

ten Suspensionen von Kaninchen-Thrombozyten nachzuweisen. Versuchsergebnisse über die HT-Aufnahme durch Thrombozyten stimmen mit der Möglichkeit überein, dass das Amin in den Zellen durch einen aktiven Transportmechanismus konzentriert wird. Es wird angenommen, dass die Abgabe von normalem HT aus der Zelle unter Reserpineinwirkung, durch eine Hemmung des Aufnahmemechanismus und langsame, passive Diffusion aus den Zellen erfolgt.

Disparition de la 5-hydroxytryptamine dans les granulations des glandes de la peau de *Discoglossus pictus* et de *Rana temporaria* après injection de réserpine

L'injection de réserpine provoque la disparition de la 5-hydroxytryptamine (5-HT) de l'intestin grêle du lapin¹, tandis qu'elle augmente la teneur en acide 5-hydroxy-indolacétique de l'urine de chien². Comme ERSPAMER l'a montré chez le rat et le coq³, cette diminution de la 5-HT s'observe non seulement dans le tractus gastro-intestinal, mais aussi dans le sérum, la rate et le cerveau. NAESS et SCHANCHE⁴ l'ont confirmé pour le sérum de lapin. L'injection de réserpine fait disparaître la 5-HT des plaquettes sanguines chez l'homme⁵. Leur affinité pour la 5-HT est diminuée en présence de réserpine⁶. Aucun antagonisme n'a été constaté *in vitro* entre la réserpine et la 5-HT⁴.

La peau de *Discoglossus pictus* contient d'après ERSPAMER⁷ 410–450 µg de 5-HT par g de tissu (41–54 mg/kg de poids du corps). Celle-ci est localisée dans les granulations des glandes de la peau. Nous avons recherché la 5-HT par différentes réactions histochimiques sur des coupes de peau de grenouille et de discoglosse (*Rana temporaria* et *Discoglossus pictus*), les prélèvements étant faits à des temps différents après l'injection de réserpine (5 et 10 mg/kg Serpasil CIBA).

Comme il n'existe pas de réaction spécifique de la 5-HT, nous avons pratiqué les 3 réactions suivantes portant sur la mise en évidence des hydroxyles phénoliques libres en position *ortho* et *para*⁸: a) la réaction argentaffine selon la méthode de MASSON, b) l'azo-réaction, le sel de diazonium étant préparé à l'acide sulfanilique, c) l'indoréaction, la paradiamine aromatique utilisée étant la diméthylparaphénylènediamine. Ayant constaté qu'après la fixation au Bouin, la fluorescence attendue en présence de 5-HT était masquée, nous avons laissé séjourner ensuite les préparations 24 h dans du formol avant de les monter. Comme après la seule fixation au formol, une belle fluorescence jaune apparaît. Les résultats sont indiqués à la Figure pour les discoglosses.

Chez la grenouille, les résultats sont similaires. L'effet de 5 mg/kg de réserpine se marque surtout 1/2 h et 1 h après l'injection. Même 7 h après les injections, les réactions ne sont pas encore aussi positives que chez les témoins.

En conclusion, la réserpine fait disparaître une substance qui montre toutes les réactions histochimiques de la 5-HT utilisées dans les granulations des glandes de la peau de *Rana temporaria* et de *Discoglossus pictus*. Cette perte est temporaire et est maximale 1/2 h à 1 h après l'injection de 5 mg/kg chez la grenouille, 1 h après l'injection de la

¹ A. PLETSCHER, P. A. SHORE et B. B. BRODIE, *Science* 122, 374 (1955).

² P. A. SHORE, S. L. SILVER et B. B. BRODIE, *Science* 122, 284 (1955).

³ V. ERSPAMER, *Exper.* 12, 63 (1956); *Naturwissenschaften* 43, 61 (1956).

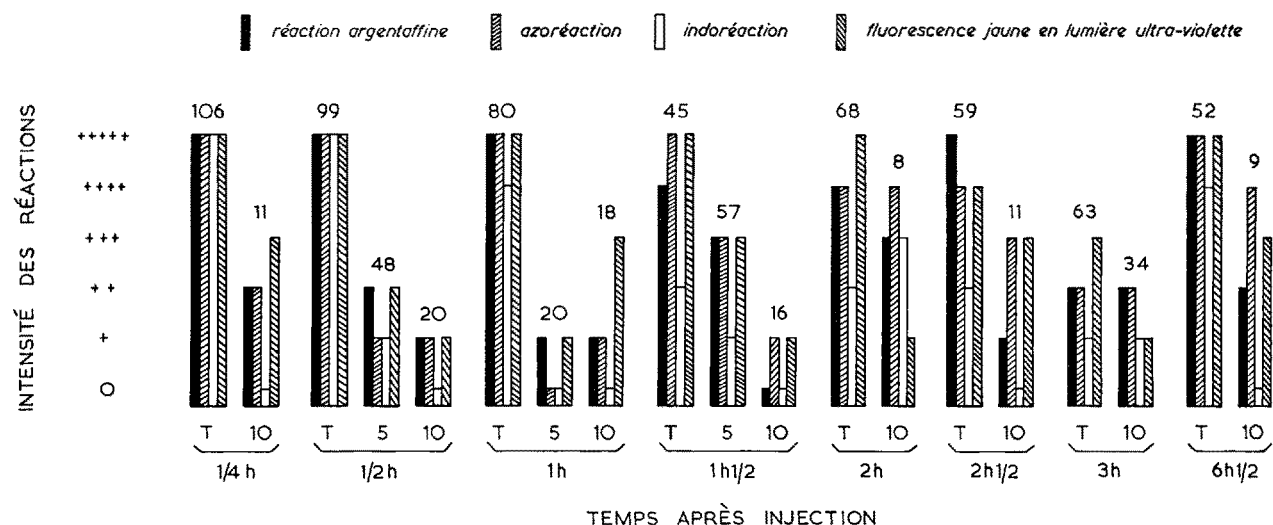
⁴ K. NAESS et S. SCHANCHE, *Naturc* 177, 1130 (1956).

