

**Senso-motorische Interaktionen des  
stomatogastrischen Nervensystems beim Taschenkrebs  
(*Cancer pagurus*, LINNAEUS, 1758)**

**Dissertation**

zur

Erlangung des Doktorgrades (Dr. rer. nat.)

der

Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät

der

Rheinischen-Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn

vorgelegt von

Dirk Weigeldt

aus

Lippstadt

Bonn 2002

Angefertigt mit Genehmigung der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät der  
Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn

1. Referent: Prof. Dr. Hans-Georg Heinzl

2. Referent: Priv. Doz. Dr. Hartmut Böhm

Tag der Promotion: 16. Dezember 2002

# Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis .....	3
Liste der Abkürzungen .....	5
Danksagung .....	6
Zusammenfassung .....	8
1. Einleitung .....	10
2. Material und Methoden .....	17
2.1 Biologie des Taschenkrebses .....	17
2.2 Haltung der Taschenkrebse, Bezugsquellen .....	18
2.3 Präparation .....	20
2.3.1 Das in vivo-Präparat .....	21
2.3.2 Das in situ-Präparat .....	23
2.3.3 Das in vitro-Präparat .....	24
2.4 Endoskopie .....	26
2.5 Reizung .....	28
2.5.1 Mechanische Reizung .....	28
2.5.2 Elektrische Reizung .....	30
2.6 Registrierung der STNS-Aktivität .....	31
2.6.1 Extrazelluläre Ableitungen .....	31
2.6.2 Intrazelluläre Ableitungen .....	35
2.6.3 Luzifer Yellow Färbung .....	36
2.7 Auswertung .....	37
2.7.1 Auswertung der Videobilder .....	37
2.7.2 Schreiberauswertung .....	39
2.7.3 Rechnergestützte Auswertung .....	39
2.7.4 Weitere eingesetzte Software .....	46
3. Ergebnisse .....	47
3.1 Rhythmen im Tier .....	47
3.1.1 Funktionsmorphologische Voraussetzungen .....	47
3.1.2 Spontane Rhythmen und Fütterung .....	51
3.1.3 Die Rhythmen und ihre einzelnen Einheiten .....	54
3.1.3.1 Der pylorische Rhythmus .....	54
3.1.3.2 Der gastrische Rhythmus .....	60
3.1.4 Pylorische Modulation gastrischer Neurone .....	63
3.1.5 Gastrische Modulation pylorischer Neurone .....	68
3.2 Endoskopie .....	78
3.3 Der anteriore gastrische Rezeptor .....	82
3.3.1 Spontanaktivität .....	82
3.3.2 Mechanische Reizung .....	83
3.3.3 Fortleitungsrichtung .....	86
3.3.4 Elektrische Reizung des stn .....	91

---

3.4 Die Rolle des Rezeptors im intakten Regelkreis .....	94
3.4.1 AGR-Phasenbeziehung im gastrischen Rhythmus .....	94
3.4.2 AGR – Kettenreflex .....	96
3.4.3 Reflexumkehr .....	99
4. Diskussion .....	102
4.1 Interartliche Vergleichbarkeit .....	102
4.2 Rhythmen im Tier .....	103
4.3 Wechselseitige Modulationen .....	103
4.4 Bewegungen der gastrischen Mühle .....	108
4.5 Der Rezeptor .....	108
4.6 Biologische Bedeutung des AGR .....	111
5. Literatur .....	114

## Liste der Abkürzungen

**STNS** Stomatogastrisches Nervensystem

### **Ganglien:**

CG Cerebralganglion  
COG Kommissuralganglion  
ÖG Ösophagealganglion  
STG stomatogastrisches Ganglion

### **Nerven:**

aln anterio-lateraler Nerv  
dgn dorsaler gastrischer Nerv  
dvn dorsaler Ventrikelnerv  
ion inferiorer Ösophagusnerv  
ivn inferiorer Ventrikelnerv  
lvn lateraler Ventrikelnerv  
mvn medianer Ventrikelnerv  
son superiorer Ösophagusnerv  
stn stomatogastrischer Nerv

### **Neurone:**

AB anteriores Bursterneuron  
AGR anteriorer gastrischer Rezeptor  
CG kommissurales gastrisches Neuron  
DG dorsales gastrisches Neuron  
GI gastrisches Inhibitorneuron  
GM gastrische Mühle Neuron  
GPR gastropylorischer Rezeptor  
IC inferiores Cardianeuron  
LG laterales gastrisches Neuron  
LP laterales pylorisches Neuron  
LPG lateroposteriores gastrisches Neuron  
MG medianes gastrisches Neuron  
PD pylorisches Dilatatorneuron  
PY pylorische Neurone  
VD ventrikuläres Dilatatorneuron

### **Magenzähne:**

MZ Medianzahn  
LZ Lateralzahn

# Danksagung

**Herrn Prof. Hans-Georg Heinzl** danke ich für die Betreuung meiner Doktorarbeit. Besonders möchte ich ihm allerdings für die Geduld danken, die er mir entgegenbrachte und die es mir ermöglichte, dieses Thema zu bearbeiten. Schließlich ist es seiner beständigen Kritik zu verdanken, daß diese Arbeit zu dem geworden ist, was sie jetzt ist. Auch wenn es nicht immer leicht war, daß ein für sicher geglaubter Sachverhalt solange gedreht und gewendet wurde, bis doch noch eine Schwachstelle gefunden wurde. Meine Bewunderung gilt seinem schier unerschöpflichen Erfahrungsschatz im Bereich der Materialkunde, -bearbeitung und der Kreativität, daraus praktische Apparaturen für den experimentellen Einsatz entstehen zu lassen. Nie vergessen wird auch ein Sommer in Mehlern, der mein Leben nachhaltig verändert hat.

**Herrn HD Dr. Hartmut Böhm** danke ich für seine freundschaftliche Art, mit der er sich um den Fortschritt meiner Arbeit kümmerte. Genauso danke ich ihm für die zahlreichen Anregungen und die Ermutigung, wenn es mal nicht so gut lief. Seiner Einweisung in die Arbeit mit dem Macintosh ist es zu verdanken, daß ich mich heute in zahlreichen Programmen auskenne und mir auch die Erstellung von eigenen Makros in SuperScope zugetraut habe. Abschließend möchte ich ihm für all die kleinen und großen Hilfen danken, für deren Erwähnung hier zuwenig Platz ist oder weil sie mir gerade nicht einfallen; sie waren mir deshalb nicht weniger wichtig.

**Herrn Dr. Pascal Eitner** möchte für die bereitwillige Anleitung im Umgang mit Luzifer Yellow, Puller und Glasmikroelektrode danken. Weiterhin war er immer ein interessierter und kritischer Zuhörer, wenn es um Ergebnisse meiner Arbeit ging. In seiner unkomplizierten Art überließ er mir auch seine Unterlagen, die mir für die Durchführung der Bestimmungsübungen und Exkursionen eine hervorragende Arbeitsgrundlage boten.

**Herrn Dr. Christian Gutzen** gebührt großer Dank für die Arbeit, die er geleistet hat, um das morbide Betriebssystem der Laborrechner immer wieder in einen funktionsfähigen Zustand zu versetzen. Weiterhin danke ich ihm für die Hilfen, die mir den Einstieg ins World Wide Web erleichtert haben.

**Herrn Dr. Heiner Nießen** danke ich für die Einweisung in seine SuperScope-Routinen zum Sortieren der Aktionspotentiale, die manch raffinierte Schleifensteuerung offenbarte.

**Frau Dörte Hellbusch-Doll** danke ich für die großzügige Überlassung ihrer endoskopischen Aufzeichnungen nebst Versuchsprotokollen. Sie waren hilfreich bei der Suche nach Wechselwirkungen des AGR-Reflexbogens.

**Herrn Tom Wegner** danke ich ganz besonders, weil er jederzeit und in allen Computerbelangen ansprechbar war, kompetente Hilfe leistete und auch dann seinen Humor nicht verlor, wenn ich mal wieder mein Passwort vergessen hatte. Weiterhin habe ich seine Mitarbeit bei den Bestimmungsübungen sehr geschätzt.

**Frau Sonja Zens** hat mit ihrer Ordnungsliebe sehr zu einem angenehmen Arbeitsklima in der Abteilung beigetragen. Ihre „Apenzetteln“ waren auch nach ihrem Dienstschluß immer wieder eine gerne genutzte Hilfe in Angelegenheiten, die nicht zur täglichen Routine gehörten. Schließlich danke ich Ihnen auch für all die Laborarbeiten, die Sie für mich erledigt hat.

**Frau Evelyne Oettershagen** hat mich durch ihre fröhliche, lebensbejahende Art beeindruckt. Die zahlreichen Fragen während ihrer Einarbeitungszeit habe ich Ihnen gerne beantwortet, halfen Sie doch oft genug eigene Probleme mit etwas Abstand zu betrachten.

**Herrn Oliver Rast** danke ich für die geduldige Beantwortung meiner Fragen auf dem Gebiet der Elektronik.

**Herrn Hennemann** von der Meeresbiologischen Anstalt Helgoland möchte ich für seine stets freundliche und vor allem kulante Art danken, mit der er mir über manche anrühige Taschenkrebslieferung hinweggeholfen hat.

**Meiner Frau Petra** danke ich dafür, daß Sie mit Liebe und Geduld stets an mich geglaubt hat. Ihrer kritischen und konstruktiven Durchsicht dieser Dissertation ist es zu verdanken, daß die Absätze nicht immer nur aus einem langen Satz bestehen. Weiterhin hat Sie meiner Willkür bei der Kommasetzung Einhalt geboten.

# Zusammenfassung

Die neuronalen Ausgangsmuster des stomatogastrischen Nervensystems wurden erstmalig mit implantierten Dauerelektroden in freibeweglichen Taschenkrebsen abgeleitet. Neben den spontanen Rhythmen konnten auch solche abgeleitet werden, die durch Fütterungen induziert wurden (Abb. 3.3). Die *in vivo*-Registrierungen stellen das natürliche Repertoire der neuronalen Ausgangsmuster dar. Die abgeleiteten Nerven enthalten die Axone von Motoneuronen, die die Muskeln des Pylorus, der cardiopylorischen Rinne und der gastrischen Mühle innervieren.

Die pylorischen Motoneurone bilden einen schnellen Rhythmus mit der charakteristischen Reihenfolge PD - LP - PY. Dieser hat eine peristaltische Welle über den Pylorus zur Folge. Die Motoneurone der cardiopylorischen Rinne sind in den pylorischen Rhythmus eingebunden. IC, das Motoneuron, das die cardiopylorische Rinne verengt, ist immer in Phase mit LP aktiv. Die Erweiterung der cardiopylorischen Rinne durch VD erfolgt am Ende des PY-Bursts, kurz bevor die Erweiterung des Pylorus durch PD eingeleitet wird. Zwei der gastrischen Motoneurone, nämlich die der Lateralzahnschließer LG und MG, sind häufig im pylorischen Rhythmus tätig und besitzen eine feste Phasenlage im pylorischen Zyklus (Abb.3.4).

Ein wesentlich langsamerer Rhythmus wird durch die gastrischen Motoneurone gebildet, die die Muskeln der drei Magenzähne innervieren. Das typische Muster weist ein Alternieren von DG und GM auf, die die Re- und Protraktoren des Medianzahnes aktivieren. Am Ende des DG-Bursts starten die Motoneurone der Lateralzahnschließer, LG und MG, ihren Burst, der während der Medianzahnprotraktion wieder beendet wird (Abb.3.7).

Sowohl der schnelle pylorische als auch der langsame gastrische Rhythmus beeinflussen sich gegenseitig. Diese Wechselbeziehungen wurden mit Methoden der Kreisstatistik in Form von normierten Vektoren aufeinander bezogen (Tab. 3.7, 3.9). Die Längen der Vektoren sind ein Maß für den Koppelungsgrad zum Bezugsrhythmus. Von den pylorischen Motoneuronen zeigen

VD und IC mit ihrem hybriden Aktivitätsmuster die stärkste Koppelung an den gastrischen Rhythmus, gefolgt von LP und PY (Abb.3.13, 3.14). Die geringsten Aktivitätsänderungen im gastrischen Zyklus zeigt PD. Von den gastrischen Zellen weisen MG und LG die größten Modulationen durch den pylorischen Rhythmus auf, in dem sie oft auch ohne gastrischen Rhythmus aktiv sind. DG, das Motoneuron, das bislang als rein gastrisches Neuron angesehen wurde, zeigt *in vivo* pylorische Modulationen seiner Aktionspotentialfrequenz, die durch den Acetylcholin-Agonisten Pilocarpin unterbunden werden (Abb.3.11). Die einzigen gastrischen Neurone, die *in vivo* keinen Bezug zum pylorischen Rhythmus aufweisen, sind die vier GM-Zellen.

Die Bewegungen der gastrischen Mühle wurden durch ein Endoskop beobachtet, aufgezeichnet und mit dem gastrischen Rhythmus verglichen. Die beobachteten Zahnbewegungen erfolgten alle im cut-and-grind Muster. Die Bewegungsamplituden der drei Magenzähne besitzen dabei eine größere Variabilität als die neuronalen Erregungsmuster der Motoneurone (Abb.3.19).

Die von SIMMERS UND MOULINS (1988a,b) aus *in vitro*-Experimenten am Hummer beschriebene Funktion des AGR wird in dieser Arbeit erstmalig durch *in vivo*-Daten vom Taschenkrebs bestätigt. Zusätzlich zum Widerstandsreflex und der Reflexumkehr (Abb.3.32, 3.33) kann der AGR aber auch durch den antagonistischen Muskel aktiviert werden (Abb.3.29) und hilft dadurch, einen gastrischen Rhythmus zu starten und zu stabilisieren.

AGR-Aktionspotentiale mit unterschiedlicher Fortleitungsrichtung im dgn deuteten auf eine zusätzliche Aktionspotentialbildungszone des Rezeptors hin (Abb.3.22). Elektrische und mechanische Reizungen *in situ* und *in vitro* bestätigten diese im Bereich des STG, aber außerhalb des bipolaren Somas (Abb.3.24).

# 1. Einleitung

Mit rund 10 000 Arten stellen die dekapoden Krebse eine der umfangreichsten Crustaceengruppen dar (WESTHEIDE & RIEGER 1996). Sie sind in allen Weltmeeren verbreitet und als Bodenbewohner von der Küste bis in die Tiefsee zu finden. Eine besonders große Artenzahl findet sich im Bereich des Litorals tropischer Meere. Gerade im Bereich der Gezeitenzone zeigt sich die Anpassungsfähigkeit vieler Arten an ständig wechselnde Umweltbedingungen. So ist es nicht verwunderlich, daß auch das Süßwasser mehrfach von verschiedenen Gruppen besiedelt wurde. Schließlich sind einige Decapoda fast vollständig zum Landleben übergegangen und benötigen das Meer nur noch zur Fortpflanzung.

Ebenso vielfältig gestaltet sich das Nahrungsspektrum der Krebse. Es reicht vom Filtrieren kleinster Partikel bis hin zu Arten, die sich omni- oder carnivor ernähren (WESTHEIDE & RIEGER 1996). Auch bei der Aufnahme größerer Nahrung führen die Mandibeln keine kauenden Bewegungen durch, sondern dienen dazu, unter Mithilfe der Kauladen oder der Scheren kleinere Stückchen herauszureißen, die dann geschluckt werden können. Auf diese Weise gelangen nur relativ grob zerkleinerte Nahrungsstücke in den Verdauungstrakt. Dieser besteht aus Vorder-, Mittel- und Enddarm.

Der Vorderdarm der Decapoda gliedert sich morphologisch und funktionell in vier Kompartimente: an die Mandibeln schließt sich ein Ösophagus an, der durch peristaltische Kontraktionen seiner Muskulatur die Nahrung in den Magensack transportiert (SPIRITO 1975). Hier werden die Partikel mit Verdauungsenzymen versetzt und durch rhythmische Kontraktionen der Cardia vermischt (BARKER & GIBSON 1977). Im posterioren ventralen Bereich der Cardia findet sich die cardiopylorische Rinne, eine Einfaltung, die sich rhythmisch erweitern und verengen kann. Haarsäume sorgen im Zusammenhang mit den Bewegungen dafür, daß der Nahrungsbrei eine nach dorsal posterior gerichtete Strömung erfährt (HEINZEL ET AL. 1993b). Das dritte Kompartiment stellen drei Chitinzähne dar, die im dorso-posterioren Bereich in das

Magenlumen hineinragen. Diese als gastrische Mühle (HUXLEY 1880) bezeichnete Struktur setzt sich aus einem dorsalen Medianzahn (MZ) und zwei seitlich gelegenen Lateralzähnen (LZ) zusammen. Bewegungen der gastrischen Mühle quetschen und zerreiben (HEINZEL 1988a) größere Bestandteile des Mageninhaltes und sorgen dadurch für einen besseren Angriff der Verdauungsenzyme. Genügend zerkleinerte Partikel und gelöste Substanzen gelangen über die cardiopylorische Rinne und die ventro-lateralen Gruben in den Pylorus, das am weitesten posterior gelegene Kompartiment des Vorderdarms. Der Pylorus stellt eine Art Filterpresse dar, in der unverdauliche Partikel zur Ausscheidung in den Darm geschleust und gelöste Nahrungsbestandteile zur Resorption in den Hepatopankreas geleitet werden.

Der chitinöse Vorderdarm der Decapoda leitet sich während der Embryonalentwicklung vom Ektoderm ab (MAYNARD & DANDO 1974). Die Magenwand hat daher cuticulären Charakter und wird während der regelmäßigen Häutungen stets mit erneuert. Im Bereich der cardiopylorischen Rinne der gastrischen Mühle und des Pylorus werden durch Kalkeinlagerungen versteifte Strukturen gebildet. Diese werden wegen ihrer knochenähnlichen Funktion auch als Ossikel bezeichnet. Sie bilden einen komplizierten Apparat aus Spangen, Platten und Gelenken und dienen als Muskelansatzstellen. Die Bewegungen des Vorderdarms werden durch Kontraktionen von quergestreifter Muskulatur erzeugt. Es werden zwei Muskelgruppen unterschieden: solche, die mit beiden Ansatzstellen an der Magenwand ansetzen, heißen intrinsische Muskeln. Muskeln, die an Magenwand und Carapax befestigt sind, werden als extrinsische Muskeln bezeichnet. Extrinsische und intrinsische Muskeln wirken als Antagonisten.

MAYNARD UND DANDO (1974) haben begonnen, die neuromuskuläre Anatomie des Vorderdarms der Decapoda zu untersuchen und zu klassifizieren. Sie wählten dafür drei Arten aus dieser Gruppe, die systematisch relativ weit auseinanderstehen: *Homarus americanus* (Astacura), *Panulirus argus* (Palinura) und *Callinectes sapidus* (Brachyura). Im Laufe der Artbildung haben hinsichtlich der Magenstrukturen, Muskulatur und deren Innervierung zahlreiche Modifikationen stattgefunden. Trotz der Unterschiede lassen sich die Magenstrukturen homologisieren. Die Muskeln sowie deren Innervationsmuster zeigen einen hohen Grad der Konservierung (MULLONEY & SELVERSTON 1974a,b,c; MAYNARD & SELVERSTON 1975; JOHNSON & HARRIS-WARRICK 1990; KATZ & TAZAKI 1992; EITNER 1997).

Die Bewegungen des Vorderdarmes stehen unter der Kontrolle von Motoneuronen, die in spezialisierten Nervenzentren, den Ganglien organisiert sind. Hierfür sind im stomatogastrischen Nervensystem (STNS) vier Ganglien zuständig. Es setzt sich zusammen aus den paarigen Kommissuralganglien (COG), dem Ösophagealganglion (OG) und dem stomatogastrischen Ganglion (STG) sowie den sie verbindenden Nerven. Die Konnektive verbinden das Cerebralganglion mit den COG und weiter nach caudal mit dem Bauchmark. Der inferiore Ventrikelnerve (ivn) bildet eine Verbindung zwischen dem Cerebralganglion und dem OG (BULLOCK & HORRIDGE 1965).

Lange Zeit existierte eine kontroverse Diskussion, ob die periphere Sensorik zur Rhythmogenese beiträgt oder ob zentralnervöse Rhythmusgeneratoren (central pattern generator CPG) zu deren Erzeugung alleine ausreichen (DELCOMYN 1980). Das Modell der peripheren Kontrolle sah vor, daß periphere Sensorik notwendig sei, um eine rhythmische Bewegung als eine Art Reflexkette aufrecht zu erhalten (SHERRINGTON 1906). Das zweite Modell betrachtete die CPGs alleine als ausreichend, um regelmäßig wiederkehrende Bewegungen zu generieren (BROWN 1911). Es setzte aber voraus, daß die Sensorik notwendig sei, um das Muster per Feinabstimmung an äußere Gegebenheiten anzupassen (SELVERSTON & MOULINS 1985; MARDER & CALABRESE 1996).

WILSON UND WYMAN (1965) konnten zeigen, daß die Neurone, die den Flug-Rhythmus-Generator der Heuschrecken bilden, eines der Beispiele für die periphere Kontrolle auch ohne sensorische Rückkoppelung das Grundmuster bilden können.

Seitdem wurden verschiedene Tiermodelle untersucht, um die Funktionsweise der neuronalen Mustergeneratoren aufzuklären. Einer der am besten untersuchten Nervenknoten ist das STG der dekapoden Krebse (SELVERSTON & MOULINS 1987, WIESE ET AL. 1990, HARRIS-WARRICK ET AL. 1992a, WIESE 2002). An ihm wurden verschiedene neuronale Eigenschaften entdeckt, die an der Rhythmogenese beteiligt sind: endogenes Bursting (spontane Oszillationen des Membranpotentials), Plateauing (bistabile Membraneigenschaft), Frequenzadaptation und der postinhibitorische Rebound (PIR) (SELVERSTON & MOULINS 1985).

In den meisten motorischen Netzwerken generieren Interneurone die neuronalen Muster und übertragen sie synaptisch auf Motoneurone, die dann die Muskulatur aktivieren. Dagegen sind es bei den beiden Netzwerken des STG hauptsächlich die Motoneurone selbst, die an der Musterbildung beteiligt sind (MARDER & CALABRESE 1996).

Das STG enthält ca. 26 Zellen, die in zwei Netzwerken, dem pylorischen und dem gastrischen, organisiert sind. Die einzelnen Neurone und deren synaptische Verbindungen wurden erstmals an *Panulirus interruptus* charakterisiert (MAYNARD 1972, MULLONEY & SELVERSTON 1974a,b, SELVERSTON & MULLONEY 1974, MAYNARD & SELVERSTON 1975, HARTLINE & GASSIE 1979, MILLER & SELVERSTON 1982a,b, EISEN & MARDER 1982, HARTLINE ET AL. 1987).

Das pylorische Netzwerk der dekapoden Krebse gilt mit seinen 14 Zellen als ein Musterbeispiel für einen netzwerkgetriebenen Oszillator (SELVERSTON & MOULINS 1985). Es bildet einen triphasischen Zyklus, der mit einer Dilatationsphase (AB, PD) und zwei sukzessiven Konstriktionsphasen (LP, PY) am Pylorus korrespondiert (SELVERSTON & MOULINS 1985). Zwei weitere Motoneurone, das inferiore Cardia- (IC) und das ventrikuläre Dilatatorneuron (VD), sind in das pylorische Netzwerk integriert. Sie innervieren die Muskeln der cardiopylorischen Rinne.

Das gastrische Netzwerk läßt sich in zwei Subsysteme unterteilen. Das eine kontrolliert die Schließ- (LG/MG) und Öffnungsbewegungen (LPG) der Lateralzähne, während das andere für die Vor- (GM) und Rückwärtsbewegung (DG) des Medianzahnes zuständig ist. Beide Teilnetzwerke erzeugen dabei alternierende Muster der jeweils antagonistischen Motoneurone. Die Koordination zwischen beiden Subsystemen erfolgt hauptsächlich durch ein Interneuron (Int1) (MULLONEY & SELVERSTON 1974a,b, SELVERSTON & MULLONEY 1974). Obwohl die Neurone des gastrischen Netzwerkes alleine ausreichen um einen gastrischen Rhythmus zu generieren, sind sie doch auf die übergeordnete Kontrolle von verschiedenen Neuronen in den Kommissuralganglien angewiesen (HARRIS-WARRICK ET AL. 1992b, BLITZ ET AL. 1999).

Die Ausgangsmuster der neuronalen Netze sind nicht statisch, sondern werden ständig an äußere Erfordernisse angepaßt. Die Kontrolle kann auf allen Ebenen über klassische Transmitter, Hormone, Neuromodulatoren oder Second Messenger erfolgen. Das STG ist aufgrund seiner

Lage im Lumen der Arteria anterioris für alle Arten der Neuromodulation leicht zugänglich. Ein großer Teil dieser Substanzen erreicht das STG über den stomatogastrischen Nerven (stn) (COLEMAN ET AL 1992; BÖHM ET AL 1998). Ihren Ursprung haben die meisten stn-Axone in den COG. Die Transmitter, die von den stn-Fasern ausgeschüttet werden können, erlauben die Veränderung der STG-Rhythmen in weiten Bereichen. Dies kann bis hin zur Umorganisation einzelner Netzwerkelemente zu neuen Netzwerken führen, die wiederum eigene Rhythmen ausprägen (KATZ & HARRIS-WARRICK 1990a; KATZ & FROST 1996; WEIMANN ET AL 1997; BÖHM ET AL 1998).

Die COG sind wichtige Zentren für die Koordination der Mustergeneratoren des STNS (SELVERSTON ET AL 1976). Zahlreiche Afferenzen terminieren in den COG, so daß hier auch sensorische Integration stattfindet (SIMMERS & MOULINS 1988b; KATZ ET AL 1989). Die am besten untersuchten sensorischen Elemente sind die Mechanorezeptoren der caudalen Magenregion. Ihre Dendriten innervieren die Magenwand (posteriore Magenrezeptoren PSR) oder Muskeln (gastropylorische Rezeptoren GPR, anteriorer gastrischer Rezeptor AGR), die für die Bewegungen der gastrischen Mühle, des Pylorus oder beider zuständig sind (JOHNSON & HOOPER 1992). Lediglich die GPR-Zellen besitzen direkte Synapsen an pylorischen und gastrischen Neuronen im STG (KATZ & HARRIS-WARRICK 1990b).

An *in vitro*-Präparaten von *Homarus gammarus* führten SIMMERS UND MOULINS (1988a,b) erste Untersuchungen zur Neuroanatomie und -physiologie des AGR durch. Sie entdeckten, daß die Dendriten des AGR im Bereich der Medianzahnbasis in die Muskelansatzstellen der Medianzahnprotraktoren (gm1-Muskeln) ziehen. Durch Zug an den Muskeln konnten sie eine phasisch-tonische Reizantwort des Rezeptors auslösen. Weiterhin konnten SIMMERS UND MOULINS zeigen, daß die sich die paarigen Fasern des AGR in der Mitte vereinen und zum STG ziehen. Dort besitzt der AGR ein bipolares Soma. Ohne Verzweigungen im STG zieht das Axon weiter zum OG. Hier spaltet es sich auf und zieht durch die inferioren Ösophagusnerven (ion) zu beiden COG. In beiden COG bildet der AGR Synapsen zu mindestens zwei Interneuronen: den paarig angelegten kommissuralen gastrischen Neuronen (CG). In elektrophysiologischen Experimenten zeigten SIMMERS UND MOULINS (1988a), daß der AGR über exzitatorische Synapsen mit den CG-Interneuronen in Kontakt tritt. Diese sind ihrerseits über exzitatorische Synapsen im STG mit

den GM-Neuronen verbunden, die von dort aus die gm1-Muskeln innervieren. Über die Kontraktionen der gm1-Muskeln und die neuronalen Verschaltungen schließt sich eine positive Rückkoppelungsschleife. Die CG-Neurone bilden allerdings nur in einem schmalen Bereich ihres Membranpotentials Aktionspotentiale. Eine zunehmende AGR-Aktionspotentialfrequenz depolarisiert ihr Membranpotential und führt zum Überschreiten einer ersten Schwelle. Die CG-Zellen fangen an, Aktionspotentiale auszubilden und erregen dadurch die GM-Motoneurone. Weitere Depolarisation durch eine noch höhere AGR-Entladungsrate führt zum Überschreiten einer zweiten, höheren Schwelle des Membranpotentials und die CG-Interneurone hören auf, Aktionspotentiale auszubilden. Dadurch fällt die Erregung der GM-Neurone weg und die Muskelspannung kann nachlassen (SIMMERS & MOULINS 1988b).

Aus diesen in vitro-Befunden postulierten Simmers und Moulins zwei Funktionen des AGR:

1. Über die positive Rückkoppelungsschleife kann ein Widerstandsreflex ausgelöst werden. Wenn der Medianzahn in seiner Vorwärtsbewegung auf ein Hindernis trifft, wird durch die erhöhte Last an den Ansatzstellen der Protraktoren der AGR erregt. Dies wiederum aktiviert die CG-Interneurone und in Folge die GM-Motoneurone, die die Kontraktionskraft der Medianzahnprotraktoren erhöhen.
2. Die Eigenschaft der CG-Interneurone auf eine progressive Erregung durch den AGR, bei Erreichen der zweiten Schwelle die Aktionspotentialbildung einzustellen, ermöglicht eine Reflexumkehr indem die positive Rückkoppelung unterbrochen wird.

Seit MAYNARD (1966) vorgeschlagen hat, das STNS der dekapoden Krebse mit seiner übersichtlichen Anzahl an Neuronen zu untersuchen, hat es sich zu einem Modellsystem (BÖHM ET AL. 1998) der Neurobiologie entwickelt. Der größte Teil der Erkenntnisse darüber, wie die einzelnen Elemente der Netzwerke verschaltet sind, stammen von isolierten Präparaten des STNS. Ebenso wurde die sensorische Integration und ihr Einfluß auf die zentralen Mustergeneratoren bevorzugt an isolierten oder semi-intakten Präparaten untersucht (HARRIS-WARRICK ET AL 1992b). In diesen Präparaten lassen sich Details wie die synaptischen Verknüpfungen der einzelnen Neurone in neuronalen Netzwerken oder die Wirkungen von Neuromodulatoren auf die Rhythmogenese hervorragend untersuchen. Auch die Funktionen einzelner Sinneszellen und

deren Effektoren lassen sich oft erst in solch reduzierten Präparationen charakterisieren. Trotzdem war lange Zeit nicht geklärt, wie die produzierten Rhythmen im lebenden Tier in Bewegungen umgesetzt werden. Heinzel (1988a,b) verfolgte erstmals den Ansatz, die Bewegungen der gastrischen Mühle und der cardiopylorischen Rinne sichtbar zu machen, indem er lebenden Langusten ein Endoskop in den Magen einführte. Es zeigte sich, daß es mindestens zwei verschiedene Bewegungsmuster gibt, bei denen sich die Zahnbewegungen deutlich unterscheiden lassen. Parallel zu den endoskopischen Untersuchungen wurde begonnen, die stomatogastrischen Rhythmen im freibeweglichen Krebsen abzuleiten (HEINZEL ET AL. 1993a, WEIGELDT 1993, WEIGELDT ET AL. 1993a,b, BÖHM 1995/96, WEIGELDT ET AL. 1998A,B, WEIGELDT ET AL. 2002)

Die ersten simultanen Aufzeichnungen von motorischen Ausgangsmustern der STG-Neurone und der zugehörigen Bewegungen der gastrischen Mühle wurden an *Cancer pagurus* durchgeführt (TURRIGIANO & HEINZEL 1992, HEINZEL ET AL. 1993a,b). Die Arbeiten erfolgten allerdings an immobilisierten *in situ*-Präparaten des Taschenkrebses und unter Zuhilfenahme von Neuromodulatoren, um die Rhythmen der gastrischen Mühle zu starten.

In dieser Arbeit sollen die Ableitelektroden an den Hauptausgangsnerven des STG durch eine möglichst kleine Öffnung im Carapax eingepflanzt werden. Nach dem Verschließen der Präparationsöffnung sollen die Rhythmen von pylorischem und gastrischem Netzwerk im freibeweglichen, möglichst unbeeinflussten Tier abgeleitet werden. Analysen der aufgezeichneten Daten sollen zeigen, in wie weit sich die beiden Rhythmen *in vivo* gegenseitig beeinflussen. Fütterungsexperimente dienen dazu, die Arbeit der Netzwerke unter natürlichen Bedingungen zu untersuchen. Endoskopisch gewonnene Befunde über die Bewegungen der gastrischen Mühle sollen mit den parallel aufgezeichneten Rhythmen verglichen werden.

Doppelableitungen am dgn sollen es ermöglichen, den AGR *in vivo* unter closed-loop Bedingungen zu untersuchen. Die Fütterungsexperimente sollen dabei helfen, die am Hummer gewonnenen Erkenntnisse unter realen Bedingungen im Taschenkrebs zu testen. Durch *insitu* und *invitro* Untersuchungen soll eine zweite postulierte Aktionspotentialbildungszone des AGR (WEIGELDT 1993) lokalisiert werden.

## 2. Material und Methoden

### 2.1 Biologie des Taschenkrebses

Der Taschenkrebs *Cancer pagurus* (Linné, 1758) gehört systematisch in der Klasse der Crustacea zur Unterklasse der Malacostraca. In dieser Unterklasse wird er der Ordnung der Decapoda zugeordnet. Die Familie der Cancridae umfaßt nur die Gattung *Cancer* mit 22 Arten (KAESTNER, 1993).

Sein Lebensraum sind nischenreiche Felsküsten und Sandböden, vorwiegend in 6 bis 40 m Wassertiefe. Im Sommer ist er auch in der Gezeitenzone zu finden. Das Hauptverbreitungsgebiet erstreckt sich von Nordnorwegen bis in das Mittelmeer. Ostseewärts ist er nur noch bis in den Kattegat zu finden (KAESTNER, 1993).

Als Fleischfresser ernährt sich der Taschenkrebs von Aas, Stachelhäutern, Muscheln, anderen Krebsen und Fischen. Mit den Scheren wird selbst hartschalige Beute geknackt. Anschließend führen die Scheren Nahrungsbrocken an die Kauladen (3. Maxilliped) und Mandibeln heran. Die Mandibeln beißen dann in die Nahrung hinein. Durch eine wegziehende Bewegung der Kauladen oder der Scheren werden kleinere Stücke aus der Nahrung herausgerissen und ohne weitere Zerkleinerung geschluckt. Dabei kommt es durchaus vor, daß Schalentteile oder andere harte Nahrungsbestandteile mitgeschluckt werden.

Im Aquarium erfolgte die Futtersuche immer entgegen der Strömung und erst bei Kontakt mit einem der Laufbeine wurde das Futter zielgerichtet gefaßt. Dazu bildeten die Krebse mit den Beinen eine Art Korb, setzten sich direkt über die Beute, um sie dann mit Scheren und Laufbeinen an Kauladen und Mandibeln heranzuführen.

## 2.2 Haltung der Taschenkrebse, Bezugsquellen

*Cancer pagurus* besitzt als stenohaliner Osmokonformer an allen Kiemen ein dünnes, ausschließlich respiratorisches Epithel mit einer hohen, passiven Durchlässigkeit für Natriumionen (KAESTNER, 1993). Die extrazelluläre Ionenkonzentration des Körperinnenmilieus ändert sich daher mit der Ionenkonzentration des Außenmediums. Wegen der geringen Toleranz gegenüber Schwankungen wurde der Haltung im Aquarium besondere Aufmerksamkeit geschenkt.

Die Hälterung der Taschenkrebse erfolgte in einem Kühlkeller bei 10°C in 250l Aquarien, die mit 200l künstlichem Meerwasser gefüllt waren. Das Meerwasser wurde aus deionisiertem Wasser und handelsüblichem Meersalz (Sera) hergestellt. Unter Verwendung eines Aräometers (Tetra) wurde dem Wasser Salz zugefügt, bis eine Dichte von 1,022kg/l, bei 10 °C erreicht war. Mit Ca-Plus (ProAqua; Ramacher & Stolz GbR), einer Kalziumergänzung für Meerwasseraquarien, wurde der pH-Wert auf 8,0 bis 8,4 eingestellt. Die Umwälzung und Filterung erfolgte mit Eheim-Außenfiltern (2213), deren 3l Filtervolumen mit 2l gebrannten Tonröllchen als Grobfilter und 0,5l Filterwatte als Feinfilter gefüllt waren. Das Meerwasser wurde mit Preßluft über Aquarienauströmersteine und zusätzlich über Luftezugsdüsen (Eheim) mit Sauerstoff angereichert. Grobe Kieselsteine dienten als Bodensubstrat und Weinregalbausteine aus gebranntem, unglasiertem Ton wurden von den Tieren als Versteckmöglichkeit akzeptiert. Die Beleuchtung der Aquarien erfolgte über die Leuchtstofflampen der Deckenbeleuchtung, die über eine Schaltuhr 12Stunden pro Tag eingeschaltet war.

Die Taschenkrebse wurden hauptsächlich von der Meeresbiologischen Anstalt in Helgoland bezogen. Dort wurden sie nach dem Fang für 14 Tage in Aquarien gehalten und die überlebenden Tiere dann erst weiterverschickt. Wenn die Meeresbiologische Anstalt nicht liefern konnte, wurden die Taschenkrebse bei Feinkost Zündorf in Hürth bestellt. Diese Krebse stammten von der französischen Atlantikküste und wurden von der Firma Zündorf über einen Großmarkt in Paris nach Deutschland importiert.

Es wurden Taschenkrebse beiderlei Geschlechts verwendet; die Carapaxbreite reichte von 92mm bis 152mm, im Mittel 122mm. Das leichteste Tier wog 123,7g, das schwerste 573,0g, im Mittel 287,4g. Je nach Größe der Taschenkrebse wurden in den Aquarien maximal 6 bis 8 Tiere gleichzeitig gehalten.



**Foto:** Taschenkrebseweibchen in natürlicher Größe im 70 l Aquarium.

Ein 70l Aquarium neben dem Versuchsaufbau diente der Haltung der Tiere nach der Präparation sowie für die Durchführung der *in vivo*-Versuche. Die Kühlung erfolgte hier mit einem Kühlaggregat (mgw Lauda Kryomat), das ein Wasservolumen von 10l bis auf eine Temperatur von knapp über 0°C herunterkühlte. Über einen Wärmetauscher, der im Filterkreislauf hinter dem Filter angeordnet war, wurde das Aquarienwasser um 10°C gegenüber der Raumtemperatur heruntergekühlt, so daß im Sommer die Wassertemperatur ca. 15°C und im Winter ca. 10°C betrug. Die Beckeneinrichtung bestand aus feinem Kies (Körnung: 2 bis 3 mm) und 3 großen

Steinen, die es den Krebsen erlaubten, sich teilweise einzugraben bzw. die Steine als „Rückendeckung“ (Foto) und Halt zu benutzen.

Das Präparationsbecken war ein kleines Aquarium, in dem die Tierhalterung mit zwei Schrauben befestigt werden konnte. Mit einer eigenen Pumpe (Eheim 2213) wurden ca. 6l Seewasser (3l im Becken + 3 l in Filter und Schläuchen) umgewälzt und gefiltert. Für die Sauerstoffanreicherung wurde eine Aquariumpumpe mit Kolbenantrieb (Hy Flo C, Medcalf Bros. Ltd.) verwendet. Die Kühlung erfolgte genauso wie oben für das 70l Aquarium beschrieben.

## 2.3 Präparation

Im folgenden wird zwischen *in vivo*-, *in situ*- und *in vitro*-Versuchen unterschieden. Die *in vivo*-Versuche erfolgten an Taschenkrebse, die nach der Präparation für die extrazellulären Nervenleitungen wieder vollständig verschlossen wurden und anschließend mindestens eine Nacht im Aquarium überlebt hatten.

Die *in situ*-Versuche wurden am noch offenen Tier im Präparierbecken direkt nach Fertigstellung der extrazellulären Nervenleitungen durchgeführt.

Für die *in vitro*-Versuche wurde der Magen mit Ösophagus, den daran anliegenden Muskeln und dem stomatogastrischen Nervensystems aus dem Krebs herauspräpariert, um in der Petrischale weiteren Untersuchungen zur Verfügung zu stehen.

Während der Präparation wurde die Präparationsöffnung permanent mit Ringerlösung gespült. Die Ringerversorgung erfolgte aus einer Vorratsflasche mit 2l Volumen. Eine mittlere Fallhöhe von 60 cm sorgte für einen kontinuierlichen Zufluß, der mit einer Schlauchklemme auf die gerade erforderliche Durchflußmenge reduziert werden konnte. Über eine Kühlschleife, die in das Präparationsbecken gehängt war, wurde die Ringerlösung auf Wassertemperatur heruntergekühlt. Die Perfusion erfolgte von rostral nach caudal, also entgegen dem Hämolympfstrom, um eine Trübung des Arbeitsbereiches durch austretende Hämolymphe zu vermeiden.

Die verwendete Ringerlösung (GOLOWASH & MARDER, 1992; ZHANG & HARRIS-WARRICK, 1994) enthielt folgende Salze, die in Aqua bidest gelöst wurden:

NaCl	440 mM	25,71 g/l
KCl	11,3 mM	0,84 g/l
CaCl <sub>2</sub> · 2H <sub>2</sub> O	13,3 mM	1,96 g/l
MgCl <sub>2</sub> · 6H <sub>2</sub> O	26,3 mM	5,35 g/l
TRIS (Trizma Base)	11,0 mM	1,33 g/l
Maleinsäure	5,2 mM	0,6 g/l
Glucose	8,0 mM	1,6 g/l

Der pH-Wert wurde auf 7,45 - 7,50 eingestellt; die Glucose erst kurz vor Versuchsbeginn zugefügt.

### 2.3.1 Das *in vivo*-Präparat

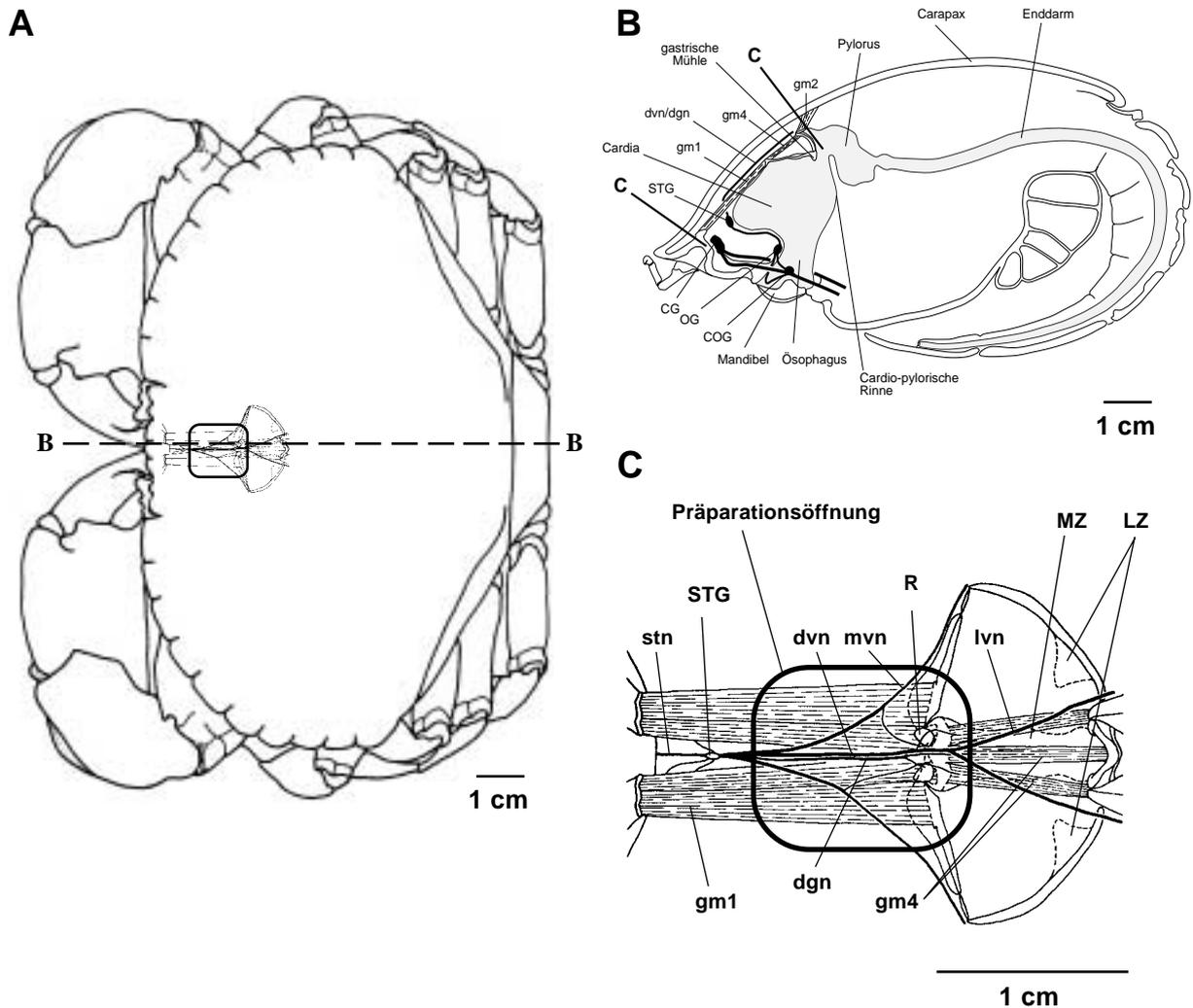
Zur Vorbereitung für die Präparation wurden Beine und Scheren mit Gummibändern festgelegt und der dorsale Carapax in dem Bereich der späteren Präparationsöffnung mit Fließpapier trockengerieben, um ihn mit Sekundenkleber zu lackieren. Der Sekundenkleber hatte hier die Funktion eines Haftvermittlers für den späteren Wachswall und die Befestigung der Elektrodenkabel. Nach der Trocknung des Sekundenklebers wurde in den Carapax über dem Magen mit einer Proxxon Mini-Bohrmaschine mit einem diamantbesetzten, linsenförmigen Schleifstift ein Rechteck von 12mm Breite und 15mm Länge eingefräst (Abb. 2.1A), ohne den Carapax ganz zu durchtrennen. Anschließend wurde um das Rechteck herum ein Ring aus Wachs (Schuler-Dental: Wachsdraht, 3,0mm, extraweich, farblos) auf dem Carapax leicht angedrückt und mit einem 5W MinilötKolben rundherum festgeschmolzen, so daß ein dichter Wall entstand. Danach wurde der Krebs mit Gummibändern in der Tierhalterung befestigt und mit dieser in das Präparationsbecken überführt.

Im Präparationsbecken wurde der Krebs erst senkrecht gestellt, um die Kiemenkammern wieder vollständig mit Meerwasser zu füllen. Danach wurde die Tierhalterung mit dem Krebs waagrecht ausgerichtet und soweit abgesenkt, daß die Ausströmöffnungen der Kiemen ganz mit Wasser bedeckt waren, die Präparationsöffnung aber trocken blieb. Als nächstes wurde mit einem runden

Spatel das ausgefräste Rechteck vorsichtig herausgebrochen, ohne die darunter liegende Epidermis zu verletzen. Danach wurde die Ringerperfusion auf eine Fließgeschwindigkeit von 1 Tropfen/Sekunde eingestellt. Eine Absaugvorrichtung verhinderte im Zusammenhang mit dem Wachswall eine Verunreinigung des Präparationsbeckens mit dem Ringer-Hämolymphe-Gemisch.

