Der isolierte Arbeitscyclus glatter Muskulatur*

Von G. u. M. ULBRECHT

Aus dem Physiologischen Institut der Universität Tübingen

(Z. Naturforschg. 7b, 434—443 [1952]; eingegangen am 4. Juli 1952)

1. Aus glatter Muskulatur lassen sich ebenso wie aus Skelettmuskulatur durch Glycerin-Wasser-Extraktion arbeitende Fasermodele herstellen. Dies gilt für Molluskenmuskeln ebenso wie für die glatten Muskeln des Verdauungstraktes von Frosch und Rind.

2. Solange die Modelle ATP und ADP spalten, kontrahieren sie sich. Wenn die Spaltung durch Salyrgan oder durch allzu hohe [ATP] sehr stark gemindert oder aufgehoben wird, erschlaffen die Modelle in ATP-Gegenwart. Sie erschlaffen ferner, wenn das ATP ausgewaschen und gleichzeitig durch den Weichmacher Pyrophosphat eine „Starre“ verhindert wird.

3. Die ATP-Spaltung ist zwischen $1,5 \cdot 10^{-4}$ -mol. und $2 \cdot 10^{-3}$ -mol. von der [ATP] unabhängig, wenn der Durchmesser der Partikel 10μ nicht überschreitet. Sie ist sehr viel geringer als beim Skelettmuskel. Die Spaltungsrate beträgt in diesem [ATP]-Bereich für den gelben Adduktor von Anodonta 0,08 und für das Rinderrektum $0,05 \mu\text{Mol} \cdot \text{mg EW}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$.

4. Infolgedessen ist die Grenzkonzentration von ATP, durch die der ganze Querschnitt aktiviert wird, für einen Durchmesser $\sim 50 \mu$ etwa $6 \cdot 10^{-3}$ -mol. ATP.

Für die optimale [ATP] $2,5 \cdot 10^{-3}$ -mol. ist der Grenzdurchmesser $\sim 30 \mu$.

5. Die Maximalspannung scheint in ihrer Größe der Maximalspannung des lebenden Muskels zu entsprechen. Sie ist am höchsten beim gelben Schließmuskel von Anodonta (5 kg/cm^2) und am niedrigsten bei Modellen aus Rinderrektum ($0,6 \text{ kg/cm}^2$). Die maximale Verkürzung ist für Modelle aus allen glatten und Skelettmuskeln gleich. Sie beträgt etwa 85% der Anfangslänge.

Die Verkürzungsgeschwindigkeit beträgt bei freier Verkürzung und 20° 2% (Rinderrektum) bis 10% (gelber Adduktor von Anodonta) der Standardlänge/sec.

6. Das „Quick-Release-Recovery“-Phänomen findet sich ebenso wie bei der vitalen Kontraktion der glatten und Skelettmuskeln auch bei allen Modellen aus glatter Muskulatur. Nach dem Release entwickelt sich die Spannung der Modelle aus Anodonta-Schließmuskeln ebenso schnell neu wie beim Modell des Skelettmuskels. Die Spannungsentwicklung nach dem Release des Modells aus Rinderrektum ist wesentlich langsamer.

7. Die mechanisch erzeugte Spannung in Modellen ohne ATP wächst ebenso wie die Spannung des ruhenden glatten Muskels mit sinkender Temperatur.

Während der Kontraktion wächst die Spannung dagegen mit steigender Temperatur. Dies ist beim Modell aus Skelettmuskulatur und bei der vitalen Kontraktion der Skelettmuskeln ebenso.

8. Der positive Temperaturkoeffizient der aktiven Spannung ist dem Temperaturkoeffizienten der aktiven Spannung von Froschmuskeln und Froschmuskelmodellen ähnlich. Er ist kleiner als der Temperaturkoeffizient von Muskeln und Modellen des Warmblüters und er ist auch kleiner als der Temperaturkoeffizient der ATP-Spaltung durch Modelle aus glatten Muskeln.

9. Der überoptimale Abfall der Spannung und ATP-Spaltung beginnt bei genau der gleichen [ATP] und verläuft einigermaßen proportional.

10. Also ist der isolierte Arbeitscyclus aller untersuchten glatten Muskeln vom isolierten Arbeitscyclus der Skelettmuskeln nur quantitativ verschieden. Der Fundamentalprozeß scheint dagegen gleich zu sein und auf der Übertragung der Spaltungsenergie des ATP während der Kontraktionsphase zu beruhen.

I.

Es ist eine alte und bis heute unentschiedene Frage, ob Kontraktion und Arbeitsleistung der glatten Muskulatur von Kontraktion und Arbeitsleistung der quergestreiften Muskulatur nur quantitativ oder aber auch qualitativ

verschieden sind. Diese Frage kann entschieden werden, wenn es gelingt, auch den Arbeitscyclus der glatten Muskulatur ebenso zu isolieren, wie es für den Arbeitscyclus der Skelettmuskulatur gelungen ist¹⁻⁴.

¹ A. Weber, Biochim. Biophysica Acta [Amsterdam] 7, 214 [1951].

² H. Portzehl, Z. Naturforschg. 6b, 355 [1951].

³ H. Portzehl, Z. Naturforschg. 7b, 1 [1952].

⁴ E. Bozler, Amer. J. physiol. 167, 276 [1951].

* Mit Unterstützung des Unitarian Service Committee und des Oberlaender Trust, Philadelphia, USA.

II.

Die Mechanik der glatten Muskulatur unterscheidet sich von der Mechanik der Skelettmuskulatur im wesentlichen in 2 Hauptpunkten: 1. In der Ruhe können derselben Spannung verschiedene Längen zugeordnet sein^{5, 6, 8}. Infolgedessen ist es nicht möglich, eindeutige Spannungslängen-Diagramme zu finden, weil sich der glatte Muskel unter Spannung einigermaßen unbegrenzt nachzudehnen scheint⁷⁻¹⁰.

2. Während der Arbeit ist der Energieumsatz sehr klein und die Geschwindigkeit der aktiven Längenänderung oft sehr gering. Infolgedessen ist an lebenden glatten Muskeln nicht immer sicher zu unterscheiden, wieweit bestimmte Längen aktiv oder passiv aufrechterhalten oder auch geändert werden (z. B. sog. Sperrtonus oder Tragerekord^{5, 6, 11}).

