

**ÜBER DAS AUFTRETEN
VON ACETYLCHOLIN IM STRÖMENDEN
BLUTE**

VON

ILO SIBUL

TARTU 1938

Die Frage über das Vorkommen und Auftreten von Acetylcholin im Blute verschiedener Organismen hat stets ein reges Interesse erweckt. Trotz zahlreicher experimenteller Untersuchungen ist man aber bisher noch zu keinen eindeutigen Resultaten gekommen. Zwar sind im Blute bald kleinere, bald grössere Mengen Acetylcholin aufgefunden worden, dann aber wieder gar keins (Schrifttum-Zusammenstellungen bei Gaddum (1) und Francl (2)). Im Jahre 1932 wurde von Minz (3) für den Acetylcholinnachweis ein sehr empfindliches, geeignetes und gewissermassen auch spezifisches Testverfahren am Blutegelrückenmuskel eingeführt. Seitdem sind dank dem neuen Verfahren mehrere wertvolle Beiträge zu dieser Frage veröffentlicht worden. Auf Grund der letzten Untersuchungen kann im allgemeinen angenommen werden, dass das arterielle wie auch das venöse Blut gewöhnlich kein biologisch nachweisbares Acetylcholin enthält. Nach vorhergegangener intravenöser Eserin- oder Prostigmininjektion kann aber das aus verschiedenen Venengebieten entnommene Blut einen deutlichen Acetylcholingehalt an den Blutegelpräparaten aufweisen. So sind Acetylcholinbefunde im venösen Blute des Darmgebietes (Feldberg und Rosenfeld (4), Dale und Feldberg (5), Donomae (6)), des Herzens (Feldberg und Krayer (7)), verschiedener Drüsen und noch anderer Gebiete mit parasympathischer Innervation festgestellt worden. Widersprüche, die sich hinsichtlich der mit Blut aus der Extremitätenmuskulatur erhaltenen Ergebnisse gezeigt haben, bringen neuerdings zu dieser Frage ein anscheinend ganz neues Problem hinzu.

Das Vorkommen von Acetylcholin im venösen Blute der ruhenden Muskulatur wie auch während ihrer Arbeitshyperämie ist in den letzten Jahren besonders eifrig untersucht worden, wobei einerseits der Mechanismus der Gefässdilataion, andererseits die cholinergische Funktion der motorischen Nervenfasern ins Auge gefasst wurden. Die erzielten Resultate widersprechen jedoch einander. Im allgemeinen lässt sich sagen,

dass das Blut aus der Extremitätenvene, falls dem Tier nicht allzu grosse Physostigmingaben injiziert worden waren, auf den Blutegel nicht einwirkt. Wenn die Hinterbeinmuskulatur von Hunden und Katzen, direkt oder indirekt über ihre Nerven gereizt, in Arbeit gesetzt wird, so tritt in der Perfusionsflüssigkeit Acetylcholin auf (Dale, Feldberg und Vogt (8)) und soll dieses Acetylcholin von der Erregung der motorischen Nervenfasern herrühren. Ferner ist auch von Bülbring und Burn (9) gezeigt worden, dass in der Perfusionsflüssigkeit der Extremitätenmuskulatur bei infolge von Reizung der sympathischen Nervenfasern auftretender Gefässdilatation Acetylcholin nachzuweisen ist. Es wird also verschiedenerseits über einen Übertritt von Acetylcholin in die Blutbahnen der Muskulatur berichtet.

Eine Reihe anderer Autoren leugnet auf Grund ihrer Experimente das Auftreten von Acetylcholin in der Blutbahn im Bereiche der willkürlichen Muskulatur unter normalen Kreislaufverhältnissen überhaupt ab. Franel (2) konnte in ihren eingehenden Untersuchungen im Gegensatz zu Dale und anderen bei der Muskelarbeit nur ausnahmsweise eine acetylcholinähnliche Substanz in der Perfusionsflüssigkeit oder auch im Blut nachweisen. Auch Fleisch, Sibul und Kaelin (10) kamen zu einem prinzipiell gleichen Resultate. Diese Autoren konnten im venösen Blute der elektrisch tetanisierten Muskulatur solange kein Acetylcholin nachweisen, als der Kreislauf noch ordnungsgemäss funktionierte. Sobald er aber gegen Ende des Versuches bei niedrigem Blutdruck insuffizient wurde, konnte Acetylcholin im aus der Extremitätenvene entnommenen Blute sowohl während wie auch nach der Muskelreizung oft gefunden werden. Dieser Befund schien von grosser Bedeutung zu sein, indem er eine befriedigende Klärung der strittigen Frage über Acetylcholinbefunde in Aussicht stellte. Die aus ihm zu folgernde Annahme wäre die, dass das Acetylcholin im kreisenden Blute, resp. in der Perfusionsflüssigkeit, vermutlich nur bei geschädigtem Kreislaufe gefunden werden kann. Hiermit ist die Frage über das Acetylcholin-vorkommen im strömenden Blute ins Licht eines pathologischen Phänomens gestellt worden, und es sollten daher zwecks ihrer Klärung die verschiedensten Zusammenhänge möglichst bald experimentell erforscht werden.

Die von uns (Fleisch, Sibul und Kaelin (10)) gemachte Beobachtung, dass ein insuffizienter Kreislauf mit allgemeinbedrohlichem Zustande des Organismus eine Grundbedingung für das Auftreten von Acetylcholin im strömenden Blute ist, veranlasste uns die Blutuntersuchungen auf Acetylcholingehalt noch auf weitere pathologische Kreislaufverhältnisse auszudehnen. Dabei tauchte die Frage auf, ob das Acetylcholin bei sämtlichen Kollapsformen im Blute zu finden sei, ja ob nicht vielleicht die Kollapserscheinungen zum Teil sogar durch das Acetylcholin verursacht würden. Eigentlich stellt das Auftreten von Histamin und von anderen biochemischen Verbindungen beim anaphylaktischen Schock und bei anderen Schock- und Reaktionsformen ja nichts Besonderes dar; in bezug auf das Acetylcholin fehlen aber anscheinend noch jegliche diesbezügliche experimentelle Beobachtungen. Gewisse Ähnlichkeiten zwischen Kollapszuständen einerseits und der Acetylcholinwirkung andererseits scheinen in der Tat zu bestehen, indem der eine wie der andere Zustand als wichtigstes Charakteristikum die Herabsetzung der Kreislaufleistung aufweist. Jedoch kann auf Grund einer solchen unsicheren Analogie und vielleicht einiger weiterer indirekter Zusammenhänge in der uns beschäftigenden Frage nichts entschieden werden. Nur weitere experimentelle Forschungen können hier eine sichere Antwort geben. Zweifellos dürften die Ergebnisse solcher Untersuchungen nicht nur vom physiologischen, sondern auch vom klinischen Gesichtspunkte aus interessant werden.

