

Name: _____

Praktikumsleiter/~in: _____

Matrikel: _____

Unterschrift/Stempel: _____

Datum: _____

Aufgabe I: NERV - Erregung am N. ischiadicus

1. Teilversuche

1. Untersuchung der Auslösbarkeit abstufbarer Summenaktionspotentiale (SAP) und Aufnahme der $U(t)$ -Kurve zur Bestimmung von Rheobase und Chronaxie.
2. Nachweis und Messung der relativen und absoluten Refraktärzeit durch Doppelreize (4.3.) und Eigenschaften des SAP in der relativen Refraktärzeit.
3. Messung der Erregungsleitungsgeschwindigkeit bei Umgebungstemperatur und nach Abkühlung des Nerven.
4. Untersuchung der Erregbarkeitsänderung bei einer K^+ -Anreicherung des extrazellulären Milieus..

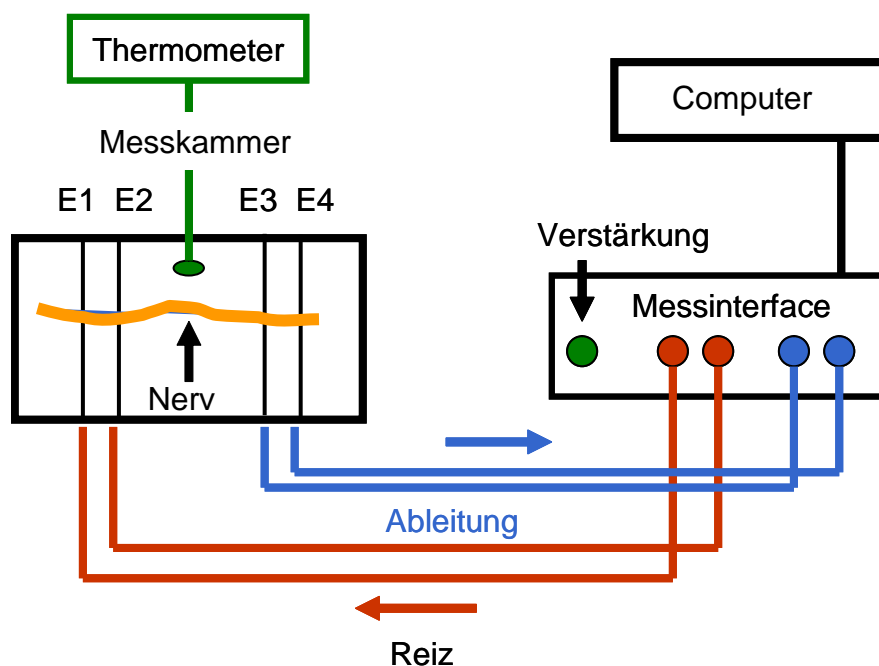
2. Versuchsaufbau und Experimentsteuerung

In diesem Versuch sind die Erregbarkeitseigenschaften des N. ischiadicus des Krallenfrosches *Xenopus laevis* nach direkter elektrischer Reizung und die Auslösung diphasischer Summenaktionspotentiale (SAP) bei unterschiedlichen Messbedingungen zu untersuchen.

2.1. Versuchsaufbau

Die Messanordnung besteht aus einer Messkammer, einem Messwertwandler (Messinterface) sowie einem Computer, der im Praktikumsprogramm „Nervenreizung“ Reizspannungs-Rechteckimpulse generiert, die gemessenen Summenaktionspotentiale (SAP) speichert und eine Auswertung der Amplitudenwerte und Ausbreitungszeiten gestattet (Abb. 1). Die Messkammer enthält vier Elektroden (E1 - E4), die aus chlorierten Silberdrähten (Ag/AgCl) bestehen und daher nicht polarisierbar sind. Die Elektroden E1 und E2 sind die Reizelektroden, E3 und E4 die Ableitelektroden. Das Präparat des N. ischiadicus liegt im Versuch auf allen 4 Elektroden der Kammer.

