

Tierphysiologisches Praktikum

Universität Ulm, WS 2007/2008

Versuch 7:

Fortgeleitete Aktionspotentiale einzelner Nervenfasern (Bauchmark)

Datum: 19.11.07

Gruppe 14:

Sarah Schleicher

Yolanda Braun

Susanne Michelbach

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung

1.1 Bau und Lage des Regenwurm-Bauchmarks.....	Seite 3
1.2 Bau einer typischen Nervenzelle.....	Seite 4
1.3 Die Zellmembran.....	Seite 5
1.4 Ionenkanäle	Seite 5
1.5 Ruhepotential und Ionenverteilung.....	Seite 7
1.6 Aktionspotential (AP).....	Seite 8
1.7 Refraktärzeit und Latenzzeit.....	Seite 9
1.8 Erregungsfortleitung.....	Seite 10
1.9 Übertragung an Synapsen.....	Seite 11
1.10 Amplituden und Frequenzmodulation.....	Seite 12
2. Theorie zum Versuch.....	Seite 12
2.1 Extrazelluläre Ableitung.....	Seite 12
2.2 Intrazelluläre Ableitung.....	Seite 12
2. Material und Methode.....	Seite 14
3. Ergebnisse.....	Seite 15
4. Diskussion.....	Seite 21
5. Literaturverzeichnis.....	Seite 23

1. Einleitung

1.1 Bau und Lage des Regenwurm-Bauchmarks

Im heutigen Versuch arbeiten wir mit dem Bauchmark des Regenwurms, also mit seinem Nervensystem, dass sich wie der Name schon sagt ventral befindet. Um sich die Lage des Bauchmarks besser klar zu machen: siehe Abbildung 1, unten. Systemtisch betrachtet gehört der Regenwurm (*Lumbricus terrestris*) zu den Ringelwürmern (Annelida), dort zu den Gürtelwürmern (Clitellata) und in dieser Gruppe schließlich zu den Wenigborstern („Oligochaeta“). Zusätzlich ist noch interessant dass der Regenwurm ein Hermaphrodit ist und eine homonome Segmentierung und ein hydrostatisches Skelett (bestehend aus Hautmuskelschlauch und der Coelomflüssigkeit) aufweist. Bei seinem Nervensystem handelt es sich um ein sogenanntes Strickleiternnervensystem, dass im Vorderbereich mit einem Ober- und Unterschlundganglion beginnt. Man kann es sich im weiteren wirklich wie eine Leiterstruktur vorstellen, die Querverbindungen sind die Kommissuren und die Längsstränge, die Konnektiven. Die Nervenknotten (Ganglien) liegen dort wo Kommissuren und Konnektiven aufeinander treffen und gleichzeitig in der Mitte der Regenwurmsegmente. In jedem Segment zweigen vom Bauchmark drei Nervenstränge ab, diese innervieren den Hautmuskelschlauch. Außerdem muss man noch erwähnen dass die zwei Stränge des Bauchmarks so sehr miteinander verwachsen sind dass sie wie ein einziger Strang aussehen.

Wenn man sich einen Längsschnitt durch das Bauchmark vorstellt, dann befindet sich unten ein sehr großes Subneuralgefäß, und seitlich zwei kleinere Lateroneuralgefäße. Auf einer Seite geht der Nerv ab und innerhalb befinden sich verstreute Nervenzellen. Am oberen Rand des Bauchmarks befinden sich die drei Riesen- oder Kolossalfasern. Diese Riesenfasern haben in ihren Querwänden (den Disseptimenten) Gap junctions die zur schnellen Kommunikation dienen. Die Gap junctions sind aus sechs Connexinmolekülen aufgebaut, die ringförmig angeordnet sind und im geöffneten Zustand eine kreisförmige Öffnung bilden. Die mediale Riesenfaser ist etwas dicker als die beiden anderen. Diese lateralen Riesenfasern fungieren durch Querverbindungen als physiologische Einheit. Ansonsten sind noch Schutzgewebe und Muskelzellen (Epineurale Muskulatur) vorhanden.

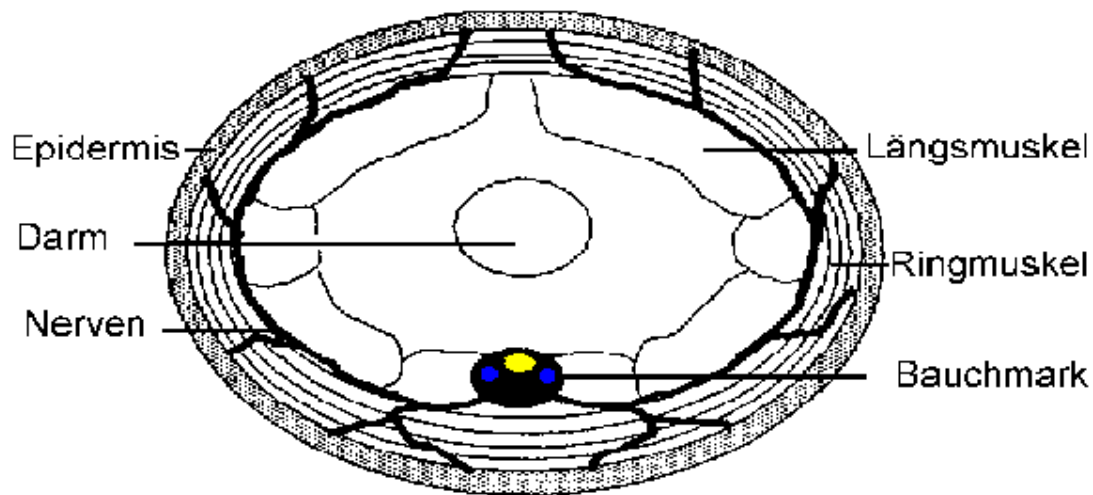


Abb. 1: Querschnitt durch einen Regenwurm

1.2 Bau einer typischen Nervenzelle

Eine typische Vertebraten-Nervenzelle besteht zuerst einmal aus dem Soma, dem Zellkörper. Dieser ist wie ein ganz normaler Zellkörper aufgebaut und enthält beispielsweise Chromosomen, einen Zellkern und viele andere Organellen. Vom Zellkern gehen viele dicke, kurze Verästelungen ab, die sogenannten Dendriten. Außerdem gibt es einen sehr langen Fortsatz, das Axon, das von einer isolierenden Myelinscheide umgeben ist, die in regelmäßigen Abständen von den Ranvier'schen Schnürringen unterbrochen wird. Die Myelinscheide wird von den Schwann'schen Zellen gebildet. Das Axon entspringt am Axonhügel und endet in den synaptischen Endknöpfchen, die über den synaptischen Spalt mit den Dendriten der nächsten Nervenzelle verbunden sind und so den Kontakt zwischen den Neuronen herstellen. Es gibt nun einige Unterschiede zwischen Vertebraten- und Invertebraten-Nervenzellen. Der wohl wichtigste ist das Fehlen der Myelinisierung bei den Invertebraten (auch bei Vertebraten ist diese in wenigen Zellen nicht vorhanden, was aber für uns keine weitere Rolle spielen soll). Dies hat einen signifikanten Einfluss auf die Reizweiterleitung, hierzu aber später mehr. Außerdem sind die Nervensysteme der Invertebraten sehr viel konfuser aufgebaut, man kann meist nicht wirklich Axon und Dendriten identifizieren. Diese Unterschiede spielen bei dem vorliegenden Versuch eine große Rolle.

