

University of Groningen

Photoreceptor sodium pump and spiking neurons in the first optic chiasm of the blowfly

Jansonius, Nomdo Marten

IMPORTANT NOTE: You are advised to consult the publisher's version (publisher's PDF) if you wish to cite from it. Please check the document version below.

Document Version

Publisher's PDF, also known as Version of record

Publication date:

1993

[Link to publication in University of Groningen/UMCG research database](#)

Citation for published version (APA):

Jansonius, N. M. (1993). *Photoreceptor sodium pump and spiking neurons in the first optic chiasm of the blowfly*. s.n.

Copyright

Other than for strictly personal use, it is not permitted to download or to forward/distribute the text or part of it without the consent of the author(s) and/or copyright holder(s), unless the work is under an open content license (like Creative Commons).

The publication may also be distributed here under the terms of Article 25fa of the Dutch Copyright Act, indicated by the "Taverne" license. More information can be found on the University of Groningen website: <https://www.rug.nl/library/open-access/self-archiving-pure/taverne-amendment>.

Take-down policy

If you believe that this document breaches copyright please contact us providing details, and we will remove access to the work immediately and investigate your claim.

Downloaded from the University of Groningen/UMCG research database (Pure): <http://www.rug.nl/research/portal>. For technical reasons the number of authors shown on this cover page is limited to 10 maximum.

SAMENVATTING

Dit proefschrift beschrijft een tweeledig elektrofysiologisch onderzoek verricht aan het visuele systeem van de bromvlieg, en wel aan de eigenschappen van zenuwcellen in de eerste drie cellagen van het oog. Het onderzoek past in de traditie van de Groningse biofysicagroep. Deze groep bestudeert al meer dan 30 jaar zeer uiteenlopende, fundamentele aspecten van het zien met natuurkundige onderzoekstechnieken, voornamelijk in het visuele systeem van de bromvlieg *Calliphora vicina*.

Het visuele systeem (oog en bijbehorend deel van de hersenen) is een van de zintuigen waarmee een organisme informatie verzamelt over zijn omgeving; informatie die onmisbaar is voor leven en overleven. Het visuele systeem van de mens is zeer hoog ontwikkeld en daarom een boeiend onderwerp voor onderzoek. Maar juist de complexiteit die dit systeem zo boeiend maakt, maakt het tevens ontoegankelijk voor onderzoek. Ook ethische redenen spelen hierbij een rol: slechts een beperkt aantal experimentele technieken kunnen toegepast worden (psychofysica, ERG, VEP, etc). Daarom nemen vele onderzoekers hun toevlucht tot eenvoudiger visuele systemen. Dit is mogelijk omdat de meeste basisprincipes van het zien in essentie gelijk zijn voor lagere en hogere diersoorten. Vooral het visuele systeem van insecten blijkt zeer geschikt voor onderzoek naar deze basisprincipes. Elektrofysiologisch onderzoek aan het zenuwstelsel van insecten bijvoorbeeld is mogelijk in het intacte dier zonder enige vorm van anaesthesie. Daarnaast is het zenuwstelsel zeer regelmatig van opbouw en bevat het een relatief gering aantal neuronen. Toch zijn de meeste visuele functies bij insecten verrassend goed ontwikkeld en doen qua prestatie vaak niet onder voor die van de mens. Enkele aspecten van het zien die bestudeerd kunnen worden met onderzoek aan het oog van insecten zijn: optica, visuele pigmenten, fototransductie, permeabiliteitsveranderingen van de fotoreceptor onder invloed van belichting, retinale homeostase, fotoreceptormetabolisme, spatiotemporele verwerking van visuele informatie, bewegingszien en kleurensien.

Het proefschrift begint in hoofdstuk 1 met een beschrijving van het visuele systeem van de vlieg, het voor dit onderzoek gebruikte proefdier. Een vlieg heeft twee facetogen en elk facet oog bevat ongeveer 5000 facetlenzen. Direct onder deze lenzen ligt de retina. De facetlenzen beelden de omgeving af op visuele zintuigcellen in de retina. Deze zintuigcellen absorberen het licht en zetten het vervolgens om in een zenuwsignaal (een verandering van de membraanpotentiaal van de cel). Dit signaal wordt verder verwerkt in de opeenvolgende optische ganglia (schakelstations van zenuwcellen).