Abb. 1: Messanordnung



Die an den Elektroden E3 und E4 abgeleiteten SAP werden im Messinterface verstärkt, für den PC digitalisiert und in mV-Werte umgerechnet. Die Verstärkung ist am Messinterface einstellbar und sollte so groß wie möglich gewählt werden ohne dass die Messkurven abgeschnitten werden.

In der Vertiefung zwischen den Elektroden E2 und E3 befindet ein Messfühler eines Thermometers.

2.2. Messmethodik

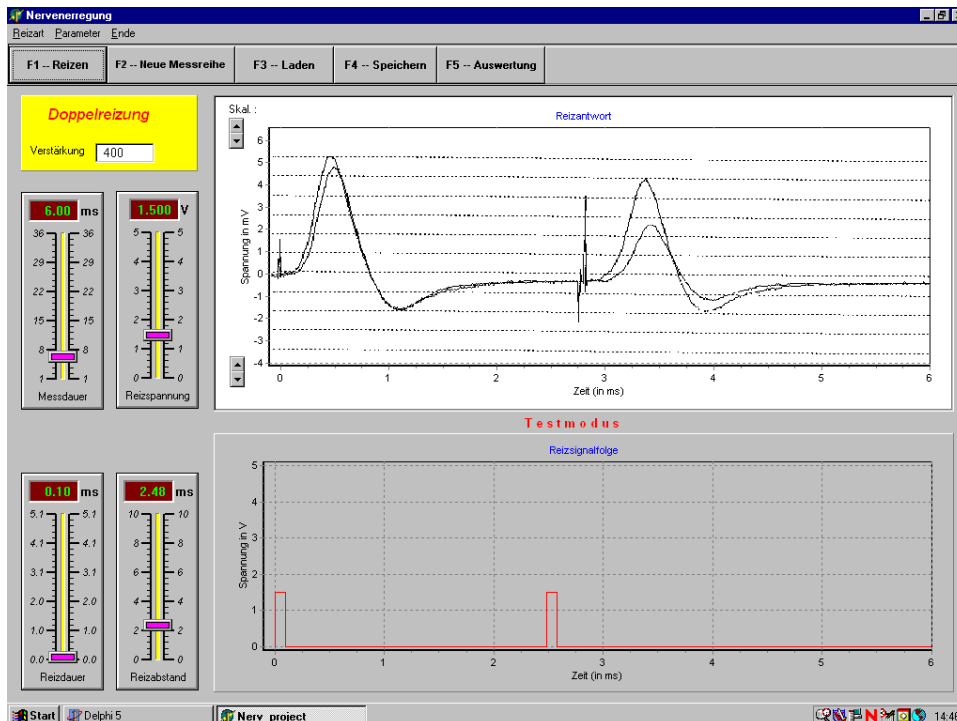
An die Reizelektroden E1 und E2 werden Rechteck-Spannungsimpulse einstellbarer Größe, Dauer und Folge angelegt. Durch geeignete Polung der Zuleitungskabel wird E2 gegenüber E1 negativ. E2 ist damit die depolarisierende Kathode. An ihr findet die Membrandepolarisation statt. Gemessen wird das zwischen E3 und E4 ableitbare diphasische Summenaktionspotential (SAP).

2.3. Experimentsteuerung am PC

Zur Bearbeitung der Aufgaben verwenden Sie das PC-Praktikumsprogramm „Nervenreizung“. Auf dem Messbildschirm wird die jeweils benötigte Reizart „Einzelreizung“, „Doppelreizung“ oder „Reizimpulsfolge“ ausgewählt und unter den gemessenen SAP Kurven grafisch dargestellt.

Dort ist auch die Einstellung und Änderung der Messparameter „Reizspannung“ (0-5V), „Reizdauer“ (Rechteckimpulsdauer, 0-5ms), „Reizabstand“ (nur bei Doppelreizung angezeigt, 0-10ms) und „Messdauer“ (dargestellter Zeitbereich, 3-9ms) möglich. Aufbau und Einstellmöglichkeiten des Messbildschirms zeigt Abb. 2:

Abb. 2: PC-Messbildschirm (hier nach der Applikation von Doppelreizen)



3. Versuchsvorbereitung

Das Praktikumsprogramm „Nervenreizung“ wird gestartet. Die am Monitor aufgeklebte Arbeitsplatz-Nummer und eine Dateikennung (z.B. Ihr Name) werden eingegeben.

