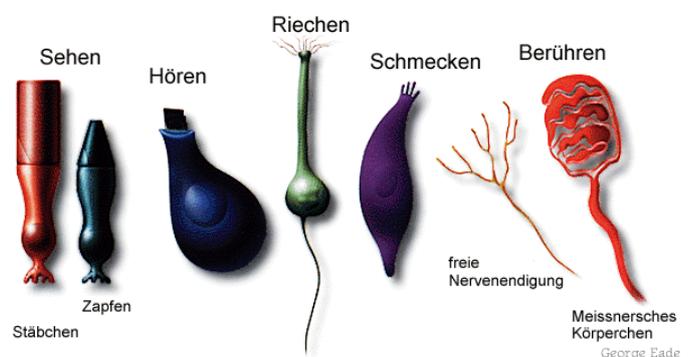




Tierphysiologisches Praktikum WS 2019/20

Modulverantwortlicher: Prof. Dr. Christian Lohr



Vorlesung

2st. Fr 09.00 – 10.30; Gr. Hörsaal

1.	18.10.19	Einführung, Bioenergetik, Enzyme	Fabrizius
2.	25.10.19	Hormone, Verdauung I	Fabrizius
3.	01.11.19	Verdauung II, Exkretion	Fabrizius
4.	08.11.19	Atmung, Kreislauf	Fabrizius
5.	15.11.19	Blut, Immunsystem	Fabrizius
6.	22.11.19	Wärmehaushalt, Muskel	Fabrizius
7.	29.11.19	Neuroanatomie, Membranerregbarkeit	Lohr
8.	06.12.19	Synapse, Peripheres Nervensystem	Lohr
9.	13.12.19	Sinne I	Lohr

Ferien

10.	10.01.20	Sinne II	Lohr
11.	17.01.20	Sinne III	Lohr
12.	24.01.20	Lernen und Gedächtnis, Kognition	Lohr

Fr. 12.02.20, 10:00-11:30: Klausur

Fr. 03.04.20, 10:00-11:30: Nachklausur

Vorbesprechung für alle Kurse: Jeden Montag, 12:45 – 13:45

Liebe Studierende,

Wir begrüßen Sie herzlich zum "Tierphysiologischen Praktikum" im WS 19/20 und möchten Sie auf diesem Wege über Termine und Modalitäten in Kenntnis setzen. Wir bitten Sie, diese Information **gründlich zu lesen** um spätere Missverständnisse zu vermeiden.

Praktikum (6 SWS)

Die Praktika finden in Raum 111 (Kursraum Physiologie, Zoologisches Institut und Museum, Martin-Luther-King-Platz 3) statt:

Termine:

21.10.-25.10.19	Biochemisches Arbeiten
04.11.-08.11.19	Enzym
11.11.-15.11.19	Energetik
18.11.-22.11.19	Exkretion
25.11.-29.11.19	Blut
02.12.-06.12.19	Neurophysiologie
09.12.-13.12.19	Muskel
06.01.-10.01.20	Herz- und Kreislaufsystem
13.01.-17.01.20	Visueller Sinn
20.01.-24.01.20	Sinnesphysiologie allgemein

12.02.2020, 10:00 KLAUSUR (Hörsaal, Martin-Luther-King-Pl. 3)

Gr. A	Mo	14:15 – 18:45
Gr. B	Di	08:30 – 13:00
Gr. C	Di	14:00 – 18:30
Gr. D	Mi	15:00 – 19:30
Gr. E	Do	08:30 – 13:00
Gr. F	Do	14:00 – 18:30
Gr. G	Fr	13:30 – 18:00

Bitte beachten Sie Ihre Gruppeneinteilung. Sie können die Gruppen **vor Beginn** des Praktikums untereinander tauschen, jedoch nur mit entsprechendem Tauschpartner. Den Tausch bitte beim Studienbüro anzeigen.

Vorbesprechung

Für **alle** Kurse findet jeweils am Montag, 12:45–13:45, im Gr. Hörsaal (Martin-Luther-King-Pl. 3) die gemeinsame Vorbesprechung statt. Diese Veranstaltung beginnt am **Montag, 21.10.2019**. Wir weisen ausdrücklich darauf hin, dass es in den Kursen aus Zeitgründen keine gesonderte Vorbesprechung geben kann.

