

## Die Impulsregeneration bei der Signalfortleitung in markhaltigen Nervenfasern

H. MÜLLER-MOHNSEN

Institut für Biologie (Gesellschaft für Strahlenforschung), Neuherberg bei München

Eingegangen am 5. Mai 1970

*Summary.* As regards the regeneration of nervous impulses the controlling mechanism of the excitable membrane can be reduced essentially to the following two membrane properties:

1. There is a fixed voltage interval where the two different positive conductivities of the membrane change over continuously. In this transition region if the membrane potential is more positive the current-voltage characteristic shows a negative differential resistance. This characteristic may be measured under steady-state conditions in the presence of the particular ions ( $K^+$ ,  $Rb^+$ , and during veratridine-poisoning also  $Na^+$ ,  $Li^+$ ,  $NH_4^+$ ,  $C(NH_2)_3^+$ ) acting as charge carriers during excitation.

2. In addition  $Na^+$ - $K^+$ -selectivity is observed which effects a faster penetration of  $Na^+$  than of  $K^+$  through the membrane.

At present the molecular basis of both properties is unknown. But each property can be changed independently of the other. Physicochemical means (e.g., variation of pH, osmolarity, solvent, concentration of bivalent cation) act upon the shape of the current-voltage relation by shifting the transition region, while the selectivity is changed by the presence of pharmacological agents (local anaesthetics such as cocaine, tetrodotoxin, veratridine). So it may be advantageous to localize and characterize the action on membrane structure common to all members of each group of agents in order to approach the molecular origin of the basic membrane properties.

### 1. Einleitung

Die Funktion der Nervenfasern besteht darin, Nervensignale ohne Informationsverlust weiterzuleiten. Für die Weiterleitung ist die Information codiert als elektrischer Impuls und Pause (analoge Puls-Intervallmodulation). In den passiv leitenden Ab-

schnitten der markhaltigen Faser, den Internodien, erleiden die Aktionsimpulse hohe Leitungsverluste, erkennbar an der Abnahme der Amplitude und Verzerrung der Form. Trotzdem beobachten wir über makroskopische Strecken eine dämpfungsfreie Impulsfortleitung im Nerven. Grund dafür ist, daß die Aktionsimpulse an den Ranvierschen Schnürringen in regelmäßigen Abständen (2 mm) nicht nur auf die volle Höhe nachverstärkt, sondern auch auf die alte Form gebracht, regeneriert werden.

Ein solcher Verstärker ist auf dem Mikrophoto (Abb. 1) dargestellt. Er ist in *Miniaturbauweise* ausgeführt. Die elektrisch aktive Struktur, nämlich die hypothetische erregbare Membran ist so klein, daß sie auf diesem Mikrophoto nicht sichtbar ist. Die Ausdehnung des Digitalverstärkers, Energieversorgungs- und Steuerteil zusammen, beträgt weniger als  $1 \mu^2$ . *Baumaterialien* sind Eiweiß und Lipide verschiedener Zusammensetzung, wäßrig gelöst im Gelzustand. Der Verstärker muß wie die Zellen eines Blei-Akkus ständig in wäßriger Lösung gehalten werden. Bemerkenswert ist die *Exaktheit*, mit der Energieinhalt und Form des Impulses immer wieder auf die Werte des Normimpulses regeneriert werden. Allein mit diesen Vorzügen: Präzision und insbesondere Kleinheit könnte dieser biologische Verstärker durchaus seinen Platz in der Reihe der technischen Schaltelemente behaupten. Heutzutage ist es allerdings in der Technik noch ganz ungewöhnlich, Präzisionsverstärker aus wäßrig gelöstem Material zu bauen. Schon wegen der technischen Vorteile wäre es interessant zu wissen, durch welche Leitungsmechanismen ein Lipid-Eiweißfilm von 170 Å Dicke elektrische Ströme derartig steuert, daß eine Verstärkung entsteht.

Dieser Leitungsmechanismus wird nicht nur an Tier- und Pflanzenzellen, sondern ähnlich auch an verschiedenen, künst-

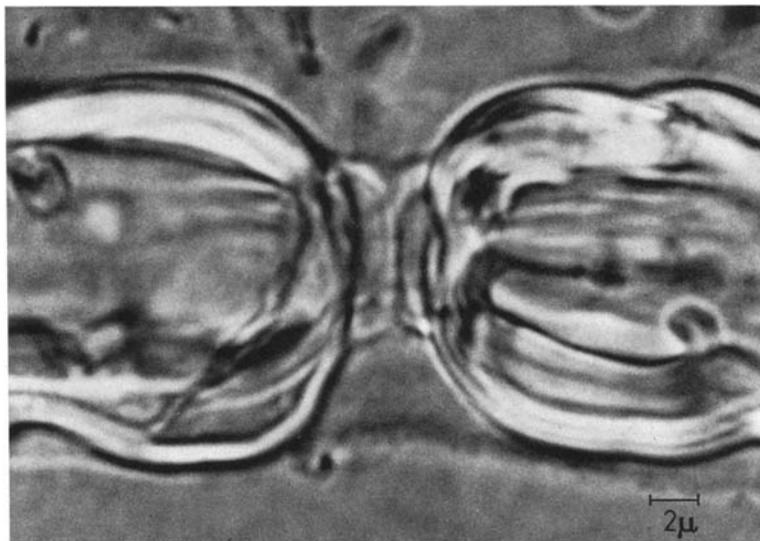


Abb. 1. Lichtmikroskopisches Bild des überlebenden Ranvierschen Schnürrings; Brechungsindex des Myelins überwiegt den aller übrigen Strukturen, daher fast ausschließlich Markscheidenbild

lich hergestellten Membranstrukturen beobachtet. Seine Aufklärung ist daher von allgemein-naturwissenschaftlichem Interesse und wie die der übrigen elektrischen Leitungsmechanismen eine Aufgabe insbesondere der Physik. So sollte man eigentlich darauf bedacht sein, dieses Untersuchungsobjekt als *physikalisches* System aufzufassen, mit dem Ziel es als Gegenstand der Physik zu beschreiben und zu verstehen. Trotzdem erscheint der Hinweis auf den technischen Aspekt der Membran-Verstärkung nicht überflüssig. Wir haben ein sehr komplexes System vor uns. Es besteht aus vielen und größtenteils noch unbekanntem Einzelsystemen, die sich wahrscheinlich gegenseitig beeinflussen. In der Festkörperphysik begegnet man bereits großen Schwierigkeiten bei der Untersuchung der Frage, wie Teilchen bekannter Größe und Ladung den einfachsten, nämlich einen kubisch gebauten Kristall größter Reinheit unter der Wirkung einer bekannten Kraft durchdringen. Analog dazu lautet unsere Frage: wie dringen Ionen unbekannter Größe (Hydrathüllen) durch ein weitgehend unbekanntes, kompliziertes Gitter von Hochpolymeren unter dem Einfluß von Kräften, die im einzelnen ebenfalls unbekannt sind (elektrische Feldverteilung unbekannt)?

In einem System bestehend aus einer großen Zahl einzelner Teilchen, wie es die Physik normalerweise behandelt, laufen Vorgänge ab, die dessen Ausgangszustand in Richtung auf einen thermodynamisch wahrscheinlicheren Zustand verändern. Beim lebenden Organismus aber sind die Einzelsysteme derart zusammengefaßt, daß koordinierte Abläufe entstehen, die isoliert betrachtet, thermodynamisch höchst unwahrscheinlich sind, wie etwa die beliebig oft wiederholbare Auslösung von Normimpulsen durch Reizimpulse, deren Form in weiten Grenzen beliebig ist und deren Energieinhalt viel kleiner sein kann als der des Normimpulses. Die durch eine besondere Koordination von Bauelementen ausgezeichneten materiellen Strukturen, an denen diese zusammengesetzten Abläufe stattfinden, bezeichnen wir als Organe, die koordinierten Abläufe selbst als deren Funktion. In der Praxis erkennen wir das Leben nicht zuletzt daran, daß bestimmte, lebenswichtige Organe funktionieren; man sagt, die Funktion dieser Organe sei für die Erhaltung des Lebens notwendig. Dieses teleologische Prinzip, das man bei der Untersuchung der Funktion biologischer Systeme nicht übersehen darf, zieht die verschiedensten physikfremden Aspekte nach sich (Optimierung, Wirkungsgrad, Information). Durchaus nicht unbehandelbar sind nun solche Systeme vom Standpunkt der Technik, die sich ja nicht nur mit der Konstruktion, sondern auch mit der naturwissenschaftlichen Analyse speziell solcher funktionierender Systeme befaßt und für das Verständnis vieler bereits die notwendigen Begriffe entwickelt hat.

## 2. Vorbemerkungen zur Untersuchungsmethode

### 2.1. Die erregbare Membran betrachtet als aktiver verstärkender Zweipol

Man mißt das Nervensignal am Schnürring als einen bestimmten Zeitablauf von Strom und Spannung. Wir können sagen, daß für die Verknüpfung von Strom und Spannung allgemein die Beziehung gilt: Der Strom  $I$  ist proportional der herrschenden Spannung  $V$ , d.h. ihrer Abweichung von der Nullpunktspannung  $V_0$  mal der Leitfähigkeit  $G$ ;  $I = G(V)(V - V_0)$ . Aus der Technik wissen wir ferner, daß jede gesteuerte Energielieferung an zwei notwendige Bedingungen gebunden ist: 1. an die Anwesenheit von Energiequellen, die eine Verstärkung ermöglichen und 2. an Steuerelemente, die den Energiefluß aus den Energiequellen derart steuern, daß eine Verstärkung zustandekommt. Die Energiequellen an der Membran werden durch die Iontentheorie der Erregung (Hodgkin u. Huxley, 1952) als Ionen-Diffusionsbatterien erklärt, mit den Spannungen  $V_K$  und  $V_{Na}$ . Danach fließt ein Ionenstrom durch die ruhende bzw. erregte Membran nur, wenn die Membranspannung verschieden ist von  $V_K$  bzw.  $V_{Na}$ ;  $I_K = G(V)(V - V_K)$ . Jede Zelle besitzt nun solche Membranbatterien, aber nicht jede liefert Aktionspotentiale. Man denke an die kontinuierlich amplitudenmodulierten elektrischen Abbilder eines äußeren Reizes

bei Sinneszellen (Generatorpotentiale) oder einer Transmitterausschüttung bei Ganglienzellen (postsynaptische Potentiale), bzw. an die Funktion verschiedener Arten von Drüsenzellen, bei denen die mit dem elektrochemischen Potential verknüpften Transportvorgänge im Vordergrund stehen (z. B. HCl-Sekretion). Für die Elektrophysiologie des Nerven ist deshalb in erster Linie die Steuereigenschaft von Interesse, die für die Entstehung des Aktions-Potentials (AP) verantwortlich ist.

Die bisher genaueste Beschreibung der Steuerfunktion der Nervenmembran liefert die Iontentheorie. Sie führt die zeitlichen Änderungen der Ionenfluxe durch die Membran mit mathematischen Mitteln auf Gleichungen zurück, wie sie in der chemischen Reaktionskinetik auftreten (HH-Formalismus). Die Autoren legen damit einen überwiegend chemischen Transportmechanismus nahe, den sie im Bild der Aktivierung und Inaktivierung sog. Carrier-Moleküle veranschaulichen.

Eine Messung von Koeffizienten der obengenannten Gleichungen gilt heute noch vielfach als aussichtsreiche Basis weitergehender Untersuchungen des Ionentransportes durch die Membran. Dieser Meinung würde man sich generell anschließen, wenn sich herausstellte, daß derartige Carrier-Systeme in der Membran vorhanden sind und die in den Gleichungen beschriebenen Funktionen tatsächlich ausüben. In den zwanzig Jahren seit Bekanntwerden der Iontentheorie konnte der experimentelle Nachweis für die Existenz derartiger Carrier-Systeme jedoch nicht erbracht werden.

Es ist daher gerechtfertigt, auch nach anderen Erklärungsmöglichkeiten zu suchen, ohne freilich den Boden experimentell gesicherter Tatsachen zu verlassen. Bisher sind es nur die elektrischen Eigenschaften und Funktionen der Membran, die wir sehr genau und schonend messen können. So besteht etwa die Möglichkeit, an der Membran nach den elementaren elektrischen Eigenschaften zu suchen, die ein technisches Schaltelement besitzen müßte, um die gleichen Funktionen wie die Membran ausüben zu können. Diese Grundfunktionen würden dann als Ausgangspunkte für eine Analyse des molekularen Steuerungsmechanismus dienen.

Die erregbare Membran hat 2 elektrische Anschlüsse, einen äußeren und einen inneren. Durch beide Klemmen fließt der gleiche Strom, es handelt sich per definitionem um einen Zwei-Pol. Über Zwei-Pole liegt aus der Technik eine große Zahl von Erfahrungen vor, die in der Zwei-Pol-Theorie zusammengefaßt sind. Danach muß die wesentliche Steuereigenschaft der Membran in ihrem Strom-Spannungs-Verhalten sichtbar werden. Es liegt besonders dann nahe, die Verstärkerfunktion auf die Strom-Spannungskennlinie zurückzuführen, wenn diese im Funktionsbereich einen stationär meßbaren negativen Widerstand aufweist, der von Ästen positiven Widerstandes begrenzt ist (auch im folgenden steht negativ für negativ-differentiell). An anderer Stelle findet sich näheres über die Beweisführung (Müller-Mohnssen, 1967; Albrecht-Bühler u. Stanek, 1970), über die Messung (Balk u. Müller-Mohnssen, 1966) und über die experimentell nachweisbaren Zusammenhänge zwischen stationärer Kennlinie und Funktion (am Schnürring, frühere Literatur siehe Müller-Mohnssen, 1967; an einem Funktionsmodell, das nach Dimensionierung und Verschaltung der elektrischen Bauelemente unsere derzeitige Kenntnis des Präparates wiedergibt: Albrecht-Bühler u. Stanek, 1970).

