

NEUROBIOLOGIE FÜR BIOINFORMATIKERINNEN: PRAKTIKUM B

PROTOKOLL ZUM 1. PRAKTIKUMSTAG AM 07.01.2019

Elektromyogramm aus Insektenmuskeln

GRUPPE IV

Gruppenmitglieder ALIA ROTHKEGEL MARA STEIGER

alia.rothkegel@fu-berlin.de mara.steiger@fu-berlin.de

Lehrveranstalter
Prof. Dr. P.R. HIESINGER
Dr. D. MALUN
Prof. Dr. M. WERNET

TutorInnen Lisa Peters Johannes Brüner Hammacher Claudia Haushalter

1 Einleitung

In dem durchgeführten Versuch wurden die elektrischen Signale im Oberschenkelmuskels einer Heuschrecke bei unterschiedlichen Bewegungsmustern aufgezeichnet und ausgewertet.

Die Kontraktionen der Muskeln resultieren aus Aktivität von Motoneuronen, die zusammen mit den von ihnen innervierten Muskelfasern motorische Einheiten bilden. Bei Wirbellosen Tieren können Muskelfasern von mehreren Muskelneuronen innerviert sein. Wird ein entsprechender Neurotransmitter freigesetzt kommt es in der Muskelzelle zur Depolarisation, die bei genügend großer Amplitude ein Aktionspotential auslöst. Bei Wirbellosen Tieren gibt es zwei Arten von Motoneuronen, die bei Aktivierung zu unterschiedlichen Arten von Kontraktionen des Muskels führen. Bei schnellen Motoneuronen löst ein Aktionspotential eine Zuckung aus, die jedoch nicht das volle Kontraktionspotential ausschöpfen kann. Bei langsamen Motoneuronen müssen sich erst mehrere Aktionspotentiale häufen bis es zu einer Kontraktion kommt. Hier ist die Stärke der Kontraktion, bzw deren Amplitude abhängig von der Frequenz der Aktionspotentiale.

Ein Elektromyogramm (EMG) ist eine Ableitung dieser elektrischen Muskelaktivitäten. Aufgezeichnet werden die Signale durch extrazelluläre Elektroden. Um diese sichtbar und somit analysierbar zu machen müssen die analog aufgezeichneten Signale mittels eines Verstärkers verstärkt , durch einen Bandpassfilter von Störfrequenzen befreit und mithilfe eines AD-Wandlers in digitale Signale umgewandelt werden.

Gemessen wird immer eine Spannungsdifferenz, passiert dies lokal und nicht gegen ein allgemeines Bezugspotential, so handelt es sich um eine differentielle Ableitung.

2 Material und Methoden

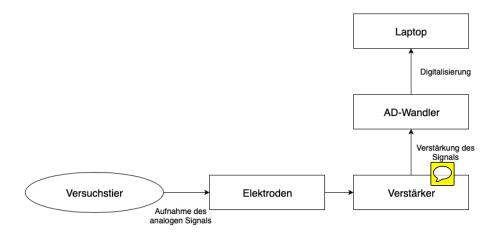
2.1 Materialliste

- Verstärker mit Bandpassfilter
- AD Wandler
- Erdungsplatte
- Hakenelektroden
- Bananenkabel mit Krokodilsklemmen



- Software Spike2
- Heuschrecke als Versuchstier
- Knetmasse
- Pinsel

2.2 Versuchsaufbau



2.3 Versuchsdurchführung

1. Anschließen der Geräte:

Der Verstärker wird auf die Erdungsplatte gestellt und die Elektroden angeschlossen. Der AD-Wandler wird mithilfe des Bananenkabels mit den Krokodilklemmen an der Erdungsplatte geerdet und mit dem Laptop verbunden. Nach Start der Software Spike2 und laden der Konfigurationsdatei "insect" wird der Verstärker mit dem angegebenen Port des AD-Wandlers gekoppelt.

