

# Peripheral ganglia and the eye : a connection tracing study

## Citation for published version (APA):

ten Tusscher, M. P. M. (1989). *Peripheral ganglia and the eye : a connection tracing study*. Rijksuniversiteit Limburg. <https://doi.org/10.26481/dis.19890922mt>

## Document status and date:

Published: 01/01/1989

## DOI:

[10.26481/dis.19890922mt](https://doi.org/10.26481/dis.19890922mt)

## Document Version:

Publisher's PDF, also known as Version of record

## Please check the document version of this publication:

- A submitted manuscript is the version of the article upon submission and before peer-review. There can be important differences between the submitted version and the official published version of record. People interested in the research are advised to contact the author for the final version of the publication, or visit the DOI to the publisher's website.
- The final author version and the galley proof are versions of the publication after peer review.
- The final published version features the final layout of the paper including the volume, issue and page numbers.

[Link to publication](#)

## General rights

Copyright and moral rights for the publications made accessible in the public portal are retained by the authors and/or other copyright owners and it is a condition of accessing publications that users recognise and abide by the legal requirements associated with these rights.

- Users may download and print one copy of any publication from the public portal for the purpose of private study or research.
- You may not further distribute the material or use it for any profit-making activity or commercial gain
- You may freely distribute the URL identifying the publication in the public portal.

If the publication is distributed under the terms of Article 25fa of the Dutch Copyright Act, indicated by the "Taverne" license above, please follow below link for the End User Agreement:

[www.umlib.nl/taverne-license](http://www.umlib.nl/taverne-license)

## Take down policy

If you believe that this document breaches copyright please contact us at:

[repository@maastrichtuniversity.nl](mailto:repository@maastrichtuniversity.nl)

providing details and we will investigate your claim.

## CHAPTER VII

### SUMMARY AND CONCLUSIONS



## SUMMARY AND CONCLUSIONS

Elements of the central and peripheral nervous system innervating the eyeball and in particular the anterior eye segment, are involved in the regulation of the intraocular pressure. The morphological and physiological literature concerning these nervous elements is summarized in Chapter I. Despite the large amount of data on the anterior eye segment innervation the concept of the anatomical organization is often insufficient as to understanding the outcome of physiological experiments. This frequent mismatch between anatomical and physiological data may be due to invalidity or incompleteness. As outlined in Chapter I many experiments suffer from the inability to identify the anatomical origin of individual nerve fibres. The intermingling of peripheral nerve fibres within the peripheral ganglia and their possible interconnectivity has got relatively little attention. The peripheral ganglia comprise a relay station between the central nervous system and the innervated organ. Whether these relay stations are only passing on impulses, or are capable of integrative activity or are, to a certain degree, independent of the central nervous system analogue to the enteric ganglia has not been elucidated yet.

By means of the selective anterograde tracing technique of autoradiography, and by anterograde and retrograde tracing with HRP and WGA-HRP, the allocation of peripheral nerve fibres to the eyeball and peripheral eye related ganglia was investigated in the present thesis. The results of the experiments are summarized and discussed under three separate headings: i) Blood-ganglion cell barrier, ii) Anterior eye segment innervation, and iii) Inter-ganglionic circuitry.

### BLOOD-GANGLION CELL BARRIER (Chapter II)

In the course of the anterograde tracing experiments from the trigeminal and superior cervical ganglion a confusing difference in the uptake and transport of HRP and WGA-HRP was noticed between these two ganglia. Subsequent ultrastructural analysis of autonomic and sensory ganglia after intraganglionic and intravascular injections of WGA-HRP and HRP, revealed that satellite cells in autonomic ganglia comprise an effective barrier for the injected proteins and likely for large molecules in general. The presence of numerous tight-junctions between the cell membranes of the satellite cells and their

processes, which fully enwrap the autonomic ganglion cell somata, might be responsible for this barrier. This blood-ganglion cell barrier appeared not to exist in sensory ganglia. Hence, large substances present in the blood stream have access to the endoneurial space in both autonomic and sensory ganglia, and these substances also reach the cell membranes of sensory ganglion cell somata by which they are taken up. In autonomic ganglia, however, the cell somata are screened from these substances by the enwrapping intercellularly linked satellite cell processes. Consequently, peripheral sensory neurons may be more vulnerable to circulating toxic agents as compared to the autonomic peripheral neurons. The significance of the fact that sensory ganglion cell somata are not protected like the autonomic ganglion cell somata will be discussed later.