### 2.2. Die „fallende“ Strom-Spannungscharakteristik und ihre Messung

Die Konsequenz, die sich aus der Existenz einer stationären fallenden Charakteristik für die Messung der stationären Kennlinie und für das dynamische

Strom-Spannungsverhalten ergibt, sei daher nur schematisch erklärend an einem mechanischen Modell dargestellt (Abb. 2).

In diesem Modell besteht die stationäre Kennlinie aus einer  $n$ -förmig gebogenen Schiene, auf der eine Rolle läuft. Diese Rolle — sie stellt einen beliebigen zugeordneten Strom-Spannungswert dar — wird durch eine gerade Schiene auf der Kennlinie geführt und ist daher nur in einer Richtung frei beweglich. Die Bewegung senkrecht zur Schiene kann nur durch die Verschiebung der Schiene selbst erfolgen, wird also durch die Schiene „eingepägt“. Damit entspricht die Schiene der Arbeitsgeraden der Meßanordnung, d.h. der im Kennlinienfeld des Objektes darstellbaren Ortskurve,

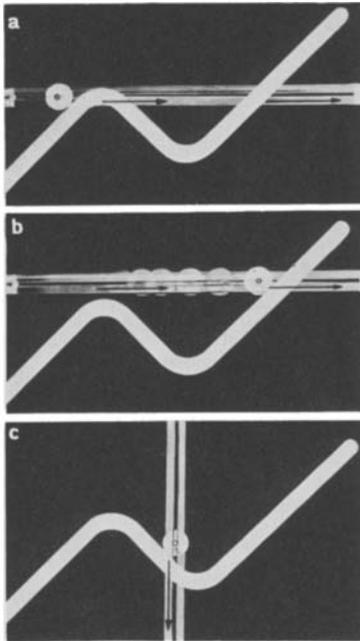


Abb. 2a—c. Mechanisches Modell zur Demonstration der regenerativen Spannungsänderungen an einer Kennlinie mit negativem Widerstand (stark vereinfachend). Fallende Strom-Spannungscharakteristik durch eine gebogene Schiene dargestellt. Abszisse analog der Membranspannung, Ordinate analog dem Membranstrom. Gerade Schiene analog der Arbeitsgeraden der Meßanordnung. Der Schnittpunkt beider Schienen bestimmt die Lage der Rolle: zugeordneter stabiler Strom-Spannungswert (Arbeitspunkt). In Richtung des Pfeils wirkt eine aus der potentiellen Energie des Systems stammende Kraft auf die Rolle und preßt sie gegen die Schiene (gespannte Feder, analog den Membranbatterien). a Messung mit eingepägtem Strom (Arbeitsgerade parallel zur Abszisse). Die Kraft wirkt nach rechts (Depolarisationsrichtung, Aktionsbatterie). b Parallelverschiebung der geraden Schiene nach oben. Bei Anstieg des Stromes über den oberen Extremwert der Kurve: Rolle verliert die Führung auf der linken Seite der gebogenen Schiene, springt über den Bereich des „negativen Widerstandes hinweg und schlägt auf der rechten Seite auf. Das entspricht einem ALLES- oder NICHTS-Potentialsprung in Depolarisationsrichtung, wie in der Anstiegsphase des AP. Wird die Schiene um  $180^\circ$  gedreht, so daß die Kraft nunmehr nach links gerichtet ist (Polarisationsrichtung, Ruhebatterie) und außerdem die Rolle derart versetzt, daß sie auf der äußeren Kante der Schiene läuft, läßt sich in der gleichen Weise der repolarisierende Potentialsprung darstellen, der das AP beendet und den vorgespannten Ruhezustand wiederherstellt. Bei eingepägtem Strom (Steigung der Arbeitsgeraden kleiner als die des negativen Widerstandes) wird der Bereich negativen Widerstandes übersprungen: der negative Widerstand ist stationär nicht meßbar. c Messung mit eingepägter Spannung, d.h. Schiene liegt parallel zur Ordinate und wird nach links oder rechts verschoben. Bei einer Veränderung der Spannung über die gesamte Kurve tritt kein „Instabilitätsbereich“ auf: der negative differentielle Widerstand ist stationär meßbar

auf der alle Verknüpfungen von Strom und Spannung am Meßobjekt liegen, die die Meßanordnung bei einer vorgegebenen Meßspannung erlaubt. Eine Veränderung der Meßspannung bewirkt eine Parallelverschiebung der Arbeitsgeraden und wird — da sich der Schnittpunkt mit der Kennlinie, d.h. der durch die Messung realisierte Arbeitspunkt des Gesamtsystems gleichfalls verschiebt — als Abtasten der Kennlinie bezeichnet. Die an den Membran-Zweipol angeschlossene Meßapparatur darf ihrerseits als parallel geschalteter Zweipol betrachtet werden, der mit dem Meßobjekt einen geschlossenen Stromkreis bildet. Bezogen auf die Polarität der Spannung, die zugleich an beiden Zweipolen liegt, durchfließt der gemeinsame Strom beide in jeweils entgegengesetzten Richtungen. Daher stellt sich die Steigung der Widerstandsgeraden der Meßapparatur gegenüber den positiven Widerständen im Kennlinienfeld des Objektes mit umgekehrten Vorzeichen dar. In Richtung der geraden Schiene wirkt eine zur Energielieferung fähige Kraft (über Feder, Gummi) auf die Rolle derart, daß diese bei einer Verschiebung der geraden Schiene (Abtastung) gezwungen ist, sich auf einer durch die Kennlinie bestimmten Bahn zu bewegen. Liegt die Schiene parallel zur Abszisse (Abb. 2a) so daß sich die Rolle nur in Abszissenrichtung frei bewegen kann, so entspricht das im Kennlinienbild der Messung von  $V$  in Abhängigkeit von  $I$  (Stromeinprägung, annähernd verwirklicht in den Messungen von Stämpfli, 1958). Wird der vorgegebene Strom erhöht (Bewegung der parallel zur Abszisse liegenden Schiene in Richtung der Ordinate nach oben) und der entsprechende Spannungsabfall registriert, so wird  $V$  am Maximum der Kurve instabil. Wenn wir annehmen, daß die Kraft entlang der Schiene von links nach rechts gerichtet ist, so tritt ein Spannungssprung auf, der den negativen Widerstand überspringt und endet, sobald  $V$  auf dem zweiten Ast positiven Widerstandes wieder stabile Bedingungen vorfindet (Abb. 2b). Dieser mechanische „Alles- oder Nichts-Potentialsprung“ von links nach rechts ist ein vereinfachtes mechanisches Abbild der Anstiegsphase des AP. Um den repolarisierenden Potentialsprung am Ende des AP verstehen zu können, müssen wir das nachfolgende Einschalten einer zweiten Energiequelle mit einer von rechts nach links gerichteten Kraft annehmen, die bewirkt, daß das System im Minimum der Kurve ein zweites Mal instabil wird (vgl. Abb. 10d). Da der Spannungswert für den Maximal- und Minimalstrom demnach mehrdeutig ist, kann der negative Widerstand durch einen eingepägten Strom nicht gemessen werden. Wird dagegen die Spannung eingepägt (Verschiebung der geraden Schiene parallel zur Ordinate Abb. 3c) und der Strom als abhängige Variable gemessen, so kann der negative Widerstand kontinuierlich registriert werden (Abb. 3d). Die zur Membran in Serie liegenden nicht ausschaltbaren Präparatwiderstände sind von der gleichen Größenordnung wie die Membran-Widerstände selbst; so wird zur Messung mit eingepägter Spannung eine elektronische Regelschaltung verwendet, die die Membranspannung automatisch auf den Wert der Meßspannung einstellt (Cole, 1949).

Da die erregbare Membran — abgesehen von der Refraktärzeit — jederzeit funktionsbereit ist, dürfen wir erwarten, daß nicht nur die Energiequellen ständig

vorhanden sind, sondern auch, daß die Steuereigenschaft der Membran, der negative Widerstand, eine stationäre Membraneigenschaft ist. Wenn es gelingt, am Schnürring eine stationäre fallende Charakteristik zu messen, ließe sich die Steuerfunktion der Membran damit auf eine wesentlich einfachere, weil zeitunabhängige Funktion zurückführen, nämlich auf den einfach zu messenden Zusammenhang nur zwischen  $I$  und  $V$  (Regelschaltung für die Messung mit stationär eingepreßter Spannung am einzelnen Schnürring s. Balk u. Müller-Mohnssen, 1966). Es bedarf keines Hinweises auf die Vorteile, die eine Reduktion dynamischer Vorgänge auf zeitunabhängige Eigenschaften des Systems für die weitere physikalische Analyse bietet.

An einem auf Ruhepotential ( $V_{m0}$ ) liegenden, mit Normal-Ringerlösung umspülten Schnürring messen wir eine einfache Gleichrichtercharakteristik mit einem niederohmigen Ast ( $R_{11}$ ) im Depolarisations- und einem hochohmigen Ast ( $R_1$ ) im Polarisationsbereich  $I = g(V) (V - V_{m0})$ , Abb. 3 b obere Kurve). In dem dazwischen liegenden Spannungsbereich (in Abb. 3 schraffiert), gehen beide Äste kontinuierlich ineinander über (Übergangsbereich  $\Delta V_{Tr}$ ). Das Leitfähigkeitsverhalten läßt sich formal durch die Stufe  $f_1(V) = g(V)$  und Abb. 3 a beschreiben: bei polarisierenden Spannungen erreicht die Leitfähigkeit einen niedrigen Grenzwert, bei depolarisierenden einen höheren. Im Übergangsbereich gehen beide kontinuierlich ineinander über. Dürfen wir

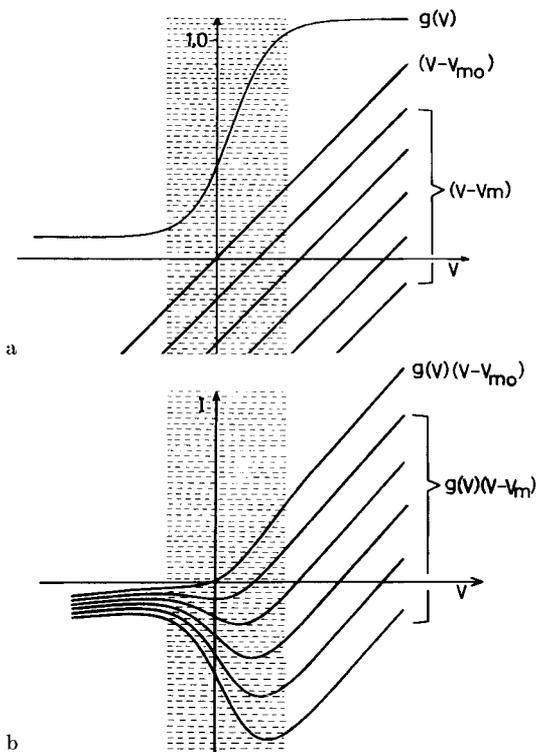


Abb. 3 a u. b. Depolarisation als Bedingung für den Nachweis einer stationären fallenden Charakteristik an der erregbaren Membran (schematisch). Übergangsbereich schraffiert. a Terme des Stromes  $I = g(V) (V - V_m)$  einzeln dargestellt:  $f_1(V) = g(V)$  Stufenfunktion der Membranleitfähigkeit;  $f_2(V) = V - V_m$ , Geradenschar für verschiedene Werte des Membranpotentials  $V_m$  (bzw.  $V_{m0}$  = Ruhepotential);  $V$  = Membranspannung, Abweichung vom Ruhepotential, Depolarisationsrichtung positiv. b Kennlinienschar errechnet durch Multiplikation der in a dargestellten Funktionen. Ordinate: Membranstrom, Auswärtsstrom positiv

daraus den Schluß ziehen, daß das stationäre Strom-Spannungsverhalten der Membran durch eine Gleichrichtercharakteristik vollständig gekennzeichnet ist und keinen negativen Widerstand besitzt?

Der Spannungssprung beim Anstieg des Aktionspotentials erfolgt in Depolarisationsrichtung. Wir müssen daher annehmen, daß der negative Widerstand im Depolarisationsbereich liegt. Ferner ist der Impulsanstieg von Einwärtsströmen begleitet (Cole, 1948; Hodgkin u. Huxley, 1950). Selbst wenn ein stationärer negativer Widerstand bei positiven Spannungen im Einwärtsstrombereich tatsächlich vorhanden wäre, ließe er sich vom Ruhepotential ausgehend prinzipiell nicht messen. Der Konzentrationsgradient der stationär fließenden Ionen bestimmt das Membranpotential. Wird die Membranspannung  $V$  bei der Messung am ruhenden Schnürring etwa von negativen Spannungen (verbunden mit Einwärtsströmen) in den positiven Bereich verschoben, so ändert nicht nur die Membranspannung gegenüber dem Ruhepotential  $V_{m0}$  ihr Vorzeichen ( $V - V_{m0}$ ), sondern es kehrt zwangsläufig auch der Strom sein Vorzeichen um: die Multiplikation der Funktionen  $g(V) (V - V_{m0})$  ergibt eine Gleichrichtercharakteristik. Eine Messung im rechten unteren Quadranten ist daher aus physikalischen Gründen unmöglich.

Um zu erreichen, daß die den Übergangsbereich abtastende Meßspannung als treibende Kraft für Einwärtsströme wirkt, muß das Membranpotential künstlich in Depolarisationsrichtung verschoben werden, etwa durch Erhöhung der extracellulären  $K^+$ -Konzentration. Im Kennlinienbild wird dadurch der Schnittpunkt beider positiven Äste um die Depolarisationsspannung ( $V_m$ ) in Abszissenrichtung verschoben. Der hochohmige Ast endet nunmehr an der linken Grenze des Übergangsbereichs. Vor hier ab nimmt der Strom zu und zwar in der gleichen (Einwärtsstrom-)Richtung, denn jetzt befinden wir uns noch im gleichen Quadranten bezüglich des Membranpotentials. Der Strom durchläuft an dieser Stelle ein Minimum. Der niederohmige Ast endet an der rechtsseitigen Grenze des Übergangsbereichs. Hier liegt das Strom-Maximum der Charakteristik. Die Verbindungslinie zwischen den beiden Extrema der Kurve stellt den negativen Widerstand dar. Unter der Annahme, daß Lage und Breite des Übergangsbereichs, sowie die Beträge der Grenzwiderstände durch eine Verschiebung von  $V_m$  nicht wesentlich beeinflusst werden, lassen sich die Kennlinien für die verschiedenen Membranpotentiale graphisch konstruieren bzw. berechnen [ $I = g(V) (V - V_m)$ , s. Abb. 3].

