

Untersuchung verschiedener Substrate an Nervenzellen der *Apis mellifera*

1. Einleitung:

Ich bin Schüler der 13. Klasse an der Friedensburg-Oberschule und besuche den Grundkurs Biologie. Als ich in der 12. Klasse gewesen bin, haben wir das Thema „Verhalten“ bearbeitet. Dabei untersuchten wir das Sozialverhalten der Biene. Unser Lehrer, Herr Böker, hatte zu dem Zeitpunkt immer noch einen guten Kontakt zu seiner Universität und zu Herrn Prof. Menzel, Leiter der Abteilung für Neurobiologie an der FU-Berlin. In dem Institut wird das Lernen untersucht, speziell an der Honigbiene. Dadurch war es unserem Lehrer möglich, mit uns einen Besuch in das Institut zu unternehmen, um uns Forschung live mit zu erleben. Diesen Tag in dem Institut fand ich so aufregend und so spannend, dass ich mich bei Herrn Böker erkundigt habe, ob es nicht möglich sei, dort ein Praktikum zu absolvieren.

Nachdem Herr Böker Prof. Dr. Menzel zu den sogenannten „Friedensburg-Gesprächen“ an unsere Schule eingeladen hat und wir eine Menge über das Lernen gelernt haben, war es mir nach persönlichen Gesprächen mit Prof. Menzel ermöglicht worden, in den Sommerferien ein 4-wöchiges Praktikum zu besuchen. Dabei habe ich sehr viel neues und Interessantes kennen gelernt. Eines Tages, als das Ende des Praktikums sich schon sichtlich näherte, sprach ich mit Dr. Grünewald von der Abt. Neurobiologie. Wir redeten über das Praktikum und ob ich mir so etwas auch für meine Zukunft vorstellen könnte. Demgegenüber war ich nicht abgeneigt und wir kamen zu dem Schluss, dass ich doch noch ein wenig weiter arbeiten sollte. So entwarfen wir das Projekt: „Einfluss von verschiedenen Zellgiften auf die Nervenzelle in Zellkultur“. Wir wählten zunächst Kaliumchlorid, Tetrodotoxin und Nikotin aus. Die Ergebnisse und die Versuchsreihe werde ich Ihnen weiter unten beschreiben.

2. Warum ist die Biene für die Verhaltensbiologie so interessant?

Schon vor Tausenden von Jahren haben unsere Vorfahren gemerkt, dass die Bienen ein wohlschmeckendes Sekret, den Honig, herstellten. Zudem ist ihnen schon sehr früh aufgefallen, dass ihre Felder ertragreicher waren, wenn Bienenstöcke in der Umgebung gewesen sind. Deshalb ist es zu verstehen, warum sich der Mensch schon sehr früh mit der Biene beschäftigte. Zumal die Biene auch das einzige Insekt ist, das für uns einen direkten Nutzen hat. Die Menschen waren und sind daran interessiert, soviel wie möglich über das Verhalten und über das Wesen der Biene heraus zu finden, um den Ertrag zu maximieren, also mal wieder eine rein egoistische Angelegenheit. Schon nach kurzer Zeit stellten sich die ersten Erfolge ein.

Für die Verhaltensforscher oder für die Neurobiologen ist die Biene deshalb auch sehr interessant, weil sie mit ihrem relativ kleinen Gehirn eine gewaltige Aufgabe leistet. So schafft sie es, sich die Standorte der Blumen zu merken, den Weg dorthin, die Entfernungen abzuschätzen, sowie einen komplexen Sozialstaat aufzubauen. Früher glaubte man noch, dass diese soziale Ordnung auf Gleichberechtigung beruhte. Diese Vorstellung war zudem für die christliche Kirche ein ideales Vorbild. Die Königin sollte den Gott repräsentieren und das Bienenvolk stand für das Bauernvolk, das sehr schwer arbeiten musste. Doch neuere Untersuchungen haben gezeigt, dass dem ganz und gar nicht so ist. Es ähnelt vielmehr einer Versklavung, denn die Königin verhindert, daß bei den Arbeiterinnen Geschlechtsorgane heranreifen.

Ein sehr großer Entdecker auf dem Gebiet der Verhaltensforschung an *Apis mellifera* (die Honigbiene) war der Biologe Karl von Frisch. Dazu kurz etwas über ihn:

Der österreichische Wissenschaftler Karl von Frisch (1886-1982) hat über viele Jahre das Verhalten von Tieren studiert. Er fand heraus, dass Honigbienen durch Duftstoffe und einen besonderen Tanz auf den Honigwaben im Stock Informationen über die Position nektarhaltiger Blüten übermitteln können. Mit dem Rundtanz gibt die Arbeiterin zu verstehen, dass die Blüten irgendwo in der Nähe des Stockes sind. Der Schwänzeltanz besagt, dass sie weiter weg sind und zeigt die Richtung und die Entfernung an. Dabei dreht sich die Biene im Kreis, den sie plötzlich durchquert, wobei sie mit dem Hinterleib wackelt ("schwänzelt"). Von Frisch entdeckte, dass die anderen Bienen an dem Winkel, indem die Kundschafterin den Kreis (gegen die Schwerkraft) durchquert, die Richtung der Blüten in Beziehung zum Sonnenstand erkennen können. Je aufgeregter der Tanz, desto näher und desto ergiebiger ist die Nahrungsquelle. Als von Frisch diese komplizierte Form der Kommunikation zum ersten Mal beschrieb, wollte man ihm nicht glauben. (Zitiert aus: Burnie, David: Spannendes aus dem Reich der Natur. Experimentieren und kapiern. 1999, S. 115. Christian Verlag).

Damit hat von Frisch den ersten großen Durchbruch im Bereich der Verhaltensforschung bei der Biene erreicht. Er ist der „Vater“ dieser Disziplin und wird immer in Beziehung mit den Bienen gesetzt, ebenso Karl Sprengler. Sprengler stellte bereits im Jahre 1792 die These auf, dass die enorme Vielfalt der Blütenfarben und -formen nicht etwa erschaffen wurde, das menschliche Auge zu erfreuen, sondern vielmehr dem Zweck dient, Bienen anzulocken, um die Blüten zu bestäuben



Abb. 1: Karl Sprengler.

3. Bau und Funktion der Nervenzelle:

3.1. Bau der Nervenzelle:

Die Nervenzelle, auch Neuron genannt, ist ein Objekt von einer Länge von ca. 200µm. Sie besteht aus einem 25µm großen Zellkörper und vielen kleinen Verästelungen. Der Zellkörper besteht zudem aus einem Zellkern und den sogenannten Nißl-Schollen. Nißl-Schollen sind stark benetzte endoplasmatische Retikuli mit Ribosomen. Die Auswüchse der Nervenzellen werden als Axone, *Neurit*, und auch als Dendriten bezeichnet. Dabei ist ein Dendrit ein kurzer und stark verästelter Ausläufer. Ein Axon ist ein langer Ausläufer. Bei einem Menschen kann so ein Axon bis zu einem Meter lang werden. Die Axone der Säugetiere sind zusätzlich noch von *Schwannschen-Zellen* (lat. *Gliocytus periphericus*) umgeben. Sie sind wesentlich kürzer als Axone und deshalb aneinandergereiht. Wie man in der Abb. 2 gut erkennen kann, sind sie paketartig um die Axone gelegt. Sie haben die Aufgabe, die Axone zu ernähren und zu isolieren, dabei können sie eine Längenausdehnung von bis zu 100µm erreichen. Auf dem Bild kann man gut erkennen, dass zwischen den Schwannschen-Zellen noch Lücken sind, diese bezeichnet man als *Ranviersche Schnürringe*