### ANTERIOR EYE SEGMENT INNERVATION

Retrograde tracing experiments in both rabbits and rats revealed no major differences between these species (Chapter III). The anterior eye segment was found to be supplied by nerve fibres originating in the sensory trigeminal ganglion, the sympathetic superior cervical ganglion and the parasympathetic ciliary and pterygopalatine ganglia. Intracorneal injections of WGA-HRP studied after increasing survival times showed that the innervation of the cornea is exclusively of trigeminal, i.e. sensory, origin. Electron microscopy showed four different cell types in the trigeminal ganglion. The individual cell types had no specific projection area. Anterograde tracing with tritiated leucine and WGA-HRP revealed that sensory trigeminal nerve fibres (Chapter IV) coming from the cornea, the conjunctiva, the anterior stroma of the ciliary body and the iris course through the ciliary cleft and the suprachoroid to the anteromedial part of the trigeminal ganglion (Fig. 1). Whether the ciliary cleft has a sensory innervation of its own could not be definitely proved.

Sympathetic nerve fibres from the rostral pole of the superior cervical ganglion (Chapter V) project, after coursing the suprachoroid and the base of the ciliary body, to the stroma of the ciliary processes, the iris, the limbic area and the conjunctiva. Few sympathetic nerve fibres appeared in the ciliary cleft. In accordance with the retrograde tracing experiments in rabbits no sympathetic innervation of the cornea was found by anterograde tracing in rats.

The parasympathetic innervation mediated by the pterygopalatine ganglion

(Chapter VI) appeared to be restricted to the choroid, the limbic area and the conjunctiva.

## INTERGANGLIONIC CIRCUITRY

It has been established that in primates and sub-primates the pterygopalatine ganglion contains nerve fibres of mixed origin, whereas the ciliary ganglion of only dogs and primates has a mixed character. The ciliary ganglion of rats and rabbits is thought to receive parasympathetic nerve fibres of oculomotor origin only. In addition, the superior cervical and trigeminal ganglion are supposed to contain only sympathetic and sensory nerve fibres respectively (Chapter I).