### 3. Experimentelle Ergebnisse

#### 3.1. Stationäres Strom-Spannungsverhalten der Schnürringmembran

3.1.1. „ $K^+$ -Kennlinie“. Prüfen wir diese Voraussage durch das Experiment. Abb. 3c zeigt eine Schar von Strom-Spannungskennlinien eines Schnürrings, die von der Meßspannung so langsam abgetastet wurden, daß man sie als zeitunabhängig, also als Ausdruck einer stationären Membraneigenschaft betrachten darf. Dargestellt ist die Abhängigkeit des Kurvenverlaufs von der extracellulären  $K^+$ -Konzentration. Die Strom-Nullpunkte sind in Richtung der  $z$ -Achse nach dem

Logarithmus der K-Konzentration angeordnet, in Richtung nach vorn nimmt die Konzentration zu. Wir erhalten die erwartete Kurvenschar, d.h. neben Gleichrichtercharakteristiken auch Kennlinien mit negativem Widerstand. Die Differenz zwischen den Extremwerten des Stromes, und damit die negative Leitfähigkeit wächst mit zunehmender Depolarisationsamplitude. Die erregbare Membran stellt ein Schaltelement

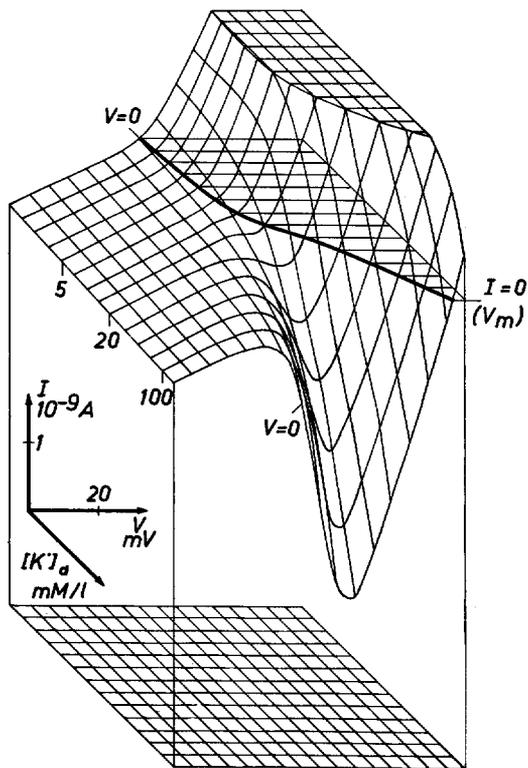


Abb. 3c. Schar stationärer Strom-Spannungs-Kennlinien mit  $[K^+]_a$  als Scharparameter. (Schnürring 274/65) Dreidimensionale Darstellung ergibt die Zustandsfläche für alle stationären Strom-Spannungswerte des angegebenen  $[K^+]_a$ - und Spannungsbereichs. z-Achse:  $\log [K^+]_a$ . Ordinate: Membranstrom  $I$ ; Abszisse: Membranspannung  $V$ . Anstiegssteilheit der Meßspannung  $dV/dt = 1 \text{ mV/sec}$

dar, dessen stationäre elektrische Eigenschaften nicht durch eine Kennlinie, sondern durch eine Kennlinienschar, durch eine Zustandsfläche dargestellt wird. Diese Fläche ist nach der einen Seite durch eine Gleichrichtercharakteristik, nach der anderen durch eine fallende Charakteristik begrenzt (Balk u. Müller-Mohnssen, 1962).

Wir haben die Konstruktion der Abb. 3 b unter der Annahme durchgeführt, daß das stationäre Strom-Spannungsverhalten der Membran auf wenige unveränderte Größen zurückgeht. Und zwar blieben Lage und Breite des Übergangsbereiches konstant, ebenso der hochohmige und der niederohmige Ast. Da die Meßergebnisse diese Annahmen bestätigen, können wir diese mit geringen Korrekturen beibehalten und sämtliche Kennlinien einer Schar mit einer einfachen Arbeitsformel berechnen (Albrecht-Bühler, 1968; Berechnung als Polygonzüge, die den Verlauf der Kennlinie annähern, s. Balk und Müller-Mohnssen, 1966). Ähnliche Kennlinienscharen erhalten wir, wenn wir statt  $K^+$ , die  $K^+$ -Substituenten  $Rb^+$  und  $Cs^+$  als Ladungsträger verwenden.

3.1.2. Meßbedingungen für den Nachweis des stationären negativen Widerstandes. Zum Nachweis der stationären fallenden Charakteristik am Schnürring sind wie die Messungen zeigen neben der Einprägung der Meßspannung 3.1.1. zwei weitere Bedingungen zu erfüllen: 1. Es müssen Ladungsträger vorhanden sein, die stationär durch die Membran fließen; 2. das Gleichgewichtspotential für diese Ionenart muß bei größeren Depolarisationsspannungen liegen als der Übergangsbereich, so daß Meßspannungen, die den Übergangsbereich abtasten, als treibende Kraft für Einwärtsströme wirken können. Oder — was wegen der Verknüpfung von Membranpotential und Konzentrationsgradient des stationär fließenden Ions das gleiche bedeutet — die stationär fließenden Ionen müssen in der extracellulären Flüssigkeit in ausreichender Menge vorhanden sein, damit sie den Einwärtsstrom tragen können.

$K^+$  (ersatzweise auch  $Rb^+$ ) hat normalerweise bereits eine hohe stationäre Beweglichkeit in der Membran, ist aber in der extracellulären Flüssigkeit nur in geringer Konzentration vorhanden. Sein Membranpotential muß daher durch Erhöhung der extracellulären Konzentration künstlich auf einen für die Messung geeigneten Wert eingestellt werden. Umgekehrt ist die  $Na^+$ -Konzentration bei Bspülung mit Normal-Ringerlösung außen höher als innen, so daß das  $Na^+$ -Potential bereits im Depolarisationsbereich liegt. Eine Messung des stationären negativen Widerstandes ist trotzdem nicht möglich, da die unveränderte Membran  $Na^+$ -Ströme nur kurzzeitig, jedoch nicht stationär zu fließen erlaubt.

3.1.3. Die stationäre „ $Na^+$ -Kennlinie“. Wenn aber  $10^{-7} \text{ g/ml}$  Veratridin, in Ringerlösung gelöst, auf die Membran einwirken, so wird ihr Unterscheidungsvermögen für  $Na^+$  und  $K^+$  weitgehend ausgeschaltet.  $Na^+$  fließt jetzt, ebenso wie  $K^+$ , stationär durch die Membran;  $Na^+$  kann nun — was normalerweise nur dem  $K^+$  vorbehalten ist — ebenfalls das stationäre Membranpotential bestimmen: es tritt eine Depolarisation ein. Jetzt wird auch die  $Na^+$ -Kennlinie stationär meßbar (Abb. 4). Es handelt sich um eine fallende Charakteristik, die — wie die mathematische Analyse zeigt — auf den gleichen Übergangsbereich zurückgeht wie die  $K^+$ -Kennlinie. Dieses Ergebnis ist ein Hinweis auf einen zumindest ähnlichen Leitfähigkeitsmechanismus für  $Na^+$  und  $K^+$ . Die  $Na^+$ -Kennlinie ist außerdem mit den  $Na^+$ -Substituenten  $Li^+$ ,  $NH_3^+$ ,  $(H_2N)_3C^+Cl^-$  (Guanidino-Hydrochlorid) nachweisbar (Abb. 5). An der erregbaren Membran läßt sich also die gleiche fallende Charakteristik mit allen Ladungsträgern nachweisen, die normalerweise oder als Substituenten eine Rolle beim Erregungsablauf spielen können.

Geringe Unterschiede des Verlaufs der  $Na^+$ - und gegenüber den  $K^+$ -Kennlinien entstehen durch geringe Abweichung von  $\Delta V_{T\gamma}$  in den  $K^+$ -Kennlinien, durch das träge Verhalten der veratridinvergifteten Membran und ferner dadurch, daß der Abszissenschnittpunkt des hochohmigen Astes eine feste, von der Depolarisationsamplitude unabhängige Lage im Bereich des Ruhepotentials einnimmt. Wir bezeichnen die Spannungsdifferenz dieses Schnittpunktes gegenüber dem Membranpotential formal als Gegenspannung  $V_{mG}$ . In den Veratridin-Kennlinien ist  $V_{mG}$  so groß wie die Depolarisationsamplitude.

Auch das Membranmodell Teorells (1958), das keinerlei hypothetische Mechanismen heranzieht, sondern die Steuerung ausschließlich auf bekannte physikalisch-chemische Vorgänge zurückführt (elektro-hydraulisches Analog), erlaubt neben der Impulsregeneration die Messung von stationären Kennlinien-

scharen mit negativem Widerstand. Diese entstehen jedoch gerade durch eine Verschiebung des Übergangsbereichs bei konstantem Membranpotential. Da dies offensichtlich im Gegensatz zu unseren Meßergebnissen steht, wird das Teorell-Modell für die Diskussion der Membransteuerung des Schnürrings in dieser Übersichtsarbeit nicht herangezogen.

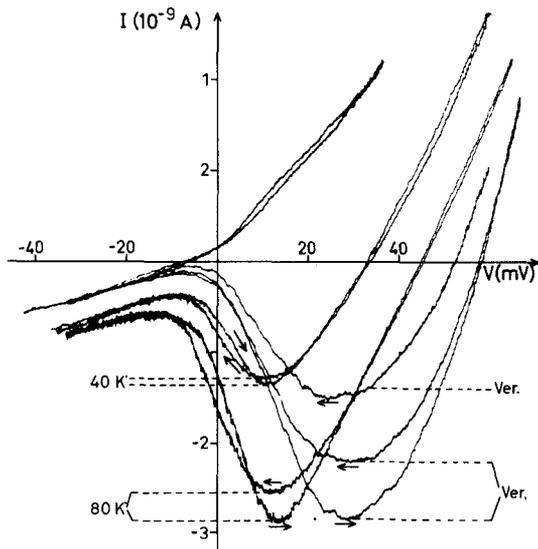


Abb. 4. 2 Scharen stationärer Strom-Spannungskennlinien des Schnürrings, aufgenommen bei  $K^+$ - und Veratridin-Depolarisation. Gleichrichtercharakteristik bei Normal-Ringerlösung;  $K^+$ -Kennlinienpaare ( $[K^+]_a = 40; 80 \text{ mM/l}$ ), Abtastung in beiden Richtungen,  $dV/dt = 1 \text{ mV/sec}$ . Veratridinkennlinien ( $1 \cdot 10^{-5} \text{ g/ml}$ ), Abtastung  $dV/dt = 0,1 \text{ mV/sec}$ . Unmittelbar nach Einsetzen der Bepflügelung mit Veratridin-Ringerlösung beginnt die Registrierung in negativer Abtastrichtung (einzelne Kennlinie  $V_m = 53 \text{ mV}$ ). Von 16–50 min nach Beginn der Bepflügelung: Registrierung des Kennlinienpaares bei gleichbleibendem  $V_m = 58 \text{ mV}$  (Originalregistrierung Schnürring 408/67, Abtastrichtung durch Pfeile gekennzeichnet). Trotz Veränderung von  $V_m$  unveränderte Lage des Übergangsbereichs, sowie von  $R_I$  ( $V_{mG} \approx 0$ ) in den Veratridin-Kennlinien

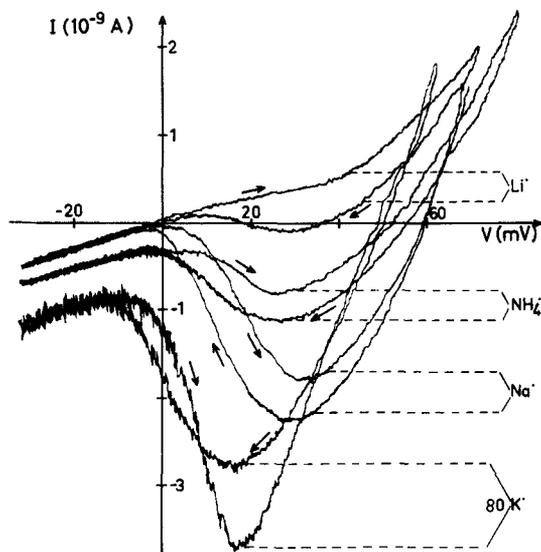


Abb. 5. Strom-Spannungskennlinien während der Veratridindepolarisation. Die Lösungen enthielten entweder  $110,5 \text{ mM/l Na}^+$  (Normal-Ringerlösung),  $\text{Li}^+$  oder  $\text{NH}_4^+$ . Zum Vergleich eine Kennlinie bei  $[K^+]_a = 80 \text{ mM/l}$  ohne Veratridin (Originalregistrierung Schnürring 401/67; Anstiegssteilheit der Meßspannung bei den  $K^+$ -Kennlinien  $dV/dt = 1 \text{ mV/sec}$ , bei den Veratridinkennlinien  $0,1 \text{ mV/sec}$ , Abtastrichtung durch Pfeile gekennzeichnet). Gleiche Lage und Breite des Übergangsbereichs in allen Veratridinkennlinien. Unterschiede dieser Kurven beruhen auf unterschiedlichen Beträgen von  $V_m$ ,  $V_{mG}$  und  $R_I$  (Widerstand des niederohmigen Astes)

Die normale Beschaffenheit der erregbaren Membran setzt einen bestimmten Lösungszustand der Lipoproteine, aus denen sie zusammengesetzt ist, voraus. Wenn man davon ausgeht, daß ein bestimmtes funktionelles Verhalten an bestimmte strukturelle Eigenschaften eines Organs gebunden ist, überrascht es nicht, daß die am Schnürring gemessenen Kennlinien durch eine Veränderung der physikalisch-chemischen Eigenschaften der umgebenden Ringerlösung verändert werden können. Durch manche physikalisch-chemischen Einwirkungen läßt sich gezielt die Lage des Übergangsbereichs beeinflussen. Es erscheint nicht ausgeschlossen, daß man aus der Art der Einwirkung Hinweise auf die Art der betroffenen molekularen Struktur erhält (man denke an den Begriff „chemisch zielen“, Paul Ehrlich). Daher seien die Ergebnisse solcher Untersuchungen etwas ausführlicher dargestellt. In unserem Zusammenhang ist der molekulare Leitfähigkeitsmechanismus, der dem in Breite und Lage konstanten Übergangsbereich zugrunde liegt, von besonderem Interesse, da er für das Auftreten des negativen Widerstandes in den  $K^+$ - und  $\text{Na}^+$ -Kennlinien, und somit vor allem für die Verstärkereigenschaft der Membran maßgebend ist.