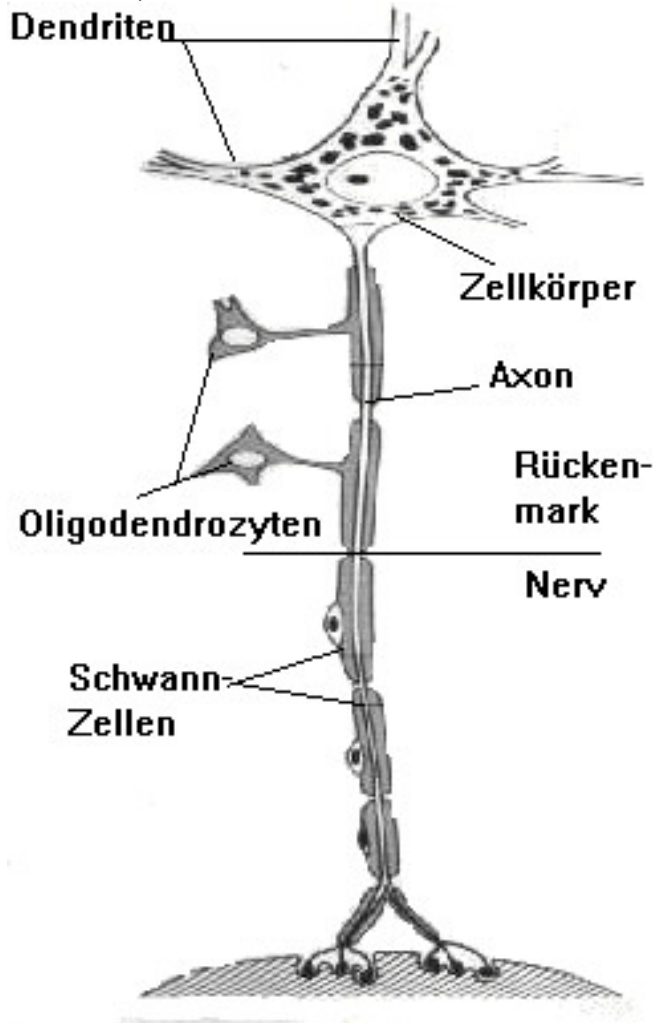


Abb. 2: Bau einer typischen Nervenzelle.

3.2. Funktion der Nervenzelle:

Das Neuron hat bei jedem Lebewesen dieselbe Aufgabe: Die Reizverarbeitung und die Weiterleitung von Informationen. Ein Reiz kann ein chemischer oder ein physikalischer Reiz sein. Der Reiz wird von den Sinneszellen aufgenommen und verarbeitet, die Information kann dann über viele Nervenzellen in das Gehirn weitergeleitet werden, welches sie nun verarbeitet und ebenfalls weiterleiten kann. Dabei unterscheidet man nun zwischen zwei verschiedenen Nervensystemen. Das eine ist das *sensorische Nervensystem*, bei dem die Information der Sinneszellen weitergeleitet wird, und das andere Nervensystem ist das *motorische Nervensystem*. Über das motorische Nervensystem laufen die Informationen, die an die Muskeln weitergeleitet werden sollen. Fasst man beide Nervensysteme zusammen, nennt man es das *periphere Nervensystem*. Bei einem Lebewesen gibt es Bereiche, die es nicht willkürlich beeinflussen kann, wie z.B. den Herzschlag, solche Informationen laufen über das *vegetative Nervensystem*.

3.2.1. Das Ruhepotential:

Das Ruhepotential ist der Spannungsunterschied zwischen einer nicht erregten Nervenzelle und ihrer Umgebung. Dabei befinden sich im Axon viele kleine Ionen. Die organischen Anionen (A) und die Kalium-Ionen (K).

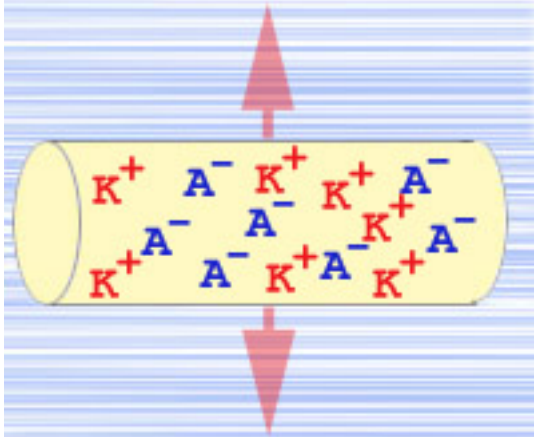


Abb. 3: Zustand im Axon vor Einstellung des Ruhepotentials (Quelle siehe Quellennachweis)

Wie man erkennen kann, haben beide Ionenarten das Bestreben sich voneinander zu entfernen. Dabei diffundieren die etwas kleineren Kalium-Ionen durch die Membran und verlagern so das Gleichgewicht der Kaliumkonzentration.

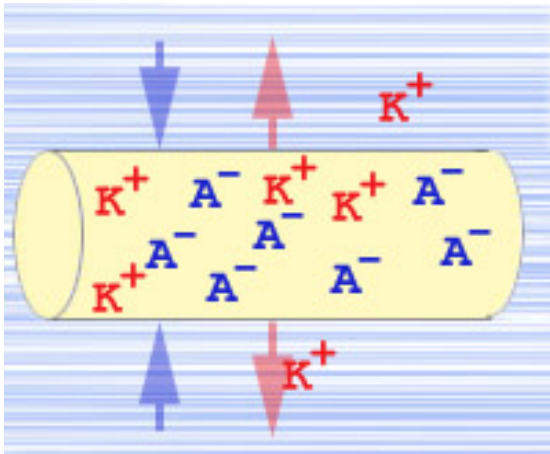


Abb. 4: Zustand im Axon bei Erreichung des Ruhepotentials (Quelle siehe Quellennachweis)

Dadurch, dass sich jetzt einige Kalium-Ionen außerhalb des Axon befinden, ist es innerhalb des Axon „negativer“ geladen als vorher. Es herrscht ein Konzentrationsunterschied, der man *chemisches Potential* nennt. Dadurch bildet sich eine Membranspannung, das *elektrischen Potential*, die der Diffusion entgegenwirkt, das sollen die beiden blauen Pfeile andeuten. Dabei „fließt“ das chemische Potential von innen nach außen und das elektrische Potential von außen nach innen.

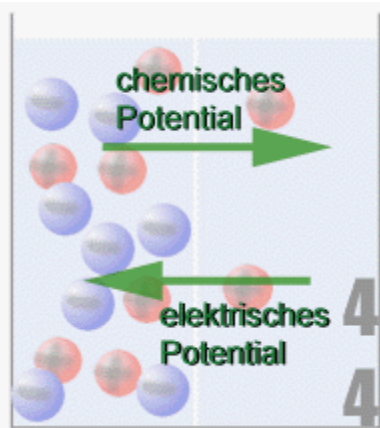


Abb. 5: Zusammenhang zwischen chemischem und elektrischem Potential. (Quelle: siehe Quellennachweis)

Dieser Prozess läuft so lange weiter bis die Kraft der Diffusion und die Membranspannung gleich groß sind, also die innere und die äußere Spannung sich nicht unterscheiden.

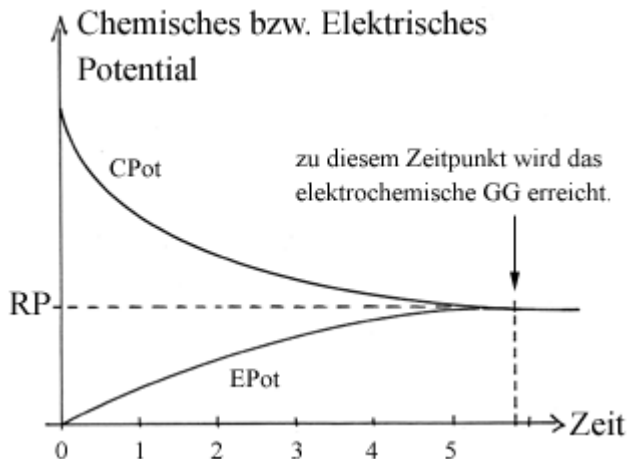


Abb. 6: Zusammenhang zwischen chemischem und elektrischem Potential und dem elektrochemischen Gleichgewicht.