2. Präparation der Heuschrecke:

Das Versuchstier wird 10 Minuten in den Kühlschrank gestellt. Die Heuschrecke wird auf dem Rücken liegend so fixiert, dass die Oberschenkel der Hinterbeine unbeweglich, die Unterschenkel jedoch frei beweglich sind. Anschließend werden die beiden Elektroden in geringem Abstand in den Oberschenkelmuskel gestochen.

3. Aufzeichnung der Bewegungsmuster:

Aufzeichnung der Spannungsdifferenz der Elektroden mit Software Spike2 bei folgenden Vorgängen.

- (a) **Kick:** Das Versuchstier wird so lange am Bauch mit dem Pinsel gereizt bis es zur Tibiastreckung kommt.
- (b) **Thrust:** Wie bei dem Kick wird auch hier eine Tibiastreckung provoziert, allerdings wird die gestreckte Tibia mithilfe eines Hindernisses blockiert.



3 Ergebnisse

3.1 "Kick" (Tibiastreckung)

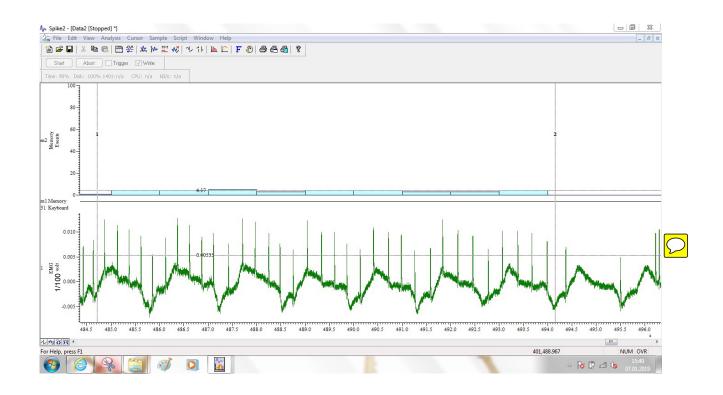


Abbildung 1: EMG der Tibiastreckung

Frequenz: 4.58 Hz (s. Abb. 1)

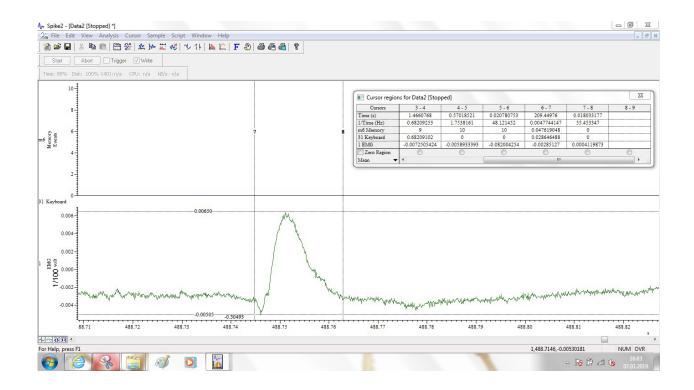


Abbildung 2: Ausgewähltes AP der Tibiastreckung

Dauer: 0.018s/2 = 0.009s

Amplitude: 0.000128 V (s. Abb. 2)

3.2 "Thrusting"-Bewegung

(Elektroden leider vertauscht weil rausgerutscht)

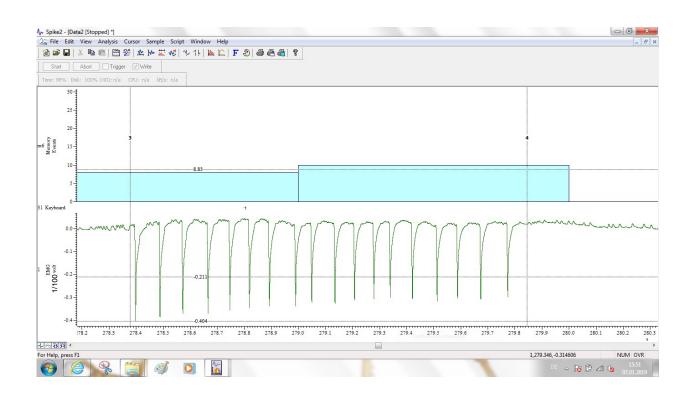


Abbildung 3: EMG der "Thrusting"-Bewegung

Frequenz: 8.83 Hz (s. Abb. 3)