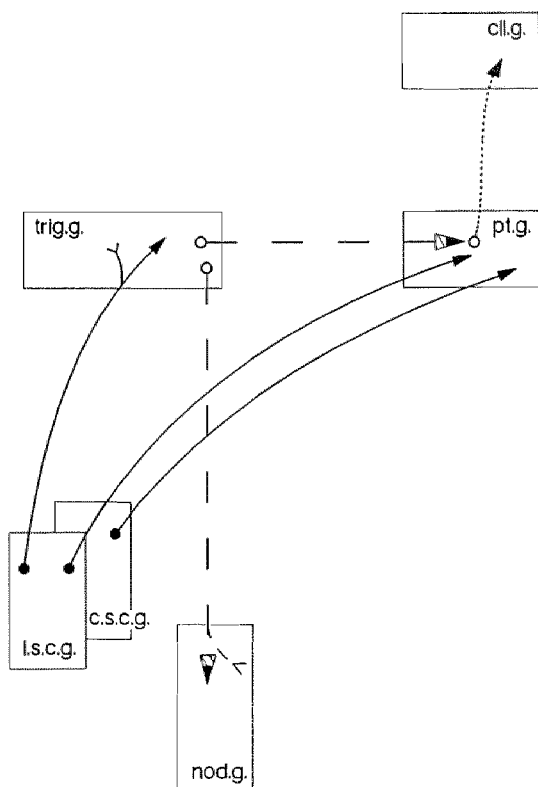
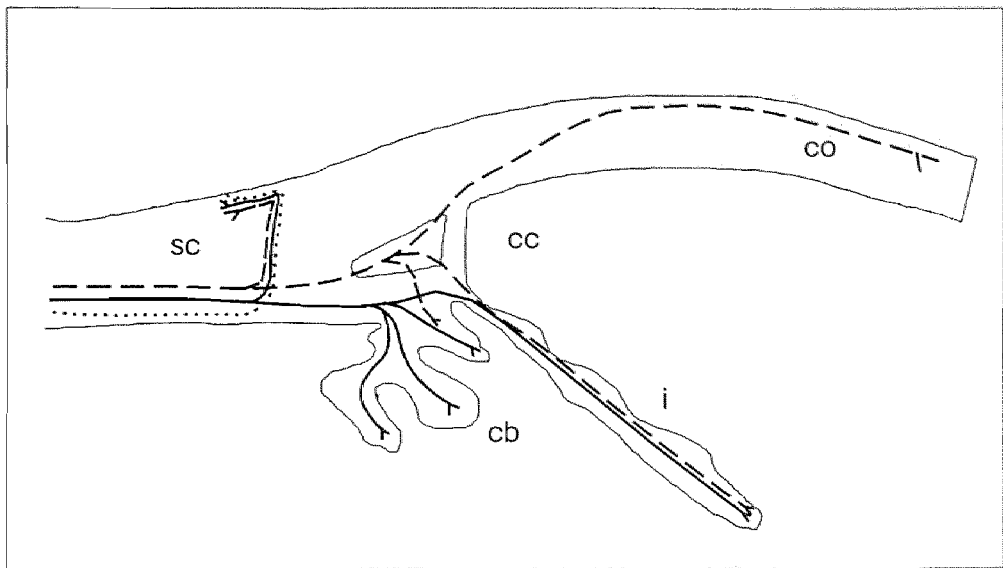
The circuitry between the four eye related ganglia of rats was studied by anterograde and retrograde tracing with  $^3\text{H}$ -Leucine and WGA-HRP from the trigeminal ganglion (Chapter IV), the superior cervical ganglion (Chapter V) and the pterygopalatine ganglion (Chapter VI). The results concerning the circuitry between the peripheral ganglia are summarized in Figure 1.

Sensory trigeminal nerve fibres were found in the parasympathetic pterygopalatine ganglion and the sensory nodose ganglion. Sympathetic nerve fibres from the superior cervical ganglion project to the trigeminal ganglion and the ipsi- and contralateral pterygopalatine ganglion. Parasympathetic nerve fibres from the pterygopalatine ganglion project to the parasympathetic ciliary ganglion. So, in comparison to the supposed circuitry, outlined in Chapter I, only the superior cervical ganglion was not found to be supplied by nerve fibres of different or additional sources. Whether the intermingling of distinct peripheral nerve fibres in the peripheral ganglia is due to the fact that these nerve fibres simply pass these ganglia on their way to the target structures, or is due to the fact that these nerve fibres synaptically interact with the ganglionic neurons could not be evidenced. However, the light-microscopical observations concerning the presence of trigeminal nerve fibres in the nodose ganglion, and the presence of sympathetic nerve fibres originating in the superior cervical ganglion, in the trigeminal ganglion, are in strong support of a synaptic interaction between these nerve fibres and the ganglion cells. As to the trigeminal ganglion, numerous ganglion cell somata were retrogradely labelled in the superior cervical ganglion after WGA-HRP injection into the trigeminal ganglion. In addition, anterograde tracing with tritiated leucine from the superior cervical ganglion showed individual labelled nerve fibres adjacent

to cell somata in addition to labelled nerve fibre bundles. As to the nodose ganglion, labelled trigeminal nerve fibres were found rostral to the ganglion but not caudal to the ganglion. To appreciate these results one has to consider whether or not there are synapses in these ganglia. Sensory ganglia in general have long been supposed not to contain synapses. Recently, however, synapses have been identified in the nodose ganglion and the dorsal root ganglia<sup>1,2,3</sup>. In the trigeminal ganglion, synapses have not been found yet. This means that there are so few that they are hard to find in ultrathin sections or that the trigeminal ganglion is indeed devoid of synapses. If there are no synapses, it may be that a non-synaptic release of neurotransmitters or peptides takes place. Since sensory ganglion cell somata have no barrier separating them from the endoneurial space only few synapses or sites of transmitter release would theoretically be enough to modulate sensory ganglion cell somata.