Diesen Gleichgewichtszustand nennt man dann *Ruhepotential*.

3.2.2. Das Aktionspotential:

Die Zellwand des Neurons hat substratspezifische Poren, das heißt, dass bestimmte Poren nur bestimmte Ionen hindurchlassen. Im Ruhezustand, also wenn keine Spannung an die Zelle gelegt ist, sind die Natriumporen geschlossen und die Kaliumporen sind nur zum Teil geschlossen. Trifft nun ein elektrisches Signal ein, entsteht eine Depolarisierung. Ist das elektrische Signal sehr stark, dann kann es den sogenannten Schwellenwert, der bei ca. -70mV liegt, übersteigen. Wird der Schwellenwert überschritten, kann die Spannung in der Nervenzelle auf bis zu 30mV ansteigen, dabei kommt es dann zu einem Aktionspotential.

3.3. Signalübertragung an Synapsen:

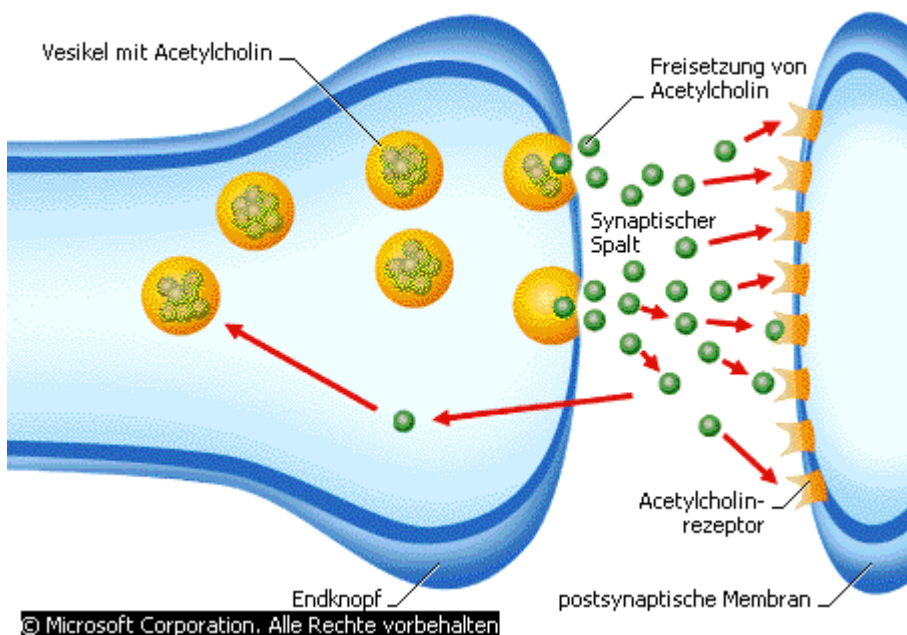


Abb. 7: Schema der Signalübertragung an Synapsen (Quelle: Microsoft Encarta 2001).

Auf dem Bild kann man sehr schön eine schematische Zeichnung einer Synapse (von griechisch *syn* zusammen und *aptein* haften) sehen. Eine Synapse ist nichts weiter, als eine Verbindungsstelle zwischen zwei Nervenenden. Man erkennt zwischen der Synapse und der postsynaptischen Nervenzelle einen kleinen Zwischenraum, er trennt die zwei verschiedenen Nervenzellen voneinander. Synapsen sollen Informationen, die in elektrischer Form

vorliegen, übertragen. Doch das können Synapsen nicht auf rein elektrischem Wege. Sie müssen die elektrischen Informationen erst in chemische Signale übersetzen. Die so übersetzten Signale, die nun bereit zum Informationstransport sind, nennt man *Neurotransmitter*, oder auch Botenstoffe. Diese Botenstoffe werden am Ende der Senderzelle in kleine Päckchen oder Vesikel genannt, gepackt. Erreichen diese Päckchen nun das Ende der Synapse, verschmelzen die Membranen der Päckchen und der Zelle und die Neurotransmitter können ihren Inhalt in den kleinen synaptischen Spalt entlassen.

Nachdem nun die Stoffe sich in dem kleinen Spalt befinden, docken sie an der Membran der postsynaptischen Nervenzelle an. Doch das andocken passiert nur nach dem Schlüssel-Schloss-Prinzip, so dass nur bestimmte Empfängerstellen auch nur bestimmte Botenstoffe empfangen können. Wenn an einen solchen Rezeptor der richtige Botenstoff angedockt hat, dann öffnen sich ganz spezielle Ionenkanäle und es fließen z.B. Natrium, Kalium und Calcium aus diesen Kanälen heraus. Dadurch verändern sich für einen kurzen Zeitraum, ca. eine Tausendstel Sekunde, die elektrischen Eigenschaften der Nervenzelle.

Ein Beispiel:

Ein elektrisches Signal setzt in der Synapse Glutamat frei. Das Glutamat bindet an die Empfängerstelle und öffnet dort AMPA/ Kainat (A/K)-Kanäle. Diese Kanäle lassen dann Natrium, Kalium und Calcium. Diese Stoffe setzen dann ebenfalls in ihrer Nervenzelle ein elektrisches Signal (Aktionspotential) frei, dass nun durch die Nervenzelle wandert.

3.3.1. Synapsengifte:

Bevor wir uns über Synapsengifte unterhalten können, müssen wir klären, wie eine solche Synapse überhaupt funktioniert. Da ich in meinen Versuchen hauptsächlich die Wirkung von Nikotin untersucht habe, gehe ich nur auf die second-messenger-Synapsen näher ein, aber um es komplett zu machen, will ich nicht verschweigen, dass es noch eine andere Art von Synapsen gibt, die chemischen Synapsen.

Bei den chemischen Synapsen erfolgt die Signalübertragung direkt durch ein Molekül, z.B. durch das Acetylcholinmolekül. Dockt dieses Molekül an der Synapse an, öffnet sich der Rezeptor. Ist jedoch kein Neurotransmitter vorhanden, schließt er sich wieder. Bei den second-messenger-Synapsen ist der Prozess ein wenig komplizierter. Die Neurotransmitter docken an dem Rezeptor an. Daraufhin wird ein G-Protein aktiviert, das nun wiederum die Synthese von cAMP aus ATP ankurbelt. Dieser second-messenger cAMP setzt sich dann in das allosterische Zentrum des Ionenkanals und öffnet ihn.

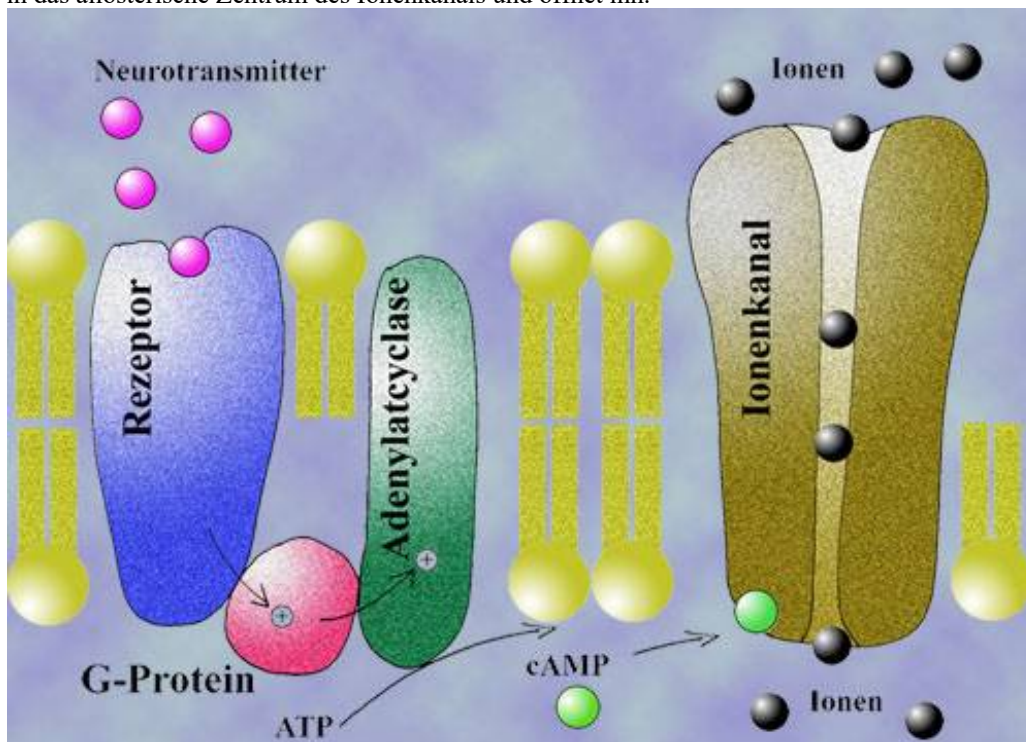


Abb. 8: Reaktionskaskade nach Andocken eines Neurotransmitters.

