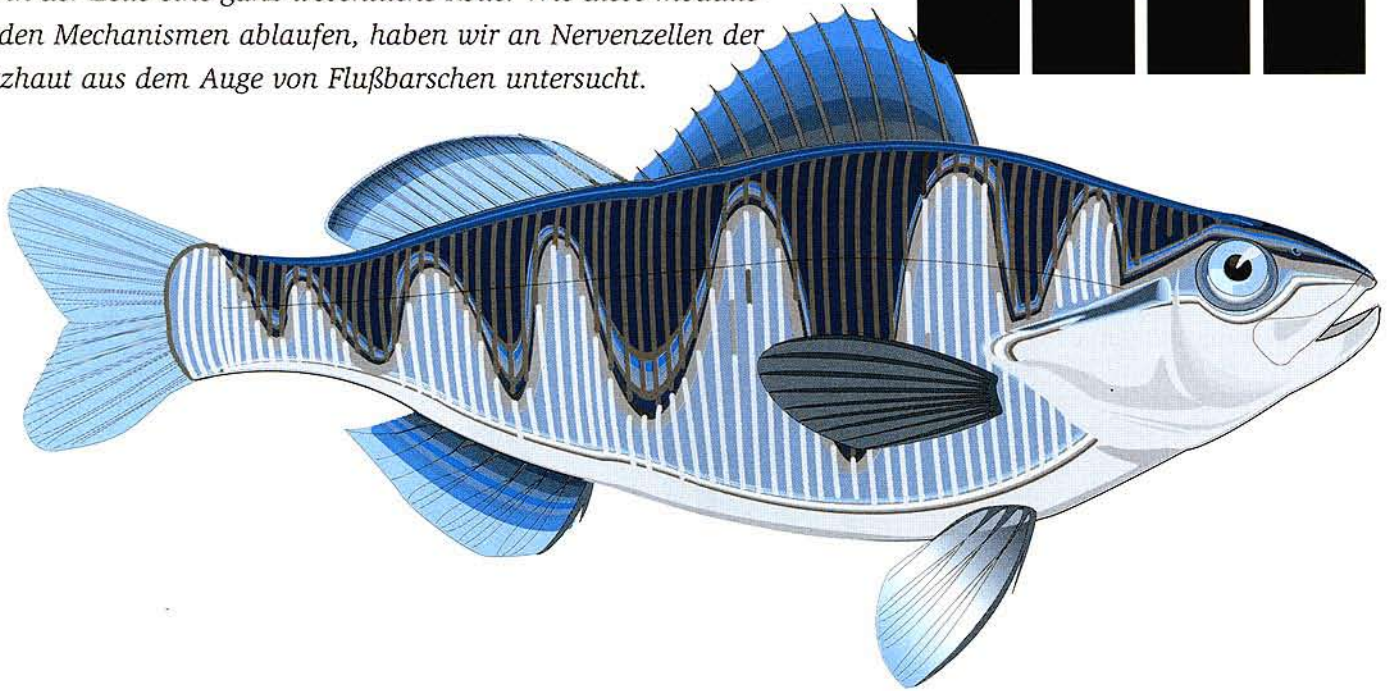
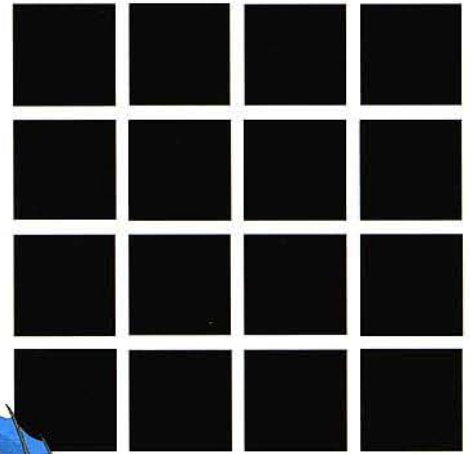


Nervenzellen tauschen Signale über elektrische oder chemische Synapsen aus. Die Signale werden an diesen Synapsen über verschiedene Ionenkanalproteine in der Zellmembran weitergeleitet. Die pharmakologischen und biophysikalischen Eigenschaften dieser Ionenkanäle bestimmen die Charakteristik der Signalübertragung. Eine der wesentlichen Erkenntnisse der letzten Jahre ist, daß die Eigenschaften dieser Ionenkanäle auf verschiedene Weise moduliert werden können. Dabei spielen Signalketten in der Zelle eine ganz wesentliche Rolle. Wie diese modulierenden Mechanismen ablaufen, haben wir an Nervenzellen der Netzhaut aus dem Auge von Flußbarschen untersucht.



