esterase activity in nerve fibers was detected from the axon hillock to the periphery. Beta-glucuronidase reaction was confined to nerve fibers and was negligible in ganglion cells and mantle cells.

Summary

Dehydrogenases participated in the citric acid cycle, isocitrate, succinate and malate dehydrogenases, were homogenously distributed in the cytoplasm or concentrated surrounding the nucleus. Glutamate dehydrogenase was also homogenously distributed in the cytoplasm of ganglion cells.

As it has been reported that sensory nerves are cholinergic in function, a varying degrees of acetylcholinesterase activity were observed in the trigeminal ganglions in the present experiment.

Histochemische und radioautographische Untersuchungen von Zink im Zentralnervensystem

Nagayasu OTSUKA, Takashi ASAKO und Yasuhiko IBATA

Anatomisches Institut der Medizinischen Akademie Kyoto, Kyoto

Mit Hilfe von Dithizon konnte MASKE (1955) die Ammonsformation bei verschiedenen Säugetieren intensiv rot anfärben. Er sicherte die Spezifität für das Zink durch spektrophotometrische und emissionsspektrophotometrische Untersuchungen.

In der vorliegenden Studie soll über die Lokalisation von Zink im Zentralnervensystem mit Hilfe der Dithizoninjektion und Autoradiographie von Zn^{65} berichtet werden.

Material und Methode

Histochemische Untersuchung :

Es wurden die Gehirne folgender Tiere untersucht : 5 Mäuse, 5 Ratten, 5 Meerschweinchen, 4 Kaninchen, 5 Katzen, 5 Hunde.

Die Tiere erhielten 100 mg Dithizon/kg Körpergewicht in einer nach OKAMOTO wie folgt hergestellten Lösung : 100 mg Dithizon werden mit 10 ml 0.2%ige Ammoniaklösung vermischt. Die dem Gewicht der Tiere entsprechend hergestellte Lösung wird sehr langsam durch eine Vene oder in die Peritonealhöhle injiziert. Etwa 15-30 min nach Beendigung der Injektion werden die Tiere durch Dekapitation getötet und die Gehirne sofort herausgenommen.

Autoradiographische Untersuchung :

Zur Untersuchung gelangten die Gehirne von 20 Mäusen beiderlei Gesch-

lechts. Das radioaktive Zink wurde in Form Zn^{65} -Gluconat ($50\mu\text{C}$) intraperitoneal injiziert. Die Tiere wurden in einer Spanne von 15Min., 30Min., 1Std., 6Std., 12Std., 24Std., 2Tage, 5Tage und 10Tage nach der einmaligen Injektion durch Dekapitation getötet. Die Gehirne wurden sofort in abs. Alkohol fixiert, und es wurden Paraffinschnitte angefertigt. Die Autoradiographie wurde mit der Stripping-Film-Methode ausgeführt.

Befunde

Die Gehirne aller untersuchten Tiere zeigen nach Dithizoninjektion eine so gleichartige Reaktion, daß wir sie gemeinsam besprechen wollen.

In den Gehirnen dieser Tiere reagieren stets die gleichen homologen cytoarchitektonischen Rindenfelder, d.h. Feld h_3, h_4, h_5 und Fascia detata der Ammonsformation nach der Dithizoninjektion stark positiv. Außer den gefärbten Abschnitten der Hippocampusformation weisen die basale Rinde und ein Teil der subcorticalen Kerne Rotfärbung auf. Bei den angefärbten Gebieten handelt es sich um den Nucl. amygdalae und Teile des Striatum. Die dorsale Hemisphärenrinde und das Hypothalamusgebiet werden schwach rot gefärbt. Dagegen bleiben das Klein-, Mittel- und Rautenhirn vollkommen ungefärbt. 1 Stunde nach der Injektion von Radiozink Zn^{65} wird das Zink allmählich in den Nucl. amygdalae, Teile des Striatum, Hemisphärenrinde des Großhirns und Hypothalamusgebieten aufgenommen. Zwischen 12-24 Stunden nach der Radioisotopgabe wird das Zn^{65} in den oben beschriebenen Gebieten hochkonzentriert. Jedoch in diesen Gebieten man 5-10 Tage der Gabe nur noch sehr wenig Zn^{65} .