(Bildquelle: <http://www.drd.dehelmichbioneureihe1ur15indirektindirekt1.html>)

Das Nikotin, das ich bei meinen Versuchen benutzt habe, dockt an einen direkten Rezeptor an, den nikotinischen Acetylcholinrezeptor (nAChR). Neben diesem nAChR gibt es noch den muskarinischen Acetylcholinrezeptor (mAChR), der über eine second-messenger Kaskade wirkt.

Bei dem nAChR wird der Rezeptor von Nikotin aktiviert. Nikotin ahmt in diesem Fall die Wirkung des Acetylcholins nach. Der muskarinische Acetylcholinrezeptor wird von Muskarin aktiviert.

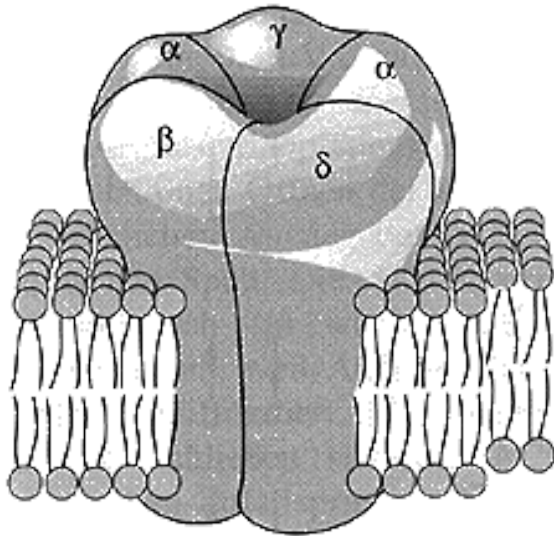


Abb. 9: Bau des Acetylcholinrezeptors (nAChR).

(Bildquelle: <http://www.drd.de/helmich/bio/neu/reihe1/ur15/endplatte3.html>)

Der Acetylcholinrezeptor (siehe Abb. 9) besteht aus fünf Glycoprotein-Untereinheiten, α (40 Kilodalton), jeweils ein β (50 Kilodalton), γ (60 Kilodalton) und δ (65 Kilodalton). Das α -Glycoprotein ist doppelt enthalten. Der Rezeptor ist an seiner breitesten Stelle ca. 8,5 nm breit und 11 nm lang. Die zentrale Pore hat einen Durchmesser von ca. 0,7 nm

Agonisten der nikotinischen ACh-Rezeptoren sind z.B. Carbamylcholin (Carbachol) und Suberyldicholin. Sie reagieren mit denselben Bindungsstellen wie ACh, wonach der Kanal sich öffnen kann.

Nikotin hat aufgrund seines gleichen Abstandes hinsichtlich der positiven / negativen Ladungsschwerpunkten eine sehr große Ähnlichkeit mit Acetylcholin. Deshalb bindet Nikotin an den nikotinischen Acetylcholinrezeptor. Als Folge der Bindung wirkt Nikotin in geringen Dosen stimulierend und fördert die Ausschüttung von Acetylcholin, Dopamin, Noradrenalin und Serotonin. Doch in größeren Dosen wirkt Nikotin außerordentlich schädlich. Es führt zur dauerhaften Depolarisation der Muskelmembran und ruft somit Muskelerschlaffung in Form von Zittern und Krämpfen hervor. Auf der folgenden Seite habe ich noch einiges zu Nikotin zusammengestellt.

Ein weiterer von mir getesteter Stoff ist Tetrodotoxin (TTX). Tetrodotoxin wurde das erste Mal bei einem Kugelfisch entdeckt.

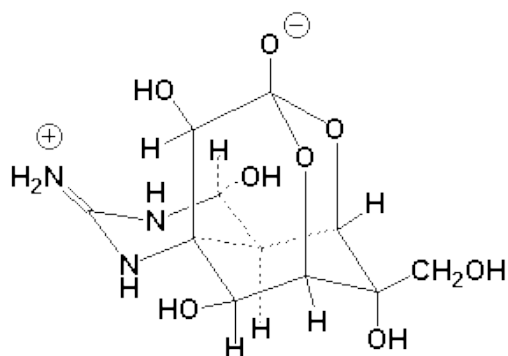


Abb. 10: Struktur von TTX.

Bildquelle: <http://www.chm.bris.ac.uk/motm/ttx/ttx.htm>

TTX ist ein sehr toxisches Neurogift. Es blockiert den spannungsabhängigen Na^+ -Transport durch die Axonplasmamembran ohne den entgegengesetzten Kaliumtransport zu beeinflussen. Dadurch wird die Entstehung von Aktionspotentialen verhindert. Als Folge dieser Beeinflussung erstickt man.

Ein weiteres Nervengift ist das α -Bungarotoxin. Es ist ein Schlangengift und bindet ebenfalls an den nikotinischen Acetylcholinrezeptor und verhindert die Acetylcholinwirkung. Als Folge tritt ebenfalls der Erstickungstod und davor Lähmungserscheinungen ein.

Als letztes habe ich noch Kaliumchlorid (KCl) verwendet. Ist KCl im äußeren Bereich der Nervenzelle vorhanden, so depolarisiert es die Zelle. Es wird also das Membranpotential mehr zu „positiveren Werten“ verschoben. Dadurch wird der Ca^{2+} -Kanal aktiviert. Diese Veränderung des intrazellulären Calciumspiegels sollte das Wachstum der Zelle beeinflussen.

Eine Reihe von molekularen dem ACh ähnlichen Substanzen sind **Agonisten** an den nikotinischen Rezeptoren: Sie reagieren ebenfalls mit den Bindungsstellen für ACh und ermöglichen die Konformationsänderungen, die zur Kanalöffnung und zur Desensibilisierung führen. Quantitativ unterscheidet sich jedoch die Kanalkinetik. So ist die Dosis-Wirkungskurve für Suberyldicholin etwa um eine Größenordnung zu geringeren Konzentrationen verschoben, die *Affinität* des Rezeptors für Suberyldicholin ist etwa 10-fach höher als für ACh. Die *Leitfähigkeiten der offenen Kanäle sind bei den verschiedenen Agonisten gleich*, sie werden offenbar durch die Eigenschaften des Rezeptor-Kanal-Moleküls und nicht durch die Liganden bestimmt.

