

Aus dem Physiologischen Institut der Universität des Saarlandes

## **Das Aktionspotential des isolierten Ranvierschen Schnürrings bei Erhöhung der extracellulären Wasserstoffionen-Konzentration in calciumhaltigen und calciumarmen Lösungen \***

Von  
**R. HEENE**

Mit 5 Textabbildungen

*(Eingegangen am 28. Dezember 1961)*

Über die Wirkung von Wasserstoffionen auf die erregbare Membran von Nerv und Muskel liegen bereits zahlreiche Untersuchungen vor. Am Warmblüternerven und an der isolierten Einzelfaser des Frosches nimmt die Reizschwelle bei Erhöhung des  $\text{CO}_2$ -Druckes und bei Erhöhung der extracellulären Wasserstoffionen-Konzentration zu (LEHMANN 1937; NIEDERGERKE u. STÄMPFLI 1953; CORABOEUF u. NIEDERGERKE 1953).  $\text{pH}$ -Erniedrigung in der Außenlösung führt am N. tibialis des Frosches zu einer geringen, langsamen Depolarisation (DETTBARN u. STÄMPFLI 1957); eine stärkere Depolarisation wird am Riesenaxon des Tintenfisches beobachtet (SPYROPOULOS 1960). Diese Änderungen des Membranpotentials könnten auf eine Abnahme der Kaliumpermeabilität zurückgeführt werden; dafür spräche die Abnahme der Kaliumdepolarisation in saurer Ringer-Lösung (DETTBARN u. STÄMPFLI 1957) sowie die Erhöhung des Membranwiderstandes von Muskelfasern (MEVES u. VÖLKNER 1958).

Die Amplitude des Aktionspotentials des Kaltblüternerven (NIEDERGERKE 1951) und die Amplitude des Aktionsstroms der markhaltigen Einzelfaser (MEVES u. SAUERLAND 1959) nehmen in saurer Ringer-Lösung zu, während beim Riesenaxon des Tintenfisches (SPYROPOULOS 1960) umgekehrt eine Abnahme der Amplitude des Aktionspotentials auftritt. Außerdem erfolgt im sauren  $\text{pH}$ -Bereich eine Verlängerung des Aktionsstroms (MEVES u. SAUERLAND 1959). Die Leitungsgeschwindigkeit nimmt mit steigendem extracellulären  $\text{CO}_2$ -Druck (NIEDERGERKE 1951) und bei Erhöhung der extracellulären Wasserstoffionen-Konzentration ab (MEVES 1955).

---

\* Mit Unterstützung durch die Deutsche Forschungsgemeinschaft. Die Ergebnisse wurden im Auszug auf dem Kongreß der Deutschen Physiologischen Gesellschaft, Zürich 1961, und auf dem Internationalen Kongreß für Biophysik, Stockholm 1961, vorgetragen.

Der  $p_H$ -Wert im Axoplasma, der beim Tintenfischaxon mit Hilfe intracellulär injizierter Farbindicatoren oder intracellulärer Glaselektroden gemessen werden kann, ändert sich selbst bei starker Erniedrigung des  $p_H$ -Wertes der Außenlösung nicht oder nur sehr wenig (ARVANITAKI u. CHALAZONITIS 1954; CALDWELL 1958; SPYROPOULOS 1960). Die Befunde über die Wirkung der Wasserstoffionen auf den peripheren Nerven sind deshalb im wesentlichen auf Veränderungen der Ionenpermeabilität der erregbaren Membran zurückzuführen. Die Wirkungen saurer Außenlösungen auf den Nerven stimmen weitgehend mit den bei Erhöhung der Calciumkonzentration beobachteten Effekten überein; insbesondere wird sowohl durch Erhöhung des  $CO_2$ -Druckes oder Erniedrigung des  $p_H$ -Wertes als auch durch Erhöhung der Calciumkonzentration die Spontanaktivität des Nerven unterdrückt, d. h. die „Dämpfung“ des Nerven erhöht (MONNIER 1955). Es wurde daher bereits von früheren Untersuchern (z. B. LEHMANN 1937; BRINK 1951) darauf hingewiesen, daß ein Teil der beobachteten  $H^+$ -Ionen-Effekte unter Umständen auf eine Veränderung der Calciumionen-Aktivität in der Membran zurückgeführt werden könne.

Die in der vorliegenden Arbeit beschriebenen Untersuchungen gehen von der Frage einer möglichen Beteiligung der Calciumionen an den  $H^+$ -Ionen-Effekten aus. Zur Klärung dieser Frage wurden die Veränderungen des Aktionspotentials gespülter Ranvierscher Schnürringe bei Erniedrigung des  $p_H$ -Wertes von calciumhaltiger und calciumarmer Ringer-Lösung untersucht. Dabei wurde besonders das Verhalten der Repolarisationsphase verfolgt. Die erhaltenen Befunde sprechen dafür, daß die bei mäßiger  $p_H$ -Erniedrigung beobachteten Effekte auf einer Erhöhung der Calciumaktivität in der Membran beruhen, während bei stärkerer  $p_H$ -Erniedrigung eine entgegengesetzte Eigenwirkung der  $H^+$ -Ionen anzunehmen ist. Außerdem gestattet die von uns verwendete Versuchsanordnung, Aussagen über das Verhalten des Schwellenpotentials bei erniedrigtem  $p_H$ -Wert zu machen, während von früheren Untersuchern lediglich die Veränderungen der Schwellenreizstärke bestimmt werden konnten.