Het eerste deel van het proefschrift, hoofdstuk 2, betreft een onderzoek aan de natrium-kaliumpomp in de visuele zintuigcel. In de visuele zintuigcel van de vlieg is, zoals in alle dierlijke cellen, de natriumconcentratie in de cel lager dan buiten de cel en de kaliumconcentratie hoger. Deze concentratieverschillen worden onderhouden door de natrium-kaliumpomp. Deze pomp is een eiwit dat ingebouwd is in de celmembraan en dat als functie heeft natriumionen de cel uit te pompen en kaliumionen de cel in. Het is een elektrogene pomp, omdat hij steeds drie natriumionen uitwisselt tegen twee kaliumionen en dus netto lading transporteert. Omdat de permeabiliteit van de celmembraan van de visuele zintuigcel in het donker groter is voor kaliumionen dan voor natriumionen staat er in het donker een spanning van ongeveer -60 mV over het membraan. Belichting van de cel veroorzaakt een verhoging van de permeabiliteit voor zowel natrium- als kaliumionen met als netto resultaat een depolarisatie van de cel.

De experimenten beschreven in hoofdstuk 2 zijn uitgevoerd met behulp van een glazen micro-elektrode die in de visuele zintuigcel van de bromvlieg geprikt wordt. Met deze elektrode worden de membraanpotentiaal en de weerstand van de celmembraan gemeten onder verschillende belichtingsomstandigheden. Aan de hand van deze metingen wordt vervolgens met behulp van een elektrisch celmodel de permeabiliteit voor natrium- en kaliumionen berekend, evenals de activiteit van de natrium-kaliumpomp. Door de kwantitatieve opzet van de metingen en de modelberekeningen blijkt het mogelijk om via de

elektrische parameters van de cel een groot aantal eigenschappen van de natrium-kaliumpomp in de visuele zintuigcel te bepalen.

Het onderzoek start met een analyse van de *afterhyperpolarization* (AHP) van de visuele zintuigcel. De AHP is een tijdelijke verlaging (hyperpolarisatie) van de membraanpotentialiaal van de cel die optreedt na de (depolariserende) respons op een korte lichtflits. In verscheidene ongewervelde dieren is aangetoond dat de AHP veroorzaakt wordt door de elektrogene natrium-kaliumpomp die na de flits natriumionen de cel uitpompt die er tijdens de flits ingestroomd zijn. Het doel van het hier gepresenteerde onderzoek is om na te gaan in hoeverre ook in de vlieg de natrium-kaliumpomp de oorzaak is van de AHP. Dit is waarschijnlijk slechts gedeeltelijk het geval; ongeveer de helft van de AHP lijkt veroorzaakt te worden door een tijdelijke stijging van de intracellulaire natriumconcentratie.

Hoofdstuk 2 gaat verder met het bepalen van de pompstroom en het zuurstofverbruik van de pomp in het donker en in het licht, en het aantal pompmoleculen per cel. Uit het onderzoek blijkt dat de celmembraan vrijwel volledig bezet is door pompmoleculen en dat deze moleculen in de lichtgeadapteerde cel op maximale snelheid draaien. Verder blijkt dat de pomp niet alleen van belang is voor de homeostase, maar door zijn elektrogeneciteit ook de membraanpotentialiaal sterk beïnvloedt en daardoor een rol speelt bij de codering van visuele stimuli door de zintuigcel.

Het tweede deel van dit proefschrift, hoofdstuk 3 t/m 6, gaat over de lamina, het eerste optische ganglion dat direct tegen de retina aan ligt. In de lamina ligt achter iedere facetlens een identieke groep zenuwcellen, een neuro-ommatidium genaamd. Het neuro-ommatidium bevat visuele neuronen van de tweede en derde orde. Axonen (uitlopers) van deze neuronen vormen samen een vezelbundel, het eerste optische chiasma, dat het oog (facetlensen, retina en lamina) verbindt met de ipsilaterale visuele hersenen.