Skript

Ihnen wird in STiNE ein Kurs-Skript elektronisch zur Verfügung gestellt. Bitte drucken Sie das Skript aus und bringen Sie es zum Kurs mit. **Eine Teilnahme an einem Kurstag ohne ausgedrucktes Skript ist nicht möglich.** Wir fordern Sie weiterhin dringend auf, das Skript vor Beginn des Kurstags zu lesen (siehe "Quicktests")!

Regelmäßige Teilnahme

Laut Rahmenprüfungsordnung liegt eine regelmäßige Teilnahme vor, wenn der Student oder die Studentin – **auch entschuldigt** – nicht mehr als 15% der Lehrveranstaltung (entspricht einem Kurstag) versäumt. Wenn Sie mehr als einen Kurstag aber weniger als vier fehlen, müssen Sie die versäumten Kurstage im nächsten Jahr nachholen. Wenn Sie vier oder mehr Kurstage nicht anwesend sind, gilt das Modul als nicht bestanden. Sie können dann auch nicht an der Modulabschlussklausur teilnehmen.

Quicktests

An jedem Kurstag wird **unmittelbar am Beginn des Praktikums** ein Quicktest ("6 Fragen in 6 Minuten") geschrieben. Der Test umfasst nur die jeweils am Kurstag relevanten Themengebiete, wie sie in der Vorbesprechung am Montag und im Skript behandelt werden. **Mindestens acht der zehn Quicktests müssen bestanden werden** (d.h., mit je mindestens 3 von 6 Punkten). An Fehtagen zählen die Quicktests als nicht bestanden. Wenn Sie weniger als acht Quicktests bestanden haben, müssen Sie entsprechend viele der relevanten Kurstage im nächsten Jahr **vollständig** nachholen. Die Ergebnisse der Quicktests gehen nicht in die Endnote ein.

Protokoll

Die Ergebnisse des Kurstags und die entsprechenden Schlussfolgerungen sollen in den dafür vorgesehenen Stellen des Skripts vermerkt werden (**Kurzprotokoll**). Diese werden am Ende des Kurses von den Kursleitern kontrolliert und abgezeichnet, dies gilt als Anwesenheitskontrolle.

Sie schreiben **zusätzlich zu einem** der zehn Kurstage ein **ausführliches Protokoll**. Am Ende jedes Kurstags werden jeweils drei Protokollanten ausgelost (Sie können jedoch nicht mehrmals ausgelost werden). **Eine Vorlage (Musterprotokoll) finden Sie im Skript.**

Das Protokoll muss jeweils am **übernächsten** Kurstag in ausgedruckter Form abgegeben werden (zwei Wochen Bearbeitungszeit) und **zusätzlich** in elektronischer Form (MS Word oder RTF, **KEIN** [wirklich **KEIN**] PDF oder OpenOffice) an die Mail-Adresse **tierphysiologie@uni-hamburg.de** geschickt werden. Bitte vermerken Sie im Betreff der Email ihren Namen und das Protokollthema (da die Betreuer ansonsten 200 Emails öffnen und die für sie relevanten raussuchen müssen). Wenn diese Vorgaben nicht eingehalten, gilt das Protokoll als nicht abgegeben. Das Protokoll wird von uns in der Regel innerhalb einer Woche korrigiert. Häufig werden Sie es mit Anmerkungen und Bitte um Überarbeitung zurück erhalten. Sie haben dann **einmalig** die Gelegenheit zur Verbesserung und erneuten Abgabe (innerhalb von einer Woche). Sollte das Protokoll dann immer noch erhebliche Mängel aufweisen, wird Ihnen ein weiteres Protokoll zu einem anderen Kurstag zugeteilt. Bitte beachten Sie: **Die überarbeitete Fassung eines Protokolls wird nur dann angenommen, wenn die Originalversion mit unseren Anmerkungen dabei ist.**

Ihr Protokoll muss auf der letzten Seite folgende **Versicherung** enthalten: "*Hiermit bestätige ich, dass das vorliegende Protokoll von mir selbstständig verfasst wurde und keine anderen als die angegebenen Hilfsmittel – insbesondere keine im Quellenverzeichnis nicht benannten Internet-Quellen – benutzt habe.*"

Falls sich Ihr Protokoll als **Plagiat** herausstellt (d.h., weite Teile des Texts wurden aus einer Vorlage kopiert), wird dies als Täuschungsversuch gewertet, der gesamte Kurs gilt als nicht bestanden und muss im nächsten Jahr wiederholt werden.