The pterygopalatine ganglion was found to be somatotopically organized (Chapter VI). A distal cell mass projects to the lacrimal gland and receives preganglionic projections from a discrete nucleus dorsolateral to the facial motor nucleus in the pons : a lacrimal nucleus. A proximal extension of somata of the pterygopalatine ganglion projects to the choroid and conjunctiva. As ganglionectomy of the pterygopalatine ganglion has a dramatic effect on the intraocular pressure, it may be that the proximal neurons regulate the venous resistance within the aqueous veins.

*Figure 1* Summary of the main results of this thesis referring to the anterior eye segment innervation (boxed area on top) and the interganglionic circuitry (below). Sensory nerve fibres originating in the trigeminal ganglion (interrupted lines) project to the sensory nodose ganglion (nod.g.) and the parasympathetic pterygopalatine ganglion (pt.g.). Within the anterior eye segment these sensory nerve fibres were found in the cornea (co), the iris (i), the anterior stroma of the ciliary body (cb) and the conjunctiva. Most sensory nerve fibres course through the ciliary cleft (cc). Sympathetic nerve fibres (uninterrupted lines) from the superior cervical ganglion likely synaptically supply and course through the trigeminal ganglion (trig.g.) and appear in the pterygopalatine ganglion. Both nerve fibres originating in the ipsilateral superior cervical ganglion (i.s.c.g.) and the contralateral superior cervical ganglion (c.s.c.g.) reach the pterygopalatine ganglion. Sympathetic nerve fibres were found in the ciliary body, the iris, the conjunctiva and only occasionally in the ciliary cleft. Tracing from the pterygopalatine ganglion revealed labelled nerve fibres (dashed lines) in the ciliary ganglion (cil.g.), the choroid and the conjunctiva.





## REFERENCES

1. Kayahara, T., Sakashita, S. and Takimoto, T., Evidence for spinal origin of neurons synapsing with dorsal root ganglion cells of the cat. *Brain Res.*, 293 (1984) 225-230
2. Kayahara, T., Synaptic connections between spinal motoneurons and dorsal root ganglion cells in the cat. *Brain Res.*, 376 (1986) 299-309
3. Ling, E.A. and Wong, W.C., Ultrastructure of the nodose (inferior vagal) ganglion cells in the monkeys. Abstracts of the 11th annual meeting of the european neuroscience association. Supplement to the european journal of neuroscience. P.256

## SAMENVATTING

Een deel van de zenuwvezels welke de oogbol en met name het voorste oogsegment innerveert is betrokken bij de regulatie van de oogdruk. De morfologische en fysiologische gegevens, die dit deel van het zenuwstelsel betreffen, zijn samengevat in hoofdstuk I. Ondanks het grote aantal gegevens, blijkt het onmogelijk om de resultaten van de fysiologische experimenten te begrijpen vanuit het huidige idee van de anatomische organisatie. De frictie tussen de anatomische en de fysiologische gegevens moet te wijten zijn aan de onjuistheid of de onvolledigheid van bepaalde gegevens. Zoals aangegeven in hoofdstuk I zijn er veel anatomische experimenten die niet selectief zijn ten aanzien van de herkomst van zenuwvezels. Daarnaast is er nauwelijks aandacht besteed aan de mogelijke vermenging van, en de mogelijke synaptische contacten tussen verschillende perifere zenuwvezels in perifere ganglia. De perifere ganglia vormen een soort schakelstation tussen het centraal zenuwstelsel en het geïnnerveerde orgaan of weefsel. Of deze schakelstations alleen informatie doorgeven, of in staat zijn, deels onafhankelijk van het centraal zenuwstelsel, tot verwerking en bewerking van informatie (vergelijkbaar met de ganglia in de darmwand) is tot op heden niet duidelijk.