Modulation der Signalverarbeitung in der Netzhaut

Wie die Eigenschaften von Nervenzellen an unterschiedliche Lichtverhältnisse angepaßt werden

Die Netzhaut des Auges gehört zu den am besten untersuchten Netzwerken des Nervensystems. Die vorliegenden Kenntnisse über Zelltypen, Transmitter und Verschaltung sind besonders umfangreich und modulatorische Mechanismen spielen eine besonders wichtige Rolle, weil es hier keine Blut-Hirnschranke gibt. Größere Botenstoffmoleküle können daher über das Blutkreislaufsystem direkt zu den Nervenzellen gelangen. Die Netzhaut ist nach ihrer Entwicklung als Bestandteil des Gehirns zu betrachten. Sie besteht aus meh-

reren Schichten von Nervenzellen, in denen schon viele Prozesse zur Signalverarbeitung stattfinden, bevor die Informationen über den Sehnerven zu den eigentlichen Sehzentren im Zentralnervensystem weitergeleitet werden. Die eintreffenden Lichtreize werden von den Lichtsinneszellen in ein elektrisches Signal umgewandelt, wie wir es in einem vorhergehenden Artikel (Spiegel der Forschung 2/1996) beschrieben haben. Die elektrischen Signale kontrollieren die Ausschüttung des Transmitters Glutamat durch die Lichtsinneszellen. Dabei wird die in

Dunkelheit hohe Transmitterausschüttung bei Belichtung der Sinneszelle reduziert. Das Glutamat steuert dann die elektrischen Signale in den nachgeordneten Nervenzellen. Diese Signale werden von den Lichtsinneszellen über die Bipolarzellen zu den Ganglienzellen in der innersten Schicht der Netzhaut weitergeleitet und gelangen erst dann in die Sehzentren des Gehirns.

Die rezeptiven Felder in der Netzhaut

Die Verschaltung der Netzhaut ist in Abbildung 1 dargestellt. Das

Grundprinzip der Anordnung ist dabei die Verschaltung der Lichtsinneszellen zu rezeptiven Feldern. Eine Gruppe von benachbarten Lichtsinneszellen in der äußersten Zellschicht wird auf eine einzelne nachgeordneten Ganglienzelle in der innersten Schicht verschaltet. Die Signale der ca. 6 Millionen Zapfen für das Sehen am Tag und der ca. 120 Millionen Stäbchen für das Dämmerungssehen werden so über nur ca. 1 Million Nervenfasern weitergeleitet. Dabei sind Zapfen und Stäbchen auf unterschiedlichen Wegen mit den gleichen Ganglienzellen verbunden, die so in beiden Beleuchtungssituationen benutzt werden können.

Die Lichtsinneszellen sind so auf die nachgeordneten Ganglienzellen verschaltet, daß die Sinneszellen im Zentrum des rezeptiven Feldes gegensinnig zu den Zellen am Rand des rezeptiven Feldes wirken. Wird also eine Ganglienzelle durch Belichtung des Zentrums erregt, so wirken die Lichtsinneszellen am Rand ihres rezeptiven Feldes hemmend auf diese Ganglienzelle ein. Auch die umgekehrte Anordnung ist möglich. Das Antwortverhalten verschiedener retinaler Ganglienzellen wird in Abbildung 2 gezeigt. Diese Verschaltung der Nervenzellen hat zur Folge, daß Kontrastgrenzen zwischen hellen und dunklen Bildbestandteilen besonders deutlich hervorgehoben werden. Dieser Effekt verursacht auch die im Titelbild gezeigte Gittertäuschung: die Kreuzungspunkte der weißen Gitterlinien erscheinen dunkler als die weißen Gitterlinien selbst, weil die Ganglienzellen hier durch die hellen Stellen in der Umgebung stärker gehemmt werden. Wenn die Kreuzungspunkte direkt fixiert werden, verschwinden die dunkleren Schatten jedoch, weil die Ganglienzellen an der Stelle des schärfsten Sehvermögens, in der sogenannten *Fovea centralis* in der Netzhaut nicht in dieser Form verschaltet sind. An dieser Stelle werden die eingehenden Lichtsignale genauer ausgewertet und nur eine einzige oder sehr wenige Lichtsinneszellen sind mit einer nachgeordneten Ganglienzelle verbunden. Die Kontrastverstärkung erfolgt durch Nervenzellen, die Querverschaltungen mit Lichtsin-

