

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. WERDINIUS, 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).

determinations were obtained from psychiatric inpatients who were not on medications. Control samples of CSF and blood for assay of tyrosine were obtained from hospitalized patients without hepatic, renal or endocrine disease, between the ages of 56 and 78 years.

HVA was measured by the method of ANDEN *et al.*⁵, CSF 5HIAA by the method of ASHCROFT and SHARMAN⁸, and tyrosine according to WAALKES and UDENFRIEND⁹. Plasma Dopa was separated on Dowex-50 columns from 18 ml samples of blood and assayed by the method of CARLSSON and WALDECK¹⁰ as modified by LAVERTY and TAYLOR¹¹. The addition of Dopa and dopamine to CSF and plasma were found not to affect the HVA, 5HIAA or tyrosine assays.

Results. Prior to L-Dopa administration, the concentrations of HVA and 5HIAA in the lumbar CSF of 10 patients with Parkinson's disease were significantly lower than that of the control group ($p < 0.005$) (Table I). The subnormal levels of CSF HVA and 5HIAA, also noted by JOHANSSON and ROOS¹², are consistent with the findings that dopamine, HVA and serotonin are decreased in the parkinsonian brain¹³. After 1–2 months of L-Dopa (4–7.5 g/day, orally), the CSF HVA increased approximately 18-fold when measured 12 h after the last dose. Plasma HVA obtained at the same time as the CSF also increased during L-Dopa therapy (Table II). These results do not resolve the question whether CSF HVA comes from the cerebral metabolism of dopamine or from the blood. However, both BERNHEIMER *et al.*¹⁴ and BARTHOLINI *et al.*¹⁵ found that only minor amounts of HVA are found in the CSF after a continuous HVA infusion. They concluded that CSF HVA at least partially reflects the metabolism of brain dopamine.

The CSF 5HIAA of the parkinsonian patients decreased significantly during L-Dopa treatment ($p < 0.005$) (Table

I). Every patient had a lower 5HIAA level during L-Dopa administration than before therapy. The levels of HVA and 5HIAA before or during L-Dopa administration could not be correlated with the neurological findings, age of patient, duration of illness, dose or response to therapy. One parkinsonian patient (not included in Table I) who was able to tolerate only 2 g of L-Dopa per day was subsequently given Probenecid (1.5 g/day). Probenecid increased the CSF HVA from 118 (Dopa) to 980 (Dopa + Probenecid) and the CSF 5HIAA decreased from 22 (Dopa) to 15 (Dopa + Probenecid). Probenecid prevents the active transport of acid amine metabolites from the brain to the blood and thereby increases CSF HVA¹⁶ and 5HIAA^{17,18}. The administration of Dopa may have prevented the expected increase in CSF 5HIAA following Probenecid in this case.

Both CSF and plasma tyrosine levels were normal in Parkinson's disease (Table I). Plasma tyrosine decreased during L-Dopa therapy ($p < 0.005$); CSF tyrosine did not change significantly ($p < 0.50$). Prior to L-Dopa administration, plasma Dopa was not detectable, but significant levels of plasma Dopa were found 12 h after the last dose of this amino acid (Table II).

Discussion. The CSF changes in HVA and 5HIAA produced by L-Dopa may be important in understanding the therapeutic and toxic effects of this amino acid. The very high levels of CSF HVA 12 h after the last dose of L-Dopa would suggest that dopamine levels in the brain are also markedly increased during this therapy. This explanation would be compatible with the clinical side effects of nausea, vomiting and involuntary chewing movements which have been associated with dopaminergic nerve stimulation in animals¹⁹.

Considerable evidence suggests that CSF 5HIAA is derived from brain serotonin^{16,17}. Dopa and dopamine

Table I. CSF HVA, 5HIAA, tyrosine and plasma tyrosine in parkinsonian patients and controls before and during L-Dopa therapy

	No. of patients	Controls	Parkinsonian patients		
			No. of patients	Before Dopa therapy	During Dopa therapy
CSF HVA (ng/ml)	31	23 $\pm$ 2	10	<10 $\pm$ 1*	183 $\pm$ 30
CSF 5HIAA (ng/ml)	27	30 $\pm$ 2	10	20 $\pm$ 2	11 $\pm$ 2
CSF tyrosine (μ g/ml)	18	1.63 $\pm$ 0.20	10	1.67 $\pm$ 0.10	1.54 $\pm$ 0.14
Plasma tyrosine (μ g/ml)	16	10.2 $\pm$ 0.7	14	10.7 $\pm$ 0.4	8.8 $\pm$ 0.4

All CSF and blood samples were obtained fasting between 09.00 and 10.00 h, 12 h after the last dose of L-Dopa. The daily dose of L-Dopa ranged from 4–7.5 g orally. The values are the means $\pm$ S.E.M. * 5 of the values were less than 8 ng/ml, which was below the lower sensitivity of the method.

