Über den Einfluss ultraniedriger Temperaturen auf verschiedene biologische Erscheinungen.

V. Mitteilung.

Einfluss ultraniedriger Temperaturen auf Herz und Gefässe.

Von

Sentaro Kusaka.

(日下千太郎)

(Aus der Medizinischen Klinik von Prof. Dr. T. Kato,
Kaiserliche Tohoku-Universität zu Sendai.)

Die Resistenz des Organismus gegen die grosse Kälte ist je nach den Arten der Lebewesen sehr verschieden; im allgemeinen lässt sich sagen, dass die Kälteblüter viel widerstandsfähiger als die Warmblüter, insbesondere die Bakterien äusserst widerstandsfähig sind (vgl. I. Mitteilung¹⁾). Wenn man aber ultratiefe Kälte auf Frosch, Goldfisch, Karausche u.a. hinreichend einwirken lässt, so sterben sie; wirkt die Tieftemperatur indessen nur einige Sekunden lang ein, so frieren sie steinhart, leben aber wieder auf und schwimmen umher, wenn man sie in Leitungswasser auftauen lässt. Zwar können die Versuchstiere nicht mehr ganz normal leben und gehen schliesslich nach einigen Stunden oder Tagen ein. Es ist eine sehr interessante Frage, aus welchem Grunde die Versuchstiere, welche einmal infolge einer einige Sekunden langen Behandlung mit ultratiefer Kälte gefroren sind und dann wieder auflebten, über kurz oder lang schliesslich doch sterben müssen. In Bezug auf diese Fragestellung wurden in der vorliegenden Arbeit vor allem die Funktionsveränderungen des Herzens und der Gefässe beim Frosch, der für kurze Zeit der ultratiefen Kälteeinwirkung unterlegen worden ist, untersucht.

Versuchsmethode. Der Frosch wurde mittelst eines besonderen Apparates gefesselt, mit dem man ihn zwischen zwei Tücher gesteckt fixieren kann. Er kam nun in flüssigen Sauerstoff (Siedepunkt -183°C) und wurde 4 Sekunden lang darin gelassen. Wenn man ihn dann herausnahm, war er so hart wie Stein gefroren. Legte man ihn ins Leitungswasser, so fing er meist innerhalb 10 Minuten an zu schwimmen, wobei er sich hauptsächlich der Hinterbeine bediente; die Bewegung der Vorderbeine war meist mangelhaft. Beim Schwimmen nahm er, den Kopf allmählich nach hinten beugend, eine Haltung wie die des *Opisthotonus* an und starb

innerhalb 6 Stunden. Zum Versuche kamen die Frösche 10 Minuten nach dem Zeitpunkt, an dem sie nach der Kältebehandlung wieder zu schwimmen anfangen. Die Herzfunktion und Gefäßkontraktion nach der Einwirkungen ultratiefer Kälte wurde nach der Methode von Straub bzw. Trendelenburg untersucht.

I. Einfluss der Ultrakälte auf die Herzwirkung.

Das durch ultratiefe Kälte behandelte Froschherz ist im Vergleich zu dem Kontrollherzen mit sehr viel Blut gefüllt, ausserdem ist seine Schlagfrequenz sehr niedrig. Wenn man es exstirpiert und nach der Methode von Straub pulsieren lässt, so sieht man, dass die Pulsfrequenz allmählich steigt und sich dem normalen Wert nähert. Die Herzspitze wird weisslich, verdickt sich, sieht wie ein Fremdkörper aus und nimmt am Herzschlag gar nicht mehr teil.

1. Schlagdauer. Es wurden das 4 Sekunden lang mit ultratiefer Kälte behandelte Herz von *Rana esculenta* und das nicht mit ihr behandelte Kontrollherz nach der Straub'schen Methode pulsieren lassen und die Zeitdauer bis zum Herzstillstand bestimmt. Wie man aus Tab. 1 ersieht, kommt das der Kälte-wirkung ausgesetzte Herz im Vergleich zu dem Kontrollherzen ein wenig schneller zum Stillstand. Wenn man aber an die Tatsache denkt, dass der 4 Sekunden lang mit einer ultratiefen Kälte von -183°C behan-

Tabelle 1.

Zeit zum Stillstand
des mit ultratiefer
Kälte behandelten
Froschherzens.

Zeit zum Stillstand (Stunden)	
Kontrolle	Behandelt durch ultra- tiefe Kälte
27	20
24	22
22	23
28	18
26	21
32	24

Fig. 1.

Herzaktion des mit ultratiefer Kälte
behandelten Frosches.

