

Ionenbewegungen als Grundlage der Nervenleitung

Nobel-Vortrag am 11. Dezember 1963 [*]

VON PROF. DR. A. L. HODGKIN [**]

THE PHYSIOLOGICAL LABORATORY, UNIVERSITY OF CAMBRIDGE, UND THE LABORATORY
OF THE MARINE BIOLOGICAL ASSOCIATION, PLYMOUTH (ENGLAND)

Einleitung

Das Trinity-College in Cambridge, in das ich 1932 eintrat, ist ganz besonders mit der Neurophysiologie verbunden. Als Student schon fesselte mich alles, was von den Nerven bekannt war, und ich begann bald Bücher und Aufsätze der Trinity-Dozenten *Keith Lucas* [1], *Adrian* [2], *Hill* [3] und *Rushton* [4] zu lesen. Ich hatte einen verständlichen Grund, mich für die Veröffentlichungen von *Lucas* zu interessieren, denn mein Vater und *Lucas*, die beide im ersten Weltkrieg fielen, waren enge Freunde gewesen. Meine Lektüre führte mich in *Bernsteins* Membrantheorie [5] ein, so wie sie *Lillie* entwickelte [6]. Danach werden die Impulse in Nerven durch elektrische Ströme weitergeleitet, die zwischen ruhenden und aktiven Regionen fließen. Das Aktionspotential ist demnach nicht nur eine nebensächliche Eigenschaft des Impulses, sondern die Ursache für seine Fortleitung. Heute wird diese Ansicht allgemein anerkannt, doch

damals fehlte ihr experimenteller Beweis. Es erschien mir interessant, diese Theorie durch ein einfaches Experiment zu beweisen, auf das ich nach einigen Umwegen schließlich kam: An einer blockierten Stelle eines Nerven wurde ein Impuls ausgelöst und dann seine Wirkung auf die Erregbarkeit des Nerven gerade jenseits des Blockes beobachtet. Die Erregbarkeit wurde über mehrere Millimeter hinweg erhöht, höchstwahrscheinlich bewirkt durch lokale Ströme, die sich über die blockierte Region hinweg ausdehnten [7]. Überzeugender ließ sich die elektrische Natur der Nervenleitung beweisen, als gezeigt wurde, daß die Geschwindigkeit des Nervenimpulses vom elektrischen Widerstand der umgebenden Flüssigkeit abhängt [8]. Ich möchte diese Experimente hier nicht beschreiben, sondern mit den Ereignissen des Jahres 1938 fortfahren, als ich das Glück hatte, ein Jahr bei *Gasser* im Rockefeller-Institut in New York arbeiten zu dürfen. Noch vor der Abreise fand ich durch einen glücklichen Zufall, daß es sehr einfach ist, einzelne Nervenfasern der Strandkrabbe *Carcinus maenas* zu isolieren. Ganz neue Möglichkeiten ergaben sich, und die Vorteile, die das Arbeiten mit einzelnen Nervenfasern mit sich brachte, beeindruckten mich sehr.

Carcinus-Fasern sind sehr widerstandsfähig, doch ihr Durchmesser von höchstens $\frac{1}{30}$ Millimeter ist für viele Zwecke unbequem klein. Aus mehreren Gründen ging man zu den viel dickeren Nervenfasern über, die *J. Z. Young* [9] im Tintenfisch entdeckte, und die von *Cole* und *Curtis* [10] in Woods Hole in Massachusetts unter-

[*] © 1964 The Nobel Foundation. – Das lebenswürdige Entgegenkommen des Autors und der Nobel-Stiftung, Stockholm, ermöglicht es uns, diesen Nobel-Vortrag, der erst später in den Veröffentlichungen der Nobel-Stiftung erscheinen wird, schon jetzt zu drucken.

[**] Umfangreiche Bibliographien befinden sich in: *A. L. Hodgkin*: Conduction of the Nervous Impulse. Liverpool University Press, 1963; *Biol. Rev.* 26, 339 (1951); *Proc. Roy. Soc. (London)* B 148, 1 (1958).

[1] *K. Lucas*: The Conduction of the Nervous Impulse. Longmans, London 1917; Aufsätze meist im *J. Physiology* 1904–1914 veröffentlicht.

[2] *E. D. Adrian*: The Basis of Sensation. Christophers, London 1928; The Mechanism of Nervous Action. Oxford University Press, 1932.

[3] *A. V. Hill*: Chemical Wave Transmission in Nerve. Cambridge University Press, 1932.

[4] *W. A. H. Rushton*, *J. Physiology* 63, 357 (1927); 82, 332 (1934).

[5] *J. Bernstein*: Elektrobiologie. Vieweg, Braunschweig 1912.

[6] *R. S. Lillie*: Protoplasmic Action and Nervous Action. Chicago University Press, 1923.

[7] *A. L. Hodgkin*, *J. Physiology* 90, 183, 211 (1937).

[8] *A. L. Hodgkin*, *J. Physiology* 94, 560 (1939).

[9] *J. Z. Young*, *Quart. J. Microbiol. Sci.* 78, 367 (1936); *Cold Spring Harbour Symp. Quant. Biol.* 4, 1 (1936).

[10] *H. J. Curtis* u. *K. S. Cole*, *J. gen. Physiol.* 21 757 (1938)

sucht wurden. Die einen halben Meter langen Tintenfische der Art *Loligo* können sehr schnell rückwärts schwimmen, indem sie Wasser in einen großen Hohlraum aufnehmen und in einem Strahl durch einen Trichter an ihrer Vorderseite wieder ausstoßen. Ihre bis zu einem Millimeter starken Riesennervenfasern ziehen sich an den Körperwänden entlang und versorgen die Muskeln, die das Wasser aus dem Mantelhohlraum hinauspressen. Trotz der fehlenden Myelinscheiden pflanzen sich Impulse auf diesen Fasern schnell fort; das mag die teleologische Begründung für ihre Existenz sein. Dicke Nervenfasern leiten schneller als dünne, weil die Leitfähigkeit mit dem Quadrat des Durchmessers, die elektrische Kapazität der Oberfläche aber nur linear mit dem Durchmesser zunimmt [11].