Alle Nervenzellen sind zusätzlich, wie auch sonst alle Zellen, von einer Zellmembran umgeben. Auf diese gehen wir nun im nächsten Abschnitt genauer ein, da sie eine wichtige Rolle für die Membranpotentiale spielt.

1.3 Die Zellmembran

Die Zellmembran besteht primär aus einer Phospholipid-Doppelschicht in die Proteine eingelagert sind und ist 5-10 nm dick. Die Phospholipide besitzen einen hydrophoben Teil (dem Schwanz aus Fettsäuren), der dementsprechend in der Doppelschicht nach innen gerichtet ist, und aus den hydrophilen Köpfen. Außerdem gibt es zwei Arten von Proteinen, die peripheren Proteine die an der Membranoberfläche liegen und sie nicht ganz durchdringen, und außerdem die integralen Proteine die ganz durch die Membran hindurchgehen. Zusätzlich findet man außen an der Membran oft auch Zuckerketten und innerhalb manchmal Cholesterin. Da die Zellmembran keine starre Struktur darstellt sondern ein nahezu flüssiges System in dem sich die Proteine frei bewegen können wird sie durch das „Flüssig-Mosaik-Modell“ beschrieben.

Begründung für diesen Zustand sind die sehr schwachen chemischen Verbindungen mit der ihre Bestandteile zusammengehalten werden.

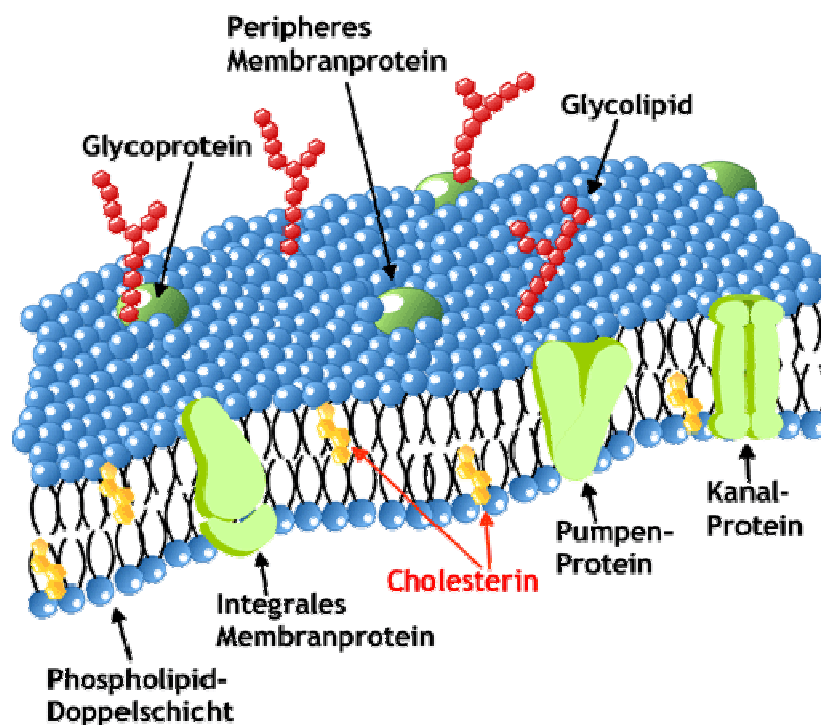


Abb. 2: Schema einer Zellmembran

Man könnte sich ihre Stabilität in sich anhand einer Seifenblase vorstellen.

Ein weiteres Merkmal der Membran ist ihre Semipermeabilität, d.h. sie ist nicht für alle Ionen gleich durchlässig, durch die Trennung der Ionen kommt es gleichzeitig zu einer Ladungstrennung. Dies führt zu einer Potenzialdifferenz, wodurch über ihr eine Spannung entsteht. Dies ist auch der Grund warum sie gerne mit einem physikalischen Kondensator verglichen wird. Man könnte sie sich als Staudamm vorstellen, gegen den auf beiden Seiten die Wassermassen drücken.

Dieser Punkt führt uns zu der Funktion der Membran, welche zu einem großen Teil das Aufrechterhalten der Konzentrationsverhältnisse innerhalb und außerhalb der Zelle ist. Zusätzlich dient sie aber auch dem mechanischen Schutz, stellt den Kontakt mit anderen Zellen her und ist das Werkzeug der Kompartimentierung.

1.4 Ionenkanäle

Die Ionenkanäle werden durch die eben schon genannten integralen Proteine dargestellt. Zum einen hätten wir die passiven, offenen Ionenkanäle, durch die ihre spezifischen Ionen frei diffundieren können, zum Beispiel die Kaliumkanäle. Andere Kanäle sind geschlossen und werden nur aufgrund bestimmter Signal geöffnet. Die Einteilung erfolgt in ligandengesteuerte und in spannungsabhängige Ionenkanäle, außerdem gibt es auch mechanische Ionenkanäle. Ligandengesteuerte Ionenkanäle: Sie öffnen sich mittels eines Transmitters. Die ionotropen Kanäle funktionieren dadurch dass sich der Transmitter direkt an den Kanal anlagert und dieser sich dann öffnet. Bei den metabotropen Kanälen bindet der Transmitter in der Nähe des Ionenkanals und dieser wird erst über Signalkaskaden geöffnet. Ligandengesteuerte Ionenkanäle findet man beispielsweise an der postsynaptischen Membran der Synapsen. Wenn die Transmitter gebunden sind öffnet sich der Ionenkanal für einige Millisekunden. Nach einer spezifischen Zeit wird der Transmitter abgebaut und der Kanal schließt sich erneut.

Spannungsabhängige Ionenkanäle: Bei diesen Kanälen kommt es auf die Spannung der Membran an ob sie sich öffnen. An Nervenzellen öffnen sich zum Beispiel die spannungsabhängigen Natriumkanäle bei einem Wert von -50 - -40 mV.

Mechanische Ionenkanäle: diese spielen für uns keine weitere Rolle, sie liegen z. B. in den Haarsinneszellen im Ohr. Sie funktionieren durch Bewegung von Stereovilli.

Manche Ionenkanäle besitzen auch mehrere Kanaltore. Der Na⁺-Kanal besitzt z.B. ein langsames Inaktivierungstor und ein schneller arbeitendes Aktivierungstor. Auf dieses Thema werden wir im Abschnitt über Aktionspotenziale aber noch genauer eingehen.

