

***Untersuchungen zu der Fragestellung, ob
makroskopische dielektrische
Gewebeeigenschaften auch auf Zellebene
bzw. im subzellulären Bereich
uneingeschränkte Gültigkeit besitzen***

Bestandsaufnahme

Autoren:

Lehrstuhl für Experimentalphysik V

Prof. Dr. A. Loidl

Priv.-Doz. Dr. P. Lunkenheimer

Dipl. Phys. R. Gulich

Lehrstuhl für Experimentalphysik I

Prof. Dr. Achim Wixforth

Dr. Matthias Schneider

Lehrstuhl für Theoretische Physik I

Prof. Dr. Peter Hänggi

Dr. Gerhard Schmid

Institut für Physik

Universität Augsburg

April 2006

Der Bericht gibt die Auffassung und Meinung des Auftragnehmers wieder und muss nicht mit der Meinung des Auftraggebers (Bundesminister für Umwelt, Naturschutz und Reaktorsicherheit) übereinstimmen.

Einleitung

Ziel dieses Vorhabens ist es, dielektrische Gewebeeigenschaften, die makroskopisch bekannt sind, auf ihre Gültigkeit im zellulären und subzellulären Bereich zu überprüfen. Dazu werden dielektrische Parameter verschiedener menschlicher Zelltypen und ihrer Kompartimente im Frequenzbereich bis 10 GHz und im Temperaturbereich von 20°C bis 40°C bestimmt. Die Experimente sollen auch in einem für typische SAR-Werte relevanten Feldstärkenbereich durchgeführt werden. Die dielektrische Spektroskopie an Zellsuspensionen soll durch die direkte Messung der Leitfähigkeit an Modellmembranen und biologischen Zellen mittels Patch-Clamp Technik ergänzt werden.

Im ersten Teil des Projekts wurde der gegenwärtige wissenschaftliche Kenntnisstand auf Basis einer umfassenden bewertenden Literaturstudie der experimentellen und theoretischen Arbeiten erhoben und dokumentiert. Dabei haben wir der eigentlichen Bestandsaufnahme dielektrischer Spektroskopie an Geweben und Zellsuspensionen ein relativ ausführliches Kapitel über allgemeine Grundlagen der dielektrischen Spektroskopie vorangestellt. Dies halten wir für notwendig, da wir glauben, dass in den meisten modernen Arbeiten über Dielektrik an Zellsuspensionen Einflüsse der AC-Leitfähigkeit, blockierenden Elektroden und Maxwell-Wagner-Effekten an Grenzflächen zu wenig Beachtung geschenkt wird. An dieses Kapitel schließt sich eine Literaturstudie über Permittivität und Leitfähigkeit von Geweben, Dielektrik an wässrigen Lösungen und Zellsuspensionen, Betrachtung elektrischer Felder an Zellmembranen und Untersuchungen von Zellen mittels Patch-Clamp Technik an.

Von experimenteller Seite kann gesagt werden, dass in der Literatur sehr umfassende Studien über dielektrische Eigenschaften ausgewählter Gewebetypen vorliegen, die für viele anschließende Untersuchungen ein fundamentales Basiswissen zur Verfügung stellen. Zahlreiche Arbeiten gibt es zu dielektrischer Relaxationsspektroskopie in Zellsuspensionen, hauptsächlich mit dem Wunsch für ein fundamentales Verständnis von Zelldynamik und Ladungsdynamik zu entwickeln. Die Interpretation breitbandiger Spektren des Realteiles der dielektrischen Konstante mittels einer Aufteilung in α -, β - und γ -Relaxation scheint in vielen Fällen deutlich zu vereinfacht. Insbesondere ist die Interpretation der α -Relaxation sehr umstritten. Die γ -Relaxation wird wesentlich von Wasser oder der vorherrschenden Elektrolytlösung beherrscht. Nur in wenigen Fällen findet man auch breitbandige Messungen des dielektrischen Verlustes. Aufgrund der Überlagerung extrinsischer und intrinsischer Effekte und dem Zusammenspiel von DC- und AC-Leitfähigkeiten ist Messung und Interpretation der Absorptionsphänomene sehr schwierig. Es ist aber die Leitfähigkeit und damit der dielektrische Verlust, der direkt in die Absorptionsrate eingeht und für die hier geplante Studie eine wesentliche Untersuchungsgröße sein wird. Zudem wird nur in sehr wenigen Fällen versucht in gezielten Experimenten die Feldstärke in der Suspension festzulegen und damit Aussagen über die spezifische Absorptionsrate in Abhängigkeit der Einstrahlung zu gewinnen.

Durch das Studium der vorliegenden Literatur gewinnt man den Eindruck, dass in Zellsuspensionen in dem für den Mobilfunk typischen Frequenzbereich keine resonanten Phänomene auftreten. Wir werden im Rahmen dieser Arbeit versuchen, durch breitbandige Spektroskopie, durch systematische Änderung von Temperatur

und Konzentration der untersuchten Suspensionen und eine anschließende detaillierte Netzwerkanalyse möglichst mikroskopische Aussagen über die Wirkung elektromagnetischer Strahlung auf zellulärer Ebene zu gewinnen.

Die theoretische Modellierung der mikroskopischen Auswirkungen nicht-ionisierender, elektromagnetischer Strahlung auf biologische Systeme stellt sich als hoch komplexe Fragestellung heraus, die nur in enger Anlehnung an das Experiment mit Erfolg bearbeitet und beantwortet werden kann. Dies ergibt sich zum einen aus der Tatsache, dass bisher bestehende Modelle im Vergleich zu experimentellen Untersuchungen um Größenordnungen zu große Schwellenwerte für die Intensität elektromagnetischer Strahlung vorhersagen, und zum anderen, dass experimentelle Befunde bisher schlecht reproduzierbar und quantitativ nicht erklärbare Ergebnisse lieferten. Bisher wurden von theoretischer Seite hauptsächlich rein deterministische Modelle zur Beschreibung des Einflusses elektromagnetischer Strahlung herangezogen, welche systematisch den Einfluss intrinsischer Fluktuationen vernachlässigen. Wie eine Reihe von Untersuchungen an biologischen Systemen gezeigt haben, können durch Rauschen die zur Verarbeitung anfallenden Informations-Signale mittels des Effekts der Stochastischen Resonanz drastisch verstärkt werden. Aufgrund dessen sollten Rauscheinflüsse stets mitberücksichtigt werden. Insbesondere kann intrinsisches Rauschen zu erheblich verringerten Schwellenwerten führen.

Rein deterministische Untersuchungen zeigen, dass über einen sehr großen Frequenzbereich ein Großteil der eingestrahlten Energie in der Zellmembran dissipiert wird. Darüber hinaus ist an der Zellmembran der Einfluss des Rauschens bezüglich der Signalverarbeitung in Verbänden von Zellen am größten. Das Zusammenspiel von intrinsischen Fluktuationen und elektromagnetischer Strahlung auf die Funktionsweise von Zellen und im Besonderen von Zellmembranen bleibt ein aktueller Forschungsgegenstand der innerhalb dieses Projektes gezielt untersucht werden soll.

INHALT

Einleitung.....	4
I EXPERIMENTELLE BIOPHYSIK.....	9
1 Grundlagen der dielektrischen Spektroskopie	9
1.1 Allgemeines.....	9
1.2 Messgrößen	10
1.3 Messmethoden.....	12
1.4 Makroskopische und lokale Felder.....	13
1.5 Dielektrische Relaxation.....	15
1.5.1 Dipolrelaxation	15
1.5.2 Kramers-Kronig-Relation	17
1.5.3 Verteilung von Relaxationszeiten	18
1.6 Ladungstransport	20
1.6.1 Metallische und Bandhalbleitung.....	20
1.6.2 Hüpfleitung.....	20
1.6.3 Ionenleitung und Effekt der „Blockierenden Elektroden“	22
1.7 Dielektrische Phänomene in inhomogenen Systemen und an Grenzflächen.....	23
1.7.1 Zwei-Schicht Kondensatoren.....	23
1.7.2 Dielektrische Eigenschaften von Lösungen mit sphärischen Teilchen.....	24
1.7.3 Die Impedanz von gelösten Teilchen mit einer Schale, Oberflächenleitfähigkeit und Gegen-Ionen Effekte.....	25
2 Makroskopische Gewebeparameter	27
2.1 Permittivität und Leitfähigkeit von Gewebe	28
2.2 Dielektrische Eigenschaften ausgewählter Gewebetypen	30
2.2.1 Haut	30
2.2.2 Weichgewebe	31
2.2.3 Fettgewebe (Fett und Knochenmark).....	32
2.2.4 Knochen.....	33
3 Dielektrik wässriger Lösungen	34
3.1 Reines Wasser.....	34
3.2 Elektrolytlösungen.....	36
3.3 Lipidmembranen und Vesikel.....	38

3.4	Aminosäuren, Peptide, Proteine und DNS	40
3.4.1	Aminosäuren	40
3.4.2	Polypeptide und Proteine	44
3.4.3	Desoxyribonukleinsäure (DNS)	49
3.5	Zellsuspensionen	51
4	Feldabhängigkeit, nicht-lineare Effekte, Spezifische Absorptionsrate	55
5	Einzelzell-Untersuchungen	57
5.1	Patch Clamp (PC) Messungen	57
5.1.1	Grundlagen	57
5.1.2	Die Technik	57
5.1.3	Veränderungen im zellulären Elektrolythaushalt/Transport	58
5.2	Fluoreszenznachweis makromolekularer Defekte	59
	Literaturverzeichnis (Experimenteller Teil)	60
II	THEORETISCHE MODELLIERUNG	77
1	Elektromagnetische Felder	77
1.1	Ausbreitung elektromagnetischer Felder	77
1.2	Ausbreitung in biologischen Systemen	79
2	Thermischer Effekt elektromagnetischer Felder	80
3	Leistungsdissipation in biologischen Zellen	82
3.1	Mechanismen	82
3.2	Statisches elektrisches Feld	84
3.3	Elektrisches AC-Feld	85
3.3.1	Modell erster Ordnung	85
3.3.2	Modell zweiter Ordnung	86
3.3.3	Erweitertes Modell zweiter Ordnung	86
3.4	Energieabsorption in der Zellmembran	87
4	Physiologische Grundlagen und Erzeugung von Aktionspotentialen	88
4.1	Membranpotential	88

4.2	Spannungsabhängige Ionenkanäle.....	89
4.3	Hodgkin-Huxley Modell	90
4.4	Erzeugung von Aktionspotentialen im Hodgkin-Huxley Modell ...	91
4.5	Einschränkungen zur Gültigkeit des Hodgkin-Huxley Modells	92
5	Deterministisches Modell zur Erklärung eines biologischen Effekts von elektromagnetischen Feldern	93
5.1	Geladene Teilchen im elektrischen Feld	93
5.2	Einfluss der deterministischen Schwingungen auf die Schaltcharakteristik von Ionenkanälen.....	95
5.3	Diskussion zur Anwendbarkeit eines rein deterministischen Modells.....	96
6	Einfluss von Rauschen.....	97
6.1	Stochastische Resonanz.....	98
6.1.1	Einführung.....	98
6.1.2	Stochastische Resonanz in neuronalen Systemen	99
6.2	Modellierung zum Einfluss des thermischen Rauschens auf die elektrischen Eigenschaften von Zellen.....	101
6.2.1	Spannungsfuktuationen an einem Widerstand	101
6.2.2	Weaver-Astumian Modell.....	102
6.2.3	Kaune Modell	104
6.2.4	Vincze-Modell	106
6.2.5	Spannungsfuktuationen an der Zellmembran.....	107
6.3	Rauschen in Zellmembranen - Nichtgleichgewichtseffekte	110
	Literaturverzeichnis (Theoretischer Teil).....	111

I EXPERIMENTELLE BIOPHYSIK

1 Grundlagen der dielektrischen Spektroskopie

1.1 Allgemeines

Dielektrische Spektroskopie dient zur Untersuchung des Verhaltens einer Probe bei Anlegen eines elektrischen Wechselfeldes. Die Antwort eines Materials auf ein solches Wechselfeld lässt sich mit verschiedenen komplexen Materialgrößen erfassen. Am gebräuchlichsten sind die komplexe dielektrische Konstante oder Permittivität

$$\varepsilon^* = \varepsilon' - i\varepsilon'' \quad (1.1)$$

und die komplexe Leitfähigkeit

$$\sigma^* = \sigma' + i\sigma'' \quad (1.2)$$

(Definitionen in Abschnitt 1.2). Die dielektrische Spektroskopie ist eine der wichtigsten Messmethoden in der Physik kondensierter Materie und die Messung der dielektrischen Materialeigenschaften trägt viel zum Verständnis der vielfältigen molekulardynamischen Vorgänge in Festkörpern und Flüssigkeiten bei (für einen aktuellen Überblick, siehe z. B. Kremer und Schönhals 2003).

Voraussetzung für die Wechselwirkung eines Materials mit dem elektrischen Wechselfeld ist das Vorhandensein eines Dipolmoments und/oder beweglicher Ladungsträger. Das Dipolmoment kann permanenter Natur sein (z. B. dipolare Moleküle oder Protonen im Doppelmuldenpotential einer Wasserstoffbrücke) oder durch das elektrische Feld induziert werden (z. B. aufgrund der Polarisierung der Elektronenhülle gegenüber dem Atomkern). Die Ladungsträger können z. B. Ionen, Elektronen oder Löcher sein.

Neben verschiedenen für die Grundlagenforschung wichtigen Aspekten ist die Kenntnis der dielektrischen Materialeigenschaften sowohl für technische Anwendungen als auch bei biophysikalischen Prozessen von enormer Bedeutung. So trägt z. B. die Untersuchung der Ionenleitungseigenschaften von Festkörperelektrolyten oder Zellsuspensionen durch Messung der komplexen Leitfähigkeit wesentlich zum Verständnis heterogener komplexer dielektrischer Systeme bei. Neuerdings treten auch die dielektrischen Hochfrequenzeigenschaften ($\nu > 1$ GHz) in den Vordergrund, da sowohl in der Digitalelektronik als auch in der Kommunikationstechnik ("Handy") immer höhere Frequenzbereiche für die Anwendung erschlossen werden. Im Rahmen dieses Projektes ist natürlich von besonderem Interesse, dass die Wechselwirkung elektromagnetischer Strahlung mit biologischer Materie nahezu vollständig von den dielektrischen Eigenschaften bestimmt wird. In diesem Zusammenhang relevante Größen wie Eindringtiefe elektromagnetischer Strahlung in den Körper, Absorption von Strahlungsleistung von verschiedenen Gewebearten, Beeinflussung von Ladungstransportprozessen, etc., lassen sich sämtlich auf die dielektrischen Gewebeeigenschaften zurückführen, was deren möglichst genaue Bestimmung, vor allem auch auf Zellebene und im subzellulären Bereich nötig macht.

1.2 Messgrößen

Die in der Literatur zur dielektrischen Spektroskopie gebräuchlichsten primären Messgrößen sind Impedanz, Admittanz und komplexe Kapazität (Jonscher 1983, Macdonald 1987, Kremer und Schönhals 2003). Unter Einbeziehung der Geometrie der Probe lassen sich hieraus die Materialeigenschaften spezifischer Widerstand ρ^* , Leitfähigkeit σ^* und die Dielektrizitätskonstante ε^* gewinnen. All diese Größen sind durch einfache arithmetische Beziehungen verknüpft. Es folgt eine kurze Definition der einzelnen Messgrößen und Ihrer Anwendungsgebiete.

Impedanz

Die Impedanz Z ist der komplexe Widerstand. Es wird definiert als $Z \equiv U/I$, wobei U die anliegende Spannung und I der resultierende Strom sind. Der Realteil der Impedanz ist der Widerstand (auch Wirkwiderstand oder Resistanz genannt), der Imaginärteil die Reaktanz X (der Blindwiderstand), also $Z = R + iX$. Der Betrag $|Z|$ wird oft als Scheinwiderstand bezeichnet. Der spezifische Widerstand ergibt sich aus der Definition $\rho^* = \rho' + i\rho'' \equiv A/l \cdot Z$, wobei A der stromdurchflossene Querschnitt und l die Länge des Leiters ist. Die Impedanz wird oft für Mehrschichtsysteme, elektrochemische Systeme und bei Elektrodenpolarisation benutzt. Beim Vorhandensein mehrerer relaxatorischer Prozesse, z. B. Maxwell-Wagner Relaxation aufgrund von Grenzschichtpolarisation (Maxwell 1881, Wagner 1913) und einer intrinsischen Dipolrelaxation, kann die Auftragung in der komplexen Ebene, also $Z''(Z')$ oder $\rho''(\rho')$, Aufschluss über die Rolle der verschiedenen Beiträge geben.

Komplexe Leitfähigkeit

Die primäre Messgröße ist hier die Admittanz, der komplexe Leitwert. Es wird definiert als $Y \equiv I/U$, also gilt $Y = 1/Z$. Der Realteil der Admittanz ist der Leitwert G' (auch Wirkleitwert, Konduktanz). Der Imaginärteil ist die Suszeptanz G'' (auch Blindleitwert B), somit $Y = G' + iG''$. (Manchmal findet man auch $Y = G' - iG''$). Der spezifische Leitwert - die Leitfähigkeit - berechnet sich aus der Geometrie der Probe zu $\sigma^* = \sigma' + i\sigma'' \equiv l/A \cdot Y$. Die Darstellung der komplexen Leitfähigkeit wird meist bei Materialien mit dominierendem Ladungstransport (Halbleiter, Ionenleiter, Metalle) angewandt.

Komplexe Dielektrizitätskonstante

Die komplexe Dielektrizitätskonstante ε^* findet bei Systemen mit kleinen Leitfähigkeiten Verwendung, deren elektrische Eigenschaften von Polarisations-effekten dominiert werden. Die primäre Messgröße ist die Kapazität C' . Sie ist definiert als $C' = Q/U$. Hierbei ist Q die bei Anlegen der Spannung U auf zwei beliebig geformten Leitern vorhandene Ladung. Meist haben die Leiter die Form paralleler Platten. Die Kapazität hängt von der Permittivität ε_p des zwischen den Leitern befindlichen Materials ab. ε_p ist definiert als $\varepsilon_p \equiv D/E$, wobei D die dielektrische Verschiebung und E das elektrische Feld bezeichnen. Bei einem Plattenkondensator ergibt sich $C' = \varepsilon_p \cdot A/d$. A ist die Fläche und d der Abstand der Platten. Die dimensionslose Dielektrizitätskonstante ε' ist definiert als $\varepsilon' \equiv \varepsilon_p/\varepsilon_0$. Hier ist ε_0 die Permittivität des Vakuums. (Anmerkung: Oft wird auch ε_p als Dielektrizitätskonstante und ε als relative Dielektrizitätskonstante oder relative Permittivität bezeichnet). Bei

Verwendung eines Plattenkondensators berechnet sich also ε' nach $\varepsilon' = C'/C_0$, wobei C_0 die Leerkapazität $C_0 = \varepsilon_0 A/d$ des Kondensators ist.

Die in jedem Material vorhandenen Leistungsverluste (z. B. durch Leitfähigkeit) lassen sich durch Einführen einer komplexen Kapazität $C^* \equiv C' - i C''$ bzw. einer komplexen Dielektrizitätskonstanten $\varepsilon^* = \varepsilon' - i \varepsilon''$ erfassen, wenn man definiert: $i\omega C^* \equiv Y = I/U$. Es ergibt sich $C'' = G'/\omega$ und $C' = G''/\omega$, bzw. $\varepsilon'' = \sigma' / (\varepsilon_0 \omega)$ und $\varepsilon' = \sigma'' / (\varepsilon_0 \omega)$. $\omega = 2\pi\nu$ ist die Kreisfrequenz des elektrischen Wechselfeldes. Der Imaginärteil von ε^* ist proportional der Energiedissipation des angelegten Feldes in der Probe. ε'' bezeichnet man daher als dielektrischen Verlust, der zu einer Erwärmung der Probe führt; im Kontext dieses Projektes gehört es somit zu den wichtigsten Messgrößen. Auch in gut isolierenden Materialien gibt es stets eine kleine Restleitfähigkeit. Wegen $C'' = G'/\omega$ führt dies oft für $\nu \rightarrow 0$ zu einer $1/\omega$ -Divergenz von ε'' zu kleinen Frequenzen.

Oft wird statt ε'' auch der Verlustwinkel δ angegeben. Es gilt $\tan \delta = C''/C' = \varepsilon''/\varepsilon'$. Er ist geometrieunabhängig und somit vorteilhaft bei schlecht definierter Probengeometrie. Aufgrund der Frequenzabhängigkeit von ε' liefert er allerdings nur eine bedingt genaue Information über die Leistungsabsorption der Probe.

Es sei noch angemerkt, dass oft anstelle der Auftragung der Frequenzabhängigkeit von Real- und Imaginärteil obiger Größen eine Auftragung der Messergebnisse in der Form Imaginärteil gegen Realteil gewählt wird (sog. Cole-Cole-Diagramme (Cole und Cole 1941, 1942)). Das Auftreten von Halbkreisen in dieser Darstellung weist auf relaxatorische Prozesse hin, die dann mit graphischen Mitteln analysiert werden können. Die breite Verfügbarkeit von Fitsoftware zur Analyse frequenzabhängiger Daten und der Verlust der Frequenzinformation in dieser Darstellung lassen nach unserer Meinung Cole-Cole-Diagramme aus heutiger Sicht allerdings eher als überholt erscheinen.

Dielektrischer Modulus

Der dielektrische Modulus wurde 1972 von Moynihan und Mitarbeitern für Ionenleiter vorgeschlagen (Macedo *et al.* 1972). Er ist definiert als $M^* = M' + iM'' \equiv 1/\varepsilon^*$. Während die frequenzabhängige Leitfähigkeit und dielektrische Konstante von ionenleitenden Flüssigkeiten und Festkörper im Wesentlichen von Potenzgesetzen geprägt sind, ergibt sich in der Modulusdarstellung ein relaxationsähnliches Verhalten, analog zum Befund in der komplexen Dielektrizitätskonstante dipolarer Systeme. Die möglichen Interpretationen dieses Verhaltens, z. B. im Rahmen einer so genannten "Leitfähigkeitsrelaxation", sind allerdings sehr umstritten (Cole und Tombari 1991, Elliott 1994, Moynihan 1994, Sidebottom *et al.* 1995, Roling *et al.* 1997, Roling 1999, Macdonald 2001).

1.3 Messmethoden

Zur Abdeckung eines möglichst breiten Frequenzbereiches kommt in der dielektrischen Spektroskopie eine Vielzahl unterschiedlicher Messmethoden zum Einsatz (Macdonald 1987, Schneider *et al.* 2001, Kremer und Schönhals 2003). Einige der wichtigeren sind:

Zeitdomäne (10^{-6} - 10^4 Hz)

Der Auf- oder Entladevorgang eines mit dem Probenmaterial gefüllten Kondensators wird zeitabhängig gemessen. Durch Laplacetransformation erhält man die frequenzabhängige Dielektrizitätskonstante. Vorteil: schnelle Erfassung eines breiten Frequenzbereichs, Nachteil: schlechtes Signal-Rausch-Verhältnis, nur für Proben mit kleiner Leitfähigkeit geeignet.

Frequenzgang-Analysatoren (10^{-5} - $3 \cdot 10^6$ Hz)

Spannung und Strom eines mit dem Probenmaterial gefüllten Kondensators werden mit Lock-In Technik direkt gemessen. Vorteil: sehr gutes Signal-Rauschverhältnis, auch bei hohen Impedanzen, genaue Bestimmung der Absolutwerte. Nachteil: lange Messzeiten bei tiefen Frequenzen, bei hohen Frequenzen stören Kabeleffekte.

LCR-Meter (10^0 - $3 \cdot 10^6$ Hz)

Selbstabgleichende Messbrücken (LCR-Meter) ermitteln die Impedanz eines mit dem Probenmaterial gefüllten Kondensators in Vierpunkttechnik. Vorteil: gutes Signal-Rauschverhältnis, genaue Bestimmung der Absolutwerte. Nachteil: lange Messzeiten bei tiefen Frequenzen, bei hohen Frequenzen stören Kabeleffekte, Auflösungsprobleme bei sehr hohen Impedanzen (Isolatoren).

Reflexionstechnik (10^6 - $2 \cdot 10^{10}$ Hz)

Impedanz- oder Netzwerkanalysatoren messen den Reflexionskoeffizienten einer Koaxialleitung, deren Ende durch die Probe abgeschlossen ist. Nachteil: nachlassende Sensitivität, wenn Probenwiderstand deutlich von 50Ω verschieden ist. Technisch anspruchsvoll bei Frequenzen $> 10^9$ Hz.

Resonanzmethoden (10^8 - $3 \cdot 10^{11}$ Hz)

Die Probe befindet sich in einem Resonator (Hohlraumresonator im Mikrowellenbereich oder Spule bei tieferen Frequenzen). Die Resonanzfrequenz und Güte des Resonators wird gemessen. Vorteil: hohe Sensitivität, Nachteil: für großen Frequenzbereich werden viele verschiedene Resonatoren benötigt, ungenaue Bestimmung der Absolutwerte.

Transmissionstechnik (10^7 - $4 \cdot 10^{10}$ Hz)

Ein Netzwerkanalysator misst die Transmission einer Koaxialleitung oder eines Hohlleiters. Die Leitung ist mit dem Probenmaterial gefüllt. Vorteil: genaue Absolutwerte, kontinuierlicher Frequenzbereich (Koax), Nachteil: nur für Flüssigkeiten oder leicht bearbeitbare Proben.

1.4 Makroskopische und lokale Felder

Bei allen Berechnungen der Wirkung und der Ausbreitung elektromagnetischer Felder in realen Objekten muss streng zwischen makroskopischen und lokalen Feldern unterschieden werden. Es muss klar sein, dass sich das externe elektrische Feld E und das lokale elektrische Feld E_l , das auf ein Molekül oder eine Zelle innerhalb des untersuchten Materials wirkt, sehr unterschiedlich sein können. Dieses Problem ist seit mehr als 100 Jahren in der Physik bekannt, und es ist auch bekannt, dass es in einfachen theoretischen Überlegungen zu einer Divergenz lokaler elektrischer Felder kommen kann. Diese Fragen werden aber in vielen aktuellen experimentellen und theoretischen Überlegungen nicht entsprechend gewürdigt. Daher soll der Stand der Forschung zu diesem Problem kurz skizziert werden, obwohl man diese Abhandlung durchaus in vielen Lehrbüchern finden kann (z. B. Pethig 1979, Bone und Bogumil 1992, Böttcher *et al.* 1993).

Ein mittleres makroskopisches Feld definieren wir am einfachsten mittels eines Plattenkondensators gefüllt mit einem homogenen dielektrischen Material mit einer Dielektrizitätskonstante ϵ' , mit einem Elektrodenabstand d und einer angelegten Spannung V . In diesem Falle ergibt sich ein mittleres elektrisches Feld $E = -\frac{V}{d}$.

Wir wollen nun aber das mikroskopische lokale Feld E_l definieren, das im Inneren des dielektrischen Materials auf Atome und Moleküle wirkt. Es gilt der Zusammenhang zwischen der dielektrischen Verschiebung D (Coulomb/m²) und der elektrischen Feldstärke E (V/m):

$$D = \epsilon_0 \epsilon' E = \epsilon_0 E + P \quad (1.3)$$

Hierbei gibt die Polarisation P das induzierte Dipolmoment pro Einheitsvolumen des dielektrischen Materials an. Das makroskopische elektrische Feld E und die Polarisation definieren nun die dielektrische Suszeptibilität χ , die wesentliche Kenngröße eines untersuchten Materials.

$$P = \epsilon_0 \chi E \quad (1.4)$$

Besteht nun das Material aus N Dipolen pro Einheitsvolumen mit einer Gesamtpolarisierbarkeit pro Molekül von α , dann muss auch gelten

$$P = N \alpha E_l \quad (1.5)$$

Daraus folgt direkt, dass die relative dielektrische Suszeptibilität durch den folgenden Ausdruck bestimmt ist:

$$\chi = \epsilon' - 1 = \frac{N \alpha}{\epsilon_0} \frac{E_l}{E} \quad (1.6)$$

Diese fundamentale Beziehung gibt einen einfachen Zusammenhang zwischen makroskopischem elektrischem Feld, der Polarisierbarkeit der Einzelmoleküle und dem lokalen Feld, und hat weitreichende Folgen für die Wirkung elektrischer Felder in homogenen und inhomogenen Materialien und Objekten.

Auswirkung dieser Beziehung in realen Materialien:

Nur in stark verdünnten Gasen kann man davon ausgehen, dass die lokalen Felder von der Größenordnung des makroskopischen Feldes sind und in diesem Falle gilt:

$$\varepsilon' - 1 = \frac{N\alpha}{\varepsilon_0} \quad (1.7)$$

In dichten Gasen und in Flüssigkeiten wird ein beobachtetes Molekül stark von den Feldern beeinflusst, die von anderen Molekülen aufgebaut werden. Damit kommt es zu großen Unterschieden zwischen lokalem und mittlerem makroskopischen Feld. Dieses Problem wurde bereits vor mehr als hundert Jahren von Mossotti (1850), Clausius (1879) und Lorentz (1952) im Detail beschrieben. In diesem Ansatz wird das Feld, das in einem Medium auf ein Molekül wirkt, künstlich aufgeteilt in ein Feld direkt um das Molekül, das durch die Dipole in einer bestimmten Sphäre um das Molekül aufgebaut wird und ein Feld außerhalb dieser Sphäre, das durch das externe und ein gemittelttes internes Feld bestimmt wird. Für hochsymmetrische (isotrope) Materialien findet man

$$E_l = E + \frac{P}{3\varepsilon_0} = \frac{(\varepsilon' + 2)}{3} E \quad (1.8)$$

Dies ist die Lorentz-Beziehung: Das Feld, das auf ein Atom in kubischer Symmetrie wirkt, ist die Summe von makroskopischem Feld E und der Polarisation der Atome in der Probe. In den Ausdruck für die dielektrische Suszeptibilität eingesetzt ergibt das die bekannte Clausius-Mossotti Beziehung

$$\frac{\varepsilon' - 1}{\varepsilon' + 2} = \frac{N\alpha}{3\varepsilon_0} \quad (1.9)$$

oder nach einer einfachen Umformung

$$\varepsilon' - 1 = \frac{N\alpha}{\varepsilon_0 \left(1 - \frac{N\alpha}{3\varepsilon_0}\right)} \quad (1.10)$$

Dies ist die Voraussetzung für eine Polarisationskatastrophe: Wird $\frac{N\alpha}{3\varepsilon_0} = 1$, divergiert die dielektrische Konstante und kleinste Felder führen zu unendlicher Polarisation.

Man findet also das überraschende Ergebnis, dass abhängig von der Dichte oder der statischen Polarisierbarkeit α von Molekülen die dielektrische Permittivität eines Materials divergieren kann und auch kleinste externe Felder zu enorm großer und gegebenenfalls spontaner Polarisation führen können. Gerade bei der Diskussion der Wirkung auch kleiner elektromagnetischer Felder auf Zellen, Zellsuspensionen oder Gewebe ist dies natürlich ein Effekt, dem man höchste Aufmerksamkeit schenken muss.

Da man aber derartige Effekte, nämlich divergierende Polarisation auch bei kleinen Feldern experimentell bislang nicht beobachten konnte, muss die Clausius-Mossotti Beziehung mit einiger Vorsicht betrachtet werden. Eine kritische Diskussion dieser Polarisationskatastrophe findet man bei Böttcher *et al.* 1993, der darauf hinweist, dass zur Erreichung der Bedingung $N\alpha = 3\varepsilon_0$ die Polarisierbarkeit von der

Größenordnung des Molekülvolumens sein müsste, was in realen Fällen nicht gegeben ist.

Allerdings muss berücksichtigt werden, dass obige Betrachtungen für den statischen Fall gelten. Eine Erhöhung des lokalen Feldes kann jedoch auch für den AC-Fall relevant werden und zu einer Erhöhung der absorbierten Leistung führen, ein Effekt, der noch genauerer Untersuchungen bedarf.

Hat man Moleküle mit permanentem Dipolmoment μ vorliegen, wie man es in den meisten homogenen Systemen findet, dann müssen sowohl atomare und ionische Polarisierbarkeit als auch die Orientierungspolarisation berücksichtigt werden. In den älteren Theorien des Lorentz-Feldes wurde dies nicht unterschieden. Onsager (1936), der Reaktions- und Direktionsfelder einführte, ergänzte die Clausius-Mossotti-Gleichung und fand unter Benutzung der dielektrischen Konstante bei unendlich hohen Frequenzen ϵ_∞

$$\mu^2 = \frac{9k_B T \epsilon_0 (\epsilon' - \epsilon_\infty)(2\epsilon' + \epsilon_\infty)}{N \epsilon' (\epsilon_\infty + 2)^2} \quad (1.11)$$

Dieser Ausdruck wird als Onsager Gleichung bezeichnet und ermöglicht die Berechnung des permanenten Dipolmoments μ in einer reinen dipolaren Flüssigkeit.

Für die Herleitung der Onsager Gleichung wurden sphärische Teilchen ohne Wechselwirkung betrachtet. Böttcher *et al.* 1993 und Weaver und Parry 1966 erweiterten die Onsager Gleichung für nicht-sphärische ellipsoide Moleküle.

1.5 Dielektrische Relaxation

1.5.1 Dipolrelaxation

Dielektrische Relaxation bezeichnet die Antwort eines dipolaren Systems auf ein zeitlich veränderliches elektrisches Feld (Böttcher *et al.* 1996, Jonscher 1983, Macdonald 1987). Das Dipolmoment kann dabei entweder permanenter Natur sein (z. B. Wassermoleküle) oder durch einen zwischen zwei (oder mehr) Positionen hüpfenden Ladungsträger (z. B. ein Proton in einer Wasserstoffbrückenbindung) erzeugt sein. Allgemein kann ein Dipol in einem Festkörper durch ein Teilchen in einem Doppel- (oder Mehrfach-) Muldenpotential angenähert werden. Die Potentialminima entsprechen bestimmten bevorzugten Ausrichtungen des Dipols. Zum Beispiel führt die räumliche Behinderung durch die umgebenden Moleküle, die Wechselwirkung mit deren Dipolmomenten und das Vorhandensein von Wasserstoffbrückenbindungen zur Entstehung einer Energiebarriere, die bei einer Reorientierung eines Wassermoleküls überwunden werden muss.

Ein solches System ist durch seine Relaxationszeit τ (charakteristische Rückkehrzeit in Gleichgewichtszustand) gekennzeichnet, die die Dynamik des aus seiner Gleichgewichtslage ausgelenkten Dipols angibt. Die Annahme scheint plausibel, dass die zeitliche Änderung der Auslenkung α nach Abschalten des Feldes proportional der Auslenkung selbst ist. Der Proportionalitätsfaktor ist die inverse Relaxationszeit:

$$\frac{\partial \alpha(t)}{\partial t} = -\frac{1}{\tau} \cdot \alpha(t) \quad (1.12)$$

Nimmt man ferner an, dass die Dipole unabhängig und mit der gleichen charakteristischen Relaxationszeit τ relaxieren, ergibt sich für die zeitabhängige Polarisation nach Abschalten des Feldes (Abb. 1.1a):

$$P(T) = P_0 \exp\left(-\frac{t}{\tau}\right) \quad (1.13)$$

Hier bezeichnet P_0 die Anfangspolarisation.

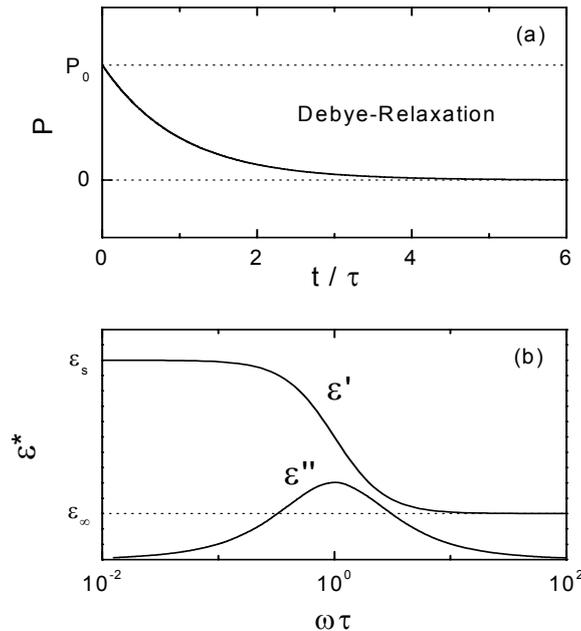


Abb. 1.1: (a) Zeitabhängige Polarisation (b) Real und Imaginärteil von $\epsilon^*(\nu)$ für den Debye-Fall

Mit Hilfe einer Fouriertransformation lässt sich die Frequenzantwort des Systems in Form der frequenzabhängigen komplexen Dielektrizitätskonstanten ermitteln:

$$\epsilon^*(\omega) = \epsilon_\infty + \frac{\epsilon_s - \epsilon_\infty}{1 + i\omega\tau} \quad (1.14)$$

Die Aufspaltung in Real- und Imaginärteil ergibt dann:

$$\epsilon'(\omega) = \epsilon_\infty + \frac{\epsilon_s - \epsilon_\infty}{1 + \omega^2\tau^2} \quad \epsilon''(\omega) = \frac{(\epsilon_s - \epsilon_\infty)\omega\tau}{1 + \omega^2\tau^2} \quad (1.15)$$

ϵ_∞ rührt von der ionischen und elektronischen Polarisierbarkeit her und kann oft als konstant angenommen werden. ϵ_s ist die statische Dielektrizitätskonstante, die die Antwort des Systems auf ein statisches elektrisches Feld beschreibt. Das mit Gleichung 1.12 bis 1.15 beschriebene Frequenz- und Zeitverhalten (Abb. 1.1) wird als Debye-Fall bezeichnet (Debye 1912, Debye 1913). Formel 1.15 führt zu einem Maximum in $\epsilon''(\lg \omega)$ bei $\omega = 1/\tau$ mit $\epsilon'' \sim \omega$ für $\omega \ll 1/\tau$ und $\epsilon'' \sim 1/\omega$ für $\omega \gg 1/\tau$. Entsprechend weist $\epsilon'(\lg \omega)$ bei $\omega = 1/\tau$ einen Wendepunkt auf und fällt stufenartig von ϵ_s auf ϵ_∞ ab (Abb. 1.1b). Die Halbwertsbreite der Verlustkurve $\epsilon''(\omega)$ beträgt 1.144 Dekaden. Anschaulich kann man sich vorstellen, dass für $\omega \ll 1/\tau$ die Dipole dem

Feld folgen können, während für $\omega \gg 1/\tau$ dies nicht mehr der Fall ist. In beiden Fällen ist der Verlust 0. Ähnlich wie bei einer angeregten Schwingung hat der Verlust dann ein Maximum, wenn die Anregungsfrequenz gleich der Relaxationsrate $1/\tau$ der Dipole ist.

Die Temperaturabhängigkeit der Relaxationszeit folgt bei Annahme eines thermisch aktivierten Überspringens der Energiebarriere E einem Arrheniusgesetz:

$$\tau = \tau_0 \cdot \exp\left(\frac{E}{k_B T}\right) \quad (1.16)$$

k_B ist die Boltzmannkonstante. Der "Kehrwert" des Vorfaktors $\nu_0 = 1/(2\pi\tau_0)$ heißt Anknopf- oder Versuchsfrequenz. Dem liegt die Vorstellung zugrunde, dass der Dipol mit dieser Frequenz (etwa der einer typischen Gitterschwingung, $\nu_0 \approx 10^{12}$ - 10^{14} Hz) versucht, die Barriere zu überwinden. In vielen Systemen, insbesondere auch in vielen Flüssigkeiten und ungeordneten Systemen, findet man Abweichungen vom thermisch aktivierten Verhalten. Oft lässt sich dann $\tau(T)$ mit dem Vogel-Fulcher-Tammann-Gesetz (Vogel 1921, Fulcher 1923, Tammann und Hesse 1926)

$$\tau = \tau_0 \exp\left(\frac{E_{VF}}{T - T_{VF}}\right) \quad (1.17)$$

beschreiben, was einer Divergenz der Relaxationszeit bei der sog. Vogel-Fulcher Temperatur T_{VF} entspricht. Sowohl das Arrheniusgesetz als auch das Vogel-Fulcher-Tammann-Gesetz implizieren eine extrem starke Verschiebung der Verlustmaxima bei einer Temperaturänderung, wobei eine Temperaturerhöhung zu einer Verschiebung zu höheren Frequenzen führt.

1.5.2 Kramers-Kronig-Relation

Die Tatsache, dass sich aus der Pulsantwortfunktion sowohl der Real- als auch der Imaginärteil der Dielektrizitätskonstante berechnen lassen, ist ein Beleg dafür, dass beide Größen nicht unabhängig voneinander sind, sondern sich vielmehr ineinander umrechnen lassen. Eine solche Beziehung wird über die Kramers-Kronig-Relationen (Kramers 1929, Kronig 1926) gegeben:

$$\begin{aligned} Z'(\omega) - Z'_\infty &= \frac{2}{\pi} \int_0^\infty \frac{uZ''(u) - \omega Z''(\omega)}{u^2 - \omega^2} du \\ Z'(0) - Z'_\infty &= \frac{2}{\pi} \int_0^\infty \frac{Z''(u)}{u} du \\ Z''(\omega) &= -\frac{2\pi}{\omega} \int_0^\infty \frac{Z'(u) - Z'(\omega)}{u^2 - \omega^2} du \end{aligned} \quad (1.18)$$

Dabei stehen die Größen $Z'(\omega)$ und $Z''(\omega)$ repräsentativ für diverse komplexe Größen (ϵ^* , χ^*) mit der Kreisfrequenz als Argument, d. h. der Index ∞ steht für Kreisfrequenzen $\omega \rightarrow \infty$. Die Kramers-Kronig-Relationen bringen zum Ausdruck, dass sowohl der Real- als auch der Imaginärteil der Permittivität für sich allein genommen sämtliche Informationen bezüglich der Moleküldynamik enthält.

1.5.3 Verteilung von Relaxationszeiten

Der Debye-Fall kommt in der Natur nur selten vor. Meist sind die Verlustkurven verbreitert und zudem oft asymmetrisch (Jonscher 1983, Macdonald 1987, Kremer und Schönhals 2003). Die Flanken der Verlustkurven folgen meist Exponentialgesetzen ω^m bzw. ω^{-n} , mit $0 < m < 1$ und $0 < n < 1$. Zur Erklärung der experimentellen Befunde wird oft eine Verteilung von Relaxationszeiten $g(\tau)$ herangezogen:

$$\varepsilon^*(\omega) = \varepsilon_\infty + (\varepsilon_s - \varepsilon_\infty) \int_0^\infty \frac{g(\tau)}{1 + i\omega\tau} d\tau \quad (1.19)$$

Die Annahme einer Verteilung von Relaxationszeiten liegt nahe, da τ in Abhängigkeit von der mikroskopischen Umgebung des Relaxators lokal variieren sollte. Allerdings ist es meist unmöglich, die sich ergebenden Verteilungen mikroskopisch zu erklären.

Oft werden gemessene $\varepsilon^*(\omega)$ -Kurven durch einfache Modifikationen von Gleichung 1.14 parametrisiert. Die allgemeinste Form ist die von Havriliak und Negami vorgeschlagene Formel (Havriliak und Negami 1966):

$$\varepsilon^*(\omega) = \varepsilon_\infty + \frac{\varepsilon_s - \varepsilon_\infty}{[1 + (i\omega\tau)^{1-\alpha}]^\beta} \quad (1.20)$$

Die Parameter $0 \leq \alpha < 1$ und $0 < \beta \leq 1$ bzw. die Exponenten $n = -\beta(1 - \alpha)$ und $m = 1 - \alpha$ bestimmen Breite und Asymmetrie der Verlustkurve. Spezialfälle sind die Cole-Cole-Formel (Cole und Cole 1941, 1942) (symmetrische Verbreiterung) mit $\alpha \neq 0$, $\beta = 1$ und die Cole-Davidson-Formel (Davidson und Cole 1950, Davidson und Cole 1951) (asymmetrische Verbreiterung) mit $\alpha = 0$, $\beta \neq 1$ (Abb. 1.2). Separiert man Gleichung 1.20 in Real- und Imaginärteil, erhält man:

$$\varepsilon' = \varepsilon_\infty + (\varepsilon_s - \varepsilon_\infty) \cos(\beta\psi) [1 + 2(\omega\tau)^{1-\alpha} \sin(\alpha\pi/2) + (\omega\tau)^{2(1-\alpha)}]^{-\beta/2} \quad (1.21)$$

$$\varepsilon'' = (\varepsilon_s - \varepsilon_\infty) \sin(\beta\psi) [1 + 2(\omega\tau)^{1-\alpha} \sin(\alpha\pi/2) + (\omega\tau)^{2(1-\alpha)}]^{-\beta/2} \quad (1.22)$$

mit

$$\tan(\psi) = (\omega\tau)^{1-\alpha} \frac{\cos(\alpha\pi/2)}{1 + (\omega\tau)^{1-\alpha} \sin(\alpha\pi/2)} \quad (1.23)$$

Es muss betont werden, dass Gleichung 1.20 und die davon abzuleitenden Spezialfälle rein phänomenologische Beschreibungen der experimentell gefundenen $\varepsilon^*(\omega)$ -Kurven sind, denen keine mikroskopischen Modelle zugrunde liegen. Allerdings ergibt sich so die Möglichkeit einer einheitlichen Parametrisierung dielektrischer Messergebnisse, was eine Voraussetzung für den Vergleich des Verhaltens unterschiedlicher Materialien ist.