Mit einer großen Iridektomieschere (Fine Science Tools) wurde die Epidermis seitlich von der dorsalen Arterie aus der Länge nach aufgeschnitten und mit je zwei Haken zu den beiden Seiten der Präparationsöffnung gezogen. Dabei wurde darauf geachtet, die Arterie weder zu beschädigen, noch zu klemmen. Unter dem Binokular wurde das nun freiliegende Bindegewebshäutchen mit zwei Pinzetten (Dumont Nr. 5) median, zwischen den beiden gm1-Muskeln beginnend, zur Seite hin weggezupft. In der Regel reichte es aus, nur eine Seite freizulegen, um an die Nerven: dvn, dgn und mvn zu gelangen (Abb.2.1C).

Nachdem alle Elektroden angebracht waren, wurden die Epidermishaken entfernt und die Epidermiränder vorsichtig mit zwei Pinzetten wieder zur Mitte gezogen. Ohne weitere Fixierung der Epidermis wurde dann das ausgefräste Carapax-Stück vorsichtig auf die Präparationsöffnung aufgelegt und mit Wachs abgedichtet. Dabei wurden die Elektrodendrähte mit in das Wachs eingebettet. Die Elektrokabel wurden mit Uhu®-Schnellfest eingebettet und auf dem Carapax festgeklebt. Nach einer halben bis dreiviertel Stunde war der Klebstoff so fest, daß der Krebs aus der Halterung genommen und von den Gummibändern befreit in das Aquarium gesetzt werden konnte. Die Elektrokabel wurden als Bündel mit einem Gummi an einem Galgen über dem Aquarium befestigt, so daß die Tiere, nachdem sie sich wieder erholt hatten, im Becken umherlaufen konnten, ohne mit den Ableitkabeln hängen zu bleiben oder diese zu stark zu verdrehen und dadurch abzureißen. Die Tiere, die am Tag nach der Präparation noch lebten, überlebten im Mittel 8 Tage, am längsten 30 Tage. Die Nervenaktionspotentiale ließen sich im Mittel 5 Tage lang registrieren, das Maximum lag bei 16 Tagen.



**Abb. 2.1: Schemata von *Cancer pagurus*:** **A** Dorsalansicht (modifiziert nach HEINZEL ET AL 1993b), das kleine Rechteck markiert die minimal invasive Präparationsöffnung, die für die *in vivo*-Experimente in den Carapax gefräst wurde. Zusätzlich ist die Sicht auf den darunterliegenden Magen mit Muskeln und Nerven angedeutet. Die gestrichelte Linie zeigt die Schnittebene für den in **B** dargestellten Längsschnitt, der etwas seitlich von der Medianlinie durchgeführt wurde. In **B** ist dadurch eine der extrinsischen Ansatzstellen der MZ-Protraktoren sichtbar. Der MZ ist der mittlere von den drei Magen­zähnen, die die gastrische Mühle ausmachen. Die gastrische Mühle befindet sich im dorso-posterioren Bereich des Magens (Cardia), am Übergang zum Pylorus (gesamter Magen-Darm-Trakt grau unterlegt). Die Bewegungen von Ösophagus, Cardia, gastrischer Mühle und Pylorus werden von quergestreifter Muskulatur erzeugt. Die Muskulatur wurde hier größtenteils zugunsten der Lage des STNS (schwarz) weggelassen. Die beiden mit **C** markierten Striche verdeutlichen die Position des in **C** gezeigten Ausschnittes der Magendorsalansicht (modifiziert nach HEINZEL ET AL 1993b). In diesem Ausschnitt ist die Lage der abgeleiteten Nerven erkennbar, zusätzlich ist hier auch noch einmal der Bereich der Präparationsöffnung angedeutet.

### 2.3.2 Das *in situ*-Präparat

Untersuchungen der AGR-Fortleitungsrichtung an dgn und stn erfolgten an einem *in situ*-Präparat des Taschenkreb­ses. Dafür wurde die Öffnung im Carapax weiter nach rostral verlängert und etwas verbreitert. Zusätzlich zur *in vivo*-Präparation war es erforderlich, die dorsale Arterie zu eröffnen und die beiden Hilfs­herzmuskeln zu entfernen, um den stn freizulegen. Dazu war es meistens auch erforderlich, die vorderen, extrinsischen gm1-Muskelansatzstellen zu durchtrennen.

Anschließend wurden je zwei Elektroden an dgn und stn angebracht, die zunächst alle als Ableitelektroden für die mechanische Reizung der AGR-Dendriten verwendet wurden. Im zweiten Versuchsabschnitt wurde der stn zwischen Elektroden und Ösophagealganglion durchtrennt. Die beiden stn-Elektroden dienten dann als Reizelektroden für die elektrische Reizung des AGR-Axons im stn.

### 2.3.3 Das *in vitro*-Präparat

Die vorbereitenden Arbeiten für die Präparation erfolgten wie für das *in vivo*-/*in situ*-Präparat beschrieben. Für die *in vitro*-Präparation wurde die Präparationsöffnung seitlich, bis über den Magen hinaus, vergrößert und nach rostral bis nahe an den Carapaxrand hin ausgedehnt, um später von den Seiten und von vorne auch an tiefer im Tier liegende Magenabschnitte heranzukommen (Abb. 2.1B).

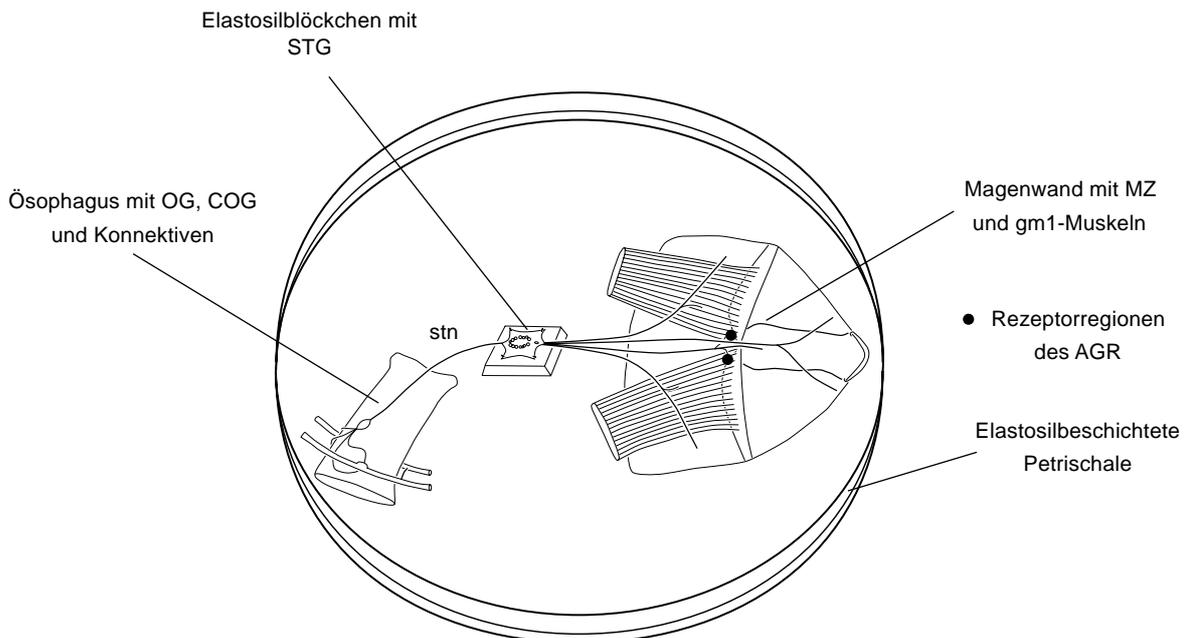
Nach Abheben des ausgefrästen Carapaxdeckels wurde die Epidermis mit einer großen Iridektomieschere entlang der Ränder der Präparationsöffnung durchtrennt und von hinten nach vorne entfernt. Dann wurden die gm1-Muskeln vom Bindegewebe befreit und die extrinsischen, verknöcherten Ansatzstellen mit einer Irisschere durchtrennt, so daß der Magensack nach hinten geschoben werden konnte. Im nächsten Schritt wurden die dorsal am Carapax ansetzenden Mandibelmuskeln nach ventral in die Tiefe verfolgt und in dem Bereich, in dem die Muskeln in die Sehne übergehen, durchtrennt. Anschließend wurden alle seitlichen zum Carapax ziehenden Muskeln durchgeschnitten. Danach wurde die dorsale Arterie nach vorne freigelegt und die Nerven vom Gehirn zu den Augen und Antennen durchtrennt. Entlang des rostralen Carapax erfolgte die weitere Präparation bis hinunter zum Schlund, der von vorne direkt am Carapax eingeschnitten wurde.

Danach wurden die hinteren Magenmuskeln und der Darm kurz hinter der pylorischen Kammer durchtrennt, der ganze Magensack nach vorne geschoben und seitlich die beiden Konnektive möglichst caudal durchtrennt. Dann wurde der Schlund von hinten eingeschnitten und der Einschnitt rechts und links nach vorne verlängert. Anschließend konnte der Magensack mit dem anhängenden stomatogastrischen Nervensystem aus dem Tier entnommen und in eine Petrischale

überführt werden, die mit einem glasklaren Silikonkautschuk (Wacker Elastosil RT 601 A (RTV-ME 601 A) + RT 601 B) beschichtet war.

In der Petrischale wurde zunächst der Magensack ventral im Bereich der cardiopylorischen Rinne aufgeschnitten. Dann erfolgten zwei seitliche Einschnitte von der cardiopylorischen Rinne zu den Gelenken der Lateralzähne an den flügel förmigen Knöchelchen. Danach konnte der Magensack ausgebreitet und mit Stecknadeln festgesteckt werden. Die beiden gm1-Muskeln wurden V-förmig gespreizt und an den extrinsischen Muskelansatzstellen ebenfalls festgesteckt. Der Schlund wurde zwischen den gm1-Muskeln aufgespannt und nahe der Schnittkanten festgesteckt. Dann wurden die beiden Lateralzähne entfernt und die Magenwand parallel zu den aufgespannten gm1-Muskeln beschnitten. Der Medianzahn wurde am Präparat belassen.

Als nächstes wurden das STG und der stn freipräpariert. Dazu wurde die dorsale Arterie der Länge nach aufgeschnitten und die beiden Hilfsherzmuskeln entfernt. Unterhalb des STG wurde dann die Magenwand entfernt, ein Elastosil-Blöckchen unter das Ganglion geschoben und mit



**Abb. 2.2:** Schema vom *in vitro*-Präparat, wie es für die intrazellulären Ableitungen des AGR verwendet wurde. Links in der Petrischale liegt der Ösophagus mit den Konnektiven, COG, OG und den anhängenden Nerven, die mit der Bindegewebsschicht am Schlund belassen wurden. Der stn zieht zu einem Blöckchen aus Elastosil auf dem das STG festgesteckt wurde. Vom STG aus ziehen die paarigen mvn sowie dvn und dgn (vergl. Abb. 3.1C) zu dem Ausschnitt der Magenwand mit den gm1-Muskeln und dem MZ. Die Magenwand wurde absichtlich groß gelassen, um die Rezeptorregionen des AGR (mit • gekennzeichnet) nicht zu beschädigen.

Minutien in der Petrischale verankert (Abb. 2.2). Dadurch wurde erreicht, daß sich das Ganglion relativ dicht unter der Ringeroberfläche befand und der Ringerspiegel für die intrazelluläre Ableitung nicht soweit abgesenkt werden mußte, daß die gm1-Muskeln trocken fielen. Danach wurde das stomatogastrische Ganglion provisorisch mit 50 µm Stahlpins an Resten der Arterie auf dem Blöckchen festgesteckt. Im nächsten Schritt wurden je zwei extrazelluläre Elektroden an dgn und stn angebracht. Danach wurden die Reste der Arterie unterhalb des STG entfernt und anschließend das Perineurium des Ganglions mit zwei feinsten Pinzetten vorsichtig aufgerissen und mit 10 µm Wolframdraht-Stiften auf dem Elastosil-Blöckchen aufgespannt.

Das fertige Präparat bestand aus dem flügel förmigen Knöchelchen mit dem Medianzahn, den beiden gm1-Muskeln, den Nerven dvn, dgn, und mvn, verbunden über STG und stn mit dem Ösophagus und dem daran assoziierten Teil des stomatogastrischen Nervensystems (Abb. 2.2).

## 2.4 Endoskopie

Für die endoskopischen Untersuchungen wurde ein flexibles Endoskop (Karl Heinz Hinze, Meßtechnik, Optronik) mit 1,4 mm Außendurchmesser, 50 cm lang, Bildwinkel 130° verwendet. In dem Endoskop sind zwei getrennte Faserbündel untergebracht, ein inneres für die Bildübertragung und ein äußeres, ringförmiges für die Beleuchtung. Die Beleuchtung erfolgte mit einer 150 W Halogen-Kaltlichtquelle (Schott KL 1500 electronic). Über einen Lichtleiter und einen Adapter wurde diese an das ringförmige Faserbündel des Endoskops angeschlossen. Wegen des geringen Durchmessers und der damit verbundenen geringen Faserzahl für die Bildübertragung hat das Endoskop nur eine relativ geringe Auflösung, so daß für die Bilderfassung eine Schwarz-Weiß-CCD-Kamera (CCD Intravision 4, Karl Heinz Hinze, Meßtechnik, Optronik) ausreichte. Das Bild des Endoskops füllte nicht den vollständigen Bildausschnitt der Kamera aus. Ein Adapter zwischen Endoskop und Kamera ermöglichte über zwei Feintriebe eine zweidimensionale Positionierung des Endoskops vor der Kamera. Dadurch konnte das Bild auch auf dem Bildschirm des Beobachtungsmonitors (JVC TM-920 Video Monitor) positioniert werden und es war auf elektronischem Wege möglich, ein zweites Bild oder eine Ableitspur auf dem Bildschirm zu plazieren. Für die Aufzeichnung des Videosignals von der CCD-Kamera wurde

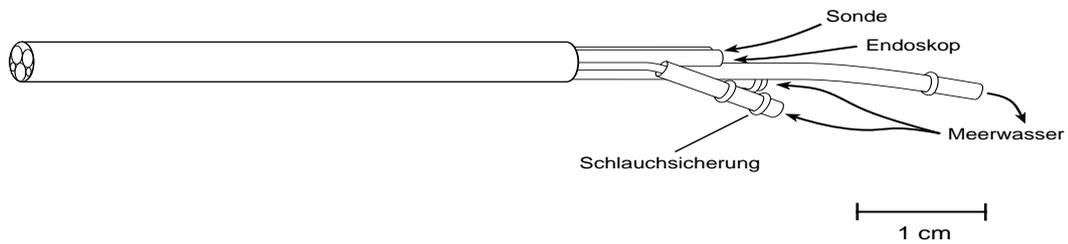
ein Hi8 Camcorder (Sony V 5000 E, V 6000 E) verwendet; zusätzlich wurden die beiden Audiospuren des Camcorders verwendet, um zwei der Nervenleitungen parallel mit aufzuzeichnen.

Die Endoskopie der Taschenkrebse erfolgte frühestens einen Tag nach der Präparation. Dafür wurden die Tiere erneut gefangen, gefesselt und in der Tierhalterung im Präparationsbecken befestigt. Dann wurden sie auf den Rücken gedreht und zunächst die Kauladen mit einem Spatel gespreizt und unter den Scheren festgeklemmt. Danach wurde der Magen mit Meerwasser gespült um Nahrungsreste und Verdauungssäfte, die die Sicht verschlechterten, zu entfernen. Dazu wurden die Mandibeln gespreizt und durch den Ösophagus ein weicher Silikonschlauch in den Magen eingeführt, der mit einer 50 ml Spritze verbunden war. Für die Spülung wurden 100 bis 200 ml frisches Meerwasser verwendet.

Anschließend wurde das Schlundrohr eingeführt. Das Schlundrohr (Abb. 2.3) bestand aus fünf einzelnen Röhrchen, die zusammen in ein Rohr mit 4,2 mm Außendurchmesser eingeklebt waren. Zwei der inneren Röhrchen dienten der Zufuhr von Meerwasser, um den Magen permanent zu spülen und durch den hydrostatischen Druck etwas zu dehnen, damit er während des Versuchs nicht kollabierte. Ein Röhrchen diente als Ablauf für das Meerwasser. Von den beiden anderen Röhrchen nahm eines das Endoskop auf. Das fünfte wurde genutzt, um eine Sonde einzuführen und den Medianzahn festzuhalten oder nach hinten/oben zu drücken. Ohne Sonde wurde dieses Röhrchen mit einem Stopfen verschlossen um den Druck im Magensack aufrechtzuerhalten.

Die Meerwasserspülung erfolgte wie die Ringerperfusion aus einer Vorratsflasche, die sich 60cm oberhalb des Krebses befand. In 5 Versuchen wurden dem Meerwasser Geschmacksstoffe zugesetzt, um Kaubewegungen der gastrischen Mühle auszulösen. Dazu wurden 2 g rote Mückenlarven oder 2 g Dorschfleisch in 60 ml Meerwasser homogenisiert, gefiltert und anschließend mit 0,5l Meerwasser verdünnt.

In 20 Experimenten wurde Pilocarpin injiziert, um gastrische Rhythmen zu starten. Die Injektion (0,5ml, 0,1M in Ringerlösung) erfolgte durch ein kleines Loch im Carapax in den Bereich des dorsalen Herzsinus; von dort aus gelangte das Pilocarpin über die dorsale Arterie zum STG. Diese hohe Konzentration wurde gewählt, um das Injektionsvolumen klein halten zu können.



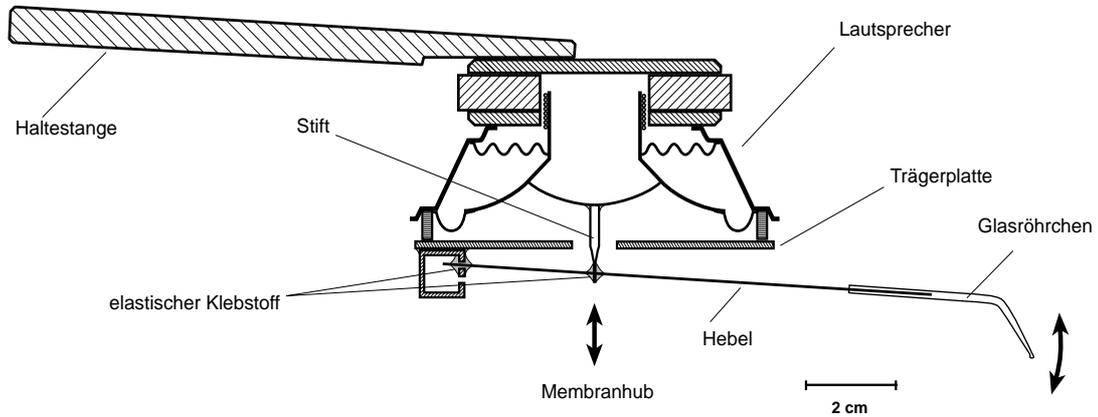
**Abb. 2.3:** Das verwendete Schlundrohr bestand aus einem Stahlrohr (Außendurchmesser 4,2 mm), in das drei dickere und zwei dünnere Röhren (Außendurchmesser 1,8 mm und 0,8 mm) eingeklebt waren. Die beiden dünnen Röhren wurden für die Meerwasserzufuhr verwendet, da sie als Ablauf zu schnell durch Teilchen des Mageninhalts verstopften. Der im Text erwähnte hydrostatische Druck im Magen wurde durch eine Schlauchklemme am Abwasserschlauch erreicht.

Mit einem flexiblen Universalhalter, der über zwei Kugelgelenke und ein Scharniergelenk verfügt, die über eine Feststellschraube arretiert werden konnten, wurde das Schlundrohr in Position gehalten. Nachdem das Endoskop in das Schlundrohr eingeführt worden war, wurde es unter Sichtkontrolle via Monitor vorsichtig weiter vorgeschoben, bis das Ende des Schlundrohres erreicht war. Ab da war es meistens erforderlich, den Winkel des Schlundrohres zu verändern, bis die gastrische Mühle zu sehen war. Anschließend wurde das Endoskop so ausgerichtet, daß die drei Magenzähne das ganze Bild ausfüllten und der Medianzahn senkrecht mit Spitze nach unten zeigte (Abb. 2.6).

## 2.5 Reizung

### 2.5.1 Mechanische Reizung

Für die mechanische Reizung des AGR wurde ein elektromechanischer Reizgeber verwendet (Abb. 2.4). Dieser bestand aus einem Miniatur-Baßlautsprecher (SP 45, RTO Ratho Hamburg), in dessen Membranmitte ein kurzer Stift festgeklebt war. Dieser Stift ragte durch die Bohrung einer Aluminiumplatte, die vor der Membran befestigt war. Ein Hebel, der mit dem einen Ende in einem Lager auf der Platte befestigt war, ragte durch die Bohrung des Stiftes, so daß das freie Ende eine auf-und-ab-Bewegung durchführte, wenn die Lautsprechermembran durch ein elektrisches Signal angeregt wurde. Die elastische Befestigung des Hebels erfolgte mit einem 2-



**Abb. 2.4:** Schematischer Schnitt durch den verwendeten elektromechanischen Reizgeber. Die Bewegung des Reizgebers wird durch ein elektrisches Signal erzeugt, das einen dynamischen Miniatur-Baßlautsprecher antreibt. Über einen Stift, der in der Mitte der Lautsprechermembran aufgeklebt ist, wird der Membranhub auf den Hebel übertragen. Dadurch führt das freie Ende mit dem Glasröhrchen eine Abwärtsbewegung aus und berührt die Rezeptorregion des AGR. Das Glasröhrchen ist an der Spitze kugelig verschmolzen, um eine Verletzung des Rezeptors durch den Reizgeber zu vermeiden.

Komponenten-Silikonpolymer (Kerr Extrude Wash), das in wenigen Minuten gummiartig aushärtet. Um die Muskelansatzstelle mit dem Rezeptor nicht zu verletzen, wurde über das freie Ende des Hebels ein Glasröhrchen (Glasmikropipette) geschoben und ebenfalls mit Kerr Extrude Wash reversibel befestigt. An der Spitze war das Glas abgewinkelt und kugelig verschmolzen. Die Bewegung des Reizgebers erfolgte durch einen Funktionsgenerator (FUN Power, 30 W Ausgangsleistung, Eigenbau der Elektronikwerkstatt des Botanischen Institutes), der den Lautsprecher mit sinusförmigen Halbwellen ansteuerte.

*In situ* wurde der AGR im Bereich seiner Rezeptorregion zunächst manuell mechanisch mit einem Glashaken gereizt, um den genauen Ort der Dendritenregion zu lokalisieren. Anschließend wurde der elektromechanische Reizgeber an einem Universalhalter so positioniert, daß die Spitze ohne Berührung dicht über die Rezeptorregion reichte. Durch Magenbewegungen bestand immer die Gefahr, daß die Rezeptorregion gereizt oder sogar verletzt wurde. Erst durch das elektrische Signal sollte der Reizgeber die Rezeptorregion berühren und dadurch eine Rezeptorantwort auslösen.

Bei dieser Reizform ist es schwierig, die Reizstärke über Weg oder Kraft des Reizgebers zu bestimmen. Für jedes Tier, oft auch während des Experiments mußte die Position der Glasspitze neu justiert werden und auch damit konnte nicht immer sichergestellt werden, daß die Spitze

eine definierte Kraft auf die Rezeptorregion ausübt. Deshalb wurde die Reizstärke über die Rezeptorantwort selbst ermittelt. Eine Rezeptorantwort mit nur zwei oder drei Aktionspotentialen und kurzer postexzitatorischer Pause konnte nur durch einen schwachen Reiz ausgelöst werden. Ein starker Reiz führte immer zu einer hochfrequenten Aktionspotentialfolge mit langer postexzitatorischer Pause.

### 2.5.2 Elektrische Reizung

Die elektrische Reizung des stn wurde *in situ* durchgeführt. Dazu wurde der stn soweit freipräpariert, daß jenseits des STG zwei Reizelektroden angebracht werden konnten. Die Reizimpulse von 0,5 ms Dauer wurden von einem Funktionsgenerator (Wavetek Model 112) erzeugt, der einen Reizisolierer (WPI Stimulus Isolator A 360) ansteuerte. Reizfrequenz und Reizdauer (60s) wurden von zwei Heinecke Quartzdelay-Einschüben generiert, die mit dem Triggereingang des Funktionsgenerators verbunden waren. Mit einer Reizfrequenz, die etwas höher lag als die spontane, tonische Entladungsrate des AGR, wurde die Reizschwelle bestimmt. Dazu wurde die Reizstromstärke von 0  $\mu$ A langsam erhöht, bis auf der dgn-Ableitung nach den Reizartefakten erste künstliche Aktionspotentiale auftraten, die in Amplitude und Form denen entsprachen, die durch mechanische Reizung der AGR-Dendriten auftraten. Die Reizstromstärke wurde anschließend nur so weit erhöht, daß jeder Reizimpuls ein AGR-Aktionspotential zur Folge hatte. Zwar ist der AGR das einzige Neuron, dessen Axon sowohl durch den dgn als auch durch den stn verläuft. Wegen seines großen Axondurchmessers im stn ist es auch das Axon, das eine der niedrigsten Reizschwellen für die elektrische Reizung besitzt. Durch die elektrischen Stimuli werden im stn aber auch Interneurone gereizt, die Synapsen an Neuronen des pylorischen und des gastrischen Netzwerkes besitzen. Im Fall der gastrischen Motoneurone war es unerwünscht, wenn DG oder die GM-Neurone aktiviert wurden, die dann die Muskelspannung verändert und damit den Erregungszustand des AGR geändert hätten. Die stn-Reizungen sollten zeigen, ob die deszendierenden AGR-Aktionspotentiale einen Einfluß auf die ascendierenden ausüben. Der stn wurde vor Beginn der elektrischen Reizungen durchtrennt, um zu verhindern, daß Neurone der höheren Ganglien, spontan oder durch die elektrische Reizung ausgelöst, wiederum die Netzwerke des STG beeinflussen.

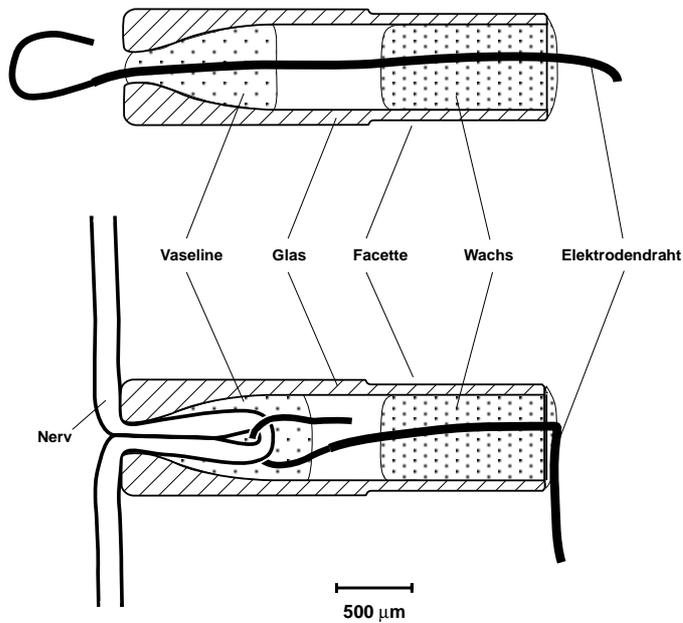
## 2.6 Registrierung der STNS-Aktivität

### 2.6.1 Extrazelluläre Ableitungen

Um die Aktivitäten des stomatogastrischen Nervensystems aufzeichnen zu können, wurden an den Hauptausgangsnerven des stomatogastrischen Ganglions bis zu vier extrazelluläre Elektroden angebracht. Die sehr kleinen Potentiale an der Nervenoberfläche wurden mit Differenzverstärkern 10 000fach verstärkt und durch einen internen Bandpaßfilter auf eine Bandbreite von 240 Hz bis 2,4 kHz begrenzt.

Die Ableitung der extrazellulären Nervenaktionspotentiale erfolgte mit lackisolierten Stahldrähten (Goodfellow), die über zweiadrige, abgeschirmte Tonarmlitze mit den Verstärkereingängen verbunden waren. Mit zwei groben Pinzetten wurde an den freien Enden des Stahldrahtes der Lack abgeschabt. Der Draht für die indifferente Elektrode ( $\text{\O} 50 \mu\text{m}$ ) wurde 10mm weit abisoliert und am Rand der Präparationsöffnung unter den Carapax geschoben. Für die elektrische Isolierung der differenten Elektroden wurden zwei Methoden eingesetzt: Hütchen-Hakenelektroden (Abb.:2.5) und Klebeelektroden.

Die Isolatoren der Hütchen-Hakenelektroden (HEINZEL ET AL, 1993b) wurden aus  $5 \mu\text{l}$  Mikropipetten (Microcaps,  $5 \mu\text{l}$ ) hergestellt. Über einem Alkoholbrenner wurde die Spitze angeschmolzen, bis sich ihr Innendurchmesser reduzierte und die Kanten glatt verrundet waren. Anschließend wurden 2mm hinter der Spitze vier 1mm lange Facetten angeschliffen, damit das winzige Glasröhrchen später mit einer Pinzette sicher gegriffen werden konnte. Danach wurde das Glas drei Millimeter hinter der Spitze ringförmig eingeschliffen und das Ende abgebrochen. Nachdem mehrere solcher Spitzen hergestellt worden waren, wurden diese unter einem Binokular mit Meßokular nach Spitzendurchmesser sortiert. Verwendet wurden Spitzen mit einem Innendurchmesser von  $80 \mu\text{m}$  bis  $120 \mu\text{m}$ . Zum Gebrauch wurden die Hütchen auf den Elektrodendraht für die differente Elektrode aufgefädelt und das hintere Hütchendrittel mit Wachs (Schuler-Dental: S-U-Wachsdraht) verschlossen. Das Wachs erfüllte zwei Funktionen: erstens sorgte es für die hintere Abdichtung und zweitens verhinderte es ein Verrutschen des Glashütchens auf dem Stahldraht. Als Elektrodendraht wurde lackisolierter Stahldraht



**Abb. 2.5:** Schematischer Schnitt durch eine Hütchen-Haken-Elektrode. **Oben** ist eine gebrauchsfertige Elektrode dargestellt, die an der Spitze bereits mit Vaseline befüllt wurde. Zwischen Vaseline und Wachs blieb meist eine Luftblase bestehen. **Unten:** Ableitelektrode mit eingezogenem Nerv. Nachdem der Nerv in das Glashütchen hineingezogen worden war, wurde der Ableitdraht am Wachs abgewinkelt, um ein Verrutschen des Hütchens zu vermeiden.

(Goodfellow) mit einem Leiterdurchmesser von 25 µm verwendet. Um die Elektroden an einem Nerven anzubringen, wurde der Elektrodendraht, der vorne aus dem Hütchen herausragte, 3mm weit abisoliert und zu einem Haken gebogen. Dann wurde das Hütchen an den Nerven herangeführt, der Haken um den Nerven herumgelegt und das freie Drahtende wieder in die Spitze gesteckt. Anschließend wurde der Draht hinter dem Hütchen mit einer zweiten Pinzette gegriffen und der Haken mit dem Nerven vorsichtig in das Hütchen hineingezogen. Die ursprüngliche Idee bestand darin, daß die Nervenschlinge in der Öffnung so dick ist, daß sie das Hütcheninnere gegen das äußere abdichtet und damit die indifferente gegen die differente Elektrode isoliert. Dafür müssen Nervendurchmesser und Spitzendurchmesser gut zusammenpassen. Wird der Spitzendurchmesser zu klein gewählt, kann es passieren, daß der Nerv beim hereinziehen verletzt wird, wird er zu groß gewählt, dichtet der Nerv die Elektrode nicht ab und die gewünschte Isolierung wird nicht erreicht. Um hier mehr Spielraum zu haben, wurden die Spitzen der Hütchen mit Vaseline gefüllt. Dadurch war es möglich, ein weiteres Hütchen zu wählen, das den Nerven nicht so stark einschnürte und trotzdem eine gute Isolierung gewährleistete.

Der zweite verwendete Elektrodentyp sind die Klebeelektroden. Hier wurde für die differente Elektrode ein steiferer Stahldraht mit einem Leiterdurchmesser von 50 µm verwendet. Bei diesem

Elektrodentyp war es erforderlich, den Nerven mit dem Ableitdraht aus der Hämolymphe herauszuziehen. Dabei mußte der Haken in der Lage sein, der Zugbelastung Stand zu halten. Die genaue Positionierung des Hakens und das Heben des Nerven erfolgte mit einer modifizierten Pinzette an einem Mikromanipulator. Dafür besaß die Pinzette eine entsprechende Halterung und eine Schraube, mit der die Schenkel geschlossen werden konnten. Die Spitzen, mit denen der Stahldraht gefaßt wurde, waren mit Schrumpfschlauch umhüllt um die Lackisolierung nicht zu beschädigen.

Die Abdichtung von Nerv und Elektrodenhaken erfolgte zunächst mit einem dünnflüssigen 2-Komponenten Zahnarztabformmaterial (Kerr Reflect Wash: Polyvinylsiloxan). Später, nachdem Kerr die Rezeptur geändert hatte und das Abformmaterial zu lange mit dem Wasser im Ringer-Hämolymphe-Gemisch reagierte, wurde von Wacker Silikonkautschuk das 2-Komponenten Silikonelastomer Elastosil RT 601 mit einem Beschleuniger (Wacker Katalysator OL) benutzt. Im Verhältnis 9:1 gemischt polymerisierten die Komponenten A und B innerhalb von zwei Stunden zu einer glasklaren, gummiartigen Masse. Je nachdem, wieviel Beschleuniger hinzugefügt wurde, ließ sich die Polymerisierungszeit auf den Bereich von Minuten bis zu wenigen Sekunden reduzieren.

Zum Gebrauch wurde das Zahnarztabformmaterial 1:1 gemischt. Während der Polymerisierungsdauer von 5 Minuten wurde der vorbereitete Nerv mit dem Elektrodenhaken aus der Hämolymphe gehoben und mit einem kleinen Papierstreifen abgetrocknet. Anschließend wurde das Klebergemisch mit einem feinen Glashaken von oben an den Elektrodendraht gestrichen. Durch das Entlangfließen an Nerv und Haken erfolgte die Versiegelung. Im Schälchen, in dem der Kleber angerührt worden war, wurde der Fortschritt der Polymerisierung kontrolliert. Sobald die Oberfläche des Gemischs fest geworden war, konnte auch der Nerv wieder in die Hämolymphe abgesenkt werden.

Im Gegensatz dazu wurden die Elastosil-Komponenten A und B gemischt, sobald die Nerven so weit freipräpariert waren, daß die Elektroden angebracht werden konnten. Das Gemisch wurde gekühlt aufbewahrt um die Polymerisierung zu verzögern. Erst wenn der abzuleitende Nerv mit dem Haken aus der Hämolymphe gezogen war, wurde von dem Elastosilgemisch ein Tropfen in

ein zweites Schälchen übertragen und ein winziger Tropfen Beschleuniger daneben gesetzt (ca. 10%). Mit einem feinen Glashaken wurden dann Gemisch und Beschleuniger verrührt und sofort verwendet. Nach 30 bis 60 Sekunden war das Elastosil so fest, daß die Elektrode wieder in die Hämolymphe abgesenkt werden konnte. Frisch angerührt war das Elastosil mit Beschleuniger deutlich dünnflüssiger als das Abformmaterial und auch wegen der sehr kurzen Polymerisierungszeit deutlich angenehmer zu verarbeiten. Die Ableitqualität, das Signal zu Rausch-Verhältnis war bei beiden Elastomeren etwa gleich.

Beide Elektrodentypen haben Vor- und Nachteile: Die Klebeelektroden mußten eine Zeit lang an der Luft fest werden, dafür mußte der Nerv aus der Hämolymphe herausgezogen und abgetrocknet werden. Dabei bestand die Gefahr, daß der Nerv vertrocknet. Hinzukommt, daß der Nerv durch das Hochheben gedehnt wird, wenn das Tier dann noch den Magen absenkte kam es vor, daß der Nerv riß. Hob der Krebs den Magen an, wurde die Elektrode oft benetzt, bevor sie fest war und es konnte Kleber zwischen Ableitdraht und Nerv gelangen, was die Elektrode unbrauchbar machte. Die Idee, Doppelableitungen in einem Arbeitsgang zu kleben, wurde wieder verworfen als sich herausstellte, daß zwei gemeinsam verklebte Elektroden wie eine einzige funktionierten. Das heißt, die Aktionspotentiale, die wegen der endlichen Nervenfortleitungsgeschwindigkeit normalerweise mit einer Latenz an Elektrode 1 und 2 auftraten, erschienen dann zeitgleich an beiden Elektroden.

Die Qualität der Ableitungen mit Hütchen-Haken-Elektroden war, wie oben schon geschildert, davon abhängig, wie gut Nervendurchmesser und Hütchenöffnung zusammenpaßten. Die größte Gefahr den Nerven zu beschädigen bestand während der gemeinsamen Passage von Haken und Schlaufe des Nerven durch die Hütchenspitze. Bei den Hütchen-Haken-Elektroden passierte es, daß nicht alle Aktionspotentiale an beiden Elektroden auftraten und im Falle des AGR kam es vor, daß die tonischen Aktionspotentiale mit verschiedener Frequenz vorhanden waren - Indizien für eine Nervenschädigung. Der große Vorteil der Hütchen-Haken-Elektroden gegenüber den Klebeelektroden ist, daß der Nerv in der Hämolymphe bleiben kann. Dadurch ist es mit diesem Elektrodentyp möglich, Nerven abzuleiten, die wegen ihrer anatomischen Lage nur schwer oder gar nicht trocken zulegen sind und damit für die Klebeelektroden nicht zugänglich sind.

In dieser Arbeit wurden alle Nerven, die von der dorsalen Carapaxöffnung aus leicht zugänglich sind, nämlich dvn, dgn und mvn, mit Klebeelektroden abgeleitet. Der stn dagegen wurde mit Hütchen-Haken-Elektroden sowohl abgeleitet als auch elektrisch gereizt.

### **2.6.2 Intrazelluläre Ableitungen**

Die intrazellulären Ableitungen des AGR erfolgten mit Glasmikroelektroden, die in das Zellsoma eingestochen wurden. Die Glasmikroelektroden wurden aus dünnwandigem Elektrodenglas mit Filament (World Precision Instruments (WPI: THINW/FIL oder TW 100F-4) in einem Horizontalpuller (Sutter Instruments Model P-87) hergestellt. An diesem Puller können verschiedene Parameter eingestellt werden, mit denen die Eigenschaften der Elektrodenspitze beeinflusst werden. Für die verwendeten Elektroden wurden folgende gerätebezogene, relative Einstellungen gewählt: Heat (Hitze der Glühwendel) 420, Pull (Kraftzug) 200, Velocity (Fließgeschwindigkeit des Glases) 100, Time (Zeit bis zur Abkühlung durch einen Luftpuls) 150 (EITNER 1997). Anschließend wurden die Elektroden mit 3M Kaliumchloridlösung (KCl) gefüllt und in den Elektrodenhalter (WPI) gesteckt. Der Widerstand der Elektrodenspitze lag zwischen 12 und 18 M $\Omega$ . Die Membranpotentiale wurden mit einem Intrazellulärverstärker (Heinecke, Elphys) 10fach verstärkt und ebenso wie die extrazellulären Ableitungen auf einem Oszilloskop dargestellt sowie mit Schreiber und auf Magnetband aufgezeichnet.

Die extra- und intrazellulären Signale wurden über einen Verteiler auf einem Oszilloskop (Tektronix 5113 Dual Beam, bestückt mit einem 5A14N Four Channel Amplifier und einem 5A18N Dual Trace Amplifier) dargestellt. Einzelne Kanäle konnten mit einem Miniatur-Aktivlautsprecher (Conrad: Uni-Tone SB-668) akustisch überwacht werden, was erlaubte, die Qualität der Ableitungen und Änderungen der neuronalen Aktivitäten auch ohne Blick auf das Oszilloskop zu beurteilen. Die Aufzeichnung der Daten erfolgte mit einem analogen 7Kanal-Magnetbandrecorder (Racal Store 7 DS) und mit einem 8 Kanal-Thermoschnellschreiber (Gould TA2000).

### 2.6.3 Luzifer Yellow Färbung

Für die intrazellulären Färbungen des AGR wurde der Fluoreszenzfarbstoff Lucifer-Yellow (Molecular Probes, 3% in Aqua bidest) verwendet. Zur Füllung der Glasmikroelektroden wurde die Kapillarkraft des Filamentes ausgenutzt, indem das stumpfe Ende der Elektrode kurz in die Farbstofflösung getaucht wurde. Nach wenigen Minuten war die Lösung bis in die Spitze gewandert. Der Rest der Elektrode wurde mit 1M LiCl<sub>2</sub> gefüllt, wofür eine Injektionsspritze mit feiner Kanüle verwendet wurde. Zwischen Farbstoff und LiCl<sub>2</sub> wurde eine kleine Luftblase gelassen, um eine rasche Verdünnung des Lucifer Yellow zu vermeiden.

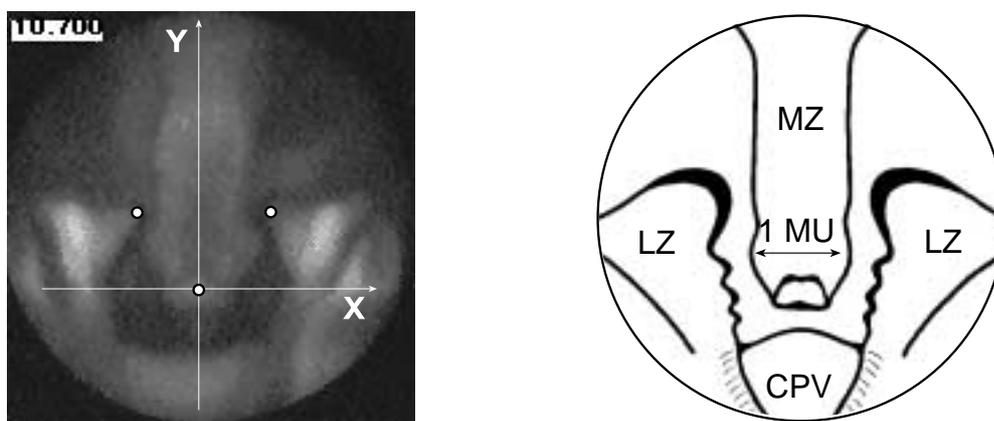
Weil die Diffusion durch die Spitze der Glasmikroelektrode zur Färbung der Zelle nicht ausreicht, wurde das Lucifer Yellow, aufgrund seiner negativ geladenen Seitengruppen mit einem hyperpolarisierenden Strom von 5 nA, iontophoretisch in die Zelle getrieben. Die Iontophorese wurde für mindestens eine halbe Stunde aufrechterhalten. Da auch innerhalb der Nervenzelle weniger die Diffusion sondern aktive Transportprozesse für die Verteilung des Farbstoffes verantwortlich sind, wurde das Präparat über Nacht im Kühlschrank aufbewahrt (EITNER 1997). Nach einer ersten Begutachtung der Laufweite der Färbung, unter einem Binokular mit Durchlicht-Fluoreszenzanlage, wurden die gefärbten Nerven vom übrigen Gewebe befreit. Dann wurde das Präparat in eine kleine elastosilbeschichtete Schale überführt, dort festgesteckt und in einer aufsteigenden Alkoholreihe (70%, 80%, 90%, 96%, 99%; je 10 Minuten) entwässert. Danach wurde das Präparat in Methylsalicylat aufgehellt (10 Minuten) und anschließend auf einem Objektträger mit Vertiefung in Fluoromount (Serva) eingebettet. Die gelungenen Färbungen wurden auf unter einem Auflicht-Fluoreszenzmikroskop (Leitz DM RBE) mit Fotoaufsatz fotografiert (Film: Kodak EPJ).

## 2.7 Auswertung

### 2.7.1 Auswertung der Videobilder

Die Digitalisierung der endoskopischen Videosequenzen erfolgte mit Macintosh-Computern (Quadra 840<sub>AV</sub>, PPC 8100<sub>AV</sub>), die über einen Videoeingang verfügen, unter Verwendung der Programme NIH Image (Versionen: 1.40 bis 1.61; Public Domain Software des National Institute of Health, Massachusetts, MA, USA) und ColorImage (Version 1.59; Modifizierte Version von NIH Image; Northeastern University East Point, Nahant, MA, USA). ColorImage erlaubte, über eine Verbindung zwischen dem Modemausgang des Rechners und dem L-sync-Controller des Camcorders, den rechnergesteuerten Einzelbildtransport und damit das automatische Einlesen der Videobilder. Für die Auswertung wurde jedes 3. Einzelbild in den Rechner eingelesen. Die normale Bildfrequenz beträgt 25 Bilder/s, damit entspricht die Zeitdifferenz zwischen zwei digitalisierten Einzelbildern 0,12 s. Mit bis zu 1000 eingelesenen Bildern konnte ein Zeitbereich von 2 Minuten abgedeckt werden.

Anschließend wurde den Bildpunkten ein Maßstab zugeordnet, indem die breiteste Stelle des Medianzahnes (Abb. 2.6) als eine MU (Medial Tooth Unit) definiert wurde. Dieses relative Maß



**Abb. 2.6:** Ein Einzelbild aus einer Videosequenz, die für die endoskopischen Bewegungsanalysen der Magenzähne vom Taschenkrebs verwendet wurde. In weiß ist das Koordinatensystem dargestellt, auf das die Zahnbewegungen bezogen wurden. Zusätzlich sind mit den kleinen weißen Kreisen die Punkte der Zahnspitzen dargestellt, die im Programm Image markiert wurden, um die Koordinaten zu erhalten. Das Schema (nach Hellbusch, 1994) rechts verdeutlicht die Lage der Magenzähne, die in dem Videobild nur relativ schlecht erkennbar sind: MZ = Medianzahn, LZ = Lateralzahn, CPV = cardiopylorische Rinne, MU = Medial Tooth Unit, relatives Maß, auf das die Bewegungsamplituden der drei Zähne bezogen wurden.

wurde gewählt, um die Bewegungskurven der Zahnspitzen von den verschiedenen Tieren, die sich in ihrer Größe erheblich unterschieden, miteinander vergleichen zu können.

Danach wurde, Bild für Bild, eine der Zahnspitzen per Mausklick markiert und damit die entsprechenden x-y-Koordinaten in eine Wertetabelle überführt. Diese Prozedur wurde für jede der drei Zahnspitzen durchgeführt. Hierfür war es erforderlich, daß das Endoskopbild während der Aufnahme vertikal (Medianzahn senkrecht) ausgerichtet wurde. Wegen der Ausrichtung des Endoskopbildes wurden laterale Bewegungen, wie das Öffnen und Schließen der Lateralzähne, in horizontaler Richtung (x-Achse) dargestellt. Die antero-posteriore Bewegungsrichtung des Medianzahnes führt zu Koordinatenänderungen in Richtung der y-Achse. Die Punkte, die in den einzelnen Bildern markiert wurden und die den jeweiligen Positionen der Zahnspitzen entsprechen, wurden von dem Programm automatisch als x/y-Koordinaten in eine Wertetabelle überführt und als Textdatei gespeichert. Diese Wertetabellen wurden, um die Zahnbewegungen als Funktion über der Zeit darzustellen und um ihren zeitlichen Zusammenhang mit den neuronalen Aktivitätsmustern herzustellen, in Igor Pro<sup>®</sup> (Version 3.01, WaveMetrics, Inc.) importiert. Obwohl die Lateralzähne im Endoskopbild eine zweidimensionale Bewegung durchführen, wurden für die Bewegungskurven von den Lateralzähnen, da in dieser Richtung die Hauptbewegung stattfindet, nur die eindimensionalen x-Komponenten verwendet. Zusammen mit den Bewegungsdaten des Medianzahnes ist dies für die Charakterisierung der Kaumodi ausreichend.