Die drei Vertiefungen der Messkammer werden mit Ringer-Lösung gefüllt und der N. ischiadicus so in die Kammer eingelegt, dass er auf allen 4 Elektroden aufliegt und in der mittleren Kammer vollständig mit Ringer-Lösung umspült ist. Die Elektroden sowie der Bereich zwischen den Elektroden E1/E2 und E3/E4 ist zur Vermeidung von Kriechströmen trocken zu halten. Die Messkammer wird mit einem Deckel verschlossen.

Bitte achten Sie darauf dass der Nerv weder gedehnt noch gequetscht wird und nicht austrocknet. Reizen können Sie den Nerv so oft Sie wollen.

Messparameter einstellen: Einzelreizung / Reizdauer 0,1ms / Reizspannung 1V

Nach Einstellung der Messparameter wird gereizt. Die Polung der Reiz- und Messkabel ist dabei so zu wählen, dass das SAP nach möglichst kurzer Latenz auftritt und nach oben zeigt (s. Abb. 2). Weiterhin ist die Verstärkung wie in 2.1. beschrieben anzupassen.

4. Versuchsdurchführung

4.1. Abstufbarkeit - Abhängigkeit des SAP von der Reizstärke

Im Unterschied zum Aktionspotential der Einzelfaser, das dem Alles-Oder-Nichts-Gesetz folgt, ist die SAP-Amplitude des gesamten Nerven von der Reizintensität abhängig. Die Größe des SAP ist deshalb von der Anzahl der gereizten Nervenfasern abhängig. Ist der gesamte Nerv erregt, so bewirkt eine weitere Erhöhung der Reizspannung keine Zunahme des SAP mehr.

Messparameter einstellen: Einzelreizung / Reizdauer 0,1ms / Reizspannung 1V

Nach Einstellung der Messparameter am Rechner wird gereizt. Durch Veränderung der Reizspannung wird nun derjenige kleinste Spannungswert gesucht, der bei wiederholter Reizung im Mittel jedes zweite Mal ein kleines, gerade überschwelliges SAP auslöst:

Ergebnis: Reizschwelle U_S [V] =

Eine gerade sichtbare SAP-Kurve ist abzuspeichern. Durch schrittweise Erhöhung der Reizspannung werden nun zunehmend mehr Fasern des N. ischiadicus erregt. Ein maximales SAP wird erreicht, wenn alle erregbaren Nervenfasern ein Aktionspotential generieren und deshalb eine weitere Steigerung der Reizspannung die SAP-Amplitude nicht mehr vergrößert. Etwa 8-12 Kurven sind abzuspeichern, um die Abstufbarkeit des SAP zu beweisen. Diese „Antworttreppe“ ist auszudrucken.

Der Maximalreiz U_M , für ein gerade maximales SAP, die Amplitude A_M des SAP-Maximums sowie eine um ca. 0,2 V supramaximale Reizspannung U_S sind zu bestimmen. Die supramaximale Reizspannung wird in späteren Teilversuchen benötigt, weil im Laufe des Praktikums nach und nach einzelne Nervenfasern absterben.

Ergebnisse:

Maximalreiz	U_M [V] =
SAP-Maximum	A_M [mV] =
supramaximale Reizspannung	U_S [V] = $U_M + 0,2$ V =

4.2. Reizintensität-Reizzeit-Kurve - Messung der U(t)-Kurve

Ob bei einem Reizimpuls die Schwelle für eine Depolarisation erreicht wird hängt nicht nur von der Intensität des Reizimpulses (U_R) ab, sondern auch von seiner Dauer (t_R). Der Grund ist die endliche Kapazität der Zellmembran, die bestimmt, wie viel Ladung pro Membranfläche zur Erzeugung einer bestimmten Depolarisation nötig ist. Ist der Reizimpuls zu kurz, so fließt zu wenig Strom, um die Membran umzuladen. Je höher die Amplitude des Reizimpulses, desto kürzer kann er sein, um die Schwelle für eine Depolarisation zu erreichen. Dies ist die Grundlage für die Form der Reizintensität-Reizzeit-Kurve (U(t)-Kurve, Abb.3).

