

(Aus dem Physiologischen Institut der Universität Innsbruck.)

Über die Aufhebung der Blutdruckwirkung des Acetylcholins durch Blut und Serum.

Von

F. Plattner und H. Hintner.

Mit 2 Textabbildungen.

(Eingegangen am 22. Februar 1929.)

Die von einem von uns gemeinsam mit *Galehr*¹ festgestellte Tatsache, daß das Acetylcholin durch die Einwirkung von Blut oder Serum in bemerkenswert kurzer Zeit zerstört, d. h. in seine Bestandteile Cholin und Essigsäure zerlegt wird, wurde von *Viale* und *Soncini*² in einer kürzlich erschienenen Mitteilung angezweifelt. Die Berechtigung zu ihrem Zweifel leiten diese Autoren aus folgenden Angaben ab:

1. Das Filtrat aus der nach *Galehr* und *Plattner* durchgeführten Fällung mit Trichloressigsäure enthält nicht das gesamte dem Blute zugesetzte Acetylcholin, weil ein Teil davon im Präcipitat bleibt; diesen Teil haben *Viale* und *Soncini* im alkoholischen Extrakt des Präcipitates nachgewiesen. 2. Ausgehend von der Annahme, daß wir es unterlassen hätten, die etwa eintretende Wirkungsabnahme einer Mischung von Acetylcholin und Blut direkt am Kaltblüterherzen zu prüfen, durchströmten *Viale* und *Soncini* Krötenherzen mit einer solchen Mischung (enthaltend Acetylcholin 1 : 4 Millionen) und geben an, daß sie selbst 4 Stunden nach ihrer Herstellung noch wirksam war. 3. Eine Mischung von Serum oder defibriniertem Blut und Acetylcholin (1 : 3000) bewahrte in den Versuchen von *Viale* und *Soncini* ihre Wirksamkeit auf den arteriellen Blutdruck des Hundes auch während einstündigen Stehens bei 37°.

Da diese Angaben den Anschein erwecken könnten, als ob sie geeignet wären, die Richtigkeit unserer Beobachtungen hinsichtlich des Schicksals des Acetylcholins im Blute in Frage zu stellen, sehen wir uns veranlaßt, zu ihnen Stellung zu nehmen. Zu den ersten beiden Punkten wäre folgendes zu bemerken:

¹ *Galehr* und *Plattner*, Pflügers Arch. **218**, 488 (1927).

² *Viale*, G. und *J.-M. Soncini*, C. r. Soc. Biol. Paris **99**, 1440 (1928).

Ad 1. Daß bei der durch eine einmalige Filtration bewerkstelligten Abtrennung einer Lösung von Bestandteilen, die in ihr grob suspendiert sind, ein Teil der Lösung und somit der in ihr gelösten Substanzen im Filtrerrückstand bleibt, ist eine bekannte Tatsache; sie bedurfte nicht der experimentellen Verifizierung durch *Viale* und *Soncini*: wir haben sie selbstverständlich berücksichtigt, indem wir nicht das Gesamtfiltrat aus der Trichloressigsäurefällung, sondern einen *aliquoten Teil* desselben zum Nachweis der jeweils unzerstört gebliebenen Acetylcholinmenge verwendeten. Dieser Umstand geht unzweideutig aus den methodischen Angaben unserer eingangs erwähnten Arbeit¹ hervor; aus ihr geht ferner hervor, daß in aliquoten Filtratanteilen das bei der Einwirkung von Blut aus dem Acetylcholin abgespaltene Cholin durch neuerliche Acetylierung quantitativ — als reacctyliertes Cholin — nachgewiesen werden kann, d. h. daß sich die AcetylcholinKonzentration, die in der Blutmischung bestehen müßte, wenn das Blut den Ester nicht spalten würde, in aliquoten Filtratanteilen vollständig wiederfinden läßt. Es ist demnach durchaus nicht „evident“, daß die hauptsächlich von uns verwendete Methode des Nachweises der Acetylcholinspaltung „défectueuse“ ist.