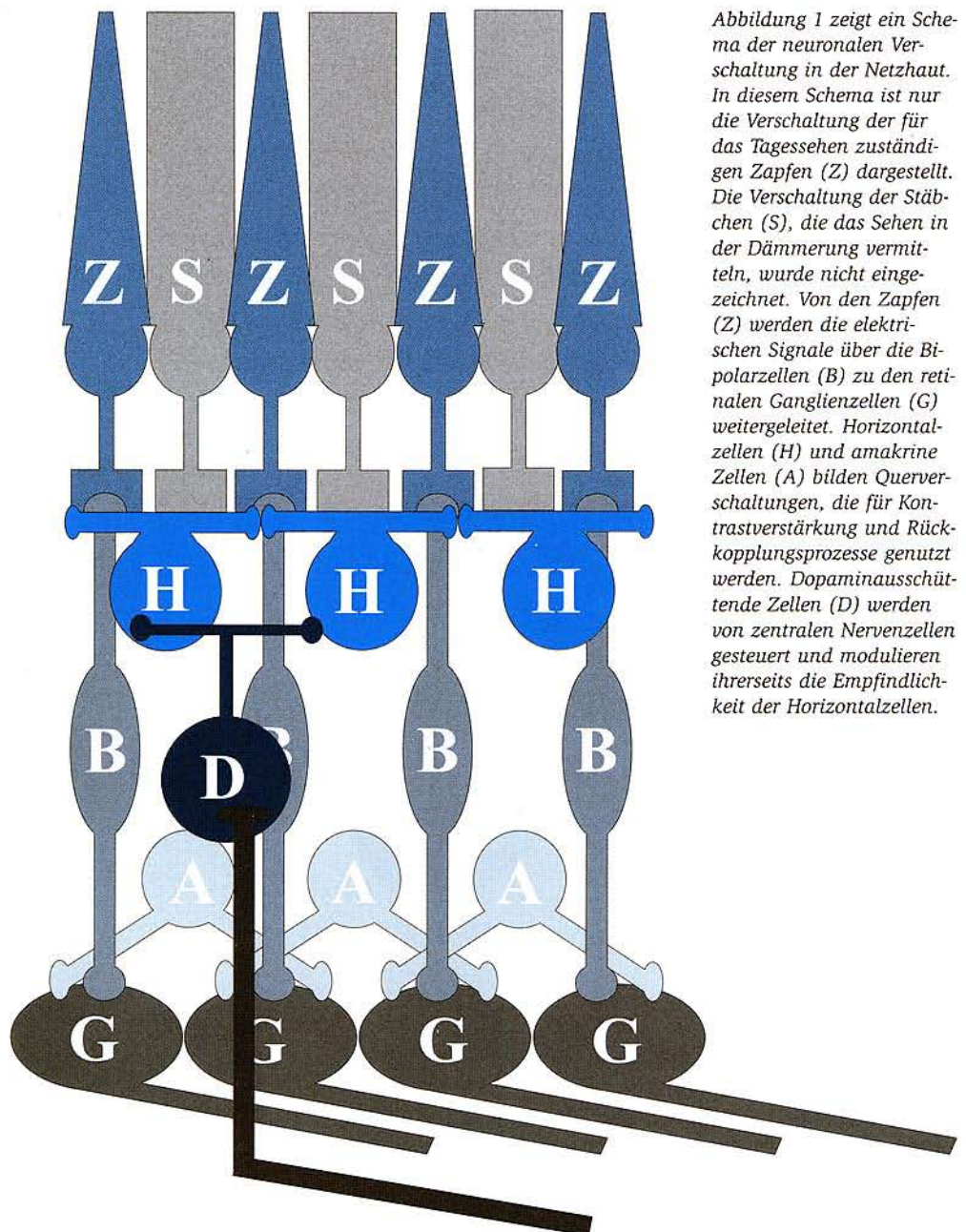


Abbildung 1 zeigt ein Schema der neuronalen Verschaltung in der Netzhaut. In diesem Schema ist nur die Verschaltung der für das Tagessehen zuständigen Zapfen (Z) dargestellt. Die Verschaltung der Stäbchen (S), die das Sehen in der Dämmerung vermitteln, wurde nicht eingezeichnet. Von den Zapfen (Z) werden die elektrischen Signale über die Bipolarzellen (B) zu den retinalen Ganglienzellen (G) weitergeleitet. Horizontale Zellen (H) und amakrine Zellen (A) bilden Querverschaltungen, die für Kontrastverstärkung und Rückkopplungsprozesse genutzt werden. Dopaminausschüttende Zellen (D) werden von zentralen Nervenzellen gesteuert und modulieren ihrerseits die Empfindlichkeit der Horizontalzellen.

neszellen, Bipolarzellen und Ganglienzellen bilden. Zu diesen gehören die direkt hinter den Lichtsinneszellen liegenden Horizontalzellen und die weiter hinten liegenden amakrinen Zellen.

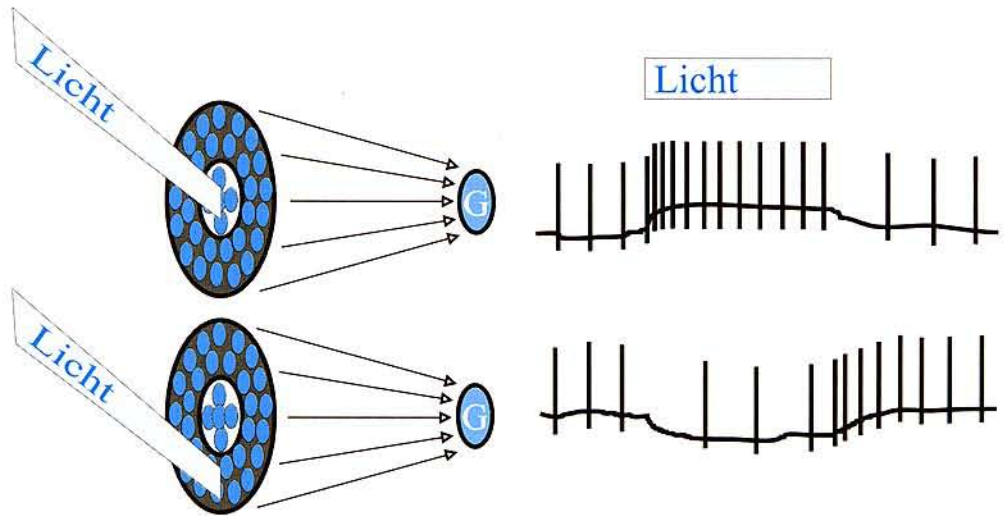
Dopamin steuert die Empfindlichkeit von Ionenkanälen

