

## Untersuchungen zur Klärung der Leistungsspezifität verschiedener abnormer Induktoren bei der Embryonalentwicklung der Urodelen<sup>1</sup>

Zur Klärung der sich vielfach widersprechenden Ergebnisse bei Experimenten mit abnormen Induktoren<sup>2</sup> wurden in den Jahren 1949–1951 die Induktionsleistungen verschiedener tierischer Gewebe im Einstekperiment auf breiter Basis geprüft. Als Implantate dienten Niere, Leber, Herz, Parotis und Thymus vom Meerschweinchen, ferner Niere und Leber der weissen Maus sowie Leber von *Triturus vulgaris*; die Organstückchen wurden nach unterschiedlich langer Alkoholfixierung in das Blastozöl früher Gastrulæ von *Tr. vulgaris* und *Tr. helvet.* eingesteckt. Um unsere Ergebnisse statistisch sichern zu können, haben wir möglichst viele Operationen, das heisst etwa 80 je Serie, ausgeführt. Den vorliegenden Befunden liegt eine Zahl von etwa 9000 Operationen, davon etwa 7000 verwertbare Fälle, zugrunde.

Bei der Prüfung der Implantate wurde insbesondere die Wirkung verschieden langer Alkoholbehandlung (70 %) untersucht, da hierdurch die Gewebe eine tiefgreifende stoffliche Veränderung erfahren, welche das Induktionsergebnis beeinflussen könnte. Außerdem wurde die Bedeutung des Ernährungszustandes der Spendertiere geprüft. Um eine mögliche Beteiligung der Ribonukleinsäure beim Induktionsvorgang festzustellen, wurde eine grosse Anzahl verschiedener Implantate mit Ribonuklease behandelt.

Nach fast vollständiger histologischer Auswertung unseres Materials liegen bisher folgende Befunde vor:

1. Bei kurzfristiger Alkoholbehandlung der Implantate (3–5 h) haben wir zwei Gruppen von Induktoren mit grundsätzlich unterschiedlicher Induktionsleistung gefunden: Niere, Thymus und Parotis vom Meerschweinchen sowie Mäuseniere erwiesen sich als Induktoren mit stark deuterenzephal-spinokaudaler Wirkung, während Meerschweinchenleber und -herz sowie Mäuse- und *Triturus*-leber eine ausgesprochen archenzephal-deuterenzephal Induktionsleistung aufweisen.

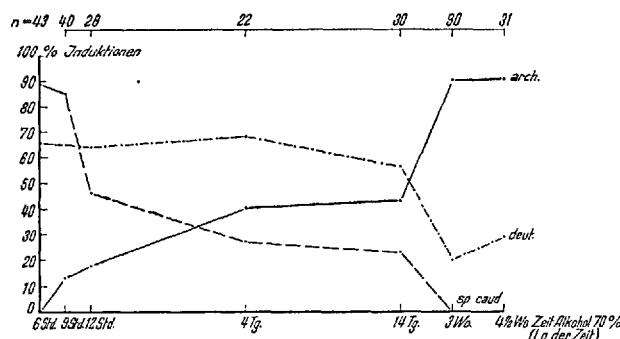


Abb. 1. Induktionsleistungen der Mäuseniere nach verschiedenen langer Alkoholeinwirkung.  
(In allen Abb.  $n$  = Zahl der Fälle mit Induktionen.)

Bei länger dauernder Alkoholeinwirkung (bis zu 4 Wochen) erfährt die Induktionsleistung der deuterenzephal-spinokaudalen Gruppe eine wesentliche Ver-

<sup>1</sup> Die vorliegenden Untersuchungen wurden auf Grund einer Anregung von E. ROTMANN begonnen und nach dessen Tod im September 1950 unter der Förderung von O. KUHN weitergeführt.

<sup>2</sup> H.-H. CHUANG, Roux' Arch. 139, 556 (1939); 140, 25 (1940). – S. TOIVONEN, Ann. Acad. Sci. Fenn. [A] 55, 6 (1940). – E. ROTMANN, Naturwissenschaften 30, 60 (1942).

änderung (Abb. 1). Die Zahl der spinokaudalen Induktionsgebilde nimmt mit zunehmender Alkoholbehandlung ständig ab, während gleichzeitig archenzephal Induktionsgebilde neu auftreten. Letztere nehmen im gleichen Masse zu, wie die spinokaudalen abnehmen. Sie erreichen ihren höchsten Wert nach dem völligen Verschwinden der spinokaudalen. Die deuterenzephalen Gebilde erfahren ebenfalls eine Verminderung, die aber erst nach längerer Alkoholbehandlung in Erscheinung tritt. Die hohe archenzephal Induktionsleistung der archenzephal-deuterenzephalen Gruppe bleibt durch die Alkoholbehandlung praktisch unberührt (Abb. 2). Die spinokaudalen Gebilde machen in allen Serien nur einen geringen Prozentsatz aus, während die deuterenzephalen einen schwachen Abfall zeigen.