Vorlesung

Zu dem Modul "Tierphysiologie" gehört die Vorlesung "Einführung in die Tierphysiologie" am Fr 09:00 – 10:30 im Großen Hörsaal, Zoologisches Institut und Museum, Martin-Luther-King-Platz 3, die am 20.10.17 beginnt.

Weitere Informationen

Aktuelle Informationen, die Vorlesungsfolien und die Kursskripte finden Sie immer in STiNE
Viele Grüße, Christian Lohr

Zu allen Kurstagen bitte Taschenrechner, USB-Stick, Kittel und Geo-Dreieck mitbringen

Grundlagen biochemischen und physiologischen Arbeitens

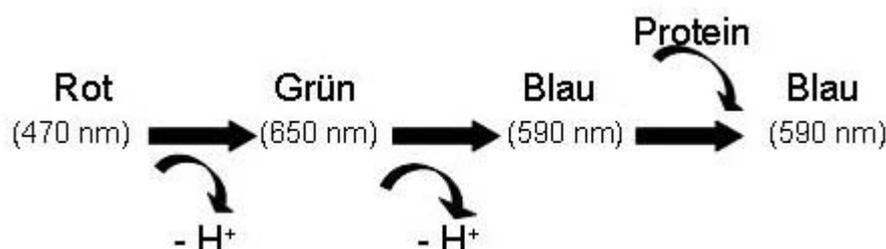
1. Einleitung

Eine häufige Aufgabe im biochemischen Labor besteht in der quantitativen Bestimmung von Substanzen, z. B. der Ermittlung des Glucosegehalts im Blut oder des DNA-Gehalts in einer Extraktionslösung. Um solche quantitativen Analysen exakt vornehmen zu können, ist eine Reihe von apparativen und technischen Voraussetzungen zu erfüllen. Außerdem ist die Kenntnis der im Laboralltag häufig verwendeten Maßeinheiten und die Beherrschung einiger mathematischer Rechenoperationen notwendig.

Bei der Quantifizierung von Substanzen besteht häufig das Problem, dass die Substanz nicht rein vorliegt, sondern sich in einem Gemisch befindet, also gemeinsam mit anderen Substanzen meistens in einer wässrigen Lösung vorliegt. Um dieses Problem zu umgehen, werden zahlreiche, möglichst spezifisch nur die gewünschte Substanz erfassende, biochemische Nachweis- und Quantifizierungsmethoden angewendet. Viele gründen sich auf das Prinzip, dass durch eine geeignete chemische oder enzymatische Reaktion ein Farbumschlag erzeugt wird: Der Reaktionslösung wird ein Farbstoff zugefügt, der vor der Reaktion mit der fraglichen Substanz eine andere Farbe hat als nach der Reaktion.

Im Idealfall ist die Intensität der entstandenen Farbe linear proportional zur Konzentration der zu bestimmenden Substanz in der Reaktionslösung. Die Intensität der entstandenen Farbe kann fotometrisch exakt gemessen und die Menge bzw. Konzentration der Substanz errechnet werden.

Anhand des Beispiels einer Eiweißbestimmung wollen wir einen Analysengang vom Beginn bis zur endgültigen Auswertung vollständig ausführen. Die Proteinquantifizierung wird mit Hilfe der häufig verwendeten Bestimmungsmethode nach Bradford durchgeführt (Bradford, M. 1976 „A Rapid and Sensitive Method for the Quantification of Microgramm Quantities of Protein Utilizing the Principle of Protein-Dye-Binding“ Anal. Biochem. 72:248-254). Die Methode beruht auf dem Prinzip, dass der Farbstoff "Coomassie Blue G" in verschiedenen protonierten Zuständen unterschiedliche Farben und somit Absorptionsmaxima (in Klammern) hat.



Bindet Coomassie an ein Protein, so schlägt der im Sauren rote Farbstoff um zu einem Blau-ton, dessen Intensität im Gelben bei 595 nm fotometrisch gemessen werden kann.