Von diesen beiden Unterschieden ist der zweite sehr verschieden stark ausgeprägt: Etwa der gelbe Anteil des Adductors vieler Muscheln ist selbst auf Einzelreize zu blitzschnellen Zuckungen in der Lage, die denen des Skelettmuskels äußerlich sehr ähnlich sind. Der sehr unermüdbare weiße Adductor hat dagegen die Aufgabe, die vom gelben Adductor geschlossene Muschel gegen die Spannung des Schloßbandes — solange wie nötig — geschlossen zu halten. Die dafür nötige Spannung ist gering ($\sim 300 \text{ g/cm}^2$)⁵, die Kontraktionsgeschwindigkeit ist klein. Ähnliches gilt für die Wandmuskulatur der meisten Hohlorgane (Magen und Darm).

Deshalb wird der Arbeitscyclus sehr verschiedenartiger glatter Muskeln isoliert: Es werden Fasermodelle hergestellt aus dem gelben und weißen Adductor und dem Retractor pedis von Anodonta, dem Retractor penis von Helix und Tachea, der Längsmuskulatur des Rinderrectums und der Magenwand des Frosches. Die Wasser-Glycerin-extrahierten Zellstreifen haben einen Durchmesser von 30—100 μ , nur die Streifen aus der Magenwand des Frosches haben 250 μ . Die Zellen sind immer parallel zur Längsachse der Präparate geordnet. Der Bindegewebsanteil scheint gegenüber dem Muskelparenchym verschwindend klein.

Durch die Wasser-Glycerin-Extraktion werden die Fasermodelle starr. Für die Definition der Ausgangslänge kommt es infolgedessen darauf an, mit welcher

Länge die Muskelstreifen zur Extraktion gelangen. Diese Länge ist für die Anodonta-Adductoren die Länge der physiologischen Schalenöffnung des lebenden Tieres und für das Rinderrectum die Erschlaffungslänge der agonalen Rhythmen. Es wurde erstrebt, auch die anderen Muskeln in einigermaßen physiologischer Ruhelänge zur Extraktion zu bringen (vgl. experimenteller Teil).

Alle Fasern zeigen polarisationsoptisch in ihrem ganzen Verlauf Doppelbrechung.

III.

Alle Fasermodelle aus glatter Muskulatur kontrahieren sich auf ATP-Zusatz. Modelle aus gelbem und weißem Adductor sowie aus Rinderrectum spalten

Abb. 1. Phosphat-Abspaltung aus ATP und ADP bei 20°C. Ordinate: Umsatz in $\mu\text{Mol Phosphat} \cdot \text{mg EW}^{-1}$. Abszisse: Zeit in min. Kurve 1: Rinderrectum + ATP, Kurve 2: Gelber Anodonta-Adductor + ATP. Die Zahlen an den Kurven bedeuten [Mol. gespalt. Phosph. · 100]/[Mol. zugegeb. ATP]. Das Anwachsen der Zahlen über 100 beweist die ADP-Spaltung. pH 6,9, Ionenstärke: 0,06 μ , MgCl_2 : $8 \cdot 10^{-4} \text{ m}$, Cystein: $1,5 \cdot 10^{-2} \text{ m}$, für Kurve 1 Anfangs-[ATP] = $1 \cdot 10^{-3} \text{ m}$, KCl: $3,5 \cdot 10^{-2} \text{ m}$, für Kurve 2: Anfangs-[ATP] = $3 \cdot 10^{-4} \text{ m}$, KCl: $4 \cdot 10^{-2} \text{ m}$.

ATP und ADP (Abb. 1). Das gleiche dürfte auch für die anderen Arten der untersuchten Muskeln gelten.

Die Erkenntnis des Zusammenhanges zwischen [ATP] des Bades, ATP-Spaltung und ATP-Kontraktion ist bekanntlich kompliziert durch das Diffusionsgefälle des ATP in das Innere des Präparates hinein^{1, 12, 13}. Wie bei den Modellen aus Skelettmuskeln kann dieses Problem mit Hilfe der Formel von

⁹ H. J. Jordan, *Ergebn. Physiol., biol. Chem. exp. Pharmacol.* **40**, 437 [1938].

¹⁰ F. R. Winton, *J. Physiology* **69**, 393 [1930].

¹¹ K. Greven, *Z. Biol.* **104**, 373 [1951].

¹² E. Heinz u. F. Holton, *Z. Naturforschg.* **7b**, 386 [1952].

¹³ W. Hasselbach, *Z. Naturforschg.* **7b**, 334 [1952].

⁵ J. Parnas, *Pflügers Arch. ges. Physiol.* **134**, 441 [1910].

⁶ A. Bethe, *Pflügers Arch. ges. Physiol.* **142**, 290 [1911].

⁷ G. Ulbrecht, *Z. Biol.* **103**, 278 [1950].

⁸ K. Greven, *Z. Biol.* **103**, 139 [1950].

ATP $\cdot 10^{-3}$	Grenzschicht- dicke r in μ nach $r = \sqrt{\frac{4D}{A} \cdot C}^{14}$	ATP-haltiger Querschnitts- anteil einer 50μ dicken Faser Eindring- tiefe in μ	ATP-haltiger Querschnittsanteil
3	17,2	13,6	0,79
2,5	15,7	12,5	0,75
1,0	10,0	7,3	0,5
0,5	6,9	5,1	0,37
0,15	3,9	2,6	0,2

Den Berechnungen ist die Diffusionskonstante des ATP in Skelettmuskelmodellen von $4 \cdot 10^{-8} \text{ cm}^2 \cdot \text{sec}^{-1}$ und eine Umsatzrate des Modells aus glattem Muskel von $16,3 \cdot 10^{-8} \text{ Mol} \cdot \text{sec}^{-1}$ für 1 cm^3 -Modell zugrunde gelegt.