Unser Auge kann sehr schwache Lichtreize wahrnehmen. Diese können aus nur wenigen Lichtquanten – das ist die physikalisch kleinstmögliche Lichtmenge – bestehen. Das Auge kann aber auch 100 milliardenfach höhere Lichtintensitäten verarbeiten. Es ist, als ob man sowohl einzelne Sandkörner, als auch einen ganzen Lastwagen voller Sand auf der gleichen Waage auswiegen

könnte. Um diesen großen Umfang der Anpassung an verschiedene Lichtintensitäten zu ermöglichen, besitzen nicht nur die Lichtsinneszellen selbst Anpassungsmechanismen, sondern solche Mechanismen findet man auch bei den nachgeordneten Nervenzellen in der Netzhaut. Wie diese Mechanismen in einzelnen Nervenzellen funktionieren, läßt sich an isolierten Horizontalzellen (Abbildung 4) aus der Netzhaut von Fischen besonders gut untersuchen. Die Horizontalzellen erhalten Signale von Lichtsinneszellen und wirken ihrerseits hemmend auf benachbarte Lichtsinneszellen und Bipolarzellen ein. Auf diese

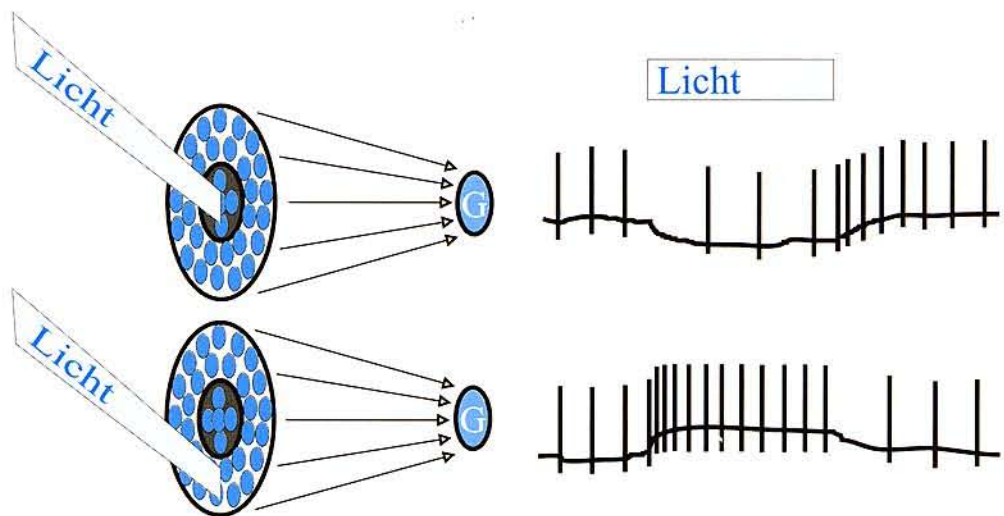
Abbildung 2: Der obere Teil der Abbildung zeigt die elektrischen Antworten einer On-Zentrum-Ganglienzelle. Bei Belichtung des Zentrums wird die Zelle erregt und sendet Aktionspotentiale in schneller Folge. Bei Belichtung des Umfeldes wird diese Zelle gehemmt. Die im unteren Teil der Abbildung gezeigten Antworten einer Off-Zentrum-Zelle sind genau entgegengesetzt.

Antworten einer On-Zentrum Ganglienzelle



Weise tragen sie zur Kontrastverschärfung bei. Bei zunehmender Dunkelheit wird dieses hemmende System abgeschaltet und der Einfluß der peripheren Anteile der rezeptiven Felder wird reduziert. Durch das Abschalten der hemmenden Nervenzellen wird die Erregbarkeit der anderen Nervenzellen gesteigert, so daß die Lichtempfindlichkeit des Systems insgesamt zunimmt. Das geschieht aber zu Lasten des räumlichen Auflösungsvermögens, und wir können daher bei sehr schwachem Dämmerungslicht Umrisse nur verschwommen wahrnehmen. Lesen zum Beispiel erfordert eine bestimmte Helligkeit und ist bei zu schwachem Licht nicht möglich.

Antworten einer Off-Zentrum Ganglienzelle



Diese Modulation der Signalverarbeitung in Horizontalzellen haben wir auf der Ebene einzelner Zellen studiert. Der entscheidende Botenstoff für die Vermittlung dieser Modulation in der Netzhaut ist das Dopamin. Es gibt dopaminhaltige Nervenzellen in der Netzhaut, deren Aktivität lichtabhängig vom Zentralnervensystem gesteuert wird. Diese dopaminausschüttenden Zellen haben synaptische Verbindungen zu den Horizontalzellen. So können die Eigenschaften der Horizontalzellen über eine lichtabhängige Dopaminausschüttung moduliert werden. Die sehr komplexen biochemischen und enzymatischen Reaktionen, die dabei in der Horizontalzelle ausgelöst werden, sind in Abbildung 3 auf der nächsten Seite dargestellt. Der Neuromodulator Dopamin koppelt an spezifische Rezeptoren an der Zellaußenseite an, die als D1-Rezeptor bezeichnet werden. Über die vermittelnden G-Proteine wird dann die Aktivität weiterer Enzyme gesteu-

ert, die verschiedene intrazelluläre Botenstoffe herstellen können. Wir kennen vier besonders wichtige intrazelluläre Botenstoffe, nämlich cAMP, cGMP, IP3 und DAG. Alle vier intrazellulären Botenstoffe kommen in den Horizontalzellen vor und erfüllen unterschiedliche Aufgaben.