Wir Menschen kommen ohne Riesennervenfasern aus, weil Wirbeltiere markhaltige Nerven entwickelt haben, in denen die Faser über fast ihre vollständige Länge von einer relativ dicken isolierenden Schicht bedeckt ist. Die erregbare Membran der Faser liegt nur an den Ranvierknoten bloß, die Nervenleitung geschieht daher saltatorisch, d. h. der Impuls springt von einem Knoten zum nächsten. Leider kann ich auf die Geschichte dieser Erkenntnisse nicht näher eingehen, die besonders mit den Namen *Kato*, *Tasaki* und *Takeuchi* [12] verknüpft ist.

Verbesserungen der Meßtechnik

Anfang 1938 bat mich *K. S. Cole*, einige Wochen in seinem Laboratorium in Woods Hole zu verbringen. Dort gibt es im Sommer reichlich Tintenfische. Als ich im Juni 1938 eintraf, wurde ich mit einem sensationellen Experiment überrascht, dessen Ergebnisse auf dem Schirm einer Kathodenstrahlröhre deutlich sichtbar waren. *Cole* und *Curtis* [13] hatten eine Technik entwickelt, mit der sich Änderungen der elektrischen Leitfähigkeit der Membran während der Impulsleitung messen ließen. Das Experiment bewies, daß die Leitfähigkeit fast gleichzeitig mit dem Aktionspotential anstieg und wieder abfiel (Abb. 1). Das war ein Hinweis auf eine Erhöhung der Ionendurchlässigkeit während der

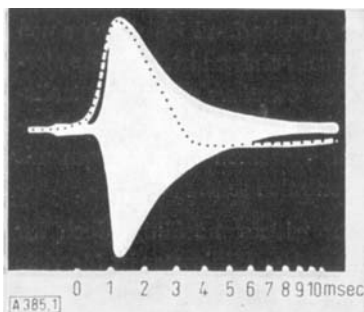


Abb. 1. Aktionspotential (unterbrochene Kurve) und Leitfähigkeit (weiße Fläche) im Tintenfischaxon bei $\approx 6^\circ\text{C}$ [13].

[11] *H. S. Gasser* u. *J. Erlanger*, *Amer. J. Physiol.* **80**, 522 (1927).

[12] *G. Kato*: *The Microphysiology of Nerve*, Maruzen, Tokio 1934; *I. Tasaki*, *Amer. J. Physiol.* **125**, 380; **127**, 211 (1939); *I. Tasaki* u. *T. Takeuchi*, *Pflügers Arch. ges. Physiol. Menschen Tiere* **244**, 696 (1941); **245**, 764 (1942).

[13] *K. S. Cole* u. *H. J. Curtis*, *J. gen. Physiol.* **22**, 649 (1939).

Impulsleitung. Die Frage, um welche Ionen es sich handelte, konnte allerdings erst mehrere Jahre nach dem Krieg beantwortet werden. Ergebnisse von *Cole* und *Curtis* schienen zu der Annahme zu passen, daß die Membran während der Aktivität zusammenbricht, wie *Bernstein* und *Lillie* postuliert hatten; doch wenn die Aktivität nichts weiter als ein momentaner Zusammenbruch der Membran war, dann durfte das Aktionspotential nicht größer als das Ruhepotential sein.

Huxley und ich begannen Anfang 1939, uns mit dieser Frage zu beschäftigen. Wir bestimmten an *Carcinus*-Fasern in Öl die Änderungen des elektrischen Potentials mit außen angelegten Elektroden und beobachteten die Ergebnisse auf dem Schirm einer Kathodenstrahlröhre. Als Ruhepotential wurde das konstante Potential zwischen einer intakten Stelle auf der Faser und einer zweiten Stelle angesehen, die durch Verletzung oder isotonsche Kaliumchloridlösung depolarisiert worden war. Zu unserer Überraschung fanden wir oft ein Aktionspotential, das viel größer als das Ruhepotential war, z. B. 73 mV gegenüber 37 mV. Erst sehr viel später erfuhr ich, daß *Schäfer* [14] bereits 1936 über eine ähnliche Diskrepanz im Sartorius- und Gastrocnemius-Muskel beim Frosch berichtet hatte. Der Kurzschlußeffekt des Meerwasserfilmes, der an der in Öl gelegten Faser haftete, erlaubte uns aber nicht, die absoluten Werte der Membranpotentiale zu bestimmen. Dieser Effekt sollte jedoch die beiden Potentiale gleichermaßen beeinflussen, und außerdem war der Unterschied zwischen ihnen zu groß, um sich durch eine Ungenauigkeit bei der Spannungsmessung erklären zu lassen. Trotzdem mißtrauten wir diesen Ergebnissen, die mit außen angelegten Elektroden erhalten worden waren, und bevor wir sie veröffentlichen konnten, nahm uns beide der Krieg in Anspruch.

Ehe wir uns weiter mit dieser unerwarteten Diskrepanz beschäftigen konnten, mußten wir den absoluten Wert der Membranpotentiale genau bestimmen. Dazu ermittelten wir die Potentialdifferenz zwischen einer Elektrode innerhalb der Nervenfasern und der umgebenden Lösung. *Osterhout* und Mitarbeiter [15] konnten bereits innere Potentiale in Vakuolen großer Pflanzenzellen mit eingeführten Elektroden messen. Als geeignetes Objekt für ein vergleichbares Experiment mit Nervenzellen bot sich das Riesenaxon des Tintenfisches an. Die ersten Messungen gelangen *Curtis* und *Cole* [16] im Sommer 1939 in Woods Hole und *Huxley* und mir [17] in Plymouth. Die in Details abweichende Versuchstechnik war im Prinzip gleich: Eine Mikroelektrode, bestehend aus einer langen Glaskapillare, die mit einer Salzlösung oder einem Metall gefüllt war, wurde in ein Ende der Faser eingeführt und 1 bis 3 cm weit vorgeschoben. Die Faser wurde an der Einführungsstelle zwar beschädigt, doch das Vorschieben brachte die Elektrode weit genug

[14] *H. Schäfer*, *Pflügers Arch. ges. Physiol. Menschen Tiere* **237**, 329 (1936).

