

Intraaxonaler Transport von ^3H -Uridin-Verbindungen im Tractus opticus von Teleosteern

Der Fluss des Neuroplasmas vom Perikaryon einer Nervenzelle bis zur Synapse wurde erstmals von WEISS und HISCOE 1948¹ experimentell bewiesen. Eine Fülle von Untersuchungen belegt seitdem dieses Phänomen des Stofftransports, besonders von Proteinen, welches offenbar wegen der speziellen Morphologie der Nervenzelle notwendig ist zur trophischen Versorgung distal gelegener Abschnitte². Ob das Axon in der Proteinvorschaltung ausschließlich vom Perikaryon abhängig ist, kann noch nicht in allen Fällen entschieden werden. Jedenfalls wurde in den Mauthnerschen Riesenfasern im Rückenmark des Goldfisches auch nach Trennung von den Perikarien eine Proteinsynthese beobachtet³. Obwohl bisher keine Ribosomen in ausdifferenzierten Axonen dargestellt werden konnten, kann aus derartigen Befunden auf ein intraaxonales Vorkommen von RNS geschlossen werden, das auch schon durch andere Arbeiten erwiesen wurde^{4,5}. Nach dem allgemeinen Konzept des axonalen Flusses muss ein proximo-distaler Transport von geringen RNS-Mengen angenommen werden; er wurde bereits im Nervus opticus der Ratte nachgewiesen^{6,7}. Die vorliegenden Untersuchungen bestätigen diesen Transport auch für das optische System der Teleosteer, das wegen der Übersichtlichkeit seiner Strukturen (totale Kreuzung der Sehbahnen im Chiasma) für Fragen des neuronalen Stofftransports besonders geeignet ist. Darüber hinaus wird erstmals ein unterschiedliches Transportverhalten von hochmolekularen RNS und niedermolekularen ^3H -Uridin-Verbindungen aufgezeigt.

40 Exemplare von *Scardinius erythrophthalmus* bzw. *Carassius carassius* erhielten einseitige intraoculare Injektionen von ^3H -Uridin (30 $\mu\text{C}/\text{Tier}$, spez. Akt. 500 bis 5000 mC/mM). Nach Incorporationszeiten der Tracer von 1,5 h-16d wurde die Ausbreitung der Radioaktivität im Verlauf des Tractus opticus vom Austritt des Nervus opticus aus dem Augenbulbus bis in das Tectum opticum mit Hilfe des Packard-Szintillationszählers (Modell 3320) sowie vergleichend autoradiographisch gemessen. Zur Her-

stellung von Autoradiographien wurden die optischen Trakte in Bouinscher Lösung fixiert, nach Einbettung in Paraplast längsgeschnitten (10 μm) und mit Trichloressigsäure (TCA) (5%ig, 15 min, 2°C) behandelt, anschliessend mit Agfa Emulsion Nuc. 7.15 überschichtet und 40-60d exponiert. Die Auswertung der Autoradiogramme erfolgte durch Auszählen der Silberkörner über den Strukturen des Tractus opticus. Für Szintillationsmessungen wurden die optischen Trakte in 4 Segmente unterteilt: 1. und 2. vor dem Chiasma, 3. zwischen dem Chiasma und dem Tectum sowie 4. das Tectum selbst. Gemessen wurde einmal die Gesamtaktivität der Einzelabschnitte und zum andern nur die der hochmolekularen Komponenten (Extraktion in 1 ml 10%ig TCA, 24 h, 2°C). Die Werte wurden auf cpm/mg Frischgewicht umgerechnet. Zusätzlich wurde auch die durch TCA extrahierte Aktivitätsmenge bestimmt.