De anatomie van de lamina is tot in de kleinste details bekend. Ook de fysiologie van de grootste neuronen in de lamina is nauwkeurig in kaart gebracht. Van twee afferente laminaneuronen (L4 en L5 genaamd) zijn de

eigenschappen echter nog zo goed als onbekend, omdat deze cellen door hun geringe afmetingen ontoegankelijk zijn voor intracellulair elektrofysiologisch onderzoek.

Ruim 20 jaar geleden ontdekte Arnett (1971, 1972) met een extracellulaire elektrode neurale activiteit in de vorm van aktiepotentialen in het eerste optische chiasma van de vlieg *Phaenicia sericata*. Op basis van de respons op licht onderscheidde Arnett een *on-off unit* en een *sustaining unit*. De *on-off unit* reageerde door middel van enkele aktiepotentialen alleen op het aan- en uitgaan van licht, terwijl de *sustaining unit* aktiepotentialen bleef genereren zolang het licht aan was. Momenteel neemt men aan dat de door Arnett beschreven *on-off* en *sustaining* respons afkomstig zijn van axonen van de laminaneuronen L4 en L5, hoewel hiervoor tot op heden het definitieve bewijs door middel van kleuring (markering van de cel via een intracellulaire elektrode) ontbreekt.

Het doel van het hier gepresenteerde onderzoek is om het bestaan van deze units in de vlieg te bevestigen en om de spatiotemporele eigenschappen ervan te inventariseren.

Om te beginnen toont hoofdstuk 3 extracellulaire afleidingen die gedaan zijn met behulp van een wolframelektrode in het eerste optische chiasma van de bromvlieg *Calliphora vicina*. Ook deze vlieg blijkt een *on-off* en een *sustaining unit* te hebben. Hoofdstuk 3 gaat verder met een beschrijving van de temporele eigenschappen van de *on-off unit*. *On-off* units hebben een opvallend slecht temporeel oplossend vermogen in vergelijking tot de visuele zintuigcel. Bij belichting met sinusvormig gemoduleerd licht reageert de unit maximaal bij een frequentie van 5 Hz, terwijl bij 14 Hz de respons reeds gehalveerd is. Voor de visuele zintuigcel ligt 50 % van de maximale respons voor dezelfde luminantie bij 50 Hz. Naast dit zeer matig temporeel oplossend vermogen vertoont de *on-off unit* een snelle temporele adaptatie. Met dit fenomeen wordt adaptatie aan een korte reeks van lichtflitsjes bedoeld. Snelle temporele adaptatie treedt op bij intervallen tussen de flitsen van 100 ms en korter. Daarnaast heeft de *on-off unit* een slechte contrastgevoeligheid. De unit geeft geen respons op contrasten van minder dan 10 %.

Hoofdstuk 4 behandelt de spatiële eigenschappen van de on-off unit. De grootte van het receptieve veld wordt afgeschat met behulp van een bewegende rand. Het receptieve veld heeft een diameter van ongeveer 10 graden en is daarmee aanzienlijk groter dan dat van de visuele zintuigcel (ongeveer 2°). Het spatieel oplossend vermogen van de on-off unit wordt bepaald met behulp van bewegende spatiële sinuspatronen met een vaste temporele frequentie. Het spatieel oplossend vermogen van de on-off unit bedraagt ongeveer 2° (halfwaardebreedte van de lijnspreidfunctie) en is daarmee wel vergelijkbaar met dat van de visuele zintuigcel (deze spatiële resolutie komt overeen met een visus van ongeveer $1/60$). Het feit dat de on-off unit zo'n goed spatieel oplossend vermogen heeft, ondanks het grote receptieve veld, suggereert dat het receptieve veld is opgebouwd uit een aantal min of meer onafhankelijke subunits. Hierbij bepaalt de subunit het spatieel oplossend vermogen van de on-off unit en alle subunits samen vormen het receptieve veld. Spatiële interacties binnen het grote receptieve veld van de on-off unit worden onderzocht met behulp van een stimulus bestaande uit twee lichtbronnen op een onderlinge afstand van 5° . Er blijkt laterale inhibitie op te treden tussen de verschillende delen van het receptieve veld. Ook blijkt de snelle temporele adaptatie zoals beschreven in hoofdstuk 3 een lokaal proces te zijn dat onafhankelijk optreedt in de verschillende delen van het receptieve veld.