A—Kontrolle, 20 Minuten nach der Präparierung.
B—Behandelt mit Kälte. B₁—20 Minuten nach der
Präparierung, B₂—nach 1 Stunde, B₃—nach 2
Stunden, B₄—nach 4 Stunden, B₅—nach 6 Stunden.
Zeitmarkierung in 12 Sekunden.

delte Frosch, wie oben schon erwähnt, innerhalb 6 Stunden nach abermaligem Anfangen des Schwimmens eingeht, so sieht man, dass lediglich das Herz viel länger als diese Zeit schlagen kann.

2. Schlagfrequenz und -amplitude. Wie Fig. 1 zeigt, ist die Schlagamplitude des der Kälte-wirkung ausgesetzten Herzens im Vergleich mit der des Kontrollversuchs erheblich kleiner. In bezug

auf die Schlagfrequenz kann man keinen deutlichen Unterschied erkennen.

3. Reaktion auf einige Herzgifte. Das Herz des mit ultratiefer Kälte und das des nicht mit ihr behandelten Frosches wurden nach dem Verfahren von Straub mit 2 ccm Ringerlösung ernährt und die Reaktion auf Adrenalin, Acetylcholin, G-Strophantin und CaCl_2 , die der Nährlösung hinzugefügt worden sind, beobachtet.

(i) Adrenalin

(Fig. 2). Adrenalin (Sankyo)-Lösungen verschiedener Konzentration ($10^{-n}\%$) wurden mit Ringerlösung hergestellt; je 0,2 ccm von ihnen wurde der Nährlösung (2 ccm) zugegeben. Es wurde mit der Lösung niedrigster Konzentration anfangend, der Schwellenwert gesucht, bei dem man zuerst eine Verstärkung der Systole erkennen

Fig. 2. Adrenalinwirkung.

A, Kontrolle. B, Behandelt mit Kälte.

Bei ↓ Adrenalin zugesetzt.

Adrenalinkonzentration: A_1 u. B_1 — $10^{-6}\%$, A_2 u. B_2 — $10^{-5}\%$, A_3 u. B_3 — $10^{-4}\%$.

Zeitmarkierung in 12 Sekunden.

konnte (Fig. 2). Wenn auch die Empfindlichkeit des Herzens gegen Adrenalin sowohl bei dem der Kälte Wirkung ausgesetzten Frosche als auch

Fig. 3. Acetylcholinwirkung.

A, Kontrolle. B, Behandelt mit Kälte.

Bei ↓ Acetylcholin zugesetzt.

Acetylcholinkonzentration: A_1 u. B_1 — $10^{-13}\%$, A_2 u. B_2 — $10^{-12}\%$, A_3 u. B_3 — $10^{-11}\%$.

Zeitmarkierung in 12 Sekunden.

beim Kontrolltiere individuell verschieden war und das Urteil über die Kälte Wirkung folglich etwas schwer fiel, liess sich in der grössten Mehrzahl der Fälle eine Verstärkung der Systole erst in einer Verdünnung von $10^{-5}\%$ oder $10^{-6}\%$ konstatieren. Zwischen dem Kälte- und dem Kontrolltier wurde kein Unterschied festgestellt.

(ii) Acetylcholin.

Acetylcholin (Roche)

wurde mit Ringerlösung in verschiedener Konzentration ($10^{-n}\%$) verdünnt und je 0,2 ccm der Nährflüssigkeit des Straub'schen Herzpräparates hinzugefügt, um die kleinste Konzentration, die eben eine Abnahme der Systole bewirkt, zu finden (Fig. 3). Wenn auch individuell sehr verschieden, so doch lag die Grenzkonzentration sowohl beim Kälte- als auch beim Kontrollherzen meistens zwischen $10^{-12}\%$ und $10^{-13}\%$. Daraus kann man schliessen, dass die Empfindlichkeit des Froschherzens gegen Acetylcholin durch Einwirkung ultratiefer Kälte nicht verändert wird.

(iii) CaCl_2 . CaCl_2 wurde in Ringerlösung zu verschiedener Konzentration gelöst, 0,2 ccm davon der Nährflüssigkeit des Straub'schen Herzpräparates zugesetzt, und der Schwellenwert ermittelt, bei dem zuerst eine Zunahme der Systole hervorgerufen wurde (Fig. 4). Die Empfindlichkeit des Herzens gegen CaCl_2 war im Gegensatz zu der gegen Adrenalin und Acetylcholin individuell ganz gering verschieden, und in den meisten Versuchen wurde beim normalen Herzen nach Zugabe von 0,2 ccm 0,0025%iger CaCl_2 -Lösung, aber bei der Kältewirkung ausgesetzten Herzen nach Zugabe von 0,2 ccm 0,01%iger CaCl_2 -Lösung eine Zunahme der Systole bemerkt. Daraus kann man erkennen, dass die Empfindlichkeit des Froschherzens gegen Ca nach Einwirkung ultratiefer Kälte ein wenig herabgesetzt ist.