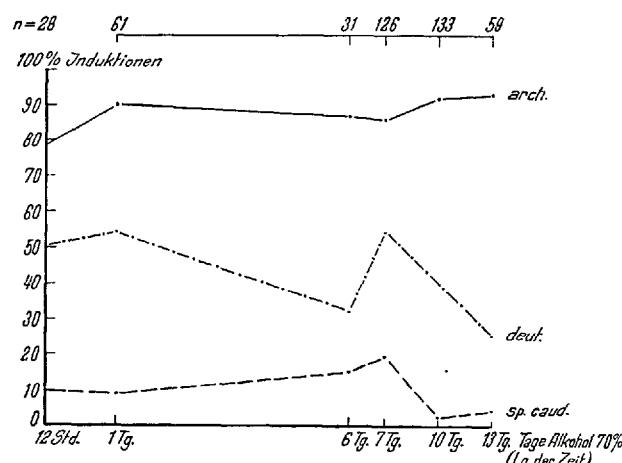


Abb. 2. Induktionsleistungen der Meerschweinchen-Herzmuskel nach verschiedenen langer Alkoholeinwirkung.

2. Der Einfluss des Ernährungszustandes auf das Induktionsergebnis wurde bei verschiedenen Organen untersucht. Erwartungsgemäss waren die Veränderungen am deutlichsten bei solchen Organen, deren physiologischer Zustand durch den Hunger am stärksten verändert wird, zum Beispiel bei Leber, Parotis und Niere, während Herzmuskel keine Leistungsverschiebung erfährt (Abb. 3).

Fortschreitender Hunger bewirkt ansteigende archenzephalen und abnehmende spinokaudale Induktionsleistungen. Die Häufigkeit der deuterenzephalen Gebilde wird durch den Hunger nicht betroffen. Die Veränderungen treten nach zweitägigem Hunger am deutlichsten hervor<sup>1</sup>.

3. In den Fermentserien wurde kristallisierte Ribonuklease<sup>2</sup> in verschiedenen Konzentrationen (1:10 000 bis 1:2500 in doppelt destilliertem Wasser), bei verschiedenen Temperaturen (20–40°C) und unterschiedlicher Einwirkungsdauer (2–6 h) verwandt. Die Kontrollen wurden unter denselben Bedingungen nur mit doppelt destilliertem Wasser behandelt.

Nach den Befunden von BRACHET<sup>3</sup>, der nach Ribonukleasebehandlung (2 h bei 65°C) eine Auslöschung der «neuralen» Induktionsgebilde erhalten hatte, erwarteten wir zumindest für die archenzephalen Gebilde dasselbe Ergebnis. Unter den von uns angewandten Versuchsbedingungen, bei welchen nicht die Gefahr besteht, dass allein durch eine zu hohe Temperatur eine Fermentwir-

<sup>1</sup> S. TOIVONEN, Arch. Soc. «Vanamo» 6, 1, 63 (1951).

<sup>2</sup> Armour Laboratories, Chicago, USA.

<sup>3</sup> J. BRACHET, Acta biol. Belg. 1, 16 (1942).

kung vorgetäuscht wird, waren die Resultate aber grundsätzlich anderer Art: Die Gesamtrate der archenzephalen Gebilde blieb gegenüber den Kontrollen stets gleich oder wurde sogar in unterschiedlichem Masse erhöht (Abb. 4). Eine detaillierte Betrachtung der verschiedenen archenzephalen Gebilde ergab, dass in allen Fermentserien die «starken» archenzephalen Organe (Hirnteile, Augen und Nasen) deutlich vermehrt, während die Zahl der «schwachen» (freie Linsen, Lentoide, Balancer und Epidermisverdickungen) wechselnd beeinflusst, oft auch vermehrt wurden. Wir glauben, nach diesen Befunden von einer echten Erhöhung der archenzephalen Induktionsleistung nach Ribonukleasebehandlung sprechen zu können. Das Vorkommen der spinokaudalen und deuterenzephalen Gebilde lässt keine gesetzmässigen Veränderungen erkennen.

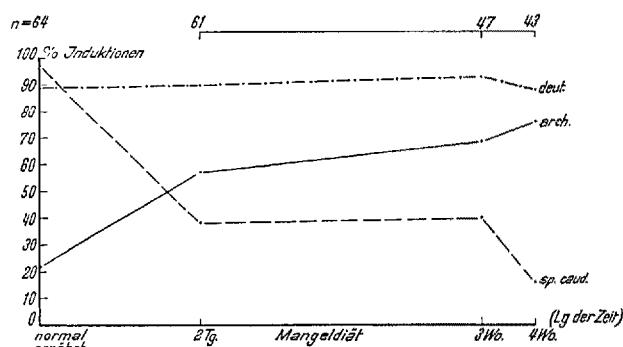


Abb. 3. Induktionsleistungen der Meerschweinchen-Parotis in Abhängigkeit vom Ernährungszustand.

