

assumed that discrepancies between observed and expected haematocrit values were due to haemolysis. Dye concentrations were calculated on the assumption that no haemolysis or change in cell size had occurred at the moment when the dye was added to the blood.

It was found that Evan's Blue dye had little or no effect on the packed red cell volume in the case of human, rabbit and goat blood over the range of concentrations investigated. The comparative susceptibility of dog erythrocytes to the dye¹ was confirmed; but it was also observed that when concentrations were used above that at which marked haemolysis occurred, there was a progressive increase in stability of cells with increasing concentration of dye (Fig. 1). A similar pattern of changes but of slight degree was discerned on plotting the results found with human blood on an appropriate scale (Fig. 2).

Examination by means of phase-contrast microscopy² showed that dog red cells were reduced in size and crenated by T-1824, but that these effects were minimal at the extremes of the dye concentrations investigated (Fig. 3).

It seems reasonable to suppose that these effects were due to Evan's Blue dye itself rather than to other substances which could only have been present in very minute amounts.

G. R. WADSWORTH

*Department of Physiology, University of Liverpool,
June 15, 1955.*

Zusammenfassung

Bei Behandlung mit hohen Konzentrationen von Evan's Blue sind rote Blutkörperchen von Hunden weniger stabil als solche von Menschen, Kaninchen oder Ziegen. Die Hundeerythrozyten wurden am stärksten angegriffen bei Konzentrationen von T 1824 zwischen 2–6 mg/cm³ und zeigen zunehmende Stabilität, wenn die Farbstoffkonzentrationen über oder unter diesem Wert liegen.

¹ T. H. ALLEN and M. I. GREGENSEN, *Amer. J. Physiol.* 172, 377 (1953).

² I wish to thank Dr. J. KRUSZYNSKI for making these photographs.

Leukocytenemigrationsförderung durch Antigen-Antikörper-Reaktion *in vitro*

Untersuchungen der Antigen-Antikörper-Reaktion an Leukozyten mit zellständigem Antigen haben bisher nur schädigende Wirkungen ergeben, die von der Anwesenheit von Komplementen abhängig sind¹. Bei der Bedeutung der zellulären Reaktion bei allergischem Geschehen schien es richtig, zu untersuchen, ob es nicht gelingt, durch Modifikation der experimentellen Bedingungen andersartige Wirkungen zu erhalten.

Methodisch verwendeten wir für die Ermittlung der Wirkung die früher beschriebene Auswanderung von Hühnerleukozyten in einem Medium von Hühnerplasma und 10% Hühnerembryonalextrakt aa. in der modifizierten Petrischale². Als Antiseren überschichteten wir:

1. hämolysierendes Antihühnerkaninchenserum
2. hämolysierendes Antihühnermeerschweinchenserum
3. agglutinierendes inaktiviertes Antihühnerkaninchenserum
4. präzipitierendes Antihühnergansserum (BEHRING)
5. normale Kontrollseren in gleichen Verdünnungsreihen.

Hämolysierende und agglutinierende Antiseren hemmen in hohen Konzentrationen durch Zellschädigung und Agglutination die Auswanderung. Bei zunehmender Verdünnung des Antiserums wird das Auswanderungsareal zunächst dem der Kontrollen gleich, bei weiterer Verdünnung nimmt das Auswanderungsareal aber über das der Kontrollen zu und geht über ein Maximum wieder auf den Kontrollwert zurück. Komplementinaktivierte (56°C/h) und membranfiltrierte (Porendichte 500–1000 m μ) Antiseren zeigen denselben Kurvenverlauf, sind jedoch weniger wirksam.

Das präzipitierende Antiserum (Tier spez. 1:20000, unspez. 1:10000) führt nur zu einer Auswanderungsförderung bis zur Verdünnung von 2:3.

Bringt man Tropfen der Serumverdünnungen auf der Plasmaoberfläche im geeigneten Abstand von den Leukozyten an, so ergibt sich eine der allgemeinen Emigrationsförderung entsprechende chemotaktische Wirkung.

Unter gleichen Kautelen zubereitete und verwendete normale Seren von Ratten, Kaninchen, Meerschweinchen und Menschen hatten keine nennenswerte Wirkung auf die Leukozytenauswanderung.