Ad 2. Wie die Abb. 1 unserer mehrfach zitierten Arbeit beweist, haben wir das Unwirksamwerden des Acetylcholins bei seiner Vermischung mit Blut auch direkt verfolgt, nämlich in der Weise, daß wir gleiche Teile der Mischung verschieden lange Zeiten nach ihrer Herstellung auf das isolierte Kaltblüterherz einwirken ließen. Dieser Versuch, in dem sich die rasche Wirkungsabnahme des mit Blut vermischten Acetylcholins stets klar zeigte, war sozusagen der Grundversuch, auf dem sich alle anderen Versuche aufbauten, aus denen ausnahmslos die hochgradige Zerstörbarkeit dieses Cholinesters hervorging.

Wenn es nun als feststehende Tatsache zu gelten hat, daß das Acetylcholin durch Blutzusatz rasch unwirksam gemacht wird, so muß dies notwendigerweise auch darin zum Ausdruck kommen, daß es unter der Einwirkung von Blut seine Wirkung auf den Blutdruck rasch verliert. Um zu beweisen, daß dies der Fall ist, daß also auch das dritte Argument, auf das sich der Angriff *Viales* und *Soncinis* stützt, nicht stichhaltig ist, haben wir folgende Versuche angestellt:

Bei 3 unter Morphin-Äther stehenden Hunden wurde zunächst aus einer Carotis eine kleine Menge Blut entnommen und defibriert; die Hälfte davon wurde zur Gewinnung von Serum zentrifugiert. Der Blutdruck wurde mittels Quecksilbermanometers registriert (endständig eingebundene Kanüle in der Carotis). In einen Seitenast der V. jugularis externa der anderen Seite wurde eine mit einem kurzen, peripher verschlossenen Schlauchstück armierte paraffinierte Kanüle so eingeführt, daß ihre Spitze gerade noch in den Hauptstamm der Jugularis reichte. Die Injektion der verschiedenen Lösungen erfolgte mit einer Rekordspritze, deren

¹ *Galehr* und *Plattner*, *Pflügers Arch.* **218**, 488 (1927).

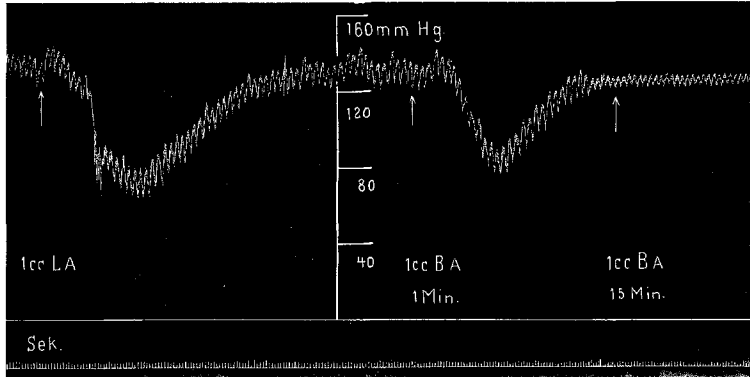
Hohlnadelspitze nach Durchstechung des Schlauches bis an das in der Jugularis befindliche Ende der Kanüle vorgeschoben wurde. Die jeweils (ganz langsam) injizierte Menge gelangte somit stets quantitativ in den Blutstrom der Jugularis. Die Thrombenbildung im Bereich des Kanülenendes war nur geringfügig; eine irgendwie erhebliche Drosselung der Blutströmung kam durch sie nicht zustande.

Für jeden Versuch wurde frisches Acetylcholin durch Acetylierung von Cholinchlorid *Merck* mit Acetylchlorid hergestellt und mit Locke-Lösung aufgenommen (Stammlösung 1:5000 bzw. 1:1500). Teile der Stammlösungen wurden mit gleichen Teilen Locke-Lösung oder Blut oder Serum gemischt; die Mischungen wurden in einem Wasserbad auf einer Temperatur von 37–38° gehalten. Die Erfolge der Injektion dieser Mischungen sind in der nachstehenden Tabelle und in der Abb. 1 (S. 398) wiedergegeben.