Der ATP-haltige Anteil des Querschnitts ist nach der strengen, nicht nach der angenäherten Rechenweise von A. V. Hill berechnet $\left(y = \frac{ar^2}{4k} + B \log r + E\right)^{15}$.

Tab. 1. Grenzschichtdicken und ATP-haltiger Querschnitt bei verschiedenen ATP-Konzentrationen.

Meyerhof und Schulz behandelt werden¹⁴. Denn die Umsatzrate (A) des ATP ist auch im Modell des glatten Muskels von etwa 10^{-4} - bis etwa 10^{-3} -m. von der [ATP] unabhängig (Abb. 11). Die Spaltungsrate ist sehr viel niedriger ($0,08 \mu\text{Mol ATP} \cdot \text{mg EW}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$) als die Spaltung durch das Modell des Skelettmuskels¹⁶ ($\sim 0,35 \mu\text{Mol ATP} \cdot \text{mg EW}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$) (Tab. 2). Deshalb ist die Grenzschichtdicke vollständiger Durchtränkung mit ATP verhältnismäßig hoch (Tab. 1).

Da die EW-Konzentration des Anodonta-Modells mit 13–14% eher etwas niedriger ist als die Konzentration der Fasermodele des Skelettmuskels, und da ferner der glatte Muskel und seine Modelle Interstitien enthalten, mögen die wirklichen Grenzschichtdicken ein wenig größer sein, als in Tab. 1 angegeben. Die letzte Spalte der Tabelle zeigt, daß der ATP-haltige Querschnittsanteil mit Überschreitung der Grenzschichtdicke zunächst nur langsam abnimmt. Infolgedessen dürfen für Spannungsmessungen wahrscheinlich Fasern mit einer Dicke bis 50μ unbedenklich verwendet werden. Diese Überlegung wird gestützt durch den Befund, daß bei Fasern bis zu einer Dicke von 50μ keine Korrelation zwischen Faserdicke und Höhe der Spannung besteht, während bei dickeren Fasern die Höchstwerte der beobachteten Spannung fortschreitend abnehmen (Abb. 2). Für

¹⁴ O. Meyerhof u. W. Schulz, Pflügers Arch. ges. Physiol. **217**, 547 [1927].

¹⁵ A. V. Hill, Proc. Roy. Soc. [London], Ser. B **104**, 39 [1929].

¹⁶ W. Hasselbach, Z. Naturforschg. **7b**, 338 [1952].

Messungen der Verkürzungsgeschwindigkeit ist es dagegen zweifelhaft, ob die errechnete Grenzschichtdicke überschritten werden darf, da auch ein sehr dünner „starrer“ Kern die Geschwindigkeit stark herabsetzen kann.

Tab. 1 zeigt ferner, daß für $[\text{ATP}] < 10^{-3}$ -m. die Grenzschichtdicke sehr klein wird, kleiner als die verfügbare Dicke der Modellpräparation. Infolgedessen

Abb. 2. Maximalspannung und Faserdurchmesser. Ordinate: Spannung in $\text{g} \cdot \text{cm}^{-2}$. Abszisse: $2r$ in μ . Versuchsbäder: p_{H} 6,9, Ionenstärke: $0,06 \mu$, Temperatur: 20°C , MgCl_2 : $8 \cdot 10^{-4}$ -m., Cystein: $2 \cdot 10^{-2}$ -m., ATP: 2 – $2,5 \cdot 10^{-3}$ -m., KCl: $2 \cdot 10^{-2}$ -m., Phosphatpuffer 1:1: $0,01$ -m.

liefern unsere Modelle in ATP-Bädern $\leq 10^{-3}$ -m. nicht mehr die wahre Maximalspannung (vgl. Abb. 11).

IV.

Die maximale Spannung unter ATP ist für die Modelle verschiedener glatter Muskeln sehr unterschiedlich (Tab. 2). Die Werte für die Retractoren von penis und pes sind unsicher, weil die Versuchszahl zu klein ist. Außerdem erreichen die Penis-Retractoren auf Zugabe von ATP keinen konstanten Wert der Spannung: Die Spannung steigt und fällt sofort wieder — offenbar weil unter $2,5 \cdot 10^{-3}$ -m. ATP die Entwicklung der Spannung durch Abrutschen von Struk-

Modelle von	Anodonta-Adductor		Anod. Retract. pedis	Rinder- rectum	Rana- Temp. Magen	Skelettmuskel von Kaninchen	Retract. penis von Helix u. Tachea
	gelb	weiß					
ATPase-Aktivität Spaltungsrate $\frac{\mu \text{ Mol P}}{\text{mg EW} \cdot \text{min}}$	0,080	0,016	—	0,054	—	0,3—0,4 (Frosch und Kaninchen n. Hasselbach) ¹⁶	—
Max.-Spannung kg/cm ²	4—5	1,7	(0,15?)	0,6	(0,25?)	4 (A. Weber) ¹	(0,06?)
Maximale Verkürzung in % der Ruhelänge	≥ 85	≥ 85	≥ 85	≥ 85	~ 80	80 ¹	≥ 85
Zeiten für Verkürzung um 25% um 50%	— 4,5 sec	3 sec 8 sec	— —	11 sec 30 sec	— —	— $\sim 4-5 \text{ sec}$	— —
Halbwertszeiten der Spannungsent- wicklung bei $L = 100\%$	10—20 sec	15—25 sec	—	100—200 sec	—	—	—

Tab. 2. Vergleich der wichtigsten Eigenschaften der Modellkontraktion von glatten und quergestreiften Muskeln.

turelementen gestört ist. Die maximale Spannung des Froschmagenmodells ist zu niedrig, weil es nicht gelang, den Querschnitt der Präparate unter der Grenzschichtdicke zu halten.

Die gesicherten Spannungswerte der Schließmuskelmodelle von Anodonta und des Modells aus Rinderrectum zeigen dagegen deutlich, daß die Maximalspannung der Modelle offensichtlich korrespondiert mit der Maximalspannung der Vitalkontraktion der Muskeln, aus denen die Modelle jeweils hergestellt worden sind. So ist die Maximalspannung des Modells aus dem gelben Adductor, der die Muscheln mit großer Kraft schließt, 7—8-mal größer als die Maximalspannung des Modells aus Rinderrectum (vgl. Tab. 2 und Abb. 3). Da auch beim Skelettmuskel die maximale Spannung der Modellkontraktion und der Vitalkontraktion gleich ist¹, scheint es allgemein zu gelten, daß die maximale Muskelkraft bei der Herstellung der Modelle erhalten bleibt.