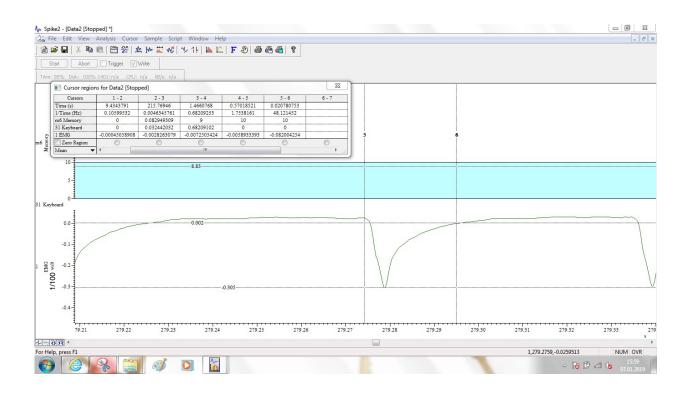


Abbildung 4: Ausgewähltes AP der "Thrusting"-Bewegung

Dauer: 0.0208s/2 = 0.0104s Amplitude: 0.00305 V (s. Abb. 4)

4 Diskussion

Zunächst ist für die Interpretation der gemessenen Spannungen zu betrachten, dass es sich hier um eine differentielle Ableitung im extrazellulären Bereich handelt. Das heißt es wird nicht nur die Spannung an einer Stelle betrachtet, sondern die Differenz der Spannungen zwischen den beiden Einstichen der Messelektroden im Oberschenkel der Heuschrecke. Diese Messmethode hat außerdem den Vorteil, dass Störsignale von elektromagnetischen Wechselfeldern der Umgebung eliminiert werden können, da

sie sich in der Regel sehr schnell ausbreiten und somit nahezu gleichzeitig an beiden Messpunkten ankommen. Bei der Berechnung der Differenz beider Signale subtrahieren sich die Werte der Störsignale also wie folgt:

$$U_{ges} = (U_1 + S_1) - (U_2 + S_2)$$

Unter der Annahme, dass $S_1 \approx S_2$, gilt:
 $U_{ges} \approx U_1 - U_2$

In Abbildung 5 ist skizzenhaft die Ausbreitung eines Aktionspotenzials in Form der Ringe a) - c) gezeigt und die Messelektroden an den Stellen 1 und 2. Beispielhaft wird im Folgenden berechnet, welche Spannungsunterschiede man zwischen 1 und 2 messen würde, wenn sich das Aktionspotenzial jeweils an den Punkten a) - c) befindet:

a)
$$U_{ges} = -60\mu V - 0\mu V = -60\mu V$$

b)
$$U_{ges} = 0\mu V - 0\mu V = 0\mu V$$

c)
$$U_{ges} = 0\mu V - -60\mu V = 60\mu V$$

Das Elektromyogramm würde entsprechend die Form des Graphen in Abbildung 6 annehmen. Ein Aktionspotenzial ist also "doppelt" zu sehen.

