(Aus der medizinischen Klinik der Universität Heidelberg.)

Arbeit und Gaswechsel am Froschherzen.

II. Mitteilung.

Wirkung des Cyanids.

Von

Dr. **Viktor Weizsäcker**,
Assistent der Klinik.

(Mit 1 Textfigur.)

Die im folgenden mitgeteilten Untersuchungen gingen wie die früheren von der Frage aus, wie wir uns die Beziehungen zwischen Arbeit und Gaswechsel bei der Muskeltätigkeit vorzustellen haben. Zu diesem Zweck wurde versucht, die Grösse der beiden Funktionen sowie das Verhältnis dieser Grössen auf chemischem Wege zu beeinflussen. Dass experimentelle Einwirkungen solcher Art auf physikalischem Wege möglich sind, nämlich durch Variation der Belastung, wurde früher gezeigt ¹⁾.

Dieses Ergebnis könnte man sehr verschieden deuten. Man müsste wissen, ob unsere Anschauungen über die Thermodynamik des Muskels nur für die kurzzeitigen Versuchsperioden gelten, oder ob sie auch für stationäre und langdauernde Zustände recht behalten, wie sie ja beim Herzen gegeben sind. Speziell für die Erhöhung des Wirkungsgrades bei höherer Belastung ist hierüber wenig bekannt. Die zitierten Untersuchungen am Froschherzen gehen auf Zeiten zwischen 30 und 60 Minuten, und wir haben Grund, für diese Dauer eine Zunahme des Wirkungsgrades mit zunehmender Belastung zu vermuten.

Es wird am Schlusse dieser Mitteilung auf die Notwendigkeit solcher Trennung zwischen langdauerndem, stationärem Zustand und

1) Pflüger's Arch. Bd. 141 S. 457. 1911.

der kurzdauernden Beobachtung, z. B. des thermoelektrischen Experimentes, zurückzukommen sein.

Vollkommen sicher geht aus jenen Versuchen hervor, dass das Verhältnis von Arbeit und Oxydation in den genannten Zeiträumen nicht konstant zu sein braucht.

Die Beziehung zwischen Druckleistung (isometrischem Maximum) und Sauerstoffverbrauch ist auch am Warmblüterherzen von E. Rohde¹⁾ untersucht und hier durch Chloralhydrat, Cyankalium und andere zu ungunsten der Leistung, durch Strophantin und Adrenalin zu gunsten der Leistung veränderlich gefunden worden. Trotz dieser prinzipiellen Übereinstimmung stehen zu diesen Versuchen, was die Wirkung des Cyankaliums anlangt, die im folgenden mitgeteilten in einem gewissen Gegensatz. Doch scheinen mir die Unterschiede zwischen Warm- und Kaltblüterherz sowie zwischen den gesamten experimentellen Bedingungen zu gross und zu wenig geklärt zu sein, als dass eine Diskussion der Gründe dieser Abweichung jetzt schon ein Resultat haben könnte.

Versuche.

Nach allem also, was die sogenannte Thermodynamik des Muskels, die vorhergenannten Gaswechseluntersuchungen und ferner die Erfahrungen über Anoxybiose des Frosches erwarten lassen, muss der Muskel ein gegebenes Arbeitsquantum mit verschiedenen Sauerstoffmengen leisten können. Es war aber die Frage, wie weit tatsächliche Unabhängigkeit der Arbeitsgrösse vom Sauerstoffverbrauch besteht, wie weit quantitativ die Trennbarkeit von Oxydation und Kontraktion geht.

Wenn man pro Liter Durchspülungsflüssigkeit 0,025—0,5 Millimole Cyankalium zusetzt, so zeigt sich folgendes (vgl. Tab. I). Mit steigender Konzentration der Cyanidmoleküle wird die Oxydation in steigendem Maasse eingeschränkt, von eben merklicher bis zu kompletter Hemmung.

Jeder Versuch besteht aus drei Perioden (I, II, III). Die mittlere ist die Cyanidperiode. Zwischen II und III wird ausgewaschen. Die O₂-Werte sind nicht in absoluten Mengen, sondern in Millimeter Ablesung des Barcroft'schen Apparates angegeben. Ebenso in allen übrigen Tabellen. Vgl. „Methode“. Diese Hemmung ist in der Regel und bei „guten“ Herzen reversibel.

1) Vgl. Münchner mediz. Wochenschr. 1912 S. 785.

Tabelle I.

Versuch Nr.	KCN	Zahl der Kontrak- tionen	Dauer Min.	O ₂ mm	gcm	Proz. der Norm.		
						O ₂	Arbeit	
39. I.	—	900	32	48	5260	85	84	(95)
II.	$\frac{m}{40\ 000}$	900	32	41	4390			
III.	—	900	32	55	4030			
33. I.	—	900	41	31	8240	71	90	(94)
II.	$\frac{m}{20\ 000}$	900	41	22	7580			
III.	—	900	41	34	7920			
32. I.	—	800	34	31	9340	36	86	(96)
II.	$\frac{m}{10\ 000}$	800	37	11	8040			
III.	—	800	33	25	7380			
13. I.	—	1050	40	72	9800	30	68	(72)
II.	$\frac{m}{4000}$	1120	40	24	6650			
III.	—	1000	40	75	7560			
27. I.	—	800	38	45	4940	18	72	(75)
II.	$\frac{m}{3000}$	800	37	8	3570			
III.	—	800	37	45	4530			
72. I.	—	1000	40	38	3050	5	49	(53)
II.	$\frac{m}{2000}$	1000	40	2	1480			
III.	—	1000	40	38	2590			
57. I.	—	1000	46	21	2110	0	58	(78)
II.	$\frac{m}{2000}$	1000	49	0	1240			
III.	—	1000	49	16	1090			

Erklärung zu Tab. I. In den letzten drei Stäben sind O₂-Verbrauch bzw. Arbeit der Vergiftungsperiode in Prozenten der Norm ausgedrückt worden. Für die Arbeit gilt als Norm in den Zahlen des vorletzten Stabes Periode I, in den eingeklammerten Zahlen des letzten Stabes das Mittel aus I. und III. Periode. Bei letzterer Berechnungsart sind die Zahlen für die Arbeit noch günstiger.