Die maximale Spannung der Modelle aus glatten Muskeln nimmt mit steigender Verkürzung annähernd geradlinig ab und wird 0, wenn eine Länge von 15% der Ausgangslänge erreicht ist (Abb. 3 und Tab. 2). Dies ist beim Skelettmuskelmodell ebenso (Tab. 2)¹. Die maximale Verkürzung aller Modelle beträgt also gleichmäßig 80—90% der Ausgangslänge, gleichgültig, ob die vitale maximale Verkürzung 40—50% beträgt (Skelettm.) oder aber ebenfalls 80—90% erreicht (glatter Muskel). Während also die muskelspezifischen Unterschiede der maximalen Spannungen beim Übergang zum Modell erhalten bleiben, verschwinden dabei die Differenzen der maximalen Verkürzung.

Daß die Unterschiede verschiedener Muskeln im Verkürzungsmaximum der Vitalkontraktion nicht auf einer Fundamenteigenschaft des kontraktiven Systems beruhen, geht auch daraus hervor, daß Skelett-

Abb. 3: Abhängigkeit der Spannung von der Länge bei schrittweiser Verkürzung der Faser registriert. Ordinate: Spannung in g·cm⁻². Abszisse: Relative Länge $L \cdot 100 / L_0$ (L_0 = spannungsfreie Länge ohne ATP). Kurve 1: Weißer Anodonta-Adductor. Kurve 2: Rinderrectum. Kurve 3: Gelber Anodonta-Adductor. Versuchsbäder wie bei Abb. 2.

Abb. 4. „Quick-Release-Recovery“-Phänomen und Recovery-Halbwertzeiten. Ordinate: Spannung in $\text{g} \cdot \text{cm}^{-2}$. Abszisse: Zeit in min. Die %-Angaben an den Kurven geben die relativen Längen, die Sekunden-Angaben die Halbwertzeiten der Spannungsentwicklungen. Versuchsbäder wie bei Abb. 2. Kurve a: Modell aus Rinderrectum, Kurve b: Modell aus weißem Anodonta-Adductor.

muskeln im Δ -state sich vital ebenfalls um $\sim 80\%$ der Ausgangslänge verkürzen¹⁷.

Auch die Verkürzungsgeschwindigkeiten werden in einem gewissen Umfang nivelliert. Sie betragen unbelastet bei Zimmertemperatur zwischen 2 und 10% der Muskellänge in der Sekunde — für Modelle aus dem schnellen Kaninchenpsoas wie für Modelle aus dem langsamen Rinderrectum (Tab. 2). Die Nivellierung ist aber unvollständig: Das Modell aus Rinderrectum kontrahiert sich wesentlich langsamer als das Psoasmodell oder das Modell aus Anodonta-Schließmuskel. Die genauere Analyse der Zeitverhältnisse bedarf exakterer Meßmethoden sowie vergleichender Untersuchungen der Vitalkontraktion lebender glatter Muskeln. Denn über deren Geschwindigkeit bei Verkürzung und Spannungsentwicklung scheinen quantitative Daten ganz zu fehlen.

Die Modelle aus glatter Muskulatur zeigen das sogenannte „Quick-Release-Recovery“-Phänomen von Gasser und Hill¹⁸, ebenso wie Skelettmuskelmodelle¹ und die lebenden glatten¹⁹ und quergestreiften Muskeln. Auch bei den Modellen aus glatten Muskeln ist das Phänomen nur im kontrahierten Zustand vorhanden, nicht aber in der Ruhe. Die Halbwertzeiten der Spannungsentwicklung nach dem Release sind größenordnungsmäßig den Halbwertzeiten des Skelettmuskelmodells — und vielleicht auch des lebenden glatten Muskels — gleich oder ähnlich. Doch scheinen die Halbwertzeiten des Rec-

tummodells deutlich größer zu sein als die Zeiten der Modelle aus Schließmuskel (vgl. Abb. 4 a und b). Auch in dieser Hinsicht bedarf die genauere zeitliche Analyse noch verbesserter Untersuchungsmethoden.

V.

Die Temperaturabhängigkeit der Spannung der Modelle aus glattem Muskel gleicht in Ruhe der Temperaturabhängigkeit der Spannung lebender glatter Muskeln⁷. Sie hat das entgegengesetzte Vorzeichen wie die Temperaturabhängigkeit des ruhenden lebenden Skelettmuskels²⁰ und des ruhenden Modells aus Skelettmuskel¹: Die Spannung sinkt mit steigender Temperatur (Abb. 5). Immer aber ist der Betrag der Temperaturabhängigkeit — bei Skelettmuskeln, glatten Muskeln und ihren Modellen — sehr klein, solange die Gebilde nicht in Kontraktion sind.

Während der Kontraktion kehrt sich das Vorzeichen der Temperaturabhängigkeit für die Modelle aus glatter Muskulatur um und wird damit dem Vorzeichen der Temperaturabhängigkeit der Skelettmuskeln und ihrer Modelle gleich. Gleichzeitig wächst der Betrag der Temperaturabhängigkeit zwischen 0° und 15°C durch die Kontraktion stark an. Zwischen 15° und 20°C scheint die Spannung konstant zu bleiben. Die Zunahme der Maximalspannung mit der Temperatur ist geringer als bei Kaninchenmuskeln und deren Modellen. Sie gleicht mehr der Temperaturabhängigkeit der Maximalspannung der Froschmuskeln und seiner Modelle^{21, 22}.

¹⁷ R. W. Ramsay u. S. F. Street, J. cellul. comparat. Physiol. 15, 11 [1940].

¹⁸ H. Gasser u. A. V. Hill, Proc. Roy. Soc. [London], Ser. B 96, 398 [1924].