### Methodik

Die Versuche wurden mit der Methode des gespülten Schnürrings (STÄMPFLI 1956) an einzelnen motorischen Nervenfasern von *R. esculenta* durchgeführt. Der mittlere von drei freipräparierten Ranvierschen Schnürringen wurde im Axialstrom eines Polyäthylenröhrchens über einen Umschalthahn (KILB u. STÄMPFLI 1956) wahlweise mit Bezugs- oder mit Testlösung gespült. Beiderseits des untersuchten Schnürrings wurden die Außenwiderstände durch je einen Luftspalt stark erhöht. Die benachbarten Schnürringe wurden durch Cocain-Ringer-Lösung narkotisiert. Zwischen dem mittleren Schnürring und dem einen Nachbarschnürring wurde die Reizspannung (Rechteckimpulse von 0,1–0,2 msec Dauer, Reizfrequenz 1/sec) zugeführt. Die Ableitung des Aktionspotentials, dessen Amplitude 70–100 mV

betrug, erfolgte zwischen dem mittleren Schnürring und dem anderen Nachbarschnürring. Als Elektroden wurden unpolarisierbare Ag-AgCl-Elektroden verwendet, die über KCl-gesättigte Agar-Brücken mit dem Präparat leitend verbunden waren. Die Aktionspotentiale wurden durch einen Gleichspannungsverstärker mit Kathodenfolgereingang (J. F. Tönnies) verstärkt, auf dem Schirm eines Oscillographen (Dumont-333) dargestellt und photographisch registriert.

**Lösungen.** Die phosphatgepufferte Ringer-Lösung von  $p_H$  7 enthielt pro Liter: 108,6 mMol NaCl, 2,5 mMol KCl, 1,08 mMol  $CaCl_2$ , 2,37 mMol  $(HPO_4^{2-} + H_2PO_4^-)$  und 1,88 mMol NaOH. Die Einstellung der verschiedenen  $p_H$ -Werte zwischen 7 und 4,8 wurde durch verminderten NaOH-Zusatz im Ausgleich gegen osmolare Äquivalente NaCl erreicht. Der  $p_H$ -Wert wurde unmittelbar nach jedem Versuch mit einer Glaselektrode (Metrohm) bestimmt. Das Ionenprodukt des sekundären Calciumphosphats lag mit höchstens  $2,5 \cdot 10^{-6}$  noch unter dem mit  $5 \cdot 10^{-6}$  angegebenen Löslichkeitsprodukt (BARTON 1927). Die Lösungen blieben auch nach längerem Stehen klar. In den als calciumarm bezeichneten Lösungen wurde  $CaCl_2$  durch NaCl ersetzt. Ihr flammenphotometrisch bestimmter Calciumgehalt betrug noch 0,03–0,05 mMol/l. Die Lösungen, deren Temperatur  $22^\circ C$  betrug, standen mit Luft im Gleichgewicht. In orientierenden Vergleichsversuchen wurden phosphatgepufferte Ringer-Lösung mit erhöhter Calciumkonzentration (1,6 mMol/l) oder erhöhter Phosphatkonzentration (4 mMol/l), bicarbonatgepufferte Ringer-Lösung von  $p_H$  7 und ungepufferte, saure Ringer-Lösung verwendet.

## Ergebnisse

### 1. Verhalten des Ruhe- und Schwellenpotentials sowie der Anstiegssteilheit und der Amplitude des Spitzenpotentials bei verschiedenen $p_H$ -Werten

Erniedrigung des  $p_H$ -Wertes führte unterhalb  $p_H$  6,5–6,0 in einem Teil der Versuche zu einer Depolarisation um höchstens 3 mV. Das Schwellenpotential für die Auslösung einer Alles-oder-Nichts-Antwort stieg bei  $p_H$ -Werten unterhalb 6,5 deutlich an. Auch bei  $p_H$  4,8 war mit starken Reizen noch eine Alles-oder-Nichts-Antwort auslösbar, während

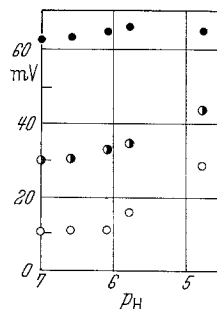


Abb. 1. Abhängigkeit der Amplitude des Spitzenpotentials (●), der Depolarisationsschwelle (○) und der Repolarisationsschwelle (◐) vom  $p_H$ -Wert der Ringer-Lösung. Die Depolarisationsschwelle für die Auslösung einer Erregung ist gleich der Maximalhöhe der unterschwelligen Erregung, die Repolarisationsschwelle ist gleich dem Membranpotential am Ende der 1. Repolarisationsphase. Mit sinkendem  $p_H$ -Wert nehmen De- und Repolarisationsschwelle etwa gleich stark zu, die Amplitude des Spitzenpotentials wird etwas größer (Versuch vom 28. April 1960;  $[Ca^{++}]_e = 1,08$  mMol/l;  $22^\circ C$ )

bei niedrigeren  $p_H$ -Werten nur noch eine unterschwellige Erregung auftrat. Die Rückkehr des Membranpotentials auf den Ruhewert nach einer unterschwelligen Erregung verlief bei niedrigem  $p_H$ -Wert verzögert. Die Amplitude des Spitzenpotentials nahm in saurer Lösung etwas zu. Die Anstiegssteilheit war bei  $p_H$ -Werten unter 5 herabgesetzt, jedoch erlaubte der begrenzte Frequenzgang des Registriersystems keine quantitativen Aussagen über Veränderungen der Anstiegssteilheit.