Die Oxydation pflegt im Anschluss an die anoxymotische Cyanidperiode auch nicht deutlich zu steigen, von einem Nachholen der sistierten Verbrennungen kann nicht die Rede sein.

Anders die Arbeit. Die auch in der Norm meist erkennbare, übrigens mässige Tendenz, zu fallen, zeigt sich bei Einschränkung

der Oxydation bis auf 36 % der Norm überhaupt nicht erkennbar verstärkt. Bei noch weiterem Herabgehen der Oxydation beginnt auch die Arbeit zu fallen (reversibel), beträgt aber noch immer 50 % der Norm, wenn Oxydation überhaupt nicht mehr nachweisbar ist.

Die kleinste hier noch messbare Arbeitsgrösse war wohl immer kleiner als 0,1 g/cm entsprechend 0,0024 Mikrokalorien. Die kleinste noch messbare Sauerstoffmenge aber entsprach einer Wärmebildung von mindestens 12 Mikrokalorien bei Verbrennung von Kohlehydrat. Da also, energetisch betrachtet, die Arbeitsmessung so viel (5000 mal) empfindlicher war, musste entschieden werden, ob die jenseits der Fehlergrenze theoretisch denkbaren, nur nicht mehr nachweisbaren Oxydationen als hinreichende Energiequelle der Arbeit in Betracht kamen. Es zeigte sich, dass dies nicht der Fall war, und dass selbst bei vollständiger Umwandlung der Oxydationsenergie in Arbeit diese auf keine Weise aus Verbrennungswärme herleitbar gewesen wäre. Die Frage also, ob Oxydation qualitativ eine notwendige Bedingung der Arbeit ist, wurde beantwortet, indem entschieden wurde, ob sie kalorisch die Arbeit geliefert haben konnte. Die Muskelarbeit sank in diesen Versuchen gleichmässig und langsam ab, nach etwa 1 Stunde war die Arbeit so gering, dass sie quantitativ nicht mehr ins Gewicht fiel, nach 2 Stunden war kein mechanischer Effekt mehr nachweisbar.

Tabelle II.

Versuch Nr.	In Mikrokalorien		Dauer Minuten	Zahl der Kontrak- tionen	KCN
	Arbeit	Sauerstoff			
54	59	25	68	1600	$\frac{m}{2000}$
55	89	29	58	1400	$\frac{m}{2000}$
56	63	47	145	3000	$\frac{m}{2000}$
57	29	12	49	1000	$\frac{m}{2000}$
58	39	12	58	1300	$\frac{m}{2000}$
71	95	59	47	1500	$\frac{m}{2000}$
72	35	24	39	1000	$\frac{m}{2000}$

Über die genauere Anordnung der Versuche gibt der Anhang Aufschluss. Tab. III zeigt das wesentliche Resultat, nämlich, dass das Wärmeäquivalent der geleisteten Arbeit grösser war (bis zum Dreifachen) als der kalorische Wert des verbrauchten Sauerstoffes.

Es ist zu berücksichtigen, dass die Zahlen für die Arbeit nur zu klein sein können (s. Methodik S. 147), die für den kalorischen Wert des Sauerstoffes angewandte Berechnungsweise nur zu hohe Daten ergeben konnte (s. ebenda S. 150). In Wirklichkeit übertraf die Arbeit das mechanische Äquivalent der Oxydationswärme wahrscheinlich in noch höherem Maasse als dies nach der Tabelle anzunehmen wäre.

Um die Natur der nichtoxydativen Vorgänge, welche daher als Quellen der Muskelarbeit hier vorausgesetzt werden müssen, zu erschliessen, waren Kohlensäurebestimmungen notwendig. Nach Lesser¹⁾ geht in der Anoxybiose die Kohlensäureausscheidung meistens in die Höhe, während Fletcher²⁾ im Gegenteil fand, dass die Muskelkontraktion in Stickstoff die sonst vorhandene Vermehrung der Kohlensäure bei der Tätigkeit vermissen lässt. Die Frage der Anoxybiose interessiert uns hier nur in zweiter Linie, und es darf daher offen bleiben, ob Cyanidwirkung und Sauerstoffmangel identisch sind, oder ob die Blausäure auch noch andere Prozesse als die der Verbrennung beeinträchtigt.

Die Kohlensäuremessungen waren weniger genau als die des Sauerstoffes. Sie genügten aber, um zu zeigen, dass die Kohlensäureproduktion im Cyanidzustande weder zunimmt noch gleich bleibt, sondern abnimmt. Wahrscheinlich nimmt sie in demselben Maasse ab wie die Sauerstoffkonsumption, häufig ist sie = 0, wenn diese = 0 ist, bei immer noch beträchtlicher Arbeitsleistung.

Auch wenn man annimmt, dass die CO₂-Zahlen durch Abgabe präformierter und physikalisch oder chemisch gespeicherter Kohlensäure getrübt sind, so würden dadurch die Daten nur zugunsten unserer Schlussfolgerungen beeinträchtigt, die Kohlensäurebildung wäre in Wirklichkeit kleiner als die Abgabe in die Durchspülungsflüssigkeit. Dass aber gerade im Cyanidherzen Kohlensäure in der Zelle zurückgehalten würde, erscheint um so weniger glaublich, als, wie unten gezeigt wird, gerade hier die Bildung von stärkeren Säuren vermehrt ist.