Diskussion

Mit Hilfe von Dithizon kann man Schwermetallsalze, unter bestimmten Bedingungen vorzugsweise Zink, nachweisen. Nach der Injektion einer Dithizonlösung färben sich bei Säugetieren bestimmte Anteile des Ammonshornes intensiv rot (MASKE 1955, FLEISCHHAUER et al. 1957, OTSUKA et al. 1962 und ORTMANN 1964).

Ferner ist es unzweifelhafte Tatsache, daß diese bestimmten Anteile der Ammonsformation durch spektrophotometrische, emissionsspektrophotometrische (MASKE 1955) und autoradiographische (Von EULER 1962, OTSUKA et al. 1965) Untersuchungen Zink reichlich enthalten. Man bemerkt außer der Färbung im Bereich der Ammonsformation mit Dithizon eine dunkel Tönung der Großhirnrinde, des Nucleus amygdalae, des Striatum und des Hypothalamus. Auch bei autoradiographischer Untersuchung wurde das Zn^{65} in diesen Gebieten angereichert. Die Anhäufung von Zn^{65} ist nicht bleibend, sondern verschwindet nach 5-10 Tagen Speicherung wieder aus den obigen Bereichen. Jedoch sind chemische Bindung und physiologische Bedeutung des Zinks heute noch völlig unklar.

Zusammenfassung

Mit Hilfe der Dithizon-Methode und dem autoradiographischen Nachweis

von Zn^{65} wurde die Lokalisation von Zink im Zentralnervensystem bei Maus, Ratte, Meerschweinchen, Kaninchen, Katze und Hund untersucht.

1) In den Gehirnen aller untersuchten Tiere färben sich die bestimmten Feldern der Ammonsformation, die Großhirnrinde, der Nucleus amygdalae, das Striatum und der Hypothalamus nach Dithizoninjektion rötlich.

2) Organisches radioaktives Zn^{65} wurde innerhalb von 12-24 Stunden nach der Injektion in den obigen Gebieten des Gehirns der Maus hochkonzentriert.

Literatur

- 1) Fleischhauer, K.u.E. Horstmann : Z. Zellforsch. 46, 598, 1957. 2) Maske, H.: Naturwiss. 42, 424, 1955. 3) Ortman, N. : Progress in Brain Research Vol. 6, 4, 1964. 4) Otsuka, N. & M. Umetani : Proc. Jap. Histochem. Ass. 3, 231, 1962. 5) Otsuka, N.u.M. Kawamoto : Histochemie. 6, 267, 1966. 6) Von Euler, C. : Zit. nach Ortman 1964.

Electronmicroscopic Demonstration of Alcohol Dehydrogenase Activity in the Frog Retina

Shozo NISHIDA and Katsuyoshi MIZUNO

Department of Ophthalmology, Nagoya City University Medical School, Nagoya

Studies on the synthesis and breakdown of rhodopsin has been elucidated by Wald, Morton and others during a last decade. It has been confirmed that retinene reductase is identical with alcohol dehydrogenase (ADH). Though ADH activity in the retina has been studied biochemically and histochemically, a localization of this enzyme is not certain and the ultramicroscopic localization is essential problem. In the present paper the localization of ADH activity in the Bull frog retina is presented.

Method

1) After dark adaptation, Bull frog eye was enucleated and prefixed with 4% glutaraldehyde buffered with phosphate buffer (pH 7.4) in ice-box. Then the retina was incubated in the reaction media which was consisted of 0.25% nitro blue-tetrazolium chloride solution : 3.0 ml, 1% DPN solution : 0.7 ml, 0.2M ethyl alcohol : 0.3 ml, for 30 min. at 37°C. These treatments were conducted under dim light. After postfixation with 1% osmium tetroxide solution buffered with phosphate buffer, the retina was dehydrated by ethanol and propylene oxide and embedded in Epon 812.

In control reaction medium, ethyl alcohol was substituted with distilled water.