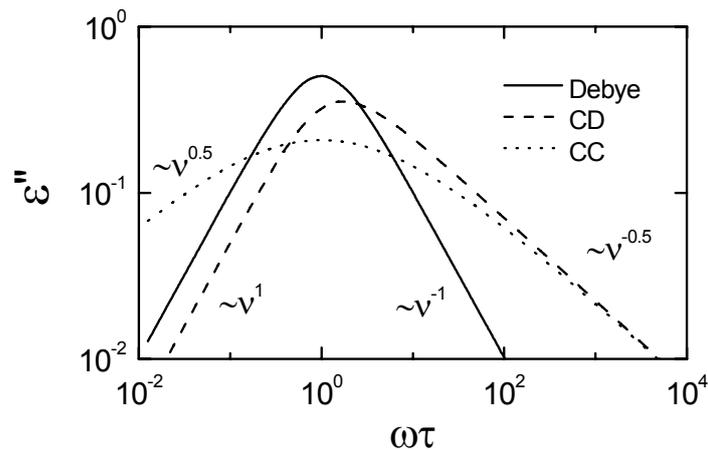


Abb. 1.2: $\varepsilon''(\nu)$ für den Debye-Fall und für die beiden Grenzfälle der Havriliak-Negami-Formel (7), die Cole-Davidson (CD, $\beta=0.5$) und Cole-Cole (CC) Formel ($\alpha=0.5$).

Alternativ zum Konzept einer Verteilung von Relaxationszeiten ("heterogenes Szenario") zur Erklärung der verbreiterten Relaxationspeaks wurde ein homogenes Szenario vorgeschlagen, in dem jeder Relaxator mit der gleichen Relaxationszeit relaxiert, aber nicht-exponentiell (d. h. Gleichung 1.13 gilt nicht). Ein einfacher Ansatz hierzu ist das Kohlrausch-Williams-Watts (KWW) Gesetz, auch "gestreckt-exponentielles Verhalten" genannt:

$$P = P_s + (P_\infty - P_s) \exp \left[- \left(\frac{t}{\tau_{KWW}} \right)^{\beta_{KWW}} \right] \quad (1.24)$$

Es wurde bereits 1854 von Kohlrausch zur Beschreibung der Entladung einer Leydener Flasche (einer frühen Form eines Kondensators) eingeführt (Kohlrausch 1854) und von Williams und Watts zur Beschreibung dielektrischer Daten vorgeschlagen (Williams und Watts 1970). Mittels einer Fourier-Transformation ergibt sich ein Verlustpeak in der Frequenzdomäne mit $\varepsilon'' \sim \omega$ für $\omega \ll 1/\tau$ und $\varepsilon'' \sim \omega^{-\beta}$ für $\omega \gg 1/\tau$, qualitativ ähnlich zur CD-Funktion. Die Benutzung der KWW-Funktion bedeutet allerdings nicht unbedingt eine Festlegung auf das homogene Szenario: Aus der Fourier-Transformierten kann man auch eine (allerdings komplizierte) Verteilung von Relaxationszeiten berechnen.

Das Konzept der Verteilung von Relaxationszeiten wurde in neuerer Zeit durch verschiedene Experimente an unterkühlten Flüssigkeiten erhärtet, z. B. durch vierdimensionale Kernspinresonanz (Schmidt-Rohr und Spiess 1991) und dielektrisches Lochbrennen (Schiener *et al.* 1996).

1.6 Ladungstransport

1.6.1 Metallische und Bandhalbleitung

Die Elektronen oder Löcher in Metallen und im Leitungsband von Halbleitern sind aufgrund der Ausbildung von Bloch-Wellen fast frei beweglich. Ihre Wellenfunktion dehnt sich über den gesamten Festkörper aus. Eine Frequenzabhängigkeit der Leitfähigkeit und ein Beitrag in der dielektrischen Konstante tritt erst bei sehr hohen Frequenzen (>THz) auf. Dort ergibt sich ein Abfall von $\sigma'(\nu)$, was mit der klassischen Theorie von Drude (Drude 1900) für ein Fermi-Gas erklärbar ist. Er kann als eine Art Trägheitseffekt der Leitungselektronen gedeutet werden und erlaubt Aufschluss über die effektive Masse und die Streurate der Ladungsträger. In Rahmen dieses Projektes sind diese Effekte irrelevant.

1.6.2 Hüpfleitung

Voraussetzung für die Ausbildung von Bloch-Wellen ist die Periodizität des Kristallgitters. Das Vorhandensein von Unordnung irgendwelcher Art (z. B. bei Flüssigkeiten, amorphen Materialien, usw.) führt zur Lokalisierung der Wellenfunktionen und Hüpfleitung. Da biologische Materie fast immer hochgradig heterogen und ungeordnet ist, ist Hüpfleitung stets der dominante Ladungstransportprozess. Die lokalisierten Ladungsträger können auf das Anlegen eines elektrischen Feldes durch Hüpfen auf einen benachbarten lokalisierten Platz reagieren. Die Aufenthaltszeit an einem Platz ist dabei größer als die Hüpfzeit. Das Hüpfen kann durch thermisch aktiviertes Springen über oder quantenmechanisches Tunneln durch die zwischen den Plätzen vorhandenen Energiebarrieren geschehen. Unabhängig davon haben diese Hüpf-Übergänge stark unterschiedliche Wahrscheinlichkeiten je nach Hüpf-distanz, der Höhe der Energiebarriere und der Energiedifferenz zwischen den lokalisierten Zuständen. Diese Größen unterliegen aber aufgrund der vorausgesetzten Unordnung einer Zufallsverteilung.

Hüpfleitung bedingt im Allgemeinen eine frequenzabhängige Leitfähigkeit (Jonscher 1983, Elliott 1987, Staveren *et al.* 1991). Das lässt sich in folgendem stark vereinfachten Bild leicht anschaulich machen. Bei hohen Frequenzen bewegt sich der Ladungsträger im Wesentlichen zwischen zwei Plätzen. Bei kleineren Frequenzen werden größere Distanzen zurückgelegt, d. h. es erfolgen mehrere Sprünge, bevor die Feldumkehr auftritt. Mit abnehmender Frequenz steigt die Wahrscheinlichkeit, auf hohe Energiebarrieren oder einen relativ weiten Sprung erfordernden Gitterplatz zu stoßen. Daher ist zu erwarten, dass die Leitfähigkeit mit abnehmender Frequenz fällt. Tatsächlich wird bei vielen Materialien Hüpfleitung in Verbindung mit einer frequenzabhängigen Leitfähigkeit beobachtet.

Diese Frequenzabhängigkeit lässt sich meist gut mit einem sublinearen Potenzgesetz beschreiben. Für kleine Frequenzen nähert sich $\sigma'(\omega)$ oft einem konstanten Wert, der mit der DC-Leitfähigkeit σ_{dc} übereinstimmt, so dass sich insgesamt ergibt:

$$\sigma' = \sigma_{dc} + \sigma_0 \omega^s \quad (1.25)$$

Der Exponent s ist stets kleiner als 1 (meist > 0.5) und oftmals temperaturabhängig. Ein solches Verhalten wurde in amorphen Halbleitern, kristallinen Halbleitern mit

Defektzuständen, Gläsern, Polymeren, Ionenleitern und einer Vielzahl anderer Systeme gefunden (Jonscher 1983). Jonscher prägte hierfür den Begriff "Universal Dielectric Response" (UDR) (Jonscher 1977). Mit der Kramers-Kronig-Relation (Abschnitt 1.5.2) ergibt sich dann für den Imaginärteil ebenfalls ein Potenzgesetz mit identischem Exponenten:

$$\sigma'' = \tan(s \frac{\pi}{2}) \cdot \sigma_0 \omega^s \quad (1.26)$$

Abb. 1.3 zeigt das UDR-Verhalten für typische Parameter in einer doppelt-logarithmischen Auftragung. Obwohl die universelle Gültigkeit des UDR umstritten ist und ihr Ursprung weitgehend ungeklärt ist, hat der UDR-Formalismus zur modellneutralen Auswertung von $\sigma^*(\omega)$ -Daten große Verbreitung gefunden.

Überraschender Weise wird AC-Leitfähigkeit in der modernen biophysikalischen Literatur kaum beachtet, obwohl ihre Bedeutung mit steigender Frequenz zunimmt. Diese Tatsache kann vielleicht damit erklärt werden, dass in heterogenen Zellsuspensionen DC-Beiträge sehr groß sind, aber vielleicht auch damit, dass viele Untersuchungen sich auf niedrigere Frequenzbereiche (< GHz) beschränkten.

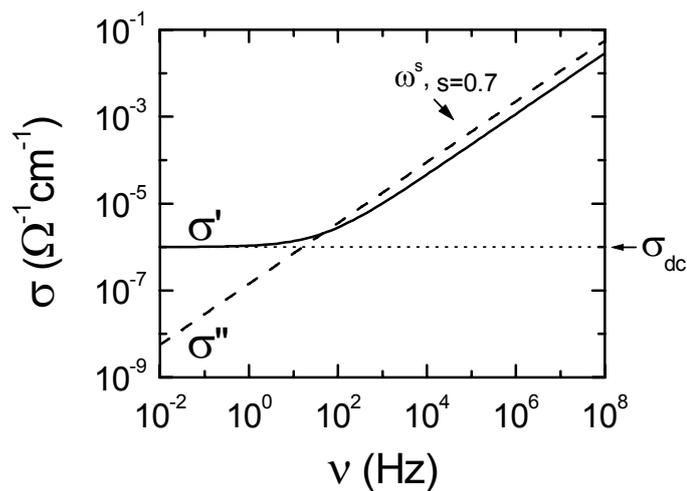


Abb. 1.3: AC- und DC Leitfähigkeit $\sigma(\nu)$, die der universellen dielektrischen Antwort folgt

Es existiert eine große Zahl von mikroskopischen Theorien zur Hüpflleitung, die zum Teil nur auf bestimmte Stoffgruppen anwendbar sind und im Wesentlichen ein UDR-Verhalten voraussagen. Eines der bekanntesten ist das "Variable Range Hopping"-Modell von Mott (Mott und Davis 1979), das die Leitfähigkeit in vielen dotierten oder amorphen Halbleitern beschreibt. Für Ionenleiter haben vor allem das "Jump Relaxation"-Modell (Funke 1986) und das "Diffusion Controlled Relaxation"-Modell (Elliott 1989) Verbreitung gefunden.

1.6.3 Ionenleitung und Effekt der „Blockierenden Elektroden“

Ionenleiter zeigen i. d. R. Hüpflleitung, d. h. die Leitfähigkeit folgt im Wesentlichen dem UDR-Verhalten. In verschiedenen konkurrierenden Modellen wird versucht die mikroskopischen Prozesse beim Ladungstransport zu beschreiben (z. B. Funke 1986, Elliott 1989). Da keines dieser Modelle allgemein anerkannt ist, soll hierauf nicht näher eingegangen werden. Die frequenzabhängige Leitfähigkeit und dielektrische Konstante von Ionenleitern zeigt einige Besonderheiten, die hier kurz beschrieben werden sollen.

Mit abnehmender Frequenz nähert sich $\sigma'(\omega)$ zunächst dem DC-Wert σ_{dc} . Mit weiter abnehmender Frequenz beginnt in typischen dielektrischen Experimenten an Ionenleitern $\sigma'(\omega)$ jedoch weiter zu fallen und dem Wert 0 zuzustreben. Im Realteil der dielektrischen Konstante $\varepsilon'(\omega)$ ist dies von einem starken Anstieg begleitet. Dieses Phänomen ist auf die Ausbildung so genannter blockierender Elektroden (BE) zurückzuführen (Macdonald 1987). Die Ursache ist die Ausbildung einer Raumladungszone durch eine Ansammlung von Ionen vor der Elektrode, die i. d. R. für diese nicht durchlässig ist. Je tiefer die Frequenz ist, desto mehr Ionen bleiben vor der Elektrode "stecken", und die Leitfähigkeit fällt. ε' steigt aufgrund der Ausbildung der Raumladungszone, die wie eine dünne isolierende Schicht nahe der Probenoberfläche wirkt. Effekte von BE können durch Variation der Probendicke identifiziert werden. Bei Ausbildung von BE kann paradoxerweise die "wahre" Gleichstromleitfähigkeit nur durch frequenzabhängige Messungen korrekt bestimmt werden.

Zur Modellierung blockierender Elektroden lassen sich verschiedene Formalismen verwenden: Im einfachsten Fall reicht oft schon die Annahme eines Ersatzschaltbildes aus Probe und einem in Serie geschalteten verlustbehafteten Kondensator, der durch einen Kondensator parallel zu einem Widerstand dargestellt wird, aus. Erstrecken sich die Beiträge der blockierenden Elektroden über mehrere Frequenzdekaden (etwa bei hoher Ionenbeweglichkeit oder Messungen zu sehr tiefen Frequenzen) versagt diese Modellierung meist und es wird ein sogenanntes "constant-phase" Element herangezogen. Dies entspricht einem Frequenzverhalten $\sigma' \sim \nu^{0.5}$ und $\varepsilon' \sim \nu^{-0.5}$. Liegen mehrere ionenleitende Spezies vor, müssen parallelgeschaltete DC-Widerstände und evtl. weitere CPE-Elemente hinzugefügt werden (Jonscher 1983, Macdonald 1987). Eine Korrektur experimenteller Spektren auf diese nicht-intrinsischen Beiträge ist meist schwierig. Eine gängige Praxis bei der Untersuchung biologischer Systeme ist die Messung einer wässrigen Salzlösung ähnlicher Leitfähigkeit wie die Probe und die Verwendung dieser Ergebnisse zur Korrektur der Daten, was aber sehr ungenau ist und meist zu unbefriedigenden Ergebnissen führt. Genaueren Aufschluss über die Rolle der blockierenden Elektroden erlauben z. B. Messungen mit unterschiedlichen Kondensator- bzw. Koaxialgeometrien, was aber einen deutlich größeren Messaufwand bedeutet.

Aber auch beim Vorhandensein innerer Grenzflächen, wie sie in biologischer Materie weit verbreitet sind (z. B. Zellwände) kann es zur Ausbildung von Oberflächenpolarisation kommen. Hierbei kommt es oft zur Entstehung so genannter Maxwell-Wagner Relaxationen, die in Abschnitt 1.7 genauer behandelt werden.

1.7 Dielektrische Phänomene in inhomogenen Systemen und an Grenzflächen

Natürliche biologische Materialien sind nicht homogen, sondern vielmehr extrem inhomogen mit einer Vielzahl von inneren Grenzflächen (z. B. an Zellwänden) oder externen Grenzflächen (äußere Berandung). Natürlich ist biologisches Material auch aus einer Vielzahl unterschiedlicher Komponenten zusammengesetzt. Inhomogenität und Grenzflächeneffekte machen die Beschreibung biologischer Systeme so schwierig und viele einfache Analysen, die man in der modernen Literatur findet, müssen stark angezweifelt werden, auch wenn das Basiswissen über das dielektrische Verhalten von Gewebe bereits vor mehr als 100 Jahren erworben wurde. Die ersten dielektrischen Messungen an Hundeblood wurden von Bugarzky und Tangl bereits 1897 und von Stewart 1899 durchgeführt.

1.7.1 Zwei-Schicht Kondensatoren

Die ersten physikalisch-theoretischen Arbeiten über heterogene Dielektrika wurden von Maxwell (1881) und Lord Rayleigh (1892) durchgeführt, die dann von Wagner (1914, 1915, 1924) detailliert fortgeführt wurden. Das einfachste heterogene System kann durch einen Zwei-Schicht Kondensator mit zwei Materialien der Dicke d_i und den dielektrischen Materialkonstanten ε_i und σ_i ($i = 1, 2$) charakterisiert werden, die in Serie geschaltet sind. Arbeiten zu diesen Zwei-Schicht-Modellen wurden von Maxwell 1881, Wagner 1914, 1915, 1924, von Hippel 1954, Volger 1960 und von van Beek 1960 durchgeführt. Dieses System verhält sich, wenn die Relaxationsrate geeignet gewählt wird, wie ein Debye Relaxator, mit einer Dispersionsstufe im Realteil und einem Verlust-Peak im Imaginärteil der komplexen dielektrischen Konstante nach Gleichung 1.15 mit einer Relaxationszeit:

$$\tau = \frac{\varepsilon_0(\varepsilon_1 d_2 + \varepsilon_2 d_1)}{\sigma_1 d_2 + \sigma_2 d_1} \quad (1.27)$$

und den folgenden Grenzwerten für die statische dielektrische Konstante ε_s und die DC-Leitfähigkeit σ_{dc}

$$\varepsilon_s - \varepsilon_\infty = \frac{(\varepsilon_2 \sigma_1 - \varepsilon_1 \sigma_2)^2 (d_1 + d_2)(d_1 d_2)}{(\varepsilon_1 d_2 + \varepsilon_2 d_1)(\sigma_1 d_2 + \sigma_2 d_1)^2} \quad (1.28)$$

$$\sigma_s = (d_1 + d_2) \frac{\sigma_1 \sigma_2}{\sigma_1 d_2 + \sigma_2 d_1} \quad (1.29)$$

sowie den entsprechenden Werten bei unendlich hohen Frequenzen

$$\varepsilon_\infty = \frac{(d_1 + d_2)(\varepsilon_1 \varepsilon_2)}{(\varepsilon_1 d_2 + \varepsilon_2 d_1)} \quad (1.30)$$

$$\sigma_\infty - \sigma_s = \frac{(\varepsilon_2 \sigma_1 - \varepsilon_1 \sigma_2)^2 (d_1 + d_2)(d_1 d_2)}{(\varepsilon_1 d_2 + \varepsilon_2 d_1)^2 (\sigma_1 d_2 + \sigma_2 d_1)} \quad (1.31)$$

Unter der Annahme, dass σ_2 vernachlässigbar klein ist, folgt für die statische dielektrische Konstante

$$\varepsilon_s = \frac{\varepsilon_2 d}{d_2} \quad (1.32)$$

und für die dielektrische Konstante bei unendlich hohen Frequenzen

$$\varepsilon_\infty = \frac{\varepsilon_1 \varepsilon_2 d}{(\varepsilon_1 d_2 + \varepsilon_2 d_1)} \quad (1.33)$$

Aus diesem einfachen Beispiel kann man bereits ablesen, dass inhomogene Systeme teilweise durch eine extrem starke dielektrische Dispersion gekennzeichnet sind, die man in vielen biologischen Systemen auch findet. Nur unter der sehr speziellen Annahme $\varepsilon_1 \sigma_2 = \varepsilon_2 \sigma_1$ wäre keine Maxwell-Wagner Relaxationsstufe beobachtbar.

1.7.2 Dielektrische Eigenschaften von Lösungen mit sphärischen Teilchen

Maxwell (1881) war auch der erste, der die Leitfähigkeit einer verdünnten Lösung mit sphärischen Teilchen berechnete. Das Ergebnis, das nur für den statischen Grenzfall gilt, liefert für die Leitfähigkeit σ einer Suspension mit einer Leitfähigkeit des Lösungsmittels (σ_a) und der gelösten Phase (σ_i),

$$\frac{\sigma - \sigma_a}{\sigma + 2\sigma_a} = p \frac{\sigma_i - \sigma_a}{\sigma_i + 2\sigma_a}, \quad (1.34)$$

wobei p der Volumenanteil der gelösten Teilchen ist. Dieses Ergebnis wurde später von Wagner (1914) für den dynamischen Fall von Wechselströmen erweitert, wobei (ε, σ) , $(\varepsilon_i, \sigma_i)$ und $(\varepsilon_a, \sigma_a)$ die dielektrischen Materialeigenschaften von Suspension, gelösten Teilchen und Lösungsmittel sind:

$$\varepsilon_\infty = \varepsilon_a \frac{2\varepsilon_a + \varepsilon_i - 2p(\varepsilon_a - \varepsilon_i)}{2\varepsilon_a + \varepsilon_i + p(\varepsilon_a - \varepsilon_i)} \quad (1.35)$$

$$\varepsilon_s - \varepsilon_\infty = \frac{9(\varepsilon_a \sigma_i - \varepsilon_i \sigma_a)^2 p(1-p)}{[2\varepsilon_a + \varepsilon_i + p(\varepsilon_a - \varepsilon_i)][2\sigma_a + \sigma_i + p(\sigma_a - \sigma_i)]^2} \quad (1.36)$$

$$\sigma_s = \sigma_a \frac{2\sigma_a + \sigma_i - 2p(\sigma_a - \sigma_i)}{2\sigma_a + \sigma_i + p(\sigma_a - \sigma_i)} \quad (1.37)$$

$$\sigma_\infty - \sigma_s = \frac{9(\sigma_a \varepsilon_i - \sigma_i \varepsilon_a)^2 p(1-p)}{[2\sigma_a + \sigma_i + p(\sigma_a - \sigma_i)][2\varepsilon_a + \varepsilon_i + p(\varepsilon_a - \varepsilon_i)]^2} \quad (1.38)$$

$$\tau = \varepsilon_0 \frac{2\varepsilon_a + \varepsilon_i + p(\varepsilon_a - \varepsilon_i)}{2\sigma_a + \sigma_i + p(\sigma_a - \sigma_i)} \quad (1.39)$$

Fricke (1924, 1925a) erweiterte diese Maxwell-Wagner-Theorie für gelöste Teilchen mit oblater oder prolater Form. Velick and Gorin (1940) lösten das Problem für Ellipsoide mit drei unterschiedlichen Hauptachsen.

1.7.3 Die Impedanz von gelösten Teilchen mit einer Schale, Oberflächenleitfähigkeit und Gegen-Ionen Effekte

Bereits Anfang des vorigen Jahrhunderts wurde häufig gefunden, dass biologische Systeme bei niedrigen Frequenzen, etwa im kHz Bereich, ungewöhnlich große dielektrische Konstanten in der Größenordnung von 10^4 bis zu 10^6 aufweisen, die von homogenen Systemen nicht bekannt sind. Frühe experimentelle Befunde wurden von Fricke (1925b), Fricke und Morse (1925c) und Fricke und Curtis (1937) berichtet. Diese Ergebnisse wurden später von Fricke (Fricke 1953c; Fricke 1955) im Rahmen von Modellen nicht-sphärischer leitfähiger Teilchen, die von einer isolierenden Membran umgeben und in einem leitfähigen Medium gelöst sind, interpretiert. Ein wesentlicher Fortschritt in der Beschreibung dieses Phänomens gelang Pauly und Schwan (1959) durch die Anwendung der Maxwell-Wagner Theorie für gelöste sphärische Teilchen mit einem Radius R und dielektrischen Eigenschaften (ϵ_i , σ_i) die von einer geladenen Schicht der Dicke d mit den dielektrischen Eigenschaften (ϵ_{sh} , σ_{sh}) umgeben sind. In dieser Arbeit wurde die Frequenzabhängigkeit der komplexen dielektrischen Konstanten dieser Suspension von Kugeln mit Schale untersucht und allgemeine sowie spezielle Näherungslösungen angegeben. Die allgemeine Lösung lässt sich durch die Überlagerung zweier Debye-Prozesse darstellen, die auf der Frequenzachse gut separiert erscheinen. Unter der Annahme, dass $\sigma_i \gg \omega \epsilon_o \epsilon_i$ und $\sigma_a \gg \omega \epsilon_o \epsilon_a$ und dass man nur Terme der Ordnung (d/R) behält, findet man:

$$\epsilon_s - \epsilon_\infty \simeq \frac{9pRC_m}{4\epsilon_0 \left[1 + RG_m \left(\frac{1}{\sigma_i} + \frac{1}{2\sigma_a} \right) \right]^2} \quad (1.40)$$

$$\sigma_s \simeq \sigma_a \left[1 - \frac{3p}{2} \frac{1 + RG_m \left(\frac{1}{\sigma_i} + \frac{1}{\sigma_a} \right)}{1 + RG_m \left(\frac{1}{\sigma_i} + \frac{1}{2\sigma_a} \right)} \right] \quad (1.41)$$

$$\tau \simeq RC_m \frac{\sigma_i + 2\sigma_a}{2\sigma_i\sigma_a + RG_m(\sigma_i + 2\sigma_a)} \quad (1.42)$$

$$\epsilon_\infty \simeq \left[1 - 3p \frac{\epsilon_a - \epsilon_i}{2\epsilon_a + \epsilon_i} \right] \epsilon_a \quad (1.43)$$

wobei $C_m = \epsilon_{sh}\epsilon_0/d$ (F/m^2), $G_m = \sigma_{sh}/d$ (S/m^2), $\sigma_{sh} = G_m d + i\omega C_m d$ und p den Volumenanteil der gelösten Zellen kennzeichnet (Schwan 1957a).

Die Maxwell-Wagner Theorie wurde von Fricke (1955) und von Irimajiri *et al.* (1979) auf Fälle erweitert, in denen die gelösten Teilchen von mehreren Membranen umgeben sind. Ein weiterer Durchbruch in der Interpretation dielektrischer Spektren in biologischen Systemen gelang durch die Pionier-Arbeiten von Schwan *et al.* (1962). Diese führten systematische dielektrische Untersuchungen von Polystyren Teilchen in einfachen Elektrolyten durch und fanden extrem hohe dielektrische Konstanten bei niedrigen Frequenzen. Sie konnten auch zeigen, dass die dielektrischen Konstanten proportional zur Teilchengröße sind und die Relaxationszeit proportional zum Quadrat des Teilchenradius ist. Diese Ergebnisse wurden von Schwarz (1962) dahingehend interpretiert, dass sich um die gelösten Teilchen eine Gegenionenschicht ausbildet, die durch das angelegte AC-Feld polarisiert wird.

Dieses Modell wurde wegen seiner ad-hoc Annahmen kritisiert und in aktuelleren Arbeiten durch das Guoy-Chapman Modell abgelöst. Einen guten Überblick über diese Veröffentlichungen findet man bei Chew und Sen (1982). Die Ausbildung einer derartigen elektrischen Doppelschicht um ein in einem Elektrolyten gelöstes sphärisches Teilchen zeigt Abbildung 1.4. Diese Arbeiten wurden von Chew (1984), Grosse und Foster (1987), Grosse (1988), Vogel und Pauly (1988a; 1988b) und Rosen *et al.* (1993) weiterentwickelt.

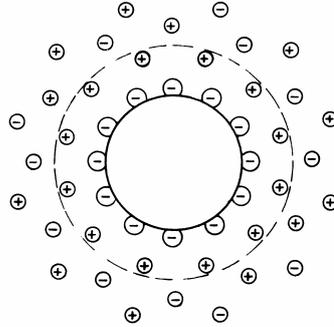


Abb. 1.4: Bildung einer elektrischen Doppelschicht um ein sphärische Teilchen (Pethig 1979)

Man kann sich vorstellen, dass in dieser geladenen Doppelschicht von Ionen, die ein neutrales Teilchen umgeben, die Ionen entlang der Oberfläche diffundieren können und dass damit ein messbarer Oberflächenstrom existieren müsste. Die Hüpfbewegung der Ionen entlang der Oberfläche kann als thermisch aktivierter Prozess beschrieben werden, mit einer Energiebarriere (Hill 1971)

$$E_c = E_s - \frac{q^2}{\pi \epsilon_0 \epsilon d} \quad (1.44)$$

Wobei E_s die Energiebarriere ist, die überwunden werden muss, um das Ion von der Oberfläche zu entfernen und d als Abstand zweier Ionen auf der Oberfläche definiert werden kann. Damit kann eine Ionenbeweglichkeit

$$\mu = \mu_0 \exp\left(-\frac{E_c}{k_B T}\right) \quad (1.45)$$

an der Oberfläche berechnet werden, wobei μ_0 die Beweglichkeit der freien Ionen in der Lösung ist. Durch diese Hüpfbewegung der Ladungen an der Oberfläche, die durch ein elektrisches Feld in eine Richtung getrieben wird, kommt es zu einer Umverteilung der Oberflächenladung und einem großen feld-induzierten Dipolmoment. Die Rückkehr in das Gleichgewicht wird durch eine mittlere Relaxationsrate τ beschrieben (Schwarz 1962)

$$\tau = \frac{a^2}{2D} \quad (1.46)$$

mit dem Diffusionskoeffizienten $D = \frac{\mu k_B T}{q}$ und dem Teilchenradius a .

Diese Diffusionsbewegung innerhalb der geladenen Doppelschichten von gelösten Teilchen in Lösungen wurden noch von Miles und Robertson (1932), Eigen und Schwarz (1955), O'Konski (1955, 1960), Ingram und Jerrad (1961), Schwarz (1956, 1962), Schurr (1964), Stoylov (1967) und Dukhin (1973) beschrieben.

2 Makroskopische Gewebeparameter

Das Interesse an den elektrischen Eigenschaften von biologischen Materialien begann vor etwa 100 Jahren, als erste Geräte zur Messung des elektrischen Widerstands und schließlich auch der Kapazität zur Verfügung standen. Berichte über die dielektrischen Eigenschaften von Gewebe vor 1950 sind allerdings nur bedingt zu verwenden und mehr von historischem als von praktischem Interesse. Die Literatur der 50er und 60er Jahre, die von den Arbeiten von H. P. Schwan und seinen Mitarbeitern beherrscht wird, wurde 1986 von Durney *et al.* dokumentiert und tabellarisiert. H. P. Schwan gilt als einer der Pioniere auf dem Gebiet der dielektrischen Gewebeuntersuchungen und verbesserte mit einer Vielzahl an Publikationen zu diesem Thema wesentlich das Verständnis der dielektrischen Eigenschaften.

Foster und Schwan (1989) rekapitulieren in ihrem Übersichtsartikel mehr als 100 Jahre Forschung auf dem Gebiet der elektrischen Gewebeeigenschaften und besprechen die Grundmodelle der dielektrischen Phänomene in biologischen Materialien und ihrer Deutung hinsichtlich der Wechselwirkungen auf zellulärer Ebene. Pethig und Kell (1987) behandeln den gleichen Bereich und verschaffen einen Überblick über verschiedene Theorien, die zur Erklärung der dielektrischen Eigenschaften im Hinblick auf die zugrunde liegenden molekularen Prozesse formuliert wurden.

Alle Veröffentlichungen haben mehr oder weniger ausführliche tabellarische Darstellungen der dielektrischen Eigenschaften ausgewählter Gewebe gemeinsam, mit denen die von den Autoren dargelegten theoretischen Überlegungen veranschaulicht werden sollen. Weitere umfangreiche Literaturübersichten veröffentlichten Geddes und Baker (1967), die frühe Berichte über den spezifischen Widerstand der Gewebe zusammenfassten sowie Stuchly und Stuchly (1980), die die dielektrischen Eigenschaften von Gewebe im Frequenzbereich 10 kHz bis 10 GHz tabellarisierten. F. A. Duck (1990) fasst in seinem Buch *Physical Properties of Tissue* nicht nur die elektrischen Eigenschaften von Geweben aus der Zeit vor 1990 zusammen, sondern dokumentiert auch die allgemeinen physikalischen Eigenschaften von Geweben.

In einer großen Studie evaluieren Gabriel *et al.* (1996a) die Literaturdaten der vorangegangenen 50 Jahre über einen Frequenzbereich von zehn Dekaden. Durch Zusammenführen der zur Verfügung stehenden Daten wurden die Grundzüge der dielektrischen Spektren von biologischen Geweben deutlich gemacht. Allerdings deckte die Studie eine Variabilität zwischen den Daten verschiedener Untersuchungen, Lücken in unserer Kenntnis hinsichtlich bestimmter Gewebetypen und bei den meisten Geweben bezüglich bestimmter Frequenzen auf. Mit weiterführenden Messungen mit der Open-End-Coaxial-Technik im Frequenzbereich von 10 Hz bis 20 GHz ergänzten Gabriel *et al.* (1996b) die Daten experimentell und entwickelten daraus ein Parametermodell, das die Gewebeeigenschaften als Funktion der Frequenz mit vier Dispersionsbereichen beschreibt und heute als Referenz für dosimetrische Untersuchungen gilt (Gabriel *et al.* 1996c).

2.1 Permittivität und Leitfähigkeit von Gewebe

Die Dielektrizitätskonstante von Gewebe kann erstaunlich hoch sein und Werte von 10^6 bis 10^7 bei Frequenzen unterhalb von 100 Hz erreichen. Dieses Verhalten kann z. B. durch AC-Leitfähigkeit, blockierende Elektroden oder durch die Ausbildung dielektrischer Doppelschichten erklärt werden. In der biophysikalischen Literatur zieht man meist nur das letztgenannte Modell zur Erklärung heran, eine Tatsache die unserer Meinung nach der kritischen Überprüfung bedarf.

Mit steigender Frequenz fällt die Permittivität stufenweise ab, dabei können 3 Hauptdispersionsbereiche beobachtet werden (Abb. 2.1): die Alpha-, Beta- und Gamma-Dispersion mit den entsprechenden Relaxationsfrequenzen im kHz-Bereich, einigen Hundert kHz und im GHz-Bereich. Bei Geweben überschneiden sich die Dispersionsbereiche häufig und die Dielektrizitätskonstante durchläuft einen kontinuierlichen monotonen Abfall über den gesamten Frequenzbereich hindurch.

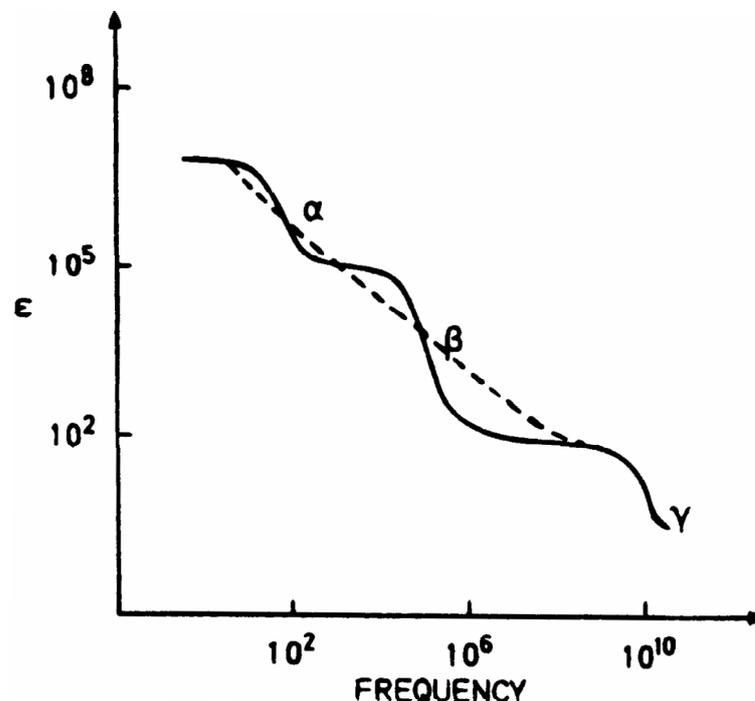


Abb. 2.1: Schematische Darstellung der drei Hauptdispersionsbereiche in typischen Geweben. Die gestrichelte Linie stellt einen Extremfall dar, bei dem sich die Dispersionsbereiche überschneiden, was häufig bei Weichgeweben der Fall ist. (nach Schwan 1957a)

Die Alpha-Dispersion äußert sich durch einen sehr starken Anstieg der Permittivität bei kleinen Frequenzen ($< \text{kHz}$). Der Mechanismus, der hinter diesem Relaxationsprozess steht, ist noch schlecht verstanden. Als mögliche Ursachen wird über die Relaxation von Ionen tangential geladener Membranoberflächen oder Diffusionseffekte von Gegenionen durch Zellmembranen spekuliert (Schwan 1981a). Zusätzlich können gewebespezifische Effekte zur Alpha-Dispersion beitragen. Dazu zählen aktive Membranleitfähigkeitsphänomene, die Aufladung von intrazellulären membrangebundenen Organellen und vielleicht auch eine Frequenzabhängigkeit der Membranimpedanz selbst (Schwan 1981a).

Man sollte sich allerdings bewusst sein, dass Messungen bei tiefen Frequenzen, wie sie zur Detektion der α -Relaxation nötig sind, oft von Elektrodeneffekten ("blockierende Elektroden", Abschnitt 1.6.3) dominiert sind. Es scheint wahrscheinlich, dass viele der " α -Relaxationen", über die in der Literatur berichtet wird, lediglich auf diesen nicht-intrinsischen Effekt zurückzuführen sind, zumal es sich meist um Messungen bei nur einer Temperatur und unter Verwendung nur einer Geometrie handelt. Die teilweise angewandten Korrekturmethode halten oft einer kritischen Überprüfung nicht stand.

Schwan (1981a) rekapituliert das bisherige Verständnis und ungelöste Fragen über die Alpha-Dispersion. Die Hauptschwierigkeit ist das Fehlen ausreichender Daten bei kleinen Frequenzen, insbesondere im Bereich des Niederfrequenzplateaus in der Permittivität. Aus technischen Gründen, die mit der Messung sehr kleiner Phasenwinkel in Gegenwart von möglicherweise großen Artefakten infolge der Elektrodenpolarisation zusammenhängen (auch bei Vier-Punkt-Messungen; siehe z. B. Schwan 1963, Grant *et al.* 1978, Kell 1986a), wurden nur wenige Berichte über die dielektrischen Eigenschaften von Geweben im Frequenzbereich bis zu wenigen kHz veröffentlicht. Eine frühe Arbeit von Schwan (1954) zeigt, dass Skelettmuskeln eine signifikante Alpha-Dispersion aufweisen, die mit zunehmender Zeit nach Entnahme des Gewebes schwindet, was qualitativ mit der Annahme übereinstimmt, dass die Alpha-Dispersion von der Unversehrtheit der Zellmembranen abhängt. Singh *et al.* (1979) schildern eine Untersuchung der Niederfrequenzeigenschaften von frisch entnommener Niere und *in vivo* Messungen von normalem und malignem Brustgewebe mit externen Elektroden, die zeigt, dass der bösartige Tumor das dielektrische Verhalten merklich zu beeinflussen scheint. Der unterschiedliche Wassergehalt beider Gewebearten spielt hierbei vermutlich eine große Rolle. Ein weiteres Beispiel für die Alpha-Dispersion kann man in der Arbeit von Kosterich *et al.* (1983) über von Ratten entnommene Oberschenkelknochen finden.

Die Alpha-Dispersion ist in den Permittivitätsdaten sehr deutlich zu erkennen, tritt in der Leitfähigkeit aber kaum in Erscheinung. Wenn man ein dielektrisches Inkrement $\Delta\epsilon$ von 10^6 und eine Relaxationsfrequenz von 100 Hz annimmt, dann ergibt sich aus der Kramers-Kronig-Relation, dass der Anstieg der Leitfähigkeit, der mit der Alpha-Dispersion zusammenhängt, nur ungefähr 0.005 S/m beträgt (Foster und Schwan 1996). Zum Vergleich: Die Ionenleitfähigkeit von typischem Gewebe ist ca. 200-mal höher. Folglich sind Gewebe bei niedrigen Frequenzen sehr hochohmig, trotz ihrer enorm hohen Permittivitätswerte.

Die Beta-Dispersion tritt im Radiofrequenzbereich auf und entsteht hauptsächlich durch kapazitive Aufladung von Zellmembranen im Gewebe (siehe auch Abschnitt 1.7). Zusätzlich kann sich bei höheren Frequenzen ein kleiner Zusatzbeitrag durch Dipolorientierungen von Gewebeproteinen ergeben, der zu einer weiteren Dispersionsstufe in Abb. 2.1 führen kann. Zwischen 1 und 100 MHz sind Zellmembranen weitgehend kurzgeschlossen und stellen keine signifikante Barriere für den Stromfluss dar. Somit können Gewebe als elektrisch äquivalent zu Suspensionen von nicht-leitenden Proteinen (oder anderen Feststoffen) in Elektrolyten betrachtet werden. Die Leitfähigkeit der meisten Gewebe erreicht ein Plateau zwischen 10 und 100 MHz (Gabriel *et al.* 1996a, b, c).

Die Gamma-Dispersion zeigt sich bei Körpertemperatur bei einer Mittenfrequenz von etwa 25 GHz aufgrund der Dipolrelaxation des Wassers, das 80 % des Volumens der meisten Weichgewebe ausmacht. Bei einem gesamten dielektrischen Inkrement von 50 (typisch für Weichgewebe mit 80 % Wasseranteil) und einer Relaxationsfrequenz von 25 GHz, beträgt die vollständige Zunahme der Leitfähigkeit ca. 70 S/m (Foster und Schwan 1996). Bei typischen Geweben mit hohem Wasseranteil ist die Leitfähigkeit bei 3 bis 5 GHz zu annähernd gleichen Teilen auf die Ionenleitfähigkeit und den dipolaren Verlust des Wassers zurückzuführen.

Gewebe und andere biologische Materialien zeigen üblicherweise eine kleine Dispersion zwischen 0.1 und 3 GHz, die viele Autoren als Delta-Dispersion bezeichnen. In Gewebe zwischen 0.1 und 1 GHz, nimmt die Dielektrizitätskonstante üblicherweise um 10-20 Einheiten und die Leitfähigkeit um 0.4 bis 0.5 S/m zu. Als ursächliche Mechanismen werden die Dipolrelaxation von Wasser (einschließlich mit Gewebeoberflächen verbundenes Wasser), Rotationsrelaxation von polaren Seitenketten großer Moleküle, Maxwell-Wagner-Effekte und Gegenionen-Diffusion entlang kleiner Bereiche geladener Oberflächen genannt. Das Fehlen eines einzelnen dominanten Mechanismus macht die Deutung dieses Dispersionsbereichs schwierig.

2.2 Dielektrische Eigenschaften ausgewählter Gewebetypen

2.2.1 Haut

Mit einer Ausdehnung von 1,5 – 2 m² bei einem Erwachsenen und einem Anteil von 7 – 10 % des Körpergewichtes stellt die Haut das größte Organ des Menschen dar. Ihr kommt mit den vielfältigen Funktionen, die sie erfüllt, eine entscheidende Bedeutung für den gesamten Körper zu. Vornehmlich ist die Haut ein Schutz- und Barriereorgan gegen äußere Einflüsse jeglicher Art sowie gegen exzessiven transepidermalen Wasserverlust, der zur Austrocknung führen würde. Darüber hinaus dient sie als Sinnes-, Immun- und Sekretionsorgan.

Da viele Therapie- und Diagnostiktechniken auf der Anwendung elektrischer Felder oder der Messung der elektrischen Eigenschaften beruhen und die Haut häufig die Schnittstelle zwischen den biologischen und elektronischen Teilen bildet, sind die dielektrischen Eigenschaften der Haut von besonderem Interesse und Wichtigkeit (Salter 1979, Gabriel *et al.* 1986). Beispielsweise werden bei der transdermalen Medikation die Medikamente durch kleine Poren in der Haut in die Blutbahn gebracht. Die Elektroporation ist ein Verfahren, bei dem mit kurzen Hochspannungspulsen vorübergehend winzige Poren in der obersten Hautschicht, der Hornhaut, erzeugt werden. So können auch größere Moleküle die sonst für sie undurchdringlichen Hornhautschichten passieren.

Die dielektrischen Eigenschaften der Haut sind weitgehend durch die Hornschicht (*Stratum corneum*) festgelegt, die (in nicht-verhärteten Bereichen) etwa 15 µm dick ist und größtenteils aus abgestorbenen Zellen besteht. Ein für die Haut wichtiger Vorgang ist die epidermale Differenzierung, die durch fortschreitende Zellteilung, Wanderung der Zellen in Richtung der Oberfläche und deren anschließenden Abschuppung gekennzeichnet ist. Das *Stratum corneum* stellt das Endprodukt der epidermalen Zelldifferenzierung dar, wobei aus den lebenden Keratinozyten kernlose, rigide und vergleichsweise sehr große abgeflachte Zellen, die Korneozyten, entstehen (Elias und Friend 1975, Elias 1983).

Die dielektrischen Eigenschaften der Haut zeigen erhebliche Schwankungen über verschiedene Stellen des Körpers. Die makroskopische elektrische Admittanz ist an Stellen wie den Handflächen am größten, die meist reichlich mit Schweißdrüsen bedeckt sind. Rosendahl (1945) maß die dielektrischen Eigenschaften von etwa 1 mm dicken Stücken feuchter frisch entnommener Haut und erhielt für die effektive Kapazität und den Widerstand bei 1 und 10 kHz Werte von 4.6 nFcm^{-2} und $34.9 \text{ k}\Omega\text{cm}^2$, während für die effektive Widerstandreihe aus Haut plus darunter liegendem Gewebe ein Wert von $6.2 \text{ k}\Omega\text{cm}^2$ bestimmt wurde.