⁵ B. J. HAVERBACK, P. A. SHORE, E. G. TOMICH et B. B. BRODIE, *Fed. Proc.* 15, 434 (1956).

⁶ R. M. HARDISTY, G. I. C. INGRAM et R. S. STACEY, *Exper.* 12, 424 (1956).

⁷ V. ERSPAMER, *R. C. scient. Farmitalia* 1, 1 (1954).

⁸ L. LISON, *Histochimie et Cytochimie animales* (Gauthier-Villars, Paris 1953), p. 71.



Effet de la réserpine sur la teneur en 5-hydroxytryptamine des granulations de la peau de *Discoglossus pictus*.

- | | | | |
|------|---|----|--|
| ++++ | Toutes granulations positives | + | Granulations faiblement positives et négatives |
| +++ | Granulations positives et faiblement positives | ○ | Toutes granulations négatives |
| ++ | Granulations positives, faiblement positives et négatives | T | Témoin injecté de même volume d'eau distillée |
| + | Toutes granulations faiblement positives | 5 | Discoglosse injecté de 5 mg/kg de réserpine |
| | | 10 | Discoglosse injecté de 10 mg/kg de réserpine |

Les chiffres correspondent au nombre des glandes portant des granulations compté dans 10 champs différents sur une longueur de 3,3 mm, chacun.

même dose chez le discoglosse et $\frac{1}{2}$ h après l'injection de 10 mg/kg de réserpine chez le même crapaud.

SUZANNE LIÉBECQ-HUTTER et Z. M. BACQ

Institut d'Histologie et Laboratoire de Pathologie et Thérapeutique Générales, Université de Liège (Belgique), le 19 décembre 1957.

Summary

30 min after an intraperitoneal injection of reserpine (5 or 10 mg/kg) in the frog (*Rana temporaria*) and in the toad (*Discoglossus pictus*), a substance which has the properties of 5-hydroxytryptamine (argentaaffine reaction, azoreaction, indoreaction and fluorescence in U.V. after formaldehyde) disappears from the skin glands; the histochemical reactions are more positive again $1\frac{1}{2}$ to 2 h after the injection of reserpine.

Beeinflussung der Gerinnungswirkung von Heparin durch Serotonin und Tryptamin¹

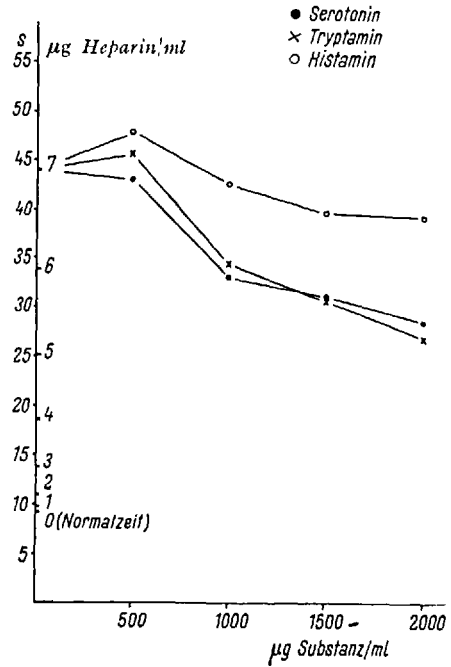
Frühere Untersuchungen haben gezeigt, dass Heparin die Wirkung von Serotonin an isolierten Organen² und *in vivo*³ abschwächt bzw. aufhebt. In der vorliegenden Arbeit untersuchten wir die Wirkung von Serotonin und anderen Stoffen auf die durch Heparin verlängerte Gerinnungszeit im Cofaktor-Fibrinogen-System.

Methodik. Für die Untersuchungen verwendeten wir die folgenden Substanzen⁴: Fibrinogen, Heparin-Cofaktor II (Cohn-Fraktion IV/4), Heparin (108 IE/mg), Thrombin (40–60 NIH-Einheiten/mg; Biochemicum Roche), Serotonin (5-Hydroxytryptamin-creatininsulfat; Biochemicum Roche), Tryptamin (Hydrochlorid; Biochemicum Roche), Tyramin (Hydrochlorid; Biochemicum Roche), Isoamylamin (Hydrochlorid; Biochemicum Roche), Histamin (Dihydrochlorid). Sämtliche Substanzen wurden in $\frac{1}{15}$ molar m Phosphatpuffer nach SÖRENSEN von pH 7,24 bis 7,26 gelöst.