[15] *W. J. V. Osterhout*, *Biol. Rev. biol. Proc. Cambridge philos. Soc.* **6**, 369 (1931).

[16] *H. J. Curtis* u. *K. S. Cole*, *J. cellular comparat. Physiol.* **15**, 147 (1940).

[17] *A. L. Hodgkin* u. *A. F. Huxley*, *Nature (London)* **144**, 710 (1939).

in den intakten Nerven. Wenn die Elektrode während des Einführens die Membran nicht berührte, konnte das Axon trotz der Behandlung mehrere Stunden lang Impulse leiten. Abbildung 2a zeigt eine solche Elektrode im Innern eines unbehandelten Axons, Abbildung 2b ein Axon, bei dem die begleitenden kleinen Nervenfasern entfernt wurden, im Dunkelfeld.

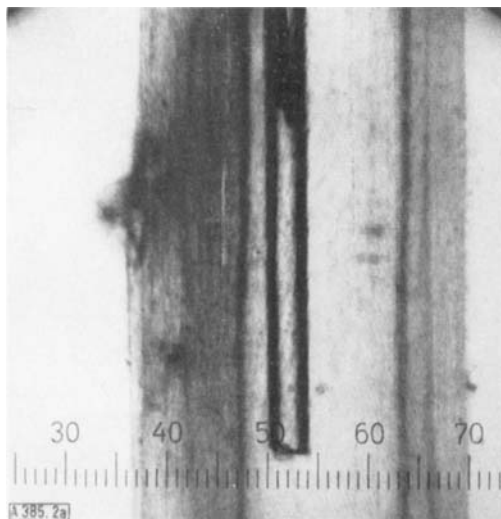


Abb. 2a. Mikrophotographie einer Meßelektrode im Innern eines Riesenaxons von *Loligo forbesi*. Das Riesenaxon (helles Feld) trägt auf beiden Seiten kleine Nervenfasern. Ein Teilstrich = 33 μ [17].

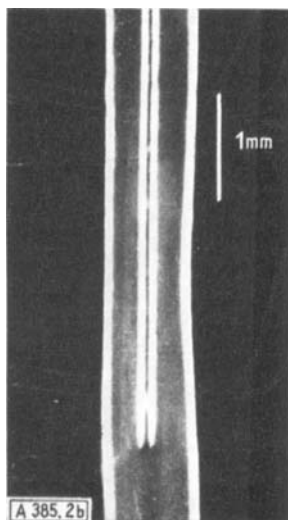


Abb. 2b. Mikrophotographie einer Glaskapillare (0,1 mm Durchmesser) im Innern eines Riesenaxons ohne seitliche Nervenfasern von *Loligo forbesi*, Dunkelfeldbeleuchtung [20].

Die Arbeitsgruppen in Woods Hole und in Plymouth konnten 1939 hohe Aktionspotentiale zwischen einer inneren Elektrode und der umgebenden Lösung messen und damit beweisen, daß das Aktionspotential an der Oberflächenmembran entsteht. Auch mit dieser Technik erhielten Huxley und ich wieder viel größere Aktions- als Ruhepotentiale [17]. Abbildung 3 zeigt ein Aktionspotential von 86 mV und ein Ruhepotential von nur 45 mV, wobei beim Übergang auf das Aktionspotential eine Potentialumkehr in bezug auf das Potential Null der umgebenden Lösung eintritt.

1939 registrierten Cole und Curtis [16] die Potentiale mit einem an einen Kondensator gekoppelten Verstär-

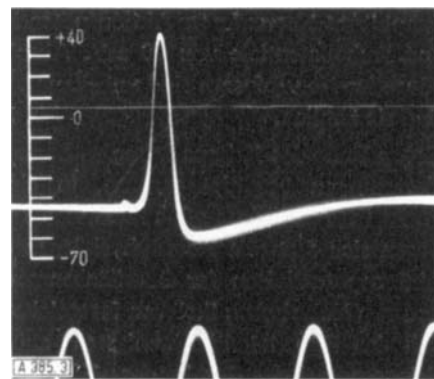


Abb. 3. Aktions- und Ruhepotential, gemessen mit einer mit Meerwasser gefüllten Kapillare zwischen der Außen- und Innenseite eines Axons. Ordinate: Potential der inneren Elektrode in Millivolt gegen das umgebende Meerwasser, dessen Potential gleich Null gesetzt wurde. Abszisse: Zeit; der Abstand zwischen zwei Maxima entspricht 2 msec [17, 18].

ker, spätere Messungen mit einem Gleichstromverstärker lieferten im Durchschnitt ein Aktionspotential von 108 mV und ein Ruhepotential von 51 mV [19]. Curtis und Cole zeigten außerdem, daß das Ruhepotential reversibel zusammenbricht, wenn die Kalium-Konzentration der umgebenden Flüssigkeit bis auf die Konzentration der Kalium-Ionen im Axoplasma erhöht wird. Bei hohen Konzentrationen verhielt sich die Membran wie eine Kalium-Elektrode, so wie es Bernstein vorausgesagt hatte.

Die Kleinheit der meisten Nerven- und Muskelfasern erschwerte die Anwendung der an den Riesenaxonen entwickelten Technik auf andere Objekte. Deshalb arbeiteten Graham, Gerard und Ling eine sehr bequeme und leistungsfähige Methode aus, die es erlaubt, extrem kleine Glaskapillaren quer in Muskelfasern einzuführen, ohne nennenswerten Schaden anzurichten [21]. Um reproduzierbare Ergebnisse zu erhalten, darf allerdings ein Elektrodendurchmesser von 0,5 μ nicht überschritten werden. Diese Elektroden haben jedoch einen hohen Widerstand, der besondere Ansprüche an das registrierende System stellt. Mit diesen Elektroden wurden zunächst nur Ruhepotentiale gemessen, doch die Erhöhung der Kaliumchlorid-Konzentration in der Elektrode bis auf 3 M erlaubte auch eine Messung der Aktionspotentiale [22]. In fast allen erregbaren Zellen, die nach dieser Methode untersucht wurden, übertraf das Aktions- das Ruhepotential, oft um 40 oder 50 mV.