¹⁹ A. V. Hill, Proc. Roy. Soc. [London], Ser. B 100, 108 [1926].

²⁰ W. Josenhans, Z. Biol. 103, 61 [1949].

²¹ A. V. Hill, Nature [London] 167, 377 [1951].

²² S. Hajdu, Enzymologia [Den Haag] 14, 194 [1950].

[ATP] · mol.	20° C $\Delta L = 50\%$	1° C $\Delta L = 25\%$	1° C $\Delta L = 50\%$
0,00025	35"	—	—
0,0025	4,5"	10"	55"
0,01	10"	—	—

Tab. 3. Zeiten für Verkürzung um 50% und 25% der Länge (gelber Adductor der Anodonta).

Die Ermittlung der Temperaturabhängigkeit ist für Modelle glatter Muskeln sehr viel schwieriger als für Skelettmuskelmodelle: Denn es gelingt nur sehr unvollkommen, die gleiche Spannung einzustellen einmal durch Temperaturniedrigung von einer höheren

Abb. 5. Temperaturabhängigkeit der Spannung. Ordinate: Relat. Spannung $P \cdot 100 / P_0$ (P_0 für Kurve 1 = Maximalspannung bei $L = 100$, für Kurve 2 = mechanische Vorspannung bei 20° C = 200 g · cm⁻²). Abszisse: Temperatur in °C. Kurve 1: Modell aus gelbem Anodonta-Adductor in $2,5 \cdot 10^{-3}$ -m. ATP bei steigender und fallender Temperatur. Kurve 1 a: Mittelwerte aus beiden Einstellungen. Kurve 2: Rinderrectum-Modell ohne ATP.

Temperatur aus oder aber durch Temperaturerhöhung von niedrigerer Temperatur aus. Die Differenz ist um so größer, je niedriger die fragliche Temperatur ist. Dies gilt selbst dann, wenn 50 min auf die Einstellung der Spannung — von oben wie von unten — gewartet wird. Dieses Phänomen ist bei dem Modell aus Skelettmuskel viel weniger ausgesprochen^{1,2}.

Wie die Maximalspannung nimmt auch die Verkürzungsgeschwindigkeit mit steigender Temperatur zu (Tab. 3). Doch scheint der Temperaturkoeffizient der Verkürzungsgeschwindigkeit größer zu sein als der der maximalen Spannung: Er beträgt zwischen 0 und 20° C etwa 3 (Tab. 3), während er für die Maximalspannung zwischen 0° C und 10° C noch nicht einmal den Wert 2 erreicht.

VI.

Wie die Skelettmuskelmodelle³ erschlaffen auch die Modelle aus glatter Muskulatur, wenn die ATP-Spaltung aufhört, ohne daß das Modell starr wird. Sie erschlaffen infolgedessen in ATP-Anwesenheit, wenn die ATP-Spaltung entweder durch überoptimale [ATP] herabgesetzt (Abb. 6) oder durch Salyrgan ganz aufgehoben wird, und sie kontrahieren von

Abb. 6. Erschlaffung bei überoptimaler ATP-Konzentration. Ordinate: Spannung in mm-Ausschlag des Lichtzeigers. Abszisse: Zeit in min. •—•—• = $2,5 \cdot 10^{-3}$ -m. ATP. x—x—x = $1 \cdot 10^{-2}$ -m. ATP. Versuchsbad sonst wie bei Abb. 2.

Abb. 7. Reversible Erschlaffung des kontrahierten, ATP-haltigen Anodonta-Modells durch Salyrgan. Ordinate: Spannung in mm-Ausschlag des Lichtzeigers. Abszisse: Zeit in min. •—•—• Kontraktion durch $2,5 \cdot 10^{-3}$ -m. ATP. 1 = Zugabe von $4,4 \cdot 10^{-4}$ -m. Salyrgan. 2 = Zugabe von $2,5 \cdot 10^{-2}$ -m. Cystein. 3 = Auswaschen des Salyrgans mit $2,5 \cdot 10^{-2}$ -m. Cystein.

neuem, wenn das Salyrgan durch Cystein entgiftet wird (Abb. 7 a und b). Sie erschlaffen ebenfalls, wenn das ATP ausgewaschen ist, aber der Starreeintritt durch ein anderes Poly-orthophosphat wie Pyrophosphat verhindert wird. Auch diese Reaktion ist reversibel, sobald das Pyrophosphat wieder durch ATP ersetzt ist (Abb. 8). Dies gilt aber nur, wenn die [Pyroph.] nicht zu hoch ist ($\sim 10^{-2}$ -m.).

Während Pyrophosphat auf das Psoasmodell des Kaninchens ausschließlich als „Weichmacher“ wirkt,

die Giftwirkung des Pyrophosphats verhältnismäßig langsam ein: Wird Pyrophosphat + ATP gleichzeitig zugesetzt, so wird die ATP-Kontraktion nicht einfach unterdrückt. Sie setzt vielmehr zunächst ein, wird dann aber nach 30 sec von einer praktisch vollständigen Erschlaffung wieder abgelöst, wenn die Pyrophosphatkonzentration genügend hoch ist (Abb. 9 b).

Die Erschlaffung durch Salyrgan ist unvollständig, weil das Modell aus glatter Muskulatur schneller denaturiert als das Skelettmuskelmodell³. Infolge-

Abb. 8. Erschlaffung des kontrahierten, ATP-freien (Kurve a) und des kontrahierten, ATP-haltigen (Kurve b) Anodonta-Modells durch Pyrophosphat. Ordinate: Relative Spannung $P \cdot 100 / P_0$ (P_0 = Maximalspannung). Abszisse: Zeit in min. •—•—• Kontraktion durch $2,5 \cdot 10^{-3}$ -m. ATP. 1 = ATP ausgewaschen. 2 = Zugabe von $1 \cdot 10^{-2}$ -m. Pyrophosphat. 3 = Pyrophosphat mit $2,5 \cdot 10^{-3}$ -m. ATP ausgewaschen. 2a = Zugabe von $0,9 \cdot 10^{-2}$ -m. Pyrophosphat.

wirkt es auf das Schließmuskelmodell von Anodonta zusätzlich auch noch als Kontraktionsgift: d. h. unter Pyrophosphat tritt eine Erschlaffung auch dann ein, wenn das ATP vorher gar nicht ausgewaschen ist (Abb. 8b). Ob diese Giftwirkung auf die Kontraktion — ähnlich wie die Salyrganwirkung — auf einer Hemmung der ATP-Spaltung beruht, bleibt offen. Denn es war bisher nicht möglich, die ATP-Spaltung in Gegenwart von höheren Pyrophosphatkonzentrationen einwandfrei zu messen*. Auf jeden Fall tritt

* Dagegen scheint es nicht aussichtslos, das aus dem ATP abgespaltene Phosphat richtig zu bestimmen, wenn vor der Phosphatbestimmung das Pyrophosphat quantitativ wieder aus dem Spaltungsansatz entfernt wird.

