

Zur Wirkung hypertoner Lösungen auf die markhaltige Nervenfasern¹

Erhöhung des osmotischen Druckes der Aussenlösung durch Zusatz von Saccharose, Glucose oder Glycerin führt an der markhaltigen Nervenfasern des Kaltblüters zu einer Verlängerung des Aktionspotentials und des Aktionsstroms²⁻⁴. Im Gegensatz dazu wird das lange plateauartige Aktionspotential des Froschherzens durch hypertone Aussenlösung verkürzt⁵⁻⁷. Durch Abkühlung der Aussenlösung und gleichzeitige Einwirkung von 0,1–1,0 mM NiCl₂ kann das Aktionspotential der markhaltigen Nervenfasern in ein «herzmuskelfaserähnliches» langes plateauartiges Aktionspotential verwandelt werden. Im Laufe eingehender Untersuchungen⁸ über den Entstehungsmechanismus dieser plateauartigen Aktionspotentiale der markhaltigen Nervenfasern wurde gefunden, dass Erhöhung des osmotischen Druckes der Aussenlösung unter diesen Versuchsbedingungen ebenso wie an der Herzmuskelfasern eine Verkürzung des Aktionspotentials hervorruft. Über diese Beobachtungen, die möglicherweise einen näheren Einblick in die Wirkung hypertoner Lösungen auf erregbare Membranen gestatten, wird im folgenden berichtet.

Methodik. Ein einzelner Ranvierscher Schnürring einer isolierten motorischen Nervenfasern von *Rana esculenta* wurde kontinuierlich mit den zu untersuchenden Lösungen gespült. Das Aktionspotential des Schnürrings wurde mit der Gegenkopplungsmethode von FRANKENHAEUSER⁹ registriert (vgl. ^{8,10}). Die als normale Aussenlösung verwendete Ringerlösung hatte folgende Zusammensetzung in mMol/l: NaCl 110,5; KCl 2,5; CaCl₂ 1,8; NaHCO₃ 2,4. Als hypertone Testlösung wurde Ringerlösung mit 428 mM Saccharose benutzt; der osmotische Druck dieser Lösung ist 3mal so gross wie der der normalen Ringerlösung. In einigen Versuchen wurde ausserdem saccharosefreie hypertone Ringerlösung mit 3facher NaCl-Konzentration (331,5 mMol/l) verwendet. Die hypertone Lösung wirkte im allgemeinen 2 min auf den Schnürring ein.

Ergebnisse. Figur 1 A und B zeigt die bekannte Verlängerung des Aktionspotentials durch hypertone Ringerlösung bei Zimmertemperatur; die Verlängerung betrifft ausschliesslich die abfallende Phase des Aktionspotentials. In Figur 1 C wurde der Ringerlösung 0,1 mM NiCl₂ zugesetzt und die Temperatur auf 4°C erniedrigt; das Aktionspotential wurde dadurch auf etwa 30 msec verlängert und bekam einen plateauartigen Verlauf. Wenn jetzt der osmotische Druck der Aussenlösung durch Zusatz von Saccharose erhöht wurde, nahm die Dauer des Aktionspotentials ab (Figur 1 D). Die Verkürzung beruhte auf einer Vergrösserung der Repolarisationsgeschwindigkeit während des Plateaus und einer gleichzeitigen Erhöhung der Repolarisationsschwelle am Plateauende.

