

2. Bei lokaler Durchleuchtung der inneren Markzone ergab sich eine Abnahme der mittleren Kreislaufzeiten von der Basis zur Spitze um 20%. Es wird angenommen, daß die kürzesten Zeiten in der Spitze darauf beruhen, daß nur eine Farbpassage gemessen wird, während an der Basis ab- und wiederaufsteigende Farbpassagen die Zeiten verlängern.

3. Das Verhältnis von lokalen zu diffusiven Zeiten beträgt 0,74. Daraus wird geschlossen, daß das halbe Blutvolumen der Vasca recta-Schleifen nicht an der Spitze liegt, sondern bei 25% stromabwärts im aufsteigenden Schenkel zu suchen ist.

4. Aus den Erscheinungszeiten des injizierten Farbstoffes und der Lage der lokal durchleuchtenden Lampe werden die schnellsten Plasmageschwindigkeiten in den Vas recta zu 2 mm/sec bestimmt, gegenüber einer mittleren Geschwindigkeit von 0,65 mm/sec.

#### Literatur

- <sup>1</sup> DEETJEN, P., H. BRECHTELSBAUER u. K. KRAMER: Hämodynamik des Nierenmarkes III. Farbstoffpassagezeiten in äußerer Markzone und V. renalis. Die Durchblutungsverteilung in der Niere. *Pflügers Arch. ges. Physiol.* **279**, 281 (1964).
- <sup>2</sup> KRAMER, K., K. GRAF, W. OVERBECK u. H. ZAUN: Photoelektrische Reflektometrie an tierischen Organen. *Pflügers Arch. ges. Physiol.* **262**, 285 (1956).
- <sup>3</sup> — K. THURAU u. P. DEETJEN: Hämodynamik des Nierenmarks. I. Mitteilung. Capilläre Passagezeit, Blutvolumen, Durchblutung, Gewebshämatokrit und O<sub>2</sub>-Verbrauch des Nierenmarkes in situ. *Pflügers Arch. ges. Physiol.* **270**, 251 (1960).
- <sup>4</sup> THURAU, K., P. DEETJEN u. K. KRAMER: Hämodynamik des Nierenmarks II. Wechselbeziehung zwischen vasculärem und tubulärem Gegenstromsystem bei arteriellen Drucksteigerungen, Wasserdürese und osmotischer Diuresis. *Pflügers Arch. ges. Physiol.* **270**, 270 (1960).

Prof. Dr. KURT KRAMER,  
Physiologisches Institut der Universität,  
34 Göttingen, Kirchweg 7

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Wien

## Elektrophysiologische Untersuchungen über den Mechanismus der Wirkung eines Antifibrillans auf die Anstiegssteilheit des Aktionspotentials von Purkinje-Fasern

Von

P. HEISTRACHER

Mit 7 Textabbildungen

(Eingegangen am 23. November 1963)

Die maximale Anstiegssteilheit des Aktionspotentials von Herzmuskelfasern ist, wie WEIDMANN (1955a) an Purkinje-Fäden von Schafen und Kälbern sowie TRAUTWEIN u. SCHMIDT an Purkinje- und Vorhof-fasern von Hundeherzen zeigen konnten, im Gleichgewichtszustand in charakteristischer Weise von jenem Membranpotential abhängig, von dem aus die plötzliche Depolarisation erfolgt. Trägt man in ein Ordinaten-system die maximale Anstiegssteilheit des Aktionspotentials auf der Ordinate gegen das entsprechende Membranpotential auf der Abszisse auf, so kommen die Meßpunkte auf eine S-förmige Kurve zu liegen; Cocain, Chinidin und ähnliche Stoffe verschieben diese Kurve im Ordinaten-system nach rechts (WEIDMANN 1955b).

In zwei vorausgehenden Arbeiten (HEISTRACHER u. PILLAT; PILLAT u. HEISTRACHER 1964) wurde der Einfluß von N-Propyl-Ajmalinium-Bromid sowie von Ajmalin auf die Beziehung zwischen Membranpotential und Anstiegssteilheit des Aktionspotentials untersucht und gezeigt, daß diese Stoffe ebenfalls zu einer Rechtsverschiebung der S-Kurve führen. Außerdem wurde beobachtet, daß die S-Kurve darüber hinaus noch weitere Veränderungen zeigt, die allerdings von den von WEIDMANN am Beispiel des Cocains beschriebenen Effekten abweichen. In der Erwartung, daß weitere Untersuchungen die Ursache dieser Diskrepanz aufdecken und eventuell zu neuen Vorstellungen über den Mechanismus der Wirkung eines Antifibrillans auf die maximale Anstiegssteilheit des Aktionspotentials von Herzmuskelzellen führen könnten, wurden die folgenden Experimente durchgeführt.

#### Methodik

Alle Versuche wurden an Purkinje-Fäden von Kalbsherzen durchgeführt. Die Kalbsherzen wurden unmittelbar nach dem Schlachten der Tiere in Tyrodelösung mit einer Temperatur von 4° C ins Institut transportiert. Dort wurde von der

Aorta her der linke Ventrikel der Kalbsherzen eröffnet und die frei durch die Kammer ziehenden falschen Sehnenfäden möglichst tief an ihrer Basis abgetrennt. Die so gewonnenen Präparate wurden sodann in mit Oxymix (95% O<sub>2</sub>, 5% CO<sub>2</sub>) durchgeführte Tyrodelösung von folgender Zusammensetzung gebracht (mMol/l): NaCl: 136,9; KCl: 2,68; CaCl<sub>2</sub>: 1,8; MgCl<sub>2</sub>: 1,05; NaHCO<sub>3</sub>: 11,9; NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>: 0,42; Glucose: 5,55. In einem Teil der Versuche wurde die KCl-Konzentration auf das Doppelte erhöht. Die Temperatur (37° C) sowie der pH-Wert (7,2–7,4) der Durchströmungsflüssigkeit wurden während des gesamten Versuches konstant gehalten.

In allen Versuchen wurden jeweils zwei Mikroelektroden in einem Abstand von 50–120  $\mu$  voneinander intracellulär in die Purkinje-Faser eingeführt; die eine diente zur Ableitung der Aktionspotentiale, die andere zur Zufuhr von elektrotomischen Impulsen. Die Glas-Mikroelektroden wurden mit Hilfe eines von ALEXANDER u. NARUK beschriebenen Gerätes hergestellt und mit 3-molarer KCl-Lösung gefüllt. Nur Mikroelektroden mit einem Widerstand von 10–30 Megohm wurden verwendet. Die Ableitung der Aktionspotentiale wurde in der üblichen Weise durchgeführt. Nähere technische Details können aus einer früheren Arbeit ersehen werden (PILLAT u. HEISTRACHER 1960). Während mit dem ersten Strahl des Kathodenstrahlscillographen das Aktionspotential registriert wurde, wurde der Anstieg des Aktionspotentials mittels eines geeigneten RC-Gliedes (500 k $\Omega$ , 100 pF) differenziert und mit dem zweiten Strahl zur Darstellung gebracht. Um die genaue Ausmessung der maximalen Anstiegssteilheit des Aktionspotentials zu erleichtern, wurde der zweite Strahl gegenüber dem ersten etwa 1 mm nach rechts verschoben. Die zweite intracellulär eingeführte Mikroelektrode diente zur Zufuhr von elektrotomischen Impulsen. Diese waren meist von 200–300 msec Dauer; in einigen Versuchen wurde die Dauer zwischen 200 und 700 msec variiert. Die anodischen bzw. kathodischen Stromstöße wurden zeitlich so appliziert, daß die nächste folgende Erregung unmittelbar am Ende der Polarisationsperiode am Ort der Ableitung eintraf. In einem Teil der Versuche endete die Polarisationsperiode erst während der absoluten Refraktärperiode des folgenden Aktionspotentials. Die Stärke der elektrotomischen Impulse konnte kontinuierlich geregelt werden. Der zuführenden Mikroelektrode war ein 50 Megohm-Widerstand vorgeschaltet.

Ein drittes Elektrodenpaar, bestehend aus zwei mit Silberdraht durchzogenen feinen Glascapillaren, diente zur Reizung. Die Kathode stand in Berührung mit dem Präparat. Alle Präparate wurden mit einer Frequenz von 48/min elektrisch getrieben, die Impulsdauer betrug 1 msec, die Stromstärke das 2–5fache der Schwellenstromstärke. Die Rechteckimpulse für Reizung bzw. Polarisation wurden von zwei entsprechend synchronisierten Grass-Reizgeräten (S4C) mit je einer Stimulus Isolation Unit (SIU4A) geliefert.

Erst 1 Std nach der Gewinnung der Purkinje-Fäden wurden die beiden Mikroelektroden intracellulär eingeführt und dann nach einer Kontrollperiode von einer weiteren Stunde dem Muskelbad eine Ajmalin-Tyrodelösung (Ajmalin-Konzentration: 3,3 bzw.  $5 \cdot 10^{-6}$  g/ml) zugeführt. Dazu wurden vor jedem Versuch 10 mg Ajmalin<sup>1</sup> in Form der Reinsubstanz in 1 ml Äthanol gelöst und diese Lösung mit Tyrodelösung auf die entsprechende Endkonzentration verdünnt. Das Fassungsvermögen des Muskelbades betrug 5 ml, die Durchströmungsgeschwindigkeit wurde konstant gehalten (80 Tropfen/min). Insgesamt wurden 24 derartige Versuche durchgeführt; allerdings gelang es davon nur in 18 Versuchen, die beiden Mikroelektroden genügend lange intracellulär zu halten.

<sup>1</sup> Wir danken der Fa. C. H. Boehringer Sohn, Ingelheim/Rhein, für die Überlassung von Ajmalin.

## Ergebnisse

### Beendigung der Polarisationsperiode vor oder nach Erregungsbeginn

In einer vorausgehenden Arbeit (PILLAT u. HEISTRACHER 1964) wurde ausführlich beschrieben, zu welchen Veränderungen Ajmalin in der Beziehung zwischen Membranpotential und maximaler Anstiegssteilheit führt: Der auffälligste Befund war, daß Ajmalin die Kurve, die die einzelnen Meßpunkte im Ordinatensystem (Abszisse: Membranpotential; Ordinate: Maximale Anstiegssteilheit des Aktionspotentials) verbindet, nicht nur nach rechts verschiebt, sondern auch derart deformiert, daß sie mit zunehmenden Membranpotentialwerten erst zunimmt, dann aber ein Plateau erreicht und schließlich neuerdings ansteigt. Vor sowie 1–2 Std nach der Substanzwirkung hingegen wurden Veränderungen gefunden, die den von WEIDMANN (1955a) angegebenen entsprachen.