In den vorliegenden Untersuchungen habe ich folgende experimentell erzeugbare Kollapsformen resp. den Reaktionszustand seitens des Kreislaufes nach Adrenalinzuführung in Betracht gezogen: 1) den Entblutungskollaps, 2) den Peptonkollaps, 3) den Wundkollaps mit Zerquetschungen im Bereiche des Peritoneums und der Extremitätenmuskulatur und 4) den Reaktionszustand nach Einverleibung grösserer Mengen von Adrenalin. Dabei wurde vorwiegend Blut aus der Vena femoralis untersucht, gelegentlich, bei Zerquetschungen im Darmgebiet, auch Blut aus der Vena cava inferior, oberhalb der Einmündung der Venae hepaticae. Zur Feststellung von Acetylcholin dienten nach Minz (3) hergestellte Blutegelpräparate.

Methodik.

Als Versuchstiere dienten Katzen, die mit Numal (Roche) und zum Teil auch mit Urethan narkotisiert waren. Zur Feststellung des allgemeinen Kreislaufzustandes wurde bei den Versuchstieren im ganzen Verlaufe des Experiments der arterielle Blutdruck in der Art. femoralis oder auch der Art. carotis mittels eines Quecksilbermanometers registriert. Zur Entnahme der Blutproben für die Analyse auf Acetylcholingehalt wurde in die Vena femoralis eine T-Kanüle so eingebunden, dass die Blutzirkulation nicht gestört wurde. Mit Freigabe des Seitenastes dieser Kanüle und Abklemmen des Rückstromes ins Tier wurde der freie Auslauf von Blut aus der Extremitätenvene erzielt. Dabei gibt die Aufnahmezeit der einzelnen Blutproben, deren Menge immer 5 ccm betrug, eine Vorstellung von der Stromgrösse in der Extremität. Blutentnahmen aus der Vena cava inferior oberhalb des Diaphragma gestattete eine durch die Vena jugularis dext. entsprechend tief eingeführte Sonde. Zur Hemmung der Blutgerinnung wurde den Tieren vor der Einführung der Kanülen 10 mg Liquoid (Roche) pro kg Körpergewicht intravenös gegeben. Um die zerstörende Wirkung der Esterase des Blutes dem Acetylcholin gegenüber auszuschliessen oder zu verhindern, wurde in einem Teil der Versuche den Tieren Eserin oder Prostigmin intravenös injiziert; dabei wurden 1 mg Physostigmin (Physostigmin. sulfuric. „Boehringer & Söhne“) bzw. 0,3 ccm Prostigmin (Roche) pro kg Körpergewicht verabfolgt. Zugleich mit der Physostigmininjektion wurde auch je 0,1 mg Atropin pro kg Körpergewicht gegeben.

Die Beschreibung der Technik zur Erzielung der einzelnen Kollapsformen wie auch weitere Angaben werden weiter unten bei der Wiedergabe der Resultate kurz gegeben werden. Über die Entnahme der Blutproben und die Vorbereitungen für das Testverfahren ist zu sagen, dass das entweder aus der Kanüle in eine kleine Porzelschale aufgenommene oder durch die Sonde in die Spritze gezogene Blut immer sofort mit der im Aufnahmegefäss bereits vorhandenen kalten Physostigminringerlösung gemischt wurde. Jeweils 5 ccm Blut wurden in 5 ccm etwas hypotonischer Ringerlösung aufgenommen, deren Physostigminzusatz so gross war, dass ihre Endkonzentration

im Blutgemisch $1:10^5$ betrug. Durch dieses Mischen des Blutes mit der kalten hypotonischen Ringerlösung wurde, erstens, das hypertonische Verhalten des Warmblüterblutes in den Blutegelpräparaten eingeschränkt und, zweitens, die Bluttemperatur rasch herabgesetzt. Zudem wurden den Blutproben noch einige Tropfen 1% Liquoid-Ringerlösung hinzugesetzt, um das mögliche Auftreten von Gerinnungserscheinungen *in vitro* vollständig auszuschliessen. Das erwies sich als notwendig, weil nach meinen Erfahrungen die gelegentlich beobachteten Erschlaffungsreaktionen der Blutegelpräparate insbesondere dann festzustellen waren, wenn schon geringste Gerinnungserscheinungen stattgefunden hatten. Die so vorbereiteten Blutproben wurden sodann an den Blutegelpräparaten auf Acetylcholingehalt untersucht.

Für die Acetylcholinbestimmungen waren Vorderabschnitte der längshalbierten Blutegelrückenmuskeln in ca. 10 cm fassenden Untersuchungsgefässen in ein Hebelsystem eingespannt. Als Nährlösung wurde der von Wacholder (11) angegebene Froschringer verwendet. Die Ringerlösung im Präparatgefäss wurde fortwährend mit Sauerstoff durchperlt. Nach dem Einspannen der Präparate ins Hebelsystem wurden diese auf etwa zwei Stunden stehengelassen. Vor dem Gebrauche der Präparate für eine Bestimmung wurde die gewöhnliche Ringerlösung auf etwa 20 Minuten durch Physostigminringer ($1:200.000$) ersetzt. Darauf wurde die Reaktionsbereitschaft und die Empfindlichkeitsgrösse der Testpräparate auf Acetylcholin durch Zugabe frisch bereiteter Acetylcholinverdünnungen festgestellt, wozu Acetylcholin-Chlorid (Roche) in Ampullen verwendet wurde. Die Reaktion des Blutegelpräparates — Längsveränderungen des Muskelstreifens — wurde mit 8-facher Hebelvergrösserung registriert. Für einen Tierversuch standen immer 4 bis 6 Blutegelpräparate bereit.

Die verwendeten Blutegel waren zum Teil hiesige (Antsla), zum Teil ausländische (Bordeaux), doch war kein prinzipieller Unterschied zwischen den beiden in der Reaktion wie in der Empfindlichkeit Acetylcholin gegenüber festzustellen. Die Schwellenkonzentration von Acetylcholin im Präparatgefäss, bei welcher deutliche Reaktion auftrat, war bei allen Präparaten weitgehend konstant ($1:2 \cdot 10^8$).

Experimentelle Resultate.

Die Zahl der ausgeführten Tierversuche mit parallelen Blutuntersuchungen an Blutegelpräparaten beträgt etwa 50. Einleitend ist ausserdem noch eine Reihe selbständiger Untersuchungen über die Reaktionsbereitschaft der aus Pferdeegeln hergestellten Präparate gemacht worden. Es ergab sich, dass die Pferdeegelpräparate eine prinzipiell gleiche Acetylcholinreaktion zeigen; nur wegen ihrer etwas geringeren Empfindlichkeit und allgemein unsicheren Reaktionsfähigkeit erwiesen sie sich als für Versuchszwecke ungeeignet.