Die beschriebenen Veränderungen sind in Abb. 1 und 2 dargestellt. In insgesamt sieben Versuchen betrug die Zunahme der Amplitude des Spitzenpotentials in saurer Ringer-Lösung ( $p_H$  6,5–4,8) 3–7%. Die Effekte waren nach 20 sec dauernder Bespülung mit saurer Lösung längst voll ausgebildet und gingen nach Rückschalten auf neutrale Ringer-Lösung innerhalb der gleichen Zeit vollständig zurück.

In calciumarmen Lösungen war bei neutraler Reaktion die Amplitude des Spitzenpotentials um 11% erniedrigt. Senkung des  $p_H$ -Wertes führte ebenso wie in calciumhaltiger Lösung zu einer Zunahme des Spitzenpotentials. In zwei Versuchen betrug der Amplitudenunterschied zwischen calciumhaltiger und calciumarmer Lösung bei  $p_H$  7,10 bzw. 6 mV, bei  $p_H$  4,8 dagegen nur noch 4 bzw. 2 mV. In saurer Außenlösung wird also die Amplitude des Aktionspotentials unempfindlicher gegen Calciummangel im Außenmedium.

## 2. Verhalten der Repolarisationsphase bei verschiedenen $p_H$ -Werten

Am stärksten wirkte sich eine Erhöhung der extracellulären Wasserstoffionen-Konzentration  $[H^+]_e$  auf die Repolarisationsphase des

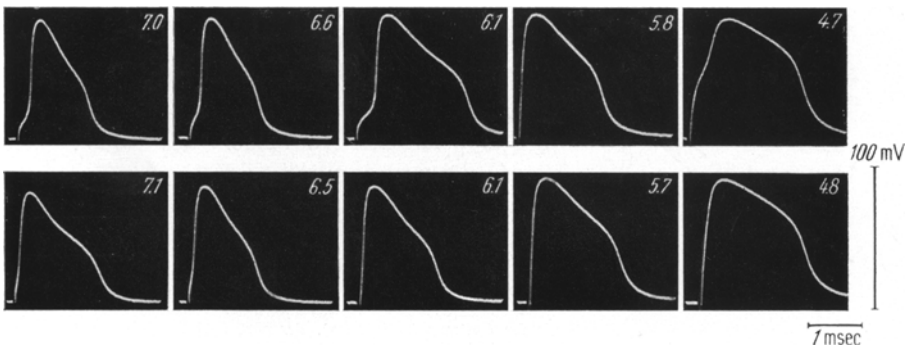


Abb. 2. Veränderung des Aktionspotentials bei  $p_H$ -Erniedrigung in calciumhaltiger Ringer-Lösung ( $[Ca^{++}]_e = 1,08 \text{ mMol/l}$ ) (obere Reihe) und in calciumarmer Ringer-Lösung ( $[Ca^{++}]_e = 0,05 \text{ mMol/l}$ ) (untere Reihe). Die  $p_H$ -Werte sind angegeben. Man erkennt die Verlängerung des Aktionspotentials, den Anstieg der Depolarisations- und der Repolarisationsschwelle und die leichte Zunahme des Spitzenpotentials mit sinkendem  $p_H$ -Wert. Bei neutraler Reaktion ist das Aktionspotential in calciumarmer Ringer-Lösung kleiner und länger als in calciumhaltiger Ringer-Lösung. Die Calcium-Mangelwirkung wird durch Erniedrigung des  $p_H$ -Wertes der calciumarmen Lösung auf 6,5 aufgehoben (Versuch vom 26. April 1960; 22°C)

Aktionspotentials aus. Es kam zu einem deutlichen Anstieg der Repolarisationsschwelle, die als Knick im abfallenden Schenkel des Aktionspotentials hervortritt. Die Steilheit des Potentialabfalls in der ersten Teilphase der Repolarisation (AP-Spitze bis zum Knick) und in der zweiten Teilphase der Repolarisation (Knick bis AP-Ende) nahm bei Erniedrigung des  $p_H$ -Wertes von 7,0 auf 6,5 etwas zu, bei stärkerer  $p_H$ -Erniedrigung deutlich ab.