Einer solchen Deformierung der S-Kurve der Beziehung zwischen Membranpotential und maximaler Anstiegssteilheit des Aktionspotentials könnte ein zu langer zeitlicher Abstand zwischen Beendigung der Polarisation und Eintreffen der Erregung am Ort der registrierenden Mikroelektrode zugrunde liegen. Wird nämlich ein Faserareal eines Purkinje-Fadens de- oder hyperpolarisiert und dann der Polarisationsstrom abgeschaltet, so kehrt das Membranpotential binnen kurzer Zeit annähernd auf den ohne Polarisation zu diesem Zeitpunkt zu erwartenden Membranpotentialwert auf exponentielle Weise zurück (siehe WEIDMANN 1951). Solchen Membranpotentialänderungen folgen mit nur geringer Verzögerung entsprechende Änderungen in der maximalen Anstiegssteilheit eines zu einem solchen Zeitpunkt ausgelösten Aktionspotentials: Die Zeitkonstanten für die Aktivierung bzw. Inaktivierung des Natrium-Transportsystems betragen maximal nur 20 msec (WEIDMANN 1955a). Kurzdauernde Änderungen des Membranpotentials könnten bei langsamer Zeitablenkung des registrierenden Strahls am Kathodenstrahlscillographen übersehen worden sein. Normale S-Kurven vor und nach Ajmalineinwirkung schließen zudem einen solchen Fehler nicht aus; eine durch Ajmalin verringerte Leitungsgeschwindigkeit hätte in den oben genannten Untersuchungen bei starrer Kopplung zwischen Ende der Polarisation und Reizung des Präparates den zeitlichen Abstand zwischen Ende der Polarisationsperiode und Eintreffen der Erregung am Ort der ableitenden Mikroelektrode verändern können.

Um diese Fehlerquelle auszuschalten, wurden in fast allen hier mitgeteilten Versuchen elektrischer Reiz und elektrotomischer Impuls so miteinander synchronisiert, daß der Polarisationsstrom erst während der absoluten Refraktärperiode der nächstfolgenden Erregung abgeschaltet wurde. Dennoch unterschieden sich die so erhaltenen Resultate nicht von den in der vorhergehenden Arbeit beschriebenen.

### Variation der Dauer der Polarisationsperiode

Einer Deformierung der S-Kurve, wie sie oben beschrieben wurde, könnte auch eine stark ausgeprägte Verlängerung der Zeitkonstanten jener Vorgänge zugrunde liegen, welche als Aktivierung bzw. Inaktivierung des Natrium-Transportsystems bezeichnet werden. Dabei würde sowohl eine starke Verzögerung der Aktivierung oder Inaktivierung

allein als auch beider Vorgänge geeignet erscheinen, zu ähnlichen wie den beschriebenen Veränderungen der S-Kurve zu führen.

Trotz einer 200–300 msec dauernden Depolarisation bzw. Hyperpolarisation des Faserareals an der Stelle der ableitenden Mikroelektrode wäre am Ende der Polarisationsperiode bei Eintreffen der folgenden Erregung erst ein geringerer Anteil des Natrium-Transportsystems inaktiviert bzw. verfügbar, als dem der Faser künstlich aufgezwungenem Membranpotential entspräche. Es erschien daher von Interesse, die Dauer der Polarisationsperiode während der Einwirkung von Ajmalin auf die Purkinje-Faser zu variieren (Abb. 1). Die durch Kreise wiedergegebenen Werte wurden wenige Minuten vor Beginn der Durchströmung des Muskelbades mit Ajmalin-Tyrodolösung ermittelt. Diese Meßpunkte kommen auf eine Kurve zu liegen, welche nach der Gleichung 1 von HODGKIN u. HUXLEY [Faktor  $k$  (siehe FRANKENHAEUSER u. HODGKIN) = 7] gezogen wurde. Alle übrigen Meßwerte wurden 22–42 min nach Beginn der Ajmalineinwirkung erhalten. In der Abb. 1 sind 5 der insgesamt 8 während der Durchströmung des Muskelbades mit Ajmalin-Tyrodolösung bestimmten S-Kurven wiedergegeben. Jeder einzelnen Kurve entspricht eine bestimmte Polarisationsdauer; sie betrug, in der Reihenfolge der Bestimmungen, 420, 520, 320, 620 und schließlich 720 msec. Es sei hervorgehoben, daß in allen diesen Bestimmungen die Polarisation jeweils erst etwa 80 msec nach Eintreffen der nächstfolgenden Erregung am Ort der Ableitung abgebrochen wurde. Aus der Abb. 1 kann ersehen werden, daß alle während der Ajmalineinwirkung ermittelten Meß-

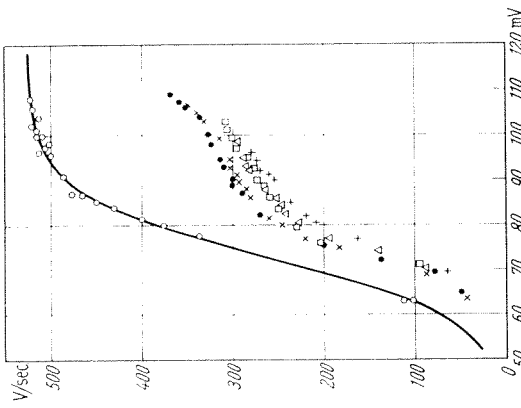


Abb. 1. Einfluß von  $5 \cdot 10^{-6}$  g/ml Ajmalin auf die Beziehung zwischen Membranpotential (mV; Abszisse) und maximaler Anstiegssteilheit des Aktionspotentials (V/sec; Ordinate). Polarisationdauer: Kreise und Vierecke: 320 msec; Punkte: 420 msec; liegende Kreuze: 520 msec; Dreiecke: 620 msec; stehende Kreuze: 720 msec

mit Ajmalin-Tyrodolösung ermittelt. Diese Meßpunkte kommen auf eine Kurve zu liegen, welche nach der Gleichung 1 von HODGKIN u. HUXLEY [Faktor  $k$  (siehe FRANKENHAEUSER u. HODGKIN) = 7] gezogen wurde. Alle übrigen Meßwerte wurden 22–42 min nach Beginn der Ajmalineinwirkung erhalten. In der Abb. 1 sind 5 der insgesamt 8 während der Durchströmung des Muskelbades mit Ajmalin-Tyrodolösung bestimmten S-Kurven wiedergegeben. Jeder einzelnen Kurve entspricht eine bestimmte Polarisationsdauer; sie betrug, in der Reihenfolge der Bestimmungen, 420, 520, 320, 620 und schließlich 720 msec. Es sei hervorgehoben, daß in allen diesen Bestimmungen die Polarisation jeweils erst etwa 80 msec nach Eintreffen der nächstfolgenden Erregung am Ort der Ableitung abgebrochen wurde. Aus der Abb. 1 kann ersehen werden, daß alle während der Ajmalineinwirkung ermittelten Meß-

punkte gegenüber den Kontrollwerten deutlich nach rechts verschoben sind. Die entsprechenden Kurven weisen im Bereich zwischen 80 und 100 mV eine Abflachung auf und steigen, sofern stärkere Hyperpolarisationen durchgeführt werden konnten, bei höheren Membranpotentialwerten neuerlich steiler an. Alle 5 Kurven weisen dabei dieselbe Form auf, lediglich der Grad der Rechtsverschiebung im Vergleich zur Kontrollkurve ist von Kurve zu Kurve geringgradig unterschiedlich. Dieser Umstand ist jedoch darauf zurückzuführen, daß die Kurven wenigstens zum Teil noch vor Eintreten der Maximalwirkung des Ajmalins ermittelt wurden. Der Grad der Deformierung der S-Kurve scheint also unabhängig zu sein von der Dauer der Polarisationsperiode, wenn diese zwischen 320 und 720 msec beträgt. Zwei weitere derartige Versuche führten zu gleichen Resultaten.

### Künstlich verändertes Membranpotential bei Eintreffen jeder oder jeder zehnten Erregung

Ein wesentlicher Unterschied zwischen der von WEIDMANN (1955b) und der von uns angewendeten Art der Bestimmung des Verlaufes der S-Kurve bestand darin, daß WEIDMANN (persönliche Mitteilung) nur vor Eintreffen jeder zehnten Erregung die künstliche Veränderung des Membranpotentials herbeiführte, während in den hier beschriebenen Versuchen vor Eintreffen jeder einzelnen Erregung die Membran am Ort der Ableitung de- bzw. hyper-

polarisiert wurde, wobei nach jedem vierten Aktionspotential der elektronische Impuls stufenweise verändert wurde. An un- behandelten Purkinje-Fäden liefen die beiden verschiedenen Methoden die gleichen Resultate (HEISTRACHER u. PULLAT; PULLAT u. HEISTRACHER 1964). Dies muß durchaus nicht auch während der Einwirkung einer Substanz der Fall sein, wie aus Abb. 2 erschen werden kann. Die durch Kreise wiedergegebenen Meßwerte wurden während der Kontrollperiode ermittelt. Von den vier während der Einwirkung von Ajmalin auf die Purkinje-Faser gewonnenen Serien

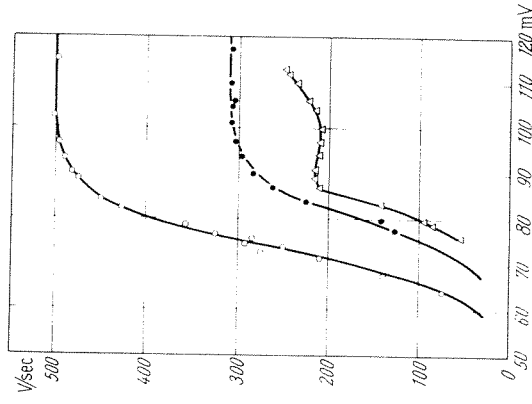


Abb. 2. Einfluß von  $5 \cdot 10^{-6}$  g/ml Ajmalin auf die Beziehung zwischen Membranpotential und maximaler Anstiegssteilheit des Aktionspotentials. Polarisationdauer: 400 msec. Näheres siehe Text

von Meßpunkten sind in Abb. 2 nur die beiden letzten wiedergegeben. Die ersten beiden Serien wurden ebenso wie die vierte in der üblichen Weise, also unter Polarisation der Fasermembran vor dem Eintreffen einer jeden Erregung, gewonnen. Nachdem sich bei der Ermittlung des Verlaufs der ersten beiden S-Kurven die charakteristischen Veränderungen (Rechtsverschiebung und Deformierung) gezeigt hatten, wurde nun, 11—14 min nach Beginn der Ajmalineinwirkung, in Anlehnung an die von WEIDMANN (siehe oben) mitgeteilte Methode, nur vor dem Eintreffen eines jeden zehnten Aktionspotentials am Ort der ableitenden Mikroelektrode eine künstliche Veränderung des Membranpotentials herbeigeführt und auf diese Weise der Verlauf der S-Kurve ermittelt. Die so erhaltenen Meßwerte sind in Abb. 2 als Punkte wiedergegeben. Wohl zeigt auch diese Kurve eine deutliche Rechtsverschiebung, die maximale Anstiegssteilheit nimmt aber mit zunehmendem Membranpotential kontinuierlich zu, erreicht bei etwa 100 mV ein Maximum von etwa 300 V/sec und erfährt trotz Hyperpolarisation der Membran bis zu nahezu 120 mV keine weitere Zunahme. Diese und die während der Kontrollperiode ermittelten Meßpunkte in Abb. 2 sind durch je eine Kurve miteinander verbunden, die nach der von WEIDMANN (1955a) für die Purkinje-Faser angegebenen Modifikation der Gl. 1 von HODGKIN u. HUXLEY (Faktor  $k = 5$ ) gezogen ist.