Hoofdstuk 5 beschrijft de spatiotemporele eigenschappen van de sustaining unit. De sustaining unit heeft een duidelijk beter temporeel oplossend vermogen dan de on-off unit, maar ook de sustaining unit blijft met een temporele resolutie van 25 Hz (50 % van de maximale respons) nog duidelijk achter bij de visuele zintuigcel. Het receptieve veld (gemeten met behulp van bewegende randen) en de lijnspreidfunctie (berekend uit de respons op bewegende spatiële sinuspatronen) van de sustaining unit hebben dezelfde breedte en vorm. Er is een centrale piek met een halfwaardebreedte van ongeveer 2° en een circulair inhibitiegebied op ca. 3° van het midden.

In hoofdstuk 6 tenslotte wordt een systeemanalytisch model afgeleid voor de on-off unit. Het model bevat vier componenten. Twee hiervan, een (dubbelfasige) gelijkrichter en een hoogdoorlaatfilter, volgen direct uit de

naamgevende eigenschappen van de on-off unit zoals beschreven door Arnett. De andere twee componenten, een laagdoorlaatfilter en een drempel, zijn gebaseerd op de temporele resultaten van hoofdstuk 3. Dit model laat zien dat de snelle temporele adaptatie geen onafhankelijk fenomeen is, maar veroorzaakt wordt door de vier bovengenoemde componenten.

Het hier gepresenteerde onderzoek is de eerste onafhankelijke bevestiging van het bestaan van spikende neuronen in het chiasma van de vlieg. Daarnaast verschaft het een aanzienlijke uitbreiding van de kennis van de spatiotemporele eigenschappen van deze cellen. Samen met de al bestaande kennis van de spatiotemporele eigenschappen van de overige afferente laminaneuronen is er nu een redelijk compleet beeld van de informatie die door het oog aan het centraal zenuwstelsel wordt aangeboden. Hierdoor levert het onderzoek twee belangrijke bijdragen aan het begrip van het functioneren van visuele systemen. Ten eerste verschaft het inzicht in de wijze waarop de eerste stappen van de visuele informatieverwerking in het oog zelf plaatsvinden. Ten tweede leert het welke parameters van visuele stimuli aan het centraal zenuwstelsel worden aangeboden en dus voor verdere informatieverwerking beschikbaar zijn. Een voorbeeld van zo'n centraal informatieverwerkingsproces is bewegingsdetectie, momenteel een zeer actief gebied van internationaal onderzoek.

De lamina bij insecten is het equivalent van een deel van de retina bij gewervelde dieren, en wel het deel dat proximaal van de staafjes en kegeltjes ligt. De on-off en de sustaining unit zijn daarbij de tegenhangers van de retinale ganglioncellen. Functioneel vertoont de on-off unit duidelijke gelijkenis met onder andere de \bar{X} cel in de paling, de 'on-off' cel in de kikker en de Y cel in de kat. Evenzo lijkt de sustaining unit bijvoorbeeld op de X cel in de paling, de 'maintained discharge' cel in de kikker en de X cel in de kat. Hiermee wordt nogmaals geïllustreerd dat de basisprincipes van het zien in essentie gelijk zijn voor lagere en hogere soorten. Onderzoek naar de on-off en de sustaining unit in de vlieg is derhalve behulpzaam bij het verkrijgen van inzicht in de algemene principes van informatieverwerking in visuele systemen.