Antagonisten verhindern die Reaktion des Rezeptor-Kanals auf den Überträgerstoff, wobei der Antagonist entweder die Bindungsstelle des Rezeptors für ACh besetzt oder mit anderen Bindungsstellen des Moleküls reagiert

Kompetitive Antagonisten. Der Funktionsweise der Überträgerstoffe am nächsten liegt der Wirkungsmechanismus der kompetitiven Antagonisten. An den nikotinischen ACh-Rezeptoren ist d-Tubocurarin, kurz **Curare**, der bekannteste Antagonist dieses Typs. Die Substanz wird von südamerikanischen Indianern als Pfeilgift verwendet. Curare bindet an die ACh-Bindungsstelle und verhindert damit die ACh-Bindung. Der Curare-Rezeptor-Komplex lässt jedoch die Konformationsänderung zur Kanalöffnung kaum zu, im Effekt wird die Kanalöffnung blockiert. Da die Curare-Bindung wie die von ACh reversibel ist und sich nach einiger Frist wieder löst, kann ACh das Curare aus seiner Bindung „verdrängen“, wenn die ACh-Konzentration hoch ist. *ACh und Curare stehen im Wettbewerb um die Bindungsstelle.* Am anschaulichsten drückt sich diese **kompetitive Hemmung** in den *Dosis-Wirkungskurven* aus: Curare verschiebt die ACh-Dosis-Wirkungskurve *parallel zu höheren ACh-Konzentrationen*. Die Möglichkeit zur Verdrängung des Antagonisten durch Erhöhung der Überträgerstoffkonzentration erlaubt eine gute Steuerung der Wirkung der kompetitiven Antagonisten.

Eine Spezialform der kompetitiven Hemmung bewirken **partielle Agonisten**. Diese sind Agonisten, der Kanal öffnet sich jedoch nach ihrer Bindung so selten und kurz, dass ihre „Wirkung“ unwesentlich ist. Im Effekt blockieren sie als kompetitive Hemmer den Rezeptor für die Bindung von ACh. Unter den **nicht-kompetitiven Antagonisten** gibt es verschiedene Wirkungsmechanismen. Sie können irreversibel an die ACh-Bindungsstelle binden oder durch Bindung an eine andere Bindungsstelle die Öffnung des Kanals verhindern, wobei sie auch als Kanalblocker den Kanal selbst verschließen können.

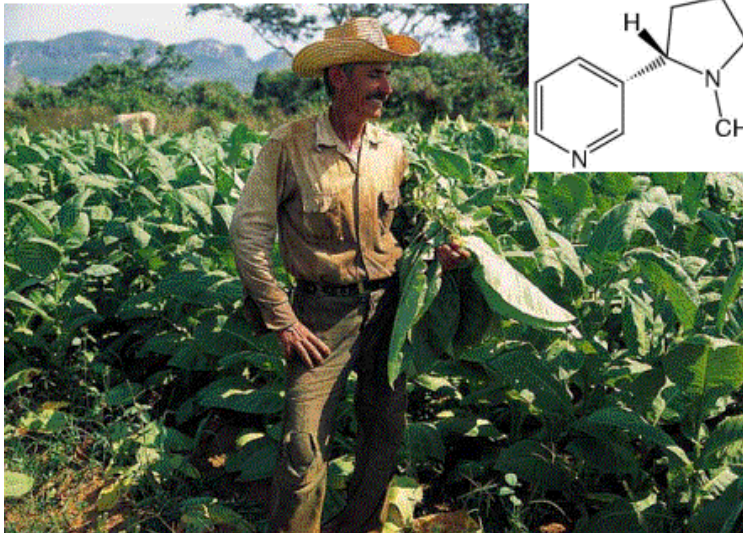
Irreversible Antagonisten. Diese Antagonisten des ACh-Rezeptors binden „irreversibel“, mit hoher Lebensdauer, an die ACh-Bindungsstelle und verhindern damit die Bindung von ACh oder eines Agonisten. Ein Vertreter dieser Gruppe ist das Schlangengift **α -Bungarotoxin**. Wenn die Konzentration und Wirkungsdauer dieser Stoffe nicht ausreichend war, um alle ACh-Rezeptoren zu blockieren, so wird noch eine ACh-Dosis-Wirkungskurve gemessen. Diese erreicht nicht mehr die maximale Wirkung der Öffnung aller vorhandenen Kanäle, die Affinität der nicht blockierten Kanäle für ACh ist jedoch unverändert.

Allosterischer Block. Ein Antagonist des ACh-Rezeptors muss nicht an der Stelle binden, an der normalerweise ACh bindet. Er kann auch an irgendeiner anderen Stelle des Kanal-moleküls reversibel oder irreversibel binden und durch diese Bindung den Kanal im geschlossenen Zustand stabilisieren. Der Nachweis des Mechanismus des allosterischen Blocks ist nicht immer leicht. Man wird ihn annehmen, wenn der Blocker keinerlei Strukturähnlichkeit mit dem Antagonisten hat und eine Bindung an den Rezeptor damit unwahrscheinlich ist.

Kanalblocker. In den nikotinischen ACh-Rezeptor-Kanälen befinden sich negative Bindungsstellen, die die hindurchdiffundierenden Kationen kurzfristig binden und damit die selektive Permeabilität des Kanals bewirken. Kanalblocker können sich an diese Bindungsstellen anlagern und damit den Kanal verschließen. Blocker für den nikotinischen ACh-Rezeptor-Kanal sind z.B. *Kokain* oder *Novocain*. Diese sind positiv geladene Moleküle, und ihr Eindringen in den Kanal ist deshalb potentialabhängig: Es wird durch ein stärker negatives Membranpotential gefördert. Außerdem können diese Blocker nur eindringen, wenn der Kanal offen ist: Sie wirken erst, wenn der Kanal durch einen Agonisten geöffnet wird. Diese Wirkung dieser *Kanalblocker* ist folglich *potential- und öffnungsabhängig* (use dependent).

Kanalgifte

Nicotiana tabacum



Nikotin:
nikotinischer (!)
ACh-Rezeptor (Agonist)

Nikotin ist in der *Nicotiana tabacum* Pflanze enthalten und ist wohl zusammen mit Alkohol die am weitesten verbreitete legale Droge. So können sogar schon 14-jährige Kinder ohne größeren Aufwand an Zigaretten kommen. Deshalb ist es kaum verwunderlich, dass, wie es eine aktuelle Studie zeigt, das Eintrittsalter von Jugendlichen zur Zigarette bei 13,5 Jahren liegt. Über Nikotin und insbesondere das Rauchen bei Jugendlichen wurde schon erschöpfend geschrieben und aller Hand Studien durchgeführt, die fast immer das zeigten, was der Auftraggeber sehen wollte. Doch insgesamt zeigen sie alle, dass Rauchen für junge (und für alte) Körper nicht fördernd ist. Rauchen schadet der körperlichen und geistigen Entwicklung. Doch:

„Rauchen ist modern. Rauchen ist in. Rauchen ist cool.“

Das wird von Jugendlichen über das Rauchen ausgesagt, doch brauchen wir uns darüber nicht zu wundern. Sehen sie das Rauchen ja täglich bei ihren großen Vorbildern, Idolen und meist bei den Eltern.

Rein logisch gesehen, sind nicht nur Rauchen, sondern auch Alkohol und andere Drogen sehr unlogisch. Man weiß, dass diese Drogen einem schaden und nimmt sie dennoch, man bezahlt sogar für seinen Schaden. Deshalb muss man sich fragen, warum man sich bewusst Schaden zuführt. Eigentlich ist Selbstverstümmelung ja strafbar. Diese „Volksdrogen“ müssen dem „Konsumenten“ auf irgendeine Art glücklich machen, ihn befriedigen. Viele Menschen sagen über das Rauchen aus, dass es sie beruhigt, ja dass sie ohne diesen „nikotinflash“ nicht mehr leben können.

Andere sehen in der Zigarette eine Art Kaugummi, das sie aus reiner Langeweile nehmen. Bei anderen Drogen wie Alkohol hilft dem „Konsumenten“ die betäubende Wirkung, die Realität „weicher“ zu sehen oder gar die Probleme in ihrer realen Welt zu vergessen und in ihrem Rauschzustand in eine andere, nach ihren Wünschen geformte Realität zu schlüpfen.