Unter Verwendung des präzipitierenden Gans-Antihühnerserums liess sich zeigen, welcher Anteil der Reaktionsprodukte die leukozytenemigrationsfördernde Wirkung enthält. Die Präzipitierung wurde in paraffinierten oder silikonisierten Röhrchen mit heparinisiertem (100 γ /cm³) Hühnerplasma desselben Tieres durchgeführt, dessen Leukozyten und Plasma zum Emigrationsversuch herangezogen wurden. Das eisgekühlte Plasma wurde mit der halben Menge präzipitierendem Serum vermischt, 3 h bei 0°C gehalten, eisgekühlt zentrifugiert. Durch Abhebern wurde die überstehende Flüssigkeit vom Präzipitat getrennt. Die Prüfung ergab Unwirksamkeit des überstehenden Plasma-Serum-Gemisches und Wirksamkeit des in Tyrode aufgenommenen Präzipitates. Heparinisiertes Hühnerplasma mit Tyrode an Stelle von präzipitierendem Serum verdünnt und sonst in obiger Weise behandelt ist unwirksam.

Von den bei der Antigen-Antikörper-Reaktion entstehenden Stoffen scheiden Histamin und Serotonin als mögliche Wirkstoffe aus, da sie auf Leukozyten *in vitro* unwirksam sind. Heparin und Bradykinin besitzen zwar eine geringe leukozytenemigrationsfördernde Wirkung (10⁻⁴), sie sollten sich aber in der Lösung vorfinden. Da nur das Präzipitat wirksam ist, sind folgende Möglichkeiten hinsichtlich der stofflichen Ursache der Wirkung in Betracht zu ziehen: 1. Adsorption eines Wirkstoffes an die Fällung, 2. Entstehung eines neuen chemischen Produktes durch die Fällung, 3. physikalische Wirkung des Präzipitates auf Bestandteile des Milieus. Besonders müssen wohl Lipopolysaccharide oder ihre Derivate als wirkende Stoffe in Betracht gezogen werden¹.

Ganz unabhängig von der endgültigen Abklärung dieser Frage ist mit den vorliegenden Befunden zum ersten Mal der Nachweis erbracht worden, dass im Immunserum bei der Antigen-Antikörper-Reaktion neben Stoffen, die Gefässerkrankung, Permeabilität und

¹ B. SCHÄR und R. MEIER, *Schweiz. Z. Allg. Path. Bakt.* 14, 618 (1951).

² R. MEIER und B. SCHÄR, *Exper.* 7, 308 (1951).

¹ R. MEIER und B. SCHÄR, *Exper.* 10, 376 (1954). – M. R. SHET-LAR, *Texas Rep. Biol. Med.* 10, 228 (1952). – F. B. SEIBERT *et al.*, *J. Clin. Invest.* 26, 90 (1947). – R. J. WINZLER und I. J. SMITH, *J. Clin. Invest.* 27, 617 (1948). – H. E. WEIMER, J. REDLICH-MOSHIN und E. L. NELSON, *J. Immunol.* 74, 213 (1955).

Blutgerinnung beeinflussen, auch solche entstehen, bzw. freigesetzt werden, die für die Auslösung von zellulären Gewebsreaktionen als ursächliche Faktoren in Betracht kommen. Es wird notwendig sein, bei der Wichtigkeit dieser Faktoren eine chemische Charakterisierung derselben zu versuchen.

R. MEIER und B. SCHÄR

Wissenschaftliche Laboratorien der CIBA Aktiengesellschaft Basel, den 10. Juli 1955.

Summary

Pronounced stimulation of leucocytic migration can be produced by addition of low concentrations of different anti-chicken anti-sera to chicken leucocytes migrating in corresponding plasma. The effective substance is present in the precipitate produced by precipitating anti-serum.

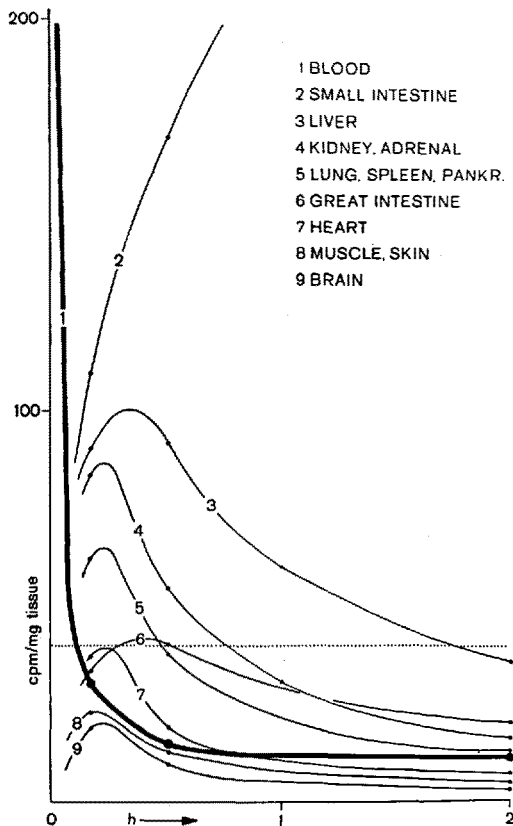
Distribution and Fate of ^{14}C -labeled Lysergic Acid Diethylamide (LSD 25) in the Animal Body