In Figur 2 ist die Änderung der Dauer der abfallenden Phase des Aktionspotentials, die in 10 Versuchen durch Erhöhung des osmotischen Druckes der Aussenlösung bewirkt wurde, in Abhängigkeit von der bei normalem osmotischem Druck gemessenen Dauer der abfallenden Phase aufgetragen. Die Dauer der abfallenden Phase bei normalem osmotischem Druck wurde durch Zusatz von 0,1–1,0 mM NiCl₂ zur Aussenlösung und durch Herabsetzung der Temperatur variiert. Sie betrug bei NiCl₂-freier Ringerlösung von 20–25 bzw. 4°C 0,4–0,6 bzw. 4–6 msec und bei NiCl₂-haltiger Ringerlösung 1–4 bzw. 30–60 msec. Erhöhung des osmotischen Druckes der Aussenlösung bewirkte bei den kurzen Aktionspotentialen in NiCl₂-freier Ringerlösung von Zimmertemperatur eine Verlängerung der Dauer der abfallenden Phase um 15–

166%; dies stimmt mit den Angaben von STÄMPFLI² und KITAMURA⁴ gut überein, die auch auf die grosse Streuung des Effekts hinweisen. Bei den längeren Aktionspotentialen in NiCl₂-haltiger Ringerlösung von Zimmertemperatur oder NiCl₂-freier Ringerlösung von 4°C führte Erhöhung des osmotischen Druckes zu einer viel geringeren Verlängerung oder teilweise sogar zu einer leichten Verkürzung. Eine deutliche Verkürzung um 10–30% trat bei den langen Aktionspotentialen in NiCl₂-haltiger Ringerlösung von 4°C auf.

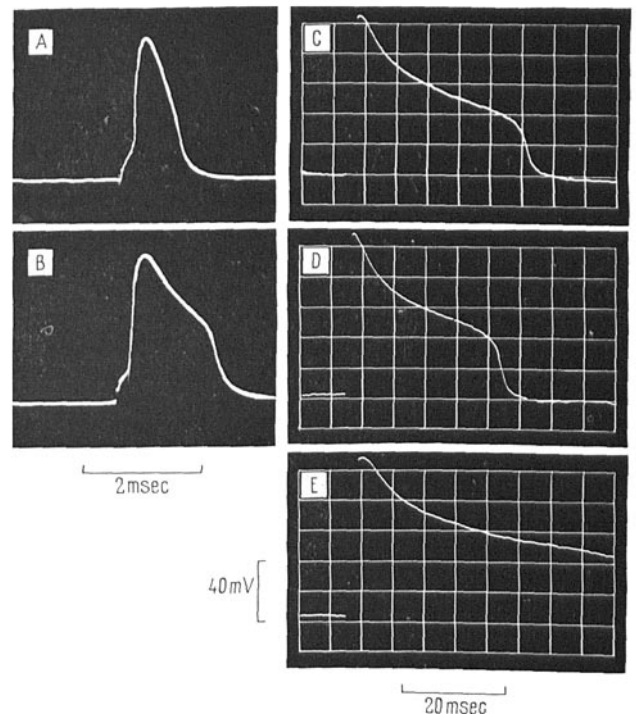


Fig. 1. Aktionspotential des Ranvierschen Schnürrings bei isotoner und hypertoner Aussenlösung. A: isotone Ringerlösung bei 20,5°C. B: hypertone Ringerlösung mit 428 mM Saccharose bei 20,5°C. C: isotone Ringerlösung mit 0,1 mM NiCl₂ bei 4°C. D: hypertone Ringerlösung mit 428 mM Saccharose und 0,1 mM NiCl₂ bei 4°C. E: hypertone Ringerlösung mit 331,5 mM NaCl und 0,1 mM NiCl₂ bei 4°C. Aufnahmen B, D und E 60 sec, 75 sec bzw. 130 sec nach Einschalten der hypertonen Lösung. A–B und C–E stammen von zwei verschiedenen Schnürringen (x bzw. • in Figur 2).

¹ Die Untersuchungen wurden mit Unterstützung der Deutschen Forschungsgemeinschaft ausgeführt.

² R. STÄMPFLI, Coll. Internat. C.N.R.S. 67, 159 (1955).

³ P. MUELLER, J. gen. Physiol. 42, 137 (1958).

⁴ S. KITAMURA, Jap. J. Physiol. 10, 51 (1960).

⁵ E. CARMELIET und L. LACQUET, Arch. int. Physiol. Biochim 66, 1 (1958).