Bei den Jugendlichen ist es allerdings etwas ganz anderes. Ihre Welt ist meist noch in Ordnung. Jugendliche haben allenfalls Sorgen, was sie anziehen sollen, oder ob sie oder er sie liebt. Bei Jugendlichen in der 5.-8. Klasse ist es auch so, dass es ihnen viel wichtiger ist, von der Gemeinschaft, also ihren Klassenkameraden, akzeptiert zu werden. Die Eltern treten immer mehr in den Hintergrund und Freunde, Popstars werden zu ihren Bezugspersonen. Für sie ist es das Schlimmste, wenn sie von den anderen ausgestoßen und gehänselt werden. Deshalb rauchen sie schon mal „eine mit“ und haben dadurch auch gleich ein Erfolgserlebnis. Sie werden in die Gemeinschaft der Rauchenden freudig aufgenommen. Sie stehen nun nicht mehr abseits vom Leben. Die Jugendlichen, die solche Erfahrungen gemacht haben, werden also unbewusst *operant konditioniert*. Sie verbinden Rauchen mit Glücksgefühlen und Gesellschaft. Diese Konditionierung hält sich wahrscheinlich ihr

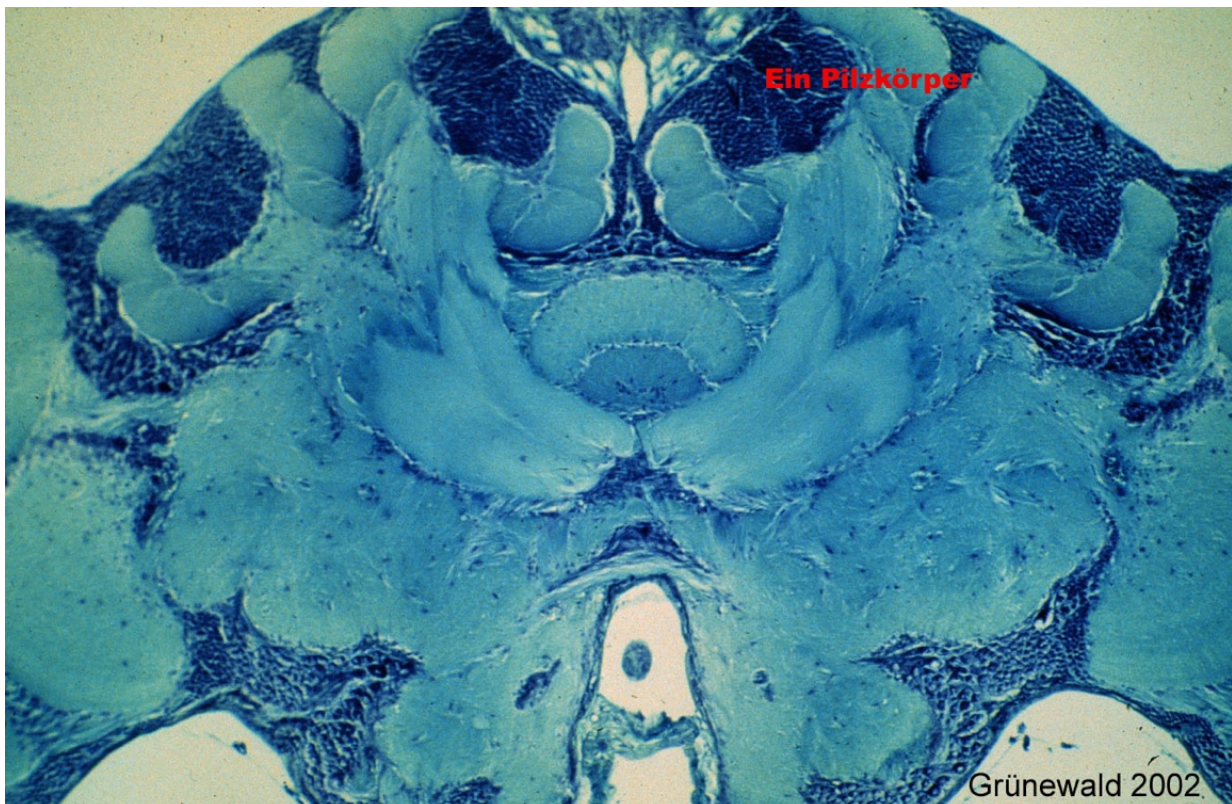
ganzes Leben. So werden sie später als Erwachsene vielleicht unbewusst, wenn sie in Einsamkeit sind, dieses Gefühl missen und in Hoffnung auf Zufriedenheit sich eine Zigarette anstecken. Deshalb ist es sehr wichtig, dass die Eltern gerade am Anfang der Pubertät darauf achten, in welchen Kreisen, in welchem sozialen Umfeld ihre Kinder sind. Wenn die Freunde einen starken Charakter haben und ein enger Zusammenhalt besteht, sowie ein Mindestgrad an Aufklärung, dann wird es anderen Kindern, die mit dem Rauchen aus reiner Neugier anfangen möchten, sehr schwer gemacht, mit dem Rauchen anzufangen und weiter zu rauchen. Wenn das der Fall ist, dann werden auch andere Probleme, wie das Jagen nach Markenklamotten, sehr weit abgeschwächt sein. Es kommt also alles auf die Eltern an, dass sie in den ersten zehn Lebensjahren das Kind selbstbewusst und kritisch erziehen. Kinder mit „kaputten Elternhäusern“ und gestörten Eltern-Kind-Beziehungen sind für Umwelteinflüsse weit mehr sensibilisiert als Kinder mit intakten Elternhäusern.

Ein Lichtblick in unserer kapitalistischen, nach Marken strebenden Welt ist allerdings am Horizont zu sehen. Nach dem nun immer mehr vom Rauchen geschädigte gegen die Zigarettenkonzerne, wie Phillip Morris gerichtlich vorgehen und sie auf ein paar Millionen US-Dollar verklagen und alle Marlboro-Männer nach Jahren an ihrem außergewöhnlich hohem Zigarettenkonsum sterben, ist eine Wende in Sicht. Die Konzerne haben eingesehen, dass es für ihren Ruf, für ihren Umsatz schädlich ist, wenn sie den „Unschuldshasen“ spielen. Sie willigten ein, bei der Aktion der Umrüstung der Zigarettenautomaten auf Geldkarten tatkräftig mitzuhelfen - auch wenn der Erfolg dieser Aktion sehr umstritten ist. Ein Werbeverbot für Zigaretten im Kino und bei der Formel-1 tut sein übriges. Die Welt scheint langsam zu begreifen.

4. Ergebnisse

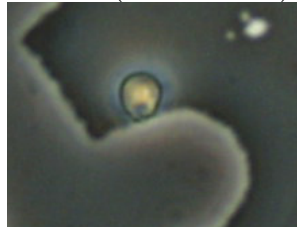
Jetzt komme ich nun zu meiner eigentlichen Arbeit. Ich stellte mir die Frage, was an den Aussagen der Medien über die Schädlichkeit von Rauchen wirklich wahr ist. Das in dem Rauch der Zigarette tausende von freien und schädlichen Radikale enthalten sind, ist heute fast jedem Menschen bewusst. Ich wählte ein ganz spezielles Gift aus der Zigarette, das Nikotin. Nikotin ist ein wesentlicher Bestandteil der Zigarette und wird immer in den Vordergrund gestellt, wenn es um die schädlichen Konstituenten des Rauches geht. Insbesondere ist eine wesentliche süchtig machende Substanz im Tabakrauch. Als Vergleichsgifte wählte ich das Gift vom Kugelfisch, TTX, und die Kaliumchloridlösung.

Alle Untersuchungen führte ich zwei bis dreimal in der Woche am Institut für Neurobiologie der FU-Berlin durch. Sie stellten mir die benötigten Mittel, wie das Nikotin, TTX, KCL, das Mikroskop, die Pipetten und die Nervenzellen der Biene. So brauchte ich während meiner Experimente nie selber Bienen töten. Die Nervenzellen stammen aus dem Pilzkörper des Bienenhirns und sind für das Duftgedächtnis verantwortlich.