Table II. Concentrations of plasma HVA and Dopa in Parkinsonian patients before and during L-Dopa therapy

	Plasma concentration (ng/ml)	
	Before Dopa therapy	During Dopa therapy
HVA	< 20 (4)	1058 $\pm$ 262 (6)
Dopa	0 (4)	835 $\pm$ 100 (8)

The blood samples were obtained at the same time as in Table I. The daily dose of L-Dopa ranged from 4–7.5 g orally. The values are the mean $\pm$ S.E.M. and the number of patients is in parenthesis.

⁸ G. W. ASHCROFT and D. F. SHARMAN, *Br. J. Pharmac.* 19, 153 (1962).

⁹ T. P. WAALKES and S. UDENFRIEND, *J. Lab. clin. Med.* 50, 733 (1957).

¹⁰ A. CARLSSON and B. WALDECK, *Acta physiol. scand.* 44, 293 (1958).

¹¹ R. LAVERTY and K. M. TAYLOR, *Analyt. Biochem.* 22, 269 (1968).

¹² B. JOHANSSON and B.-E. ROOS, *Life Sci.* 6, 1449 (1967).

¹³ H. BERNHEIMER and O. HORNYKIEWICZ, *Arch. exp. Path. Pharmac.* 247, 305 (1964).

¹⁴ H. BERNHEIMER, W. BIRKMAYER and O. HORNYKIEWICZ, *Wien. klin. Wschr.* 23, 417 (1966).

¹⁵ G. BARTHOLINI, A. PLETSCHER and R. TISSOT, *Experientia* 22, 609 (1966).

¹⁶ R. OLSSON and B.-E. ROOS, *Nature* 219, 502 (1968).

¹⁷ M. B. BOWERS and F. GERBODE, *Life Sci.* 7, 772 (1968).

¹⁸ H. C. GULDBERG, G. W. ASHCROFT and T. B. B. CRAWFORD, *Life Sci.* 5, 1571 (1966).

¹⁹ A. M. ERNST and P. G. SMELIK, *Experientia* 22, 837 (1966).

are potent inhibitors of brain tryptophan hydroxylase²⁰, the rate limiting enzymic step in serotonin biosynthesis. This may be the mechanism producing the decrease in CSF 5HIAA induced by L-Dopa therapy. However, Dopa could also competitively inhibit cerebral decarboxylation of 5-hydroxytryptophan or interfere with the transport of serotonin precursors into the brain.

The metabolic conversion of Dopa to its metabolites proceeds very rapidly after a single dose²¹. The presence of L-Dopa in the plasma 12 h after the last dose suggests that with chronic administration of 4–7.5 g of L-Dopa daily, this amino acid accumulates and is stored in the tissues. An alternate hypothesis is that aromatic L-amino-acid decarboxylase is totally saturated by L-Dopa and is unable to convert all of the available Dopa to dopamine.

Résumé. L'administration de L-Dopa chez les patients atteints de la maladie de Parkinson provoquait, dans le

liquide céphalo-rachidien, une augmentation de la concentration d'acide homovanillique et une baisse de la concentration de l'acide 5-hydroxyindoleacétique, ainsi que de la concentration plasmatique de tyrosine.

M. H. VAN WOERT and M. B. BOWERS JR.

*Departments of Internal Medicine,
Pharmacology and Psychiatry,
Yale University School of Medicine,
New Haven (Connecticut, USA), 25 August 1969.*

²⁰ E. JEQUIER, D. S. ROBINSON, W. LOVENBERG and A. SJOERDSMA, *Biochem. Pharmac.* 18, 1071 (1969).

²¹ A. PLETSCHER, G. BARTHOLINI and R. TISSOT, *Brain Res.* 4, 106 (1967).