2. Material und Methoden

2.1 Reagenzien:

2.1.1. Farblösung

100 mg Coomassie G-250 lösen in 50 ml Methanol
100 ml 85%ige H_3PO_4 hinzufügen
mit a. bidest. vorsichtig auf 200 ml auffüllen

Die obige Farbstammlösung sollte trübungsfrei und dunkelrot sein und einen pH-Wert von ca. 0 haben. Sie ist verschlossen in einer dunklen Flasche bei 4°C praktisch unbegrenzt haltbar.

Gebrauchslösung: Zum Gebrauch wird die Stammlösung 1:5 mit Wasser (A. bidest.) (= 1 Teil Stammlösung + 4 Teile Wasser) verdünnt und filtriert.

Die Gebrauchslösung steht fertig vorbereitet zur Verfügung.

2.1.2. Eichlösungen

Als Proteinstandard wird meistens Rinderserumalbumin (BSA) verwendet. Bitte stellen Sie eine BSA-Stammlösung in einer Konzentration von **1 mg/mL** her. Dazu wiegen Sie in ein auf Tara = 0 gesetztes Gefäß ca. 10 bis 15 mg BSA ein und errechnen das Volumen an A. bidest., das zur Lösung benötigt wird. Nach dem Hinzufügen des A. bidest. wird ein Rührmagnet in das Gefäß gegeben und die Lösung auf dem Magnetrührer gerührt bis das BSA gelöst ist (dauert ca. 10 Minuten).

Aus der Stammlösung stellen Sie mit A. bidest. folgende sieben Eichlösungen her:

- | | |
|--------------|-------------------------------|
| 1) 500 µg/mL | Röhrchen beschriften! |
| 2) 250 µg/mL | |
| 3) 125 µg/mL | Nach jedem Verdünnungsschritt |
| 4) 50 µg/mL | gründlich MISCHEN! |
| 5) 25 µg/mL | |
| 6) 10 µg/mL | |
| 7) 5 µg/mL | |

Überlegen Sie sich, wie Sie beim Herstellen der Verdünnungen am besten vorgehen.

2.1.3. Probenlösungen

- 1) Als Probenlösungen stehen zur Verfügung 2 Testproben mit unbekanntem Proteingehalt, bezeichnet mit Lösung A und Lösung B. Diese Proben sind bereits 1:500 fertig verdünnt.
- 2) Ferner verwenden Sie bitte einen Eigenurin, der nicht verdünnt wird.
- 3) Schließlich verwenden Sie bitte von mindestens einer Person pro Gruppe eigenes Kapillarblut aus der Fingerbeere, 10 µL.

Dazu stechen Sie mit der sterilen Impflanzette ein kleines Loch in die mit Alkohol desinfizierte Fingerbeere und entnehmen 10 µL Blut in die kalibrierte Kapillare. Die Kapillare wird sofort in 490 µL A. bidest., das vorher in einem Eppendorfgefäß vorgelegt wurde, entleert und gespült. Da sofort eine Hämolyse eintritt, wird die Lösung hellrot. Das Hämolysat verwenden Sie bitte einmal in der vorliegenden Verdünnung und stellen, davon ausgehend, noch 3 weitere Verdünnungen her:

- | | |
|---|-----------------------------------|
| 1) obige Ausgangsverdünnung unverändert | Röhrchen beschriften! |
| 2) Endverdünnung 1 : 500 | MISCHEN nach jedem Schritt |
| 3) Endverdünnung 1 : 1000 | nicht vergessen! |
| 4) Endverdünnung 1 : 2500 | |

2.2. Methode

Von der Proteinbestimmungsmethode nach Bradford existieren eine Makro- und eine Mikroversion. Wir werden die Makroversion für höhere Proteingehalte benutzen. Bitte gehen Sie nach dem unten angegebenen Pipettierschema vor. Überlegen Sie vorher, wie viele Eichlösungen und wie viele Proben sie haben und beschriften Sie die Gefäße eindeutig. Zu jeder Bestimmung benötigt man einen „Leerwert“, mit dessen Hilfe die Farbe der reinen Reagenzienmischung subtrahiert werden kann.

Es wird zuerst in ein Gefäß das Wasser für den Leerwert eingefüllt, danach in die jeweiligen Röhrchen die Eichlösungen in aufsteigender Reihe und schließlich die Proben. Schließlich wird zügig in alle Gefäße das Farbreagens eingefüllt.

