

Der Sauerstoffverbrauch phasischer und tonischer Skelettmuskeln des Frosches in Lösungen mit hohem K^+ - und variiertem Ca^{++} -Gehalt

(Ein Beitrag zur „elektro-metabolischen Kopplung“)

KARL BRECHT und SIEGFRIED SEEBER

Physiologisches Institut der Universität Tübingen

ABSTRACT: The oxygen-consumption of phasic and tonic skeletal muscles of the frog in solutions with high K^+ - and varied Ca^{++} -content. (A contribution to the „electro-metabolic coupling“.) The O_2 -uptake of phasic and tonic muscles from *Rana temporaria* was measured under the influence of high extra-cellular concentrations of K^+ by means of the Pt-electrode together with simultaneous registration of muscles-mechanics. The O_2 -uptake in isotonic KCl coincides with the amount of tension (tetanus and contracture); at relaxation the stimulation of respiration ceases; in spite of the permanent depolarization also the “resting respiration” decreases. If isotonic KCl is replaced by Ringer, respiration remains at an elevated state; so-called after-contractions expressing a plastic tonus reveal no additional O_2 -uptake. In muscles deprived of Ca^{++} the development of tonus and increase of respiration is strongly reduced, whereas both parameters increase considerably on Ca-enriched muscles. By removing of Ca^{++} in Ca-free Ringer a slight increase in O_2 -uptake occurs; in phasic muscles because of twitches, in tonic muscles because of weak contractures (Ca-withdrawal contracture). After addition of Ca^{++} the increase of respiration occurs before mechanical effects become observable. A further increase of Ca-concentration produces a slow and relatively weak tonus, at which O_2 -uptake increases transiently, but decreases soon in spite of the developing contracture (rigor). Oxygen uptake is related to mechanics but not to depolarization of the membrane. The latter is linked with both processes by means of coupling reactions, whereby Ca^{++} plays an important role. In addition to the electro-mechanical coupling, the existence of a direct Ca^{++} -dependent electro-respiratory coupling may be assumed.

EINLEITUNG

Zahlreiche Beobachtungen vor allem der letzten Jahre haben gezeigt, daß dem Calcium eine besondere Bedeutung in dem Mechanismus der Erregungsübertragung von der Membran auf den kontraktilen Apparat zukommt (SANDOW 1952, NIEDERGERKE 1959, BIANCHI & SHANES 1959, FRANK 1960, FLECKENSTEIN et al. 1948, 1960, 1961, BRECHT et al. 1961, 1962, 1963, HASSELBACH & MAKINOSE 1961 u. a.). Die Vorstellungen darüber sind in ihren Grundzügen durch gleichzeitige beziehungsweise aufeinander ausgerichtete Untersuchungen des Membranpotentials, der Mechanik und der Ca-Kinetik relativ gut unterbaut. Viele Einzelfragen sind jedoch noch offen, so auch die

nach der Einordnung der Stoffwechselforgänge in dieses Bild, insbesondere die wichtige Frage, ob Beziehungen zwischen den elektrischen Vorgängen an der Membran und dem Stoffwechsel der Zelle bestehen und ob dabei auch Ca eine Rolle spielt, beziehungsweise ob es einen direkten Ankopplungseffekt auf den Stoffwechsel ausübt. Über dieses Problem liegen eine Reihe interessanter Befunde vor, die sich vor allem auf Untersuchungen von Stoffwechselforgängen in Muskeln unter dem Einfluß erhöhter extracellulärer K-Konzentrationen beziehen. Dadurch sind zweierlei Vorteile gegeben: Definierte Membrandepolarisationen und länger anhaltende Depolarisationen, die das Erfassen von Stoffwechselveränderungen (aus methodischen Gründen) erleichtern. Die diesbezüglichen Untersuchungen erstrecken sich auf die Atmung (HEGNAUER et al. 1934), auf die Wärmeproduktion (SOLANDT 1936, HILL & HOWARTH 1957), ferner auf die Milchsäurebildung (KAYE & MOMMAERTS 1960) und auf den Phosphatstoffwechsel (FLECKENSTEIN et al. 1961). Durch diese Arbeiten ist eine Forschungsrichtung angestoßen, die den Begriff der „elektro-mechanischen Kopplung“ ergänzt und erweitert durch den Begriff der „elektro-metabolischen Kopplung“. Auch hier sind die Verhältnisse noch weitgehend ungeklärt. Doch scheinen, wie besonders aus den Befunden von KAYE & MOMMAERTS (1960) und FLECKENSTEIN et al. (1961) hervorgeht, auch dabei die Ca^{++} eine wichtige Rolle zu spielen. Im Zusammenhang mit eigenen Arbeiten über die elektro-mechanische Kopplung und über den oxydativen Stoffwechsel bei verschiedenen Kontrakturen des Skelettmuskels (BRECHT et al. 1955) haben wir uns auch mit der Frage beschäftigt, welchen Einfluß hohe K-Außenkonzentrationen (isotonische Lösungen) auf den O_2 -Verbrauch mit und ohne Beteiligung des kontraktilen Apparates haben, welche Rolle die Ca^{++} -Ionen dabei spielen und wie sich die Variation der extracellulären Ca^{++} -Konzentration allein auf den O_2 -Verbrauch phasischer und tonischer Skelettmuskeln des Frosches auswirkt. Über einen Teil der dabei gewonnenen Ergebnisse wird nachfolgend berichtet.

METHODIK

Während wir früher die O_2 -Drucke in Lösungen mit der Quecksilbertropfelektrode gemessen haben (BARTELS & BRECHT 1952), benutzten wir jetzt eine kunststoffüberzogene Platinelektrode, die von BARTELS & REINHARDT (1960) zur O_2 -Druckmessung im Blut entwickelt wurde. Die Platinelektroden wurden täglich geeicht. Die Eichung mußte außerdem für die verschiedenen isotonischen Salzlösungen getrennt vorgenommen werden, da sich geringe Unterschiede ergaben. Die Meßwerte bei isotonischer KCl-Lösung lagen z. B. etwas höher als bei normaler Ringerlösung beziehungsweise isotonischer $CaCl_2$ - oder NaCl-Lösung.

Es wurden möglichst dünne Muskeln (maximale Dicke etwa 0,5 mm) von kleinen Tieren verwendet, um die WARBURGSche Grenzschichtdicke nicht zu überschreiten (*M. sartorius* und *rectus abdom.* von *Rana temporaria*). Sie wurden in der Respirationsskammer montiert. Ihre isometrischen Verkürzungen wurden über einen photoelektrischen Wandler mit einem elektronischen Kompensographen registriert. Die Einrichtung war geeicht, so daß die entwickelte Spannung direkt in g bestimmt werden konnte.

Die Registrierung der Mechanik erfolgte jeweils zeitlich parallel zu den O_2 -Ver-

brauchsbestimmungen, um einen Einblick in den Zusammenhang zwischen der mechanischen Tätigkeit und dem oxydativen Stoffwechsel zu erhalten. Eine eigentliche Arbeit kann bei der isometrischen Anordnung nicht ermittelt werden. Als physiologisches Äquivalent einer sogenannten „inneren Arbeit“ kann man das Produkt aus Spannung \times Zeit heranziehen, bezogen auf 1 g Frischgewicht.