1) Mediz. Klinik 1912 Nr. 11.

2) Journ. of Physiol. vol. 28 p. 474.

Auch in Tabelle IV sind die Werte in Millimeter Ablesung des Barcroft'schen Apparates gegeben. Den Versuchen wurde nur teilweise eine Normalperiode vorangeschickt. Die Höhe der CO_2 -Produktion in einem Normalversuche ist aus Tabelle VI im Anhang zu ersehen, ferner aus Periode I in Nr. 53, 60, 63. Ebenso hoch oder höher (zwischen 20 und 60) würden die CO_2 -Werte auch in den übrigen vermerkten Versuchen im Normalzustand gewesen sein. Im Cyanidzustande aber sinkt überall die Kohlensäure auf dieselbe Grössenordnung wie der Sauerstoff. Dass dabei noch erhebliche motorische Funktionstüchtigkeit erhalten war, geht aus den Zahlen des letzten Stabes hervor.

Tabelle III.

Versuch Nr.	O ₂ mm	CO ₂ mm	Dauer Min.	Zahl der Kontrak- tionen	KCN Mol. Conc.	Arbeit gcm
53. I.	41	48	42	1000	—	5160
II.	6	6	40	1000	$\frac{m}{3000}$	2210
54. I.	1	0	33	800	$\frac{m}{2000}$	1880
II.	0	0	32	800	$\frac{m}{2000}$	620
56. I.	4	2	90	1900	$\frac{m}{2000}$	2300
II.	0	7	55	1100	$\frac{m}{2000}$	360
58.	0	0	58	1300	$\frac{m}{2200}$	1640
60. I.	24	21	39	1000	—	7030
II.	0	0	56	1400	$\frac{m}{2750}$	2890
62.	2,5	5	38	800	$\frac{m}{4000}$	1120
63. I.	23	25	33	800	—	1180
II.	8	9	48	1200	$\frac{m}{6000}$	1380
III.	8	15	48	1200	$\frac{m}{6000}$	400

1 mm Ablesung Sauerstoff oder Kohlensäure entspricht etwa dem Wärmeäquivalent von 500 gcm Arbeit bei völliger Überführung der Oxydationswärme in Arbeit und bei Verbrennung von Kohlehydrat.

Bei der Kleinheit der Verhältnisse war an weitere qualitative Bestimmungen (Stickstoff und anderer) von Stoffwechselprodukten nicht zu denken. Zugänglich erschienen nur die Aziditätsverhältnisse. Auf Rat von Herrn Dr. O. Warburg habe ich dabei einen Weg eingeschlagen, der erlaubte, unter Beibehaltung der Barcroft'schen Methode das Quantum der in die durchspülende Ringer-Lösung übertretenden Säurevalenzen zu messen. Es wurde gemessen, wieviel Kohlensäure aus einer bekannten Natriumbikarbonatlösung von diesen, qualitativ nicht bekannten Säuren ausgetrieben wurde. Die Zahlen der Tabelle V bedeuten also das Quantum der gebildeten Säurevalenzen, ausgedrückt in Millimeter Ablesung der Kohlensäurebestimmung.

Da wir weder wissen, um welche Säuren es sich handelt, noch wissen, aus welchen Substanzen sie entstehen, sind Rückschlüsse auf die zugehörige Wärmetönung unmöglich. Doch ist bekannt, dass fast alle nicht oxydativen Spaltungen eine relativ sehr kleine Wärmetönung haben (Hydrolyse der Proteine, Milchsäuregärung), und es müssten äusserst umfangreiche Spaltungen stattfinden, sollte durch sie eine Art kalorischer Kompensation stattfinden. Wenn wir z. B. annehmen, dass die gemessenen Säurevalenzen alle auf Milchsäure zu beziehen sind, und dass diese aus Zucker stammt, so müssten die Zahlen in der Cyanidperiode (zweiter Stab in Tab. IV) etwa das 15fache der wirklich gefunden betragen, sollte kalorische Kompensation durch Gärung erzielt werden.

Tabelle IV.

Versuch Nr.	CO ₂ - Äquivalent der Säuren	Dauer Min.	Zahl der Kontrak- tionen	KCN
67. I.	7	40	1000	—
II.	19	40	1000	$\frac{m}{4000}$
III.	0	40	1000	—
73. I.	0	33	800	—
II.	12	31	800	$\frac{m}{4000}$
III.	0	32	800	—
68. I.	5	48	1000	—
II.	14	46	1000	$\frac{m}{5000}$
69. I.	0	33	800	—
II.	20	41	800	$\frac{m}{5000}$
70. I.	0	26	600	—
II.	19	27	600	$\frac{m}{6000}$

Die Tabelle zeigt, dass auch im Normalzustande gelegentlich geringe Säuremengen nachweisbar werden, ferner, dass diese im Cyanidzustande beträchtlich ansteigen. Trotzdem bleiben die Gesamtmengen bedeutend unter dem, was man nach dem Vorhergehenden erwarten könnte, zurück.

Wir finden somit weder in der Kohlensäureproduktion noch in den Säuremengen, welche im Zustande der Cyanidvergiftung auftreten, irgendeinen Anhaltspunkt dafür, dass die anaeroben Spaltungen in diesem Zustande in so erheblichem Maasse zunehmen, als die Oxydationen abnehmen. Zwar steigt die Bildung organischer Säuren zweifellos an, aber die Kohlensäure nimmt bedeutend ab, und wir sind nicht berechtigt, nach diesen Versuchen von einer Art von kalorischer Kompensation des Wegfalles der Oxydationswärme, von einem Ersatz durch diese zwei Haupttypen gährungsartiger Vorgänge zu sprechen.

