

# Copyright ©

---

Es gilt deutsches Urheberrecht.

Die Schrift darf zum eigenen Gebrauch kostenfrei heruntergeladen, konsumiert, gespeichert oder ausgedruckt, aber nicht im Internet bereitgestellt oder an Außenstehende weitergegeben werden ohne die schriftliche Einwilligung des Urheberrechtinhabers. Es ist nicht gestattet, Kopien oder gedruckte Fassungen der freien Onlineversion zu veräußern.

German copyright law applies.

The work or content may be downloaded, consumed, stored or printed for your own use but it may not be distributed via the internet or passed on to external parties without the formal permission of the copyright holders. It is prohibited to take money for copies or printed versions of the free online version.

## Narkose und Tötungsverfahren bei experimentellen Operationen an Fischen<sup>1)</sup>

VON HEINER NAEVE

**Zusammenfassung:** Die Anwendungsbereiche der Narkotika MS 222 SANDOZ und Nembutal ABBOT bei experimentellen Operationen an Fischen wurden abgegrenzt und diskutiert. Für kurzzeitige Narkosen bei widerstandsfähigen Fischen läßt sich MS 222 nicht ersetzen, bei länger dauernden Eingriffen dagegen wird man eher die lange Narkosedauer einer Nembutal-Injektion in Kauf nehmen, da es nicht wie MS 222 bei der Dosierung sehr enge Toleranzgrenzen aufweist.

Die Technik der Tötung durch Perfusions-Fixierung über das Herz wurde modifiziert und so auf Fische anwendbar gemacht. Da die Gefäße beim Fisch einen sehr geringen Durchmesser aufweisen, hat sich eine Heparin-Gabe und die Perfusion unter Druck als notwendig erwiesen.

**Anesthesia and killing methods in experimental surgery on fishes. (Abstract):** The application of the anesthetics MS 222 SANDOZ and Nembutal ABBOT in experimental surgery on fishes has been delimited and discussed. MS 222 cannot be substituted in short time anesthesia, but in case of operations taking more time one should prefer Nembutal ABBOT, an anesthetic that is effective for hours indeed, but does not include the risk of overdosing like MS 222. The technique of fixation by perfusion through the heart has been modified and adapted for the use on fishes. Since the blood vessels in fishes are very narrow, the necessity appeared to apply heparine and to perfuse with pressure.

### Einleitung

Im Zuge von neurohistologischen Untersuchungen des optischen Systems des Seeskorpions, *Myoxocephalus scorpius* (L.) (NAEVE 1969) konnte ich einige Erfahrungen bei der Anwendung von Narkotika bei Fischen sowie bei der Fixation lebendfrischen Gewebes sammeln.

Eine meiner Aufgaben war die Ausschaltung von Netzhautbezirken bzw. der ganzen Netzhaut durch Lichtkoagulationen oder durch Durchtrennung des Nervus opticus. Für beide Operationstechniken war eine tiefe Narkose notwendig, die die Versuchstiere jedoch nicht schädigen durfte, da sie nach der Operation noch Wochen bis Monate überleben mußten.

Zur histologischen Untersuchung des Gehirns wurden die Tiere dann später unter Narkose durch Perfusion mit Formol getötet, da Voraussetzung für meine Untersuchungen — wie für alle histologischen Arbeiten — war, das Gewebe lebendfrisch fixiert zu erhalten.

Als Narkotika bei diesen Untersuchungen wandte ich MS 222 SANDOZ und Nembutal ABBOT an.

### Erfahrungen mit Narkotika

Bei MS 222 SANDOZ handelt es sich um ein Aethyl-m-aminobenzoat (Bové 1964). Der zu betäubende Fisch wird in eine MS 222-Verdünnung gebracht, das Tier nimmt das Narkotikum über die Kiemen auf und schläft innerhalb von Minuten ein. Nach dem Eingriff — bei meinen Operationen durchweg nach 5 bis 15 Minuten — bringt man das Tier wieder in frisches Wasser, wo es sich bald erholt.

<sup>1)</sup> Die Untersuchungen wurden von der Deutschen Forschungsgemeinschaft unterstützt.

Für Eingriffe wie das Durchschneiden des Nervus opticus wandte ich bei Seescorpionen von 20—30 cm Länge MS 222 in einer Verdünnung von 1 : 10000 an. HADIDIAN und DUNN (1938) weisen ebenfalls auf ihre guten Erfahrungen mit MS 222 bei der Durchtrennung der Augenmuskeln bei *Carassius auratus gibelio* (BLOCH) hin.

Im Gegensatz zu Angaben von ATTARDI und SPERRY (1963) war es nicht nötig, den Tieren während der Operation mit Narkotikum versetztes Atemwasser zuzuführen. Da durch die Narkose der Stoffwechsel der Tiere stark herabgesetzt ist, kann die Operation am trocken gehaltenen Fisch durchgeführt werden. Außerdem bleibt zum Gasaustausch auf den Kiemen ein Feuchtfilm erhalten.