Der O_2 -Verbrauch wurde im allgemeinen in Abständen von 5 Minuten gemessen (intermittierend fortlaufende Bestimmung), manchmal auch in 2-Minuten-Intervallen, wenn es darauf ankam, rasche O_2 -Verbrauchsänderungen zu erfassen (etwa beim Wechsel von Ringerlösung auf isotonische KCl-Lösung). Dazu wurde die Ringerlösung aus der Respirationkammer abgesaugt und ihr O_2 -Druck in der Meßkammer bestimmt. Die Respirationkammer selbst wurde sofort mit neuer Ringerlösung (oder einer anderen Lösung) nachgefüllt, die mit Preßluft äquilibriert war. Der O_2 -Verbrauch errechnet sich nach der Gleichung

$$V = \frac{PO_2 \cdot \alpha \cdot V_R}{760 \cdot g \cdot t}$$

V : O_2 -Verbrauch; PO_2 : O_2 -Druckdifferenz der Lösung zwischen Anfang und Ende der O_2 -Verbrauchsperiode;
 α : O_2 -Löslichkeitskoeffizient für Ringerlösung bei 22° C;
 g : Nettogewicht (frisch) des Muskels; V_R : Volumen der Respirationkammer; t : O_2 -Verbrauchsdauer in Minuten.

In den Ergebnissen wird der O_2 -Verbrauch in $mm^3 O_2$ (bei 22° C) angegeben und auf 1 g Frischgewicht und 1 Minute Konsumdauer bezogen. Die Empfindlichkeit der Meßanordnung war so, daß noch O_2 -Verbrauchsänderungen von $0,1 mm^3 \pm 3\%$ abgelesen werden konnten. Der „Ruheverbrauch“ ist über längere Zeit oft nicht konstant, sondern sinkt am Anfang des Versuches etwas mehr, dann weniger ab. Der langsame Abfall kann sich unter Umständen über 1 bis 2 Stunden erstrecken. Eine konstante „End-Atmung“ wurde nicht immer abgewartet. Der dann nicht exakt bestimmbare tatsächliche Wert des O_2 -Mehrverbrauchs bei den vorgenommenen Eingriffen (Variation des Ionenmilieus) ist aus diesem Grunde höher als der abgelesene Wert. (In manchen Kurven, z. B. Abb. 4 und 5, ist der vermutliche Verlauf der Ruheatmungskurve gestrichelt eingezeichnet). Über weitere methodische Einzelheiten: BARTELS & BRECHT 1952, BARTELS & REINHARDT 1960, SEEBER in Vorbereitung.

Zusammensetzung der Ringerlösungen: 115 m mol/l NaCl, 2,5 m mol/l KCl, 1,8 m mol/l $CaCl_2$, 1,8 m mol/l NaH_2PO_4 , 2,15 m mol/l Na_2HPO_4 . Die Isotonie wurde durch Variation der NaCl-Konzentration gewahrt. Isotonische KCl-Lösungen enthielten keine anderen Ionen. Bei Ca-reichen Ringerlösungen wurde der Puffer weggelassen. Die meist leicht sauren Lösungen wurden mit NaOH auf pH 7,1 gebracht.

ERGEBNISSE

O_2 -Verbrauch in Ruhe (bei Vordehnung der Muskeln um 10% über die „in vivo-Länge“)

Bei Winterfröschen (Dezember bis Januar) lagen die Ruhewerte zwischen 1,4 und 1,7 mm^3 pro g Frischgewicht und Minute. Muskeln von frischgefangenen Tieren im April zeigten teilweise Werte bis zu 4 mm^3/g und Minute. Der O_2 -Verbrauch der Sar-

torien lag durchweg um 5 bis 10% höher als der der Recti abdom. Stärkere Schwankungen traten während der Laichzeit auf, wobei oft innerhalb weniger Tage während der Gefangenschaft die Werte bis unter $1 \text{ mm}^3/\text{g}$ und Minute absinken konnten.

Viele Muskeln zeigten, worauf im Abschnitt „Methodik“ schon hingewiesen wurde, einen ständigen geringen Abfall des Ruhe- O_2 -Verbrauchs während des Versuchs. Der Abfall war im allgemeinen um so steiler, je höher die Anfangswerte lagen.

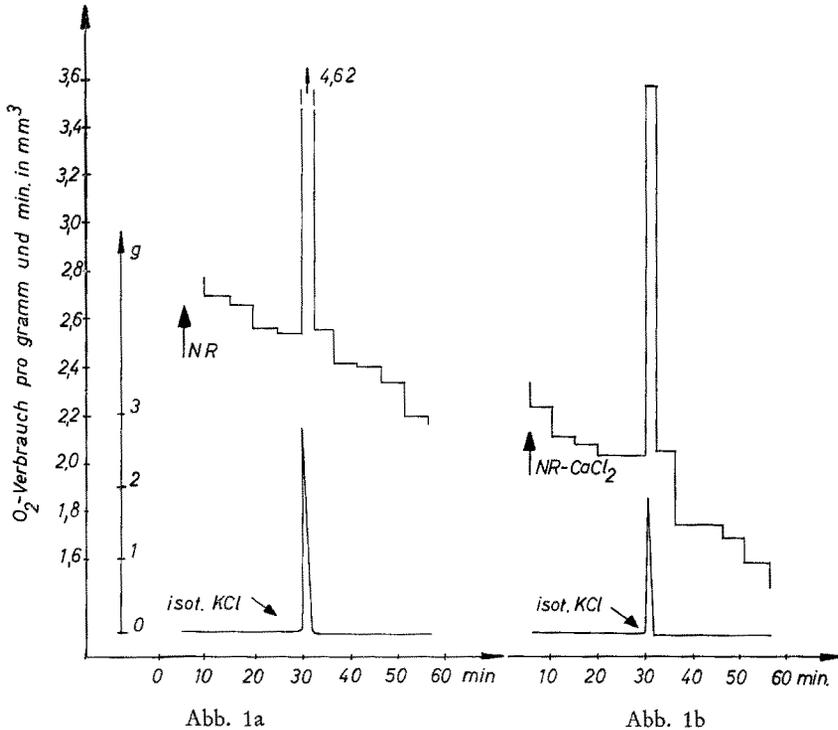


Abb. 1: O_2 -Verbrauch und Spannungsverlauf (*Mm. sartorii* von *Rana temporaria*) in isotoni-scher KCl-Lösung nach einhalbstündiger Vorbehandlung in a) Normal-Ringerlösung (NR), b) Ringerlösung ohne CaCl_2 . Es handelt sich um Mittelwertskurven aus 6 Versuchen. Die mechanischen Kurven sind leicht schematisiert.

Auf Grund von Erfahrungen an vielen Einzeluntersuchungen konnte aus dem Anfangsverhalten der weitere Verlauf der O_2 -Verbrauchskurve in Ruhe „extrapoliert“ werden (vgl. Abb. 4 und 5). Die Ruhewerte liegen im Mittel höher als die von MEYERHOF (1925) an Winterfröschen gefundenen. Dafür dürfte sowohl der „Feng-Effekt“ (Vordehnung der Muskeln) als auch der Präparationsreiz besonders bei den Anfangswerten mitverantwortlich sein. Die Werte von $1,7 \text{ mm}^3/\text{g}$ und Minute fallen jedoch noch in den Bereich der von BRECHT et al. (1952, 1955) mit der Quecksilbertropf-elektrode bestimmten Ruheatmungsgrößen.

