilf*<sup>10</sup> weisen darauf hin, daß die Pupillenverengung nach Acetylcholin zu groß ist, als daß diese durch Irishyperämie erklärt werden könne. Dieses Bedenken, zusammen mit meinen Kultursergebnissen machen es wohl sicher, daß der Sphincter pupillae *unmittelbar* durch Acetylcholin beeinflusst wird.

Es fragt sich nun, ob das in der explantierten Retina gebildete Acetylcholin als Äußerung einer normalen Funktion der überlebenden Nervenzellen zu betrachten ist. Das ist meines Erachtens tatsächlich der Fall. Wäre es so, daß dieser Stoff infolge des Absterbens dieser Zellen freigemacht worden war, so hätte man erwarten können, daß die pupillenverengende Wirkung im Laufe der ersten Kulturstage eher zu- als abnehmen müßte, denn ein Teil der Nerven Elemente geht in dieser Zeit zugrunde. Das Gegenteil findet jedoch statt. Es setzt eine fortschreitende Pupillenerweiterung ein. Die relative Miosis aber, welche Kulturen mit explantierter Retina gegenüber denjenigen ohne Retina sogar wochenlang aufweisen, deutet unbedingt darauf hin, daß die überlebenden, nicht degenerierenden Retinazellen, ununterbrochen fortfahren, Acetylcholin zu bilden. Besonders beweisend in dieser Hinsicht ist der zweite Versuch. Hier wird in der explantierten Regenbogenhaut nach 14 Tagen kein Acetylcholin mehr gebildet, da die Irisnerven größtenteils degeneriert sind. Dennoch verursacht eine unterschwellige Physostigminmenge in

der „Retina“kultur eine deutliche Pupillenkontraktion (in der Kontrollkultur ist diese Menge wirkungslos). Es kann das nicht anders erklärt werden, als daß die überlebenden Retinazellen noch dazu befähigt sind, Acetylcholin zu bilden.

*Velhagen jun.*<sup>11</sup> stellte fest, daß auch Extrakte aus der Uvea von Rinder- augen nachweisbare Mengen Acetylcholins enthielten (Nachweis mit Hilfe des zentrenfreien Blutegehmuskels). Meine Versuche haben den Beweis erbracht, daß die Chorioidea nicht als Bildungsstätte dieser Substanz in Betracht kommt. Wir dürfen hieraus wohl schließen, daß das Acetylcholin aus den Uveaextrakten *Velhagens* von dem Ciliarkörper und der Regenbogenhaut herrührt. Aus den Versuchen *Engelhart's* sowie aus den meinigen geht hervor, daß diese Gewebe tatsächlich Acetylcholin bilden.

Wir wollen uns schließlich die Frage stellen, ob wir mit einiger Wahrscheinlichkeit annehmen dürfen, daß auch im *intakten* Auge in der Retina Acetylcholin gebildet wird. Wenn ich glaube, darauf eine bejahende Antwort geben zu dürfen, so bin ich mir davon bewußt, daß vieles in meiner Erklärung auf hypothetischen Gründen beruht. Aus den verschiedenen Tatsachen können wir uns jedoch wohl eine Vorstellung davon machen, ob in der Retina normalerweise Acetylcholin gebildet wird oder nicht. Von größter Wichtigkeit ist die Tatsache, daß die normale Reizübertragung von einem Neuron auf das andere durch Acetylcholin vermittelt wird. Zwar beruhen diese Ergebnisse auf Versuchen an Ganglien, aber es liegt die Vermutung nahe, daß auch in der Retina die Übertragung von Nervenerregungen durch Freisetzen von Acetylcholin an den verschiedenen Synapsen ausgelöst wird. Diese Erwägung hat um so mehr Existenzberechtigung, als wir wissen, daß in den Kulturversuchen die explantierte Retina dauernd Acetylcholin bildet. Nicht ohne Bedeutung sind weiter die Ergebnisse der mikroskopischen Prüfung der überlebenden Netzhaut. Hierbei ergab sich, daß auch in Kulturen von mehr als 4 Wochen zahlreiche Retinazellen ihre normale Struktur bewahrt hatten.

Dürfen wir also einerseits ruhig annehmen, daß die explantierte Retina wochenlang in der Durchströmungskultur überlebend zu bewahren ist und wissen wir andererseits, daß diese überlebende Retina Acetylcholin bildet, so erscheint mir die Erwägung, daß auch im intakten Auge die Retina dazu befähigt ist, nicht allzu gewagt.

#### Literaturverzeichnis.

- <sup>1</sup> *Cardello, G.*: Rass. ital. d'Ottalmologia **3**, 764 (1934). — <sup>2</sup> *Pokoryles, G.*: Rass. ital. d'Ottalmologia **3**, 794 (1934). — <sup>3</sup> *Engelhart*: Pflügers Arch. **227**, 220 (1931). — <sup>4</sup> *Velhagen, K. jun.*: Arch. Augenheilk. **105**, 573 (1932). — <sup>5</sup> *Gaddum, J. H. and M. H. Khayyal*: Gefäßweiternde Stoffe der Gewebe. Leipzig: Georg Thieme 1936. — <sup>6</sup> *Bakker, A.*: Acta neerl. Morph. norm. et path. **1**, 97 (1937). — <sup>7</sup> *Bakker, A.*: Graefes Arch. **135**, 581 (1936). — <sup>8</sup> *Bakker, A.*: Graefes Arch. **139**, 273 (1938). — <sup>9</sup> *Imachi, K.*: Acta Soc. ophthalm. jap. **35**, 1365 (1931). (Deutsche Übersetzung.) — <sup>10</sup> *Lipschütz, H. u. E. Schülf*: Arch. exper. Path. **162**, 617 (1931). — <sup>11</sup> *Velhagen, K. jun.*: Arch. Augenheilk. **109**, 195 (1936).