Zur Untersuchung von markhaltigen Nervenfasern, die den Einstich einer Elektrode nicht vertragen, entwickelten Huxley und Stämpfli 1950 [23] eine Methode, die von Frankenhaeuser [24] verfeinert wurde und die den erwähnten Kurzschlußeffect vermied. Mit ihr fand man in

[18] A. L. Hodgkin u. A. F. Huxley, *J. Physiology* 104, 176 (1945).

[19] H. J. Curtis u. K. S. Cole, *J. cellular comparat. Physiol.* 19, 135 (1942).

[20] A. L. Hodgkin u. R. D. Keynes, *J. Physiology* 131, 592 (1956).

[21] J. Graham u. R. W. Gerard, *J. cellular comparat. Physiol.* 28, 99 (1946); G. Ling u. R. W. Gerard, *ibid.* 34, 383 (1949).

[22] W. L. Nastuk u. A. L. Hodgkin, *J. cellular comparat. Physiol.* 35, 39 (1950).

[23] A. F. Huxley u. R. Stämpfli, *J. Physiology* 112, 476, 496 (1951).

[24] B. Frankenhaeuser, *J. Physiology* 135, 550 (1957).

Amphibien-Nervenfasern Aktionspotentiale von 120 mV und Ruhepotentiale von 70 mV. Absolute Werte für Säugetier-Nervenfasern sind unbekannt, wahrscheinlich sind sie ähnlich.

Gegen Ende des Krieges waren mehrere von *Bernsteins* Voraussagen bestätigt worden, in einem wichtigen Punkt irrte allerdings seine klassische Theorie. Damals waren sich fast alle Neurophysiologen einig, daß das Aktionspotential an der Oberflächenmembran entsteht und von elektrischen Strömen fortgeleitet wird und daß sich das Ruhepotential wenigstens zum Teil auf die elektromotorische Kraft der Kaliumkonzentrationszelle zurückführen läßt. Andererseits übertraf in Krabben- und Tintenfischnerven das Aktionspotential das Ruhepotential um 40–50 mV [17–19]. Dies war augenscheinlich unvereinbar mit dem Gedanken, daß ein Zusammenbruch der Membran zur elektrischen Aktivität führt: Ein Prozeß mußte gefunden werden, der die Potentialumkehr erklären konnte.

Die Natriumhypothese

Die frühen Bemühungen, diese Umkehr theoretisch zu deuten, waren meistens spekulativ und experimentell nicht leicht zu prüfen. Eine einfachere Erklärung, heute als „Natriumhypothese“ bekannt, wurde mit *Katz* und *Huxley* ausgearbeitet und im Sommer 1947 geprüft [25]. Diese Hypothese, die wahrscheinlich einiges den klassischen Experimenten von *Overton* [26] verdankt, stützte sich auf einen Vergleich der Ionenzusammensetzung des Axoplasmas des Tintenfischnerven und des umgebenden Blutes oder Meerwassers. Genau wie *Bernstein* postulierten auch wir eine ruhende Membran, die selektiv für Kalium-Ionen durchlässig ist. Das Ruhepotential rührt dann von der Tendenz der Kalium-Ionen her, von der konzentrierteren Lösung innerhalb einer Nerven- oder Muskelfaser nach außen zu wandern. Im Grenzfall einer allein für Kalium durchlässigen Membran, die das Axoplasma mit seinen 400 mM K von dem 20 mM K enthaltenden Plasma trennt, sollte innen eine Spannung von –75 mV gegenüber der äußeren Lösung herrschen. Dieser Wert läßt sich aus der Nernst-Beziehung erhalten:

$$V_K = \frac{RT}{F} \ln \frac{K_a}{K_i} \quad (1)$$

V_K = Gleichgewichtspotential des Kalium-Ions, definiert als inneres Potential minus äußeres Potential, K_a = äußere und K_i = innere Kaliumionen-Konzentration (genauer Aktivität). Ruhepotentiale von 70 mV sind in intakten Tintenfischnerven gemessen worden [27]. Wenn die Permeabilität des Natriums $1/12$ der des Kaliums beträgt, kann ein Potential von etwa 50 mV für ein isoliertes Axon in Meerwasser vorausgesagt wer-

den (350 mM K, 50 mM Na im Axoplasma, 10 mM K, 450 mM Na im Meerwasser).

Wenn, wie *Bernstein* annahm, die Membran zusammenbricht, sollte das Permeabilitätsverhältnis von Natrium und Kalium gleich dem Verhältnis der Beweglichkeiten dieser beiden Ionen in Wasser werden, nämlich etwa 0,7 bis 1, und das Aktionspotential dürfte das Ruhepotential nicht übertreffen, sondern müßte sogar um mindestens 8 mV niedriger liegen. Die Hypothese ließ sich jedoch durch die Annahme retten, daß die aktive Membran selektiv für Natrium durchlässig wird. Für das Gleichgewichtspotential an einer Membran, die für Natrium-Ionen wesentlich durchlässiger als für alle anderen Ionen ist, gilt

$$V_{Na} = \frac{RT}{F} \ln \frac{Na_a}{Na_i} \quad (2)$$

Die Gleichung gibt einen Grenzwert von +58 mV für das zehnfache Konzentrationsverhältnis (beobachtet von *Steinbach* und *Spiegelman* [28]) und erklärt damit befriedigend die Umkehr von 50 mV, die normalerweise bei intakten Nervenfasern gefunden wird.