Schluss.

Die Versuche über Anoxybiose legten nahe, dass die Oxydationen nicht zu den unumgänglichen Bedingungen der Kontraktion gehören. Die Literatur¹⁾ besitzt, so weit ich sehe, bisher keine beweisenden Versuche hierüber, d. h. solche, in denen gleichzeitig die Arbeit gemessen und die Fehlergrenze für den O_2 -Verbrauch genügend bekannt war. Arbeit und Bewegungen pflegen noch wahrnehmbar zu sein, wenn die kalorisch entsprechenden O_2 -Mengen mehrere tausendmal kleiner als die eben messbaren Mengen sind.

Es ist für die Theorie der Kontraktion von Belang, ob ihr Zustandekommen durch verschiedene Reaktionen vermittelt werden kann, oder ob in dieser Hinsicht eine Einschränkung besteht.

Die gleichzeitige Messung von Arbeit und Gaswechsel ergab, dass erstere auch ohne letzteren existieren kann. Eine Einschränkung bezüglich der Quellen der Muskelkontraktion besteht also, was Oxydation und Kohlensäurebildung anlangt, nicht, oder vielmehr nur in zeitlichem Sinn: nach einer Stunde ist das Vermögen, ohne Gaswechsel erheblichere Arbeit zu leisten, aufgehoben. Dies weist darauf hin, dass zwei Dinge stets zu unterscheiden sind: das, was die Muskelbewegung im Augenblick der Kontraktion einleitet und bedingt, und das, was die Tätigkeit auf die Dauer unterhält und zu

1) Vgl. z. B. Winterstein, Zeitschr. f. allgem. Physiol. S. 315 1907, hier auch Diskussion über die Hypothese der O_2 -Speicherung. (Die im Herzen physikalisch absorbierbare O_2 -Menge liegt weit unterhalb der Fehlergrenze in den vorstehenden Versuchen.) Ferner Lesser, Erg. d. Physiol. 1909 S. 742.

dem dauernd unveränderten Gleichgewicht der Funktion gehört. Nur dies zweite, nicht aber das erste scheint allerdings mit Oxydation untrennbar verknüpft zu sein. Wir sind aber nicht berechtigt, den weiteren Schluss zu ziehen, dass die Oxydationsenergie auch im Normalzustand nicht, oder nicht sofort, in Arbeit verwandelt werde.

Dass nun in dem ganzen Ablauf einer Muskeleerregung den Oxydationen keine unmittelbar notwendige Rolle zukommt, dafür spricht ferner, dass in den Cyanidvergiftungen die elektrische Erregbarkeit vom Grade der Vergiftung unabhängig, selbst bei vorgeschrittener Herabsetzung auch der Arbeit und bei aufgehobener Atmung des Herzens unverändert gefunden wurde. Zum Beleg dienen folgende Reizschwellen für Induktionsreize bei einer bestimmten Reizfrequenz, ausgedrückt in Rollenabständen. Die Art der Reiz-zuleitung ist unter „Methodik“ beschrieben.

Versuch Nr.	R.-A. mm	O ₂ -Verbrauch	Reizfrequenz	KCN
57. I.	115	21	22	—
II.	115	0	22	$\frac{m}{2000}$
III.	115	16	22	—
52. I.	99	29	21	—
II.	99	2	21	$\frac{m}{2000}$
47. I.	96—80	31	25	—
II.	84	5	25	$\frac{m}{3000}$
III.	80	5	25	$\frac{m}{3000}$
IV.	80	0	25	$\frac{m}{3000}$
V.	82	2	25	$\frac{m}{3000}$

Dass in anderen Versuchen die Reizschwelle um mässige Beträge höher wurde (Rollenabstand sank), spricht nicht gegen die Beweiskraft der mitgeteilten Versuche. Sinken der Erregbarkeit ist auch am unvergifteten Herzen ein gewöhnliches Vorkommnis, wie es z. B. in Periode I von Versuch Nr. 47 der Tabelle beobachtet wurde. Dieser Versuch ist bemerkenswert, weil es sich um eine 4 Stunden lang protrahierte inkomplette Oxydationshemmung handelte, bei der trotz schliesslich starker Abnahme der Arbeit die Reizschwelle konstant blieb. Man wird also danach den Erregungsvorgang, so-

weit er von elektrischen Reizen abhängt, ebenfalls innerhalb weiter Grenzen als von der Oxydation unabhängig ansehen müssen.

Es mag noch darauf hingewiesen werden, dass Bethe¹⁾ und Hill²⁾ in neuerer Zeit die Anschauung vertreten, dass die Oxydationen bzw. Wärmebildung dem mechanischen Vorgang bei der Kontraktion nicht vorangehen, sondern nachfolgen. Ohne zu dieser Frage Stellung zu nehmen, können wir doch hervorheben, dass unsere Versuchsergebnisse dieser Anschauung jedenfalls nicht im Wege sind.

Bezüglich der Quelle der Arbeit im Cyanidversuche wird man sich gleichfalls negativ ausdrücken müssen: Sie ist keinesfalls ausschliesslich Oxydationsenergie, keinesfalls ausschliesslich Energie aus mit CO₂-Bildung oder Säurebildung einhergehenden Spaltungen. Sicher sind andere, physikalische oder chemische Vorgänge im Spiele, die der genannten Gruppe von Prozessen nicht angehören (bzw. dem Nachweis dadurch entgangen sind, dass ihre sauren Endprodukte nicht in die Ringer-Lösung übergingen).