O₂-Verbrauch bei hoher extracellulärer Kalium-Konzentration

Die mit der O₂-Messung gleichzeitig erfolgende Registrierung der Muskelmechanik (Zuckungen und Kontraktur) gestattete bei Erhöhung der extracellulären K-Konzentration einen Vergleich zwischen Änderungen der Atmung und des mechanischen Verhaltens. Bei hoher K-Außenkonzentration scheinen die Steigerungen des O₂-Verbrauchs von den ausgelösten mechanischen Effekten abzuhängen (Zuckungen und Kon-

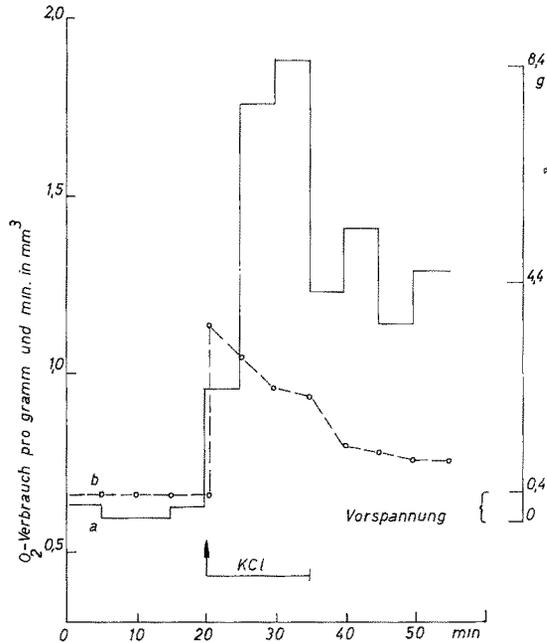


Abb. 2: O₂-Verbrauch des Rectus abdominis (*Rana esculenta*) während einer Kaliumkontraktur. Ausgezogene Kurve *a*: O₂-Verbrauch (lk. Ordinate); gestrichelte Kurve *b*: Spannungsverlauf (r. Ordinate). Beim Pfeil wurde die Ringerlösung für 15 Minuten durch isotonische KCl-Lösung ersetzt. (Nach BRECHT et al. 1955.)

trakturen). Allein die sogenannten Nachkontraktionen, die unter (und nach) KCl-Einwirkung besonders leicht bei tonischen Muskeln (*Mm. recti*) und in geringerem Ausmaß bei phasischen Muskeln (*Mm. sartorii*) vorkommen, zeigten keinen nachweisbar erhöhten O₂-Verbrauch. Ob O₂-Verbrauch und Spannungsentwicklung quantitativ parallel gehen, ist noch offen, da bisher eine genaue quantitative Analyse wegen der zu geringen Versuchszahl noch nicht erfolgen konnte. Die Größe der Atmung hängt bei hohen K-Konzentrationen nicht von der Größe der durch KCl bewirkten Depolarisation ab. Bei anhaltender maximaler Depolarisation durch isotonische KCl-Lösung sinkt die Ruheatmung entsprechend der mechanischen Entkopplung relativ rasch nicht nur zum Ausgangsniveau, sondern erheblich darunter ab. Dies ist besonders bei phasischen Muskeln der Fall, die mit Normal-Ringerlösung vorbehandelt sind. Noch stärker ist der Effekt nach Ca-Verarmung, wodurch bei beiden Muskeltypen eine rasche

mechanische Entkopplung eintritt. In all diesen Fällen erfolgen auf isotonische KCl zuerst Einzelzuckungen beziehungsweise ein initialer Tetanus (BRECHT et al. 1961) und dann eine mehr oder weniger rasche Erschlaffung. Entsprechend steigt der O_2 -Verbrauch kurzzeitig an, um dann wieder, trotz weiterbestehender Depolarisation, tief abzufallen (Abb. 1a und b). Anders liegen – wie wir früher schon gezeigt haben (BRECHT et al. 1955) – die Verhältnisse, wenn man isotonische KCl nur kurzzeitig einwirken läßt (10–15 Min.) und sich der Muskel dann in normaler Ringerlösung

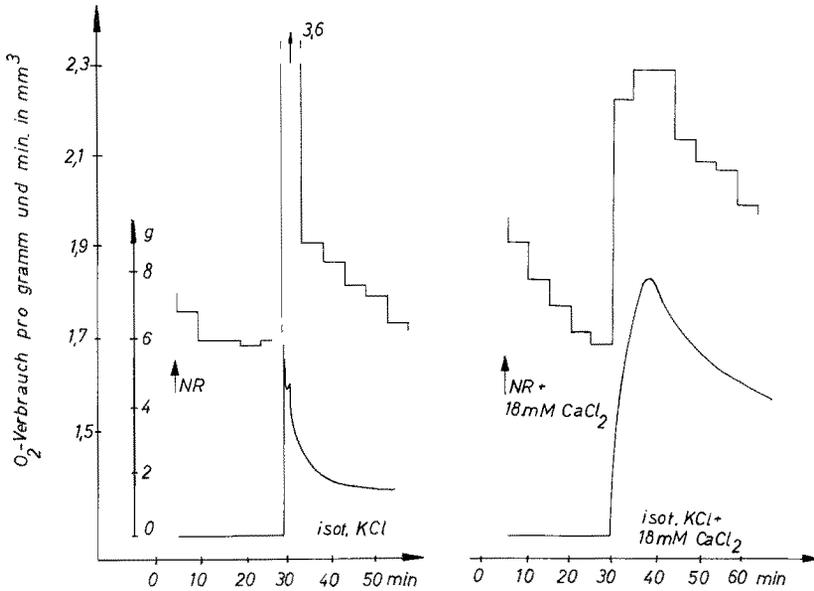


Abb. 3a

Abb. 3b

Abb. 3: O_2 -Verbrauch und Spannungsverlauf (Mm. recti abdom. von *Rana temporaria*) in isotonischer KCl-Lösung nach einstündiger Vorbehandlung in a) Normal-Ringerlösung, b) Ringerlösung mit 18 m mol/l $CaCl_2$ (Mittelwertskurven aus 6 Versuchen). In a) ist eine „Nachkontraktur“ zu beobachten, die als Ausdruck eines sogenannten plastischen Tonus ohne O_2 -Mehrverbrauch abläuft.

erholen kann. Hier ist der O_2 -Verbrauch noch längere Zeit erhöht, obwohl die Spannung schon weitgehend abgesunken ist (Abb. 2).

Es ist bekannt, daß Ca^{++} die Verkürzung am K-depolarisierten, erschlafften Muskel wieder anknoppeln können beziehungsweise – wenn sie im Muskel angereichert sind – die Entkopplung (Erschlaffung) einer K-Kontraktur über längere Zeit verzögern oder verhindern können (BRECHT et al. 1961 u. a.). Die Untersuchungen zeigten, daß dabei auch der O_2 -Verbrauch größer wird und länger erhöht bleibt (Abb. 3). Nach Vorbehandlung der Muskeln in Ringerlösung mit beispielsweise 10fachem Ca-Gehalt entfällt – wegen der Stabilisierung der Membran – unter isotonischer KCl-Lösung der initiale Tetanus, und die Spannung steigt langsamer an (BRECHT et al. 1961). Dem entspricht einmal eine Verzögerung des O_2 -Verbrauchsmaximums und zum anderen – wegen des größeren und längeren mechanischen Effektes – eine über

längere Zeit erhöhte Atmung. Recti und Sartorii verhielten sich unter solchen Bedingungen grundsätzlich ähnlich.

O₂-Verbrauch bei Änderung der extracellulären Ca⁺⁺-Konzentration

Der Ca-Gehalt der Außenlösung wurde zwischen Null und isotonomischer CaCl₂-Lösung variiert. Die Muskeln befanden sich 30 Minuten in normaler Ringerlösung, dann wurde auf die Lösung mit verändertem Ca-Gehalt übergewechselt.