1. Der Entblutungskollaps.

Seinem Wesen nach ist der Entblutungskollaps durch eine Verminderung der kreisenden Blutmenge verursacht. Zum Unterschied von jeglichen anderen Kollapsformen bleibt bei ihm die anatomische wie funktionelle Struktur aller Kreislaufabschnitte unberührt, soweit Störungen nicht nachher, sekundär, auftreten. Somit ist der Entblutungskollaps als eine der einfachsten Kollapsformen aufzufassen. Versuchstechnisch wurden die Tiere durch die Karotiskanüle entblutet, bis der arterielle Blutdruck etwa 10 bis 30 mm Hg betrug. Zumeist wurden je nach der Tiergrösse 60 bis 120 ccm Blut abgelassen. Nach 5 bis 10 Minuten wurde dieses Blut mit einem kleinen Ringerzusatz wieder ins Tier zurückgespritzt. Die frühere Blutdruckhöhe konnte fast in allen Versuchen nach der Reinjektion des Blutes wieder erreicht werden. Das Blut zur Untersuchung auf Acetylcholin bei Kollapstieren wurde aus der Vena femoralis vorher, während des Entblutens in der Kollapsphase, beim Zurückspritzen und in der Nachperiode entnommen. Insgesamt wurden in jedem Falle immer 6 Blutproben entnommen. In Abb. 1a ist die Blutdruckkurve eines der entbluteten Tiere (Nr. 3) dargestellt. Vom Ausschlag der Signallinie (S) nach unten E bis E₁ ist die Zeit der Entblutung angegeben. Von Z bis Z₁ ist das Blut zurückgespritzt worden. Die Blutentnahmen aus der Vena femoralis während der Kollapsphase sind auf der Nulllinie durch Ausschlagen nach unten auf die Dauer der Entnahmezeit vermerkt (Blutproben 5, 6 und 7). Die Blutentnahmen vor dem Kollaps und in der Nachperiode (Blutproben 4 und 8) sind auf der Abbildung nicht zu sehen. Auf Abb.

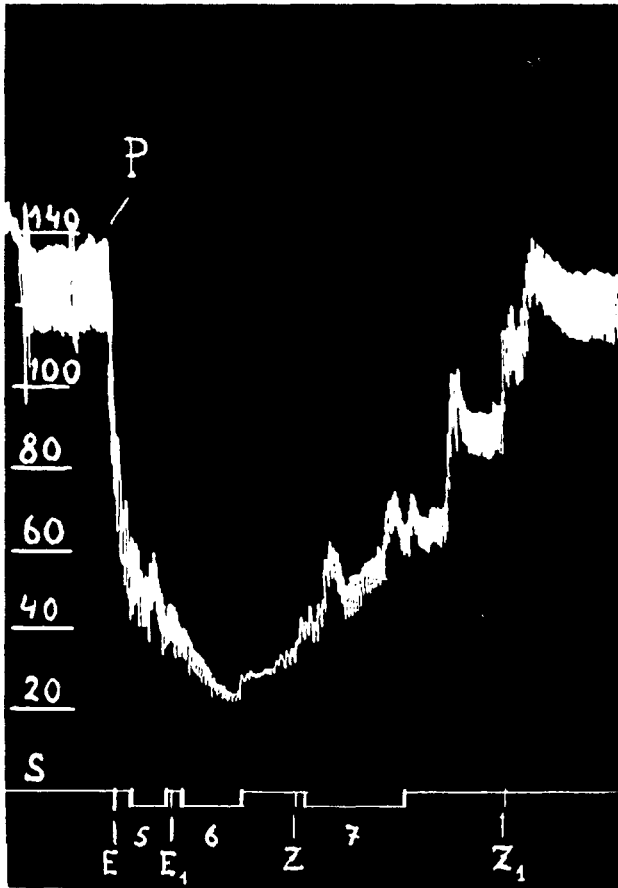


Abb. 1a. Blutdruckregistrierung (Kurve P) bei der Katze in der Phase des Entblutungskollapses. S — Signallinie. 1 mm Absz. = 8".

1b ist die Wiedergabe der Resultate der Einwirkung der Blutproben an den Blutegelpräparaten verzeichnet. Es ist zu ersehen, dass von den vielen Blutproben nur eine, und zwar diejenige, welche beim Zurückspritzen des Blutes ins Tier entnommen wurde, eine Kontraktion des Blutegelmuskels verursacht hat. Nach ungefährender Schätzung dürfte die Acetylcholinconcentration im Blut $1:10^8$ gewesen sein. Allgemein wurden aber beim Entblutungskollaps nur selten Acetylcholinbefunde gemacht. Eine kurze Übersicht der Ergebnisse ist in der Tabelle 1 zu finden.

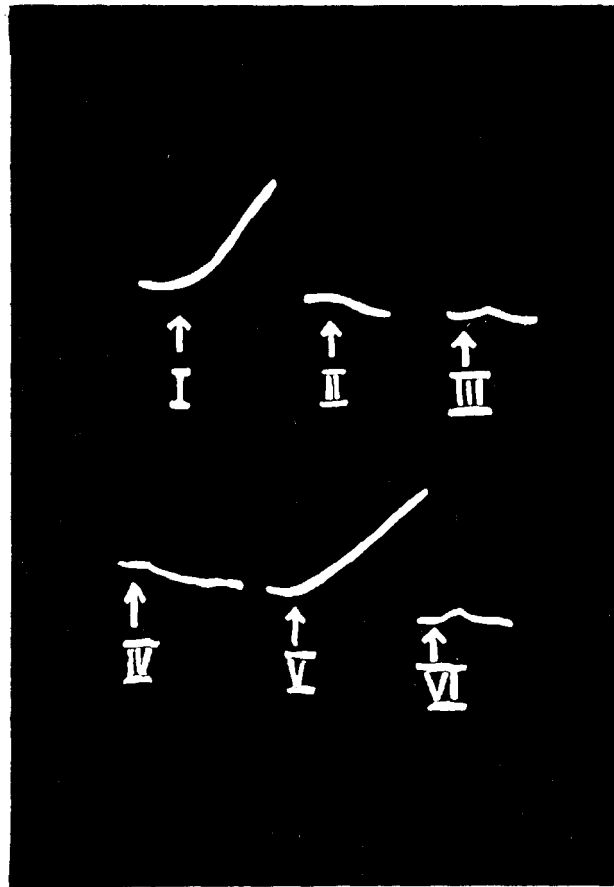


Abb. 1b. Wirkung von Acetylcholin und Blutproben auf die Blutegelpräparate. I. Acetylcholin 1:2. 10^8 im Präparatgefäß. II. Blutprobe 4. III. Blutprobe 5. IV. Blutprobe 6. V. Blutprobe 7. VI. Blutprobe 8.

In dieser tabellarischen Zusammenstellung sind die gewonnenen Resultate, nach den in den verschiedenen Phasen entnommenen Blutproben getrennt, entsprechend der Entnahmezeit in 5 Säulen angegeben. Diese mehrfachen Blutuntersuchungen an 8 Versuchstieren zeigen, dass die Acetylcholinwirkung nur bei einigen (4) Blutproben festgestellt werden konnte. Auch wenn den Tieren vor der Kollapsausführung Physostigmin, resp. Prostigmin einverleibt worden war (Versuche 5 bis 8), um die Wirkung der Blutesterase schon im Organismus zu hemmen, wurden die Resultate nicht wesentlich verändert.