In den weiteren experimentellen Untersuchungen über die Zusammenhänge zwischen den ausgezeichneten Spannungswerten der Impulse (Schwellen, Spitze) und der Kennlinie (Extrema), sowie über die molekularen Mechanismen der stationären Stromleitung ist vor allem die Lage und Breite des Übergangsbereichs genau festzulegen. Aus den Ergebnissen von voltage-clamp-Experimenten gewinnt man mit Hilfe des HH-Formalismus zwar präzise Werte über den Verlauf der Impulse, jedoch weicht das berechnete stationäre Strom-Spannungsverhalten vom direkt gemessenen ab (Müller-Mohnssen, 1967). Die Auswertung der Meßergebnisse mit der in 3.1.1 erwähnten Arbeitsformel zeigt, daß sämtliche Kennlinien einer Schar – von der Gleichrichtercharakteristik bis zur fallenden Charakteristik – auf den gleichen Übergangsbereich zurückgehen. So läßt sich der Übergangsbereich, wenn auch ungenau, bereits aus der Gleichrichtercharakteristik ermitteln; wesentlich genauere Werte erhalten wir aber, wenn wir der Bestimmung eine gemessene Kennlinie mit negativem Widerstand zugrunde legen. Der Übergangsbereich ist aus der Membran gebundenen Funktion. Er wird nur in geringem Maße von der Art der Ladungsträger beeinflusst. Es ist daher im Prinzip gleichgültig, ob er aus einer stationären  $K^+$ - oder  $\text{Na}^+$ -Kennlinie ermittelt wird. Wir verwenden ausschließlich die  $K^+$ -Kennlinie zur Bestimmung des Übergangsbereichs, weil die  $K^+$ - im Gegensatz zur Veratridindepolarisation kaum bleibende Veränderungen der Membranfunktion hinterläßt.

3.1.4. Experimentelle Eingriffe in das stationäre Strom-Spannungsverhalten und die Impulstätigkeit mit physikalisch-chemischen Mitteln. Wird die extracelluläre  $\text{Ca}^{++}$ -Konzentration  $[\text{Ca}^{++}]_a$  von 0 bis auf das 4fache des Normalwertes erhöht, so verschieben sich die Extrema der gemessenen Kennlinien in Depolarisationsrichtung, gleichzeitig nimmt der Stromwert insbesondere des Strom-Maximums ab, und der negative Widerstand nimmt zu (Müller-Mohnssen u. Balk, 1965; Albrecht-Bühler, 1967). Bei einer Spannungsverschiebung des Übergangsbereichs in den errechneten Kennlinien analog Abb. 7 erhalten wir die gleiche Kurvenschar. Wir erkennen an der Übereinstimmung der gemessenen mit den berechneten Kennlinien-Veränderungen, daß die  $\text{Ca}^{++}$ -Wirkung – sofern die Konzentration nicht wesentlich über  $4 \text{ mM/l}$  erhöht wird – als eine reine Verschiebung des Übergangsbereichs interpretiert werden kann (Albrecht-Bühler, 1967). Bei weiter zunehmender  $[\text{Ca}^{++}]_a$  erhalten wir neben einer

weiteren Verschiebung des Übergangsbereichs in Depolarisationsrichtung außerdem Veränderungen anderer Kennlinienparameter, vor allem eine Abnahme der Gleichrichterwirkung, d. h. des Quotienten  $R_I/R_{II}$ .

Ähnliche Verschiebungen von  $\Delta V_{TR}$  erhalten wir, wenn die H-Ionenkonzentration oder die Osmolarität der umgebenden Lösung ansteigt (durch Zugabe von Saccharose bzw. HCl zu einer normalen Ringerlösung,

das Strom-Maximum, in Depolarisationsrichtung verschiebt, ist ferner ein Anstieg der Repolarisationschwelle zu erwarten. Es ist durch zahlreiche ältere Arbeiten bekannt, daß diese Stoffe die Depolarisationschwelle, sowie die Repolarisationsschwelle tatsächlich erhöhen.

Eine Verschiebung des Übergangsbereichs in Polarisationsrichtung und eine entsprechende Verminde-

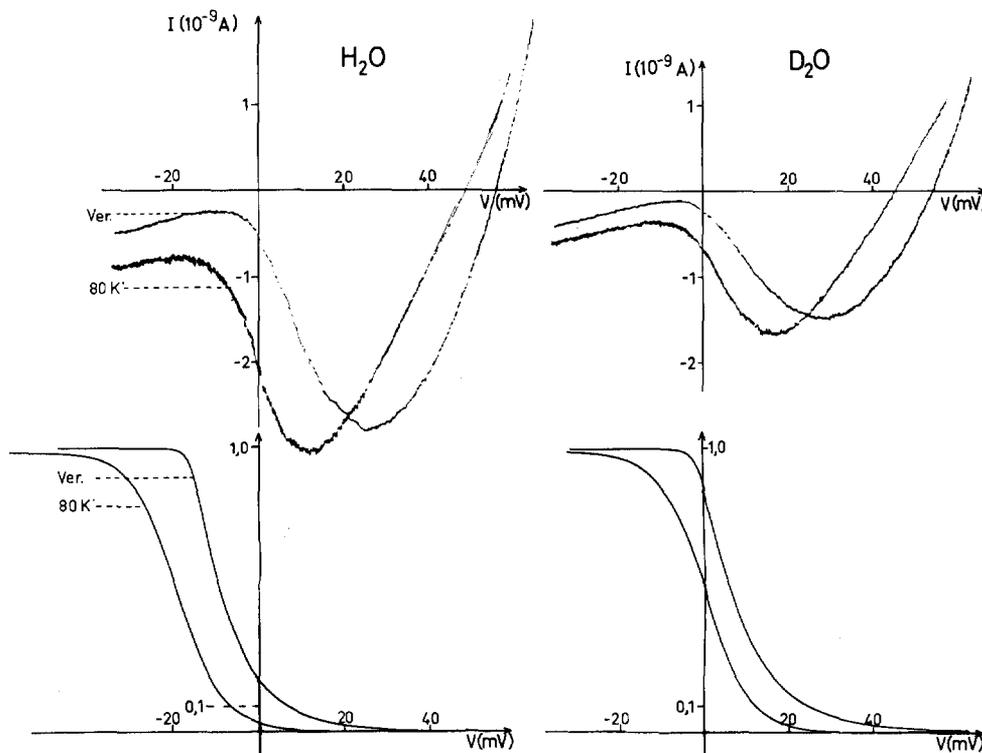


Abb. 6. Vergleich stationärer K<sup>+</sup>- und Na<sup>+</sup>-(Veratridin-)Kennlinien; links: H<sub>2</sub>O-Lösungen, rechts: D<sub>2</sub>O-Lösungen (Originalreg. Schnürring 405/67), Abtastung der K<sup>+</sup>-Kennlinien  $dV/dt = -1$  mV/sec (Dauer der Messung einer Kennlinie ca. 1,5 min), der Na<sup>+</sup>-(Veratridin-)Kennlinien  $dV/dt = -0,1$  mV/sec (Dauer der Messung ca. 15 min). Gleiche Breite des Übergangsbereichs  $\Delta V_{TR}$  in allen Kennlinien. Gegenüber  $\Delta V_{TR}$  in den Na<sup>+</sup>-Kennlinien ist  $\Delta V_{TR}$  in den K<sup>+</sup>-Kennlinien um  $\approx -10$  mV verändert. D<sub>2</sub>O-Lösungen bewirken eine annähernd gleiche Zunahme des Widerstandes in allen Abschnitten beider Kennlinien sowie eine Verschiebung des Übergangsbereichs beider Kennlinien in Depolarisationsrichtung. Unteres Diagramm: Stufenfunktion  $f(V)$  für die Nachberechnung der oben dargestellten Originalkurven mit der Arbeitsformel.  $f(V)$  ist ein Maß für Breite und Lage von  $\Delta V_{TR}$ . Gegenüber den Na<sup>+</sup>-(Veratridin-)Kennlinien nahezu unveränderte Breite, jedoch um  $\approx -10$  mV veränderte Lage von  $\Delta V_{TR}$  in den K<sup>+</sup>-Kennlinien. D<sub>2</sub>O-Lösungen bewirken Verschiebung von  $\Delta V_{TR}$  beider Kennlinien in Depolarisationsrichtung

Müller-Mohnssen u. Balk, 1965, 1966), oder wenn das Lösungswasser der extracellulären Ringerlösung durch D<sub>2</sub>O ersetzt wird (Müller-Mohnssen u. Balk, 1967; Müller-Mohnssen u. Albrecht-Bühler, 1968). Abb. 6 zeigt, daß der Übergangsbereich beider Kennlinien, also der K<sup>+</sup>- und der nach Veratridinvergiftung entstehenden Na<sup>+</sup>-Kennlinie durch gleiche äußere Einwirkungen auf die gleiche Weise verändert wird. Wir dürfen das als weiteren Hinweis auf den gleichen Leitungsmechanismus für beide Ionen betrachten.

Eine Verschiebung des Übergangsbereichs in Depolarisationsrichtung bewirkt eine Spannungs-Verschiebung des Strom-Minimums in der gleichen Richtung. Dieser Spannungswert bestimmt nach den eingangs anhand des mechanischen Modells durchgeführten Überlegungen die Reizschwelle. Entfernt sich der Instabilitätspunkt vom Ruhepotential, so wächst die zur Auslösung des Aktionspotentials notwendige Reizamplitude. Da sich auch der 2. Instabilitätspunkt,

der Schwellenspannungen erhalten wir durch die gegensätzlichen Veränderungen der extracellulären Lösung, also durch Ca<sup>2+</sup>-arme, hypo-osmotische und alkalische Lösungen.

3.1.5. Beziehungen zwischen stationärer Kennlinie und Aktionsimpuls. Sofern der stationäre negative Widerstand tatsächlich für das regenerative Verhalten der Membran notwendig ist, dürfen Aktionspotentiale nur auslösbar sein, wenn die erregbare Membran einen negativen Widerstand besitzt. Um das experimentell prüfen zu können, mußte zunächst die Frage gelöst werden, ob sich der negative Widerstand bei gleichbleibendem Membranpotential in einen positiven umwandeln läßt. Eine sehr starke Verschiebung des Übergangsbereichs, etwa durch die erwähnten schwellensteigernden Substanzen würde nach der Kennlinienberechnung bewirken, daß der Widerstand im Übergangsbereich differentiell unendlich, schließlich sogar positiv wird (Abb. 7). Der Übergangsbereich ist in den

errechneten Kurven schließlich überhaupt nicht mehr nachweisbar. Im Experiment lassen sich diese Kennlinienveränderungen reversibel, d. h. ohne wesentliche Präparatschädigung durch eine pH-Erniedrigung auf pH 4,5 erreichen (nicht vollständig reversibel auch durch eine Zunahme der Osmolarität auf das 5fache). Die Messungen zeigen, daß das Präparat keine Regenerativität mehr zeigt, sobald der Widerstand im

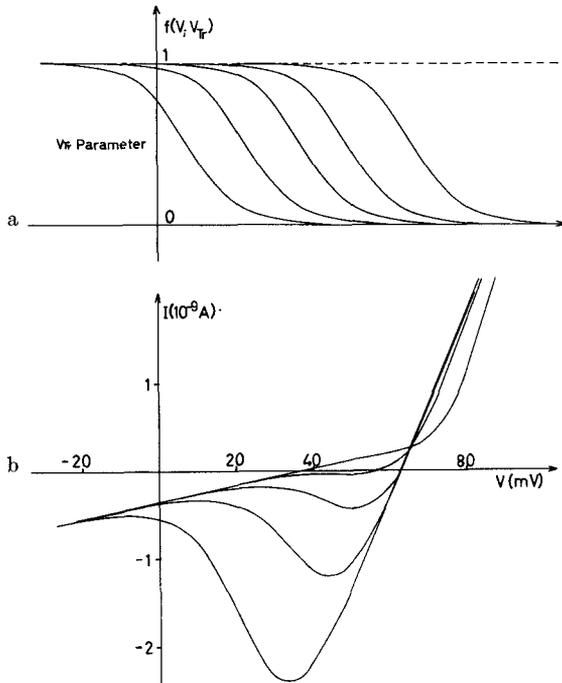


Abb. 7 a u. b. Veränderung des Kennlinienverlaufs bei einer Verschiebung des Übergangsbereichs in Depolarisationsrichtung (errechnet mit der Arbeitsformel). a Stufenfunktion  $f(V; V_{Tr})$ , s. Abb. 6. b Errechnete Kurven; bei einer  $V_{Tr}$ -Verschiebung von 30 mV wird, sofern alle übrigen Parameter konstant bleiben, aus der fallenden Charakteristik eine Gleichrichtercharakteristik

Übergangsbereich nicht mehr negativ, sondern unendlich oder positiv geworden ist. Das ALLES- oder NICHTS-Verhalten ist ausgelöscht (Müller-Mohnssen u. Balk, 1965); Reizantworten, bei denen die Membranspannung den Übergangsbereich ohne Anzeichen von Regenerativität durchläuft, werden als Reaktionspotentiale *RP* bezeichnet.