Um zeitgleich aufgenommene Videosequenzen und neuronale Daten auch zeitrichtig darzustellen wurde die Möglichkeit des Sony Camcorders V6000E genutzt, einen Timecode mit auf das Magnetband zu schreiben. Da wie bereits erwähnt die Audiospuren genutzt wurden, um zwei der Nervenableitungen zusammen mit dem Videobild aufzuzeichnen, war es auch nachträglich möglich, eine Synchronisierung vorzunehmen, indem eine kurze markante Sequenz von wenigen Sekunden Dauer auf ein zweites Band kopiert und dabei der Timecode aktiviert wurde. Nach Digitalisierung dieser kurzen Sequenzen konnten diese verwendet werden, um die langen Sequenzen danach auszurichten.

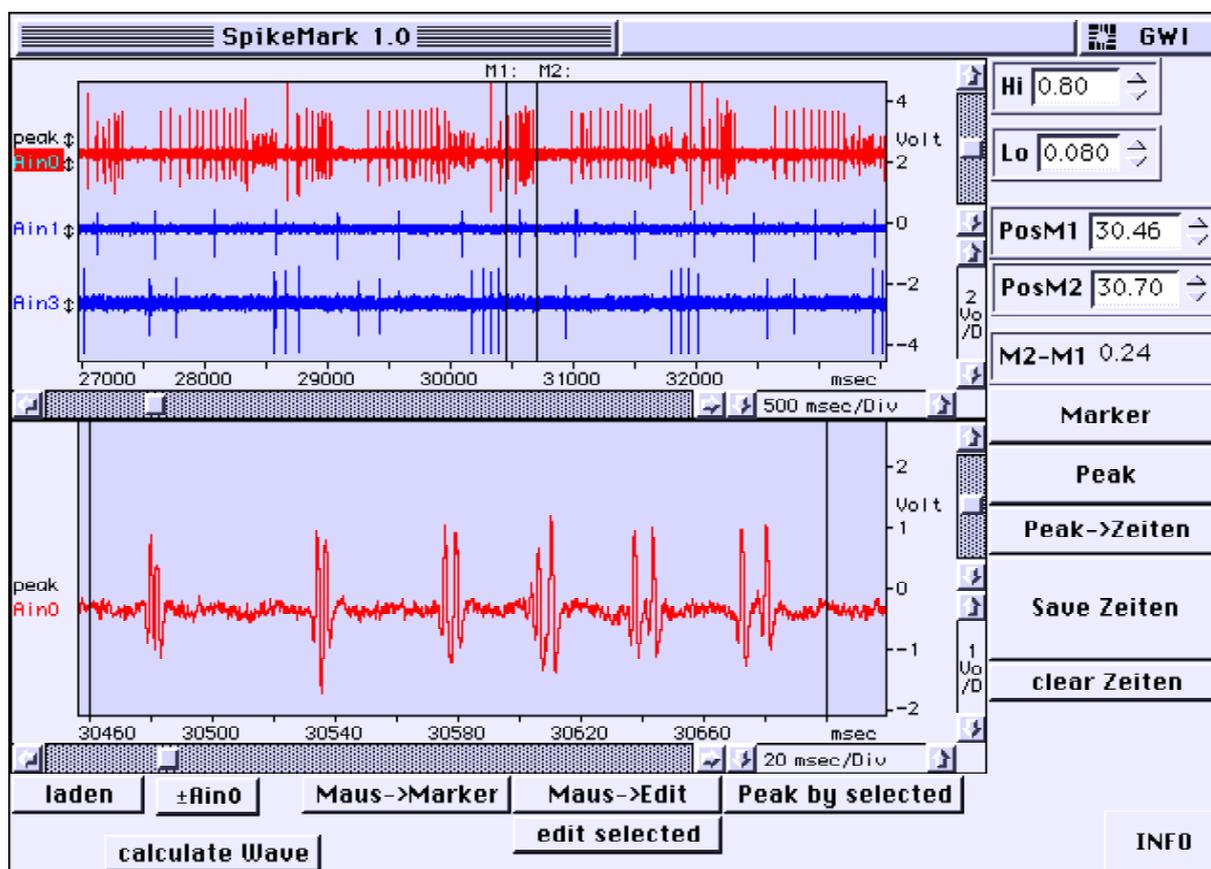
### 2.7.2 Schreiberauswertung

Während der Experimente lief der Schreiber (Gould TA2000) mit einem Papiervorschub von 5mm/s mit und erlaubte dadurch eine rasche Beurteilung der neuronalen Rhythmen und ihrer Veränderungen über längere Zeiträume, als dies mit dem Oszilloskop möglich war. Hauptsächlich diente das Schreiberpapier der Protokollführung während der Experimente und der dazu gehörenden Position des Bandzählwerkes des Magnetbandrecorders. Dadurch war es bei der späteren rechnergestützten Auswertung möglich, gezielt interessante Stellen aufzusuchen.

### 2.7.3 Rechnergestützte Auswertung

Die rechnergestützte Auswertung erfolgte mit Apple Macintosh-Computern (Macintosh II fx, Quadra 840AV, Power PC 8100AV). Die Digitalisierung der analogen, neuronalen Daten erfolgte mit einer 8-Kanal MacADIOS II ADPO Analog/Digital-Wandlerkarte (GW Instruments, Inc.). In allen Fällen wurde eine Sampling-Frequenz von 10 kHz verwendet (10 Meßpunkte pro Millisekunde). Die maximale Dauer der einlesbaren Daten hing dabei von der Größe des in den Rechner eingebauten RAM (Random Access Memory) ab. Nach Ausrüstung des PPC 8100AV mit 112 MB RAM war eine Aufzeichnungsdauer von 4 Kanälen bis über 6 Minuten möglich. Noch längere Stücke konnten digitalisiert werden, wenn die digitalen Daten segmentiert auf der Festplatte gespeichert wurden. Dafür wurden kurze Abschnitte von 3 Sekunden Dauer digitalisiert und gespeichert. Ein Datenpuffer (FIFO) der AD-Wandlerkarte erlaubte es, die Segmente lückenlos hintereinander zu speichern.

Die Analyse der digitalisierten Daten erfolgte mit dem Programm SuperScope® II (GW Instruments, Versionen 1.12 bis 2.30). Mit SuperScope® können Routinen programmiert werden, die Instrumente genannt werden. In dieser Arbeit wurden hauptsächlich *in vivo*-Daten in Form von extrazellulären Nervenableitungen erhoben. Um Aussagen über gegenseitige Wechselbeziehungen machen zu können, ist es erforderlich die verschiedenen Neurone, deren Aktionspotentiale gemeinsam in einem Nerven abgeleitet werden können, nachträglich zu trennen. Vor allem Nerven, die wie der dvn viele Axone vereinigen, deren Einheiten zum Teil auch noch gleichzeitig aktiv sein können, stellen ein großes Problem für die automatische computergestützte



**Abb. 2.7:** Bildschirmansicht des SuperScope® Instruments SpikeMark. Dieses Instrument wurde verwendet, um aus den Nervenableitungen die Zeiten der einzelnen Aktionspotentiale zu ermitteln. Das Beispiel zeigt im oberen Fenster drei parallel aufgezeichnete Nervenableitungen: dvn (Ain0 = analog Input 0), dgn (Ain1) und mvn (Ain3). Das Aktivitätsmuster im oberen Fenster umfaßt vier Perioden eines pylorischen Rhythmus, der in der dvn-Ableitung links mit PD beginnt. Dann folgt eine kurze Pause, nach der zuerst LP und dann die PY-Zellen feuern. Der dgn zeigt nur die tonische AGR-Aktivität, der mvn den biphasischen Rhythmus von IC und VD. Für die Auswertung wurde das obere Fenster als Übersicht verwendet und um die Marker M1 und M2 periodenweise zu verschieben. Das konnte manuell geschehen, mit der Taste: Marker, oder über die Anzeigenelemente: PosM1 und PosM2. Das Segment, das zwischen den beiden Markern aufgespannt ist wurde für die schrittweise Auswertung verwendet, indem das Instrument den Kanal Ain0 nach lokalen Maxima absuchte (Peak detect). Die gefundenen Werte wurden in der Kurve peak dargestellt. Das untere Fenster wurde dann zur Kontrolle verwendet. Mit der Taste: Peak-Zeiten wurden die Werte in ein Journal übertragen, das mit Save Zeiten gesichert werden konnte. Waren die Werte des aktuellen Segmentes übertragen, konnte das nächste bearbeitet werden. Das Beispiel verdeutlicht auch die im Text erwähnten Aktionspotential-Interferenzen: die Marker M1 und M2 flankieren im oberen Fenster einen PD-Burst, der im unteren Fenster zeitgedehnt dargestellt ist. Der PD-Burst wird von zwei Zellen ( $PD_1$ ,  $PD_2$ ) generiert, die wegen ihrer elektrischen Koppelung sehr synchron feuern und sich dadurch zum Teil überlagern.

Auswertung von extrazellulär aufgezeichneten Aktionspotentialen dar. So zeigen die Summenableitungen deutliche Interferenzerscheinungen. Das bedeutet: je nachdem wie die Aktionspotentiale der verschiedenen Neurone an einer Elektrode zusammentreffen, können sich die extrazellulären Potentiale gegenseitig addieren oder auslöschen (siehe Abb. 2.7). Die bisherigen Programme für solche Analysen arbeiten mit sogenannten Templates (NIESSEN 1995; CED Spike2®). Für ein Template wird die Form des zeitlichen Verlaufs von mehreren

Aktionspotentialen eines Neurons gemittelt. Anschließend werden die Aktionspotentiale der Ableitung mit diesem Template verglichen und mit einer einstellbaren Übereinstimmung zugeordnet. Die Unterschiede in der Form ergeben sich, weil die Axone in einem Nerven verschiedene Durchmesser haben. Davon hängen Fortleitungsgeschwindigkeit und räumliche Ausdehnung der Aktionspotentiale an der Axonmembran ab. Deshalb ist es möglich, Aktionspotentiale aufgrund ihrer Amplitude und der Form ihres zeitlichen Verlaufs voneinander zu unterscheiden. Dieses Verfahren eignet sich hervorragend zur Trennung, wenn es sich um eine Ableitung mit guter Qualität (großem Signal/Rausch-Verhältnis) und mit diskreten Aktionspotentialen handelt. Kommt es aber, wie oben erwähnt, zu Interferenzen an der Elektrode, wäre es erforderlich, daß das Programm die Templates variabel kombiniert, um auch summierte Aktionspotentiale voneinander trennen und die einzelnen Aktionspotentiale identifizieren zu können. Dies leisten bisher weder kommerzielle Sortierprogramme (CED Spike2<sup>®</sup>) noch die selbsterstellten SuperScope<sup>®</sup>-Routinen (NIESSEN 1995).

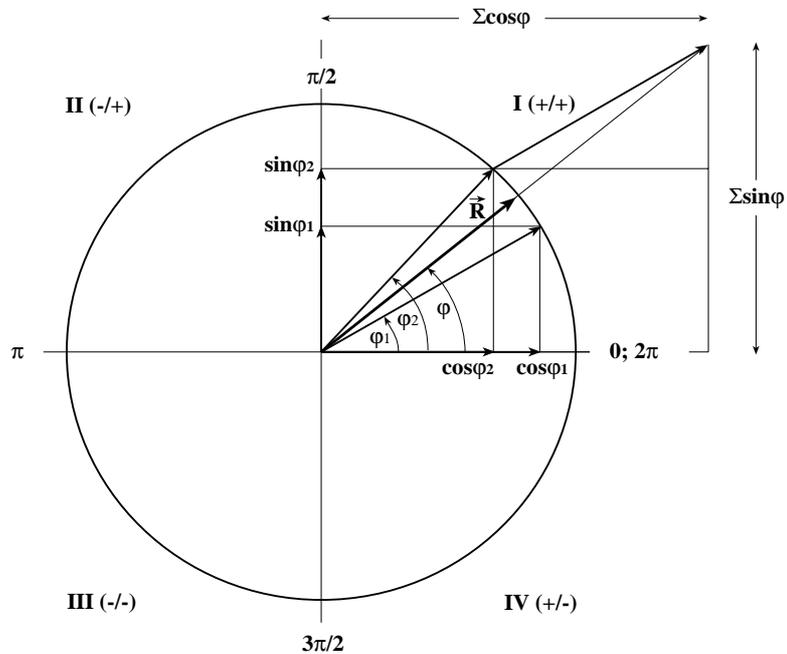
In dieser Arbeit wurden verschiedene Methoden eingesetzt, um die Aktionspotentiale der einzelnen Neurone aus den Summenableitungen herauszufiltern. Im einfachsten Fall, dem mvn, der nur zwei Einheiten (IC und VD) enthält, wurden die Aktionspotentiale anhand ihrer Amplitude getrennt, indem eine Schwelle festgelegt (Peak detect) wurde, die zunächst nur von der größeren Sorte überschritten wurde. Im nächsten Schritt wurde die Schwelle so gelegt, daß beide erkannt wurden, davon wurden die Aktionspotentiale mit der großen Amplitude subtrahiert und es blieben die kleineren übrig. Ähnlich leicht ließen sich meist auch die größten Einheiten wie DG im dgn und LG im dvn identifizieren.

Das komplexe Geschehen der kleineren Aktionspotentiale, die sich nicht so deutlich voneinander unterschieden, bedurfte der manuellen Sortierung. Dazu wurde zusätzlich zur Amplitude und der Form auch noch die Phasenlage der Aktionspotentiale in den entsprechenden Rhythmen mit herangezogen. Die digitalisierten Daten wurden in zwei Fenstern mit zwei verschiedenen zeitlichen Maßstäben (Abb. 2.7) dargestellt, so daß einerseits die einzelnen Aktionspotentiale und auch ihre relative Position innerhalb einer Periode erkennbar wurden.

Von den auf diese Weise identifizierten Aktionspotentialen wurden die Zeiten, die sich zu diesem Zeitpunkt noch als Absolutwerte auf den Startzeitpunkt des digitalisierten Abschnittes bezogen, in Excel (Microsoft) exportiert. Dort wurden, für jedes Neuron getrennt, die einzelnen Zeitpunkte nach Perioden geordnet, in Blöcken zusammengefaßt und auf die einzelnen Perioden normiert.

Weil PD im pylorischen Netzwerk mit der pylorischen Schrittmacherzelle AB elektrisch gekoppelt (SELVERSTON & MOULINS 1985) ist und synchron mit ihr feuert, wurde der Beginn einer pylorischen Periode jeweils mit dem Zeitpunkt des ersten PD-Aktionspotentials in der dvn-Ableitung gleichgesetzt. Analog zum pylorischen Rhythmus wurde der Beginn einer gastrischen Periode mit dem ersten DG-Aktionspotential (dgn) gleichgesetzt, weil in einem startenden gastrischen Rhythmus DG meist als erstes Neuron anfängt zu feuern. LG, obwohl ähnlich markant, wurde nicht gewählt, weil es sehr oft auch während des pylorischen Rhythmus und auch in dessen Takt aktiv ist, ohne daß weitere gastrische Motoneurone feuern, so daß LG-Aktivität, im Gegensatz zu DG, nicht gleichbedeutend mit gastrischer Aktivität ist.

Um ein Maß für die wechselseitige Beeinflussung der beiden Rhythmen zu erhalten, wurde ein Verfahren eingesetzt, mit dem WENDLER (1964) den Kopplungsgrad der Laufbeinbewegungen der Larven vom Soldatenkäfer (*Cantharis fusca*) beschrieben hat. Hier wurde das Verfahren sowohl auf den pylorischen als auch auf den gastrischen Rhythmus angewendet. Wie oben bereits beschrieben, fängt eine pylorische Periode mit dem ersten Aktionspotential von einem PD-Burst an und endet mit dem ersten Aktionspotential vom nächsten PD-Burst. Da die Periodendauer der beiden Netzwerke keine konstante Dauer besitzt, wurden die einzelnen Perioden normiert. Dadurch wird erreicht, daß jede einzelne Periode bei 0 beginnt und bei 1 endet. Durch Multiplikation mit  $2\pi$  kann eine Periode auch als Kreisprozeß beschrieben werden. Im Einheitskreis kann dann jedem Aktionspotential ein Vektor der Länge 1 zugeordnet werden, dessen Winkel  $\varphi_i$  dem Zeitpunkt des Aktionspotentials im Zyklus entspricht (Abb.2.8). Jeder Vektor mit dem Winkel  $\varphi_i$  läßt sich dann in seine Sinus- und Cosinuskomponenten zerlegen. Durch Addition der Sinus- und der Cosinuskomponenten erhält man, nach dem Satz des



**Abb. 2.8:** Einheitskreis. Jedem Zeitpunkt  $i$  einer Periode, die auf 1 normiert wurde kann im Einheitskreis ein Vektor der Länge 1 mit dem Winkel  $\varphi_i$  zugeordnet werden. Mehrere zusammengehörige Zeitpunkte lassen sich vektoriell addieren, durch die Anzahl  $n$  der Zeitpunkte dividiert ergibt sich der mittlere Vektor  $\bar{r}$  mit dem Winkel  $\varphi$ . Die römischen Zahlen geben die Quadranten, dahinter in Klammern die Werte, die die Sinus-/Cosinusfunktion in den Quadranten annimmt.

Pythagoras, einen Summenvektor, der durch die Anzahl  $n$  der Einzelvektoren dividiert die Länge des mittleren Vektors  $\bar{R}$  ergibt:

$$\bar{R} = \frac{1}{n} \sqrt{\left(\sum_{i=1}^n \sin \varphi_i\right)^2 + \left(\sum_{i=1}^n \cos \varphi_i\right)^2} \quad (\text{Gleichung 1})$$

Seine Richtung ist:

$$\bar{\varphi} = \arctan \frac{\sum_{i=1}^n \sin \varphi_i}{\sum_{i=1}^n \cos \varphi_i} \quad (\text{Gleichung 2})$$

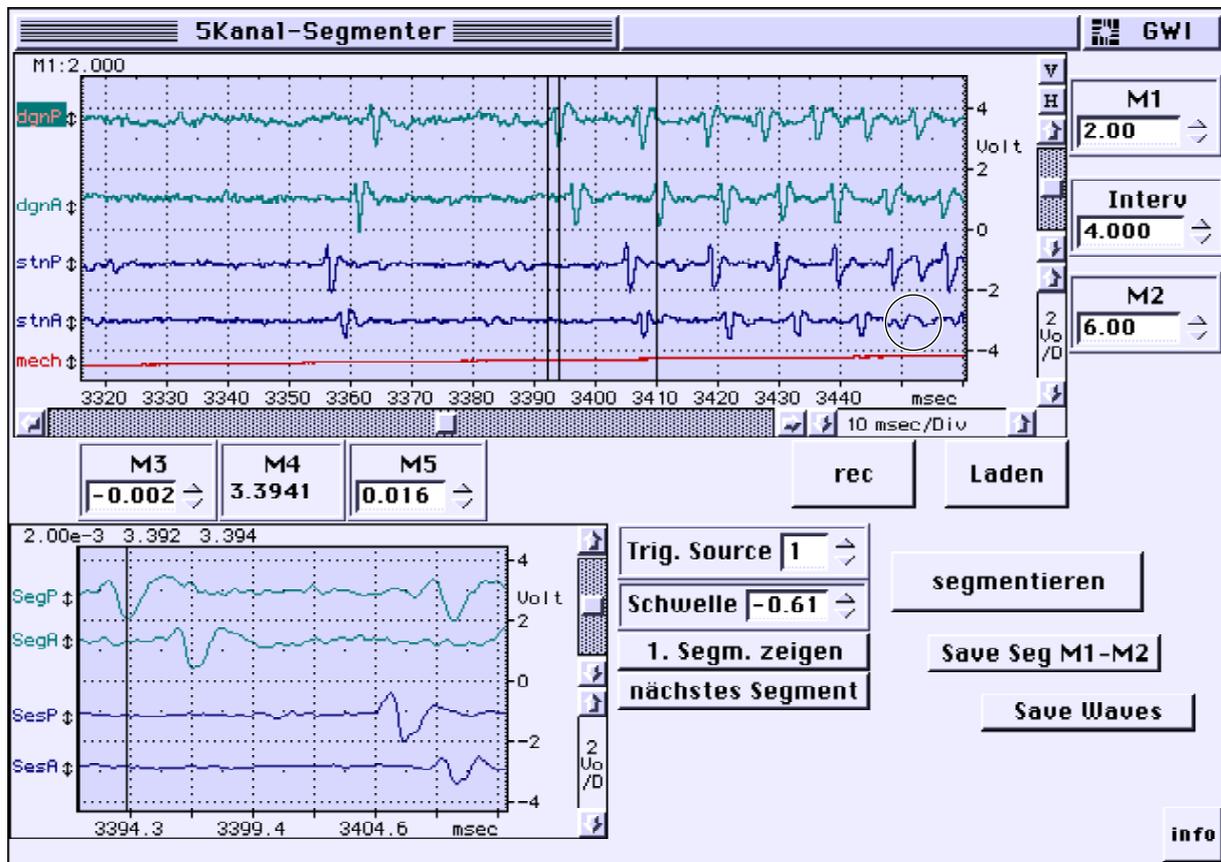
Die Länge des mittleren Vektors  $R$  ist ein Maß für den Kopplungsgrad und kann die Werte zwischen 0 und 1 annehmen; der Wert 0 entspricht keiner Koppelung, während der Wert 1 für eine feste Phasenlage (absolute Koordination, VON HOLST, 1939) steht. Da hier die Aktionspotentiale in Bursts organisiert sind, die sich in Anzahl der Aktionspotentiale und ihrer Dauer unterscheiden und aus jedem Burst ein gemeinsamer mittlerer Vektor gebildet wurde, kann die Länge des mittleren Vektors nicht den Wert 1 annehmen.

Die Tangensfunktion besitzt bei  $\pi/2$  und bei  $3\pi/2$  zwei Stellen, an denen sie unendlich wird, so daß die Umkehrfunktion, der Arcustangens, an diesen Stellen nicht definiert ist. Für die Rekonstruktion des Phasenwinkels (Gleichung 2), mit Werten größer als  $\pi/2$ , wurden die Vorzeichen der Summen der Sinus- und der Cosinuskomponenten berücksichtigt, durch die der Winkel einem der vier Quadranten zugeordnet werden konnte (siehe Abb. 2.8).

Die Zeitpunkte der einzelnen Aktionspotentiale wurden in SuperScope<sup>®</sup> für jedes Neuron getrennt ermittelt und als Textdatei gespeichert. Diese Daten wurden dann in Excel übernommen, dort nach Bursts getrennt und den Perioden von PD oder DG zugeordnet und normiert. Die normierten Werte wurden mit  $2\pi$  multipliziert, um sie auf den Vollkreis zu beziehen. Davon wurden die Sinus- und der Cosinuskomponenten ermittelt und die Länge des mittleren Vektors sowie dessen Winkel berechnet. Die Erstellung der Phasenhistogramme und die Darstellung der normierten Zeitpunkte der Aktionspotentiale erfolgte mit dem Programm Igor Pro<sup>®</sup>.

Die Berechnung der Vektoren erfolgte, um ein Maß für die pylorische Modulation der gastrischen Neurone zu erhalten. Deren Bursts können sich je nach Zelle durchaus über mehrere pylorische Perioden erstrecken. Im Falle des DG-Motoneurons sind deutliche Schwankungen in der Aktionspotentialfolge während eines Bursts zu beobachten, die einen Zusammenhang mit dem pylorischen Rhythmus zeigen. Andererseits erfolgen während eines gastrischen Zyklus mehrere pylorische Perioden, in denen die pylorischen Neurone ihre Burstaktivität verändern. Um diese Variationen zu verdeutlichen, wurden für jedes Neuron getrennt die einzelnen Burstvektorenlängen über der normierten gastrischen Periode aufgetragen.

Um die Fortleitungsrichtung des AGR anschaulich darzustellen, wurde ein Verfahren gewählt, das es erlaubt, aufeinanderfolgende Aktionspotentiale untereinander oder überlagert darzustellen. Hierfür wurden SuperScope®-Instrumente (Abb. 2.9) erstellt, mit denen bis zu fünf parallele Spuren (2 x dgn + 2 x stn + 1 x Stimulus) eingelesen werden konnten. Von den vier Nervenableitungen konnte eine als Triggerquelle ausgewählt werden. Nach Einstellung einer Triggerschwelle plazierte das Instrument einen Marker am nächsten Aktionspotential der ausgewählten Triggerquelle und zwei weitere links und rechts von dem mittleren. Bezogen auf



**Abb. 2.9:** Bildschirmsicht des SuperScope®-Instrumentes: 5Kanal-Segmenter. Dieses Instrument wurde verwendet, um aus einer Ableitspur eine getriggerte Folge von Segmenten zu bilden und zwar für fünf parallel aufgezeichnete Kanäle gleichzeitig und zeitgleich. Eine anschließende Superposition der Segmente, eines Kanals, die dann jeweils nur ein Aktionspotential enthalten, erlaubt die Darstellung der Fortleitungsrichtung, bzw. deren Änderung. Im oberen Fenster sind jeweils zwei Ableitungen vom dgn und je zwei vom stn zu sehen. Die Aktionspotentiale stammen fast alle vom AGR, dessen Axon in beiden Nerven zu finden ist. Im stn ist noch eine weitere Einheit aktiv, so daß es in der stn-Ableitung zu Auslöschungen an der Elektrode kommt (siehe Kreis im oberen Fenster: stnA = anteriore stn-Elektrode). Im oberen Fenster sind drei Marker (M3, M4, M5) zu sehen. Der innere der drei Marker (M4) lokalisiert die Minima der Ableitung, die als Triggerquelle (hier dgnP = posteriore dgn-Elektrode) ausgewählt wurde. Das geschieht entsprechend der eingestellten Schwelle ( $H_i = -0,61$  V); anschließend wird Marker M3 (hier 2 ms) links von M4 positioniert und M5 (hier 16 ms) rechts von M3. Die beiden äußeren Marker sind die Begrenzungen für die Segmente, die aus den vier Ableitungen gebildet werden und gleichzeitig auch die Begrenzungen für das kleine Fenster unten. Nach Speichern der vier Segmente wird das nächste Aktionspotential lokalisiert, das die Triggerkriterien erfüllt. Die Marker M1 und M2 (Kontrollen rechts, oben) dienen als Begrenzung des Bereichs, der segmentiert werden soll.

den mittleren Marker konnten die Abstände der beiden äußeren Marker justiert werden. Das von zwei Markern begrenzte Intervall wird in SuperScope<sup>®</sup> als Segment bezeichnet und ist als solches speicherbar und zwar für alle Spuren parallel. Nachdem die Triggerschwelle so eingerichtet war, daß alle Aktionspotentiale erkannt wurden, konnte die Segmentierung automatisch erfolgen. Um die spätere Darstellung in Igor Pro<sup>®</sup> zu vereinfachen, wurden die Segmente horizontal verschoben, so daß sie alle einen gemeinsam Anfangswert  $t = 0$  s besaßen. In Igor Pro<sup>®</sup> wurden die Segmente der Spur, die zum triggern verwendet wurde, übereinander gelegt (superimposed), während mindestens zwei der anderen Spuren Segment für Segment auch vertikal um einen konstanten Betrag nach unten verschoben wurden. Auf diese Weise entsteht ein Wasserfalldiagramm, mit dem ersten Aktionspotential ganz oben und den darauf folgenden darunter. Der Vorteil dieser Darstellungsweise ist, daß die Latenzen und deren Änderungen zwischen den einzelnen Ableitorten (dgn1, dgn2, stn1, stn2) sehr leicht zu erkennen sind.

#### **2.7.4 Weitere eingesetzte Software**

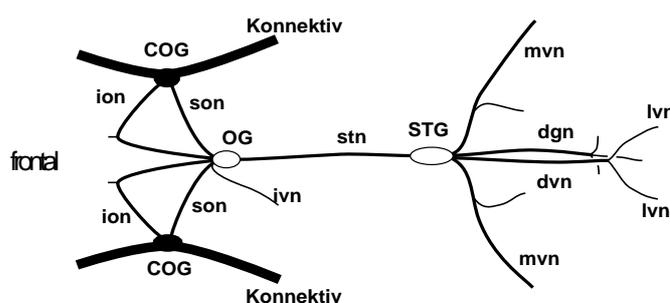
Das Literaturverzeichnis wurde in Microsoft Word 5.1 geschrieben. Die Gleichungen 1 bis 4 wurden mit dem Formel-Editor, einem Zusatzprogramm von Microsoft, erstellt. Die Bildbearbeitung erfolgte mit Adobe<sup>®</sup> Photoshop 4.0. Die Zeichnungen wurden mit Adobe<sup>®</sup> FreeHand 5.5 angefertigt. Die Textgestaltung und das Layout wurden mit Adobe<sup>®</sup> PageMaker 6.0 durchgeführt.

## 3. Ergebnisse

### 3.1 Rhythmen im Tier

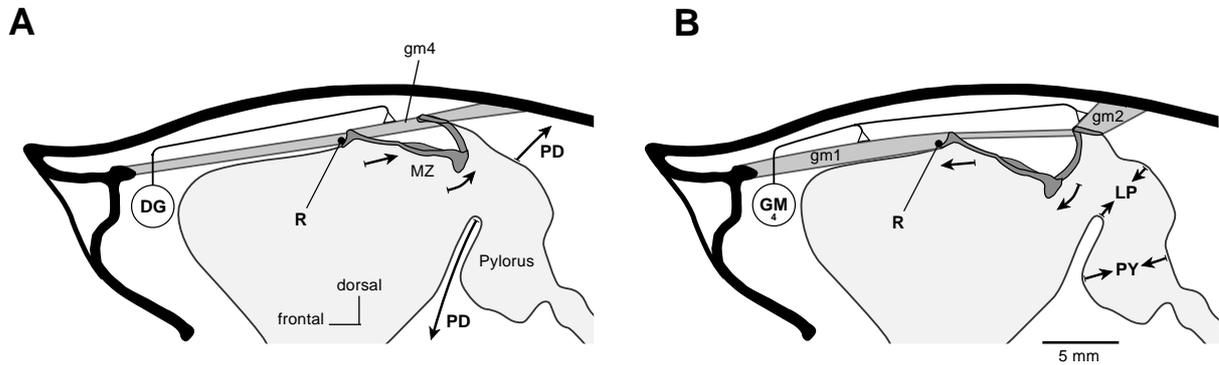
#### 3.1.1 Funktionsmorphologische Voraussetzungen

Die Ergebnisse dieser Arbeit beziehen sich auf Motoneurone, die die Muskulatur der gastrischen Mühle, der cardiopylorischen Rinne und des Pylorus innervieren. Um die neuronalen Ausgangsmuster interpretieren zu können, ist es notwendig, ihre Effektoren und deren Funktion zu kennen. MAYNARD & DANDO (1974) haben viel zu dem heutigen Verständnis über die neuromuskuläre Anatomie des Vorderdarmes der Decapoda beigetragen. Die Taschenkrebse besitzen den typischen Magen der dekapoden Krebse. An den Ösophagus schließt sich der sackförmige Magen an, der hauptsächlich die aufgenommene Nahrung speichert.



**Abb. 3.1:** Schematische Übersicht des STNS von *Cancer pagurus*: Das STG mit seinen motorischen Ausgangsnerven liegt dorsal im Tier; die COG und das OG liegen ventral. Der stn stellt die dorso-ventrale Verbindung her.

Im hinteren ventralen Bereich des Magensackes ist die cardiopylorische Rinne zu finden. Dabei handelt es sich um Einfaltungen beiderseits der Medianlinie, die durch kalzifizierte Strukturen stabilisiert werden. Außerhalb des Magens setzen dort auch die Muskeln an, die für die Bewegungen zuständig sind. Die cardiopylorische Rinne wird durch zwei antagonistische Muskelpaare verbreitert und verengt. Diese Bewegungen und Borstenfelder, die in die Rinne hineinragen, sorgen für eine nach dorsal, caudal gerichtete Strömung des Mageninhaltes. Die Innervierung erfolgt beim Taschenkrebs über die paarweise vorhandenen mvn (Abb. 2.1C und Abb. 3.1).



**Abb.: 3.2:** Die Bewegungen von Medianzahn und Pylorus (modifiziert nach HEINZEL 1988a). Während rhythmischer gastrischer Aktivität alternieren die Aktionspotentialsalven von DG und GM. Daraus resultieren abwechselnde Kontraktionen der durch sie innervierten Muskeln, die den Medianzahn bewegen. In **A** aktiviert DG die intrinsischen gm4-Muskeln, die den Medianzahn in seine Ausgangsposition ziehen. In **B** aktivieren die vier GM-Neurone die extrinsischen gm1- und gm2-Muskeln. Die gm1-Kontraktion zieht den MZ nach frontal. Die Kontraktion der gm2-Muskeln zieht an einer Spange des MZ, im Zusammenhang mit dem Kraftzug durch die gm1-Muskeln schwingt die Medianzahnspitze dadurch in das Magenlumen. Mit R ist die Rezeptorregion des AGR markiert, die sich im Bereich der gm1-Muskelansatzstelle an der Medianzahnbasis befindet.

Die periodische Abfolge der neuronalen Aktivität von PD, LP und PY kennzeichnet den pylorischen Rhythmus. Zuerst erweitern die PD-aktivierten extrinsischen Muskeln den Pylorus (**A**). Dann verengen erst die LP-aktivierten intrinsischen Muskeln den vorderen und anschließend die PY-aktivierten Konstriktoren den hinteren Bereich des Pylorus (**B**).

Dorsal von der cardiopylorischen Rinne, am Magendach, befindet sich mit der gastrischen Mühle die wohl markanteste Struktur des Kaumagens. Die drei Magenähne ragen in das Magenlumen hinein und können durch rhythmische Bewegungen Nahrungsbestandteile zerkleinern. Vom Magenlumen her betrachtet besitzt der Medianzahn eine längliche Gestalt. In der Mitte und an den beiden Seiten befindet sich eine geriffelte Reibfläche, deren caudales Ende eine erhabene Spitze bildet. Der Medianzahn führt dabei eine Vorwärts- und eine Rückwärtsbewegung durch (Abb. 3.2). Während der Vorwärtsbewegung wird die Medianzahnspitze nach unten (ventral) geschwenkt. Für die Bewegungen sind drei Muskelgruppen zuständig. Der Kraftzug des Medianzahnes wird von den gm1-Muskeln durchgeführt. Diese extrinsischen Muskeln setzen rostral am Carapax an und ziehen die Medianzahnbasis, eine flügelartige Struktur der Magenwand (Abb. 2.1C), nach frontal. Gleichzeitig mit den gm1-Muskeln werden die weiter caudal gelegenen gm2-Muskeln aktiviert. Auch bei ihnen handelt es sich um extrinsische Muskeln. Sie setzen am dorsalen Carapax und einer Spange an der Medianzahnspitze an (Abb. 3.2B). Durch ihre gleichzeitige Kontraktion wird der gesamte Medianzahn nach vorne gezogen und die Zahnspitze durch den Hebel der Spange nach unten in das Lumen geschwenkt. Drei relativ kleine, intrinsische Muskelbänder, die gm4-Muskeln, wirken als Antagonisten. Sie setzen

zwischen den gm1- und gm2-Muskeln an und verkürzen den Abstand zwischen der flügelartigen Medianzahnbasis und dem dorsalen Ende der Medianzahnspange. Dadurch wird der Medianzahn wieder nach caudal bewegt und nach oben geschwenkt. Ermöglicht wird dies durch die Anordnung der Muskeln. Die gm1-Muskeln sind parallel zur Bewegungsrichtung des Medianzahnes angeordnet. Die gm2-Muskeln sind dagegen schräg zur Bewegungsrichtung ausgerichtet. Da für die Schwenkbewegung des Medianzahnes nur eine geringe Längenänderung der gm2-Muskeln erforderlich ist, reichen in Kombination mit elastischen Eigenschaften der Magenwand relativ kleine Antagonisten aus, um den Medianzahn in seine Ausgangsposition zurückzubewegen.

Wie der Medianzahn besitzen die Lateralzähne eine geriffelte Oberfläche und an ihren frontalen Ende eine kleine Spitze. Durch einen Hebel- und Gelenkmechanismus werden sie in das Magenlumen hineingeschwenkt, so daß sich die Zahnspitzen oder die Reibflächen in der Mitte treffen. Zusätzlich zu der reinen Schwenkbewegung können die geschlossenen Lateralzähne nach caudal bewegt werden und dabei am Medianzahn entlang reiben. Die gemeinsamen Bewegungen der drei Magenzähne erfolgen so, als würden die Lateralzähne gröbere Partikel des Mageninhaltes ergreifen und am Medianzahn zerquetschen oder zerreiben. Anhand der Reihenfolge, in der sich die drei Zahnspitzen treffen, unterschied HEINZEL (1988) die squeeze-Bewegung, bei der sich die drei Zahnspitzen gleichzeitig treffen, und die cut-and-grind Bewegung: die Lateralzähne schließen sich zuerst und reiben dann am Medianzahn entlang.

Cardiopylorische Rinne und gastrische Mühle befinden sich beide am Übergang vom Magen zum Pylorus, bei den Decapoda der letzte Abschnitt des Vorderdarmes. Funktionell handelt es sich hierbei um eine Filterpresse, in der resorbierbare Nahrungsbestandteile von Unverdaulichem getrennt wird. Die Bewegungen des Pylorus sind bisher noch nicht direkt beobachtet worden. Die aktuelle Vorstellung beruht auf dem neuronalen Aktivitätsmuster der Motoneurone und der anatomischen Anordnung der Muskeln, die den Pylorus bewegen. Danach wird zuerst der vordere Pylorus von extrinsischen Muskeln erweitert, anschließend verengen intrinsische Muskeln den vorderen und dann den hinteren Bereich des Pylorus (Abb.3.2).

Nerv\Zelle	pylorische Zellen	gastrische Zellen	sensorische Zellen
dv <sub>n</sub>	PD, LP, PY	LG, MG	GPR
d <sub>g</sub> n	–	DG, GM	AGR
mv <sub>n</sub>	IC, VD	(GM)	–

**Tabelle 3.1:** Übersicht der Neurone, die in den Ausgangsnerven des STG bei *Cancer pagurus* abgeleitet werden können. Die Axone der GM-Neurone ziehen sowohl durch den d<sub>g</sub>n als auch durch die beiden mv<sub>n</sub>, bis zu den Abzweigungen an den gm1-Muskeln (siehe Abb. 2.1C). Die GPR-Zellen sind wegen ihrer geringen Amplitude im dv<sub>n</sub> kaum auszumachen und nur durch Doppelableitungen aufgrund ihrer afferenten Fortleitungsrichtung eindeutig zu identifizieren.

Die Nerven, die die genannten Regionen innervieren, werden als die Hauptausgangsnerven des stomatogastrischen Ganglions (STG) bezeichnet. Sie sind von dorsal gut zugänglich und besitzen in der Regel eine konstante Lage in den einzelnen Tieren (Abb. 2.1C). Die gleiche Konstanz gilt besonders für die Axone, die in den einzelnen Nerven zu finden sind (Tab. 3.1). Die Größe des Taschenkrebses erlaubt die Implantation von Ableitelektroden an allen Ausgangsnerven des STG und damit die gleichzeitige Aufzeichnung der neuronalen Muster von fast allen pylorischen und gastrischen Motoneuronen. Von den pylorischen Neuronen fehlt nur das AB-Interneuron. Von den gastrischen Neuronen fehlen das Interneuron Int1 und das Motoneuron LPG, das die Lateralzahnöffner innerviert.

	Zelle	Funktion
pylorische Zellen:	PD	Dilatation des vorderen Pylorus
	LP	Konstriktion des vorderen Pylorus
	PY	Konstriktion des hinteren Pylorus
	IC	Verengung der cardiopylorischen Rinne
	VD	Erweiterung der cardiopylorischen Rinne
gastrische Zellen:	DG	Retraktion des Medianzahnes
	GM	Protraktion des Medianzahnes
	LG	Schließen der Lateralzähne
	MG	Schließen der Lateralzähne
sensorische Zellen:	AGR	mißt die Muskelspannung beider gm1-Muskeln an der Medianzahnbasis

**Tabelle 3.2:** Neurone, die beim Taschenkrebs in dv<sub>n</sub>, d<sub>g</sub>n und mv<sub>n</sub> abgeleitet werden können, mit der Funktion der durch sie innervierten Effektoren.

### 3.1.2 Spontane Rhythmen und Fütterung

*In vivo*-Ableitungen von freibeweglichen Taschenkrebsen zeigten, daß der pylorische Rhythmus im dvn permanent gebildet wird. Die Zyklusfrequenz lag bei den einzelnen Tieren zwischen 0,5 Hz und 2 Hz und war meistens konstant. Jedoch konnte der pylorische Rhythmus spontan beschleunigt oder verlangsamt werden, ohne daß äußere Einflüsse erkennbar waren. Ebenso konnten diese spontanen Änderungen kurzfristig auftreten oder auch länger anhalten. Meist waren Änderungen der pylorischen Frequenz mit weiteren Änderungen der neuronalen Netzwerke des STG verbunden oder kündigten sie an.

Die cardiopylorischen Motoneurone IC und VD waren häufig inaktiv, konnten jedoch spontan anfangen, im pylorischen Takt zu feuern. Damit ging meistens eine Beschleunigung des pylorischen Rhythmus einher. Ebenso plötzlich konnten IC und VD wieder aufhören zu feuern.

Außer dem pylorischen Rhythmus ließ sich an den Ausgangsnerven des STG, in über 80% der erfolgreichen Präparationen, der deutlich langsamere gastrische Rhythmus ableiten. Dieser ist in der dgn-Ableitung, die sonst nur die tonischen Aktionspotentiale des AGR zeigt, daran zu erkennen, daß die Aktionspotentialsalven von DG sich mit den Bursts der vier GM-Motoneurone abwechselten. Der AGR konnte dabei unbeeinflusst weiter seine tonischen Aktionspotentiale bilden, wechselte aber oft zu rhythmischer Aktivität, synchron zu GM. Gleichzeitig wurden am dvn gastrische Salven von LG abgeleitet, das in den Burstpauzen weiter einzelne pylorische Aktionspotentiale bildete.

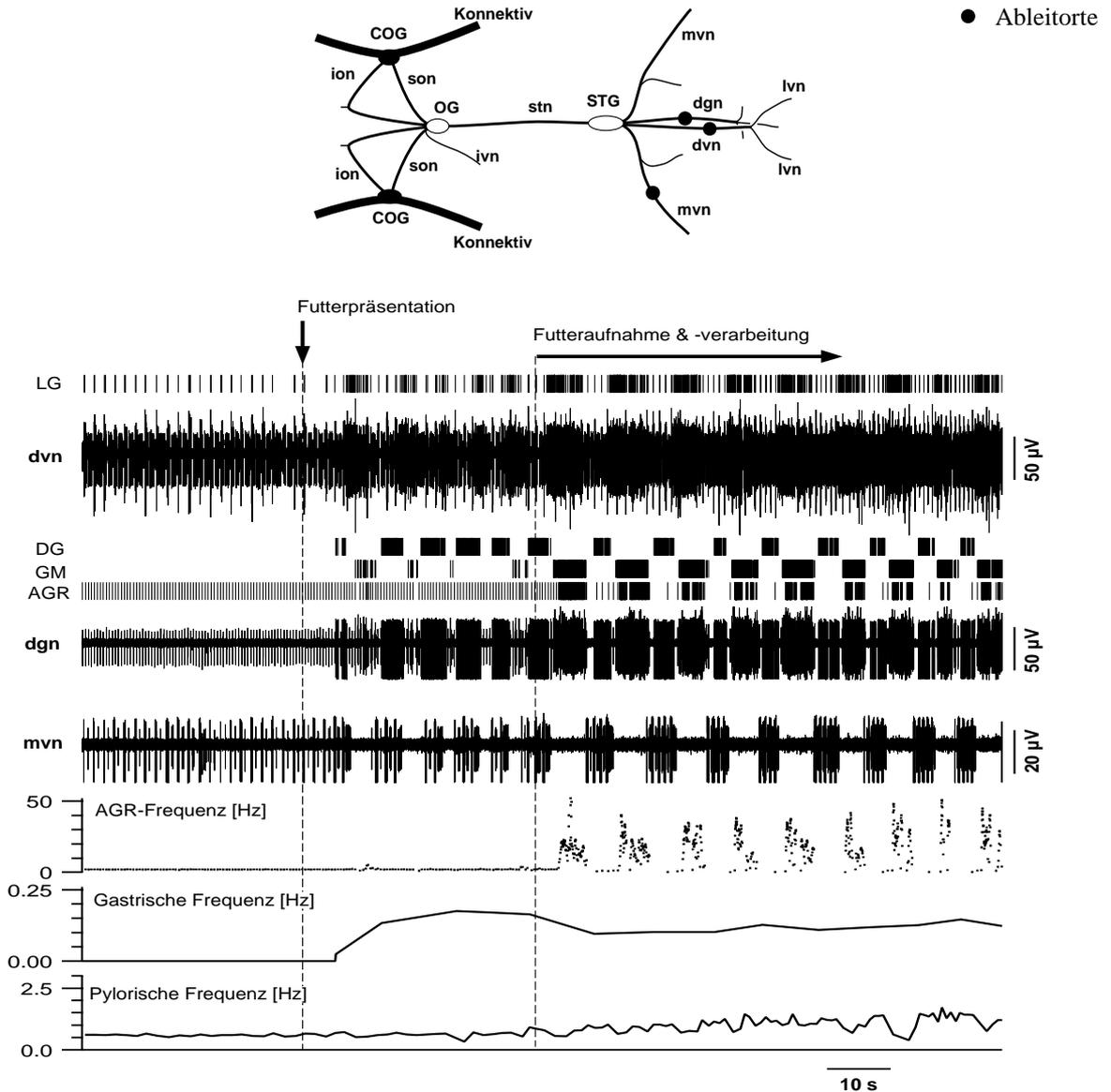
Spontane gastrische Rhythmen begannen häufig ohne erkennbare Ursache. Ihre Aktivitätsdauer reichte von einzelnen Bursts einzelner Zellen bis hin zu regelmäßigen gastrischen Rhythmen, die mehrere Minuten lang andauern konnten. Dabei wurden Periodendauern von 5s bis über 30s erreicht. Spontane gastrische Aktivität startete meistens mit einzelnen DG-Salven im dgn, die dann in eine alternierende Abfolge von DG- und GM-Bursts überging. Gleichzeitig wechselte LG im dvn vom pylorischen Takt zum gastrischen Rhythmus. Parallel dazu änderten die beiden cardiopylorischen Neurone IC und VD ihr pylorisches Muster in einen hybriden gastro-pylorischen Rhythmus. Während der DG-Bursts bildeten IC und VD alternierende Bursts im pylorischen Takt und hörten auf zu feuern, wenn die GM-Neurone ihre Bursts bildeten.

Bei den Tieren, die nach erfolgreicher Elektrodenimplantation Futter annahmen, starteten durch die Fütterung stabile gastrische Rhythmen, die den spontan aufgetretenen glichen. Allerdings wurden Periodendauern von 5s bis 10s (0,2-0,1Hz) nicht wesentlich überschritten und der Rhythmus blieb mehr als zwei Stunden stabil.