Die elektrischen in vivo Eigenschaften der Haut im Frequenzbereich 1 Hz – 1 MHz wurden von Schwan (1965b) und von Yamamoto und Yamamoto (1976) ermittelt. Eine Interpretation dieser Eigenschaften erreicht man durch Betrachtung der inhomogenen Struktur und Zusammensetzung der Haut und der Art und Weise, in der sich die Haut von der Oberfläche (*Epidermis*) bis zur darunter liegenden Dermis und dem subkutanem Gewebe verändert. Es ist zu bemerken, dass Hautgewebe eine relativ schwache α -Dispersion (zumindest bis zu 1 Hz hinunter) zeigt. Das Fehlen einer signifikanten Dispersion im Frequenzbereich 1 Hz – 10 kHz lässt sich glaubhaft auf den abgestorbenen Zustand und die niedrige Leitfähigkeit der Hornschicht (*Stratum corneum*) zurückführen. Clar *et al.* (1982) fanden, dass die Dispersion, die normale Haut im Frequenzbereich 0.5 Hz – 10 kHz aufweist, in Form von zwei separaten Relaxationen mit Mittenfrequenzen bei etwa 80 Hz und 2 kHz beschrieben werden kann. Es wurde vorgeschlagen, dass der Ursprung dieser Dispersionen im *Stratum corneum* liegt und mit der Relaxation von Ionen zusammenhängt, die die Hornhautzellen umgeben. Allerdings ist eine solche Parametrisierung der relativ strukturlosen Spektren eher von geringer Signifikanz und eine Modellierung mit Potenzgesetzen im Rahmen eines AC-Leitfähigkeitsbeitrages (siehe Abschnitt 1.6.2) erscheint eher angebracht zu sein. Bei der Untersuchung von Psoriasis-Haut (Schuppenflechte) wurde festgestellt, dass die dielektrische Antwort sich maßgeblich von jener normaler Haut unterscheidet. Letztlich sollte auch die Tatsache Beachtung finden, dass die elektrische Impedanz der Hautareale, an denen sich die Punkte und Meridiane bei Akupunkturbehandlungen befinden, geringer ist als im umgebenden Gewebe (siehe Becker und Marino 1982, Jakoubek und Rohlicek 1982), ein Sachverhalt, der diagnostischen Wert haben könnte und der wohl mit dem Mechanismus in Zusammenhang stehen könnte, durch den Signale mittels der Akupunkturmeridiane am Körper übertragen werden.

2.2.2 Weichgewebe

Die dielektrischen Eigenschaften der verschiedenen Weichgewebe mit hohem Wasseranteil verhalten sich ziemlich ähnlich (Surowiec *et al.* 1987a, b). Daher lassen sich diese Gewebe als eine Gruppe betrachten.

Die β -Dispersion weist bei Weichgeweben eine breite Verteilung der Relaxationszeiten auf, was hauptsächlich auf das Vorhandensein von membrangebundenen Strukturen mit stark variierender Ausdehnung zurückzuführen ist. Stoy *et al.* (1982) führten für Lebergewebe eine theoretische Beschreibung ein. Unter Verwendung eines einfachen Strukturmodells für das Gewebe nahmen Stoy *et al.* (1982) an, dass die Beiträge zur Permittivität der einzelnen Hauptstrukturen des Gewebes, wie beispielsweise Hepatozytmembran, Nukleus, Mitochondrien, Endoplasmatisches Retikulum und Proteinen, additiv sind. Für die Abmessungen der membran-

gebundenen Strukturen wurden Daten aus vorangegangenen ultrastrukturellen Untersuchungen genutzt. Für das dielektrische Inkrement und die Relaxationsfrequenz der Gewebeproteine unterstellten Stoy *et al.* (1982) gleiche Werte wie bei globulären Proteinen.

Die Ergebnisse dieses einfachen Modells stimmen oberhalb von 1 MHz bemerkenswert gut mit den gemessenen Eigenschaften des Gewebes (Schwan und Kay 1957b) überein, allerdings unterschätzt das Modell die Permittivität bei kleineren Frequenzen. Nahe 10 MHz ist ein kleiner Zusatzbeitrag in der Permittivität zu sehen, der von den Mitochondrien herrühren dürfte, deren Dispersion bei dieser Frequenz liegt (Pauly *et al.* 1960).

Die wesentlichen Ergebnisse der Analyse von Stoy *et al.* (1982) lassen sich somit im Folgenden zusammenfassen. Die dielektrische Dispersion in Lebergewebe im Frequenzbereich von 1 bis 100 MHz stellt die Hochfrequenzflanke der β -Dispersion der Zellen gemeinsam mit den Zellorganellen dar. Die große Variation in den Abmessungen der wesentlichen membrangebundenen Strukturen innerhalb des Gewebes trägt zu der breiten Streuung der im Radiofrequenzbereich beobachteten Relaxationsfrequenzen bei. Die unterhalb von 100 kHz ermittelten Permittivitätswerte übersteigen die aufgrund der Polarisierung der äußeren Zellmembranen erwarteten Werte deutlich. Gewebeproteine machen nur einen geringen Beitrag zur Permittivität des Gewebes. Die dielektrischen Eigenschaften des Gewebes ergeben sich daher hauptsächlich aufgrund der membrangebundenen Strukturen.

Bei Frequenzen über 100 MHz geben die dielektrischen Eigenschaften der Gewebe mit hohem Wasseranteil größtenteils die Eigenschaften der intra- und extrazellulären Elektrolyte wieder.

2.2.3 Fettgewebe (Fett und Knochenmark)

Die dielektrischen Eigenschaften von Fett und Knochenmark wurden von Schwan und Li (1953) und später von Smith und Foster (1985) erforscht. Diese Gewebe sind durch ihren geringen Wassergehalt und durch größtenteils mit Lipiden gefüllte Zellen gekennzeichnet. Im Gegensatz dazu bestehen andere Weichgewebe, neben Wasser, hauptsächlich aus Proteinen.

Fett und Knochenmark zeigen eine starke α -Dispersion bei kHz-Frequenzen. Die β -Dispersion fehlt entweder oder ist eher klein, etwa im Vergleich zu Lebergewebe. Eigenartigerweise war die Leitfähigkeit vieler der Fettproben bei kleinen Frequenzen höher als jene von Lebergewebe, vermutlich aufgrund des größeren Anteils an Extrazellulärflüssigkeit.

Im Gegensatz zu entsprechenden Daten von Geweben mit hohem Wasseranteil stimmen die dielektrischen Eigenschaften von Fettgewebe im Mikrowellenfrequenzbereich mit der Maxwell-Fricke-Theorie und der Annahme überein, dass das separierte Volumen aus dem Fettanteil besteht (Smith und Foster 1985). Möglicherweise enthalten diese Gewebe mehr geringer bewegliches Wasser pro Einheit Trockenvolumen als Gewebe mit hohem Wasseranteil, zweifelsohne aber ist ein Großteil der Lipide vom Kontakt mit dem Wasser abgeschirmt.

2.2.4 Knochen

Kosterich *et al.* untersuchten die dielektrischen Eigenschaften von Knochen unter annähernd normalen physiologischen Bedingungen. Die Leitfähigkeit von Knochen bei kleinen Frequenzen wird von flüssigkeitsgefüllten Kanälen bestimmt, die das Gewebe durchdringen, und ist proportional zur Leitfähigkeit des Mediums, das das Gewebe umgibt (Kosterich *et al.* 1984). Die DC-Leitfähigkeit schwankt um einen Faktor drei in Abhängigkeit von der Orientierung der verschiedenen Säugetierknochen, die untersucht wurden (Kosterich *et al.* 1983). Dies ergibt sich aufgrund der Ausrichtung und Dimensionierung der Hauptkanäle durch das Gewebe. Die dazugehörige Veränderung der Permittivität in Abhängigkeit von der Ausrichtung ist weitgehend unbekannt.

Flüssigkeitsdurchtränkte Knochen weisen eine breite Dispersion ohne Anomalie auf; die Permittivitäten fallen von rund 1000 bei niedrigen Frequenzen auf 10 bis 20 bei 100 MHz; die Leitfähigkeit steigt im gleichen Frequenzintervall auf etwa 0.05 S/m. Die Dispersion kann bei Knochen in physiologisch normaler Lösung gut mit einer Cole-Cole-Funktion mit einem Verbreiterungsparameter (α) von 0.5 und einer Relaxationsfrequenz von einigen Kilohertz gefittet werden.

Eigenartigerweise verschiebt sich die Relaxation in der Frequenz im Verhältnis zur Leitfähigkeit der Elektrolytlösung, in die der Knochen eingetaucht ist. Die Gründe hierfür sind unklar. Der Maxwell-Wagner Effekt ergibt charakteristischerweise Relaxationsfrequenzen der Form σ/ε (siehe Gleichung 1.27), wobei σ eine Leitfähigkeit und ε eine Permittivität ist, während Gegenioneneffekte typischerweise Relaxationsfrequenzen der Art D/a^2 haben (siehe Gleichung 1.46), wobei D ein Diffusionskoeffizient und a der Abstand ist, über den die Diffusion abläuft. Die Leitfähigkeitsabhängigkeit der Relaxation in Knochen würde einen Maxwell-Wagner-Mechanismus nahe legen; aber die Stärke der Dispersion ist größer als es durch einen solchen Effekt erklärbar wäre.

3 Dielektrik wässriger Lösungen

3.1 Reines Wasser

Wasser ist der Hauptbestandteil in den meisten Geweben und in vielerlei Hinsicht geben die dielektrischen Eigenschaften des Gewebes jene des enthaltenen Wassers wieder. Der Wasseranteil variiert dabei von über 90 % beim Blutplasma bis etwa 30 % im Fettgewebe.

Wasser durchdringt alle Teile der Zelle und stellt das Medium dar, in dem sich der Transport von Nährstoffen, die enzymkatalysierten Reaktionen des Stoffwechsels und die Übertragung chemischer Energie abspielen. Die Struktur aller Moleküle, auf denen das Leben aufgebaut ist, wie Proteine, Nucleinsäuren, Lipidmembranen und komplexe Kohlenhydrate, werden von der Wechselwirkung dieser Verbindungen mit ihrer wässrigen Umgebung bestimmt.

In lebenden Systemen vorhandenes Wasser kann in geeigneter Weise in zwei Kategorien eingeteilt werden, je nachdem, ob die strukturellen Eigenschaften des Wassers durch das Vorhandensein biologischer Makromoleküle beeinflusst werden. In diesem Falle wird das Wasser als gebundenes Wasser („Bound-Water“) bezeichnet. Demgegenüber bilden Wassermoleküle, die sich mehr als ein paar Moleküllängen entfernt von Makromolekülen befinden, den Hauptteil der Lösung und dieses Wasser wird daher „Bulk“-Wasser oder freies Wasser genannt. Von freiem Wasser könnte man erwarten, dass es ähnliche Eigenschaften wie reines Wasser besitzt, die Relaxationszeit von gebundenem Wasser dagegen muss aufgrund der stärkeren Kräfte, die die gebundenen Wassermoleküle mit ihrer Umgebung verbinden, länger sein als bei reinem Wasser, so dass gebundenes Wasser sogar als Eis-ähnlich betrachtet werden kann.

Die dielektrischen Eigenschaften von reinem Wasser wurden in mehreren Büchern ausführlich beschrieben (siehe z. B. Hasted 1973, Franks 1972, Eisenberg und Kauzmann 1969). Eine umfassende Referenz der dielektrischen Eigenschaften von Wasser mit 324 zitierten Quellen findet sich in Ellison *et al.* (1996).

In der Literatur finden sich mehr als hundert Bestimmungen der statischen Dielektrizitätskonstante ϵ_s , und zwischen 0°C und 100°C sind die Daten sehr präzise. Unter 100 MHz ist keine nennenswerte Frequenzabhängigkeit zu beobachten.

Die heute allgemein anerkannten Messungen der statischen Dielektrizitätskonstante von Wasser gehen auf Malmberg und Maryott (1956) zurück, die ϵ_s in 5° Intervallen zwischen 0°C und 100°C unter Atmosphärendruck bestimmt haben. Die Messungen wurden bei Frequenzen zwischen 3 und 96 kHz durchgeführt, Malmberg und Maryott geben dabei eine maximale Messunsicherheit für ϵ_s von ± 0.05 an. Der beste Fit ihrer Daten ist durch folgende Gleichung gegeben

$$\epsilon_s = 87.740 - 0.40008T + 9.398 \cdot 10^{-4}T^2 - 1.410 \cdot 10^{-6}T^3 \quad (3.1)$$

wobei T die Temperatur in °C ist.

Die Form der Dispersions- (ϵ') und Verlustkurve (ϵ'') bei 25°C ist in Abb. 3.1 dargestellt. Die Dielektrizitätskonstante ϵ' fällt von einem statischen Wert von etwa 80

auf unter 5 bei 100 GHz. Die Verlustkurve ϵ'' zeigt einen Peak bei 19 GHz, entsprechend einer Relaxationszeit von 8.3 ps.

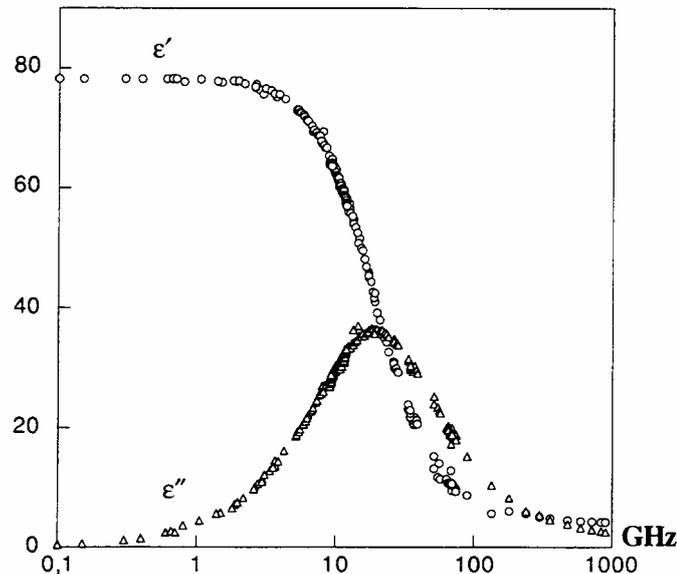


Abb. 3.1: Die dielektrischen Eigenschaften von Wasser bei 25°C im Frequenzbereich 0.1-1000 GHz (aus Ellison *et al.* 1996)

Die von mehreren Autoren ermittelten Werte für ϵ' und ϵ'' für Frequenzen bis 35 GHz analysierte Hasted 1973 und zeigte, dass die dielektrische Dispersion von Wasser adäquat durch eine Cole-Cole-Formel beschrieben werden kann mit einem Verbreiterungsparameter α , der im Temperaturbereich von 0-60°C zwischen 0.001 und 0.002 liegt. Grant und Sheppard analysierten in Zusammenarbeit mit Schwan 1976 Ergebnisse bei 25°C zwischen 100 MHz und 37 GHz und fanden $\alpha = 0.014 \pm 0.007$ (Schwan, Sheppard und Grant 1976). Nahe 4°C ermittelten sie leicht größere Werte für α (zwischen 0.025 und 0.045). Obwohl also die Debye-Formel eine gute Näherung erster Ordnung der dielektrischen Dispersion in Wasser darstellt, ist durch die Cole-Cole-Formel eine bessere Beschreibung gegeben.

Der Wert von ϵ' fällt bei hohen Frequenzen auf ein Plateau ab. Die Ergebnisse für ϵ_∞ , für die sich der beste Fit ergibt, liegen im Bereich von 4.0 und 4.5 zwischen 0°C und 60°C. Bei sehr hohen Frequenzen (größer als 10 THz im Falle von Wasser) ist das dielektrische Verhalten nicht länger durch Relaxationsprozesse beherrscht, sondern durch Resonanzphänomene atomaren Ursprungs.

Die Relaxationszeit τ von Wasser fällt mit steigender Temperatur auf annähernd exponentielle Art und Weise. Der Wert von τ bei 0°C beträgt 18 ps, abfallend auf 4 ps bei 60°C. Formel 3.2 setzt die Relaxationszeit in Bezug zur absoluten Temperatur

$$\tau \propto \tau^{-n} \cdot \exp\left(\frac{\Delta H}{RT}\right) \quad (3.2)$$

wobei n gleich 0, $\frac{1}{2}$ oder 1 ist, entsprechend der Arrhenius, Bauer oder Eyring Auftragung (Hill *et al.* 1969). Die Aktivierungsenthalpie ist durch ΔH gegeben. Für die von Hasted (1973) veröffentlichten Relaxationszeiten ergeben sich damit, mit n gleich 0, $\frac{1}{2}$ oder 1, Werte von $\Delta H = 18.3, 16.3$ und 15.3 kJ/mol jeweils bei 30°C.

3.2 Elektrolytlösungen

Die dielektrischen Eigenschaften von wässrigen Elektrolytlösungen sind von größter Bedeutung für unser Verständnis des Verhaltens der Ionen bei Hydratation (Conway 1981, Ohmine und Tanaka 1993) und Komplexbildung (Davies 1969, Kaatze *et al.* 1987), insbesondere für unsere Kenntnis der zugehörigen grundlegenden Mechanismen in Flüssigkeiten, wie elektrische Leitfähigkeit (Ohmine und Tanaka 1993, Falkenhagen 1971), Struktursättigung (Hasted 1973, Kaatze 1995), dielektrische Reibung (Zwanzig 1970, Hubbard und Kayser 1981) und kinetische Depolarisation (Hubbard *et al.* 1977, 1979, Hubbard und Kayser 1981). Im Radiofrequenzbereich ergibt sich die Leitfähigkeit von Geweben im Wesentlichen durch die Intra- und Extrazellulärflüssigkeiten. Bei Mikrowellenfrequenzen ist die dielektrische Dispersion auf die Dipolrelaxation des Bulk-Wassers zurückzuführen. Daher ist das dielektrische Verhalten von Geweben und Lösungen biologischer Makromoleküle nur vor dem Hintergrund der zugrunde liegenden Elektrolytlösungen beziehungsweise des reinen Wassers interpretierbar.

Die wichtigsten Ionen biologischer Elektrolyte sind Natrium, Kalium, Calcium, Magnesium, Chlorid, Phosphat und Hydrogencarbonat. Sie sind im Cytosol enthalten, und für die Funktion der Zellen unentbehrlich. Noch weitere Ionen sind als Spurenelemente für die Zelle notwendig, doch sind die genannten Ionen besonders bedeutend im Hinblick auf das Elektrolytgleichgewicht der Zelle, da sie bei der Regulierung des osmotischen Drucks mit Hilfe von Ionenkanälen in den Zellwänden eine herausragende Rolle spielen. Insbesondere ist die Aufrechterhaltung genauer osmotischer Gradienten wichtig, da diese Gradienten den Wasserhaushalt des Körpers und den pH-Wert des Blutes beeinflussen und regulieren. Auch für die Funktion von Nerven- oder Muskelzellen spielen Elektrolyte eine zentrale Rolle.

Für die statischen Dielektrizitätskonstanten ϵ'_{ss} von Elektrolytlösungen mit Konzentrationen in der Größenordnung 1 molar stellte Hasted 1973 Werte fest, die einige Prozent unter jenen von reinem Wasser liegen. Mit der Einschränkung niedriger Konzentrationen lässt sich die Abhängigkeit der statischen Dielektrizitätskonstanten ϵ'_{ss} von der Konzentration c durch eine lineare Beziehung annähern:

$$\epsilon'_{ss} = \epsilon'_{sw} + \delta c \quad (3.3)$$

wobei ϵ'_{sw} für die statische Dielektrizitätskonstante des Wassers steht und δ die Summe der Dekremente ist, die sich durch die Kationen und Anionen ergeben:

$$\delta = \delta^+ + \delta^- \quad (3.4)$$

Für bis zu 1 molare Konzentrationen verschiedener Ionen in Wasser (ausreichend, um alle biologisch relevanten Fälle abzudecken) sind die Werte für δ^+ und δ^- in Tabelle 3.1 wiedergegeben. Um einschätzen zu können, in welchem Maße beispielsweise NaCl die Permittivität von Wasser verringert, bestimmt man also zunächst für Na und Cl aus Tabelle 3.1 das gesamte Dekrement $\delta = -11$. Da reines Wasser bei 23°C eine relative Permittivität von $\epsilon'_{sw} = 79$ aufweist, ergibt sich somit für die relative Permittivität einer 1 M wässrigen NaCl-Lösung bei dieser Temperatur ein Wert von 68. Die physikalische Wirkung der gelösten Ionen auf die dielektrische Permittivität biologischer Flüssigkeiten ergibt sich nicht nur durch den Volumeneffekt, der aus der Verdrängung polarer Wassermoleküle durch geladene aber nicht-polare

Partikel resultiert. Die Ionen orientieren insbesondere die Wassermoleküle um sich herum, reduzieren dadurch deren Möglichkeit sich als Antwort auf ein angelegtes elektrisches Feld zu reorientieren und verringern so die dielektrische Konstante durch einen lokalen Hoch-Feld-Effekt.

Kation	$\delta^+(\pm 1)$	Anion	$\delta^-(\pm 1)$
H ⁺	-17	F ⁻	-5
Li ⁺	-11	Cl ⁻	-3
Na ⁺	-8	I ⁻	-7
K ⁺	-8	OH ⁻	-13
Mg ²⁺	-24	SO ₄ ²⁻	-7

Tab. 3.1: Dielektrische Dekrementwerte für Ionen in wässriger Lösung (Hasted 1973)

Neben den statischen Dielektrizitätskonstanten von Elektrolyten wurde aus den Mikrowellendaten (Hasted *et al.* 1948, Nörtemann *et al.* 1997, Buchner *et al.* 1999, Chen *et al.* 2003) auch die dielektrische Relaxation abgeleitet. Wenn man für die Beiträge der ionischen Leitfähigkeit zu ε'' annimmt, dass die Mikrowellenleitfähigkeit mit der Niederfrequenzleitfähigkeit identisch sei, ergibt sich, dass sich die Daten ziemlich gut mit der Debye-Formel, mit einer einzelnen Relaxationszeit, fitten lassen. Die Relaxationszeit verändert sich mit der Konzentration linear im Falle kleiner Konzentrationen, so dass Relaxationszeitdekremente beziehungsweise Relaxationsfrequenzinkremente auf dieselbe Art und Weise berechnet werden können wie die Dekrementwerte für die dielektrische Konstante. Für kleine Konzentrationen (< 1 molar) lässt sich dies durch folgende Gleichung ausdrücken:

$$f = f_w + c\delta f, \quad (3.5)$$

wobei

$$\delta f = \delta f^+ + \delta f^- \quad (3.6)$$

den Einfluss der Kationen und der Anionen repräsentiert. Werte für δf^+ und δf^- finden sich in Tabelle 3.2.

Kation	δf^+	Anion	δf^-
H ⁺	-0.34	F ⁻	0.44
Li ⁺	0.34	Cl ⁻	0.44
Na ⁺	0.44	I ⁻	1.65
K ⁺	0.44	OH ⁻	0.24
Mg ²⁺	0.44	SO ₄ ²⁻	1.20

Tab. 3.2: Relaxationsfrequenzinkrementwerte für verschiedene Ionen in wässriger Lösung (nach Pethig und Kell 1987)

Eine einfache Interpretation kann im Sinne eines strukturbrechenden Effekts der Ionen und ihrer Hülle auf das Wasser angeführt werden (Haggis *et al.* 1952, Hasted und Roderick 1958). Dies ist gleichbedeutend mit einem Aufbrechen der Wasserstruktur bei Erhöhung der Temperatur. Das bindungsbrechende Modell (Haggis *et al.* 1952) deutet den Relaxationsprozess als Reorientierung von asymmetrisch an zwei Nachbarn gebundenen Molekülen.

3.3 Lipidmembranen und Vesikel

Membranen bestehen zum größten Teil aus Lipiden. Biologische Membranen, wie sie auch im menschlichen Körper vorkommen, bestehen aus bis zu einhundert verschiedenen Lipidtypen. In der Biophysik betrachtet man nun zunächst keine solch komplexen Membranen, sondern beschränkt sich auf Modellmembranen, deren Zusammensetzung genau bekannt ist. Zwitterionische Lipidmoleküle besitzen einen langkettigen, aus Kohlenstoffketten bestehenden hydrophoben Teil und einen polaren Kopf. Aufgrund dieser Eigenschaften ist es energetisch günstiger für die Lipidmoleküle, sich in wässriger Lösung zu einer Lipiddoppelschicht anzuordnen, deren Äußeres mittels der polaren Köpfe dem Wasser zugewandt ist und deren Inneres durch die hydrophoben Kohlenwasserstoffketten gebildet wird. Die Lipide der Membran bilden dabei einen Flüssigkristall mit einer typischen Schmelztemperatur. Oberhalb der spezifischen Temperatur werden die langkettigen Kohlenstoffketten zu rasch fluktuierenden Rotationsisomeren und Kinkenbildung angeregt.

Physikalische Arbeiten an Phospholipiddoppelschichtvesikeln haben gezeigt, dass die Membran bei der Phasenumwandlungstemperatur eine Kompression oder Verdünnung und eine lokale Reorganisation der Fettsäureketten durchmacht (Nagle 1980, Nagle und Scott 1978). Dielektrische Untersuchungen von biologischen Systemen haben sich sowohl für die Aufklärung der Struktur und Funktion dieser Systeme, als auch zur Erklärung ihrer Wechselwirkungen mit elektromagnetischen Feldern als sehr hilfreich erwiesen (Adey 1981, Schwan 1981a, b).

Dielektrische Eigenschaften von Phospholipid-Membranen wurden zuvor schon für multilamellare und Vesikel-Präparationen erforscht. Shepherd und Buldt (1978) untersuchten multilamellare Dipalmitoyl-Glycero-PhosphoCholine (DPPC) Lipide und berichteten über eine Dispersion mit einer Relaxationsfrequenz im Bereich von 40-70 MHz bei Temperaturen zwischen 30 und 50°C. Die Auftragung der Relaxationsfrequenz über der Temperatur zeigt zwei scharfe Zuwächse in der Steigung, den ersten nahe der Vorumwandlungstemperatur bei 35°C und den zweiten bei der Hauptumwandlungstemperatur bei 42°C. Die Dispersion wurde dabei der Bewegung der Phosphocholine-Dipole in der Doppelschichtebene zugeordnet.

Die Permittivität kleiner Vesikel (28 nm) wurde von Schwan *et al.* 1970 und Redwood *et al.* 1972 bei Frequenzen von 100 Hz bis 100 MHz und bei einer Temperatur unterhalb des Phasenübergangs gemessen. Für geladene Phospholipide wurden zwei Dispersionen ermittelt, eine zwischen 1 kHz und 1 MHz aufgrund der Gegenionrelaxation, die andere zwischen 1 MHz und 100 MHz infolge des Maxwell-Wagner-Effekts (Schwan *et al.* 1970). Für ungeladene Vesikel wird nur die Maxwell-Wagner-Relaxation beobachtet (Redwood *et al.* 1972).

Multilamellare Lecithin-Wasser Vesikel (C₁₄ und C₁₆) wurden als Funktion von Temperatur und Frequenz zwischen 100 kHz und 60 GHz untersucht (Kaatze *et al.* 1979a, b, Pottel *et al.* 1984). Bei annähernd 20 GHz wurde die Relaxation der Wassermoleküle beobachtet und bei 5 MHz eine weitere Dispersion, die anfangs unscharfen Rotationsbewegungen von zwitterionischen Phosphatidylcholin-Gruppen zugerechnet, später aber auf Gegenionen zurückgeführt wurde (Pottel *et al.* 1984). Diese Autoren ordneten ebenso eine dritte kleine Dispersion um 200 MHz den Rotationsbewegungen von zwitterionischen Phosphatidylcholin-Gruppen zu. Dies steht im Gegensatz zu Redwood *et al.* 1972, die derartige Veränderungen der

Maxwell-Wagner-Relaxation zuschreiben. Die Relaxationsparameter für die beiden Hauptdispersionen zeigen als Funktion der Temperatur kleine, aber deutlich sichtbare Änderungen im Bereich der Phasenübergangstemperatur.

Sorgfältige Untersuchungen der dielektrischen Eigenschaften von 4 bis 12 GHz von Dimyristoyl-Glycero-PhosphoCholine- (DMPC) und DPPC-Vesikel im Bereich des Phasenübergangs wurden von Enders und Nimtz 1984 sowie von Grunert *et al.* 1984 durchgeführt. Dabei konnte im Bereich des Membran-Phasenübergangs eine geringe, aber abrupte Änderung im Real- und Imaginärteil der komplexen Dielektrizitätskonstante beobachtet werden. Die Veränderungen wurden hinsichtlich Hydrationsvariationen und eines Beitrags des lipidgebundenen Wassers interpretiert.

Die Einschränkungen der vorangegangenen dielektrischen Studien, wie etwa kleine Vesikelgrößen und ein Fehlen ausreichend großer Veränderungen der dielektrischen Eigenschaften im Bereich des Phasenübergangs, die präzise Messungen ermöglicht hätten (Kaatz *et al.* 1979a, b, Pottel *et al.* 1984) sowie die von Liburdy und Magin 1985 beschriebenen Änderungen in der Permeabilität in der Nähe des Phasenübergangs bei Exposition mit elektromagnetischen Feldern, veranlassten Stuchly *et al.* 1988 zur Messung und Analyse der komplexen Dielektrizitätskonstante von unilamellaren Liposomvesikeln bei Frequenzen zwischen 10 kHz und 100 MHz und über einen Temperaturbereich von 25 bis 45°C, der die Phasenübergangstemperatur von 40°C miteinschließt (Abbildung 3.2). Die Liposomvesikel aus DPPG und DPPC (Molverhältnis 1:4) mit einem mittleren Durchmesser von 200 nm wurden in Wasser mit niedriger Leitfähigkeit suspendiert. Im gesamten Frequenzbereich änderten sich Real- und Imaginärteil der komplexen Dielektrizitätskonstante abrupt in der Nähe der Phasenübergangstemperatur. Die analysierten Daten lassen auf mindestens zwei Relaxationsprozesse im untersuchten Frequenzbereich schließen. Bei beiden Prozessen ändert sich die Temperaturabhängigkeit der Relaxationsparameter plötzlich unterhalb der theoretischen Phasenübergangstemperatur. Die Relaxation bei niedrigen Frequenzen zeigt ein anomales Verhalten oberhalb der Übergangstemperatur.

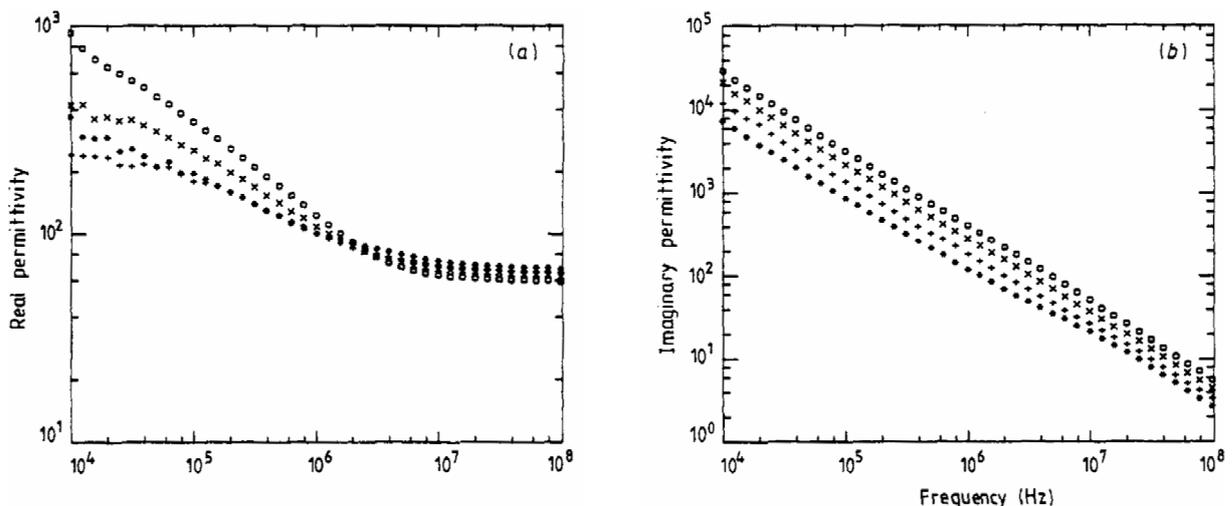


Abb. 3.2: (a) Realteil der komplexen dielektrischen Konstanten von Liposomen in Wasser (bei einer Konzentration von 40 mg ml⁻¹): * 25°C; + 35°C; × 41°C; □ 45°C (b) Imaginärteil der komplexen dielektrischen Konstanten (Verlustfaktor) von Liposomen in Wasser bei 40 mg ml⁻¹ (aus Stuchly *et al.* 1988)

3.4 Aminosäuren, Peptide, Proteine und DNS

3.4.1 Aminosäuren

Aminosäuren besitzen einen einheitlichen Aufbau, der in Abbildung 3.3 dargestellt wird. Eine Aminosäure besteht aus einer Amino- ($-NH_2$) und einer Carboxylgruppe ($-COOH$). Beide Gruppen werden über das α -Kohlenstoffatom miteinander verknüpft. Zusätzlich sind an dem Kohlenstoffatom ein Wasserstoffatom und eine organische Restgruppe R (Seitenkette) gebunden, in der sich die etwa 20 natürlich vorkommenden Aminosäuren unterscheiden. Die einfachste Aminosäure ist Glycin, bei der die Restgruppe nur aus einem Wasserstoffatom besteht. Die Seitenketten bestimmen in großem Umfang die dielektrischen Eigenschaften von Polypeptiden und Proteinen.

Der Ionisationsgrad der α -Aminosäuren ist aufgrund des Vorhandenseins von Amino- und Carboxylgruppen stark pH-abhängig. In wässriger Lösung liegen die Aminosäuren größtenteils als Zwitterionen vor, die durch intramolekulare Protonenwanderung entstehen:

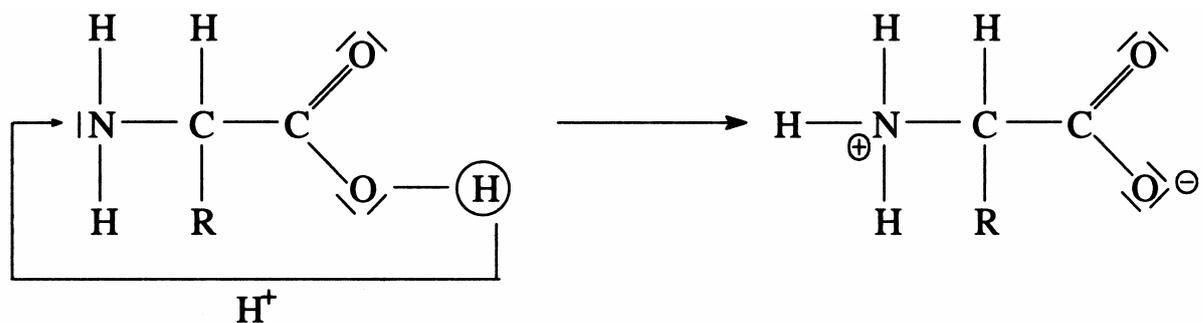


Abb. 3.3: Protonenwanderung bei einer Aminosäure in wässriger Lösung

An die negativ geladene Carboxylgruppe ($-COO^-$) kann ein Proton angelagert werden (Basenwirkung), von der positiv geladenen Aminogruppe ($-NH_3^+$) ein Proton abgespalten werden (Säurewirkung). Aminosäuren sind Ampholyte. Sie wirken als Puffer, d. h. sie können den pH-Wert einer Lösung bei Säure- oder Basezusatz konstant halten (konstantes Zellmilieu). Der zwitterionische Charakter der Aminosäuren hat zur Folge, dass ihre Lösung in Wasser mit einer stark negativen Volumenänderung aufgrund der starken elektrostatischen Wechselwirkungen zwischen den polaren Wassermolekülen und den geladenen Seitengruppen verbunden ist.

Lösungen von Aminosäuren weisen im Allgemeinen zwei dielektrische Dispersionen im Gigahertzbereich auf. Der dielektrische Verlust bei der geringeren Frequenz geht auf die Aminosäuren zurück, während das Bulk-Wasser für die Relaxation bei höheren Frequenzen verantwortlich ist (Die Relaxationsfrequenz von Wasser bei $20^\circ C$ liegt bei etwa 17 GHz). Die Relaxationsfrequenzen des Bulk-Wassers und die Aminosäure-Dispersionen liegen gewöhnlich nahe beieinander und es ist oft nicht möglich klar getrennte Dispersionsbereiche zu beobachten. Bei Raumtemperatur liegt die charakteristische Frequenz der dielektrischen Dispersion infolge der

Reorientierungsbewegung von Glycin bei 3.3 GHz (Grant *et al.* 1978), so dass die Dispersion mit der Wasserrelaxation überlappt, wie in Abbildung 3.4 dargestellt.

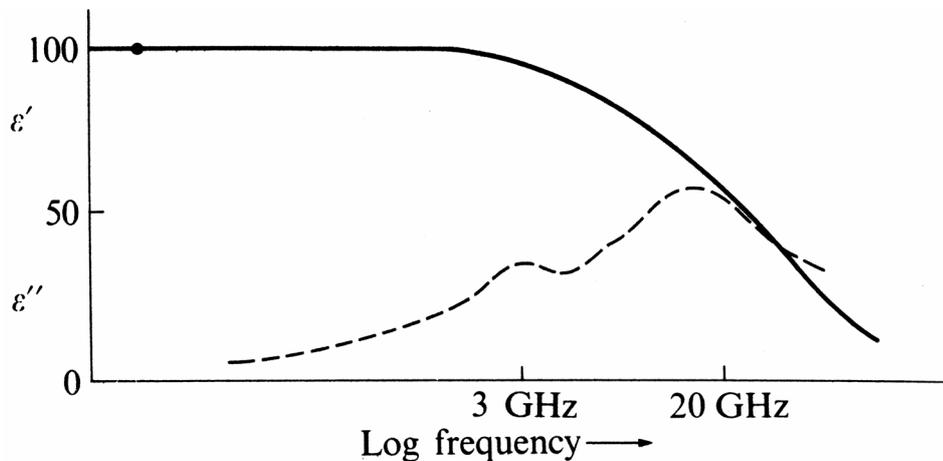


Abb. 3.4: Dielektrische Dispersion einer 1 M wässrigen Lösung von Glycin (Grant *et al.* 1978)

Als Folge ihrer zwitterionischen Eigenschaft besitzen Aminosäuren in neutraler Lösung ungewöhnlich große Dipolmomente, insbesondere größer als das Dipolmoment von Wasser ($\mu = 1.84$ Debye). Wenn Aminosäuren in Wasser gelöst werden, führt dies zu einer Steigerung der statischen Permittivitätswerte, da ja das Lösungsmittel mit geringerer Permittivität pro Volumeneinheit durch den gelösten Stoff mit höherer Permittivität pro Volumeneinheit ersetzt wird.

Aminosäure	δ	μ_{eff}	Referenz
Glycin	22.6	19.2	Wyman 1933/Shack 1972
	26.4		Devoto 1930
α -Alanin	23.2	18.6	Wyman 1933/Aaron und Grant 1967a
	27.7		Devoto 1930
β -Alanin	34.6	20.6	Wyman 1933/Aaron und Grant 1967a
Prolin	21.0	20.0	Devoto 1931/Aaron und Grant 1967a
ϵ -Aminocaprinsäure	77.5	29.8	Wyman 1933/Aaron und Grant 1967b
Glycin Dipeptid	70.5	27.7	Cavallaro 1934
Glycin Tripeptid	113	35.1	Wyman 1933
Glycin Tetrapeptid	159	41.6	Wyman 1933

Tab. 3.3: Dielektrische Inkremente für einige Aminosäuren in wässriger Lösung bei 25°C

Das dielektrische Verhalten von Aminosäuren in wässriger Lösung lässt sich in der Form

$$\varepsilon' = \varepsilon'_i + \delta c \quad (3.7)$$

ausdrücken, wobei ε' und ε'_i die Permittivitäten der Lösung beziehungsweise des reinen Lösungsmittels sind. c ist die molare Konzentration der gelösten Substanz und δ ist eine Konstante, die über den Ausdruck

$$\delta c = \Delta\varepsilon' - \Delta\varepsilon_\infty \quad (3.8)$$

mit dem dielektrischen Inkrement $\Delta\varepsilon'$ und dem Hochfrequenzdekrement $\Delta\varepsilon_\infty$ in Beziehung steht (Grant *et al.* 1978, S. 175, Young *et al.* 1982). δ quantifiziert folglich den Anstieg der Polarisierung infolge des Vorhandenseins der jeweiligen Aminosäure.

Es ist nahe liegend, anzunehmen, dass der Ursprung der bei geringerer Frequenz beobachteten dielektrischen Dispersion in der Rotation der ionisierten Amino-Carboxyl-Dipole liegt, die charakteristisch für die zwitterionische Form der Aminosäuren sind. Eine einfache Berechnung des zwitterionischen Dipolmoments μ aus dem Produkt von Ladung q und dem Abstand d , der die Amino- und Carboxylgruppen trennt (0.32 nm),

$$\mu = qd, \quad (3.9)$$

ergibt einen Wert von 15.3 Debye. Dieser Wert stimmt relativ gut mit den Ergebnissen einer Reihe von dielektrischen Arbeiten an α -Aminosäuren überein, bei denen die effektiven Dipolmomente mit etwa 19 Debye bestimmt wurden. Im Falle von Aminosäuren, bei denen die Ladungstrennung größer ist, wie z. B. für β -Alanin und ε -Aminocaprinsäure, ist das gemessene dielektrische Inkrement und das davon abgeleitete Dipolmoment proportional größer. Diese Art der Abhängigkeit des Dipolmoments von Abstand der zwei getrennten Ladungen wurde auch in einer Studie an Glycin-Polypeptiden beobachtet (Wyman 1933), bei der ein linearer Zusammenhang zwischen dem dielektrischen Inkrement und der Zahl der Bindungen, die die Amino- und Carboxylgruppen trennen, festgestellt wurde.

In Lösungen wechselwirken die geladenen Amino- und Carboxylgruppen stark mit den umgebenden polaren Wassermolekülen. Diese elektrostatischen Wechselwirkungen erzeugen gewissermaßen ein Dipolmoment zusätzlich zu dem, das den isolierten Aminosäuren zuzuordnen ist. Eine große Zahl an Wassermolekülen ist in der Tat über Wasserstoffbrücken an die Aminosäure gebunden, was zu polarisierten Ladungstrennungen führt, die sich in das wässrige Medium hinein erstrecken. In der Praxis ist die Größe des lösungsmittelinduzierten Dipolmoments relativ klein verglichen mit dem großen Aminosäuremoment. Üblicherweise macht das induzierte Dipolmoment annähernd 10 % des gemessenen dielektrischen Inkrements aus.

Onsager (1936) und Kirkwood (Kirkwood 1934, 1939) entwickelten Theorien, um die elektrostatischen Wechselwirkungen bei der Analyse der dielektrischen Daten in Betracht zu ziehen. Das effektive (gemessene) Dipolmoment μ_{eff} kann mit dem eigentlichen Dipolmoment μ_i der isolierten Aminosäure über die Gleichung

$$\mu_{eff} = g^{\frac{1}{2}} \mu_i \quad (3.10)$$

in Beziehung gesetzt werden, wobei der Parameter g die kurzreichweitigen elektrostatischen Wechselwirkungen zwischen den relaxierenden Molekülen ausmacht und als Kirkwood-Korrelationsfaktor bezeichnet wird. Bei null Korrelation vereinfacht sich g natürlich zu eins; für Wasser, das im Stande ist, über Wasserstoffbrücken bis zu vier weitere Wassermoleküle an sich zu binden (Hasted 1973, Hallenga *et al.* 1980), nimmt der Parameter g einen Wert von 2.8 an.

Leider ist es nicht möglich ohne präzise Kenntnis der wässrigen Umgebung in der unmittelbaren Nähe zur Aminosäure, einen genauen Wert für g zu erlangen. Daher ist es üblich, die Aminosäuredipolmomente in Form der effektiven (gemessenen) Dipolmomente $g^{0.5}\mu_i$ darzustellen. Die Werte der effektiven Dipolmomente einer Reihe von Aminosäuren sind in Tabelle 3.3 wiedergegeben. Nimmt man den Wert des Dipolmoments von Glycin (15.3 D), ergibt sich für das Kirkwood g ein Wert von etwa 1.2 bei Aminosäurelösungen.

Die Amino- und Carboxylzwitterionen müssen nicht die einzigen geladen Gruppen in der Aminosäurestruktur sein, es gibt eine Reihe von Aminosäuren, die eine ionisierbare Seitenkette besitzen. In diesem Fall kann man sich vorstellen, dass sich das Dipolmoment aus einer Vektoraddition der Anteile sowohl der Seitenkette, als auch der zwitterionischen Ladungen ergibt.

Bisher wurde nur die dielektrische Antwort von Aminosäurelösungen bei pH-Werten in der Nähe des isoelektrischen Punkts, an dem die zwitterionische Form mit Abstand am häufigsten vorkommt, berücksichtigt. Bei pH-Werten auf beiden Seiten des isoelektrischen Punkts wird eine signifikante Abnahme der Polarisierbarkeit und des dielektrischen Inkrements beobachtet, da die zwitterionische Form durch den einfach positiv oder negativ geladenen Zustand ersetzt wird, der bei höherem beziehungsweise niedrigerem pH-Wert vorhanden ist (Dunning und Shutt 1938).

3.4.2 Polypeptide und Proteine

Proteine (EiweiÙe) sind biologische Makromoleküle, die neben Kohlenstoff, Wasserstoff und Sauerstoff stets auch Stickstoff (N) als kennzeichnendes Element enthalten. Quantitativ stellen die Proteine den größten Teil der Trockenmasse des Zellinhalts dar (70 - 80 % Proteinanteil in lebenden Zellsystemen (Leber, Muskulatur, Niere), Proteingehalt im Blut etwa 6 - 8g/100 ml).