Diese Veränderungen sind aus den Registrierungen in Abb. 2 zu erkennen. Abb. 3 zeigt zwei übereinandergezeichnete Aktionspotentiale bei  $p_H 7$  und bei  $p_H 5,8$ . In dieser Abbildung sind die Größen  $h$ ,  $s$  und  $t$  eingetragen, die zur quantitativen Auswertung der Versuche bestimmt wurden:  $h$  ist die Repolarisationsschwelle, ermittelt aus dem Schnittpunkt der Tangenten, die an die erste und an den steilen Anfangsteil der zweiten Repolarisationsphase gelegt wurden;  $s$  ist die Steilheit der ersten

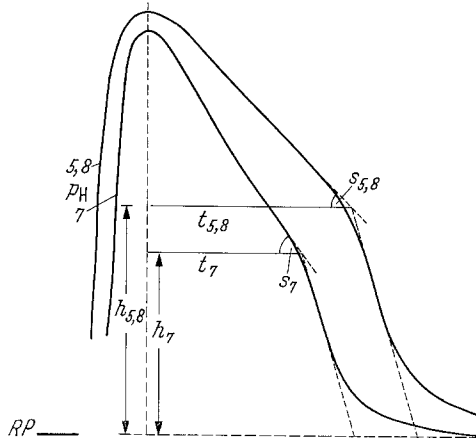


Abb. 3. Überlagerung gezeichnete Aktionspotentiale bei  $p_H 7$  und  $p_H 5,8$ . Zur quantitativen Auswertung der Versuche wurden Repolarisationsschwelle ( $h$ ), Steilheit der 1. Repolarisationsphase ( $s$ ) und Dauer der 1. Repolarisationsphase ( $t$ ) ausgemessen. Indizes bezeichnen  $p_H$ -Werte (Versuch vom 26. April 1960; 22°C)

Teilphase der Repolarisation,  $t$  ihre Dauer. Außerdem wurden die in der zweiten Teilphase der Repolarisation gemessenen Potentialwerte halblogarithmisch gegen die Zeit aufgetragen. Daraus ergaben sich Kurven, die sich durch drei Teilgeraden verschiedener Steilheit angenähert als  $e$ -Funktionen (Zeitkonstanten  $\tau_1, \tau_2, \tau_3$ ) beschreiben ließen.

Die bei der quantitativen Auswertung der ersten Teilphase der Repolarisation gefundenen Werte sind in Abb. 4 graphisch dargestellt. Die Abbildung zeigt, daß die Repolarisationsschwelle  $h$  im gesamten Bereich mit sinkendem  $p_H$ -Wert ansteigt. Die Steilheit  $s$  der ersten Repolarisationsphase nimmt bei Erniedrigung des  $p_H$ -Wertes auf 6,5 ebenfalls zu, bei stärkerer  $p_H$ -Erniedrigung dagegen ab. Spiegelbildlich verhält sich die Dauer  $t$  der ersten Repolarisationsphase, die durch die Steilheit  $s$ , außerdem durch die Höhe des Spitzenpotentials und die Höhe der Repolarisationsschwelle  $h$  bestimmt wird.

Die Veränderungen in der zweiten Teilphase der Repolarisation waren weniger deutlich als in der ersten. Bei Ausmessung der Zeitkonstanten  $\tau_1, \tau_2$  und  $\tau_3$ , deren Mittelwerte in neutraler Ringer-Lösung 0,24, 0,38 und 0,54 msec betrugen (Mittelwerte aus sieben Versuchen),

ergab sich eine Zunahme der Zeitkonstanten bei  $p_H$ -Werten unterhalb 6,5; die Zunahme betrug für  $\tau_1$  und  $\tau_2$  im Mittel 15% und für  $\tau_3$  20–50%. Die Repolarisation verläuft also unterhalb  $p_H$  6,5 auch in der zweiten Teilphase verzögert.

Calciumarme Lösung von neutraler Reaktion bewirkte eine Erniedrigung der Repolarisationsschwelle  $h$  um 12%, eine Abnahme der

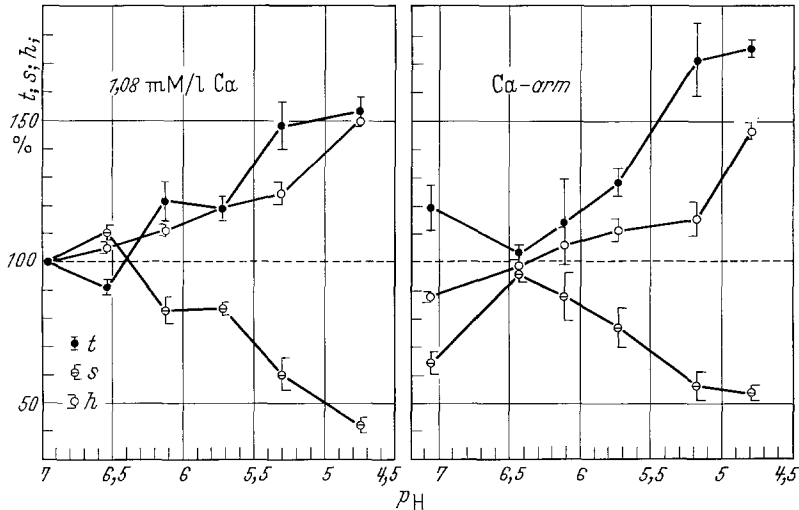


Abb. 4. Abhängigkeit der Repolarisationsschwelle  $h$  sowie der Steilheit  $s$  und der Dauer  $t$  der 1. Repolarisationsphase vom  $p_H$ -Wert in calciumhaltiger und calciumarmer Ringer-Lösung. Die bei  $p_H$  7 in calciumhaltiger Ringer-Lösung gemessenen Werte von  $h$  (38 mV),  $s$  (61 V/sec) und  $t$  (0,64 msec) wurden gleich 100% gesetzt. Die Meßpunkte sind Mittelwerte ( $\pm$  mittlerer Fehler) aus sieben Versuchen. Die Repolarisationsschwelle  $h$  nimmt in calciumhaltiger und calciumarmer Ringer-Lösung mit sinkendem  $p_H$ -Wert zu. Die Steilheit  $s$  nimmt in beiden Lösungen zunächst zu, dann ab; die Dauer  $t$  verhält sich dazu spiegelbildlich. Bei neutraler Reaktion führt Calciumentzug zu einer Abnahme von  $h$  und  $s$  und zu einer Zunahme von  $t$ . Die Veränderungen sind statistisch gesichert ( $p$ -Werte zwischen  $p < 0,001$  und  $p < 0,05$ )

