

Die Wirkung von D-Lysergsäure-diäthylamid (LSD 25) und 5-Oxytryptamin auf die Chromatophoren von *Poecilia reticulatus*

Das von STOLL und HOFMANN¹ hergestellte D-Lysergsäure-diäthylamid (LSD 25 oder Delysid) hat durch seine ausgeprägte vegetative und psychische Wirksamkeit beim Menschen vor allem in der Psychiatrie Bedeutung erlangt². Obwohl LSD 25 auch im Tierexperiment interessante Effekte entfaltet, ist es nicht leicht, die spezifische Wirkungsweise dieses Stoffes an Hand pharmakologischer Tests zu erfassen. Daran hat auch die erst in neuerer Zeit hinzugekommene Erkenntnis, dass LSD 25 ein hochaktiver Antagonist des 5-Oxytryptamin (Serotonin, Enteramin) ist³, nichts geändert. Denn Körper, welche dem LSD 25 chemisch sehr nahe stehen und dasselbe als Serotoninhemmer zum Teil übertreffen, besitzen keine LSD-artige Wirkung am Menschen (Literatur bei CERLETTI und ROTHLIN⁴).

Auf der Suche nach einfachen LSD-Testen haben wir schon vor einigen Jahren u.a. auch präliminäre Versuche an Weibchen des verbreiteten Zierfisches Guppy (*Poeci-*

lia reticulatus) durchgeführt und dabei eine charakteristische Wirkung des LSD 25 auf die Chromatophoren festgestellt. Wir haben diese Wirkung seither näher zu präzisieren versucht und können unsere bisherigen Befunde folgendermassen zusammenfassen: Die Tiere werden für den Versuch einzeln in Küvetten mit 30 ml Brunnenwasser (Zimmertemperatur) gebracht und an helle Umgebung adaptiert. Werden dem Wasser 1–2 $\mu\text{g/ml}$ oder mehr LSD 25 zugefügt, so entwickelt sich eine deutliche Dunkelfärbung der normalerweise glasig-grauen Tiere. Die Grundfarbe wird gelblichgrau und später grauschwarz; die den Schuppengrenzen entsprechende Zeichnung verstärkt und verbreitet sich. In den Flossen wird die Pigmentation in Form von Körnchen besonders gut sichtbar. Bei höheren Konzentrationen von LSD 25 setzt dieser Effekt bereits nach einigen Minuten ein, während bei stärkeren Verdünnungen die Wirkung in der Regel erst nach 60–120 min voll entwickelt ist.

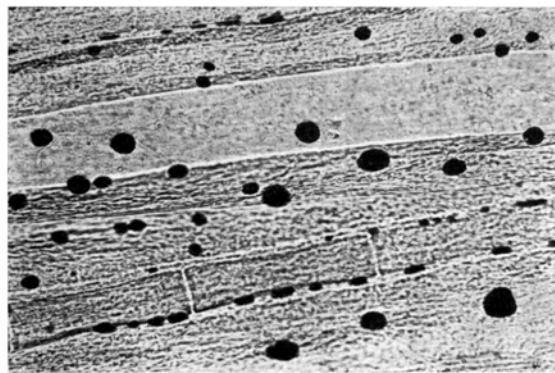
Zur mikroskopischen Untersuchung eignen sich besonders die in Bouinscher Lösung fixierten Rückenflossen von über 25 mm langen Tieren. Es zeigt sich hierbei, dass bereits Dosen unterhalb 1 $\mu\text{g/ml}$ eine gewisse Wirkung ausüben können. Die Chromatophoren des helladaptierten Tieres erscheinen als kompakte, dunkle «Scheiben» mit ziemlich scharfer Kontur (Abb. 1A). Gerade noch wirksame Konzentrationen von LSD 25 lockern diese Gebilde auf: es entstehen «Klumpen»- und «Stechapfel»-Formen (Abb. 1B). Nach grösseren Mengen von LSD 25 breitet sich das Pigment weiter aus: die Chromatophoren zeigen lange Fortsätze («Spinnen», Abb. 1C). Noch höhere Konzentrationen bewirken weitere Auflockerung und feinere Verteilung des Pigmentes

¹ A. STOLL und A. HOFMANN, Helv. chim. Acta 26, 944 (1943).