1.5 Ruhepotential und Ionenverteilung

Durch die semipermeable Wirkung der Zellmembran kommt im Ruhezustand bei Nervenzellen eine bestimmte Ionenverteilung zustande. Diese sieht folgendermaßen aus: das Zellinnere ist gegenüber dem Zelläußeren negativ geladen. Innen befinden sich sehr viele negativ geladene Anionen (ca. 100 mmol/l) und positive Kaliumionen (150mmol/l). In geringerer Menge liegen positive Natriumionen (15mmol/l) und negative Chlorionen (10mmol/l) vor. Im Gegensatz dazu befindet sich außen sehr viel Na⁺ (150mmol/l) und Cl⁻ (120mmol/l) während wenig K⁺ (5mmol/l) vorhanden ist.

Durch solche Ionenverteilungen die sich natürlich aufgrund verschiedener Mechanismen auch ändern können entsteht ein Membranpotential. Im gerade geschilderten Beispiel handelt es sich um das Ruhepotential der Nervenzelle welches bei ca. -70 mV liegt. Dass die Zellmembran für viele geladene Ionen nicht permeabel ist trägt zur Beibehaltung des Ruhepotentials bei. In unserem Fall ist sie wie oben bereits erwähnt nur für Kalium frei permeabel. Na⁺ kann die Membran nur sehr schwer durchdringen und A⁻ kann gar nicht diffundieren. Die geringen Mengen an Anionen die trotzdem passieren nennt man Leckströme. Da die K⁺-Ionen die ganze Zeit strömen, liegt am sogenannten chemischen Gradienten, d.h. die K⁺-Teilchen stoßen sich gegenseitig ab und wollen nach außen gelangen. Dies geschieht solange bis sich die zweite Kraft die auf die Ionen wirkt bemerkbar macht, der elektrische Gradient. Durch ihn wollen die negativen Ionen in einen positiveren Bereich gelangen und umgekehrt. So wird also der schwache aber stetige Na⁺-Einstrom bewirkt. Auf Dauer würden diese Mechanismen zu einem Konzentrationsausgleich führen. Um das zu verhindern gibt es die „Natrium-Kalium-Pumpe“. Diese bringt unter Energieverbrauch, mittels ATP-Spaltung, drei Na⁺-Ionen nach außen und zwei K⁺-Ionen nach innen. Da die Menge an Ionen aber sehr hoch ist muss die Pumpe immer erst nach mehreren APs aktiv werden. Wie diese genau verlaufen folgt im nächsten Abschnitt.

1.6 Aktionspotential (AP)

Das Zustandekommen eines Aktionspotentials lässt sich mit Hilfe des „Alles- oder- Nichts“-Prinzips erklären. Es kommt nämlich nur dann zu einem AP, wenn der Schwellenwert, der bei ca. -40 mV liegt, überschritten wird. Bleibt der Wert unterhalb dieses Schwellenwerts, so wird nicht etwa ein schwächeres AP ausgelöst, es kommt gar kein AP zustande.

Natriumkanäle besitzen zwei Tore. Dabei wird das innere als Aktivierungs- und das äußere als Inaktivierungstor bezeichnet. Bei Kaliumkanälen finden wir hingegen nur ein einziges Tor.

Vor Beginn eines APs sind die Natriumkanäle geschlossen und aktivierbar (Ruhezustand). Den Verlauf eines APs kann man in mehrere Phasen unterteilen:

- 1.) **Depolarisation:** Während dieser Zeit öffnen sich die Aktivierungstore, die Natriumkanäle sind dann offen und aktiviert. Wenn nun ein Reiz ankommt, so werden einige Natriumkanäle geöffnet. Dies geschieht mittels Konformationsänderung der geladenen Aminosäuren als Reaktion auf die Spannungsänderung bei Reizzugabe. Wenn die Kanäle nun geöffnet sind, so strömen Natriumionen dem Ladungsgradienten folgend nach innen, da das Zellinnere dem Äußeren gegenüber negativ ist.
- 2.) **Umpolarisation:** Die weitere Reaktion hängt nun davon ab, ob der Schwellenwert erreicht wird. Geschieht dies, so öffnen sich alle Natriumkanäle im depolarisierten Bereich. Es strömen weitere Ionen ins Zellinnere, wo es folglich immer positiver wird. Dies geht so weit, dass es zu einer Umpolarisation der Zelle kommt, die dann innen also positiv und außen negativ wird. Ist der Reiz nicht stark genug, so wird der Schwellenwert nicht überschritten. Es öffnen sich zu wenige Kanäle, um die anderen öffnen zu können. Es entsteht also auch kein AP.
- 3.) **Repolarisation:** Nun schließen die Inaktivierungstore der Natriumkanäle langsam, die danach geschlossen und inaktivierbar sind. Gleichzeitig öffnen sich die Kaliumkanäle. Deshalb strömt Kalium nach außen, um die dort herrschende Negativität auszugleichen.
- 4.) **Hyperpolarisierung:** Bei den Natriumkanälen sind beide Tore geschlossen, auch die Kaliumkanäle schließen sich nun. Sie tun dies aber langsam, weshalb noch Kaliumionen nach außen diffundieren können, und ein negativeres Potential als das vom Ruhepotential entsteht. Diesen Vorgang nennt man Hyperpolarisation.

- 5.) **Wiederherstellung des Ruhepotentials:** es stellen sich die Ausgangsverhältnisse wieder her und wir erhalten das Ruhepotential. Bei den Natriumkanälen öffnen sich die Aktivierungstore und die Kanäle verbleiben vorerst geschlossen, aber aktivierbar.