Wenn die Hypothese richtig ist, dürften ferner Aktionspotentiale nur dann auslösbar sein, wenn der Reiz nach Größe und Polarität geeignet ist, den Arbeitspunkt in den Bereich des negativen Widerstandes zu verschieben. Um das zu prüfen, haben wir untersucht, von welchen Punkten der Kennlinie durch depolarisierende Stromreize Aktionspotentiale auslösbar sind. Die Technik der Messung mit stationär eingepprägter Spannung wurde derart modifiziert, daß es möglich war, im gleichen Experiment jeden beliebigen Arbeitspunkt auf einer stationären Membran-Kennlinie mit negativem Widerstand stationär einzuprägen und alternierend schnelle Spannungsänderungen frei ablaufen zu lassen (Abb. 8). Kurze Impulse, wie Rechteckreize und Aktionspotentiale werden registriert, danach jedoch durch einen Tiefpaßfilter abgefangen, ehe sie in die Regelschaltung gelangen, die die Spannung

einprägt. Die Arbeitspunkte von denen die AP ausgelöst wurden, sind im Bild der Kennlinie des gleichen Präparates durch Striche markiert (Abb. 8f).

Im Bereich des niederohmigen Astes wird die Form des Reizes wie an einem  $R-C$ -Glied lediglich passiv verzerrt (nicht dargestellt). Im Bereich des negativen Widerstandes nahe dem Strom-Maximum ist bereits eine unterschwellige Aktivität erkennbar (unterschwellige Erregungspotentiale, *EP* Abb. 8a). Sobald die Neigung des negativen Widerstandes größer wird als die Steigung der Arbeitsgeraden unserer Meßapparatur an der Membran, sind ALLES- oder NICHTS-Antworten auslösbar (Abb. 8b–e). Diese sind erkennbar an einem Wendepunkt in der Anstiegsflanke der Reizantwort (Zunahme des zeitlichen Spannungsgradienten,  $dV/dt$ ) und der „leeren“, d. h. von keinem Antwortsignal durchlaufenen Fläche in den Registrierungen zwischen unterschweligen und überschwelligen Antworten. Wird die Amplitude des Reizimpulses von gerade unterschweligen zu gerade überschwelligen Werten erhöht, so ist das Auftreten der leeren Fläche ein markantes Zeichen für das ALLES- oder NICHTS-Verhalten. Abb. 8b zeigt einen Zwischenzustand, bei dem nur der Wendepunkt in der Anstiegsflanke, nicht jedoch die leere Fläche ausgeprägt ist, ein Verhalten, das nur dann zu beobachten ist, wenn sich die Amplituden von AP und SP (Schwellenpotential) sowie die Neigungen der Arbeitsgeraden (Meßanordnung) und des negativen Widerstandes (Präparat) nur wenig unterscheiden. Der sich ohne Zutun der Meßapparatur spontan einstellende Arbeitspunkt  $V_p$  liegt bei der depolarisierten Membran auf dem niederohmigen Ast ( $R_{II}$ -Abszissenschnittpunkt bzw.  $I = 0$ ). Dadurch wird die altbekannte Erscheinung, nämlich die Unerregbarkeit der depolarisierten Membran, ohne weiteres verständlich. Die Restitution der Erregbarkeit durch künstliche Verschiebung von  $V_p$  auf den hochohmigen Ast ist in der gleichen Weise auch durch die Aussage beschrieben, daß die Meßapparatur, die die Spannung im Bereich von  $V_{mo}$  einprägt, nunmehr die Funktion der Ruhebatterie übernimmt.

*3.1.6. Der stationäre negative Widerstand als notwendige Bedingung für die Impulstätigkeit der Membran.* Während die Ionentheorie eine explizit zeitabhängige Leitfähigkeitssteuerung der Membran zur Beschreibung des AP als unerlässlich ansieht, konnte nunmehr experimentell gezeigt werden, daß zumindest die Schwellenspannungen und die Spitze des AP auf die spezielle Form der zeitunabhängigen Kennlinie zurückgehen, ja daß die Erregbarkeit überhaupt an die Existenz eines Abschnittes von stationären negativen Widerstand gebunden ist. So kann die Untersuchung der molekularen Leitfähigkeitsmechanismen bei der Erregung zunächst konzentriert werden auf die Frage des Leitungsmechanismus der stationären Strom-Spannungskennlinie allein.

Ein möglicher Weg zu diesem Ziel ist es, den Einfluß verschiedener Stoffe zu verfolgen, deren Gegenwart im Außenmedium die Erregbarkeit verändert. Unter den vielen bekannten Stoffen dieser Art ist eine Gruppe abgrenzbar, die den Verlauf der stationären Kennlinie beeinflusst und zwar überwiegend durch Verschiebung des Übergangsbereichs. Es sind dies die physikalisch-chemischen Veränderungen der Außenlösung, (z. B. der Osmolarität, Ionenkonzentration ins-

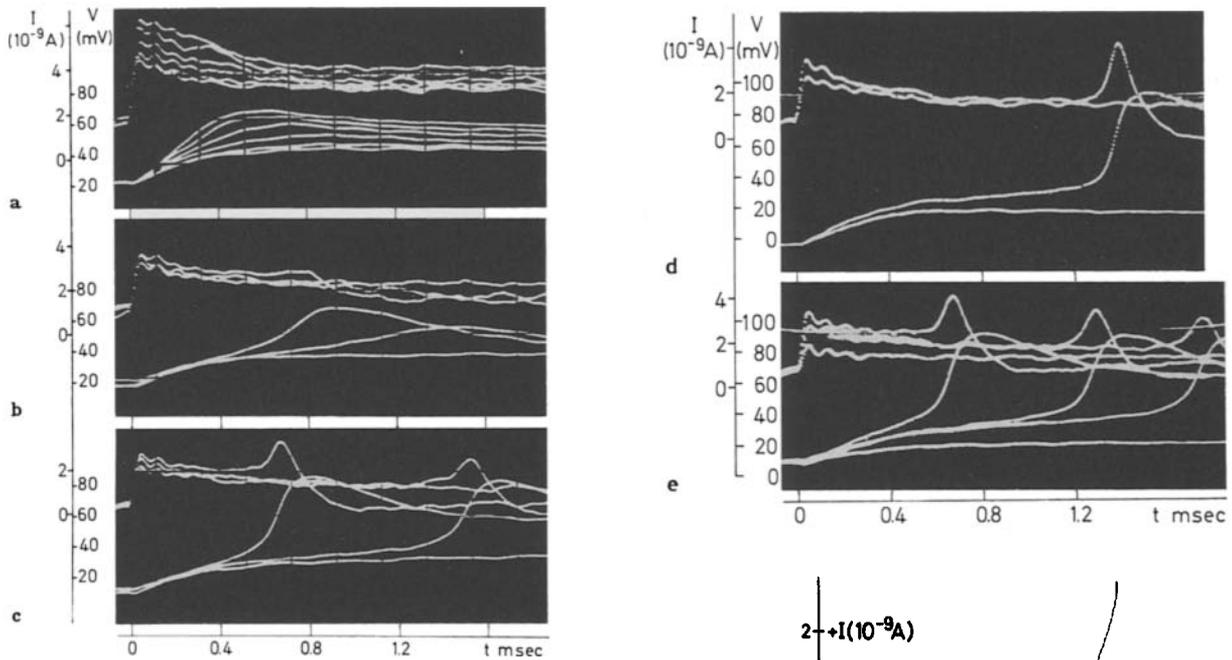


Abb. 8a-f. Strom- und Spannungsantworten des depolarisierten Schnürrings ( $80 \text{ mM/l } [K^+]_a$ ) auf Rheobasenreize ( $t_{\text{Reiz}} \ll 1 \text{ msec}$ ); Abhängigkeit der Antwortsignale vom stationären Arbeitspunkt. Ordinate: Strom (in  $10^{-9} \text{ A}$ ), obere Kurven, und Spannung (in mV) untere Kurven. Abszisse:  $t$  in msec. Die Lage der Arbeitspunkte, von denen die in a-c dargestellten Signale ausgelöst wurden in Teilabbildung f auf der gleichzeitig registrierten stationären Kennlinie durch senkrechte Striche markiert. (Originalreg. Schnürring 324/66). a  $V_P = +22,5 \text{ mV}$ ; keine AP, sondern ausschließlich unter-schwellige Erregungspotentiale (EP), b  $V_P = +17,5 \text{ mV}$ ; Differenz der AP- und EP-Amplituden sehr klein, kein „leerer Bereich“ zwischen AP- und EP-Spitzen-spannung. c  $V_P = +10 \text{ mV}$ , ausgeprägte AP. Verzögerungszeit wird mit abnehmender Reizstromamplitude größer

besondere  $H^+$ ,  $Ca^{++}$ , sowie Austausch des Lösungswassers gegen  $D_2O$ ). Einige dieser Stoffe können bei hinreichender Dosierung den Übergangsbereich soweit in Depolarisationsrichtung verschieben, daß der negative Widerstand verschwindet und völlige Unerregbarkeit eintritt. Der Übergangsbereich erscheint somit als gemeinsamer funktioneller Angriffspunkt einer großen Zahl verschiedenartig veränderter Außenmedien und es stellt sich sogleich die Frage, ob diese stofflichen Einwirkungen zugleich ähnliche strukturelle Veränderungen der Membran hervorrufen und den Untersucher so zu dem materiellen Substrat führen, das für die charakteristische Stromsteuerung der Membran verantwortlich ist.

3.1.7. Experimentelle Hinweise auf molekulare Mechanismen, die die stationäre Stromleitung der Membran bestimmen. Die zur Registrierung der stationären Kennlinie verwendete Meßmethode gestattet es, definierte elektrische Zustände beliebig lange festzuhalten, so daß deren Zusammenhang mit anderen als elektrischen Eigenschaften des Schnürrings gleichzeitig mit Hilfe unabhängiger, auch träge arbeitender Meßmethoden untersucht werden kann.

Da die erregbare Membran nach dem gegenwärtigen Stand unserer Kenntnis durch einen charakteristischen molekularen Ordnungszustand gekennzeichnet ist, nehmen wir an, daß ihr charakteristischer Leitfähigkeitsmechanismus weniger auf eine Funktion von Einzelmolekülen (etwa Carriermolekülen), als von Molekülverbänden zurückgeht und hier wiederum die Struktur des Molekülgitters entscheidend ist. Die Aufklärung des molekularen Mechanismus könnte also davon ausgehen,

Zuordnungen zwischen den Eigenschaften der elektrischen und der submikroskopischen Struktur festzustellen, z.B. aufgrund von Veränderungen der Feinstruktur, die die Verschiebung des Übergangsbereiches  $\Delta V_{Tr}$  regelmäßig begleiten.

Mikroskopische Beobachtungen des lebenden Schnürrings während des elektro-physiologischen Experiments liefern nun Hinweise dafür, daß Veränderungen des Strom-Spannungs-verhaltens von Feinstruktur-Veränderungen begleitet werden. Während der Einwirkung hyperosmotischer Lösungen treten die Phasengrenzen im mikroskopischen Bild des Schnürrings gegenüber der umgebenden Lösung deutlicher hervor. Das spricht für eine Zunahme des Brechungsindex durch Wasserabgabe des Baumaterials. Dieser Schluß wird wesentlich gestützt durch Verminderung des Faserdurchmessers, die bei Einwirkung stark hyperosmotischer Lösungen am mikroskopischen Bild deutlich meßbar wird; so ruft 3,5fache isotonische Lösung eine Schrumpfung von 20% des Faservolumens hervor (die gleichzeitig auftretende Längenzunahme von 3% hat nur geringen Einfluß auf das Ergebnis). Die gleiche  $\Delta V_{Tr}$ -Verschiebung von 12 mV wie diese 3,5fache isotonische Lösung ruft eine  $D_2O$ -Lösung hervor (Austausch des gesamten Lösungswassers gegen  $D_2O$ ). Überraschenderweise erhalten wir in der  $D_2O$ -Lösung auch eine gleichstarke Schrumpfung. Der Endzustand der  $\Delta V_{Tr}$ -Verschiebung wie auch der Schrumpfung wird in hyperosmotischer Lösung nach 60 sec, in  $D_2O$ -Lösung jedoch bereits nach 5 sec erreicht. Das deutet auf den unterschiedlichen Mechanismus des Wasserentzuges hin (osmotisch bedingter Wasserausstrom in hyperosmotischen, bzw. verringerte Löslichkeit der Eiweißkörper in  $D_2O$ -Lösungen). Auch wenn die  $\Delta V_{Tr}$ -Verschiebung in Depolarisationsrichtung (Schwellenanstieg) durch andere Ursachen hervorgerufen wird (Zunahme der  $[Ca^{++}]_a$ ,  $[H^+]_a$ , tritt eine Zunahme des Brechungsindex auf. Dagegen wird eine  $\Delta V_{Tr}$ -Verschiebung in Polarisationsrichtung (Abnahme der Schwellen-Spannung) durch

Ca<sup>2+</sup>-arme, alkalische, hypo-osmotische Lösungen von einer Abnahme des Brechungsindex begleitet, ein Ergebnis, das auf Quellung der Strukturen hinweist (Müller-Mohnssen, 1959, 1960).

Aus Nervenmaterial hergestellte kolloidale Lösungen, die überwiegend Myelin enthalten, werden durch diese Stoffe in der gleichen Richtung verändert, d.h. Stoffe, die  $\Delta V_{TR}$  in Depolarisationsrichtung verschieben, bewirken eine Abnahme des Dispersionsgrades (Dehydration des dispersen Materials), gegensätzlich wirkende eine Zunahme. Da die Einzellamelle des Parakristalls Myelin viele Eigenschaften mit der erregbaren Membran gemeinsam hat (Dicke, Anfärbbarkeit durch die in der Elektronenmikroskopie gebräuchlichen Imprägnierungsmittel, Dielektrizitätskonstante, elektrischer Widerstand etc.), ist es nicht ausgeschlossen, daß für die lebende Membran, die ja selbst einer Feinstrukturuntersuchung vorläufig noch nicht zugänglich ist, das gleiche Solvatationsverhalten gilt (Müller-Mohnssen, 1960).