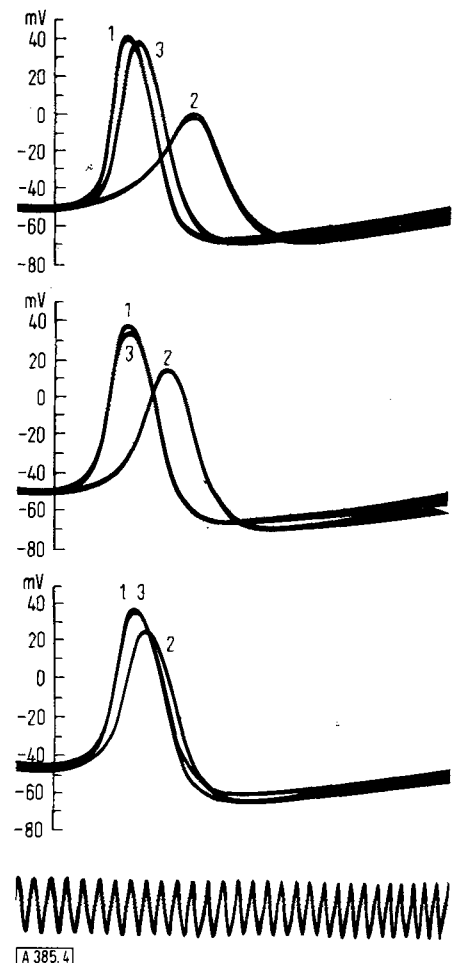


Abb. 4. Einfluß von natriumarmen äußeren Lösungen auf das Aktionspotential eines Riesenaxons. Kurven 1 und 3: Meerwasser als äußere Lösung; Kurven 2, von oben nach unten: 33 % Meerwasser und 67 % isotonische Glucoselösung; 50 % Meerwasser und 50 % isotonische Glucoselösung; 70 % Meerwasser und 30 % isotonische Glucoselösung. Abszisse: Zeit; jedes Maximum entspricht 0,1 msec [25].

[28] H. B. Steinbach u. S. Spiegelman, J. cellular comparat. Physiol. 22, 187 (1943).

[25] A. L. Hodgkin u. B. Katz, J. Physiology 108, 37 (1949).

[26] E. Overton, Pflügers Arch. ges. Physiol. Menschen Tiere 92, 346 (1902).

[27] A. L. Hodgkin u. R. D. Keynes, zitiert in A. L. Hodgkin, Proc. Roy. Soc. (London) B 148, 1 (1958); J. W. Moore u. K. S. Cole, J. gen. Physiol. 43, 961 (1960).

Aus der Natriumhypothese folgte, daß die Größe des Aktionspotentials merklich von der Konzentration der Natrium-Ionen in der umgebenden Lösung beeinflusst wird. Die aktive Membran sollte keine Potentialumkehr mehr zeigen, wenn die Natriumionen-Konzentration auf beiden Seiten der Membran gleich geworden ist. Die ersten quantitativen Messungen dieser Art wurden im Sommer 1947 mit *Katz* durchgeführt. Wurde das Natriumchlorid in der äußeren Lösung nach und nach durch Cholinchlorid oder Glucose ersetzt, so verkleinerte sich wohl das Aktionspotential, doch nicht das Ruhepotential (Abb. 4). Wenn das gesamte Natrium entfernt war, dann wurde das Axon reversibel unerregbar, was mit *Overtons* Experimenten an Froschmuskeln im Einklang stand. Im physiologischen Bereich änderte sich das Potential mit der äußeren Natriumionen-Konzentration, so wie es bei einer Natrium-Elektrode zu erwarten war [25]. In einer Lösung, die zuviel Natrium enthielt, vergrößerte sich das Potential um etwa den aus Gleichung 2 vorausgesagten Betrag. Abbildung 5 illustriert eines dieser Experimente. Später konnte *Stämpfli* [29] zeigen, daß das Potential am Ranvierknoten bei einer vierfachen Erhöhung der äußeren Natrium-Konzentration um 35 mV zunimmt.

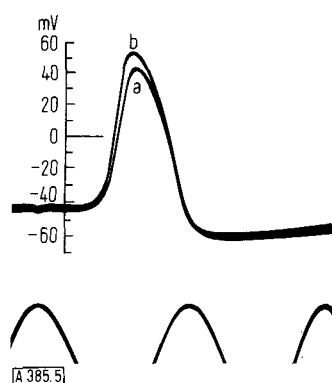


Abb. 5. Einfluß einer natriumreichen äußeren Lösung auf das Aktionspotential eines Riesenaxons. a: in Meerwasser, b: 50 Sekunden nach der Zugabe von Meerwasser mit dem 1,56-fachen des normalen Natriumgehaltes. Abszisse: Zeit; jedes Maximum entspricht 0,1 msec.

Die Wirkung veränderter äußerer Natrium-Konzentrationen konnte jetzt an anderen erregbaren Geweben studiert werden: z. B. am Froschmuskel [22], an marklosen Nerven [30], an Purkinje-Fasern des Herzens [31] und an Crustaceen-Nerven [32]. All diese Experimente lieferten die gleichen Ergebnisse wie sie beim Tintenfisch-Axon gefunden worden waren.

Zumindest in zwei Fällen scheint allerdings ein anderer Mechanismus gültig zu sein: Im Krebsmuskel liefert der Eintritt von Calcium oder einem anderen zweiwertigen Kation den nach innen gerichteten Strom [33], und bei der Pflanzenzelle *Chara* scheint der Primärprozeß ein Ausfließen von Chlorid aus dem Vakuolensaft zu sein [34].

[29] R. Stämpfli, J. de Physiol. 48, 710 (1956).

[30] A. F. Huxley u. R. Stämpfli, J. Physiology 112, 496 (1951).

[31] M. H. Draper u. S. Weidmann, J. Physiology 115, 74 (1951).

[32] J. C. Dalton, J. gen. Physiol. 41, 529 (1958).

[33] P. Fatt u. B. Katz, J. Physiology 120, 171 (1953); P. Fatt u. B. L. Ginsborg, ibid. 142, 516 (1958).

[34] C. T. Gaffey u. L. J. Mullins, J. Physiology 144, 505 (1958).