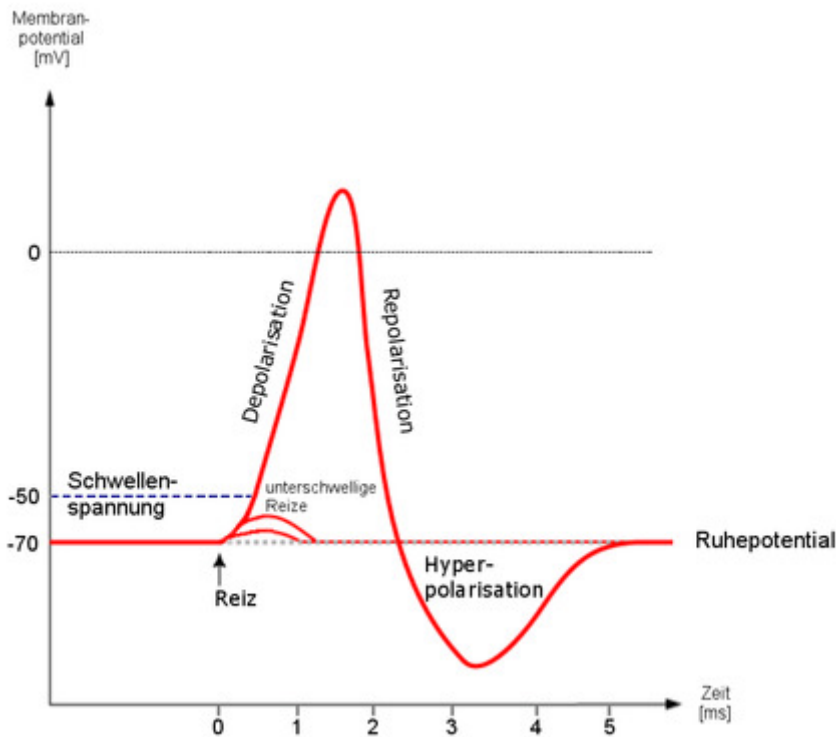


Abb. 3: Ablauf eines APs

1.7 Refraktärzeit und Latenzzeit

Nach einem AP kann nicht sofort das nächste AP entstehen. Der Grund dafür liegt bei der sog. Refraktärzeit. Sie ist die Zeit in der die Ionenkanäle sich wieder regenerieren. Während der Regeneration werden die Natriumkanäle vom inaktivierbaren Zustand, in dem sie sich nicht öffnen können, ein Zustand, in dem also kein neues AP entstehen kann, in den aktivierbaren Zustand, den Ausgangszustand überführt. Man kann die Refraktärzeit außerdem in zwei Abschnitte gliedern. In der so genannten absoluten Refraktärzeit ist keinerlei Erregung der Neuronen möglich, weil die Natriumkanäle noch inaktivierbar sind. Solange dies der Fall ist, können sie sich nicht öffnen, folglich kann kein Natrium in die Zelle einströmen, somit kann letztlich auch kein AP generiert werden. Auf die absolute folgt die relative Refraktärzeit, in der nur durch einen besonders starken Reiz ein weiteres AP entstehen kann, weil die Kanäle in dieser Phase sich erst langsam zu öffnen beginnen. Ein

stärkerer Reiz ist deshalb nötig, damit eine ausreichend große Fläche depolarisiert werden kann und somit genügend Natriumkanäle geöffnet werden können.

Die Zeitspanne, die zwischen dem Ende der Reizung und Beginn der Antwort des Neurons verstreicht, wird als Latenzzeit bezeichnet.

1.8 Erregungsfortleitung

Jedes Signal, das am Dendriten bzw. Soma auf ein Neuron trifft, wird zunächst passiv mittels Ionenströmen weitergeleitet und dabei abgeschwächt. Am Axonhügel wird bei ausreichend starkem Reiz ein AP generiert, das dann über das Axon weitergeleitet wird. Hier findet man nun zwei verschiedene Möglichkeiten der aktiven Erregungsfortleitung. Beide basieren auf demselben Prinzip. Von der schon depolarisierten Region aus fließen Ionenausgleichsströme zu benachbarten Stellen der Membran, die dann ebenfalls depolarisiert werden. Ist der Reiz so stark, dass auch hier der Schwellenwert überschritten wird, so entsteht wiederum ein AP, das auf eben jenem Prinzip basierend über die gesamte Membran geleitet werden kann. Eine Weiterleitung des entstandenen APs ist nur in eine Richtung möglich. Der Grund hierfür liegt bei der Refraktärzeit. Diese ist dafür verantwortlich, dass das AP nur in die Richtung weitergeleitet werden kann, aus der es nicht kommt. Denn die Stelle, an der es gerade erst entstanden ist, bleibt kurze Zeit unerregbar (siehe 1.7 Refraktärzeit). Daher ist die Weiterleitung nur in die andere Richtung möglich. Man unterscheidet nun aber zwei Arten von Erregungsfortleitung, auf der einen Seite die saltatorische Erregungsleitung und auf der anderen Seite die kontinuierliche Erregungsleitung.

Bei der kontinuierlichen Erregungsleitung, die an nicht-myelinisierten Axonfasern (Invertebraten, Muskel, etc.) zu finden ist, muss an jeder Stelle der Membran ein neues AP ausgelöst werden. Dies geschieht wie oben beschrieben mittels Ausgleichsströmen in nächster Nachbarschaft, das heißt bis zum Ende einer Leitung müssen sehr viele APs neu aufgebaut werden, was natürlich zeitaufwändig ist. Deshalb finden wir bei dünnen nicht-myelinisierten Axonen meist auch nur Geschwindigkeiten von bis zu 2 m/s. Die Geschwindigkeit kann erhöht werden durch einen größeren Faserdurchmesser, dann sinkt nämlich der Innenwiderstand.

Eine saltatorische Erregungsleitung finden wir an myelinisierten Axonen und v.a. auch bei Nerven-APs. Auch die saltatorische Erregungsleitung lässt sich mit Hilfe ihres Namens erklären. Saltatorisch bedeutet nämlich sprunghaft. Bei dieser Art der Weiterleitung springen

die APs nämlich von Ranvierschem Schnürring zu Schnürring. Denn nur hier am Axon können APs entstehen, da es nur hier spannungsabhängige Natriumkanäle gibt. Weil das restliche Axon durch die Myelinschicht gut isoliert ist und insgesamt viel weniger APs generiert werden müssen, werden hier höhere Geschwindigkeiten als bei der kontinuierlichen Erregungsfortleitung (von bis zu 120 m/s) erzielt. Dadurch, dass weniger APs gebildet werden müssen, spart die Zelle Energie und Zeit.

Auf eine dieser Arten wird das AP nun bis zum Ende des Axons weitergeleitet. Dort findet dann die Signalübertragung auf das nachfolgende Axon statt (siehe 1.9).

1.9 Übertragung an Synapsen

Bei der Übertragung von APs an Synapsen können wiederum zwei Typen unterschieden werden. Zum einen gibt es elektrische Synapsen, zum anderen finden wir auch chemische Synapsen.

Bei den elektrischen Synapsen werden die APs mittels gap junctions (Membrankanäle, durch die Ionenströme fließen können) direkt von der präsynaptischen auf die postsynaptische Membran der jeweiligen Zelle übertragen. Die AP-Übertragung erfolgt dabei schnell und ohne Signalstärkeverlust. Außerdem kann sie in beide Richtungen erfolgen. Im Bauchmark des Regenwurms finden wir elektrische Synapsen.

Bei anderen Invertebraten findet man ebenso wie bei den Vertebraten (und uns Menschen) chemische Synapsen. Bei diesem Synapsentyp sind die präsynaptische und die postsynaptische Membran nicht über gap junctions verbunden. Sie werden getrennt durch den synaptischen Spalt. Kommt nun ein AP an die präsynaptische Membran an, wird diese depolarisiert, die spannungsabhängigen Calciumkanäle öffnen sich. Calciumionen strömen ein und sind dafür verantwortlich, dass die ebenfalls vorhandenen Vesikel, die mit Transmittermolekülen gefüllt sind, zur präsynaptischen Membran wandern und mit dieser verschmelzen (Exocytose). So werden die Transmittermoleküle im synaptischen Spalt frei und wandern zur postsynaptischen Membran, wo sie an dortige Rezeptoren binden. Daraufhin werden gewisse Kanäle geöffnet, die postsynaptische Zelle wird je nach Kanaltyp entweder erregt (exzitatorisches postsynaptisches Potential (EPSP) mit Depolarisation und Fortleitung als Folge) oder gehemmt (inhibitorisches postsynaptisches Potential (IPSP), Hyperpolarisation). Die Kanäle sind für 1-2 ms geöffnet, schließen dann wieder, dabei werden

die Transmitter wieder frei. Die Transmitter werden unter ATP- Verbrauch zerlegt und wieder zurücktransportiert an ihren Ausgangsort, wo sie wieder zu ganzen Molekülen zusammengesetzt und in Vesikel verpackt werden und somit erneut zur Verfügung stehen.