Im Experiment zeigt sich, daß eine  $\Delta V_{TR}$ -Verschiebung in Depolarisationsrichtung von einer Zunahme, eine  $\Delta V_{TR}$ -Verschiebung in Polarisationsrichtung von einer Abnahme des Membranwiderstandes, zumindest im Bereich des niederohmigen Astes, begleitet wird; beide Parameter scheinen also nicht voneinander unabhängig zu sein. Als vorläufiges Ergebnis gilt, daß bestimmte elektrische Erscheinungen ( $\Delta V_{TR}$ -Verschiebung, Änderung des Membranwiderstandes) und bestimmte morphologische Erscheinungen (Änderung des Hydratationsgrades) miteinander verknüpft sind. Ob auch die Widerstandsänderungen, die bei der Normalfunktion durch Verschiebung der Membranspannung bedingt sind, von derartigen Feinstrukturveränderungen begleitet werden, ist noch ungeklärt. Neuere Ergebnisse von Keynes u.a. (1968) sprechen dafür. Die Autoren beobachteten am Myelin von Riesenfasern des Tintenfisches (Ioligo) während polarisierender elektrischer Impulse synchron ablaufend eine Zunahme der Doppelbrechung, bei depolarisierenden Impulsen eine Abnahme.

### 3.2. Zeitabhängige Parameter des Strom-Spannungsverhaltens

Ausgehend von dem stationären Strom-Spannungsverhalten der Membran kann das dynamische Strom-Spannungsverhalten mathematisch beschrieben werden, wenn man das in 2.1. und 3.2.4. erwähnte Ersatzschaltbild zugrundelegt, das die bekannten elektrischen Eigenschaften des Schnürrings wiedergibt. Durchgeführt wurden die Berechnungen für folgende durch die Neigung der Arbeitsgeraden unterschiedenen Spezialfälle (s.a. Albrecht-Bühler und Stanek, 1970). Für den Betrieb mit eingepprägtem Strom errechnen sich 1. das Aktionspotential und für den Betrieb mit eingepprägter Spannung 2. die Kurven des „voltage-clamp“-Experimentes. Es zeigt sich dabei, daß zur Beschreibung des dynamischen Membranverhaltens eine weitere Eigenschaft notwendig ist.

**3.2.1. Die 2. notwendige Bedingung für die Impulsregeneration.** Die folgende Abbildung (Abb. 9) zeigt das zuletzt (Abb. 8) beschriebene Experiment in anderer Registriertechnik. Stationäre Kennlinien bei 80 mM/l [K<sup>+</sup>]<sub>a</sub> und die im gleichen Experiment alternierend ausgelösten AP sind diesmal im gleichen Diagramm dargestellt, die AP jedoch ohne Stromregistrierung, also nur als Spannungs-Nadeln, die sich dem Bild der Kennlinie überlagern. Die Registrierung beginnt rechts mit dem niederohmigen Ast. Gleichzeitig werden in regelmäßiger Folge überschwellige depolarisierende Reize gegeben. Es ist deutlich zu sehen, daß im Bereich des niederohmigen Astes nur Reizmarken, jedoch keine AP ausgelöst werden. Sobald jedoch das Strom-Maximum überschritten und der Bereich des negativen Widerstandes erreicht ist, treten AP auf. Die Amplitude dieser AP ist zunächst sehr klein, nimmt aber mit zunehmender Polarisation der Membran zu. Sobald der

Arbeitspunkt des Strom-Maximum überschritten und den hochohmigen Ast erreicht hat, bleibt die Potentialspitze der AP auf einem konstanten Wert. Neben dem bekannten Ergebnis, daß nur dann AP auslösbar sind, wenn der Reiz nach Größe und Polarität ausreicht, um die Membranspannung in den Bereich des negativen Widerstandes zu verschieben, beobachten wir eine neue Erscheinung, nämlich daß der Verlauf der Hüllkurve über Basis- und Spitzenpotentiale dem Verlauf der stationären Kennlinie folgt. Allerdings handelt es sich,

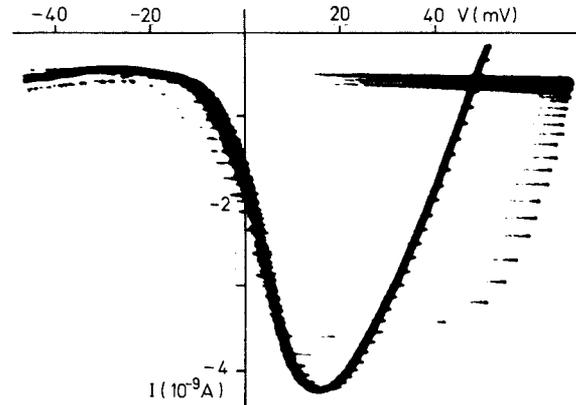


Abb. 9. Stationäre Strom-Spannungscharakteristik bei 80 mM/l [K<sup>+</sup>]<sub>a</sub> „überlagert“ durch AP (Originalregistrierung Schnürring 302/65). Im Gegensatz zur Kennlinie sind die AP in dieser Darstellung keine Ortskurven, sondern nur Spannungsregistrierungen, bezogen auf einen konstanten Stromwert. AP, deren Spitzenpotentiale rechts von  $R_{II}$  liegen und deren Umhüllende parallel zur  $R_{II}$  verläuft, sind von Arbeitspunkten im Bereich des negativen Widerstandes ausgelöst (auf dem niederohmigen Ast lediglich Reizartefakte). Dicht beieinanderliegende AP mit gleichen Spitzenspannungen sind von verschiedenen Arbeitspunkten auf dem hochohmigen Ast ausgelöst

wie man an der Verschiebung des Abszissen-Schnittpunktes erkennt, um eine für ein anderes Membranpotential und folglich für eine andere Ionensorte als K<sup>+</sup> geltende Kennlinie. Dieser Schluß ist statthaft, denn getrennt durchgeführte Strommessungen zeigen, daß die Spitzen der „Nadeln“ in Abb. 9 auch den wirklichen Stromwert richtig wiedergeben (Müller-Mohnssen, 1967).

**3.2.2. Die kurzzeitig fließenden Membranströme und ihre Veränderung durch pharmakologische Eingriffe.** Zusatz geringster Mengen eines Lokalanaestheticums zur Ringerlösung, wie z.B. Cocain, oder Tetrodotoxin blockiert die Erregbarkeit des Präparates vollständig. Obwohl die stationäre Kennlinie nahezu unverändert bleibt, verschwinden die schnellen regenerativen Spannungsänderungen vollständig; die als Umhüllende über die Spitzenpotentiale der Aktionsimpulse darstellbare zweite Kennlinie ist nicht mehr nachweisbar.

Beim normalen Erregungsablauf findet also offensichtlich eine Umschaltung von der Ringerkennlinie auf eine andere Kennlinie statt; diese Umschaltung wird durch Cocain verhindert. Durch Veratridin wird — wie wir gesehen haben — eine stationäre Umschaltung auf eine andere Kennlinie erzielt, die während der gesamten Einwirkungszeit dieses Giftes bestehen bleibt. Dadurch wirkt Veratridin ebenfalls als Lokalanaestheticum (wird allerdings als solches heute nicht

mehr verwendet). Neben den stationären Leitfähigkeitseigenschaften sind für die Impulsregeneration noch spezielle zeitabhängige Membraneigenschaften erforderlich, in die sich mit Cocain und Veratridin gezielt eingreifen läßt.

3.2.3. *Die Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-Selektivität.* Welches sind nun die Ladungsträger, die für den regenerativen Spannungsanstieg und damit für den Nachweis der 2. Kennlinie verantwortlich sind? Die in Abb. 10 dargestellten Reizantworten sind bei Bespülung des Präparates mit

Schwellenwert, erreicht das Spitzenpotential und kehrt über die Repolarisationsschwelle wieder zum Ruhepotential zurück. Eingangs haben wir gesehen, daß mit jedem Membranpotential eine spezielle Kennlinie verknüpft ist. Für die Vorgänge während des AP gilt also nicht eine einzige Kennlinie, etwa die des Modells (Abb. 2), sondern eine Zustandsfläche bestehend aus vielen verschiedenen Kennlinien, etwa mit dem Membranpotential als Scharparameter. Und zwar ist die Zustandsfläche, die das Strom-Spannungsverhalten

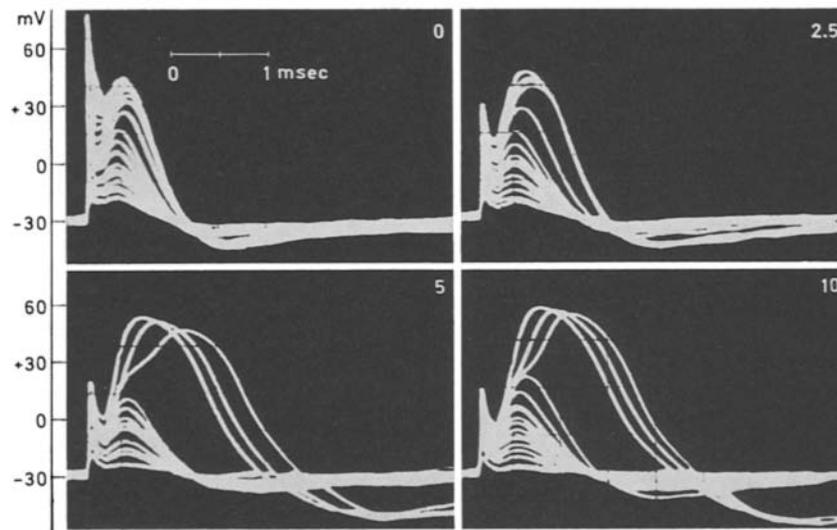


Abb. 10. Die regenerative Aktivität und ihre Abhängigkeit von der  $[Na^+]_o$  bei konstantem Arbeitspunkt ( $V_P = -30$  mV, Originalregistrierung, Schnürring 327/66). Jede Teildarstellung besteht aus Scharen der bei repetitiver Reizung und veränderter Reizstärke erhaltenen Einzelregistrierungen. Die Zahlen in der rechten oberen Ecke jeder Teildarstellung geben die  $[Na^+]_o$  in mM/l an. Bei 0 mM/l  $[Na^+]_o$  sind nur RP auslösbar, bei 2,5 mM/l entsteht ein Bereich mit geringer Signalfrequenz. Bei  $[Na^+]_o$  von 5 mM/l und mehr: deutliche regenerative Aktivität, gekennzeichnet durch den „leeren Bereich“ in den Registrierungen zwischen EP und AP

isotonischer KCL-Lösung aufgenommen, der verschiedene Mengen Na<sup>+</sup> zugesetzt waren (jeweils oben rechts im Bild angegeben). Wegen der gleichbleibenden  $[K^+]_o$  sind die stationären Kennlinien in allen Fällen gleich. Ist kein Na<sup>+</sup> in der Außenlösung vorhanden, so ist auch keine Regenerativität nachweisbar. Für die schnellen regenerativen Spannungsänderungen in der Anstiegsphase des AP ist offenbar Na<sup>+</sup> erforderlich. Es genügen dafür bereits geringste Mengen: 5 mM/l gegenüber 120 mM/l in der normalen Ringerlösung. Die Amplitude der AP und folglich auch der Verlauf der Umhüllenden über die Spitzenpotentiale erweist sich damit von  $[Na^+]_o$  in gleicher Weise abhängig wie die Veratridinkennlinie.

Die 2. für den Impulsbetrieb notwendige Eigenschaft der Membran besteht offenbar darin, daß sie zwischen Na<sup>+</sup> und K<sup>+</sup> unterscheiden kann. Die Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-Selektivität äußert sich dadurch, daß Na<sup>+</sup> sehr schnell durch die Membran fließen kann, während der K<sup>+</sup>-Strom verzögert wird. Die initiale Phase und die Spitze des Impulses werden überwiegend durch die Na<sup>+</sup>-Kennlinie bestimmt. Dann tritt verzögert der stationäre K<sup>+</sup>-Strom ein und stellt die Ruhebedingungen wieder her.

3.2.4. *Der Aktionsimpuls, dargestellt im Kennlinienbild.* Das Aktionspotential beginnt beim Wert des Ruhepotentials; die Spannung überschreitet den

der Membran während des AP bestimmt, nach der einen Seite durch eine Gleichrichterkennlinie (Gleichgewichtspotential der Ruhebatterie), und auf der anderen durch eine fallende Charakteristik (Gleichgewichtspotential der Aktionsbatterie) begrenzt (Abb. 11 a). Somit liegen die während des AP nacheinander eingenommenen Zustandspunkte auf einer Kurvenschar, die im Prinzip der während einer K<sup>+</sup>- oder Veratridin-Depolarisation stationär meßbaren Zustandsfläche gleicht.

