

Eine neue Transplantationstechnik bei Hühnerembryonen

Nachdem WILLIER¹ die Chorioallantois als Kultivationsort für embryonale Organe empfohlen hatte, sind in den folgenden Jahren mit dieser Methode vornehmlich auf dem Gebiet der Frühentwicklung des Hühnchens

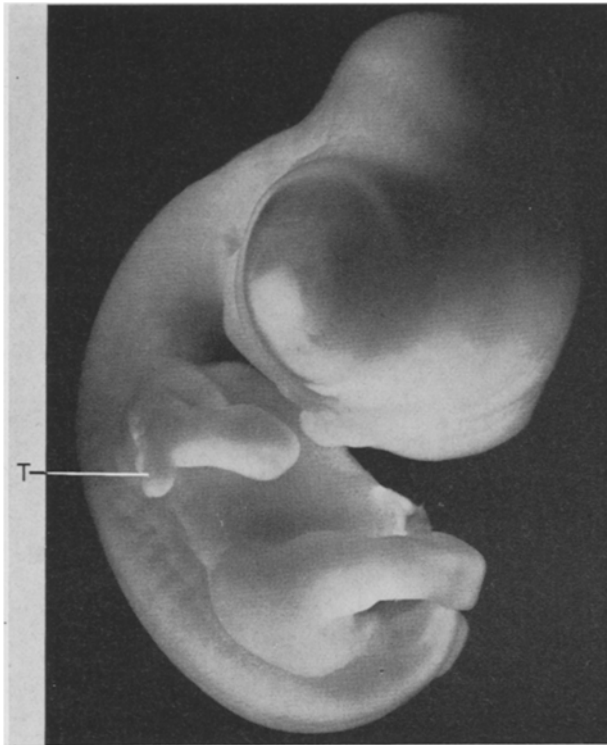


Fig. 1. Sieben Tage alter Hühnerembryo. Am 4. Bebrütungstag ist Ektoderm von einem Embryo im Kopffortsatzstadium auf die Extremität transplantiert worden. T, Transplantat. Ca. 5:1.

wichtige Befunde erhoben worden. Zu einer besonders häufig angewandten Technik hat sich die von HAMBURGER² angegebene Transplantation in das Coelom entwickelt, die in der Folgezeit die verschiedensten Abwandlungen erfahren hat. Erst in jüngster Zeit ist von STEDING³ eine besonders originelle Variante beschrieben worden.

Bei einem speziellen Arbeitsvorhaben ergab sich die Notwendigkeit, für isolierte Ektodermabschnitte junger Hühnerkeimscheiben einen Kultivationsort zu finden, der folgenden Anforderungen gerecht werden sollte. Der Anwachsort sollte erstens exakt im voraus bestimmbar sein. Zweitens sollte eine Abkugelung des epithelialen Transplantats verhindert werden, und drittens sollte es sich in engem und grossflächigem Kontakt mit Mesenchym entwickeln. Dafür wurde die rechte obere Extremität von Hühnerembryonen der Stadien 22–24 (HAMBURGER und HAMILTON⁴) ausgewählt, die leicht operativ zugänglich ist.

Methode. Die Operation wird im einzelnen folgendermassen ausgeführt: 4 Tage bebrütete Hühnereier werden nach der von HAMBURGER⁵ angegebenen Technik geöffnet. Nach Spaltung der Dottermembran über dem Operationsgebiet wird das Amnion in Höhe der oberen Extremität in der Naht mit einer feinen Schere (Sonderanfertigung der Fa. Geuder, Heidelberg) geöffnet. Nachdem die Extremität mit einem Glasbällchen aus dem Amnionsack luxiert worden ist, wird mit einem elektrolytisch zugespitzten Wolframdraht (DOSSEL⁶) das Ektoderm von der Streckseite der Extremität vorsichtig entfernt. Bei diesem Operationsschritt ist dafür Sorge zu tragen, dass die

¹ B. H. WILLIER, *Am. J. Anat.* 33, 67 (1924).

² V. HAMBURGER, *J. exp. Zool.* 77, 379 (1938).

³ G. STEDING, *Acta anat.* 66, 238 (1967).

⁴ V. HAMBURGER und H. L. HAMILTON, *J. Morph.* 88, 49 (1951).