Ganz anders verhalten sich die durch Dreiecke wiedergegebenen Meßwerte, die auf die gewohnte Weise, 15—17 min nach Beginn der Ajmalineinwirkung ermittelt wurden: Die Zunahme der maximalen Anstiegssteilheit mit Erhöhung des Membranpotentials erfolgt nicht kontinuierlich bis zu einem Maximalwert, sondern wird durch ein Plateau im Bereich zwischen etwa 89 und 100 mV unterbrochen. Zwei weitere derartige Versuche führten zu gleichen Ergebnissen. Dabei war in beiden Fällen die nach der von WEIDMANN (siehe oben) mitgeteilten Methodik ermittelte S-Kurve während der Ajmalineinwirkung nicht nur nach rechts verschoben, sondern auch in ihrem Maximalwert gegenüber der Norm (auf 73 bzw. 55%) reduziert.

Es erscheint damit klar, daß das Auftreten einer Deformierung der S-Kurve während der Ajmalineinwirkung nur dann registriert wird, wenn jedes einzelne Aktionspotential von einem künstlich veränderten Membranpotential seinen Ursprung nimmt; wird nur bei jeder zehnten Erregung eine De- oder Hyperpolarisation gesetzt, so fehlt diese Deformierung der S-Kurve. Es kann daher vermutet werden, daß während der Einwirkung von Ajmalin die maximale Anstiegssteilheit nicht nur von jenem Membranpotential abhängig ist, von dem die betreffende Erregung ihren Ursprung nimmt, sondern auch von der „Vorgeschichte“ der Fasermembran: nämlich davon, von welchem Membranpotential die vorhergehenden Aktionspotentiale ihren Ursprung genommen haben.

### Abhängigkeit der maximalen Anstiegssteilheit des Aktionspotentials von der „Vorgeschichte“ der Fasermembran

Auf Grund der im vorhergehenden Abschnitt beschriebenen Beobachtungen erschien es notwendig, den Einfluß der „Vorgeschichte“ auf die Anstiegssteilheit des Aktionspotentials näher zu untersuchen. Gleichzeitig soll gezeigt werden, daß an unbehandelten Purkinje-Fäden die maximale Anstiegssteilheit auch unter den hier festgelegten Versuchsbedingungen lediglich vom Membranpotential, von welchem das Aktionspotential seinen Ursprung nimmt, abhängig ist, vorausgesetzt, daß bei der Wahl der Polarisationsdauer die Zeitkonstanten für die Aktivierung bzw. Inaktivierung des Natrium-Transportsystems berücksichtigt werden.

In dieser Gruppe wurden insgesamt elf Versuche durchgeführt. Dabei wurde wie folgt vorgegangen: Bei stets gleichbleibender Reizfrequenz von 48/min wurde vorerst mindestens 1 min lang keine De- oder Hyperpolarisation vorgenommen; waren die Werte der maximalen Anstiegssteilheit konstant, so wurde nun vor dem Eintreffen jeder einzelnen Erregung eine De- oder Hyperpolarisation der Membran künstlich herbeigeführt, wobei die Stromstärke des elektrotischen Impulses konstant gehalten wurde. 1—2 min später wurde der Polarisationsstrom wieder abgeschaltet. Auf diese Weise wurde erreicht, daß bei gleichbleibender Reizfrequenz jedes Aktionspotential zuerst von einem normalen, dann durch 1—2 min von einem einen gleichbleibenden Betrag erniedrigtem bzw. erhöhtem und schließlich wieder vom normalen Membranpotential seinen Ursprung nahm. Die Dauer der Polarisation betrug jeweils 300—400 msec und wurde innerhalb eines Versuches konstant gehalten. In allen Versuchen endete die Polarisationsperiode während der absoluten Refraktärperiode der nächstfolgenden Erregung. Der Betrag, um den das Membranpotential künstlich verändert wurde, betrug meist 10—25 mV.

**I. Vor der Ajmalineinwirkung.** Versuche dieser Art an Purkinje-Fäden wurden bisher noch nicht beschrieben. Abb. 3 zeigt 6 Aufnahmen aus einer Serie von Photographien, die in einem solchen „Umschaltversuch“ vor der Einwirkung von Ajmalin auf eine Purkinje-Faser gewonnen wurden. Abb. 3a wurde gegen Ende einer Periode aufgenommen, während welcher jede rasche Depolarisation von einem künstlich erniedrigten Membranpotential aus erfolgte. Maximales diastolisches Potential, Membranpotential im Augenblick des Eintreffens der Erregung am Ort der Ableitung, maximale Anstiegssteilheit und Überschuß des Aktionspotentials sind von Aktionspotential zu Aktionspotential konstant. Dasselbe gilt für die ersten beiden Aktionspotentiale in Abb. 3b. Das dritte Aktionspotential in Abb. 3b und alle folgenden Aktionspotentiale dieser Abbildung nehmen von normalen Membranpotential ihren Ursprung. Das erste derartige Aktionspotential zeigt bei gleichbleibendem maximalem diastolischem Potential eine maximale Anstiegssteilheit von etwas mehr als 500 V/sec und auch einen etwas höheren Überschuß als die vorhergehenden. Alle diese Werte bleiben innerhalb der nächsten Minute, wie aus Abb. 3c—f hervorgeht, konstant.

Insgesamt wurden in den 11 Experimenten 26 derartige „Umschaltversuche“ durchgeführt, welche alle zum gleichen Ergebnis führten: Das erste Aktionspotential nach einer solchen „Umschaltung“ zeigt eine der Änderung des für die maximale Anstiegssteilheit des Aktionspotentials entscheidenden Membranpotentials entsprechende Änderung der maximalen Anstiegssteilheit; wird das Membranpotential, von dem aus die Depolarisationen erfolgen, innerhalb der nächsten Minute konstant gehalten, so bleibt auch die maximale Anstiegssteilheit konstant. Dabei ist es gleichgültig, ob auf eine Phase ohne künstliche Veränderung des Membranpotentials eine solche mit De- oder Hyperpolarisation folgt oder umgekehrt. Es kann also gesagt werden, daß auch unter diesen Versuchsbedingungen an unbehandelten Purkinjefäden — genügend lange Dauer der Polarisation vorausgesetzt — die maximale Anstiegssteilheit des Aktionspotentials lediglich vom Membranpotential abhängig ist.

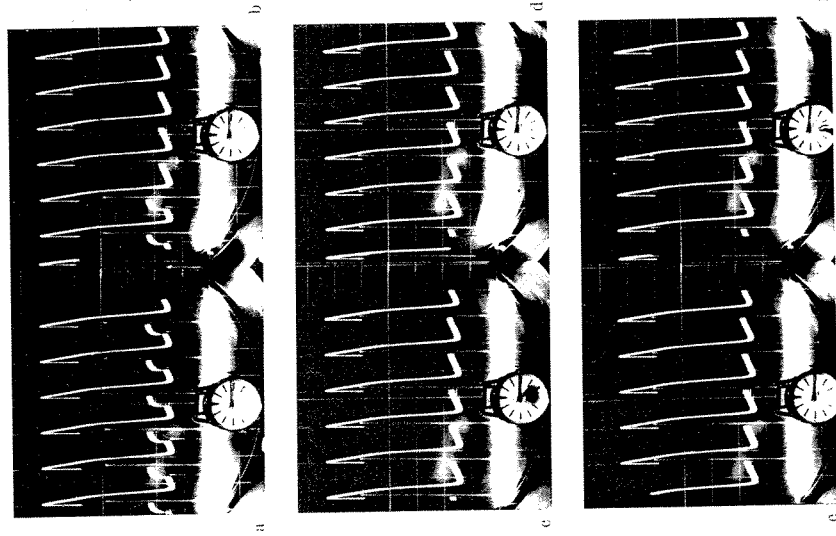


Abb. 3 a—f. Einzelaufnahmen aus einem Experiment vor Beginn der Ajmalineinwirkung. Oberer Strahl: Aktionspotential. Eine Rastereinheit, vertikal: 20 mV; horizontal: 940 msec. Initiale Spitze der Aktionspotentiale nicht sichtbar. Unterer Strahl: Maximale Anstiegssteilheit. Eine Rasterereinheit, vertikal: 100 V/sec. Näheres siehe Text.