Leider hat es sich gezeigt, daß sowohl die Dosierung von MS 222 als auch die Einwirkdauer sehr vom Individuum abhängig ist. Besonders bei den langwierigen Lichtkoagulationen erwachten mehrfach Tiere zu früh, andere dagegen verstarben in der Narkose. Aus der Schrift „MS 222“ der Firma SANDOZ, Basel (BOVÉ 1964) geht hervor, daß zu langes Verbleiben in der Narkoselösung — oft genügen schon 4 bis 5 Minuten — letal wirken kann. Da jedoch bei Lichtkoagulationen wegen der Brechungsverhältnisse bei Fischaugen die Tiere sich unter Wasser befinden müssen, ist es eine Ermessensfrage, ob man diesem Wasser MS 222 zusetzt und das Risiko einer Überdosierung eingeht oder ob man Frischwasser verwendet, worin die Tiere eventuell zu früh erwachen.

Daher habe ich bei meinen Arbeiten bei Fischen Versuche mit dem Pentabarbiturat Nembutal ABBOT angestellt. Eine Dosis von 0,1 ml Nembutal (= 5 mg Pentabarbitat-Natrium) in die Leber injiziert, begann nach einer Stunde zu wirken, die Dauer der Narkose betrug 60 Stunden. Eine geringe Dosis führte zu noch späterem Eintreten der Narkose. Es sollte daher ein Weg gefunden werden, die Narkose abzukürzen, da der Abbau des Narkotiums im Gewebe der Fische offenbar zu langsam vor sich geht. Als Antidota wurden Megimite NICHOLAS und Cardiazol KNOLL als Leberinjektion getestet. Mit Cardiazol ließ sich eine Abkürzung der Narkose erreichen, allerdings nur um ca. 50%. Megimite wirkte wesentlich stärker narkoseverkürzend, allerdings waren die Tiere nach dem Erwachen sehr unruhig und leicht erregbar. Stunden nach der Megimite-Gabe verstarben viele Versuchstiere. Die Funktionseinheit Nembutal/Megimite, die bei Warmblütern erfolgreich angewendet wird, ist für Fische offenbar weniger geeignet.

Für kurzzeitige Narkosen bei widerstandsfähigen Fischen läßt sich MS 222 kaum ersetzen, ebenso bei Markierungen und dgl. wo eine Narkosedauer von wenigen Minuten ausreicht. Bei länger dauernden Eingriffen dagegen wird man eher die lange Narkosedauer einer Nembutal-Injektion in Kauf nehmen, da es nicht wie MS 222 bei der Dosierung sehr enge Toleranzgrenzen aufweist, also nicht so leicht überdosiert werden kann.

Vor der Tötung von Versuchstieren ist ebenfalls eine einwandfreie Narkose zu fordern. GLEES et al. (1964) verwandten zur Narkose bei der Perfusion von Affen entweder eine starke Überdosis Nembutal ABBOT oder aber Pernocton RIEDEL-DE HAËN, das eine noch tiefere Wirkung hat.

Narkotika können auf die mikroskopische Darstellbarkeit feiner Strukturen des Nervensystems Einfluß nehmen, da sie in den Synapsenstoffwechsel eingreifen. Versuche mit Affen haben aber gezeigt, daß sich Nembutal bei mikroskopisch sichtbaren Strukturen nicht als störend bemerkbar macht. Das trifft, wie meine Versuche zeigten, auch für Fische zu, wo sich Nembutal als Narkose vor der Tötung bewährte. Es wurde durch Nembutal außerdem eine ausreichende Schlafiefe erreicht, ohne das Risiko eines vorzeitigen Todes einzugehen.

### Die Perfusionsfixierung

Der Erfolg von histologischen Untersuchungen hängt sehr stark von der Fixierung ab. Für neurohistologische Studien mit dem Lichtmikroskop hat sich das Formalin am besten bewährt. Es wird im allgemeinen in einer Stärke von 10% angewandt, was einem Gehalt von 4% Formaldehyd entspricht.

Entscheidend für die Güte einer Fixierung ist der Zeitpunkt des Eintritts derselben (BYWATER und GLEES 1959). Bei Hirngeweben kann schon die Zeitdauer zu Artefaktbildungen führen, die vonnöten ist, um nach der Tötung des Versuchstieres das Gehirn herauszupräparieren. Man wendet daher zweckmäßigerweise die Perfusion des Gefäßsystems mit dem Fixierungsmittel an. Dabei wird unter Narkose zuerst das Blut über das Herz gegen eine physiologische Kochsalzlösung, diese dann wieder gegen die Fixierflüssigkeit ausgetauscht. Gewebetod und Fixation treten gleichzeitig ein. Die durch die Fixierung erfolgte Härtung ist bei der nachfolgenden Präparation nur zu begrüßen.