Steilheit  $s$  der ersten Teilphase um 34% und eine Zunahme ihrer Dauer  $t$  um 21% der in calciumhaltiger Lösung gemessenen Werte (Mittelwerte aus sieben Versuchen). Diese Veränderungen, die zu einem plateauförmigen Verlauf der Repolarisationsphase führen, sind aus Abb. 2 und 4 erkennbar. Die zweite Teilphase der Repolarisation zeigte keine sicheren Veränderungen.

Erniedrigung des  $p_H$ -Wertes in calciumarmer Lösung hatte die gleichen Wirkungen wie bei normaler Calciumkonzentration: Die Repolarisationsschwelle  $h$  nahm zu, die Steilheit der ersten Repolarisationsphase wurde bei Erniedrigung des  $p_H$ -Wertes von 7 auf 6,5 größer und nahm bei weiterer  $p_H$ -Erniedrigung deutlich ab. Die Dauer  $t$  der ersten Repolarisationsphase verhielt sich wiederum spiegelbildlich zu  $s$  (Abb. 4). Die Zeitkonstanten  $\tau_1$ ,  $\tau_2$ ,  $\tau_3$  der zweiten Repolarisationsphase zeigten ebenso wie in calciumhaltiger Lösung mit sinkendem  $p_H$ -Wert eine

Zunahme, die in diesem Falle schon bei  $p_H$  6,5 deutlich wurde. Da auch die Amplitude des Spitzenpotentials bei Erniedrigung des  $p_H$ -Wertes der calciumarmen Lösung von 7 auf 6,5 zunimmt, gleicht der Potentialverlauf in calciumarmer Lösung von  $p_H$  6,5 weitgehend demjenigen in calciumhaltiger Lösung von  $p_H$  7. Dies wird durch Abb. 2 eindeutig belegt. Durch Erniedrigung des  $p_H$ -Wertes von 7 auf 6,5 wird also die in neutraler Ringer-Lösung beobachtete Calcium-Mangel-Wirkung aufgehoben. Die Amplitude des Spitzenpotentials und die in der ersten Repolarisationsphase gemessenen Werte für  $h$ ,  $s$  und  $t$  waren ab  $p_H$  5,7 in calciumarmen und calciumhaltigen Lösungen gleicher Wasserstoffionen-Konzentration gleich groß, d.h. durch Erniedrigung des  $p_H$ -Wertes unter 6 wird der Potentialverlauf unabhängig von der Calciumkonzentration im Außenmilieu.

Ebenso wie die Calcium-Mangel-Wirkung ist auch die Wirkung erhöhter Kaliumaußenkonzentration im Säuren geringer; wie Abb. 5 zeigt, fehlt die Herabsetzung der Amplitude und Dauer des Spitzenpotentials, die bei  $p_H$  7 nach Umschalten auf Ringer-Lösung mit 10 mMol/l Kalium beobachtet wird, bei niedrigem  $p_H$ -Wert (5,7) fast ganz.

Gleichartige Wirkungen wurden in orientierenden Vergleichsversuchen mit phosphatfreier, saurer Ringer-Lösung beobachtet.

### Diskussion der Ergebnisse

Die Versuche zeigen, daß Erniedrigung des  $p_H$ -Wertes von 7 auf 6,5—4,8 zu einer Erhöhung der Depolarisations- und Repolarisationsschwelle führt, ohne daß eine nachweisbare Änderung des Ruhepotentials eintritt. Die Amplitude des Spitzenpotentials nimmt in saurer Ringer-Lösung leicht zu. Die Dauer der abfallenden Phase des Aktionspotentials wird bei Erniedrigung des  $p_H$ -Wertes auf 6,5 etwas verkürzt, bei stärkerer  $p_H$ -Erniedrigung dagegen deutlich verlängert; diese Veränderungen