Methode.

Da die Methode im Prinzip die in meiner früheren Mitteilung beschriebene war, wird hier nur erwähnt, was inzwischen verbessert wurde.

Statt des defibrinierten Blutes habe ich jetzt stets eine Suspension von einem Teil gewaschener Ochsenbluterythrocyten in zwei bis zehn Teilen Ringer'scher Lösung benutzt. Letztere wurde aus konzentrierten Salzlösungen und doppeltdestilliertem Wasser jedesmal frisch hergestellt, in einer von Göthlin³⁾ angegebenen Zusammensetzung. Die pro Versuchsperiode benutzte Menge von 5 ccm „Blut“ wurde im Apparat von Barcroft und Haldane⁴⁾ analysiert. Die gleiche Menge wurde in geschlossenem Gefäss während der Versuchszeit bei gleicher Temperatur aufbewahrt und gleichzeitig mit dem Versuchsblut analysiert; die Differenz beider an O₂ und CO₂ ergab die Atmung. Diese Kontrolle wurde bei sämtlichen Versuchsperioden durchgeführt. Nach dem Vorgange O. Warburg's⁵⁾ wurde der O₂ nicht mittels Ferricyanid, sondern durch Absorption bestimmt. Die beeinflussenden Substanzen wurden aus Stammlösungen in 0,7 % NaCl-Lösung hinzugefügt.

1) Pflüger's Arch. Bd. 142 S. 291.

2) Journ. of Physiol. vol. 42 p. 1.

3) Skand. Arch. Bd. 12 S. 1. 1902.

4) Neues Modell. Brodie, Journ. of Physiol. vol. 39 p. 391.

5) Hoppe-Seyler's Zeitschr. f. physiol. Chemie Bd. 69 S. 457.

In sämtlichen Tabellen sind O_2 wie CO_2 -Werte nicht in absoluten Zahlen, sondern als Ablesungen in Millimetern des Barcroft-Apparates gegeben. Da der Fehler für Sauerstoff im allgemeinen 1 mm nicht überschreitet, so lässt sich der Fehler für die verschiedenen grossen Ablesungen leicht übersehen. Über die CO_2 -Bestimmung s. unten.

Das Volum der Apparate betrug zwischen 30,8 und 32,6 ccm. Zur Analyse kamen 5 ccm Blut und 3 ccm Ammoniaklösung. Daher kann man ohne wesentlichen Fehler von den Ablesungszahlen der Tabellen auf die absolute Menge Sauerstoff in Kubikzentimetern kommen, wenn man sie mit $\frac{31,5-8,0}{10\,000}$

multipliziert. Die Temperatur betrug stets 13° . Alle sonstigen Korrekturen fallen weg, da die Zahlen stets das Ergebnis einer Differenzbestimmung, der Differenz der Analyse von frischem und verbrauchtem Blut sind. Doch war eine besondere Temperaturkontrolle stets vorhanden.

Der Durchspülungsapparat der früheren Mitteilung ist aufgegeben worden zugunsten der abgebildeten Anordnung. Die Füllung des Raumes P geschieht durch Paraffinum liquidum, zum Zweck der Isolierung gegen Gasaustausch. Das Herz ist mit Ringer-Lösung befeuchtet und so durch eine dünne Schicht vom Paraffin getrennt. Ein in Ringer-Lösung getränkter Faden ist um die Ventrikelbasis geschlungen und führt durch das Paraffin zu der einen Elektrode E_1 . Die Elektrode E_2 ist in die Durchspülungsflüssigkeit getaucht und besteht aus Platindraht. Die das Herz tragende Kanüle besteht, wie

der ganze Apparat, aus Glas und ist in das Gefäß P eingeschliffen. Das Blut wird $\frac{1}{2}$ —1 cm hoch mit Paraffinumm liquidum überschichtet (p). Dass dies einen Schutz gegen O_2 -Austausch mit der Luft gewährleistet, wurde in drei übereinstimmenden Versuchen festgestellt.

Unter der Wasserstrahlpumpe bei 40° ausgepumptes Blut wurde in blindem Versuch (ohne Herz, statt dessen selbsttätiger Rührer in K) mehrere Stunden in der Kanüle unter Paraffin belassen und sodann analysiert. Es ergab sich, dass der Abschluss nicht vollkommen ist, dass der Fehler aber weniger als 1 % beträgt. Dasselbe wurde für die Kohlensäure festgestellt.

Die Durchmischung der 5 ccm Blut erfolgte anfangs durch einen selbsttätigen Glasrührer in k . Es zeigte sich später, dass die Herztätigkeit vollkommen genügte, diese Durchmischung aufrechtzuhalten. Stets wurden die ganzen 5 ccm analysiert, so dass geringe Ungleichheiten keinen Fehler machten.

Das Quecksilbermanometer als Arbeitsmesser konnte auch als „einschenkliges Manometer“ verwendet werden, wenn nämlich sein dem Herzen zugewandter Spiegel in dem Gefässe k stand, wie dies in der Figur gezeichnet ist. Die Niveauänderung dieses Spiegels bei der Kontraktion war dann praktisch zu vernachlässigen. Der geringe dadurch entstehende Fehler wirkt im Sinne der Verkleinerung der wahren Arbeit. Die Berechnung der Arbeit einer Kontraktion erfolgt dann nach der Formel:

$$A = \frac{r^2 \pi \sigma}{2} (h_2^2 - h_1^2).$$

Dabei ist $r^2 \pi$ der Manometerquerschnitt, σ = spez. Gewicht von Hg, $h_1 = \frac{a}{13,8} + h_0$ in Millimeter entsprechend den Angaben der Figur, h_2 = Exkursion des Schreibhebels + h_1 in Millimeter. Die Exkursionen der Fahne sind nach unten gerichtet.