Mit Hilfe der Szintillationsmessungen liess sich ähnlich wie für Proteine nach intraocularen Aminosäureapplikationen⁸ auch nach ^3H -Uridin-Injektion ein intraaxonaler Transport von hochmolekularen, TCA-resistenten RNS-Verbindungen von der Retina durch den Nervus opticus, das Chiasma bis in das kontralaterale Tectum opticum mit einer Geschwindigkeit von etwa 1-3 mm/d nachweisen, welches der langsamsten Komponente des Proteintransports

- 1 P. WEISS und H. B. HISCOE, J. exp. Zool. 107, 315 (1948).
- 2 H. RAHMANN, Zoll. Anz. Suppl. 33 (Verh. Zool. Ges. 1969), 430 (1970).
- 3 A. EDSTRÖM und J. SJÖSTRAND, J. Neurochem. 16, 67 (1969).
- 4 N. MIANI, A. DI GIROLAMO und M. DI GIROLAMO, J. Neurochem. 13, 755 (1966).
- 5 A. EDSTRÖM, J. Neurochem. 11, 309 (1964).
- 6 J. A. PETERSON, J. J. BRAY und L. AUSTIN, J. Neurochem. 15, 741 (1968).
- 7 L. CASOLA, G. A. DAVIS und R. E. DAVIS, J. Neurochem. 16, 1037 (1969).
- 8 H. RAHMANN, Z. Zellforsch. 86, 214 (1968).

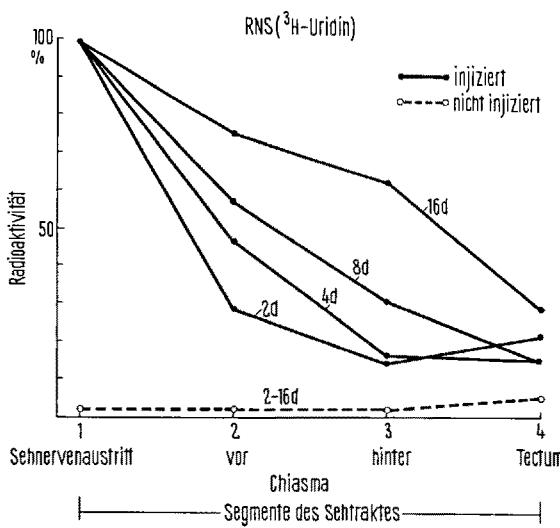


Fig. 1. Darstellung der Radioaktivitätsverteilung hochmolekularer RNS im mit dem injizierten Auge in Verbindung stehenden Tractus opticus (inj.) bzw. im nicht inj. Tractus opticus von *Scardinius erythrophthalmus* nach verschiedenen Incorporationszeiten. Aktivität des augen nahen 1. Segments = 100%. Die Kurve des nicht inj. Systems ist eine Mittelwertsdarstellung über alle angegebenen Incorporationszeiten. Die RNS-Markierung bleibt auf das inj. System beschränkt, was einen intraaxonalen Transport anzeigt.

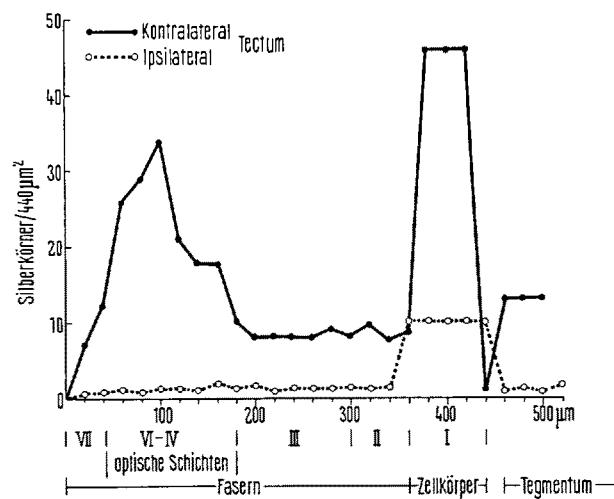


Fig. 2. Auswertung von Autoradiogrammen über die Radioaktivitätsverteilung hochmolekularer RNS in den Schichten I-VII des Tectum opticum von *Carassius carassius* nach 12 d Incorporation von ^3H -Uridin. Im Gegensatz zum ipsilateralen (nicht inj.) zeigt nur das kontralaterale, mit dem inj. Auge zusammenhängende Tectum im Bereich der optischen Faserschichten eine selektive Erhöhung der Silberkornverteilung, was einen intraaxonalen Fluss hochmolekularer RNS anzeigt.