In dit proefschrift werd de aanwezigheid van verschillende typen zenuwvezels in de structuren van het voorste oogsegment en in de aan het voorste oogsegment gerelateerde perifere ganglia onderzocht met behulp van tracer-technieken. Hierbij werden twee tracer-technieken gebruikt: i) autoradiografie, een selectieve anterograde techniek, en ii) mierikswortel peroxidase al of niet gekoppeld aan een lectine (HRP en WGA-HRP), een zowel anterograde als retrograde techniek. De resultaten van dit onderzoek zijn samengevat onder drie hoofden: i) Bloed-ganglioncel barriere, ii) De innervatie van het voorste oogsegment, en iii) Het interganglionaire circuit.

### **BLOED-GANGLIONCEL BARRIERE (Hoofdstuk II)**

Tijdens de uitvoering van de tracer-experimenten vanuit het ganglion trigemini en het ganglion cervicale superior bleek er een verschil in de opname en het transport van HRP en WGA-HRP tussen beide ganglia te bestaan. Gericht ultrastructureel onderzoek van sensibele en autonome perifere ganglia na intraganglionaire en intravasculaire injectie van HRP of WGA-HRP toonde aan dat satellietcellen in autonome ganglia een effectieve barriere vormen voor

deze ingespoten eiwitten en waarschijnlijk voor grote molekulen in het algemeen. De celmembranen van de satellietcellen en van de uitlopers van de satellietcellen welke de ganglioncellen volledig omgeven bleken in autonome ganglia aaneengesmeed door talrijke tight-junctions. In de sensibele ganglia bleek noch de verankering door tight junctions, noch de barriere aanwezig. Grote molekulen die aanwezig zijn in de bloedbaan hebben een vrije toegang tot het endoneurium van zowel sensibele als autonome ganglia. In sensibele ganglia komen deze grote molekulen eveneens in aanraking met de ganglioncellen en worden door die cellen opgenomen. De ganglioncellen in autonome ganglia worden afgeschermd van het endoneurium en daarmee van de bloedbaan door de intercellulair verankerde satellietcellen. Op een mogelijke verklaring voor de afwezige barriere en de daarmee grotere kwetsbaarheid van sensibele ganglia voor circulerende toxische stoffen wordt verderop ingegaan.

## DE INNERVATIE VAN HET VOORSTE OOGSEGMENT

In de retrograde tracer-experimenten werden zowel konijnen als ratten gebruikt (Hoofdstuk III). Grote verschillen in de innervatie van het voorste oogsegment bij konijnen en die innervatie bij ratten werden niet gevonden. De cellichamen van de zenuwvezels die het voorste oogsegment innervieren, bleken te liggen in het sensibele ganglion trigemini, het sympatische ganglion cervicale superior, het parasympatische ganglion ciliare en het eveneens parasympatische ganglion pterygopalatinum. Bij de bestudering van WGA-HRP-injecties in de cornea na olopemde overlevingstijden bleek dat de cellichamen van de zenuwvezels in de cornea alleen in het sensibele ganglion trigemini liggen. Door middel van electronen-microscopie van het ganglion trigemini konden de ganglioncellen worden onderverdeeld in vier typen. Deze typen bleken echter geen zenuwvezels uit aparte delen van het oog te ontvangen. Anterograde tracer-experimenten met  $^3\text{H}$ -leucine en WGA-HRP vanuit het ganglion trigemini (Hoofdstuk IV) liet sensibele zenuwvezels in de conjunctiva, de cornea, het anteriore stroma van het corpus ciliare en de iris zien (figuur I). Deze zenuwvezels lopen via de ciliaire wig en de suprachoroidea naar het anteromediane deel van het ganglion trigemini. Of de sensibele zenuwvezels de ciliaire wig alleen doorlopen, of ook innervieren, kan op basis van deze lichtmicroscopische experimenten niet worden beslist. De cellichamen in het rostale deel van het sympatische ganglion cervicale superior projecteren naar de basis van het corpus ciliare, het stroma van de processu ciliares, de iris, de