Die Adenylatcyklase katalysiert die Bildung des cAMP und bei erhöhtem cAMP-Angebot in der Zelle kann eine Proteinkinase A (PKA) die Ionenkanäle in der Zellmembran phosphorylieren und so in ihren Eigenschaften modulieren. Zwei verschiedene Kanaltypen werden auf diese Weise modifiziert: glutamatabhängige Ionenkanäle und Gap-Junction-Kanäle.

Die Horizontalzellen sind über chemische Synapsen mit den Lichtsinneszellen verbunden. In diesen Synapsen wird die Aminosäure Glutamat als Transmitter ausgeschüttet.

JUSTUS-LIEBIG-



Dr. Karl-Friedrich Schmidt

Physiologisches Institut
 Aulweg 129
 35392 Gießen
 Telefon (0641) 99-47255
 Telefax (0641) 99-47239
 Karl.F.Schmidt@physiologie.med.uni-giessen.de



Karl-Friedrich Schmidt hat in Braunschweig studiert und ist Hochschuldozent am Physiologischen Institut der Universität Gießen. Er wurde 1986 am Fachbereich Biologie in Gießen promoviert und habilitierte sich 1993 für Physiologie. Sein wissenschaftliches Arbeitsgebiet ist die elektrophysiologische Untersuchung von Transduktions- und Signalverarbeitungsprozessen in der Netzhaut. Die Untersuchungen zur Modulation der Signalverarbeitung wurden während eines Aufenthalts an der Harvard-University in den USA begonnen. Auf diesen Aufenthalt gehen auch die Kontakte zu Prof. McMahon zurück.

Glutamat ist auch aus anderen Bereichen des Gehirns als wichtiger erregender Botenstoff für die Signalübertragung zwischen den Nervenzellen bekannt. Die Horizontalzellen in der Netzhaut besitzen dazu passende Ionenkanäle, die durch das Ankoppeln von Glutamat geöffnet werden. Diese Ionenkanäle werden empfindlicher für den Transmitter Glutamat, wenn sie nach einer Behandlung mit Dopamin über die oben beschriebene Enzymkaskade phosphoryliert worden sind. Es stellt sich die Frage, auf welchen molekularen Grundlagen die veränderte Glutamatantwort beruht. Dazu haben wir elektrophysiologische Untersuchungen mit der Patch-clamp-Methode durchgeführt, und die glutamat-abhängigen Ströme vor und nach einer Dopaminbehandlung miteinander verglichen. Solche Messungen wurden sowohl an ganzen Zellen, als auch an ausgestanzten Membranstückchen durchgeführt. Die Zugabe des Glutamats erfolgte dabei innerhalb von Millisekunden mit einem ultraschnellen Applikationssystem, das piezoelektrisch gesteuert wurde. Die Ergebnisse dieser Experimente sind in Abbildung 5 dargestellt. Wenn Glutamat ohne Dopamin zugegeben wurde, enthielt die Antwort eine schnell aktivierbare und ebenso schnell inaktivierende Komponente und eine andauernde Komponente. Nach Inkubation mit Dopamin wurde eine veränderte Antwort registriert. Die schnell desensibilisierende Komponente wurde durch einen erhöhten andauernden Strom ersetzt. Wenn anstelle des natürlichen Transmitters Glutamat künstliche Agonisten verwendet wurden, ergab sich ein etwas anderes Bild. Wir konnten somit erstmals zeigen, daß die zunehmende Empfindlichkeit der Glutamatrezeptoren bei einer Dopaminbehandlung darauf beruht, daß die Ionenkanäle nicht mehr so schnell desensibilisieren. An isolierten Membranstückchen trat der beschriebene Effekt nur auf, wenn dieses Membranstückchen von einer intakten Zelle stammte, die mit Dopamin behandelt worden ist. Eine Behandlung des isolierten Membranstückchens mit Dopamin hatte keinerlei Effekt. Dieses Ergebnis zeigt, daß keine direkte Wirkung des Dopamins auf die