Natürlich ist bei geringerer Füllung mit Quecksilber das Manometer auch als zweischenkliges zu gebrauchen. Bei gleicher Exkursion und gleichem Anfangsdruck ist die Arbeit dann doppelt so gross wie bei einschenklicher Anordnung. Der Durchmesser des Manometers betrug bei verschiedenen Apparaten 3—5 mm. Seine Füllung und damit der den Ventrikel belastende Druck, genauer die zwischen Innen- und Aussenfläche bestehende Druckdifferenz wurde von dem Reservoir R aus durch eine Schraube reguliert.

War eine Periode beendet, so wurde mittels dieser Einrichtung der Aussendruck höher als der Innendruck gemacht, das Herz derart völlig entleert und aus der Kanüle $\frac{1}{2}$ das Blut in der Weise entnommen, wie man dies auch bei der Straub'schen Kanüle zu tun pflegt, und durch neues Material ersetzt. Wie früher, wurde auch in diesen Versuchen bei Zimmertemperatur und in allen Perioden konstanter Frequenz sowie konstantem Druck gearbeitet. Wo Tonusänderungen ¹⁾ des Herzmuskels stattfanden, bin ich davon ausgegangen, dass wir über den Einfluss eines veränderten Druckes auf den Stoffwechsel etwas wissen, von Beziehungen zwischen Stoffwechsel und bei gleichem Druck verändertem Volum aber nichts wissen. Deshalb habe ich vorgezogen in solchen Fällen nicht konstantes Volum, sondern konstanten Druck in den Vergleichsperioden anzustreben. Bei der Cyanvergiftung kommen höchstens sehr geringe Tonusabnahmen in Betracht, besonders, wenn hoher Druck besteht.

Der Anfangsdruck wurde mindestens so hoch gewählt, dass die Zusammenziehung eben noch vollständig war. Eine Abschwächung der Kontraktilität musste daher stets in einer unvollständigen Entleerung erkennbar werden.

Die beeinflussenden Substanzen mussten sich demnach in dem System: Paraffin, Ringer-Lösung, Erythrocyten, Herzmuskel, verteilen. Die in den Tabellen vermerkten Konzentrationen der Gifte beziehen sich auf die Volumeinheit der „Blut“-mischung; in welcher Konzentration sie aber in Wirklichkeit nach Einstellung des Gleichgewichtes die Muskelzellen umspülte, und wann dies Gleichgewicht eintrat, ist nicht zu übersehen, und quantitative Beziehungen zwischen Konzentration und Wirkung sind daher nicht aufzustellen.

Über die Genauigkeit der Arbeitsmessung lässt sich so viel sagen, dass die Exkursionen des Schwimmers 0,5—2 cm betragen, also auf mindestens 5% genau messbar sind. Ferner sind die Reibungsverluste durch Vermeidung aller Ventile jetzt äusserst reduziert, bis auf die nie zu umgehende Kanüle die im Ostium atrio-ventriculare eingebunden ist, und die je nach der Herzgrösse tunlichst weit gewählt wird und ganz kurz ist. Bei niedrigen Belastungen wird ein kleiner Fehler dadurch entstehen, dass der letzte Teil der Austreibung nicht stattfinden kann, weil die Kanüle einen Bruchteil des Herzinnern ausfüllt. Bei höheren

1) Die Frequenz war stets so langsam, dass zwischen zwei Systolen ein horizontales Kurvenstück lag (20—25 pro Minute). Unter Tonus ist daher hier die Dehnungskurve des ruhenden Herzens zu verstehen. Vgl. O. Frank, Die Wirkung von Digitalis usw. Gesellsch. f. Morph. u. Physiol. München S. 6 Sep.-Abdr. 1897.

Drucken wird dieser Fehler allmählich $= 0$. Immer wirkt er im Sinn einer Verkleinerung der wahren Arbeit. Hervorzuheben ist ferner, dass allen Arbeitsmessungen am Froschherzen ein Fehler inhäriert, den keine Methode eliminieren kann; dies ist der Reibungsverlust in den zahlreichen, bis zum Epikard in radiärer Richtung fortgesetzten Spalträumen des Herzens selbst. Eine Vorstellung von diesen gibt die Angabe, dass ich in einem Meridionalschnitt eines in Paraffin eingebetteten Herzens nicht weniger als 120 Spalten gezählt habe, die, überwiegend in radiärer Anordnung bis an die Peripherie des Herzens reichend¹⁾, nebeneinander in dieser einen Schnittebene lagen. Da die Länge der Peripherie etwa 11 mm betrug, so kommen auf 1 mm 10 solcher kapillärer, blutgefüllter Spalten. Das Herz befand sich in diesem Präparat in annähernd kontrahiertem Zustand. Dass dieser im Herzzinnern stattfindende Reibungsverlust den Fehlern meiner Anordnung gegenüber wesentlich, vielleicht überwiegend ins Gewicht fällt, ist kaum zu bezweifeln. — Alle diese Fehlerquellen wirken also im Sinne einer Verkleinerung der wahren Arbeit, ein Umstand, der für das Vorhergehende von einer gewissen Bedeutung ist. Das gilt für die Reibungsverluste ebenso sehr wie für die Vernachlässigung der Niveauänderung des Quecksilberspiegels beim einschenklichen Manometer (s. o.).

Ein Teil dieser Fehler wird vielleicht dadurch ausgeglichen, dass die „elastische Arbeit“²⁾ nicht bestimmt und nicht abgezogen wurde.