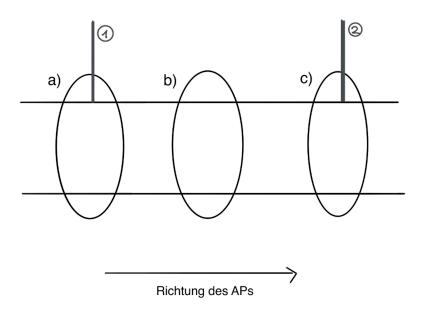


Abbildung 5: Skizze Elektroden und Ausbreitung des Aktionspotenzials

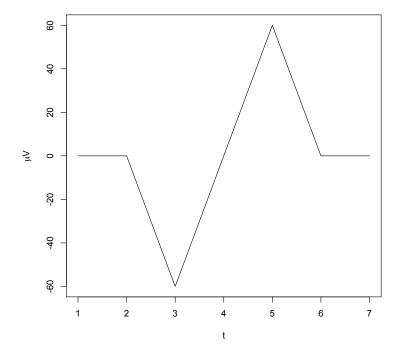


Abbildung 6: Elektromyogramm Aktionspotenzial



Vor der Interpretation der Ergebnisse ist zu bemerken, dass die Messdaten einige Ungenauigkeiten enthalten.

Idealerweise würde das aufgenomme Elektromyogramm Aktionspotenziale in Form des Beispiels in Abbildung 6 zeigen. Jedoch zeigen die Daten hauptsächlich einen Ausschlag in eine Richtung, dies könnte darauf zurückzuführen sein, dass eine Messelektrode nicht ideal im Oberschenkel plaziert wurde. Vor allem die Aufzeichnungen zum Versuch der "Thrusting"-Bewegung bilden die Spannungsdifferenz größtenteils nur in eine Richtung ab. In beiden Fällen haben wir die Dauer beider Ausschläge halbiert, um diese zu approximieren.

Zusätzlich ist zu berücksichtigen, dass die Elektroden im Verlauf des Versuchs ausgetauscht wurden, da sie durch unbeabsichtigte Bewegung herausgefallen sind. Dies begründet den Vorzeichenwechsel im Ausschlag der Aktionspotenziale.

Die Messergebnisse zu den Versuchen zeigen einen deutlichen Unterschied zwischen den Frequenzen der "Kick"- und "Thrusting"-Bewegung: die Frequenz der "Thrusting"-Bewegung (8.83 Hz) ist ca. doppelt so groß wie die Frequenz des 1. Versuchs mit der einfach Tibiastreckung (4.58 Hz). Dies ist auf die Eigenschaften der elektromechanischen Kopplung über die langsamen Motoneurone zurückzuschließen. Es gilt, dass eine hohe Frequenz der Aktionspotenziale in den Motoneuronen zu einer dauerhaften Kontraktion des Muskels führt, wie sie im zweiten Versuch bei der "Thrusting"-Bewegung auftritt (ausgelöst durch den Widerstand). Damit der Muskel in der ausgestreckten, also angespannten Position bleibt, um gegen den Widerstand zu drücken, muss das Motoneuron in hoher Frequenz Aktionspotenziale senden.

Außerdem ist zu beobachten, dass auch die Amplitude bzgl. der einzelnen betrachteten Aktionspotenziale bei der "Thrusting"-Bewegung (0.00305 V) deutlich größer ist als die Amplitude der einfachen Tibiastreckung (0.000128 V). Nach dem Alles-oder-Nichts-Gesetz der Aktionspotenziale gilt, dass bei der Reizweiterleitung in Folge der Überschreitung eines Schwellenpotenzials die Intensität des Aktionspotenzials immer gleich ist. Demnach würde man hier keine Unterschiede in der Amplitude erwarten. Es handelt sich aber nicht um eine intrazelluläre, sonder eine extrazelluläre differentielle Ableitung. Gemessen werden also Spannungsunterschiede, die aus Aktionspotenzialen mehrerer Motoneurone resultieren und sich somit zu einer größeren Spannungsdifferenz aufsummieren. Damit konnten wir zeigen, dass verschiedene Arten von Motoneuronen für die zwei verschiedenen, untersuchten Bewegungsarten verantwortlich sind, die aber den gleichen Muskel innervieren.

Dies ist eine typische Eigenschaft der wirbellosen Tiere: im Gegensatz zu Wirbeltieren werden bei ihnen Muskelfasern von mehreren Motoneuronen innerviert.