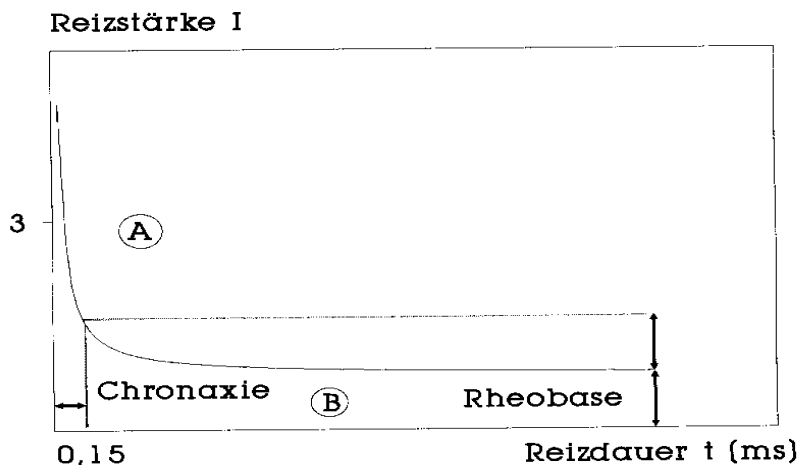
Es gilt: $U_R \times t_R = \text{const.}$

Die messbare Abhängigkeit der Reizintensität (U_R) von der Reizdauer (t_R) hat die Form einer Hyperbel und trennt den Bereich überschwelliger Reizung (A: oberhalb der Kurve) von dem Bereich unterschwelliger Reizung (B: unterhalb der Kurve). Diese Hyperbel kann entsprechend der Formel

$$U(t) = a / t_c + b \quad \text{mit} \quad a [\text{Vs}] = b \times t_c \text{ (Hyperbelkoeffizient)}$$

durch zwei charakteristische Reizparameter beschrieben werden: die Rheobase (b = kleinste Reizstärke bei sehr langer Reizdauer) und die Chronaxie (t_c =Reizdauer bei doppelter Rheobasen-Reizstärke). Beide Größen werden in Abb. 3 veranschaulicht. Sie beschreiben zwei Punkte auf der Reizintensitäts-Reizzeit-Hyperbel und charakterisieren die Erregbarkeit einer Einzelfaser-Membran. Bei einem aus vielen Einzelfasern bestehenden Nerv ist die Schwelle des SAP kein geeignetes Kriterium zur Messung der Hyperbel. Zur Messung der Reizstärke-Reizzeit-Kurve des gesamten Nerven wird als Reizerfolg ein halbmaximales SAP gewählt. Bei halbmaximalem SAP ist zu erwarten, dass alle Fasertypen im N. ischiadicus anteilig erregt werden.

Abb. 3: Reizstärke-Reizdauer-Abhängigkeit für einen peripheren Nerven



Messparameter einstellen: Einzelreizung / Reizdauer 0,1ms / Reizspannung supra-maximal

- Bei supramaximaler Reizung wird ein maximales SAP ausgelöst und abgespeichert.
- Die Reizspannung wird schrittweise verringert, bis nur noch ein halbmaximales SAP gemessen wird. Diese Bezugskurve wird ebenfalls abgespeichert.