**2. Während der Ajmalineinwirkung.** Ganz andere Verhältnisse wurden während der Einwirkung von Ajmalin (3,3 bzw.  $5 \cdot 10^{-6}$  g/ml) auf die Purkinje-Faser gefunden.

a) *Depolarisation — keine Polarisation.* Abb. 4 zeigt 8 Aufnahmen aus einer Serie von Photographien, die während der Einwirkung von Ajmalin gewonnen wurden. Die Bilder stammen aus demselben Versuch wie jene der Abb. 3. Abb. 4a wurde gegen Ende einer Periode aufgenommen, während welcher jede Depolarisation von einem um einen konstanten

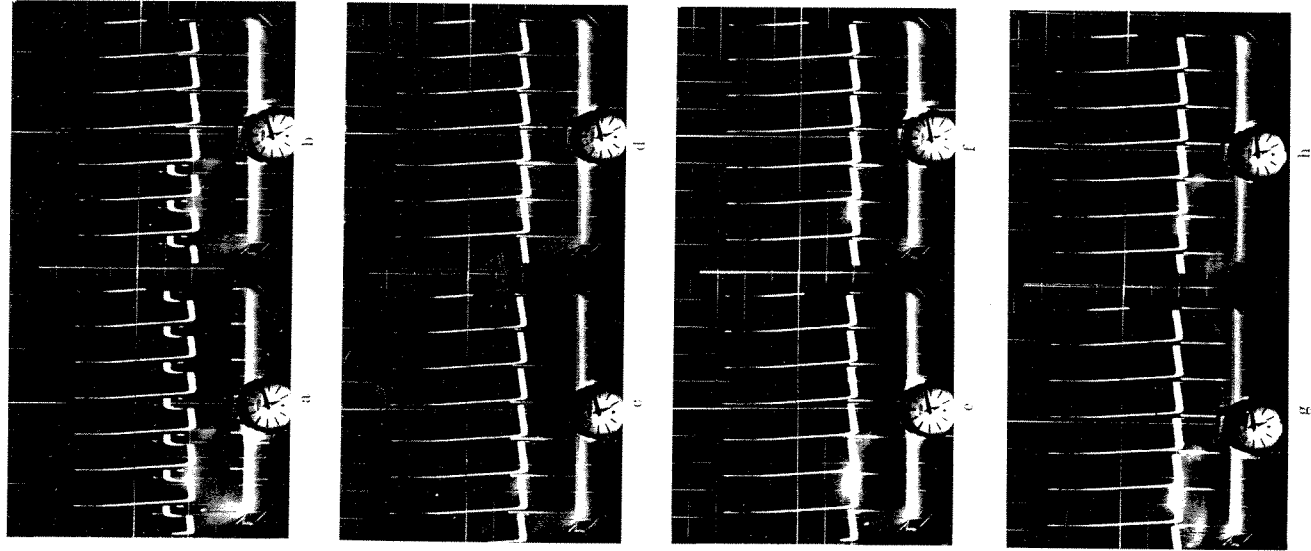


Abb. 4 a—h. Einzelaufnahmen aus einem Experiment während der Ajmalineinwirkung ( $5 \cdot 10^{-6}$  g/ml; 16,32 Uhr bis 17,32 Uhr). Beleuchtung wie in Abb. 3

ten Betrag künstlich erniedrigtem Membranpotential aus erfolgte. Die maximale Anstiegssteilheit dieser Aktionspotentiale beträgt etwa 60 V/sec. Dasselbe zeigen auch noch die ersten drei Aktionspotentiale der Abb. 4b. Dann wurde der Polarisationsstrom abgeschaltet und die

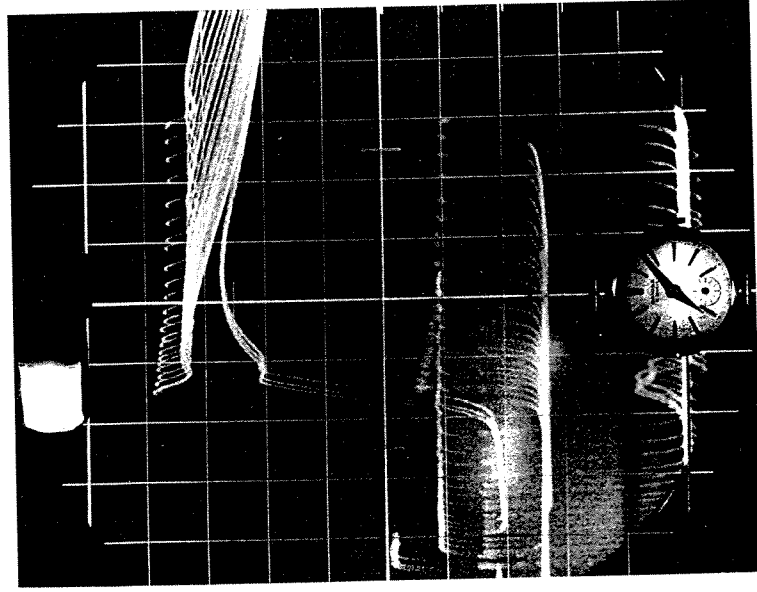


Abb. 5. Einzelaufnahme aus einem Experiment während der Almalineinwirkung ( $5 \cdot 10^{-6}$  g/ml; 18,25 Uhr bis 19,55 Uhr). Eine Rastereinheit, horizontal: 2 msec. Nulllinie: 2 Rastereinheiten über der Mittellinie. Eichung sonst wie in Abb. 3. Näheres siehe Text

folgenden Aktionspotentiale der Abb. 4 nehmen vom normalen Membranpotential ihren Ursprung. Das maximale diastolische Potential sowie das Membranpotential, von dem aus die Depolarisation jeweils erfolgt, ändern sich innerhalb der nächsten Minuten nicht (Abb. 4b—h). Hingegen zeigen die maximale Anstiegssteilheit und der Überschuss der Aktionspotentiale innerhalb der ersten Minute nach der Abschaltung des Polarisationsstromes eine etwa exponentielle Abnahme: Während das erste Aktionspotential nach der Abschaltung des Polarisationsstromes eine Anstiegssteilheit von etwa 280 V/sec aufweist (Abb. 4b), nimmt diese von Aktionspotential zu Aktionspotential immer weiter ab (Abb. 4b—g) und stellt sich schließlich auf einen konstanten Wert von etwa 200 V/sec

(Abb. 4b) ein. Im gleichen Zeitraum nimmt der Überschuss des Aktionspotentials um etwa 5 mV ab. Die aus Abb. 4h ersichtlichen Werte für maximale Anstiegssteilheit und Überschuss des Aktionspotentials ändern sich innerhalb der nächsten Minuten nicht mehr.

Geringe Änderungen des Membranpotentials, von dem die Depolarisationen ihren Ausgang nehmen, hätten bei der langsamen Zeitablenkung wie in dem Versuch von Abb. 4 übersehen werden können; daher wurden in einem anderen Experiment die gleichen Vorgänge bei rascher Zeitablenkung aufgenommen (Abb. 5). Es kam dabei nur das Membranpotential kurz vor Beginn der Erregung bzw. das Aktionspotential bis kurz nach Erregungsbeginn zur Abbildung. Insgesamt sind Ausschnitte von 27 zeitlich aufeinander folgenden Aktionspotentialen zu sehen. Jedes Aktionspotential ist am Bild gegenüber dem vorhergehenden künstlich etwas nach rechts verschoben. Die ersten drei Depolarisationen wurden am Ende einer Periode aufgenommen, in welcher das Membranpotential beim Eintreffen einer jeden Erregung um einen konstanten Betrag depolarisiert war. Die übrigen 24 Depolarisationen wurden nach Abschaltung des Polarisationsstromes photographiert. Die Abb. 5 zeigt, daß für die nach Abschaltung des Polarisationsstromes auftretende, etwa exponentiell verlaufende Abnahme der maximalen Anstiegssteilheit und des Überschusses des Aktionspotentials eine entsprechende Änderung des Membranpotentials, von dem die jeweiligen Depolarisationen ihren Ausgang nehmen, als Ursache nicht in Betracht kommt.

Derartige Untersuchungen wurden in den 9 Experimenten, in welchen die Verhältnisse auch während der Almalineinwirkung geprüft werden konnten, insgesamt 13mal durchgeführt. Alle brachten qualitativ gleiche Resultate: Eine Periode mit im Augenblick des Eintreffens der Erregung an der Stelle der ableitenden Mikroelektrode erniedrigtem Membranpotential scheint somit den Effekt von Ajmalin auf maximale Anstiegssteilheit und Überschuss des Aktionspotentials abzuschwächen; nach der Abschaltung des depolarisierenden Stromes ist die Anstiegssteilheit zuerst relativ hoch, fällt aber dann binnen kurzer Zeit auf einen deutlich niedrigeren Wert ab. Ähnlich verhält sich der Überschuss des Aktionspotentials. Das Ausmaß der künstlich herbeigeführten Änderung jenes Membranpotentials, von dem das Aktionspotential seinen Ursprung nahm, betrug in diesen Versuchen zwischen 10 und 35 mV. Alle nach der „Umschaltung“ registrierten Aktionspotentiale zeigten eine höhere maximale Anstiegssteilheit als jene der vorhergehenden Periode. Allerdings nahm die maximale Anstiegssteilheit innerhalb der ersten 1—2 min nach der Abschaltung des Polarisationsstromes um  $12-133$  V/sec oder um  $5-36\%$  des Ausgangswertes ab. Die etwa exponentielle Abnahme der Anstiegssteilheit ging in diesen Untersuchungen mit einer Zeitkonstante von im Mittel 27 sec vor sich.

b) *Keine Polarisation — Depolarisation.* In einigen Versuchen wurde während der Einwirkung von Ajmalin die gleiche Untersuchung in umgekehrter Reihenfolge durchgeführt: Nach einer Periode, während welcher jedes Aktionspotential vom normalen Membranpotential seinen Ursprung nahm, wurde vor Eintreffen jeder Erregung am Ort der Ableitung eine Depolarisation der Membran um einen konstanten Betrag herbeigeführt. Dabei zeigte sich, daß die Anstiegssteilheit des ersten Aktionspotentials nach der Umschaltung relativ niedrig war und sich dann von Aktionspotential zu Aktionspotential innerhalb von etwa 1 min in etwa exponentieller Weise auf einen höheren Wert einstellte, der dann auch im weiteren Verlauf konstant blieb. Das Ausmaß der künstlich herbeigeführten Depolarisation betrug in diesen Untersuchungen 10—21 mV, die Zunahme der maximalen Anstiegssteilheit innerhalb der ersten Minute nach der „Umschaltung“ erfolgte im Mittel mit einer Zeitkonstante von 25 sec und betrug 15—47 V/sec (6—124%).