⁶ A. J. BRADY und J. W. WOODBURY, J. Physiol. (Lond.) 154, 385 (1960).

⁷ N. SPERELAKIS, T. HOSHIKO, R. F. KELLER und R. M. BERNE, Amer. J. Physiol. 198, 135 (1960).

⁸ H. MEVES, Pflügers Arch. ges. Physiol., 278, 273 (1963).

⁹ B. FRANKENHAEUSER, J. Physiol. (Lond.) 135, 550 (1957).

¹⁰ H. MEVES und R. STÄMPFLI, Helv. physiol. Acta 18, C 38 (1960).

Die Zeilen 1–3 der Tabelle geben die Mittelwerte für die prozentuale Änderung ΔT der Dauer der abfallenden Phase nach 1 und 2 min langer Einwirkung der hypertonen Lösung sowie für die Änderung ΔV_A des Spitzenpotentials durch Hypertonie. Die Wirkung der hypertonen Aussenlösung auf die Dauer der abfallenden Phase war zeitabhängig: Sowohl die Verlängerung bei NiCl_2 -freier Ringerlösung von Zimmertemperatur als auch die Verkürzung bei NiCl_2 -haltiger Ringerlösung von 4°C gingen im Laufe der Zeit etwas zurück. Hypertonie bewirkte bei Ringerlösung von Zimmertemperatur eine geringfügige Zunahme des Spitzenpotentials, während sie bei Gegenwart von NiCl_2 oder herabgesetzter Temperatur das Spitzenpotential etwas verkleinerte. Das Ruhepotential wurde innerhalb der Versuchszeit nicht nachweisbar verändert. Die Effekte der hypertonen Lösungen waren voll reversibel.

Eine vollständige theoretische Deutung des doppelten Effekts hypertoner Aussenlösung auf die Dauer der Repolarisationsphase ist nicht möglich. Einige Hinweise ergeben sich jedoch aus folgenden zusätzlichen Beobachtungen:

(1) Die Depolarisation durch 20 mM KCl ($V_{20 \text{ KCl}}$), die bei isotoner Aussenlösung unter den verschiedenen Versuchsbedingungen 15–28 mV betrug, war bei hypertoner Aussenlösung um 13–20% herabgesetzt (Zeile 4 der Tabelle); das entspricht früheren Beobachtungen von SCHMIDT und STÄMPFLI¹¹ am Faserbündel. Die Herabsetzung der K-Depolarisation könnte darauf beruhen, dass die Zunahme der K-Permeabilität, die normalerweise bei Depolarisation eintritt, durch Hypertonie gehemmt wird. Diese Schlussfolgerung wurde gestützt durch Messungen des Widerstandes der nodalen Membran mit langen anodischen Testimpulsen, die das Membranpotential um 13–23 mV in anodischer Richtung verschoben. Während bei normaler K-Konzentration kein Einfluss hypertoner Aussenlösung auf den Membranwiderstand festzustellen war, wurde bei 20 mM KCl eine Vergrößerung des Membranwiderstandes um 12–34% durch Erhöhung des osmotischen Druckes der Aussenlösung gefunden (Zeile 5 der Tabelle).

(2) Die bei kathodischer Polarisation um 8–10 mV mit einem RC-Glied (Zeitkonstante 3,6 μsec) gemessene maximale Anstiegssteilheit \dot{V}_{max} des Aktionspotentials wurde durch hypertone Aussenlösung um 33 bzw. 24% herabgesetzt (Zeile 6 der Tabelle), d.h. die durch kathodische Polarisation bewirkte Inaktivierung des Na^+ -Systems wurde durch hypertone Aussenlösung verstärkt. Bei nor-

malem Ruhepotential bewirkte dagegen Erhöhung des osmotischen Druckes nur eine geringe Abnahme von \dot{V}_{max} , die bei 8 Versuchen im Mittel 11,3% betrug.