- Die Reizdauer t_R wird nun auf den ersten Wert von Tab. 1 eingestellt. Nun vergrößern Sie die Reizspannung U_R solange, bis wieder ein annähernd halbmaximales SAP am Rechner gemessen werden kann (die dabei entstehenden Kurven NICHT speichern). Die so ermittelte Reizspannung wird in Tab. 1 eingetragen.
- Diese Messung wird mit allen in Tab. 1 aufgeführten Werten der Reizdauer wiederholt. Das Ende der Messreihe ist dann erreicht, wenn trotz wachsender Reizdauer mindestens drei gleichgroße SAPs gemessen wurden (Asymptoten-Kriterium für die Rheobase):
- Nun wird die Reizspannung auf den Wert der zweifachen gemessenen Rheobase gesetzt und die Chronaxie durch Anpassung der Reizdauer auf ein wiederum halbmaximales SAP bestimmt:

Ergebnis: Rheobase b [V] =

Chronaxie t_c [ms] =

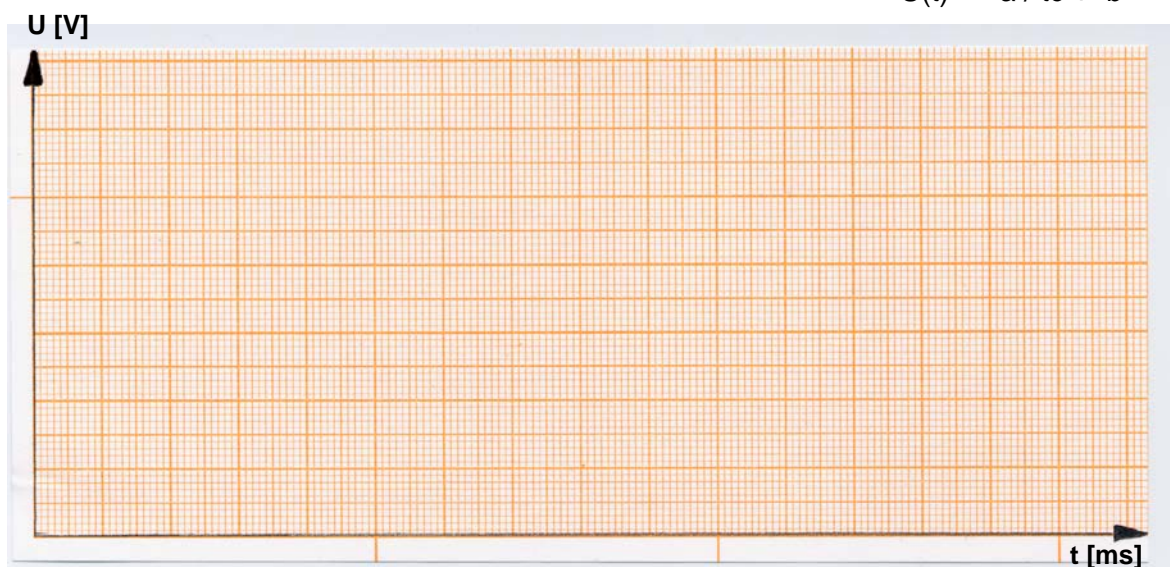
Tabelle 1: $U_R(t_R)$ -Kurve

Reizdauer t_R [ms]	Reizspannung U_R [V]	Reizdauer t_R [ms]	Reizspannung U_R [V]
0,03		0,45	
0,05		0,55	
0,10		0,75	
0,15		1,00	
0,25		1,05	
0,35			

Mit den Messwerten aus Tabelle 1 ist in Diagramm 1 die experimentell ermittelte $U(t)$ -Kurve grafisch darzustellen.

Diagramm 1: $U(t)$ -Hyperbelkurve

$$U(t) = a / t_c + b$$



Frage: Was bedeutet eine erhöhte Rheobase eines peripheren Nerven ?