(iv) G-Strophantin. Von 0,01%iger G-Strophantin-Ringerlösung

Fig. 4. Ca-Wirkung.

wurde 0,2 ccm der Nährlüssigkeit zugesetzt und die Zeitdauer bis zum systolischen Stillstand des Straub-schen Herzens bestimmt. Wie man aus Tab. 2 er-sieht, brauchte das der Kältewirkung ausgesetzte Herz länger bis zum systolischen Stillstand als das Kon-trollherz. Daraus kann man eine Herabsetzung der Empfindlichkeit des Froschherzens gegen G-Stro-phantin durch Kältewirkung erkennen. Fig 5 zeigt nämlich, dass das der Kältewirkung ausgesetzte Fro-schherz bis zum Stillstand 31 Minuten, im Kontrollver-suche dagegen nur 16 Minuten brauchte.

Tabelle 2.
G-Strophantin-wirkung.

Zeit zum Stillstand (Minuten)	
Kontrolle	Mit ultra-tiefer Kälte behandelt
16	31
11	40
13	31
10	29
9	35

Fig. 5. G—Strophantinwirkung.

A, Kontrolle, Zeit zum Stillstand 16 Minuten. A₁—nach d. Präparierung, A₂—nach 4 min, A₃—nach 7 min, A₄—nach 10 min, A₅—nach 13 min.

B, Behandelt mit Kälte, Zeit zum Stillstand 31 Minuten. B₁—nach d. Präparierung, B₂—nach 11 min, B₃—nach 17 min, B₄—nach 23 min, B₅—nach 29 min.

Bei ↓ G-Strophantin zugesetzt.
Zeitmarkierung in 12 Sekunden.

II. Einfluss der Ultrakälte auf die Gefäßkontraktion.

Um den Einfluss ultratiefer Kälte auf die Kontraktilität der Gefäßwand zu beobachten, wurde untersucht, ob sich die Empfindlichkeit der Gefäßkontraktion gegen Adrenalin verändert. Mit der Methode von Trendelenburg wurde die Durchströmung durch das Hinterglied von *Rana nigromaculata* ausgeführt, wobei der Durchströmungsdruck auf 15 cm ge-

bracht wurde und die Veränderung der Tropfenzahl nach Zusatz von 0,5 ccm einer 10⁻⁵⁰igen Adrenalin (Sankyo)-Lösung auf einen Kymographion aufgezeichnet wurde (Tabb. 3 u. 4).

Versuch 1 und Kontrollversuch 1 sind vergleichungsweise in Fig. 6 kurvenmässig dargestellt.

Während die Tropfenzahl bei dem nicht der Kältewirkung ausgesetzten Frosch durchschnittlich ungefähr 36 pro Minute beträgt (Tab. 3), betrug sie bei dem der Kältewirkung ausgesetzten durchschnittlich ungefähr 10,

woraus man erkennen kann, dass beim letzteren die Gefäßwand erheblich verengt ist. Infolge Zugabe von 0,5 ccm 10⁻⁶%iger Adrenalinlösung erreicht die Tropfenzahl beim Kontrollversuch nach 2 Minuten den minimalen Wert, der im Durchschnitt 12,3 beträgt, während sie beim der Kälte Wirkung ausgesetzte Frosch nach 4 Minuten den minimalen Wert von durchschnittlich 4,7 zeigt, was darauf hinweist, dass die Gefäßreaktion auf Adrenalin beim ultratiefer Kälte ausgesetzten Frosch gegenüber der des

Fig. 6. Schenkelgefäßdurchspülung.

Tabelle 3.

Trendelenburg's Schenkelpräparat ohne Kälte Wirkung.
 Ab- u. Zunahme der Tropfenzahl nach der Adrenalinwirkung.