Das Plazieren eines Futterbrockens im Aquarium löste ein intensives Suchverhalten aus, sobald olfaktorische Spuren durch die Wasserumwälzung an das Tier herangetragen wurden. In Abb.3.3 sind die Ableitungen von dvn, dgn und mvn während einer solchen Fütterung dargestellt. Bereits während der Suche wurden die ersten Oszillationen der gastrischen Mühle ausgelöst. Diese ersten Zyklen begannen mit einer Folge von DG-Bursts, die lediglich von wenigen GM-Aktionspotentialen unterbrochen wurden. LG, das vorher im pylorischen Rhythmus aktiv war, zeigte in dieser Phase nur kurze gastrische Bursts. Die Motoneurone der cardiopylorischen Rinne, IC und VD, die vorher ebenfalls ihre pylorischen Bursts produzierten, wechselten zu einem hybriden Rhythmus.

Mit Aufnahme der ersten Futterstückchen zeigte der gastrische Rhythmus die typische Reihenfolge des cut-and-grind Modus, bei dem sich erst die Lateralzähne schließen und dann der Medianzahn nach vorne gezogen wird. Außer den bereits beschriebenen Aktivitätsänderungen, die die Motoneurone der gastrischen Mühle und der cardiopylorischen Rinne durchführen, zeigt auch der pylorische Rhythmus eine deutliche Frequenzsteigerung, die in der dvn-Ableitung zu erkennen ist. Sie wird außerdem in der mvn-Ableitung während der pylorischen Bursts von IC und VD deutlich.

Erfolgte die Fütterung während eines schon bestehenden, spontanen gastrischen Rhythmus, wurde dieser meist stark beschleunigt und behielt die oben bereits erwähnte langanhaltende Regelmäßigkeit bei, die augenscheinlich den größten Unterschied zu den spontan auftretenden Rhythmen ausmachte.



**Abb. 3.3: Fütterung:** Ableitung der neuronalen Aktivitäten von dvn, dgn und mvn während einer Fütterung. Der Zeitpunkt der Futterpräsentation (4 g Hummerschwanz) wird durch den vertikalen Pfeil markiert, der horizontale Pfeil gibt den Zeitbereich an, ab der der Taschenkrebs den Futterbrocken zwischen den Kauladen hält und mit den Mandibeln kleinere Stückchen abbeißt, die dann geschluckt werden. Durch die Fütterung wird ein regelmäßiger gastrischer Rhythmus ausgelöst, erkennbar an dem alternierenden Erregungsmuster von DG und GM im dgn. Gleichzeitig wechselt in der dvn-Ableitung LG von pylorischer zu gastrischer Aktivität. Die Zeitpunkte der gastrischen Aktionspotentiale sind durch Marken oberhalb der Ableitungsspuren dargestellt. Unterhalb der Ableitungen sind die Frequenzen von AGR, pylorischem und gastrischem Rhythmus über der Zeit aufgetragen.

### 3.1.3 Die Rhythmen und ihre einzelnen Einheiten

Im folgenden werden Daten von den Aktivitäten der pylorischen und gastrischen Neurone aufgeführt, um deren Phasenlage in den rhythmischen Mustern ihrer Netzwerke aufzuzeigen. Diese Daten stammen von extrazellulären Ableitungen aus 64 *in vivo*-Experimenten, bei denen sich die Tiere im Aquarium frei bewegen konnten.

Die angegebenen Vektordaten wurden beispielhaft aus den Daten eines Tieres ermittelt. Mittelungen über mehrere Tiere führten aufgrund individueller Unterschiede, wie der Anzahl von Aktionspotentialen pro Burst und leicht phasenverschobenen Bursts in einem Rhythmus, im Vergleich zu anderen Tieren zu deutlich verkürzten Vektoren. Die Vektordarstellung wurde aber gewählt, um einen Koppelungsgrad von pylorischem und gastrischem Netzwerk und der Interaktionen untereinander angeben zu können. Dieser kann für jedes Tier etwas unterschiedlich ausfallen, ja sogar in ein und demselben Tier variiert werden (CLEMENS ET AL. 1998a,b).

Die Normierungen erfolgten für den pylorischen Rhythmus auf die Periodendauer von PD, weil diese synchron mit der pylorischen Schrittmacherzelle feuern. Der gastrische Rhythmus wurde auf die Periodendauer von DG normiert. Aus den normierten Zeiten der einzelnen Aktionspotentiale wurde für jedes Neuron ein mittlerer Vektor gebildet. Die Länge  $R$  dieses mittleren Vektors stellt ein Maß für den Koppelungsgrad an den Bezugsrhythmus dar. Die Richtung  $\varphi$  zeigt an, in welcher Phase die Koppelung erfolgt. Die Vektorlänge ist unabhängig davon, ob sich die Koppelung durch zeitlich begrenzte Erhöhung oder Reduzierung der Aktionspotentialfrequenz ergibt.

#### 3.1.3.1 Der pylorische Rhythmus

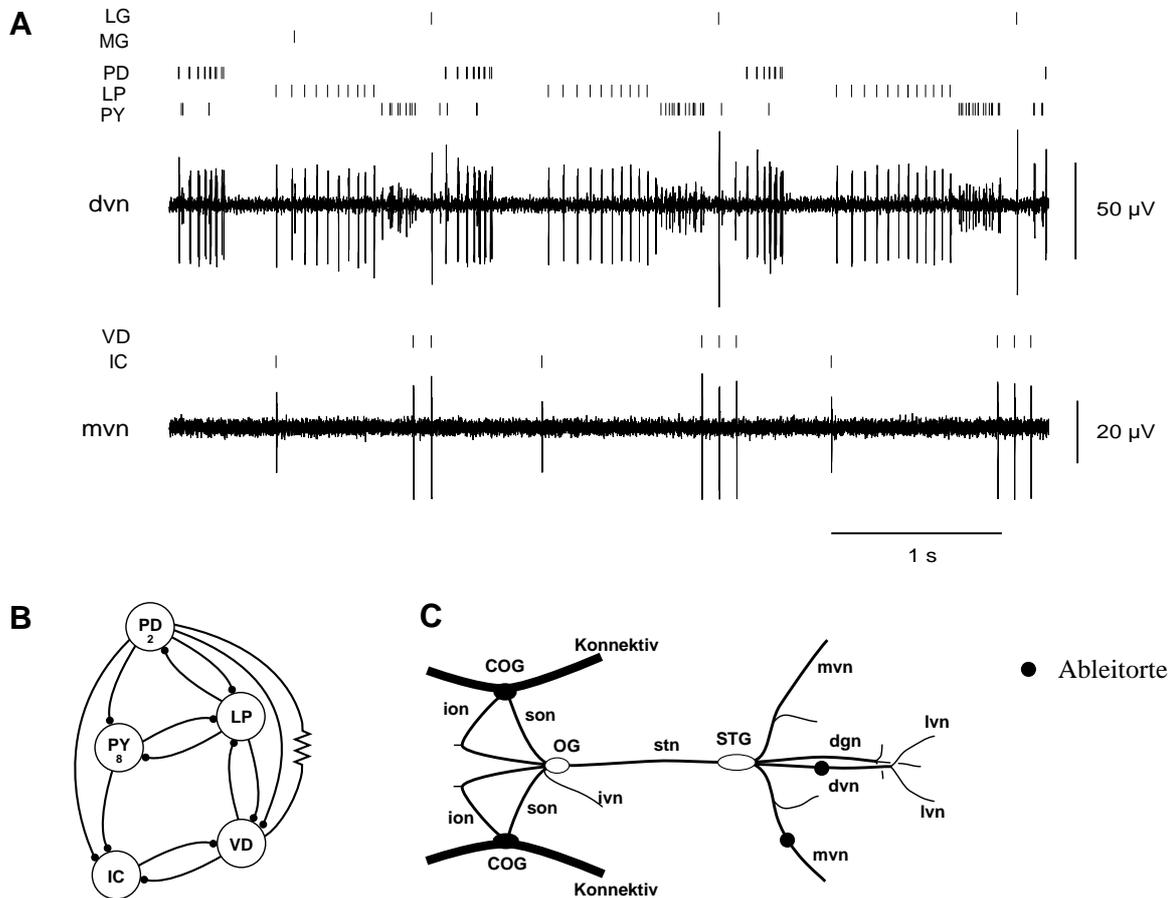
Der pylorische Rhythmus entsteht aus der periodischen Abfolge neuronaler Aktionspotentialsalven. Generiert wird er von Motoneuronen im STG, deren Axone über den dvn die Muskulatur des Pylorus innervieren (Tab. 3.2). Der primäre Schrittmacher ist das AB-Interneuron; es besitzt die intrinsische Eigenschaft zu oszillieren. Ohne äußere Einflüsse feuert AB Aktionspotentialsalven und beendet diese auch von alleine wieder. Die beiden PD-Zellen sind über elektrische Synapsen an die AB-Aktivitäten angekoppelt. Durch synaptische Inhibition

hindern sie die anderen Zellen im pylorischen Netzwerk daran, selbst aktiv zu werden. Erst wenn AB/PD von alleine aufhören, wird zuerst LP aktiv und bildet seinen Burst. Anschließend feuern die acht PY-Neurone gemeinsam ihre Salven.

Im dvn lassen sich die Aktionspotentiale der Neurone gut voneinander unterscheiden, da eine charakteristische Reihenfolge eingehalten wird: PD, kurze Pause, LP und PY (Abb. 3.4). Zusätzlich führen Lage und Durchmesser der Axone im Nerven dazu, daß sich die Aktionspotentiale der einzelnen Zellen hinsichtlich ihrer Amplitude unterscheiden.

Die PD-Zellen sind ein Zellpaar, das sowohl mit dem pylorischen Schrittmacher als auch untereinander über elektrische Synapsen gekoppelt ist. Ein PD-Burst wird daher von zwei Zellen gebildet. Da die beiden Zellen nie ganz synchron feuern, kommt es an den dvn-Ableitelektroden auch zu Interferenzen der Aktionspotentiale (Abb. 3.5). *In vivo* sind die ersten Aktionspotentiale eines Bursts beider PD-Zellen in der Regel zeitlich so dicht zusammen, daß sich die elektrischen Signalamplituden addieren. Die folgenden Aktionspotentiale trennen sich bis zum Ende des Bursts immer weiter voneinander und sind schließlich als einzelne Aktionspotentiale zu erkennen (Abb. 3.5). Häufig feuert eine der beiden Zellen ein bis zwei Aktionspotentiale mehr pro Burst als die andere. Für die Erstellung der Phasenhistogramme und die Bestimmung des mittleren Vektors wurden die Aktionspotentiale beider PD-Zellen zusammengefaßt, so als würde es sich um eine Zelle handeln. Summierte Aktionspotentiale wurden dabei wie ein einzelnes behandelt und zeitlich getrennte als einzelne Aktionspotentiale. Die Amplitude der extrazellulär abgeleiteten PD-Aktionspotentiale lag zwischen  $60 \mu\text{V}$  und  $110 \mu\text{V}$ . Der mittlere pylorische Vektor von PD besitzt die Länge  $R_{\text{PD}} = 0,96$  und weist in Richtung  $\phi_{\text{PD}} = 0,09$ , bezogen auf die normierte pylorische Periode.

LP ist das erste pylorische Motoneuron, das sich nach dem Wegfall der Hemmung durch AB/PD erholt und anfängt, seinen Burst zu feuern. LP ist eine einzelne Zelle, die im pylorischen Rhythmus alleine feuert. Es handelt sich dabei um einen relativ langen Burst, bezogen auf die Periodendauer, der sich aus einzelnen diskreten Aktionspotentialen mit relativ niedriger Frequenz zusammensetzt (Abb. 3.4) und deshalb sehr gleichmäßig aussieht. Die Amplitude der extrazellulär abgeleiteten LP-Aktionspotentiale lag zwischen  $40 \mu\text{V}$  und  $110 \mu\text{V}$ . Der mittlere Vektor mit der Länge

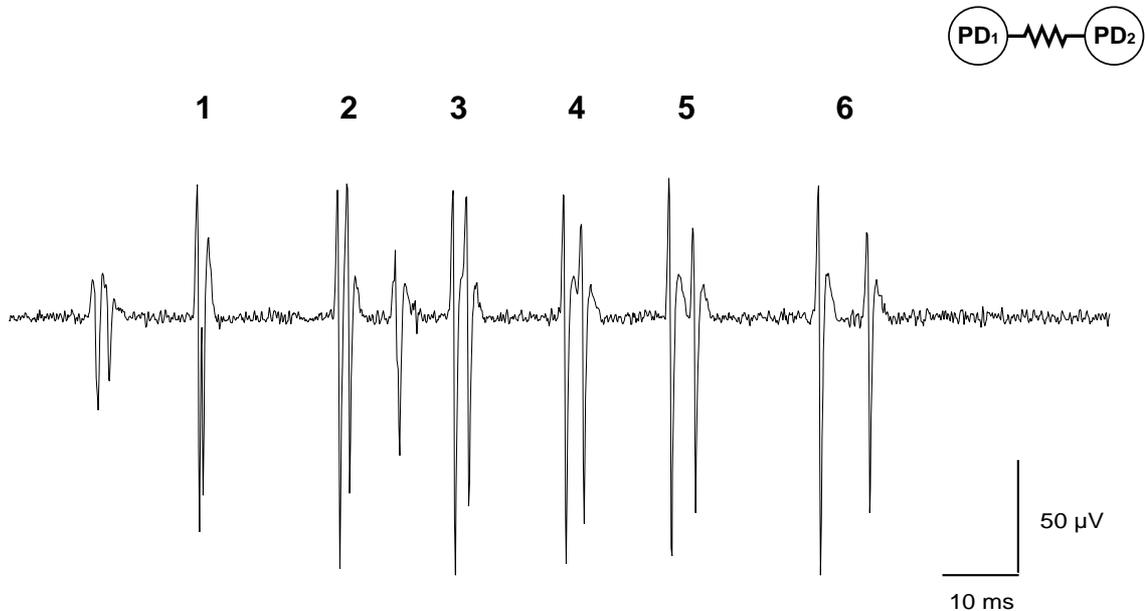


**Abb. 3.4: Pylorischer Rhythmus.**

**A** *In vivo* ist beim Taschenkrebs permanent ein triphasischer Rhythmus aktiv, der von Motoneuronen generiert wird, die die Muskeln der pylorischen Kammer innervieren. Es lassen sich im dvn drei verschiedene Aktionspotentialgruppen unterscheiden, die eine feste Reihenfolge besitzen: PD, kurze Pause, LP und PY. Dieser Rhythmus ist bei allen Tieren wiederzufinden. Die Ableitung des mvn zeigt die alternierende Aktivität der Motoneurone, die die cardiopylorische Rinne innervieren. Das IC-Motoneuron innerviert die Muskeln, die für die Verengung zuständig sind, VD aktiviert die Antagonisten. Beide besitzen eine feste Phasenlage im pylorischen Rhythmus: IC immer am Anfang von LP und VD immer gleichzeitig mit PY. Im Gegensatz zu den Motoneuronen des Pylorus gibt es Zeiten, in denen IC und/oder VD inaktiv sind. In der dvn-Ableitung sind auch noch die Aktionspotentiale von zwei gastrischen Zellen identifizierbar, die beide Muskeln innervieren, die die Lateralzähne schließen. Diese beiden Zellen zeigen ebenfalls eine feste Phasenbeziehung zum pylorischen Rhythmus: LG bildet seine Aktionspotentiale kurz vor oder zeitgleich mit dem PD-Neuron und MG ist, wenn pylorisch aktiv, immer im LP-Burst zu finden. Die kleinen Striche oberhalb der Ableitungen markieren die Zeitpunkte der Aktionspotentiale, getrennt für die einzelnen Neurone.

**B** Pylorisches Netzwerk (mod. nach HEINZEL ET AL. 1993b): Inhibitorische Synapsen sind durch kleine schwarze Kreise, elektrische Synapsen durch das Widerstandssymbol gekennzeichnet.

**C** Das Schema des STNS veranschaulicht die Positionen der Ableitelektroden.

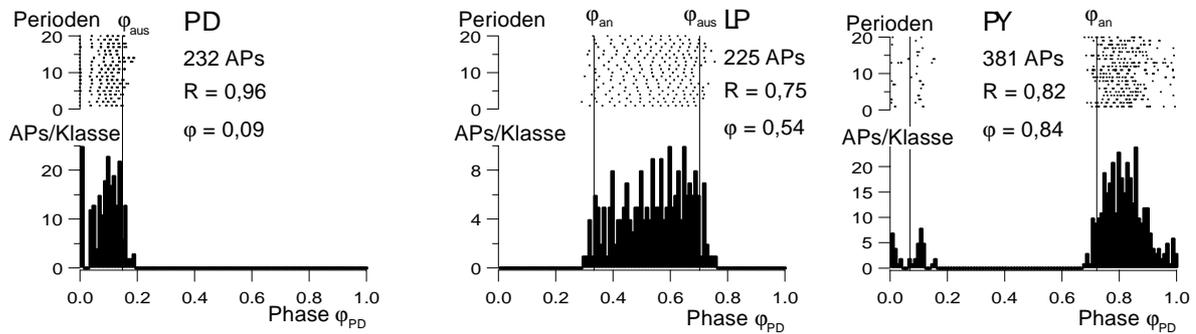


**Abb. 3.5:** Ein PD-Burst mit je 6 Aktionspotentialen beider PD-Zellen. Aufgrund ihrer elektrischen Kopplung fangen beide Zellen am Anfang des Bursts synchron an zu feuern. Zum Burstende hin vergrößert sich der zeitliche Abstand zwischen den Aktionspotentialen der beiden Zellen; hier sehr schön zu erkennen, da die folgende PD<sub>2</sub>-Zelle ein etwa 50 μV kleineres Signal (Spitze-Spitze) liefert, als die führende PD<sub>1</sub>-Zelle. Häufig unterscheiden sich beide PD-Zellen auch in der Anzahl ihrer Aktionspotentiale. Weiterhin sind hier Signalinterferenzen zwischen den ersten vier Aktionspotentialpaaren zu erkennen, die bei der extrazellulären multiaxonalen Summenableitung auftreten. Die kleineren Aktionspotentiale vor dem ersten und zwischen zweitem und drittem PD-Aktionspotential stammen von PY-Zellen.

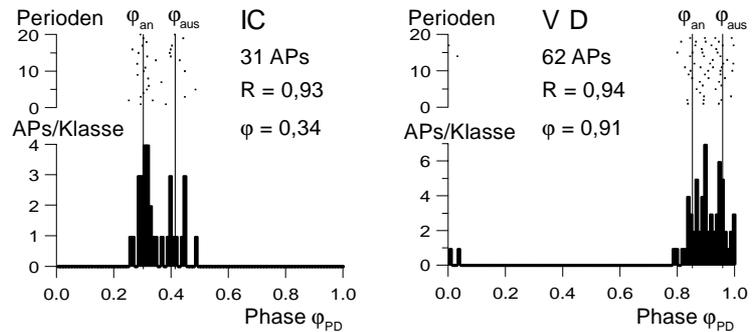
$R_{LP}=0,75$  in der Phase  $\varphi_{PD}=0,54$  ist Ausdruck für den ausgedehnten Burst mit relativ wenigen Aktionspotentialen (Abb. 3.6).

Die PY-Zellen sind im triphasischen pylorischen Rhythmus die Zellen, die sich als letzte von der Hemmung durch AB/PD erholen. Ihr Burst beginnt meist schon, während LP noch feuert und endet oft erst, während AB/PD den nächsten Zyklus bereits begonnen haben (Abb. 3.4, Abb. 3.5 und Abb. 3.6). Da es sich bei PY um acht verschiedene Zellen handelt, die sich auch in ihrer Aktivität unterscheiden, sind die extrazellulär abgeleiteten Bursts durch eine hohe Dichte von Aktionspotentialen gekennzeichnet. Zusätzlich unterscheiden sich die einzelnen Axondurchmesser im dvn, die an den Ableitelektroden unterschiedliche Signalamplituden liefern (Abb. 3.5). Die hohe Dichte der Aktionspotentiale schlägt sich auch in der Vektorlänge  $R_{PY}=0,82$  in der Phase  $\varphi_{PD}=0,84$  nieder .

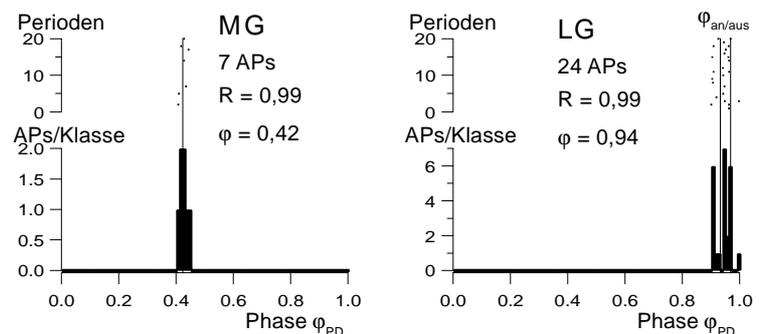
## A Pylorische Motoneurone



## B Motoneurone der Cardiopylorischen Rinne



## C Gastrische Motoneurone, die im pylorischen Rhythmus feuern



**Abb. 3.6: Phasenhistogramme des pylorischen Rhythmus:** Während eines rein pylorischen Rhythmus besitzen die aktiven Motoneurone feste Phasenbeziehungen zueinander. Die hier dargestellten Histogramme zeigen die Phasenlage der neuronalen Aktivitäten über der normierten Periodendauer von PD. Die Perioden wurden in 100 Klassen unterteilt, in denen die normierten Zeitpunkte der Aktionspotentiale aufsummiert wurden. Über den Histogrammen befinden sich Spuren mit den normierten Zeitpunkten der einzelnen Aktionspotentiale von 20 aufeinanderfolgenden pylorischen Perioden. Die normierten Zeitpunkte der Aktionspotentiale wurden außerdem zu einem Vektor zusammengefaßt; die Länge  $R$  ist ein Maß für den Kopplungsgrad mit dem pylorischen Rhythmus und der Phasenwinkel  $\phi$  gibt die Phase an, in die der Vektor zeigt. Mit den vertikalen Strichen für  $\phi_{an}$  und  $\phi_{aus}$  werden die Phasenmittelwerte von Burstanfang und -ende angezeigt, deren Werte in Tab. 3.3 wiedergegeben sind.

**A** faßt die Motoneurone zusammen, die die Muskeln des Pylorus innervieren. Im Taschenkrebs sind diese Zellen immer aktiv und bilden ihr charakteristisches Muster: PD - kurze Pause - LP - PY, das auch in den Histogrammen wiederzufinden ist.

**B** stellt die Motoneurone der cardiopylorischen Rinne dar. Im Gegensatz zu den pylorischen Neuronen gibt es bei IC und VD immer wieder Zeiten, in denen eine oder beide Zellen keine Aktionspotentiale bilden. Wenn sie aber aktiv sind, dann besitzen beide eine feste Phasenlage im pylorischen Rhythmus, die sich auch in den Vektorlängen widerspiegelt.

In **C** sind zwei gastrische Motoneurone abgebildet, die häufig im pylorischen Takt auch ohne Beteiligung anderer gastrischer Zellen ihre Aktionspotentiale ausbilden. Auch hier zeigen Histogramme und Vektorlängen, daß feste Phasenlagen eingehalten werden. MG bildet im pylorischen Rhythmus meist nur ein einzelnes Aktionspotential, der vertikale Strich weist hier in Richtung des Vektors  $R_{MG}$ .

Außer den drei bisher genannten Zellen sind die beiden cardiopylorischen Motoneurone IC und VD mit in das pylorische Netzwerk eingebunden (Abb. 3.4: mvn-Ableitung). Bezogen auf den pylorischen Zyklus, der mit PD beginnt, ist IC das frühere der beiden und feuert seine Aktionspotentiale synchron mit LP. Im pylorischen Rhythmus sind das oft nur ein bis zwei Aktionspotentiale pro Burst, die eine sehr konstante Phasenlage im pylorischen Rhythmus einnehmen. Die mittlere pylorische Vektorlänge beträgt  $R_{IC}=0,93$  in der Phase  $\phi_{PD}=0,34$ . Mit einer Amplitude von  $20 \mu\text{V}$  bis  $60 \mu\text{V}$  sind die Aktionspotentiale im mvn meistens kleiner als die von VD.

VD feuert seinen pylorischen Burst mit zwei bis drei Aktionspotentialen am Ende des pylorischen Zyklus, während die PY-Zellen aktiv sind. Verglichen mit IC haben die VD-Aktionspotentiale eine etwas höhere Intraburst-Frequenz, die sich durch eine Vektorlänge von  $R_{VD}=0,94$  in der Phase  $\phi_{PD}=0,91$  ausdrückt. Ihre Amplitude liegt meistens zwischen  $30 \mu\text{V}$  und  $80 \mu\text{V}$ .

In den dvn-Ableitungen lassen sich oft auch zwei gastrische Motoneurone identifizieren, die ihre Aktionspotentiale in bestimmten Phasen des pylorischen Rhythmus ausbilden (Abb.3.4). Es handelt sich dabei um die Motoneurone LG und MG, die beide Schließermuskeln der Lateralzähne innervieren.

LG ist deutlich häufiger als MG im pylorischen Rhythmus aktiv. Die ein bis drei Aktionspotentiale, die LG pro Periode feuert, bilden einen sehr langen mittleren Vektor mit  $R_{LG}=0,99$ . Die Phasenlage  $\phi_{PD}=0,94$  zeigt, daß LG seine Aktionspotentiale am Ende des pylorischen Zyklus, kurz vor PD feuert. Mit einer Amplitude von  $80 \mu\text{V}$  bis über  $200 \mu\text{V}$  sind die LG-Aktionspotentiale in den meisten dvn-Ableitungen mit Abstand die größten neuronalen Signale.

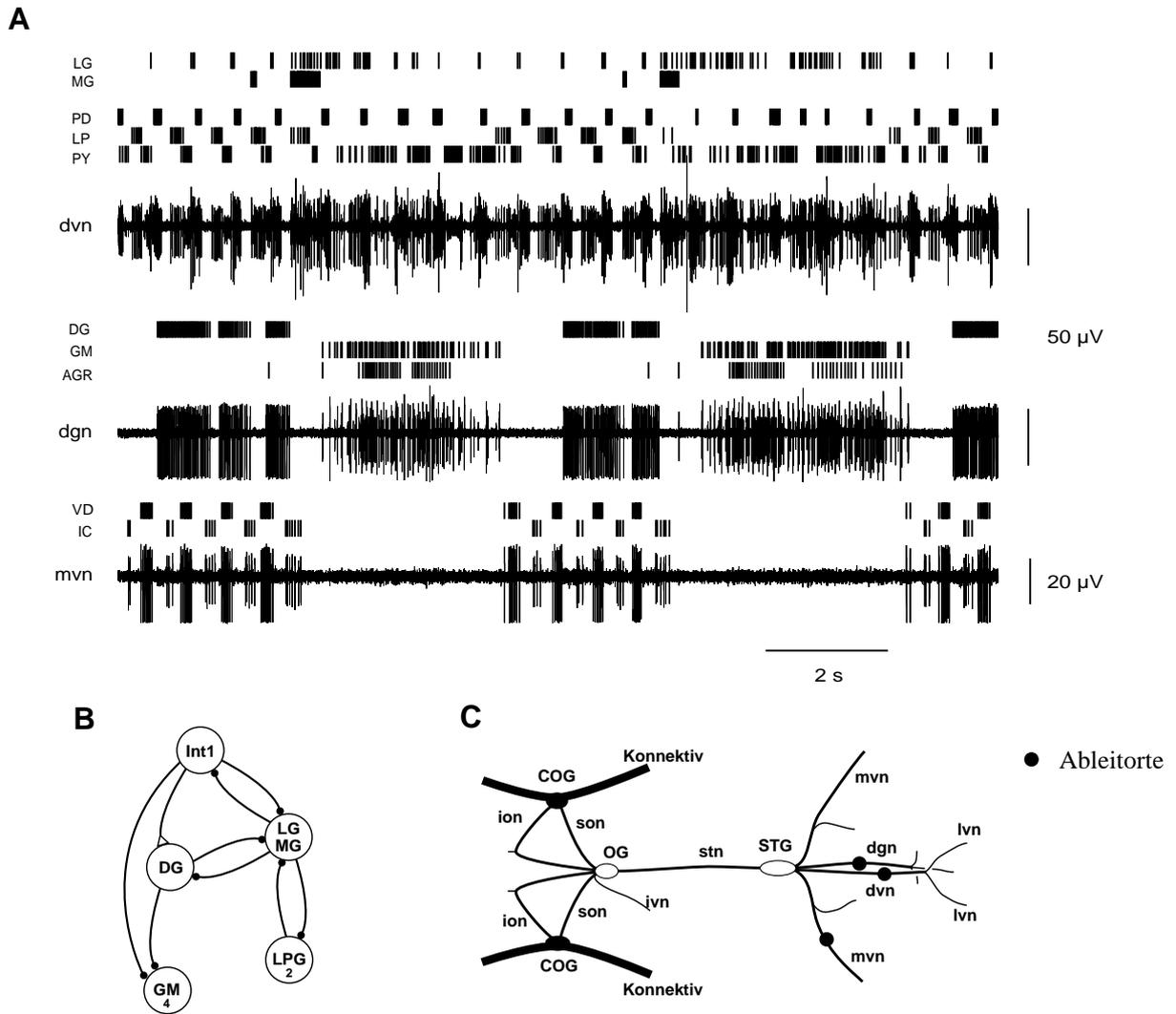
MG ist wesentlich seltener im pylorischen Rhythmus aktiv als LG. Es existieren immer wieder pylorische Zyklen, in denen MG nicht feuert. Wenn MG jedoch seine ein bis zwei pylorischen Aktionspotentiale bildet, dann sind sie immer im ersten Drittel des LP-Bursts zu finden (Abb. 3.4). Diese feste Phasenlage ergibt einen mittleren Vektor mit der Länge  $R_{MG}=0,99$  in der Phase  $\phi_{PD}=0,42$  (Abb. 3.6). Mit einer Amplitude von  $20 \mu\text{V}$  bis  $50 \mu\text{V}$  sind die MG-Aktionspotentiale meist nur halb so groß wie die von LP und daher gut von diesen zu unterscheiden.

Zelle	Vektorlänge R	Phase $\varphi_{PD}$	Burstanfang $\varphi_{an}$	Burstende $\varphi_{aus}$
<b>Pylorisches Netzwerk:</b>				
PD	0,96	0,09	–	$0,148 \pm 0,019$
LP	0,75	0,54	$0,344 \pm 0,021$	$0,702 \pm 0,027$
PY	0,82	0,84	$0,722 \pm 0,028$	$1,070 \pm 0,073$
IC	0,93	0,34	$0,304 \pm 0,025$	$0,415 \pm 0,039$
VD	0,94	0,91	$0,853 \pm 0,033$	$0,959 \pm 0,024$
<b>Gastrisches Netzwerk:</b>				
LG	0,99	0,94	$0,932 \pm 0,022$	$0,969 \pm 0,014$
MG	0,997	0,42	$0,424 \pm 0,013$	–
AGR	0,014	0,14	–	–

**Tabelle 3.3:** Mittlere pylorische Vektoren des pylorischen Netzwerkes und von zwei gastrischen Neuronen, die während eines rein pylorischen Rhythmus aktiv sein können. Im rechten Teil der Tabelle sind die Phasenmittelwerte von Burstanfang  $\varphi_{an}$  und Burstende  $\varphi_{aus}$  mit ihren Standardabweichungen im pylorischen Rhythmus bezogen auf die Periodendauer von PD angegeben. Ohne gastrische Aktivitäten bildet der AGR tonische Aktionspotentiale, die keinen Bezug zum pylorischen Rhythmus aufweisen.

### 3.1.3.2 Der gastrische Rhythmus

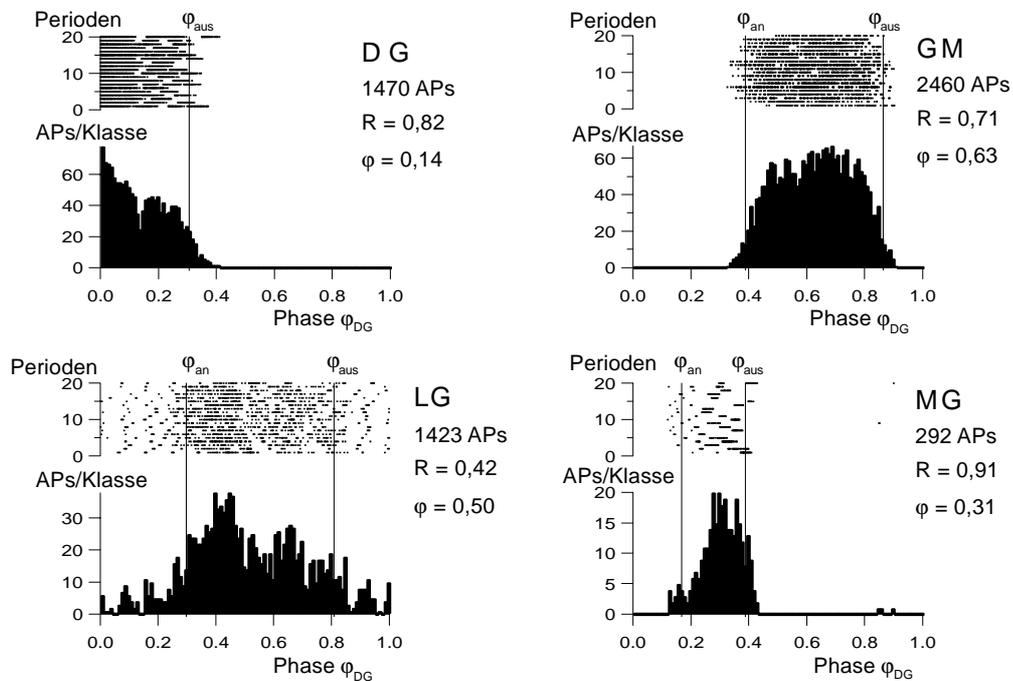
Die Ableitungen von dvn, dgn und mvn in freibeweglichen Tieren zeigten, daß das gastrische Netzwerk sowohl spontan Rhythmen produziert als auch olfaktorisch durch Anwesenheit von Futter im Aquarium dazu angeregt werden konnte. Die stabilsten gastrischen Rhythmen wurden jedoch durch Fütterungen ausgelöst. Diese zeigten eine generelle Reihenfolge, die in der dgn-Ableitung durch abwechselnde Bursts von DG und den GM-Neuronen gekennzeichnet ist (Abb.3.7). Gleichzeitig bildeten in der dvn-Ableitung LG und MG Aktionspotentiale im pylorischen Rhythmus und Bursts im gastrischen Rhythmus. Die Phasenlage der pylorischen Aktionspotentiale von LG lagen auch hier kurz vor den PD-Bursts und die von MG während der LP-Bursts. Zwischen den gastrischen Bursts kehrte LG jedesmal zum pylorischen Rhythmus zurück, während der pylorische Rhythmus von MG auf ein bis drei pylorische Perioden vor dem gastrischen Burst beschränkt blieb. Die gastrischen Bursts von LG/MG begannen mit oder kurz vor dem Burstende von DG. MG bildete dabei vergleichsweise kurze Bursts, LG dagegen langandauernde, unregelmäßig wirkende Salven, die zeitlich mit den GM-Bursts im dgn weit überlappen. Diese Reihenfolge der neuronalen Aktivitäten entspricht dem cut-and-grind Muster, das HEINZEL (1988) anhand von Videoanalysen einem Bewegungsmuster der gastrischen Mühle der Languste zugeordnet hatte (Abb. 3.8).



**Abb. 3.7: A Zwei gastrische Perioden:** Die beiden Perioden wurden hier zeitlich soweit gedehnt, daß von den meisten Neuronen in dvn, dgn und mvn die einzelnen Aktionspotentiale sichtbar sind, aber auch pylorische und gastrische Zyklen erkennbar werden. Oberhalb der Originalregistrierungen helfen Marken, die Zeitpunkte der nach Neuronen sortierten Aktionspotentiale zu identifizieren. Der gastrische Rhythmus besteht aus dem Alternieren von DG und GM im dgn und den gastrischen Bursts von LG/MG im dvn, die eine feste Phasenlage zu den erstgenannten besitzen. Im Gegensatz zu DG/GM sind LG/MG zwischen ihren gastrischen Bursts mit pylorischen Aktionspotentialen vertreten. Verschiedene pylorische Neurone zeigen Veränderungen ihrer Aktivitätsmuster im gastrischen Zyklus. So pausiert LP während der LG-Bursts und die PY-Neurone dehnen ihre Burstdauer aus. Im mvn bilden IC und VD einen hybriden Rhythmus: Ein pylorisches Alternieren während des DG-Bursts, gefolgt von einer gemeinsamen Aktivitätsunterbrechung während der antagonistischen GM-Salve. Die AGR-Marken über der dgn-Ableitung sind das Erregungsmuster einer Sinneszelle. Ihre Unterscheidung von den GM-Aktionspotentialen erfolgte anhand einer zweiten dgn-Elektrode (hier nicht dargestellt) aufgrund der entgegengesetzten, sensorischen Fortleitungsrichtung.

**B** Gastrisches Netzwerk (mod. nach HEINZEL ET AL 1993b): Inhibitorische Synapsen sind durch kleine schwarze Kreise, exzitatorische Synapsen durch kleine ungefüllte Dreiecke gekennzeichnet.

**C** Schema des STNS mit den Positionen der Ableitelektroden.



**Abb. 3.8: Sequentielle Phasendiagramme und -histogramme der gastrischen Motoneurone.** Für diese Abbildung wurden die Aktionspotentiale der gastrischen Einheiten, die beim Taschenkrebs in den stomatogastrischen Hauptausgangsnerven abzuleiten sind, auf die Periodendauer von DG normiert. Mit  $\varphi_{an}$  und  $\varphi_{aus}$  werden die Phasenmittelwertevon Burstanfang und -ende aus Tab. 3.4 dargestellt. Hier wird deutlich, daß DG und GM sich hinsichtlich ihrer Aktivität nicht überlappen, sondern abwechselnd feuern. MG und LG sind beide mit ihren pylorischen Aktionspotentialen dargestellt. MG ist im gastrischen Zyklus oft mit einzelnen Aktionspotentialen, ein bis zwei pylorische Perioden vor dem gastrischen Burst zu registrieren. Dagegen ist LG in diesem Beispiel bis auf den gastrischen Burst immer im pylorischen Takt aktiv. Auch die pylorischen Perioden von LG zeigen eine relativ feste Phasenlage zum gastrischen Rhythmus von DG (vergleiche auch Abb. 3.13 und 3.15: PD normiert auf den gastrischen Zyklus von DG). Die Werte von  $\varphi_{an}$  und  $\varphi_{aus}$  geben nur Anfangs- und Endphase des gastrischen Bursts von LG wieder.

DG bildet in den dgn-Ableitungen immer die größten Aktionspotentiale mit Amplituden zwischen  $70 \mu\text{V}$  und  $150 \mu\text{V}$ . Der mittlere Vektor besitzt eine Länge von  $R_{DG}=0,82$  und weist in Richtung  $\varphi_{DG}=0,14$ .

Die Salven der vier GM-Neurone sind durch Aktionspotentiale mit verschieden große Amplituden gekennzeichnet, die auf unterschiedliche Axondurchmesser und zum Teil auf Summationseffekte an den Elektroden zurückzuführen sind. Die Amplituden reichten von  $10 \mu\text{V}$  bis  $70 \mu\text{V}$  und der gemeinsame mittlere Vektor besitzt die Länge  $R_{GM}=0,71$  bei  $\varphi_{DG}=0,63$ .

LG bildet bei gastrischer Aktivität häufig einen hybriden Rhythmus aus, bei dem sich pylorische Aktionspotentiale mit gastrischen Bursts abwechseln. Der mittlere gastrische Vektor, aus dem hybriden Aktivitätsmuster gebildet, besitzt deshalb eine relativ geringe Länge von  $R_{LG}=0,42$  in der Phase  $\varphi_{DG}=0,50$ .

MG bildet ebenfalls ein hybrides Muster; die zwei bis drei Bursts sind jedoch auf einen kurzen Zeitraum im gastrischen Zyklus beschränkt. Dadurch erreicht der mittlere gastrische Vektor eine Länge von  $R_{MG}=0,91$  in der Phase  $\varphi_{DG}=0,31$ .

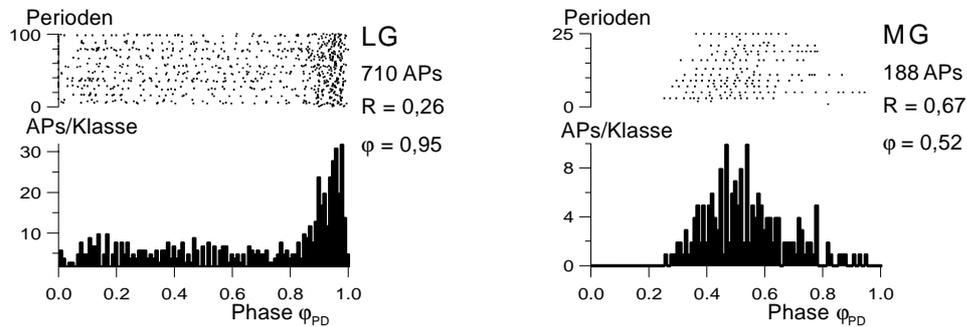
	AP-Anzahl N	Vektorlänge R	Phase $\varphi_{DG}$	Burstanfang $\varphi_{an}$	Burstende $\varphi_{aus}$
DG (DG)	1470	0,82	0,14	–	$0,306 \pm 0,047$
GM (DG)	2460	0,71	0,63	$0,388 \pm 0,043$	$0,864 \pm 0,025$
AGR (DG)	865	0,73	0,60	–	–
LG (DG)	1423	0,42	0,50	$0,298 \pm 0,048$	$0,809 \pm 0,058$
MG (DG)	292	0,91	0,31	$0,168 \pm 0,044$	$0,388 \pm 0,173$

**Tabelle 3.4:** Mittlere gastrische Vektoren und Phasenmittelwerte von Burstanfang  $\varphi_{an}$  und Burstende  $\varphi_{aus}$  des gastrischen Netzwerkes bezogen auf die Periodendauer von DG.

### 3.1.4 Pylorische Modulation gastrischer Neurone

Die räumliche Nähe von Pylorus, cardiopylorischer Rinne und gastrischer Mühle führt dazu, daß sich die Bewegungen dieser Kompartimente des Vorderdarmes gegenseitig beeinflussen können. Die Koordination von Motoneuronen, die die Muskulatur innervieren, ist daher notwendig, um ein effizientes Zusammenwirken der benachbarten Kompartimente zu gewährleisten. Wechselwirkungen im jeweils anderen Rhythmus zeigen sowohl pylorische Zellen im gastrischen, als auch gastrische Zellen im pylorischen Rhythmus.

LG und MG zeigen beide, im gastrischen Rhythmus, feste Phasenbeziehungen zum pylorischen Rhythmus. Normierte und in Phasenhistogrammen akkumulierte Aktionspotentiale von LG und MG besitzen deutliche Gipfel zu verschiedenen Phasen des pylorischen Zyklus (Abb. 3.9). LG ist zwischen den gastrischen Bursts fast immer auch im pylorischen Rhythmus aktiv. Diese pylorischen Aktionspotentiale führen zu einem Gipfel in der Phase zwischen 0,8 und 1,0 (Abb.3.9). Zusätzlich beginnen die gastrischen Bursts von LG in einer anderen Phase des pylorischen Rhythmus. Das Phasenhistogramm gibt dies nur unzureichend wieder, doch in Abb.3.7 ist anhand der Zeitmarken für die Aktionspotentiale gut zu erkennen, daß der gastrische Burstbeginn kurz nach dem PD-Burst liegt. Die relativ kurze pylorische Vektorlänge von

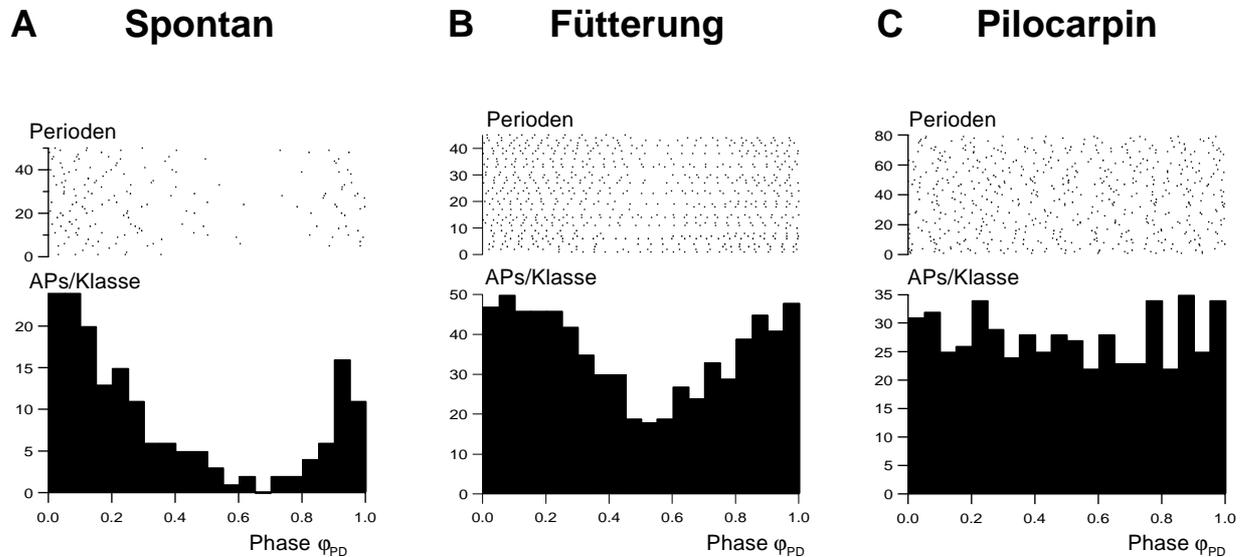


**Abb. 3.9:** LG und MG während eines gastrischen Rhythmus auf die pylorische Periodendauer normiert von PD. Obwohl LG im gastrischen Rhythmus feuert, bleibt doch ein Bezug zum pylorischen Rhythmus erhalten. Die Häufung der Aktionspotentiale zwischen 0,8 und 1,0 beruhen auf den intergastrischen pylorischen Aktivitäten, aber auch die gastrischen Bursts von LG starten mit einem festen Bezug zum pylorischen Rhythmus. Noch stärker als LG sind die Aktionspotentiale von MG an den pylorischen Rhythmus gekoppelt. Die kürzere Vektorlänge von  $R_{MG} = 0,67$  im gastrischen Rhythmus beruht auf den im Vergleich zum pylorischen Rhythmus deutlich länger dauernden gastrischen Bursts von MG. Die größere Anzahl an Aktionspotentialen und deren breite Verteilung über die pylorische Periodendauer führt dazu, daß sich vektorielle Komponenten mit entgegengesetzter Richtung auslöschen.

$R_{LG} = 0,26$  im gastrischen Rhythmus wird durch die zahlreichen Aktionspotentiale verursacht, die während des gastrischen Bursts keine Phasenbeziehung zum pylorischen Rhythmus besitzen.