und damit der Grundrate des axoplasmatischen Flusses entspricht^{1,2}. Nach 2d hat das Tectum zwar noch eine höhere Aktivität als das präTECTALE Segment, was jedoch mit der RNS-Eigensynthese der Zellkörperschicht im Tectum aus über das Blut herangeführtem 3-H-Uridin zu erklären ist (Figur 1). Aber nach 4d ist das 3. Segment schon so stark markiert wie das Tectum, und nach 8d herrscht im optischen System ein gleichmässig abfallender Gradient der Aktivität: der Fluss markierter Substanzen hat das 3. Segment erreicht. Nach 16d ist die Aktivität der distalen Bereiche des Tractus opticus erheblich angestiegen. Im nicht injizierten Tractus hingegen bleibt die Aktivität aller 4 Segmente gegenüber der des augennahen 1. Segments des injizierten Tractus gleichbleibend sehr gering, was eindeutig auf einen intraaxonalen Fluss im injizierten Nerven hinweist und eine extraaxonale Ausbreitungsweise ausschliesst.

Auch autoradiographisch lässt sich schon nach 12d in den optischen Faserschichten des mit dem injizierten Auge zusammenhängenden (kontralateralen) Tectum opticum eine höhere Aktivität nachweisen als in den übrigen Schichten (Figur 2). Die selektive Markierung der optischen Schichten im Tectum, die die terminalen Bereiche der optischen Axone enthalten, gilt nach intraoculärer Tracer-Applikation als sicheres Kriterium des intraaxonalen Flusses dieses Tracers³.

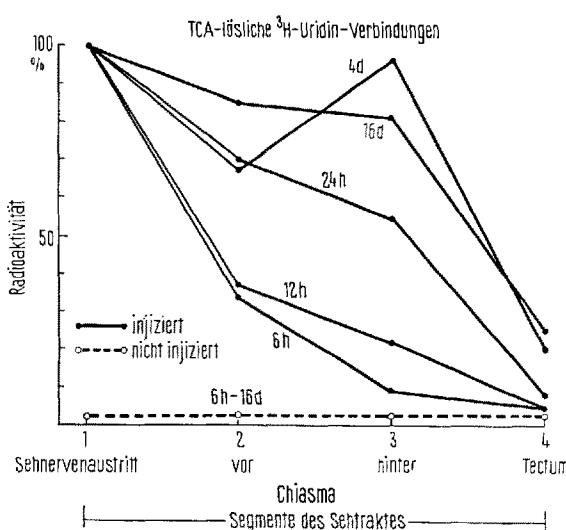


Fig. 3. Darstellung der Radioaktivitätsverteilung Trichloressigsäure-(TCA)-löslicher 3-H-Uridin-Verbindungen im Tractus opticus des inj. bzw. nicht inj. Systems von *Scardinius erythrophthalmus* nach verschiedenen Incorporationszeiten. Die Markierung bleibt, wie die der RNS (vgl. hierzu Figur 1), auf das inj. System beschränkt, was einen intraaxonalen Transport niedermolekularer Uridin-Verbindungen anzeigt.