Ca-Entzug führt bei den Mm. recti von *Rana temporaria* (nicht von *R. esculenta*!) zu einer langsamen schwachen (und reversiblen) Spannungsentwicklung, einer

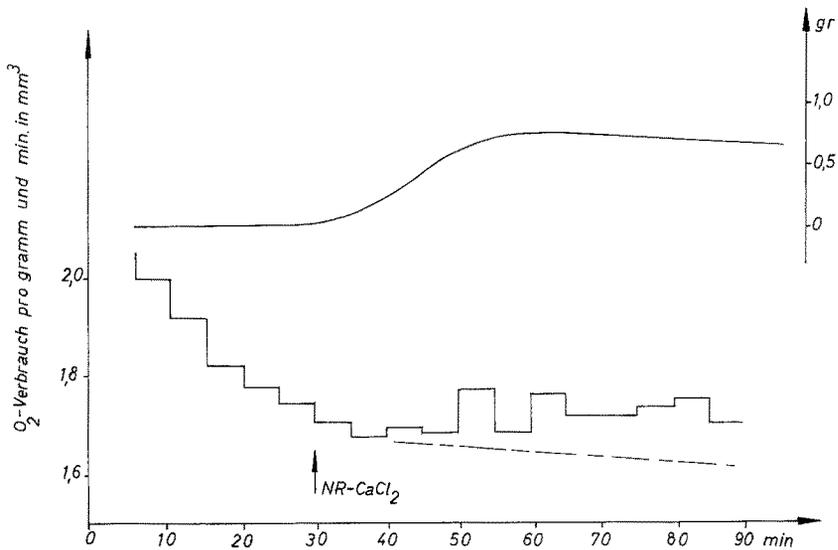


Abb. 4: O₂-Verbrauch und Spannungsverlauf (Mittelwertskurven von 6 Mm. recti abdom. von *Rana temporaria*) in Ca-freier Ringerlösung (NR-CaCl₂) nach einhalbstündiger Vorbehandlung in Normal-Ringerlösung (NR).

sogenannten Calciumentzugskontraktur (BRECHT & PAUSCHINGER 1962, KUTSCHA 1963). Entsprechend steigt der O₂-Verbrauch maximal bis 10% (Abb. 4). Bei Sartorien führt Ca-Entzug zu keiner Kontraktur, wohl aber – wegen der Labilisierung der Membran – zum Auftreten von zunächst zahlreichen Spontanzuckungen der Einzelfasern (BÜLBRING et al. 1956), die mit zunehmender Depolarisation (nach 30–60 Min. und mehr) immer seltener werden. Etwa parallel dazu läuft eine Steigerung des O₂-Verbrauchs bis zu maximal etwa 15% (Abb. 5a).

Anders liegen die Verhältnisse bei Erhöhung der Ca⁺⁺-Konzentration der Außenlösung. Bei Steigerung bis auf das 10fache (18 m mol/l CaCl₂) sind noch keine mechanischen Effekte im Sinne einer „Ca-Kontraktur“ nachweisbar (BRECHT et al. 1961, KUTSCHA 1963). Trotzdem steigt der oxydative Stoffwechsel schon deutlich bei 5fach und noch mehr (um etwa 20%) bei 10fach Ca an. Interessant ist der Verlauf der O₂-Verbrauchskurven (Abb. 5b und c). Die Hauptsteigerung liegt innerhalb der ersten

halben Stunde, dann erfolgt trotz weiter bestehender höherer Ca-Konzentration ein Rückgang. Dieser erfolgt auch bei noch höheren Ca-Konzentrationen (20fach bis isotonische CaCl_2) trotz der nun eintretenden Dauerverkürzungen, meist sogar ziemlich rasch, besonders bei isotonischer CaCl_2 -Lösung. In dieser Lösung verliert der Muskel in 30 Minuten etwa 10% seines Frischgewichts.

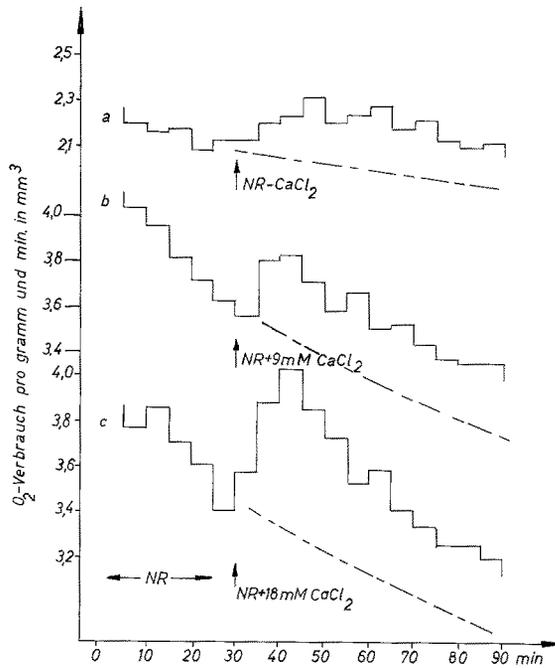


Abb. 5: O_2 -Verbrauch von 6 Mm. sartorii von *Rana temporaria* in: a) Ringerlösung ohne CaCl_2 , b) Ringerlösung mit 9 m mol/l CaCl_2 , c) Ringerlösung mit 18 m mol/l CaCl_2 . Vorbehandlung in Normal-Ringerlösung (NR).

DISKUSSION

Die Beziehungen zwischen dem elektrischen Zustand der Muskelfasermembran einerseits und dem kontraktile Mechanismus andererseits sind noch vielfach ungeklärt. Man ist sich zwar einig darüber, daß normalerweise die Membrandepolarisation für das Einsetzen des Verkürzungsvorganges verantwortlich ist und daß auch innerhalb gewisser Grenzen die Größe einer Dauerverkürzung (Kontraktur) von der Größe der Depolarisation abhängt (KUTSCHA 1963 u. a.). Eine Reihe von Beobachtungen legen aber die Annahme nahe, daß die Depolarisation der Membran nur der Trigger ist zur Auslösung von Folgeaktionen, durch die schließlich der Kontraktionsmechanismus in Gang gebracht und unterhalten wird. Glieder in diesem Kettenmechanismus sind vielleicht die H^+ -Ionen (KUTSCHA & BRECHT 1961, KUTSCHA et al. 1964), von denen nicht die Rede sein soll, sicherlich die Ca^{++} -Ionen, über deren Wirkung hier berichtet