Eine kurze Erörterung verdient hier auch die Frage, ob dieser eigenartige Maschenbau mit vielleicht sogar überwiegend radiärer Faseranordnung auch abgesehen von der Reibung sich mechanisch anders verhält wie ein Hohlmuskel mit überwiegend zirkulärem Fasersystem (z. B. Warmblüterherz). Hier zeigt zunächst eine einfache Überlegung, dass bei gleichem Volum und gleichem Druck beide Fasersysteme dasselbe Schlagvolum mit derselben Arbeit fördern. Dagegen sind die Beziehungen zwischen Druck und Faserspannung bei beiden Muskelarten völlig verschiedene. Z. B. gelten Überlegungen die ich früher³⁾ über diesen Punkt ausstellte, ausdrücklich nur für ein zirkuläres System, also schwerlich auch für das Froschherz. Für die Beziehung zwischen Volum und Faserlänge aber besteht ein solcher prinzipieller Unterschied nicht, und die Betrachtungen Franks³⁾ hierüber gelten, obwohl auch sie ein zirkulär geordnetes System zugrunde legen, auch für ein radiäres. Wenn auch der anatomische Bau des Froschherzens noch nicht hinreichend geklärt ist: dass das mechanische Prinzip seiner Tätigkeit ein grundsätzlich abweichendes ist, dürfte schon nach den Studien von Gompertz ausser Zweifel stehen.

Die ausserordentliche Verzweigtheit des Maschensystems sichert dem Froschherzen gegenüber dem Skelettmuskel erhebliche Vorzüge für Stoffwechselversuche.

Es gibt Herzen, deren Arbeit und Gaswechsel in den ersten 3—4 Stunden sich nicht ändert. Als Beispiel führe ich den Versuch der Tabelle V an.

1) In der vorzüglichen Darstellung von Gompertz, Du Bois' Arch. 1884 wohl nicht genügend betont.

2) Pflüger's Arch. Bd. 140 S. 135. 1911.

3) Zeitschr. f. Biol. Bd. 41 S. 24 ff.

Bei anderen Herzen bemerkt man von Anfang an einen mässigen Abfall, der die Arbeit wohl in der Regel mehr betrifft wie die Atmung. Experimentelle Einwirkungen sollten daher womöglich von einer Normalperiode gefolgt sein zur Trennung der Absterbeerscheinungen von den gewollten Veränderungen.

Tabelle V.

Periode	Arbeit	O ₂ mm	CO ₂ mm	Dauer Minuten	Zahl der Kontrak- tionen
I	2260	30	28	40	1000
II	2430	29	30	40	1000
III	2430	30	35	40	1000
IV	2310	28	35	40	1000
V	2110	28	26	40	1000

Die Versuche sind ausnahmslos bei Zimmertemperatur (12—16 °) angestellt, und zwar in einem Kellerraum von verhältnismässig niedriger und konstanter Temperatur.

Fast alle Versuche sind in den Monaten Februar bis Mai gemacht, an einheimischen und ungarischen Tieren, Eskulenten und Temporarien beiderlei Geschlechts. Das Gewicht des Ventrikels betrug 0,1—0,2 g. Prinzipielle Unterschiede in den Eigenschaften, auf die es hier ankam, habe ich bei diesen verschiedenen Tiersorten nicht bemerkt.

Im folgenden gebe ich methodische und protokollarische Details wieder, die des Zusammenhanges wegen im vorhergehenden weggelassen wurden.

Zu Tabelle I. Der Anfangsdruck in diesen Versuchen betrug 3—5 mm Hg; er war nicht in allen Versuchen gleich hoch, aber in einem Versuch stets konstant. Die Pause zwischen je zwei Perioden zur Entnahme der verbrauchten und Zufügung der frischen Durchspülungsflüssigkeit betrug 2—4 Minuten. Verhältnis der Erythrocyten zu Ringer-Lösung = 1:2.

Zu Tabelle II. Hier wurde der Anfangsdruck in einzelnen Versuchen höher, bis zu 12 mm Hg gewählt, um die Arbeit pro Kontraktion zu erhöhen und das Verhältnis zwischen Arbeit und Oxydation zugunsten der Arbeit zu erhöhen. Es schien allerdings, dass die Folge ein rascheres Absinken der Kontraktionen war.

Die Umrechnung der Arbeit in Mikrokalorien bedarf keiner Erläuterung. Der Sauerstoffverbrauch wurde so veranschlagt, als ob

1 g O₂ 3,5 Kalorien geliefert hätte (vgl. die I. Mitteilung S. 458). Da dies ein Maximalwert ist, so konnten die Zahlen des Stabes 3, wenn falsch, nur zu gross ausfallen. Die Fehlergrenze für O₂ ist 1 mm Ablesung; da 1 mm einer Sauerstoffmenge von $\frac{23,5 \times 1}{10\,000}$ ccm entsprach, diese aber einer Wärmetönung von 12 Mikrokalorien, so entspricht 1 mm Ablesung 12 Mikrokalorien. Da, wo kein Sauerstoffverbrauch nachweisbar war, habe ich ihn, der Fehlergrenze entsprechend, zu 12 Mikrokalorien angenommen (Versuch Nr. 57 und 58).