(3) Die durch hypertone Aussenlösung hervorgerufene Wasserbewegung durch die nodale Membran (und möglicherweise auch durch die Markscheide¹²) führt zu einem langsamen Anstieg der Na^+ -Innenkonzentration, der sich in einer Abnahme des Na^+ -Potentials ausdrückt¹³. Änderungen des Na^+ -Konzentrationsgradienten zwischen Aussen- und Innenlösung haben ihrerseits einen deutlichen

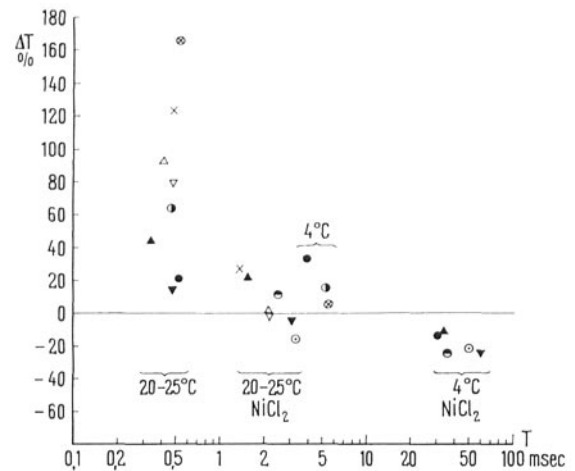


Fig. 2. Änderung der Dauer der abfallenden Phase des Aktionspotentials durch hypertone Aussenlösung unter verschiedenen Versuchsbedingungen. Abszisse: T = Dauer der abfallenden Phase des Aktionspotentials in logarithmischem Maßstab bei isotoner Ringerlösung von 20–25 bzw. 4°C mit oder ohne NiCl_2 . Ordinate: ΔT = Änderung der Dauer der abfallenden Phase durch 2 min lange Einwirkung von hypertoner Aussenlösung mit 428 mM Saccharose, ausgedrückt in % der bei isotoner Aussenlösung gemessenen Dauer T . Die Dauer der abfallenden Phase ist die Zeit zwischen Spitze des Aktionspotentials und Beginn der steilen Repolarisationsphase. Messwerte aus 10 Versuchen, die durch verschiedene Symbole bezeichnet sind. NiCl_2 -Konzentration bei \bullet und \circ 0,1, sonst 1,0 mMol/l.

¹¹ H. SCHMIDT und R. STÄMPFLI, *Helv. physiol. Acta* 17, 219 (1959).

¹² L. GARBY und P. NORDQUIST, *Acta physiol. scand.* 34, 162 (1955).

¹³ B. FRANKENHAEUSER, *J. Physiol. (Lond.)* 160, 40 (1962).

Einfluss erhöhten osmotischen Druckes der Aussenlösung auf die elektrischen Eigenschaften des Ranvierschen Schnürrings unter verschiedenen Versuchsbedingungen

	Ringerlösung bei 20–25°C	NiCl_2 -Ringerlösung bei 20–25°C	Ringerlösung bei 4°C	NiCl_2 -Ringerlösung bei 4°C
1 ΔT_1 min	+73,5% (9)	+ 0,6% (6)	+10,0% (4)	–31,0% (5)
2 ΔT_2 min	+68,3% (9)	+ 5,1% (6)	+12,5% (4)	–24,5% (5)
3 ΔV_A	+ 1,5% (11)	– 4,9% (8)	– 5,9% (7)	– 3,2% (7)
4 $\Delta V_{20 \text{ KCl}}$	–13,0% (2)	–19,0% (2)	–18,0% (1)	–20,0% (2)
5 $\Delta R_{20 \text{ KCl}}$	+34,0% (2)	+30,0% (2)	+12,0% (1)	+21,0% (2)
6 $\Delta \dot{V}_{\text{max}}$	–33,0% (3)	–24,0% (2)		