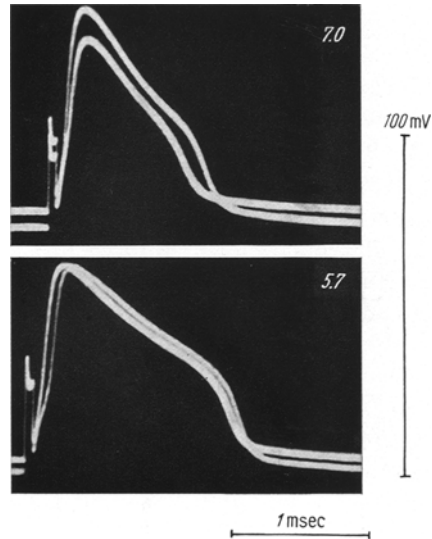


Abb. 5. Verminderte Wirkung kaliumreicher Ringer-Lösung bei erniedrigtem  $p_H$ -Wert. Bei  $p_H$  7 (oben) führt Erhöhung der extracellulären Kaliumkonzentration von 2.5 auf 10 mMol/l zu deutlicher Depolarisation sowie zu Herabsetzung und Verkürzung des Aktionspotentials. Erniedrigung des  $p_H$ -Wertes auf 5,7 (unten) bewirkt Verlängerung des Aktionspotentials; die Kaliumdepolarisation ist verringert, die Kaliumwirkung auf das Aktionspotential fehlt fast ganz (Versuch vom 28. Dezember 1960; 22°C)

der Dauer der Repolarisationsphase können auf entsprechende Änderungen der Steilheit des Potentialabfalles in der ersten Repolarisationsphase zurückgeführt werden. Die Verkleinerung und Verlängerung des Aktionspotentials sowie die Abnahme des Schwellenpotentials, die bei neutraler Reaktion in calciumarmer Lösung beobachtet werden, werden durch Erniedrigung des  $p_H$ -Wertes der calciumarmen Lösung auf 6,5 rückgängig gemacht, d. h. die Calcium-Mangel-Wirkung wird durch Erhöhung der extracellulären Wasserstoffionen-Konzentration  $[H^+]_e$  aufgehoben.

Unsere Befunde über die Zunahme des *Schwellenpotentials* in saurer Lösung bei nahezu unverändertem Ruhepotential geben eine Erklärung für die von früheren Autoren beobachtete Erhöhung der Reizschwelle in saurer Lösung. Erhöhung von  $[H^+]_e$  wirkt also ebenso wie eine Erhöhung der extracellulären Calciumionen-Konzentration  $[Ca^{++}]_e$ , die nach FRANKENHAEUSER (1957) ebenfalls eine Zunahme des Schwellenpotentials hervorruft. Nach den Voltage-Clamp-Untersuchungen von FRANKENHAEUSER u. HODGKIN (1957) am Riesenaxon des Tintenfisches beruht die Erhöhung des Schwellenpotentials durch Calcium auf einer Parallelverschiebung der Kurve Natrium-Leitfähigkeit =  $f$  (Membranpotential). Ein ähnlicher Effekt müßte von den  $H^+$ -Ionen erwartet werden.

Die *Repolarisationsschwelle*, d. h. das am „Knickpunkt“ in der abfallenden Phase des Aktionspotentials gemessene Membranpotential, veränderte sich in unseren Versuchen stets im gleichen Sinne wie das Schwellenpotential. Die Repolarisationsschwelle wurde durch  $p_H$ -Erniedrigung ebenfalls erhöht. Ein derartiges gleichsinniges Verhalten von De- und Repolarisationsschwelle steht im Einklang mit der Auffassung, daß diese beiden Schwellen den Übergang ruhendes  $Na^+$ -System  $\rightleftharpoons$  aktives  $Na^+$ -System bezeichnen, der an der Depolarisationsschwelle in der Richtung ruhend  $\rightarrow$  aktiv, an der Repolarisationsschwelle in der Richtung aktiv  $\rightarrow$  ruhend abläuft (vgl. LÜTTGAU 1956).

Die geringe Zunahme des *Spitzenpotentials*, die bei niedrigem  $p_H$ -Wert in Übereinstimmung mit ähnlichen Befunden früherer Autoren beobachtet wurde, könnte auf eine verringerte Inaktivierung der Natrium-Permeabilität  $P_{Na}$  oder auf eine verzögerte Zunahme der Kalium-Permeabilität  $P_K$  zurückgeführt werden; derartige Effekte werden am Tintenfischaxon bei Erhöhung von  $[Ca^{++}]_e$  beobachtet (SHANES, FREYGANG, AMATNIEK u. GRUNDFEST 1959). Es ist jedoch nicht auszuschließen, daß die Vergrößerung des Spitzenpotentials in saurer Ringer-Lösung lediglich auf dem begrenzten Frequenzgang unseres Registriersystems beruht, durch den in neutraler Lösung eine kleinere Amplitude des rascher ansteigenden Aktionspotentials vorgetäuscht wird.



Die Zunahme der *Steilheit  $s$  der ersten Repolarisationsphase* (Spitze des  $AP$  bis „Knick“) bei geringer Erhöhung von  $[H^+]_e$  läßt sich ebenfalls zu den gleichartigen Wirkungen erhöhter  $[Ca^{++}]_e$  in Beziehung setzen. Am Riesenaxon des Tintenfisches (SHANES, FREYGANG, AMATNIEK u. GRUNDFEST 1959) und am isolierten Schnürring (ULBRICHT 1960) führt Erhöhung der Calciumkonzentration ebenfalls zu einer Zunahme von  $s$ . Die Abnahme der Repolarisationsgeschwindigkeit  $s$  bei stärkerer  $p_H$ -Erniedrigung läßt sich dagegen nicht in Zusammenhang mit den Wirkungen von Calcium bringen.