Proteine sind Polymere der Aminosäuren. Reagiert die Aminogruppe einer Aminosäure mit der Carboxylgruppe einer anderen Aminosäure, entsteht unter Abspaltung von Wasser eine Peptidbindung. Dabei entstehen Ketten, die man als Peptide bzw. Polypeptide bezeichnet. Sind mehr als 100 Aminosäuren verknüpft, so spricht man von einem Protein. Ausgehend von hundert Kettengliedern und 20 verschiedenen (menschlichen) Aminosäuren ergeben sich 20^{100} verschiedene Möglichkeiten ein Protein zusammensetzen. Die enorme Anzahl von möglichen Proteinen spiegelt auch die vielfältige Verwendung im Organismus wider. Die Funktionsweise eines Proteins wird durch dessen Struktur bestimmt, die sich auf vier Betrachtungsebenen beschreiben lässt:

Die erste Aminosäure einer Polypeptidkette verfügt noch über ihre vollständige Aminogruppe NH_2 . Man bezeichnet daher dieses Ende der Kette als das N-terminale Ende. Die letzte Aminosäure besitzt noch die vollständige Carboxylgruppe $COOH$. Dieses Ende heißt deshalb das C-terminale Ende. Wir können folglich jeder Polypeptidkette eine Orientierung (vom N-terminalen Ende zum C-terminalen Ende) zuordnen. Die Folge der Aminosäuren eines Proteins vom N-terminalen zum C-terminalen Ende wird als Primärstruktur des Proteins bezeichnet.

Die Sekundärstruktur, die räumliche Anordnung der Polypeptidketten, wird durch Wasserstoffbrückenbindungen stabilisiert. Verknüpfen sich auf diese Weise zwei parallelliegende Polypeptidketten durch intermolekulare Wasserstoffbrückenbindungen, so entsteht die β -Faltblattstruktur der Proteine. Ist jedoch der Polypeptidstrang durch intramolekulare Wasserstoffbrückenbindungen zwischen seinen Peptidbindungen zu einer Schraube fixiert, so spricht man von α -Helixstruktur.

Die Tertiärstruktur ist eine übergeordnete Raumstruktur eines Proteins, welche entscheidenden Einfluss auf die chemische Aktivität des Moleküls hat. Die α -Helix- und β -Faltblattbereiche werden durch zusätzliche Bindungen in einer spezifischen räumlichen Anordnung gehalten. An diesen Bindungen sind die Aminosäurereste durch Ausbildung von Disulfidbrücken und Ionenbindungen beteiligt. Insbesondere die Funktionsfähigkeit von Enzymproteinen ist von der Tertiärstruktur abhängig. Geringe Änderungen des pH-Wertes z. B. beeinflussen die Säure- bzw. Basengruppen der Reste und damit die Raumstruktur.

Viele Proteine müssen sich, um funktionsfähig sein zu können, zu einem Proteinkomplex zusammenlagern, der so genannten Quartärstruktur. Dies kann entweder eine Zusammenlagerung von unterschiedlichen Proteinen sein oder ein Verband aus zwei oder mehr Polypeptidketten, die nicht durch Peptidbindungen verbunden sind. Der Zusammenhalt erfolgt über die gleichen Bindungsarten wie bei der Tertiärstruktur. Beispiele hierfür sind Insulin, Hämoglobin und Antikörper.

Abgesehen von den terminalen Amino- und Carboxylladungen geht der zwitterionische Charakter der einzelnen Aminosäurebestandteile in einer Polypeptidkette

verloren. Allerdings üben ionisierbare Säure- und Basen-Seitengruppen starke elektrostatische Kräfte aufeinander und auf lokale Wassermoleküle aus und es gibt Wechselwirkungen der polaren und nichtpolaren Seitenketten. Die Seitengruppen bestimmen daher in erheblichem Maße die Hydratation und die dielektrischen Eigenschaften von Polypeptiden und Proteinen. Es gibt außerdem Effekte, die im Zusammenhang mit der intrinsischen dipolaren Beschaffenheit der Peptidbausteine stehen. Eine direkte quantenmechanische Berechnung (Pethig 1979, S. 44-49) zeigt, dass jede Peptideinheit ein Dipolmoment von 3.6 Debye erzeugt, das in einem Winkel von 46.7° auf die C-N-Bindungsachse gerichtet ist. Folglich nimmt eine Polypeptidkette die Gestalt eines Fadens verbundener Dipole an.

Der Beitrag eines einzelnen Dipols mit Moment m zur Polarisierbarkeit eines Mediums ist proportional zu m^2 . Für eine vollkommen starre lineare Polymerkette aus n Dipolen mit Moment m in regelmäßigen Abständen, die fest und senkrecht zur Kette ausgerichtet sind, liegt der Gesamtbeitrag zur Polarisierbarkeit zwischen null und ungefähr nm^2 , je nachdem, ob die Dipole additiv sind oder sich vektoriell aufheben. Bei Proteinen ist n eine große Zahl, normalerweise zwischen 100 und 1000, so dass der Anteil der Dipole der Peptideinheiten zum Gesamtdipolmoment des Proteinmoleküls, und infolgedessen zur Dielektrizitätskonstante einer wässrigen Proteinlösung, äußerst sensibel auf die Polypeptidstruktur reagiert. Bei der gestreckten α -Helixstruktur sind zum Beispiel die Peptidegruppenmomente additiv (Wada 1976). Die Achse einer Polypeptid- α -Helix steht in einem Winkel von etwa 56° zur C-N-Bindung der einzelnen Peptideinheiten und, da die Peptiddipolmomente selbst in einem Winkel von 46.7° zur C-N-Bindung ausgerichtet sind, ist der Peptidanteil am gesamten Dipolmoment parallel zur Achse der α -Helix $m = 3.6n \cos(9.3^\circ) = 3.6n$ Debye. Die klassische α -Helix (Pauling *et al.* 1951) enthält 3.65 Peptideinheiten pro Helixwindung, so dass auch eine verhältnismäßig kurze Helix mit drei Windungen ein Dipolmoment von etwa 40 Debye hat. Solch ein Helixdipolmoment entspricht dem Vorhandensein von einer halben positiven elektrischen Ladung am N-Terminus und einer halben negativen elektrischen Ladung am C-Terminus. Dipol-Dipol-Wechselwirkungen zwischen benachbarten α -Helices, anderen Segmenten des Haupt-Polypeptidgerüsts und Wassermolekülen tragen zu den Kräften bei, die die gesamte Gestalt und Dynamik der Polypeptide diktiert (Sheridan *et al.* 1982, Blundell *et al.* 1983). Die subtilen Wechselwirkungen zwischen kurz- und langreichweitigen Bindungen zwischen verschiedenen Teilen eines Proteinmoleküls bilden den Hauptfokus in mehreren Untersuchungen zur Wirkung von ortsspezifischer Mutagenese auf Proteinaufbau und Funktion (Ackers und Smith 1985) und eröffnen etliche interessante Möglichkeiten, das Verständnis des dielektrischen Verhaltens von Proteinmolekülen zu verbessern.

Oncley (1938, 1943) hat als erster mit Hilfe dielektrischer Methoden die Wassermenge abgeleitet, die mit einem Proteinmolekül verbunden ist. Bei Carboxyhämoglobin (für das ein Dipolmoment von 500 Debye und eine Rotationsrelaxationszeit von 84 ns bestimmt wurde) deuten seine Ergebnisse darauf hin, dass 0.6 g Wasser mit 1 g (wasserfreien) Proteins verbunden waren.

Eine einfache Modellvorstellung, die dielektrische Relaxation eines Moleküls mit permanentem Dipolmoment zu beschreiben, ist es, den Dipol als starre Kugel zu betrachten, deren Rotation als Antwort auf ein angelegtes elektrisches Feld die Rei-

bungskräfte mit dem umgebenden viskosen Medium entgegenstehen (Debye 1929). Die entsprechende Relaxationszeit für die Orientierung einer solchen Kugel ist

$$\tau = \frac{\chi}{2kT}, \quad (3.11)$$

wobei k die Boltzmannkonstante und χ der molekulare Reibungskoeffizient ist, der das Drehmoment, das durch das angelegte elektrische Feld auf das dipolare Molekül ausgeübt wird, mit der Winkelgeschwindigkeit des Moleküls in Beziehung setzt.

Betrachtet man den Dipol als starre Kugel mit Radius a , die sich in einer hydrodynamischen Newtonschen Flüssigkeit mit makroskopischer Viskosität η dreht, ergibt die Stokes-Einstein-Beziehung $\chi = 8\pi a^3 \eta$, so dass für die Relaxationszeit folgt (Takashima 1962):

$$\tau = \frac{4\pi a^3 \eta}{kT} \quad (3.12)$$

Ferner folgt, wenn man davon ausgeht, dass das Molekülvolumen (und demzufolge auch der Radius) von globulären Proteinen direkt proportional zum Molekulargewicht ist, durch Ersetzen des Radius in Gleichung 3.12

$$\tau = \frac{3M\eta}{N_A \rho kT}, \quad (3.13)$$

wobei ρ die durchschnittliche Dichte des Proteinmoleküls ist. Die Viskosität η von Wasser bei 298 K beträgt $8.9 \cdot 10^{-4} \text{ Nsm}^{-2}$. Als typische Proteindichte kann der von Kuntz 1972 für Carboxypeptidase bestimmte Wert von 1.39 g cm^{-3} verwendet werden. Damit erhält man als groben Richtwert $\tau = 0.78 M \text{ ns}$. Auf dieser Basis würde man für Myoglobin ($M = 18 \text{ kDalton}$) eine Relaxationszeit von rund 14 ns erwarten, im Gegensatz zum experimentellen Wert von ungefähr 45 ns, der von South und Grant (1972) bei Myoglobin-Lösungen beobachtet wurde. Als weiteres Beispiel, würde man für Bovine Serum Albumin (BSA) einen Wert für τ von 52 ns erwarten, verglichen mit einem experimentellen Wert von 200 ns (Takashima 1964).

Die Tatsache, dass die experimentellen Relaxationszeiten die aus Gleichung 3.12 und 3.13 theoretisch erwarteten Werte deutlich übersteigen, deutet darauf hin, dass das Molekulargewicht und infolgedessen das effektive Volumen des rotierenden Gebildes größer ist als das des Proteinmoleküls alleine. Eine plausible Erklärung ist, dass ein oder zwei Schichten von Hydrations-Wasser fest mit jedem Proteinmolekül während seiner Orientierungsrelaxation verbunden bleiben. So ermittelten Buchanan *et al.* (1952) für fünf verschiedene Proteinlösungen, dass das Proteinmolekül bei seiner Rotationsrelaxation etwa 0.3 g Wasser pro g Protein mitreißt. Rund ein Drittel dieser gesamten Hydratation war „nicht-rotierend“ gebunden, so dass dieses Wasser nicht zur dielektrischen Dispersion beitragen konnte, die gewöhnlich Bulk-Wasser aufweist. Grant (1966) verknüpfte seine Daten für BSA mit jenen von Buchanan *et al.* (1952) um zu zeigen, dass das proteingebundene Wasser Rotationsrelaxationen über einen Frequenzbereich von wenigen MHz bis zu einigen hundert MHz aufweist, wobei das gesamte dielektrische Verhalten möglicherweise durch Rotationen polarer Proteinseitenketten beeinflusst wird. Grants Beobachtungen wurden durch die

späteren Arbeiten von Pennock & Schwan (1969) und Essex *et al.* (1977) weitgehend bestätigt.

Essex *et al.* (1977) beschreiben in ihrer bedeutenden Studie über die dielektrischen Eigenschaften von BSA zwei separate Komponenten des der β -Dispersion zu Grunde liegenden Relaxationsprozesses, die auf die Tatsache zurückzuführen sind, dass das BSA-Molekül nicht kugelförmig ist, sondern ein Achsenverhältnis von etwa 3:1 aufweist. Die zwei charakteristischen Relaxationszeiten umfassen dabei die Rotation der a -Achse um die b -Achse und die Rotation der b -Achse um die a -Achse des Ellipsoiden. Darüber hinaus haben diese Autoren festgestellt, dass die schwache Abnahme der Dielektrizitätskonstanten (δ -Dispersion) im Frequenzbereich von etwa 10 bis 200 MHz in zwei Subprozesse zerlegt werden kann; der Prozess mit der kürzeren Relaxationszeit wurde der Relaxation der an das Protein gebundenen Wassermoleküle zugeordnet. Den Einfluss von Protonenbewegungen in der Proteinstruktur sahen Essex *et al.* als den wahrscheinlichsten Beitrag zur anderen Komponente der bei BSA beobachteten δ -Dispersion an. Kell und Harris 1985b zeigen, dass die Verwendung von intramolekular vernetzenden Reagenzien eine gute experimentelle Möglichkeit bildet, den Beitrag der Bewegungen von Aminosäureseitenketten abzuschätzen. Dass die Bewegungen der Aminosäureseitenketten und ganzer Proteinbereiche beide asymmetrisch (Bialek und Goldstein 1985, Glover *et al.* 1985) und kollektiv (d. h. nicht-linear) sind (Somogyi *et al.* 1984, Welch 1986, Kell 1986b), erschwert nicht nur solche Auswertungen (Kell und Hitchens 1983), sondern bietet auch erweiterte Möglichkeiten für die direkte Erkennung spezifischer Proteinmoleküle (Kell 1986a).

Die Dispersion mit Mittenfrequenz bei etwa 20 GHz schließlich ist sowohl für BSA- als auch für Myoglobin-Lösungen, wie für alle wässrigen biologischen Materialien, eine Folge der Relaxation der Bulk-Wassermoleküle. Abb. 3.5 zeigt eine schematische Darstellung der Dispersionen bei einer typischen Proteinlösung.

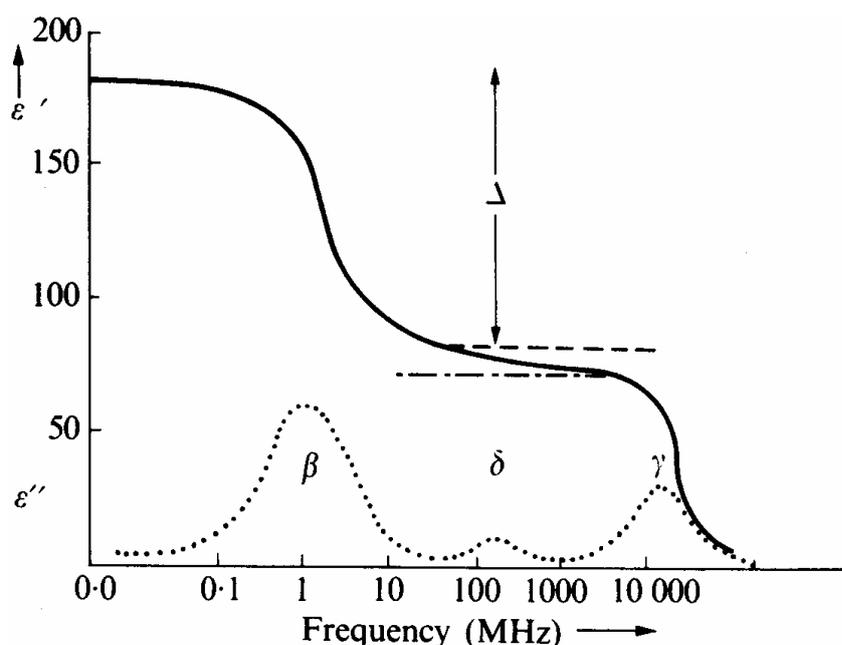


Abb. 3.5: Das Spektrum der komplexen Dielektrizitätskonstante für ein typisches globuläres Protein (Hämoglobin) in Lösung (aus Grant *et al.* 1978)

Die detaillierteste dielektrische Beschreibung der Proteinhydratation erzielten Grant *et al.* (1986) für Myoglobin. Ihre Messdaten lassen sich präzise unter Verwendung einer Summe von vier Debye-Dispersionen beschreiben:

$$\varepsilon^*(\omega) = \varepsilon_\infty + \frac{\Delta_1}{1+i\omega\tau_1} + \frac{\Delta_2}{1+i\omega\tau_2} + \frac{\Delta_3}{1+i\omega\tau_3} + \frac{\Delta_4}{1+i\omega\tau_4} \quad (3.14)$$

Nach der vorhergehenden Arbeit von South & Grant (1972) kann die Δ_1 Dispersion klar der Rotationsrelaxation der Myoglobinmoleküle zugeordnet werden mit $\tau_1 = 74$ ns ($f = 2.2 \pm 0.3$ MHz). Die Analyse dieser Δ_1 Dispersion ergibt ferner ein Dipolmoment von etwa 150 Debye für das Myoglobinmolekül und eine Hydrationshülle (0.6g/g) von ein bis zwei Wassermolekülen Dicke.

Unter Verwendung der Relaxationszeit des Bulk-Wassers ($\tau_4 = 8.29$ ps bei 298 K, entsprechend $f = 19.2$ GHz) ergibt die Analyse der Daten durch Grant *et al.* (1986) für Δ_2 und Δ_3 annähernd gleiche Werte (5.3 ± 1.5 bzw. 5.4 ± 0.8), mit $\tau_2 = 10.3$ ns ($f = 15.4 \pm 5.5$ MHz) und $\tau_3 = 40$ ps ($f = 4.0 \pm 0.7$ GHz). Die Δ_2 Dispersion kann in Form der sogenannten δ -Dispersion interpretiert werden, die für Myoglobin-Lösungen schon früher von Grant *et al.* 1974 als Reorientierungsrelaxation von 0.25 g gebundenem Wasser pro g Protein charakterisiert wurde. Da die Δ_1 Dispersion indiziert, dass 0.6 g Wasser pro g Protein zusammen mit dem Proteinmolekül als Einheit bei einer Frequenz von ungefähr 2 MHz rotieren, entfällt auf die Δ_2 Dispersion also annähernd die Hälfte der gesamten Proteinhydratation. Nachdem die Δ_3 Dispersion in der gleichen Größenordnung wie Δ_2 liegt, ist es nahe liegend die verbleibende Proteinhydratation der Δ_3 Dispersion zuzuordnen. Unter Verwendung der Maxwell-Fricke-Theorie für heterogene Dielektrika konnten Grant *et al.* 1974 errechnen, dass die Δ_3 Dispersion tatsächlich in Form einer Reorientierungsrelaxation von 0.3 g Wasser pro g Protein interpretiert werden kann.

Demnach ergibt sich eine Modellvorstellung, nach der Myoglobin ein oder zwei Schichten gebundenen Wassers anzieht, das fest mit dem Proteinmolekül verbunden bleibt, wenn es die dielektrische Reorientierungsrelaxation bei etwa 2 MHz durchläuft. Dieses gebundene Wasser kann in zwei Gruppen eingeteilt werden: die eine Hälfte zeigt eine Reorientierungsbewegung mit einer Relaxationszeit, die rund 1240 mal größer ist als jene von normalem Bulk-Wasser (τ_w); die andere Hälfte relaxiert mit $\tau = 4.8 \tau_w$.

Grant *et al.* (1986) fanden ferner als alternative Beschreibung der dielektrischen Daten, dass die Δ_3 und Δ_4 Dispersion durch eine einzelne Dispersion mit einer Verteilung der Relaxationszeiten, wie in Gleichung 1.20 beschrieben, ersetzt werden kann. Die entsprechende durchschnittliche Relaxationszeit bei 298 K beträgt 8.99 ps, wobei der Parameter α einen Wert von 0.06 ± 0.01 aufweist.

3.4.3 Desoxyribonukleinsäure (DNS)

Die Desoxyribonukleinsäure (DNS) ist ein lineares anionisches Polymer, das für die Kodierung der genetischen Information in einer Zelle verantwortlich ist. Die monomeren Bausteine der DNS sind die sogenannten Nukleotide, die aus einer heterozyklischen Nukleobase, einem Zucker-Molekül (Desoxyribose) und mindestens einer Phosphatgruppe bestehen. Grundsätzlich lassen sich vier verschiedene organische Basen unterscheiden, die mit Adenin (A), Thymin (T), Cytosin (C) und Guanin (G) bezeichnet werden. Die Nukleotide sind über Phosphodiester-Bindungen kovalent zu einem linearen Polymer verbunden (Primärstruktur). Im Fall der DNS bilden zwei komplementäre Polynukleotid-Sequenzen durch Basenpaarung einen gewundenen Doppelstrang, der im allgemeinen eine rechtsdrehende Helix darstellt (Sekundärstruktur). Prinzipiell können nur Adenin und Thymin bzw. Cytosin und Guanin über Wasserstoffbrückenbindungen eine Basenpaarung eingehen.

Weil die beiden Helixstränge entgegengesetzt orientiert sind, heben sich die Dipolmomente der beiden Ketten gegenseitig auf. Obwohl das DNS-Molekül infolge der Helixstruktur netto also kein permanentes Dipolmoment besitzt, haben bereits frühe dielektrische Messungen (z. B. Takashima 1963, 1966, Hanss 1966) gezeigt, dass DNS-Moleküle ein starkes Dipolmoment in Richtung der Doppelhelixachse aufweisen. Da die Phosphatgruppen der DNS in wässrigen Lösungen bei einem neutralen pH-Wert dissoziieren, tragen die Basenpaare eine zweifach negative Ladung, so dass das DNS-Makromolekül von einer Atmosphäre von Gegenionen umgeben wird. Unter dem Einfluss eines angelegten elektrischen Feldes tendieren diese Gegenionen dazu, sich entlang der Oberfläche des Makromoleküls zu verschieben und verursachen dadurch ein großes induziertes Dipolmoment. Die Relaxationszeit der resultierenden dielektrischen Dispersion hängt von der effektiven Beweglichkeit der Ionen entlang der „Oberfläche“ des Makromoleküls ab und ergibt sich für stabförmige Makromoleküle aus

$$\tau = \frac{\pi \varepsilon_l L^2}{2uzq^2} \quad (3.15)$$

wobei ε_l die effektive Permittivität der umgebenden Ionenatmosphäre aus z Ionen pro Längeneinheit, u die Gegenionenbeweglichkeit (für eine zweidimensionale Oberfläche), q die Ladung der Ionen und L die Länge des DNS-Moleküls ist. Die Erwartung, dass τ proportional zu L^2 ist, hat sich dabei in der Praxis bestätigt (Takashima 1967). Typische dielektrische Relaxationszeiten für DNS-Moleküle wurden in der Größenordnung von 1 ms ermittelt, während die Werte des dielektrischen Inkrements in der Größenordnung von 1000 liegen.

Kolloide DNS-Lösungen zeigen abgesehen von einer dielektrischen Dispersion (α -Dispersion), die vom induzierten Dipolmoment zusammen mit der elektrischen Doppelschicht um die Makromoleküle herrührt, eine oder mehrere kleinere Dispersionen im Frequenzbereich 1-50 MHz (z. B. Mandel 1977, Takashima *et al.* 1984). Die relative Permittivität einer 1 %igen DNS-Lösung im Frequenzbereich 0.2 MHz-10 GHz ist in Abb. 3.6 dargestellt. Der Hochfrequenzausläufer der α -Dispersion ist deutlich zu erkennen, ebenso wie eine schneller relaxierende Dispersion, in diesem Fall bei rund 20 MHz, die nach Takashima *et al.* 1984 von der Bewegung polarer Gruppen innerhalb der DNS-Moleküle herrührt. Wie bei

Proteinlösungen ist die dielektrische Dispersion oberhalb von 1 GHz von der Relaxation des Bulk-Wassers dominiert und unterscheidet sich nicht wesentlich von der in reinem Wasser beobachteten Relaxation.

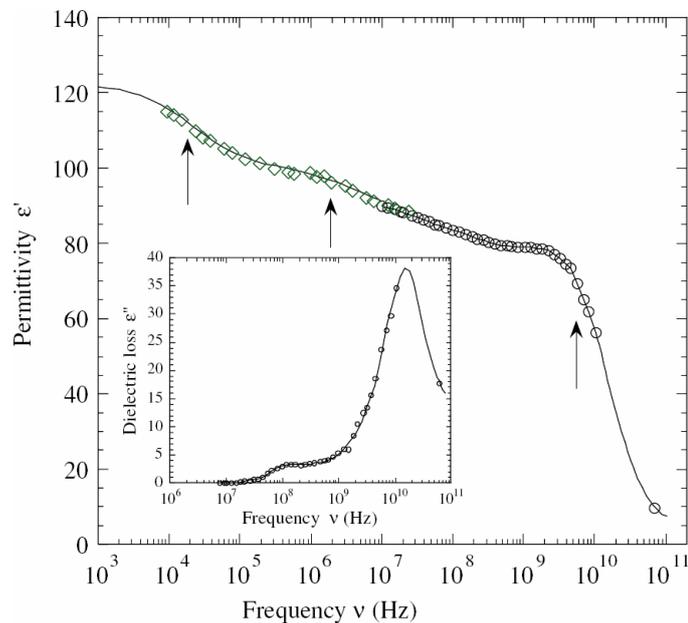


Abb. 3.6: Die dielektrischen Eigenschaften einer 1 %igen DNS-Lösung im Frequenzbereich von 10 kHz bis 100 GHz. Die Daten erhält man durch Verknüpfung der dielektrischen Spektren im Niederfrequenzbereich von Mandel *et al.* 1979 bei 0.17 % und im Hochfrequenzbereich von Takashima *et al.* 1984 bei 1 %. Die Daten von Mandel wurden vertikal verschoben, um die unterschiedlichen DNS-Konzentrationen auszugleichen. Das Fenster zeigt den dielektrischen Verlust im Hochfrequenzbereich (Bordi *et al.* 1988).

Das Ergebnis von Takashima *et al.* (1984), dass sich das Hochfrequenzverhalten (1-10 GHz) von wässrigen DNS-Lösungen nicht wesentlich von dem reinen Wassers unterscheidet, steht im Gegensatz zu mehreren Berichten, wonach in DNS-Lösungen große resonante Absorptionen bei diesen Frequenzen auftreten können (Swicord und Davis 1982, 1983, Edwards *et al.* 1984, 1985). Die letztgenannten Autoren liefern ausführliche Belege für die Möglichkeit, dass wässrige Lösungen monodisperser Plasmid-DNS bei Raumtemperatur Mikrowellenenergie resonant absorbieren können und dass der Mechanismus für diese Absorption mit der Kopplung des elektrischen Feldes an akustische Moden (stehende Wellen) im Makromolekül zusammenhängt. Falls solche Resonanzeffekte, die in der Tat nur gegen den „Hintergrund“ der dielektrischen Eigenschaften des Lösungsmittels sichtbar werden, wenn die DNS sehr homogen ist, bestätigt werden könnten (und umfangreiche Versuche von Grant und Kollegen scheiterten (siehe Gabriel *et al.* 1987, 1989, Foster *et al.* 1987)), hätten sie erhebliche Auswirkungen. Diese Folgen beinhalten auch die Möglichkeit, dass biochemische Prozesse durch frequenzselektive Mikrowellenstrahlung niedriger Intensität beeinflusst werden könnten (Fröhlich 1980, Fröhlich und Kremer 1983) und dass akustische Moden (Phononen, Solitonen, etc.) einen verlustfreien Mechanismus bieten, um freie Energie über große Moleküldistanzen (siehe Kell und Hitchens 1983, Kell und Westerhoff 1985, Kell 1986b und die Referenzen darin) zu transportieren. Die Bestätigung eines solchen Fundes würde natürlich gleichzeitig auch die Suche nach Resonanzmoden bei Proteinen mit dielektrischen Methoden beleben.

3.5 Zellsuspensionen

Die dielektrischen Eigenschaften von Zellen werden oft aus den Bulk-Eigenschaften von Zellsuspensionen unter Verwendung adäquater Mischungsformeln abgeleitet, wie zum Beispiel jene, die von Maxwell (1881), Bruggeman (1935) und Hanai (1968) hergeleitet wurden. Angenommen, wir modellieren eine Zelle zunächst einfach als ein Zytoplasma, das von einer Hülle, der Membran, umgeben ist. Dann legen die Dispersionsgleichungen 1.14 und 1.15 das frequenzabhängige Verhalten der dielektrischen Eigenschaften der Zelle mit den folgenden Parametern (Schwan 1988) fest:

$$\varepsilon_0 - \varepsilon_\infty = \frac{RC_m}{(1 + RG\rho_i)^2} \quad (3.16)$$

$$\tau = \frac{RC_m\rho_i}{(1 + RG\rho_i)} \quad (3.17)$$

Hierbei ist R der Zellradius, C_m und G_m sind die Membrankapazität bzw. Leitfähigkeit pro Flächeneinheit und ρ_i der spezifische Widerstand des Zellinneren. Diese β -Dispersion tritt üblicherweise zwischen 0.1 und 10 MHz für Zellen unterschiedlicher Größe und isolierte Organelle wie etwa Mitochondrien auf. Verbesserungen dieses Modells wurden von Pauly und Schwan (1959) und Irimajiri *et al.* (1979) ausgearbeitet. Sie beinhalten Berücksichtigungen der Zellorganellen, insbesondere des Zellkerns (siehe auch Abschnitt 1.7).

Zur Erklärung der starken Dispersion bei niedrigeren Frequenzen (α -Dispersion) wurden verschiedene Mechanismen vorgeschlagen, einschließlich Gegenionen-Relaxationen (Schwan *et al.* 1962, Schwarz 1962), dem Röhrensystem in Muskeln (Schwan 1954, Fatt 1964) und der Dynamik von Natrium- und Kalium-Kanälen in der Membran (Fishman 1985). Die verschiedenen Effekte wurden von Schwan 1981a in einem Übersichtsartikel beschrieben. Der Gegenionen-Relaxationseffekt lässt sich einer Oberflächenadmittanz zuordnen, die typisch für die stark geladene Zellumgebung nahe an der Zelle ist (Schwan *et al.* 1959, 1962). Dieser starke Effekt wird durch geladene Partikel oder Zelloberflächen und die Gegenionen-Atmosphäre um die Partikel verursacht. Die Atmosphäre erstreckt sich radial über eine Debye-Abschirmlänge von einigen hundert Ångström, je nach Ionenkonzentration des Mediums.

Die komplexe Dielektrizitätskonstante und die Frequenzabhängigkeit wurden bereits von Schwan 1957a und Schwan *et al.* 1962 wiedergegeben und theoretisch zuerst durch Schwarz (1962) und später durch Fixman (1983), Chew (1984) sowie Grosse und Foster (1987) behandelt. Bei Zellen ist die Situation durch das Vorhandensein geladener Glykoproteine, die sich radial über eine Strecke ausdehnen, die mit der Debyelänge vergleichbar oder größer ist, komplizierter. Frühere Theorien sind für diese Situation nicht leicht anwendbar und bisher wurde noch kein theoretischer Ansatz aufgestellt, der das Vorhandensein dieser verteilten Anordnung fixierter Ladungen und ihren Effekt auf die α -Dispersion berücksichtigt.

Die γ -Dispersion mit Mittenfrequenz bei 20 GHz ergibt sich durch das Zellwasser, wenn man das Volumen, das durch die Makromoleküle, größtenteils Proteine, eingenommen wird, berücksichtigt.

Ein zusätzlicher Relaxationseffekt geringerer Stärke, der von Schwan (1965a), Grant (1965) und Grant *et al.* (1978) oberhalb von 100 MHz beobachtet wurde, wird in erster Linie von proteingebundenem Wasser verursacht. Weitere kleinere Beiträge werden durch Zellorganelle hervorgerufen (Stoy *et al.* 1982, Schwan 1988).

Blut und Erythrozytsuspensionen

Blut ist ein komplexes System, in dem verschiedenartige Polarisationsmechanismen wie Dipolrelaxation, Maxwell-Wagner-Effekt, elektrochemische Polarisation, etc. erkennbar sind. Die ersten quantitativen Ergebnisse erhielt man vor etwa hundert Jahren, als die ersten sorgfältigen Wechselstromexperimente durchgeführt wurden (Höber 1910, McClendon 1926, Fricke 1925b).

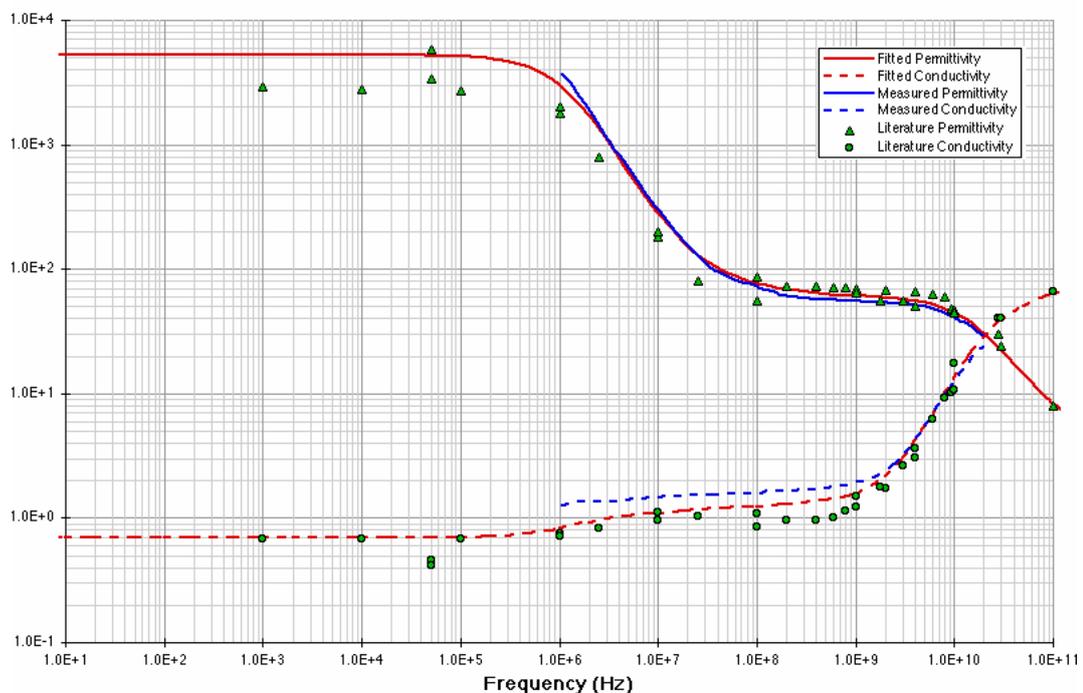


Abb. 3.7: Permittivität und Leitfähigkeit von Blut (Gabriel *et al.* 1996c)

Analysen der grundlegenden elektrischen Phänomene machten es möglich, die Dicke einer biologischen Membran durch physikalische Methoden abzuleiten (Fricke 1925b). Mit der Frequenzabhängigkeit der dielektrischen Eigenschaften der roten Blutzellen in Suspension befassten sich Schwan *et al.* (Schwan 1957a, 1983, Pauly und Schwan 1966, Jenin und Schwan 1980) und andere (Fricke 1953a, Gougerot und Foucher 1972, Hanai *et al.* 1979, Asami *et al.* 1980, Ballario *et al.* 1984, Takashima *et al.* 1988, Bordi *et al.* 1990, 2002, Davey *et al.* 1990, 1992, Bao *et al.* 1992, Zhao *et al.* 1993a, b). Hinzukommen Reviewartikel, die auch die elektrischen Eigenschaften von Blutzellen und Vollblut beinhalten (Cole 1968, Schanne und Ceretti 1978, Schwan 1957a, 1983, Trautmann und Newbower 1983, Foster und Schwan 1986, Pethig und Kell 1987, Davey und Kell 1994).

Schwan 1983 beschreibt in seinem Reviewartikel mit Schwerpunkt auf den zugrunde liegenden Mechanismen die dielektrischen Relaxationseigenschaften von Vollblut und Hämoglobin. Vollblut weist demnach Beta-, Gamma- und Deltarelaxationen auf, aber eigenartigerweise keine Alphadispersion. Bei Blut mit einem Hämatokritwert von 40 % hat die Betadisersion in der Permittivität ein totales Inkrement von 2000 und eine Mittenfrequenz bei etwa 3 MHz. Die statischen Dielektrizitätskonstanten und die Relaxationszeiten der Beta-Dispersion sind bei Blut normalerweise größer als im Gewebe, was aus den für gewöhnlich größeren Zellgrößen im Gewebe resultiert. Die Gamma- und Deltadisersionen sind ähnlich wie bei Hämoglobinlösungen gleicher Konzentration.

Die Betadisersion wird in den Studien gewöhnlich als Folge des Auftretens eines Maxwell-Wagner-Effekts an der Grenzfläche zwischen der Zellmembran und der wässrigen Phase (Takashima 1989) interpretiert. Im einfachsten Modell werden die Suspensionen roter Blutzellen mit einem Ersatzschaltbild aus Kapazität und Widerstand beschrieben (Davey und Kell 1989, Kell und Davey 1990). Die dielektrischen Eigenschaften hängen vom Volumenanteil (Hämatokritwert) und der Form der roten Blutzellen ab (Fricke 1925b, 1953a, b, Hanai *et al.* 1979). Die Plasmamembran besitzt eine geringe Leitfähigkeit (Takashima *et al.* 1988) und ihre Kapazität C_m wurde bereits früh mit $0.8 \mu\text{Fcm}^{-2}$ veranschlagt (Fricke 1925b).

Die Membran schirmt das Zytoplasma ab, das eine hohe Konzentration an Hämoglobin enthält (ca. 5 mM), was eine reduzierte interne Leitfähigkeit zur Folge hat (Pauly und Schwan 1966, Jenin und Schwan 1980). Bei Erythrozyten (Pauly und Schwan 1966) und Prokaryonten (Marquis und Carstensen 1973) fand man heraus, dass die *in situ* bei Frequenzen kleiner 1 GHz bestimmten elektrischen Leitfähigkeiten annähernd um einen Faktor drei kleiner sind, als man es aufgrund der Anzahl und Art der vorhandenen Ionen erwartet und nach Bruch der Zellmembran und Lösung des Zellinhalts beobachtet. In welchem Umfang dieses Leitfähigkeitsdekrement eine Funktion des physiologischen Status eines bestimmten Organismus ist, beziehungsweise unter den Organismen variiert, ist unklar. Aber es gibt Gründe, anzunehmen, dass der, bei thermophilen Mikroorganismen erwartete, höhere Grad zytoplasmatischer Organisation sich im Leitfähigkeitsdekrement dieser Organismen widerspiegelt (Kell und Westerhoff 1985).

Pfutzner 1984 untersuchte stärker konzentrierte Erythrozytlösungen und stellt die Permittivität von Blut verschiedener Spezies bei Frequenzen um 50 kHz als Funktion des Hämatokritwerts dar. Die Permittivität erreicht einen Höchstwert bei einem Hämatokritwert von annähernd 60 % und nimmt bei höheren Volumenanteilen ab, was Pfutzner 1984 auf Änderungen in den Strombahnen um Bereiche gepackter Zellen zurückführt. Solche Effekte ließen sich schwer mit einer Mischungstheorie erklären und rühren vermutlich von der Aggregation der Erythrozyten her.

Die Abhängigkeit der dielektrischen Eigenschaften des Blutes (*ex vivo* von Kühen und Schafen) vom Hämatokritwert wird auch von Jaspard *et al.* 2003 beschrieben. Die relative Permittivität und die Leitfähigkeit wurden bei 37°C im Frequenzbereich von 1 MHz bis 1 GHz gemessen. Die zwei dielektrischen Parameter zeigen dabei eine starke Abhängigkeit vom Hämatokritwert. Die relative Permittivität nimmt mit steigender Frequenz ab, aber ein geringerer Hämatokritwert führt zu höherer Permittivität. Die Leitfähigkeit steigt mit fallendem Hämatokritwert im gesamten

Frequenzbereich. In einer vorangegangenen Publikation berichteten Jaspard *et al.* bereits von der Temperaturabhängigkeit der dielektrischen Eigenschaften von *ex vivo* Blut von Menschen und Tieren (Kühen und Schafen) im Frequenzbereich von 1 MHz bis 1 GHz (Jaspard *et al.* 2002). Die Ergebnisse zeigen eine schwache Empfindlichkeit und einen Vorzeichenwechsel des Temperaturkoeffizienten der relativen Permittivität (ca. $0.3 \% C^{-1}$ bei 1 MHz und $-0.3 \% C^{-1}$ bei 1 GHz). Die Leitfähigkeit weist signifikantere Änderungen über den gesamten Frequenzbereich auf (in der Größenordnung von $1 \% C^{-1}$).

Die dielektrischen Eigenschaften von Blut im Mikrowellenbereich sind von Pethig 1984 (0.1 – 4 GHz) sowie von Alison und Sheppard 1993 (29 – 90 MHz) bestimmt worden. Bei diesen hohen Frequenzen werden die dielektrischen Eigenschaften von Blut (ebenso wie bei anderen Geweben mit großem Wasseranteil) von der Dipolrelaxation des Wassers dominiert.

Projektes. Es wird aber allgemein angenommen, dass die Zellmembran wie ein verlustbehafteter Kondensator wirkt und an der Zellmembran hohe elektrische Felder auftreten.

Abbildung 4.1 zeigt das elektrostatische Potential über eine Plasma-Membran. Man findet (Olivotto *et al.* 1996), dass durch eine kompakte Wasserschicht (CL) direkt an der Membran und durch die Gouy-Chapman-Schicht (GC, siehe Kapitel 1.7.3) ein hohes elektrostatisches Potential aufgebaut wird. Legt man diese Berechnung zugrunde, würde man elektrische Felder von der Größenordnung 100 kV/cm direkt an der Membran erwarten, die experimentell nach unserem derzeitigen Wissensstand nicht gefunden wurden. Matzke und Matzke (1996) zeigen, dass ähnliche Überlegungen für alle Grenzflächen innerhalb der Zelle, z. B. für alle Membranen, die Zellkompartimente trennen, gelten müssten. Naiv ist es kaum vorstellbar, dass an der Membran derart hohe Felder herrschen ohne das Auftreten dielektrischer Durchbruchphänomene. Verglichen mit diesen internen Feldern sind alle beherrschbaren externen Felder vernachlässigbar. Es ist unklar, inwieweit dies mit experimentellen Befunden übereinstimmt. Es muss überprüft werden, ob Ladungstransport entlang der Membran und durch die Membran diese Felder deutlich reduziert. Derartiger Ladungstransport sollte durch Analyse breitbandiger Spektren identifizierbar sein.

Die Wirkung von elektrischen AC-Feldern – in Abhängigkeit der Feldstärke – auf biologische Zellen und Zellmembranen ist in der Literatur kaum dokumentiert. Allgemein wird in der Literatur nur zwischen schwachen Feldern ($\sim 10^{-4}$ V/m), die zu Phänomenen führen, wie sie in den vorherigen Kapiteln besprochen wurden, und starken Feldern (~ 100 V/m), die Zell-Fusion, Zellrotation oder Porenformation in der Zellmembran bewirken können, unterschieden. In Grosse und Schwan (1992) werden Membran-Potentiale als Funktion der Frequenz berechnet. Dabei werden zusätzlich Membran-Leitfähigkeit und Raumladungseffekte berücksichtigt. Die Autoren finden, dass in allen Fällen, in denen das Medium außerhalb der Zelle eine niedrige Leitfähigkeit zeigt, die externen Felder an der Zellmembran deutlich reduziert werden.

In der hier begonnen Studie soll nach Effekten abhängig von der Feldstärke gerade im Bereich der typischen SAR-Werte der Mobilfunktechnik gesucht werden. Eine Diskussion der Spezifischen Absorptionsrate (SAR) findet man im Theorie-Teil in Kapitel 2. Für die hier geplanten Untersuchungen ist die Definition

$$SAR = \sigma \frac{E^2}{\rho} \quad (4.2)$$

wobei σ die Leitfähigkeit und ρ die Dichte des Mediums bezeichnen, besonders nützlich. Man sieht, dass für konstante SAR Werte die Feldstärken abhängig von der Leitfähigkeit des zu untersuchenden Systems sehr unterschiedlich ausfallen müssen. Wird die Leitfähigkeit von AC-Beiträgen dominiert (siehe Kapitel 1.6.2) dann steigt die Leitfähigkeit annähernd linear mit der Frequenz und die benutzten Feldstärken müssen für einen konstanten SAR Wert dementsprechend reduziert werden. Derartige systematische Untersuchungen fehlen in der verfügbaren Literatur vollständig. Das derzeit laufende Projekt hat zum Ziel, gerade in diesem Bereich einen wichtigen Beitrag leisten.

5 Einzelzell-Untersuchungen

Störungen der zellulären Prozesse sollen mit Hilfe von patch clamp (PC) Messungen untersucht werden. Mit dieser Technik sind kleinste Veränderungen in Ionenströmen und damit eventueller genetischer wie auch akuter Veränderungen bezüglich membranständiger Proteine oder intrazellulärer Transportwege detektierbar. Zum weiteren Spezifizieren der Defekte sowie intrazellulärer Studien sollen Fluoreszenz-Nachweise geführt werden (z. B. „Fluoreszenz In Situ Hybridisation“ (FISH) oder potentialabhängige Fluoreszenzfarbstoffe).

5.1 Patch Clamp (PC) Messungen

5.1.1 Grundlagen

Seit über 100 Jahren dient die Elektrophysiologie der Aufklärung zellulärer Prozesse. Insbesondere wurde hier die Kommunikation zwischen intra- und extrazellulärem Medium untersucht. Unter „Normalbedingungen“ ist die Plasmamembran impermeabel gegenüber wasserlöslichen Substanzen (Zucker, Ionen, diverse Makromoleküle), kann aber gezielt sogenannte Kanäle (für Ionen oder Makromoleküle) öffnen oder schließen, um wasserlösliche Substanzen passieren zu lassen. Bei diesen Kanälen handelt es sich um Proteine, die im Zellinneren synthetisiert werden. Der Syntheseablauf ist hochspezifisch, d. h. dass eine Vielzahl ionen- oder makromolekülspezifischer Proteine in unserer DNS kodiert sind. Es existieren Kanäle für fast alle typischen in der Natur vorkommenden Ionen (Na, K, Ca etc.) sowie Transporter und Tauscher (Glucose, Na/H-exchanger). Diesen „passiven“ Elementen der Zellmembran stehen so genannte aktive „Pumpen“ gegenüber (Na/K – ATPase), die den für die Zelle lebensnotwendigen Na-K Gradienten zwischen intra- und extrazellulärem Raum aufrechterhalten. Zerfällt dieser Gradient, d. h. wird das thermodynamische Gleichgewicht erreicht, ist die Zelle sozusagen „tot“. Auf Grund dieses Ineinandergreifens von Kanälen, Transportern und Pumpen, ist die ionenspezifische Messung von transmembranen Ionenströmen ein hochempfindlicher Indikator für „Störungen“ (krankhafte Veränderungen) im Ablauf zellulärer Prozesse (Synthese, Einbau in Membran) (Hille 2001).