Ich konnte die Perfusionstechnik für die Benutzung bei Fischen (*Myoxocephalus scorpius* (L.)) modifizieren. Unter Narkose wird das Herz freigelegt. Um ein Agglutinieren des Blutes zu vermeiden, injiziere ich in den Bulbus arteriosus 0,1 ml Liquemin ROCHE (= 250 IE Heparin). Dann wird der Bulbus geöffnet und eine feine Glaskanüle eingebunden, durch die zuerst etwas physiologische Kochsalzlösung, dann sogleich zehnprozentiges Formalin unter leichtem Druck in das Gefäßsystem gedrückt wird (Abbildung).

Die Liquemingabe und die Perfusion unter Druck haben sich als nötig erwiesen, da die Gefäße beim Fisch einen zu geringen Durchmesser aufweisen, als daß es ausreicht hätte, wie bei der Perfusion von Affen die Perfusionsgefäße etwa 1 m erhöht aufzustellen. Durch die Anwendung von Druck wird das Gewebe natürlich beansprucht, weshalb die Perfusionsdauer möglichst kurz zu halten ist. Daher wird das Blut auch nicht vollends gegen physiologische Kochsalzlösung ausgetauscht, sondern es wird nur so viel Salzlösung vorgegeben, daß es zu keinem Kontakt zwischen Blut und Formalin kommen kann. Auf diese Weise erreichte ich Perfusionszeiten von wenigen Minuten.

Dr. H. Naeve, Fischereibiologische Abteilung des Instituts für Meereskunde  
23 Kiel/Germany, Hohenbergstraße 2

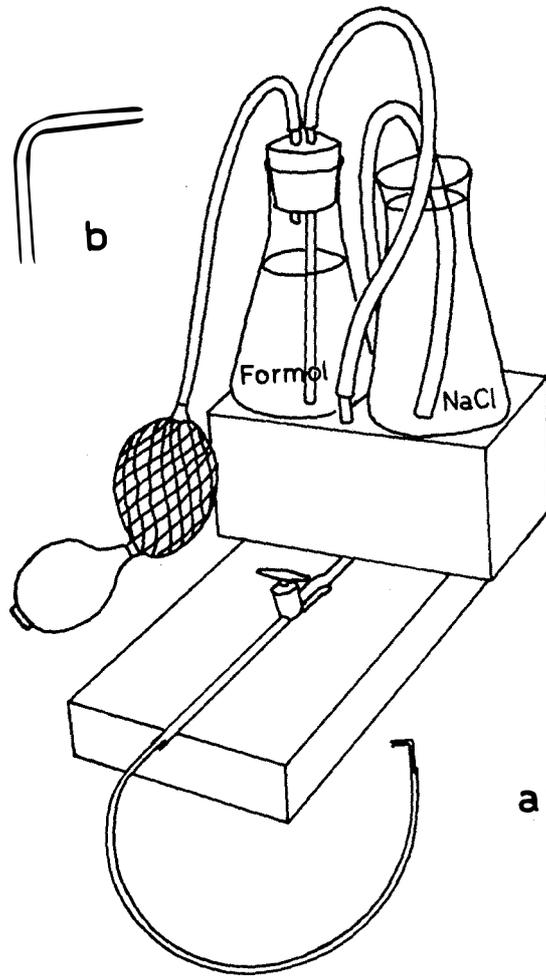
### Literaturverzeichnis

ATTARDI, D. G. and R. W. SPERRY (1963): Preferential selection of central pathways by regenerating optic fibers. *Exp. Neurol.* **7**, 46—64. — BOVÉ, F. J. (1964): MS-222 SANDOZ, the anaesthetic and tranquilizer of choice for fish and other cold-blooded organisms. Sandoz Ltd. Basel. — BYWATER, J. E. C. und P. GLEES (1959): Der Einfluß der Fixationsart und des Intervalles zwischen Tod und Fixation auf die Struktur der Motoneurone des Affen. *Verh. anat. Ges. (Jena)* **55**, 57—59. — GLEES, P., W. HALLERMANN und H. NAEVE (1964): Die Repräsentation retinaler Sektoren im Corpus geniculatum laterale des Affen. *Albrecht v. Graefes Arch. Ophthalm.* **167**, 367—376. — HADIDIAN, Z. and M. S. DUNN (1938): Localization in the oculomotor nuclei of the goldfish. *J. comp. Neurol.* **68**, 191—202. NAEVE, H. (1969): Die Einstrahlung des Nervus opticus ins Tektum des Seeskorpions *Myoxocephalus scorpius* (L.). *J. Hirnf.* (im Druck).

---

### Legende zu den nebenstehenden Abbildungen (Tafel 1)

(a) Perfusionsgerät für Fische: Zwei Perfusionsgefäße sind über einen Dreivegehahn mit einer feinen Glaskanüle (b) verbunden, die eine Nut zum Einbinden in den Bulbus arteriosus besitzt.



Tafel 1 (zu H. Naeve)