Die *Steilheit  $s$  des Potentialabfalles* ist unter der Voraussetzung stromloser Spannungsmessung, die für unsere Versuchsanordnung annähernd zutrifft, proportional dem Ionenstrom  $I$ , d. h. proportional der Summe aus Natrium-Einwärtsstrom  $I_{Na}$  und Kalium-Auswärtsstrom  $I_K$ , und daher durch die Natrium-Permeabilität  $P_{Na}$  und die Kalium-Permeabilität  $P_K$  bestimmt. Die beobachteten Änderungen von  $s$  in sauren Ringer-Lösungen können somit unter der Voraussetzung konstanter Membrankapazität auf Änderungen der Permeabilitäten  $P_{Na}$  und  $P_K$  und ihres zeitlichen Verlaufs zurückgeführt werden. Es müßte geschlossen werden, daß bei schwacher  $p_H$ -Erniedrigung eine beschleunigte  $P_{Na}$ -Inaktivierung oder eine beschleunigte  $P_K$ -Zunahme eintritt, wie sie zur Erklärung der schnelleren Repolarisation bei Erhöhung von  $[Ca^{++}]_e$  diskutiert wird (SHANES, FREYGANG, AMATNIEK u. GRUNDFEST 1959); bei stärkerer  $p_H$ -Erniedrigung wäre dagegen umgekehrt eine verzögerte  $P_{Na}$ -Inaktivierung oder eine verzögerte  $P_K$ -Zunahme in der abfallenden Phase des Aktionspotentials zu erwarten. Mit der Annahme einer verzögerten und gehemmten  $P_K$ -Zunahme würde die Beobachtung über eine Abnahme von  $P_K$  (DETTBARN u. STÄMPFLI 1957) und eine Verringerung der Kalium-Wirkung (Abb. 5) bei stärkerer  $p_H$ -Erniedrigung übereinstimmen. Eine sichere Entscheidung über das Verhalten der Ionenströme und Permeabilitäten im Sauren kann jedoch nur durch Voltage-Clamp-Untersuchungen erbracht werden.

Die Lage der Repolarisationsschwelle, die Höhe des Spitzenpotentials und die Repolarisationsgeschwindigkeit bestimmen die *Dauer  $t$  der ersten Repolarisationsphase*. Diese nimmt bei Erhöhung des Spitzenpotentials zu, bei Erhöhung der Repolarisationsschwelle und der Repolarisationssteilheit dagegen ab. Das weitgehend spiegelbildliche Verhalten von  $s$  und  $t$ , das aus Abb. 4 hervorgeht, zeigt, daß  $t$  im wesentlichen durch  $s$  bestimmt wird, d. h. die bei  $p_H$ -Erniedrigung beobachteten Veränderungen der Dauer der ersten Repolarisationsphase sind im wesentlichen auf eine Veränderung der Repolarisationsgeschwindigkeit zurückzuführen.

Zusammenfassend kann gesagt werden, daß die Wirkung der Wasserstoffionen auf den Ranvierschen Schnürring bei geringer  $p_H$ -Erniedrigung

vollständig der Wirkung der Calcium-Ionen entspricht. Bei stärkerer  $p_H$ -Erniedrigung wird zwar ebenso wie bei erhöhter Calciumkonzentration die Reizschwelle heraufgesetzt, die Dauer der Repolarisationsphase dagegen stark verlängert. Es ist zu vermuten, daß die wirksame Calciumionen-Konzentration in oder an der Membran bei leichter  $p_H$ -Erniedrigung zunimmt, während die bei stärkerer  $p_H$ -Erniedrigung beobachteten Effekte, die von der Calcium-Konzentration der Außenlösung weitgehend unabhängig sind, eine Eigenwirkung der  $H^+$ -Ionen auf die Membran darstellen. Diese Hypothese würde die bei  $p_H$  6,5—6,0 auftretende Umkehr der Wirkung saurer Ringer-Lösung auf die Repolarisationsgeschwindigkeit, die von früheren Untersuchern nicht beobachtet wurde, verständlich machen.

### Summary

1. Effects of raising extracellular hydrogen-ion-concentration  $[H^+]_e$  on the action potential ( $AP$ ) of isolated nodes of Ranvier in calcium-containing (1.08 mMol/l) and in calciumpoor (0.05 mMol/l) solutions were studied between  $p_H$  7 and 4.8.

2. Threshold membrane potential (i.e. maximum subthreshold response) and membrane potential at the end of the slow first falling phase increase with increasing  $[H^+]_e$ , especially below  $p_H$  6.5. The amplitude of the  $AP$  is slightly raised.

3. Mild lowering of  $p_H$  from 7 to 6.5 in Ca-containing solutions accelerates repolarization, mainly during the slow first phase. In Ca-poor solution, small drop in  $p_H$  reverses the effects of Ca-lack.

4. Below  $p_H$  6.5 to 6.0, repolarization is delayed, mainly during the slow first phase and, to a smaller extent, during the negative afterpotential. At low  $p_H$  the  $AP$  becomes insensitive to lack of extracellular calcium.

5. Between  $p_H$  7 and 6.5  $H^+$ -ions are suggested mainly to act in an indirect way by raising Ca-activity in or at the membrane, thus accelerating the decrease of  $P_{Na}$  or the increase in  $P_K$ . From the effects at lower  $p_H$ -values it is concluded that in this range  $H^+$ -ions act directly on the membrane; they would delay and decrease the change of  $P_K$  during the  $AP$ .