100 mg Fibrinogen und 400 mg Heparin-Cofaktor wurden unter Zugabe von 1 Tropfen Octylalkohol in 20 ml Puffer gelöst und die Lösung filtriert. Thrombin verdünnten wir, ebenfalls unter Zugabe von Octylalkohol mit Puffer, so dass sich in der unten beschriebenen Versuchsanordnung mit einer 7 μ g/ml enthaltenden Heparinlösung eine Gerinnungszeit zwischen 40 und 60 s ergab. Die Cofaktor-Fibrinogen- und die Thrombinlösungen wurden während der ganzen Versuchsdauer eisgekühlt in silikonisierten Gefässen aufbewahrt.

Es wurden jeweils 0,2 ml des Cofaktor-Fibrinogen-Gemisches und 0,2 ml einer 1, 2, 3, 4, 5, 6 oder 7 μ g/ml Heparin enthaltenden Lösung in ein Glasröhrchen von 10 mm Innendurchmesser gegeben, geschüttelt, das Röhrchen während 30 s im Wasserbad bei 37°C inkubiert und nach Zugabe von 0,2 ml Thrombinlösung die Zeit bis zum Auftreten des Koagulums ermittelt. Durch Bestimmung der mit den erwähnten verschiedenen Heparin-

konzentrationen zustande kommenden Verlängerungen der Gerinnungszeit (Antithrombinzeit) erhielten wir eine Eichkurve für Heparin. Zur Prüfung des Einflusses der verschiedenen Stoffe auf die durch Heparin verlängerte Antithrombinzeit stellten wir Lösungen her, die ausser einer konstanten Menge Heparin 500, 1000, 1500 bzw. 2000 μ g/ml der einzelnen Substanzen enthielten. Zur Erfassung eventueller, durch die zugegebenen Substanzen bedingter pH-Verschiebungen wurde das pH der Lösungen mit einer kombinierten Glaselektrode (Titriskop Metrohm AG, Herisau) gemessen.



Ergebnisse. Die Resultate der Gerinnungsversuche mit Serotonin, Tryptamin und Histamin sind in der Abbildung graphisch dargestellt. Auf der Ordinate sind die Gerinnungszeit in Sekunden, auf der Abszisse sind die geprüften Lösungen (μ g Substanz mit je 7 μ g Heparin) aufgetragen; zudem sind die für die verschiedenen Heparinkonzentrationen ermittelten Antithrombinzeiten (Heparineichkurve) beigelegt. Aus dieser Abbildung geht hervor, dass Serotonin und Tryptamin in Mengen von 1000, 1500 und 2000 μ g/ml die Antithrombinzeit eindeutig verkürzen; 1000 μ g/ml Substanz bewirken eine Verkürzung der Antithrombinzeit, die der Neutralisation von etwa 1 μ g/ml Heparin entspricht; diese heparinneutralisierende Wirkung von Serotonin und Tryptamin ist unabhängig vom Intervall, das zwischen dem Herstellen der Lösungen und ihrer Zugabe zum Cofaktor-Fibrinogen-Gemisch liegt. Die beiden Stoffe verändern andererseits die Normalgerinnungszeit (ohne Heparin) nicht. Zugabe entsprechender Mengen Histamin bewirkt im Gegensatz dazu keine wesentliche Veränderung der durch Heparin verlängerten Antithrombinzeit. Auch Isoamylamin und Tyramin verursachen, in den gleichen Mengen zugegeben wie Serotonin und Tryptamin, keine Veränderung der Antithrombinzeit.

Wie ergänzende Untersuchungen ergaben, wird das pH der Pufferlösungen durch Serotonin und Tryptamin in den verwendeten Konzentrationen nicht verändert (Abweichung < 0,1). Dagegen bewirken 1000 bis 2000 μ g/ml Histamin in den Pufferlösungen einen pH-Abfall von 0,4 bis 1,5. Kontrollversuche mit sauren Pufferlösungen von

¹ Für wertvolle Ratschläge im Verlaufe der Untersuchungen sind wir den Herren Dr. R. MARBET, Dr. ANDRÉ STUDER und PD Dr. A. WINTERSTEIN, Wissenschaftliche Laboratorien der F. Hoffmann-La Roche & Co. AG, in Basel zu Dank verpflichtet.

² R. KELLER, *Exper.* 13, 112 (1957). – G. SMITH und A. N. SMITH, *Surg. Gynec. Obstet.* 101, 691 (1955).

³ G. SMITH und A. N. SMITH, *Surg. Gynec. Obstet.* 101, 691 (1955).

⁴ Der F. Hoffmann-La Roche & Co. AG. in Basel danken wir für die grosszügige Überlassung der notwendigen Versuchsmengen.