c) *Keine Polarisation — Hyperpolarisation.* Nicht so einheitlich war das Verhalten der maximalen Anstiegssteilheit der Aktionspotentiale während einer Periode, in der die rasche Depolarisation von einem künstlich erhöhten Membranpotential aus erfolgte und welche sich an eine solche ohne Polarisation der Fasermembran anschloß. In 13 derartigen Untersuchungen aus 6 Experimenten nahm die maximale Anstiegssteilheit nach der „Umschaltung“ in etwa exponentieller Weise ab (künstliche Änderung des Membranpotentials: 6,5—27,5 mV; Abnahme der maximalen Anstiegssteilheit: 13—53 V/sec bzw. 3—33%); Zeitkonstante im Mittel 24 sec). In 5 solchen Untersuchungen aus einem weiteren derartigen Experiment kam es nach der Einschaltung des Elektrotonus zu einer etwa exponentiellen Zunahme der maximalen Anstiegssteilheit (künstliche Änderung des Membranpotentials: 11 bis 19 mV; Zunahme der maximalen Anstiegssteilheit: 15—45 V/sec bzw. 4—13%); Zeitkonstante im Mittel 14 sec). Es sei hervorgehoben, daß sich dieses eine Präparat von den übrigen durch ein besonders hohes maximales diastolisches Potential bei geringer Steilheit der langsamen diastolischen Depolarisation unterschied. Außerdem wurden diese „Umschaltversuche“ erst 50—60 min nach Beginn der Ajmalineinwirkung durchgeführt, während alle übrigen meist bereits 20—30 min nach Beginn der Durchströmung des Muskelbades mit Ajmalin-Tyrodolösung vorgenommen wurden.

d) *Hyperpolarisation — keine Polarisation.* Wurde nach einer Periode, in der die Aktionspotentiale von einem künstlich erhöhten Membranpotential ihren Ursprung genommen hatten, die maximale Anstiegssteilheit nach Abschaltung des Polarisationstromes verfolgt, so zeigte sich innerhalb der ersten Minute meist eine etwa exponentielle Abnahme der maximalen Anstiegssteilheit der Aktionspotentiale (10 Beob-

achtungen; Änderung des Membranpotentials: 6,5—30 mV; Abnahme der maximalen Anstiegssteilheit: 7—75 V/sec bzw. 2—120%; mittlere Zeitkonstante: 17 sec). In zwei Fällen blieb eine Änderung der maximalen Anstiegssteilheit überhaupt aus, in weiteren 2 Beobachtungen kam es nach der „Umschaltung“ zu einer mäßigen Zunahme derselben.

e) *Depolarisation — Hyperpolarisation.* Folgte schließlich auf eine Periode mit Depolarisation der Fasermembran unmittelbar eine mit Hyperpolarisation, so zeigte sich eine besonders starke Abnahme der maximalen Anstiegssteilheit innerhalb der ersten Minute nach der „Umschaltung“ (3 Beobachtungen).

Die bisher in diesem Abschnitt beschriebenen Ergebnisse stammen von Versuchen, in welchen Ajmalin in einer Konzentration von  $5 \cdot 10^{-6}$  g/ml auf das Präparat einwirkte. Mit den oben besprochenen Ergebnissen übereinstimmende Resultate wurden auch in einem Experiment erhalten, in dem Ajmalin in einer Konzentration von  $3,3 \cdot 10^{-6}$  g/ml zur Anwendung kam. Das Ausmaß der Änderungen war aber in diesem Experiment geringer als in den vorher besprochenen. In allen Versuchen traten gleichzeitig mit den Veränderungen der maximalen Anstiegssteilheit gleichsinnige Änderungen der Amplitude des Überschusses des Aktionspotentials auf.

3. *Nach der Ajmalineinwirkung.* In zwei Versuchen wurden dieselben „Umschaltversuche“ wie oben auch nach Beendigung der Durchströmung des Muskelbades mit Ajmalin-Tyrodolösung durchgeführt. Dabei konnte festgestellt werden, daß die während der Ajmalineinwirkung beobachteten Reaktionen etwa 30—40 min nach Beendigung der Substanz-einwirkung entweder nur mehr in deutlich geringerem Ausmaß oder überhaupt nicht mehr nachzuweisen waren.

*Abhängigkeit der Relation zwischen Membranpotential und maximaler Anstiegssteilheit von der „Vorgeschichte“ der Fasermembran*

Auf Grund der im vorhergehenden Abschnitt geschilderten Versuchsergebnisse kann erwartet werden, daß während der Einwirkung von Ajmalin mit Hilfe solcher „Umschaltversuche“ verschiedene S-Kurven der Beziehung zwischen Membranpotential im Augenblick des Eintreffens der Erregung am Ort der ableitenden Mikroelektrode einerseits und maximaler Anstiegssteilheit des Aktionspotentials andererseits bestimmt werden können: Eine davon wird auf eine Weise gewonnen, die dem Vorgehen von WEIDMANN (siehe oben) etwa entspricht; mit dem Unterschied, daß vor Bestimmung der maximalen Anstiegssteilheit die Purkinje-Faser für die Dauer von 1—2 min, und nicht nur für die Dauer von 10 Aktionspotentialen, nicht polarisiert wird. Eine solche Kurve wird man aus den oben besprochenen Ergebnissen dann erhalten, wenn man einerseits die Werte für die maximale Anstiegssteilheit, welche bei

nicht künstlich veränderten Membranpotential nach Einstellung eines Gleichgewichtszustandes registriert wurden, andererseits jeweils den ersten nach Beginn der Phase mit De- bzw. Hyperpolarisation der Membran registrierten Wert für die maximale Anstiegssteilheit gegen das entsprechende Membranpotential in einem Ordinatensystem aufträgt. Eine zweite S-Kurve wird man dann erhalten, wenn man jenen Wert für die maximale Anstiegssteilheit, welcher am Ende einer Periode mit Depolarisation der Membran registriert wurde, solchen Werten

Tabelle

Art des „Umschaltversuches“	Einwirkungs-dauer von Ajmalin (min)	MP bei Eintreffen der Erregung vor der „Umschaltung“ (mV)	Max. Anstiegssteilheit (V/sec)			MP bei Eintreffen der Erregung nach der „Umschaltung“ (mV)	Max. diastolisches Potential (mV)
			vor der „Umschaltung“	unmittelbar nach	1 min nach		
Keine Polarisation; Depolarisation	17	-85	387	250	265	-75	-90
	40	-84	200	30	67	-66,5	-86
Depolarisation; keine Polarisation	16	-54,5	25	405	387	-85	-90
	18	-75	265	395	357	-85	-90
	34	-61	25	337	215	-84	-86,5
	42	-66,5	67	285	202	-84	-86
	47	-61,5	20	227	195	-82,5	-85,5
Keine Polarisation; Hyperpolarisation	20	-85	357	425	380	-91,5	-89,5
	36	-84	215	317	270	-95,5	-86,5
	43	-83	205	307	262	-94,5	-86
Hyperpolarisation; keine Polarisation	21	-91,5	380	322	315	-85	-89
	38	-96,5	270	200	200	-84,5	-86
	44	-94,5	262	190	167	-83	-86
Depolarisation; Hyperpolarisation	51	-59	25	347	240	-94	-85

gegenüberstellt, die unmittelbar nach Abschaltung des depolarisierenden Stromes oder unmittelbar nach Umpolung des Polarisationsstromes erhalten wurden. Schließlich wird es von besonderem Interesse sein, die nach Erreichung eines Gleichgewichtszustandes bei verschiedenen Membranpotentialen — also sowohl ohne Polarisation als auch 1—2 min nach Beginn einer Periode, während der die Fasermembran im Augenblick des Eintreffens der Erregung ein um einen bestimmten Betrag künstlich erhöhtes oder erniedrigtes Membranpotential aufweist — ermittelten Werte für die maximale Anstiegssteilheit in einem Ordinatensystem gegen das zugehörige Membranpotential aufzutragen. Die Tabelle gibt die für die Festlegung dieser verschiedenen S-Kurven nötigen

Werte aus einem typischen Versuch wieder, in welchem Ajmalin in einer Konzentration von  $5 \cdot 10^{-6}$  g/ml auf ein Präparat einwirkte. Aus der Tabelle kann entnommen werden, daß zwischen 17 und 51 min nach Beginn der Substanzwirkung insgesamt 14 derartige „Umschaltversuche“ vorgenommen wurden. Das maximale diastolische Potential hat im Verlauf des Versuches um einige Millivolt abgenommen; die Abnahme des Membranpotentials, welches die nichtpolarisierte Fasermembran bei Eintreffen der Erregung am Ort der registrierenden Mikroelektrode aufwies, war geringer; dieser Umstand läßt sich auf die gleichzeitige Abnahme der Steilheit

der langsamen diastolischen Depolarisation zurückführen. Von jedem Umschaltversuch gibt die Tabelle die maximale Anstiegssteilheit des Aktionspotentials vor, unmittelbar nach und 1 min nach der jeweiligen „Umschaltung“ wieder. Dabei stellen der erste und dritte Wert die Verhältnisse nach Erreichung eines Gleichgewichtszustandes dar. Schließlich können der Tabelle die Werte für jenes Membranpotential, von welchem das Aktionspotential vor bzw. nach der „Umschaltung“ seinen Ursprung nimmt, sowie für das maximale diastolische Potential entnommen werden.

Aus dem gleichen Experiment sind jene Resultate, die

36—51 min nach Beginn der Durchströmung des Muskelbades gewonnen worden sind, in Abb. 6 graphisch dargestellt. Die durch Kreise wiedergegebenen Meßwerte wurden unmittelbar vor Beginn der Durchströmung des Muskelbades mit Ajmalin-Tyrodolösung gewonnen. Die diese Meßpunkte verbindende Kurve A wurde nach der Gl. 1 von HODGKIN u. HUXLEY gezogen (Faktor  $k = 7$ ). Sie erreicht den Halbwert ihres Maximums bei einem Membranpotential von 70,5 mV. Alle übrigen Meßpunkte bei während der Substanzwirkung ermittelt. Die gefüllten Vierecke entsprechen Werten, die 1—2 min nach Abschaltung des Polarisationsstromes, also nach Erreichung von Gleichgewichtsbedingungen, erhalten wurden; die nicht gefüllten Vierecke hingegen stellen Meßpunkte für die