Im reinen pylorischen Rhythmus bildet MG nur einzelne Aktionspotentiale. Im gastrischen Rhythmus gehen dem längeren gastrischen ein bis zwei kürzere pylorische Bursts voraus (Abb. 3.7). Anschließend folgen mehrere pylorische Perioden ohne MG-Aktivität. Sowohl die pylorischen als auch die gastrischen Bursts besitzen eine feste Phasenbeziehung zum pylorischen Rhythmus (Abb. 3.9). Dies führt dazu, daß der mittlere pylorische Vektor im gastrischen Rhythmus mit  $R_{MG} = 0,67$  in der Phase  $\phi_{PD} = 0,52$  sehr ähnliche Werte besitzt, wie der Vektor, der aus dem rein pylorischen Rhythmus ermittelt wurde. Die geringere pylorische Vektorlänge im gastrischen Rhythmus ist auf den langen gastrischen Burst von MG zurückzuführen, der mit vielen Aktionspotentialen eine breite Phase des pylorischen Rhythmus überdeckt. Bei spontanen gastrischen Rhythmen kam es vor, daß MG-Aktivitäten in den extrazellulären Ableitungen nicht nachgewiesen werden konnten.

Nach WEIMANN ET AL. (1991) läßt sich bei *Cancer borealis in vitro* für DG keine Abhängigkeit zum pylorischen Netzwerk nachweisen. Bei *Cancer pagurus* zeigen die Bursts von DG, *in vivo* und *in situ*, Modulationen der Aktionspotentialfrequenz (Abb. 3.7). Je nach Dauer besitzt jede einzelne DG-Salve eine oder mehrere Unterbrechungen. Auf die pylorische Periodendauer von

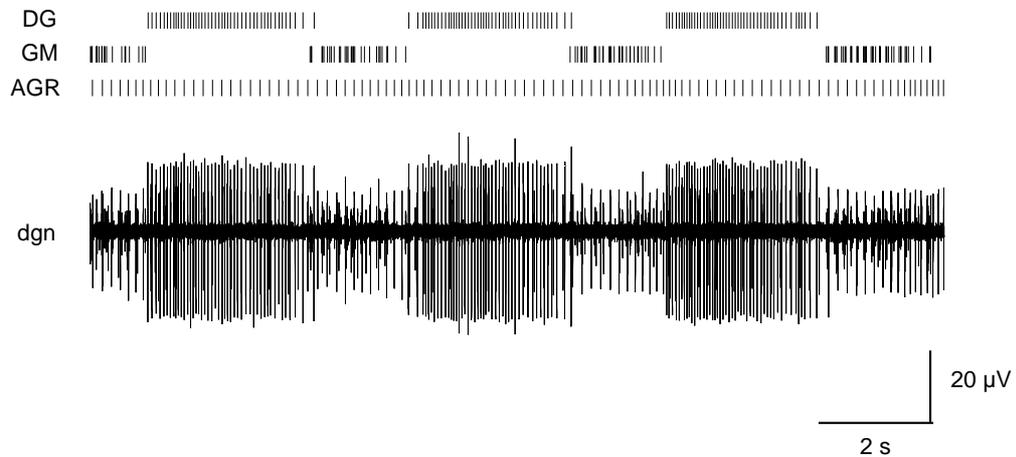


**Abb. 3.10: Pylorische Modulation von DG.** Für die drei Phasenhistogramme wurden die Zeitpunkte der DG-Aktionspotentiale auf die pylorische Periodendauer von PD normiert. In **A** stammen die Daten von einem spontanen gastrischen Rhythmus. In **B** entstammen die Daten einem Rhythmus, der durch eine Fütterung ausgelöst wurde und in **C** wurde der gastrische Rhythmus durch Pilocarpin gestartet. Über den Histogrammen sind die relativen Zeitpunkte als sequentielle Phasendiagramme dargestellt.

In **A** und **B** ist in den Histogrammen eine deutliche Senke zu erkennen, die im Bereich von 0,6 ihr Minimum besitzt. In den Originalregistrierungen besitzen die DG-Bursts in diesen Phasen eine kurze Lücke (siehe Abb. 3.7). Durch die Phasen, in denen DG keine oder weniger Aktionspotentiale bildet, erfährt der mittlere pylorische Vektor von DG eine Richtung. Der mittlere Vektor für den spontanen Rhythmus hat die Länge  $R_{DG}=0,53$  bei  $\varphi_{PD}=0,10$  und der Vektor für die Fütterung hat die Länge  $R_{DG}=0,20$  bei  $\varphi_{PD}=0,06$ . **C** Wurde der gastrische Rhythmus jedoch durch Pilocarpin ausgelöst (siehe Abb. 3.10), dann fällt diese Senke weg und die Länge des mittleren Vektors reduziert sich auf  $R_{DG}=0,05$  bei  $\varphi_{PD}=0,05$ .

PD normiert, bilden die Zeitpunkte der DG-Aktionspotentiale im Phasenhistogramm ein deutliches Minimum (Abb. 3.10) aus. Dieses Minimum besitzt eine feste Phasenlage im pylorischen Rhythmus und ist bei spontanen gastrischen Rhythmen stärker ausgeprägt als bei solchen, die durch eine Fütterung ausgelöst wurden. Die Reduzierung der Aktionspotentiale in bestimmten Phasen im pylorischen Rhythmus führt dazu, daß DG einen gerichteten pylorischen Vektor besitzt. Seine Länge beträgt  $R_{DG}=0,53$  in der pylorischen Phase  $\varphi_{PD}=0,10$  für einen spontanen gastrischen Rhythmus und  $R_{DG}=0,20$  in der pylorischen Phase  $\varphi_{PD}=0,06$  für einen Rhythmus, der durch eine Fütterung ausgelöst wurde. Beide Vektoren weisen etwa in die gleiche Richtung, die geringere Vektorlänge wird bei der Fütterung mit Sicherheit auch durch die wesentlich größere Dichte der Aktionspotentiale während der Bursts verursacht.

Wurde der gastrische Rhythmus, *in vivo* oder *in situ* jedoch durch Pilocarpin ausgelöst, so feuerte DG gleichmäßige Bursts ohne Lücken oder Frequenzschwankungen der Aktionspotentiale (Abb.3.1 1), obwohl diese im selben Tier bei spontanen gastrischen Rhythmen auftraten. Auch



**Abb. 3.11:** Drei DG-Bursts eines gastrischen Rhythmus der *in vivo* durch Pilocarpin ausgelöst wurde. Während spontaner oder durch eine Fütterung ausgelöste gastrische Rhythmen weisen die DG-Bursts Modulationen der Intraburst-Aktionspotentialfrequenz auf (vgl. Abb. 3.7). Diese Modulationen fehlen wenn der Rhythmus durch Pilocarpin gestartet wurde. Die Marken über der dgn-Ableitung stellen die Zeitpunkte der einzelnen Aktionspotentiale dar, getrennt nach Neuronen.

das pylorische Phasenhistogramm von DG weist eine gleichmäßige Verteilung der Aktionspotentiale auf (Abb. 3.10). Das bedeutet, in keiner Phase des pylorischen Rhythmus findet eine Modulation der DG-Aktivität statt. Dieser Sachverhalt drückt sich auch in einer sehr geringen pylorischen Vektorlänge von  $R_{DG}=0,05$  in der Phase  $\varphi_{PD}=0,05$  aus.

	AP-Anzahl N	Vektorlänge $R_{DG}$	Phase $\varphi_{PD}$
Spontaner gastrischer Rhythmus	174	0,53	0,10
Fütterung	714	0,20	0,06
Pilocarpin	572	0,05	0,05

**Tabelle 3.5:** Pylorische mittlere Vektoren von DG (PD). Die gastrischen Rhythmen wurden unterschiedlich ausgelöst. Sowohl während des spontanen als auch während des durch eine Fütterung ausgelösten gastrischen Rhythmus zeigt DG Modulationen seiner Aktionspotentialfrequenz im pylorischen Rhythmus. Nach Injektion von 0,5ml 0,1M Pilocarpin zeigt DG diese Modulationen nicht.

Neben der Reduzierung der Aktionspotentialfrequenz im pylorischen Takt, besitzt DG auch eine Präferenz, den Burst in einer bestimmten Phase des pylorischen Rhythmus zu beginnen. In den Abb.3.12 und 3.13 sind die Aktivitätsänderungen der pylorischen Motoneurone in Abhängigkeit vom gastrischen Rhythmus dargestellt. Die Phasenhistogramme, die über der normierten gastrischen Periodendauer von DG aufgetragen wurden, besitzen zu Beginn und Ende der gastrischen Periode diskrete lokale Maxima, die dem pylorischen Rhythmus zugeordnet werden

können. Tab. 3.6 zeigt die mittlere Häufigkeitsverteilung des DG-Burstanfangs auf den pylorischen Zyklus von fünf verschiedenen Tieren bezogen. Bei allen Individuen erfolgte der DG-Burstbeginn mit einer Häufigkeit von mindestens 54% während des PD-Bursts, der einen Anteil von knapp 20% des pylorischen Zyklus ausmacht.

PD	69,8%
Lücke	7,7%
LP	11,7%
PY	10,9%

**Tabelle 3.6:** Burstbeginn von DG im pylorischen Rhythmus. Ausgewertet wurden insgesamt 168 gastrische Perioden von 5 verschiedenen Tieren. Aus den Einzelverteilungen wurde ein Mittelwert über alle fünf Tiere gebildet.

Die einzigen gastrischen Motoneurone, denen *in vivo* keine Abhängigkeit vom pylorischen Rhythmus nachgewiesen werden konnte, sind die vier GM-Zellen, obwohl dies von WEIMANN ET AL. (1991) *in vitro* nachgewiesen wurde. Es ist jedoch möglich, daß die Aktivitäten der einzelnen GM-Neurone so verschieden durch das pylorischen Netzwerk beeinflußt werden, daß die Effekte sich überlagern und die Zusammenhänge nicht erkennbar werden. In den extrazellulären Ableitungen ließen sich kaum vier verschiedene Aktionspotentialtypen unterscheiden, die den vier GM-Axonon im dgn zugeordnet werden konnten.

	AP-Anzahl N	Vektorlänge R	Phase $\phi_{PD}$
DG (PD)	714	0,20	0,06
GM (PD)	1228	0,03	0,06
AGR (PD)	442	0,05 (0,014)	0,83 (0,14)
LG (PD)	710	0,26 (0,99)	0,95 (0,94)
MG (PD)	188	0,67 (0,997)	0,52 (0,42)

**Tabelle 3.7:** Mittlere pylorische Vektoren der gastrischen Motoneurone während gastrischer Aktivität. In Klammern sind die pylorischen Vektordaten für den rein pylorischen Rhythmus aus Tab 3.3 wiedergegeben.

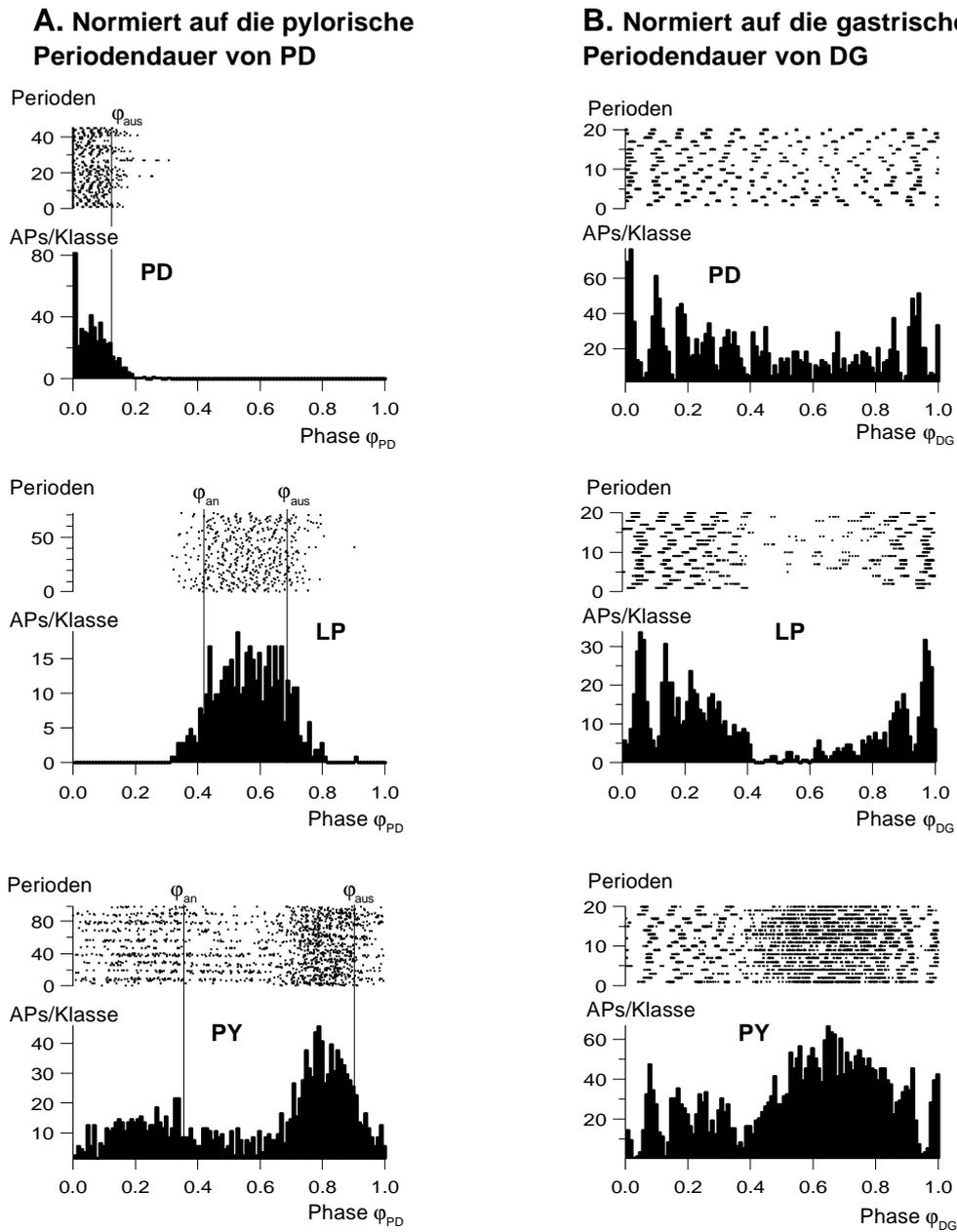
### 3.1.5 Gastrische Modulation pylorischer Neurone

Während eines gastrischen Rhythmus wird der pylorische Rhythmus aufrechterhalten. Die pylorischen Motoneurone zeigen verschiedene Veränderungen ihrer Aktivitäten, sowohl im pylorischen Rhythmus als auch während des gastrischen Zyklus. Um die Modulation dieser neuronalen Aktivitäten darzustellen, wurden die Zeitpunkte der pylorischen Aktionspotentiale auf beide Rhythmen normiert und dargestellt (Abb. 3.12 und 3.13). Für die pylorischen Zellen gibt es deshalb zwei Phasenhistogramme, die über der pylorischen Periodendauer aufgetragen wurden: einmal für den rein pylorischen Rhythmus (Abb. 3.6) und einmal während des gastrischen Rhythmus (Abb. 3.12 und 3.13). In Abb. 3.14 sind exemplarisch die beiden pylorischen Phasenhistogramme zusammen mit dem gastrischen Phasenhistogramm von LP dargestellt. Der Vergleich zeigt deutlich, daß LP während eines gastrischen Rhythmus im pylorischen Rhythmus ein geändertes Aktionspotentialmuster aufweist und zusätzlich während der gastrischen Periode eine zyklische Änderung der Burstaktivität durchführt.

PD zeigt von den pylorischen Zellen die geringsten Änderungen seiner Aktivitäten während des gastrischen Zyklus (Abb. 3.12). Trotz verkürzter Periodendauer sind pylorisches Phasenhistogramm und mittlerer pylorischer Vektor fast identisch mit den Werten des rein pylorischen Zyklus (Tab. 3.8). Auch im Laufe der gastrischen Periode bleibt die PD-Aktivität nahezu unverändert. Die relativ gleichmäßige Verteilung der pylorischen Bursts über der gastrischen Periode äußert sich in einem relativ kurzen gastrischen Vektor mit einer Länge von  $R_{PD}=0,22$  in der Phase  $\varphi_{DG}=0,10$ .

LP zeigt im Vergleich zum rein pylorischen Rhythmus während des gastrischen Rhythmus deutliche Unterschiede seiner pylorischen Aktivität (Abb. 3.14). Die zum Burstende ansteigende Aktionspotentialfrequenz ist im gastrischen Rhythmus einer konstantfrequenten mit höherer Dichte gewichen. Zusätzlich ist der duty cycle ( $\varphi_{an}, \varphi_{aus}$ ) kürzer geworden. Im gastrischen Zyklus hört LP häufig auf zu feuern, während LG seinen gastrischen Burst produziert. Der mittlere gastrische Vektor von LP ist daher mit  $R_{LP}=0,47$  in der Phase von  $\varphi_{DG}=0,09$  gut doppelt so lang wie der von PD.

## Aktivitäten der pylorischen Motoneurone im gastrischen Rhythmus



**Abb. 3.12:** Phasenhistogramme der pylorischen Neurone während eines gastrischen Rhythmus:

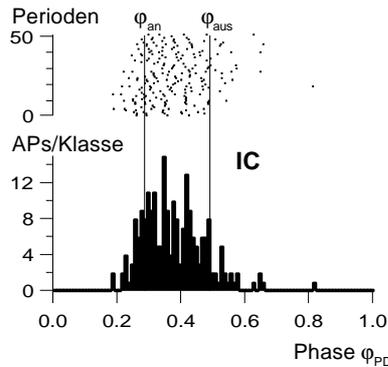
**A** normiert auf die pylorische Periodendauer.

**B** normiert auf die gastrische Periodendauer von DG.

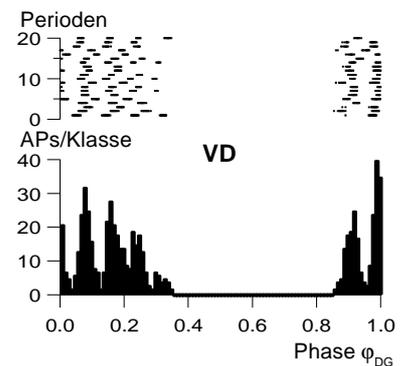
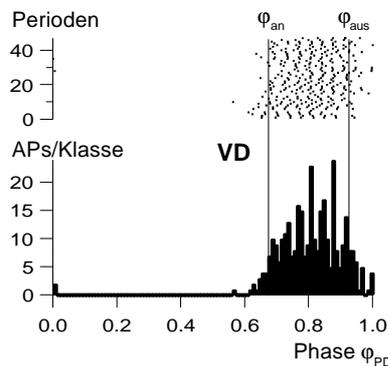
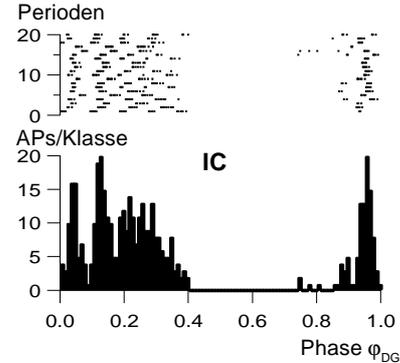
Im gastrischen Rhythmus zeigt PD die geringsten Modulationen. Während LP im gastrischen Rhythmus seine Burstaktivität reduziert, dehnen die PY-Zellen ihre aus.  $\varphi_{an}$  und  $\varphi_{aus}$  geben die Phasenmittelwerte von Burstanfang und -ende an. In den gastrischen Phasenhistogrammen (**B**) aller pylorischen Zellen sind an Anfang und Ende einzelne Gipfel erkennbar, die auf ein ganzzahliges Vielfaches der pylorischen Perioden in einer gastrischen Periode zurückzuführen sind. Im mittleren Bereich der gastrischen Periode verschmelzen diese Gipfel aufgrund variierender Anzahl von pylorischen Perioden pro gastrischer Periode.

### Aktivitäten der cardiopylorischen Motoneurone im gastrischen Rhythmus

#### A. Normiert auf die pylorische Periodendauer von PD



#### B. Normiert auf die gastrische Periodendauer von DG



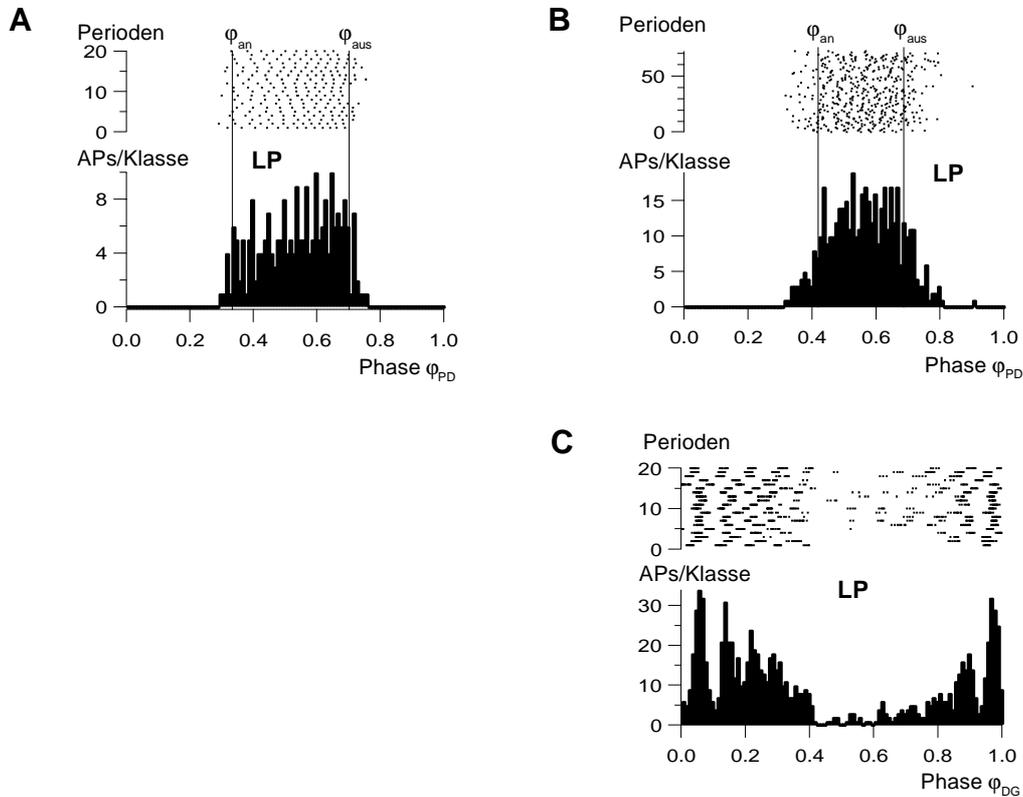
**Abb. 3.13:** Phasenhistogramme der cardiopylorischen Neurone während eines gastrischen Rhythmus

**A** normiert auf die pylorische Periodendauer

**B** normiert auf die gastrische Periodendauer von DG.

IC und VD bilden ein hybrides, gastro-pylorisches Muster aus. Dabei wechseln sich im gastrischen Rhythmus Phasen mit pylorischer Aktivität und Phasen ohne Aktivität ab. Die Inaktivierung von IC und VD erfolgt synchron zum GM-Burst. Während der übrigen Phase bilden beide ihre alternierenden, pylorischen Bursts aus, die im Vergleich zum rein pylorischen Rhythmus verlängerte Bursts mit einer höheren Aktionspotentialfrequenz aufweisen.  $\varphi_{an}$  und  $\varphi_{aus}$  geben die Phasenmittelwerte von Burstanfang und -ende an.

Die PY-Zellen sind während des gastrischen Rhythmus in der Phase  $0,4 \leq \varphi_{DG} \leq 0,9$  fast ununterbrochen aktiv (Abb. 3.12). Im pylorische Phasenhistogramm weist eine gesteigerte Aktionspotentialhäufigkeit am Ende der pylorischen Periode auf ihre Zugehörigkeit zum pylorischen Netzwerk hin. Die Tätigkeit der PY-Zellen im Laufe der gastrischen Periode wirkt eher so, als gehörten sie zum gastrischen Netzwerk. Der mittlere pylorische Vektor von PY ist im gastrischen Rhythmus mit  $R_{PY} = 0,25$ ;  $\varphi_{PD} = 0,83$  (rein pylorischer Rhythmus: siehe Tab. 3.8: Werte in Klammern) deutlich verkürzt. Der mittlere gastrische Vektor erreicht durch die quasi gastrische Aktivität von PY eine Länge von  $R_{PY} = 0,27$  in der Phase  $\varphi_{DG} = 0,67$ .



**Abb. 3.14:** Phasenhistogramme des LP-Motoneurons. In den Abb. 3.6 und Abb. 3.13 werden von jedem der pylorischen und cardiopylorischen Motoneurone drei verschiedene Phasenhistogramme gezeigt. Am Beispiel von LP wird hier verdeutlicht, daß beide Abbildungen herangezogen werden müssen um die Aktivitätsunterschiede der pylorischen Motoneurone während pylorischem (**A**) und gastrischem (**B** und **C**) Rhythmus aufzudecken.

**A** Phasenlage des LP-Bursts im pylorischen Rhythmus ohne gastrische Aktivität (siehe Abb. 3.4). Die LP-Bursts weisen akzelerierende Aktionspotentialfolgen auf, die ein kastenförmiges, zum Ende hin ansteigendes Histogramm ergeben.

**B** Phasenlage des LP-Bursts im pylorischen Rhythmus während eines gastrischen Rhythmus (siehe Abb. 3.7). Der pylorische Rhythmus läuft während des gastrischen Rhythmus weiter. Der pylorische Burst von LP fängt im Vergleich zu **A** später an und hört früher wieder auf, der duty cycle ist kürzer. Außerdem weisen die Aktionspotentiale im Burst gleichmäßige Abstände auf. Das resultierende Histogramm besitzt deshalb einen mittig angeordneten Gipfel.

**C** Phasenlage der pylorischen Aktionspotentiale von LP im gastrischen Rhythmus. Hier sind die selben LP-Aktionspotentiale wie in **B** dargestellt, mit dem Unterschied, daß die Zeitpunkte auf die gastrische Periodendauer von DG normiert wurden. Dadurch werden dynamische, im gastrischen Zyklus regelmäßig wiederkehrende Aktivitätsänderungen der pylorischen Motoneurone aufgezeigt. In diesem Beispiel wird sichtbar, daß LP in der Phase zwischen  $\phi_{DG} = 0,4$  und  $\phi_{DG} = 0,8$  deutlich weniger Aktionspotentiale bildet als in den anderen Phasen des gastrischen Zyklus.

Die beiden Motoneurone der cardiopylorischen Rinne, IC und VD, produzieren während gastrischer Aktivität einen hybriden Rhythmus (Abb. 3.13). Bis zur Phase  $\phi_{DG}=0,4$  alternieren IC und VD im pylorischen Takt; dann folgt eine Pause, in der beide keine Aktionspotentiale mehr bilden. Erst zum Ende der gastrischen Periode fangen beide wieder an, im pylorischen Rhythmus zu feuern, wobei meistens VD beginnt. Der letzte pylorische Burst vor der gastrischen Pause stammt von IC und ist meistens deutlich verlängert (Abb. 3.3 & 3.7). VD zeigt die Tendenz, mit einzelnen Aktionspotentialen im pylorischen Rhythmus zu beginnen und die Anzahl der Aktionspotentiale pro Burst bis zur gastrischen Pause zu erhöhen. Diese Effekte sind bei spontanen gastrischen Rhythmen stärker ausgeprägt als bei solchen, die durch eine Fütterung induziert wurden. Im Vergleich zu LP ist die gastrische Pause von IC und VD deutlich länger. Dies drückt sich auch in den gastrischen Vektorlängen von IC mit  $R_{IC}=0,67$  ( $\phi_{DG}=0,13$ ) und VD mit  $R_{VD}=0,73$  ( $\phi_{DG}=0,08$ ) aus.

	AP-Anzahl N	Vektorlänge R	Phase $\phi_{PD}$	Burstanfang $\phi_{an}$	Burstende $\phi_{aus}$
PD (PD)	983	0,94 (0,96)	0,07 (0,09)	–	$0,126 \pm 0,055$
LP (PD)	453	0,79 (0,75)	0,56 (0,54)	$0,420 \pm 0,060$	$0,687 \pm 0,072$
PY (PD)	1488	0,25 (0,82)	0,83 (0,84)	$0,356 \pm 0,305$	$0,902 \pm 0,086$
IC (PD)	219	0,84 (0,93)	0,37 (0,34)	$0,287 \pm 0,043$	$0,491 \pm 0,079$
VD (PD)	327	0,86 (0,94)	0,81 (0,91)	$0,674 \pm 0,093$	$0,927 \pm 0,038$

**Tabelle 3.8:** Mittlerer pylorischer Vektor und Phasenmittelwerte mit Standardabweichung von Burstanfang  $\phi_{an}$  und Burstende  $\phi_{aus}$  der pylorischen Neurone während eines gastrischen Rhythmus bezogen auf die Periodendauer von PD. In Klammern sind die pylorischen Vektordaten für den rein pylorischen Rhythmus aus Tab 3.3 wiedergegeben.

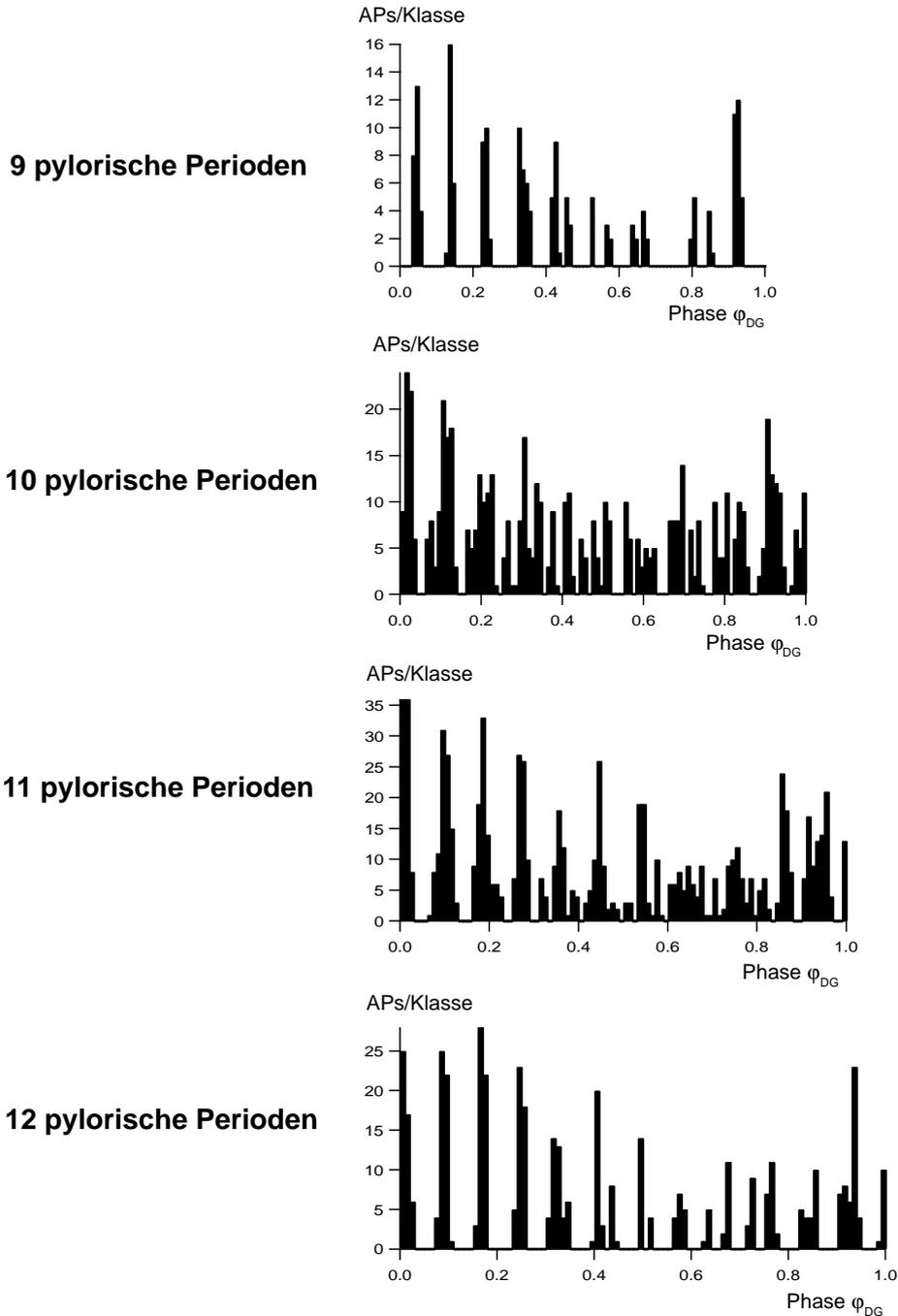
	AP-Anzahl N	Vektorlänge R	Phase $\phi_{DG}$
PD (DG)	2016	0,22	0,10
LP (DG)	936	0,47	0,09
PY (DG)	3154	0,27	0,67
IC (DG)	436	0,67	0,13
VD (DG)	640	0,73	0,08

**Tabelle 3.9:** Gastrische Vektoren der pylorischen Motoneurone während gastrischer Aktivität bezogen auf die Periodendauer von DG.

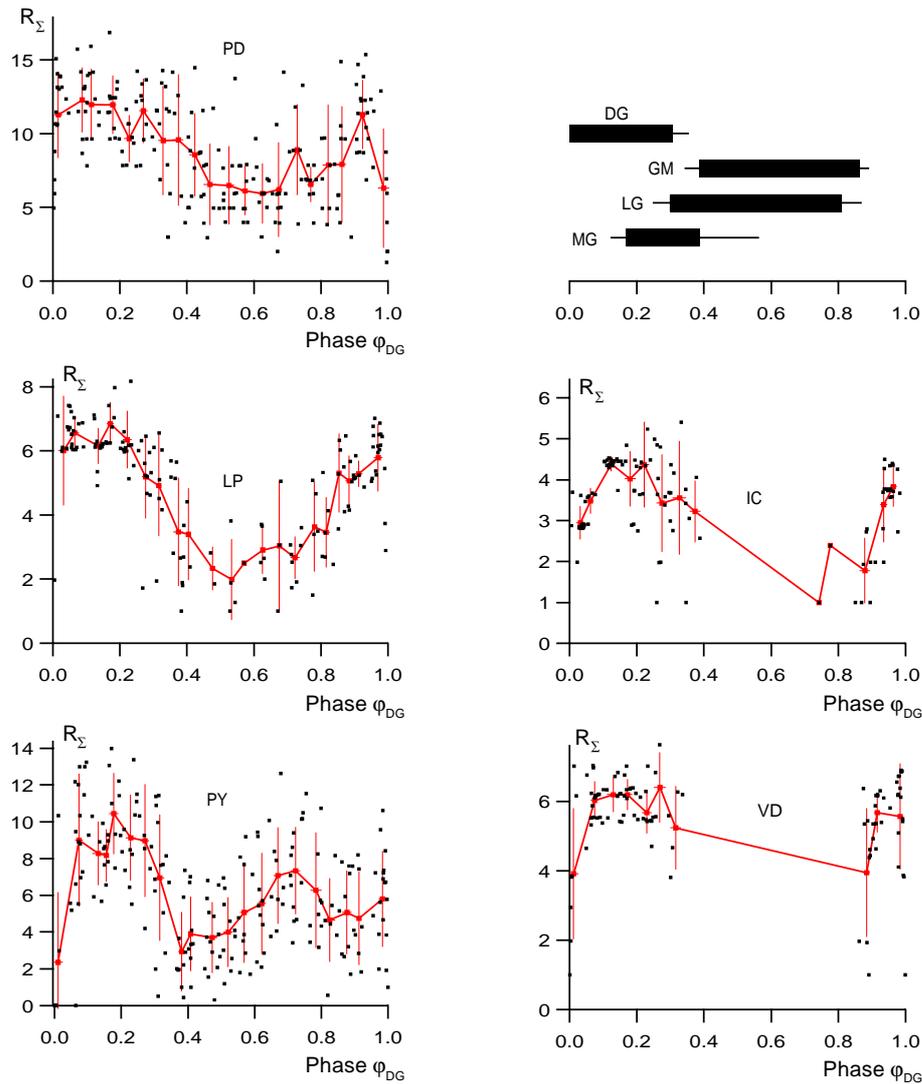
Bereits im Zusammenhang mit der pylorischen Modulation von DG und der Häufung des Burstbeginns während des PD-Bursts wurde darauf hingewiesen, daß alle gastrischen Phasenhistogramme der pylorischen Zellen (Abb.3.12B und 3.13B) diskrete Gipfel aufweisen. Die Phasenlagen der ersten Gipfel von PD, LP und PY geben eindeutig die Reihenfolge des pylorischen Rhythmus wieder. Aufgrund der Präferenz von DG, den Burst in einer bestimmten Phase des pylorischen Rhythmus zu starten, ist es naheliegend, daß der pylorische Rhythmus in einem ganzzahligen, vielfachen Verhältnis zum gastrischem Rhythmus steht. Allerdings ist die Anzahl der pylorischen Perioden pro gastrischer Periode nicht konstant, sondern schwankt in gewissen Grenzen. Im gezeigten Beispiel erfolgten zwischen neun und zwölf pylorische Zyklen während einer gastrischen Periode, mit einem Mittelwert von  $10,68 \pm 0,95$  pylorischen Zyklen pro gastrischem Zyklus. Diese Werte sind allerdings bei spontanen gastrischen Rhythmen mit langer Zyklusdauer sehr variabel. Der Mittelwert von neun verschiedenen gastrischen Rhythmen lag bei  $11,26 \pm 2,07$  pylorischen Perioden pro gastrischem Zyklus. Als Extremwerte wurden in einem Fall 27 und als Minimum 5 pylorische Perioden in einer gastrischen Periode gezählt.

In Abb. 3.15 wurde das gastrische Phasenhistogramm von PD in vier Unterhistogramme nach Anzahl der pylorischen Perioden pro gastrischer Periode zerlegt. Bis zur sechsten pylorischen Periode im gastrischen Zyklus liegen die Gipfel aufgrund der Streckung der Abszisse auch deutlich übereinander. Danach folgt aber in allen Histogrammen, ab  $\varphi_{DG} \geq 0,4$  eine Phase, in der die PD-Bursts eher zufällig im gastrischen Zyklus verteilt sind, bevor am Ende der gastrischen Periode wieder geordnete Gipfel auftreten. Die Frequenz des pylorischen Rhythmus ist demnach über den gastrischen Zyklus von DG nicht konstant, sondern besitzt einen variablen Bereich. Dieser liegt in der Phase, in der LG sein gastrisches Aktivitätsmaximum besitzt (Abb. 3.8).

Die zyklische Modulation des pylorischen Netzwerkes im gastrischen Rhythmus ist in Abb.3.16 dargestellt. In der Abbildung wurden die pylorischen Summenvektorklängen über der gastrischen Phase von DG aufgetragen. Jeder Punkt steht für einen Summenvektor, der aus den Aktionspotentialen eines Bursts gebildet wurde. Dafür wurden die Zeitpunkte der Aktionspotentiale auf den pylorischen Zyklus normiert und jedem Zeitpunkt ein Vektor der Länge 1 im Einheitskreises zugeordnet. Der Summenvektor wird umso länger, je mehr



**Abb. 3.15:** Häufigkeitsverteilung der PD-Aktionspotentiale während der gastrischen Periodendauer, getrennt nach der Anzahl der pylorischen Perioden in einer gastrischen Periode. Von 20 ausgewerteten Perioden umfaßte eine gastrische Periode in zwei Fällen neun, in sechs Fällen zehn, in acht Fällen elf und in vier Fällen zwölf pylorische Perioden. Die diskreten Maxima in den Histogrammen der Abb. 3.14 zeigen an, daß der Burstbeginn von DG im pylorischen Rhythmus zu bestimmten Phasen erfolgt. Aus Tabelle 3.6 ist ersichtlich, daß dies mit fast 70% während des PD-Bursts erfolgt. In dieser Abbildung wurden die Daten aus dem Histogramm von PD in Abb. 3.14 nach Anzahl der pylorischen Perioden in vier Unterhistogramme getrennt. Anschließend wurden Abszissen so gestreckt, daß die mittlere, relative Dauer einer pylorischen Periode in allen vier Diagrammen gleich breit dargestellt wird. Bis zu 6 Maxima sind in den vier Histogrammen erkennbar, die auch übereinander angeordnet sind. Anschließend folgt ein Bereich in dem die Aktionspotentiale von PD eher zufällig verteilt sind, bevor am Ende des gastrischen Zyklus von DG wieder diskrete Gipfel erkennbar werden. Von dieser Darstellung war erwartet worden, daß jedes Unterhistogramm über den ganzen gastrischen Zyklus diskrete Phasen enthält, in denen die Aktionspotentiale von PD akkumulierten. Es zeigt sich aber, daß der pylorische Rhythmus in einer Phase  $\phi_{DG} \geq 0,4$  seine Phasenbeziehung zu DG aufgibt. Genau in dieser Phase besitzt LG sein gastrisches Aktivitätsmaximum (Abb. 3.8).



**Abb. 3.16: Pylorische Summenvektorenlängen  $R_\Sigma$  der pylorischen Motoneurone als Funktion der gastrischen Phase.** Jeder schwarze Punkt stellt einen einzelnen pylorischen Summenvektor  $R_\Sigma$  dar, der aus den Aktionspotentialen eines Bursts über der pylorischen Phase gebildet wurde. Die Summenvektoren wurden dann über ihrer gastrischen Phase aufgetragen. Um die roten Kurven zu ermitteln, wurde der gastrische Zyklus in 20 Klassen unterteilt. Aus den Vektoren einer jeden Klasse wurden sowohl für die Länge als auch für die Phase die Mittelwerte (rote Punkte) mit ihrer Standardabweichung (vertikale und horizontale Fehlerbalken) berechnet. LP und IC weisen Klassen auf, die nur einen einzigen Vektor enthalten. Diese wurden als Absolutwerte übernommen und besitzen daher keine Fehlerbalken. Das Balkendiagramm oben rechts gibt die Phasenlagen der Bursts des gastrischen Netzwerkes wieder. Die Fehlerbalken geben die Standardabweichung der mittleren Burstanfangs- und -endphasen an, die in Tabelle 3.4 wiedergegeben sind.

Die Kurven der Mittelwerte zeigen deutlich, daß alle gezeigten Zellen des pylorischen Netzwerkes im Laufe des gastrischen Zyklus phasenbezogene Aktivitätsänderungen durchführen (vgl. Abb. 3.11 und Abb. 3.12). PD, die pylorische Einheit mit den geringsten gastrischen Modulationen, weist im mittleren Bereich der gastrischen Phase verkürzte Bursts mit geringerer Anzahl an Aktionspotentialen auf. LP hört in diesem Bereich oft ganz auf zu feuern, erkennbar an einer im Vergleich zu PD reduzierten Anzahl an Bursts, aus denen die Summenvektoren gebildet wurden. IC und VD stellen ihre alternierende Burstaktivität während des GM-Bursts vollständig ein. Der letzte Burst wird meist von IC gebildet, während die Fortsetzung der alternierenden Aktivität von beiden Zellen eingeleitet werden kann. Die PY-Zellen besitzen in dieser Darstellung der Summenvektoren eine zweigipfelige Mittelwertskurve. Der vordere Gipfel wird von den Aktionspotentialen der pylorischen PY-Bursts gebildet. Der zweite Gipfel wird von den wesentlich zahlreicheren gastrischen PY-Aktionspotentialen erzeugt, die jedoch über die ganze pylorische Periodendauer verstreut gebildet werden, so daß die vektoriell gebildete Summe kleiner ausfällt als die des ersten Gipfels.

Aktionspotentiale in einem kurzen Burst gebildet werden. Viele Aktionspotentiale, die relativ gleichmäßig über die gesamte pylorische Periode gebildet werden, haben eine kleine Vektorsumme zur Folge. Im Gegensatz zu den normierten Vektoren berücksichtigt diese Darstellungsweise auch eine verminderte Anzahl von Aktionspotentialen pro Burst, die die meisten pylorischen Neurone im Laufe des gastrischen Zyklus bilden.

Da die Summenvektoren eine starke Streuung aufweisen, wurde die gastrische Periode in zwanzig gleichbreite Klassen eingeteilt. Aus den Längen und den Phasen der Summenvektoren, die in eine Klasse fielen, wurde je ein Mittelwert mit Standardabweichung berechnet.

PD wurde bisher als das pylorische Neuron mit der geringsten Beeinflussung durch den gastrischen Rhythmus betrachtet. Es weist in der zweiten Hälfte des gastrischen Zyklus eine Verkürzung der mittleren Summenvektorlänge auf. Diese ist auf eine vermindert Anzahl von Aktionspotentialen pro Burst zurückzuführen.

LP, IC und VD weisen in der mittleren Phase eine eingeschränkte Burstaktivität auf und zeigen damit im Verlaufe des gastrischen Zyklus ein sehr ähnliches Verhalten. Während des gastrischen LG-Bursts hört LP häufig ganz auf zu feuern. In den Fällen, in denen LP doch feuert sind es jedoch nur sehr wenige Aktionspotentiale. Die Summenvektoren bilden in diesem Bereich ein deutliches Minimum.

IC und VD bilden am Anfang der gastrischen Phase Bursts, die eine konstante Anzahl an Aktionspotentialen aufweisen. In diesem Bereich weisen die Summenvektoren nur eine geringe Streuung auf, die auch zu kleinen Werten der Standardabweichung führt. Während des GM-Bursts hören beide Zellen ganz auf, Aktionspotentiale zu bilden. Den letzten Burst vor der Pause bildet IC. Meist ist dieser gegenüber den vorhergehenden deutlich verlängert. Im hier gezeigten Beispiel ist die Verlängerung des letzten Bursts vor der Pause nur sehr gering ausgeprägt. Der erste Burst nach der GM-Salve kann sowohl von IC als auch von VD gebildet werden. Im gezeigten Beispiel wurde der pylorische Rhythmus meist durch VD fortgesetzt.

Die acht PY-Neurone zeigen im Laufe der gastrischen Periode die stärksten Schwankungen ihrer pylorischen Aktivitäten. Die Mittelwerte der Summenvektoren bilden eine zweigipfelige

Kurve während des gastrischen Zyklus. Bis zur Phase  $\varphi_{DG} \leq 0,4$  sind die PY-Zellen im pylorischen Rhythmus aktiv. Hier sind die PY-Aktionspotentiale noch in Bursts organisiert, der Summenvektor wird deshalb relativ lang. Ab der Phase  $j_{DG} \geq 0,4$  hören einzelne Zellen fast gar nicht mehr auf zu feuern. Die PY-Aktionspotentiale werden während der gesamten pylorischen Periode gebildet und zeigen ein eher gastrisches Burstverhalten. Obwohl an diesen Summenvektoren mehr Aktionspotentiale beteiligt sind als in der ersten Phase, bleiben sie wegen der breiten Verteilung im pylorischen Zyklus kürzer.

