

Beobachtungen beim Transplantieren von Organanlagen am Embryo von *Loligo vulgaris* (Cephalopoda, Decapoda)

ARNOLD^{1,2} kommt das Verdienst zu, auf die grundsätzliche Möglichkeit der Transplantation von Zellmaterial *in vivo* bei Tintenfischembryonen hingewiesen zu haben. Während es in seinen Untersuchungen darum ging, dissoziiertes und wieder aggregiertes Zellmaterial auf das teilweise freigelegte Dottersyncytium zu übertragen, galt mein Interesse in Anlehnung an die klassischen Experimente der Embryologie dem Versuch, Organanlagen *in toto* in verschiedene Körperregionen des Embryos zu transplantieren. Von einer geeigneten Methode dürfen neue, unerwartete Fragestellungen zur Embryologie dieser interessanten Tiere abhängig gemacht werden.

Zwei Versuche wurden durchgeführt: I) Einer Gruppe von Embryonen im Stadium VII nach NAEF³ wurde je eine Auganlage explantiert und diese entweder als Homo- oder Heterotransplantat entweder ventral in die Arm-Trichter-Gegend oder dorsal in die Mund-Gegend implantiert. Von den 13 erfolgreich operierten Embryonen hatten 6 ein Homotransplantat: 3 in der Ventralseite (2 auswertbar) und 3 in der Dorsalseite (1 auswertbar); und 7 ein Heterotransplantat: 3 in der Ventralseite (3 auswertbar) und 4 in der Dorsalseite (3 auswertbar). Trotz an sich erfolgreicher Operation erlitten 4 Embryonen kurz nach dem Eingriff einen Dotterbruch, verloren das Implantat und schieden für die Bewertung aus. Nie (das gilt auch für den folgenden Versuch) stirbt ein Embryo jedoch an einem Eingriff, da sich selbst kleinste Embryonalfragmente mit noch anhaftender Dottersubstanz weiterentwickeln⁴. Die Embryonen wurden im Stadium XIII–XIV mit SUSA-Gemisch fixiert. II) Einer Gruppe von 5 Embryonen im Stadium VII wurde gleichzeitig je die linke Statocystenanlage und die rechte Tentakelarmanlage explantiert und diese Organanlagen an den beiden Explantationsstellen vertauscht implantiert. 3 Embryonen erlitten kurz nach der Operation Dotterbrüche und schieden aus dem Versuch. Die zwei erfolgreichen Fälle wurden im Stadium XI fixiert.

Für die Versuche wurden die Embryonen mittels Pinzetten aus dem Chorion herausgenommen, bei «halbsteriler» Arbeitsweise operiert und in sterilem Meerwasser aufgezogen⁴. Für die Operationen, ebenfalls in sterilem Meerwasser in Salznäpfchen auf einem Agarboden durchgeführt, waren Platinnadeln (0,025 mm Drahtdurchmesser) und Haarschlingen zweckdienlich. Für Versuch I wurde mit der Platinnadel jeweils zuerst die Implantationsstelle als T-förmiger Schnitt durch Ektoderm und Mesoderm vorbereitet. Weiter wurde die zu explantierende, äusserlich sichtbare Auganlage entlang ihren Konturen ausgeschnitten. Mit der Haarschlinge wurde sie anschliessend vollständig vom Dottersyncytium abgelöst und am neuen Ort mit der Innenfläche wieder auf das Dottersyncytium transplantiert. Beim Ex- wie beim Implantieren wurde stets darauf geachtet, das Dottersyncytium nicht zu verletzen. Die Statocystenanlagen beziehungsweise die Tentakelarmanlagen im Versuch II wurden ebenfalls auf dieselbe Weise mit Platinnadel und Haarschlingen abgelöst und anschliessend einfach vertauscht auf das freiliegende Dottersyncytium der Explantationsstellen gelegt. Stets wurde die transplantierte Organanlage am Rand etwas zwischen Dottersyncytium

und Mesoderm eingefügt und der Embryo so gedreht, dass er mit seinem Eigengewicht das Implantat in seiner Lage fixierte. Nach 3–4 Stunden konnte der operierte Embryo mit einer Pipette in ein Zuchtgefäss überführt werden.

Die Beobachtung der weiteren Embryonalentwicklung zeigt die Zweckmässigkeit der Methode. Der Embryo als Ganzes weist durch die Eingriffe keine Wachstumsstörungen auf. Hinsichtlich der transplantierten Organanlagen, beziehungsweise ihrer Explantations- und Implantationsstellen können bereits wichtige, jedoch noch unzusammenhängende Bemerkungen gemacht werden: 1) Die im Stadium VII verpflanzten Organanlagen verbinden sich mit dem umliegenden Gewebe vollständig.