Auf diese Weise wurden bereits zahlreiche genetische sowie erworbene Erkrankungen identifiziert und charakterisiert (z. B. das Bartter Syndrom (defekter Kaliumkanal) oder die Mukoviszitose (Chloridkanal Defekt), Dworakowska und Dolowy 2000).

5.1.2 Die Technik

Die von Neher und Sackmann (1992) in den 80er Jahren entwickelte PC Technik stellt eine Revolution auf dem Gebiet der Elektrophysiologie dar und wurde 1991 mit dem Nobelpreis für Medizin ausgezeichnet. Mit dieser Technik war es zum ersten Mal möglich einzelne spezifische (Na, K etc.) Ionenkanäle nachzuweisen. Der Aufbau ist in Abb. 5.1 zu sehen. Die beiden Schlüssel der Technik stellen ultradünne (~ 1µm) Saugpipetten in Kombination mit einem extrem empfindlichen Verstärker im Pikoampere-Bereich dar. Nur so kann sichergestellt werden, dass tatsächlich der Strom durch den eingesaugten Membranfleck (Patch) gemessen wird.

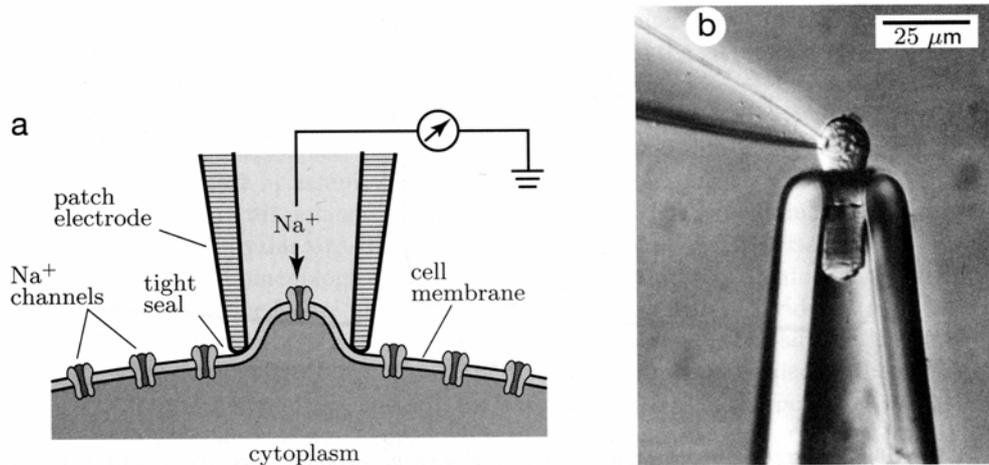


Abb. 5.1: (a) Messung des Stroms durch einen einzelnen Ionenkanal (Kandel *et al.* 2000)
 (b) Patch Clamp Manipulation einer Zelle (aus Lamb *et al.* 1986)

Eine Weiterentwicklung stellt die so genannte „planare“ patch clamp Technik dar, bei der wie in Abb. 5.2 gezeigt die Pipetten durch einen Chip mit einer kleinen Pore ersetzt sind. Die planare Technologie liefert dabei ideale Voraussetzungen für die simultane Einstrahlung hochfrequenter (HF) Felder während der Messung, da sie den Einsatz von Standard Lithographie Verfahren erlaubt.

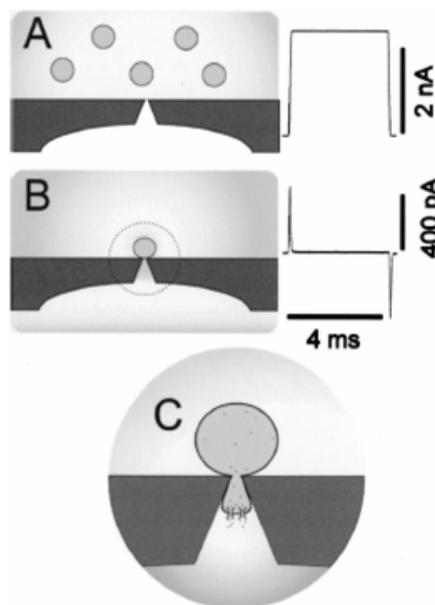


Abb. 5.2: Schematische Darstellung des Chips und der Prozedur des Zellkontaktierens
 (aus Fertig *et al.* 2002)

5.1.3 Veränderungen im zellulären Elektrolythaushalt/Transport

Trotz zahlreicher Untersuchungen werden, wie z. B. aus einem erst kürzlich erschienenen Artikel klar wird (Lim *et al.* 2005), die Konsequenzen hochfrequenter elektromagnetischer Strahlung für unsere Gesundheit nach wie vor gegensätzlich diskutiert. Obwohl z. B. keine Veränderungen im Haushalt so genannter „Heat Shock“ Proteine von Leukozyten nach HF-Einstrahlung nachgewiesen werden konnten, existieren zahlreiche Hinweise, dass hochfrequente elektromagnetische Felder sowohl kontinuierlich wie gepulst, verschiedene Eigenschaften der

Zellmembranen und ihrer Ionen-Kanäle verändern können. Thermische Effekte konnten bei diesen Studien ausgeschlossen werden (Adey 1993). Beebe *et al.* 2004 deutet in diesem Zusammenhang vor allem auf den Charakter des Pulses hin und findet erhebliche Funktionsstörungen der intrazellulären Signalkaskaden, die im Extremfall sogar Apoptose induzieren können (Beebe *et al.* 2003). Die Ursache hierfür steht allerdings in engem Zusammenhang mit dem Zusammenbruch der Membran (Elektroporation). Blackman *et al.* 1980 fanden einen erhöhten Kalziumeinstrom für Neuronen-Gewebe, welches einer 147 MHz Bestrahlung unter 16 Hz Modulation und 0,83 mW/cm² Leistung ausgesetzt wurde. Auch das Feuern von Neuronen, welchem eine schnelle Ionenbewegung zu Grunde liegt, unter dem Einfluss elektromagnetischer Strahlung wurde untersucht (Bawin *et al.* 1977, 1984).

Studien der Plasmamembran selbst ergaben, z. B. bei melaninhaltigen Zellen, die mit einem 2,45 GHz Feld pulsmoduliert mit 100 Hz für ca. 1h bestrahlt wurden, eine starke Reduzierung der Fluidität der Membran (Phasenübergang) (Phelan *et al.* 1992). Extrem hohe inhomogene Felder können sogar zur so genannten Elektroporation führen, wie es z. B. von Heida *et al.* 2002 an Neuronenzellen nachgewiesen wurde. Weiter konnte Repacholi 1998 und D'Inzeo *et al.* 1988 zeigen, dass sowohl die genetische Kontrolle der Kanalbildung als auch die Öffnungsraten im Bereich von 10 GHz bei einer Leistungsflussdichte von einigen μ W/cm² stark reduziert werden.

Patch Clamp Untersuchungen, die sich perfekt für empfindliche Störungen des Elektrolytaustausches in lebenden Zellen eignen würden, wurden in Verbindung mit hochfrequenter elektromagnetischer Einstrahlung bisher jedoch kaum durchgeführt. Lediglich Linz *et al.* 1999 berichtet, dass nach GSM-Standard gepulste Felder von 180, 900 und 1800 MHz bei einer Strahlungsdichte von 15 – 80 mW/kg zu keinen messbaren Veränderungen im Elektrolythaushalt von Myozyten geführt haben. Diese Ergebnisse finden sich allerdings nicht im Einklang mit experimentellen und theoretischen Überlegungen von Goodman *et al.* 1992, 1995, Panagopoulos *et al.* 2000, 2002 und Creasey und Goldberg 2001, die über den Einfluss von elektromagnetischen Feldern auf die Schaltcharakteristik von spannungsabhängigen Ionenkanälen berichten. Die Autoren zeigen dabei, dass durch das Pulsen sonst identischer Felder die biologische Wirkung auf Ionenkanäle etwa verdoppelt werden kann (Russel und Webb 1981).

In keiner der durchgeführten Studien werden hochfrequente Felder lokal eingestrahlt und simultan hochempfindlich gemessen. Dies wird erst durch die in unseren Arbeiten benutzte planare patch clamp Technik ermöglicht (Fertig *et al.* 2003).

5.2 Fluoreszenznachweis makromolekularer Defekte

Nachdem eine elektrophysiologische Störung registriert ist, kann ein genauer Nachweis durch sogenannte *in situ* Färbetechniken (FISH) oder potentialabhängige Fluoreszenzfarbstoffe geführt werden. Dazu werden zunächst Farbstoffe ins Intrazelluläre der Zelle transportiert, wo sie mit bestimmten biochemischen Gruppen (oder genetischen Sequenzen) reagieren und dadurch ein Fluoreszenzsignal erzeugen. Über- oder Unterexpression spezifischer Gruppen sowie intrazelluläre Potentialmessungen können auf diese Weise überprüft werden, was weitere Rückschlüsse auf die Herkunft der Störung zulässt. Die hier zur Verfügung stehende Palette an Nachweisreaktionen ist immens und kann unter <http://probes.invitrogen.com/> nachgelesen werden.

Literaturverzeichnis (Experimenteller Teil)

- Aaron, M. W. and Grant, E. H., *Comparison between dielectric properties of alpha- and beta- alanine solutions*, Trans. Faraday Soc. **9**, 2177 (1967a)
- Aaron, M. W. and Grant, E. H., *Dielectric and viscosity studies on dipeptides of alanine and glycine*, British Journal of Applied Physics **18**, 957 (1967b)
- Ackers, G. K. and Smith, F. R., *Effects of site-specific amino acid modification on protein interactions and biological function*, Annu. Rev. Biochem. **54**, 597-629 (1985)
- Adey, W. R., *Tissue interactions with nonionizing electromagnetic fields*, Physiol. Rev. **61**, 435-514 (1981)
- Adey, W. R., *Biological effects of electromagnetic fields*, J Cell Biochem, **51** (4), 410-416 (1993)
- Alison, J. M. and Sheppard, R. J., *Dielectric properties of human blood at microwave frequencies*, Phys. Med. Biol. **38**, 971-978 (1993)
- Asami, K., Hanai, T. and Koizumi, N., *Dielectric approach to suspensions of ellipsoidal particles covered with a shell in particular reference to biological cells*, Japanese J. Appl. Phys. **19**, 359-365 (1980)
- Ballario, C., Bonincontro, A., Cametti, C., Rosi, A. and Sportelli, L., *Conductivity of normal and pathological human erythrocytes (homozygous beta-thalassemia) at radiowave frequencies*, Z. Naturforsch. [C]. **39**(1-2), 160-166 (1984)
- Bao, J. Z., Davis C. C. and Schmuckler R. E., *Frequency domain impedance measurements of erythrocytes*, Biophys. J. **617**, 1427-34 (1992)
- Bawin, S. M. et al., *Amplitude-modulated, very high frequency (VHF) electric fields*, Neurosci Res Program Bull, **15** (1), 36-8 (1977)
- Bawin, S. M. et al., *Influences of sinusoidal electric fields on excitability in the rat hippocampal slice*, Brain Res, **323** (2), 227-37 (1984)
- Becker, R. O. and Marino, A. A., *Electromagnetism and Life*, State University of New York Press, Albany, New York (1982)
- Beebe, S. J. et al., *Nanosecond, high-intensity pulsed electric fields induce apoptosis in human cell*, FASEB J., **17** (11), 1493-1495 (2003)
- Beebe, S. J. et al., *Nanosecond pulsed electric fields modulate cell function through intracellular signal transduction mechanisms*, Physiol. Meas., **25** (4), 1077-1093 (2004)
- van Beek, L. K. H., *Dielectric behaviour of heterogeneous systems* in Progress in Dielectrics (Heywood, London) **7**, 69-114 (1960)
- Bialek, W. and Goldstein, R. F., *Do vibrational spectroscopies uniquely describe protein dynamics? The case for myoglobin*, Biophys. J. **48**, 1027-1044 (1985)
- Blackman, C. F. et al., *Induction of calcium-ion efflux from brain tissue by radiofrequency radiation: effect of sample number and modulation frequency on the power-density window*, Bioelectromagnetics, **1** (1):35-43 (1980)

- Blundell, T., Barlow, D., Borkakoti, N. and Thorton, J., *Solvent-induced distortions and the curvature of α -helices*, Nature **306**, 281-283 (1983)
- Bone, S. and Bogumil, Z., *Bioelectronics*, John Wiley & Sons, Chichester (1992)
- Bordi, F., Cametti, C. and di Biasio, A., *Electrical Conductivity Behavior of Poly(ethylene oxide) in Aqueous Electrolyte Solutions*, J. Phys. Chem., **92**, 4772-4777 (1988)
- Bordi, F., Cametti, C. and di Biasio, A., *Determination of cell membrane passive electrical properties using frequency domain dielectric spectroscopy technique. A new Approach*, Biochimica et Biophysica Acta **1028** (2), 201-204 (1990)
- Bordi, F., Cametti, C., Gili, T., *Dielectric spectroscopy of erythrocyte cell suspensions A comparison between Looyenga and Maxwell-Wagner-Hanai effective medium theory formulations*, Journal of Non-Crystalline Solids, **305** (1-3): 278-284 (2002)
- Böttcher, C. J. F., van Belle, O.C., Bordewijk, P., Rip, A., *Theory of Electric Polarization, Vol. I*, Elsevier, Amsterdam, (1993)
- Böttcher, C. J. F. and Bordewijk, P., *Theory of Electric Polarization, Vol. II*, Elsevier, Amsterdam, (1996)
- Bruggemann, D. A. G., *Berechnung verschiedener Physikalischer Konstanten von heterogenen Substanzen*, Analen der Physik **24**, 636-679 (1935)
- Buchanan, T. J., Haggis, G.H., Hasted, J. B., and Robinson, B. G., *The dielectric estimation of protein hydration*, Proc. Roy. Soc. Lond. A **213**, 379 (1952)
- Buchner, R., Hefter, G. T., May, P. M., *Dielectric relaxation of aqueous NaCl solutions*, J. Phys. Chem. A, **103** (1): 1-9 (1999)
- Bugarzky, S. and Tangl, F., *Physikalisch-chemische Untersuchungen über die molekularen Konzentrationsverhältnisse des Blutserums*, Centralbl. f. Physiol. (Leipzig und Wien), 297-300 (1897); Archiv Physiol. (Bonn) **72**, 531-565 (1898)
- Cavallaro, A., *Costante Dielettrica e Biologia*, Arch. Sci. Biol., **20**, 567-587 (1934)
- Chen, T., Hefter, G., Buchner, R., *Dielectric spectroscopy of aqueous solutions of KCl and CsCl*, J. Phys. Chem. A, **107** (20): 4025-4031, (2003)
- Chew, W. C. and Sen, P. N., *Dielectric enhancement due to electrochemical double layer: Thin double layer approximation*, J. Chem. Phys., **77**(9), 4683-4693 (1982)
- Chew, W. C., *Dielectric enhancement and electrophoresis due to an electrochemical double layer: A uniform approximation*, J. Chem. Phys., **80** (9), 4541-4550 (1984)
- Clar, E. J., Cambrai, M. and Sturelle, C., *Study of skin horny layer hydration and restoration by impedance measurement*, Cosmet. Toilettries **97**, 33-40 (1982)
- Clausius, R., *Die mechanische Behandlung der Elektrizität*, Vieweg, Braunschweig (1879)
- Cole, K. S. and Cole, R. H., *Dispersion and Absorption in Dielectrics, 1. Alternating Current Characteristics*, J. Chem. Phys. **9**, 341-351 (1941)
- Cole, K. S. and Cole, R. H., *Dispersion and Absorption in Dielectrics, 2. Direct Current Characteristics*, J. Chem. Phys. **10**, 98 (1942)

- Cole, K. S., *Membranes, Ions and Impulses. A chapter of classical biophysics*, Univ. of California Press, Berkeley and Los Angeles (1968)
- Cole, R. H. and Tombari, E., *Analysis of Electric Relaxation in Sodium Trisilicate and Lithium Fluoroborate Glasses from 10(2) to 10(9) HZ and 25 to 300-Degrees-C*, J. Non-Cryst. Solids **131-133**, 969 (1991)
- Conway, B. E., *Ionic Hydration in Chemistry and Biophysics (Studies in Physical and Theoretical Chemistry)*, Elsevier, Amsterdam (1981)
- Creasey, W. A. and Goldberg, R. B., *A new twist on an old mechanism for EMF bioeffects?*, EMF Health Report, **9** (2), 1-11 (2001)
- D'Inzeo *et al.*, *Microwave effect on acetylcholine-induced channels in cultured chick myotubes*, Bioelectromagnetics, **9**, 363-372 (1988)
- Davey, C.L. and Kell, D.B., *Low-frequency dielectric properties of cell suspensions*, in Electric Field Phenomena in Biological Systems (R. Paris, ed.), Institute of Physics Short Meetings **21**, 51-63. IOP Publishing, Bristol (1989)
- Davey, C. L., Markx, G. H. and Kell, D. B., *Substitution and spreadsheet methods for analysing dielectric spectra of biological systems*, Eur. Biophys. J. **18**, 255-265 (1990)
- Davey, C. L., Davey, H. M. and Kell, D. B., *On the dielectric properties of cell suspensions at high volume fractions*, Bioelectrochem. Bioenerg. **28**, 319-340 (1992)
- Davey, C. L. and Kell, D. B., *The low-frequency dielectric properties of biological cells*, in (D. Walz, H. Berg & G. Milazzo, eds) Bioelectrochemistry of Cells and Tissues, pp. 159-207, Birkhäuser, Zürich (1994)
- Davidson, D. W. and Cole, R. H., *Dielectric Relaxation in Glycerine*, J. Chem. Phys. **18**, 1417 (1950)
- Davidson, D. W. and Cole, R. H., *Dielectric Relaxation in Glycerol, Propylene Glycol, and n-Propanol*, J. Chem. Phys. **19**, 1484 (1951)
- Davies, C. W., *Ion Association*, Butterworth, London (1969)
- Debye, P., *Some Results of a Kinetic Theory of Insulators*, Phys. Z. **3**, 97 (1912)
- Debye, P., *Zur Theorie der Anomalen Dispersion im Gebiet der Langwelligen Elektrischen Strahlung*, Ber. D. Phys. Ges. **15**, 777 (1913)
- Debye, P., *Polar Molecules*, Chap. 5, Chemical Catalog Cy., New York. (1929)
- Devoto, G., *Ricerche sulla costante dielettrica dei liquidi. Nota III. Soluzioni acquose di alcuni composti organici*, Gazz. Chim. Ital., **60**, 520-530 (1930)
- Devoto, G., *Ricerche sulla costante dielettrica dei liquidi. Nota V. Soluzioni acquose di sostanze organiche*, Gazz. Chim. Ital., **61**, 897 (1931)
- Drude, P., *Zur Elektronentheorie der Metalle*, Ann. Phys. **1**, 566 (1900)
- Duck, F. A., *Physical Properties of Tissue*, Academic Press, London (1990)
- Dukhin, S. S., *Dielectric Properties of Disperse Systems*, Surface and Colloid Sci. **3**, 83 (1973)

- Dunning, W. J. and Shutt, W. J., *The dielectric constants of zwitterionic ions and polar molecules as related to pH*, Trans. Faraday Soc. **34**, 479-485 (1938)
- Durney, C. H., Massoudi, H., and Iskander, M. F., *Radiofrequency Radiation Dosimetry Handbook*, 4th Ed. Report USAFSAM-TR-85-73, October, Brooks AFB, TX:USAF SAM (1986)
- Dworakowska, B., Dolowy, K., *Ion channels-related diseases*, Acta Biochimica Polonica **47** (3), 685-703 (2000)
- Edwards, G. S., Davis, C. C., Saffer, J. D. and Swicord, M. L., *Resonant microwave absorption of selected DNA molecules*, Phys. Rev. Lett. **53**, 1284 (1984)
- Edwards, G. S., Davis, C. C., Saffer, J. D. and Swicord, M. L., *Microwave field driven acoustic modes in DNA*, Biophys. J. **47**, 799-807 (1985)
- Eigen, M. and Schwarz, G., *Ein Orientierungseffekt der elektrischen Leitung in Polyelektrolytlösungen*, Z. Phys. Chem. **4**, 516 (1955)
- Eisenberg, D. and Kauzmann, W., *The structure and properties of water*, Clarendon Press, Oxford (1969)
- Elias, P. M., Friend, D. S., *The permeability barrier in mammalian epidermis*, J. Cell Biol., **65**, 180-191 (1975)
- Elias, P. M., *Epidermal lipids, barrier function, and desquamation*, J. Invest. Dermatol., **80**, 44s-49s (1983)
- Elliott, S. R., *A.c. conduction in amorphous chalcogenide and pnictide semiconductors*, Adv. Phys **36**, 135 (1987)
- Elliott, S. R., *Special Issue – Structure and Transport of Ionic Glasses – Preface – Workshop on Structure and Transport of Ionic Glasses*, Philos. Magn. B **60**, 777, (1989)
- Elliott, S. R., *Use of the modulus formalism in the analysis of ac conductivity data for ionic glasses*, J. Non-Cryst. Solids **170**, 97 (1994)
- Ellison, W. J., Lamkaouchi, K., Moreau J. M., *Water: A dielectric reference*, Journal of Molecular Liquids **68**, 171-279, (1996)
- Enders, A. and Nimtz, G., *Dielectric Relaxation Study of Dynamic Properties of Hydrated Phospholipid Bilayers*, Phys. Chem. **88**, 512-517 (1984)
- Essex, C. G., Symonds, M. S., Sheppard, R. J. and Grant, E. H., *Five-component Dielectric Dispersion in Bovine Serum Albumin Solution*, Phys. Med. Biol., **22**(6), 1160-1167 (1977)
- Falkenhagen, H., *Theorie der Elektrolyte*, Hirzel, Leipzig (1971)
- Fatt, P., *An Analysis of the Transverse Electrical Impedance of Striated Muscle*, Proc R Soc Lond B Biol Sci. **159**, 606–651 (1964)
- Fertig, N., Klau, M., George, M., Blick, R. H., Behrends, J. C., *Activity of single ion channel proteins detected with a planar microstructure*, Appl. Phys. Lett. **81** (25), 4865-4867 (2002)

- Fertig, N. *et al.*, *Microstructured apertures in planar glass substrates for ion channel research*, *Receptors Channels*, **9** (1), 29-40 (2003)
- Fishman, H. M., *Linearity, Admittance and Ion Conduction in Nerve Membrane* in *Interactions between Electromagnetic Fields and Cells* (Chiabrera, A., Nicolini, C., Schwan, H.P. eds.) Plenum Press: New York **97**, 339–355 (1985)
- Fixman, M., *Thin double layer approximation for electrophoresis and dielectric response*, *J. Chem. Phys.*, **78**, 1483 (1983)
- Foster, K. R., Schwan, H. P., *Dielectric Permittivity and Electric Conductivity of Biological Materials* in *Handbook of Biological Effects of Electromagnetic Fields*, Polk, Charles (ed.) and Postow, Elliot (ed.), CRC Press, Boca Raton (1986)
- Foster, K. R., Epstein, B. R. and Gealt, M. A., *Resonances in the dielectric absorption of DNA?*, *Biophys. J.*, **52**, 421-425, (1987)
- Foster, K. R., Schwan, H. P., *Dielectric properties of tissues and biological materials: a critical review*, *Crit Rev Biomed Eng.* **17**(1), 25-104 (1989)
- Foster, K. R., Schwan, H. P., *Dielectric Properties of Tissues* in *Handbook of Biological Effects of Electromagnetic Fields*, 2nd Edition, Polk, Charles (ed.) and Postow, Elliot (ed.), CRC Press, Boca Raton (1996)
- Franks, F., *Water – a comprehensive treatise*, Vol 1., Plenum, London (1972)
- Fricke, H., *A Mathematical Treatment of the Electric Conductivity and Capacity of Disperse Systems. I. The Electric Conductivity of a Suspension of Homogeneous Spheroids*, *Phys. Rev.* **24**, 575-587 (1924)
- Fricke, H., *A Mathematical Treatment of the Electric Conductivity and Capacity of Disperse Systems. II. The Capacity of a Suspension of Conducting Spheroids Surrounded by a Nonconducting Membrane for a Current of Low Frequency*, *Phys. Rev.* **26**, 678-681 (1925a)
- Fricke, H., *The electrical capacity of suspensions with special reference to blood*, *J. Gen. Physiol.* **9**, 137–152 (1925b)
- Fricke, H. and Morse, S., *The Electric Resistance and Capacity of Blood for Frequencies between 800 and 4 Million Cycles*, *J. Gen. Physiol.*, **9**, 153-167 (1925c)
- Fricke, H. and Curtis, H. J., *The dielectric properties of water-dielectric interphases*, *J. Phys. Chem.* **41**, 729 (1937)
- Fricke, H., *The Maxwell-Wagner dispersion of ellipsoids*, *J. Phys. Chem.* **57**, 934 – 937 (1953a)
- Fricke, H., *Relation of the permittivity of biological cell suspensions to fractional cell volume*, *Nature* **172**, 731-732 (1953b)
- Fricke, H., *The Electric Permittivity of a Dilute Suspension of Membrane-Covered Ellipsoids*, *J. Appl. Phys.* **24** (5), 644-646 (1953c)
- Fricke, H., *The complex conductivity of a suspension of stratified particles of spherical cylindrical form*, *J. Phys. Chem.* **59**, 168-170 (1955)

- Fröhlich, H., *The Biological Effects Of Microwaves and Related Questions*, Adv. Electron. Electron Phys., **53**, 85-152 (1980)
- Fröhlich, H. and Kremer, F., *Coherent Excitations in Biological Systems*, Springer, Heidelberg (1983)
- Fulcher, G. S., *Analysis of recent measurements of the viscosity of glasses*, J. Am. Ceram. Soc. **8**, 339 (1923)
- Funke, K., *Debye-Hückel-type relaxation processes in solid ionic conductors: The model*, Sol. St. Ionics **18/19**, 183 (1986)
- Gabriel, C., Grant, E. H. and Young, I. R., *Use of time domain spectroscopy for measuring dielectric properties with a coaxial probe*, J. Phys. E.: Sci. Instrum. **19**, 843-846 (1986)
- Gabriel, C., Grant, E. H., Tata, R., Brown, T. R., Gestblom, B. and Noreland, E., *Microwave-Absorption in Aqueous-Solutions of DNA*, Nature **328** (6126) 145-146 (1987)
- Gabriel C., Grant, E. H., Tata, R., Brown, T. R., Gestblom, B. and Noreland, E., *Dielectric behaviour of aqueous solutions of plasmid DNA at microwave frequencies*, Biophys. J., **55**, 29-34 (1989)
- Gabriel, C., Gabriel, S., Corthout, E., *The dielectric properties of biological tissues: 1. Literature survey*, Phys. Med. Biol. **41**(11), 2231-2249 (1996a)
- Gabriel, S., Lau, R.W. and Gabriel, C., *The dielectric properties of biological tissues: 2. Measurements in the frequency range 10 Hz to 20 GHz*, Phys. Med. Biol. **41**(11), 2251-2269 (1996b)
- Gabriel, S., Lau, R.W. and Gabriel, C., *The dielectric properties of biological tissues: 3. Parametric models for the dielectric spectrum of tissues*, Phys. Med. Biol. **41**(11), 2271-2293 (1996c)
- Geddes, L. A. and Baker, L. E., *The specific resistance of biological material – a compendium of data for the biomedical engineer and physiologist*, Med. Biol. Eng. **5**(3), 271-93 (1967)
- Glover, I. D., Moss, D. S., Tickle, I. J., Pitts, J. E., Haneff, I, Wood, S. P. and Blundell, T. L., *Anisotropic thermal motion and polypeptide secondary structure studied by X-ray analysis at 0.98Å resolution*, Adv. Biophys. **20**(6022), 1-12 (1985)
- Goodman, R. *et al.*, *Exposure of human cells to electromagnetic fields: effect of time and field strength on transcript level*, Electro-Magnetobiology, **11**, 19 (1992)
- Goodman, E. M. *et al.*, *Effects of electromagnetic field on molecules and cells*, Int. Rev. Cytol., **158**, 279-338 (1995)
- Gougerot, L., Foucher, M., *La membrane de l'hématie est-elle. un diélectrique parfait?* Ann. Phys. Biol. Med. **6**, 17-42 (1972)
- Grant, E. H., *The Structure of Water Neighboring Proteins, Peptides, and Amino Acids as Deduced from Dielectric Measurements*, Ann. NY Acad. Sci. **125**, 418-27 (1965)

- Grant, E. H., *Dielectric dispersion in bovine serum albumin*, J. Mol. Biol. **19**, 133-139 (1966)
- Grant, E. H., Mitton, B. G. R., South, G. P. and Sheppard, R. J., *An investigation by dielectric methods of hydration in myoglobin solutions*, Biochem. J. **139**, 375-380 (1974)
- Grant, E. H., Sheppard, R. J., and South, G. P., *Dielectric Behaviour of Biological Molecules in Solution*, Oxford University Press, Oxford (1978)
- Grant, E. H., McLean, V. E. R., Nightingale, N. R. V., Sheppard, R. J. and Chapman, M. J., *Dielectric behavior of water in biological solutions: Studies on myoglobin, human low-density lipoprotein, and polyvinylpyrrolidone*, Bioelectromagnetics **7**, 151-62 (1986)
- Grosse, C. and Foster, K. R., *Permittivity of a suspension of charged spherical particles in electrolyte solution*, J. Phys. Chem. **91**, 3073 – 3076 (1987)
- Grosse, C., *Permittivity of a suspension of charged spherical particles in electrolyte solution. II. Influence of the surface conductivity and asymmetry of the electrolyte on the low and high frequency relaxations*, J. Phys. Chem. **92**, 3905-3910 (1988)
- Grosse, C. and Schwan H. P., *Cellular membrane potentials induced by alternating fields*, Biophys. J. **63** (6), 1632-1642 (1992)
- Grunert, M., Borngen, L. and Nimtz, G., *Structural Phase-Transition due to a Release of Bound Water in Phospholipid-Bilayers at Temperature below 0-Degrees-C*, Ber. Bunsenges Phys. Chem. **88** 608-12 (1984)
- Haggis, G. H., Hasted J., B. and Buchanan, T., J., *Dielectric Properties of Water in Solutions*, J. Chem. Phys., **20**, 1452-1464 (1952)
- Hallenga, K, Grigera, J.R. and Berendsen, H.J.C., *Influence of Hydrophobic Solutes on the Dynamics Behavior of Water*, J. Phys. Chem. **84**, 2381–2390 (1980)
- Hanai, T., *Electrical properties of emulsions*, in Emulsion science. Academic: London, (Sherman, P.H., ed.) Ch. 5, 354-47 (1968)
- Hanai, T., Asami, K. and Kiozumi, N., *Dielectric theory of concentrated suspensions of shell-spheres in particular reference to the analysis of biological cell suspensions*, Bull. Inst. Chem. Res., Kyoto Univ. **57**, 297-305 (1979)
- Hanss, M., *Measurement of the electrode dispersion in very low frequency DNA solutions*, Biopolymers **4**(9), 1035-1041 (1966)
- Hasted J., B., Ritson, D., M. and Collie, C., H., *Dielectric Properties of Aqueous Ionic Solutions. Part I and II*, J. Chem. Phys., **16**, 1-21 (1948)
- Hasted J., B. and Roderick, G., W., *Dielectric Properties of Aqueous and Alcoholic Electrolytic Solutions*, J. Chem. Phys., **29**, 17-26 (1958)
- Hasted, J. B., *Aqueous Dielectrics*, Chapman and Hall, London (1973)
- Havriliak, S and Negami, S., *A complex plane analysis of alpha-dispersions in some polymer systems*, J. Polymer Sci. C **14**, 99 (1966)

- Heida, T. *et al.*, *Investigating membrane breakdown of neuronal cells exposed to nonuniform electric fields by finite-element modeling and experiments*, IEEE Trans Biomed Eng., **49** (10), 1195-203 (2002)
- Hill, N. E., Vaughan, W. E., Price, A. H. and Davies, M., *Dielectric Properties and molecular behaviour*, Van Nostrand, London (1969)
- Hill, R. M., *Poole-Frenkel conduction in amorphous solids*, Philos. Mag. **23**, 59-86 (1971)
- Hille, B., *Ionic Channels of excitable membranes*, 3rd ed. Sunderland, MA:Sinauer Associates (2001)
- von Hippel, A. R., *Dielectrics and Waves*, John Wiley & Sons, New York (1954)
- Höber, R., *Eine Methode die Elektrische Leitfähigkeit im Inneren von Zellen zu messen*, Arch. Gesamt. Physio. Mensch. **133**, 237-59 (1910)
- Hubbard, J. B., Onsager L., Van Beek, W. M. and Mandel M., *Kinetic Polarization Deficiency in Electrolyte Solutions*, Proc. Natl. Acad. Sci. U S A, **74**(2), 401-4 (1977)
- Hubbard, J. B., Colonomos P. and Wolynes, P. G., *Molecular theory of solvated ion dynamics. III. The kinetic dielectric decrement*, J. Chem. Phys. **71**, 2652 (1979)
- Hubbard, J. B. and Kayser R. F., *Dielectric friction and dielectric dispersion in electrolyte solutions with spin*, J. Chem. Phys. **74**, 3535 (1981)
- Ingram, P. and Jerrard, H. G., *Theories of the dielectric properties of macromolecular solutions*, Sci. Progress, **49**, 651 (1961)
- Irimajiri, A., Hanai, T. and Inouye, A., *A dielectric theory of "multi-stratified shell" model with its application to a lymphoma cell*, J. Theor. Biol. **78** (2), 251-269 (1979)
- Jakoubek, B and Rohlicek, V., *Changes of electrodermal properties in the "acupuncture points" on men and rats*, Physiol. Bohem., **31**, 143-9 (1982)
- Jaspard, F., Nadi, M., *Dielectric properties of blood: an investigation of temperature dependence*, Physiol. Meas., **23** (3), 547-554 (2002)
- Jaspard, F., Nadi, M., Rouane, A., *Dielectric properties of blood: an investigation of haematocrit dependence*, Physiol. Meas. **24** (1), 137-147 (2003)
- Jenin, P. C. and Schwan, H. P., *Some observations on the dielectric properties of hemoglobin's suspending medium inside human erythrocytes*, Biophys J. **30** (2), 285-293 (1980)
- Jonscher, A. K., *The 'universal' dielectric response*, Nature **267**, 673 (1977)
- Jonscher, A. K., *Dielectric Relaxations in Solids*, Chelsea Dielectrics Press, London, (1983)
- Kaatze, U., Henze, R., Eibl, H., *Motion of the Lengtened Zwitterionic Head Groups of Lecithin-C-16 Analogs in Aqueous Solutions as Studied by Dielectric Relaxation Measurements*, Biophys. Chem. **10**, 351-62 (1979a)

- Kaatze, U., Henze, R., Pottel, R., *Dielectric Relaxation and Molecular Motions in Lecithin-C-14 Water Systems*, Chem. Phys. Lipids **25** 149-77 (1979b)
- Kaatze, U., Lönnecke, V. and Pottel, R., *Dielectric spectroscopy on aqueous solutions of zinc(II) chloride. Evidence of ion complexes*, J. Phys. Chem. **91**, 2206-2211 (1987)
- Kaatze, U., *Microwave Dielectric Properties of Liquids. Invited Review*, Rad. Phys. Chem. **45**, 549-566 (1995)
- Kandel, E. R., Schwartz, J. H. and Jessell, T. M., *Principles of neural science*, 4th ed. McGraw-Hill, New York (2000)
- Kell, D. B., "The principles and potential of electrical admittance spectroscopy" in *Biosensors: Fundamentals and Applications* A.P.F. Turner, I. Karube, and G.S.Wilson, 429-470 (chapter 24) (1986a)
- Kell, D. B., *Collective Phenomena in Physics and Biophysics*, T. W. Barrett (ed.), Plenum Press, New York, (1986b)
- Kell, D. B. and Davey, C. L., *Conductimetric and Impedimetric Devices.*, in *Biosensors: a practical approach* (A.E.G. Cass, ed.), IRL Press, Oxford, 125-154 (1990)
- Kell, D. B. and Harris, C. M., *On the dielectrically observable consequences of the diffusional motions of lipids and proteins in membranes. 1. Theory and overview*, Eur. Biophys. J. **12**, 181-197 (1985a)
- Kell, D. B. and Harris, C. M., *Dielectric spectroscopy and membrane organisation*, J. Bioelectricity **4**, 317-348 (1985b)
- Kell, D.B. and Hitchens, G.D., *Coherent properties of the membranous systems of electron transport phosphorylation*. In: *Coherent Excitations in Biological Systems* (H. Fröhlich & F. Kremer, eds.), pp. 178-198. Springer, Berlin & Heidelberg (1983)
- Kell, D. B. and Westerhoff, H. V., *Catalytic facilitation and membrane bioenergetics*. In: *Organized Multi-enzyme Systems: Catalytic Properties* (G.R. Welch, ed.), pp. 63-139. Academic Press, New York (1985)
- Kirkwood, J. G., *Theory of Solutions of Molecules Containing Widely Separated Charges with Special Application to Zwitterions*, J. Chem. Phys. **2**, 351 (1934)
- Kirkwood, J. G., *The dielectric polarization of polar liquids*, J. Chem. Phys. **7**, 911-919 (1939)
- Kohlrausch, R., *Theorie des elektrischen Rückstandes in der Leidner Flasche*, Ann. Phys. **167**, 179 (1854)
- Kosterich, J. D., Foster, K. R. and Pollack, S. R., *Dielectric permittivity and electrical conductivity of fluid saturated bone*, IEEE Trans Biomed Eng. **30**(2), 81-6 (1983)
- Kosterich, J. D., Foster, K. R. and Pollack, S. R., *Dielectric properties of fluid saturated bone: effect of variation in conductivity of immersion fluid*, IEEE Trans Biomed Eng. **31**, 369 (1984)

- Kramers, H. A., *Die Dispersion und Absorption von Röntgenstrahlen*, Physik. Z. **30**, 52, 1929
- Kremer, F. and A. Schönhals, A., (eds.), *Broadband dielectric spectroscopy*, Springer, Berlin (2003)
- Kronig, R. de L., *On the Theory of Dispersion of X-Rays*, J. Opt. Soc. Am. **12**, 547-57 (1926)
- Kuntz, I. D., *Tertiary Structure in Carboxypeptidase*, J. Am. Chem. Soc. **94** (24), 8568-8572 (1972)
- Lamb, T. D., Matthews, H. R. and Torre, V., *Incorporation of calcium buffers into salamander retinal rods: a rejection of the calcium hypothesis of phototransduction*, J. Physiol. **372**, 315-349 (1986)
- Liburdy, R. P. and Magin, R. L., *Microwave-stimulated drug release from liposomes*, Radial. Res. **103**, 266-75 (1985)
- Lim, H. B. et al., *Effect of 900 MHz electromagnetic fields on nonthermal induction of heat-shock proteins in human leukocytes*, Radiat Res., **163** (1), 45-52 (2005)
- Linz, K. W. et al., *Membrane potential and currents of isolated heart muscle cells exposed to pulsed radio frequency fields*, Bioelectromagnetics, **20** (8), 497-511 (1999)
- Lorentz, H. A., *The Theory of Electrons* (2nd edition), Dover, New York (1952)
- Macdonald, J. R., (editor), *Impedance Spectroscopy*, John Wiley & Sons, New York, (1987)
- Macdonald, J. R., *Scaling and modeling in the analysis of dispersive relaxation of ionic materials*, J. Appl. Phys. **90**, 153 (2001)
- Macedo, P. B., Moynihan, C. T. and Bose, R., *The role of ionic diffusion in polarisation in vitreous ionic conductors*, Phys. Chem. Glasses **13**, 171 (1972)
- Malmberg, C. G., Maryott, A. A., *Dielectric constant of water from 0° to 100°C*, J. Res. Nat. Bur. Stand. **56**, 1-8 (1956)
- Mandel, M., *Dielectric properties of charged linear macromolecules with particular reference to DNA*, Ann. NY Acad. Science **74**, 303-11 (1977)
- Mandel, M., Vreugdenhil, T., van der Touw, F., *Electric permittivity and dielectric dispersion of low-molecular weight DNA at low ionic strength*, Biophys. Chem. **10**, 67, 1979
- Marquis, R. E. and Carstensen, E. L., *Electric-Conductivity and internal Osmolality of intact bacterial cells*, Journal of Bacteriology **113** (3), 1198-1206 (1973)
- Matzke, M. A. and Matzke, A. J. M., *Electric fields and the nuclear membrane*, BioEssays **18** (10), 849-850 (1996)
- Maxwell, J. C., *A Treatise on Electricity and Magnetism*, Vol. 1, Clarendon Press, Oxford (1881)

- McClendon, J. F., *Colloidal properties of the surface of the living cell. II. Electrical conductivity and capacity of blood to alternating currents of long duration and varying in frequency from 260 to 2,000,000 cycles per second*, J. Biol. Chem. **69**, 733-754 (1926)
- Miles, J. B. and Robertson, H. R., *The Dielectric Behaviour of Colloidal Particles with an Electric Double-Layer*, Phys. Rev. **40**, 583-591 (1932)
- Mossotti, O. F., *Discussione analitica sull'influenza che l'azione di un mezzo dielettrico ha sulla distribuzione dell'elettricit`a alla superficie di pi`u corpi elettrici disseminati in esso*, Mem. Mat. Fis. della Soc. Ital. di Sci. in Modena, **24** 49-74 (1850)
- Mott, N. F. and Davis, E. A., *Electronic Processes in Non-Crystalline Materials*, Clarendon Press, Oxford (1979)
- Moynihan, C. T., *Analysis of electrical relaxation in glasses and melts with large concentrations of mobile ions*, J. Non-Cryst. Solids **172-174**, 1395 (1994)
- Nagle, J. F. and Scott, H. L., *Biomembrane Phase Transitions*, Physics Today **31**(2), 38-47 (1978)
- Nagle, J. F., *Theory of the Main Lipid Bilayer Phase Transition*, Ann. Rev. Phys. Chem. **31**, 157-95 (1980)
- Neher, E. and Sakmann, B., *The patch clamp technique*, Scientific American, 44-51 (1992)
- Nörtemann, K., Hilland, J., Kaatze, U., *Dielectric properties of aqueous NaCl solutions at microwave frequencies*, J. Phys. Chem. A, **101**, 6864-6869 (1997)
- Ohmine, I and Tanaka, H., *Fluctuation, relaxations, and hydration in liquid water – Hydrogen-Bond rearrangement dynamics*, Chem. Rev. **93**(7), 2545-2566 (1993)
- O'Konski, C. T., *Effect of Interfacial Conductivity on Dielectric Properties*, J. Chem. Phys. **23**, 1559 (1955)
- O'Konski, C. T., *Electric Properties of Macromolecules v. Theory of Ionic Polarization in Polyelectrolytes*, J. Chem. Phys. **64**, 605 (1960)
- Olivotto, M., Arcangeli, A., Carlà, M. and Wanke, E., *Electric fields at the plasma membrane level: A neglected element in the mechanisms of cell signalling*, BioEssays **18** (6), 495-504 (1996)
- Oncley, J. L., *Studies of the Dielectric Properties of Protein Solutions. I. Carboxyhemoglobin*, Am. Chem. Soc. **60**, 1115-23 (1938)
- Oncley, J. L., *The electrical moments and relaxation times of proteins as measured from their influence on the dielectric constant of solutions* in Proteins, Amino Acids and Peptides (E J Cohen and J T Edsall, ed., New York: Reinhold), 543-68 (1943)
- Onsager, L., *Electric Moments of Molecules in Liquids*, J. Am. Chem. Soc. **58**, 1486-1493 (1936)
- Panagopoulos, D. J. et al., *A mechanism for action of oscillating electric fields on cells*, Biochem. Biophys. Res. Commun., **272** (3), 634-640 (2000)