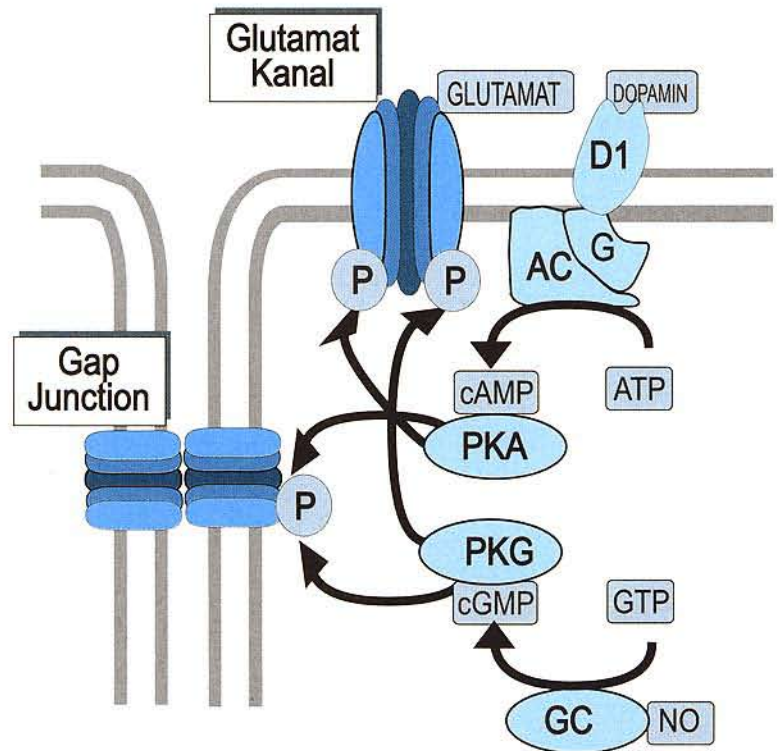


Abbildung 3 zeigt schematisch, welche vielfältigen modulatorischen Prozesse in einer Horizontalzelle ablaufen können. Der Gap-Junction-Kanal stellt die elektrische Verbindung zu benachbarten Horizontalzellen her. Er wird durch die zwei verschiedenen Proteinkinasen PKA oder PKG phosphoryliert und dadurch in beiden Fällen geschlossen. Die PKA wird durch den intrazellulären Botenstoff cAMP gesteuert. Das cAMP wird von dem Enzym Adenylatzyclase (AC) produziert, das nach dem Andocken des Neuromodulators Dopamin an einen Dopaminrezeptor vom D1-Typ über ein G-Protein aktiviert wird. Die zweite Proteinkinase PKG wird durch cGMP gesteuert, das durch das Enzym Guanylatzyclase hergestellt wird. Diese Guanylatzyclase wird durch den gasförmigen Botenstoff Stickoxid (NO) reguliert. Auch der glutamat-abhängige Ionenkanal kann auf den beiden eben beschriebenen Wegen phosphoryliert werden. Diese Phosphorylierungen haben aber bei diesem Kanal eine ganz andere Wirkung: Sie modulieren die Empfindlichkeit für den Botenstoff Glutamat in entgegengesetzter Weise. Die Phosphorylierung durch PKA macht den Kanal empfindlicher für Glutamat, die Phosphorylierung durch PKG macht den Kanal dagegen unempfindlicher für diesen Botenstoff.

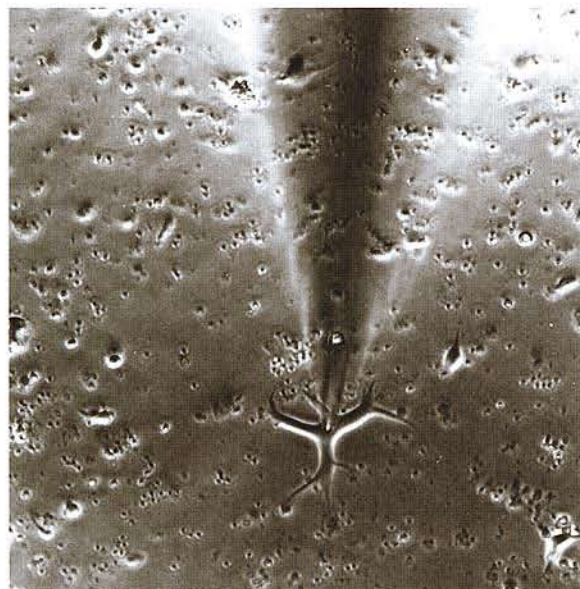


Abbildung 4: Eine isolierte Horizontalzelle aus der Retina des Flußbarschs mit Patch-clamp-Elektrode



Douglas G. McMahon wurde an der University of Virginia 1986 promoviert und arbeitete anschließend mehrere Jahre an der Harvard University. Er wurde 1990 als Professor an die University of Kentucky berufen und interessiert sich für die molekularen Mechanismen der Adaptation im neuronalen Netzwerk der Retina. Im letzten Jahr war er für einige Monate als Gastwissenschaftler am Physiologischen Institut der Universität Gießen tätig.

Glutamatrezeptoren vorliegt, sondern daß die dopamin-abhängige Modulation über eine intrazelluläre Signalkaskade vermittelt wird. Im Normalzustand nimmt die Empfindlichkeit der Ionenkanäle nach dem Ankoppeln von Glutamatmolekülen – wie beschrieben – innerhalb weniger Millisekunden ab, und der Ionenkanal schließt sich wieder, auch wenn noch Glutamat vorhanden ist. Nach einer Behandlung der Zelle mit Dopamin behält der Ionenkanal dagegen seine Empfindlichkeit für den Transmitter über einen längeren Zeitraum bei. Auf diese Weise kann die Effektivität der räumlichen Hemmung bei zunehmender Helligkeit verbessert werden. So wird eine bessere Kontrastauflösung und gleichzeitig die Einstellung des gesamten Systems auf helleres Licht erreicht.