Die Werte für die Arbeit bezeichnen in dieser wie in den anderen Tabellen natürlich die Summe der Arbeit einer Periode. Die Arbeit pro Kontraktion pflegte in den Normalperioden nicht oder sehr wenig zu sinken; bei starker Oxydationshemmung pflegt die Arbeit am Anfang normal zu sein, früher oder später aber stark und ganz gleichmässig abzusinken. Wenn die Arbeit sehr klein wurde, so wurde der Versuch meist abgebrochen, obwohl die Kontraktionen noch 30—100 Minuten weitergingen. Der Satz also, dass Arbeit ohne Sauerstoff nur 1 Stunde lang möglich war, heisst genauer: Arbeit, die nachweislich den kalorischen Wert der Verbrennungen übertraf, wurde unter den gegebenen Bedingungen von Druck, Frequenz und Temperatur eine Stunde lang ohne genügende Oxydation geleistet. Es ist möglich, dass eine sehr kleine Arbeit noch viel längere Zeit ohne entsprechende Oxydation geleistet wird.

Tabelle IV. Verhältnis von Erythrocyten: Ringer in diesen Versuchen = 1 : 10. Die Kohlensäurewerte entsprechen, wie die des Sauerstoffes, der Differenz zweier Analysen: des frischen und des verbrauchten Blutes. Die Genauigkeit wurde durch stärkere Verdünnung der Erythrocyten und spärlichen Bikarbonatzusatz zur Ringer-Lösung erhöht, weil dann der gesamte CO₂-Gehalt des „Blutes“ geringer wurde. Wurde aber dieser geringer, so betrug die CO₂-Produktion einen grösseren Prozentsatz der vorhandenen Gesamtmenge, die Differenz der zwei Analysen wurde relativ grösser. Die absoluten Werte in Kubikzentimetern CO₂ erhält man durch Multiplikation der Millimeterablesung mit $\frac{31,5}{10\,000}$.

Die Genauigkeit lassen folgende Zahlen einiger CO₂-Bestimmungen ein und denselben Blutes ermassen:

Analyse	1	2	3	4	5
CO ₂ Millimeter Ablesung	80	79	79	76	78

Die Unterschiede betragen somit bis 4 mm Ablesung. Die respiratorischen Quotienten überschreiten in meinen Versuchen die Eins fast stets um ein geringes. Doch glaube ich, dass zu einer Diskussion dieses Umstandes die Versuchsgenauigkeit bisher nicht ausreicht.

Zu Tabelle V. In diesen Versuchen wurde das Herz zunächst mit Ringer gründlich leergespült und bei sonst unveränderter Anordnung nur mit 5 ccm Ringer-Lösung von bekanntem Bikarbonatgehalt versorgt. Die Ringer-Lösung wurde nicht mit Paraffin überschichtet; vielmehr perlte durch eine geeignete Vorrichtung während des ganzen Versuches Luft durch dieselbe.

Damit wurde erreicht: 1. hinreichende Sauerstoffzufuhr, 2. fortgesetzte Abfuhr der CO_2 , die von den gebildeten und in die Ringer-Lösung eintretenden Säuren aus dem Bikarbonat freigemacht war. Vor der Analyse wurde die Lösung nochmals gründlich mit Luft bis zum Gleichgewicht geschüttelt. Es wurde bestimmt (durch Zufließenlassen der Weinsäure in Barcroft's Apparat; die Überschichtung mit Ammoniak bleibt natürlich weg): 1. der Bikarbonatgehalt der frischen, 2. der Bikarbonatgehalt der verbrauchten Ringer-Lösung. Der zweite Wert war, je nach Maassgabe der vom Herzen produzierten Säuren, der kleinere. Die Differenz beider Ablesungen ergab das CO_2 -Äquivalent der in die Ringer-Lösung übergegangenen stärkeren Säuren.

Um die Brauchbarkeit dieser Methode zu ermitteln, wurde der Versuch durch künstlichen Zusatz von bekannten Mengen Oxalsäure zu Ringer-Lösung und nachfolgendes Schütteln mit Luft nachgeahmt. Es ergab sich in Doppelbestimmungen:

Nr.	CO ₂ (aus NaHCO ₃)		CO ₂ -Differenz	
	vor dem Zusatz		gefunden	berechnet
	nach dem Zusatz			
	von Oxalsäure			
a)	104	104	57	56
b)	89,5	89	63	63
			47,5	50
			26	25

Die auf diese Weise bestimmte Menge von Oxalsäure betrug 0,439 mg (a) und 0,219 mg (b).

Um den an sich schon unwahrscheinlichen Übergang der organischen Säuren in das das Herz umgebende Paraffin wenigstens

für die Milchsäure auszuschliessen, wurde der Verteilungsquotient für Milchsäure zwischen Paraffin und Wasser bestimmt (titrimetrisch).

Es zeigte sich, dass derselbe nicht grösser sein kann als $\frac{1}{50}$.

Bei diesen Versuchen wurde der Sauerstoffverbrauch nicht gemessen. Man weiss also nur per analogiam, dass die Atmung gehemmt war. Unter diesen Umständen wird auffallen, dass gerade in diesen Versuchen die molaren Konzentrationen des Cyankalis niedriger gewählt waren als die, welche sonst völlige oder fast völlige Oxydationshemmung bewirkten ($\frac{m}{2000}$). Trotzdem war die Hemmungswirkung auf die Arbeit ebenso stark oder stärker wie in den Versuchen mit $\frac{m}{2000}$, die mit Erythrocyten angestellt sind, und es darf dementsprechend angenommen werden, dass auch hier die Oxydationshemmung komplett war. Die geringere Giftigkeit der Erythrocyten-suspension beruht zum Teil sicher darauf, dass die Erythrocyten das Gift speichern, und dass daher die Konzentration in der umgebenden Ringer-Lösung in Wirklichkeit kleiner wird als die berechnete. Nach einer Angabe, die ich Herrn Dr. Warburg verdanke, kann man annehmen, dass 1 Volum Erythrocyten das Mehrfache an Blausäure enthält von 1 Volum Ringer-Lösung, wenn Erythrocyten und Ringer-Lösung im Gleichgewicht sind.