1.10 Amplituden und Frequenzmodulation

Am Soma bzw. an den Dendriten kann man die so genannte Amplitudenmodulation beobachten. Das bedeutet, dass die Spannung über der Membran abnimmt und das Membranpotenzial proportional zur Stärke des Reizes in den positiven Bereich schießt. An einem Computer betrachtet, wäre dies an einer unterschiedlich hohen Amplitude sichtbar. Am Axon hingegen findet man eine so genannte Frequenzmodulation. Die Amplitude der hier fortgeleiteten APs bleibt gleich, lediglich die Frequenz nimmt bei steigender Stärke des Reizes zu. Der Grund dafür ist, dass bei stärkerer Reizgabe auch ein größerer Membranbereich depolarisiert wird. Die flächenmäßig größere Depolarisation betrifft somit auch mehr Natrium- Kanäle. Es öffnen sich mehrere Kanäle, wodurch auch das AP schneller entstehen kann.

2. Theorie zum Versuch

Zur Messung von APs kann man zwei verschiedene Ableitungstechniken verwenden, nämlich die extrazelluläre oder die intrazelluläre Ableitung. Beide haben ihre Vor- und Nachteile. Diese sollen ebenso wie die theoretischen Grundlagen in den nächsten beiden Punkten kurz erläutert werden.

2.1 Extrazelluläre Ableitung

Gearbeitet wird hier mit zwei Elektroden, die beide an der Zellaußenseite, also extrazellulär, in einem bekannten Abstand angebracht werden. Gemessen wird dann folglich die Spannungsdifferenz zwischen den Membranstellen, an denen sich die Elektroden befinden. Wichtig ist, dass man beachten muss, dass keine absoluten Werte erhalten werden im Gegensatz zur intrazellulären Ableitung. Subtrahiert man allerdings beide gemessenen Potentiale voneinander, so erhält man zumindest grobe Informationen darüber, wo sich ein AP gerade befindet.

Um die extrazelluläre Ableitung besser zu verstehen rechnen wir hier ein Beispiel aus dem Versuchsskript durch.

Gegebene Daten:

- Leitungsgeschwindigkeit 5m/s
- Abstand der Ableitorte 5mm
- AP- Dauer 2ms
- AP- Amplitude 100mV
- AP- Form: symmetrisches Dreieck

Tab.1: Rechnung zur Aufgabe im Vorbereitungsskript zur Extrazellulären Ableitung

Dauer [ms]	0	0,5	1	1,5	2	2,5	3
Stromstärke A [mV]	0	-50	-100	-50	0	0	0
Stromstärke B [mV]	0	0	0	-50	-100	-50	0
A-B [mV]	0	-50	-100	0	100	50	0

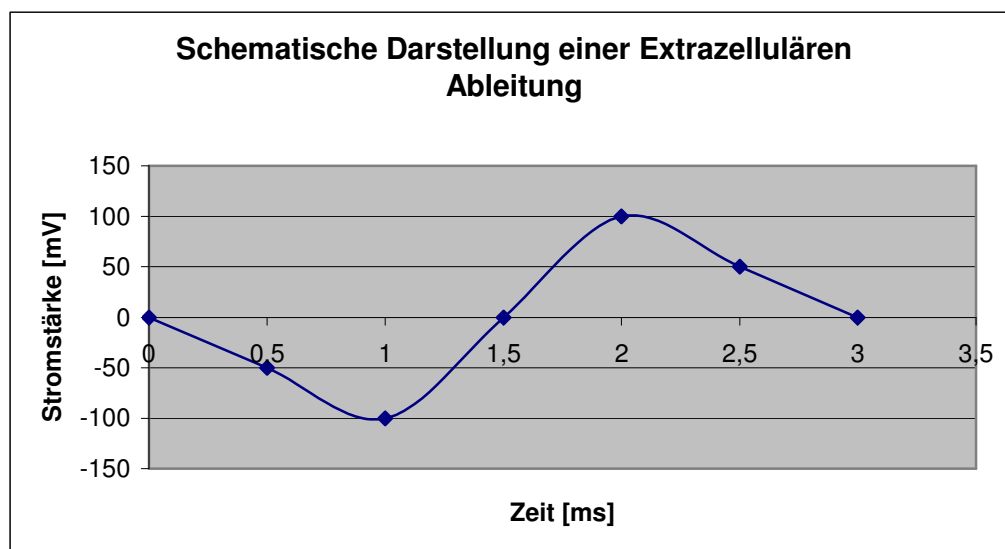


Abb. 4: Darstellung der Ergebnisse zur Rechnung zur extrazellulären Ableitung

2.2 Intrazelluläre Ableitung

Bei dieser Art der Ableitung arbeitet man wiederum mit einer extrazellulären Elektrode und zusätzlich mit einer Mikroelektrode, mit deren Hilfe im Zellinneren gemessen wird. Auch hier erhält man eine Spannungsdifferenz, dieses Mal aber absolute Werte. Allerdings ist diese Methode recht aufwändig, wohingegen die extrazelluläre Ableitung einfach und unkompliziert durchführbar ist, aber eben keine absoluten Werte liefert.

2. Material und Methode

Die Durchführung des Versuches erfolgt an den dorsalen Riesenfasern eines herauspräpariertem Bauchmarkes eines Regenwurmes, das in eine feuchte und kühle Versuchswanne gelegt wird. In der Versuchswanne befinden sich Silberdrähte als Elektroden am Boden im Abstand von 5mm zueinander. Diese können mit dem Reizgerät oder dem Oszillographen verbunden werden. Zwischen den Elektroden befindet sich eine Erdung um Störungen, sog. Reizartefakte, zu verhindern.

Folgende Versuche werden an den Riesenfasern des Regenwurmbauchmarks durchgeführt:

Versuch 1: Schwellenwert und Latenzzeit an einer medialen und lateralen Riesenfaser

Zu erst werden der Schwellenwert und die Latenzzeit bei einer kathodischen Reizung an der medialen Riesenfaser ermittelt. Anschließend wird die Veränderung der Latenzzeit auf kontinuierlich steigende Reize an der medialen Riesenfaser untersucht. Der ganze Durchgang wird für die laterale Riesenfaser wiederholt (Ermittlung des Schwellenwertes, der Latenzzeit und Reaktion der Latenzzeit auf stärker werdende Reize bei kathodischer Ableitung). Nun wird für sowohl für die mediale als auch für die laterale Riesenfaser der Schwellenwert und die Latenzzeit bei einer anodischen Ableitung ermittelt. Zu letzt werden die Messungen am gegenüberliegenden Ende des Bauchmarkes noch einmal durchgeführt.