Die Auswertung der mittleren Vektorlängen ergibt für pylorische und gastrische Zellen eine Reihenfolge in Abhängigkeit ihres Modulationsgrades:

Pylorische Zellen im gastrischen Rhythmus	Gastrische Zellen im pylorischen Rhythmus
$R_{VD} = 0,73$	$R_{MG} = 0,67$
$R_{IC} = 0,67$	$R_{LG} = 0,26$
$R_{LP} = 0,47$	$R_{DG} = 0,20$
$R_{PY} = 0,27$	$R_{AGR} = 0,05$
$R_{PD} = 0,22$	$R_{GM} = 0,03$

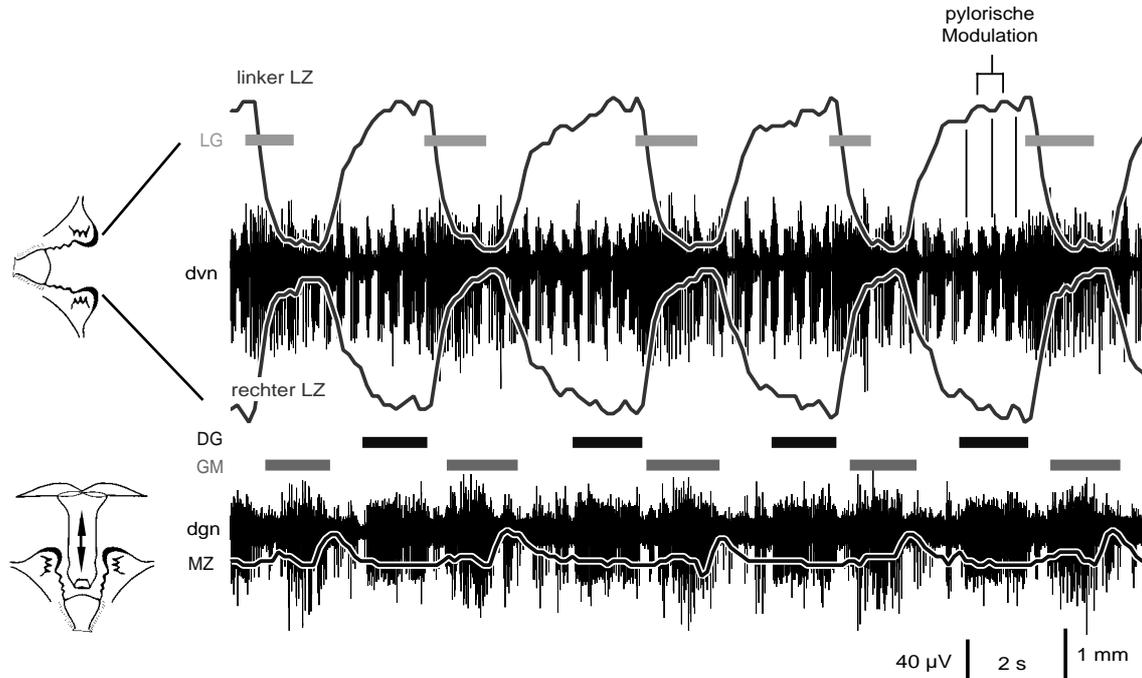
Demnach werden alle pylorischen Zellen durch den gastrischen Rhythmus in ihrer Aktivität moduliert. Von den Zellen des gastrischen Netzwerkes zeigen nur drei Modulationen durch den pylorischen Rhythmus. Die Aktionspotentiale von AGR und GM sind zufällige Ereignisse im pylorischen Zyklus.

## 3.2 Endoskopie

Die rhythmischen Aktivitätsmuster von pylorischem und gastrischem Netzwerk werden im STG gebildet. An der Rhythmogenese sind fast ausschließlich Motoneurone beteiligt, die zusätzlich die Muskeln des Vorderdarmes innervieren. Die Aktionspotentiale der Motoneurone bewirken an den motorischen Synapsen eine Transmitterfreisetzung, die den jeweiligen Zielmuskel aktiviert. Auf die neuronale Aktivierung antworten die Muskeln des stomatogastrischen Systems zum Teil sehr unterschiedlich. Im Bereich des Vorderdarmes der dekapoden Krebse lassen sich die Muskeln hinsichtlich ihrer Aktivierung durch ihre Motoneurone unterscheiden. MORRIS UND HOOPER (1997) stellen zwei Grenzfälle von Muskeln gegenüber: zum einen solche, deren Kontraktion eine Funktion der eintreffenden Anzahl von Aktionspotentialen darstellt, zum anderen Muskeln, deren Kontraktion als eine Funktion der Aktionspotentialfrequenz aufzufassen ist. Zwischen diesen beiden Grenzfällen existieren Zwischenstufen, so daß das Wissen um die neuronalen Rhythmen und die Innervierung der einzelnen Muskeln durch die Motoneurone nicht ausreicht, um eine Vorhersage der Bewegungen des Vorderdarmes zu treffen. Erst die Einführung der Endoskopie durch HEINZEL (1988a,b) und die Kombination von Bewegungsanalysen mit den zugehörigen extrazellulären Ableitungen der motorischen Nerven erlauben ein genaues Verständnis der neuronalen Aktivitätsmuster und der resultierenden Bewegungen.

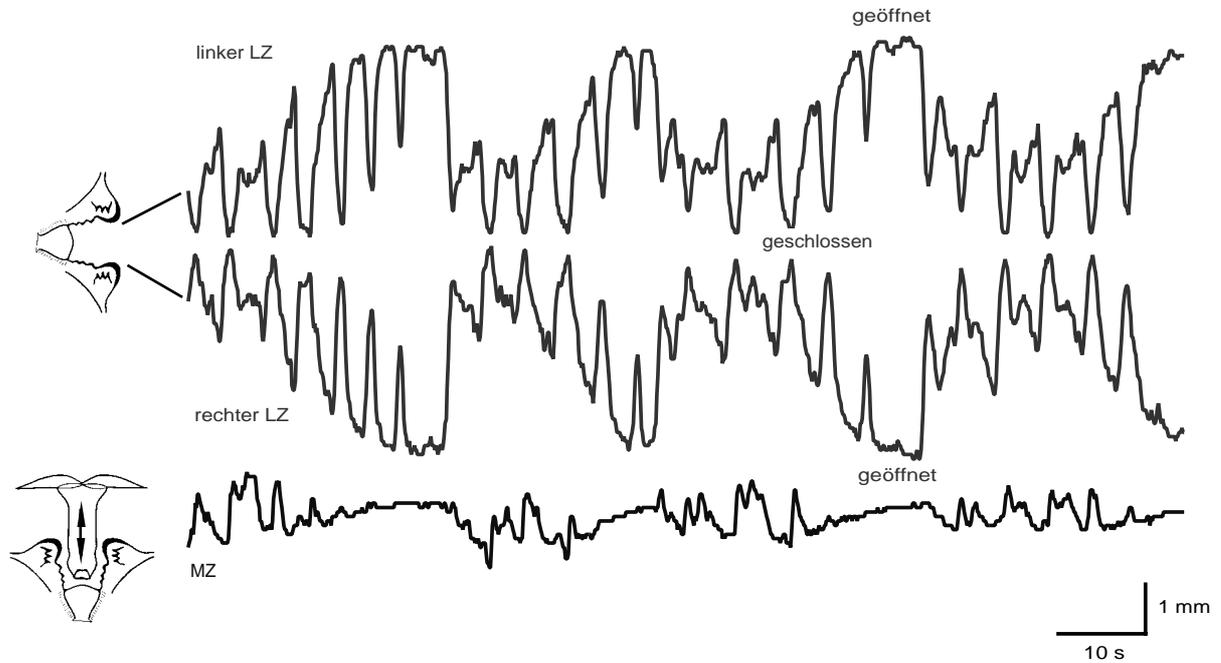
Die in dieser Arbeit durchgeführten endoskopischen *in vivo*-Untersuchungen der gastrischen Mühle erfolgten an Taschenkrebsen, die nach der Implantation der Ableitelektroden mindestens 24 Stunden Zeit hatten, sich von dem Eingriff zu erholen.

Der häufigste Bewegungsablauf der gastrischen Mühle ist beim Taschenkrebs das cut-and-grind Muster. Dabei schließen sich zuerst die Lateralzähne mit ihren Zahnspitzen und Reibflächen gleichzeitig; anschließend führt der Medianzahn eine Vorwärtsbewegung durch und reibt dabei an den geschlossenen Lateralzähnen vorbei (Abb. 3.17). Danach öffnen sich die Lateralzähne wieder und der Medianzahn kehrt in seine Ausgangsposition zurück - der Zyklus kann von neuem beginnen. Das gleichzeitige Treffen aller drei Zahnspitzen und das anschließende Öffnen, wie es im squeeze-Modus erfolgt, wurde nicht beobachtet. Dafür erscheint das cut-and-grind Muster variabler als es die Betrachtung der neuronalen Aktivitätsmuster erwarten läßt. Vor allem



**Abb. 3.17:** Stereotypes Bewegungsmuster der gastrischen Mühle. Die Ableitungen zeigen LG-Aktivität (graue Balken über der dvn-Ableitung) und des elektrisch gekoppelten MG-Neurons, wenn die Lateralzähne (X-Koordinaten) sich schließen. Während der Medianzahnbewegungen (Y-Koordinaten) alternieren die GM-Motoneurone (hellgraue Balken über der dgn-Ableitung) und das DG-Motoneuron (dunkelgraue Balken über der dgn-Ableitung), welches den Medianzahn in seine Ruheposition zurückzieht. Zusätzlich sind pylorische Modulationen der geöffneten Lateralzähne zu erkennen, die mit der neuronalen Aktivität des pylorischen Netzwerkes korrespondieren und zu einem hybriden motorischen Muster führen.

die Bewegungen der Lateralzähne sind sehr variabel. Die Lateralzähne zeigten neben Phasen, in denen sie vollständig geschlossen werden, auch solche, in denen sie sich nur annäherten, aber nicht in der Mitte trafen. Diese Amplitudenänderungen erfolgten periodisch oder in Form eines Umschaltens vom offenen zum geschlossenen Zustand oder umgekehrt. Die periodischen Änderungen erfolgten mit einem langsameren Rhythmus als dem gastrischen und zeigten fließende Übergänge (Abb. 3.18). Das Umschalten erfolgte spontan von einer zur nächsten Periode. Dabei konnte es vorkommen, daß der gastrische Rhythmus eine kurze Pause einlegte. (Abb.3.19). Sowohl während der periodischen Änderungen als auch nach dem Umschalten der Bewegungsamplituden der Lateralzähne fällt auf, daß sich die Lateralzähne, wenn sie sich in der Mitte treffen, nicht mehr vollständig öffnen. Der Medianzahn führte während dieser Bißbewegungen der Lateralzähne mit kleiner Bewegungsamplitude oft nur geringe oder gar keine Bewegungen durch.

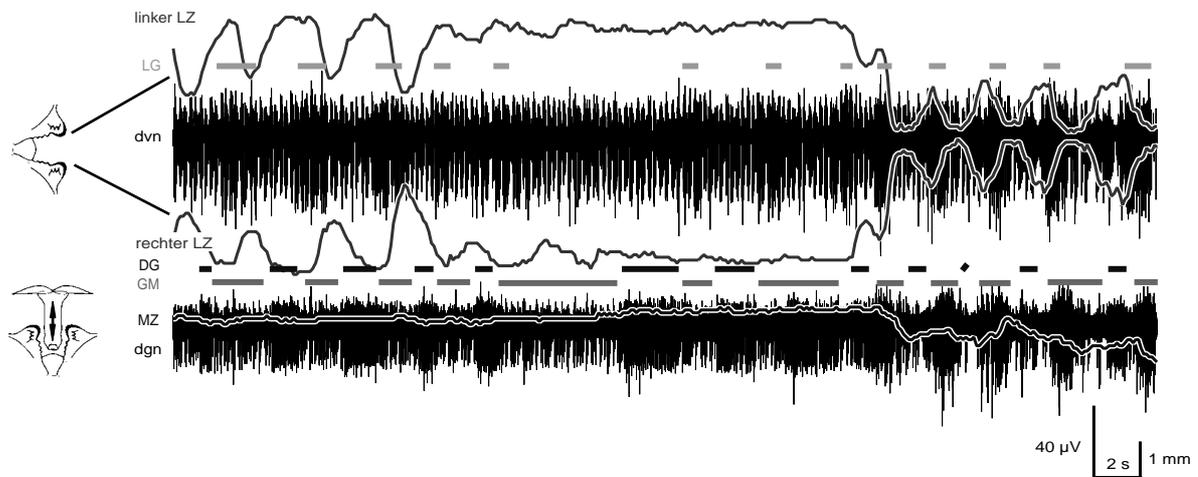


**Abb. 3.18:** Periodische Änderungen der Bewegungsrhythmen können sich in periodischen Änderungen der Bewegungsamplituden der Lateralzähne äußern.

Sind die Lateralzähne geschlossen, dann verdecken sie den Medianzahn zeitweise, so daß dessen Bewegungsanalysen kaum noch möglich sind. Die Bewegungskurven des Medianzahnes enthalten daher in diesen Bereichen Schätzwerte, um die gleiche Anzahl an Datenpunkten für alle drei Bewegungskurven zu erhalten.

Während der rhythmischen Kaubewegungen im gastrischen Rhythmus führen die Lateralzähne im geöffneten Zustand kleine Bewegungen mit geringer Amplitude und höherer Frequenz durch. Die Frequenz, mit der diese Bewegungen erfolgten, entspricht dem pylorischen Rhythmus (Abb. 3.17). Sie sind synchron mit den Bewegungen der cardiopylorischen Rinne, das heißt: wenn die cardiopylorische Rinne verengt wird, bewegen sich auch die Lateralzähne in das Magenlumen und anschließend werden beide gleichzeitig wieder erweitert.

Die parallel zu den Magenbewegungen aufgezeichneten Nervenableitungen zeigen Rhythmen der gastrischen Motoneurone, die genau mit den Bewegungen der drei Magenzähne übereinstimmen. Kurz nach Burstbeginn der GM-Neurone, die die Medianzahnprotraktoren innervieren, wurde der Medianzahn nach frontal bewegt und während des DG-Bursts wieder nach caudal. Während der unvollständigen Schließbewegungen der Lateralzähne kam es vor,



**Abb. 3.19: Umschalten der Kaurhythmen.** Abhängig vom Aktivitätsmuster von LG stoppt das Öffnen und Schließen der Lateralzähne und wird nach einer Pause von 15 Sekunden fortgesetzt. Nach dem Neustart wird die Position der Lateralzähne wegen einer erhöhten Feuerate von LG und MG verändert. Der Medianzahn, dessen Sichtbarkeit durch die geschlossenen Lateralzähne stark eingeschränkt wird, bewegt sich ebenfalls stärker aufgrund einer erhöhten Rate von Aktionspotentialen. Erkennbar wird dies an den veränderten Amplituden der Aktionspotentiale, die durch Summation an den Elektroden entstehen.

daß der Medianzahn kaum bewegt wurde, obwohl der neuronale Rhythmus von DG und GM bestehen blieb.

Den Aktivitäten des LG-Motoneurons folgte immer eine Schließbewegung der Lateralzähne. Die pylorischen Aktionspotentiale von LG bewirken die schnellen Pumpbewegungen der Lateralzähne im pylorischen Rhythmus. Den gastrischen Bursts folgen Schließbewegungen der Lateralzähne. In einem *in situ*-Präparat des Taschenkrebses wiesen HEINZEL ET AL. (1993b) erstmals nach, daß die Schließbewegungen der Lateralzähne von der gemeinsamen Aktivität von LG und MG abhängen. Während im dvn nur LG-Aktionspotentiale abgeleitet wurden, führten die Lateralzähne nur unvollständige Bisse durch. Erst als MG und LG zusammen feuerten, erfolgte die vollständige Schließbewegung, bei der sich die Lateralzähne in der Mitte trafen.

Die endoskopischen Untersuchungen des stomatogastrischen Systems erlauben Bewegungsanalysen der gastrischen Mühle und der cardiopylorischen Rinne. Die Bewegungen des Pylorus sind dieser Methode noch nicht zugänglich.

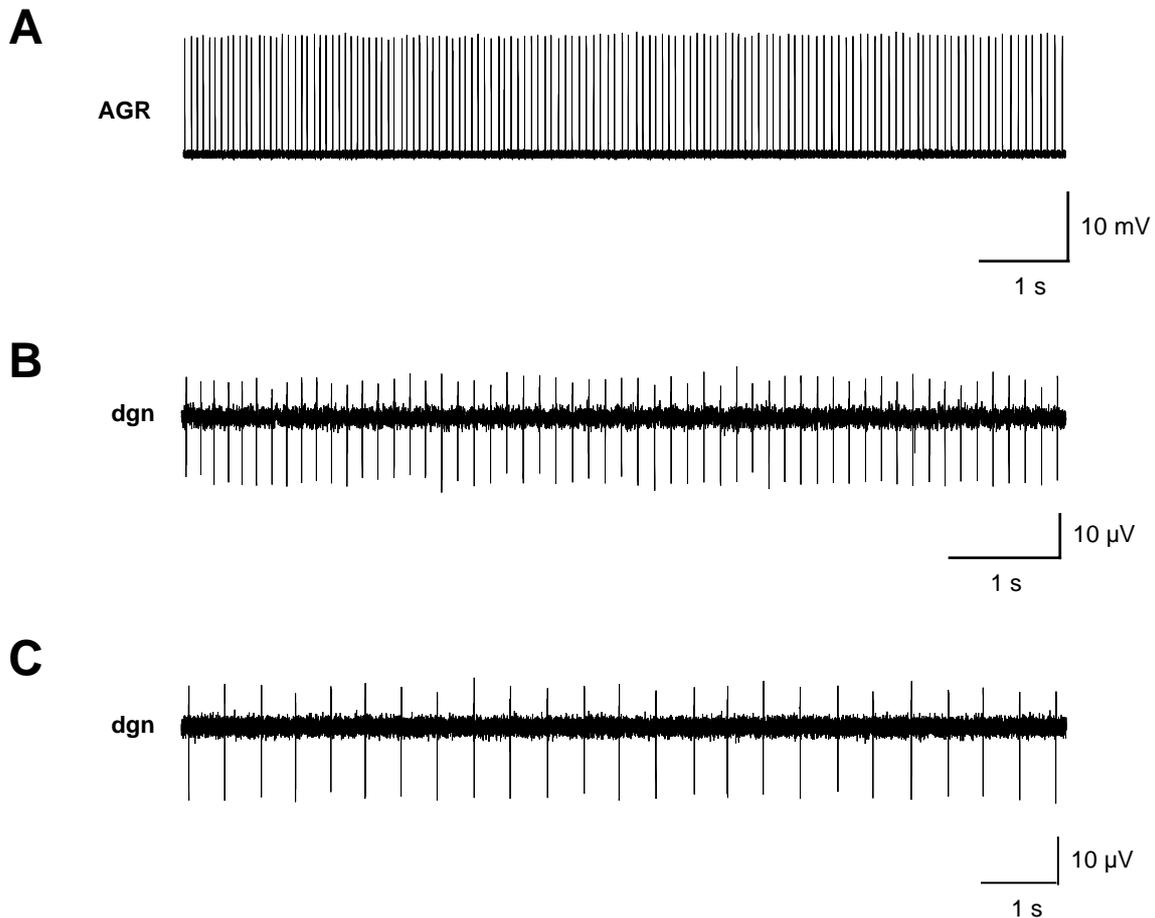
## 3.3 Der anteriore gastrische Rezeptor

### 3.3.1 Spontanaktivität

Die paarigen Dendriten des anterioren gastrischen Rezeptors (AGR) ziehen in die paarigen Muskelansatzstellen der gm1-Muskeln an der Medianzahnbasis (Abb. 2.1, Abb. 3.1), die den Medianzahn kräftig nach frontal ziehen. Von den Muskelansatzstellen ziehen beide Zweige des AGR zum dgn und vereinen sich dort zu einem einzelnen Axon, welches weiter zum STG zieht (GIBNER 1990). Im STG befindet sich das bipolare Soma des AGR (Abb. 3.24), das etwas außerhalb der übrigen Zellkörper zum dgn hin verschoben ist. Ohne erkennbare Verzweigungen verläßt der AGR das STG über den stn und zieht zu den paarigen COG (Abb. 3.2).

Die AGR-Aktivitäten wurden *in vivo* mit Doppelelektroden am dgn aufgezeichnet. *In situ* wurden diese um zwei Elektroden am stn und *in vitro* zusätzlich um eine intrazelluläre Elektrode im Soma des AGR erweitert.

In Ruhe bildet der AGR spontane, tonische Aktionspotentiale mit konstanter Frequenz aus. Diese Frequenz liegt, *in vivo* und *in situ*, zwischen 2Hz und 8 Hz (Abb. 3.20). Intrazelluläre Ableitungen aus dem Soma des AGR lieferten während dieser tonischen Aktivität ein Membranpotential von -40mV bis -50 mV. Die Frequenz der tonischen Aktionspotentiale erhöhte sich durch das Einstechen der intrazellulären Ableitelektrode und blieb meistens auch deutlich erhöht (Abb.3.20). Die Amplitude der extrazellulär abgeleiteten Aktionspotentiale lag im dgn zwischen 20 µV und 45 µV, im stn zwischen 20 µV und 60 µV.



**Abb. 3.20:** Spontanaktivität des AGR: **A** *in vitro*, **B** *in situ*, **C** *in vivo*. In allen drei Beispielen bildet der AGR spontan tonische Aktionspotentiale, die ohne Störungen eine konstante Frequenz besitzen.

**A** Nach Einstechen der Glasmikroelektrode behält der AGR gegenüber den *in situ*-, *in vivo*-Bedingungen eine deutlich erhöhte Spontanfrequenz bei (hier 13,5 Hz).

**B** und **C** Diese beiden Beispiele geben den Frequenzbereich (**B**= 7,2 Hz; **C**=2,1 Hz) der tonischen Ruhfrequenz des AGR wieder, wie er *in vivo* und *in situ* vorherrscht.

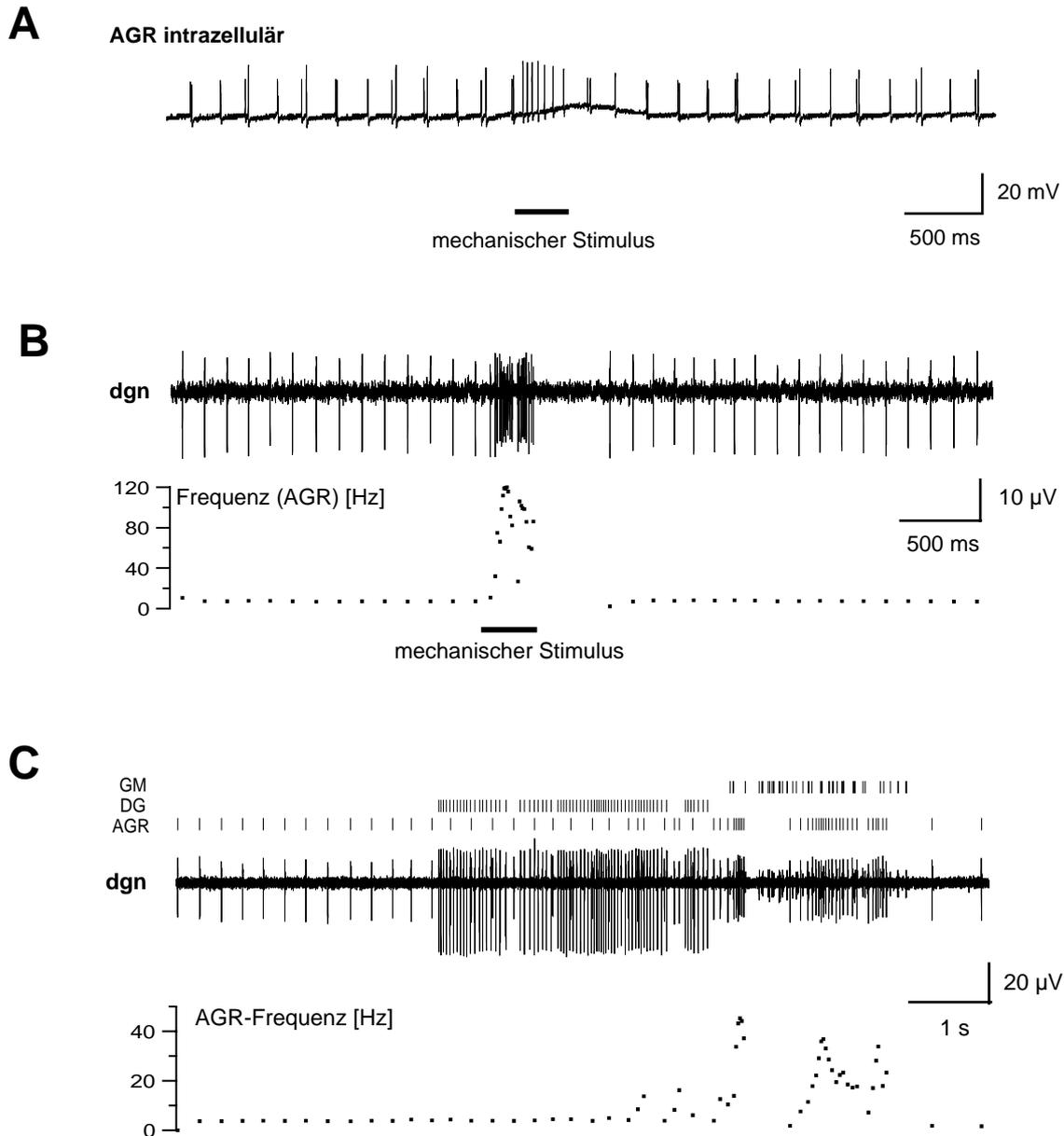
### 3.3.2 Mechanische Reizung

Der adäquate Reiz des AGR ist die Dehnung der gm1-Muskeln im Bereich der Muskelansatzstelle an der Medianzahnbasis. Der Rezeptor reagiert darauf mit einer phasisch-tonischen Antwort. Der Reizbeginn wird mit einer hohen, schnell adaptierenden Aktionspotentialfrequenz codiert. Die Höhe der Frequenz ist von der Reizstärke abhängig. Während der Reizdauer bleibt eine erhöhte Frequenz bestehen und nach Reizende folgt meistens eine postexzitatorische Depression, bevor der AGR wieder zu seiner tonischen Frequenz zurückkehrt.

*In situ* und *invitro* läßt sich der AGR sehr leicht mit einem Glashaken mechanisch stimulieren. Dafür reicht es aus, einzelne Muskelfasern leicht zu verschieben oder zu drücken, um den Rezeptor zu einer Reizantwort zu veranlassen. Leichter Druck wurde mit einem geringen Frequenzanstieg beantwortet, stärkerer Druck mit einer höheren Aktionspotentialfrequenz. Bei sinusförmigen Reizen blieb die Aktionspotentialfrequenz erhöht, solange der Stimulus progressiv blieb, das heißt sobald das Reizmaximum überschritten wurde, hörte der AGR auf zu feuern, bis er wieder zu seiner tonischen Aktionspotentialrate zurückkehrte. Die durch künstliche mechanische Reizung erreichte maximale Aktionspotentialfrequenz des AGR lag bei 120Hz.

Im freibeweglichen Taschenkrebs veränderte der AGR nur im gastrischen Rhythmus seine Aktionspotentialfrequenz, die auf Bewegungen der gastrischen Mühle zurückzuführen ist. Während rein pylorischer Rhythmen wurden ausschließlich tonische Aktionspotentiale des AGR aufgezeichnet. Reizungen des Rezeptors erfolgten fast ausschließlich durch die GM-aktivierten Medianzahnprotraktoren (Abb. 3.21). Zusätzlich konnte der AGR *in vivo* durch die von DG aktivierten Retraktoren erregt werden. Dies erfolgte meist zu Beginn eines gastrischen Rhythmus und endete, wenn die AGR-Aktivierung durch die GM-aktivierten Protraktoren erfolgte.

Wie bei den künstlichen mechanischen Reizungen reagiert der AGR auf Bewegungen der gastrischen Mühle mit einer kurzen, hochfrequenten Salve von Aktionspotentialen, der die kurze postexzitatorische Depression folgt. Während eines gastrischen GM-Bursts konnten durchaus mehre Salven mit kurzen Depressionen aufeinander folgen. Dabei blieb die Maximalfrequenz des Rezeptors mit 50Hz bis 60Hz deutlich unter der (Abb. 3.3, Abb.3.32 und Abb.3.33), die durch künstliche mechanische Reizung mit dem Glashaken erreicht werden konnte.



**Abb. 3.21: Mechanische Aktivierung des AGR.** Die Dendriten des AGR sind in den Muskelansatzstellen der Medianzahnprotraktoren (gm1-Muskeln) lokalisiert und reagieren dort auf eine Erhöhung der Muskelspannung (SIMMERS & MOULINS 1988a,b; COMBES ET AL. 1993).

**A** *In vitro*, während einer intrazellulären Ableitung aus dem Soma des AGR und **B** *in situ* lässt sich der AGR sehr leicht mit einem Glashaken mechanisch stimulieren. Die Rezeptorantwort zeigt einen phasisch-tonischen Verlauf; nach dem Frequenzanstieg der Aktionspotentiale folgt meist eine kurze postexzitatorische Depression, nach der der Rezeptor wieder zu seiner tonischen Ruhefrequenz zurückkehrt.

**C** *In vivo* erhöht der AGR die Frequenz seiner Aktionspotentiale auch dann, wenn die Muskelspannung durch die Kontraktion der antagonistischen Muskeln erhöht wird. DG innerviert die gm4-Muskeln, die Retraktoren des Medianzahnes (siehe Abb. 3.2), die hier dreimal eine Rezeptorantwort auslösen. Nach der dritten, stärksten AGR-Aktivierung hört der AGR auf zu feuern und fängt erst wieder an, wenn die GM-aktivierten gm1-Muskeln kontrahieren.

Die Striche über der dgn-Ableitung in **C** markieren die Zeitpunkte der Aktionspotentiale von DG, GM und AGR.

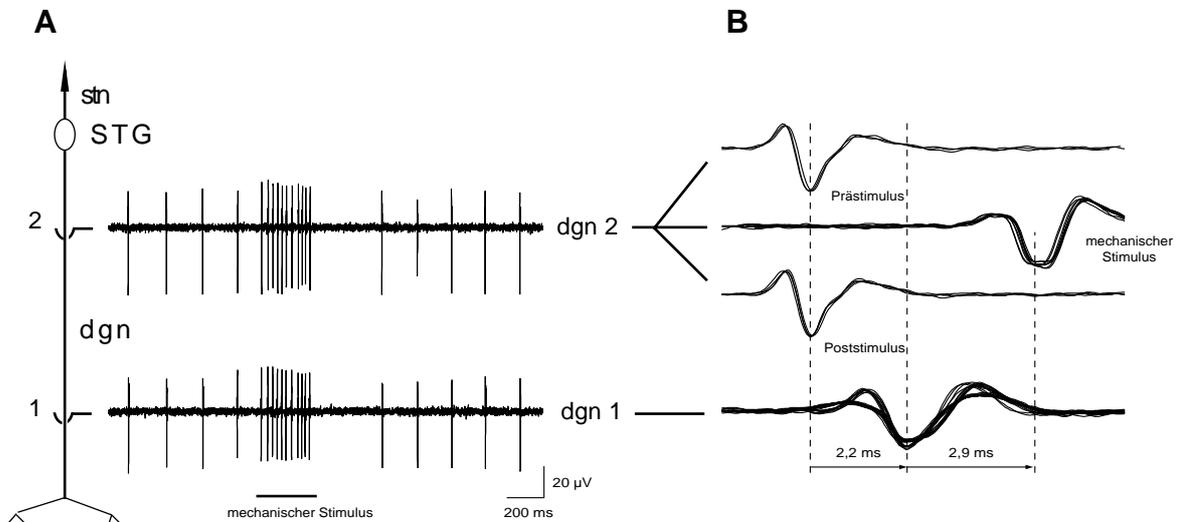
### 3.3.3 Fortleitungsrichtung

Die Aktionspotentiale von AGR und den GM-Neuronen hatten oft sehr ähnliche Amplituden. Um den AGR aufgrund seiner sensorischen, aufsteigenden Aktionspotentiale leichter von den efferenten, absteigenden Aktionspotentialen der Motoneurone unterscheiden zu können, wurde der dgn mit Doppelelektroden abgeleitet. Die Elektroden wurden möglichst in der Mitte, zwischen den sensorischen Abzweigungen und dem Eintritt des dgn in die dorsale Arterie, mit einem Abstand von 2mm bis 3mm zueinander angebracht. Die Elektroden werden im Folgenden mit den Ziffern 1 und 2 bezeichnet; Elektrode 1 ist immer die, die näher an den Dendriten lag.

Es stellte sich jedoch heraus, daß die spontanen, tonischen Aktionspotentiale des unbeeinflussten AGR in den meisten Fällen zuerst Elektrode 2 und dann erst Elektrode 1 passierten, also vom Ganglion in Richtung Dendriten wanderten. Durch mechanische Reizung ausgelöste Aktionspotentiale hatten die entgegengesetzte, afferente Fortleitungsrichtung (Abb. 3.22). Auf die hochfrequente Reizantwort folgte in der Regel die kurze Depression, nach der der Rezeptor wieder zur tonischen Aktivität zurückkehrte. Diese ersten tonischen Aktionspotentiale konnten sofort wieder die absteigende Fortleitungsrichtung haben oder sie behielten erst die afferente Richtung bei und kehrten nach mehreren Sekunden spontan die Richtung wieder um. Diese Befunde legen nahe, daß der AGR zwei Aktionspotentialbildungszonen besitzt: eine posterior und eine anterior von den Ableitelektroden.

Durch den Wechsel der Fortleitungsrichtung, sei es durch eine Reizantwort oder durch die spontanen Wechsel von aufsteigender zu absteigender Fortleitung nach der Reizantwort, sollte es zur Kollision und damit zur Auslöschung von Aktionspotentialen kommen. Dies wurde bei der gewählten Elektrodenanordnung jedoch nie beobachtet.

Bei zwei Tieren besaßen die tonischen Aktionspotentiale an den beiden Ableitelektroden unterschiedliche Frequenzen. In beiden Fällen hatten die Aktionspotentiale an der Elektrode 1 eine zwei- bis dreifach höhere Frequenz als die an Elektrode 2. Mechanische Reizungen der Dendriten führten zu einer Rezeptorantwort, die nur an Elektrode 1 gemessen werden konnte. Es kann davon ausgegangen werden, daß in diesen beiden Fällen die axonale Fortleitung der



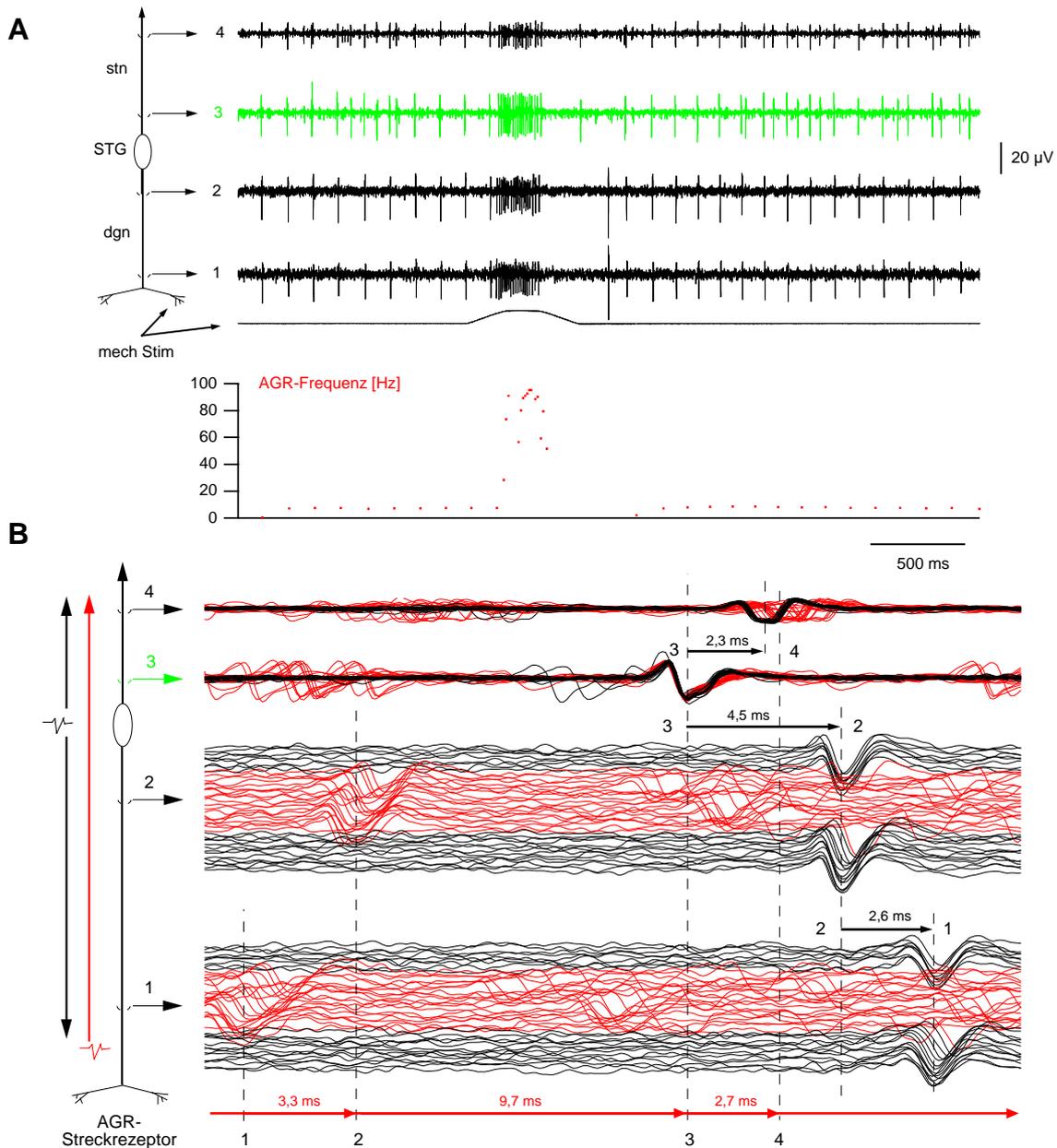
**Abb. 3.22: Fortleitungsrichtung des AGR.**

A Doppelableitungen des dgn haben gezeigt, daß die spontanen tonischen Aktionspotentiale des AGR zuerst an Elektrode 2 und dann erst an Elektrode 1 (siehe Schema links) erscheinen, also vom Ganglion in Richtung Dendriten wandern. Sensorische Aktionspotentiale, die durch mechanische Reizungen des AGR ausgelöst wurden, erscheinen dagegen zuerst an Elektrode 1 und dann an Elektrode 2 und besitzen damit die entgegengesetzte, afferente Fortleitungsrichtung.

B Um die wechselnde Fortleitungsrichtung zu verdeutlichen wurden, mit dem SuperScope® Instrument: 5Kanal-Segmenter (siehe Abb.2.9) die einzelnen Aktionspotentiale als kurze Segmentpaare, parallel aus den Ableitungen in A ausgeschnitten. Getriggert auf die Aktionspotentiale der dgn1-Ableitung umfassen die Segmentpaare einen Zeitbereich links und rechts vom Triggerzeitpunkt. Die Segmentgrenzen wurden so gewählt, daß die Aktionspotentiale der dgn2-Ableitung, abhängig von der Fortleitungsgeschwindigkeit und -richtung ebenfalls im Segment zu liegen kamen. Anschließend wurden alle Segmentpaare in Richtung der Zeitachse verschoben, so daß die Triggerzeitpunkte der dgn1-Ableitung aufeinander zu liegen kamen. Die Aktionspotentiale der dgn2-Ableitung wurden zusätzlich getrennt, je nach dem, ob sie vor (Prästimulus), während (Stimulus) oder nach (Poststimulus) dem mechanischen Stimulus erfolgten.

Aktionspotentiale gestört war und an beiden Elektroden die unabhängige tonische Frequenz beider Aktionspotentialbildungszonen gemessen wurde.

Um den Ort der anterioren Aktionspotentialbildungszone zu lokalisieren, wurden *in situ* zwei zusätzliche Elektroden am stn angebracht. Die Numerierung der stn-Elektroden erfolgte analog zur Numerierung der dgn-Elektroden, in der Reihenfolge, in der sie von einem ascendierenden AGR-Aktionspotential passiert werden. Sowohl die tonischen AGR-Aktionspotentiale als auch die durch künstliche mechanische Stimuli hervorgerufenen Aktionspotentiale der Reizantwort konnten 1:1 an allen vier Elektroden abgeleitet werden (Abb 3.23 oben). Während im dgn die tonischen Aktionspotentiale in die Peripherie wanderten und die Aktionspotentiale der Reizantwort, die entgegengesetzte, afferente Fortleitungsrichtung besaßen, wurden im stn alle AGR-Aktionspotentiale in Richtung der höheren Ganglien fortgeleitet (Abb. 3.23 unten).



**Abb. 3.23: Nachweis von zwei Aktionspotential-Bildungszonen durch mechanische Reizung der Dendritenregion des AGR:** **A** *In vivo*-Doppelableitungen von dgn und stn zeigen beide sowohl tonische Aktionspotentiale, als auch solche die durch mechanische Reizung des AGR ausgelöst wurden. Vor der mechanischen Reizung bildet der AGR seine spontanen, tonischen Aktionspotentiale. Durch den Stimulus wird deren Frequenz stark erhöht, um nach einer kurzen postexzitatorischen Depression wieder zur tonischen Frequenz zurückzukehren.

**B** Analyse von Fortleitungsgeschwindigkeit und -richtung. Alle AGR-Aktionspotentiale der vier Spuren aus **A** sind hier als kurze Segmentquartetts dargestellt. Getriggert wurde auf die AGR-Aktionspotentiale der posterioren stn-Elektrode (Elektrode 3, in **A** grün dargestellt), anschließend wurden links und rechts vom Triggerzeitpunkt die Segmentgrenzen festgelegt, so daß das Aktionspotential, das nacheinander die Elektroden 1 bis 4 erreicht, innerhalb der Segmentgrenzen zu liegen kam. Die Segmentquartetts wurden wie in Abb. 3.19 horizontal verschoben. Die aufeinanderfolgenden Segmente der Spuren 1 und 2 (die Zahlen beziehen sich auf die Ableitorte, siehe Schema links) wurden nach unten versetzt angeordnet, damit die einzelnen Aktionspotentiale sichtbar werden, die Spuren 3 und 4 überlagern einander. Die Segmente der tonischen Aktionspotentiale sind schwarz dargestellt, die der hochfrequenten Reizantwort rot.

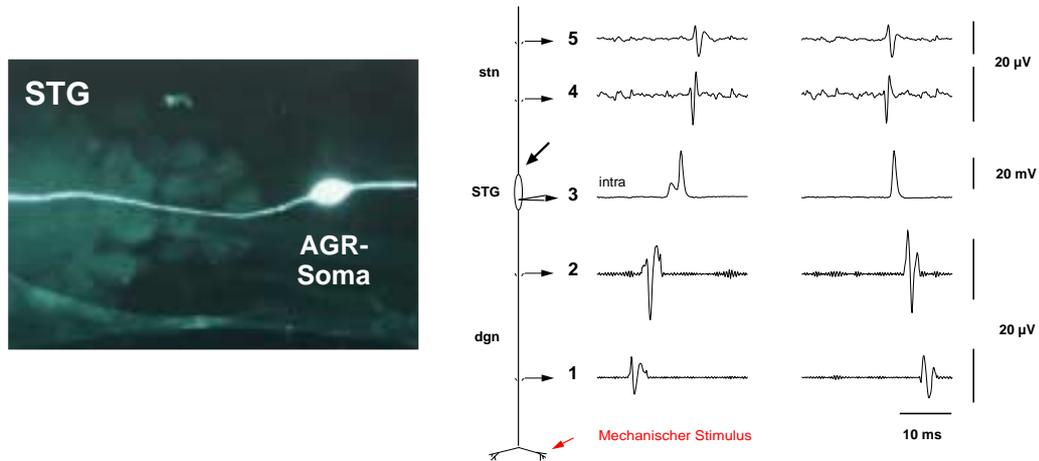
Die roten Aktionspotentiale erreichen zuerst Elektrode 1, dann die Elektrode 2, 3 und 4 (rote Pfeile). Die tonischen Aktionspotentiale müssen im Bereich des STG entstehen, denn sie erscheinen zuerst an Elektrode 3, dann an 4, 2 und 1 (schwarze Pfeile). Die Latenz der schwarzen Aktionspotentiale zwischen Elektrode 3 und 2 (4,5ms) ist wesentlich kürzer als die der roten Aktionspotentiale (9,7ms) von 2 nach 3. Aktionspotentiale des AGR die im STG entstehen, breiten sich demnach gleichzeitig in beide Richtungen aus, während die sensorische ausgelösten Aktionspotentiale die ganze Distanz allein überbrücken müssen.

Für die sensorischen afferenten und die spontanen tonischen Aktionspotentiale existieren deutliche Laufzeitunterschiede zwischen den Elektroden 2 und 3. Die sensorischen Aktionspotentiale benötigen mit 9,7 ms mehr als die doppelte Zeit, um von Elektrode 2 nach 3 zu gelangen, als die tonischen Aktionspotentiale mit 4,5ms (Abb. 3.23 unten). Es wird angenommen, daß die Bildungszone der tonischen Aktionspotentiale zwischen Elektrode 2 und 3 liegt, und daß die dort gebildeten tonischen Aktionspotentiale sich konzentrisch in entgegengesetzte Richtungen ausbreiten. Unter dieser Annahme entfernt sich jedes der beiden Aktionspotentiale mit der normalen axonalen Fortleitungsgeschwindigkeit von seinem Entstehungsort. Weil die relative Geschwindigkeit, mit der sich die Aktionspotentiale voneinander entfernen, doppelt so groß ist, wird die Distanz zwischen beiden Elektroden in einer kürzeren Zeit überbrückt. Die Latenz ist daher kürzer, als die eines sensorisch ausgelösten Aktionspotentiales, das die Distanz allein, das heißt mit der ihm eigenen Fortleitungsgeschwindigkeit, bewältigen muß.

Bei einem Elektrodenabstand von 3mm wurden für die tonischen Aktionspotentiale, die vom Ganglion kamen, Latenzen von 2,5ms bis 2,3ms gemessen, die ein AGR-Aktionspotential brauchte, um nacheinander an beiden Elektroden registriert zu werden. Dies entspricht einer Fortleitungsgeschwindigkeit von  $1,2\text{ms}^{-1}$  bis  $1,3\text{ms}^{-1}$ . Bei gleichem Elektrodenabstand wurden für die sensorischen Aktionspotentiale deutlich größere Laufzeitunterschiede von 3,0ms bis 2,6ms gemessen, mit einer entsprechend geringeren Fortleitungsgeschwindigkeit von  $1,0\text{ms}^{-1}$  bis  $1,15\text{ms}^{-1}$ . Die höchste Geschwindigkeit erreichten die AGR-Aktionspotentiale mit  $1,4\text{ms}^{-1}$  bis  $1,5\text{ms}^{-1}$  im stn.

Die Erweiterung der vier extrazellulären Elektroden um eine intrazelluläre im Soma des AGR zeigt ebenfalls, daß sensorisch ausgelöste Aktionspotentiale zuerst im dgn auftreten, dann im Soma und schließlich im stn (Abb. 3.24). Ein tonisches Aktionspotential wurde dagegen zuerst im stn mit aufsteigender Fortleitungsrichtung an den Elektroden 4 und 5 registriert und dann mit absteigender Richtung im Soma (Elektrode 3), an Elektrode 2 und zuletzt an Elektrode 1. Die Bildungszone befindet sich demnach im Bereich zwischen Soma und stn.