- Panagopoulos, D. J. *et al.*, *Mechanism for action of electromagnetic fields on cells*, Biochem. Biophys. Res. Commun., **298**, 95-102 (2002)
- Pauling, L., Corey, R. B. and Branson, H. R., *The Structure of Proteins: Two Hydrogen-Bonded Helical Configurations of the Polypeptide Chain*, PNAS **37**, 235-240, (1951)
- Pauly, H. und Schwan, H. P., *Über die Impedanz einer Suspension von Kugelförmigen Teilchen mit einer Schale – Ein Modell für das Dielektrische Verhalten von Zellsuspensionen und von Proteinlösungen*, ZS f. Naturforschung B, **14**, 125 (1959)
- Pauly, H., Packer, L., and Schwan, H. P., *Electrical Properties of Mitochondrial Membranes*, J. Biophys. Biochem. Cytol. **7**, 589-601 (1960)
- Pauly, H. and Schwan, H.P., *Dielectric properties and ion mobility in erythrocytes*, Biophys. J. **6**(5), 621–639 (1966)
- Pennock, B. E. and Schwan, H. P., *Further observations on the electrical properties of hemoglobin-bound water*, J. Phys. Chem. **73**, 2600-2610 (1969)
- Pethig, R., *Dielectric and Electronic Properties of Biological Materials*, Chichester: Wiley (1979)
- Pethig, R., *Dielectric Properties of Biological Materials: Biophysical and Medical Applications*, IEEE Trans. Elect. Insul. **EI-19**(5), 453-473 (1984)
- Pethig, R. and Kell, D. B., *The passive electrical properties of biological systems: their significance in physiology, biophysics and biotechnology*, Phys Med Biol. **32**(8), 933-70 (1987)
- Pfutzner, H., *Dielectric Analysis of Blood by Means of a Raster-Electrode Technique*, Med. Biol. Eng. Computing **22**(2), 142-146 (1984)
- Phelan, A. M. *et al.*, *Modification of membrane fluidity in melanin-containing cells by low level microwave radiation*, Bioelectromagnetics, **13**, 131-146 (1992)
- Pottel, R., Gopel, K. D., Henze, R., Kaatze, U. and Uhrendort, V., *The dielectric permittivity spectrum of aqueous colloidal phospholipid solutions between 1 kHz and 60 GHz*, Biophys. Chem. **19**, 233-44 (1984)
- Lord Rayleigh, *On the Influence of Obstacles arranged in Rectangular Order upon the Properties of a Medium*, Phil. Mag. **34**, 481 (1892)
- Redwood, W. R., Takashima, S., Schwan, H. P. and Thompson, T. E., *Dielectric studies on homogeneous phosphatidylcholine vesicles*, Biochim. Biophys. Acta **255**, 557-66 (1972)
- Repacholi, M. H., *Low-level exposure to radiofrequency electromagnetic fields: health effects and research needs*, Bioelectromagnetics, **19**, 1-19 (1998)
- Roling, B., Happe, A., Funke, K. and Ingram, M. D., *Carrier Concentrations and Relaxation Spectroscopy: New Information from Scaling Properties of Conductivity Spectra in Ionically Conducting Glasses*, Phys. Rev. Lett. **78**, 2160 (1997)

- Roling, B., *What do electrical conductivity and electrical modulus spectra tell us about the mechanisms of ion transport processes in melts, glasses, and crystals?*, J. Non-Cryst. Solids **244**, 34 (1999)
- Rosen, L. A., Baygents, J. C. and Saville, D. A., *The interpretation of dielectric response measurements on colloidal dispersions using the dynamic Stern layer model*, J. Chem. Phys. **98** (5), 4183-4194 (1993)
- Rosendal, T., *Concluding studies on the conducting properties of human skin to alternating current*, Acta Physiol. Scand. **9**, 39-45 (1945)
- Russell D. N. and Webb S. J., *Metabolic response of Danaus archippus and Saccharomyces cerevisiae to weak oscillatory magnetic fields*, Int. J. Biometeorol., **25**, 257-262 (1981)
- Salter, D. C., *Quantifying Skin Disease and Healing in vivo using Electrical Impedance Measurements*, in Non-Invasive Physiological Measurements, Medical Physics Series, Rolfe, P. (ed.), London: Academic Press, pp. 21-64, (1979)
- Schanne, O. F. and P-Ceretti, E. R., *Impedance Measurements in Biological Cells*, Toronto: Wiley (1978)
- Schiener, B., Böhmer, R., Loidl, A. and Chamberlin, R. V., *Nonresonant spectral hole burning in the slow dielectric response of supercooled liquids*, Science **274**, 752-754 (1996)
- Schmidt-Rohr, K. and Spiess, H. W., *Nature of nonexponential loss of correlation above the glass transition investigated by multidimensional NMR*, Phys. Rev. Lett. **66**, 3020 (1991)
- Schneider, U., Lunkenheimer, P., Pimenov, A., Brand, R. and Loidl, A., *Wide range dielectric spectroscopy on glass-forming materials: an experimental overview*, Ferroelectrics **249**, 89 (2001)
- Schurr, J. M., *On theory of dielectric dispersion of spherical colloidal particles in electrolyte solution*, J. Phys. Chem. **68** (9), 2407 (1964)
- Schwan, H. P. and Li, K., *Capacity and Conductivity of Body Tissues at Ultra-High Frequencies*, Proc IRE **41**, 1735-1740 (1953)
- Schwan, H. P., *Die elektrischen Eigenschaften von Muskelgewebe bei Niederfrequenz*, Z. Naturforsch. **9**, 245-51 (1954)
- Schwan, H. P., *Electrical Properties Of Tissue And Cell Suspensions*, in Advances in Biological and Medical Physics. Academy Press, New York (J.H. Lawrence. C.A. Tobias, eds.) 147-209 (1957a)
- Schwan, H. P. and Kay, C. F., *Capacitive Properties of Body Tissues*, Circ. Res. **5**, 439-443 (1957b)
- Schwan, H. P., Maczuk, J., *Electrical relaxation phenomena of biological cells and colloidal particles at low frequencies*, Proc. 1st Nat. Biophys. Conf., Columbus, Ohio, Yale University Press, New Haven, CT, 348-355 (1959)

- Schwan, H. P., Schwarz, G., Maczuk, J., Pauly, H., *On the low-frequency dielectric dispersion of colloidal particles in electrolyte solution*, J. Phys. Chem. **66**, 2626-35 (1962)
- Schwan, H. P., *Determination of Biological Impedances* in Physical Techniques in Biological Research, Academic Press, New York, W. L. Nastuk, (ed.), **6**, 323-406, (1963)
- Schwan, H. P., *Electrical properties of bound water* in Forms of Water in Biological Systems, Ann. NY Acad. Sci. **125**, 344-354 (1965a)
- Schwan, H. P., *Biophysics of Diathermy*, in Therapeutic Heat and Cold, S. Licht (ed.), Second Edition, Waverly Press, Baltimore MD, 63-125 (1965b)
- Schwan, H. P., Takashima, S., Miyamoto, V.K. and Stoeckenius, W., *Electrical properties of phospholipid vesicles*, Biophys. J. **10**(11), 1102-19 (1970)
- Schwan, H. P., Sheppard, R. J. and Grant, E. H., *Complex permittivity of water at 25°C*, J. Chem. Phys. **64**, 2257-2258 (1976)
- Schwan, H. P., *Electrical Properties of Cells: Principles, Some Recent Results and Some Unresolved Problems*, in The Biophysical Approach to Excitable Systems (W. S. Adelman and D. Goldman, eds.) New York, Plenum Press, 3-24 (1981a)
- Schwan, H. P., *Dielectric Properties of Biological Tissue and Physical Mechanisms of Electromagnetic Field Interaction* in Biological Effects of Nonionizing Radiation, ACS Symposium Series **157**, 109-13 (1981b)
- Schwan, H. P., *Electrical properties of blood and its constituents: alternating current spectroscopy*, Blut **46**(4), 185-197 (1983)
- Schwan, H. P., *Dielectric spectroscopy and electro-rotation of biological cells*, Ferroelectrics **86**, 205-233 (1988)
- Schwarz, G., *Zur Theorie der Leitfähigkeitsanisotropie von Polyelektrolyten in Lösung*, Z. Physik **145**, 563 (1956)
- Schwarz, G., *A theory of the low-frequency dielectric dispersion of colloidal particles in electrolyte solution*, J. Phys. Chem. **66**, 2636-42 (1962)
- Shack, R., Ph.D. Thesis, University of London (1972)
- Shepherd, J. C. W. and Buldt, G., *Zwitterionic dipoles as a dielectric probe for investigating head group mobility in phospholipid membranes*, Biochim. Biophys. Acta **514**, 83-94 (1978)
- Sheridan, R. P., Levy, R. M., and Salemme, F. R., *α -helix dipole model and electrostatic stabilization of 4- α -helical proteins*, Proc. Natl. Acad. Sci. USA **79**, 4545-4549 (1982)
- Sidebottom, D. L., Green, P. F. and Brow, R. K., *Comparison of KWW and Power Law Analyses of an Ion-Conducting Glass*, J. Non-Cryst. Solids **183**, 151 (1995)
- Singh, B., Smith, C. W. and Hughes, R., *In vivo dielectric spectrometer*, Med. Biol. Eng. Comput. **17**(1), 45-60 (1979)
- Smith, S. R., and Foster, K. R., *Dielectric Properties of Low-Water-Content Tissues*, Phys. Med. Biol. **30**(9), 965-973 (1985)

- Somogyi, B., Welch, G. R. and Damjanovich, S., *The dynamic basis of energy transduction in enzymes*, Biochim Biophys Acta. **768**(2), 81-112 (1984)
- South, G. P. and Grant, E. H., *Electric dispersion and dipole moment of myoglobin in water*, Proc. R. Soc. Ser. A **328**, 371-387 (1972)
- Staveren, M. P. J. van, Brom, H. B. and de Jongh, L. J., *Metal-cluster compounds and universal features of the hopping conductivity of solids*, Phys. Rep. **208**, 1 (1991)
- Stewart, G. N., *The relative volume or weight of corpuscles and plasma in blood*, J. Physiol. (London) **24**, 356-373 (1899)
- Stoy, R. D., Foster, K. R. and Schwan, H. P., *Dielectric properties of mammalian tissues from 0.1 to 100 MHz; a summary of recent data*, Phys. Med. Biol. **27**, 501-513, (1982)
- Stoylov, S. P., *Light Scattering By Water Solutions of Small Particles Subjected to an Electric Field*, Proc. 4th Int. Cong. Surface Active Substances **2**, 171, Gordon and Breach, New York (1967)
- Stuchly, M. A. and Stuchly, S. S., *Dielectric-Properties of biological substances – Tabulated*, J. Microwave Power, **15**, 19-26 (1980)
- Stuchly, M. A., Stuchly, S. S., Liburdy, R. P. and Rousseau, D. A., *Dielectric properties of liposome vesicles at the phase transition*, Phys. Med. Biol., **33** (11), 1309-1324 (1988)
- Surowiec, A., Stuchly, S. S., Keaney, M. and Swarup, A., *Dielectric polarisation of animal lung at radio frequencies* IEEE Trans Biomed Eng. **34**, 64-67 (1987a)
- Surowiec, A., Stuchly, S. S., Eidus, L. and Swarup, A., *In vitro dielectric properties of human tissues at radiofrequencies*, Phys. Med. Biol. **32**, 615-621 (1987b)
- Swicord, M. L., and Davis, C. C., *Microwave absorption of DNA between 8 and 12 GHz*, Biopolymers **21**, 2453-2460 (1982)
- Swicord, M. L., and Davis, C. C., *An optical method of investigating the microwave absorption characteristics of DNA and other biomolecules in solution*, Bioelectromagnetics **4**, 21-42 (1983)
- Takashima, S., *Dielectric dispersions of protein solutions in viscous solvent*, J. Polymer Sci. **56**, 257-263 (1962)
- Takashima, S., *Dielectric dispersion of DNA*, J. Mol. Biol. **7**, 455-467 (1963)
- Takashima, S., *Dielectric dispersion of albumins. Studies of denaturation by dielectric measurement*, Biochimica et Biophysica Acta, **79** (3), 531-538 (1964)
- Takashima, S., *Dielectric dispersion of deoxyribonucleic acid 2*, J. Phys. Chem. **70**, 1372 (1966)
- Takashima, S., *Mechanism of dielectric relaxation in DNA*, Adv. Chem. Ser. **63**, 232-252 (1967)
- Takashima, S., Gabriel, C., Sheppard R. J., Grant E. H., *Dielectric behavior of DNA solution at radio and microwave frequencies (at 20 °C)* Biophys. J. **46**, 29-34 (1984)

- Takashima, S., Asami K., and Takahashi Y., *Frequency domain studies of impedance characteristics of biological cells using micropipet technique. I. Erythrocyte*, *Biophys. J.* **54**, 995-1000 (1988)
- Takashima, S., *Electrical Properties of Biopolymers and Membranes*, Adam Hilger, Bristol, UK (1989)
- Tammann, G. and Hesse, W., *Die Abhängigkeit der Viskosität von der Temperatur bei unterkühlten Flüssigkeiten*, *Z. Anorg. Allg. Chem.* **156**, 245 (1926)
- Trautman, E. D. and Newbower R. S., *A practical analysis of the electrical conductivity of blood*, *IEEE Trans. Biomed. Eng.* **30**, 141-54 (1983)
- Velick, S. and Gorin, M., *The Electrical Conductance of Suspensions of Ellipsoids and its Relation to the Study of Avian Erythrocytes*, *J. Gen. Physiol.* **23**, 753-771 (1940)
- Vogel, H., *Temperature dependence of viscosity of melts*, *Phys. Z.* **22**, 645-646 (1921)
- Vogel, E., Pauly, H., *Dynamic dipole polarizability of a dielectric sphere in an electrolyte*, *J. Chem. Phys.* **89** (6), 3823-3829 (1988a)
- Vogel, E., Pauly, H., *Cluster expansion in density for the dielectric constant of a colloidal model suspension*, *J. Chem. Phys.* **89** (6), 3830-3835 (1988b)
- Volger, J., *Dielectric Properties of Solids in Relation to Imperfections* in *Progress in Semiconductors*, **4**, 205, Heywood, London (1960)
- Wada, A., *The α -helix as an electric macro-dipole*, *Adv. Biophys.* **9**, 1-63 (1976)
- Wagner, K. W., *Zur Theorie der unvollkommenen Dielektrika*, *Ann. Phys., Leipzig*, **345**, 817-855 (1913)
- Wagner, K. W., *Erklärung der dielektrischen Nachwirkungsvorgänge auf Grund Maxwellscher Vorstellungen*, *Arch. f. Elektrotech.* **2**, 371-387 (1914)
- Wagner, K. W., *Dielektrische Eigenschaften von verschiedenen Isolierstoffen*, *Arch. f. Elektrotech.* **3**, 67-106 (1915)
- Wagner, K. W., *Die Isolierstoffe der Elektrotechnik*, Ed. H. Schering. Springer, Berlin (1924)
- Weaver, J. R., Parry, R. W., *Dipole Moment Studies*, *Inorg. Chem.* **5** (5), 703 (1966)
- Welch, G. R., (ed.) *The Fluctuating Enzyme*, New York, Wiley (1986)
- Williams, G. and Watts, D. C., *Non-symmetrical dielectric relaxation behaviour arising from a simple empirical decay function*, *Trans. Faraday Soc.* **66**, 80 (1970)
- Wyman, J. and McMeekin, T. L., *The Dielectric Constant of Solutions of Amino Acids and Peptides*, *J. Am. Chem. Soc.*, **55**, 908 (1933)
- Yamamoto, T. and Yamamoto, Y., *Electrical properties of the epidermal stratum corneum*, *Med. Bio. Eng.* **14**(2), 151-8 (1976)
- Young, R. C., Ganellin, C. R., Graham, M. J. and Grant, E. H., *The dipole moments of 1,3-dimethylthiourea, 1,3-dimethyl-2-cyanoguanidine and 1,1-bis-methylamino-2-nitroethene in a aqueous solution*, *Tetrahedron* **38**(10), 1493-7, (1982)

- Zhao, T. X., Jacobson, B., Ribbe, T., *Triple-frequency method for measuring blood impedance*, *Physiol. Meas.* **14**, 145–156 (1993a)
- Zhao, T. X., Lockner, D., *Electrical impedance and erythrocyte sedimentation rate (ESR) of blood*, *Biochim. Biophys. Acta.* **1153**(2), 243-8 (1993b)
- Zwanzig, R., *Dielectric Friction on a Moving Ion. II. Revised Theory*, *J. Chem. Phys.* **52**, 3625 (1970)

II THEORETISCHE MODELLIERUNG

Vor einem Vergleich makroskopischer Gesetzmäßigkeiten der dielektrischen Gewebeeigenschaften mit denen auf zellulärem bzw. subzellulärem Bereich muss eine Evaluierung unterschiedlicher Modellierungen mikroskopischer Wirkungsweisen erfolgen. Dabei ist die Wirkungsweise nicht ionisierender, elektromagnetischer Strahlung auf biologische Systeme aktueller Forschungsgegenstand. Hier sind im besonderen nicht-thermische Wirkungen zu nennen. In der Literatur findet sich eine Vielzahl biologischer Effekte, die mit sehr unterschiedlichen theoretischen Beschreibungen erklärt werden.

Nach einer allgemeinen Einführung, in welcher Grundlagen der klassischen Elektrodynamik aufgezeigt werden, werden zunächst Zellmodelle vorgestellt, mit deren Hilfe abgeschätzt werden kann, in welchem Teil der Zelle die eingestrahlte elektrische Leistung absorbiert wird. Es stellt sich heraus, dass trotz des geringen Volumenanteils ein Großteil der Leistung in der Zellmembran dissipiert wird. Dies hat eine lokale Erwärmung zur Folge, die ihrerseits auch wieder Einfluss auf die Stärke des thermischen Rauschens hat. Innerhalb eines deterministischen Modells wird aufgezeigt, dass die daraus resultierenden Schwellenwerte der elektrischen und magnetischen Feldstärken für die Beeinträchtigung biologischer Funktionen höher sind, als die experimentell beobachteten Werte. Innerhalb einer Reihe von Modellen wird der Einfluss von thermischen Fluktuationen diskutiert.

1 Elektromagnetische Felder

Hier wollen wir uns auf zeitlich variierende nicht-ionisierende elektromagnetische Felder, die sich räumlich ausbreiten, beschränken. Dabei sollen die Frequenzen der Felder ν kleiner als die des sichtbaren Lichtes ($3.9 \cdot 10^{14}$ Hz) und die Wellenlängen λ im Vakuum größer als 350 nm sein.

1.1 Ausbreitung elektromagnetischer Felder

Die Ausbreitung elektromagnetischer Felder wird durch die vier Maxwell-Gleichungen beschrieben (z. B. Jackson 1998). Sie lauten in SI-Einheiten:

$$\vec{\nabla} \cdot \vec{D} = \rho \quad (1)$$

$$\vec{\nabla} \cdot \vec{B} = 0 \quad (2)$$

$$\vec{\nabla} \times \vec{E} = -\frac{\partial \vec{B}}{\partial t} \quad (3)$$

$$\vec{\nabla} \times \vec{H} = \frac{\partial \vec{D}}{\partial t} + \vec{j} \quad (4)$$

\bar{E} bezeichnet dabei die elektrische Feldstärke, \bar{B} die magnetische Induktion, \bar{D} die dielektrische Verschiebung und \bar{H} die magnetische Feldstärke. \bar{j} ist die elektrische Stromdichte und ρ die Ladungsdichte. Elektrische Feldstärke und dielektrische Verschiebung bzw. magnetische Feldstärke und magnetische Induktion sind über die Polarisation \bar{P} bzw. Magnetisierung \bar{M} miteinander verknüpft: $\bar{D} = \epsilon_0 \bar{E} + \bar{P}$ bzw. $\bar{B} = \mu_0 \bar{H} + \bar{M}$. ϵ_0 ist die elektrische Feldkonstante und μ_0 die magnetische Feldkonstante des Vakuums. Oft wird eine lineare Abhängigkeit approximiert, d. h. $\bar{D} = \epsilon \epsilon_0 \bar{E}$ bzw. $\bar{B} = \mu \mu_0 \bar{H}$ und $\bar{j} = \sigma \bar{E}$, wobei ϵ die relative Permittivität, μ die relative Permeabilität und σ die elektrische Leitfähigkeit meinen. Entsprechend der Maxwellgleichungen sind die magnetischen und elektrischen Felder miteinander gekoppelt und eine Variation des einen Feldes impliziert eine Veränderung des anderen Feldes.

Aus den Maxwellgleichungen können für verschwindende elektrische Stromdichte und „lineare Medien“ die Wellengleichungen für elektrisches Feld und magnetische Induktion abgeleitet werden:

$$\frac{\partial^2 E}{\partial t^2} = \frac{1}{\epsilon \epsilon_0 \mu \mu_0} \frac{\partial^2 E}{\partial x^2} \quad (5)$$

$$\frac{\partial^2 B}{\partial t^2} = \frac{1}{\epsilon \epsilon_0 \mu \mu_0} \frac{\partial^2 B}{\partial x^2} \quad (6)$$

B bezeichnet dabei die z-Komponente der magnetischen Induktion und E die y-Komponente des elektrischen Feldes. Die Ausbreitung eines zeitlich variierenden Feldes erfolgt demnach im Vakuum mit der Lichtgeschwindigkeit

$$c = \frac{1}{\sqrt{\epsilon_0 \mu_0}} \quad (\text{hier in Richtung der positiven x-Achse}).$$

Ebene transversale Wellen sind Lösungen obiger Wellengleichungen (5) und (6):

$$E = E_0 \sin\left(\omega \frac{x}{c} - \omega t\right) \quad (7)$$

$$B = B_0 \sin\left(\omega \frac{x}{c} - \omega t\right) \quad (8)$$

ω ist dabei die Kreisfrequenz der elektromagnetischen Welle. An einem vorgegebenen Ort (z. B. an einer Zellmembran) variiert demnach das elektromagnetische Feld sinusförmig mit der Frequenz $\nu = \frac{\omega}{2\pi}$. In theoretischen Beschreibungen (lokale Theorien) findet daher oft ein sinusförmig oszillierendes Feld Anwendung.

Die Intensität (zeitlich gemittelte Energiestromdichte - gemittelte Leistung pro Flächenelement) \bar{J} einer ebenen elektromagnetischen Welle ist durch das Produkt von gemittelter Energiedichte und Ausbreitungsgeschwindigkeit gegeben (Panagopoulos und Margaritis, 2003; Jackson, 1998):

$$\bar{J} = \bar{c} \varepsilon_0 \bar{E}^2 \quad (9)$$

wobei $\bar{E}^2 = \frac{1}{2} E_0^2$ das mittlere Quadrat der Feldstärke E meint. Aus der Intensität einer ebenen Welle kann demnach die Feldstärkenamplitude berechnet werden.

1.2 Ausbreitung in biologischen Systemen

Die Ausbreitung eines elektrischen Feldes in biologischen Systemen wird durch die Beweglichkeit freier Ladungen (Ionen) modifiziert. Dieser Effekt hängt jedoch von der Frequenz ab und ist für kleinere Frequenzen am größten (Foster und Schwan, 1989; Adair, 1991). Auf Zeitskalen von einigen Mikrosekunden kompensieren bewegliche und gelöste Ionen externe langwellige Felder. Felder im Mikrowellenbereich führen im Zellinneren und im Zelläußeren zu einer Erwärmung durch Ankopplung an Schwingungen des Wassermoleküls. Eine ausführlichere Behandlung des Aspekts der Erwärmung wird in den folgenden Unterkapiteln gegeben.

2 Thermischer Effekt elektromagnetischer Felder

Geht man davon aus, dass elektromagnetische Strahlung nur dann einen Einfluss auf biologische Systeme hat, wenn die vom elektromagnetischen Feld abgegebene Energie größer ist, als die mittlere thermische Energie der beweglichen Teilchen (Moleküle und Ionen), könnte nur elektromagnetische Strahlung mit Wellenlängen kleiner als die des infraroten Lichts zu einem signifikanten Energieübertrag auf die Teilchen führen. Die mittlere thermische Energie ist von der Größenordnung $k_B T$, wobei T die absolute Temperatur und k_B die Boltzmann-Konstante ist. Diese Energie entspricht bei Raumtemperatur der eines Photons aus dem infraroten Wellenlängenbereich. Demnach könnten nur Wellen mit Wellenlängen kleiner als die des infraroten Lichts zu einer Erwärmung beitragen. Außer Acht gelassen werden hierbei jedoch Prozesse unter der Beteiligung mehrerer Photonen. Im Folgenden wird der Effekt der Temperaturerhöhung aufgrund von Strahlungsabsorption qualitativ diskutiert (Panagopoulos und Margaritis, 2003).

Bekanntlich emittiert und absorbiert ein Körper Photonen im gleichen Wellenlängenbereich (Kirchhoff-Theorem). Die Energieverteilung der emittierten Photonen ist nach Kirchhoff die gleiche wie die eines schwarzen Körpers, wobei nur ein frequenzabhängiger Skalierungsfaktor auftaucht. Dieser ist durch das Verhältnis von absorbierter Leistung und einfallender Leistung gegeben. Die Energiedichte eines schwarzen Körpers ist durch die Plancksche Strahlungsformel gegeben. Das Maximum dieser Verteilungsdichte liegt bei Umgebungstemperaturen im infraroten Bereich. In diesem Bereich sollte eine Absorption von Photonen am effizientesten sein. Daneben hängt die absorbierte Leistung eines schwarzen Körpers nach dem Stefan-Boltzmann-Gesetz von der absoluten Temperatur (der vierten Potenz) ab. In Kapitel 3 werden Modelle vorgestellt mit deren Hilfe Vorhersagen über die lokalen Temperaturerhöhungen auf subzellulärem Niveau aufgrund der (lokalen) Leistungsabsorption des biologischen Materials möglich sind.

Als Maß für die Absorption nicht ionisierender, elektromagnetischer Strahlung durch biologisches Material wurde die *spezifische Absorptionsrate* (SAR) eingeführt. Diese ist durch das Verhältnis von absorbierter Leistung P und der Masse m des biologischen Systems definiert (z. B. Panagopoulos und Margaritis, 2003):

$$SAR = \frac{P}{m} \quad (10)$$

Für ein homogenes Medium ist diese für konstanten Druck durch

$$SAR = c_p \frac{\delta T}{\delta t} \quad (11)$$

gegeben. Dabei ist δT die Temperaturänderung in der Zeit δt und c_p der spezifische Wärmekoeffizient für konstanten Druck. Da in festen und wässrigen Körpern quasi keine Volumenänderungen auftreten, sind der spezifische Wärmekoeffizient für

konstantes Volumen und der für konstanten Druck gleich. Es soll bemerkt werden, dass diese Beschreibung der Temperaturänderung ein stark vereinfachtes Bild von den realen System zeichnet: So kann es nur approximativ für den Fall sehr kurzer Expositionszeiten angewendet werden, für welche der Wärmetransport vernachlässigbar ist (Foster *et al.*, 1998). Außerdem finden mechanische und chemische Umwandlungen, die durch ein externes Feld getrieben werden könnten, keine Berücksichtigung.

Der SAR-Wert kann auch durch die Feldstärke E oder die Stromdichte j im Gewebe ausgedrückt werden:

$$SAR = \frac{\sigma E^2}{\rho} \quad (12)$$

$$SAR = \frac{j^2}{\rho\sigma} \quad (13)$$

Hierbei ist σ die spezifische Leitfähigkeit und ρ die Dichte des Gewebes. Diese Formulierungen ((10) - (13)) erlauben es, den SAR-Wert experimentell auf verschiedene Weisen zu messen. Er hängt vom biologischen Material und von der Frequenz der elektromagnetischen Strahlung ab.

Die Spezifische Absorptionsrate findet in der Beurteilung der Schädlichkeit elektromagnetischer Strahlung Verwendung (s. oben), wobei hier sicherlich eine einseitige Fokussierung auf thermische Effekte stattfindet. Nichtsdestotrotz soll hier nicht unerwähnt bleiben, dass eine eventuelle Temperaturerhöhung auch zu veränderten Rauscheigenschaften auf molekularem Niveau (z. B. bezüglich der Schaltcharakteristik von Ionenkanälen) führt, vgl. Kapitel 6. Im folgenden Kapitel soll auf subzellulärem Niveau erklärt werden, in welchen Zellarealen die eingestrahlte Leistung tatsächlich absorbiert wird.

3 Leistungsdissipation in biologischen Zellen

Es soll auf den Aspekt der Erwärmung näher eingegangen werden und insbesondere sollen Modelle vorgestellt werden, die es erlauben Aussagen darüber zu treffen, wo die eingestrahlte elektromagnetische Leistung dissipiert/absorbiert wird. Aus der dissipierten Leistung kann mit Hilfe des SAR-Wertes die Temperaturerwärmung ermittelt werden, vgl. Gl. (10) und Gl. (11). Analog findet man, dass die dissipierte Leistung pro Volumenelement als Produkt aus der Leitfähigkeit und dem Quadrat der mittleren elektrischen Feldstärke gegeben ist, vgl. Gl. (10) und Gl. (12). Damit ist es dann möglich aus der absorbierten Leistung und der frequenzabhängigen Leitfähigkeit die Feldstärke lokal zu bestimmen.

3.1 Mechanismen

Für sub-MHz-Frequenzen des elektrischen Feldes wird die Leistung hauptsächlich aufgrund des Reibungskoeffizienten der Dynamik geladener Teilchen dissipiert, wohingegen für größere Frequenzen (MHz and GHz) die Energiedissipation durch die Rotation und „Verbiegung“ molekularer Dipole erfolgt (Kotnik und Miklavcic, 2000). Dies führt zu einer Energiedissipation aufgrund der dielektrischen Relaxation. Es wird eine effektive, frequenzabhängige Leitfähigkeit und eine effektive, frequenzabhängige dielektrische Permittivität eingeführt (Kotnik und Miklavcic, 2000):

$$\sigma(\omega) = \sigma(0) + \omega \sum_{n=1}^N \frac{\Delta \varepsilon_n \omega \tau_n}{1 + \omega^2 \tau_n^2} \quad (14)$$

$$\varepsilon(\omega) = \varepsilon(0) - \sum_{n=1}^N \frac{\Delta \varepsilon_n \omega^2 \tau_n^2}{1 + \omega^2 \tau_n^2}, \quad (15)$$

wobei ω die Kreisfrequenz des elektrischen Feldes, N die Anzahl der einzelnen Relaxationsprozesse des Materials, $\Delta \varepsilon_n$ der Beitrag des n -ten Prozesses und τ_n die dazugehörige Relaxationszeit ist.

Parameter	Symbol	Value	Reference
Cell radius	R	10 μm	
Membrane thickness	d	5 nm	Alberts et al., 1994
Conductivity of cytoplasm	σ_i	0.3 S/m	Harris and Kell, 1983; Hölzel and Lamprecht, 1992
Conductivity of membrane	σ_m	3×10^{-7} S/m	Gascoyne et al., 1993
Conductivity of extracellular medium	σ_e	1.2 S/m	Sunderman, 1945 ^a
Permittivity of cytoplasm	ε_i	6.4×10^{-10} As/Vm	see ε_e
Permittivity of membrane	ε_m	4.4×10^{-11} As/Vm	from Gascoyne et al., 1993 ($\varepsilon_m/\varepsilon_0 = 5.0$)
Permittivity of extracellular medium	ε_e	6.4×10^{-10} As/Vm	from Büchner et al., 1999 ^b ($\varepsilon_e/\varepsilon_0 = 72.5$)

^aConductivity of blood serum at 35 °C.

^bPermittivity of 0.154 M NaCl at 35 °C.

Tab. 1: (aus Kotnik und Miklavcic, 2000) Verwendete Parameterwerte

In Kapitel 3 bezeichnet - entsprechend der Originalliteratur: Kotnik und Miklavcic, 2000 - ε die "absolute" Permittivität und sollte nicht mit der sonst in diesem Bericht verwendeten dimensionslosen relativen Permittivität verwechselt werden. Die "absolute Permittivität" ergibt sich aus dem Produkt von relativer Permittivität und der

Permittivität des Vakuums ϵ_0 . Die von Kotnik und Miklavcic verwendeten Werte für die Zellparameter, Leitfähigkeiten, Permittivitäten, sowie der Charakteristika der Relaxationsprozesse finden sich in den Tabellen 1 und 2.

Parameter	Symbol	Value	Reference
Dielectric relaxation of cytoplasm and extracellular medium			
First relaxation time	τ_{re}	6.2×10^{-12} s	Büchner et al., 1999 ^a
First relaxation step	$\Delta\epsilon_e$	5.9×10^{-10} As/Vm	Büchner et al., 1999 ^a
Dielectric relaxation of membrane			
First relaxation time	τ_{m1}	3.0×10^{-9} s	Klösge et al., 1996
First relaxation step	$\Delta\epsilon_{m1}$	2.3×10^{-11} As/Vm	from Klösge et al., 1996 ^b
Second relaxation time	τ_{m2}	4.6×10^{-10} s	Klösge et al., 1996
Second relaxation step	$\Delta\epsilon_{m2}$	7.4×10^{-12} As/Vm	from Klösge et al., 1996 ^b

^aPermittivity of 0.154 M NaCl at 35 °C.

^bScaled by $\epsilon_m/\epsilon = 0.125$, where $\epsilon_m = 4.4 \times 10^{-11}$ As/Vm is the static permittivity of lipid bilayer (see Table 1), and $\epsilon = 3.5 \times 10^{-10}$ As/Vm is the static permittivity of the multilamellar sample used by Klösge et al. [Klösge et al., 1996].

Tab. 2: (aus Kotnik und Miklavcic, 2000) Verwendete Parameterwerte

Die Anzahl der beteiligten Relaxationsprozesse hängt vom betrachteten Material und dessen Homogenität ab. In biologischen Geweben wird es daher zu Ungleichförmigkeiten in der (Orts-)Verteilung der dissipierten Leistung kommen. Das gilt auch auf zellulärem bzw. subzellulärem Niveau, d. h. die in der Zellmembran deponierte Leistung wird sich von der im Zytoplasma absorbierten Leistung unterscheiden (Kotnik und Miklavcic, 2000).

Es soll bemerkt werden, dass neben den elektrischen Charakteristika jedes Material auch eine magnetische Permeabilität hat, die auch mit einer Energiedissipation verbunden ist. Da aber biologische Materialien eine sehr kleine magnetische Permeabilität aufweisen, können diesbezügliche Reibungsverluste gegenüber den „elektrischen“ Verlusten vernachlässigt werden (Kotnik und Miklavcic, 2000).

Im Folgenden werden nun aufeinander aufbauende Modelle vorgestellt, mit deren Hilfe es möglich ist, Aussagen über die in der Zellmembran absorbierte Leistung zu treffen.

3.2 Statisches elektrisches Feld

Im einfachsten Fall befindet sich eine kugelförmige Zelle in einem konstanten und homogenen elektrischen Feld. Es wird nicht nur idealisiert eine kugelförmige Geometrie angenommen, sondern auch konstante elektrische Leitfähigkeiten in Zell-Äußerem, -Membran, und -Innerem, die durch σ_e , σ_m und σ_i gegeben sind. Durch das Feld wird eine Potentialdifferenz an der Zellmembran V_m – im Folgenden Membranspannung genannt – induziert (Kotnik *et al.*, 1997):

$$V_m(\theta) = f_s E_e R \cos(\theta), \quad (16)$$

wobei R der Zellradius ist, θ der Winkel gegenüber der Richtung des äußeren elektrischen Feldes E_e (s. Abb. 1) und f_s der Strukturfaktor (Kotnik *et al.*, 1997):

$$f_s = \frac{3\sigma_e \left[3dR^2\sigma_i + (3d^2R - d^3)(\sigma_m - \sigma_i) \right]}{2R^3(\sigma_m + 2\sigma_e) \left(\sigma_m + \frac{1}{2}\sigma_i \right) - 2(R-d)^3(\sigma_e - \sigma_m)(\sigma_i - \sigma_m)}. \quad (17)$$

Hier ist d die Membrandicke. Unter physiologischen Bedingungen ist die Leitfähigkeit in der Zellmembran viel kleiner als die außerhalb oder innerhalb der Zelle, und die Dicke vernachlässigbar gegenüber dem Radius. Dann nimmt der dimensionslose Faktor f_s den Wert 1,5 an (Foster und Schwan, 1986). Nimmt man die Membran als homogen an, kann mit Hilfe der Membranspannung ein Wert für das elektrische Feld im Inneren der Membran und die dissipierte Leistung bestimmt werden. Es zeigt sich nun, dass die in der Membran dissipierte Leistung größer ist als diejenige im Zelläußeren und aufgrund von Abschirmungseffekten viele Größenordnungen größer als diejenige im Zytoplasma (Kotnik und Miklavcic, 2000).

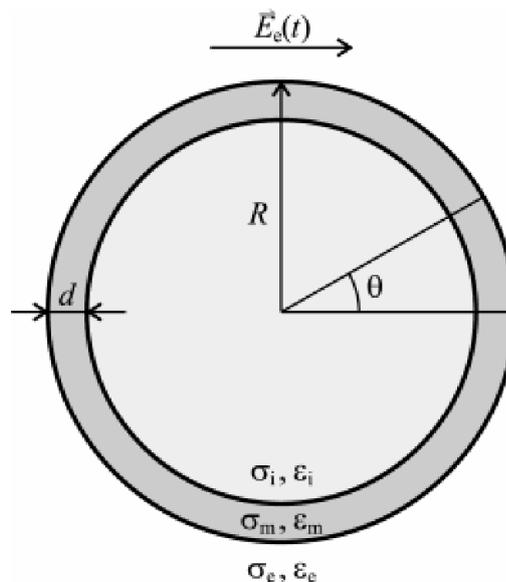


Abb.1: (aus Kotnik und Miklavcic, 2000). Modell einer idealisierten Zelle.

3.3 Elektrisches AC-Feld

Ein grundlegender Unterschied zum statischen Fall besteht darin, dass ein oszillierendes Feld einen oszillierenden Stromfluss von Ladungsträgern verursacht, was eine veränderte Energiedissipation zur Folge hat.

3.3.1 Modell erster Ordnung

Ein auf Pauly und Schwan zurückgehendes Modell (Pauly und Schwan, 1959) verallgemeinert den statischen Fall durch Einführung einer komplexen und frequenzabhängigen Membranleitfähigkeit, d. h. $\sigma_m \rightarrow \sigma_m + i\omega\varepsilon_m$. Im stationären Fall erhält man dann approximativ für die Membranspannung folgenden Ausdruck für $\theta = 0$ (Pauly und Schwan, 1959):

$$V_m(\omega) = f_s E_e R \frac{1}{1 + i\omega\tau_m}, \quad (18)$$

wobei der Strukturfaktor f_s durch die gleiche Formel wie im Fall eines statischen Feldes gegeben ist. Im physiologischen Fall, d. h. $f_s \approx 1,5$, ergibt sich für die Zeitkonstante:

$$\tau_m = \frac{\varepsilon_m}{\frac{d}{R} \frac{2\sigma_i\sigma_e}{\sigma_i + 2\sigma_e} + \sigma_m}. \quad (19)$$

Für den nicht-stationären Fall findet sich die mathematische Beschreibung in (Kotnik *et al.*, 1998).

Dieses Modell sagt eine Membranspannung voraus, die für kleine Frequenzen, d. h. $\nu \leq 1/(2\pi\tau_m)$, (bis in den oberen kHz-Bereich) nahezu konstant ist, und dann linear mit der Frequenz abnimmt. Bei Frequenzen größer als 1MHz ist die in der Zellmembran dissipierte Leistung vernachlässigbar (Kotnik *et al.*, 1998). Das Modell vernachlässigt kapazitive Effekte des Zell-inneren und des -äußeren. Außerdem berücksichtigt es nur Dissipation aufgrund des elektrischen Widerstandes. Zusammenfassend kann dieses Modell erster Ordnung nur für Frequenzen im sub-MHz-Bereich Anwendung finden.

3.3.2 Modell zweiter Ordnung

In einem weiterentwickelten Modell wird auch für das Zellinnere und das Zelläußere eine komplexe, frequenzabhängige Leitfähigkeit angenommen, d. h. $\sigma_m \rightarrow \sigma_m + i\omega\varepsilon_m$, $\sigma_i \rightarrow \sigma_i + i\omega\varepsilon_i$, $\sigma_e \rightarrow \sigma_e + i\omega\varepsilon_e$. Approximativ ist dann die Membranspannung durch folgenden Ausdruck gegeben (Kotnik und Miklavcic; 2000):

$$V_m(\omega) = f_s E_e R \frac{1 + i\omega\tilde{\tau}_m}{1 + i\omega\tau_m}, \quad (20)$$

mit

$$\tilde{\tau}_m = \frac{\varepsilon_i + 2\varepsilon_e}{\sigma_i + 2\sigma_e}. \quad (21)$$

Im Gegensatz zum Modell erster Ordnung, sagt dieses Modell für hohe Frequenzen, d. h. $\nu \geq 1/(2\pi\tilde{\tau}_m)$, eine Konvergenz zu einer von Null verschiedenen Membranspannung voraus. Die Aussagen dieses Modells bezüglich der in der Membran dissipierten Energie entsprechen im Wesentlichen denen des Modells erster Ordnung, da auch hier Dissipation aufgrund dielektrischer Relaxation vernachlässigt wird (Kotnik und Miklavcic, 2000).

3.3.3 Erweitertes Modell zweiter Ordnung

In den vorangehenden Modellen wurde stets die Permittivität als frequenzunabhängig approximiert. Um dielektrische Relaxationseffekte approximativ zu berücksichtigen, werden nun die effektiven frequenzabhängigen Dielektrizitätskonstanten und die effektiven, frequenzabhängigen Leitfähigkeiten verwendet (Gl. (14) und Gl. (15)). Die Ersetzung der Leitfähigkeiten $\sigma_m \rightarrow \sigma_m(\omega) + i\omega\varepsilon_m(\omega)$, $\sigma_i \rightarrow \sigma_i(\omega) + i\omega\varepsilon_i(\omega)$, $\sigma_e \rightarrow \sigma_e(\omega) + i\omega\varepsilon_e(\omega)$ in den Gleichungen des Modells zweiter Ordnung führt zu einem drastisch veränderten Verhalten für hohe Frequenzen. Ein Anstieg der effektiven Membranleitfähigkeit für hohe Frequenzen kompensiert das Abfallen der Membranspannung, weshalb die in der Zellmembran dissipierte Leistung bei 1GHz ungefähr 50 mal größer ist als die Leistung im Zelläußeren und Zellinneren (vgl. Abb. 2). Bei noch höheren Frequenzen verursacht die dielektrische Relaxation der Wassermoleküle und der gelösten Ionen einen Anstieg der im Zytoplasma und Zelläußeren dissipierten Leistung, die bei ungefähr 20GHz die in der Membran absorbierte Leistung übertrifft (Kotnik und Miklavcic, 2000).

Für noch höhere Frequenzen wird die Wellenlänge der elektromagnetischen Welle vergleichbar mit der Zellausdehnung und auch das erweiterte Modell zweiter Ordnung stößt an seine Grenzen.

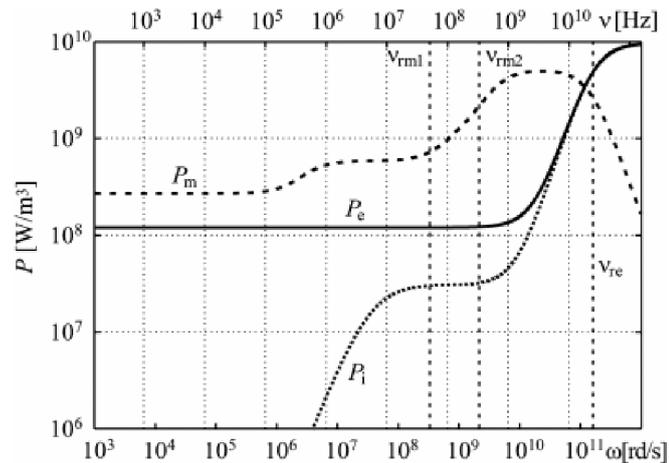


Abb.2: (aus Kotnik und Miklavcic, 2000): Frequenzabhängige in den jeweiligen Bereichen (Zelläußerem (P_e), Zellmembran (P_m) und Zytoplasma (P_i)) dissipierte Leistung. Es wurden Werte entsprechend Tab. 1 und 2 verwendet.

3.4 Energieabsorption in der Zellmembran

Betrachtet man die örtliche Verteilung der dissipierten Leistung, so erkennt man, dass ein Großteil der eingestrahelten Energie für Frequenzen bis zu einigen GHz in der Zellmembran dissipiert wird. Inwieweit diese Aussage auf Zellen mit komplexerer Geometrie und nicht-homogenem Zellinneren zutrifft, bleibt zu untersuchen. Daneben wurde in den oben vorgestellten Modellen eine homogene Lipiddoppelschicht angenommen. In realen Zellen übernehmen eingelagerte Proteine funktionale Rollen und können die Leistungsaufnahme der Zellmembran weiter modifizieren. Eine lokal erhöhte Leistungsaufnahme beeinträchtigt die Funktionsweise der Biomoleküle an dieser Stelle. In den folgenden Kapiteln soll auf die physiologische Funktion der Zellmembran eingegangen werden und Modelle aufgezeigt werden, die den Einfluss eines externen elektrischen Feldes auf die Funktionsweise von Ionenkanälen beschreiben.

4 Physiologische Grundlagen und Erzeugung von Aktionspotentialen

4.1 Membranpotential

Innerhalb und außerhalb einer Zelle liegen Ionen (hauptsächlich K^+ , Na^+ , Cl^- und Ca^{+2}) in wässriger Lösung vor. Zellinneres und –äußeres wird durch die Plasmamembran, eine Lipiddoppelschicht, getrennt (Alberts *et al.*, 2002; Lodish *et al.*, 1999; Wolfe, 1993; Campbell *et al.*, 1999). In dieser sind unter anderem Proteine eingelagert, die jeglichen Transport ermöglichen und zu einem bestimmten Grad auch kontrollieren. Bezüglich des Ionenaustauschs kann man passive und aktive Transportmoleküle unterscheiden. Unter Verwendung von Energie, die durch die Umwandlung von ATP („adenosine triphosphat“) in ADP („adenosine diposphat“) freigesetzt wird, werden spezifisch Ionen von einer Seite der Zellmembran zur anderen transportiert (aktive Ionenkanäle). Dies führt zu unterschiedlichen Ionenkonzentrationen innerhalb und außerhalb der Zelle. Passive Transportproteine ermöglichen nun einen konzentrationsgetriebenen, selektiven Transport von Ionen. Dies erfolgt sehr spezifisch für die unterschiedlichen Arten von Ionen. Durch den Transfer von elektrischer Ladung durch die Zellmembran wird eine elektrische Potentialdifferenz zwischen Zellinnerem und –äußerem aufgebaut. Dabei ist das elektrische Potential im Zellinneren (Ψ_i) stets negativ im Vergleich zum Potential außerhalb der Zelle (Ψ_a). Die Differenz definiert eine Spannung und wird als elektrisches Membranpotential bezeichnet:

$$\Delta\Psi := \Psi_a - \Psi_i \quad (22)$$

Typische Werte für $\Delta\Psi$ sind 20 bis 200mV (Alberts *et al.*, 2002).