Lysergic acid diethylamide¹, which, as discovered in this laboratory some years ago², has an extraordinary powerful effect on the human psyche, has since found widespread interest in research on the genesis of mental disease. In this connection we have been interested in questions concerning the distribution and fate of the compound in the living body. In the present paper we present some results obtained with ^{14}C -labeled LSD³.

The ^{14}C -LSD (50 μg , 0.81×10^6 cpm per animal, dissolved as the tartrate in saline) was injected into the caudal vein of white mice, which were decapitated in series of three after 10, 30, 60, and 120 min. The organs of the animals belonging to the same series were combined, homogenized with water, and aliquots of the suspensions were analysed after freeze-drying. For the combustion we used the apparatus of ANDERSON *et al.*⁴, modified for wet oxidation. The counting was carried out using proportional gas counters⁵ connected to a Tracerlab pulse amplifier and Superscaler. The results are presented graphically in the Figure. For comparison of the values given it is useful to bear in mind that a homogeneous distribution throughout the body of the radioactivity administered would result in a specific activity of 40 cpm per mg tissue (dotted line).

From the Figure it can be concluded that practically the whole of the radioactivity applied in the form of ^{14}C -LSD disappears from the blood within the first few minutes. Most of the organs reach the highest level of their activity after 10–15 min and then lose it gradually in the course of the next few hours. The only exception is the small intestine, the activity of which increases

rapidly to a high level, representing approximately 50% of the total dose after 2 h. As shown by further experiments, the radioactive substances move down with the contents of the intestine and after a further 2–3 h most of the activity is found in the colon.



In order to determine the amount of radioactivity that can be ascribed to unchanged ^{14}C -LSD after 2 h, we homogenized some of the organs together with a solution of 100.0 mg inactive LSD in excess tartaric acid and stored the homogenate for 15 h at 5°C. The suspension was filtered over Hyflo and the completeness of the extraction checked by activity measurements. Usually 90–98% of the activity of the whole organ was found in the filtrate, which was then made alkaline with NaHCO_3 and extracted with ethyl acetate. The LSD contained in the organic layer was transferred to aqueous tartaric acid, and after addition of NaHCO_3 again extracted with ethyl acetate and finally purified by chromatography and crystallization to constant activity. The specific activities of the pure LSD samples obtained in this way showed that after 2 h only the following percentages of the total activity of the organs were present in the form of unchanged ^{14}C -LSD:

Brain	approximately	10 %
Liver		10 %
Small intestine, upper third		9 %
Small intestine, middle third		2 %
Small intestine, lower third		0.8 %

The bulk of the activity remained in the aqueous solutions.

From these experiments, we conclude that the greater part of the LSD undergoes chemical alteration and is excreted within a relatively short time via the liver and

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

² W. A. STOLL, *Schweiz. Arch. Neur. Psych.* 60, 279 (1947).

³ A. STOLL, J. RUTSCHMANN, and A. HOFMANN, *Helv. chim. Acta* 37, 820 (1954).

⁴ R. C. ANDERSON, Y. DELABARRE, and A. A. BOTHNER-BY, *Anal. Chem.* 24, 1298 (1952).

⁵ Cathode: nickel-plated brass tube 20 × 300 mm; centre wire: 0.05 mm tungsten; filling: 4–10 ml CO_2 , made up to atmospheric pressure with argon-methane 9:1 [see *Tracerlog* Nr. 55, 5 (1953)]; operating voltage 2050 Volts; plateau length 350 Volts (sensitivity of pulse amplifier set to 1 mV). Under the conditions used, the counters show no memory effect and are insensitive to mercury vapour present in the apparatus.