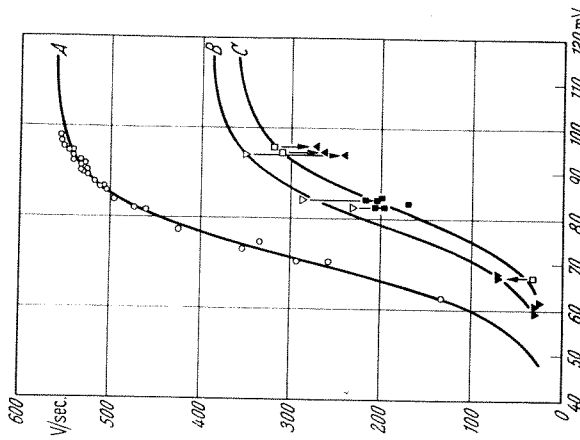


Abb. 6. Einfluß von  $5 \cdot 10^{-6}$  g/ml Ajmalin auf die Beziehung zwischen Membranpotential und maximaler Anstiegssteilheit des Aktionspotentials. Polarisationdauer: 340 msec. Näheres siehe Text



maximale Anstiegssteilheit dar, welche unmittelbar im Anschluß an eine Periode ohne Polarisation zu Beginn einer solchen mit De- oder Hyperpolarisation ermittelt wurden. Wie oben erwähnt, ergeben diese Punkte eine S-Kurve, deren Ermittlungsverfahren etwa dem Vorgehen von WEIDMANN (siehe oben) entspricht. Die erhaltenen Meßwerte kommen auf eine Kurve zu liegen, die — sie ist wie alle übrigen Kurven dieser Abbildung nach der erwähnten Gleichung von HODGKIN u. HUXLEY (Faktor  $k = 7$ ) gezogen — durch Reduzierung der Normalkurve auf 64,1% und Rechtsverschiebung um 11,5 mV erhalten wurde. Der Halbwert wird also bei einem Membranpotential von 82 mV erreicht (Kurve C). Eine weitere Kurve wurde dadurch erhalten, daß jene Werte für die maximale Anstiegssteilheit, die nach Einstellung auf einen Gleichgewichtszustand gegen Ende einer Periode, während welcher die Depolarisationen von einem künstlich erniedrigten Membranpotential ihren Ausgang nahmen, erhalten wurden (nach unten gerichtete, gefüllte Dreiecke), solchen gegenübergestellt wurden, die unmittelbar nach Abschaltung oder Umpolung des depolarisierenden Stromes gewonnen wurden (nach unten gerichtete, nichtgefüllte Dreiecke). Diese Meßpunkte liegen, wie aus der Abbildung zu ersehen ist, auf einer S-Kurve (Kurve B), welche gegenüber der Normalkurve auf 69,5% reduziert und um 8 mV nach rechts verschoben ist (Halbwert der maximalen Anstiegssteilheit bei einem Membranpotential von 78,5 mV).

Für die Kurven C und B würde die Anzahl der Meßpunkte freilich nicht ausreichen, den sicheren Beweis für einen derartigen Verlauf zu erbringen. Bezüglich der Kurve C sei aber in diesem Zusammenhang auf Abb. 2 verwiesen, welche zeigt, daß bei Anwendung eines ähnlichen Verfahrens bei der Bestimmung des Verlaufes der S-Kurve während der Einwirkung von Ajmalin ebenfalls eine im Ordinatensystem gegenüber der Kontrollkurve nach rechts verschobene, in ihrer maximalen Amplitude deutlich reduzierte Kurve erhalten wird. Schließlich konnten ähnliche Verhältnisse auch aus allen übrigen diesbezüglichen Versuchen ersehen werden. In allen diesen Experimenten zeigte sich, daß die jeweilige S-Kurve B gegenüber der Kontrollkurve weniger stark in ihrer maximalen Amplitude beeinflusst und weniger weit im Ordinatensystem nach rechts verschoben war als die entsprechende Kurve C.

#### *Relation zwischen Membranpotential und maximaler Anstiegssteilheit unter Gleichgewichtsbedingungen*

In den vorhergehenden Abschnitten ist gezeigt worden, daß sich die maximale Anstiegssteilheit des Aktionspotentials auf ein konstantes Niveau (Gleichgewichtswert) einstellt, sofern die einzelnen Depolarisationen durch 1—2 min stets vom selben Membranpotential ihren Ausgang nehmen. Auf welche Kurve die einzelnen Meßpunkte bei Auf-

tragung der Gleichgewichtswerte für die maximale Anstiegssteilheit des Aktionspotentials gegen das zugehörige Membranpotential im Ordinatensystem am ehesten zu liegen kommen, läßt sich an Hand der Abb. 6 nicht beurteilen. Abb. 7 zeigt Resultate aus einem Versuch, in welchem diese Verhältnisse 19—24 min nach Beginn der Durchströmung des Muskelbades mit Ajmalin-TyrodLösung untersucht wurden. Die gefüllten Vierecke und Dreiecke geben die Werte für die maximale Anstiegssteilheit, welche jeweils 1—2 min nach „Umschaltung“ bestimmt wurde, wieder. Es kann vermutet werden, daß diese Meßpunkte am ehesten auf einer Kurve liegen, welche in ihrem Maximalwert gegenüber der Norm nicht reduziert ist, im Ordinatensystem gegenüber der Kontrollkurve um 14 mV nach rechts verschoben ist und sich außerdem von dieser durch eine geringere Steilheit unterscheidet. Beide Kurven sind nach der Gl. 1 von HODGKIN u. HUXLEY gezogen; die Normalkurve mit einem Faktor  $k = 7$ , die Kurve, welche die besprochenen, während der Ajmalin-einwirkung ermittelten Meßpunkte verbindet, mit einem Faktor  $k = 10,5$ . Eine Vorstellung über den wahrscheinlichen Verlauf der entsprechenden S-Kurve B und C vermitteln die zugehörigen Gleichgewichtswerte sowie je ein Meßpunkt, der unmittelbar nach dem Ende einer Periode, während welcher jedes Aktionspotential von einem künstlich erniedrigten Membranpotential seinen Ursprung nahm (nichtgefülltes Dreieck) bzw. unmittelbar nach dem Ende einer Periode ohne Polarisation am Beginn einer solchen mit Hyperpolarisation der Membran (nichtgefülltes Viereck) ermittelt wurde.

Die durch Kreuze wiedergegebenen Meßpunkte geben schließlich Resultate wieder, die bei Anwendung der Methode der stufenförmigen Polarisation der Fasermembran (Polarisation der Fasermembran vor Eintreffen jeder Erregung) 14—19 min nach Beginn der Ajmalineinwirkung erhalten wurden. Es zeigt sich auch hier die schon beschriebene

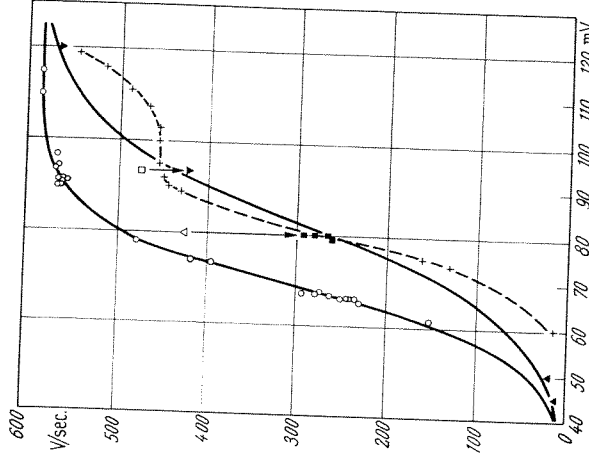


Abb. 7. Einfluß von  $5 \cdot 10^{-6}$  g/ml Ajmalin auf die Beziehung zwischen Membranpotential und maximaler Anstiegssteilheit des Aktionspotentials. Polarisationdauer: 380 msec. Näheres siehe Text

deformierte Kurve der Beziehung zwischen Anstiegssteilheit und Membranpotential; sie erreicht bei einem Membranpotential von 90 mV ein Plateau und steigt von 105 bis zu 119 mV neuerdings an. Dabei erreicht sie nahezu die während der Kontrollperiode ermittelten Werte.

Da in den übrigen Experimenten, in welchen „Umschaltversuche“ vorgenommen wurden, das Membranpotential während einer Periode mit Hyperpolarisation im Augenblick des Eintreffens der Erregung am Ort der ableitenden Mikroelektrode meist nur 90–100 mV betrug, konnte nicht festgestellt werden, ob auch in diesen Versuchen die S-Kurve der Gleichgewichtswerte der maximalen Anstiegssteilheit mit zunehmendem Membranpotential tatsächlich bis zu dem während der Kontrollperiode erreichten Maximum zunimmt (siehe auch Abb. 6).

### Diskussion

In der vorliegenden Arbeit konnte gezeigt werden, daß die früher während der Einwirkung von Ajmalin auf Purkinje-Fäden beobachtete Deformierung der Kurve der Beziehung zwischen Membranpotential und maximaler Anstiegssteilheit des Aktionspotentials (PILLAT u. HEISTRACHER 1964) nicht auf einen zu großen zeitlichen Abstand zwischen dem Ende der Polarisation der Fasermembran und dem Eintreffen der Erregung am Ort der registrierenden Mikroelektrode zurückgeführt werden kann. In weiteren Versuchen konnte eine Verlängerung der Zeitkonstanten für die Aktivierung bzw. Inaktivierung des Natrium-Transportsystems bis zu etwa 700 msec als Ursache für die Deformierung der S-Kurve ausgeschieden werden. WEIDMANN (1955a) hat als absolute obere Grenze für diese Zeitkonstanten an unbehandelten Purkinje-Fäden einen Wert von 20 msec angegeben. Man mußte also eine enorme Verlängerung zur Erklärung der Befunde heranziehen. Die während der Einwirkung von Ajmalin beobachtete Deformierung der S-Kurve konnte schließlich dadurch zum Verschwinden gebracht werden, daß bei der Bestimmung der maximalen Anstiegssteilheit des Aktionspotentials in Abhängigkeit vom Membranpotential eine Polarisation nicht vor Eintreffen einer jeden, sondern nur jeder zehnten Erregung gesetzt wurde. Da Form und Position der S-Kurve im Ordinatensystem an unbehandelten Präparaten unabhängig von der angewandten Bestimmungsmethode waren, erschien die Annahme berechtigt, daß während der Ajmalineinwirkung die maximale Anstiegssteilheit des Aktionspotentials nicht nur von jenem Membranpotential abhängig ist, von welchem die betreffende Depolarisation ihren Ausgang nimmt, sondern in irgendeiner Weise auch von jenem Membranpotential, von dem die vorhergehenden Aktionspotentiale ihren Ursprung genommen haben. Die „Umschaltversuche“ ermöglichten es sodann, die Art dieses zusätzlichen

Faktors genauer zu analysieren. Es zeigte sich dabei, daß die maximale Anstiegssteilheit tatsächlich von der „Vorgeschichte“ der Fasermembran abhängig ist: Nimmt während einer Zeitspanne von 1–2 min jedes Aktionspotential von einem künstlich erniedrigten oder stark erhöhten Membranpotential seinen Ursprung, so weist das erste nach der Abschaltung des Polarisationsstromes registrierte Aktionspotential eine relativ hohe Anstiegssteilheit auf, bei umgekehrtem Vorgehen hingegen eine relativ niedrige. Es kann somit gesagt werden, daß eine Periode, während der jedes Aktionspotential von einem künstlich erniedrigten oder stark erhöhten Membranpotential ausgeht, die Wirkung von Ajmalin auf die maximale Anstiegssteilheit abschwächt, während eine solche ohne Polarisation oder mit mäßiger Hyperpolarisation der Faser diese Ajmalinwirkung stärker hervortreten läßt.