Keynes [35] in England und *Rothenburg* [36] sowie *Grundfest* und *Nachmansohn* [37] in USA begannen, unabhängig voneinander, zwischen 1947 und 1951 den Einfluß der Erregung auf die Wanderung von markierten Natrium-Ionen durch die Oberflächenmembran von Riesenaxonen zu untersuchen. *Keynes* stimulierte *Sepia*-Axone 100-mal pro Sekunde und fand eine 15-fach stärkere Aufnahme von ^{24}Na , gleichzeitig floß aber auch bedeutend mehr markiertes Natrium nach außen, und es war schwierig zu entscheiden, ob die Aktivität mit einer Nettoaufnahme von Natrium verbunden war. *Keynes* und *Lewis* [38] lösten das Problem durch eine genaue Bestimmung der Natriumionen-Konzentration im Axoplasma durch Aktivierungsanalyse. Wir wissen heute, daß bei 20°C die Nettoaufnahme an Natrium bei einem Impuls $3 \cdot 10^{-12}$ bis $4 \cdot 10^{-12}$ Mol/cm² beträgt, oder, anschaulicher ausgedrückt, bei jedem Impuls wandern 20000 Natrium-Ionen durch ein Quadratmikrometer (10^{-6} mm²) der Oberfläche nach innen. Andere Experimente zeigten, daß gleichzeitig eine ähnliche Menge Kalium-Ionen die Faser verläßt [39].

Ein Eindringen von $4 \cdot 10^{-12}$ Mol Natrium/cm² reicht zur Bildung eines Aktionspotentials der gefundenen Größe vollständig aus. Seit den Arbeiten von *Cole* und Mitarbeitern weiß man, daß die elektrische Kapazität der Membran etwa $1 \mu\text{F}/\text{cm}^2$ beträgt [10]. Die Ladungsmenge, die nötig ist, um die Spannung an einem Kondensator von $1 \mu\text{F}$ Kapazität um 120 mV zu ändern, beträgt $1,2 \cdot 10^{-7}$ Coulomb, die von $1,2 \cdot 10^{-12}$ Mol eines einwertigen Kations geliefert werden kann, also von einem Drittel der beobachteten Menge an eindringendem Natrium. Die Differenz erklärte sich aus der Tatsache, daß zusätzlich zur Aufladung der Membran während der ansteigenden Phase des Aktionspotentials ein großer Teil des Natriums gegen Kalium ausgetauscht wird, besonders am Beginn der abfallenden Phase des Aktionspotentials. Quantitative Berechnungen erlaubten es *Huxley* und mir, aus elektrischen Meßdaten die Größe der Ionenverschiebungen vorauszusagen, wobei – wie *Huxley* in seinem Vortrag [39a] noch näher erläutern wird – die theoretisch erhaltenen Werte mit den experimentell ermittelten Werten befriedigend übereinstimmen.

Die Natrium-Menge, die in eine markhaltige Faser während eines Impulses eindringt, ist viel geringer als bei einer marklosen Faser vergleichbarer Größe [40], weil

[35] R. D. Keynes, Arch. Sci. physiol. 3, 165 (1949); J. Physiology 109, 13 P (1949); 114, 119 (1951).

[36] M. A. Rothenburg, Biochim. biophysica Acta 4, 96 (1950).

[37] H. Grundfest u. D. Nachmansohn, Federat. Proc. 9, 53 (1950).

[38] R. D. Keynes u. P. R. Lewis, J. Physiology 114, 151 (1951).

[39] R. D. Keynes, J. Physiology 107, 35 P (1948); 113, 99; 114, 119 (1951); A. M. Shanes, Amer. J. Physiol. 177, 377 (1954).

[39a] A. F. Huxley, Angew. Chem. 76, 668 (1964).

[40] T. Asano u. W. P. Hurlbut, J. gen. Physiol. 41, 1187 (1958).

wahrscheinlich der Ionenaustausch auf die Ranvierknoten beschränkt und die elektrische Kapazität des Axons durch die dicke Myelinscheide wesentlich verringert ist.

Die Membranströme

Im Sommer 1947 entwickelten *Cole* und *Marmont* [41, 42] eine neue Technik: Sie führten lange Metallelektroden in die Tintenfischfaser ein und waren damit in der Lage, bei einem Stromfluß durch die Fasermembran die Komplikationen zu vermeiden, die sich aus der Ausbreitung des Stromes in einer kabel-ähnlichen Struktur ergeben. *Cole* führte mit dieser Anordnung ein Experiment aus, in welchem er die Potentialdifferenz an der Membran stufenweise änderte und den Strom registrierte, der durch die Membran floß. *Cole* verwendete eine einzige innere Elektrode für die Aufzeichnung von Potential und Stromdurchgang. Die Elektrodenpolarisation, die bei großem Stromdurchfluß nicht zu vermeiden ist, gestattete es nicht, Messungen von mehr als einer Millisekunde Dauer vorzunehmen. Zu dem Hauptergebnis, nämlich dem Nachweis eines einwärts gerichteten Stromes nach einer Depolarisation, gelangte *Cole* schon 1947 [41]. Mit zwei inneren Elektroden – je einer zum Messen des Stromes und der Spannung – und durch Verwendung eines elektronischen Steuerungssystems zum Konstanthalten der Spannung sollte sich das Verfahren verbessern lassen. *Cole*, *Marmont* und ich diskutierten diese Möglichkeit im Frühjahr 1948, und im folgenden Sommer begann ich mit *Huxley* und *Katz*, sie in die Tat umzusetzen [43]. Nach weiteren Verbesserungen während des Winters erhielten wir 1949 schließlich zahlreiche Meßwerte, die in den folgenden zwei Jahren in Cambridge analysiert wurden [44]. *Huxley* wird diese Ergebnisse im einzelnen beschreiben [39a]. Ich möchte hier nur erwähnen, daß eine Variation der äußeren Ionenkonzentrationen es ermöglichte, die Ionenströme durch die Membran in ihre Natrium- und Kalium-Komponenten zu zerlegen und damit die Änderung der Ionenpermeabilität in Abhängigkeit von der Zeit und vom Membranpotential zu bestimmen.