Tabelle 1.

Wirksamkeit von Blutproben an Blutegelpräparaten.

Vers.- Tier		Blut entnommen				
		Vorher	Entblut.	Kollaps	Zrckspr.	Nachher
1	Ohne Physostigmin	—	(2) —	—	—	—
2		—	—	—	(2) —	—
3		—	(2) —	—	+	—
4		—	—	—	—	—
5	Mit Physostigmin	—	(2) —	—	—	—
6		—	—	—	(2) —	—
7		—	+	—	+	—
8		—	+	—	—	(2) —

— bedeutet Fehlen der Acetylcholinreaktion.

+ bedeutet positive Acetylcholinreaktion.

Die Ziffern vor dem Reaktionszeichen geben die Zahl der geprüften Blutproben an.

Als wichtig wäre dabei noch zu bemerken, dass auch diese wenigen auf einen Auftritt von Acetylcholin hinweisenden Befunde nur in Blutproben aus der Kollapsphase erhoben wurden.

2. Der Peptonkollaps.

Intravenöse Injektion von Peptonlösung verursacht beim Versuchstier einen sofort eintretenden schweren Kollapszustand. Im Wesen dieser Wirkung des Peptons auf den Kreislauf liegt eine Erweiterung der peripheren Gefäße und eine Reizung oder sogar Schädigung der Kapillarendothelien. Das alles führt im ganzen zu einer Verminderung der peripheren Widerstandsgrösse und zugleich auch zum Verharren des Blutes an der Peripherie. Vermutlich wird die Kreislaufschädigung durch direkte Einwirkung von toxischen Substanzen auf die Kapillaren und Gefäße hervorgerufen. Somit ist der Peptonkollaps als eine Schockform anzusehen, welche durch Schädigung der Funktionsstruktur des peripheren Kreislaufes und, eventuell, noch durch andere Störungen zustande gebracht wird. Zum Erzeugen von Peptonkollaps bei unseren Versuchstieren wurden ihnen immer etwa 15 bis 20 ccm einer 15 bis 20% Pepton-Ringerlösung

(Witte-Pepton) intravenös injiziert. Das Blut aus der Vena femoralis wurde erst in normalem Zustande, dann während der Einspritzung von Pepton und nachher in weiteren Zeitabschnitten entnommen und auf Acetylcholingehalt untersucht. Die gewonnenen Resultate aus 9 Versuchen in der Gesamtzahl von 49 Prüfungen sind kurz in der folgenden Tabelle 2 dargestellt.

Tabelle 2.

Wirksamkeit der Blutproben bei Peptonkollaps.

Zahl der Versuche	Blut entnommen			
	Vorher	Währ. Einspr.	Nachher — 15 Min.	Nachher — 1 St.
6 (ohne Physostigm.)	(5) —, — (+)	(6) —	(15) —, — (+)	(7) —
3 (mit Prostigm.)	(3) —	(3) —	(7) —	(1) —

— bedeutet Fehlen der Acetylcholinreaktion.

— (+) bedeutet eine schwache, fragliche Acetylcholinreaktion.

Die Ziffern vor dem Reaktionszeichen geben die Zahl der geprüften Blutproben an.

Aus dieser Darstellung der Resultate ergibt sich ohne Zweifel, dass Acetylcholin bei Peptonkollaps im Blute der Extremitätenvene nicht nachzuweisen ist. Da der allgemeinbedrohliche Zustand des Kreislaufes in den einzelnen Versuchen immer variabel war, so ist auch nicht anzunehmen, dass bei irgendeiner Reaktionsgrösse die Resultate anders gewesen wären. Die wenigen fraglichen Kontraktionen in einem und demselben Versuche sind wohl durch die Eigenart des betreffenden Blutes bedingt. Massgebend für diese Annahme ist die Tatsache, dass das Blut des Tieres schon vor der Peptoninjektion gleichfalls wirksam war.

3. Der Wundkollaps.

Verletzungen grösserer Gewebepartien, sei es im Bereiche des Peritoneums oder der Extremitätenmuskulatur, führen mehr oder weniger schnell zu einem Kollapszustand. Aus dem all-

gemeinen Symptomenbild des Wundkollapses ist noch die erhöhte Blutkonzentration besonders hervorzuheben, welche durch Plasmaaustritt, vor allem im Wundgebiet, bedingt ist. Nach Eppinger (12) führt die Eindickung des Blutes zur Verminderung der zirkulierenden Blutmenge und zu einem bedrohlichen Kreislaufzustand. Gewiss üben auch die toxischen Zerfallsprodukte aus dem zerstörten Gewebe einen schädigenden Einfluss auf den Allgemeinzustand des Kreislaufes aus (Moon (13), König (14)). Interessant ist es in bezug auf unsere Versuche zu bemerken, dass Ungerinnbarmachung des Blutes die Schockerscheinungen stark vermindern soll (König). Die Narkose aber, insbesondere die Äthernarkose, soll den Auftritt und Verlauf des Schockphänomens sehr begünstigen (Dale (15)).

In meinen Versuchen habe ich die Gewebeverletzungen im Bereiche des Peritoneums oder der Extremitätenmuskulatur vorgenommen. Im ersteren Falle wurden die Gedärme nach Eröffnung der Bauchhöhle in der Linea alba im Verlaufe von 2 bis 4 Minuten mit einem rauhen Tuch stark gerieben, gepresst und ausserdem mit grossen Kornzangen vorsichtig zerquetscht. Verletzungen grösserer Blutgefässe wurden dabei vermieden. Schon während dieser Behandlung trat zuerst meist eine schwache Blutdrucksteigerung auf, wonach dann eine meist vorübergehende Blutdrucksenkung zustande kam. Allerdings überschritt diese schnell eintretende Senkung des Blutdruckes nie einen Drittelwert des Ausgangsdruckes. In etwa 2 Stunden und noch später tritt erst langsam der bedrohliche Kollapszustand des Kreislaufes auf. Während des langandauernden Versuchsganges ist die geschilderte Behandlung des Darmes noch mehrfach wiederholt worden. Bei diesen Versuchen wurde das Blut zur Feststellung der Acetylcholinwirkung aus der Vena cava inferior etwas oberhalb des Diaphragmas entnommen. Ausgeführt wurden die Untersuchungen vorher, zur Zeit der Zerquetschung und von Zeit zu Zeit bis zum Tode des Tieres. Den Tieren wurden keine Physostigmin- oder Prostigmininjektionen gemacht, weil dann laut den Untersuchungen von Feldberg und Rosenfeld (4), Dale und Feldberg (5) im Pfortaderblut nach vorhergehender Physostigmininjektion sowieso Acetylcholin zu finden gewesen wäre.