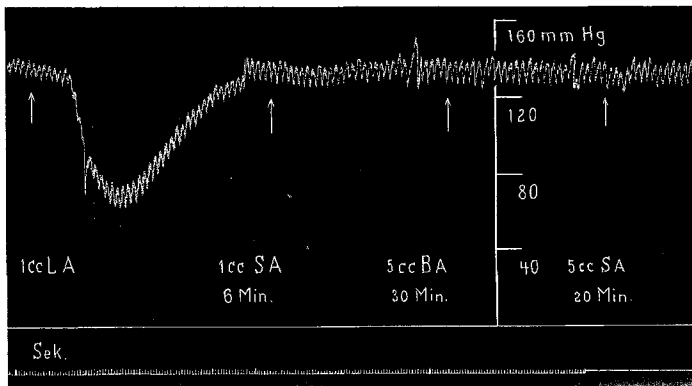
	Inji- zierte Menge ccm	Injizierte Mischung: Acetylcholin +	Acetylcholin pro kg Hund mg	Zeit seit Her- stellung der Mischung Min.	Blutdruck- senkung %
<i>Hund 1 (11 kg)</i>					
Acetylcholin- konzentration der Proben = 1 : 10000	1	Locke	9×10^{-3}	30	40
	1	Blut	9×10^{-3}	2	0
	1	Serum	9×10^{-3}	3	12
	1	„	9×10^{-3}	30	0
	1	Locke	9×10^{-3}	89	39
<i>Hund 2 (15 kg)</i>					
Acetylcholin- konzentration der Proben = 1 : 3000	1	Locke	22×10^{-3}	68	52,5
	1	Blut	22×10^{-3}	0,5	33
	1	„	22×10^{-3}	6	0
	5	„	110×10^{-3}	40	0
	1	Locke	22×10^{-3}	95	50
	1	Serum	22×10^{-3}	0,7	44
	1	„	22×10^{-3}	6	29
	1	„	22×10^{-3}	18	2
	1	„	22×10^{-3}	30	0
	5	„	110×10^{-3}	50	0

Tabelle und Abbildung zeigen, daß die starke depressorische Wirkung, die in Lockescher Flüssigkeit gelöstes Acetylcholin auf den Blutdruck entfaltet, unmittelbar im Anschluß an den Zusatz von Blut oder Serum abnimmt und innerhalb meist weit unter einer Stunde liegender Zeiten so stark vermindert wird, daß selbst die Injektion der fünffachen Menge keinerlei deutlichen Effekt mehr hervorruft. Das Ergebnis dieser im wesentlichen nach dem Vorgange von *Viale* und *Soncini* ausgeführten Versuche deckt sich demnach völlig mit unseren bisherigen Erfahrungen über das Schicksal des Acetylcholins im Blute. Wir erblicken daher in diesen Versuchen einen neuerlichen Beweis für die Gültigkeit der Tatsache, daß der Essigsäureester des Cholins durch Blut und Serum rasch zerstört wird. Welchem Umstande es zuzuschreiben ist, daß *Viale* und

Soncini unter anscheinend gleichen Bedingungen zu einem anderen Ergebnis gelangten, läßt sich nicht angeben, da die genannten Autoren keine ausreichenden Angaben über die Art der Durchführung ihrer Versuche machen.



a)



b)

Abb. 1a und b. Hund Nr. 3. 20 kg. Abnahme der Blutdruckwirkung von Acetylcholin 1:3000: a) durch Blut, b) durch Serum. LA, BA, SA = Locke-Lösung, bez. Blut, bzw. Serum + Acetylcholin 1:1500 aa. Die Minutenangaben bedeuten die Zeit, die seit Herstellung der Mischung vergangen ist.

Anmerkung bei der Korrektur.

Während der Drucklegung dieser Arbeit ist eine ausführlichere Veröffentlichung *Viales* und *Soncini* über den in Frage stehenden Gegenstand erschienen (Pflügers Arch. **221**, 594 [1929]). Sie ist nicht so ausführlich, daß sie über gewisse sehr wichtige Punkte, wie etwa das Gewicht der Hunde, die Höhe des Blutdruckes oder die Herkunft des Acetylcholinpräparates, Auskunft gäbe. Ferner ist zu bemerken, daß eine Nachprüfung, die über die Richtigkeit von Forschungsergebnissen und ihrer Deutung entscheiden will, eine gründliche Kenntnis der in Diskussion stehenden Arbeiten zum Ausdruck bringen muß, und das Kennzeichen