Besonders bemerkenswert an diesen „Umschaltversuchen“ erscheint auch die Tatsache, daß hier eindeutig Veränderungen der maximalen Anstiegssteilheit und des Übershusses im Verlauf der ersten Minute nach solchen „Umschaltungen“ beobachtet werden konnten, für welche eine gleichzeitige entsprechende Änderung des Membranpotentials, von dem das Aktionspotential seinen Ursprung nimmt, als Erklärung nicht in Frage kommt. Nahm bei gleichbleibender Reizfrequenz jedes einzelne Aktionspotential von einem konstanten Membranpotential seinen Ausgang und wurde dieses Membranpotential nach 1–2 min auf einen neuen konstanten Wert eingestellt, so erreichte die maximale Anstiegssteilheit des Aktionspotentials erst nach 40–60 sec — in angenähert exponentieller Weise — ein konstantes Niveau. Es kann angenommen werden, daß sich die Intensität der Wirkung von Ajmalin auf die rasche Depolarisation im Anschluß an solche „Umschaltungen“ allmählich auf ein neues Niveau einstellt.

In der vorliegenden Arbeit konnten 4 verschiedene, während der Einwirkung von Ajmalin bestimmte S-Kurven dargestellt werden. Der oben beschriebene Einfluß der „Vorgeschichte“ der Fasermembran läßt die Unterschiede zwischen den einzelnen während der Ajmalineinwirkung mit verschiedenen Methoden ermittelten Kurven der Beziehung zwischen Membranpotential und maximaler Anstiegssteilheit des Aktionspotentials verständlich erscheinen: Bei dem Vorgehen von WEIDMANN (siehe oben) wird die „Vorgeschichte“ konstant gehalten; die Intensität der Ajmalinwirkung kann damit als praktisch ebenfalls konstant angenommen werden. Die während der Substanzeinwirkung bestimmte S-Kurve weist die gleiche relative Steilheit auf wie die Kontrollkurve; gegenüber der Norm ist sie nach rechts verschoben und in ihrem Maximum verringert. Ähnlich verhält sich jene Kurve, der eine andere konstante „Vorgeschichte“ zugrunde liegt, nämlich ein bei einem um einen bestimmten Betrag künstlich erniedrigten Membranpotential erreichter

Gleichgewichtszustand der Ajmalinwirkung. Diese S-Kurve ist weniger weit gegenüber der Norm nach rechts verschoben und erreicht einen höheren Maximalwert als die vorher besprochene Kurve. Auch ihr scheint die gleiche Steilheit, bezogen auf den Maximalwert, zuzukommen wie der Kontrollkurve. Der Unterschied zwischen den beiden hier besprochenen Kurven war auf Grund des Befundes zu erwarten, daß die Ajmalinwirkung im Gleichgewichtszustand bei einer zwischen den einzelnen Messungen genügend lange nicht polarisierten Faser stärker ausgeprägt ist als wenn ein, bei künstlich um einen konstanten Betrag erniedrigtem Membranpotential, erreichter Gleichgewichtszustand als Ausgangspunkt für die Ermittlung des Verlaufes einer S-Kurve dient. Es erscheint klar, daß je nach gewählter Ausgangslage viele, gegenüber der Norm mehr oder weniger nach rechts verschobene und in ihrem Maximum reduzierte S-Kurven während der Substanzeinwirkung erhalten werden können.

Die deformierten S-Kurven, welche bei Anwendung der Methode der stufenförmigen Polarisation der Membran während der Ajmalineinwirkung ermittelt wurden, können dahingehend gedeutet werden, daß dabei die „Vorgeschichte“ der Fasermembran nicht konstant gehalten wurde und sich somit die Intensität der Ajmalinwirkung auf die maximale Anstiegssteilheit und den Überschuß des Aktionspotentials während der Ermittlung der Meßwerte für die S-Kurve änderte. Dies erklärt auch den paradoxen Befund, daß in einigen Versuchen im Bereich des beschriebenen Plateaus der deformierten S-Kurve mit zunehmendem Membranpotential sogar eine Abnahme der maximalen Anstiegssteilheit zu beobachten war (siehe Abb. 2).

Von besonderem Interesse für die Interpretation der Ajmalinwirkung auf die maximale Anstiegssteilheit des Aktionspotentials erscheint schließlich jene S-Kurve, die alle nach eingetretetem Gleichgewichtszustand ermittelten Meßpunkte für die maximale Anstiegssteilheit des Aktionspotentials im Ordinatensystem verbindet (Abb. 7). Betrachtet man bei verschiedenen Membranpotentialen die jeweilige Differenz zwischen dieser und der Kontrollkurve, so zeigt sich, daß diese Differenz bei Membranpotentialwerten unter 50 mV sowie über 120 mV sehr gering ist, während sie zwischen etwa 70 und 85 mV ein Maximum aufweist. Dies bestätigt die im Rahmen der „Umschaltversuche“ gemachten Beobachtungen: Im Gleichgewichtszustand hängt die Intensität der Ajmalinwirkung von jenem Membranpotential ab, von welchem das Aktionspotential seinen Ursprung nimmt. Der auf Grund der „Umschaltversuche“ erwartete flachere Verlauf dieser Kurve wurde bisher in Untersuchungen an Herzmuskelfasern noch nicht beschrieben. Eine ähnliche Abflachung der S-Kurve bei gleichzeitiger Rechtsverschiebung im Ordinatensystem wurde an Riesennervfasern von Loligo

forbesi von FRANKENHAEUSER u. HODGKIN bei Erniedrigung der Calciumkonzentration in der Badeflüssigkeit beobachtet.

Bei einer Interpretation der hier dargestellten Versuchsergebnisse sollten gleichzeitig eine Reihe von Beobachtungen über die Wirkung von Chinidin und anderen Antifibrillanien auf die rasche Depolarisation des Aktionspotentials verschiedener Herzmuskelpräparate berücksichtigt werden. Mehrere Autoren haben berichtet, daß die Wirkung von Antifibrillanien und ähnlichen Stoffen von der Reizfrequenz abhängig sei. Chinidin ( $6 \cdot 10^{-6}$  g/ml) beeinflusst an Vorhöfen von Kaninchen die Anstiegsdauer des Aktionspotentials bei sehr niedriger Reizfrequenz ( $6-12$  Schläge/min) geringfügig, wenn überhaupt, während bei Reizfrequenzen über 60/min die Anstiegsdauer während der Substanzeinwirkung deutlich länger ist als in der Kontrollperiode (WEST u. AMORY). Zu ganz ähnlichen Resultaten kamen früher JOHNSON u. MCKINNON bei der Untersuchung der Wirkung von Chinidin ( $1 \cdot 10^{-5}$  g/ml) bzw. Pyrilamin ( $7,5 \cdot 10^{-6}$  g/ml) auf die maximale Anstiegssteilheit des Aktionspotentials von Ventrikelfasern des Meerschweinchens. Allerdings könnte bei hohen Frequenzwerten eine unvollständige Repolarisation einen echten Frequenzeffekt vortäuschen (TRAUTWEIN). Die Anstiegssteilheit des Aktionspotentials von Purkinje-Fasern des Kalbes ist während der Einwirkung von Ajmalin ( $5 \cdot 10^{-6}$  g/ml) bei einer Reizfrequenz von 60/min deutlich geringer als bei einer solchen von 48/min, obwohl das Aktionspotential bei der höheren Frequenz von einem höheren Membranpotential seinen Ursprung nimmt als bei der niedrigeren; an der unbehandelten Faser ist hingegen bei der höheren Reizfrequenz auch die maximale Anstiegssteilheit höher (HEISTRACHER, in Vorbereitung).

Bei plötzlicher Änderung der Reizfrequenz während der Einwirkung von Chinidin bzw. Pyrilamin auf Kammermuskulatur von Meerschweinchchen stellt sich die maximale Anstiegssteilheit des Aktionspotentials nicht sofort, sondern allmählich, mit einer Verzögerung von etwa 5 sec, auf einen neuen Wert ein; an unbehandelten Präparaten ist dieses Phänomen nicht eindeutig nachweisbar; doch sind dabei die durch Frequenzänderungen hervorgerufenen Änderungen der maximalen Anstiegssteilheit gering (JOHNSON u. MCKINNON). An Purkinje-Fäden des Kalbes stellt sich die maximale Anstiegssteilheit des Aktionspotentials bei plötzlicher Frequenzänderung (Frequenzbereich:  $24-60$ /min) nur während der Durchströmung des Muskelbades mit Ajmalin-Tyrodelösung (Ajmalinkonzentration:  $5 \cdot 10^{-6}$  g/ml) mit einer deutlichen Verzögerung auf das neue Niveau ein (HEISTRACHER, in Vorbereitung), nicht aber vor der Substanzeinwirkung.

Während der Einwirkung von Chinidin ( $2,5-5 \cdot 10^{-6}$  g/ml) auf Kaninchenvorhöfe ist es zwar möglich, nach Beendigung der Repolarisation des Aktionspotentials eine Extrasystole auszulösen, doch ist die

Anstiegszeit dieses Aktionspotentials deutlich niedriger als jene des vorhergehenden (JOHNSON u. ROBERTSON 1957; 1958). Mehrere Autoren weisen auf die Diskrepanz zwischen mäßiger Verlängerung des Aktionspotentials verschiedener Herzmuskelpräparate durch Chinidin und ähnliche Stoffe und starker Zunahme der effektiven Refraktärperiode hin (HOFFMAN; SEKERES u. VAUGHAN WILLIAMS).