In den Abb. 3.21 und Abb. 3.24 sind in den intrazellulären Ableitungen aus dem Soma des AGR Membranpotentialänderungen mit unterschiedlicher Amplitude registriert worden. In Abb. 3.24

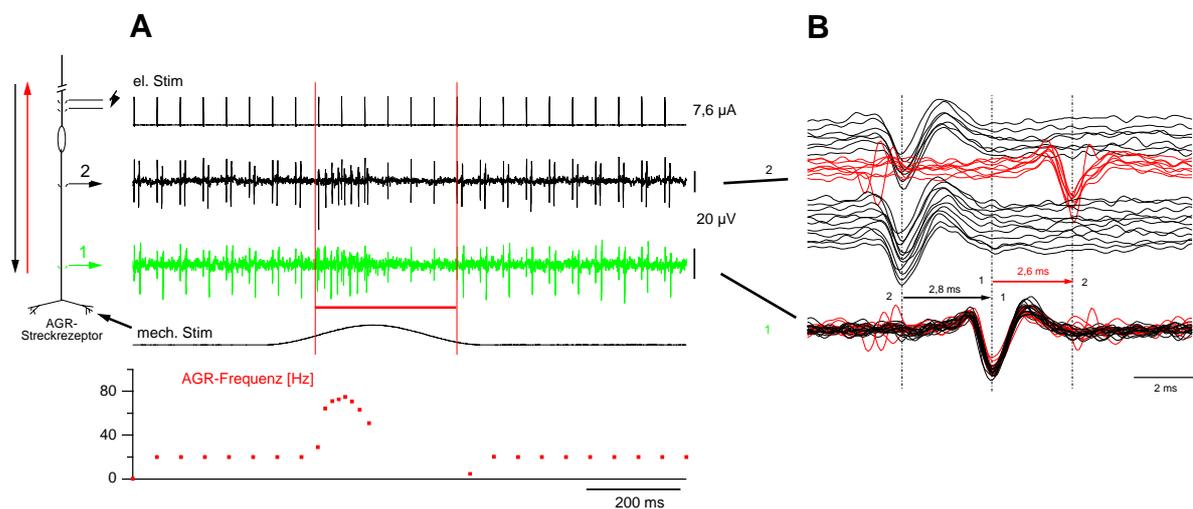


**Abb. 3.24:** *In vitro* zeigen intrazelluläre Ableitungen aus dem bipolaren Soma des AGR (Foto: Lucifer Yellow Färbung) und extrazelluläre Ableitungen von dgn und stn spontane Aktionspotentiale verschiedener Form und Amplitude. Sensorisch ausgelöste Aktionspotentiale treten zuerst im dgn (Elektroden 1 und 2) dann im Soma (Elektrode 3) und zuletzt im stn (Elektroden 4 und 5) auf. Spontane Aktionspotentiale werden im Bereich des STG, abseits vom Soma gebildet. In diesem Beispiel muß die Bildungszone näher an den stn-Elektroden liegen, da die Aktionspotentiale zuerst im stn, mit aufsteigender Fortleitungsrichtung abgeleitet werden. Gleichzeitig breiten sich absteigende Aktionspotentiale in Richtung der sensorischen Dendriten aus; diese erscheinen zuerst am Soma und dann erst an den dgn-Elektroden (2 und 1).

besitzt das sensorische Aktionspotential ein kleines Vor- und ein großes Nachpotential, während das tonische Aktionspotential nur ein großes Potential ausbildet. In Abb.3.21 sind die tonischen Aktionspotentiale von kleiner Amplitude, denen unregelmäßig ein größeres Potential folgen konnte. Der kurze sensorisch ausgelöste Burst besteht dagegen aus Aktionspotentialen mit großer Amplitude. Diese Unregelmäßigkeiten gingen mit einer gestörten Fortleitung der Aktionspotentiale über das Soma einher, die vor dem Einstechen der Glasmikroelektrode an den extrazellulären Ableitungen nicht vorhanden waren. Es wurden 23 *in vitro*-Experimente durchgeführt, in denen der AGR 10 mal erfolgreich intrazellulär abgeleitet werden konnte. In diesen 10 Experimenten war es nicht möglich, mehr als zweimal mit der Glasmikroelektrode in den AGR hineinzugelangen.

### 3.3.4 Elektrische Reizung des stn

Da die tonischen Aktionspotentiale des AGR im Bereich des STG gebildet werden, kann die tonische Frequenz kein Ausdruck für den Zustand der Muskelspannung der Medianzahnprotraktoren sein. Es wäre daher möglich, daß die Ruhefrequenz mit ihren absteigenden Aktionspotentialen im dgn einen Einfluß auf die Empfindlichkeit des Rezeptors hat oder die sensorischen Aktionspotentiale beeinflusst. Durch elektrische Reizung wurden im



**Abb. 3.25: Interaktion von aufsteigenden und absteigenden Aktionspotentialen:** Elektrische Reizung des stn erzeugt künstliche deszendierende AGR-Aktionspotentiale die im dgn ableitbar sind. Gleichzeitige mechanische Stimulation der Rezeptorendigungen löst aufsteigende sensorische Aktionspotentiale aus.

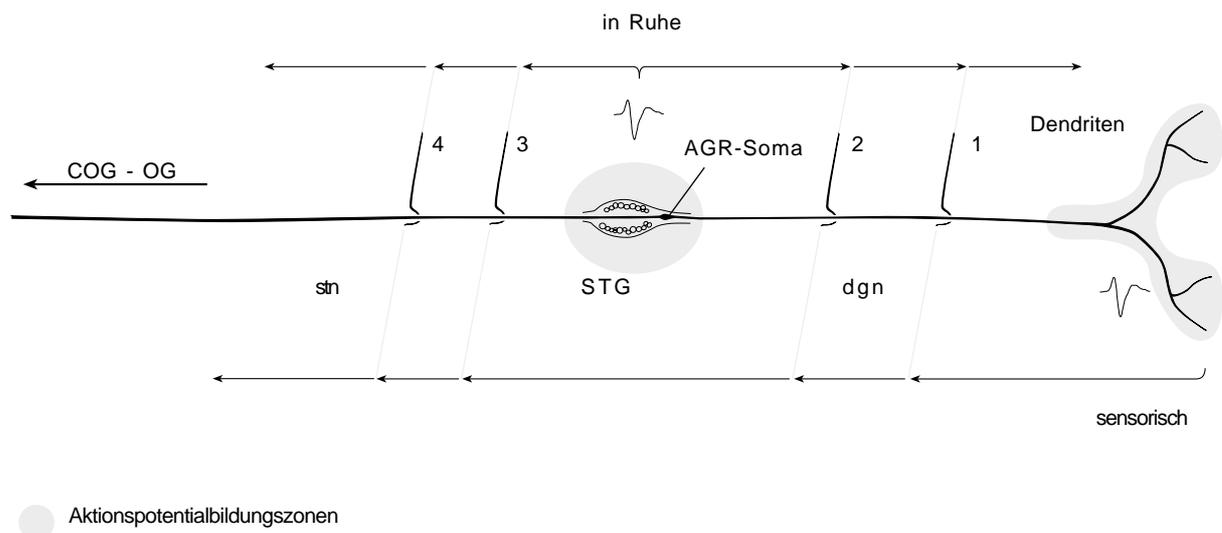
**A** Die absteigenden Aktionspotentiale fallen während und kurz nach der mechanischen Reizung aus, das heißt den nadelförmigen Reizartefakten folgt dann nicht jedesmal ein Aktionspotential. Dagegen werden alle 8 durch die mechanische Reizung ausgelösten Aktionspotentiale nach oben fortgeleitet, absteigende Spikes, die ja weiterhin an den Reizelektroden entstehen haben keinen Einfluß auf die Fortleitung der aufsteigenden Spikes (rote Begrenzungsmarken). Ferner haben Kontrollversuche mit unterschiedlichen Frequenzen der elektrischen Reizung auch keinen Einfluß auf die Entstehung der sensorischen Aktionspotentiale im Sinne einer Empfindlichkeitsänderung zeigen können.

**B** Sensorische Aktionspotentiale, die durch mechanische Reizung ausgelöst wurden (rot dargestellt), haben die afferente Fortleitungsrichtung (roter und schwarzer Pfeil), sie erscheinen zuerst an Elektrode 1 dann an Elektrode 2. Die durch die elektrische Reizung (schwarz dargestellt) ausgelösten Aktionspotentiale sind dagegen zuerst an Elektrode 2 und dann erst an Elektrode 1 zu finden.

stn künstliche AGR-Aktionspotentiale mit variabler Frequenz erzeugt, die sich in Richtung der Dendriten ausbreiteten und an den dgn-Elektroden abgeleitet werden konnten. Gleichzeitige künstliche mechanische Stimuli während der elektrischen Reizung führten immer zu sensorischen Aktionspotentialen mit afferenter Fortleitungsrichtung (Abb.3.25). Die mechanischen Reizantworten des AGR zeigten keine Unterschiede zu denen, die aus Experimenten an intakten

Tieren gewonnen wurden. Der künstliche mechanische Stimulus erzeugte eine kurze hochfrequente Salve von Aktionspotentialen, nach der, trotz anhaltender elektrischer Stimulierung des stn, die typische kurze postexzitatorische Depression ohne Aktionspotentiale folgte. Die mechanische Reizantwort des AGR blieb auch dann erhalten, wenn die elektrische Impulsfrequenz mit bis zu 100Hz weit jenseits der normalen tonischen Feuerrate lag. Auch unter diesen Bedingungen konnte nicht beobachtet werden, daß auf- und absteigende Aktionspotentiale sich gegenseitig auslöschten. Inwieweit die künstlichen Aktionspotentiale die Entstehung der sensorischen Aktionspotentiale beeinflussen, ist dadurch nicht geklärt. Die Pausen zwischen den einzelnen Reizimpulsen reichten immer aus, um sensorische Aktionspotentiale aufsteigen zu lassen.

In Ruhe bildet der AGR im Bereich des STG tonische Aktionspotentiale, die sowohl den stn in Richtung der höheren Ganglien aufsteigen, als auch den dgn in Richtung der Dendriten hinabsteigen (Abb.3.26). Mechanisch ausgelöste sensorische Aktionspotentiale besitzen



**Abb. 3.26:** Die Aktionspotentiale des AGR wurden mit bis zu fünf Elektroden abgeleitet. Mechanische Reizungen der Dendriten führen zu einer Reizantwort, deren Aktionspotentiale zuerst an den dgn-Elektroden (1 und 2), dann im Soma und schließlich an den stn-Elektroden abgeleitet werden können. In Ruhe bildet der AGR spontan tonische Aktionspotentiale, die im stn immer zuerst Elektrode 3 und dann Elektrode 4 passieren. Im dgn erscheinen diese Aktionspotentiale zuerst an Elektrode 2 und danach an Elektrode 1. Demnach besitzt der AGR zwei Aktionspotentialbildungszonen: eine im Bereich der Dendriten und eine im Bereich des STG. Je nach dem, welche der beiden Aktionspotentialbildungszonen aktiv ist, kehrt sich die Fortleitungsrichtung der AGR-Aktionspotentiale im dgn um, während sie im stn konstant bleibt.

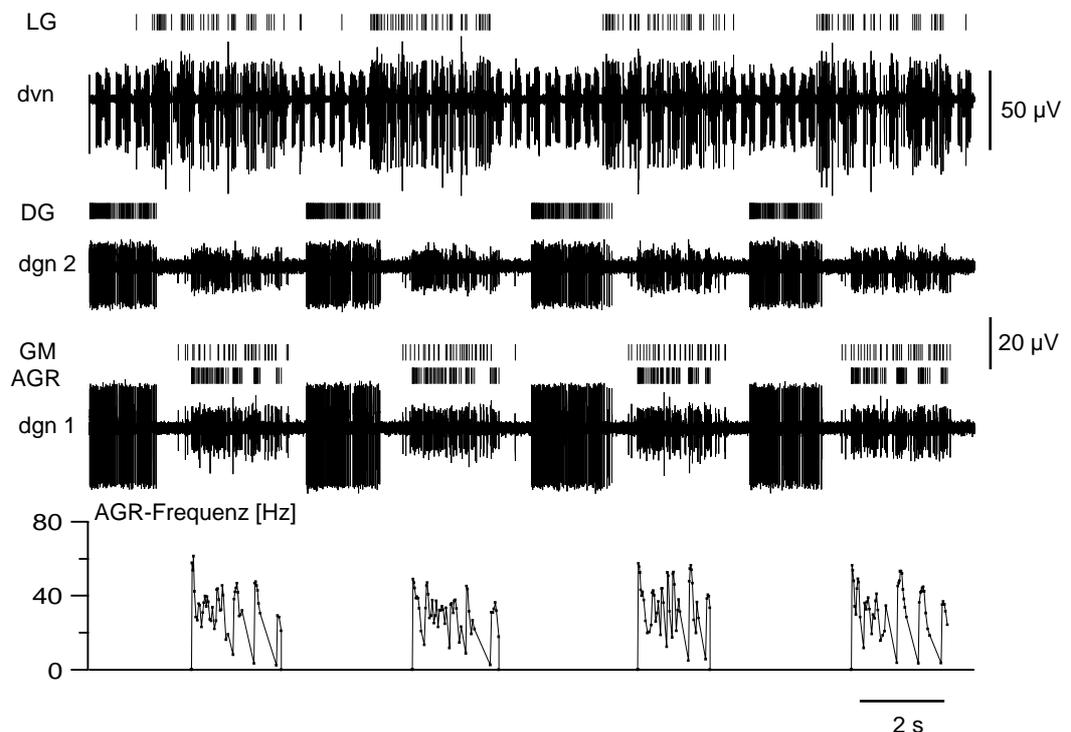
ausschließlich die afferente Fortleitungsrichtung und sind zuerst im dgn, dann im Soma und zuletzt im stn zu registrieren. Dieser Befund läßt sich auf zwei getrennte Aktionspotentialbildungszonen zurückführen. Die eine befindet sich im Bereich des STG und ist hauptsächlich spontan aktiv, das heißt es werden Aktionspotentiale mit einer tonischen Frequenz gebildet. Die andere Aktionspotentialbildungszone ist nahe der sensorischen Dendritenregion lokalisiert und wird durch mechanische Stimulierung des AGR aktiviert. Eine gegenseitige Beeinflussung von tonischen und sensorischen Aktionspotentialen oder eine Veränderung der sensorischen Empfindlichkeit konnte nicht nachgewiesen werden.

## 3.4 Die Rolle des Rezeptors im intakten Regelkreis

### 3.4.1 AGR-Phasenbeziehung im gastrischen Rhythmus

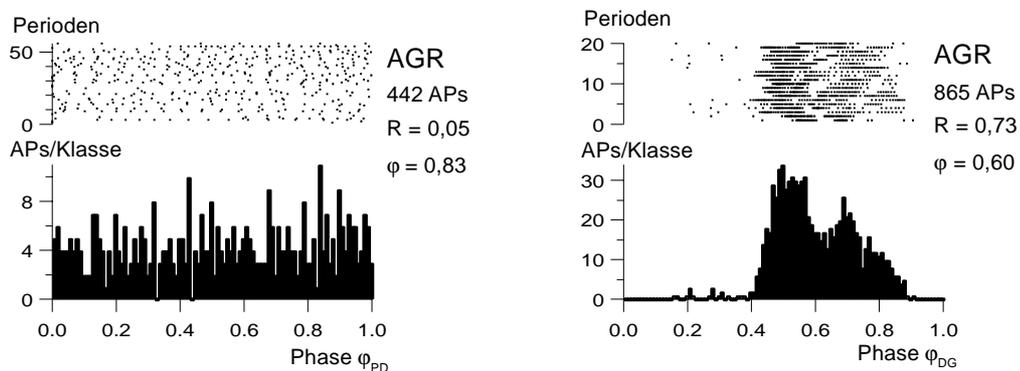
Die neuronalen Rhythmen der gastrischen Motoneurone lösten *in vivo* Bewegungen der gastrischen Mühle aus (Abb. 2.1, Abb.3.1). Die vier GM-Neurone innervieren die gm1-Muskeln, die den Medianzahn nach frontal ziehen. Das einzelne DG-Neuron innerviert die antagonistischen gm4-Muskeln. Der alternierende Wechsel von DG- und GM-Bursts, wie er im dgn abgeleitet werden konnte, führte zu alternierenden Bewegungen des Medianzahnes. Außer diesen Motoneuronen enthält der dgn auch das Axon des AGR.

Der Rezeptor mißt mit seinen Dendriten die Muskelspannung der gm1-Muskeln in ihren Ansatzstellen an der Medianzahnbasis. Während der gastrischen Rhythmen wurde er regelmäßig



**Abb. 3.27: AGR-Aktivierung durch die Medianzahnprotraktoren.** Durch eine Fütterung wurde dieser gastrische Rhythmus induziert. In den dgn-Spuren alternieren DG und GM (Marken über den dgn-Spuren), die Motoneurone die die Medianzahnre- und -protraktoren innervieren. Der AGR, dessen Dendriten an der Medianzahnbasis in die Muskelansatzstellen der Medianzahnprotraktoren inserieren, feuert nur noch sensorische Aktionspotentiale während der GM-Salven. Etwas früher als GM startet das LG-Motoneuron (Marken über der dvn-Spur) seinen gastrischen Burst, welches die Lateralzahnschließer innerviert. Neben den langsamen gastrischen Salven von LG ist in der dvn-Ableitung auch der schnelle, triphasische pylorische Rhythmus zu erkennen. Interessanterweise besitzen die AGR-Salven kurze Unterbrechungen, die synchron zu den im pylorischen Takt unterbrochenen LG-Salven erfolgen, so daß hier ein Zusammenhang zwischen der sensorischen AGR-Aktivität und den Schließbewegungen der Lateralzähne vermutet werden kann.

durch den Kraftzug des Medianzahnes erregt. Dies äußerte sich in einer erhöhten Entladungsrate der AGR-Aktionspotentiale während der GM-Bursts (Abb.3.27). Nach leichter Erregung, die sich in leichten Frequenzanstiegen der Aktionspotentiale äußerten, kehrte der AGR zur tonischen Entladungsrate zurück (Abb.3.21). Oft wurde der AGR jedoch stärker erregt. Er bildete dann mehrere kurze Bursts aus, die mit transienten Aktivitätssteigerungen der GM-Neurone abwechselten. In den Frequenzdiagrammen der AGR-Aktionspotentiale sind dann mehrere Frequenzanstiege pro GM-Burst zu beobachten. In Abb. 3.27 scheinen diese AGR-Bursts einen Bezug zum pylorischen Rhythmus zu besitzen, der in Untersuchungen an anderen Taschenkrebsen nicht nachgewiesen werden konnte (Abb. 3.28). Nach diesen hochfrequenten Salven hörte der Rezeptor vollständig auf zu feuern und bildete eine postexzitatorische Pause. Selbst während der antagonistischen DG-Bursts wurden nur vereinzelt tonische Aktionspotentiale aufgezeichnet.



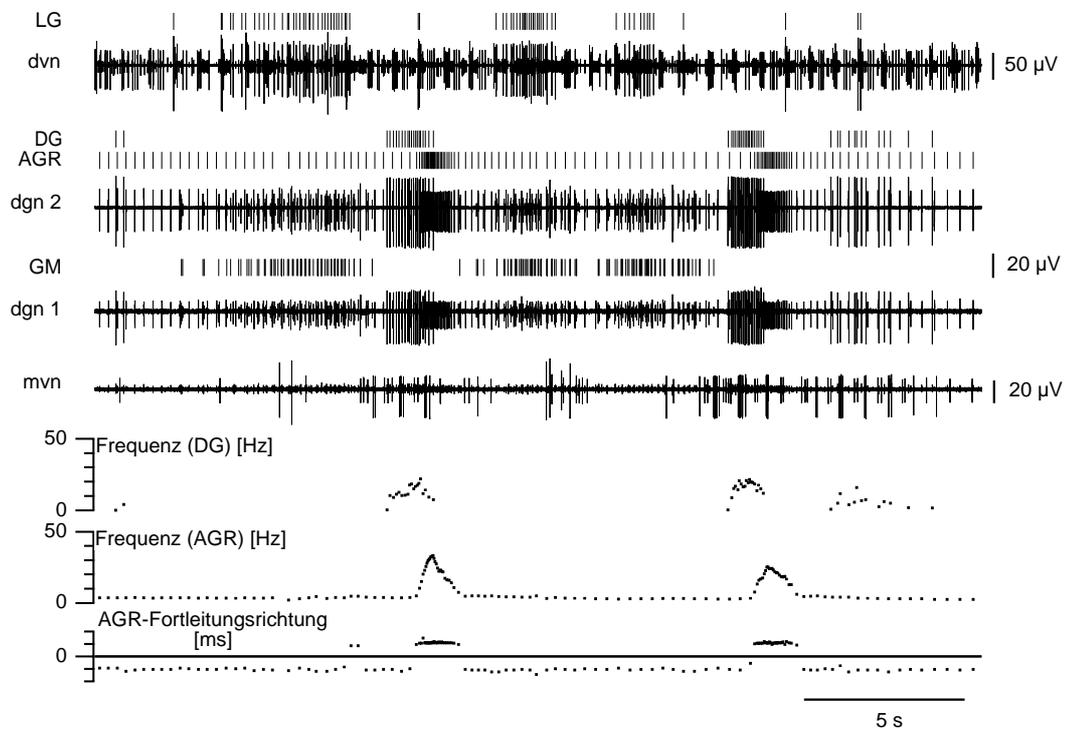
**Abb. 3.28: Phasenhistogramme von AGR-Aktionspotentialen:** während eines gastrischen Rhythmus: links auf die pylorische Periodendauer von PD normiert, rechts auf die gastrische Periodendauer von DG normiert. Die Vektordaten ergeben für den AGR keinerlei Bezug zum pylorischen Rhythmus ( $R_{AGR} = 0,05$ ), während im gastrischen Rhythmus ein deutlicher Phasenbezug mit  $R_{AGR} = 0,73$  in der Phase  $\varphi_{DG} = 0,60$  existiert.

Diese Aktivierungen des AGR durch die Bewegungen des Medianzahnes hatten eine feste Phasenlage im gastrischen Rhythmus. Sie erfolgten sowohl während spontaner als auch futterinduzierter gastrischer Rhythmen und sie traten ebenso während pharmakologisch induzierter Rhythmen auf. Im gastrischen Phasenhistogramm mit dem Burstanfang von DG als Bezugswert akkumulierten die Aktionspotentiale (Abb.3.28) im nahezu gleichen Bereich wie die GM-Aktionspotentiale. Der gastrische Summenvektor erreicht eine Länge von  $R_{AGR} = 0,73$  und weist in die Richtung  $\varphi_{DG} = 0,60$ .

Zum pylorischen Rhythmus ließ sich in diesem Beispiel kein Zusammenhang nachweisen. Die Aktionspotentiale des Rezeptors sind über die pylorische Periodendauer von PD zufällig verteilt. Dies wird auch durch die pylorische Vektorlänge von  $R_{AGR}=0,05$  verdeutlicht.

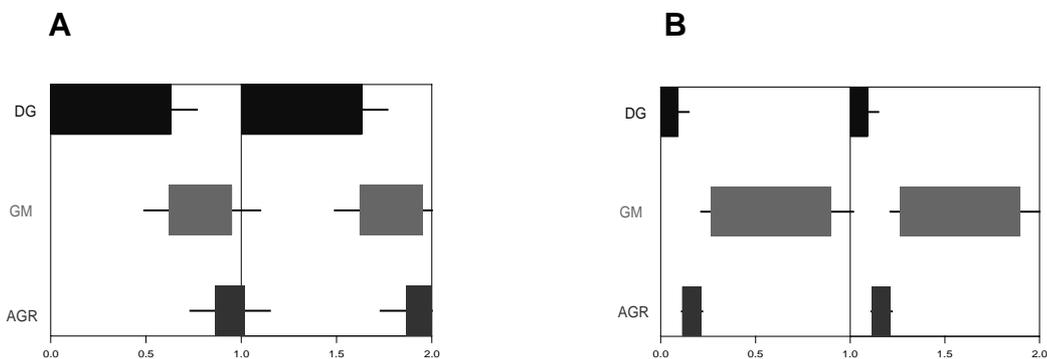
### 3.4.2 AGR – Kettenreflex

*In vivo* aufgezeichnete Übergänge vom pylorischen zum gastrischen Rhythmus (Abb.3.3) zeigen, daß diese Anfangsphase von DG-Oszillationen begleitet wurde, die erst allmählich in einen gastrischen Rhythmus übergingen. Dabei kam es vor, daß der AGR durch die



**Abb. 3.29: *In vivo* Aktivierung des AGR durch den antagonistischen Muskel:** Die Dendriten des AGR inserieren an den Muskelansatzstellen der von den GM-Motoneuronen innervierten Medianzahnprotraktoren (gm 1; Abb. 2.1 und Abb.3.2). Sie können aber auch durch den Zug der antagonistischen Retraktoren (gm 4) aktiviert werden, die durch das DG-Motoneuron innerviert werden. Der AGR feuert hier verstärkt während der DG-Aktivität eines spontanen gastrischen Rhythmus. Analysen der Doppelableitung des dgn haben gezeigt, daß die mit DG synchronen AGR-Aktionspotentiale in der Dendritenregion entstehen. Zwischen den DG-Bursts treten nur tonische AGR-Aktionspotentiale auf, die auf Grund der anderen absteigenden Fortleitungsrichtung im stomatogastrischen Ganglion entstehen müssen.

Im unteren Teil der Abbildung sind die Frequenzen der Aktionspotentiale von DG und AGR aufgetragen. Ganz unten ist die AGR-Fortleitungsrichtung der AGR-Aktionspotentiale dargestellt. Die endliche Geschwindigkeit, mit der Aktionspotentiale entlang der Axonmembran fortgeleitet werden, bedingt einen Zeitunterschied (Latenz), mit dem dieses Aktionspotential an zwei räumlich voneinander getrennten Orten auftritt. Für diese Art der Darstellung wird der Zeitpunkt, an dem ein Aktionspotential Elektrode 1 passiert als  $t = 0$  definiert. Ein sensorisch ausgelöstes Aktionspotential passiert erst Elektrode1 dann Elektrode2; diese Latenz erhält einen positiven Wert. Umgekehrt gilt: ein Aktionspotential, das im STG entsteht, erscheint früher an Elektrode2 als an Elektrode1; diese Latenz erhält ein negatives Vorzeichen.



**Abb. 3.30: Phasendiagramme.** Der AGR mißt die Muskelspannung der Medianzahnprotraktoren an der Medianzahnbasis.

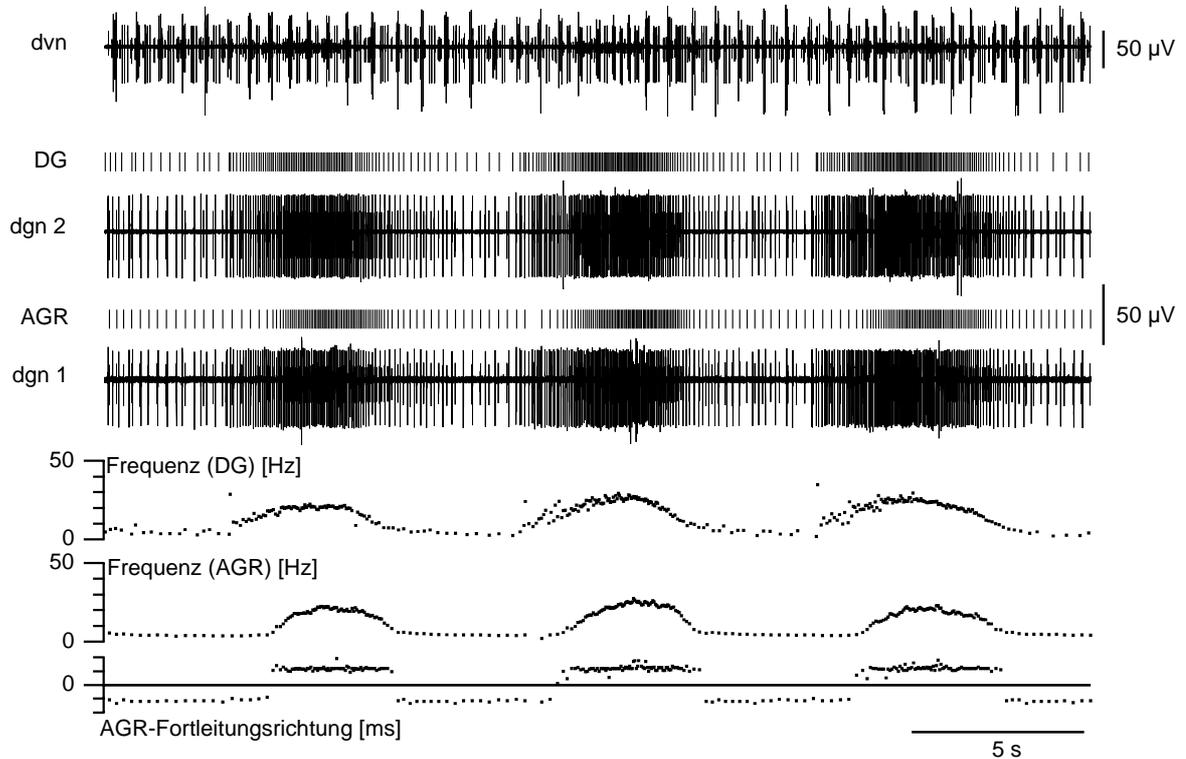
**A** Der AGR wird normalerweise während der GM-Salven durch den Kraftzug der gm1-Muskeln erregt.

**B** Er kann aber auch durch Kontraktionen der antagonistischen, DG-aktivierten gm4-Muskeln erregt werden und feuert dann phasenverschoben vor dem GM-Burst.

Rückziehbewegungen des Medianzahnes aktiviert wurde (Abb. 3.29). Die Phasenlage der Rezeptorantwort war in diesen Fällen nach vorne, an das Burstende von DG verschoben (Abb.3.30). Im weiteren Verlauf, während sich der gastrische Rhythmus stabilisierte, wechselte die Phasenlage der Rezeptoraktivierung von der Re- zur normalen Protraktion des Medianzahnes. Der Übergang konnte fließend erfolgen, so daß der AGR mit seiner Frequenzerhöhung den Wechsel der Medianzahn-Bewegungsrichtung markierte (Abb.3.21).

Durch Pilocarpin induzierte gastrische Rhythmen verfügten oft über eine deutlich verlängerte Startphase, in der DG über einen längeren Zeitraum alleine oszillieren konnte. Bevor sich ein gleichmäßiger, gastrischer Rhythmus einstellte, konnte der AGR durch die Kontraktionen der Medianzahnretraktoren aktiviert werden. Er feuerte zeitlich verzögert und synchron mit DG (Abb.3.31). Erst mit Ausbildung eines regelmäßigen gastrischen Rhythmus, in dem die GM-Neurone im Wechsel mit DG feuerten, wurde der AGR wieder durch die Protraktoren aktiviert.

Mit großer Wahrscheinlichkeit ist der AGR, nach einer längeren Ruheadaptation, in der Startphase sensibler für passive Dehnungen der Muskelansatzstellen, in die er mit seinen Dendriten inseriert. Diese leichte Erregbarkeit des AGR ermöglicht jedoch über die positive Rückkoppelungsschleife, nach SIMMERS & MOULINS (1988a,b), die Aktivierung der GM-Neurone. Der AGR kann so in Form eines Kettenreflexes helfen, einen gastrischen Rhythmus zu starten und zu stabilisieren.



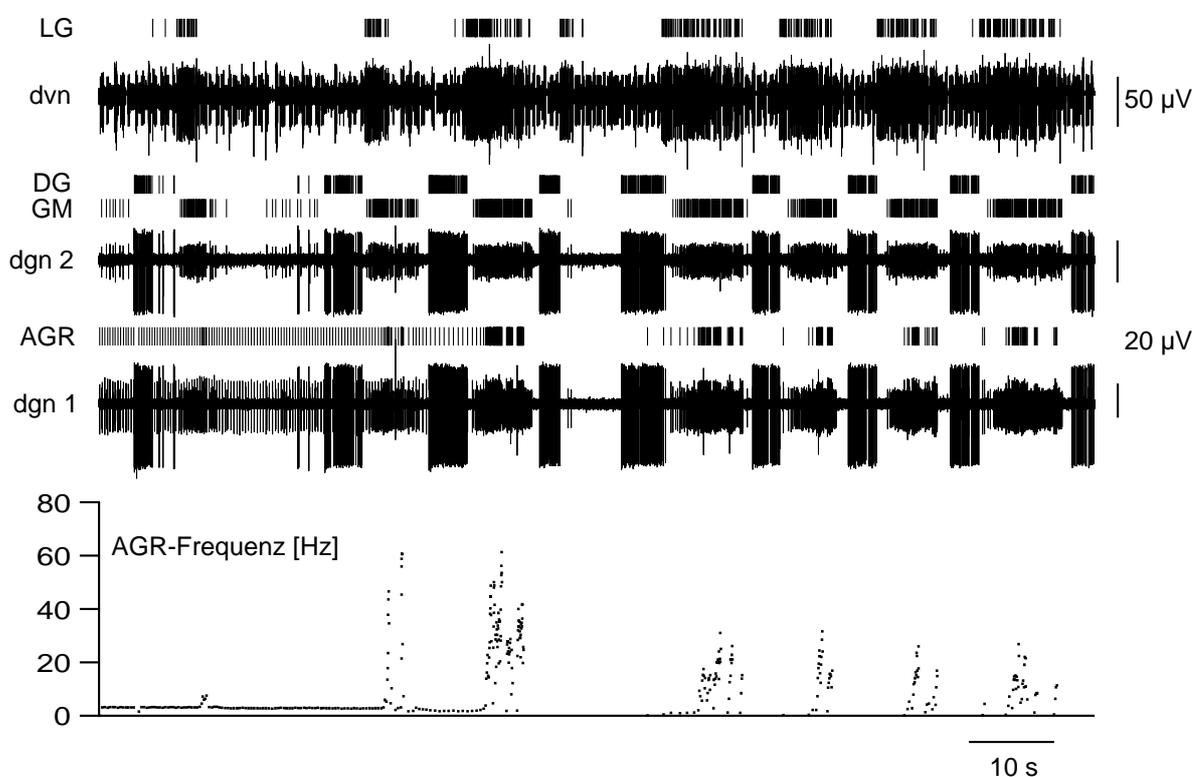
**Abb. 3.31: Durch Pilocarpin *in vivo* induzierte Aktivität:** 4 Minuten nach einer Injektion mit Pilocarpin (0,5 ml 0,1M) beginnt ein gastrischer Rhythmus, bei dem die GM-Motoneurone und somit der Muskel gm1, an dessen Basis AGR liegt, ruhig bleiben. Auch hier sind AGR und DG synchron aktiv und ebenso feuert der AGR zwischen den DG-Bursts tonische ganglionäre Aktionspotentiale mit absteigender Fortleitungsrichtung. Durch diese AGR-Aktivierung während der DG-Bursts könnte der AGR aufgrund seiner positiven Verschaltung mit den GM-Motoneuronen im Sinne eines Kettenreflexes Schwingungen der gastrischen Mühle fördern, indem er nach Aktivierung durch DG seinerseits die GM-Motoneurone aktiviert.

Eine Aktivierung durch den antagonistischen Muskel überträgt er auf die Interneurone in den Kommissuralganglien, die ihrerseits die Motoneurone aktivieren, an deren Muskelansatzstellen der AGR wiederum erregt wird.

### 3.4.3 Reflexumkehr

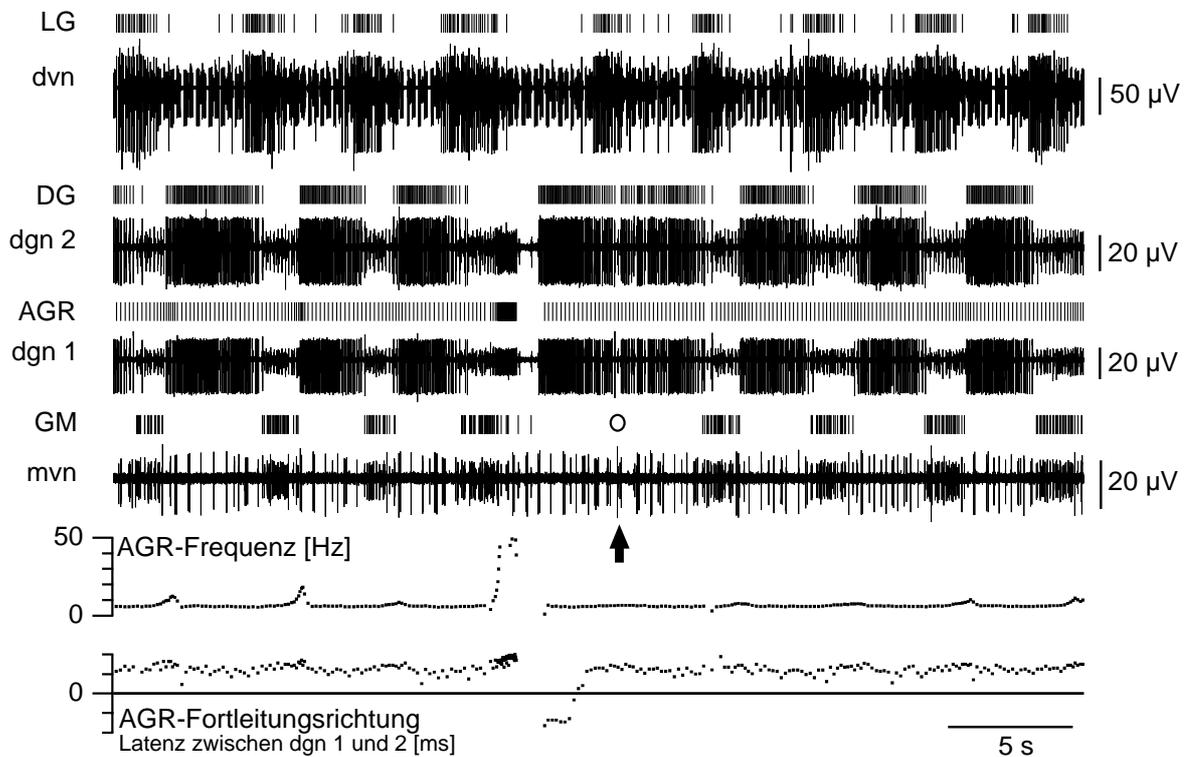
Gastrische Bewegungen des Medianzahnes führten *in vivo* zu phasischen Erregungen des AGR während der GM-Bursts. Die Stimulierung des AGR durch die Medianzahnprotraktoren erfolgte sehr variabel. Sie reichte von leichten Frequenzerhöhungen der tonischen Aktionspotentiale bis hin zu mehreren, höherfrequenten Salven während eines einzelnen GM-Bursts. Meist blieb die Rezeptorantwort niederfrequent und war über mehrere gastrische Zyklen hinweg sehr konstant.

In einzelnen Fällen kam es jedoch vor, daß der AGR, vermutlich durch einen Biß auf einen harten Gegenstand im Futter, plötzlich und deutlich stärker stimuliert wurde, als es in den



**Abb. 3.32: Reflexumkehr des gastrischen Medianzahn-Subsystems.** *In vivo* treten immer wieder spontane gastrische Rhythmen auf. Der AGR (Marken über der dgn1-Spur) bildet anfangs tonische Aktionspotentiale, die durch die Bewegungen der von DG und GM (Marken über der dgn2-Ableitung) innervierten Muskeln kaum beeinflusst werden. Nach der zweiten und dritten DG-Salve wird der AGR während der GM-Salven stark erregt. Die Folge ist, daß nach der vierten DG-Salve nur noch zwei GM-Aktionspotentiale gebildet werden, der eigentliche Burst bleibt aber aus. Anschließend wird der gastrische Rhythmus sehr regelmäßig fortgesetzt.

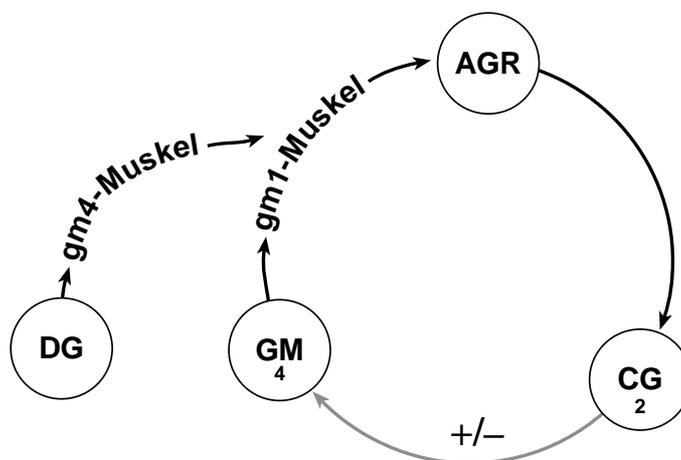
Dieses Beispiel für eine Reflexumkehr des Medianzahnsystems wurde bereits von WEIGELDT 1993 gezeigt; die Separation der Aktionspotentiale erfolgte seinerzeit mit einem Fensterdiskriminator allein aufgrund ihrer Amplituden. Zur erneuten Darstellung wurden die Zeitpunkte der Aktionspotentiale mit dem SuperScope® Instrument: SpikeMark (Abb. 2.7) ermittelt und um die Markierungen für LG ergänzt. Dabei zeigte sich, daß die AGR-Aktionspotentiale der dgn2-Ableitung hier nicht fehlen, sondern nur sehr kleine Amplituden besitzen, die sich kaum aus dem Rauschen abheben, so daß davon ausgegangen werden kann, daß die Fortleitung nicht gestört ist. Alle AGR-Aktionspotentiale entstehen, in diesem Beispiel, in der Dendritenregion.



**Abb. 3.33: Reflexumkehr des gastrischen Medianzahnsystems.** Dieser gastrische Rhythmus wurde *in vivo* durch eine Pilocarpin-Injektion (0,5 ml, 0,1 M) ausgelöst. Auch hier ist der Rhythmus durch ein Alternieren von DG (Marken über der dgn2-Spur) und GM (Marken zwischen den dgn1- und mvn-Spuren) charakterisiert. Zusätzlich ist in der dvn-Ableitung das Motoneuron der Lateralzahnschließer (LG-Marken über dvn-Spur) synchron zu GM aktiv. Während der ersten drei gastrischen Perioden reagiert AGR (Marken über der dgn1-Spur) mit leichten Frequenzanstiegen auf die GM-Aktivität. Der vierte GM-Burst treibt die AGR-Frequenz deutlich weiter hoch (siehe unten), in Folge ist der nächste DG-Burst verlängert. LG feuert im alten Rhythmus weiter, der nächste GM-Burst bleibt jedoch aus (Kreis zwischen den GM-Marken). Nach diesem starken Frequenzanstieg macht AGR eine kurze Pause und kehrt anschließend für kurze Zeit seine Fortleitungsrichtung um (untere Kurve). Das heißt, die ganglionäre Aktionspotential-Bildungszone fängt zuerst wieder an zu feuern, wird dann aber noch während der DG-Salve wieder von der sensorischen Aktionspotential-Bildungszone abgelöst.

vorhergehenden gastrischen Perioden der Fall war (Abb. 3.32, Abb.3.33). Während des direkt darauffolgenden gastrischen Zyklus fehlte dann der GM-Burst. Die vorher alternierende Abfolge von DG und GM wies dann zu der Zeit eine Lücke auf, zu der ein GM-Burst hätte stattfinden sollen. Erst nach dem übernächsten DG-Burst wurde der gastrische Rhythmus normal fortgesetzt (Abb.3.32). Alternativ konnte der Rhythmus durch einen deutlich verlängerten DG-Burst fortgeführt werden (Abb.3.33). In beiden Fällen bildete der gastrische LG-Burst eine Zeitmarke, ab der ein GM-Burst normalerweise folgte.

Die hier gezeigten *in vivo*-Aktivitäten von GM und AGR belegen die aus *in vitro*-Experimenten an Hummern von SIMMERS & MOULINS (1988a,b) geforderten Verschaltungen des Rezeptors (Abb.3.34):



**Abb. 3.34: Biologische Bedeutung.** Der AGR schließt über die CG-Interneurone, die GM-Motoneurone und die gm1-Muskeln eine positive Rückkopplungsschleife. Ein Widerstand, der die Vorwärtsbewegung des Medianzahnes behindert, führt über diese **positive Reflexschleife** zu einer stärkeren Erregung des AGR und damit zu einer größeren Kraftentwicklung der gm1-Muskeln.

Eine intrinsische Eigenschaft der CG-Interneurone verhindert das Aufschaukeln dieser Reflexschleife. SIMMERS & MOULINS (1988b) konnten für den Hummer zeigen, daß die CG-Interneurone der Erregung durch den AGR nur begrenzt folgen und bei Überschreiten einer oberen Schwelle aufhören, Aktionspotentiale zu bilden. Dadurch fällt die Erregung von GM weg und die gm1-Muskeln entspannen sich. Eine solche **Reflexumkehr** kann sich, *in vivo* beim Taschenkrebs, während eines gastrischen Rhythmus bis in den nächsten Zyklus erstrecken und dort zum Ausbleiben einer ganzen GM-Salve führen (Abb. 3.32 und Abb.3.33).

Außerdem kann der AGR durch die von DG innervierten, antagonistischen Muskeln (gm4) aktiviert werden (Abb.3.29 und Abb.3.31), wenn diese die gm1-Muskeln passiv dehnen. Diese Reihenfolge bietet die Möglichkeit in Form eines **Kettenreflexes** einen gastrischen Rhythmus zu starten und zu stabilisieren.

1. Der AGR ist über ein Interneuron in den Kommissuralganglien erregend mit den GM-Motoneuronen verschaltet. Somit kann GM-induzierte Rezeptoraktivierung in einer positiven Rückkopplung den nächsten GM-Burst verstärken.

2. Reflexumkehr: Eine intrinsische Eigenschaft (Ausfall der Aktionspotential-Bildung bei Erreichen einer oberen Membranpotentialschwelle) unterbricht die positive Rückkopplungsschleife, das heißt der nächste GM-Burst fällt aus, während aber der Antagonist (DG) feuert (= Reflexumkehr). Die Unterbrechung wirkt sich nicht nur auf den aktuellen Burst aus, sondern erstreckt sich bis in die nächste Periode.

3. Kettenreflex: Die Erregung des AGR durch die Antagonisten erleichtert über den Reflexbogen die Bildung eines stabilen gastrischen Rhythmus.

## 4. Diskussion

### 4.1 Interartliche Vergleichbarkeit

Wie die gesamte Systematik werden zur Zeit auch die verwandtschaftlichen Beziehungen der dekapoden Krebse kontrovers diskutiert (KAESTNER 1993, WESTHEIDE & RIEGER 1996, STORCH & WELSCH 1997). Obwohl es Unterschiede hinsichtlich der Muskulatur und deren Innervierung gibt, überwiegen doch die Gemeinsamkeiten (MAYNARD & DANDO 1974; HOOPER ET AL. 1986). Nach JOHNSON & HOOPER (1992) existiert zwischen den verschiedenen Krabben (Brachyura), Hummern (Astacura) und Langusten (Palinura) ein hoher Grad der Konservierung bei den verschiedenen Muskeln des STNS, aber eine deutlich höhere Konservierung bezüglich der Innervierung der spezifischen Muskeln durch ihre Motoneurone. Es scheint ein generelles Phänomen zu sein, daß evolutorische Veränderungen des Bewegungsapparates zuerst auf der Ebene der Muskulatur stattfinden, während das Nervensystem eher konservativ bleibt. Auch für die vordere Wirbeltierextremität wurde dies in vergleichenden Untersuchungen nachgewiesen (FISCHER 2001).

Die neuronalen Ausgangsmuster des STG weisen über die Gattungsgrenzen hinaus sehr große Ähnlichkeiten auf (KATZ & TAZAKI 1992). *Cancer pagurus* als ein Vertreter der Brachyura lebt als marine Art in den Küstenregionen Europas. *Cherax destructor* (Astacura) bewohnt limnische Habitate in Australien. Beide beispielhaft genannte Arten existieren räumlich sehr weit voneinander getrennt und auch ihr äußeres Erscheinungsbild weist sie als evolutorisch lange getrennte Zweige der dekapoden Krebse aus. Trotzdem sind die Aktivitätsmuster der stomatogastrischen Motoneurone bei beiden Arten nahezu identisch (HAHLEN 1999, WEIGELDT ET AL. 2002).