Abb. 9. a) Erschlaffung und Denaturierung des kontrahierten Modells durch hohe Pyrophosphat-Konzentration. Ordinate: Spannung in $\text{g} \cdot \text{cm}^{-2}$. Abszisse: Zeit in min. 1 = Zusatz von $2,5 \cdot 10^{-2}$ -m. Pyrophosphat. 2 = Pyrophosphat ausgewaschen mit $2,5 \cdot 10^{-3}$ -m. ATP. b) 1—1—1 ATP + $2,5 \cdot 10^{-2}$ -m. Pyrophosphat, sonst wie in Abb. 2. 2 = Pyrophosphat ausgewaschen mit $2,5 \cdot 10^{-3}$ -m. ATP.

dessen folgt auch die erschlaffungshemmende Vergiftung der „Weichmacher“-Wirkung des ATP hier der Vergiftung der ATP-Spaltung schneller als beim Modell aus Skelettmuskel.

Die Erschlaffung durch Pyrophosphat (Abb. 8 a) ist dagegen nur deshalb unvollständig, weil die benutzte [Pyroph.] viel kleiner ist ($1,0 \cdot 10^{-2}$ -m.) als beim Modell aus Skelettmuskel ($2,5 \cdot 10^{-2}$ -m.). Denn die Konzentration von $2,5 \cdot 10^{-2}$ -m. Pyrophosphat, die — genau wie beim Skelettmuskelmodell — zu praktisch vollständiger Erschlaffung führt, wirkt beim glatten Muskelmodell denaturierend: Nach einer Einwirkung des Pyrophosphats von 5 min ist die Erschlaffung weitgehend (Abb. 9 a), nach einer Einwirkung von 10 min ist sie vollständig irreversibel.

Es ist möglich, daß die Irreversibilität der Erschlaffung unter $2,5 \cdot 10^{-2} m$ Pyrophosphat gar nicht auf einer echten Denaturierung beruht, sondern auf einer gewissen Zerstörung der kontraktile Struktur durch übermäßige Weichmacherwirkung. Denn es fällt auf, daß derselbe Effekt auch nach der Anwendung überoptimaler [ATP] auftritt (vgl. Abb. 6). Doch auch wenn das nicht so sein sollte, bleibt bestehen, daß die Bedingungen der Erschlaffung für Modelle aus glatten und solchen aus Skelettmuskeln³ prinzipiell gleich sind und daß die Unterschiede lediglich quantitativer oder sekundärer Natur sind.

VII.

Das Modell aus glatter Muskulatur kontrahiert sich, wenn ATP gespalten wird, und erschlafft, wenn die ATP-Spaltung aufhört. Das ist beim Modell aus Skelettmuskel ebenso³. Beim Skelettmuskel besteht aber außerdem Proportionalität zwischen der Größe der Spannung und der Größe der Spaltung von ATP^{23, 12}.

Es fragt sich, inwieweit das gleiche auch für Modelle aus glattem Muskel gilt.

Die Größe der ATP-Spaltung kann für ein bestimmtes Modell variiert werden: 1. durch Variation der Temperatur, 2. durch Anwendung überoptimaler [ATP]. Sie könnte 3. verschieden sein für Modelle aus Muskeln verschiedener Herkunft, Maximalspannung und Leistung.

Abb. 10 zeigt, daß die ATP-Spaltung durch das Modell aus gelbem Anodonta-Adductor sich zwischen 5° und 15° C ungefähr verdoppelt, während die Spannung im gleichen Temperaturbereich nur auf etwa das 1,4-fache wächst. Die Proportionalität von Spannung und Spaltung ist also bei diesem glatten Muskel sehr viel schlechter als bei dem Modell aus Warmblüter-Skelettmuskel, bei dem der Temperaturkoeffizient von Spaltung und Spannung in diesem Temperaturintervall exakt gleich ist^{1, 23, 24}. Es muß allerdings berücksichtigt werden, daß die ATP-Spaltungsgeschwindigkeit die Dimension einer Leistung, d. h. einer Energielieferung in der Zeiteinheit hat. Zu der analogen mechanischen Leistung würde man nur gelangen, wenn außer der Spannung auch noch die Geschwindigkeit berücksichtigt würde, mit der sich dieses Modell gegen diese Spannung verkürzt. Die Verkürzungsgeschwindigkeit des Anodonta-modells aber hängt ebenfalls von der Temperatur ab,

und zwar mit dem hohen Temperaturkoeffizienten von 3. Infolgedessen wäre es durchaus denkbar, daß der Nutzeffekt der ATP-Spaltung mit steigender Temperatur wächst, obwohl die Maximalspannung mit der Temperaturzunahme langsamer zunimmt als die Spaltungsrate.