4.3. Relative Refraktärzeit und absolute Refraktärzeit bei Doppelreizen

Messparameter einstellen: Doppelreizung / Reizdauer 0,1ms /
Reizspannung supramaximal / Reizabstand 6 ms

Die absolute und relative Refraktärzeit sind Zeitbereiche fehlender bzw. verminderter Erregbarkeit des Nerven während und nach einem SAP. Sie werden wie folgt bestimmt:

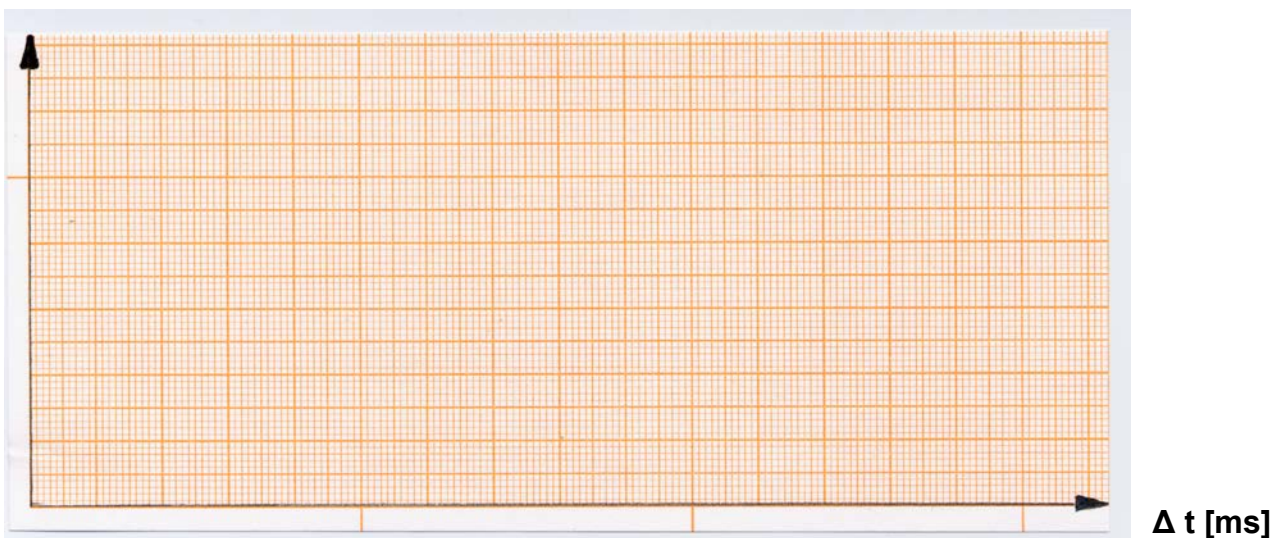
- Es wird ein Reizabstand von 6 ms eingestellt. Hier sind beide SAP-Amplituden gleich groß (SAP1 = SAP2).
 Messkurve als Bezugskurve abspeichern.
- In einer Messreihe werden nun bei abnehmenden Reizabständen (siehe Tabelle 2) abnehmende SAP2-Kurven gemessen und abgespeichert.
- Alle abgespeicherten Kurven sind einzeln auszumessen und die SAP2-Amplituden sind in Tab. 2 zu protokollieren. Für alle Reizabstände sind die Quotienten Q zu bilden: $Q = \text{Amplitude SAP2} / \text{Amplitude SAP1}$. (3)
- Das Diagramm 2 des Verlaufes $Q = f(\Delta t)$ ist zu zeichnen.

Tabelle 2: Bestimmung der Refraktärzeit

Reizab- stand Δt [ms]	Amplitude SAP2 [mV]	Q (Δt)	Reizab- stand Δt [ms]	Amplitude SAP2 [mV]	Q (Δt)
6,0		1,0	3,0		
5,5			2,5		
5,0			2,0		
4,5			1,5		
4,0			1,0		
3,5			0,8		

Diagramm 2: Amplituden-Quotient $Q = f(\text{Reizabstand } \Delta t)$

Q (Δt)



Aus dem Verlauf von $Q=f(\Delta t)$ können die relative Refraktärzeit (SAP2 gerade kleiner als SAP1) und die absolute Refraktärzeit (SAP2 wird Null) durch Interpolation geschätzt werden:

Ergebnisse: **Relative Refraktärzeit :** t_R^{rel} [ms] =
 Absolute Refraktärzeit: t_R^{abs} [ms] =