Solche Befunde können nur zum Teil durch den von WEIDMANN (1955b) an Purkinje-Fäden erhobenen Befund, daß während der Einwirkung von Procainamid ( $5 \cdot 10^{-5}$  g/ml) bzw. Chinidin ( $1 \cdot 10^{-5}$  g/ml) die Repolarisation um 10—15 mV weiter fortschreiten muß als an unbehandelten Fasern, bis eine neuerliche Erregung möglich wird, erklärt werden. Viele der in dieser Arbeit beschriebenen bzw. zitierten Befunde lassen sich allein auf Grund der von WEIDMANN (1955b; 1956) angegebenen Hypothese, daß Lokalanästhetica und Antifibrilliantien durch teilweise Inaktivierung des Natrium-Transportsystems wirken, nicht erklären. Dies bedeutet ja, daß lediglich die Relation zwischen Membranpotential und Fähigkeit der Membran, die Natrium-Permeabilität bei Erregung zu erhöhen, verschoben ist, vorausgesetzt, daß dieses Membranpotential so lange beibehalten wurde, als zur Aktivierung bzw. Inaktivierung des Natrium-Transportsystems erforderlich ist. Zusätzliche Annahmen erscheinen erforderlich.

Der entscheidende Unterschied zwischen den von WEIDMANN (1955b) bei der Untersuchung der Wirkung von Cocain, Chinidin, Procainamid und Diphenhydramin erhobenen und den in der vorliegenden Arbeit gezeigten Befunden liegt darin, daß bei der Untersuchung der Wirkung des Ajmalins gezeigt werden konnte, daß die Intensität der Ajmalinwirkung auf die maximale Anstiegszeit bei gleicher Konzentration von Ajmalin in der Durchströmungsfähigkeit, gleicher Einwirkungsdauer und gleicher Reizfrequenz, je nachdem von welchem Membranpotential die vorhergehenden Depolarisationen ihren Ausgang genommen haben, verschieden stark ausgeprägt ist. Nicht nur das Membranpotential, von dem die Depolarisation ihren Ausgang nimmt, sondern auch jenes, von welchem die vorhergehenden Aktionspotentiale ihren Ursprung genommen haben, entscheiden über die Steilheit des Erregungsanstiegs. Man könnte annehmen, daß mit jeder Erregung Ajmalin an den Ort seiner Wirkung auf den Natrium-Einstrom gelangt. Beträgt das Membranpotential im Bereich der registrierenden Mikroelektrode im Augenblick des Eintreffens der Erregung nur 45—50 mV, so gelangt nur wenig Ajmalin an den Ort der Wirkung, ist das Membranpotential höher, so strömt mehr Ajmalin ein. Bei sehr hohen Membranpotentialwerten ist die Intensität der Ajmalinwirkung geringer; dies könnte man so erklären, daß solche Substanzen (Kationen) durch den hohen Potentialgradienten von der Membran abgedrängt werden (siehe

WEIDMANN 1955b; 1956). Die Ajmalinkonzentration am Wirkungsort wäre zudem von der Elimination oder auch vom Ausmaß des Eindringens von Ajmalin ins Faserinnere abhängig. Wird die Reizfrequenz oder wie in unseren „Umschaltversuchen“ das Membranpotential, von dem die Depolarisationen ausgehen, plötzlich verändert und dann längere Zeit konstant beibehalten, so könnte sich demnach die Ajmalinkonzentration am Ort der Wirkung allmählich auf einen neuen Wert einstellen. Auch die in dieser Arbeit während der Ajmalineinwirkung ermittelten verschiedenen S-Kurven könnten auf solche Umstände zurückgeführt werden. Entscheidend für die Intensität der Wirkung von Ajmalin auf Anstiegszeit und Überschuß des Aktionspotentials wäre nach diesen Vorstellungen die Konzentration am Wirkungsort; über den Ort und die Art der Wirkung können nur Vermutungen geäußert werden. Der Ort der Wirkung könnte in der Membran oder an deren Innenseite angenommen werden. Eventuell könnte auch eine adsorptive Bindung von Ajmalin an die Membranaußenseite, ähnlich wie sie von ANTONI et al. für die Wirkung von Magnesiumionen angenommen wird, in Frage kommen. In diesem Fall müßten allerdings noch zusätzliche Annahmen gemacht werden. Die Art des Ajmalineffektes könnte zum Teil in einer von der Konzentration der Substanz am Wirkungsort abhängigen teilweisen Inaktivierung des Natrium-Transportsystems bestehen; aber auch eine Verstopfung der Poren für den Natrium-Einstrom bzw. eine Veränderung des Porendurchmessers (vgl. SHANES) könnte zum Teil für die erhobenen Befunde verantwortlich sein. Schließlich könnten Ajmalinionen an der Innenseite der Membran angereichert werden und den effektiven Natrium-Gradienten verringern.

### Summary

The effect of Ajmaline ( $3.3 \cdot 10^{-6}$  —  $5 \cdot 10^{-6}$  g/ml) on the maximal rate of rise and the overshoot of the action potential of electrically driven Purkinje fibres of calves has been studied using two microelectrodes; one of these was used to lead current through the fibre membrane.

As described in an earlier paper, Ajmaline shifts the curve relating the membrane potential previous to the passage of an impulse to the maximal rate of rise to the right and changes its configuration. In this paper it is shown, that this change in configuration is neither due to a too long time interval between shutting off the polarizing current and arrival of excitation at the site of the microelectrode nor due to a lengthening in time required for activation or inactivation of the sodium carrying system up to 700 msec.

If during a period of 1—2 min duration each action potential takes off at a constant membrane potential and if this membrane potential is suddenly changed to another constant value, this change in membrane

potential is followed by a gradual decrease or increase in maximal rate of rise and size of overshoot, which takes place in an approximately exponential fashion and which in direction and extent of change depends on the kind of the previous conditioning period. These changes are neither accompanied by simultaneous alterations in the maximal diastolic potential nor by a concurrent change in membrane potential value previous to the passage of an impulse. A new steady state is assumed after a time lag of about 40—60 sec. No such changes could be observed in untreated preparations.

Four different procedures for determination of the relationship between membrane potential previous to the passage of an impulse and rate of rise are described. It is pointed out, that all these yield identical results previous to admission of Ajmaline-Tyrode solution. However, results obtained during the action of the drug show marked differences with procedures used.

It is concluded, that in steady state conditions the influence of Ajmaline on sodium influx is small at very low and very high membrane potential values previous to the passage of an impulse, and is most pronounced at intermediate ones. Many phenomena described in this paper cannot be explained solely on the assumption, that antibrillatory drugs inactivate partly the sodium carrying system. We therefore assume that a second mechanism is responsible for these effects. Suggestions are made as to the possible nature of this mechanism.

Herrn Prof. Dr. S. WEIDMANN (Bern) und Herrn Prof. Dr. B. F. HOFFMAN (New York) danke ich für wertvolle Anregungen.

### Literatur

- ALEXANDER, J. T., and W. L. NASTUK: An instrument for the production of microelectrodes used in electrophysiological studies. *Rev. Sci. Instruments* **24**, 528 (1953).
- ANTONI, H., G. ENGSTFELD u. A. FLECKENSTEIN: Die  $Mg^{++}$ -Lähmung des isolierten Froschmyokards. Ein Beitrag zur Frage der Beziehung zwischen Aktionspotential und Kontraktion. *Pflügers Arch. ges. Physiol.* **275**, 507 (1962).
- FRANKENHAEUSER, B., and A. L. HODGKIN: The action of calcium on the electrical properties of squid axons. *J. Physiol. (Lond.)* **137**, 218 (1957).
- HEISTRACHER, P.: In Vorbereitung.
- , u. B. PILLAT: Elektrophysiologische Untersuchungen über die Wirkung eines Ajmalin-Derivates auf isolierte Purkinje-Fäden des Kalbes. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. exp. Path. Pharmacol.* **246**, 72 (1963).
- HODGKIN, A. L., and A. F. HUXLEY: The dual effect of membrane potential on sodium conductance in the giant axon of Loligo. *J. Physiol. (Lond.)* **116**, 497 (1952).
- HOFFMAN, B. F.: The action of quinidine and procaine amide on single fibers of dog ventricle and specialized conducting system. *An. Acad. Bras. Ciénc.* **29**, 365 (1958).

- JOHNSON, E. A., and M. G. MCKINNON: The differential effect of quinidine and pyrilamine on the myocardial action potential at various rates of stimulation. *J. Pharmacol. exp. Ther.* **120**, 460 (1957).
- , and P. A. ROBERTSON: Effect of acetylcholine and quinidine on atrial cellular potentials. *Nature (Lond.)* **180**, 1483 (1957).
- — The stimulatory action of acetylcholine on isolated rabbit atria. *Brit. J. Pharmacol.* **13**, 304 (1958).
- PILLAT, B., u. P. HEISTRACHER: Veränderungen von Leitungsgeschwindigkeit und Latenz am Papillarmuskel der Katze während des Refraktärstadiums. *Pflügers Arch. ges. Physiol.* **271**, 564 (1960).
- — Elektrophysiologische Untersuchungen über die Wirkung von Ajmalin auf Reizeleitungsfasern. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. exp. Path. Pharmacol.* **246**, 375 (1964).
- SHANES, A. M.: Electrochemical aspects of physiological and pharmacological action in excitable cells. *Pharmacol. Rev.* **10**, 59 (1958).
- SZEKERES, L., and E. M. VAUGHAN WILLIAMS: Antifibrillatory action. *J. Physiol. (Lond.)* **160**, 470 (1962).
- TRAUTWEIN, W.: Generation and conduction of impulses in the heart as affected by drugs. *Pharmacol. Rev.* **15**, 277 (1963).
- , u. R. F. SCHMIDT: Zur Membranwirkung des Adrenalins an der Herzmuskel-faser. *Pflügers Arch. ges. Physiol.* **271**, 715 (1960).
- WEIDMANN, S.: Effect of current flow on the membrane potential of cardiac muscle. *J. Physiol. (Lond.)* **115**, 227 (1951).
- The effect of the cardiac membrane potential on the rapid availability of the sodium-carrying system. *J. Physiol. (Lond.)* **127**, 213 (1955a).
- Effects of calcium ions and local anaesthetics on electrical properties of Purkinje fibres. *J. Physiol. (Lond.)* **129**, 568 (1955b).
- Elektrophysiologie der Herzmuskelfaser. *Bern u. Stuttgart: H. Huber* 1956.
- WEST, T. C., and D. W. AMORY: Single fiber recording of the effects of quinidine at atrial and pacemaker sites in the isolated right atrium of the rabbit. *J. Pharmacol. exp. Ther.* **130**, 183 (1960).

Dr. P. HEISTRACHER,  
Pharmakologisches Institut der Universität, Wien IX, Währingerstr. 13a  
(Österreich)