## 4.2 Rhythmen im Tier

Die große Zahl der verschiedenen Neuromodulatoren, deren Vorkommen im STG nachgewiesen wurde, ermöglichen *in vitro* eine enorme Bandbreite die motorischen Ausgangsmuster zu variieren (MARDER ET AL. 2002). Die Muster, die hier *in vivo* an freibeweglichen Taschenkrebsen abgeleitet wurden, zeigten dagegen nur geringe Veränderungen. So konnte der pylorische Rhythmus über lange Zeiträume mit relativ konstanter Periodendauer gebildet werden. Die Wirkungen der endogenen Neuromodulatoren beschränkten sich hauptsächlich auf die spontane Aktivierung der cardiopylorischen Motoneurone oder des gastrischen Rhythmus und deren ebenso spontane Beendigung. Das größte Gleichmaß der beiden Rhythmen wurde durch Fütterungen erreicht. Gastrische Rhythmen konnten nach einer Fütterung über zwei Stunden bestehen bleiben. Vor allem die Reihenfolge, mit der die Motoneurone den Rhythmus bilden, blieb unverändert. Für die gastrischen Zellen bedeutet dies, daß immer die Reihenfolge, die den cut-and-grind Modus ausmacht, beibehalten wurde. Unter den closed-loop Bedingungen im freibeweglichen Taschenkrebs ist es sehr wahrscheinlich, daß die Rhythmen einer strengen sensorischen Kontrolle unterliegen (HEINZEL ET AL. 1993b). Den Neuromodulatoren kommt dabei die Funktion zu, die Netzwerkaktivitäten an unterschiedliche physiologische Konditionen anzupassen (BÖHM ET AL. 1998).

## 4.3 Wechselseitige Modulationen

Pylorisches und gastrisches Netzwerk sind keine Neuronenpopulation, die unabhängig voneinander ihre rhythmischen Muster generieren (WEIMANN ET AL. 1991). Allein die räumliche Nähe von cardiopylorischer Rinne, gastrischer Mühle und Pylorus machen ein hohes Maß an Koordination notwendig, die sich in Wechselwirkungen zwischen pylorischem und gastrischem Netzwerk ausdrücken. Es gibt verschiedene Möglichkeiten, wie diese Koordination realisiert wird. Die gegenseitigen Modulationen der rhythmischen Aktivitäten beider Netzwerke können netzwerkbedingt sein und durch direkte synaptische Verbindungen vermittelt werden (SELVERSTON & MOULINS 1987, HEINZEL 1990, MARDER & CALABRESE 1996, BÖHM ET AL. 1998, BARTOS ET AL. 1999) aber auch durch Mechanorezeptoren erfolgen (KATZ & HARRIS-WARRICK 1991). Mehrere

Neurone wurden beschrieben, die von den COG und dem OG via stn zum STG projizieren und dort das pylorische, das gastrische Netzwerk und die Koordination zwischen beiden beeinflussen (BLITZ & NUSBAUM 1997, BARTOS ET AL. 1999, BLITZ ET AL. 1999). Zusätzlich existieren Mechanorezeptoren, wie die gastro-pylorischen Rezeptorzellen (GPR), die beide Netzwerke im STG direkt beeinflussen und darüberhinaus auch Interneurone der höheren Ganglien innervieren, die wieder zum STG zurückprojizieren (KATZ & HARRIS-WARRICK 1990a,b). Die Beschreibung, wie beide Netzwerke unter möglichst natürlichen Bedingungen arbeiten, war Ziel dieser Arbeit.

Erstmals wurde hier ein Verfahren der Kreisstatistik eingesetzt, um die gegenseitige Beeinflussung der beiden stomatogastrischen Netzwerke zu beschreiben. Ein mittlerer Vektor, der aus den normierten Zeitpunkten von Aktionspotentialen gebildet wird, beschreibt durch seine Länge die Koppelung an den jeweils anderen Rhythmus. Dabei wird der Vektor um so länger, je stärker die Koppelung ist. Die maximale Länge  $R=1$  wird allerdings nur dann erreicht, wenn ein Neuron ein einzelnes Aktionspotential immer in der gleichen Phase des Bezugsrhythmus feuert.

Die Vektoren der pylorischen Neurone, die den Koppelungsgrad an den gastrischen Rhythmus darstellen, umfassen alle Aktionspotentiale, die während der ausgewerteten gastrischen Zyklen erfolgten. Da eine gastrische Periode mehrere pylorische Perioden umspannt, besitzen Neurone, die gleichmäßig über den gastrischen Zyklus verteilt weiterfeuern, eine kürzere Vektorlänge als solche, die aufgrund einer Koppelung ihre Feuerrate in einer bestimmten Phase des Zyklus reduzieren oder erhöhen. Bei den gastrischen Neuronen dauert ein einzelner Burst oft mehrere pylorische Perioden. Auch hier wird der Vektor länger, wenn ein gekoppelter Prozeß vorliegt. Dabei kann der Burstanfang in einer bestimmten pylorischen Phase beginnen oder eine regelmäßige Veränderung der Aktionspotentialfrequenz erfolgen.

Eine Schwierigkeit besteht in der Festlegung eines Wertes, der die Grenze zwischen gekoppeltem Prozeß und zufälliger Verteilung markiert. Die kürzeste Vektorlänge, die in dieser Arbeit als gekoppelter Prozeß angesehen wird, besitzt DG mit einem  $R_{DG}=0,2$  im pylorischen Rhythmus. Die tonischen AGR-Aktionspotentiale sind dagegen mit Sicherheit zufällig verteilt, wenn sie auf den pylorischen Rhythmus bezogen werden ( $R_{AGR}=0,05$  während eines rein pylorischen und  $R_{AGR}=0,014$  während eines gastrischen Rhythmus).

Die folgende Tabelle faßt noch einmal die Vektordaten für einen gastrischen Rhythmus zusammen; pylorische und gastrische Zellen sind nach ihren Vektorlängen angeordnet:

Pylorische Zellen im gastrischen Rhythmus	Gastrische Zellen im pylorischen Rhythmus
$R_{VD} = 0,73$	$R_{MG} = 0,67$
$R_{IC} = 0,67$	$R_{LG} = 0,26$
$R_{LP} = 0,47$	$R_{DG} = 0,20$
$R_{PY} = 0,27$	$R_{AGR} = 0,05$
$R_{PD} = 0,22$	$R_{GM} = 0,03$

Die Motoneurone der cardiopylorischen Rinne bilden einen hybriden gastro-pylorischen Rhythmus aus, der sich folgendermaßen in der Vektorlänge niederschlägt: beide pausieren, während die Lateralzähne geschlossen werden und der Medianzahn nach vorne bewegt wird. Während der pylorisch getakteten Aktivität von IC und VD führen die Lateralzähne pylorische Pumpbewegungen durch, die zum Teil durch die von IC getriebenen Muskeln mit verursacht werden (HEINZEL ET AL. 1993b).

Von den pylorischen Zellen erfahren LP und die PY-Zellen die größten Veränderungen im Laufe des gastrischen Zyklus. Die Burst-Aktivität von LP ist, wie die von IC und VD, während des gastrischen LG-Bursts eingeschränkt. Das bedeutet, daß der anteriore Bereich des Pylorus während des gastrischen Bisses entspannt ist, durch die unveränderte PD-Aktivität sogar erweitert wird. Gleichzeitig dehnen die PY-Zellen ihren Burst auf die gesamte pylorische Periodendauer aus und verengen den posterioren Bereich des Pylorus. Dadurch ist es möglich, daß die Schließbewegung der gastrischen Mühle Nahrungsbrei in den Pylorus befördern kann.

Die neuronalen Aktivitäten der pylorischen und cardiopylorischen Zellen wurden sowohl während rein pylorischer als auch während gastrischer Aktivitäten auf den pylorischen Zyklus von PD normiert und dargestellt. Dadurch lassen sich die Aktivitätsunterschiede der einzelnen Zellen während der beiden Netzwerkzustände zeigen und auch in Form der berechneten mittleren Vektoren miteinander vergleichen. Die einzelnen pylorischen Vektoren, die von einem pylorischen Rhythmus stammen, der während eines gastrischen Rhythmus gebildet wurde, lassen sich als Funktion der gastrischen Periodendauer von DG darstellen. In Abb. 3.16 wurden die

Summenvektorklängen ohne Normierung auf die Anzahl der Aktionspotentiale für die Darstellung gewählt, da diese die dynamischen Änderungen der pylorischen Aktivitäten besser wiedergeben. Weil die Punktwolken der Summenvektorklängen zum Teil sehr stark streuen, wurde die gastrische Periodendauer in 20 Klassen unterteilt. Aus den Vektoren, die in eine Klasse fielen, wurde je ein Mittelwert gebildet. Die resultierende Kurve bildet die gastrischen Modulationen der pylorischen Neurone sehr gut ab.

Fast alle Zellen des gastrischen Netzwerkes zeigen Modulationen durch den pylorischen Rhythmus. MG und LG können sogar ohne gastrische Aktivität im rein pylorischen Rhythmus mitfeuern. Dieses Verhalten behalten sie auch während gastrischer Aktivität bei. Die kurze Vektorlänge hängt mit dem ausgedehnten gastrischen Burst von LG zusammen. Nach dem Burstbeginn, der in einer bestimmten Phase des pylorischen Rhythmus erfolgt, haben die zahlreichen Aktionspotentiale, die den gastrischen Burst ausmachen, keinen Bezug zum pylorischen Rhythmus. Zur Berechnung der Vektorlänge wurden alle Aktionspotentiale berücksichtigt und nicht nach pylorischen oder gastrischen getrennt.

Von DG wurde bisher angenommen, daß es das einzige gastrische Motoneuron ist, das ausschließlich im gastrischen Rhythmus aktiv ist (WEIMANN ET AL. 1991). *In vivo* beginnt der DG-Burst gehäuft in dem Bereich der pylorischen Phase, in der auch die PD-Zellen ihren Burst ausbilden. Dies führt dazu, daß in den gastrischen Phasenhistogrammen der pylorischen und cardiopylorischen Neurone diskrete, lokale Maxima auftreten, die den pylorischen Rhythmus abbilden (Abb. 3.13B und 3.14B). Daß diese Maxima nicht über den gesamten gastrischen Zyklus erhalten bleiben, liegt zum einen an der variablen Anzahl an pylorischen Perioden, die in einer gastrischen Periode erfolgen. Zum anderen finden während des gastrischen Zyklus wahrscheinlich auch Anpassungen zwischen pylorischem und gastrischem Rhythmus statt (Abb. 3.15). Dadurch werden möglicherweise unterschiedliche Burstdauern, von DG und LG wieder ausgeglichen, deren Bursts bevorzugt in bestimmten pylorischen Phasen beginnen.

Zusätzlich weisen die DG-Bursts im freibeweglichen Taschenkrebs kurze Unterbrechungen auf, die eine feste Phasenlage zum pylorischen Rhythmus besitzen. Im Phasenhistogramm über der normierten pylorischen Periodendauer bilden die DG-Aktionspotentiale ein Minimum in der

Phase, während der IC und LP feuern. Die Verminderung der Aktionspotentialrate kann sich als Reduzierung der Kraft äußern, mit der der Medianzahn nach caudal bewegt wird, während der anteriore Pylorus und die cardiopylorische Rinne verengt werden. Das ist ein Indiz dafür, daß der Medianzahn während seiner Rückziehbewegung Mageninhalt in den Pylorus befördert (HEINZEL ET AL. 1993b). Die pylorischen Modulationen des DG-Bursts ließen sich durch Pilocarpin eliminieren. Da viele Experimentatoren mit Pilocarpin arbeiten, beobachten sie wahrscheinlich weniger Modulationen.

Für die GM-Neurone konnten WEIMANN ET AL. in *in vitro*-Präparaten von *Cancer borealis* (1991) nachweisen, daß sie ohne gastrischen Rhythmus im pylorischen Takt feuern können. In *Cancer pagurus* wurden diese pylorischen Korrelationen weder *in situ* (HEINZEL ET AL. 1993b) noch *in vivo* nachgewiesen.

Die Bildung von Mittelwerten über verschiedene Tiere führte aufgrund individueller Unterschiede zu unscharfen Resultaten in der Vektordarstellung. Die Daten für die gezeigte vektorielle Darstellung der pylorischen und der gastrischen Modulation stammen deshalb von einem Tier, das alle Interaktionen zwischen pylorischem und gastrischem Rhythmus, die bei verschiedenen Tieren beobachtet werden konnten, in sich vereinigte. Der gastrische Rhythmus wurde durch eine Fütterung ausgelöst und stellt damit seine natürlichste Form dar. Er blieb zudem auch noch über einen längeren Zeitraum stabil und die Anzahl der pylorischen Perioden pro gastrischem Zyklus unterlag nur geringen Schwankungen. Der rein pylorische Rhythmus wurde kurz vor der Fütterung aufgezeichnet und blieb über einen ausreichend langen Zeitraum ( $\approx 3$  Minuten) frei von spontanen gastrischen Aktivitäten. Durch die kurze zeitliche Distanz lassen sich die neuronalen Aktivitäten gut miteinander vergleichen, da sie mit großer Wahrscheinlichkeit keinen anderen Änderungen unterliegen außer denen, die durch die Fütterung ausgelöst wurden.

## 4.4 Bewegungen der gastrischen Mühle

Die Bewegungen der gastrischen Mühle erfolgten spontan, wurden durch Geschmacksstoffe oder durch Pilocarpin ausgelöst. Das Bewegungsrepertoire war geringer als bei HELLBUSCH (1997) und auch die neuronalen Rhythmen erfolgten im Taschenkrebs ausschließlich in der Reihenfolge des cut-and-grind-Modus. Die größte Variationsbreite zeigten die Bewegungsamplituden der Lateralzähne, die auf Unterschiede in der gemeinsamen Aktivitäten von MG und LG zurückzuführen sind (HEINZEL ET AL. 1993b). Zusätzlich sind auch die pylorischen Aktivitäten des LG-Motoneurons auf der Bewegungsebene vorhanden. Zusammen mit gastrischen Rhythmen, die auch im nicht gefütterten und nicht stimulierten Tier immer wieder spontan auftreten, haben sie wahrscheinlich die Funktion, den Mageninhalt umzuwälzen.

Die Bewegungen des Medianzahnes besitzen neben der Vor- und Rückwärtsbewegung noch eine zusätzlich Komponente, die in den Bewegungskurven nicht sichtbar wird. Während der Vorwärtsbewegung schwenkt der Medianzahn in das Magenlumen hinein. Die Schwenkbewegung wird durch die gm2-Muskeln ausgelöst, die caudal am Carapax und mit ihrem anterioren Ende an einer Spange des Medianzahnes ansetzen (Abb.3.2). Wie die gm1-Muskeln werden auch die gm2-Muskeln, nur zeitlich etwas verzögert, durch die GM-Neurone aktiviert (WEIMANN ET AL. 1991). Die gm2-Muskeln bauen lediglich Spannung auf; erst durch die Vorwärtsbewegung erfolgt die Schwenkbewegung des Medianzahnes. Die Vorwärtsbewegung selbst wird nicht beeinträchtigt, sondern dehnt die antagonistischen gm4-Muskeln, die im Vergleich zu den gm1- und gm2-Muskeln sehr zierlich wirken (Abb.2.1C).

## 4.5 Der Rezeptor

Doppelableitungen des dgn haben gezeigt, daß die spontanen tonischen Aktionspotentiale des AGR oft eine antidrome Fortleitungsrichtung besitzen. Die Aktionspotentiale der Rezeptorantwort auf mechanische Reizung wurden dagegen immer orthodrom fortgeleitet. Doppelableitungen des stn zeigten, daß dort nur aufsteigende Aktionspotentiale auftreten. Das gilt sowohl für die tonischen Aktionspotentiale, als auch für die der Reizantwort. In *Homarus gammarus* besitzen beide Dendritenzweige, die von den paarigen gm1-Muskeln kommen, je eine

Aktionspotentialbildungszone. Im Bereich vor der Vereinigungsstelle beider Zweige zu einem apikalen Neuriten liegt eine Zone, in der die elektrischen Potentiale wieder nur passiv elektrotonisch weitergeleitet werden. Erst im Bereich des STG existiert erneut eine Region, in der Depolarisationen des Membranpotentials die Bildung von Aktionspotentialen initiieren (COMBES ET AL. 1993, 1995). Die Struktur, die COMBES et al. (1993) beim Hummer als apikalen Neuriten bezeichnen, ist beim Taschenkreb im dgn lokalisiert und deutlich länger. Sie kann beim adulten Tier mehr als 1cm betragen. Daher ist es unwahrscheinlich, daß im dgn passive elektrotonische Potentiale fortgeleitet werden. Schon die Distanz zwischen den Doppelelektroden hätte zu einem räumlichen Dekrement führen müssen, das jedoch nie registriert wurde. In diesem Zusammenhang ist es allerdings interessant, daß sich die Fortleitungsgeschwindigkeiten von orthodromen und antidromen Aktionspotentiale so deutlich unterschieden. Außerdem konnten keinerlei Auslöschungen von Aktionspotentialen entgegengesetzter Fortleitungsrichtung beobachtet werden. Diese hätten bei aktiver Fortleitung zumindest gelegentlich, wegen der absoluten Refraktärzeit der Axonmembran, nach einem Aktionspotential auftreten müssen.

Die multiplen Aktionspotentialbildungszonen sind im stomatogastrischen Nervensystem ein verbreitetes Phänomen (LARIMER & KENNEDY 1966, MEYRAND ET AL. 1992, NUSBAUM ET AL. 1992). Auch die antidrome Fortleitungsrichtung von Aktionspotentialen ist nicht ungewöhnlich. In *Procambarus clarkii* konnte für die Propriozeptoren des coxo-basalen Chordotonalorgans gezeigt werden, daß antidrome Aktionspotentialsalven die Bildung von orthodromen Aktionspotentialen reduzieren oder unterdrücken können (BÉVENGUT ET AL. 1997). Künstlich ausgelöste antidrome AGR-Aktionspotentiale führten beim Taschenkreb jedoch zu keiner Änderung der Empfindlichkeit für mechanische Stimulation. Allerdings zeigten die Bildungszonen für die tonischen Aktionspotentiale Ermüdungserscheinungen. Nach Beendigung der elektrischen stn-Stimulierung zur Erzeugung der künstlichen antidromen AGR-Aktionspotentiale begann nach der postexzitatorischen Depression in der Regel zuerst die posteriore, sensorische Bildungszone zu feuern, bevor sie von der ganglionären wieder abgelöst wurde.

Während der intrazellulären Ableitungen aus dem Soma des AGR traten an der Glasmikroelektrode große und kleine Potentiale auf. Dies deutet auf eine Region hin, die, wie

beim Hummer, nur passive elektrotonische Fortleitung erlaubt, die durch eine veränderte Längskonstante verursacht werden könnte. Axonale Regionen mit reduzierter Längskonstante sind von den dorsalen und ventralen Riesenfaser aus dem Bauchmark von *Periplaneta americana* bekannt (PARNAS ET AL. 1969). Dort schränken asymmetrische Einschnürungen des Axons die bidirektional mögliche Fortleitung von Aktionspotentialen auf eine Hauptrichtung ein. Färbungen des AGR mit intrazellulär injiziertem Lucifer Yellow zeigten im Bereich des STG, außer beim Soma, keine Änderungen des Axondurchmessers. Die unterschiedliche Fortleitung, die große und kleine Potentiale an den extrazellulären Elektroden zeigten, trat auch erst nach Penetration mit der Glasmikroelektrode auf. Da sich das bipolare Soma des AGR - für Evertrebraten untypisch - im Axon befindet, liegt es auch in dem Weg, den die Aktionspotentiale nehmen. Durch die Verdickung kann es zu Veränderungen der Membranleitfähigkeit kommen; damit ist das Soma des AGR wahrscheinlich ein ungünstiger Ort für intrazelluläre Ableitungen.

Die ganglionäre Aktionspotential-Bildungszone konnte durch Doppelektroden an dgn und stn nachgewiesen werden. Unterschiedliche Latenzen für ortho- und antidrome Aktionspotentiale an den extrazellulären Ableitorten lassen die Bildungszone im anterioren Bereich des STG lokalisieren; sie liegt damit nicht am Soma. Dies gilt allerdings mit der Einschränkung, daß die sensorischen Aktionspotentiale nicht durch eine Membranregion verzögert werden, die für ganglionäre tonische Aktionspotentiale leichter zu passieren ist (PARNAS ET AL. 1969).

Der AGR bildet über Interneurone eine bisynaptische Reflexschleife, die auf jene Motoneurone zurückkoppelt, die die vom AGR überwachten Muskeln innervieren (SIMMERS & MOULINS 1988a). Ziel dieser Arbeit war es, die Aktivitäten des Rezeptors *in vivo* unter natürlichen Bedingungen aufzuzeichnen. Künstliche mechanische Reizungen wurden durchgeführt, um Lage und Funktion einer zweiten, ganglionären Aktionspotential-Bildungszone zu ermitteln. Die Reizungen erfolgten mit einem Glasstäbchen durch eine lokale Verschiebung einzelner gm1-Muskelfasern im Bereich der rezeptiven Region des AGR. Aufgrund von Bewegungen der gastrischen Mühle war *in situ* nie sichergestellt, daß der Reizgeber die gleiche Region mit der gleichen Reizstärke reizt. Eine Quantifizierung der Reizstärke erfolgte nur über die Amplitude, die die Spitze des Reizgebers ausführte um den Rezeptor zu reizen. Eine leichte Reizung führt zu einer Rezeptorantwort mit

zwei bis drei zusätzlichen Aktionspotentialen, nach der der AGR ohne postexzitatorische Pause zur tonischen Ruhefrequenz zurückkehrte. Eine starke Reizung wurde dagegen mit einer hochfrequenten Salve von Aktionspotentialen beantwortet, der dann eine postexzitatorische Pause folgte. Die maximale Aktionspotentialfrequenz, die der Rezeptor durch künstliche mechanische Reizungen erreichte, lag bei 120Hz, *in vivo* lag die maximale Frequenz bei 80Hz bis 90Hz. Die postexzitatorische Pause erreichte bei künstlicher mechanischer Reizung die zwei- bis dreifache Dauer der Aktionspotentialsalve, die bei starken Reizungen 100ms bis 300ms dauern konnte. *In vivo* kam es während regelmäßiger gastrischer Rhythmen vor, daß der AGR die tonischen Aktionspotentiale ganz einstellte und nur noch während der GM-Bursts hochfrequente Salven feuerte.

## 4.6 Biologische Bedeutung des AGR

*In vivo* beginnen gastrische Rhythmen oft mit Oszillationen des DG-Motoneurons. Die durch DG aktivierten Muskeln ziehen den Medianzahn nach caudal und können durch eine passive Dehnung der gm1-Muskeln den AGR erregen (COMBES ET AL. 1995). Über die von SIMMERS & MOULINS (1988a,b) beschriebene positive Reflexkette kann der AGR, in Form eines Kettenreflexes, die Bildung eines gleichmäßigen gastrischen Rhythmus initiieren (WEIGELDT ET AL. 2002).

Während des gleichmäßigen gastrischen Rhythmus wird der AGR zyklisch durch die GM-aktivierten Medianzahnprotraktoren erregt. Ein Widerstand, der die Vorwärtsbewegung des Medianzahnes behindert, führt zu einer stärkeren Erregung des AGR. Die positive Rückkoppelung bedingt einen Widerstandsreflex, der über eine stärkere Aktivierung der GM-Neurone auch zu einer stärkeren Kontraktion führt. Diese ist dann in der Lage, den Widerstand zu überwinden.

Ein unüberwindlicher Widerstand, der den Medianzahn blockiert, führt zur Reflexumkehr. Dabei wird die positive Rückkoppelung durch Überschreiten einer zweiten Schwelle des Membranpotentials der CG-Interneurone unterbrochen (SIMMERS & MOULINS 1988b, COMBES ET AL. 1995).

Zur Erklärung der bisher geschilderten Eigenschaften reicht die Reflexschleife: gm1-Muskel - AGR - CG-Interneurone - GM-Motoneurone vollkommen aus. Eine wichtige Rolle spielen dabei

die CG-Interneurone, denn sie ermöglichen als Reaktion auf die AGR-Aktivitäten sowohl die Aktivierung als auch die Deaktivierung der GM-Neurone (COMBES ET AL. 1995). Trotz anatomischer Unterschiede ist anzunehmen, daß die Verbindungen des AGR bei *Cancer pagurus* die gleichen sind wie bei *Homarus gammarus* (HEINZEL 1990).

In *Panulirus interruptus* erregt der AGR in den COG exzitatorische Interneurone, die außer den GM-Neuronen mit LG und LPG auch Motoneurone der Lateralzähne aktiviert (ELSON ET AL. 1994). COMBES ET AL. (1999, 2002) konnten an *Homarus* zeigen, daß CG nicht nur die Reflexschleife zu den GM-Neuronen schließt. CG erregt zusätzlich die beiden LPG-Motoneurone, die die Lateralzahnöffner aktivieren. Außerdem ist der AGR über eine exzitatorischen Synapse, ebenfalls in den COG, mit den gastrischen Inhibitorneuronen (GI) verschaltet. Diese hemmen, durch den AGR aktiviert, die Lateralzahnschließer LG/MG und das DG-Neuron. Diese neuronale Verknüpfung könnte die rhythmischen Wechselwirkungen zwischen AGR und LG erklären, die in Abb. 3.24 zu sehen sind. Weiterhin konnten COMBES ET AL. (1999) demonstrieren, daß der AGR *in vitro* über diese Verschaltung in der Lage ist, frequenzabhängig zwischen zwei Modi des gastrischen Rhythmus hin- und her zu schalten. Eine niedrige AGR-Feuerrate bewirkt im gastrischen Rhythmus das Alternieren von GM (Protraktion des Medianzahnes) und LPG (Öffnen der Lateralzähne), während eine höhere Feuerrate des AGR die synchrone Aktivität von GM und LPG hervorruft.

Solch dramatische Umstellungen des gastrischen Netzwerkes konnten *in vivo* bei *Cancer pagurus* nicht beobachtet werden. LG und DG bleiben jedoch beide während der Reflexumkehr (Abb. 3.29 und 3.30) nicht unbeeinflusst. In beiden Fällen ist der LG-Burst direkt nach der starken AGR-Erregung deutlich verkürzt. Während DG nach der spontanen Reflexumkehr einen kürzeren Burst aufweist (Abb.3.29), sieht es bei dem durch Pilocarpin ausgelösten gastrischen Rhythmus so aus, als wäre die DG-Aktivität aus zwei Bursts zusammengesetzt. Die beiden gezeigten Fälle der Reflexumkehr erfolgten in ungefütterten Tieren, die nichts im Magen hatten, wodurch der Reflex hätte ausgelöst werden können. Bei endoskopischen Beobachtungen der gastrischen Mühle in *Homarus gammarus* konnte Heinzl (unveröff.) beobachten, daß Lateralzähne und Medianzahn sich verhaken. Ein solches Verhaken der Magenzähne kann durchaus den AGR erregen und folglich die Reflexumkehr auslösen.

Der AGR besitzt als singuläre Rezeptorzelle erstaunlich vielseitige Möglichkeiten, auf die Funktion der gastrischen Mühle einzuwirken. Es ist jedoch naheliegend, daß im Fall eines harten Gegenstandes zwischen den Zähnen nicht nur die krafterzeugenden Muskeln abgeschaltet werden, sondern auch die Antagonisten aktiviert und die Lateralzähne geöffnet werden. Darüber hinaus erfolgten die hier gezeigten Beispiele der Reflexumkehr periodenübergreifend, das heißt, die starke Aktivierung des AGR bewirkte erst im nächsten gastrischen Zyklus die beschriebenen Änderungen. Es ist aber wahrscheinlich, daß AGR und CG auch sofort den aktuellen GM-Burst beenden können. Nur ist dies schwieriger zu zeigen. Welche Rolle in diesem Zusammenhang eine zweite ganglionäre Aktionspotential-Bildungszone spielt, bleibt unklar. Da das STG ein Ort ist, in dem eine Vielzahl von modulierenden Zellen terminieren (MARDER ET AL. 2002), ist es durchaus möglich, daß dort Substanzen angreifen, die die tonische Frequenz des AGR verändern und damit auch den Status der Interneurone in den COG beeinflussen.

Der AGR wird normalerweise durch die Medianzahnprotraktoren aktiviert. Er kann *in vivo* aber auch durch die Antagonisten erregt werden und hilft dadurch, einen stabilen gastrischen Rhythmus zu etablieren. Die Reflexumkehr, durch AGR und die CG-Interneurone vermittelt, schützt die gastrische Mühle vor Schäden, die durch ein Aufschaukeln der sonst positiven Rückkoppelungsschleife entstünden. Weitere COG-Interneurone, die AGR-aktiviert im Hummer die Retraktion des Medianzahnes und das Öffnen der Lateralzähne bewirken (COMBES ET AL. 1999), scheinen im Taschenkrebs ebenfalls zu existieren. Weiterführende Experimente am Taschenkrebs sollten klären, mit welchen Neuronen der AGR in den COG in Kontakt tritt und welchen Einfluß diese auf die Netzwerke des STG ausüben. Wahrscheinlich inserieren die Dendriten des AGR beim Taschenkrebs das gleiche Gewebe wie beim Hummer; histologische Untersuchungen sollten dies klären. Weitere vergleichende Untersuchungen sollten sich mit den lateralen Zweigen des AGR befassen: existieren dort wie beim Hummer aktive und passive Membranabschnitte und welche Unterschiede weist der Bereich auf, der beim Hummer von COMBES ET AL. (1993) als apikaler Neurit bezeichnet wird? Was bewirken die in dieser Arbeit nachgewiesenen deszendierenden Aktionspotentiale?

## 5. Literatur

### A

Abbot LF, Marder E, Hooper SL (1991) Oscillating networks: Control of burst duration by electrically coupled neurones. *Neural Computation* 3: 487-497

### B

Barker PL, Gibson R (1977) Observations on the feeding mechanism, structure of the gut, and digestive physiology of the european lobster *Homarus gammarus* (L.) (Decapoda: Nephropidae). *J exp mar Biol Ecol* 26: 297-324

Bartos M, Manor Y, Nadim F, Marder E, Nusbaum MP (1999) Coordination of fast and slow rhythmic neuronal circuits. *J Neurosci* 19(15): 6650-6660

Bévingut M, Clarac F, Cattaert D (1997) Antidromic modulation of a proprioceptive sensory discharge in crayfish. *J Neurosci* 78(2): 1180-1183

Blitz DM, Christie AE, Coleman MJ, Norris BJ, Marder E, Nusbaum MP (1999) Different proctolin neurons elicit distinct motor patterns from a multifunctional neuronal network. *J Neurosci* 19(13): 5449-5463

Blitz DM, Nusbaum MP (1997) Motor pattern selection via inhibition of parallel pathways. *J Neurosci* 17(3): 4965-4975

Böhm H (1995/96) Activity of the stomatogastric system in free-moving crayfish, *Orconectes limosus* Raf. *Zool* 99: 247-257

Böhm H, Eitner P, Heinzl H-G (1998) Neuronale Netze des Magensystems bei Krebsen als Modell in den Neurowissenschaften. *Neuroforum* 4: 275-282

Brown TG (1911) The intrinsic factors in the act of progression in the mammal. *Proc Roy Soc London Ser B* 84: 308 - 319

Bullock TH, Horridge GA (1965) Structure and function in the nervous systems of invertebrates. Vol. 2, W.H. Freeman, San Francisco

**C**

- Clemens S, Combes D, Meyrand P, Simmers J (1998a) Long-term expression of two interacting motor pattern-generating networks in the stomatogastric system of freely behaving lobster. *J Neurophysiol* 79: 1396 - 1408
- Clemens S, Massabuau J-Ch, Legeay A, Meyrand P, Simmers J (1998b) In vivo modulation of interacting central pattern generators in lobster stomatogastric ganglion: Influence of feeding and partial pressure of oxygen. *J Neurosci* 18(7): 2788-2799
- Coleman MJ, Nusbaum MP, Cournil I, Claiborne I (1992) Distribution of modulatory inputs to the stomatogastric ganglion of the crab, *Cancer borealis*. *J comp Neurol* 325: 581-594
- Combes D, Meyrand P, Simmers J (1999) Dynamic restructuring of a rhythmic motor program by a single mechanoreceptor neuron in lobster. *J Neurosci* 19(9): 3620-3628
- Combes D, Meyrand P, Simmers J (2002) Motor pattern switching by an identified sensory neuron in the lobster stomatogastric system. In: K. Wiese (ed.) *The crustacean nervous system*. Springer-Verlag, Heidelberg, ISBN 3-540-66900-0
- Combes D, Simmers J, Moulins M (1995) Structural and functional characterization of a muscle tendon proprioceptor in lobster. *J comp Neurol* 363: 221-234
- Combes D, Simmers J, Nonnotte L, Moulins M (1993) Tetrodotoxin-sensitive dendritic spiking and control of axonal firing in a Lobster mechanoreceptor neuron. *J Physiol* 460: 581-602

**D**

- Delcomyn F (1980) Neural basis of rhythmic behavior in animals. *Science* 210: 492 - 498

**E**

- Eisen JS, Marder E (1982) Mechanisms underlying pattern generation in lobster stomatogastric ganglion as determined by selective inactivation of identified neurons. III. Synaptic connections of electrically coupled pyloric neurons. *J Neurophysiol* 48. 1392-1415
- Eitner P (1997) *Neuroanatomie und Verschaltung der Neurone des Magenganglions beim Flußkrebs*. Dissertation, Universität Bonn
- Elson RC, Panchin YV, Arshavsky YI, Selverston AI (1994) Multiple effects of an identified proprioceptor upon gastric pattern generation in spiny lobsters. *J comp Physiol A* 174: 317-329

**F**

Fischer MS (2001) Locomotory organs of mammals: New mechanisms and feedback pathways but conservative central control: *Zoology* 103: 230 - 239

**G**

Gibner W (1990) Die Bedeutung sensorischer Eingänge für die neuralen Oszillatoren des stomatogastrischen Systems beim Taschenkrebs (*Cancer pagurus*). Diplomarbeit, Universität Köln

Golowasch J, Marder E (1992) Ionic currents of the Lateral Pyloric neuron of the stomatogastric ganglion of the crab. *J Neurophysiol* 67(2): 318-331

**H**

Hahlen K (1999) Beeinflussung der stomatogastrischen neuralen Netzwerke durch die Sensorik des Kopfes beim australischen Flußkreb. Diplomarbeit, Universität Bonn

Harris-Warrick RM, Marder E, Selverston AI, Moulins M, eds. (1992a) Dynamic biological networks: The stomatogastric nervous system. MIT Press, Cambridge, ISBN 0-262-08214-4

Harris-Warrick RM, Nagy F, Nusbaum MP (1992b) Neuromodulation of stomatogastric networks by identified neurons and transmitters. In: R.M. Harris-Warrick, E. Marder, A.I. Selverston, M. Moulins, eds. Dynamic biological networks: The stomatogastric nervous system. MIT Press, Cambridge, ISBN 0-262-08214-4

Hartline DK, Gassie DV (1979) Pattern generation in the lobster (*Panulirus*) stomatogastric ganglion. I. Pyloric neuron kinetics and synaptic interactions. *Biol Cybern* 33: 209-222

Hartline DK, Gassie DV, Sirchia CD (1987) PY cell types in the stomatogastric ganglion of *Panulirus*. In: A.I. Selverston and M. Moulins (eds.) The crustacean stomatogastric System. Springer Verlag, Berlin: 75 - 77

Heinzel H-G (1988a) Gastric mill activity in the lobster. I. Spontaneous modes of chewing. *J Neurophysiol* 59(2): 528 - 550

Heinzel H-G (1988b) Gastric mill activity in the lobster. II. Proctolin and Octopamin initiate and modulate chewing. *J Neurophysiol* 59(2): 551 - 565

Heinzel H-G (1990) The cooperation of several oscillators in the stomatogastric system of the crab, *Cancer pagurus*. In: K. Wiese, W.D. Krenz, J. Tautz, H. Reichert, B. Mulloney (eds.) Frontiers in crustacean neurobiology. Advances in life sciences. Birkhäuser Verlag Basel, 455 - 462

- Heinzel H-G, Böhm H, Weigeldt D (1993a) Die Kooperation neuraler Netzwerke als Grundlage für die Flexibilität rhythmischer Bewegungen. *Verh Dtsch Zool Ges* 86.2: 165-176
- Heinzel H-G, Weimann JM, Marder E (1993b) The behavioral repertoire of the gastric mill in the crab, *Cancer pagurus*: An *in situ* endoscopic and electrophysiological examination. *J Neurosci* 13(4): 1793-1803
- Hellbusch D (1994) Untersuchungen zur Funktionsmorphologie und Bewegungsphysiologie des Krebsmagens. Diplomarbeit, Universität Bonn
- Holst E von (1939) Die relative Koordination als Phänomen und als Methode zentralnervöser Funktionsanalyse. *Ergebn Physiol* 42: 228-306
- Hooper SL, O'Neil MB, Wagner R, Ewer J, Golowasch J, Marder E (1986) The innervation of the pyloric region of the crab, *Cancer borealis*: Homologous muscles in decapod species are differently innervated. *J Comp Physiol A* 159: 227-240
- Huxley TH (1880) *The Crayfish: An introduction to the study of zoology*. Appleton, New York
- I**
- J**
- Johnson BR, Harris-Warrick RM (1990) Aminergic modulation of graded synaptic transmission in the lobster stomatogastric ganglion. *J Neurosci* 10: 2066 - 2076
- Johnson BR, Hooper SL (1992) Overview over the stomatogastric nervous system. In: R.M. Harris-Warrick, E. Marder, A.I. Selverston, M. Moulins, eds. *Dynamic biological networks: The stomatogastric nervous system*. MIT Press, Cambridge, ISBN 0-262-08214-4
- K**
- Kaestner A (1993) *Lehrbuch der speziellen Zoologie. Band 1: Wirbellose Tiere: 4. Teil: Arthropoda (ohne Insecta)*. Begr. von A. Kaestner, Hrsg. von H.-E. Gruner, 4. Auflage, Gustav Fischer Verlag, Jena, ISBN: 3-334-60404-7
- Katz PS, Eigg MH, Harris-Warrick RM (1989) Serotonergic/cholinergic muscle receptor cells in the crab stomatogastric nervous system. I. Identification and characterization of the gastropyloric receptor cells. *J Neurophysiol* 62: 558 - 570
- Katz PS, Frost WN (1996) Intrinsic neuromodulation: Altering neuronal circuits from within. *TINS* 19(2): 54-61

Katz PS, Harris-Warrick RM (1990a) Actions of identified neuromodulatory neurons in a simple motor system. *TINS* 13 (9): 367-373

Katz PS, Harris-Warrick RM (1990b) Neuromodulation of the crab pyloric central pattern generator by serotonergic/cholinergic proprioceptive afferents. *J Neurosci* 10 (5): 1495-1512

Katz PS, Harris-Warrick RM (1991) Recruitment of crab gastric mill neurons into the pyloric motor pattern by mechanosensory afferent stimulation. *J Neurophysiol* 65: 6: 1442-1451

Katz PS, Tazaki K (1992) Comparative and evolutionary aspects of the crustacean stomatogastric system. In: R.M. Harris-Warrick, E. Marder, A.I. Selverston, M. Moulins, eds. *Dynamic biological networks: The stomatogastric nervous system*. MIT Press, Cambridge, ISBN 0-262-08214-4

## L

Larimer JL, Kennedy D (1966) Visceral afferent signals in the crayfish stomatogastric ganglion. *J exp Biol* 44: 345-354

## M

Marder E, Calabrese RL (1996) Principles of rhythmic motor pattern generation. *Physiol Rev* 76: 687 - 717

Marder E, Swensen AM, Blitz DM, Christie AE, Nusbaum MP (2002) Convergence and divergence of cotransmitter in the crab stomatogastric nervous system. In: K. Wiese (ed.) *The crustacean nervous system*. Springer-Verlag, Heidelberg, ISBN 3-540-66900-0

Maynard DM (1966) Integration in crustacean ganglia. *Soc Exp Biol* 20: 111-149

Maynard DM (1972) Simpler networks. *Ann NY Acad Sci* 193: 59 - 72

Maynard DM, Dando MR (1974) The structure of the stomatogastric neuromuscular system in *Callinectes sapidus*, *Homarus americanus* and *Panulirus argus* (Decapoda Crustacea). *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 268: 161-220

Maynard DM, Selverston AI (1975) Organization of the stomatogastric ganglion of the spiny lobster: IV. The pyloric system. *J Comp Physiol* 100: 161 - 182

Meyrand P, Weimann JM, Marder E (1992) Multiple axonal spike initiation zones in a motor neuron: Serotonin activation. *J Neurosci* 12(7): 2803-2812

Miller JP, Selverston AI (1982a) Mechanisms underlying pattern generation in the lobster stomatogastric ganglion as determined by selective inactivation of identified neurons. IV. Network properties of pyloric system. *J Neurophysiol* 48: 1416-1432

Miller JP, Selverston AI (1982b) Mechanisms underlying pattern generation in the lobster stomatogastric ganglion as determined by selective inactivation of identified neurons. II. Oscillatory properties of pyloric neurons. *J Neurophysiol* 48: 1378-1391

Morris LG, Hooper SL (1997) Muscle response to changing neuronal input in the lobster (*Panulirus interruptus*) stomatogastric system: Spike number vs. spike frequency-dependent domains. *J Neurosci* 17(15): 5956-5971

Mulloney B, Selverston AI (1974a) Organization of the stomatogastric ganglion of the spiny lobster: I. Neurons driving the lateral teeth. *J Comp Physiol A* 91: 1 - 32

Mulloney B, Selverston AI (1974b) Organization of the stomatogastric ganglion of the spiny lobster: II. Neurons driving the medial tooth. *J Comp Physiol A* 91: 33 - 51

Mulloney B, Selverston AI (1974c) Organization of the stomatogastric ganglion of the spiny lobster: III. Coordination of the two subsets of the gastric system. *J Comp Physiol A* 91: 53 - 78

## N

Nießen H (1995) Untersuchung vegetativer Rhythmen beim Flußkrebs. Diplomarbeit, Universität Bonn

Nusbaum MP, Weimann JM, Golowasch J, Marder E (1992) Presynaptic control of modulatory fibres by their neural network targets. *J Neurosci* 12(7): 2706-2714

## O

## P

Parnas I, Spira ME, Werman R, Bergmann F (1969) Non-homogeneous conduction in giant axons of the nerve cord of *Periplaneta americana*. *J exp Biol* 50: 635-649

## Q

## R

## S

Selverston AI, Moulins M (1985) Oscillatory neural networks. *Ann Rev Physiol* 47: 29-48

Selverston AI, Moulins M (1987) The crustacean stomatogastric system. Springer-Verlag, Berlin

- Selverston AI, Mulloney B (1974) Organization of the stomatogastric Ganglion in the spiny lobster. II. Neurons driving the medial tooth. *J Comp Physiol A* 91: 33 - 51
- Selverston AI, Russell DF, Miller JP, King DC (1976) The stomatogastric nervous system: Structure and function of a small neural network. *Prog Neurobiol* 7: 215-290
- Sherrington CS (1906) *The integrative action of the nervous system*. Yale University Press, New Haven, Connecticut
- Simmers J, Moulins M (1988a) A disynaptic sensorimotor pathway in the lobster stomatogastric system. *J Neurophysiol* 59(3): 740-756
- Simmers J, Moulins M (1988b) Nonlinear interneuronal properties underlie integrative flexibility in a lobster disynaptic sensorimotor pathway. *J Neurophysiol* 59(3): 757-777
- Spirito CP (1975) Organization of the crayfish oesophageal nervous system. *J comp Physiol* 102: 237-249
- Storch V, Welsch U (1997) *Systematische Zoologie*. 5. Auflage, Gustav Fischer Verlag, Jena, ISBN 3-437-25160-0

**T**

- Turrigiano GG, Heinzel H-G (1992) Behavioral correlates of stomatogastric network function. In: R.M. Harris-Warrick, E. Marder, A.I. Selverston, M. Moulins, eds. *Dynamic biological networks: The stomatogastric nervous system*. MIT Press, Cambridge, ISBN 0-262-08214-4

**U****V****W**

- Weigeldt D (1993) *Sensorische Kontrolle der Magenbewegungen beim Taschenkrebs (Cancer pagurus)*. Diplomarbeit, Universität Köln
- Weigeldt D, Böhm H, Heinzel H-G (1993a) Kooperation stomtogastrischer Netzwerke beim freibeweglichen Taschenkrebs, *Cancer pagurus* L. *Verh Dtsch Zool Ges*, Fischer Verlag, Stuttgart, 75
- Weigeldt D, Böhm H, Heinzel H-G (1993b) Sensory control of the stomatogastric system in freely moving crabs (*Cancer pagurus* L.). *Abst. Proc. 21st Göttingen Neurobiology Conference*, Thieme Verlag, Stuttgart, 213

- Weigeldt D, Böhm H, Heinzel H-G (1998a) Activity of the anterior gastric receptor and motor patterns of the stomatogastric networks in free-moving crabs, *Cancer pagurus* Soc Neurosci Abstr Vol 24/2, 752.12
- Weigeldt D, Böhm H, Heinzel H-G (1998b) The anterior gastric receptor in the stomatogastric ganglion of the crab, *Cancer pagurus*: A mechanoreceptor with two actionpotential-initiating zones. In: Zoology, Jena 101: 55
- Weigeldt D, Böhm H, Heinzel H-G (2002) Sensory feedback in the operating stomatogastric nervous system of the crab (*Cancer pagurus*). In: K. Wiese (ed.) The crustacean nervous system. Springer-Verlag, Heidelberg, ISBN 3-540-66900-0
- Weimann JM, Meyrand P, Marder E (1991) Neurons that form multiple pattern generators: Identification and multiple activity patterns of gastric/pyloric neurons in the crab stomatogastric system. J Neurophysiol 65(1): 111-122
- Weimann JM, Skiebe P, Heinzel H-G, Soto C, Kopell N, Jorge-Rivera JC, Marder E (1997) Modulation of oscillator interactions in the crab stomatogastric ganglion by Crustacean Cardioactive Peptide. J Neurosci 17(5): 1748-1760
- Wendler G (1964) Über die Fortbewegung der Larven von *Cantharis fusca*. Z vergl Physiol 48: 283-294
- Westheide W, Rieger R, Hrsg. (1996) Spezielle Zoologie. Erster Teil: Einzeller und Wirbellose. Gustav Fischer Verlag, Stuttgart, ISBN 3-437-20515-3
- Wiese K, ed. (2002) The crustacean nervous system. Springer-Verlag, Heidelberg, ISBN 3-540-66900-0
- Wiese K, Krenz WD, Tautz J, Reichert H, Mulloney B, eds. (1990) Frontiers in crustacean neurobiology. Advances in life sciences. Birkhäuser Verlag, Basel
- Wilson DM, Wyman RJ (1965) Motor output patterns during random and rhythmic stimulation of locust thoracic ganglia. Biophys J 5: 121 - 143
- X**
- Y**
- Z**
- Zhang B, Harris-Warrick RM (1994) Multiple receptors mediate the modulatory effects of serotonergic neurons in a small neural network. J exp Biol 190: 55-77