Um eine anschauliche Modellvorstellung zu bekommen, wie ein depolarisierender Stromreiz eine Umschaltung von der Ruhekennlinie auf die fallende Charakteristik bewirken und damit die Bedingungen für eine regenerative Spannungsänderung herstellen kann, nehmen wir zunächst an, Ruhe- und Aktionsbatterien mit ihren zugehörigen Leitfähigkeiten seien in der Membran parallel zueinander geschaltet (Abb. 11 b). Ferner sei angenommen, daß der K<sup>+</sup>-Stromträger fließt als der Na<sup>+</sup>-Strom (Verzögerung des K<sup>+</sup>-Stromes, in Abb. 11 b und c, berücksichtigt durch das Schaltelement mit dem eingezeichneten VZ). Wenn wir einmal die Annahme einer „Na<sup>+</sup>-Inaktivierung“ unberücksichtigt lassen, errechnet sich die Membrankennlinie aus der Summe der Ströme durch beide Stromzweige. Im Ruhepotential überlagern sich der niederohmige Ast der Gleichrichterkennlinie und der

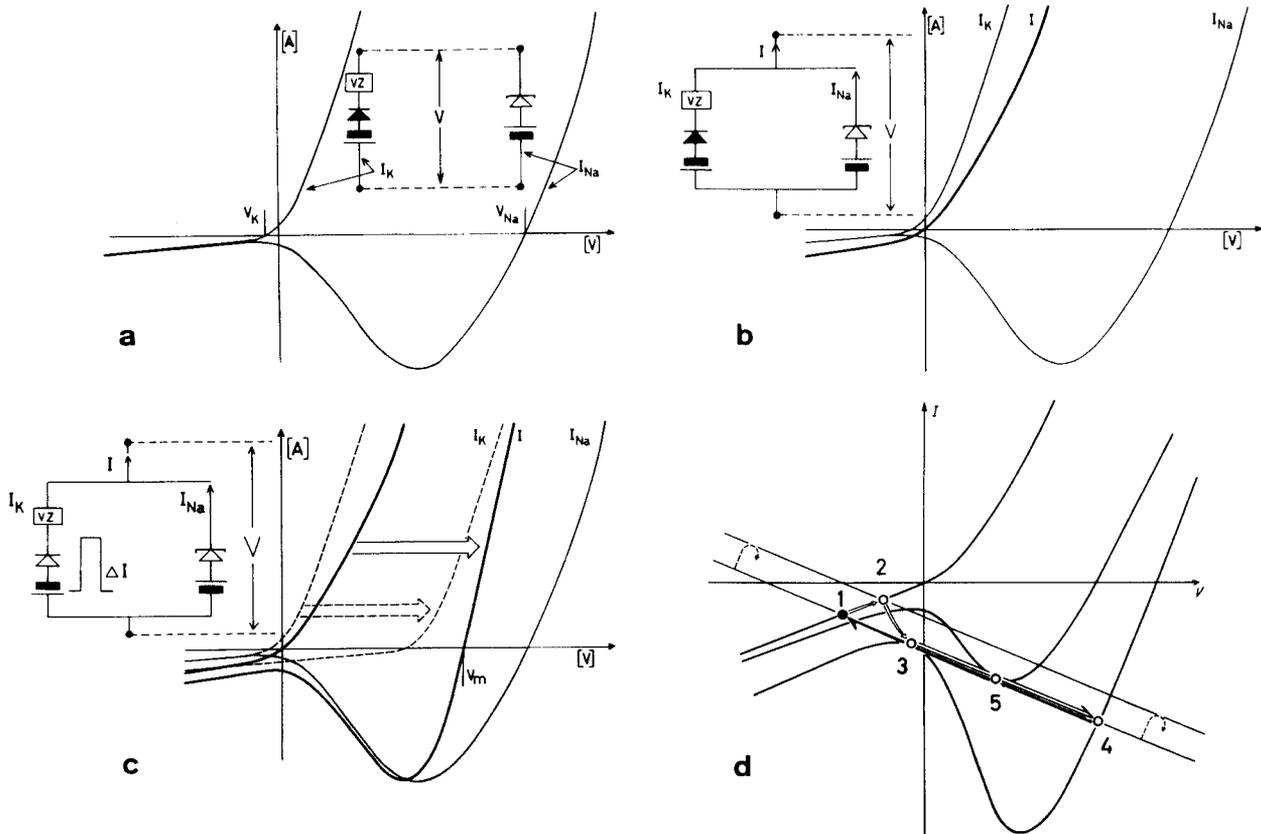


Abb 11a—d. Zustandsfläche der von Ringer-Lösung bespülten Membran und Darstellung der nach Reizung erfolgenden regenerativen Spannungsänderungen im Kennlinienfeld der Membran (schematisch). a Hypothetische Strom-Spannungsdiagramme der als getrennt gedachten Strom-Zweige, errechnet für die Gleichgewichtspotentiale  $V_K$  und  $V_{Na}$  eines mit Normal-Ringerlösung bespülten Schnürrings. Inset: vereinfachende Ersatzschaltbilder des  $Na^+$ - und  $K^+$ -Stromzweiges mit Schaltsymbolen für Spannungsquellen und nichtlineares Strom-Spannungsverhalten. Schaltsymbol mit eingezeichnetem  $VZ$  berücksichtigt Verzögerung des  $K^+$ -Stromes. Strom und Spannungsmeßorte sind gekennzeichnet. b Vereinfachendes Ersatzschaltbild der Membran entstanden durch Parallelschaltung der in a getrennt dargestellten Stromzweige. Summenkennlinie ergibt eine Gleichrichtercharakteristik: die Ringer-Kennlinie (fett ausgezogen). c Veränderung der Membranspannung in Depolarisationsrichtung durch einen stufen- oder rechteckförmigen Stromreiz. Wegen der Verzögerung kann der  $K^+$ -Strom durch eine Parallelverschiebung der  $K^+$ -Gleichrichtercharakteristik in Pfeilrichtung beschrieben werden. Die Summenkennlinie ist nun mehr eine fallende Charakteristik („Enthüllung“) der  $Na^+$ -Kennlinie. Durch Rückverschiebung der Gleichrichtercharakteristik in Polarisationsrichtung läßt sich in analoger Weise die Wiederverhüllung bei der Repolarisation konstruieren. d Spannungsänderungen während des AP im Kennlinienfeld (s. Pfeilrichtung). Regenerative Phasen durch fett ausgezogene Pfeile hervorgehoben. Punkt 1: Ruhe-Arbeitspunkt der Membran; 2 und 3: Depolarisation und Enthüllung der fallenden Charakteristik; 3: Ablösen des Arbeitspunktes von der enthüllten Kennlinie, regenerative Anstiegsphase des AP bis 4 auf der vollständig enthüllten Charakteristik; Wiederverhüllung der Kennlinie, passive Phase der Repolarisation; in 5: Ablösen des Arbeitspunktes, regenerative Phase der Repolarisation bis 1

Ast negativen Widerstandes; der Auswärtsstrom überwiegt. So ist die Summenkennlinie ebenfalls eine Gleichrichtercharakteristik: Ringer-Kennlinie. Ein positiver Stromreiz verursacht eine Verschiebung der Membranspannung in Depolarisationsrichtung (Abb. 11 c). Da der  $K^+$ -Strom auf einen Strom-Reiz hin, im Vergleich zum  $Na^+$ -Strom, verzögert einsetzt, kann man sein Verhalten für die Zeit unmittelbar nach Reizbeginn durch eine Verschiebung der Gleichrichtercharakteristik in Depolarisationsrichtung parallel zur Abszisse beschreiben. Nunmehr addiert sich der hochohmige Ast zum negativen Widerstand der fallenden Charakteristik, so daß der Einwärtsstrom überwiegt: die Summenkennlinie wird ebenfalls zu einer fallenden Charakteristik und die Bedingung für eine regenerative Spannungsänderung ist gegeben, die Anstiegsphase des AP läuft ab. Inzwischen steigt der verzögerte  $K^+$ -Strom an, darstellbar durch eine Rückverschiebung der Gleichrichtercharakteristik in Polarisationsrichtung: die fallende Charakteristik bricht in der gleichen Weise

wie sie sich aufgebaut hat wieder zusammen (Abb. 11 d). Es zeigt sich, daß das System dabei noch einmal regenerativ wird. Ein Spannungssprung in Polarisationsrichtung stellt den vorgespannten Ausgangszustand wieder her.

Bereits Bonhoeffer (1953) und Franck (1954) weisen auf die zentrale Bedeutung des negativen Widerstandes für die Erklärung der Impulsregeneration hin. So enthalten die Membranmodelle dieser Autoren als wesentlichen Bauteil ein Schaltelement mit einer fallenden Charakteristik, die indessen nicht nur während des Impulses, sondern auch im Ruhezustand vorhanden ist. Dies Modellverhalten weicht merklich vom Verhalten lebender Membranen ab. Darin mag der Grund zu suchen sein, warum diese Modelle von Experimentalphysiologen zu wenig beachtet werden.

3.2.5. *Beeinflussung des Impulsablaufs durch Veränderung der Ruhekennlinie.* Aus folgendem Experiment entnehmen wir qualitative Anhaltspunkte für

die Art der Rückschaltung von der fallenden Charakteristik auf die Gleichrichter Kennlinie und damit für das Zutreffen der in 3.2.4 dargestellten Betrachtungsweise auf die Vorgänge bei der Repolarisation.

Mit der im Abschnitt 3.1.5 erwähnten Apparatur wird der stationäre Arbeitspunkt einer Schnürringsmembran zwischen  $-40$  und  $+20$  mV in Stufen verändert und das von jedem Arbeitspunkt ausgelöste, frei ablaufende AP registriert (Abb. 12). Bei  $2,5$  mM/l  $[K^+]_a$  erfolgt die Repolarisation bis zur Spannung des

stationären negativen Widerstandes größer als die der Arbeitsgeraden für den Impulsbetrieb, so wirkt statt der Gleichrichtercharakteristik eine fallende Charakteristik als Ruhekennlinie — etwa von der Form der mittleren Kurve in Abb. 11d. Wenn man sich an Abb. 11d orientiert, so ist zu erkennen, daß die Arbeitsgerade für das AP je nach der Lage des Arbeitspunktes auf dem hochohmigen Ast entweder 3 Schnittpunkte oder nur einen Schnittpunkt mit der stationären Kennlinie hat. Im letzteren Fall ist ein monostabiles Ver-

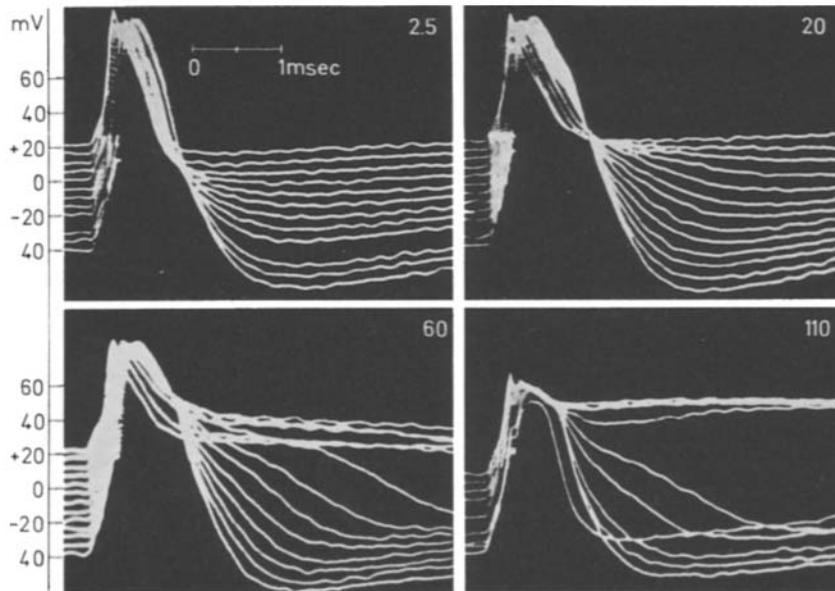


Abb. 12. Repolarisationsschwelle und „leerer Bereich“ in der 2. Repolarisationsphase. Aktionspotentiale, ausgelöst von verschiedenen Arbeitspunkten zwischen  $V_p = -40$  und  $+20$  mV bei normaler und erhöhter extracellulärer K-Konzentration. Isomotische Lösungen (K<sup>+</sup> gegen Na<sup>+</sup> äquimolar ausgetauscht). Eingesetzte Zahlen geben  $[K^+]_a$  in mM/l an. (Originalregistrierungen, Schnürring 337/66)

jeweiligen Arbeitspunktes nach der durch die Normaldauer des AP gegebenen Zeit. Bei  $60$  mM/l  $[K^+]_a$  und Arbeitspunkten oberhalb des Ruhepotentials, bzw. bei  $110$  mM/l und Arbeitspunkten oberhalb  $-10$  mV läuft die Repolarisation jedoch nicht mehr spontan ab. Es bleibt eine Differenz zwischen der Spannung des Arbeitspunktes und der nach dem Anstieg des Impulses vorhandenen Membranspannung bestehen (bistabiles Verhalten). Diese Spannungsdifferenz wird mit zunehmender  $[K^+]_a$  größer. Zwischen dem letzten AP, das noch mit selbständiger Repolarisation zu Ende läuft und den nicht repolarisierenden AP tritt in den Registrierungen (Abb. 12) ein „leerer Bereich“ auf, der um so breiter ist, je höher die  $[K^+]_a$  ansteigt. Dieser für ein Schwellenverhalten typische „leere Bereich“ deutet auf ein regeneratives Zurückspringen während der 2. Repolarisationsphase. Er ist auf diese Weise darstellbar, da die Schwellenbedingung für ein regeneratives Zurückspringen bei einigen der AP offensichtlich nicht mehr erfüllt ist, während ein regenerativer Anstieg noch möglich ist.

Aus 3.2.4 leitet sich für diese Erscheinung folgende Erklärung ab: Während der Ruhezustand bei den normalen AP durch eine Gleichrichter Kennlinie bestimmt wird, ist die Ruhekennlinie für die AP bei steigender  $[K^+]_a$  bereits selbst eine fallende Charakteristik. Wird die Steigung der Kennlinie im Bereich des

halten zu erwarten und wird auch tatsächlich beobachtet, d.h. die Repolarisation erfolgt spontan. Im ersten Fall sind 2 stabile Schnittpunkte der Arbeitsgeraden mit der Kennlinie vorhanden, d.h. neben dem durch die Apparatur eingestellten Arbeitspunkt auf dem hochohmigen Ast der Zweipolkennlinie existiert ein weiterer auf dem niederohmigen; der Zweipol zeigt jetzt bistabiles Verhalten, da zwischen den stabilen Zuständen ein instabiler liegt. In einem solchen Fall ist zwar eine regenerative Depolarisation, jedoch keine regenerative Repolarisation mehr zu erwarten, da der Impuls am zweiten durch die Arbeitsgerade gegebenen Arbeitspunkt auf dem niederohmigen Ast der stationären Kennlinie „stehen“ bleibt.