3.2 Versuch 2: Ermittlung der Leitungsgeschwindigkeit

Die Leitungsgeschwindigkeit wird zweimal an der medialen Riesenfaser berechnet, nämlich einmal bei einem schwach und einmal bei einem stark überschwelligem Reiz. An der lateralen Riesenfaser wird die Leitungsgeschwindigkeit nur bei einem schwach unterschwelligen Reiz untersucht. Die Leitungsgeschwindigkeit lässt sich mit der Formel: $v=s/t$ berechnen, wobei s der Abstand zwischen den Ableitungen (25mm) ist und t aus der Differenz der beiden ermittelten Latenzzeiten errechnet wird.

3.3 Versuch 3: Ermittlung der relativen und absoluten Refraktärzeit

Zu Letzt wird die relative (durch einen starken Reiz kann ein Aktionspotential noch ausgelöst werden) und die absolute Refraktärzeit (auch durch einen starken Reiz kann kein Aktionspotential ausgelöst wird) ermittelt. Aus diesen Ergebnissen lässt sich errechnen, wie viele Aktionspotentiale pro Sekunde zustande kommen können (Frequenz).

3. Ergebnisse

3.1 Versuch 1: Schwellenwert und Latenzzeit an einer medialen und lateralen Riesenfaser

3.1.1 Schwellenwert und Latenzzeit bei kathodischer Reizung an einer medialen Riesenfaser

Tab.1 : Mittelwert der Schwelle und der Latenzzeit der gemessenen Ergebnisse

Messung	Schwellenwert [mV]	Latenzzeit [ms]
1	220	2,7
2	220	2,7
3	240	2,7
Mittelwert	226,666	2,7

Der Mittelwert des Schwellenwertes beträgt bei diesem Versuch 226,666 mV und die mittlere Latenzzeit hat einen Wert von 2,7 ms.

3.1.2 Veränderung der Latenzzeit bei langsamer und kontinuierlicher Steigerung der Reizstärke an einer medialen Riesenfaser

Tab.2: Latenzzeiten bei steigender Spannung

Spannung [mv]	Latenzzeit [ms]	Zusätzliches AP in lateraler Riesenfaser
260	2,5925	
280	2,5325	
300	2,5219	
320	2,4950	
340	2,4950	+ laterale Faser
360	2,5375	+ laterale Faser
380	2,4850	+ laterale Faser
400	2,4850	+ laterale Faser

Eine kontinuierliche Erhöhung der Spannung hat eine Abnahme der Latenzzeit zur Folge. Ab einer Spannung von 340 mV ist ein zusätzliches Aktionspotenzial zu beobachten, das in der lateralen Riesenfaser ausgelöst wird

Graphische Darstellung der Messwerte:

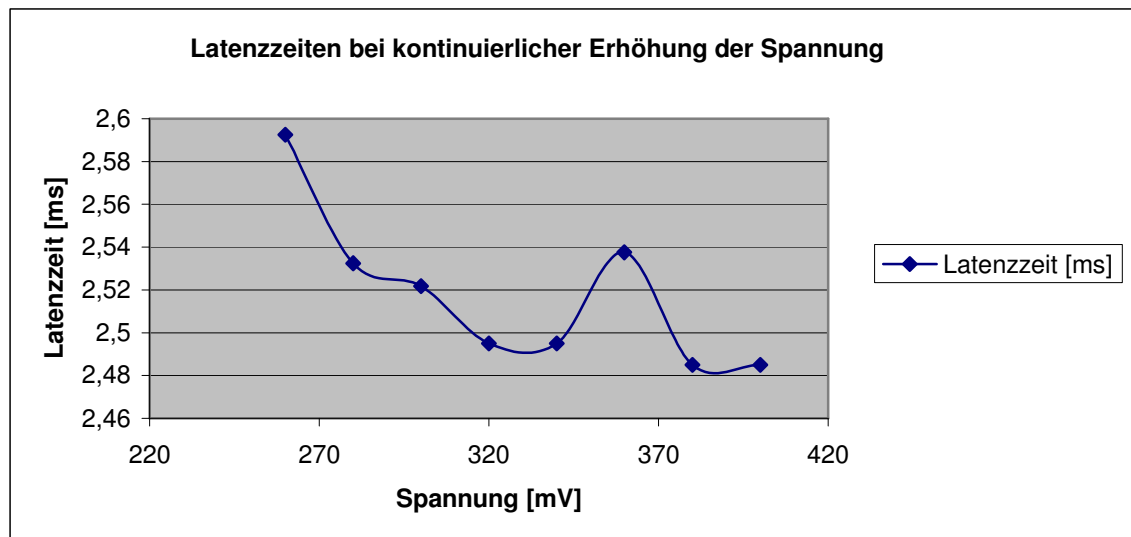


Abb. 1: Latenzzeiten in Abhängigkeit von der Spannung

3.1.3 Messung des Schwellenwertes und der Latenzzeit an einer lateralen Faser bei kathodischer Reizung

Tab. 3: Ermittelte Werte für die Schwelle und die Latenzzeit

Messung	Schwellenwert [mV]	Latenzzeit [ms]
1	360	4,4013
2	340	4,4381
3	320	4,7975

Mittelwert	340	4,5456
-------------------	-----	--------

Bei diesem Versuch beträgt der Mittelwert des Schwellenwertes bei einer lateralen Riesenfaser den Wert 340 mV und die mittlere Latenzzeit beträgt 4,5456 ms.

3.1.4 Auswirkung einer kontinuierlichen Spannungserhöhung auf die Latenzzeit an einer lateralen Riesenfaser

Tab. 5: Verhalten der Latenzzeit auf zunehmende Reizintensität

Spannung [mV]	Latenzzeit [ms]
340	4,4944
360	4,3819
380	4,2925
400	4,2469
420	4,2331
440	4,2331
460	4,2331
480	4,1931
500	4,1931

Bei diesem Versuch ist gut zu beobachten, dass die Latenzzeit proportional zur Erhöhung der Reizstärke abnimmt.