Versuchs-Nr.		1	2	3	4	5	6	7	Durchschnitt
Zeitablauf (Minuten)									
10 ⁻⁶ % Adrenalin	→	50	47	34	30	25	26	43	36,43
		51	47	34	31	24	27	43	36,71
		50	48	35	30	24	26	44	36,71
		50	47	34	30	24	26	43	36,28
		50	47	34	30	24	26	43	36,28
0,5 ccm		34	32	31	18	14	19	31	25,57
		19	16	12	9	5	9	16	12,28
		24	20	7	8	4	9	19	13,00
		27	25	10	9	6	8	22	15,28
		32	28	12	10	6	10	26	17,71
5'		35	31	11	11	8	11	29	19,43
		38	34	13	12	9	12	32	21,43
		39	35	15	15	10	13	34	23,00
		39	36	18	16	11	14	35	24,14
		41	37	22	18	12	15	37	26,00
10'		41	39	25	19	14	17	38	27,57
		42	41	26	20	14	19	39	28,71
		43	43	28	22	16	20	41	30,43
		44	44	30	23	16	21	41	31,28
		45	45	31	23	19	22	42	32,43
15'		46	45	32	24	23	22	42	33,43
		46	45	33	26	24	22	41	33,86
		47	44	32	27	23	22	42	33,86
		47	45	33	27	24	21	42	34,14
		46	44	33	27	24	21	42	33,86
20'									

Tabelle 4.

Trendelenburg's Schenkelpräparat des mit ultratiefer Kälte behandelten Frosches.
Ab- u. Zunahme der Tropfenzahl nach Adrenalinwirkung.

Versuchs-Nr.		1	2	3	4	5	6	7	Durchschnitt
Zeitablauf (Minuten)									
10 ⁻⁵ % Adrenalin 0,5 ccm	→	13	7	7	7	15	15	10	10,57
		12	7	7	8	14	15	10	10,43
		12	7	6	8	14	15	10	10,28
		12	7	7	8	15	14	10	10,43
		12	7	6	8	14	15	10	10,28
		10	6	6	7	12	14	9	9,14
		5	4	4	4	10	11	7	6,43
		4	2	2	3	8	10	6	5,00
		4	2	2	2	7	10	6	4,71
		4	3	3	2	8	11	6	5,28
5'		4	2	2	3	8	11	7	5,28
		4	3	3	2	9	12	7	5,71
		5	3	3	3	8	12	7	5,86
		5	3	4	3	8	12	8	6,14
		6	4	3	3	9	13	7	6,43
10'		6	3	4	4	10	13	8	6,86
		7	3	4	4	10	14	8	7,14
		7	4	4	4	10	14	9	7,43
		7	4	5	5	10	14	8	7,57
		8	5	5	5	10	13	9	7,86
15'		8	4	5	5	11	14	9	8,00
		8	5	5	6	12	14	9	8,43
		9	5	6	6	12	14	9	8,71
		8	6	5	6	12	14	9	8,57
		8	6	6	7	12	14	9	8,86

Kontrolltieres langsam erfolgt. Durch Adrenalinwirkung vermindert sich die Tropfenzahl bei dem Kontrollversuch im Durchschnitt von 36,3 auf 12,3, d.h. auf 1/3, während sie bei dem der Kältewirkung ausgesetzten Frosche von 10,3 auf 4,7, d.h. fast um die Hälfte herabgesetzt ist. Wenn man aber daran denkt, dass das Gefäßlumen schon vor der Zugabe der Adrenalinlösung im Vergleich mit dem des Kontrolltieres erheblich verengert worden ist und dass es sich nach Adrenalinzugabe noch mehr kontrahierte, bis sich die Tropfenzahl fast auf die Hälfte verminderte, so wird man vielleicht nicht annehmen können, die Empfindlichkeit des Gefäßes gegen Adrenalin sei erheblich herausgesetzt.

Aus den oben erwähnten Ergebnissen ist wohl, darauf zu schliessen, dass die Tatsache, dass die Herzspitze abblaste, sich verdickte und in die Lage kam, nicht an der Herz pulsation mehr teilzunehmen, davon herrührt, dass die Herzspitze der Oberfläche des Körpers am nächsten liegt und infolge der 4 Sekunden langen Einwirkung ultratiefer Kälte ihre Funktionen als die eines Herzmuskels vollkommen verlor. Es ist auch anzunehmen, dass die Kontraktionsfähigkeit des der Herzspitze anliegenden Herzmuskelteils

ebenfalls erheblich beeinträchtigt worden ist, so dass kymographisch die Verringerung der Systolen-Amplitude nachgewiesen werden konnte. Die Herabsetzung der Empfindlichkeit des Froschherzens gegen G-Strophantin und CaCl_2 ist vielleicht zum grossen Teil auf solche Kälteschädigung des Herzmuskels zurückzuführen. Dass die Schlagzahl des Straubischen Herzens des der Kältewirkung ausgesetzten Frosches von der des Kontrollherzens nicht verschieden ist, rührt vielleicht davon her, dass der Sinus venosus von der Körperoberfläche entfernt liegt und durch ultratiefe Kälte von kurzer Wirkungsdauer nicht hinreichend beeinflusst wird.