Bei weiteren 3 Versuchstieren wurde die Muskulatur einer Hinterextremität durch starkes Quetschen verletzt. Das verursachte eine allmähliche Blutdrucksenkung und führte schliesslich zum Zusammenbruch des Kreislaufes und des Tieres. Die Blutproben wurden aus der Femoralvene des zerquetschten Beines entnommen. Die Untersuchungen wurden von Zeit zu Zeit bis kurz vor dem Tode ausgeführt. Allen drei Tieren dieser Versuchsserie war vorher Prostigmin oder Physostigmin intravenös einverleibt worden.

In der nächstfolgenden Tabelle 3 werden die Resultate der Blutuntersuchungen der Wundkollapstiere zusammengefasst wiedergegeben. Die beiden Untergruppen dieser Versuchsserie sind getrennt dargestellt.

T a b e l l e 3.

Wirksamkeit der Blutproben bei Wundkollaps.

Zahl der Versuche	Blut entnommen			
	Vorher	Zur Zeit	Nachher	Vor d. Tode
Peritonealbereich (ohne Physostigmin.) 6	(6) —	(7) —, +	(17) —	(5) —, (2) +
Muskelbereich (mit Prostigmin) 3	(3) —	(3) —	(5) —	(5) —

— bedeutet Fehlen der Acetylcholinreaktion.

+ bedeutet positive Acetylcholinreaktion.

Die Ziffern vor dem Reaktionszeichen geben die Zahl der geprüften Blutproben an.

Aus dem angeführten Material ergibt sich, dass die Blutproben der Wundkollapsfälle nur sehr selten eine Acetylcholinwirkung aufwiesen: nur drei positive Resultate hat es auf etwa 54 Einzelprüfungen gegeben. In einem Versuche wurde bei einer in der Zerquetschungsphase entnommenen Blutprobe und in einem anderen bei den zwei letzten vor dem Tode entnommenen Blutproben Wirksamkeit festgestellt. Es ist wahrscheinlich, dass die gelegentlich feststellbare wirksame

Substanz im Blute der Vena cava inferior aus dem Magendarmgebiet stammt.

Die Untersuchungen der aus der Hinterbeinvene entnommenen Blutproben nach Zerquetschung der Beinmuskulatur haben nicht ein einziges positives Resultat ergeben. Ein Auftreten von Acetylcholin scheint also bei solchen Versuchen ausgeschlossen zu sein, um so mehr als alle drei Tiere vorher Prostigmin, resp. Physostigmin erhalten hatten.

4. Der Adrenalin-Kollapszustand¹⁾.

Intravenöse Injektion grösserer Adrenalinmengen wird als eine weitere Möglichkeit zur Erzeugung von Kollapszuständen angesehen (Macleod (16)). Nach intravenöser Einverleibung von Adrenalin folgt auf primäre Steigerung des Blutdruckes eine Senkung als Übergang zur sekundären Phase des niedrigen Druckes (Trendelenburg (17)). Diese Phase kann mehr oder weniger lange andauern und der Blutdruck kann gelegentlich die Werte des Ausgangsdruckes deutlich unterschreiten. Diese dem Adrenalinhochdruck folgende Blutdrucksenkung dürfte anscheinend von der reflektorischen Erregung der Gefässdilatorencentren im Gehirn und des verlängerten Markes bedingt sein, wobei auch ein Mitwirken von Stoffwechselprodukten, resp. einigen biochemischen Verbindungen, nicht ausgeschlossen ist (Trendelenburg (17)). Am Eintritt dieser reflektorischen Entlastungsreaktion, die mit allgemeiner Erweiterung der peripheren Blutstrombahnen und Hemmung der Herztätigkeit einhergeht, sind die Erregungen der Pressorezeptoren, insbesondere der Carotissinusnerven, weitgehend beteiligt (Heymans (18)).

Bei unseren Versuchstieren haben wir Adrenalindosen von 0,01 bis 0,5 mg pro Tier intrajugular eingespritzt. Zur Untersuchung auf Acetylcholin wurde das Blut aus der Femoralvene vor der Adrenalinzugabe, während des Adrenalinhochdruckes, während der Blutdrucksenkung, während des niedrigen Druckes und in einer noch etwas späteren Phase entnommen. Da im Verlaufe dieses Experimentes das Blut zur Analyse aus

1) Bei der Ausführung dieser Versuchsreihe hat uns stud. med. E. Raudam wertvolle Hilfe geleistet.

dem Organismus in relativ grossen Mengen (etwa 30 ccm) abgelassen wurde, so stellen die registrierten Blutdruckkurven eigentlich nicht mehr das normale Verhalten des Blutdruckes dar. Den auftretenden gefässdilatatorischen Reaktionsvorgang nach der Adrenalininjektion konnten wir an der Stromgrösse aus der Extremitätenvene noch besser verfolgen. Der Abfluss aus der Vene war nämlich häufig gerade zur Zeit der Blutdrucksenkung und am Anfang der niedrigen Blutdruckphase stark erhöht. Der erhöhte Ausfluss zur Zeit des niedrigen arteriellen Blutdruckes ist nur durch eine Erweiterung des peripheren Strombezirkes zu erklären.

Die Blutuntersuchungen auf Acetylcholinwirkung nach Adrenalininjektion wurden an zwölf Versuchstieren und öfters wiederholt ausgeführt. Die gewonnenen Resultate sind in Tabelle 4 angeführt. Die sechs ersten Versuche (1 bis 6) sind mit Normaltieren ausgeführt und die folgenden sechs (7 bis 12) mit Tieren, denen vor der Adrenalineinspritzung Physostigmin injiziert worden war. Die letzten 3 Versuchstiere (10, 11 und 12) waren vagotomiert.

Das Fazit der in Tabelle 4 angeführten Versuche bringt uns unmissverständlich zur Annahme, dass die intravenöse Adrenalininjektion fast regelmässig zum Auftreten von Acetylcholin oder einer ähnlich wirksamen Substanz im strömenden Blute des Hinterbeines führt. Die Wirksamkeit des Blutes wurde fast ausschliesslich in der Hochdruck- und der Niederdruckphase, besonders in der letzteren, beobachtet. Das Auftreten dieser Wirksamkeit scheint dabei eng mit der nach der Blutdrucksteigerung eintretenden Phase der Gefässdilatation verbunden zu sein. Deutlich ist aus der Tabelle zu ersehen, dass die später wie auch vor der Adrenalininjektion entnommenen Blutproben fast nie eine ähnliche Wirkung auf die Blutegelpräparate ausgeübt haben. Wenn wir unsere Versuche den verschiedenen Versuchsbedingungen nach (Eserinzugabe, Vagotomie) betrachten, so stellt sich heraus, dass hier in den Resultaten keine prinzipiellen Unterschiede festgestellt werden können. Erstens konnte das Wirksamwerden des Blutes nach der Adrenalininjektion bei den nichteserinisierten Tieren etwa gleich oft festgestellt werden wie bei den eserinisierten. Auch quantitativ sind der Reaktionsstärke nach keine grösseren Unterschiede aufgefallen, indem die festgestellten Wirkungen

Tabelle 4.