größter Sorgsamkeit in der Durchführung der Versuche in sich tragen soll. Beides trifft auf die Arbeit von *Viale* und *Soncini* nicht zu. So sprechen sie z. B. die Ansicht aus, daß wir (*Galehr* und *Plattner*) eine Blutesterase für die Zerstörung des Acetylcholins verantwortlich machen, während wir den Standpunkt vertreten, daß es sich um eine Oberflächenkatalyse im heterogenen System handle. Ferner stellen sie die Sache so dar, als ob wir immer mit Schwellenkonzentrationen von Acetylcholin gearbeitet hätten, obwohl aus unserer 1. Mitteilung für jedermann klar ersichtlich sein muß, daß die Esterkonzentration im System Acetylcholin—Blut in der Regel 1:40000 betrug und daß die Trichloressigsäurefiltrate zur Titration auch nur halbwegs unzerstörter Acetylcholinmengen am Froschherzen mindestens auf das 200fache verdünnt werden mußten. Außerdem lassen *Viale* und *Soncini* den Umstand außer acht, daß jedwede Zeitangabe bei der Charakterisierung eines Spaltungsvorganges nach seinem zeitlichen Verlauf selbstredend nur in Relation zu den jeweils bestehenden Bedingungen zu verstehen ist: Acetylcholin in der Konzentration 1:40000 wird natürlich — *ceteris paribus* — rascher zerstört als Acetylcholin 1:2500; *Viale* und *Soncini* lesen aber aus unserer Arbeit augenscheinlich nur den, bloß für *Menschenblut* unter bestimmten Bedingungen gültigen Wert von 15—20 Sekunden heraus, und stellen ihn so hin, als ob er gewissermaßen unsere Zeitangabe für die Acetylcholinzerstörung im Blute schlechthin wäre. — Daß die Zerstörung auch sehr hoher Acetylcholkonzentrationen durch Blut oder Serum immerhin recht rasch vor sich geht, zeigen die voranstehend geschilderten Versuche. Die Kurven, die *Viale* und *Soncini* bringen, um mit ihnen die Schwerzerstörbarkeit des Acetylcholins zu beweisen, entbehren u. E. jeglicher Beweiskraft, da sie keine Auskunft über die Anwendung einer hinreichenden Kontrolle geben. Wir müssen fragen: Was haben *Viale* und *Soncini* bekommen, wenn sie in den zum Krötenherzen führenden Schlauch oder in die Vena jugularis ihrer Versuchshunde eine sicher acetylcholinfreie Flüssigkeit (Ringerlösung oder Blut) injizierten? Bekanntlich reagiert sowohl das Kaltblüterherz wie auch der Säugerkreislauf auch auf geringfügige hydrodynamische Einflüsse oft sehr ausgiebig, was zu schwerwiegenden Täuschungen führen kann; eine genaue Kontrolle ist daher in jedem Falle unerlässlich. In den von uns hier und seinerzeit abgebildeten Kurven ist sie gegeben durch die Injektion der bereits unwirksam gewordenen Acetylcholinmischungen. Wenn *Viale* und *Soncini* keine Kontrollinjektionen ausgeführt haben, so ist das eine Unterlassung, die ihnen die Berechtigung nimmt, aus ihren Kurven Schlüsse zu ziehen; haben sie die Kontrollen zwar ausgeführt, aber nicht publiziert, so ist dies ein Mangel in der Darstellung, der noch fühlbarer ist als der, der darin besteht, daß z. B. die Kurven ihrer Abb. 4, laut Legende, gar nicht die Versuche darstellen, die sie nach den Ausführungen des Textes (S. 597 unten) zur Darstellung bringen sollten. — Nach alledem gelangen wir zu dem Schluß, daß es *Viale* und *Soncini* nicht gelungen ist, einen Beweis gegen die Tatsache, daß das Acetylcholin durch Blut rasch zerstört wird, zu erbringen.

Zusammenfassung.

Die Gründe, auf die *Viale* und *Soncini* ihre Behauptung stützen, daß das Acetylcholin durch Blut nicht zerstört werde, werden einerseits durch den Hinweis auf die Irrigkeit gewisser Auffassungen dieser Autoren, andererseits dadurch widerlegt, daß eigene Blutdruckversuche am Hunde mitgeteilt werden, aus denen die rasche Zerstörung des Acetylcholins durch Blut oder Serum hervorgeht.