Im Gleichgewicht kompensieren sich der Ionenstrom I_{Konz} , der durch den Konzentrationsgradient verursacht wird, und der Ionenstrom $I_{\Delta\Psi}$ verursacht durch das aufgebaute elektrische Feld. Der Ionenstrom ergibt sich aus dem ersten Fick-schen Gesetz. Er ist proportional zum Gradient der Konzentration einer spezifischen Art von Ionen. Aus der Potentialdifferenz ergibt sich eine resultierende elektrische Kraft, die ihrerseits $I_{\Delta\Psi}$ hervorruft. Aus $I_{Konz} = I_{\Delta\Psi}$, folgt die Nernst-Gleichung (z. B. Lodish *et al.*, 1999; Hille, 2001):

$$\Delta\psi = \psi_a - \psi_i = -\frac{k_B T}{q} \ln \frac{c_a}{c_i} \quad (23)$$

Hier ist k_B die Boltzmann-Konstante, T die absolute Temperatur, q die elektrische Ladung der spezifischen Ionen und c_i bzw. c_a die Ionenkonzentration innerhalb bzw. außerhalb der Zelle. Aus der Nernst-Gleichung (23) kann die von einer bestimmten Art von Ionen hervorgerufene Potentialdifferenz zwischen der Außen- und Innenseite einer Zellmembran für die Gleichgewichtssituation berechnet werden. Das gesamte Membranpotential ergibt sich dann als Summe der Potentialdifferenzen aller beteiligten Ionensorten.

Bemerkt werden soll hier, dass ein Membranpotential nicht nur an der die gesamte Zelle begrenzenden Plasmamembran auftritt, sondern auch an Membranen, die innerhalb der Zelle bestimmte funktionale Einheiten (Mitochondrien, Golgi-Apparat, endoplasmatisches Reticulum, Zellkern usw.) umschließen.

4.2 Spannungsabhängige Ionenkanäle

In der Klasse der passiven Transportproteine unterscheidet man konzeptionell Kanäle, die sich öffnen und schließen können, und solche, die stets als offene Poren in der Lipidmembran vorliegen (s. z. B. Lodish *et al.*, 1999). Die stets offenen Kanäle bestimmen in erster Linie die statischen Eigenschaften der Zellmembran, wie z. B. das Membranpotential in der "Ruhelage" ("at rest"). Für die zeitliche Dynamik und damit die eigentliche Signalverarbeitung einer Zelle sind die Ionenkanäle, die durch komplexe Konformationsänderungen entweder geschlossene oder offene Poren bilden, verantwortlich. Wie so genannte "single-channel-recordings" (Strommessungen an einzelnen Kanälen) zeigen, erfolgen die Übergänge zwischen den verschiedenen Konformationen spontan, d. h. zufällig (Sakmann und Neher, 1995). Die Wahrscheinlichkeit einen Übergang in einem vorgegebenen Zeitintervall zu beobachten, kann von anderen Parametern, wie z. B. der Konzentration eines bestimmten Botenstoffs, einer mechanischen Deformation der Zellmembran oder dem Membranpotential abhängen (Alberts *et al.*, 2002; Hille, 2001). Die theoretische Modellierung erfolgt mit Hilfe von Übergangsraten, wobei die Übergangswahrscheinlichkeit von einem in den anderen Konformationsszustand in einem kleinen Zeitintervall dann durch das Produkt der entsprechenden Übergangsrate und der Länge des Zeitintervalls gegeben ist (Hänggi *et al.*, 1990). Hängt die Übergangsrate von der Konzentration bzw. dem Vorhandensein eines bestimmten Botenstoffes (z. B. bestimmte Neurotransmitter, wie z. B. Acetylcholin, Glutamat oder Glycin) ab, so spricht man von Liganden-gesteuerten Ionenkanälen (Hille, 2001). Liganden-gesteuerte Kanäle findet man hauptsächlich in Synapsen von Nervenzellen. Bei mechanisch gesteuerten Ionenkanälen, so genannten mechanosensitiven Kanälen, zeigt die Wahrscheinlichkeit für das Öffnen des Kanals eine Abhängigkeit von mechanischen Reizen. Prominentes Beispiel für solche Systeme sind Haarzellen im Innenohr (Hudspeth *et al.*, 1989; Hille, 2001). Eine Veränderung des Membranpotentials, wie sie z. B. durch Einstrahlung eines elektromagnetischen Feldes verursacht wird, beeinflusst die Schaltcharakteristik spannungsabhängiger Ionenkanäle, deren Bedeutung in der Verarbeitung und dem Transfer elektrischer Signale (Nervenzellen) liegt.

In den folgenden Kapiteln sollen nun anhand theoretischer Überlegungen Effekte aufgezeigt und diskutiert werden, die zu einer Veränderung der Schaltcharakteristik der spannungsabhängigen Ionenkanäle führen könnten. Untersuchungen im Hodgkin-Huxley Modell zeigen nämlich, dass eine Veränderung der Membranspannung um nur wenige mV eine Auslösung eines Aktionspotentials (Nervenzellen) zur Folge hat und damit zu einer Beeinflussung der gesamten Signalverarbeitung von Zellen führt (Fall *et al.*, 2002; Keener *et al.*, 1998; Johnston und Wu, 1999).

4.3 Hodgkin-Huxley Modell

Mit einer Arbeit, für die die Autoren den Nobelpreis für Medizin erhielten, (Hodgkin und Huxley, 1952) gelang es Hodgkin und Huxley, basierend auf Untersuchungen zur Erzeugung von Aktionspotentialen in Axonen von Tintenfisch-Nervenzellen, ein empirisches Modell aufzustellen. Dieses so genannte Hodgkin-Huxley Modell findet und fand, um verschiedene Aspekte erweitert, auch heute noch breite Anwendung (z. B. Alberts *et al.*, 2002).

Hodgkin und Huxley schlugen ein elektrisches Ersatzschaltbild vor, welches die elektrischen Eigenschaften der axonalen Zellmembran bezüglich der Erzeugung und Propagation von Aktionspotentialen wiedergibt. Demnach wirkt die Plasmamembran, an deren Oberfläche Ionen lokalisiert sind, wie ein Kondensator mit Kapazität C . Offene Ionenkanäle ermöglichen einen spezifischen Transport von Ionen und damit von elektrischer Ladung von einer auf die andere Seite der Zellmembran, d. h. sie bilden einen Widerstand, zwischen den beiden Membranoberflächen. Aufgrund der vom Konzentrationsunterschied der Ionen innerhalb und außerhalb der Zelle verursachten Kraft auf die Ionen (vgl. 1. Fick'sches Gesetz), ist die elektrische Spannung nicht durch das Membranpotential gegeben, sondern durch eine renormierte Spannung, welche dann am „Widerstand“ anliegt. Im Ersatzschaltbild muss daher ein Batterieelement mit dem Widerstand in Serie geschaltet werden. Der Widerstandswert variiert zeitlich aufgrund der Schaltdynamik der Ionenkanäle. Für jeden Ionenkanaltyp und korrespondierende Ionenkanalsorte unterscheiden sich die Werte für Widerstand und effektive Spannung. Daher treten im Ersatzschaltbild mehrere, parallel geschaltete Widerstände auf, vgl. Abb. 3:

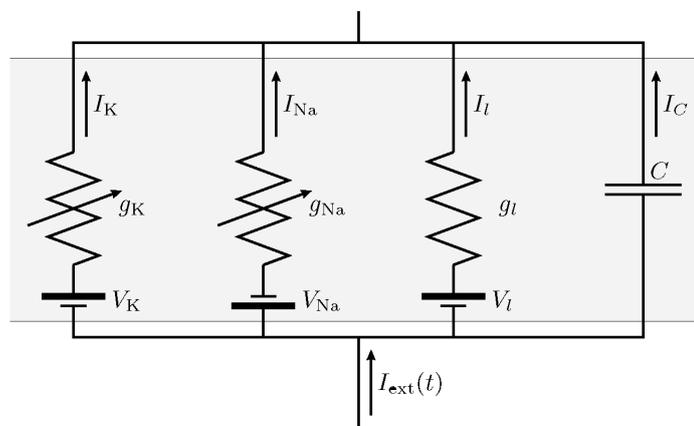


Abb.3: Ersatzschaltbild für die elektrischen Eigenschaften der Zellmembran entsprechend dem Hodgkin-Huxley-Modell. Dabei sind g_x , V_x und I_x die jeweiligen Leitfähigkeiten, „Umkehrpotentiale“ und Ionenströme. C gibt die Membrankapazitäten, I_C den kapazitiven Strom und I_{ext} den extern aufprägten Strom an.

Eine große Leistung der Autoren bestand darin, zum einen die für die Erzeugung von Aktionspotentialen relevanten Ionenkanäle (nämlich die spannungsabhängigen Natrium- und Kaliumionenkanäle) zu identifizieren und zum anderen ein Modell für die Dynamik vorzuschlagen, das erst sehr viel später mikroskopisch begründet werden konnte. Hodgkin und Huxley vermuteten richtig, dass die spannungsabhängigen Natrium- und Kaliumionenkanäle aus vier „Untereinheiten“ (gates) beste-

hen, die in je zwei Konfigurationen, nämlich einer offenen und einer geschlossenen, vorliegen können. Dabei trägt der gesamte Ionenkanal nur dann zur Membranleitfähigkeit bei, wenn alle vier „gates“ offen sind. Anhand von experimentellen Untersuchungen konnten für die einzelnen „gates“ die Abhängigkeiten der Übergangsraten von der Membranspannung und der Temperatur bestimmt werden.

Der Einfluss anderer Ionenkanäle kann innerhalb dieses Modells zusammengefasst werden. Die korrespondierende Leitfähigkeit ist dabei konstant.

Nach dem 1. Kirchhoffschen Gesetz kann nun anhand des Ersatzschaltbildes folgende Gleichung für die Dynamik des Membranpotentials aufgestellt werden (vgl. Abb. 3):

$$I_{\text{ext}}(t) = C \frac{dV}{dt} + g_{\text{Na}}^{\text{max}} m^3 h (V - V_{\text{Na}}) + g_{\text{K}}^{\text{max}} n^4 (V - V_{\text{K}}) + g_{\text{L}} (V - V_{\text{L}}) \quad (24)$$

Dabei sind $I_{\text{ext}}(t)$ ein extern auf die Zellmembran aufgeprägter Strom, $g_{\text{Na}}^{\text{max}}$ bzw. $g_{\text{K}}^{\text{max}}$ die maximale (d. h. alle Ionenkanäle sind offen) Natrium- bzw. Kaliumleitfähigkeit, g_{L} die konstante Leitfähigkeit verursacht durch alle anderen Ionenkanäle und V_{Na} , V_{K} und V_{L} die „Umkehrspannungen“, welche die Membranspannungen V angeben, für welche sich die Richtung des spezifischen „Ionenstroms“ durch den Konzentrationsunterschied bedingt umkehrt. m , h und n sind die so genannten Schaltvariablen („gating variables“), deren zeitliche Dynamik folgenden Gleichungen gehorchen (für $x = m, h$ oder n):

$$\frac{dx}{dt} = (1-x)\alpha_x(V) - x\beta_x(V). \quad (25)$$

Die jeweiligen Öffnungs- und Schließraten α_x, β_x hängen dabei in nicht-linearer Weise von der Spannung und der Temperatur ab.

Die Gleichungen (24) und (25) ermöglichen auf einem makroskopischen Niveau Vorhersagen über die Wirkung eines externen Stimulus auf die elektrischen Eigenschaften einer Zellmembran zu treffen. Die Erzeugung und Propagation von Aktionspotentialen kann damit erklärt werden.

4.4 Erzeugung von Aktionspotentialen im Hodgkin-Huxley Modell

Seit Veröffentlichung des Hodgkin-Huxley Modells wurde nicht nur das Feuerverhalten von anderen Zellen durch angepasste Modelle erklärt, sondern auch von theoretischer Seite innerhalb des Modells die Generierung von Aktionspotentialen für unterschiedliche externe Stimuli diskutiert. Als archetypisches Modell findet es auch heute noch breite Verwendung.

Für einen konstanten Antrieb $I_{\text{ext}}(t) = \text{const}$, wie er z. B. durch ein konstantes elektrisches Feld verursacht wird, beobachtet man zunächst eine Veränderung der Membranspannung, ohne dass es zur Ausbildung der charakteristischen Spikes kommt. Wird nun ein Schwellwert („Bifurkationspunkt“) überschritten, so beobachtet man ein periodisches Auftreten von Spikes, wobei die Frequenz dieses Feuerns

annähernd konstant bleibt (Hassard, 1978; Rinzel und Miller, 1980; Schmid *et al.*, 2003). Am Schwellwert findet eine so genannte „subkritische Hopf-Bifurkation“ statt. Diese wird unter anderem dadurch charakterisiert, dass für einen bestimmten Bereich unterhalb des Schwellwertes die oszillierende, feuernde Lösung und die stabile Fixpunktlösung coexistieren, d. h. man beobachtet eine Bistabilität. Je nach Anfangszustand wird man daher entweder ein oszillierendes Feuern oder eine konstante Membranspannung beobachten. Am sensitivsten ist das System, wenn der Stimulus in der Nähe (aber unterhalb) des Schwellwerts liegt.

Ein anderer Stimulus, der in theoretischen Untersuchungen Verwendung fand, ist der eines harmonischen, sinusförmigen Signals: $I_{\text{ext}}(t) = A \sin(\omega t)$. In diesem Fall beobachtet man, dass der Schwellwert von der Frequenz abhängt (Lee und Kim, 1999; Yu *et al.*, 2001; Kaplan *et al.*, 1996, Schmid *et al.*, 2003). Dieser ist für Frequenzen in der Nähe der intrinsischen Frequenz des Hodgkin-Huxley Systems ($\nu_0 \approx 84\text{Hz}$) am kleinsten. Im Raum der Antriebsparameter (Amplitude und Frequenz) findet man ein sehr vielseitiges Feuerverhalten mit einem komplexen Phasendiagramm. Es werden dabei Phasen anhand der pro Antriebsamplitude erzeugten Aktionspotentiale unterschieden. Die Anzahl der pro Antriebsamplituden erzeugten Aktionspotentiale kann dabei auch kleiner als 1 sein. In diesem Fall „schaukelt“ der externe Antrieb das System auf, bevor es zu einer „Entladung“ in Form eines Aktionspotentials kommt (Aihara *et al.*, 1984).

4.5 Einschränkungen zur Gültigkeit des Hodgkin-Huxley Modells

Trotz der massiven Verwendung des Hodgkin-Huxley Modells – oder vielleicht gerade deshalb – sollte man sich bewusst sein, dass es ein empirisches Modell zur Beschreibung einer ganz bestimmten experimentellen Situation ist. Das zugrunde liegende System ist das Axon einer Nervenzelle eines Tintenfisches („squid giant axon“). Daher können in diesem Modell gewonnene Vorhersagen nicht ohne weiteres auf andere Systeme übertragen werden.

Als rein deterministisches Modell wird der Einfluss des allgegenwärtigen intrinsischen Rauschens gänzlich vernachlässigt. In den letzten Jahren gab es eine Vielzahl von theoretischen Studien, die den Einfluss von verschiedensten Rauschquellen auf die Signalverarbeitung von Zellen untersuchten (White *et al.*, 2000; Schmid *et al.*, 2001; Jung und Shuai, 2001). Als Beispiele seien hier das synaptische Rauschen und das Kanalrauschen genannt. Während das synaptische Rauschen in den Synapsen der Nervenzellen seinen Ursprung findet, wird das Kanalrauschen durch Fluktuationen der Leitfähigkeit der Zellmembran verursacht. Die Modellierung des synaptischen Rauschens erfolgt dabei dadurch, dass dem externen Antrieb Rauschen überlagert wird. Soll das Kanalrauschen berücksichtigt werden, so muss das Hodgkin-Huxley Modell dahingehend erweitert werden, als dass die Anzahl der offenen Ionenkanäle bestimmt und zeitliche Fluktuationen berücksichtigt werden müssen.

Unabhängig davon, durch welchen Mechanismus hervorgerufen, verursacht Rauschen ein Verschwinden des oben angesprochenen Schwellwertes und es entstehen bereits ohne externen Antrieb rauschinduzierte, so genannte spontane Aktionspotentiale. Eine Berücksichtigung der Rauscheinflüsse ist daher für eine korrekte Beschreibung der elektrischen Eigenschaften der Zellmembran erforderlich.

5 Deterministisches Modell zur Erklärung eines biologischen Effekts von elektromagnetischen Feldern

Ein Modell zur Bewegung von geladenen Teilchen aufgrund eines anliegenden elektromagnetischen Feldes und deren Auswirkungen auf das Membranpotential einer Zelle wurden von Panagopoulos, Margaritis und Mitarbeitern diskutiert (Panagopoulos *et al.*, 2000; 2002; Panagopoulos und Margaritis, 2003). Vor allem für die Wirkung von ELF („extremely low frequency“) und VLF („very low frequency“) Strahlung sollte dieses Modell auch dann Anwendung finden, wenn die Stärke des elektrischen Feldes nur wenige V/m beträgt. Ein oszillierendes elektromagnetisches Feld übt auf geladene Teilchen, wie Ionen, eine elektrische Kraft aus. Dem Modell liegen nun die Annahmen zugrunde, dass das elektromagnetische Feld auf beiden Seiten der Zellmembran wirkt und dass sich die Ionen durch die Zellwand hindurchbewegen können. Die Dynamik erfolgt dabei in den Ionenkanälen oder in sonstigen, durch Proteine geformten Poren, die einen Transport durch die ansonsten für Ionen praktisch undurchlässige Plasmamembran ermöglichen. Eine Verschiebung von Ladungen innerhalb der Zellmembran hat nun aber Einfluss auf die Schaltcharakteristik der spannungsabhängigen Ionenkanäle. Diese wiederum zeigen sich für die Erzeugung und Propagation von Nervenpulsen verantwortlich. Ein durch ein elektromagnetisches Feld verursachtes Öffnen von Ionenkanälen könnte somit die Funktionstüchtigkeit der gesamten Zelle beeinträchtigen.

Im Folgenden soll nun dieses Modell, welches an eine mikroskopische Sichtweise anknüpft, detailliert beschrieben werden.

5.1 Geladene Teilchen im elektrischen Feld

Im Folgenden soll die Wirkung eines harmonisch oszillierenden elektrischen Feldes mit einer (Kreis-)Frequenz $\omega = 2\pi\nu$, d. h. $E(t) = E_0 \sin(\omega t)$, auf die Bewegung eines einzelnen geladenen Teilchens mit Ladung q diskutiert werden. Die resultierende Kraft auf das Teilchen ist durch $F_e = E_0 q \sin(\omega t)$ gegeben. Im vorgestellten Modell geht man davon aus, dass sich das Ion zunächst im elektrochemischen Gleichgewicht befunden hat, und eine Störung im Sinne einer Auslenkung aus der Ruhelage, zu einer Kraft führt, die proportional zur Auslenkung x ist und die das Gleichgewicht wieder herzustellen versucht, d. h. $F_R = -Kx$. K ist dabei konstant. Eine solche Annahme für die Rückstellkraft F_R ist entsprechend der Theorie der linearen Antwort für nicht zu große Auslenkungen x und für eine Beschreibung in der „Nähe des Gleichgewichts“ anwendbar und sinnvoll. Neben der elektrischen Kraft und der Rückstellkraft wirkt auf das Teilchen eine Reibungskraft, die proportional zur Geschwindigkeit des Teilchens angenommen wird: $F_S = -\lambda \frac{dx}{dt}$. Hier ist λ die Dämpfungskonstante. Nach dem Gesetz von Stokes ist die Reibungskraft auf einen

sich mit der Geschwindigkeit $v = \frac{dx}{dt}$ bewegenden Körper mit Radius r durch $F_s = -6\pi r \eta v$ gegeben, wobei η die dynamische Viskosität des Fluids ist. Die Bewegungsgleichung für die Auslenkung x eines geladenen Teilchens der Masse m und Ladung q in einem zeitlich modulierten elektrischen Feld lautet damit nach Newton:

$$m \frac{d^2x}{dt^2} + \lambda \frac{dx}{dt} + Kx = E_0 q \sin(\omega t) \quad (26)$$

Gleichung (26) beschreibt die Bewegung eines Teilchens in der Nähe der Zellmembran unter dem Einfluss eines periodisch modulierten, elektrischen Feldes. Aus theoretischer Sicht ist Gleichung (26) als Gleichung zur Beschreibung eines periodisch getriebenen, gedämpften harmonischen Oszillators bekannt. Die allgemeine Lösung lautet:

$$x(t) = A \cos(\omega t - \varphi) + C_1 e^{\xi_1 t} + C_2 e^{\xi_2 t}, \quad (27)$$

mit: $A := \frac{E_0 q}{\sqrt{m^2(\omega^2 - \omega_0^2)^2 + \lambda^2 \omega^2}}$, $\tan \varphi := \frac{m(\omega^2 - \omega_0^2)}{\lambda \omega}$, $\xi_{1,2} = \frac{-\lambda \pm \sqrt{\lambda^2 - 4m^2 \omega_0^2}}{2m}$ und

$\omega_0 = \sqrt{\frac{D}{m}}$. Die Konstanten C_1 und C_2 werden durch die Anfangsbedingungen bestimmt. Je nach Vorzeichen des Radikanten in der Gleichung für $\xi_{1,2}$ unterscheidet man zwischen überdämpftem Fall ($\lambda > 2m\omega_0$), aperiodischem Grenzfall ($\lambda = 2m\omega_0$) und unterdämpftem Fall ($\lambda < 2m\omega_0$). Setzt man in die Lösung (27) realistische Werte für die Masse der Ionen, für die Dämpfungskonstante und für die Frequenz der Eigenschwingungen ($\nu_0 = 0.016 - 0.2 \text{ Hz}$) ein, so kann der Term $m^2(\omega^2 - \omega_0^2)^2$ im Vergleich zu $\lambda^2 \omega^2$ in der Amplitudengleichung vernachlässigt werden, d. h. $A \approx \frac{E_0 q}{\lambda \omega}$.

Analog findet man $\varphi \approx 0$ und $\xi_1 \approx 0$, während $\xi_2 \ll -1$ (überdämpfter Fall). Nimmt man für die Anfangsbedingungen eine verschwindende Auslenkung, aber eine realistische Geschwindigkeit an, so findet man als approximative Lösung:

$$x(t) = \frac{E_0 q}{\lambda \omega} \cos(\omega t) - \frac{E_0 q}{\lambda \omega}. \quad (28)$$

Gleichung (28) beschreibt eine harmonische Oszillation mit konstanter Amplitude, wobei die Schwingung in Phase mit dem elektrischen Feld erfolgt.

Da $\xi_1 \approx 0$, ist der 2. Term in Gleichung (28) konstant und ist in der Form wohl nur für gepulste Felder von Relevanz. Für kontinuierliche Felder sind im Limes langer Zeiten die Transienten der Anfangsbedingungen abgeklungen, so dass der konstante Term in der Lösung nicht auftritt. Das bedeutet aber auch, dass die maximale Auslenkung für gepulste Felder doppelt so groß sein kann als für kontinuierliche.

Zusammenfassend wird zufolge dieses Modells ein geladenes Teilchen durch ein elektrisches Feld zu Schwingungen um die räumliche Ruhelage angeregt. Die Frequenz der Schwingungen entspricht der des elektrischen Feldes. Die Schwingungsamplitude nimmt mit zunehmender Frequenz ab. Von besonderer Relevanz sind diese Schwingungen in der Nähe der Zellmembran, da durch die Oszillationen die Schaltcharakteristik von spannungsabhängigen Ionenkanälen modifiziert werden könnte und es damit zu einem irregulärem Feuerverhalten der gesamten Nervenzelle kommen könnte.

5.2 Einfluss der deterministischen Schwingungen auf die Schaltcharakteristik von Ionenkanälen

Veränderungen des Membranpotentials von 30mV verursachen ein Öffnen der „gates“ und damit ein „Öffnen“ der Ionenkanäle (Liman *et al.*, 1991; Bezanilla *et al.*, 1982). Eine Abschätzung zeigt, dass bereits eine Verrückung eines einzelnen Ions in der Nähe des Ionenkanals um mindestens $1\text{pm}=10^{-12}\text{m}$ aus der Gleichgewichtslage, eine Veränderung des lokalen Membranpotentials um 30 mV hervorrufen kann (Panagopoulos und Margaritis, 2003). Berücksichtigt wurde in dieser Überlegung bereits die Tatsache, dass die dielektrische Konstante für ein Ion, das sich in einem Ionenkanal befindet, also von keinen abschirmenden Wassermolekülen umgeben ist ($\epsilon = 4$), sich von der eines in einem wasserartigen Mediums, wie z. B. des Zytoplasmas oder des extrazellulären Raums ($\epsilon = 80$), unterscheidet (Honig *et al.*, 1986). Für jede Auslenkung $x > 1\text{pm}$ eines Ions aus der Gleichgewichtslage sagt demnach dieses Modell eine solch drastische Modifizierung der Schaltcharakteristik voraus, dass ein sich Öffnen des gesamten Kanals erfolgt.

In einer rein deterministischen Sichtweise, in der der Einfluss der Brownschen Bewegung der Ionen aufgrund thermischen Rauschens gänzlich unberücksichtigt bleibt, kann nun die Auslenkung aufgrund des elektrischen Feldes mit dem kritischen Wert verglichen werden. Man erhält daraus eine untere Schranke für die Amplitude des elektrischen Feldes, ab der eine biologische Aktivierung im Sinne einer Auslösung eines Aktionspotentials durch kollektives Öffnen von Ionenkanälen möglich ist (Panagopoulos und Margaritis, 2003):

$$E_0 \geq 10^{-3} \times \nu \quad (29)$$

Dabei ist die Amplitude des elektrischen Feldes in V/m und die Frequenz in Hz anzugeben.

In Analogie zu obiger Ausführung bezüglich eines elektrischen Feldes, kann auch für magnetische Felder eine derartige Abschätzung angewendet werden. Ausgangspunkt ist in diesem Fall die Lorentzkraft, die ein oszillierendes Magnetfeld $B(t) = B_0 \sin(\omega t)$ auf ein geladenes Teilchen ausübt. Die Bedingung für die Amplitude des magnetischen Feldes, für die eine biologische Aktivierung auftritt, ist (Panagopoulos und Margaritis, 2003):

$$B_0 \geq 40 \times \nu \quad (30)$$

Hier ist die Amplitude des magnetischen Feldes in G (Gauß) und die Frequenz in Hz anzugeben.

Bemerkt werden soll hier, dass obige Abschätzungen für ein monovalentes Ion, welches sich in einem Ionenkanal befindet, und für kontinuierliche, also ununterbrochene Felder getroffen wurden. Betrachtet man gepulste Felder, so spielt der Anfangszustand eine wichtige Rolle und der Schwellwert für ein elektrisches oder magnetisches Feld reduziert sich um den Faktor zwei (Panagopoulos und Margaritis, 2003).

5.3 Diskussion zur Anwendbarkeit eines rein deterministischen Modells

Im obigen deterministischen Modell wurde der Einfluss von Rauschen gänzlich vernachlässigt. Eine grundlegende Annahme, die diesem Modell zugrunde liegt, ist die, dass die unkorrelierte Bewegung der Ionen (Brownschen Bewegung) aufgrund des thermischen Rauschens keine signifikante Änderung der Schaltcharakteristik hervorrufen kann. Die Autoren der oben beschriebenen Arbeiten (Panagopoulos *et al.*, 2000; 2002; Panagopoulos und Margaritis, 2003) begründen diese Annahme mit der räumlichen Isotropie der rauschinduzierten Brownschen Bewegung im Gegensatz zu den kollektiven und gleichförmigen Oszillationen der Ionen aufgrund des elektromagnetischen Feldes. Fraglich ist jedoch, ob in einem stark verrauschten System die durch externe Modulationen hervorgerufenen Effekte überhaupt noch beobachtbar sein können (Bier, 2005; Weaver and Astumian, 1990). Die Autoren dieses Berichts wollen hierzu aber zu bedenken geben, dass Resonanzen auftreten könnten, welche durch einen konstruktiven Einfluss des Rauschens verstärkt werden könnten. Als Beispiel für einen solchen Effekt sei der Effekt der stochastischen Resonanz genannt (Gammaitoni *et al.*, 1989), vgl. Kapitel 6.1. Für eine Vielzahl von makroskopischen, biologischen Systemen konnte dieser Effekt nachgewiesen werden (Hänggi, 2002). Jüngste theoretische Studien (Schmid *et al.*, 2001) zeigen auf, dass dieser Effekt auch auf zellulärem und sub-zellulärem Niveau eine Rolle spielen könnte. Dass Rauschen in biologischen Systemen oft eine konstruktive Rolle bezüglich des Transports, der Signalverarbeitung und des Signaltransfers hat, zeigen eine Vielzahl von Studien (Hänggi, 2003). Im Folgenden wird auf diesen Aspekt detaillierter eingegangen.

6 Einfluss von Rauschen

Der Einfluss von Rauschen kann *a priori* nicht vernachlässigt werden. Dies hängt vor allem damit zusammen, dass nur wenige Nanometer große Proteine, z. B. in Zellmembranen, als hoch effiziente „Maschinen“ fungieren müssen (Hänggi *et al.*, 2003). Die Proteine können biologisches Material transportieren und verrichten dabei physikalische Arbeit in einer thermisch verrauschten Umgebung. Das Rauschen beeinflusst den gerichteten Transport („biologische Brownsche Motoren“) und die Signalverarbeitung („Effekt der stochastischen Resonanz in der Biologie“). Dabei fasziniert die hohe Effizienz, Anpassungsfähigkeit und Zuverlässigkeit, mit der diese Nanomaschinen in der stark verrauschten Umgebung arbeiten. Oft ist dabei das thermische Rauschen viel größer als die zugeführte Energie. Es stellte sich heraus, dass das Rauschen auch eine funktionale Rolle spielt. Beim gerichteten Transport spricht man in diesem Zusammenhang dann von einem Brownschen Motor (Bartussek und Hänggi, 1995; Hänggi und Bartussek, 1996; Astumian, 1997; Jülicher *et al.*, 1998; Reimann und Hänggi, 2002; Reimann, 2002; Astumian und Hänggi, 2002; Hänggi *et al.*, 2005). Ein anderes Beispiel für eine mögliche konstruktive Rolle stellt der Effekt der Stochastischen Resonanz dar: In nichtlinearen Systemen, die einen Schwellwert für eine Aktivierung aufweisen, kann Rauschen die Detektion eines schwachen Signals verbessern (Moss, 1991; Wiesenfeld und Moss, 1995; Gammaitoni *et al.*, 1998; Hänggi, 2002). Auf einem makroskopischen und zellulären Niveau konnte dieser Effekt in einer Vielzahl von verschiedenen biologischen Systemen experimentell nachgewiesen und theoretisch vorhergesagt werden (s. unten).

Da die Signalverarbeitung in biologischen Systemen im Besonderen durch elektrochemische Prozesse an der Zellmembran verursacht wird, müssen insbesondere die verschiedenen Mechanismen, die zu Rauschen an der Zellmembran führen, diskutiert und erläutert werden. In biologischen Membranen gibt es nun verschiedene Mechanismen, die zu Fluktuationen im Membranpotential führen können (DeFelice, 1981), wie z. B. thermisches Rauschen oder Kanalrauschen. Diese können mit einer elektromagnetischen Strahlung in Wechselwirkung treten. Man kann die gleichen Mechanismen finden, die zum Effekt der Stochastischen Resonanz führen. Daher soll auf den Effekt der Stochastischen Resonanz im Folgenden näher eingegangen werden.

6.1 Stochastische Resonanz

Nach einer kurzen Einführung, in der der Effekt kurz erklärt wird, soll anhand verschiedener biologischer Beispielsysteme die Relevanz dieses Effektes aufgezeigt werden.

6.1.1 Einführung

Anhand eines einfachen mechanischen Systems soll der Effekt der Stochastischen Resonanz aufgezeigt werden (Gammaitoni *et al.*, 1998):

Betrachtet wird ein überdämpftes Teilchen, das sich in einem symmetrischen Potential bewegt, das im Wesentlichen aus zwei Minima und, dazwischen, einem Maximum besteht. Neben der durch das Potential verursachten Kraft, gibt es noch eine weitere, oszillierende Kraft aufgrund des externen Antriebs und eine stochastische Kraft aufgrund der Stöße mit anderen Teilchen (thermisches Rauschen). Im Falle eines elektrisch geladenen Teilchens könnte die deterministische Kraft durch ein oszillierendes elektrisches Feld verursacht werden. Diese Dynamik wird von folgender Langevin-Gleichung für die Ortskoordinate $x(t)$ beschrieben:

$$\frac{dx(t)}{dt} = -\frac{dU(x)}{dx} + f(t) + \sqrt{2D}\zeta(t), \quad (31)$$

mit dem Potential $U(x) = \frac{1}{4}x^4 - \frac{1}{2}x^2$, dem externen Signal $f(t) = A\sin(\omega t)$ und dem weißen Gauß'schen Rauschen $\zeta(t)$. Der Mittelwert des Rauschens verschwindet, d. h. $\langle \zeta(t) \rangle = 0$, und die Autokorrelation ist deltaförmig, d. h. $\langle \zeta(t)\zeta(s) \rangle = \delta(t-s)$. Effektiv führt das periodische Signal mit Amplitude A und Kreisfrequenz ω zu einer Verkippung des Potentials nach links und rechts (vgl. Abb. 4). Der schwache Antrieb ist dabei nicht in der Lage das Potential soweit zu verkippeln, dass nur noch ein Potentialminimum auftritt, d. h. deterministisch kann das Teilchen die anfängliche Mulde nicht verlassen und oszilliert nur in einer Mulde. In Anwesenheit eines thermischen Rauschens beobachtet man jedoch rauschinduzierte Übergänge zwischen den Mulden. Das Rauschen zusammen mit dem externen Antrieb ermöglichen dem Teilchen über die Barriere hinweg in die andere Mulde zu gelangen. Ohne Rauschen werden dagegen keine Übergänge beobachtet. Für sehr kleine Rauschintensitäten finden Übergänge nur sehr selten statt und die Ereignisse sind unkorreliert. Mit zunehmender Rauschstärke nehmen die Anzahl der Übergänge und deren Korrelation mit dem externen Signal zu. Da die Dynamik hauptsächlich durch die Übergänge zwischen den, im Vergleich zu den Exkursionen innerhalb einer Mulde, weit entfernten Mulden dominiert werden, kann ein schwaches Signal dadurch verstärkt werden. Ist die Rauschstärke jedoch zu groß, so dominieren die gänzlich unkorrelierten, rauschinduzierten Übergänge und die Information des Signals geht verloren. Der Effekt der Stochastischen Resonanz bezeichnet dann die Eigenschaft, dass Rauschen die Signalqualität verbessert, was der natürlichen Intuition widerspricht, wonach Rauschen sich stets negativ auf die Güte eines Signals auswirkt.

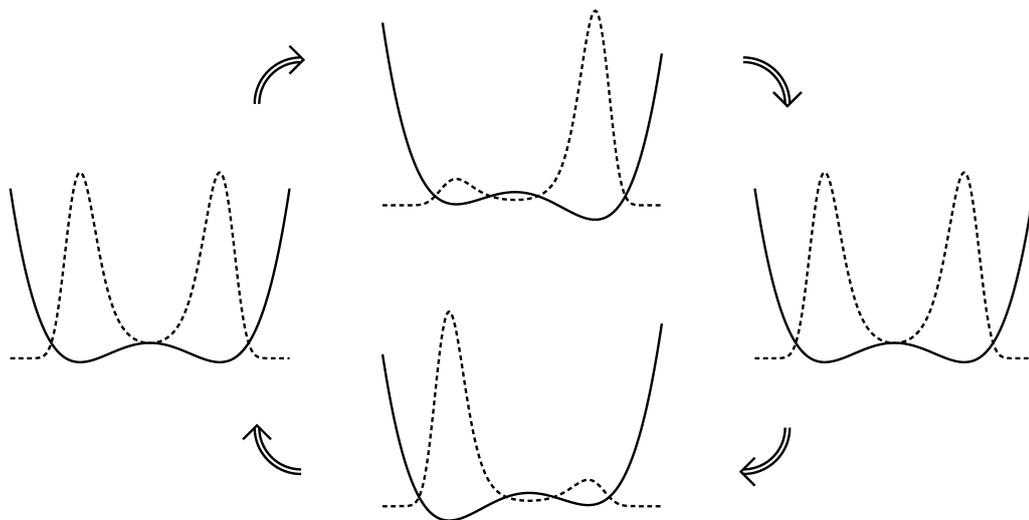


Abb. 4: Illustration des Effekts der Stochastischen Resonanz: Dargestellt ist das effektive Potential (durchgezogene Linie) nach jeweils einem weiteren Viertel der Antriebsperiode. Das Maximum der Wahrscheinlichkeitsverteilung der Teilchenposition (gestrichelte Linie) oszilliert in Phase mit dem externen periodischen Antrieb von einer zur anderen Mulde.

In Studien bezüglich des Effekts der Stochastischen Resonanz wird die Qualität des Ausgangssignals (hier die Position des Teilchens) anhand der spektralen Verstärkung (Jung und Hänggi, 1989; Jung und Hänggi, 1991; Jung, 1989), des Signal-zu-Rauschverhältnisses (McNamara und Wiesenfeld, 1989) oder anderer informations-theoretischer Maße charakterisiert (Gammaitoni *et al.*, 1998, Anishchenko *et al.*, 1999, Hänggi, 2002). Stets zeigt sich ein Maximum in der Abhängigkeit des betrachteten Maßes von der Rauschstärke; d. h. es wird eine optimale Rauschstärke beobachtet.

6.1.2 Stochastische Resonanz in neuronalen Systemen

Die Entwicklung der Stochastischen Resonanz machte mit der Entdeckung der Relevanz für neurologische Prozesse einen gewaltigen Schritt nach vorn (Gammaitoni *et al.*, 1998). Longtin, Bulsara und Moss (1991) beobachteten, dass die Verteilung der Zeiten zwischen zwei Nervenpulsen eines periodisch stimulierten Neurons Ähnlichkeiten zu der Verteilung der Verweilzeiten eines Teilchens in den Mulden in einem periodisch getriebenen, bistabilen System aufweist (Gammaitoni *et al.*, 1989; Zhou *et al.*, 1990). Mittlerweile ist der Effekt der Stochastischen Resonanz in den unterschiedlichsten biologischen Systemen nachgewiesen worden (Collins, 1999; Gammaitoni *et al.*, 1998; Moss 1994; Moss *et al.*, 1994; Moss und Wiesenfeld, 1995; Hänggi, 2002). Sensorische Systeme müssen schwache Reize in einer stark verrauschten Umgebung wahrnehmen. Wie experimentelle Studien zeigen, können die Reize auch elektrischer Natur sein, d. h. in Form eines elektrischen Feldes. Im Folgenden seien zwei eindrucksvolle Beispiele genannt:

Neuronale Netzwerke eines Säugetiergehirns:

In einer grundlagenorientierten Arbeit gelang es zu zeigen, dass der Effekt der stochastischen Resonanz im neuronalen Netzwerk eines Säugetiergehirns nachweisbar ist (Gluckman *et al.*, 1996). Dazu bestrahlten die Wissenschaftler 400 μm dicke Scheiben aus dem Hippocampus von Ratten mit einem elektrischen Feld und untersuchten epilepsieartige Ereignisse in Form von so genannten Bursts. Das elektrische Feld setzt sich dabei aus einem sinusförmig oszillierenden, deterministischen Anteil mit Frequenzen im Bereich weniger Hertz und Amplituden in der Größenordnung von einigen mV/mm und einem stochastischen Anteil mit Frequenzen von wenigen Hz bis zu 250 Hz und wenigen mV/mm r.m.s. zusammen. Eine Analyse des Leistungsspektrums des in der Hippocampus-Scheibe gemessenen elektrischen Signals ergab eine optimale Rauschstärke des elektrischen Feldes womit der Effekt der stochastischen Resonanz nachgewiesen werden konnte.

Elektrorezeptoren des Löffelfisches:

Eine Gruppe um Frank Moss untersuchte das Fressverhalten von jungen Löffelstören auf stochastische Resonanz (Russel *et al.*, 1999). Junge Löffelstöre besitzen einen langen, antennenförmigen Stirnfortsatz, welcher mit Tausenden von Elektrorezeptoren bestückt ist. Mit deren Hilfe kann der Fisch im trüben Wasser seine Nahrung, nämlich Zooplankton (hier Daphnia) ausfindig machen, welches elektrische Signale mit Frequenzen von 0.5 bis 20 Hz emittiert. Im Experiment wurde Daphnia in ein Aquarium mit gleichmäßiger Wasserströmung vor jeweils einem Löffelstör freigesetzt und beobachtet, ob und gegebenenfalls wo der Fisch das Zooplankton fing und fraß. An den zwei zusätzlich im Aquarium angebrachten parallelen Platten wurde ein elektrisches Rauschen angelegt (0.2 - 1 $\mu\text{V/cm}$ r.m.s.). In Abhängigkeit von der Stärke des Rauschens wurde das Fangverhalten analysiert. Es konnte gezeigt werden, dass der Fisch besser in der Lage ist seine Nahrung ausfindig zu machen, wenn eine optimale Rauschstärke (0.5 $\mu\text{V/cm}$ r.m.s.) an den Platten angelegt wird, als wenn kein extern aufgeprägtes Rauschen existiert oder die Rauschstärke zu groß ist. Da Daphnia in der Natur Schwärme bilden, wobei ein Schwarm elektrisches Signal emittiert, das im Experiment dem an den Platten aufgeprägtem Rauschen im Bezug auf das Frequenzspektrum ähnelt, liegt die Vermutung nahe, dass sich der Fisch das Rauschen zu Nutze macht, um Einzeltiere am äußersten Rand des Schwarmes zu lokalisieren. Damit konnte auf der Ebene tierischen Verhaltens der Effekt der stochastischen Resonanz gezeigt werden, obwohl die genauen mikroskopischen Mechanismen nicht eindeutig geklärt sind.

Daneben, gibt es auch Beispiele für das Auftreten von stochastischer Resonanz für den Fall mechanischer (Douglass *et al.*, 1993; Levin und Miller, 1996; Collins *et al.*, 1996; Hidaka *et al.*, 2000) oder visueller (Simonotto *et al.*, 1997) Stimulation. Obige Beispiele zeigen, dass Rauschen in organischen Geweben durchaus einen verstärkenden Einfluss haben kann und somit, wenn es um die Wirkung elektromagnetischer Strahlung geht, nicht unberücksichtigt bleiben sollte.

6.2 Modellierung zum Einfluss des thermischen Rauschens auf die elektrischen Eigenschaften von Zellen

Im Folgenden sollen daher eine Reihe von Modellen vorgestellt und diskutiert werden, die versuchen thermisches Rauschen auf subzellulärem Niveau zu berücksichtigen. Diese versuchen die spektrale thermische Leistungsdichte vorherzusagen.

6.2.1 Spannungsfuktuationen an einem Widerstand

In einem SCIENCE-Artikel von 1990 diskutieren Weaver und Astumian ein Modell, das den Einfluss von sowohl thermischen Fluktuationen als auch externen elektromagnetischen Feldern berücksichtigt: aufgrund der Zusammenstöße eines (Probe-)Teilchens mit den Molekülen/Teilchen des Mediums, in dem sich das Probeteilchen befindet, beobachtet man eine Zitterbewegung (Brownsche Bewegung) des Probeteilchens. Diese diffusive Bewegung wird durch $\langle x^2(t) \rangle = 2Dt$ charakterisiert, wobei $x(t)$ die Auslenkung aus der Anfangsposition zur Zeit t ist. Die spitzen Klammern meinen eine Teilchenmittelung. D bezeichnet die Diffusionskonstante, die nach dem Fluktuations-Dissipations-Gesetz durch die Einstein-Relation $D = k_B T / \eta$ (Einstein, 1905) gegeben ist. T ist die absolute Temperatur, k_B die Boltzmann-Konstante und η der Reibungskoeffizient. Eine ähnliche Überlegung kann auch für elektrische Ladungen in einem geerdeten Widerstand angestellt werden, wobei eine Kontaktierung an ein unendlich großes Reservoir erfolgt. In einem vereinfachten Modell stoßen die Ladungsträger mit anderen Teilchen innerhalb des Widerstandes zusammen. Diese Kollisionen sind dafür verantwortlich, dass die Anzahl der Ladungsträger an den Kontakten des Widerstandes fluktuieren (Feynman *et al.*, 1966). In Analogie zur Brownschen Bewegung ist dann das mittlere Quadrat der Ladung im unendlich großen Reservoir durch $\langle q^2(t) \rangle = 2 \frac{k_B T}{R} t$ gegeben. Offensichtlich spielt der Widerstand R die Rolle des Reibungskoeffizienten. Zwischen den beiden Widerständen bildet sich dann eine Spannung $\xi(t)$ aus, für deren mittleres Abweichungsquadrat gilt (Nyquist, 1928):

$$\langle \xi^2 \rangle = 4k_B T R df . \quad (32)$$

df gibt hierbei das infinitesimale, zu untersuchende Frequenzintervall an. Die durch thermisches Rauschen verursachten Spannungsfuktuationen wurden von Johnson beobachtet (Johnson, 1928).