Zunächst hofften wir, daß diese Analyse uns ein definiertes molekulares Modell der Membran liefern würde. Allmählich erkannten wir jedoch, daß verschiedene Mechanismen zu ähnlichen Gleichungen führen, und daß wir vor allem sehr viel mehr über die Chemie und die Feinstruktur der Membran wissen mußten. Andererseits waren unsere Gleichungen überraschend leistungsfähig; Einzelheiten des elektrischen Verhaltens der Riesenaxonen konnten relativ genau vorausgesagt werden. Form, Dauer und Amplitude des Aktionspotentials, Leitungsgeschwindigkeit, Impedanzänderungen, Ionen-

bewegungen und unterschwellige Erscheinungen einschließlich der Oszillation sind Beispiele für Eigenschaften, die wir mit unseren Gleichungen erklären konnten.

Aktiver Transport von Natrium- und Kalium-Ionen

In der jüngsten Phase der Forschung auf dem Gebiet der Nervenleitung versuchen Physiologen und Biochemiker herauszufinden, wie die Zellen ihre Stoffwechselenergie verwenden, um Natrium- und Kalium-Ionen gegen die Konzentrationsgradienten zu verschieben. In erregbaren Geweben wird ein solcher Prozeß zum Aufbau der Ionenkonzentrationsdifferenzen benötigt, von denen die Impulsleitung abhängt. Wenn eine Nervenfaser einen Impuls leitet, ändert sie ihre Permeabilität, wodurch es zuerst den Natrium- und danach den Kalium-Ionen möglich wird, entlang der Konzentrationsgradienten zu wandern. In Riesenaxonen sind die Änderungen, die mit einem Impuls einhergehen, äußerst gering: Ein Axon von 500 μ Durchmesser verliert bei einem Impuls nur ein Millionstel seines Kaliums. Dicke Fasern können daher viele Impulse leiten, bevor sie ihre „Batterien“ durch Stoffwechselvorgänge aufladen müssen. Wenn die Nervenfaser aber dem Organismus nutzen sollen, müssen sie einen Mechanismus besitzen, der den Ionenaustausch wieder rückgängig macht, der während der elektrischen Aktivität auftritt. *Overton* sah ein solches System bereits 1902 voraus, als er berechnete, daß der menschliche Herzmuskel etwa $2,4 \cdot 10^9$ Kontraktionen in 70 Jahren ausführt und trotzdem im Alter genauso viel Kalium und genauso wenig Natrium wie in der Jugend enthält [26]. Vierzig Jahre später führte *Dean* den Begriff der „Natriumpumpe“ ein und zeigte, daß die Verteilung von Kalium und Chlorid im Muskel die Folge einer aktiven Verdrängung von Natrium sein kann, doch daß ein aktiver Transport von Kalium und Chlorid allein dazu nicht ausreicht [45]. Diese Idee wurde von *Krogh* [46] und *Ussing* [47] weiterentwickelt und später durch Experimente an vielen tierischen Geweben gestützt.

Riesennervenfaser sind ein ausgezeichnetes Material zum Studium von Ionenpumpen. Man kann z. B. radioaktives Natrium injizieren und dann die markierten Ionen abfangen, die aus der Faser herauskommen. Vergiftet man die Faser mit Cyanid oder Dinitrophenol, dann versagt die Ionenpumpe, und Natrium-Ionen sammeln sich allmählich im Innern an. Die Faser bleibt zwar noch für viele Stunden erregbar, weil genügend Natrium- und Kalium-Ionen während der Impulse entlang der Konzentrationsgradienten wandern können, doch alles Natrium, das in die Faser gelangt, bleibt dort und wird nicht hinausgepumpt wie in intakten Nerven. Die Natriumpumpe benötigt Adenosintriphosphat (ATP), denn in einem Axon, das sein ATP verbraucht hat, kann der aktive Transport von Natrium durch Injektion von energiereichem Phosphat in geeigneter Form

[41] K. S. Cole, Arch. Sci. physiol. 3, 253 (1949).

[42] G. Marmont, J. cellular comparat. Physiol. 34, 351 (1949).

[43] A. L. Hodgkin, A. F. Huxley u. B. Katz, Arch. Sci. physiol. 3, 129 (1949).

[44] A. L. Hodgkin, A. F. Huxley u. B. Katz, J. Physiology 116, 424 (1951); A. L. Hodgkin u. A. F. Huxley, J. Physiology 116, 449, 473, 497; 117, 500 (1951); 121, 403 (1953).

[45] R. B. Dean, Biol. Symp. 3, 331 (1941).

[46] A. Krogh, Proc. Roy. Soc. (London) B 133, 140 (1946).

[47] H. H. Ussing, Physiol. Rev. 29, 127 (1949).

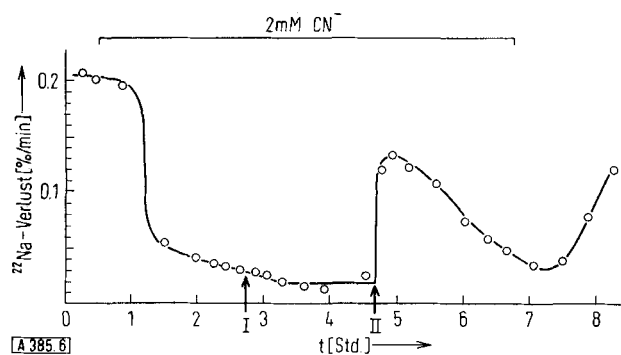


Abb. 6. Einfluß der Injektion von Kreatinphosphat (I) und Argininphosphat (II) auf den Na-Ausstrom aus einem mit Cyanid vergifteten Tintenfischaxon. Mittlere Konzentrationen im Axon nach den Injektionen: 15,3 mM Kreatinphosphat und 15,8 mM Argininphosphat [48].

wieder in Gang gebracht werden [48]. Abbildung 6 zeigt, daß der Natriumverlust nach einer Cyanid-Zugabe auf einen niedrigen Wert zurückgeht, der sich zwar durch Zugabe des Molluskenphosphagens, Argininphosphat, nicht aber durch das Phosphagen der Wirbeltiere, Kreatinphosphat, wieder erhöhen läßt. Wir wissen, daß Kreatinphosphat nicht von Enzymen verwendet werden kann, die normalerweise Phosphat von Argininphosphat auf Adenosindiphosphat übertragen [49].