limbus en de conjunctiva (Hoofdstuk V). De sympatische zenuwvezels doorlopen de suprachoroidea en de basis van het corpus ciliare terwijl slechts enkele sympatische zenuwvezels werden aangetroffen in de ciliare wig. In overeenstemming met de retrograde experimenten bij konijnen, werden ook in de anterograde experimenten bij ratten geen sympatische zenuwvezels in de cornea aangetroffen. Parasympatische zenuwvezels waarvan de cellichamen in het ganglion pterygopalatinum liggen werden alleen aangetoond in de choroidea, de limbus en de conjunctiva.

## INTERGANGLIONAIR CIRCUIT

Bij verschillende diersoorten waaronder primaten bleek het ganglion pterygopalatinum zenuwvezels te bevatten van verschillende herkomst. Een dergelijke gemengde samenstelling werd ook vastgesteld voor het ganglion ciliare van honden en primaten. Het ganglion ciliare van ratten en konijnen daarentegen, wordt verondersteld alleen parasympatische oculomotore zenuwvezels te ontvangen. Het ganglion cervicale superior en het ganglion trigemini worden verondersteld respectievelijk alleen sympatische en alleen sensibele zenuwvezels te bevatten (Hoofdstuk 1).

Door middel van anterograde en retrograde tracer-experimenten met  $^3\text{H}$ -leucine en WGA-HRP vanuit het ganglion trigemini (Hoofdstuk IV), het ganglion cervicale superior (Hoofdstuk V) en het ganglion pterygopalatinum (Hoofdstuk VI), werd het circuit tussen de vier, aan het oog gerelateerde, perifere ganglia van de rat bestudeerd. De resultaten zijn weergegeven in figuur 1.

Sensibele trigeminus-zenuwvezels werden aangetoond in het parasympatische ganglion pterygopalatinum en het sensibele ganglion nodosum. Sympatische zenuwvezels uit het ganglion cervicale superior projecteren naar het ganglion trigemini en het ipsi- en contra-laterale ganglion pterygopalatinum. Parasympatische zenuwvezels uit het ganglion pterygopalatinum projecteren naar het eveneens parasympatische ganglion ciliare. Dus in tegenstelling tot het in de literatuur veronderstelde circuit, weergegeven in hoofdstuk 1, blijkt alleen het ganglion cervicale superior vanuit de onderzochte ganglia geen projectie te ontvangen. Of de gemengde samenstelling van deze perifere ganglia berust op het passeren van de zenuwvezels op weg naar het te innervieren orgaan, of op een synaptische interactie tussen de verschillende perifere neuronen, werd in deze experimenten niet opgelost. Desalniettemin werden een synaptische interactie tussen sympatische zenuwvezels en sensibele trigeminus-

neuronen en een synaptische interactie tussen trigeminus-zenuwvezels en nodosum-neuronen waarschijnlijk gemaakt. Hierbij is het van belang dat de synaptische interactie in beide gevallen verondersteld wordt op te treden in een sensibel perifeer ganglion. Synapsen werden in deze ganglia eerst zeer recentelijk aangetoond. In het ganglion trigemini zijn zelfs nu nog geen synapsen aangetoond, wat betekent dat er in het ganglion geen synaptische overdracht plaatsheeft of dat het aantal synapsen enorm klein is. Het feit dat de sensibele ganglioncellen niet afgeschermd zijn van het endoneurium of van elkaar, door de afwezigheid van een effectieve satellietcel-barriere, betekent theoretisch dat slecht weinig synapsen voldoende zijn.