ΔT = Änderung der Dauer der abfallenden Phase des Aktionspotentials. ΔV_A = Änderung der Amplitude des Aktionspotentials. $\Delta V_{20 \text{ KCl}}$ = Änderung der Depolarisation durch 20 mM KCl. $\Delta R_{20 \text{ KCl}}$ = Änderung des Membranwiderstandes, gemessen bei Aussenlösung mit 20 mM KCl. $\Delta \dot{V}_{\text{max}}$ = Änderung der maximalen Anstiegssteilheit des Aktionspotentials, gemessen bei kathodischer Polarisation um 8–10 mV. Alle Änderungen sind in % des bei isotoner Lösung gemessenen Wertes angegeben; Messung 1 min (Zeile 1) bzw. 2 min (Zeile 2–6) nach Einschalten der hypertonen Lösung; Zahl der Versuche in Klammern; NiCl_2 -Konzentration 0,1–1,0 mMol/l.

Einfluss auf die Dauer des Aktionspotentials: Wenn der osmotische Druck der Aussenlösung nicht durch Zusatz von 428 mM Saccharose, sondern durch Zusatz von 221 mM NaCl erhöht wurde, wurde das Aktionspotential, das bereits durch 0,1 mM-NiCl₂-Ringerlösung von 4°C stark verlängert war, noch weiter verlängert (Figur 1E), wobei gleichzeitig eine leichte Depolarisation und eine nur wenige sec anhaltende Zunahme des Spitzenpotentials auftrat; der gleiche Effekt wird bei NiCl₂-freier Ringerlösung von Zimmertemperatur beobachtet^{14,15}. Umgekehrt führte Herabsetzung der Na⁺-Aussenkonzentration zu einer Verkürzung des Aktionspotentials⁸.

Die Geschwindigkeit der Repolarisation in der abfallenden Phase des Aktionspotentials hängt von der Geschwindigkeit und dem Ausmass der Inaktivierung der Na⁺-Permeabilität und der Aktivierung der K⁺-Permeabilität ab. Die unter (1) diskutierte Hemmung der K-Permeabilitätszunahme durch hypertone Aussenlösung müsste die Repolarisation verlangsamen, während umgekehrt die unter (2) beschriebene Verstärkung der Inaktivierung den Repolarisationsvorgang beschleunigen und die Repolarisationsschwelle erhöhen würde; in der gleichen Richtung müsste nach den unter (3) angeführten Beobachtungen die Vergrößerung der Na⁺-Innenkonzentration wirken. Man müsste annehmen, dass je nach den Versuchsbedingungen entweder der die abfallende Phase verlängernde (und das Spitzenpotential erhöhende) Ef-

fekt (1) oder die im entgegengesetzten Sinne wirkenden Effekte (2) und (3) überwiegen. Die Richtigkeit dieser Arbeitshypothese wäre durch weitere Versuche zu prüfen.

Summary. The effect of hypertonic solutions on the action potential of single myelinated nerve fibres is described. Hypertonicity mainly changes the duration of the action potential: Short action potentials obtained in normal Ringer's solution at room temperature are prolonged, long action potentials due to 0.1-1.0 mM NiCl₂-Ringer's solution and low temperature are shortened by hypertonicity. The changes in action potential duration are accompanied by small changes in action potential amplitude. In addition, hypertonicity reduces the depolarization produced by 20 mM KCl; inactivation of the sodium-carrying system under cathodal polarization is enhanced.

H. MEVES

1. *Physiologisches Institut der Universität des Saarlandes, Homburg (Saar, Deutschland)*, 30. August 1963.

¹⁴ I. TASAKI, *J. Neurophysiol.* 13, 177 (1950).

¹⁵ R. STÄMPFLI, *J. Physiol. (Paris)* 48, 710 (1956).