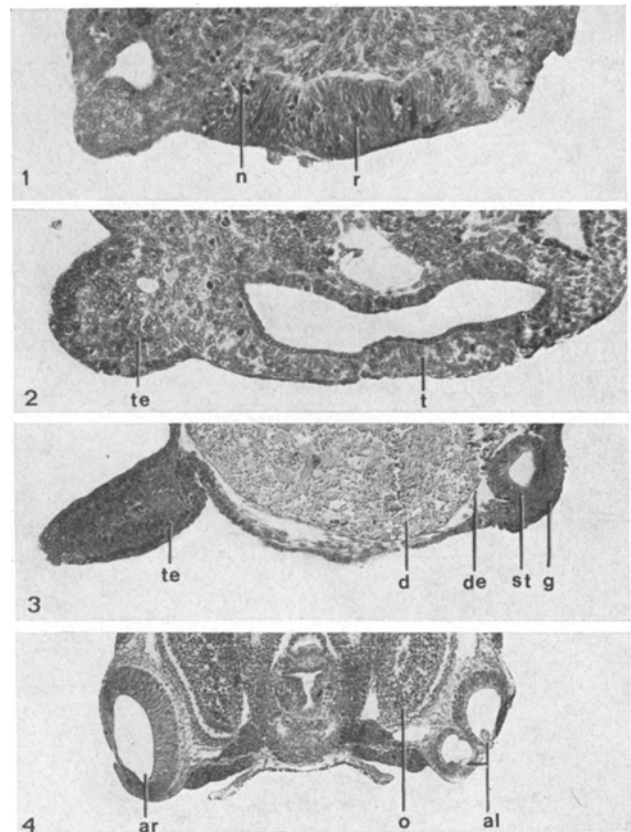


Fig. 1. Querschnitt durch eine in die Trichterregion implantierte Auganlage im Stadium XIII–XIV: Die im Stadium VII implantierte «Auganlage» hat sich als Retina (r) differenziert. Die beginnende Nekrose (n) wird als Hinweis auf eine Abstossungstendenz gegenüber dem ortsfremden Gewebe gedeutet. n, nekrotisierte Zellen. $\times 240$.

Fig. 2. Querschnitt durch eine anstelle der Statocystenanlage implantierte Tentakelarmanlage (te) im Stadium XI: Implantat- und Wirtsgewebe können nicht klar voneinander unterschieden werden. t, Trichter. $\times 204$.

Fig. 3. Querschnitt durch die Armkranzregion eines Embryos im Stadium XI mit einer anstelle der Tentakelarmanlage implantierten Statocystenanlage (st). d, Dotter; de, Dottersyncytium; g, Rest des entfernten Tentakelarms; te, intakter Tentakelarm. $\times 120$.

Fig. 4. Querschnitt durch die Augengegend eines Embryos im Stadium XIII–XIV, dem im Stadium VII die linke Auganlage explantiert wurde. An ihrer Stelle bildeten sich zwei kleine, vollständige Augen (al). ar, intaktes rechtes Auge; o, optisches Ganglion. $\times 75$.

¹ J. M. ARNOLD, Biol. Bull. 127, 380 (1961).

² J. M. ARNOLD, Biol. Bull. 129, 72 (1965).

³ A. NAEF, Fauna Flora Golf Neapel. 35. Monogr. (1921–1928).

⁴ H.-J. MARTHY, Ann. Embr. Morph., im Druck.

Die zum Zeitpunkt der Transplantation determinierten, im histologischen Schnittbild noch weitgehend undifferenzierten Organanlagen differenzieren sich am neuen Ort herkunftsgemäss aus⁵. 2) Die entweder in der Trichter- oder im Mundgebiet liegende «Auganlage von Stadium VII» differenziert sich nur zu einer *Retina* (Figur 1). Es wird kein benachbartes Zellmaterial zur eventuellen Ausbildung eines vollständigen Auges einbezogen. 3) Auf der transplantierten Tentakelarmanlage (Figur 2) treten keine Saugnäpfe auf zum Zeitpunkt, wo solche auf dem intakten Kontrolltentakel erscheinen. 4) Die verpflanzte Statocyste differenziert sich am neuen Ort autonom weiter (Figur 3). 5) An der Explantationsstelle der Auganlage entsteht nach dem Wundverschluss – erwartungsgemäss bei unverletztem Dottersyncytium² – eine Neubildung. Im Gegensatz zu ARNOLD erhalte ich aber in meinen Versuchen (bei den 3 verwertbaren Fällen mit einem Homotransplantat wie bei allen 7 Spendern der als Heterotransplantate benutzten Auganlagen) zwei kleine, jedoch vollständige Augen mit je einer Linse (Figur 4). 6) An den gegenseitigen Implantationsstellen von Statocyste und Tentakelarm lassen sich keine Anzeichen für Neubildungen der entfernten Organanlagen erkennen. 7) Der Organismus zeigt nach Stadium XII gegenüber den im Stadium VII verpflanzten Organanlagen eine zunehmende Abstossungstendenz (Figur 1, n). 8) Weder im Fall der transplantierten Auganlage noch im Austauschexperiment der Statocysten- und Tentakelarmanlage lässt sich mit Sicherheit eine induktive Wirkung des Implantats auf seine Umgebung feststellen. Detailliertere Untersuchungen sind notwendig, um abklären zu können, ob sich etwa die Annahme RANZI's⁶ bestätigen lässt, wonach das Auge sein zugehöriges optisches Ganglion induziert.