Wirksamkeit von Blutproben bei Adrenalinkollaps.

Vers.- Tier	Adren. Dos. mg.	Blut entnommen			
		Vorher	Hochdruck	Niederdruck	Später
1.	1) 0,01 2) 0,1	—	+	—	—
2.	1) 0,03 2) 0,1	—	+	—	—
3.	1) 0,02 2) 0,5	— (+)	— (+)	— (+)	—
4.	1) 0,02 2) 0,1	— (+)	— (+)	+	— (+)
5.	1) 0,2	—	(2) —	—, +	—
6.	1) 0,1 2) 0,5	— — (+)	— +	(2) — (2) +	(2) — — (+)
7.	1) 0,06 2) 0,1	—	—	(2) — (2) —	—
8.	1) 0,04 2) 0,07	—	—	(2) + (2) +	— (+)
9.	1) 0,1	—	+	+	(2) —
10. vagot.	1) 0,18	—	—	(2) +	—
11. vagot.	1) 0,18 2) 0,5	— —	— —	+ , — — (+), —	— —
12. vagot.	1) 0,4 2) 0,4	— —	— +	(2) — +	— —
Total		(12) — (4) — (+)	(12) — (4) — (+) (6) +	(14) — (3) — (+) (14) +	(13) — (3) — (+) (1) +

— bedeutet Fehlen der Acetylcholinreaktion.

— (+) bedeutet eine schwache, fragliche Acetylcholinreaktion.

+ bedeutet positive Acetylcholinreaktion.

Die Ziffern vor dem Reaktionszeichen geben die Zahl der geprüften Blutproben an.

in beiden Serien etwa der Schwellenkonzentration für die Blutegel entsprachen. Zweitens ist zu konstatieren, dass auch an vagotomierten Tieren das Auftreten der wirksamen Substanz festgestellt werden konnte.

Ausser den in der Tabelle wiedergegebenen Versuchen haben wir analoge Untersuchungen gelegentlich auch bei verschiedenen anderen Versuchstieren ausgeführt. Es handelt sich hier-

bei um Versuchstiere, die im Verlaufe einer längeren Zeit schon für andere Versuchszwecke narkotisiert verwendet worden waren. Dabei waren einigen von ihnen im vorhergehenden Versuche grössere Adrenalinmengen gegeben, bei anderen die Vagotomie ausgeführt worden, und noch einige weitere stammten aus unseren Pepton- und Wundkollaps-Versuchen. Bezüglich dieser Versuche muss hervorgehoben werden, dass bei ihnen Acetylcholinreaktionen mit den nach Adrenalininjektion entnommenen Blutproben viel seltener erhalten wurden. Von 12 Versuchstieren wurden nur in drei Experimenten positive Resultate erzielt. In keinem dieser Versuche wurde den Tieren Physostigmin oder Prostigmin gegeben. Eine Erklärung für das relativ seltene Auftreten der Acetylcholinwirkung in den nach der Adrenalininjektion entnommenen Blutproben ist aus den Versuchsbedingungen nicht abzuleiten. Als einziger in Frage kommender Faktor könnte vielleicht die vorherige Verwendungsart der Versuchstiere zur Erklärung herangezogen werden.

*

Zum Schlusse haben wir noch einiges über die Testreaktionen an Blutegelpräparaten nachzuholen. Im allgemeinen übte das Blut der eserinierten wie der nicht eserinierten Tiere auf die Blutegelpräparate normalerweise keine Wirkung aus. Nur ausnahmsweise wurde in wenigen Versuchen eine schwach konstriktorische Wirkung des Blutes gefunden, und sogar ohne dass den Tieren vorher Physostigmin gegeben worden war, und diese Wirkung blieb auch beim Stehenlassen der Blutproben ohne Physostigminzugabe bestehen. Diese Versuche, sofern den ausgelösten Reaktionen nach eine Zunahme der konstriktorischen Wirkung des Blutes nicht festzustellen war, wurden bei der Zusammenstellung der Versuchsergebnisse weggelassen. Weit öfter haben die Blutproben auf die Blutegelpräparate eine schwache dilatatorische Wirkung ausgeübt. Diese die Blutegelmuskulatur zur Erschlaffung bringende Wirkung schien durch schwache Gerinnungserscheinungen im Blute bedingt zu sein, da sie durch grössere Liquoidzugaben zu verhüten und sogar zu beseitigen war. Eine definierte Ursache der dilatatorischen Wirkung kann aber noch nicht angegeben werden.

Im Verlaufe unserer Versuche sind wir noch auf eine weitere Besonderheit gestossen, welche in bezug auf das Acetylcholin vorkommen im Blute anscheinend von Bedeutung ist. Es wurde nämlich beobachtet, dass viele von den untersuchten Blutproben bei längerem Einwirken auf die Blutegelpräparate (etwa 15 bis 20 Minuten) oft eine schwache, zuweilen sogar eine ausgeprägte konstriktorische Wirkung ausübten. Anscheinend ist diese Eigenart mit der durch das ständige Sauerstoffdurchperlen bedingten Arterialisierung des venösen Blutes im Präparatgefäss in Verbindung zu bringen, denn wurde danach dasselbe Blut an einem anderen Blutegelpräparat nochmals geprüft, so zeigten diese Blutproben sofort eine Acetylcholinwirkung. Derartig wirksame Blutproben stammten aus der Phase der Kollapszustände und der Phase nach Adrenalinzugabe. Man kann vermuten, dass das Arterialisieren des Blutes einen im venösen Blute in inaktiver Form vorhandenen Stoff umzuformen oder die acetylcholinähnliche Wirkung des Blutes an sich zu aktivieren vermag. Leider sind wir aber augenblicklich noch nicht imstande, in bezug auf diese Frage etwas sicheres auszusagen. Vorläufig wurden denn auch diese eigenartigen Reaktionen für positive, einer Acetylcholinwirkung entsprechende gehalten.

Zum Schluss wäre noch hinsichtlich unserer Befunde mittels des Blutegelverfahrens im allgemeinen einiges zu erörtern. Wir konnten in unseren Untersuchungen die Zerstörbarkeit des in ihnen wirksamen Prinzips durch Blutesterase nicht feststellen und auch den Nachweis einiger anderer Eigenschaften zur besseren Identifizierung mit Acetylcholin nicht erbringen. Das war durch die hierzu zu geringen Blutmengen, wie auch durch die relativ niedrige Konzentration des Stoffes im Blute bedingt. Einiges in bezug darauf soll noch in nachfolgenden Berichten gebracht werden. Immerhin wird, wenn diese wirksame Substanz allen Eigenschaften nach dem Acetylcholin nicht gleichgestellt werden könnte, dadurch die Deutung unseres Befundes wesentlich nicht verändert. Die hohe Spezifität der Blutegelreaktion an sich garantiert schon, dass es sich bei unseren Befunden, wenn nicht direkt um Acetylcholin, so doch wenigstens um eine ihm sehr nahestehende Verbindung handelt.