Binnen het ganglion pterygopalatinum bleek een somatotopie te bestaan. Het distale deel van het ganglion projecteert naar de traanklier en ontvangt projecties van een aparte kern in de pons: de nucleus lacrimalis. Het proximale deel van het ganglion pterygopalatinum projecteert naar de choroidea en de conjunctiva. Daar ganglionectomie van het ganglion pterygopalatinum een dramatisch effect heeft op de oogdruk, zijn het mogelijk deze proximale neuronenvelke de oogdruk reguleren via de veneuze weerstand in de watervenen.

*Figuur 1 (bladzijde 147) Wat het interganglionair circuit (onder) en de voorste oogsegment innervatie (in de rechthoek) betreft, zijn in deze figuur de belangrijkste resultaten samengevat. Sensibele trigeminus-zenuwvezels (onderbroken lijnen) projecteren naar het sensibele ganglion nodosum (nod.g.) en het parasympatische ganglion pterygopalatinum (pt.g.). In het voorste oogsegment werden sensibele zenuwvezels aangetroffen in de cornea (co), de iris (i), het anteriore stroma van het corpus ciliare (cb) en de conjunctiva. Veel sensibele zenuwvezels lopen door de ciliaire wig (cc). Sympatische zenuwvezels komend uit het ganglion cervicale superior (ononderbroken lijnen) projecteren naar het ganglion trigemini (trig.g.) en het ganglion pterygopalatinum. Sympatische zenuwvezels in het ganglion pterygopalatinum zijn zowel afkomstig uit het ipsilaterale ganglion cervicale superior (i.s.c.g.) als uit het contralaterale ganglion cervicale superior (c.s.c.g.). Wat het voorste oogsegment betreft, werden sympatische zenuwvezels aangetroffen in het corpus ciliare, de iris, de conjunctiva en slechts zelden in de ciliaire wig. De parasympatische neuronenvan het ganglion pterygopalatinum (stippellijnen) projecteren naar het ganglion ciliare (cil.g.), de choroidea en de conjunctiva.*

## DANKWOORD

De werkzaamheden die geleid hebben tot dit proefschrift vonden plaats op het IOI te Amsterdam. Ik heb daar met veel plezier gewerkt. Aan het tot stand komen van dit proefschrift en aan het plezier droegen velen bij. Alle betrokkenen ben ik daarvoor zeer dankbaar.

Er is nauwelijks een stap gezet in dit onderzoek zonder medeweten, meedenken en meewerken van Jan Klooster. Jan, ik wil je danken voor je toewijding en zeker ook voor de vriendschappelijke samenwerking.

Bob, Han, Chris en Ruud, de andere leden van het neuroclubje, waren steeds bereid tot serieuze en minder serieuze attenties.

Frits Versluis wil ik bedanken voor zijn begeleiding binnen het B-Lab en Peter Brassinga voor de technische klussen. De andere morfo's; bankwerkers, immuno's en mijn automaat: Anneke, Ben, Koendertje, Hanneke, Ina, Lenie, Lidy, Liesbeth, Marc, Paul, Rolf en Yvonne, ben ik erkentelijk voor hun sociale en andere bijdragen aan de dagelijkse gang van zaken. Juul en Nico hebben mij enorm geholpen met posters, dia's, tekeningen, routine-foto's en foto's voor artikelen en voor dit proefschrift. Geert ten Tusscher worstelde met jargon en corrigeerde het vermeende Engels van enkele teksten. Henny verzorgde de secretariële ondersteuning.

Mijn promotores wil ik bedanken voor de prettige samenwerking. Daarenboven, wil ik Prof. dr. W.P.M.A. Lamers bedanken voor zijn interesse in het onderwerp van dit proefschrift en de daaruit voortkomende aanzet tot dit onderzoek en Prof. dr. G.F.J.M. Vrensen voor zijn begeleiding bij het schrijven van de artikelen en dit proefschrift.

Al met al hoop ik dat dit onderzoek voortgang zal vinden en dat ik er op de een of andere manier bij betrokken blijf.