Im Gegensatz zu früheren Befunden¹⁰, bei denen für die Ermittlung eines Stofftransports im optischen System der Teleosteer lediglich das Tectum opticum und nicht auch das präTECTALE Segment mit dem ersten Segment des Tractus opticus verglichen wurde, erbrachten die vorliegenden Untersuchungen, dass sich neben den 3-H-Uridin-markierten RNS-Verbindungen auch TCA-lösliche, d.h. niedermolekulare 3-H-Uridin-Verbindungen intraaxonale ausbreiten (Figur 3). Ähnlich wie im Falle der Ausbreitung der hochmolekularen RNS bleibt auch bei den löslichen 3-H-Uridin-Verbindungen die Markierung weitestgehend auf das mit dem injizierten Auge in Verbindung stehende optische System beschränkt. Die Aktivität im nicht injizierten Trakt entspricht der des Cerebellums, was auf eine Ausbreitung eines Teiles des Tracers über die Blutbahn zurückzuführen ist. Aus dem Befund, dass die Radioaktivität der TCA-löslichen Verbindungen im kontralateralen Tectum nach 12 h p.i. deutlich über der des Cerebellums sowie vor allem des ipsilateralen Tectums liegt, ist eine Geschwindigkeit der intraaxonalen Ausbreitung für die löslichen Uridin-Verbindungen von etwa 30–50 mm/d abzuleiten.

Der Anteil des in hochmolekulare RNS-Verbindungen eingebauten 3-H-Uridins an der Gesamtaktivität ändert sich mit zunehmenden Incorporationszeiten: nach Kurzzeiten bis zu etwa 2d beträgt er lediglich bis zu 5%, um anschliessend nach Langzeiten bis auf maximal etwa 30% (nach 12d) anzusteigen.

Die vorliegenden Ergebnisse sprechen für einen intraaxonalen Transport sowohl von RNS (evtl. mitochondriale RNS?) als auch von deren niedermolekularen Vorstufen (evtl. Oligo- und Polynukleotide?) mit unterschiedlichen Geschwindigkeiten von 1,5 bzw. 50 mm/d, wie er bisher nur für lösliche bzw. Strukturproteine nachgewiesen wurde.

Weiterführende Untersuchungen hinsichtlich einer Lokalisation und Spezifizierung beider Fraktionen sind in Angriff genommen¹¹.

Summary. After application of 3-H uridine to one eyeball, an intraaxonal flow of RNA (1–3 mm/d) and low-molecular uridine-compounds (30–50 mm/d) has been demonstrated in the optic tract of *Scardinius erythrophthalmus* and *Carassius carassius* (Teleoste).

H. RAHMANN und H. WOLBURG

Zoologisches Institut der Westfälischen Wilhelms-Universität, Hindenburgplatz 55, D-44 Münster (Westfalen, Deutschland), 5. März 1971.

⁹ B. S. McEWEN und B. GRAFSTEIN, J. Cell Biol. 38, 494 (1968).

¹⁰ H. RAHMANN, in Symposium on Pathology of Axons and Axonal Flow, Wien 1970 (Springer, Heidelberg), im Druck.

¹¹ Mit dankenswerter Unterstützung durch die Deutsche Forschungsgemeinschaft und das Landesamt für Forschung des Landes Nordrhein-Westfalen.

Uptake from Blood and Conjugation of Bilirubin by the Intestinal Mucosa of Wistar, Gunn and Hepatectomized Rats

A direct transfer of unconjugated bilirubin from blood to the bowel lumen across the intestinal wall has been reported in Gunn rats^{1,2}, in patients with the Crigler-Najjar syndrome¹ and in Wistar rats treated with α -naphthylisothiocyanate^{3,4}. On the other hand, both conjugated and unconjugated bilirubin may be absorbed from the gut lumen⁵. Experiments performed in Gunn rats indicated that

at least in this mutant strain, conjugated bilirubin was hydrolyzed previously to absorption, either by bacterial β -glucuronidase or by intrinsic β -glucuronidase localized in the intestinal mucosa⁶.

In vitro studies seem to confirm that bidirectional transport of unconjugated bilirubin across the intestinal wall may be accomplished by passive diffusion⁷. It has