Unsere Befunde scheinen die bisher vorliegenden Vermutungen<sup>1</sup> über die Natur der Induktionsstoffe zu bestätigen. Denaturierung und Abbau gewisser Proteine durch Alkoholbehandlung und Hunger sowie die damit Hand in Hand gehende Auslöschung der spinokaudalen Induktionsleistung sprechen für den Proteincharakter des spinokaudal wirksamen Agens.

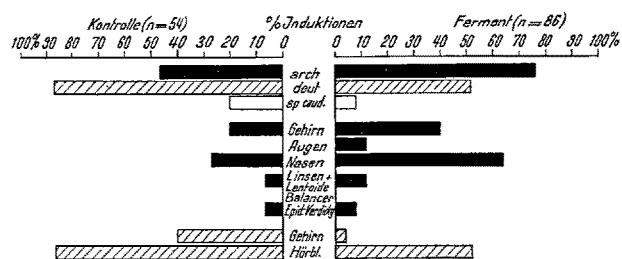


Abb. 4. Induktionsleistungen der Mäuseniere nach Ribonukleasebehandlung (1:2500; 2 h; 40°C).

Das Verhalten der archenzephalen Induktionen im Hunger- und Fermentversuch deutet darauf hin, dass weniger die hochpolymere Ribonukleinsäure als vielmehr deren Spaltprodukte für das archenzephalen Induktionsgeschehen von Bedeutung sind; denn durch Hunger werden Abbauprozesse der Ribonukleinsäure eingeleitet, ebenso durch Ribonukleasebehandlung, welche bei unseren Versuchen wahrscheinlich nicht bis zu den letzten, nicht mehr induktionsfähigen Bestandteilen geführt hat. Diese Abbauprodukte könnten auf Grund ihres besseren

Diffusionsvermögens vom Induktor in das Reaktionsmaterial die Steigerung der archenzephalen Induktionsleistung in den Fermentserien bewirkt haben.

H. ENGLÄNDER,  
A. GISELA JOHNEN und W. VAHS

Zoologisches Institut der Universität Köln, den 15. August 1952.

### Summary

Various animal tissues were tested for their capabilities as inductors in implantation experiments. After being fixed in alcohol for a short time (few hours), parotis, kidney, and thymus of the guinea pig, as well as the kidney of the white mouse (Series I), proved to be specifically deuterencephalic-spinocaudally acting inductors, whereas the liver and heart of the guinea pig, and the liver of mouse and Triturus (Series II), showed themselves as specifically archencephalic-deuterencephalic inductors.

If the affection by alcohol is prolonged (up to 4 weeks), the deuterencephalic-spinocaudal effect is gradually lost in series I, while new archencephalic structures come into existence.

The tissues of series II, however, retain their archencephalic-deuterencephalic effect. The action of the tissues tested, except that of the heart muscle, changes in the same way when the animals are subjected to a starvation diet for several weeks. The archencephalic rate of induction increases while the spinocaudal rate decreases in proportion. In all the tissues tested, the capacity of archencephalic induction can be increased by treatment with ribonuclease.

### Dynamic State and Half Life Time of Human Serum Cholinesterase

An important biological concept evolved in recent years is that of the dynamic state of the body constituents. Formerly, for example, for one of these, the body proteins, semi-static stores were implied from which proteins were removed by catabolism and to which the anabolism of the body supplied replacements. Actually, SCHOENHEIMER<sup>1</sup> has demonstrated, using the isotope technique, that there is a regular, continuous, dynamic interchange of the body elements in which there is concurrent synthesis and degradation.

One method employed illustrates the general isotope approach: an amino acid, for example, glycine, labeled with radioactive  $N^{15}$ , is administered to the animal. Various proteins are then collected at periodic intervals, isolated, and quantitatively studied as to isotope concentration per unit weight of protein. The peak for the incorporation of the glycine is reached shortly following cessation of administration, following which a decline occurs. This corresponds to the disappearance through degradation of the isotope labeled protein molecules. The rate of decline indicates a constant replacement of the labeled with newly synthesized unlabeled molecules. This is illustrated in Figure 1. It is customary to denote the average time of replacement of these molecules as the half life time of the particular protein being studied.

We are interested in an enzyme, pseudocholinesterase, which is found in human serum, and which we have

<sup>1</sup> R. SCHOENHEIMER, *The Dynamic State of the Body Constituents* (Harvard University Press Cambridge, Mass., 1942).

1 F. E. LEHMANN, *Einführung in die physiologische Embryologie* (Verlag Birkhäuser, Basel 1945), S. 319 ff. - S. TOIVONEN, *Rev. suisse Zool.* 57, 41 (1950). - T. KUUSI, *Ann. Zool. Soc. zool.-bot. Fenn.* «Vanamo» 14, 4, 1 1951.