wird. Entscheidend ist das Auftreten freier Ca^{++} im Innern der Muskelfaser, sei es, daß sie durch das Aktionspotential aus bestimmten Bindungsorten in Bruchteilen von Sekunden freigesetzt werden (Zuckung), sei es, daß sie bei längerer Depolarisation von oberflächlichen Schichten der Zelle beziehungsweise vom extracellulären Raum in tiefer liegende Reaktionsorte diffundieren, von wo aus der Kontraktionsmechanismus ausgelöst und so lange unterhalten wird, als eine bestimmte Konzentration freier Ca^{++} vorhanden bleibt. Durch Bindung beziehungsweise Rückbindung der Ca^{++} (Muskeleiweiß, Grana) oder – falls ein Gradient vorhanden – auch durch Abdiffusion an die Oberfläche beziehungsweise in den extracellulären Raum kann der Ca^{++} -Spiegel im Innern so weit abfallen, daß die mechanische Ankopplung insuffizient wird. Die vorliegenden Untersuchungen haben erneut gezeigt, daß eine Depolarisation der Membran allein weder bei tonischen noch bei phasischen Muskeln eine nennenswerte Kontraktur auslösen¹ oder gar längere Zeit unterhalten kann. Dies ist nur möglich, wenn genügend Ca^{++} zur Verfügung stehen. Dabei ist es schwierig oder gar unmöglich, genaue quantitative Beziehungen zwischen der Größe der Depolarisation, der Größe und dem Verlauf der Kontraktur und der Ca^{++} -Ionenkonzentration aufzustellen, da die Ca^{++} eine gegensätzliche Funktion haben: Sie fördern den durch die Depolarisation angestoßenen kontraktiven Effekt, aber sie wirken – als Antagonisten zum Kalium – hemmend auf die Depolarisation. Für die „Kontraktur-Wirkung“ des Calciums ist also das Verhältnis $[\text{K}^+] : [\text{Ca}^{++}]$ mit entscheidend, nach NIEDERGERKE (1959) außerdem das Verhältnis $[\text{Ca}^{++}] : [\text{Na}^+]^2$, da Ca und Na an Bindungsorten oberflächlicher Schichten der Muskelzelle konkurrieren sollen. Der Einfluß des Ca auf den Verkürzungsmechanismus bei Kontrakturen ist demnach sehr komplexer Natur. Man wird daher auch keine einfachen Verhältnisse erwarten dürfen, wenn man nach Beziehungen zwischen Ca^{++} und Stoffwechselprozessen sucht.

Bei Depolarisationskontrakturen (etwa Acetylcholin- oder Kalium-Kontrakturen) ist nun – wie wir schon früher beschrieben haben (BARTELS & BRECHT 1952) – auch der oxydative Stoffwechsel erhöht. Es ist nicht bekannt, auf welchem Wege eine Steigerung der Atmung während der Kontraktur zustande kommt und wie sie der Kontrakturgröße angepaßt wird. Die Depolarisation als solche könnte die Stoffwechselprozesse direkt auslösen und auch quantitativ bestimmen oder auch indirekt über den Kontraktionsvorgang oder über Zwischenglieder, vielleicht über die gleichen, die bei der elektromechanischen Kopplung eine Rolle spielen. Für die Beantwortung dieser Fragen sind besonders solche Versuchsbedingungen geeignet, bei denen definierte Änderungen des Membranpotentials ohne Beteiligung mechanischer Effekte eintreten. Dies geht beispielsweise an p h a s i s c h e n Skelettmuskeln durch Erhöhung der extracellulären K^+ -Konzentration auf zweierlei Weise: 1. Die Depolarisationen erfolgen schon bei relativ geringen K^+ -Außenkonzentrationen ohne größere mechanische Effekte. Es treten nur Einzelzuckungen und kurze Zuckungssalven auf, aber keine Kontrakturen. Nach etwa 1 bis 2 Minuten ist der Muskel unerregt und schlaff trotz weiterbestehender K^+ -Depolarisation. 2. Bei starker Erhöhung der K^+ -Konzentration (60–120 mmol/l) erfolgt ein initialer Tetanus von etwa 30 bis 60 Sekunden Dauer, an den sich – je nach Jahreszeit – eine flüchtige Kontraktur (im Sommer) oder eine über wenige

¹ Die steile initiale Verkürzung ist immer ein kurzer Tetanus (BRECHT et al. 1961).

Minuten dauernde Kontraktur (im Winter) anschließt, worauf der Muskel (Sartorius) trotz starker Depolarisation, mechanisch ruhig bleibt².

Die Resultate der Untersuchungen mit K^+ -Erhöhungen bis zu etwa 20 m mol/l sind nicht einheitlich. HILL & HOWARTH (1957) haben die Untersuchungen von SOLANDT (1936) wieder aufgegriffen und durch Wärmeproduktionsmessungen am *M. sartorius* (*Rana temporaria*) den depolarisierenden Einfluß erhöhter extracellulärer K-Konzentrationen auf den Energiewechsel untersucht (dort auch die ältere Literatur). Eine Erhöhung der K^+ -Konzentration (2,5 m mol/l) der Ringerlösung auf das etwa zehnfache ruft eine lang dauernde Steigerung der Ruhe-Wärmeproduktion um das 10- bis 20-fache hervor, obwohl dabei keine nennenswerten mechanischen Effekte auftreten. Die Verfasser vermuten, daß eine teilweise Depolarisation der Oberfläche eine begrenzte Änderung der inneren Organisation der Zelle auslöse, wodurch einige chemische Reaktionen in Gang kommen, die auch sonst an der Erregungsübertragung ins Innere beteiligt sind. Da die Motorik nicht oder höchstens nur sehr kurz und – im Vergleich zur Wärmeproduktionssteigerung – nicht nennenswert beteiligt ist, schließen die Verfasser auf eine vom kontraktile Mechanismus unabhängige direkte Beeinflussung von Stoffwechselvorgängen durch die Membranpolarisation. Zu einer anderen Ansicht kommen HEGNAUER et al. (1934) auf Grund ihrer Studien über den O_2 -Verbrauch bei erhöhter extracellulärer K^+ -Konzentration. Sie finden eine enge Korrelation zwischen O_2 -Verbrauch und Mechanik und halten es für „höchst wahrscheinlich, daß ein Anstieg im O_2 -Verbrauch nur zu sehen ist, wenn eine Kontraktur stattfindet und daß, umgekehrt, eine Kontraktur nicht abläuft ohne einen Anstieg des Stoffwechsels“. Eine quantitative Beziehung zwischen O_2 -Verbrauch und Verletzungspotential ist nicht zu sichern, dagegen läuft nach Ansicht der Verfasser keine Kontraktur ab ohne Spaltung von Keratinphosphat. Im Bereich bis 15 m mol/l extracelluläres K wird die Spaltung des Kreatinphosphats als „Schrittmacher“ für den O_2 -Verbrauch betrachtet, oberhalb dieses Konzentrationsbereiches soll diese Rolle der Milchsäure zufallen. Die Milchsäurewerte sind unterhalb 15 m mol/l K deshalb so niedrig, weil hier noch eine rasche oxydative Beseitigung möglich ist. FLECKENSTEIN et al. (1961) haben neuerdings die Spaltung energiereicher Phosphate unter dem Einfluß erhöhter extracellulärer K^+ -Konzentrationen untersucht. Auch sie finden eine enge Beziehung zwischen Mechanik und Kreatinphosphatspaltung jedoch keine Korrelation zwischen der Depolarisation in hohen K^+ -Konzentrationen und der Stoffwechselaktivität.

Unsere eigenen Untersuchungen, über die hier berichtet wird, befassen sich nur mit der Wirkung h o h e r (vorwiegend isotonischer) K^+ -Konzentrationen auf den O_2 -Verbrauch phasischer und tonischer Muskeln³. Es zeigt sich ein deutlicher Parallelismus zwischen Spannungsentwicklung und O_2 -Verbrauch. Sobald die mechanischen Effekte (Tetanus und Kontraktur) vorüber sind – rasch bei den Sartorien, langsamer bei den Recti – sinkt auch der O_2 -Mehrverbrauch trotz maximaler Depolarisation ab, oft unter

² Manchmal können schwache sogenannte „Nachkontrakturen“ bestehenbleiben, die auf plastischer Deformierung beruhen (REICHEL 1960) und keinen erhöhten O_2 -Verbrauch erkennen lassen (BRECHT et al. 1955).