4.4. Einfluß der Reizspannung auf ein SAP in der relativen Refraktärzeit

Messparameter einstellen:

Doppelreizung / Reizdauer 0,1ms / Reizspannung supramaximal / Reizabstand ca. 3ms

Es wird zunächst ein maximales SAP1 abgespeichert. Durch Verringerung der Reizspannung U_R wird ein SAP1 eingestellt, dessen Amplitude bei ca. 80% des Maximalwertes liegt. Dann wird der Reizabstand variiert, bis die SAP2-Amplitude halb so groß ist wie das zu 80% maximale SAP1. Kurve abspeichern. Nun wird wieder supramaximal gereizt, um ein maximales SAP1 zu erhalten. Superponierte Kurven ausdrucken. Die Änderung der SAP2-Amplitude ist zu interpretieren.

Aufgabe: Beschreiben Sie welche Aussagen Sie aus dieser Messung über die Eigenschaften der relative Refraktärzeit machen können!

4.5. Erregungsleitungsgeschwindigkeit bei Umgebungstemperatur

In diesem Teilversuch soll die über alle Nervenfasern des N. ischiadicus gemittelte Ausbreitungsgeschwindigkeit v_L des SAP bei Zimmertemperatur ermittelt werden. Sie berechnet sich nach der Formel: $v_L = s/t_L$ t_L = Latenzzeit

Die Strecke s entspricht der Länge des Nerven zwischen der Kathode E2 und der 1. Ableitelektrode E3.

Strecke s [m] =

Messparameter einstellen: Einzelreizung / Reizdauer 0,1ms / Reizspannung supramaximal

Nachdem Sie supramaximal gereizt haben, können Sie die Ausbreitungszeit bestimmen. Der Reiz wurde zum Zeitpunkt $t=0$ ausgelöst. Die Erregungsleitungsgeschwindigkeit bei Umgebungstemperatur entspricht für den Beginn des SAP näherungsweise der Leitungsgeschwindigkeit der schnellsten markhaltigen Fasern und der SAP-Gipfel entspricht näherungsweise der mittleren Leitungsgeschwindigkeit langsamerer markhaltiger Fasern.

Ergebnisse:

Leitungsgeschwindigkeit der schnellsten Fasern:

$$v_L^{\text{Fast}} \text{ [m/s] } =$$

Mittlere Leitungsgeschwindigkeit im N. ischiadicus:

$$v_L^{\text{Mean}} \text{ [m/s] } =$$

Umgebungstemperatur:

$$T \text{ [}^\circ\text{C] } =$$

4.6. Abhängigkeit der Leitungsgeschwindigkeit von der Badtemperatur

Es ist die Abhängigkeit der mittleren Leitungsgeschwindigkeit des Nerven von der Badtemperatur zu untersuchen.

Messparameter einstellen: Reizimpulsfolge / Reizdauer 0,1ms / Reizspannung supra-maximal

Das Reizprogramm „Reizimpulsfolge“ generiert in Abständen von ca. 2 sec automatisch Einzelreize und erlaubt so ein bequemes Verfolgen der Temperaturwirkung.

Lösen Sie bei Umgebungstemperatur ein maximales SAP aus und speichern Sie diese Kurve ab. In die mittlere Vertiefung der Messkammer zwischen den Elektroden E2 und E3 wird nun gekühlte Ringerlösung gefüllt. Die Badtemperatur sollte dabei nicht unter 6° C sinken! Sobald Sie eine Temperatur von 6-8°C erreicht haben, speichern Sie diese Kurve so schnell wie möglich. **Vor der Auswertung ersetzen Sie die kalte Ringerlösung wieder durch warme Ringerlösung.**