The Relation Between Ionic Fluxes and the Action of Drugs on Smooth Muscle

The exact mechanism by which drugs such as adrenaline, noradrenaline, and acetylcholine act on smooth muscle is not known, but most theories propose an action on the cell membrane altering the permeability to ions¹⁻³. Bradykinin and angiotensin are said to be active on the outside of the cell membrane probably by changing the flux of ions across the membrane⁴. Frog's stomach muscle is remarkable in that it contracts spontaneously and reacts to electrical and chemical stimulation for about 24 h when soaked in isotonic or half-isotonic solution of sucrose⁵⁻⁹; sodium is completely washed out of frog's stomach muscle by sucrose in about 1 h⁸. It is relaxed by adrenaline and

noradrenaline, and contracted by acetylcholine^{6,7}, 5-hydroxytryptamine, histamine and substance P¹⁰. As there is no intracellular or extracellular sodium⁸, and no other extracellular ion, such as calcium or potassium, it is clear that the above drugs act directly and not by changing ionic fluxes across the membrane. Frog's heart perfused with half-isotonic solution of sucrose, is inhibited by acetylcholine, adrenaline and noradrenaline¹¹, in such a heart sodium is completely washed out in about 1 h. Frog's rectus abdominis soaked in isotonic solution of sucrose, responds by relaxation when treated with acetylcholine^{12,13}.

In further experiments it has been found that the stomach muscle of the frog, *Rana tigrina*, when soaked in half isotonic solution, 0.112M, of sucrose, is caused to contract by synthetic bradykinin, kallidin and angiotensin, all 10⁻⁶ g/ml. It is thus clear that these polypeptides

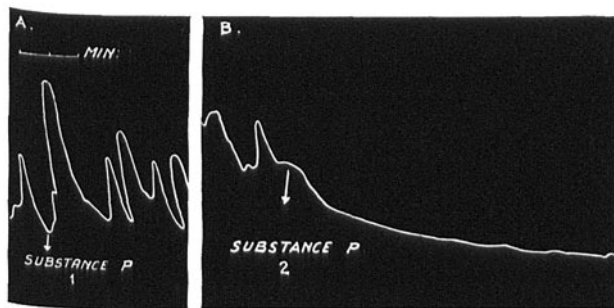


Fig. 1. The effect of substance P, 0.1 U/ml, on a transverse strip of frog's stomach muscle soaked for 2 h in half-isotonic (0.112M) solution of sucrose, which was renewed every 15 min. A shows contraction produced by substance P. B shows the inhibitory effect of substance P in the presence of 3 mM Ca in the sucrose solution. Muscle immersed for 30 min in Ca-sucrose.

¹ G. BURNSTOCK, *J. Physiology* 143, 183 (1958).

² J. AXELSSON, E. BUEDING, and E. BULBRING, *J. Physiol.* 156, 357 (1961).

³ E. BULBRING, *Physiol. Rev.* 42, Suppl. 5, 160 (1962).

⁴ P. A. KHAIRALLAH and I. H. PAGE, *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 104, 212 (1963).

⁵ I. SINGH and S. I. SINGH, *Proc. Ind. Acad. Sci.* 18, 58 (1943).

⁶ I. SINGH and J. V. BHATT, *Proc. Ind. Acad. Sci.* 45, 64 (1957).

⁷ I. SINGH and A. K. ACHARYA, *Proc. Ind. Acad. Sci.* 46, 285 (1957).

⁸ E. BOZLER, *Amer. J. Physiol.* 199, 299 (1960).

⁹ R. L. KOLODNY and W. G. VAN DER KLOOT, *Nature* 190, 786 (1961).

¹⁰ I. SINGH, *Arch. int. Physiol.* 71, 361 (1963).

¹¹ I. SINGH, *Amer. J. Physiol.* 203, 422 (1962).

¹² M. R. SWIFT, H. P. GORDON, and W. G. VAN DER KLOOT, *Proc. Nat. Acad. Sci.* 46, 1415 (1960).

¹³ W. G. VAN DER KLOOT, *Biophysics of Physiological and Pharmacological Actions* (American Association for the Advancement of Science, Washington, D.C. 1961), p. 317.