³ Untersuchungen über den Einfluß niederer K^+ -Außenkonzentrationen (bis 30 m mol/l) werden zur Zeit mit einer fortlaufend messenden Sauerstoffelektrode durchgeführt. Darüber wird an anderer Stelle berichtet werden.

das Ausgangsniveau. Hier besteht also keine Beziehung zwischen Membrandepolarisation und Erhöhung der Atmung, im Gegenteil, es scheint so, als ob die Atmung bei bestehender maximaler K-Depolarisation zunehmend vermindert wird. Dies ist nicht der Fall, wenn man nach erfolgter K-Kontraktur die isotonische KCl-Lösung wieder durch normale Ringerlösung ersetzt. Hier bleibt die Atmung erhöht, obwohl die mechanische Spannung schon weitgehend abgeklungen ist (Abb. 2). Wir haben schon früher (BRECHT et al. 1955) die Ursache für diesen verlängerten O_2 -Mehrverbrauch in der Wiederherstellung der normalen Ionenordnung, der Struktur und der energetischen Verhältnisse der Zelle und ihrer Membran gesehen. Bei bleibender maximaler Depolarisation können solche Regenerationsprozesse offenbar nicht ablaufen, der Stoffwechsel wird gehemmt. Einen ähnlichen Effekt fanden SMITH & SOLANDT (1938) und HILL & HOWARDT (1957) bei ihren Wärmemessungen an Sartorien: Unter hohen K^+ -Konzentrationen erfolgt ein rascher Rückgang des Wärmeanstiegs, ein Phänomen, für das die Autoren keine Erklärung finden. Eine Reihe von Beobachtungen spricht jedoch dafür, daß hierbei unter anderem das Ca eine Rolle spielt. Während einer K-Depolarisation treten Ca^{++} (zum Teil als Komplexverbindung mit Phosphat) aus der Muskelzelle aus, vor allem wenn ein Konzentrationsgradient in die Außenlösung besteht (SHANES & BIANCHI 1960, KOKETSU & MIYAMOTO 1961, ABOOD et al. 1961). Dieser Ca-Austritt ist besonders stark bei hohen K^+ -Konzentrationen und damit starker Depolarisation⁴. Die Folge davon ist einmal die bekannte elektromechanische Entkopplung und in Parallele zu der Erschlaffung ein Abfall des O_2 -Verbrauchs. Daß das Ca hier im Spiele ist, zeigen die Versuche mit variiertem Ca-Gehalt. An Ca-verarmten Muskeln (durch Baden in Ca-freier Ringerlösung) erfolgt die mechanische Entkopplung in isotonischer KCl-Lösung äußerst rasch und ebenso rasch der Rückgang des O_2 -Mehrverbrauchs, dem sich eine stärkere Abnahme der „Ruheatmung“ anschließt, so daß man von einer „Entkopplung der Atmung“ sprechen könnte. Ein umgekehrtes Bild ergibt sich bei Anreicherung der Ca^{++} (Baden der Muskeln in Ca-reichen Ringerlösungen). Hier werden – auch an phasischen Muskeln (Sartorius) – mit steigenden Ca^{++} -Konzentrationen die Kontraktionen in isotonischer KCl kräftiger und länger (PAUSCHINGER & BRECHT 1961); entsprechend ist auch der O_2 -Verbrauch erhöht und verlängert.

Man darf aus diesen Befunden schließen, daß Ca^{++} -Ionen nicht nur den Verkürzungsmechanismus, sondern auch den Energiestoffwechsel aktivieren. Diese Annahme wird durch neuere Beobachtungen gestützt. Die schon erwähnten Untersuchungen von FLECKENSTEIN et al. (1961) über den Stoffwechsel energiereicher Phosphate zeigen, daß eine K-Depolarisation am calciumverarmten Rectus abdominis von *Rana esculenta* nur von einer geringen Abnahme des Kreatinphosphats begleitet ist, Calciumanreicherung dagegen die Kreatinphosphatspaltung stark erhöht. In gleichem Sinne sprechen Glykolysestudien an Sartorien (*Rana pipiens*) von KAYE & MOMMAERTS (1960): Die Aktivierung der Glykolyse bei Erhöhung der extracellulären K^+ -Konzentration ist von der Ca^{++} -Konzentration abhängig, woraus die Verfasser auf einen Eingriff der Ca^{++} in ein frühes Glied der glykolytischen Fermentkette schließen. Da sie mit relativ geringen K^+ -Mengen arbeiten (20 m mol/l), durch die an

⁴ Bei solch starken und längeren Membrandepolarisationen treten auch andere Stoffe aus der Zelle aus, unter anderem Fermente wie Aldolase (ZIERLER 1958), wodurch wichtige Stoffwechselreaktionen lahmgelegt werden können.

Sartorien keine nennenswerten und keine länger dauernden mechanischen Effekte auftreten, nehmen sie an, daß hier eine direkte Wirkung des Ca auf den Stoffwechsel vorliegt, ausgelöst durch die Membrandepolarisation.

Mit dieser Feststellung ist die Frage nach den kausalen Verknüpfungen dieser verschiedenen Vorgänge aufgeworfen. Kein Zweifel besteht darüber, daß die Depolarisation weder die Mechanik noch den Stoffwechsel direkt ankoppeln kann. Dafür sind Kopplungsglieder notwendig, und Ca gehört dazu. Das Problem verschiebt sich zu der Frage weiter, ob die Ca^{++} -Ionen Mechanik und Stoffwechsel unabhängig voneinander bzw. parallel zueinander aktivieren können. Da die Atmung als restitutiver Prozeß nicht die unmittelbare Energie für die Verkürzung liefert und ihr daher auch nicht vorausgehen kann, ist die Problemstellung anders als bei FLECKENSTEIN et al. (1961), die sich, ohne allerdings zu einer Entscheidung zu kommen – mit der Frage befaßten, ob die Ca^{++} nur die Spaltung von energiereichen Phosphaten aktivieren, woraus dann die Verkürzung resultiert, oder ob sie umgekehrt die Verkürzung in Gang setzen, wodurch sekundär erst die Spaltung von energiereichem Phosphat zustande kommt, oder ob schließlich die Ca^{++} beide Prozesse nebeneinander (und also auch unabhängig voneinander) ankoppeln können. Hier fragt sich nur, ob ein Vorgang, der die Verkürzung auslöst, auch die zur Erholung notwendigen energieliefernden Reaktionen gleichzeitig (oder frühzeitig) in Gang setzen bzw. begünstigen kann. Ein direkter Beweis zur Beantwortung dieser Frage steht uns nicht zur Verfügung. Man kann nur versuchen, nachzuweisen, ob Ca überhaupt Stoffwechselprozesse auch unabhängig von der Mechanik aktivieren kann. Für die Glykolyse, die auch zu den restitutiven Prozessen gehört, haben dies – wie schon besprochen – KAYE & MOMMAERTS (1960) bereits wahrscheinlich gemacht. Für die Atmung glauben wir durch die vorliegenden Ergebnisse einige Anhaltspunkte im gleichen Sinne erbracht zu haben.