Um experimentell feststellen zu können, ob der von den nicht-repolarisierenden Impulsen angelaufene Strom-Spannungswert tatsächlich auf den niederohmigen Ast der stationären Kennlinie liegt, wurde der Aktionsimpuls als  $x-y$ -Registrierung im Kennlinienfeld dargestellt. Sofern das Strom-Spannungsverhalten während des Impulses frequenzgetreu wiedergegeben würde, liefe der Aktionsimpuls unmittelbar auf der Arbeitsgeraden. In unserem Zusammenhang ist ausschließlich die Lage der quasistationären Abschnitte der Impulse von Interesse. Um diese in den Registrierungen deutlich hervorzuheben, wurden die instationären Abschnitte durch geeignete Schaltele-

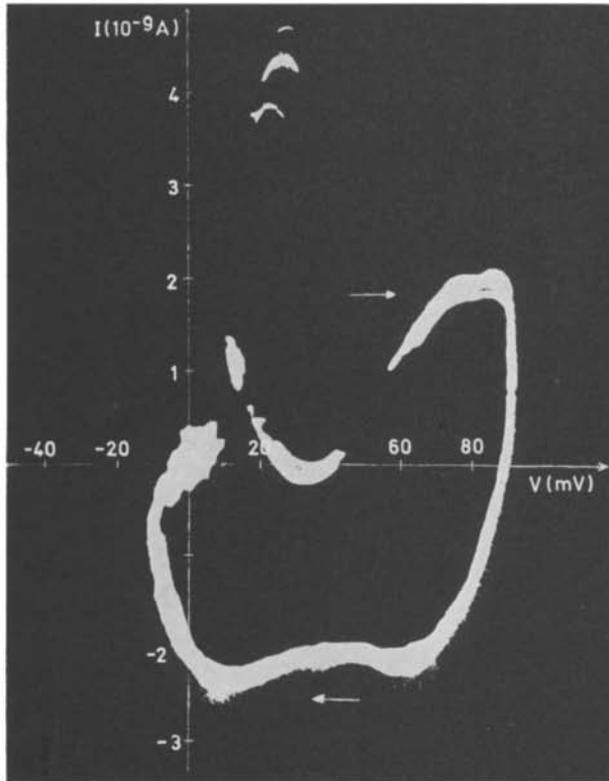


Abb. 13 a. Phasenkurve frei ablaufender Aktionsimpulse (Originalregistrierung, Übereinanderlagerung mehrerer Einzelimpulse bei repetitiver Reizung, Speicher-Oscillograph Tectronix 564, Schnürring 398/67). Depolarisations- und Repolarisationsphase des AP durch Pfeile gekennzeichnet, Depolarisationsphase nach rechts. a Phasenkurve bei Normal-Ringerlösung. Oberhalb der Phasenkurve Artefakte der Reizimpulse

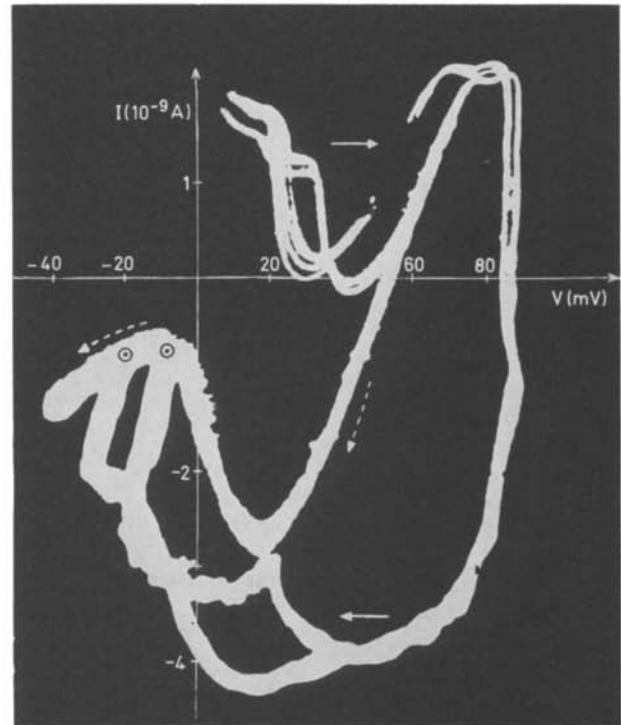


Abb. 13 c. Überlagerung der Registrierung von Abb. 13 b durch eine weitere Phasenkurve und zwar der eines Aktionsimpulses mit verzögerter 2-Repolarisationsphase (Arbeitspunkt  $-10$  mV). Man beachte die Berührung von Phasenkurve und stationärer Kennlinie im Bereich des Strom-Maximums

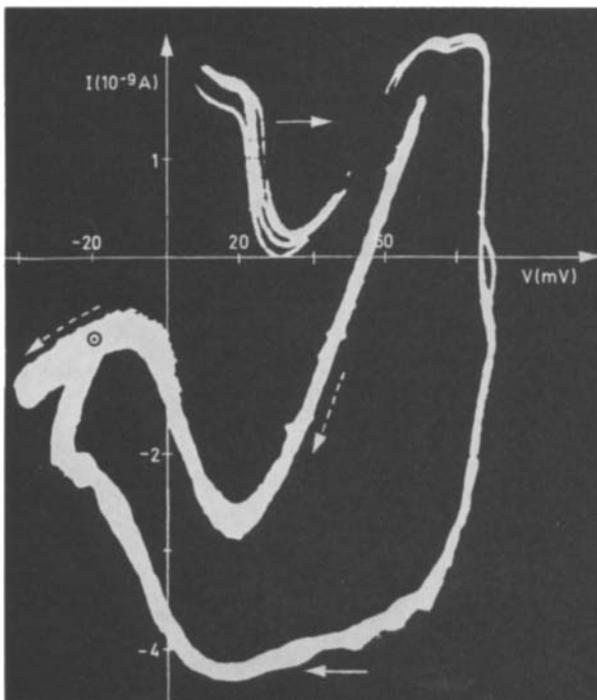


Abb. 13 b. Phasenkurve bei  $80$  mM/l  $[K^+]_a$  mit Darstellung der stationären Kennlinie (gestrichelte Pfeile geben Abtastrichtung der stationären Kennlinie an). Arbeitspunkt von dem der Aktionsimpuls ausgelöst wurde ( $-20$  mV) durch Kreis-Punkt auf der stationären Kennlinie gekennzeichnet

mente derart verzerrt und phasenverschoben wiedergegeben, daß ihre Kurven deutlich außerhalb der im gleichen Diagramm dargestellten stationären Kennlinie verlaufen („Phasenkurven“). Es wird dadurch erreicht, daß nur quasistationäre Abschnitte des Pulses die Kennlinie überhaupt berühren können.

Abb. 13 a zeigt die Phasenkurve eines Aktionsimpulses bei Bespülung des Schnürrings mit Normal-Ringerlösung. In Abb. 13 b sind Phasenkurve des Pulses und stationäre Kennlinie bei  $[K^+]_a = 80$  mM/l im gleichen Diagramm dargestellt. Der während des AP-Anstiegs registrierte Teil der Phasenkurve verläuft im Diagramm oberhalb, der während der Repolarisation registrierte unterhalb der stationären Kennlinie. Ähnlich wie die große Achse einer Phasenellipse liegt die stationäre Kennlinie annähernd als mittlere Kurve innerhalb der Phasenkurve des Impulses. Während selbständig repolarisierender Aktionsimpulse (Abb. 13 a und b) ist keine Berührung zwischen Phasenkurve und stationärer Kennlinie zu beobachten.

Wird der Arbeitspunkt gegenüber Abb. 13 b um wenige mV derart verschoben, daß in den Zeit-Registrierungen (analog Abb. 12) keine Repolarisation mehr beobachtet wird, läuft die Phasenkurve auf die stationäre Kennlinie zu (Abb. 13 c). Während der Impuls den Abschnitt der Repolarisationsphase mit der geringsten Änderungsgeschwindigkeit der Spannung und des Stromes durchläuft, berührt seine Phasenkurve die stationäre Kennlinie bei einem bestimmten zugeordneten Strom-Spannungswert auf dem niederohmigen Ast. Das Anlegen an einen Punkt der stationären

Kennlinie erfolgt bei kleiner Anstiegssteilheit der Spannung ( $dV/dt$ ) deswegen, weil die kapazitive Stromkomponente ( $I_c = C_s \cdot dV/dt$ ) dann gegen Null geht. Dadurch wird die Aufspaltung in Stromrichtung aufgehoben und vorübergehend ein quasistationärer Zustand erreicht, bis die Wirkung des Regelkreises überwiegt und den durch die Apparatur bestimmten Arbeitspunkt auf dem hochohmigen Ast wiederherstellt. Das Experiment zeigt durch den Anlegevorgang unmittelbar, daß dieser Zustand nach der im Abschnitt 3.2.4 besprochenen Weise durch die stationäre Kennlinie bestimmt wird.

Je weiter der stationäre Arbeitspunkt in Depolarisationsrichtung verschoben wird, um so weiter verschiebt sich auch der Strom-Spannungswert, der für Phasenkurve und Kennlinie gemeinsam ist, auf dem geradlinigen Abschnitt des niederohmigen Astes. Verbinden wir die Anlegepunkte der Phasenkurven für die verschiedenen Arbeitspunkte miteinander, so erhalten wir einen Abschnitt der stationären Kennlinie.

### Literatur

- Albrecht-Bühler, G.: Messung des  $Ca^{++}$ -Einflusses auf die stationäre Strom-Spannungscharakteristik des Ranvierschen Schnürrings. *Pflügers Arch. ges. Physiol.* **297**, 67 (1967).  
 —, Stanek, F. W.: Zusammenhänge zwischen den Reizantworten und der Strom-Spannungscharakteristik der erregbaren Membran am Ranvierschen Schnürring. *Z. Biophysik* **6**, 207—230 (1970).

- Balk, O., Müller-Mohnssen, H.: Nachweis einer fallenden Charakteristik an Ranvierknoten einzelner Nervenfasern. *Naturwissenschaften* **49**, 303—304 (1962).  
 — — Die stationäre Strom-Spannungscharakteristik des Ranvierschen Schnürrings. *Z. vergl. Physiol.* **52**, 56—78 (1966).  
 Bonhoeffer, K. F.: *Zit. nach K. S. Cole* 1968.  
 Cohen, L. B., Keynes, R. D.: Evidence for structural changes during the action potential in nerves from the walking legs of Maia and squid. *J. Physiol. (Lond.)* **194**, 85 (1968).  
 Cole, K., Marmont, G.: *J. cell. comp. Physiol.* **34**, 351 (1949).  
*Zit. nach Huxley, A. F.*, Excitation and conduction in nerve; Quantitative analysis. *Science* **145**, 1154—1159 (1964).  
 Cole, K. S.: *Membranes, ions and impulses*. Berkeley — Los Angeles 1968.  
 Franck, U. F.: Models for biological excitation processes. *Progr. Biophys.* **6**, 171—206 (1956).  
 Hodgkin, A. L., Huxley, A. F.: A quantitative description of membrane current and its application to conduction and excitation in nerve. *J. Physiol. (Lond.)* **117**, 500—544 (1952).  
 Müller-Mohnssen, H.: Kolloidchemische Untersuchungen zum Studium der Elektrolyt- und pH-Wirkung auf den Quellungs Zustand markhaltiger Nervenfasern. *Z. Zellforsch.* **54**, 27—44 (1960).  
 — Stationärer negativer Widerstand und Verstärkerfunktion des Ranvierschen Schnürrings. *Ber. Ges. für Strahlenforsch.* **B 137** (1967) (weitere Literatur).  
 Teorell, T.: Electrocinetic membrane processes in relation to properties of excitable tissues. *J. gen. Physiol.* **42**, 831—840 (1959).

Dr. H. Müller-Mohnssen  
 Gesellschaft für Strahlenforschung  
 Institut für Biologie  
 D-8042 Neuherberg bei München  
 Ingolstädter Landstr.

## Mean and Variance of the Number of Renewals of a Censored Poisson Process

E. A. TRABKA and E. W. MARCHAND

Research Laboratories, Eastman Kodak Company, Rochester, N.Y. 14650, U.S.A.

Received June 20, 1970

*Summary.* Expressions are derived for computing the mean and variance of the number of renewals in observation times of any length and for any values of the scaling parameter of the censored Poisson process. These results depend on certain identities involving the complex roots of unity. Computations show the oscillatory behavior to be expected when the average interval between renewals of the censored Poisson process is of the order of the observation time. Both ordinary and equilibrium renewal processes are considered.

### 1. Introduction

The simplest and most important family of renewal processes is the Erlangian family for which the probability density function of the time between renewals is given by

$$f(x) = \frac{m^r x^{r-1} e^{-mx}}{(r-1)!} \quad (1)$$

The random variable  $x$  can be interpreted as the time to the  $r$ -th renewal of a Poisson process with an average rate of  $m$  renewals per unit time. Consequently, we have an Erlang process whenever a Poisson process is censored so that only every  $r$ -th renewal remains. Barlow (1965), on the basis of physiological measurements, has suggested that such a mechanism may play a role in visual adaptation. In view of the importance of the censored Poisson process, it is desirable to have explicit expressions for calculating its renewal statistics for arbitrary  $r$  and any observation time.

The quantities of interest are the mean number  $H(t)$  of renewals in an interval  $(0, t)$ , the renewal density  $h(t)$ , where  $h(t)\Delta t$  gives the probability of a renewal in  $(t, t + \Delta t)$ , and the variance  $V(t)$  of renewals in the interval  $(0, t)$ . It is well known (Cox, 1967) that the latter can be expressed as

$$V(t) = \psi(t) - H(t) - H^2(t), \quad (2)$$

where  $H(t)$  and the auxiliary function  $\psi(t)$  are given below in terms of their Laplace transforms  $H^*(s)$  and  $\psi^*(s)$ , which in turn depend on the Laplace transform of the gap distribution given in (1), namely,

$$f^*(s) = \frac{m^r}{(s+m)^r} \quad (3)$$

### 2. Ordinary Renewals

When the origin of the counting interval coincides with a renewal we are dealing with an ordinary renewal process, which we denote by the subscript 0. We know (Cox, 1967) that

$$H_0^*(s) = \frac{f^*(s)}{s\{1-f^*(s)\}} = \frac{m^r}{s\{(s+m)^r - m^r\}} \quad (4)$$

and

$$\psi_0^*(s) = \frac{2f^*(s)}{s\{1-f^*(s)\}^2} = \frac{2m^r(s+m)^r}{s\{(s+m)^r - m^r\}^2} \quad (5)$$