⁵ V. HAMBURGER, *A Manual of Experimental Embryology* (University of Chicago Press, Chicago 1942).

⁶ W. E. DOSSEL, *Lab. Invest.* 7, 171 (1958).

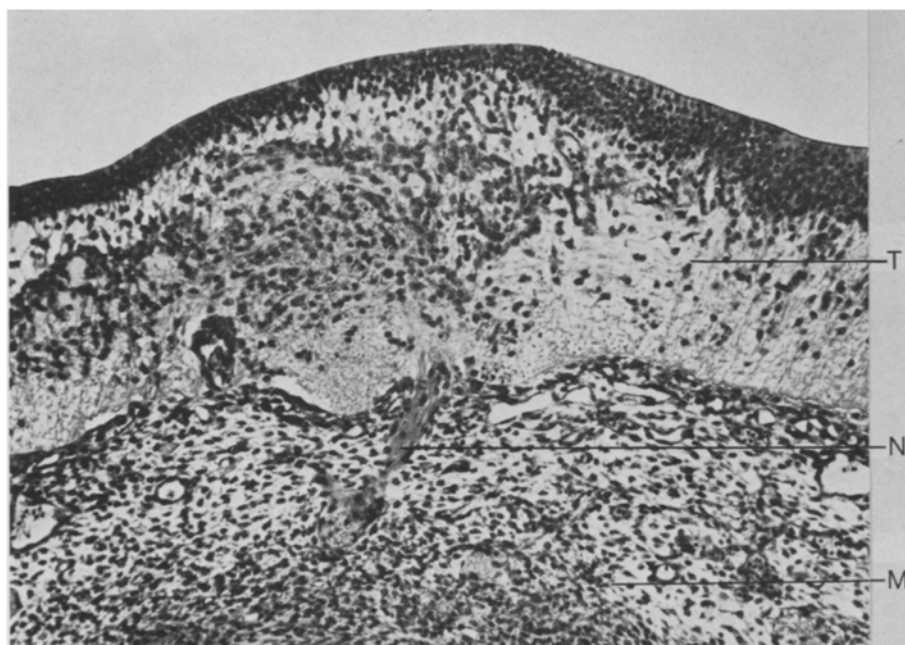


Fig. 2. Schnitt durch ein Ektodermtransplantat von einem Embryo im Kopffortsatzstadium. Kultivationsdauer auf der Extremität: vier Tage. T, Transplantat; M, Extremitätenmesenchym; N, aus dem Transplantat auswachsender Nerv. Ca. 170:1.

Spitze des Wolframdrahtes nicht in tiefere Schichten des Mesenchyms eindringt, damit Blutungen vermieden werden. Das mit einer Spemann-Pipette applizierte Transplantat wird nun mit Hilfe einer Glasnadel auf dem freiliegenden Extremitätenmesenchym ausgebreitet. Anschliessend wird mit einer feinen Pinzette durch Aneinanderdrücken der Wundränder der Amnionsack wieder verschlossen. Durch das über der Extremität nun wieder gespannte Amnion wird das Transplantat an das unterlagernde Mesenchym angedrückt. Nach der Operation werden 2 ml Eiweiss abgesaugt. Das Fenster in der Eischale wird mit wasserfestem Leukoplast verschlossen.

Nach mehrtägiger Wiederbebrütung bereitet die Identifizierung des Transplantats keinerlei Schwierigkeiten (Figur 1). Die Figur 2 lässt die innige Verbindung zwi-

schen Transplantat einerseits und Wirtsmesenchym andererseits erkennen.

Über Ergebnisse, die mit dieser Transplantationstechnik erzielt wurden, wird zu einem späteren Zeitpunkt berichtet werden.

Summary. The right wing bud of 4-day-old chick embryos is suggested as a cultivation site for embryonic epithelial membranes.