Nach Untersuchungen an unserem Institut (KUTSCHA 1963) nehmen tonische und phasische Muskeln des Frosches aus Ca-reichen Ringerlösungen (z. B. 18 m mol/l CaCl_2) beträchtliche Mengen an Ca auf (bis auf das 2- bis 3fache des Grundgehaltes in 1 Stunde; vergleiche auch GILBERT & FENN 1957). In diesem Bereich treten noch keine Verkürzungen auf; diese erfolgen erst bei höheren Konzentrationen (BRECHT et al. 1961, KUTSCHA 1963) und werden dann immer weniger reversibel (Rigor). Das bedeutet, daß im Bereich relativ niedriger Ca^{++} -Außenkonzentrationen (bis etwa 20 m mol/l) keine zur Kontraktion führende Erhöhung der Ca^{++} -Ionenkonzentration erreicht wird. Trotzdem erhöht sich hier schon deutlich der O_2 -Verbrauch, sowohl bei phasischen als auch bei tonischen Muskeln. Worauf diese Atmungssteigerung beruht und welche Vorgänge daran beteiligt sind ist schwer zu überschauen. Sie könnte durch verschiedene andere, von Ca^{++} beeinflusste Reaktionen (Kreatinphosphatspaltung, Glykolyse) verursacht werden. GILBERT & FENN (1957) vermuten eine Ca-Pumpe, die Ca ständig nach außen pumpt. Sie schließen das unter anderem auch daraus, daß die Ca-Ionenkonzentration nur sehr langsam ansteigt, wenn die Ca-Außenkonzentration erhöht wird. Der Energiebedarf der Pumpe wird bei Normalbedingungen auf etwa 1% des Ruhestoffwechsels geschätzt; er steigt bei erhöhter Ca-Außenkonzentration. In diesem Zusammenhang sind auch die Untersuchungen von NOVOTNY & VYSKOCIL (1963) über den Einfluß von Membran-stabilisierenden Stoffen auf den Ca^{45} -Einstrom in den Sartorius und den O_2 -Verbrauch bei Depolarisation mit 20 m mol/l Kalium zu

nennen. Aus der gleichzeitigen Hemmung des O_2 -Verbrauchs und des Ca-Einstromes durch Physostigmin und anderen Umständen schließen die Autoren auf einen engen Zusammenhang zwischen dem durch K^+ erhöhten O_2 -Verbrauch und der Ca^{++} -Kinetik.

In den letzten Jahren ist die Existenz einer Ca^{++} -Pumpe nachgewiesen worden, die durch Speicherung von Ca^{++} in den „Erschlaffungsvesikeln“ die Konzentration freier Ca^{++} im Innern der Muskelfaser regelt (HASSELBACH & MAKINOSE 1961, MAKINOSE & HASSELBACH 1963). Was an eindringenden Ca^{++} die „äußere Ca^{++} -Pumpe“ nicht schafft, wird von der „inneren Ca^{++} -Pumpe“ in den Erschlaffungsvesikeln (Grana) konzentriert. Die Energie dazu wird zwar primär aus energiereichem Phosphat (HASSELBACH et al. 1961), letzten Endes aber aus dem oxydativen Stoffwechsel bezogen. Die in unseren Untersuchungen gefundene Steigerung der Atmung in einem Bereich von Ca^{++} -Außenkonzentrationen (bis etwa 20 m mol/l), bei denen noch keine mechanischen Effekte zu beobachten sind, könnte zum Teil auf dieser aktiven Speicherung der eindringenden Ca^{++} beruhen. Erst wenn alle Bindungsmöglichkeiten von Ca erschöpft sind, treten bei höheren Ca^{++} -Außenkonzentrationen (36 m mol/l und höher) freie Ca^{++} in zunehmender Zahl auf und führen bald zu unphysiologischen, irreversiblen Zuständen sowohl im Bereich der Mechanik (Starre) als auch des Stoffwechsels (Hemmung der Atmung).

Nach den vorliegenden Beobachtungen und nach der Literatur ist an einer direkten Beeinflussung von Stoffwechselforgängen durch Ca kaum zu zweifeln. Trotzdem läßt sich die oben aufgeworfene Frage, ob und wie bei der Erregung (Depolarisation) freigesetzte Ca^{++} direkt (außer auf die Mechanik) auch auf verschiedene Stoffwechselprozesse und speziell die oxydativen einwirken, noch nicht beantworten. Dazu sind weitere Untersuchungen notwendig.

ZUSAMMENFASSUNG

Der O_2 -Verbrauch phasischer und tonischer Muskeln (Sartorius und Rextus abdominis, *Rana temporaria*) unter dem Einfluß hoher extracellulärer K^+ -Konzentrationen wurde mit Hilfe der Platinelektrode intermittierend fortlaufend bestimmt bei gleichzeitiger Registrierung der Mechanik. Es sollte besonders untersucht werden, ob Beziehungen bestehen zwischen der Membrandepolarisation, der mechanischen Spannung und dem Energiestoffwechsel, und welche Rolle dabei die Ca^{++} spielen. Die wichtigsten Ergebnisse sind folgende:

1. Der O_2 -Verbrauch tonischer und phasischer Muskeln in isotonischer KCl-Lösung geht der Spannungsentwicklung (Tetanus und Kontraktur) parallel. Die Atmungssteigerung geht zurück, sobald sich die Verkürzung löst. Trotz Weiterbestehens der Dauerdepolarisation sinkt die „Ruhe-Atmung“ laufend ab. Wird dagegen die isotonische KCl-Lösung rechtzeitig durch Ringerlösung ersetzt, so bleibt die Atmung noch einige Zeit gesteigert (restitutive Prozesse). Sogenannte „Nachkontraktionen“ als Ausdruck eines „plastischen Tonus“ zeigen keinen O_2 -Mehrverbrauch.
2. Bei Ca-verarmten Muskeln sind in isotonischer KCl-Lösung (ohne Ca) sowohl die Spannungsentwicklung als auch die Atmungssteigerung stark reduziert, während umgekehrt beide Größen bei Ca-reichen Muskeln erheblich zunehmen.

3. Wird dem Muskel in Ca-freier Ringerlösung Ca entzogen, so steigt der O₂-Verbrauch mäßig an, bei phasischen Muskeln wohl wegen der auftretenden Spontan-zuckungen, bei tonischen Muskeln wegen einer schwachen Kontraktur („Ca-Entzugskontraktur“ tonischer Muskeln von *Rana temporaria*).
4. Wird dem Muskel in Ca-reichen Ringerlösungen (9–18 m mol/l CaCl₂) Ca zugeführt, so steigt die Atmung bereits deutlich an, noch bevor mechanische Effekte erkennbar sind. Wird die Ca-Konzentration stärker erhöht (36 m mol/l bis isotonischem CaCl₂), so erfolgt eine langsame, relativ schwache Spannungsentwicklung. Dabei steigt der O₂-Verbrauch vorübergehend an, um dann bald, trotz bleibender Verkürzung wieder laufend abzufallen (Rigor).
5. Der O₂-Verbrauch zeigt Beziehung zur Mechanik, aber nicht zur Depolarisation der Membran. Diese wirkt auf beide Größen unter Vermittlung von Kopplungsreaktionen, bei denen Ca⁺⁺ offenbar eine wichtige Rolle spielen. Es wird die Frage diskutiert, ob es neben der elektro-mechanischen auch eine direkte Ca⁺⁺-abhängige elektro-respiratorische Kopplung in der Muskelzelle gibt. Die Beantwortung dieser Frage bedarf weiterer Untersuchungen.