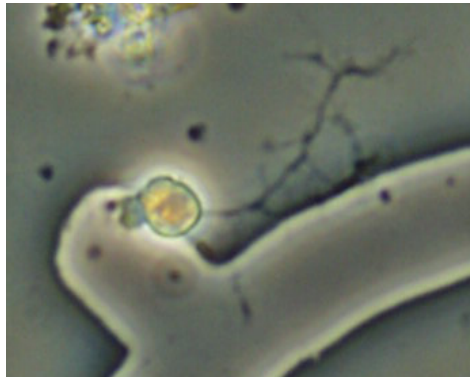
Gewebeschnitt (frontalschnitt) durch das Bienenhirn, mit einem Farbstoff (Toluidinblau) angefärbt und durch das Lichtmikroskop fotografiert.

Nachdem ich die Neuronen bekommen habe, fotografierte ich sie am dritten Tag der Zellkultur. Das war kurz vor der Zugabe des Teststoffes. Das nächste Mal fotografierte ich sie dann am siebenten Tag der Zellkultur. Die Fotos nahm ich dann mit nach Hause und maß mit Adobe Photoshop 6.0 den jeweiligen Längenzuwachs oder die Verkürzung der Dendriten nach. Zudem kategorisierte ich die Neuronen nach der Stärke ihres Auswuchses. Ich hatte vier Kategorien, 1-4. Dabei war Kategorie eins eine Nervenzelle ohne jeglichen Auswuchs (siehe Bild unten).



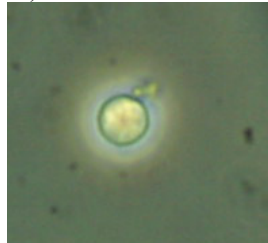
Neuron ohne Auswuchs

Die Kategorien 2-4 steigerten sich dann immer mehr von keinem Auswuchs bis zu Auswuchs mit mehr als 5 Verzweigungen von einem Hauptneuriten.



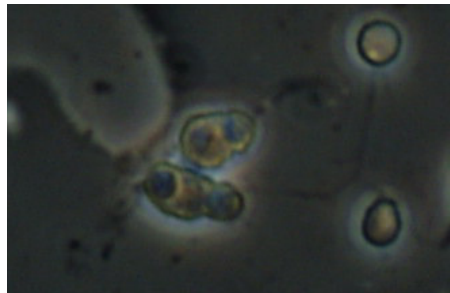
Neuron mit mehr als 5 Abzweigungen vom Hauptaxon

Neben der Anzahl der Auswüchse, hielt ich auch noch die Anzahl der verstorbenen Nervenzellen fest. Doch bei diesen Kriterien konnte ich den Gesundheitszustand der Nervenzellen nicht mit aufnehmen. So gibt es gesunde Zellen, die ein kräftiges gelbes Leuchten aufweisen,



gesundes Neuron

und es gibt Neuronen, die die bläulich bräunlich verfärbt sind. Diese Neurone sind dann gerade dabei zu sterben.

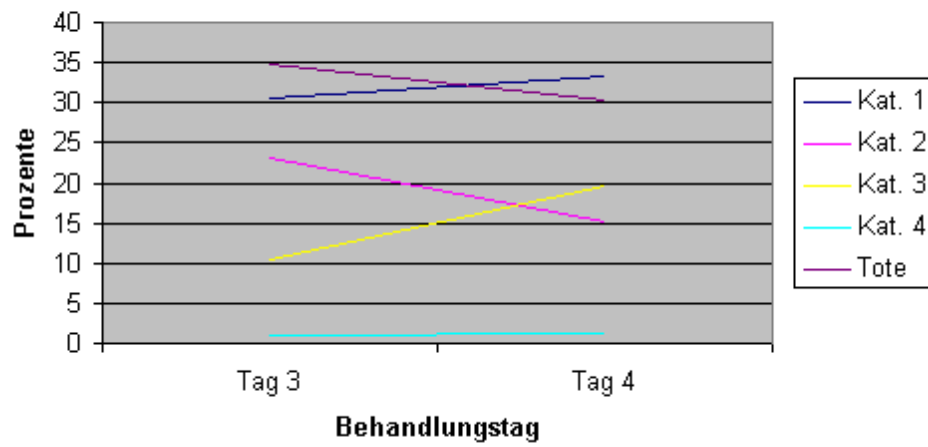


sterbendes Neuron

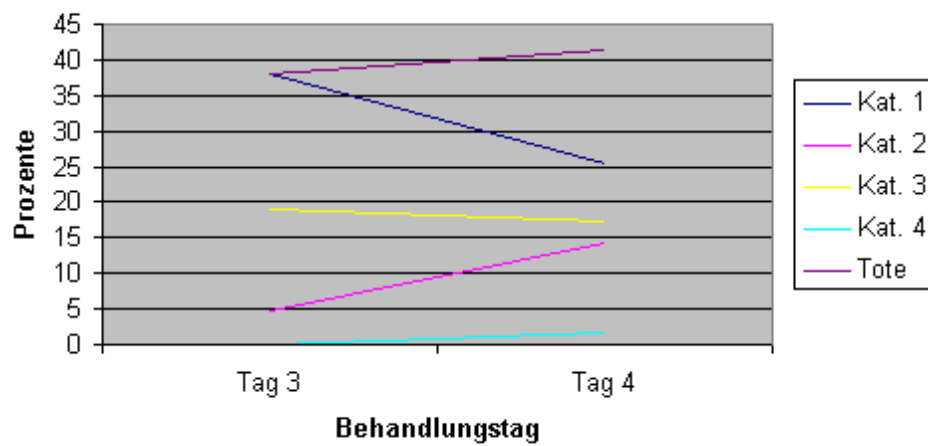
Deswegen kann der Fall auftreten, dass eine Nervenzelle schön ausgewachsen ist, aber dafür im sterben liegt und es kann der Fall auftreten, dass die Nervenzelle kerngesund ist aber dafür keine Auswüchse besitzt.

Die Ergebnisse zeigen, dass Nikotin hemmend auf die Axonbildung wirkt. Es wirkt nicht so stark, wie ich es vor der Untersuchung erwartet habe. Aber es zeigen sich eindeutige Tendenzen, dass die Nervenzellen, die mit Nikotin behandelt worden sind (10mM Nikotin) schlechter auswachsen und auch ein gewisser Teil stirbt. Jetzt stellt sich natürlich die Frage, ob dieses Ergebnis einfach auf den Menschen zu übertragen ist. Doch das muss man vorsichtig angehen und erfordert auf jedenfall noch weitere Untersuchungen. Die Nervenzelle bei der Biene und beim Menschen sind identisch, doch ist der Mensch ein viel komplexeres Wesen als die Biene und ich kann nicht sagen, ob es Faktoren gibt, die diesen Widerstand beeinflussen. Doch dürften die Auswirkungen beim Menschen nicht wesentlich anders sein als bei der Biene. Bei TTX und KCL ist das Ergebnis ein wenig verschieden. Es zeigt sich das bei TTX die Nervenzellen wesentlich häufiger sterben als bei KCL.

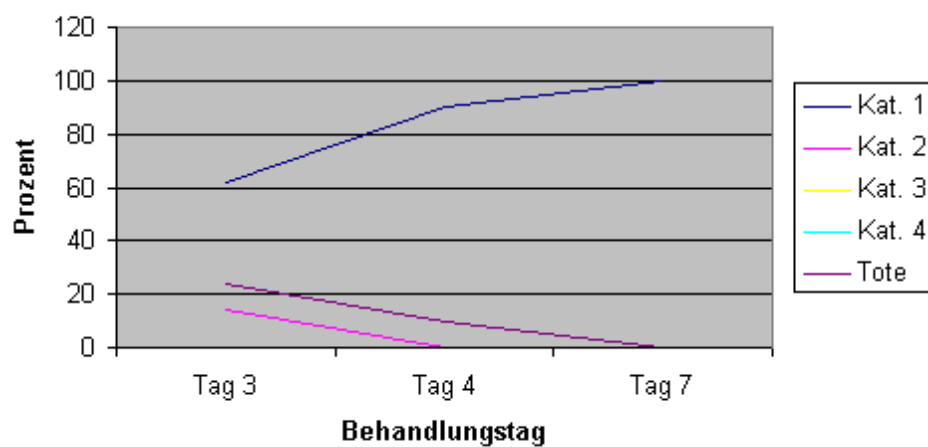
Vergleich Kenyonzellen mit TTX 10.8.01 Schale 5