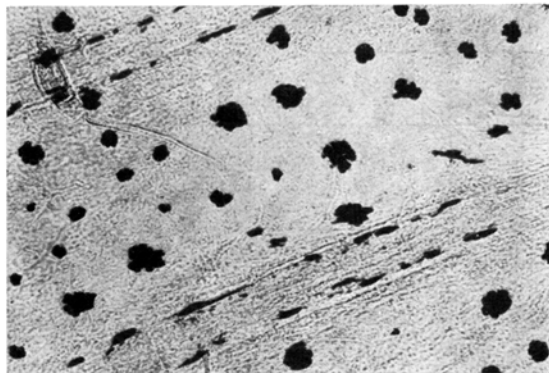
² A. M. BECKER, Wien. Z. Nervenhk. 2, 402 (1949). – G. R. FORRER und D. R. GOLDNER, Arch. Neurol. (Amer.) 65, 581 (1951). – W. FREDERKING, Psyche 7, 342 (1953/54). – R. A. SANDISON, A. M. SPENCER und J. D. A. WHITELAW, J. Ment. Sci. 100, 491 (1954). – W. A. STOLL, Schweiz. Arch. Neurol. 60, 279 (1947).

³ J. H. GADDUM und K. A. HAMEED, Brit. J. Pharmacol. 9, 240 (1954). – K. H. GINZEL und S. R. KOTTEGODA, Quart. J. Exper. Physiol. 38, 225 (1953).

⁴ A. CERLETTI und E. ROTHLIN (im Druck).



A



B



C



D

Abb. 1. Rückenflossen von *Poecilia reticulatus* ♀, fixiert in Bouinscher Lösung, 270fache Vergrösserung. A helladaptiertes Kontrolltier («Scheiben»); B 0,4 $\mu\text{g/ml}$ LSD 25 («Klumpen» und «Stechapfel»); C 1,6 $\mu\text{g/ml}$ LSD 25 («Spinnen»); D 25,6 $\mu\text{g/ml}$ LSD 25 («aufgelockerte Spinnen»). Versuchsdauer 120 min.

(«aufgelockerte Spinnen», Abb. 1 D). Auch die Chromatophoren der Haut verändern sich charakteristisch.

Das regelmässige Auftreten der oben beschriebenen Veränderungen der Chromatophoren in der Rückenflosse bei steigenden Konzentrationen von LSD 25 erlaubt einen quantitativen Vergleich der diesbezüglichen Wirkung chemisch verwandter Substanzen. Setzt man die Aktivität von D-Lysergsäure-diäthylamidtartrat willkürlich gleich 100, so beträgt diejenige seines linksdrehenden Isomers (L-Lysergsäure-diäthylamidtartrat) etwa 3, die von D-1-Brom-lysergsäure-diäthylamidbitartrat rund 250 und die von Methyl-ergobasintartrat (Methergin) etwa 0,8.

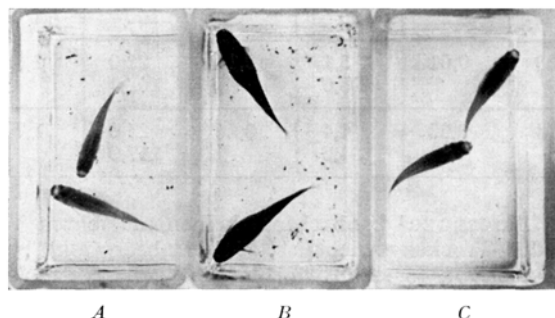


Abb. 2. *Poecilia reticulatus* ♀. A helladaptierte Kontrolltiere; B 25 µg/ml LSD 25 während 120 min; C 1000 µg/ml 5-Oxytryptamin 120 min lang, dann zusätzlich 25 µg/ml LSD 25 120 min lang.

5-Oxytryptamin-kreatininsulfat, in grossen Dosen prophylaktisch verabreicht, verhindert die Wirkung von LSD 25 auf die Chromatophoren (Abb. 2). Die hierzu nötigen Konzentrationen von 5-Oxytryptamin sind zwar gross (zum Beispiel 500 µg/ml oder 1000 µg/ml), haben aber auf die Farbe der Fische auch bei längerer Einwirkung in der Regel keinen Einfluss. Nur gelegentlich zeigen einige Tiere leichte Dunkelfärbung. Während die Hemmung von 5-Oxytryptamin-Effekten durch LSD 25 in zahlreichen verschiedenen Testen nachgewiesen werden kann, ist der umgekehrte Antagonismus von Serotonin gegenüber LSD 25 wohl schon erörtert, aber bisher noch nicht so eindeutig demonstriert worden, wie das an Hand der Chromatophorenreaktion gelungen ist.

A. CERLETTI und B. BERDE

Pharmakologisches Laboratorium der Sandoz AG, Basel, den 14. Mai 1955.

Summary

D-lysergic acid diethylamide (LSD 25) has a characteristic effect on the chromatophores of the female fish guppy (*Poecilia reticulatus*). This effect can be prevented by prophylactic administration of 5-hydroxytryptamine (serotonin, enteramine).