Der molekulare Mechanismus der Natriumpumpe ist unbekannt. Wir können nur sagen, daß diese Pumpe in den meisten Zellen von energiereichen Phosphaten, wie ATP oder Phosphagen, getrieben wird. Kürzlich fand Skou ein Enzym in der Membran, das ATP spalten kann und das von Natrium und Kalium aktiviert wird, während Substanzen, die in den Natriumtransport eingreifen, hemmend wirken [50].

Perfusion von Riesenaxonen

Zum Schluß möchte ich auf eine interessante Methode eingehen, die von Tasaki und Mitarbeitern in Woods Hole [51] und von Baker und Shaw in Plymouth [52] in den letzten Jahren entwickelt wurde. Es schien nämlich denkbar, das Protoplasma im Innern der Faser durch eine geeignete wäßrige Lösung zu ersetzen, ohne die Bildung des Aktionspotentials, das an der Oberfläche entsteht, zu beeinflussen. Seit 1937 [53] war bekannt, daß sich der größte Teil des Axoplasmas in Riesennervenfaser aus dem Schnittende herausdrücken läßt, doch niemand beachtete damals die elektrischen Eigenschaften der zurückbleibenden Hülle. Da die Fasern durch Abrollen mit einem Glasstab ausgepreßt wurden, sollte man eigentlich eine Beschädigung der Membran durch diese drastische Behandlung erwarten.

[48] P. C. Caldwell, A. L. Hodgkin, R. D. Keynes u. T. I. Shaw, J. Physiology 152, 561 (1960).

[49] A. H. Ennor u. J. F. Morrison, Physiol. Rev. 38, 631 (1958).

[50] J. C. Skou, Biochim. biophysica Acta 23, 394 (1957).

[51] T. Oikawa, C. S. Spyropoulos, I. Tasaki u. T. Teorell, Acta physiol. scand. 52, 195 (1961).

[52] P. F. Baker u. T. I. Shaw, J. Marine biol. Assoc. United Kingdom 41, 855 (1961).

[53] R. S. Bear, F. O. Schmitt u. J. Z. Young, Proc. Roy. Soc. (London) B 123, 505 (1937).

Im Herbst 1960 jedoch erhielten Baker und Shaw [52] Aktionspotentiale an ausgepreßten Hüllen, die mit einer isotonen Kaliumsalzlösung gefüllt waren. Später [54] lieferten solche Präparate stundenlang Aktionspotentiale der normalen Größe, die reversibel zusammenbrachen, wenn in der inneren Lösung Kalium durch Natrium ersetzt wurde. Die Abbildungen 7 und 8 zeigen, daß sich das Ruhe- und das Aktionspotential von der inneren Konzentration an Kalium und Natrium so beeinflussen ließen, wie es nach den Experimenten mit wechselnden äußeren Konzentrationen dieser Ionen zu erwarten war.

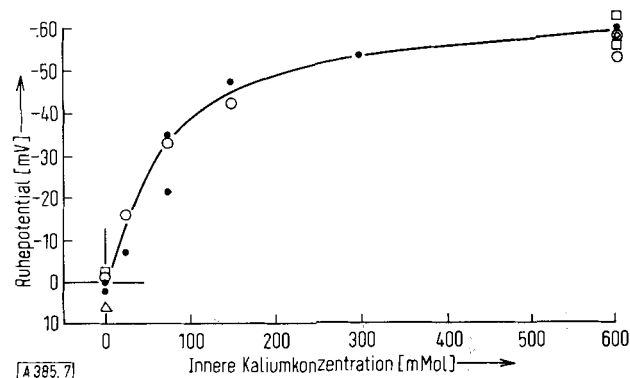


Abb. 7. Einfluß der inneren Kaliumkonzentrationen auf das Ruhepotential. Äußere Lösung: Meerwasser mit 10 mM K; innere Lösung: NaCl-KCl-Lösungen, isotonisch mit Meerwasser.

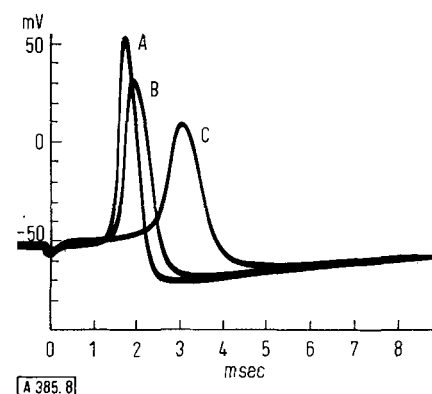


Abb. 8. Änderung des Aktionspotentials nach Ersatz der innen befindlichen Kalium-Ionen durch Natrium-Ionen. A: isotonische Kalium-sulfatlösung; B: $\frac{1}{4}$ Na + $\frac{3}{4}$ K, C: $\frac{1}{2}$ Na + $\frac{1}{2}$ K. Die Kurven wurden in der Reihenfolge B-A-C gemessen [54].

Es ist sehr bemerkenswert, daß man etwa 95 % des Axoplasmas entfernen, die Membran mit isotonischer Kaliumsalzlösung durchströmen und trotzdem noch etwa 300000 Impulse über sie leiten kann. Daraus schließen wir, daß chemische Reaktionen im Axoplasma für die Impulsleitung unwesentlich sind, und daß die Konzentrationsgradienten der Ionen die unmittelbare Energiequelle für das Aktionspotential sind. Huxley wird näher auf diese Ergebnisse eingehen [39a].

Nur durch gemeinsame Anstrengungen vieler Wissenschaftler konnte die Ionen-Theorie der Nervenleitung entwickelt werden. Ich möchte allen danken, die dazu beigetragen haben. Mein besonderer Dank für unmittelbare

[54] P. F. Baker, A. L. Hodgkin u. T. I. Shaw, Nature (London) 190, 885 (1961); J. Physiology 164, 330, 355 (1962).