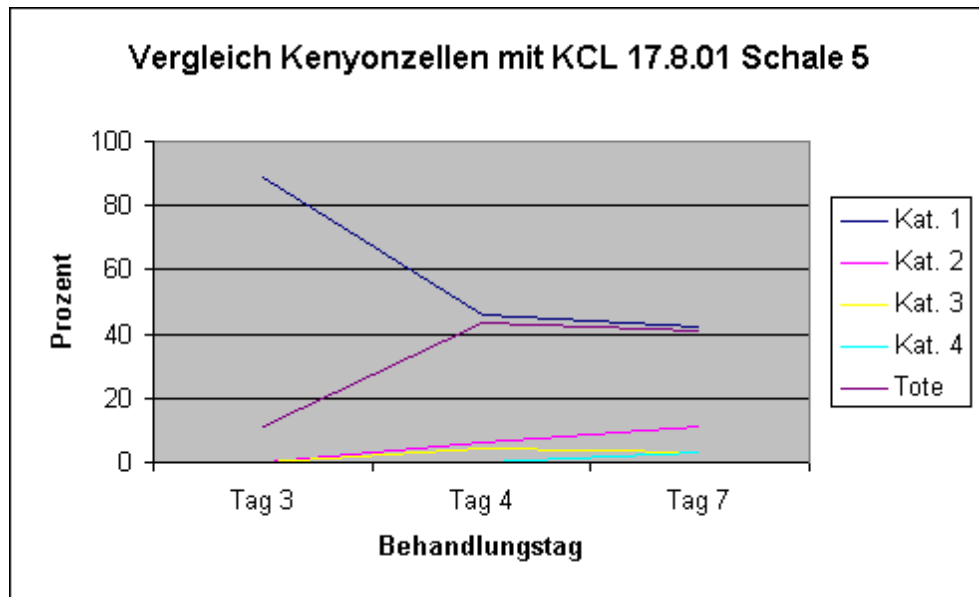


Vergleich Kenyonzellen mit TTX 10.8.01 Schale 6



Vergleich Kenyonzellen mit KCL 17.8.01





So kann man abschließend sagen, dass Der Nikotinanteil im Zigarettenrauch hemmend auf die Axonbildung der Nervenzellen wirkt. So stimmt dann der Spruch der EG-Gesundheitsminister: „Rauchen gefährdet die Gesundheit“ auch für das Nikotin.

Bei den Arbeiten lernte ich zudem, dass es ohne Sauberkeit und Genauigkeit in der Forschung nicht geht. So habe ich am Anfang viele Zellkulturen wegen Verunreinigungen (Pilze und Bakterien überwucherten die Nervenzellen) verloren.

4.1 Die Methode

Animals and cell preparation:

Honey bee (*Apis mellifera*) pupae were collected from the comb between days 4 and 6 of pupal development, which lasts 9 days under natural conditions.

Kenyon cells were dissected and cultured following a modified protocol of Kreissl & Bicker (1992). Brains were removed from the head capsule in Leibovitz L15 medium (Gibco BRL) supplemented with sucrose, glucose, fructose and proline (42.0, 4.0, 2.5 and 3.3g, respectively, for 1000 ml) to reach a final osmolality of 500 mosmol/l (preparation medium). The glial sheath was removed gently and the mushroom bodies were dissected out of the brains.

After incubation (10 min) in a calcium-free saline solution (mM: 130 NaCl, 5 KCL, 10 MgCl₂, 25 glucose, 180 sucrose and 10 HEPES; pH 7.2), mushroom bodies were transferred back to preparation medium (4 mushroom bodies per 200 µl) and dissociated by gentle trituration with a 100 µl siliconized Eppendorf Pipette. Cells were then plated in aliquots of 50 µl on polylysine- (poly-L-lysine hydrobromide, MW 150000-300000; Sigma) coated Falcon plastic dishes and allowed to settle and adhere to the substrate for at least 15 min. Thereafter, the dishes were filled with 2.5 ml of culture medium (13% (v/v) heat-inactivated fetal calf serum (Sigma), 1.3% (v/v) yeast hydrolysate (Sigma), 12.5% (w/v) L-15 powder medium (Gibco BRL), 18.9 mM glucose, 11.6 mM fructose, 3.3 mM proline and 93.5 mM sucrose; adjust to pH 6.7 with NaOH; 500 mosmol/l) and were kept at 26°C in an incubator at high humidity. Because the mushroom bodies can be mechanically dissected out of the brain and contain somata of Kenyon cells exclusively, the culture contained only Kenyon cells. Under these conditions the cells had somata diameters of 10-15 µm as in the intact mushroom body.

They grew a few short, fine and sparsely ramified processes and were used between culture days 3 and 10. Process of those cells chosen for recording did not overlap with neighbouring neurites.

Quelle: Goldberg, F., Grünwald, B., Rosenboom, H., and Menzel, R. Nicotinic acetylcholine currents of cultured Kenyon cells from the mushroom bodies of the honey bee *Apis mellifera*. *J.Physiol.* 514: 759-768, 1999.

5. Literatur- und Quellenverzeichnis

- Burnie, David: Spannendes aus dem Reich der Natur. Experimentieren und kapiieren. 1999, S. 115. Christian Verlag.
- Dudel, J. ; Menzel, R. ; Schmidt, R.F. (Hrsg.) Neurowissenschaft. 2. Auflage 2001, Springer-Verlag Seite 125-126.
- Goldberg, F., Grünewald, B., Rosenboom, H., and Menzel, R. Nicotinic acetylcholine currents of cultured Kenyon cells from the mushroom bodies of the honey bee *Apis mellifera*. *J.Physiol.* 514: 759-768, 1999.
- Abb. 1: Karl Sprengler
- Abb. 2: Bau einer typischen Nervenzelle
- Abb. 3: Zustand im Axon vor Einstellung des Ruhepotentials (Quelle <http://www.drd.de/helmich/bio/neu/reihe1/ur12/ruhepotential.html>...)
- Abb. 4: Zustand im Axon bei Erreichung des Ruhepotentials (Quelle siehe Punkt 3)
- Abb. 5: Zusammenhang zwischen chemischen und elektrischem Potential. (Quelle: <http://www.drd.de/helmich/bio/neu/reihe1/ur12/ruhepot2.html>)
- Abb. 6: Zusammenhang zwischen chemischen und elektrischem Potential und dem elektrochemischen Gleichgewicht. (Quelle: siehe Punkt 5)
- Abb. 7: Schema der Signalübertragung an Synapsen (Quelle: Microsoft Encarta 2001).
- Abb. 8: Reaktionskaskade nach Andocken eines Neurotransmitters. (Quelle)
(Bildquelle: <http://www.drd.de/helmich/bio/neu/reihe1/ur15/indirektindirekt1.html>)
- Abb. 9: Bau des Acetylcholinrezeptors (nAChR).
(Bildquelle: <http://www.drd.de/helmich/bio/neu/reihe1/ur15/endplatte3.html>)
- Abb. 10: Struktur von TTX.
Bildquelle: <http://www.chm.bris.ac.uk/motm/ttx/ttx.htm>)

6. Danksagung

Hier will ich mich insbesondere bei meinem Lehrer, Herrn Böker, sowie bei Herrn Dr. Grünewald für ihre tatkräftige Unterstützung danken. Sie haben mich während der ganzen Zeit mit allen Mitteln unterstützt und in schwierigen Phasen haben sie mir immer wertvolle Tipps gegeben. Bedanken will ich auch bei Herrn Prof. Dr. R. Menzel, der es mir überhaupt ermöglicht hat, an seinem Institut ein Praktikum zu besuchen und dass mir das Institut die ganzen Materialien zu Verfügung gestellt hat, das finde ich wirklich gut.

Vielen Dank Ihnen allen, ohne Sie hätte ich das nicht geschafft.