(Schutzbrille, Kittel und Handschuhe benutzen!)

Tab. 1 Pipettierschema bei der Bradford-Bestimmung

	Leerwert	Eichreihe	Proben
Dest. Wasser	100 μ L	---	---
Diverse Eichlösungen	---	100 μ L	---
Diverse Proben	---	---	100 μ L
Farbreagens	1000 μ L	1000 μ L	1000 μ L

Gefäße verschließen, mischen (vortexen), mindestens 3 min. bei Raumtemperatur inkubieren, Extinktionen nach spätestens 30 min. ablesen gegen den Leerwert bei **595 nm**.

Zum Fotometrieren stehen Halbmikroküvetten zur Verfügung, die mit ca. 1 mL befüllt werden.

Entsorgung der Reagenzien (erst nach der Berechnung!) in bereitgestellte Kanister.

3. Ergebnisse

Auswertungsmethode 1, Auswertung mit Hilfe einer manuellen Eichkurve:

Auf einem Millimeterpapier werden auf der Abszisse (X-Achse) die Proteinkonzentrationen der Eichlösungen aufgetragen und auf der Ordinate (Y-Achse) die Extinktionen. Die gemessenen Extinktionen der Eichlösungen werden an entsprechender Stelle mit einem Kreuz markiert. Mit Hilfe eines Lineals werden jeweils die nebeneinander liegenden Werte vom kleinsten bis zum größten Wert miteinander verbunden, aber nicht darüber hinaus. Nun kann man an der Ordinate die Extinktion einer Probe suchen, waagrecht mit der Eichgeraden verbinden und von diesem Kreuzungspunkt aus senkrecht auf der Abszisse die Proteinkonzentration in der Probe ermitteln. Anschließend wird unter Berücksichtigung der Verdünnung die endgültige Proteinkonzentration der Probe berechnet.

Auswertungsmethode 2, Auswertung mit Hilfe einer Standardlösung:

Wählen Sie eine Ihrer Eichlösungen aus der Mitte eines größeren linearen Bereichs aus und benutzen Sie diese als Referenzlösung = Standard. Aus den gemessenen Extinktionen der Standard-Lösung und der Probenlösungen werden unter Anwendung der Verhältnisgleichung zunächst die Proteinkonzentrationen in den Proben ermittelt. Anschließend werden unter Berücksichtigung der jeweiligen Verdünnungen die endgültigen Proteinkonzentrationen der Proben berechnet (nur bei Serum A und B anwenden).

Auswertungsmethode 3, Auswertung mit Hilfe einer computererstellten Geradengleichung: wird im Kurs demonstriert.

Die Angabe der Endergebnisse erfolgt in **mg/mL**.

4. Diskussion (Protokoll)

Diskutieren Sie Ihre Ergebnisse unter methodischen und inhaltlichen Gesichtspunkten. Vergleichen Sie Ihre Werte mit den angegebenen „Sollwerten“, den Gruppenergebnissen und der Literatur.

5. Literatur zur Vorbereitung

Alternativ angegebene Kapitel aus dem "Campbell" oder "Purves":

1. Campbell, N. A. & Reece, J. B. (2009). Biologie. Pearson Education Deutschland; 8. Auflage, Kap. 5, "Struktur und Funktion biologischer Makromoleküle", S. 94–125, insbesondere Kap. 5.4.
2. Markl, J., Sadava, D., Orians G. & Heller, H.C. (2012). Spektrum Akademischer Verlag; 9. Auflage, Kap. 3, "Proteine, Kohlenhydrate und Lipide", S. 50-76, insbesondere die Abschnitte über Proteine.

Bei älteren Ausgaben können sich andere Kapitelnummern oder Seitenzahlen ergeben.

Anhang mit wichtigen Informationen

Masse

Die Masse ist eine Eigenschaft der Materie und eine physikalische Grundgröße. Ihre internationale Einheit ist das Kilogramm (kg). Im allgemeinen Sprachgebrauch wird die Masse häufig als Gewicht bezeichnet.