Besprechung der Resultate.

Aus den vorliegenden, das Auftreten einer acetylcholin-ähnlichen Wirkung bei der Blutegelreaktion betreffenden Befunden geht hervor, dass Acetylcholin im Blute der Peptonkollapstiere und Wundkollapstiere mit Quetschungen im Bereiche der Muskulatur nicht festzustellen war. Im Blute der Entblutungs- und Wundkollapstiere (letztere mit zerquetschten Gedärmen) wurden hingegen einzelne positive Wirkungen in etlichen Versuchen gefunden: von diesen 14 in Kollapszustand gebrachten Versuchstieren haben nur 4, insgesamt an etwa 6 Blutproben, positive Reaktionen gezeigt. Viel öfter, wenn auch nicht regelmässig, wurde aber das Wirksamwerden des Blutes nach intravenösen Adrenalininjektionen in grösseren Dosen beobachtet: vorwiegend war das aus der Phase der eintretenden gefässdilatatorischen Entlastungsreaktion herstammende Blut wirksam. Von 12 einwandfreien Versuchstieren sind bei 6 klare positive Befunde erhalten worden. Im allgemeinen muss in bezug auf das Wirksamwerden des Blutes für alle Kollapsformen hervorgehoben werden, dass alle positiven Befunde ausschliesslich mit aus einer gewissen, sehr kurzen Zeitspanne stammenden Blutproben erhalten werden konnten.

Die Resultate der im obigen geschilderten Untersuchungen zeigen zusammengefasst, dass das Blut bei einigen Kollapszuständen gar keine, bei anderen nur wenige und beim Adrenalin-Kollapszustand sehr häufige positive Blutegelreaktionen ergibt. Bei diesem Resultat wäre zunächst die Frage zu beantworten: was kann die Ursache dieser Verschiedenartigkeit der Befunde sein? Anscheinend gibt es hierfür nur eine Erklärungsmöglichkeit, nämlich die, dass für dieses Ergebnis der verschiedene Mechanismus der einzelnen Kollapsformen massgebend sei. Dem insuffizienten Kreislaufzustande an sich scheint für die Acetylcholinbefunde in kausalem Sinne keine Bedeutung zuzukommen.

Im Grunde genommen ist der Adrenalin-Kollapszustand, der auch als einziger eine nennenswerte Anzahl von positiven, auf Acetylcholingehalt hinweisenden Befunden ergeben hat, von sämtlichen anderen Kollapsformen zu unterscheiden. Der Adrenalin-Kollapszustand beruht auf einer reflektorischen,

resp. zentralen Gefässerweiterung, auf vagalen Erregungen usw. Ausserdem müssen Adrenalin und Acetylcholin im Organismus als physiologische Antagonisten angesehen werden, und das lässt die Adrenalinwirkung unter einem besonderen Gesichtswinkel betrachten. Das Wesentliche beim Adrenalin-Kollapszustand scheint zu sein, dass er bei Erregungen neurogenen Ursprungs eintritt, während letzteren bei allen anderen Kollapsformen keine merkliche Bedeutung zukommt. Dieser Tatsache kommt im Lichte der heutigen Auffassung der Acetylcholinfrage eine sehr wesentliche Bedeutung zu, indem das Acetylcholin fast allgemein als ein Produkt von Nerven-erregungen angesehen wird. Das alles hat uns zu der Meinung geführt, dass das Auftreten von Acetylcholin in unseren Kollapsformen von Erregungen neurogener Elemente herrührte. Fehlen aber bei einer Kollapsform neurogene Erregungen, oder bleiben sie wenigstens im Hintergrunde, so ist auch das Auftreten von Acetylcholin im Blute nicht oder nur ausnahmsweise nachzuweisen. In unseren Entblutungs- wie Wundkollapsversuchen sind allerdings gewisse Erregungen von Nerven-Elementen auch nicht ausgeschlossen. Ob es sich in unseren Versuchen um einen Wirkstoff der sympathischen gefässdilatatorischen (Bülbring und Burn (9)) Fasern oder, eventuell, auch noch einiger anderer Fasern handelt, ist auf Grund der vorliegenden Versuche nicht zu erschliessen.

Unsere Befunde bei dem Adrenalin-Kollapszustande werden, wie die Erklärungen dazu, in gewissem Umfange auch durch verschiedene Ergebnisse anderer Autoren indirekt gestützt. Nach Gollwitzer-Meier und Otte (20) tritt bei reflektorisch durch Reizung des Sinus caroticus ausgelösten Erweiterungen verschiedener, mit künstlicher Nährlösung durchströmter Arterienabschnitte Acetylcholin in der Perfusionsflüssigkeit auf. Auch die aus Blutgefässen hergestellten Extrakte zeigten danach eine etwa 100%-ige Zunahme des Acetylcholingehalts als Folge der Reizung. Von besonderem Interesse ist noch der Befund von Feldberg und Schriever (21), die gezeigt haben, dass nach einer Infusion von Adrenalin bei eserinierten Hunden Acetylcholin in der Cerebrospinalflüssigkeit mit Hilfe von Blutegelpräparaten nachzuweisen ist. Dieses Acetylcholin soll der Vermutung dieser Autoren nach aus dem Hirngewebe in den Liquor hinüberdif-

fundiert sein. Dieser Befund stellt der Analogie nach eine gewisse Bekräftigung unserer Ergebnisse dar. Andererseits ist es aber auffallend, dass diese Autoren im arteriellen wie im venösen Blute derselben Tiere nach der Adrenalininfusion keine Zunahme von Acetylcholin feststellen konnten. Aus der Beschreibung der Versuche ist leider nicht zu ersehen, wie eingehend die Blutuntersuchungen gemacht wurden. Es ist möglich, dass dieser Unterschied durch die relativ kurze Auftrittsphase des Acetylcholins im Blute zu erklären ist. Eventuell spielen aber noch andere Faktoren und Eigentümlichkeiten der Versuchsbedingungen dabei eine Rolle. Allerdings ist aus der Arbeit von Feldberg und Schriever zu ersehen, dass das Blut von eserinisierten Hunden stets eine schwache Wirkung auf Blutegel ausgeübt hat. Hinter dieser Beobachtung könnte eventuell eine schwache Zunahme der Blutwirkung verborgen geblieben sein.