Der zweite Kanaltyp, der durch die dopaminabhängige Signalkette beeinflusst wird, ist der Gap-Junction-Kanal in den elektrischen Synapsen. Durch diese Gap-Junction-Kanäle sind benachbarte Horizontalzellen untereinander

elektrisch gekoppelt. Dieser Gap-Junction-Kanal wird durch die von Dopamin gesteuerte Phosphorylierung geschlossen. Damit wird die elektrische Vernetzung der Horizontalzellen untereinander unterbrochen. Die einzelnen Horizontalzellen sind elektrisch isoliert, und die hemmenden Signale können sich nicht mehr über einen größeren räumlichen Bereich der Netzhaut ausbreiten. Faßt man die Wirkungen des Dopamins auf die beiden verschiedenen Kanaltypen zusammen, so ergibt sich, daß die räumliche Hemmung in der Netzhaut mit höherer Effektivität, über einen engeren Bereich und so mit höherer Präzision erfolgt.

In den Horizontalzellen kommen auch noch andere Signalketten vor

Neben der bisher beschriebenen cAMP-abhängigen Signalkette gibt es in den Horizontalzellen auch noch andere Signalketten, welche die Informationsübertragung beeinflussen. Dopamin wirkt auch noch über eine zweite Signalkette, bei der Inositol-3-Phosphat und Diacyl-

glycerol als Botenstoffe verwendet werden. Über diesen Weg kann die morphologische Ausprägung der Synapsen selbst beeinflusst werden. Auch auf diesem Weg wird die Signalverarbeitung an unterschiedliche Helligkeiten angepaßt.

Ein besonders ausgefallener Botenstoff, der in zahlreichen Zelltypen – unter anderem auch im Blutgefäßsystem – eine wichtige Rolle spielt, ist das gasförmige Molekül Stickoxid. Dieser Botenstoff hat in den letzten Jahren das Interesse zahlreicher Wissenschaftler gefunden. Wir konnten vor einigen Jahren zeigen, daß Stickoxid auch die elektrischen Antworten der Lichtsinneszelle beeinflusst. Zur Zeit untersuchen wir die Auswirkungen dieses Botenstoffes auf die Horizontalzellen. In den Horizontalzellen aktiviert Stickoxid die dritte Signalkette, indem es die Synthese des intrazellulären Botenstoffes cGMP anregt. Das cGMP wirkt ebenfalls durch eine Phosphorylierung modulatorisch auf die beiden oben schon beschriebenen Ionenkanaltypen in der Horizontalzellmembran ein. In-

Glutamat

Vor einer Dopaminapplikation



Nach einer Dopaminapplikation



Abbildung 5 zeigt elektrische Signale, die von einem aus einer Horizontalzelle ausgestanzten Membranfleck bei sehr schneller Applikation des Botenstoffes Glutamat abgeleitet werden können. Die obere Spur wurde an einem Membranstück registriert, das vor einer Dopaminbehandlung ausgestanzt wurde, die untere Spur stammt von einem Membranstück, das nach einer Dopaminbehandlung von der gleichen Zelle gewonnen wurde. Der schnell de-sensitisierende Strom wird durch einen persistierenden Membranstrom ersetzt.