Wenn man daran denkt, dass nach Vorbehandlung mit Ultrakälte die Empfindlichkeit des Straubischen Herzens gegen Adrenalin und Acetylcholin keine Herabsetzung zeigte und das Blutgefäss trotz irreversibler Verengerung durch Adrenalin weiter kontrahierte und dass die Pupille auf Adrenalin mit einer hinlänglichen Mydriasis reagieren konnte, wie schon in der vorangehenden Mitteilung²⁾ gezeigt worden ist, so kann man schliessen, dass die Resistenz des Endapparates der vegetativen Nerven gegen die Kälte eine grosse ist.

Nach Moran³⁾ ist der quergestreifte Muskel nach dem Auftauen desto stärker verkürzt, bei je niedrigerer Temperatur er gefroren war. Wenn diese Angabe auch für die glatte Muskulatur gilt, so werden sich die Wandmuskeln der Arterien und Arteriolen des Ultrakältefrosches, stark kontrahieren, worin vielleicht der Grund dafür liegt, dass bei der Trendelenburgschen Durchströmung des Hinterbeins die Tropfenzahl im Vergleich mit der des Kontrollversuches erheblich kleiner ist. In meiner früheren Mitteilung¹⁾ wurde darauf hingewiesen, dass der Muskel nach der Einwirkung der Ultrakälte sehr starr und unfähig für Kontraktion und Erschlaffung wird, ferner in der vorangehenden Mitteilung²⁾, dass bei dem ultratiefer Kälte ausgesetzten Augapfel Adrenalinmydriasis im Vergleich zu der des Kontrollauges langsam eintritt, was auf durch ultratiefe Kälte bedingte Veränderung des Pupillens Muskels zurückgeführt worden ist. Dass bei der Durchströmung der Hinterextremitäten des Kältefrosches die Tropfenzahl durch Adrenalin zwar deutlich abnimmt, aber eine längere Zeit als beim Kontrolltier zur Erreichung des minimalen Wertes braucht, beruht vielleicht darauf, dass, ähnlich wie bei Pupille, die Wandmuskeln der Gefässe infolge Ultrakälteeinwirkung steif geworden sind und ihre Reaktion auf Adrenalin langsam vor sich geht.

Der mit ultratiefer Kälte hinreichend lange Zeit behandelte Frosch kann selbstverständlich lediglich durch vollständiges Aufhören der Funktionen des ganzen Herzmuskels nicht wieder aufleben. Wenn aber der nur 4 Sekunden lang der Kältewirkung ausgesetzte Frosch nach dem Auftauen wieder zu schwimmen beginnt und doch letzten Endes binnen 6 Stunden

stirbt, ist die Hauptursache seines Todes nicht in dem Herzen zu suchen, wenn man die Tatsache berücksichtigt, dass das Straubsche Herz eines solchen Frosches, nicht sehr verschieden von dem des Kontrolltieres, die Pulsation lange fortsetzt. Vielleicht könnte die durch erhebliche Gefäßkontraktion verursachte, hochgradige Zirkulationsstörung eine wichtige Ursache dafür sein, dass das Versuchstier nicht lange weiter leben kann.

Schluss.

Lässt man den 4 Sekunden lang ultratiefer Kälte ausgesetzten Frosch in Leitungswasser auftauen, so beginnt er wieder zu schwimmen. Die Untersuchung danach des Herzens und der Gefäße eines solchen Tieres ergibt folgendes :

1. Die Herzspitze ist weisslich verdickt und nimmt am Herzschlag nicht teil.

2. Das nach Straub schlagende Herz kommt im Vergleich mit dem Kontrollherzen ein wenig schneller zum Stillstand. Wenn auch die Schlagzahl nicht verändert ist, ist doch die Amplitude erheblich kleiner.

3. Die Empfindlichkeit des Herzens gegen Adrenalin und Acetylcholin zeigt keine Veränderung, aber die Erregbarkeit gegen G-Strophantin und Calcium ist herabgesetzt.

4. Das Lumen des peripherischen Gefässes ist beträchtlich verengert.

5. Wenn auch durch Adrenalin eine Kontraktion der Gefässwand gut herbeigeführt wird, kommt sie doch ein wenig langsam zustand.

Literatur.

- 1) Kusaka, Tohoku J. exp. Med., 1944, 47, 296.
 - 2) Kusaka, Tohoku J. exp. Med., 1944, 47, 319.
 - 3) Moran, Proc. Roy. Soc. London, 1930, B. 105, 177.
-