B. CHRIST, H. J. JACOB und M. JACOB

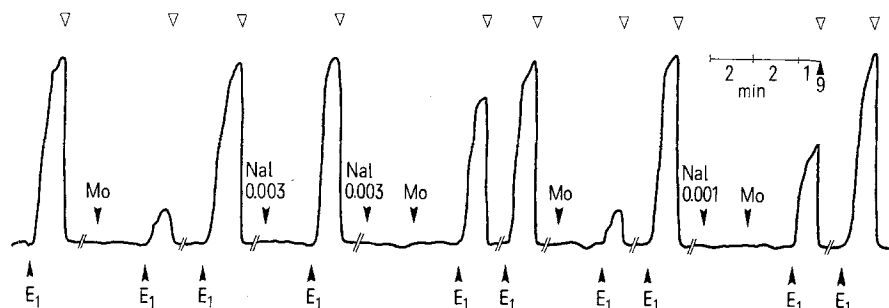
Lehrstuhl I des Institutes für Anatomie der Ruhr-Universität Bochum, Buschestr. 18, D-463 Bochum (Deutschland), 18. Mai 1972.

A Simple in vitro Method of Characterizing Narcotic Antagonists

In previous communications it has been reported that non-steroidal compounds with anti-inflammatory or analgesic properties, or both, counteract contractions elicited in the isolated guinea-pig ileum by arachidonic acid peroxide (AAP). This antagonism therefore affords a means of screening new substances for anti-inflammatory and analgesic activity^{1,2}.

Recently, it was shown that as a rule only narcotic analgesics also antagonize contractions produced in the same organ by prostaglandin E₁ (PGE₁)³, whereas non-steroidal, anti-inflammatory agents are generally inactive against such contractions. The only non-steroidal, anti-inflammatory compound that antagonizes PGE₁-induced contractions of the guinea-pig ileum at concentrations in which it also counteracts those elicited by AAP is tribenoside⁴; this substance also displays an unusually broad spectrum of antagonistic activity in a variety of smooth-muscle organs, including the intestine, the uterus^{5,6} and the veins^{7,8}, whereas it is typically inactive in arterial preparations⁹. The findings made with narcotic analgesics in regard to PGE₁-induced contractions of the guinea-pig small intestine have now been shown to apply equally to narcotic antagonists. It will be demonstrated that with the aid of this test model narcotic antagonists can easily be divided into 'true' antagonists and partial agonists, depending on whether or not they are capable of reversing the inhibitory effect of morphine, or drugs with a morphine-like action, on contractions induced by PGE₁ or AAP. The experiments in question were performed on the isolated guinea-pig jejunum, suspended in Tryode, and not, as on previous occasions, on the ileum¹.

Maximal to submaximal contractions of the jejunum were elicited by adding AAP and PGE₁ (or PGE₂) to the bath fluid at final concentrations of 0.3 and 0.1 µg/ml, respectively. The substances whose capacity to counteract these contractions was to be tested had been introduced 2 min beforehand. Narcotic antagonists devoid of PGE₁-antagonistic activity that were to be tested for anti-morphine effects were added to the organ bath 2 min before morphine. The results obtained with a selection of non-steroidal, anti-inflammatory agents, and narcotic and non-narcotic analgesics are summarized in the Table. It is evident from these data that all 3 categories of pharmacological agents are – as has already been demonstrated in previous papers¹⁻³ – capable of counteracting the contractions elicited by AAP in the isolated guinea-pig intestine. On the other hand, only narcotic analgesics and some narcotic antagonists inhibit the contractions induced by PGE₁, but, as a rule, they have no effect on



Isolated guinea-pig jejunum. Dose-dependent reversal by naloxone (Nal) of the inhibitory effect of morphine (Mo, 0.03 µg/ml) on contractions elicited by PGE₁ (E₁ 0.1 µg/ml). Bath fluid changed at points marked ▽.

¹ R. JAKES, *Helv. physiol. Acta* 17, 255 (1959).

² R. JAKES, *Helv. physiol. Acta* 23, 156 (1965).

³ R. JAKES, *Experientia* 25, 1059 (1969).

⁴ Generic name of ethyl-3,5,6-tri-O-benzyl-D-glucopyranoside (Glyvenol®).

⁵ R. JAKES, G. HUBER, L. NEIPP, A. ROSSI, B. SCHÄR and R. MEIER, *Experientia* 23, 149 (1967).

⁶ R. JAKES and B. SCHÄR, *Schweiz. med. Wschr.* 17, 553 (1967).

⁷ H. HELFER and R. JAKES, *Pharmacology* 5, 23 (1971).

⁸ R. JAKES, *Pharmacology* 4, 193 (1970).

⁹ R. JAKES, in *Current Aspects of Chronic Venous Insufficiency*; Int. Symposium, Porto Cervo 1970, p. 120.