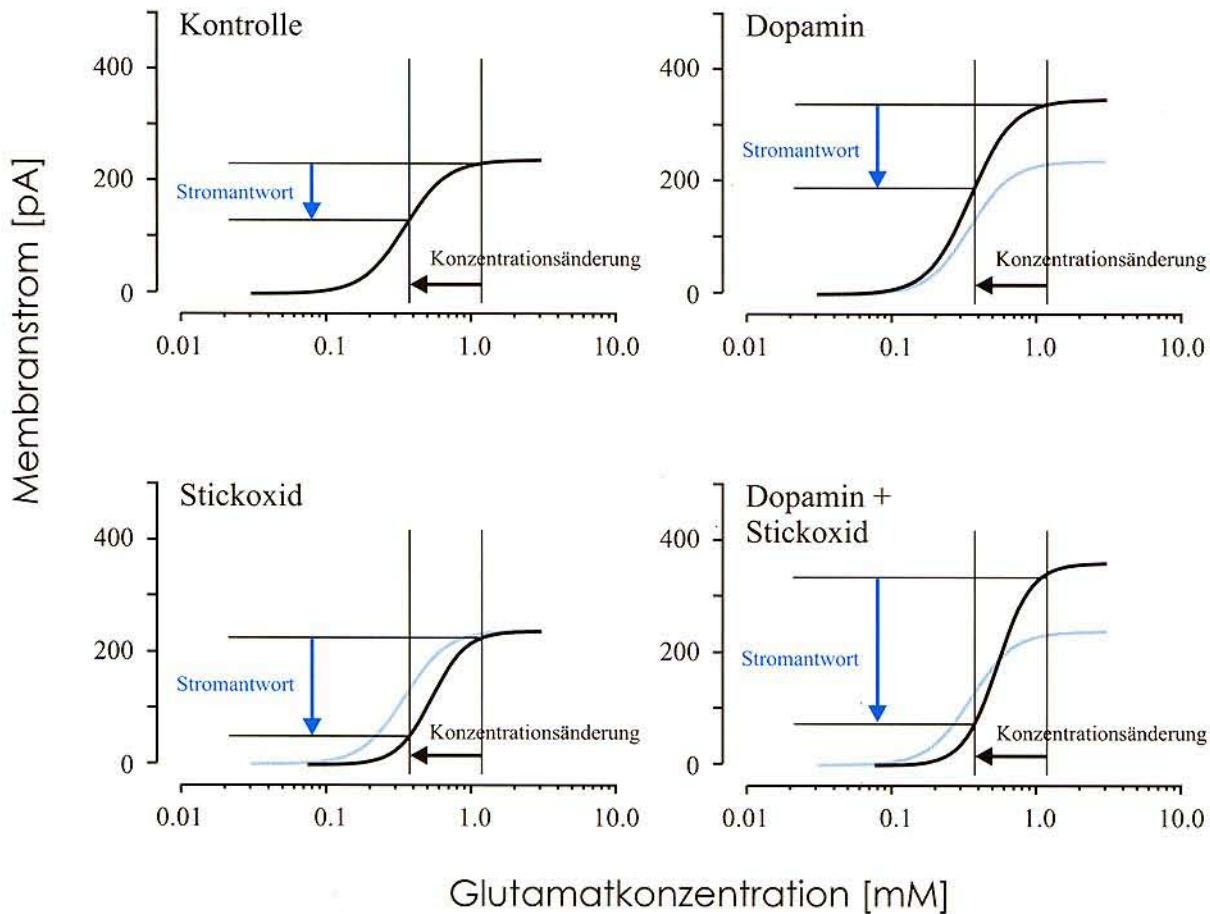


Abbildung 6 zeigt wie die lichtabhängigen Membranstromantworten durch die dopamin- und stickoxidabhängigen Modulationen der Dosis-Wirkungskurven der glutamatabhängigen Ströme verändert werden. Dargestellt ist jeweils eine Stromantwort (blauer Pfeil) auf eine gleichbleibende Abnahme der Glutamatkonzentration (schwarzer Pfeil). Dopamin steigert die Empfindlichkeit der Rezeptoren und erhöht den Maximalstrom, Stickoxid macht die Rezeptoren unempfindlicher und verschiebt die Dosis-Wirkungskurve zu höheren Glutamatkonzentrationen. Im rechten unteren Diagramm wird gezeigt, wie sich die beiden verschiedenen Modulationen ergänzen und bei Abnahme der Transmitterkonzentration eine höhere Amplitude der elektrischen Lichtantwort verursachen.

interessanterweise scheinen die von den Botenstoffen cGMP und cAMP ausgelösten Phosphorylierungen der Kanalproteine teilweise unterschiedlich zu wirken. Bei den Gap-Junction-Kanälen in den elektrischen Synapsen zwischen benachbarten Horizontalzellen bewirken die beiden Botenstoffe das gleiche: Die Kanäle werden durch die Phosphorylierung über cAMP und über cGMP geschlossen. Bei den glutamat-abhängigen Kanälen dagegen scheinen aber die beiden Botenstoffe auf den ersten Blick eine entgegengesetzte Wirkung zu haben. Während das cAMP die Empfindlichkeit der Kanäle für den Transmitter Glutamat erhöht, setzt das cGMP die Empfindlichkeit der Ionenkanäle für Glutamat herab. Betrachtet man aber die durch Dopamin und Stickoxid verursachten Veränderungen der Dosis-Wirkungskurve im Zusammenhang, so zeigt sich, daß sich die beiden unterschiedlichen Modulationsmechanismen bei der durch Belichtung reduzierten Transmitter-

ausschüttung an der Photorezeptor-Synapse gegenseitig ergänzen können und zusammen eine vergrößerte Amplitude der Lichtantwort bewirken (Abbildung 6).

Nervenzellen sind keine einfachen Schaltelemente

Die unterschiedlichen Möglichkeiten der Modulation von Ionenkanälen ermöglichen der Horizontalzelle eine große Vielfalt an Anpassungsmöglichkeiten in unterschiedlichen Beleuchtungssituationen, und sie zeigen, daß eine Nervenzelle keinesfalls als einfaches Schaltelement des Nervensystems betrachtet werden kann. Die verschiedenen biochemischen Stoffwechselreaktionen in Nervenzellen können auch im Dienst der Informationsverarbeitung stehen und zur analogen Verarbeitung eintreffender Signale mitbenutzt werden. In diesem Sinn ist bereits eine einzelne Nervenzelle ein komplexes informationsverarbeitendes System und bildet in der Verknüpfung mit anderen Nervenzel-

len das Grundelement für die erstaunlichen Leistungen des Zentralnervensystems. Diese enge Verbindung von biochemischen und elektrischen Vorgängen in der Nervenzelle könnte auch mit erklären, auf welche Art und Weise unterschiedliche körperliche Zustände unser Denken und Fühlen beeinflussen können. •

LITERATUR

- A.G. Knapp, K.-F. Schmidt and J.E. Dowling (1990) Dopamine increases the opening frequency of ion channels gated by excitatory amino acids in retinal horizontal cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 87: 767 - 771
- K.-F. Schmidt, M. Kruse and H. Hatt (1994) Dopamine alters ionotropic glutamate receptor desensitization in retinal horizontal cells of the perch (*Perca fluviatilis*). *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 91: 8288-8291
- D.G. McMahon and K.-F. Schmidt (1998) Receptor mechanisms of nitric oxide at the first visual synapse (im Druck)
- K.-F. Schmidt und G.N. Nöhl (1996) Signalverarbeitung in Lichtsinneszellen. *Spiegel der Forschung* 2/1996: 31-36