Graphische Darstellung der Werte:

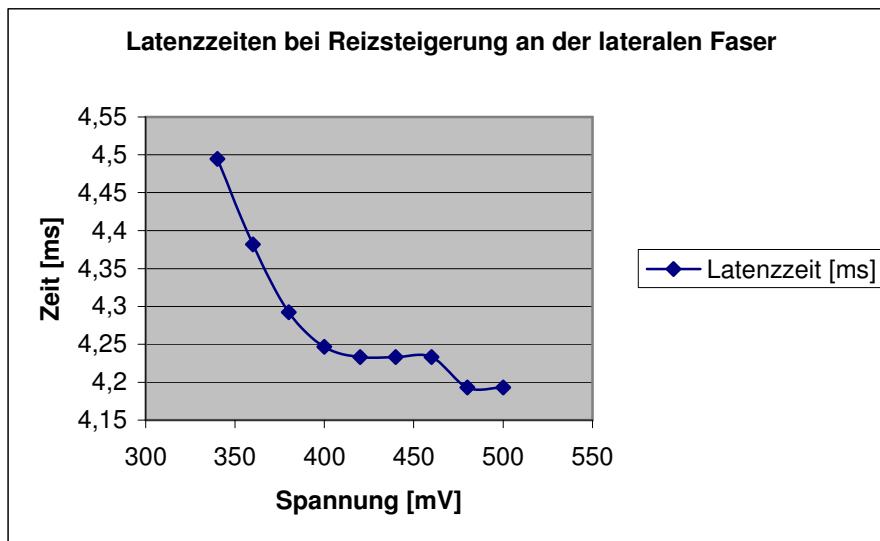


Abb. 2: Latenzzeiten in Abhängigkeit von der Spannung

3.1.5 Messungen des Schwellenwertes und der Latenzzeit an einer medialen Riesenfaser bei anodischer Reizung

Tab. 6: Mittlerer Schwellenwert und mittlerer Wert der Latenzzeit

Messung	Schwellenwert [mV]	Latenzzeit [ms]
1	340	3,6100
2	360	5,4525
3	380	5,4706
Mittelwert	360	4,8444

Der Mittelwert des Schwellenwertes bei einer anodischen Ableitung an einer medianen Riesenfaser beträgt 360 mV. Die Latenzzeit hat einen Mittelwert von 4,8444 ms.

3.1.6 Schwellenwert und Latenzzeit bei der lateralen Riesenfaser bei einer anodischen Ableitung

Tab. 7: Ermittelter Mittelwert des Schwellenwertes und der Latenzzeit

Messung	Schwellenwert [mV]	Latenzzeit [ms]
1	420	5,5538
2	420	5,5538
Mittelwert	420	5,5538

Durch unsere Messergebnisse erlangen wir einen Mittelwert für das Schwellenpotential von 420 mV und für die Latenzzeit einen Wert von 5,5538 ms.

3.1.7 Messungen am anderen Ende des Bauchmarks

Bei der Wiederholung der Messungen am anderen Ende des Bauchmarks wird kein Unterschied festgestellt. Auch hier wird ein Aktionspotential gemessen.

3.2 Versuch 2: Ermittlung der Leitungsgeschwindigkeit

3.2.1 Leitungsgeschwindigkeit einer medialen Riesenfaser bei einem schwach überschwelligem Reiz

Tab. 8: Messergebnisse und Leitungsgeschwindigkeit einer medialen Riesenfaser bei einem schwach überschwelligem Reiz

Messung	Reizstärke [mV]	Latenzzeit [ms] 1. Ableitung	Latenzzeit [ms] 2. Ableitung	Differenz der Latenzzeiten aus 1. + 2. Ableitung [ms]	Leitungsgeschwindigkeit [m/s]
1	240	5,3050	7,5113	2,2063	11,3312
2	240	2,6125	4,8038	2,1913	11,4088
3	240	2,7125	4,8600	2,1475	11,6414
Mittelwert	240	3,5433	5,7250	2,1817	11,4605

Als Leitungsgeschwindigkeit einer medialen Faser bei einem schwach überschwelligem Reiz ergibt sich ein Wert von 11,4605 m/s.

3.2.2 Leitungsgeschwindigkeit einer medialen Riesenfaser bei einem stark überschwelligem Reiz

Tab. 9: Messergebnisse und Leitungsgeschwindigkeit einer medialen Riesenfaser bei stark überschwelligem Reiz

Messung	Reizstärke [mV]	Latenzzeit [ms] 1. Ableitung	Latenzzeit [ms] 2.Ableitung	Differenz der Latenzzeiten aus 1. + 2. Ableitung [ms]	Leitungsgeschwindigkeit [m/s]
1	420	2,5175	4,6950	2,1775	11,4810
2	420	2,5175	4,7163	2,1988	11,3698
3	420	2,4475	4,5975	2,1500	11,6279
Mittelwert	420	2,4942	4,6696	2,1754	11,4929

Bei einem stark überschwelligem Reiz lässt sich anhand der Messdaten einen Mittelwert für die Leistungsgeschwindigkeit von 11,4929 m/s errechnen.

3.2.3. Leitungsgeschwindigkeit einer lateralen Riesenfaser bei einem schwach überschwelligem Reiz

Tab. 10: Messergebnisse und daraus resultierende Leitungsgeschwindigkeit bei einem schwach überschwelligem Reiz

Messung	Reizstärke [mV]	Latenzzeit [ms] 1. Ableitung	Latenzzeit [ms] 2.Ableitung	Differenz der Latenzzeiten aus 1. + 2. Ableitung [ms]	Leitungsgeschwindigkeit [m/s]
1	420	4,5238	9,2588	4,7350	5,2798
2	420	4,1375	8,8888	4,7513	5,2617
3	420	4,6450	9,3838	4,7388	5,2759
Mittelwert	420	4,4354	9,1771	4,7417	5,2724

Der errechnete Wert für die Leitungsgeschwindigkeit einer lateralen Riesenfaser bei einem schwach überschwelligem Reiz beträgt 5,2724 m/s.

3.3 Versuch 3: Ermittlung der relativen und absoluten Refraktärzeit

Durch die kontinuierliche Verringerung des Reizabstandes bei der experimentellen Gabe von zwei Reizen kann man die relative und die absolute Refraktärzeit ermitteln. Die relative Refraktärzeit beginnt bei einem Reizabstand von 4 ms und die absolute Refraktärzeit bei einem Reizabstand von 2 ms. Daraus ergibt sich eine Dauer von 2 ms für die relative Refraktärzeit.