Die aus den vorliegenden Versuchen resultierende Tatsache, wie auch deren Erklärung, ist für die Problemstellung dieser Arbeit von grosser Bedeutung. Zunächst erscheint durch diese Versuche bewiesen zu sein, dass ein insuffizienter Kreislauf an sich noch nicht die Acetylcholinbefunde im Blute verursacht, selbst wenn die Versuchstiere in bedrohlichem Zustande, vor dem Tode stehen. Von den vielen Versuchstieren hat nur ein einziges gegen Ende des Versuches mit sehr schlechtem Kreislauf ein Wirksamwerden des Blutes aufgewiesen. Auch das scheint darauf hinzudeuten, dass das Acetylcholin von dem insuffizienten Kreislaufzustande nicht verursacht wird, sondern erst unter einigen besonderen Verhältnissen entsteht und in die Blutbahnen gelangt. Es erscheint durchaus plausibel, dass an unseren wenigen positiven Befunden bei einigen Kollapsformen — bei den Entblutungs- wie auch Wundkollapsfällen — einige neurogene Elemente beteiligt gewesen sind, sind doch gewisse Erregungen der Vasomotoren beim Entbluten, wie auch Reizung der Nerven-elemente bei der rohen Behandlung der Gedärme sicher vorhanden gewesen. Weiter kann aber auch möglich sein, dass dem Adrenalin-Kollapszustande an sich ein spezifischer Charakter eignet, der zum öfteren Auftreten von Acetylcholin im Blute führt. Bei diesem Umstande wären die einzelnen wenigen Befunde bei anderen Kollapszuständen auch noch dadurch zu erklären, dass aus den Nebennieren aus-

geschüttetes Adrenalin in der Kollapsphase ebenfalls zum Auftreten von Acetylcholin im Blute führen könnte.

Es scheint vielleicht, dass ein gewisser Widerspruch zwischen unseren früheren (Fleisch, Sibul und Kaelin) und den jetzigen Befunden bestehe. Das ist aber nicht der Fall. In den damaligen Untersuchungen hat nämlich die vorherige starke Reizung der Muskulatur sicher in gewissem Masse auch die Nerven zur Erregung gebracht. Diese letztere Erregung konnte wohl auch die eigentliche Ursache der damaligen positiven Befunde beim insuffizienten Kreislaufzustande abgeben. Gewiss wird damit die Rolle des insuffizienten Kreislaufzustandes nicht abgelehnt, doch scheint ihm eine mehr sekundäre Wirkung zuzufallen. Besonders die Befunde von Handovsky und Farber (22) scheinen auf diese Annahme hinzuweisen. Das Acetylcholin kann nämlich an die Perfusionsflüssigkeit der Lunge bei Vagusreizung nur bei saurer Reaktion, etwa bei pH 6,5 bis 7,0 abgegeben werden; wird die Reaktion der Durchströmungsflüssigkeit schwach alkalisch mit pH 7,3 hergestellt, so wird keine Aufnahme mehr festgestellt. Da ein insuffizienter Kreislauf zugleich zur Zunahme der Wasserstoffionen führt, so ist anzunehmen, dass das Diffundieren von Acetylcholin ins Blut erst durch das Sauerwerden des Blutes ermöglicht oder bedingt wird. Die Rolle des geschädigten Kreislaufes bei den Acetylcholinbefunden im strömenden Blute, resp. in den Perfusionsflüssigkeiten, ist somit von sekundärer Natur.

Zusammenfassung.

Da von Fleisch, Sibul und Kaelin die Beobachtung gemacht worden ist, dass Acetylcholinbefunde im venösen Blute der Extremitätenvene nur bei insuffizientem Kreislaufe mit Blutdrucksenkung festgestellt werden können, wird in der vorliegenden Arbeit das Blut bei verschiedenen pathologischen Kreislaufverhältnissen auf Acetylcholin untersucht. Dazu werden bei Katzen experimentell Entblutungs-, Pepton-, Wund- und Adrenalin-Kollapszustände erzeugt und wird danach venöses Blut aus der Extremitätenvene, resp. auch aus der Vena cava inf. mittels Blutegelreaktion auf Acetylcholin untersucht.

Es ergab sich, dass Acetylcholin bei Entblutungs- und Wundkollapsfällen gelegentlich während kurzer Zeitabschnitte

im Blute in kleinen Mengen gefunden werden konnte, hingegen aber nicht beim Peptonkollaps. Nach intravenösen Adrenalininjektionen werden häufig positive Befunde von Acetylcholin im Blute erzielt. Dabei wird für wahrscheinlich gehalten, dass das Acetylcholin von erregten neurogenen Elementen herrührt. Auch für die nur wenigen Acetylcholinbefunde bei den Entblutungs- und Wundkollapsversuchen wird angenommen, dass sie durch Erregung des Nervengewebes bedingt waren. Eventuell könnte dabei aber auch als primäre Ursache eine Ausschüttung von Adrenalin während der Kollapsphase in Frage kommen. Der geschädigte Kreislaufzustand an sich dürfte bezüglich der Befunde von Acetylcholin im Blute nur eine sekundäre Bedeutung haben.

Diese Versuche lassen die Vermutung zu, dass das Acetylcholin bei einigen Schockformen am Kollapsmechanismus mitwirken kann und dabei in die Blutbahnen gelangt.

Schrifttum.

- 1) Gaddum, J. H.: Gefässerweiternde Stoffe der Gewebe. Leipzig 1936.
- 2) Franel, L.: Arch. intern. de Physiol. **41**, 256 (1935).
- 3) Minz, B.: Arch. f. exper. Path. **168**, 292 (1932).
- 4) Feldberg, W. und Rosenfeld, P.: Pflügers Arch. **232**, 212 (1933).
- 5) Dale, H. und Feldberg, W.: J. Physiol. **81**, 320 (1934).
- 6) Donomae, J.: Pflügers Arch. **234**, 318 (1934).
- 7) Feldberg, W. und Kraye, O.: Arch. f. exp. Path. **172**, 170 (1933).
- 8) Dale, H., Feldberg, W. und Vogt, M.: J. Physiol. **86**, 353 (1936).
- 9) Bülbbring, E. und Burn, J. H.: J. Physiol. **83**, 483 (1935).
- 10) Fleisch, A., Sibul, I. und Kaelin, M.: Arch. internat. de Physiol. **44**, 24 (1936).
- 11) Wacholder, K. und Matthias, F.: Pflügers Arch. **232**, 159 (1933).
- 12) Eppinger, H.: Die ärztliche Praxis **8**, 277 (1934).
- 13) Moon, H.: Deutsche med. Wschr. **1934**, 1667, 1711.
- 14) König, W.: Zbl. Chir. **1935**, 2862.
- 15) Dale, H.: Brit. J. exper. Pathol. **1**, 103 (1920).
- 16) Macleod, J. R.: Physiology and Biochemistry in Modern Medicine, S. 524, London 1930.
- 17) Trendelenburg, P.: Die Hormone I, 258, Berlin 1929.
- 18) Heymans, C.: Arch. internat. de Pharmacodynamie **35**, 269 (1929).
- 19) Palme, F.: Zeitschr. f. Kreislaufforsch. **28**, 173 (1936).
- 20) Gollwitzer-Meier, Kl. und Otte, M. L.: Arch. f. exper. Pathol. **171**, 1 (1933).
- 21) Feldberg, W. und Schriever, H.: J. Physiol. **86**, 277 (1936).
- 22) Handovsky, H. und Farber, S.: Arch. internat. de Pharmacodynamie **54**, 137 (1936).