Da ATP die Modellkontraktion verursacht, kann es sich im Grunde nur immer um die Frage handeln, wie weit die ATP-Bindung und wie weit die ATP-Spaltung Ursache der Kontraktion ist. Abb. 11 zeigt,

Abb. 10. Temperaturabhängigkeit von Spannung und ATP-Spaltung (gelber Anodonta-Adductor). Ordinate: links relative Spannung $P \cdot 100 / P_0$ (P_0 = Spannung bei 15° C); rechts: Anfangsgeschwindigkeit der Spaltung bei 15° C = 100. Abszisse: Temperatur in °C. Kurve 1: Spannung bei aufsteigender Temperatur, Kurve 2: Mittelwerte der Spannungen bei ansteigender und abfallender Temperatur. Kurve 3: Anfangsgeschwindigkeit der Spaltung bei $1 \cdot 10^{-3} m$ ATP.

daß Spannung und Spaltung bei Überschreitung der ATP-Konzentration von $2,5 \cdot 10^{-3} m$ einigermaßen proportional abnehmen. Da die ATP-Bindung durch Erhöhung der ATP-Konzentration nicht kleiner, sondern höchstens größer werden kann (Massenwirkungsgesetz!), sollte die Abnahme der Spannung auf der Abnahme der Spaltung beruhen. Befund und Schlußfolgerung sind hier die gleichen wie beim Modell aus Skelettmuskel.

Spannung und Verkürzungsgeschwindigkeit aus Warmblüterskelettmuskel und Anodonta-Adductor sind ähnlich (vgl. Tab. 2). Trotzdem beträgt die Spaltungsgeschwindigkeit des ATP durch das Anodonta-Modell nur etwa ein Viertel der Spaltungsgeschwindigkeit durch das Kaninchen-Psoasmodell. Spannung und Verkürzungsgeschwindigkeit des Mo-

²³ H. H. Weber, Z. Elektrochem. 55, 511 [1951].

²⁴ W. Hasselbach, Z. Naturforsch. 7b, 163 [1952].

dells aus Rinderrectum sind viel kleiner als die Leistung des Anodonta-Modells. Trotzdem ist die ATP-Spaltungsrate von diesen beiden Modellen von ähnlicher Größenordnung. Die Spaltungsgeschwindigkeit des ATP und die mechanische Leistung gehen für Modelle aus verschiedenen Muskelarten also keineswegs parallel. Dies braucht allerdings nichts anderes zu bedeuten, als daß die Modelle aus verschiedenen Muskelarten die ATP-Spaltung mit verschieden hohem Nutzeffekt ausnutzen. Es ist dabei nicht einmal nötig anzunehmen, daß die gleichen Unterschiede des Nutzeffektes auch zwischen den verschiedenen leben-

Abb. 11. Abhängigkeit der ATPase-Aktivität und der ATP-Kontraktion von der ATP-Konzentration bei 20°C. Ordinate: Anfangsgeschwindigkeit der Spaltung bzw. Größe der Spannung in % des jeweiligen Maximums. Abszisse: ATP-Konzentration; Faserdicken: 1 = 100 μ , 2 u. 3 = 60 μ , 4 = 37 μ . Kurve 5: Spaltung (Durchmesser der mit Blender behandelten Partikel $\sim$ 8–12 μ). Ionenstärke konstant = 0,06 μ .

den Muskeln bestehen, aus denen die Modelle jeweils hergestellt sind. Denn der lebende Muskel hat die Möglichkeit, die ATP-Spaltungsgeschwindigkeit dem Energiebedarf anzupassen, die den Modellen nach der Extraktion fehlt.

Experimenteller Teil

1. Die relativen Längen der Modellstreifen

a) Anodonta-Adductoren: Zwischen die Schalenränder der Muschel wird ein Keil eingeschoben, den die unnarkotisierte Muschel festklemmt. Die Dicke des Keils ist so klein, daß bei der folgenden Narkose (1 h in 4-proz. Urethan) der Keil wieder herausfällt. Die Adductoren sind dann weiterhin nicht mehr in der Lage — auch ohne Keil —, die Spannung des Schloßbandes zu überwinden. Sie behalten infolgedessen die Erschlaffungsgröße der Narkose, solange sie nicht von den Schalen abgetrennt werden. Deshalb werden die Muskeln nach einem früher beschriebenen Verfahren⁷ im Zusammenhang mit den

Schalen isoliert. Für die Wasser-Glycerin-Extraktion wird der Muskel im Zusammenhang mit den Schalen in dünne Einzelsäulen aufgespalten, indem zahlreiche Fasern (Zellstreifen) herausgeschnitten werden. Die stehengebliebenen Zellstreifen bilden dann ein Bündel von etwa 4–5 parallelen Einzelstreifen, die durch Zwischenräume getrennt sind. Der Querschnitt dieser Einzelstreifen beträgt etwa 1–2 mm² und ist der üblichen Wasser-Glycerin-Extraktion gut zugänglich.

b) Magenring vom Frosch: Nach Freilegung des Magens wird ein Glasstab von solcher Dicke durch den Oesophagus eingeschoben, daß eine weitere Kontraktion des Magens beim Herauspräparieren des Magenringes nicht mehr möglich ist. Da der Magen der Laboratoriumsfrosche leer zu sein scheint, ist die fixierte Länge kleiner als die Länge in der Erschlaffung.

c) Beim Rinderrectum und den verschiedenen Retractoren wurde aus den agonalen Rhythmen bzw. der anatomischen Gesamtsituation ein einigermaßen zuverlässiges Bild gewonnen über eine plausible Länge der Muskeln während der Erschlaffung. Nach dem Herausschneiden von Zellstreifen für die Wasser-Glycerin-Extraktion werden diese dann wieder auf die plausible Erschlaffungsgröße gedehnt und in diesem Zustand extrahiert.

2. Extraktion und Querschnitt

Die Extraktion fand in bekannter Weise statt¹. Doch wurde die Extraktion statt bei 0°C bei –9°C vorgenommen und deshalb die Glycerinkonzentration auf 45% erhöht. Auch wurde die Dauer der Extraktion auf 14 h beschränkt, da die Modelle aus glatter Muskulatur leichter denaturieren. Auch bei Aufbewahrung in 89-proz. Glycerin (*d* 1,23) läßt die Leistungsfähigkeit des Streifens nach spätestens einer Woche beträchtlich nach. Da es sich bei den Fasermodellen aus glatter Muskulatur um Zellstreifen handelt, ist der Querschnitt in der Regel nicht rund und über die Länge der Faser nicht überall gleich groß. Aus diesem Grunde wird die Querschnittsfläche aus 10 verschiedenen Messungen des Durchmessers durch Mittelung berechnet. Präparate, bei denen das Verhältnis des größten zum kleinsten Durchmesser größer als 3 war, wurden verworfen.