Ermittelte maximale Übertragungsfrequenz (Aktionspotentiale pro Sekunde): 65 Hz

Daraus lässt sich die dynamische Refraktärzeit ermitteln: $1/65 \text{ Hz} = 0,01538 \text{ s}$

4. Diskussion

Versuch 1: Hier ermitteln wir zuerst den Schwellenwert und die Latenzzeit einer medialen Riesenfaser, was wir später mit der lateralen Riesenfaser wiederholen. Bei der medialen Faser erhalten wir einen mittleren Schwellenwert von 226,666 mV und eine Latenzzeit von 2,7 ms. Im Vergleich dazu beträgt der mittlere Schwellenwert bei der lateralen Riesenfaser 340 mV und die Latenzzeit 4,5456 ms. Der niedrigere Schwellenwert und die kürzere Latenzzeit entsprechen unseren Vermutungen und lassen sich dadurch begründen, dass die mediale Faser einen größeren Durchmesser hat, was zu einem geringeren Längs- und Querwiderstand führt. Beim nächsten Teilversuch wird versucht, wie sich die Latenzzeit bei zunehmender Reizstärke ändert. Die Latenzzeit der medialen Faser sinkt je stärker die Reize sind, die wir auf das Bauchmark ausüben. Ab einer Spannung von 340 mV kann man auf dem Oszillographen ein weiteres AP erkennen, welches von der lateralen Faser verursacht wird. Dies entspricht dem ermittelten Schwellenwert einer lateralen Faser. Nun bekommen wir also ebenso APs und Latenzzeiten und können den gleichen Effekt wie an der medialen Faser, nämlich das Sinken der Latenzzeit beobachten. Begründung hierfür sind die Na- Kanäle. Bei stärkerem Reiz öffnen sich mehr Kanäle und Na kann in größeren Mengen diffundieren. Die positive Rückkoppelung erfolgt schneller und die Nervenzelle kann deswegen schneller reagieren. Bei einem den jeweiligen Fasern spezifischen Grenzwert der Latenzzeit sind alle vorhandenen Na- Kanäle sofort geöffnet und eine schnellere Reaktion ist nicht mehr möglich. Bei den Messungen der medialen Faser findet sich ein statistischer Ausreißer, der aber vernachlässigt werden kann, da die Kurve tendenziell sinkt. Vergleicht man die Werte der

medialen mit denen der lateralen Faser stellt man fest, dass die Latenzzeit für letztere immer deutlich über der der medialen liegt. Dies liegt daran, dass die laterale Faser dünner ist. Auf Grund des kleineren Querschnitts der lateralen Fasern und einer damit verbundenen kleineren Oberfläche besitzt die Faser weniger Na- Kanäle. Es ist also gar nicht möglich, dass sie die Werte einer lateralen Faser erreichen kann.

Nun wird das Bauchmark anodisch gereizt. Im Gegensatz zur kathodischen Reizung wird statt der normalen Depolarisation die Membran hyperpolarisiert. Wir erwarten also, kein AP zu erhalten. Entgegen unseren Erwartungen erhalten wir ein AP; diesen Effekt bezeichnet man als postinhibitorischer Rebound. Die ermittelten Werte für die Latenzzeit und den Schwellenwert sind im Gegensatz zur kathodischen Ableitung stark gestiegen. Es sollte hier eigentlich kein AP entstehen, doch durch die andauernde starke Reizung öffnen sich die Na-Kanäle spontan und ein AP wird trotzdem ausgelöst. Diese Reaktion auf Hyperpolarisationen ist bisher nicht eindeutig erklärbar und man findet kaum Literaturhinweise.

Leitet man am anderen Ende des Bauchmarks ab, so findet man auch dort ein Signal. Dies liegt am Vorhandensein der elektrischen Synapsen, welche Reize in beide Richtungen weiterleiten können.

Versuch 2: In Versuch 2 untersuchen wir die Leitungsgeschwindigkeit an beiden Fasern bei stark und schwach überschwelligem Reizen.

Die Fortleitungsgeschwindigkeiten bei stark und schwach überschwelligem Reizen an der medialen Faser unterscheiden sich nicht, da die Reizstärke keine Auswirkung auf die Fortleitungsgeschwindigkeit hat. Die Reizstärke selbst beeinflusst nur die Latenzzeit.

Nun vergleicht man die Latenzzeit und die Leitungsgeschwindigkeit einer medialen und einer lateralen Faser bei einer Reizstärke von 340 mV, welche für erstere stark überschwellig und für letztere schwach überschwellig ist. Es fällt auf, dass bei der lateralen Faser die Latenzzeit viel höher ist, als bei der medialen Faser, aber die Leitungsgeschwindigkeit dagegen viel kleiner ist. Die Latenzzeit ist aus den oben genannten Gründen () bei der medialen Riesenfaser wieder geringer, d.h. die Reaktion erfolgt schneller. Je schneller die Reaktion auf einen Reiz erfolgen kann, desto schneller kann dieser im Nervensystem weitergeleitet werden.

Versuch 3: Zu Beginn geben wir jeweils zwei Reize (zu Beginn mit einem Abstand von 50ms) mit einer bestimmten Reizstärke und rücken den Abstand der Reize immer näher zusammen. Bei 4 ms erhalten wir bei gleich bleibender Reizstärke nur ein AP. Erhöht man

jedoch die Reizstärke sind weiterhin zwei APs zu beobachten. Hierbei handelt es sich um die relative Refraktärzeit, in der sich die Kanäle noch regenerieren. Jedoch öffnet sich das Inaktivierungstor bereits langsam und die Kanäle sind wieder aktivierbar. Dies lässt sich durchführen bis zu einem Reizabstand von 2 ms. Egal wie stark der gegebene Reiz hier ist, kommt kein AP zustande. Wir befinden uns in der absoluten Refraktärzeit.

Da die Refraktärzeiten nun bekannt sind, wird die Zahl der APs pro Sekunde getestet. Theoretisch wäre eine Frequenz von 400 Hz möglich. Dies kann man sich errechnen, wenn man sich überlegt, wenn alle 2,5 ms ein AP möglich ist. Das sind 4 alle 10ms und 400 jede Sekunde. Messen lässt sich aber nur eine Frequenz von 65 Hz bei der die APs stabil übertragbar sind. Begründung für den geringeren Wert ist zu Einem ein geringerer Energieaufwand und zum anderen das phasische Sinnessystem, das unter anderem der Regenwurm besitzt. Dies lässt sich dadurch erklären, dass bei einem gleich stark bleibendem Reiz der Wurm nach einiger Zeit mit schwächeren Signalen reagiert. Beispiel zum besseren Verständnis: Wird ein Regenwurm von einem Vogel gefressen, würde er auch bei einer Frequenz von 65 Hz merken, dass etwas Beunruhigendes vor sich geht. Deswegen ist eine Frequenz von 400 Hz unnötig.

5. Literaturverzeichnis

- Schmidt/ Lang, Physiologie des Menschen, 30. Auflage, 2007, Springer Verlag
- Kükenenthal, Zoologisches Praktikum, 24. Auflage, Spektrum Verlag
- Eckert, Tierphysiologie, 4. Auflage, 2002, Thieme Verlag
- Wehner/ Gehring, Zoologie, 24. Auflage, 2007, Thieme Verlag
- Penzlin, Lehrbuch der Tierphysiologie, 6. Auflage, 1996, Gustav Fischer Verlag
- Campell/ Reece, Biologie, 6. Auflage, 2003, Spektrum Verlag
- Reichert, Neurobiologie, 2. Auflage, 2000, Thieme Verlag
- Harten, Physik für Mediziner, 7. Auflage, 1995, Springer Verlag
- Kuchling, Taschenbuch der Physik, 19. Auflage, 2007, Hanser Verlag
- www.lipofit.de/deutsch/biologie/bio1.html
- www2.schule-bw.de/unterricht/faecher/biologie/rewu/anatomie.htm