Es gilt: 1 kg = 1000 g (Gramm)

1 g = 1000 mg (Milligramm) oder: 1 g = 10³ mg

1 mg = 1000 µg (Mikrogramm) oder: 1 mg = 10³ µg

1 µg = 1000 ng (Nanogramm) oder: 1 µg = 10³ ng

1 ng = 1000 pg (Picogramm) oder: 1 ng = 10³ pg

Damit gilt z. B.: 1 g = 10³ mg = 10⁶ µg = 10⁹ ng = 10¹² pg,
oder umgekehrt: 1 pg = 10⁻³ ng = 10⁻⁶ µg = 10⁻⁹ mg = 10⁻¹² g.

Volumen

Das Volumen (V) ist der räumliche Inhalt eines Körpers, einer Flüssigkeit oder eines Gases. Seine internationale Einheit ist der Liter (L).

Es gilt: 1 L = 1000 mL (Milliliter)

1 mL = 1000 µL (Mikroliter) oder: 1 mL = 10³ µL;

weitere gebräuchliche Einheit: 100 mL = 1 dL (Deziliter)

Es gilt ferner: 1 mL = 1 cm³ und 1 µL = 1 mm³

Konzentration

In der (Bio-)Chemie versteht man unter einer Konzentration die Masse einer Substanz pro Volumeneinheit. Sie wird angegeben in g/L (Gramm pro Liter) oder mol/L (Mol pro Liter).

Prozentige Lösung

Eine gewichtsprozentige Lösung enthält eine bestimmte Masse eines Stoffes in Gramm (bzw. eine Untereinheit davon, s. o.) bezogen auf ein Gesamtvolumen von 100 mL.

Beispiel 1, gewichtsprozentige Lösung, abgekürzt (w/v): Eine 5%ige Kochsalzlösung enthält 5 g NaCl **ad (nicht plus)** 100 ml H₂O. Man wiegt 5 g Kochsalz ab und füllt mit destilliertem Wasser auf ein Volumen von 100 mL auf (inklusive der Festsubstanz). Benötigt man ein größeres Volumen dieser Lösung, z. B. 1 L (also das zehnfache), so wiegt man auch das zehnfache an NaCl ab, nämlich 50 g und löst dieses **ad** 1 L H₂O.

Beispiel 2, volumenprozentige Lösung, abgekürzt (v/v): Eine 70%ige Alkohollösung enthält 70 Anteile Alkohol und 30 Anteile destilliertes H₂O. Man füllt 70 ml Alkohol in einen Messzylinder und füllt mit A. bidest. auf 100 ml auf. Wird ein größeres Volumen benötigt, multipliziert man beide Anteile entsprechend mit dem gleichen Faktor. Eine Berücksichtigung der unterschiedlichen Dichten der Lösungen ist in der Praxis nur selten nötig.

Molare Lösung

Eine molare Lösung enthält ebenfalls eine bestimmte Masse eines Stoffes, jedoch angegeben als molarer Anteil dieser Substanz. Eine 1M (sprich molare) Lösung enthält genau 1 mol einer Substanz **ad** 1 Liter H₂O, angesetzt bei 20°C.

1 mol ist diejenige Stoffmenge einer Substanz, die aus ebensoviel Teilchen besteht, wie Atome in 12 g des Kohlenstoffisotops ¹²C enthalten sind. In Zahlen ausgedrückt: Ein Mol eines jeden Stoffes enthält genau $6,022 \times 10^{23}$ Teilchen (Avogadro-Konstante). D. h. die Molekülmasse (veraltet Molekulargewicht) einer Substanz in Gramm ist ein mol dieser Substanz. Der Vorteil dieser Angabe besteht darin, dass equimolare Lösungen die gleiche Anzahl von Teilchen enthalten.

Beispiel 1: Eine 1 M Kochsalzlösung enthält genau 58,44 g NaCl ad 1 L H₂O. Die Atommasse von Natrium beträgt 22,99 g, die von Chlor 35,45 g, wie im Periodensystem der Elemente nachzuschlagen ist. Wird ein anderes Endvolumen benötigt, wird entsprechend umgerechnet.

Beispiel 2: Es sollen 250 ml einer 150 mM (= 0,15 M) Natronlauge angesetzt werden. Die Molekülmasse von NaOH ist 40 (23 + 16 + 1). Zuerst erfolgt die Umrechnung auf 150 mM: $40 \times 0,15 = 6$, also 6 g/L. Da aber nur 250 ml benötigt werden, ergibt sich $6 \text{ g} : 4 = 1,5 \text{ g}$. Es werden also 1,5 g NaOH abgewogen und **ad** 250 ml mit H₂O aufgegossen und gelöst.