ZITIERTE LITERATUR

- ABOOD, L. G., KOKETSU, K. & KOYAMA, J., 1961. Outflux of inorganic and organic phosphate during membrane depolarization of excitable tissues. *Nature, Lond.* **191**, 395–396.
- ANTONI, H., ENGSTFELD, G. & FLECKENSTEIN, A., 1960. Inotrope Effekte von ATP und Adrenalin am hypodynamen Froschmyokard nach elektro-mechanischer Entkopplung durch Ca⁺⁺-Entzug. *Pflügers Arch. ges. Physiol.* **272**, 91–106.
- BARTELS, H. & BRECHT, K., 1952. Über die Atmung quergestreifter Kaltblütermuskeln bei der Acetylcholin- und Tetanuskontraktur. *Pflügers Arch. ges. Physiol.* **254**, 498–509.
- & REINHARDT, W., 1960. Einfache Methode zur Sauerstoffdruckmessung im Blut mit der kunststoffüberzogenen Platinelektrode. *Pflügers Arch. ges. Physiol.* **271**, 105–114.
- BIANCHI, C. P. & SHANES, A. M., 1959. Calcium influx in skeletal muscle at rest, during activity and during potassium contracture. *J. gen. Physiol.* **42**, 803–815.
- BRECHT, K., BARBEY, K., KUTSCHA, W. & PAUSCHINGER, P., 1961. Tetanus und Kontraktur bei der Verkürzung quergestreifter schneller und langsamer Muskeln in isotonischer KCl-Lösung und ihre Abhängigkeit von der KCl-Konzentration. *Pflügers Arch. ges. Physiol.* **273**, 130–144.
- KUTSCHA, W. & PAUSCHINGER, P., 1963. Kontraktur, Zuckung und Calcium. *Pflügers Arch. ges. Physiol.* **277**, 178–193.
- & PAUSCHINGER, P., 1962. Über die Beeinflussung der elektromechanischen Kopplung durch Ca⁺⁺-Ionen. *Pflügers Arch. ges. Physiol.* **275**, 376–380.
- UTZ, G. & LUTZ, E., 1955. Atmung quergestreifter und glatter Kaltblütermuskulatur in Ruhe, Dehnung, Kontraktion und Kontraktur. *Pflügers Arch. ges. Physiol.* **260**, 524–537.
- BÜLBRING, E., HOLMAN, M. & LÜLLMANN, H., 1956. Effects of calcium deficiency on striated muscle of the frog *J. Physiol.* **133**, 101–117.
- FLECKENSTEIN, A. & HERTEL, H., 1948. Über die Zustandsänderungen des kontraktile Systems in Abhängigkeit vom extrazellulären Natrium und Kalium. *Pflügers Arch. ges. Physiol.* **250**, 577–597.
- SCHWOERER, W. & JANKE, J., 1961. Parallele Beeinflussung der mechanischen Spannungsentwicklung und der Spaltung von energiereichem Phosphat bei der Kaliumkontraktur des Froschrectus in Lösungen mit variiertem K⁺- und Ca⁺⁺-Gehalt. *Pflügers Arch. ges. Physiol.* **273**, 483–498.

- FRANK, G. B., 1960. Effects of changes in extracellular calcium concentration on the potassium-induced contracture of frog's skeletal muscle. *J. Physiol.* **151**, 518–538.
- GILBERT, D. L. & FENN, W. O., 1957. Calcium equilibrium in muscle. *J. gen. Physiol.* **40**, 393–408.
- HASSELBACH, W. & MAKINOSE, M., 1961. Die Calciumpumpe der „Erschlaffungsgrana“ des Muskels und ihre Abhängigkeit von der ATP-Spaltung. *Biochem. Z.* **333**, 518–528.
- HEGNAUER, A. H., FENN, W. O. & COBB, D. M., 1934. The cause of the rise in oxygen consumption of frog muscles in excess of potassium. *J. cell. comp. Physiol.* **4**, 505–526.
- HILL, A. V. & HOWARTH, J. V., 1957. The effect of potassium on the resting metabolism of the frog's sartorius. *Proc. roy. Soc. (B)* **147**, 21–43.
- KAYE, L. & MOMMAERTS, W. F. H. M., 1960. The role of calcium ions in the acceleration of resting muscle glycolysis by extracellular potassium. *J. gen. Physiol.* **44**, 405–413.
- KOKETSU, K. & MIYAMOTO, S., 1961. Significance of membrane, calcium in calcium-free and potassium-rich media. *Nature, Lond.* **189**, 403–404.
- KUTSCHA, W., 1963. Die Rolle des Ionen-Milieus bei der elektromechanischen Kopplung der Kontraktur des Skelettmuskels. *Z. Biol.* **114**, 152–194.
- & BRECHT, K., 1961. Der Einfluß von Calcium und anderen Erdalkalitionen auf die Säure- und Ätherkontraktur. *Pflügers Arch. ges. Physiol.* **272**, 479–489.
- PAUSCHINGER, P. & BRECHT, K., 1964. Der Einfluß der H-Ionen auf Elektrolytgehalt, Membranpotential und Kontraktion tonischer und phasischer Skelettmuskeln. *Pflügers Arch. ges. Physiol.* **280**, 1–23.
- MAKINOSE, M. & HASSELBACH, W., 1963. Die Regulation der freien Calcium-Konzentration in den Muskelfasern durch die Erschlaffungsvesikel. Autoreferat auf der Tagung der Deutschen Physiol. Gesellschaft, Köln 1963, 6 pp.
- MEYERHOF, O., 1925. In: Handbuch der normalen und pathologischen Physiologie. Hrsg. von A. BETHE, G. VON BERGMANN (u. a.). Springer, Berlin, Bd. 8. 1, 476 pp.
- NIEDERGERKE, R., 1959. Calcium and the activation of contraction. *Experientia* **15**, 128.
- NOVOTNY, J. & VYSKOCIL, F., 1963. Der Einfluß von membranstabilisierenden Stoffen auf den Ca_{45} -Einstrom in den Froschmuskel und ihr Zusammenhang mit dem Sauerstoffverbrauch. Autoreferat auf der Tagung der Deutschen Physiol. Gesellschaft, Köln 1963, 5 pp.
- PAUSCHINGER, P. & BRECHT, K., 1961. Influence of calcium on the potassium-contracture of "slow" and "fast" skeletal muscle fibres of the frog. *Nature, Lond.* **189**, 583–584.
- LORKOVIĆ, H. & BRECHT, K., 1964. Wirkungen des Ca^{++} -Entzugs auf das Membranpotential und die mechanische Aktivität der isolierten phasischen Skelettmuskelfaser des Frosches. *Pflügers Arch. ges. Physiol.* **278**, 541–552.
- REICHEL, H., 1960. Muskelphysiologie. Springer, Berlin, 204 pp.
- SANDOW, A., 1952. Excitation-contracture coupling in muscular response. *Yale J. Biol. and Med.* **25**, 176.
- SEEGER, S. (in Vorbereitung). Dissertation, Tübingen.
- SHANES, A. M. & BIANCHI, C. P., 1959. Radiocalcium release by stimulated and potassium-treated sartorius muscles of the frog. *J. gen. Physiol.* **43**, 481–493.
- SMITH, C. G. & SOLANDT, D. J., 1938. The relation of contracture to the increment in the resting heat production of muscle under the influence of potassium. *J. Physiol.* **93**, 305 bis 311.
- SOLANDT, D. J., 1936. The effect of potassium on the excitability and resting metabolism of frog's muscle. *J. Physiol.* **86**, 162–170.
- ZIERLER, K. L., 1958. Increased muscle permeability to aldolase produced by depolarization and by metabolic inhibitors. *Am. J. Physiol.* **193**, 534–538.