Herrn Prof. Dr. R. STÄMPFLI danke ich für kritische Hinweise und Anregungen. Die flammenphotometrische Calcium-Bestimmung hat Herr Dr. H. SCHMIDT durchgeführt. An der endgültigen Fassung der Arbeit hat Herr Priv.-Doz. Dr. H. MEVES wesentlichen Anteil.

### Literatur

ARVANITAKI, A., et N. CHALAZONITIS: Diffusibilité de l'anhydride carbonique dans l'axone géant, ses effets sur les vitesses de l'activité bioélectrique. C. R. Soc. Biol. (Paris) **148**, 952—954 (1954).

- BRINK, F.: Discussion of action of calcium ions on excitability of frog A-fibers. 2nd Conf. Nerve Imp. pp. 38—43 (1951). New York: Josiah Macy jr. Foundation.
- BRITTON, H. T. S.: Electrometric study of the precipitation of phosphates. *J. chem. Soc.* **1927**, 614—630.
- CALDWELL, P. C.: Studies on the internal  $p_H$  of large muscle and nerve fibres. *J. Physiol. (Lond.)* **142**, 22—62 (1958).
- CORABOEUF, E., u. R. NIEDERGERKE: Kohlensäure- und  $p_H$ -Wirkung an der markhaltigen Einzelfaser des Frosches. *Pflügers Arch. ges. Physiol.* **258**, 103—107 (1953).
- DETTBARN, W.-D., u. R. STÄMPFLI: Untersuchungen über die  $p_H$ -Wirkung auf das Membranpotential markhaltiger Nervenfasern. *Helv. physiol. pharmacol. Acta* **15**, C16—17 (1957).
- FRANKENHAEUSER, B.: The effect of calcium on the myelinated nerve fiber. *J. Physiol. (Lond.)* **137**, 245—260 (1957).
- FRANKENHAEUSER, B., and A. L. HODGKIN: The action of calcium on the electrical properties of squid axons. *J. Physiol. (Lond.)* **137**, 218—244 (1957).
- KILB, H., u. R. STÄMPFLI: Eine Vorrichtung zur Membranpotentialmessung am einzelnen bespülten Ranvierschen Schnürring in Ruhe und Erregung. *Helv. physiol. pharmacol. Acta* **14**, 251—254 (1956).
- LEHMANN, J. E.: The effect of changes in the potassium-calcium balance on the action of mammalian A-nerve fibers. *Amer. J. Physiol.* **118**, 613—619 (1937).
- LÜTTGAU, H.-CH.: Das Na-Transportsystem während der Erregungsprozesse am Ranvier-Knoten isolierter markhaltiger Nervenfasern. *Experientia (Basel)* **12**, 482—486 (1956).
- MEVES, H.: Die Wirkung der Wasserstoffionen und der Kohlensäure auf die Nervenleitungsgeschwindigkeit. *Pflügers Arch. ges. Physiol.* **261**, 249—263 (1955).
- MEVES, H., u. E. SAUERLAND: Über den Einfluß von Kohlensäure und Wasserstoffionen auf das Verhalten markhaltiger Nervenfasern in der relativen Refraktärzeit. *Pflügers Arch. ges. Physiol.* **268**, 366—375 (1959).
- MEVES, H., u. K.-G. VÖLKNER: Die Wirkung von  $CO_2$  auf das Ruhemembranpotential und die elektrischen Konstanten der quergestreiften Muskelfaser. *Pflügers Arch. ges. Physiol.* **265**, 457—476 (1958).
- MONNIER, A. M.: Die funktionelle Bedeutung der Dämpfung in der Nervenfasern. *Ergebn. Physiol.* **48**, 230—285 (1955).
- NIEDERGERKE, R.: Reizschwelle und Leitungsgeschwindigkeit des Froschnerven unter Kohlensäureeinwirkung. *Pflügers Arch. ges. Physiol.* **254**, 193—204 (1951).
- NIEDERGERKE, R., u. R. STÄMPFLI: Die Kohlensäurewirkung an der einzelnen markhaltigen Nervenfasern bei Rheobasenbestimmungen. *Pflügers Arch. ges. Physiol.* **258**, 95—102 (1953).
- SHANES, A. M., W. H. FREYGANG, E. AMATNIEK and H. GRUNDFEST: Anesthetic and calcium action in the voltage clamped squid giant axon. *J. gen. Physiol.* **42**, 793—802 (1959).
- SPYROPOULOS, C. S.: Cytoplasmic  $p_H$  of nerve fibers. *J. Neurochem.* **5**, 185—194 (1960).
- STÄMPFLI, R.: Nouvelle méthode pour enregistrer le potentiel d'action d'un seul étranglement de Ranvier et sa modification par un brusque changement de la concentration du milieu extérieur. *J. Physiol. (Paris)* **48**, 710—714 (1956).
- ULBRICHT, W.: Über die Veränderungen des Aktionspotentials Ranvierscher Schnürringe in calciumreicher Ringerlösung. *Pflügers Arch. ges. Physiol.* **272**, 68 (1960).

Dr. R. HEENE,

Neurologische Universitäts-Klinik, Würzburg, Luitpoldkrankenhaus