Quantitative Untersuchungen über den Nukleinsäureverlust des Gewebes bei Fixierung und Einbettung¹

Die histochemische Untersuchung von Geweben erfordert in den meisten Fällen eine Vorbehandlung (Fixierung, Einbettung), über deren Auswirkung auf die Struktur und die chemische Zusammensetzung der Zellsubstanzen wir bisher nur mangelhaft unterrichtet sind. Für den quantitativen Nachweis bestimmter Zellbestandteile muss neben vielen anderen Voraussetzungen

gefordert werden, dass die Vorbehandlung des Gewebes keinen Verlust der nachzuweisenden Substanz zur Folge hat.

Zur quantitativen histochemischen Erfassung der Nukleinsäuren stehen uns einmal färbereiche Reaktionen zur Verfügung (Feulgenreaktion für Desoxyribonukleinsäure, Gallozyaninchromalaun für Desoxy- und Ribonukleinsäure SANDRITTER¹, DIEFENBACH²), zum anderen die lichtoptische Methode von CASPERSSON³. Neben einem Verlust von Nukleinsäuren muss bei beiden Methoden mit anderen Veränderungen (Maskierung reaktiver Gruppen, unspezifische Absorption und anderes) gerechnet werden. Mehrere Autoren (SYLVEN⁴, HARBERS und NEUMANN⁵, SIBATANI und FUKUDA⁶ und andere) haben sich in jüngster Zeit mit dieser Frage beschäftigt und kamen zu widersprechenden Ergebnissen. Unsere eigenen quantitativen ultraviolettmikroskopographischen Untersuchungen⁷ veranlassten uns, der Frage nach einem möglichen Nukleinsäureverlust durch die Fixation, Einbettung und Nachbehandlung des Gewebes nachzugehen.

Methodik. Die Untersuchungen wurden an der Leber von Kaninchen durchgeführt. Zur quantitativen chemischen Bestimmung der Nukleinsäuren verwendeten wir mehrere Methoden gleichzeitig nebeneinander. Der Gehalt an Desoxyribonukleinsäurephosphor (DNSP.) und Ribonukleinsäurephosphor (RNSP.) wurde nach SCHMIDT und TANNHAUSER und OGUR und ROSEN bestimmt, ausserdem wurden die Perchlorsäureextrakte des Gewebes bei 260 mµ Wellenlänge im Beckmann-Photometer gemessen. Alle Methoden ergaben eine gute Übereinstimmung, obwohl bei der Schmidt-Tannhauser-Methode die Variationsbreite der Ergebnisse grösser war als bei der Methode nach OGUR und ROSEN. Als Ausgangswerte dienten die Ergebnisse der Nukleinsäurebestimmungen des Frischgewebes (2 cm³ Material). Das Gewebe wurde in Formalin (Verdünnung 1:10) fixiert (24 h Zimmertemperatur) oder in Carnoy'scher Lösung (2 h Zimmertemperatur). Ein Teil des fixierten Gewebes wurde unter den üblichen Bedingungen (70, 96 % Alkohol, Azeton, Xylol) in Paraffin eingebettet, *in toto* entparaffiniert (Xylol, 96, 70 % Alkohol, Aqua dest.) und zur Bestimmung der Nukleinsäuren homogenisiert. Der andere Teil des Gewebes wurde ohne Einbettung unmittelbar nach der Fixation verarbeitet. Zur Kontrolle wurden die Fixierungsmittel und die zur Nachbehandlung angewandten Flüssigkeiten konzentriert und papierchromatographisch auf ihren Nukleinsäure- und Eisweisskörpergehalt untersucht (Kontaktphotographie im UV.-Licht, Ninhydrin-Amidoschwarz- und Gallozyaninchromalaunfärbung). Die Ergebnisse wurden statistisch ausgewertet und die Signifikanz durch Fehlerrechnung gesichert.

Ergebnisse. Die Tabelle zeigt den Nukleinsäure-Phosphorgehalt verschieden vorbehandelten Gewebes in mg P und den Nukleinsäuregehalt nach Umrechnung aus den Extinktionswerten bei 260 mµ Wellenlänge.

¹ W. SANDRITTER, M. DIEFENBACH und F. KRANTZ, *Exper.* 10, 210, (1954).

² H. DIEFENBACH und W. SANDRITTER, *Acta Histochem.* 1, 55 (1954).

³ T. O. CASPERSSON, *Cell Growth and Cell Function* (W. W. Norton, New York 1951).

⁴ B. SYLVEN, *Extrait de Acta Union Internationale contre le Cancer* 7, 700 (1951); *Freezing and Drying* (published by the Institute of Biology London 1951, S. 169).

⁵ E. HARBERS und K. NEUMANN, *Z. Naturforschg.* (im Druck).

⁶ A. SIBATANI und M. FUKUDA, *Biochim. Biophys. Acta* 10, 93 (1953).

⁷ W. SANDRITTER, *Frankfurter Z. Path.* 64, 520 (1953).

¹ Ausgeführt mit Mitteln der Deutschen Forschungsgemeinschaft.