Trotz befriedigender Transplantationsversuche ist schliesslich auch eine kritische Bemerkung dazu angezeigt. Das prinzipielle Problem der angewandten Methode liegt darin, dass *Organanlagen auf das Dottersyncytium*

transplantiert werden müssen, da nur so Dotterverlust (und damit eine Wachstumsstörung⁴) vermieden werden kann. Das Dottersyncytium ist aber nach ARNOLD² – und wie eigene Versuche nun zu bestätigen scheinen – Träger eines «morphogenetischen Induktionsplanes». Der Wechselbeziehung und Wechselwirkung also zwischen einer implantierten Organanlage und dem zum Zeitpunkt der Transplantation noch induktiv tätigen Dottersyncytium ist daher (speziell auch im Hinblick auf Punkt 7) besondere Beachtung zu schenken^{7,8}.

Summary. The author describes a method for transplanting the organanlagen of *Loligo vulgaris* embryos. Theanlagen of the eye, the statocyste and the tentacle arm were explanted and transplanted in toto as homo- or heterografts on the vitelline syncytium in different regions of the embryo body. The transplantedanlagen combine perfectly with the host tissue and differentiate according to their original determination.

H.-J. MARTHY⁹

Zoologische Anstalt Basel (Schweiz)
und Laboratoire Arago,
Banyuls-sur-mer (France), 14. Juli 1969.

⁵ S. RANZI, Boll. Soc. ital. Biol. sper. 6, 1 (1931).

⁶ S. RANZI, Boll. Zool. 7, 131 (1930).

⁷ Ausgeführt mit der finanziellen Unterstützung der JANGGEN-PÖHN-STIFTUNG, St. Gallen.

⁸ Die Arbeit konnte am Laboratoire Arago in Banyuls-sur-mer durchgeführt werden. Seinem Direktor, Herrn Prof. P. DRACH, danke ich herzlich für die Gastfreundschaft. Herrn Prof. A. PORTMANN in Basel bin ich im besonderen für seine mannigfache Förderung meiner Arbeit dankbar.

⁹ Derzeitige Adresse: Collège de France, Laboratoire d'Embryologie expérimentale, 49bis, Avenue de la Belle Gabrielle, 94-Nogent-sur-Marne (France).

The Effect of L-Dopa on Monoamine Metabolites in Parkinson's Disease¹

Attempts to replenish the decreased dopamine levels in the brains of patients with Parkinson's disease have led to the therapeutic use of large doses of its precursor, 3,4-dihydroxyphenylalanine (Dopa)^{2,3}. In the brain, Dopa is decarboxylated to dopamine by the enzyme aromatic L-amino-acid decarboxylase. This enzyme decarboxylates several other aromatic amino acids including 5-hydroxytryptophan which is converted to serotonin⁴. In the nervous system, homovanillic acid (HVA) and 5-hydroxyindoleacetic acid (5HIAA) are the main degradation products of dopamine and serotonin, respectively^{5,6}. Aromatic amino acids also have a common specific transport mechanism and changes in circulating levels of one or more amino acids can affect the transport of other amino acids into the brain⁷. The purpose of this investigation was to determine the effect of L-Dopa on the concentrations of HVA, 5HIAA and tyrosine in the cerebrospinal fluid (CSF) and plasma of patients with Parkinson's disease.

Methods. Samples of plasma and CSF were obtained from patients with Parkinson's disease before and during treatment with L-Dopa. Samples were deproteinized and stored at -20°C until analyzed, which was within a week.

The 14 parkinsonian patients had a mean age of 64 years and only one was on anticholinergic medication at the time of this study. L-Dopa was administered orally in 4 equal doses (after meals and 21.00 h). The total daily dose of L-Dopa for each patient was determined individually according to therapeutic response and ranged between 4 and 7.5 g. All blood and CSF samples were obtained between 09.00 and 10.00 h after a 12 h fast and prior to the first dose of L-Dopa. Control CSF for HVA and 5HIAA

¹ This work was supported by USPHS grants No. NB-07542 and No. CA-08341.

² G. C. COTZIAS, M. H. VAN WOERT and L. M. SCHIFFER, New Engl. J. Med. 276, 374 (1967).

³ M. D. YAHN, R. C. DUVOISIN, M. M. HOEHN, M. J. SCHEAR and R. E. BARRETT, Trans. Am. neurol. Ass. 93, 56 (1968).

⁴ A. YUWILER, E. GELLER and S. EIDUSON, Arch. Biochem. 80, 162 (1959).

⁵ N.-E. ANDEN, B.-E. ROOS and B. WERDINUS, Life Sci. 7, 448 (1963).

⁶ G. W. ASHCROFT and D. F. SHARMAN, Nature 186, 1050 (1960).

⁷ G. GUROFF and S. UDENFRIEND, J. biol. Chem. 237, 803 (1962).