3. Messung der Spannungsentwicklung und der Verkürzung

erfolgt nach dem von A. Weber beschriebenen Verfahren¹.

4. Messung der Verkürzungsgeschwindigkeit

Spannungshebel und Gegenbefestigung werden einander so weit genähert, daß sich das Modell um 25% oder 50% spannungsfrei verkürzen kann. Dann wird das Fasermode in ATP versenkt und die Zeit gemessen, bis der Spannungshebel auszuschlagen beginnt. Man erhält so die mittlere Verkürzungsgeschwindigkeit über die ersten 25% oder 50% der Verkürzung. Die Verkürzungsgeschwindigkeit erscheint etwas zu klein, weil die Verkürzungszeit etwas durch die Zeit vergrößert ist, die das ATP zur Eindiffusion in das Modell braucht.

5. Versuchslösungen

Sie unterscheiden sich von den Versuchslösungen früherer Arbeiten nur dadurch, daß sie immer $2 \cdot 10^{-2} m$. Cystein — ebenso wie die Extraktionslösungen — als SH-Schutz enthalten. Die Leistung der Modelle wird hierdurch deutlich verbessert.

6. ATP-Spaltung wird nach Fiske und Subarrow bestimmt, nachdem der frische Muskel 1 min und das

Wasser-Glycerin-extrahierte Material nach dem Auswaschen des Glycerins nochmals 4 min mit dem Blender behandelt worden ist. Die Suspension war dann so fein, daß bis herab zu einer ATP-Konzentration von $1,5 \cdot 10^{-4} m$. keine Diffusionsschwierigkeiten mehr vorhanden sind.

Für Anregung zu dieser Arbeit und häufige Beratungen sind wir Herrn Prof. H. H. Weber zu großem Dank verpflichtet.

Über den Einfluß der Wellenlänge auf die Chinonreduktion in grünen Grana

VON OTTO WARBURG

Aus dem Kaiser-Wilhelm-Institut für Zellphysiologie, Berlin-Dahlem

(Z. Naturforschg. 7b, 443—446 [1952]; eingegangen am 25. Juli 1952)

Während bei der Photosynthese der Quantenbedarf unabhängig von der Wellenlänge ist, ändert sich bei der Chinonreduktion der Quantenbedarf mit der Wellenlänge. — Die Energieausbeute bei der Chinonreduktion beträgt nur etwa 1% der absorbierten Lichtenergie. — Wahrscheinlich ist der energetische Mechanismus der beiden Vorgänge verschieden.

1944 wurde gefunden¹, daß isolierte grüne Grana bei Belichtung Chinon unter Sauerstoffentwicklung reduzieren:

Wir haben den Quantenbedarf dieser Reaktion bestimmt, die Anzahl Lichtquanten, die von den Grana absorbiert werden müssen, damit 1 Molekül Sauerstoff entwickelt wird. Die Wellenlängen waren 366, 436, 480 und 644 mμ.

Unsere Ergebnisse gelten nur für Chinon als Wasserstoffacceptor, nicht aber für die Eisen-Reagenzien von Robert Hill², Ferrioxalat + Ferri-cyanid, die bei Zusatz zu unsern Grana keinen Sauerstoff entwickelten.

1. Versuchsanordnung

Grüne Grana aus Spinatblättern, nach unsrer früheren Vorschrift¹ gewonnen, wurden auf der Zentrifuge bei 30 000 g mit aus Quarz destilliertem Wasser mehrmals gewaschen und dann bei -15° in 0,05-proz. KCl aufbewahrt, wobei ihre photochemische Aktivität längere Zeit unverändert erhalten blieb.

Als Maß der Granamenge diente ihr Chlorophyllgehalt. 7 cm³ Grana-Suspension, die 5,6 mg Chlorophyll enthielten, wurden in Manometergefäße der Kästchenform gegeben, deren Volumen etwa 17 cm³

betrug und deren Gasraum mit Argon gefüllt wurde. 4 mg frisch sublimiertes Chinon wurde hinzugefügt. Seitenräume der Kästchen waren nicht notwendig, weder für Kalilauge, da Chinon mit gewaschenen Grana keine Kohlensäure entwickelt, noch zum Einkippen des Chinons, da die photochemische Aktivität der Grana nach Zugabe des Chinons stundenlang unverändert blieb.

Keine Druckänderungen wurden im Dunkeln beobachtet. Zur Belichtung wurde der horizontal in den Thermostaten eintretende Lichtstrahl durch einen 45° -Silberspiegel senkrecht nach oben in die Grana-Suspension reflektiert. Die Versuchszeiten wurden so gewählt, daß die Druckänderungen etwa + 10 mm betrugen, die einer Sauerstoffentwicklung von 9 mm³ gleich waren. Da 4 mg Chinon nach Gl. (1) 415 mm³ Sauerstoff entwickeln können, reichte eine Füllung für viele aufeinanderfolgende Messungen aus.

Bei der hohen Chlorophyllkonzentration von 0,8 mg/cm³, die einer Flächendichte von 0,73 mg/cm² entsprachen, war die Lichtabsorption in jedem der 4 Spektralbezirke vollständig.

2. Wellenlängen

Als Lichtquelle diente eine 500-Watt-Quecksilberhöchst-drucklampe mit Cadmiumzusatz der Osram-Studiengesellschaft Berlin. Die Quecksilberlinien 366 und 436 mμ sowie die Cadmiumlinien 480 und 644 mμ wurden mit Filter- und Interferenzscheiben des Glaswerks Schott, Landshut, folgendermaßen isoliert:

366 mμ. 5 cm Wasser, 2 cm 10-proz. CuSO₄ · 5 H₂O,

1 mm UG1

¹ Otto Warburg u. W. Lüttgens, Naturwiss. 32, 161 [1944]; sowie Otto Warburg, Schwermetalle, Cantor-Verlag, Freiburg 1946 u. 1948.

² Robert Hill, Proc. Roy. Soc. [London], Ser. B 127, 192 [1939]; 129, 238 [1940].