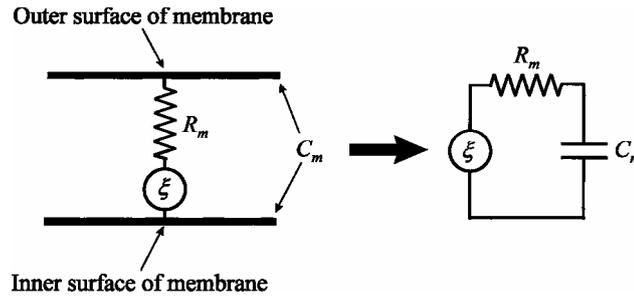


Abb. 5: (aus Kaune, 2002) Links ist das elektrische Schaltbild der Zellmembran, rechts das Ersatzschaltbild dargestellt. Aufgrund thermischer Fluktuationen bilden sich Spannungsfuktuationen ξ aus. R_m und C_m sind der Membranwiderstand und die Membrankapazität.

6.2.2 Weaver-Astumian Modell

Die Hauptannahme des Modells von Weaver und Astumian lautet: Ein elektrisches Feld kann nur dann Einfluss auf die biologische Aktivität einer Zelle haben, sofern es stärker als ein durch thermisches Rauschen verursachtes Feld ist. Diese Annahme folgt aus elektrophysiologischen Beobachtungen, wonach das Membranpotential direkt gemessen wird und als „Steuer-signal“ für die elektrische Leitfähigkeit der Zellmembran gilt (Katz, 1966). Weaver und Astumian konnten daher Schwellwerte für verschiedene Zellen angeben. Für elektrische Felder, deren Feldstärken größere Werte als der Schwellwert annehmen, beeinflusst das elektrische Feld die Funktionstüchtigkeit der betrachteten Zelle. Die elektrischen Eigenschaften der Zellmembran sind äquivalent zu der einer Parallelschaltung eines Widerstands R und eines Kondensators mit Kapazität C . Im Unterschied zum Hodgkin-Huxley Modell wird hier nur ein Widerstand betrachtet. Die Zahl der Ladungsträger an einem Ende des Widerstandes fluktuiert, weshalb auch das anliegende Membranpotential Fluktuationen unterworfen ist (s. vorangehendes Kapitel). Entsprechend Abb. 5 ist dann das Membranpotential $V(\omega)$ im Frequenzraum (Fourier-transformierte von $V(t)$):

$$V(\omega) = \frac{\xi}{1 + i\omega\tau} \quad (33)$$

In Gleichung (33) bezeichnet ω die Kreisfrequenz, $\tau = RC$ die Zeitskala der Dynamik des Membranpotentials und i die imaginäre Einheit, $i = \sqrt{-1}$. Aus der Nyquist Formel (32) kann dann das mittlere Quadrat des Membranpotentials, das ein Maß für die Stärke der Fluktuationen ist ermittelt werden:

$$\begin{aligned} \langle V^2 \rangle &= \int_{f_1}^{f_2} \frac{4k_B TR}{1 + \omega^2 \tau^2} df \\ &= \frac{2k_B T}{\pi C} \tan^{-1} \left(\frac{2\pi \Delta f \tau}{1 + 4\pi^2 f_1 f_2 \tau^2} \right) \\ &\approx 4k_B TR \Delta f \quad \text{für } 2\pi f_2 \tau \ll 1. \end{aligned} \quad (34)$$

Hier ist $\Delta f = f_2 - f_1$. Die Approximation in der letzten Zeile wurde von Weaver und Astumian für ihre „Schmalband“ – Berechnungen verwendet. Für den „Breitband“ – Fall, d. h. für $f_1 \rightarrow 0$ und $f_2 \rightarrow \infty$, ist der Einfluss des Rauschens maximal. Damit ergibt sich die – im Sinne des Rauscheinflusses – „effektivste“ Bandweite für eine Reihenschaltung von Widerstand und Kapazität zu $\Delta f = 1/(4RC)$ (Ott, 1976). Das mittlere Quadrat des Membranpotentials ist dann:

$$\langle V^2 \rangle = k_B T / C \quad (35)$$

Wird die Zellmembran als homogene Kugelschale einer sphärischen Zelle mit Radius r , der Dicke d , und der dielektrischen Konstanten K angenommen, so ergibt sich die Kapazität C zu:

$$C = 4\pi\epsilon_0 K r^2 / d \quad (36)$$

Basierend auf obigen Annahmen und typischen Werten für Zellen von Säugetieren schätzten Weaver und Astumian die Spannungsfluktuation aufgrund thermischen Rauschens ab (für $T = 310\text{K}$):

$$V = \sqrt{\langle V^2 \rangle} \approx 2.8 \times 10^{-5} \text{V} \quad (37)$$

Wie schon an anderer Stelle erwähnt, verursacht ein externes elektrisches Feld E eine Veränderung des Membranpotentials. Für den vereinfachten Fall einer sphärischen Zelle mit einer perfekt isolierenden Zellmembran ist die maximale Veränderung des Membranpotentials ΔV_{\max} wie gefolgt gegeben (Foster und Schwan, 1986), vgl. Kapitel 3:

$$\Delta V_{\max} = 1.5rE. \quad (38)$$

Der einfachsten Abschätzung entsprechend, könnte man nun die zwei Werte für die Änderungen der Membranspannung miteinander vergleichen: damit eine Zelle auf ein elektrisches Feld reagieren kann, muss es eine Veränderung des Membranpotentials von mindestens δV hervorrufen, d. h. $\Delta V_{\max} \geq \delta V$. Damit ist unter den gegebenen Annahmen das kleinste, nicht im Rauschen verschwindende elektrische Feld:

$$E_{\min} = \frac{2}{3} \left[\frac{k_B T d}{4\pi\epsilon_0 K} \right]^{1/2} \frac{1}{r^2} \quad (39)$$

Weaver und Astumian (1990) schätzten das minimale Feld auch für den Fall länglicher Zellen ab. Im Vergleich mit Experimenten sind die durch die theoretischen Abschätzungen erhaltenen minimalen Feldstärken zu groß. Auch durch Einführung empirischer Bandbreiten Δf wird die minimale Feldstärke um einige Größenordnungen überschätzt (Weaver und Astumian, 1990; Bier, 2005). Ursache könnte eine rauschinduzierte Verstärkung des elektrischen Signals sein.

Als nächstes soll eine Erweiterung des Modells von Weaver und Astumian (1990), vorgestellt werden.

6.2.3 Kaune Modell

Kaune bemerkte 2002, dass das Modell von Weaver und Astumian nicht alle Einflüsse des thermischen Rauschens berücksichtigt. Nach Kaune ist die an der Zellmembran angesammelte Oberflächenladung nur ein Aspekt des thermischen Rauschens. Ein anderer Aspekt, den Weaver und Astumian nicht berücksichtigten bzw. vernachlässigten, betrifft jedoch die inhomogene Ladungsverteilung innerhalb der Zellmembran, die wiederum ein elektrisches Feld im Inneren der Zellmembran erzeugt. Eine Veränderung des Membranpotentials muss daher stets als Antwort auf eine Veränderung der Ladung auf der Zellmembran und eines elektrischen Feldes innerhalb der Membran verstanden werden (Kaune, 2002; Reitz und Milford, 1960; Smythe, 1968).

Entsprechend dem Kaune-Modell hat eine Veränderung des Membranpotentials V eine instantane Änderung des elektrischen Feldes $E_o = V/d$ zur Folge. d bezeichnet die Dicke der Membran. Aufgrund des thermischen Rauschens treten innerhalb der Membran Potentialdifferenzen, d. h. Spannungen auf, die ein elektrisches Feld E_ξ verursachen. Die effektive lokale Feldstärke ist dann die Summe der einzelnen Komponenten, d. h. $E_{\text{total}} = E_o + E_\xi$. Hauptannahme der Untersuchungen von Kaune ist nun, dass nicht wie im Weaver-Astumian-Modell die lokale Feldstärke eines externen elektrischen Feldes mit der Feldstärke des Feldes, verursacht durch die Ladungen auf den Zellmembranoberflächen, d. h. mit E_o , verglichen werden darf, sondern dass die „totale“ Feldstärke E_{total} zum Vergleich verwendet werden muss. Ein weiterer Unterschied zum Weaver-Astumian Modell ist die Aufteilung der Zellmembran in N Segmente, wobei jedes Segment die gleichen elektrischen Eigenschaften besitzt und die Segmente parallel zueinander geschaltet sind. Diese Aufteilung der gesamten Zellmembran in kleinere Segmente wurde bereits von Adair vorgeschlagen (Adair, 1991). Der elektrische Widerstand eines Segments sei NR und die thermisch verursachte Spannungsdifferenz an den Enden der Widerstände sei ξ_i mit $\langle \xi_\mu^2 \rangle = 4k_B T NR$, für $i=1,2,\dots,N$. Der Fourier-transformierte Strom im Segment μ ist dann (Kaune, 2002):

$$I_\mu = \frac{1}{NR} \left\{ \left[\xi_\mu - \frac{1}{N} \sum_{n=1}^N \xi_n \right] + \frac{i\omega\tau}{1+i\omega\tau} \left[\frac{1}{N} \sum_{n=1}^N \xi_n \right] \right\} \quad (40)$$

Die Werte für die Spannungen der einzelnen Komponenten sind dabei für die Frequenz ω zu nehmen. Der erste Term in Gleichung (40) beschreibt den durch thermische Fluktuationen verursachten Strom in den jeweiligen Untereinheiten der Gesamtmembran, während der zweite Term den Strom aufgrund der Kapazität C der Zellmembran charakterisiert. Summation über alle Untereinheiten hat zur Folge, dass sich die ersten Terme herausmitteln. Man erhält:

$$I = \sum_{\mu=1}^N I_\mu = \frac{1}{R} \frac{i\omega\tau}{1+i\omega\tau} \xi, \quad (41)$$

wobei $\xi = \sum_{\mu=1}^N \xi_{\mu} / N$ die gemittelte Amplitude der Amplituden der Spannungen aller einzelnen Beiträge ist. Die Membranspannung $V = RI$, die an der Zellmembran somit anfällt, definiert dann das elektromagnetische, homogene Feld mit Feldstärke $E_{\text{total}} = IR/d$. Damit findet man für das gemittelte Quadrat der Feldstärke nach Integration über den Frequenzbereich von f_1 bis f_2 ($\Delta f = f_2 - f_1$):

$$\begin{aligned} \langle E_{\text{total}}^2 \rangle &= \int_{f_1}^{f_2} \frac{4k_B T}{\sigma A d} \frac{\omega^2 \tau^2}{1 + \omega^2 \tau^2} df \\ &= \frac{4k_B T}{\varepsilon A d} \left[\Delta f \tau - \frac{1}{2\pi} \tan^{-1} \left(\frac{2\pi \Delta f \tau}{1 + 4\pi^2 f_1 f_2 \tau^2} \right) \right] \end{aligned} \quad (42)$$

wobei σ und ε die Leitfähigkeit und die Permittivität der Membran sind. A bezeichnet die Größe der Oberfläche.

Vergleich mit dem Weaver-Astumian-Modell:

Vergleicht man das Weaver-Astumian-Modell (Weaver und Astumian, 1990) und das Kaune-Modell (Kaune, 2002) miteinander, indem man die jeweilige, durch thermisches Rauschen verursachten Feldstärken (Wurzel aus dem Mittel der Feldstärkenquadrate) gegeneinander gegenüber stellt, so unterscheiden sich die beiden Modelle bezüglich der Frequenzabhängigkeit drastisch voneinander:

$$E_{\text{Weaver-Astumian}} = \sqrt{\frac{4k_B T}{\sigma A d} \frac{1}{1 + \omega^2 \tau^2}} \quad (43)$$

$$E_{\text{Kaune}} = \sqrt{\frac{4k_B T}{\sigma A d} \frac{\omega^2 \tau^2}{1 + \omega^2 \tau^2}} \quad (44)$$

Die Vorhersagen sind in gewisser Weise konträr. So steigt die spektrale thermische Leistungsdichte beim Kaune-Modell mit zunehmender Frequenz an, während beim Weaver-Astumian-Modell die maximale Leistungsdichte für verschwindende Frequenzen beobachtet wird und dann für größer werdende Frequenzen kontinuierlich abnimmt.

6.2.4 Vincze-Modell

Entsprechend der Argumentation von Kaune trägt der zweite Term in der Zerlegung des Stroms durch ein Segment der Zellmembran, vgl. Gl. (40), zu jedem Teilstrom gleich bei und spiegelt somit eine kohärente Rauschkomponente wieder. Damit werden aber die ursprünglich statistisch unabhängigen Segmentströme als kohärent angenommen, was dem zweiten Hauptsatz der Thermodynamik widerspricht (Vincze *et al.*, 2005; Bier, 2005). Vincze und Koautoren (2005) verbesserten mit Hilfe einer von White and Woodson (1959) vorgeschlagenen Methode das Kaune-Modell.

An dieser Stelle soll jedoch nicht die Methode vorgestellt werden, die Vincze *et al.* (2005) verwendeten, sondern eine kürzere Ableitung aufgezeigt werden (Bier, 2005). Die Gleichung (40) für den thermisch verursachten Strom im μ -ten Segment kann umgeschrieben werden (Bier, 2005):

$$I_{\mu} = \frac{1}{NR} \left\{ \xi_{\mu} - \frac{1}{1+i\omega\tau} \left[\frac{1}{N} \sum_{n=1}^N \xi_n \right] \right\}. \quad (45)$$

Die mittlere in diesem Segment dissipierte Energie ist dann:

$$\frac{1}{2} NR I_{\mu} I_{\mu}^* = \frac{1}{2NR} \left\{ \xi_{\mu} - \frac{1}{1+i\omega\tau} \left[\frac{1}{N} \sum_{n=1}^N \xi_n \right] \right\} \left\{ \xi_{\mu}^* - \left[\frac{1}{1+i\omega\tau} \left(\frac{1}{N} \sum_{n=1}^N \xi_n \right) \right]^* \right\} \quad (46)$$

Hier bezeichnet I_{μ}^* das komplex Konjugierte des Stroms I_{μ} . Durch Summation über alle Segmente erhält man die gesamte in der Zellmembran dissipierten Energie. Nach Umformung erhält man:

$$\frac{1}{2} \sum_{\mu=1}^N NR I_{\mu} I_{\mu}^* = \frac{\|\xi^0\|^2}{2R} - \frac{\|\xi^0\|^2}{2NR(1+i\omega^2\tau^2)} \quad (47)$$

Dabei ist $\|\xi^0\|$ die Spannungsamplitude der durch thermisches Rauschen verursachten Schwingung. Diese ist für jeden Widerstand bei gegebener Frequenz ω konstant. Jedoch ist die Phasenlage der einzelnen Schwingungen für jedes Segment unterschiedlich und zufällig verteilt. Die Spannungsamplitude ist durch $\|\xi^0\|^2 = 8k_B T NR df$ gegeben, so dass sich die mittlere dissipierte Energie schreiben lässt (Bier, 2005; Vincze *et al.*, 2005):

$$\frac{1}{2} \sum_{\mu=1}^N NR I_{\mu} I_{\mu}^* = 4 \left[N - \frac{1}{1+i\omega^2\tau^2} \right] k_B T df. \quad (48)$$

Gleichung (48) beschreibt die Aufteilung der gesamten Leistungsdichte innerhalb des Frequenzbereiches df aller Segmente aufgrund von intra-membranen Rauscheinflüsse und von Schwingungen im RC-Kreis. Sie stellt eine Verallgemeinerung des Resultats von Kaune (2002) dar (Bier, 2005): Für den Fall kohärenter Spannungsfluktuationen in allen Segmenten ist die Beschreibung der Rauscheinflüsse äquivalent zu einer Beschreibung mit nur einem Widerstand, d. h. $N=1$. In diesem Fall kann ein thermisch verursachter Strom nicht das Transmembranfeld verändern und wird innerhalb der Membran dissipiert. Man findet

dann die von Kaune vorhergesagte Abhängigkeit der dissipierten Leistungsdichte, die sich aus Gl. (48) ergibt (Bier, 2005). Für Aufteilungen in viele Segmente ($N \gg 1$) kann jedoch der zweite Term in Gleichung (48) gegenüber dem Ersten vernachlässigt werden und das Rauschen erscheint effektiv weiß, d. h. die Leistungsdichte ist konstant über alle Frequenzen ω .

Verwendet man eine Aufteilung der Zellmembran, wie sie Adair (1991) vorgeschlagen hat, nämlich in $5 \times 5 \times 5 \text{ nm}$ große Teile (man geht von einer Membrandicke von 5 nm aus), so ergibt sich ein N für die Anzahl der Segmente für eine Zelle von der Größenordnung von 10^7 . In diesem Fall ist das Rauschspektrum quasi weiß. Kaune (2002), Adair (1991) und Vincze *et al.* (2005) bemerkten, dass ein Unterteilung in zu kleine Segmente zu einem effektiven thermischen Rauschen führt, das permanent Aktionspotentiale hervorrufen könnte. Aufgrund dieser Überlegung muss es eine obere Schranke für die Wahl der Anzahl der Segmente geben (Bier, 2005).

6.2.5 Spannungsfluktuationen an der Zellmembran

An dieser Stelle sollen die Grundannahmen, denen die oben beschriebenen Modelle zugrunde liegen, und deren „Verträglichkeit“ mit der realen physikalischen Situation verglichen werden. Es gibt einen fundamentalen Unterschied zwischen einem idealen elektrischen Widerstand, so wie er in obigen Beschreibungen auftrat, und den elektrischen Eigenschaften einer Zellmembran: während ein idealer Widerstand ein Leitungsband mit vielen freien Elektronen besitzt, und es damit zu den oben aufgeführten thermischen Effekten kommen kann (Nyquist, 1928; Johnson, 1928; Feynman *et al.*, 1966), beruht die elektrische Leitung einer Zellmembran auf dem Transport von einzelnen Ionen von einer wässrigen Lösung auf der einen Seite der Membran auf die andere Seite. Ein derartiger Transport eines Ions erfordert das Überwinden einer relativ hohen (im energetischen Sinne) Aktivierungsschwelle (Hille, 1992, Hänggi *et al.*, 1990). Solche Prozesse sind daher stets seltene und zufällige Einzelereignisse. Man spricht in diesem Zusammenhang von einem „Schrot“-Rauschen (Schottky, 1918). Jeder einzelne Ionentransport über die Membran hinweg verursacht dann einen kurzen, deltaförmigen Strompuls. Bier konnte nun in einer Arbeit von 2005 zeigen, dass die Gleichungen für das Quadrat der Spannungsfluktuationen innerhalb der Zellmembran, vgl. Gl. (32), und für das aus den Spannungsfluktuationen resultierende Membranpotential, vgl. Gl. (33), auch aus dieser mikroskopischen Beschreibung der Einzelereignisse abgeleitet werden können.

Biers (2005) Ausgangspunkt ist die Permeabilität der Zellmembran für verschiedene Ionensorten. Nach dem ersten Fick'schen Gesetz gilt für den Ionenstrom $I = p \Delta c$, wobei p die Permeabilität der Zellmembran für eine bestimmte Ionensorte und Δc der Konzentrationsunterschied dieser Ionensorte zwischen der Innen- und der Außenseite der Membran ist. Im Gleichgewicht wird dieser Strom durch den durch das Membranpotential verursachten Strom kompensiert, vgl. Nernst-Gleichung in Kap. 4.1. Geht man nun von einer nur leicht gestörten Gleichgewichtskonzentration aus, d. h. $c_i \approx c_a$, so gilt approximativ ein Ohmsches Gesetz für die Abhängigkeit von Ionenstrom und Membranpotential: $I = (q^2 p c / (k_B T)) V$, wobei q die Ladung der

Ionen, und c die Ionenkonzentration angeben (Bier, 2005). Damit kann nun der Widerstand der Zellmembran mikroskopisch begründet werden:

$$R = k_B T / (q^2 p c). \quad (49)$$

Bemerkend sei hier erwähnt, dass das Schalten der Ionenkanäle im Prinzip durch eine zeitabhängige Permeabilität berücksichtigt werden kann. Da hier jedoch die Argumentation für das Gleichgewicht gilt, wird die Permeabilität als konstant angenommen (Bier, 2005). Der stochastische Prozess des Transports von Ionen und damit des elektrischen Stroms durch die Membran ist ein Poisson-Prozess (Bier, 2005; DeFelice, 1981). Die Wahrscheinlichkeit für einen Übergang eines Ions von einer auf die andere Seite der Zellmembran im Zeitintervall Δt ist durch $2pc\Delta t$ gegeben. Damit ist die Übergangsrate für den Transport eines Ions: $2pc$. Der Prozess ist somit äquivalent zu einem „random walk“, der mathematisch durch die so genannte Mastergleichung beschrieben wird. Auf Zeitskalen, die viel größer als die durch die Übergangsrate eines einzelnen Ions sind, ist nach dem „Zentralen Grenzwertsatz“ die Anzahl der Übergänge nach einem größeren Zeitintervall Δt „Gauß“-verteilt. Der Mittelwert der Verteilung verschwindet, d. h. im Mittel gibt es genauso viele Übergänge nach links wie auch nach rechts, und die Standardabweichung ist $\sqrt{2pc\Delta t}$. Eine mathematische Beschreibung der Anzahl n der auf eine bestimmten Seite zusätzlich dazugekommenen Ionen erfolgt dann durch eine Langevin-Gleichung oder durch die äquivalente Fokker-Planck Gleichung (Risken, 1989). Für die Dynamik der Ladung Q auf einer vorher bestimmten Seite der Zellmembran erhält man (Bier, 2005):

$$\frac{dQ}{dt} = \sqrt{2q^2 pc} \zeta(t), \quad (50)$$

wobei der stochastische Prozess $\zeta(t)$, der im Mittel verschwindet und delta-korreliert in der Zeit ist, über einen „Wiener-Prozess“ definiert ist (Kampen, 1992; Hänggi und Thomas, 1982). In Analogie zur überdämpften Brownschen Bewegung, kann mit Hilfe von Gl. (50) ein Diffusionskoeffizient $D = q^2 pc$ bestimmt werden, der mit dem elektrischen Widerstand folgendermaßen verknüpft ist:

$$D = q^2 pc = \frac{k_B T}{R}. \quad (51)$$

Durch den Vergleich mit dem Einsteinschen Fluktuations-Dissipations-Gesetz (Einstein, 1905) findet man dann, dass in diesem Kontext der elektrische Widerstand die Rolle des Reibungskoeffizienten des klassischen Analogons übernimmt.

Aus den Gleichungen (50) und (51) ergibt sich demnach für das mittlere Quadrat der rauschinduzierten Spannung der gleiche Ausdruck, wie im Falle eines elektrischen Widerstandes mit seinen freien Leitungsträgern, vgl. Gl. (32) in Kapitel 6.2.1 (Nyquist, 1928; Sarpeshkar *et al.*, 1993; Bier, 2005).

In Gl. (50) wird eine eventuelle Ansammlung von Ladungsträgern auf einer Seite und das dadurch aufgebaute elektrische Feld nicht berücksichtigt, d. h. Gl. (50) beschreibt die physikalische Situation einer Zellmembran nicht ausreichend. Bereits im deterministischen Modell von Panagopoulos (Panagopoulos *et al.*, 2000; 2002;

Panagopoulos und Margaritis, 2003) wurde diesem Effekt durch Einführung einer Rückstellkraft Rechnung getragen. In den vorgestellten, das thermische Rauschen berücksichtigenden, Modellen (Weaver und Astumian, 1990; Kaune, 2002; Vincze et al., 2005) wurde stets ein kapazitiver Effekt berücksichtigt. Eine entsprechende Berücksichtigung innerhalb des oben vorgestellten Zugangs führt zu folgender Langevin-Gleichung für die Dynamik des Membranpotentials V (Bier, 2005):

$$\frac{dV(t)}{dt} = -\frac{V(t)}{RC} + \frac{1}{C} \sqrt{\frac{2k_B T}{R}} \zeta(t), \quad (52)$$

wobei R und C der Widerstand (Gl. (49)) bzw. die Kapazität der gesamten Zellmembran sind. Im stationären Fall ergibt sich dann die Standardabweichung des Membranpotentials zu (Bier, 2005): $\langle V^2 \rangle = k_B T / C$. Dies entspricht den Vorhersagen des Modells von Weaver und Astumian (Weaver und Astumian, 1990; vgl. Gl. (35)).

Leistungsdichte des rauschinduzierten Stromsignals und Separation der Zeitskalen:

Für den Fall verschwindender Kapazität und eines Stromsignals, das nur aus Deltaspikes besteht, nimmt die spektrale Leistungsdichte S_I einen konstanten Wert an (DeFelice, 1981): $S_I = 4q^2 P c$. Aus physikalischer Sicht macht ein konstanter, frequenzunabhängiger Wert jedoch keinen Sinn, da damit die gesamte, über alle Frequenzen integrierte Leistung divergieren würde. Quantenmechanische Überlegungen führen zu einer „cut-off“-Frequenz von 6×10^{12} Hz (Nyquist, 1928). Die charakteristische Zeit für den Übergang eines Ions von einer auf die andere Seite der Membran ($\tau = 10^{-7}$ s) definiert eine andere „cut-off“-Frequenz. Diese liegt bei ungefähr 10^7 Hz (Bier, 2005). Dies stellt eine konsistente Beschreibung dar, da schnellere Prozesse im obigen Modell generell unberücksichtigt bleiben. Auf der Zeitskala zwischen τ und der durch die Übergangsrate definierten Zeit beobachtet man zwar weißes Rauschen, aber die Stromamplituden sind nicht Gauß-verteilt, sondern nehmen, entsprechen den zwei möglichen Übergänge (li. \rightarrow re., re. \rightarrow li.), zwei diskrete Werte an. Für längere Beobachtungszeiten beobachtet man Gauß'sches weißes Rauschen. Will man dem kapazitiven Verhalten der Zellmembran Rechnung tragen, so kommt eine weitere Zeitskala ins Spiel, nämlich $\tilde{\tau} = RC$. Diese zeigt eine starke Abhängigkeit von der Größe der Zellmembran und definiert eine weitere „cut-off“-Frequenz. Das spektrale Leistungsspektrum des thermisch induzierten Membranpotentials lautet für den kapazitiven Fall (Bier, 2005; vgl. Weaver und Astumian, 1990):

$$S_V(\omega) = \frac{4k_B T R}{1 + \omega^2 \tilde{\tau}^2}, \quad (53)$$

Im Unterschied zum Weaver-Astumian-Modell (Weaver und Astumian, 1990), gilt Gl. (53) nicht für alle Frequenzen, sondern nur für diejenigen, welche mit den „längeren Beobachtungszeiten“ verträglich sind.

Gleichrichtung der Fluktuationen?

Bei der Beschreibung dieses Modells wurde der Einfluss der „schaltbaren“ Ionenkanäle nicht berücksichtigt. Da spannungsabhängige Ionenkanäle den Widerstand der Zellmembran drastisch verändern können, stellt sich die Frage, ob durch thermisch induzierte Spannungsfluktuationen Schaltvorgänge hervorgerufen werden und insbesondere eine Gleichrichtung dieser Fluktuationen erfolgen könnte. In einer Gleichgewichtssituation können durch thermisches Rauschen verursachte Spannungsfluktuationen jedoch nicht gleichgerichtet werden (Brillouin, 1950), weshalb der Einfluss von spannungsabhängigen Ionenkanäle und Ionenpumpen, die beide eine solche Gleichrichtung bewirken könnten, nur für Nichtgleichgewichtssituationen von Relevanz ist (Bier, 2005). Solche können auftreten, wenn das System durch ein zeitabhängiges Signal, z. B. ein elektromagnetisches Feld, getrieben wird.

6.3 Rauschen in Zellmembranen - Nichtgleichgewichtseffekte

Wie oben bereits erwähnt stellt das thermische Rauschen nur eine Quelle von Fluktuationen dar. In Zellmembranen gibt es weitere Rauschquellen (DeFelice, 1981), wie z. B. $1/f$ -Rauschen oder Kanalrauschen. Nach dem zweiten Hauptsatz der Thermodynamik ist es im thermischen Gleichgewicht nicht möglich einen mittleren Stromfluss in eine Richtung durch thermisches Rauschen allein zu bekommen. Wie unzählige Beispiele zeigen, kann ein gerichteter Transport vorliegen, wenn man z. B. durch einen schwachen externen Antrieb das System aus der Gleichgewichtslage bringt. Ebenso kann ein „nicht-thermisches“ Rauschen bestimmte Transportrichtungen auszeichnen.

Es konnte gezeigt werden, dass ein Enzym, das aktive ungeladene Teilchen über die Zellmembran transportiert, erst im Zusammenspiel von Gleichgewichtsfluktuationen und einem oszillierenden elektrischen Feld Arbeit im Sinne von aktivem Transport dieser Substanz über die Zellmembran hinweg verrichten kann (Astumian *et al.*, 1987). Das elektrische Feld oder thermisches Rauschen allein verursacht keinen gerichteten Transport (Astumian *et al.*, 1987). Als konkretes Beispiel führen die Autoren dabei die ATP-Hydrolyse an (Astumian *et al.*, 1987; Bier, 2005). In einer jüngst erschienenen Arbeit von Vaughan und Weaver (2005) wird der mögliche Einfluss eines schwachen elektrischen Einflusses auf die iontophoretische und elektrophoretische Abgabe von Fentanyl durch die Haut und auf die elektrophoretische Zuführung von Bleomycin zu einzelnen Zellen erörtert. In der Modellierung, die die experimentellen Beobachtungen stützt, wurden Rauscheffekte berücksichtigt.

Literaturverzeichnis (Theoretischer Teil)

- Adair, R. K., *Constraints on biological effects of weak extremely-low-frequency electromagnetic fields*, Phys. Rev. A **43**, 1039-1048 (1991)
- Aihara, K., Matsumoto, G., and Ikegaya, Y., *Periodic and non-periodic responses of periodically forced Hodgkin-Huxley oscillator*, J. Theoret. Biol. **109**, 249-269 (1986)
- Alberts, B., Bray, D., Lewis, J., Raff, M., Roberts, K., and Watson, J. D., *Molecular biology of the cell*, 3rd ed., Garland Publishing, New York (1994)
- Alberts, B., Johnson, A., Lewis, J., Raff, M., Roberts, K., and Walter, P., *Molecular biology of the cell*, 4th ed., Garland Science, New York (2002)
- Anishchenko, V. S., Neiman, A. B., Moss, F., and Schimansky-Geier, L., *Stochastic resonance: noise-enhanced order*, Phys-Usp. **42**, 7-39 (1999)
- Astumian, R. D., Chock, P. B., Tsong, T. Y., Chen Y., and Westerhoff, H. V., *Can free energy be transduced from electric noise?*, Proc. Natl. Acad. Sci. (USA) **84**, 434-438 (1987)
- Astumian, R. D., *Thermodynamics and kinetics of a Brownian motor*, Science **276**, 917-922 (1997)
- Astumian, R. D., and Hänggi, P., *Brownian motors*, Physics Today **55**, 33-39 (2002)
- Bartussek, R. and Hänggi, P., *Brownsche Motoren*, Physik. Blätter **51**, 506-507 (1995)
- Bezanilla, F., White, M. M., and Taylor R. E., *Gating currents associated with potassium channel activation*, Nature **296**, 657-659 (1982)
- Bier, M., *Gauging the strength of power frequency fields against membrane electrical noise*, Bioelectromagnetics **26**, 595-609 (2005)
- Brillouin, L., *Can the rectifier become a thermodynamical demon?*, Phys. Rev. **78**, 627-628 (1950)
- Büchner, R., Hefter, G. T., May, P. M., *Dielectric relaxation of aqueous NaCl solutions*, J. Phys. Chem. A **103** (1): 1-9 (1999)
- Campbell, N. A., Reece, J. B., and Mitchell, L. G., *Biology*, 5th ed, Addison Wesley (1999)
- Collins, J. J., Imhoff, T. T., and Grigg, P., *Noise-enhanced tactile sensation*, Nature **383**, 770 (1996)
- Collins, J. J., *Fishing for function in noise*; Nature **402**, 241-242 (1999)
- DeFelice, L. J., *Introduction to membrane noise*, Plenum, New York (1981)
- Douglass, J. J., Wilkens, L., Pantazelou, E., and Moss, F., *Noise enhancement of information-transfer in crayfish mechanoreceptors by stochastic resonance*, Nature **365**, 337-340 (1993)

- Einstein, A., *Über die von der molekularkinetischen Theorie der Wärme geforderte Bewegung von in ruhenden Flüssigkeiten suspendierten Teilchen*, Ann. Physik **17**, 549-560 (1905)
- Fall, C. P., Marland, E. S., Wagner, J. M., and Tyson, J. J. (Editoren), *Computational cell biology*, Springer, New York (2002)
- Feynman, R. P., Leighton R. B., and Sands, M., *The Feynman lectures on physics*, Vol. 1, Reading, MA: Addison Wesley (1966)
- Foster, K. R., and Schwan, H. P., in *CRC Handbook of biological effects of electromagnetic fields*, Polk, C., and Postow, E., (Eds), CRC Press, Boca Raton, FL (1986)
- Foster, K. R., and Schwan, H. P., *Dielectric properties of tissues and biological materials: a critical review*, CRC Crit. Rev. Bioeng. **17**, 25-104 (1989)
- Foster, K. R., Lozano-Nieto, A., Riu, P. J., and Ely, T. S., *Heating of tissues by microwaves: a model analysis*, Bioelectromagnetics **19**, 420-428 (1998)
- Gammaitoni, L., Menichella-Saetta, E., Santucci, S., and Marchesoni, F., *Extraction of periodic signals from a noise background*, Phys. Lett. A **142**, 59-62 (1989)
- Gammaitoni, L., Hänggi, P., Jung, P., and Marchesoni, F., *Stochastic resonance*, Rev. Mod. Phys. **70**, 223-288 (1998)
- Gascoyne, P. R. C., Pethig, R., Burt, J. P. H. and Becker, F. F., *Membrane changes accompanying the induced differentiation of Friend murine erythroleukemia cells studied by dielectrophoresis*, Biochim. Biophys. Acta **1146**, 119-126 (1993)
- Gluckman, B. J., Netoff, T. I., Neel, E. J., Ditto, W. L., Spano, M. L., and Schiff, S. J., *Stochastic resonance in a neuronal network from mammalian brain*, Phys. Rev. Lett. **77**, 4098-4101 (1996)
- Hänggi, P., and Thomas, H., *Stochastic processes: time-evolution, symmetries and linear response*, Phys. Rep. **88**, 207-319 (1982)
- Hänggi, P., Talkner P., and Borkovec, M., *Reaction rate theory: fifty years after Kramers*, Rev. Mod. Phys. **62**, 251-342 (1990)
- Hänggi, P., and Bartussek, R., *Brownian rectifiers: how to convert Brownian motion into directed transport*, Lect. Notes in Physics **476**, 294-308 (1996)
- Hänggi, P., *Stochastic Resonance in biology*, ChemPhysChem **3**, 285-290 (2002)
- Hänggi, P., Schmid G., and Goychuk, I., *Statistical physics of biocomplexity*, Nova Acta Leopoldina **88**, no. 332: 17 (2003)
- Hänggi, P., Marchesoni, F., and Nori, F., *Brownian motors*, Ann. Phys. (Leipzig) **14**, 51-70 (2005)
- Harris, C. M. and Kell, D. B., *The radio-frequency dielectric properties of yeast cells measured with a rapid, automated, frequency-domain dielectric spectrometer*, Bioelectrochem. Bioenerg. **11**, 15-28 (1983)
- Hassard, B., *Bifurcation of periodic solutions of the Hodgkin-Huxley model for the squid giant axon*, J. Theoret. Biol. **71**, 401-420 (1978)

- Hidaka, I., Nozaki, D., and Yamamoto, Y., *Functional stochastic resonance in the human brain: noise induced sensitization of baroreflex system*, Phys. Rev. Lett. **85**, 3740-3743 (2000)
- Hille, B., *Ion channels of excitable membranes*, 3rd ed., Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts (2001)
- Hölzel, R. and Lambrecht, I., *Dielectric properties of yeast cells as determined by electrorotation*, Biochim. Biophys. Acta **1104**, 195-200 (1992)
- Hodgkin, A. L. and Huxley, A. F., *A quantitative description of membrane current and its application to conduction and excitation*, J. Physiol. (London) **117**, 500-544 (1952)
- Honig, B. H., Hubbell, W. L., and Flewelling, R. F., *Electrostatic interactions in membranes and proteins*, Annu. Rev. Biophys. Chem. **15**, 163-193 (1986)
- Hudspeth A. J., *How the ears works work*, Nature **341**, 397-404 (1989)
- Jackson, J. D., *Classical electrodynamics*, 3rd ed., Wiley, New York (1998)
- Johnson, J. B., *Thermal agitation of electricity in conductors*, Phys. Rev. **32**, 97-109 (1928)
- Johnston, D., and Wu, S. M., *Foundations of cellular neurophysiology*, MIT Press, Cambridge, Massachusetts (1999)
- Jülicher, F., Ajdari, A., and Prost, J., *Modelling molecular motors*, Rev. Mod. Phys. **69**, 1269-1281 (1998)
- Jung, P., *Thermal activation in bistable systems under external periodic forces*, Z. Phys. B **76**, 521-535 (1989)
- Jung, P., and Hänggi, P., *Stochastic nonlinear dynamics modulated by external periodic forces*, Europhys. Lett. **8**, 505-510 (1989)
- Jung, P., and Hänggi, P., *Amplification of small signals via stochastic resonance*, Phys. Rev. A **44**, 8032-8042 (1991)
- Jung, P., and Shuai, J. W., *Optimal sizes of ion channel clusters*, Europhys. Lett. **56**, 29-35 (2001)
- Kampen, N. G. van, *Stochastic processes in physics and chemistry*, Elsevier, Amsterdam (1992)
- Kaplan, D. T., Clay, J. R., Manning, T., Glass, L., Guevara, M. R., and Shrier, A., *Subthreshold dynamics in periodically stimulated squid giant axons*, Phys. Rev. Lett. **76**, 4074-4077 (1996)
- Katz, B., *Nerve, muscle, and synapse*, McGraw-Hill, New York (1966)
- Kaune, W. T., *Thermal noise limit on the sensitivity of cellular membranes to power frequency electric and magnetic fields*, Bioelectromagnetics **23**, 622-628 (2002)
- Keener, J., and Sneyd, J., *Mathematical Physiology*, Springer, New York (1998)

- Klößgen B., Reichle, C., Kohlsmann, S. and Kramer, K. D., *Dielectric spectroscopy as a sensor of membrane headgroup mobility and hydration*, *Biophys. J.* **71**, 3251-3260 (1996)
- Kotnik, T., Bobanovic, F. and Miklavcic, D., *Sensitivity of transmembrane voltage induced by applied electric fields – a theoretical analysis*, *Bioelectrochem. Bioenerg.* **43**, 285-291 (1997)
- Kotnik, T., Miklavcic, D., and Slivnik, T., *Time course of transmembrane voltage induced by time-varying electric fields – a method for theoretical analysis and its application*, *Bioelectrochem. Bioenerg.* **45**, 3-16 (1998)
- Kotnik, T., and Miklavcic, D., *Theoretical evaluation of the distributed power dissipation in biological cells exposed to electric fields*, *Bioelectromagnetics* **21**, 385-394 (2000)
- Lee, S., and Kim, S., *Parameter dependence of stochastic resonance in the stochastic Hodgkin-Huxley neuron*, *Phys. Rev. E* **60**, 826-830 (1999)
- Levin, J. E., and Miller, J. P., *Broadband neural encoding in the cricket cercal sensory system enhanced by stochastic resonance*, *Nature* **380**, 165-168 (1996)
- Liman, E. R., Hess, P., Weaver F., and Koren, G., *Voltage-sensing residues in the S4 region of a mammalian K^+ channel*, *Nature* **352**, 752-756 (1991)
- Lodish, H., Berk, A., Zipursky, S. L., Matsudaira, P., Baltimore, D., and Darnell, J. E., *Molecular cell biology*, 4th ed., W.H. Freeman and Company, New York (1999)
- Longtin, A., Bulsara, A., and Moss, F., *Time-interval sequences in bistable systems and the noise-induced transmission of information by sensory neurons*, *Phys. Rev. Lett.* **67**, 656-659 (1991)
- McNamara, B., and Wiesenfeld, K., *Theory of stochastic resonance*, *Phys. Rev. A* **39**, 4854-4869 (1989)
- Moss, F., *Stochastic Resonance*, *Ber. Bunsenges. Phys. Chem.* **95**, 303-311 (1991)
- Moss, F., pp. 205-253, in *Contemporary problems in statistical physics*, edited by G. H. Weiss, SIAM, Philadelphia (1994)
- Moss, F., Pierson, D., and O’Gorman, D., *Stochastic resonance: tutorial and update*, *Int. J. Bifurcation Chaos Appl. Sci Eng.* **4**, 1383-1397 (1994)
- Moss, F., and Wiesenfeld, K., *The benefits of background noise*, *Sci. Am.* **273**, 66-69 (1995)
- Nyquist, H., *Thermal agitation of electric charge in conductors*, *Phys. Rev.* **32**, 110-113 (1928)
- Ott, H. W., *Noise reduction techniques in electronic systems*, Wiley, New York (1976)
- Panagopoulos, D. J., Karabarbounsi A., and Margaritis L. H., *Mechanism for action of electromagnetic fields on cells*, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **298**, 95-102 (2002)
- Panagopoulos, D. J., and Margaritis, L. H., *Theoretical considerations for the biological effects of electromagnetic fields*, in Stavroulakis, P. (Ed): *Biological effects of electromagnetic fields*, pp. 5-33, Springer, Berlin (2003)

- Panagopoulos, D. J., Messini, N., Karabarbounis A., Philippetis A. L, and Margaritis L. H., *A mechanism for action of oscillating electric fields on cells*, Biochem. Biophys. Res. Commun. **272**, 634-640 (2000)
- Pauly, H., and Schwan, H. P., *Über die Impedanz einer Suspension von kugelförmigen Teilchen mit einer Schale*, Z. Naturforsch. **14B**, 125-131 (1959)
- Reimann, P., *Brownian motors: noisy transport far from thermal equilibrium*, Phys. Rep. **361**, 57-265 (2002)
- Reimann, P. and Hänggi, P., *Introduction to the Physics of Brownian Motors*, Appl. Physics A **75**, 169–178 (2002)
- Reitz, J. R., and Milford, F. J., *Foundations of electromagnetic theory*, Adison-Wesley, Reading (MA) (1960)
- Rinzel, J., and Miller, R. N., *Numerical calculation of stable and unstable periodic oscillations to the Hodgkin-Huxley equations*, Mathem. Biosci. **49**, 27-59 (1980)
- Risken, H, *The Fokker-Planck equation*, 2nd ed, Springer, Berlin (1998)
- Russel, D. F., Wilkens, L. A., and Moss, F., *Use of behavioural stochastic resonance by paddle fish for feeding*, Nature **402**, 291-294 (1999)
- Sakmann, B., and Neher, E. (Editors), *Single-channel recording*, 2nd ed, Plenum Press, New York (1995)
- Sarpeshkar, R., Delbrück, T., and Mead, C. A., *White noise in MOS transistors and resistors*, IEEE Circuits and devices magazine **9** , 23-29 (1993)
- Simonotto, E., Riani, M., Seife, C., Roberts, M., Twitty, J., and Moss, F., *Visual perception of stochastic resonance*, Phys. Rev. Lett. **78**, 1186-1189 (1997)
- Schmid, G., Goychuk, I., and Hänggi, P., *Membrane clusters of ion channels: size effects for stochastic resonance*, in: *Statistical mechanics of complex networks*, R. Pastor Satorras, M. Rubi, and A. Diaz Guilera, eds. Lecture Notes in Physics, vol. **625**, pp. 195–206, Springer, Berlin, (2003)
- Schmid, G., Goychuk, I., and Hänggi, P., *Stochastic resonance as a collective property of ion channel assemblies*, Europhys. Lett **56**, 22–28 (2001)
- Smythe, W. R., *Static and dynamic electricity*, McGraw-Hill, New York (1968)
- Sunderman, F. W., *Measurement of serum total base*, Am. J. Clin. Path **15**, 219-222 (1945)
- Vaughan, T. E., and Weaver, J. C., *Molecular change signal-to-noise criteria for interpreting experiments involving exposure of biological systems to weakly interacting electromagnetic fields*, Bioelectromagnetics **26**, 305-322 (2005)
- Weaver, J. C., and Astumian, R. D., *The response of living cells to very weak electric fields: the thermal noise limit*, Science **247**, 459-462 (1990)
- White, D. C., and Woodson, H. H., *Electromechanical energy conservation*, John Wiley and Sons, New York (1959)
- White, J. A., Rubinstein, J. T., and Kay, A. R., *Channel noise in neurons*, Trends. Neurosci. **23**, 131-137 (2000)

- Wiesenfeld, K., and Moss, F., *Stochastic resonance and the benefits of noise: from ice ages to crayfish and SQUIDS*, Nature **373**, 33-36 (1995)
- Wolfe, S. L., *Molecular and cellular biology*, Wadsworth Publishing Company, Belmont, California (1993)
- Yu, Y., Wang, W., Wang, J., and Liu, F., *Resonance-enhanced signal detection and transduction in the Hodgkin-Huxley neuronal system*, Phys. Rev. E **63**, 021907 (2001)
- Zhou, T., Moss, F., and Jung, P., *Escape time distributions of a periodically modulated bistable system with noise*, Phys. Rev. A **42**, 3161-3169 (1990)