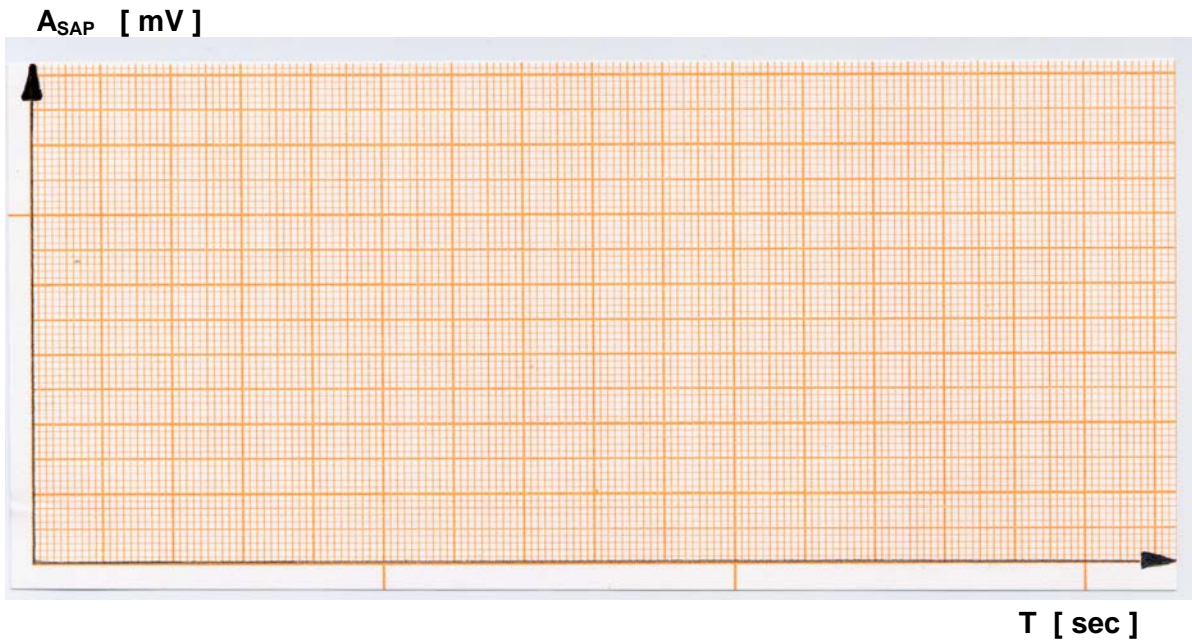
Die gespeicherten Kurven sind auszudrucken und die Leitungsgeschwindigkeit der langsamsten Nervenfasern zu berechnen:

Ergebnis:

$$v_L^{\text{Slow}} \text{ [m/s] } =$$

$$\text{bei } T \text{ [}^\circ\text{C] } =$$

Frage: Beschreiben Sie welche verschiedene Nervenfasertypen Sie bei der niedrigsten Temperatur darstellen konnten!



Aufgabe:

1. Berechnen Sie das K^+ -Gleichgewichtspotenzial das sich bei der verwendeten K^+ -reichen Ringerlösung (50 mM KCl) an der Nervenmembran einstellt!

2. Beschreiben Sie warum, der Nerv in einer K^+ -reichen Ringerlösung (50 mM KCl) nicht mehr erregbar war.

Schwerpunkte zur Vorbereitung auf das Praktikum

5.1 Das Ruhemembranpotential

Was sind seine Ursachen?

Wovon hängt seine Größe ab?

Wie wird es gemessen?

Warum ändert es sich bei Erhöhung der extrazellulären K^+ -Konzentration?

5.2. Das Aktionspotential

Wie entstehen Aktionspotenziale?

Welche Eigenschaften besitzen Aktionspotenziale?

Wie werden Aktionspotenziale fortgeleitet (unterscheiden Sie dabei markhaltige und marklose Fasern)?

5.3. Refraktärzeit

Definieren Sie die Begriffe: Refraktärzeit, absolute Refraktärzeit, relative Refraktärzeit.

Welche Ursachen gibt es für die Refraktärzeiten?

5.4. Erregungsleitungsgeschwindigkeit

Durch welche Parameter wird die Erregungsleitungsgeschwindigkeit eines Nerven beeinflusst?