Untersuchungen über die β -adrenolytische Wirkung sowie den Einfluss auf Refraktärzeit und Kontraktilität von INPEA und MJ 1999 am Meerschweinchenvorhof

Nach Untersuchungen von SOMANI und LUM^{1,2} sind weder N - Isopropyl - p - Nitrophenyläthanolamin - HCl (INPEA) noch 4-(2-Isopropylamino-1-hydroxyäthyl)-methansulfonanilid-HCl (MJ 1999) in der Lage, die durch Ouabain verursachten Arrhythmien am Hundeherzen zu regularisieren. An der Katze dagegen liessen sich diese Arrhythmien durch MJ 1999 aufheben und am isolierten Kaninchenvorhof eine Verlängerung der Refraktärzeit erzielen³. MJ 1999 ist nur schwach lokalanästhetisch wirksam³. Nachdem HERMANSEN⁴ vor kurzem am Meerschweinchen auch für INPEA eine antiarrhythmische sowie eine schwache lokalanästhetische Wirkung nachweisen konnte, haben wir geprüft, ob INPEA wie MJ 1999 die Refraktärzeit verlängert. Zusätzlich sollte mit Hilfe der optischen Isomeren des INPEA, die unterschiedlich β -adrenolytisch wirken⁵, geklärt werden, ob der spezifisch β -adrenolytischen oder der mehr unspezifischen, lokalanästhetischen Wirkung die grössere Bedeutung für die Verlängerung der Refraktärzeit zukommt.

Die Versuche wurden an elektrisch gereizten linken Vorhöfen (1 Hz, 6-fache Schwellenspannung) von Meerschweinchen durchgeführt, die in Tyrode bei 30°C suspendiert waren. Untersucht wurden 1) die β -adrenolytische Wirkung von D(-)INPEA, L(+)-INPEA im Vergleich zu (+,-)MJ 1999 gegenüber dem Effekt von 0,59 μ M/l Noradrenalin = 100%; 2) der Einfluss dieser Substanzen auf die Refraktärzeit und 3) auf die Kontraktionskraft als Mass für die unspezifische Wirkung. Die Refraktärzeit wurde mit der Methode der gepaarten Stimulierung^{6,7} bestimmt, die Kontraktionskraft mit dem Dehnungsmeßstreifen auf einem Direktschreiber registriert. Die Einwirkungs-dauer der Substanzen betrug jeweils 10 min.

Von den beiden optischen Isomeren des INPEA war nur die D(-)Form β -adrenolytisch wirksam, die L(+)-Form verursachte bis zur höchsten Konzentration von 1 mM/l keine Hemmung der positiv inotropen Wirkung des Noradrenalins (Tabelle). Die Konzentrationen für eine 35%ige Hemmung der Noradrenalinwirkung betrugen für D(-)INPEA 0,68 und für (+,-)MJ 1999 1,5 μ M/l, D(-)INPEA ist damit 2,2 mal wirksamer als (+,-)MJ 1999.

Die *Refraktärzeit*, die bei den Kontrollversuchen zwischen 75 und 135 msec betrug, wurde durch alle Substanzen konzentrationsabhängig verlängert (Figur). Das β -adrenolytisch wirksame D(-)INPEA verlängerte die Refraktärzeit am stärksten, das nicht β -adrenolytisch wirksame L(+)-INPEA war weniger wirksam. Die Konzentrationen, die die Refraktärzeit um 35% (ED₃₅) verlängerten, betrugen für D(-)INPEA beziehungsweise L(+)-INPEA 26 beziehungsweise 65 μ M/l (Tabelle). Das in unseren Versuchen β -adrenolytisch am wenigsten

Isolierter, elektrisch gereizter Meerschweinchenvorhof: Vergleich der Konzentrationen von D(-)INPEA, L(+)-INPEA und (+,-)MJ 1999, die eine gleichstarke β -adrenolytische, negativ inotrope und die Refraktärzeit verlängernde Wirkung verursachen

Substanz	β -adrenolytische Wirkung (μ M/l)		Verlängerung der Refraktärzeit (μ M/l)	Hemmung der Kontraktionsamplitude (μ M/l)
	ED ₅₀	ED ₃₅	ED ₃₅	ED ₃₅
D(-)INPEA n = 5	1,7	0,68	26,0	580,0
L(+)-INPEA n = 5	>1000,0		65,0	575,0
(+,-)MJ 1999 n = 5	3,8	1,5	140,0	>3000,0

¹ P. SOMANI und B. K. B. LUM, *J. Pharmac. exp. Ther.* 147, 194 (1965).

² P. SOMANI und B. K. B. LUM, *J. Pharmac. exp. Ther.* 152, 235 (1966).

³ C. RAPER und J. WALE, *Europ. J. Pharmac.* 4, 1 (1968).

⁴ K. HERMANSEN, *Br. J. Pharmac. Chemother.* 35, 476 (1969).

⁵ J. V. LEVY, *Europ. J. Pharmac.* 2, 250 (1968).

⁶ W. C. GOVIER, N. C. MOSAL, P. WHITTINGTON und A. H. BROOM, *J. Pharmac. exp. Ther.* 154, 255 (1966).

⁷ B. G. BENFEY und D. R. VARMA, *Br. J. Pharmac. Chemother.* 30, 603 (1967).