Verdünnungen

In einer Vorschrift heißt es beispielsweise: Verdünnen Sie die Probe 1:10 mit A. bidest. (oder einer anderen Verdünnungslösung, z. B. einem Puffer). Das heißt, die Probe soll nur noch zu einem zehntel im Endvolumen vorhanden sein. Das wird erreicht, indem man in obigem Beispiel **1 Teil** Probe mit **9 Teilen** a. bidest. mischt. Eine Verdünnung von 1:50 besteht aus einem Teil Probe + 49 Teilen Verdünnungslösung.

Beispiel 1: Es wird 750 µL einer Probenverdünnung von 1:10 benötigt. Man legt 900 µL der Verdünnungslösung ins Reaktionsgefäß vor und gibt 100 µL der Probe hinzu, gut mischen. Hiervon werden dann 750 µl verwendet; man setzt immer einen Überschuss an.

Beispiel 2: Es werden von einer Probe jeweils 100 µL in den Verdünnungen 1:5, 1:10 und 1:20 benötigt. Hier ist eine Verdünnungsreihe sinnvoll. Man stellt sich 3 Reaktionsgefäße auf und befüllt das erste mit 400 µL Verdünnungslösung, das zweite und dritte mit jeweils 200 µL. In das erste Gefäß werden 100 µL Probe gegeben und gut gemischt. Daraus werden 200 µL entnommen und in das zweite Gefäß überführt. Wieder gut mischen und daraus 200 µL in das dritte Gefäß überführen, gut mischen. Auch hier wurden Überschüsse angesetzt.

Eichlösungen

Bei jeder quantitativen Bestimmung ist eine Eichung erforderlich, da die verwendeten Geräte und Lösungen oftmals in ihrer Qualität schwanken. Auch unterschiedliche Umgebungstemperaturen und ein persönlicher Faktor in der Pipettiertechnik können eine Rolle spielen.

Eichlösungen enthalten die zu bestimmende Substanz in einer definierten Konzentration. Es wird eine bekannte Masse der Substanz abgewogen und in einem definierten Volumen Flüssigkeit gelöst. Solange es bei einer bestimmten Methode unbekannt ist, ob das Verhältnis zwischen der Substanzkonzentration und der Extinktion (s. u.) linear ist, benötigt man eine Eichreihe aus mehreren Eichlösungen mit abfallenden Konzentrationen. Diese stellt man sich her, indem ausgehend von der Eichlösung mit der höchsten Konzentration eine Verdünnungsreihe pipettiert wird. Nur Proben, deren Extinktionen sich im Bereich zwischen der höchsten und der niedrigsten Eichlösung bewegen, können ausgewertet werden.

Der Standard

Eine Standardlösung ist eine Eichlösung. Wenn bekannt ist, dass das Verhältnis zwischen der Substanzkonzentration und der Extinktion über einen größeren Bereich hinweg linear ist, genügt eine einzige Eichlösung im mittleren Bereich, die dann als Standard bezeichnet wird. Der Linearitätsbereich (Minimum, Maximum) muss bekannt sein und Proben können nur innerhalb dieses Bereichs ausgewertet werden.

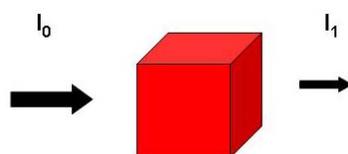
Das Fotometer

Ein Fotometer ist ein Lichtmessgerät, das Lichtintensitäten quantitativ erfassen und darstellen kann. Das Kernstück eines jeden Fotometers ist seine Fozelle, die das Element Selen enthält. Selen hat die Eigenschaft, dass seine elektrische Leitfähigkeit bei Beleuchtung annähernd proportional zur Quadratwurzel der Lichtstärke zunimmt. Einfach ausgedrückt: Fällt Licht auf die Fozelle, so fließt ein Strom, dessen Stärke proportional zur Lichtintensität ist. Die Stromstärke wird im Gerät gemessen, verrechnet und als Extinktion ausgegeben. Weiter enthält ein Fotometer eine Lichtquelle (spezielle Lampen) und eine Schlitzblende, die Streustrahlung abfängt. Da nur bei Verwendung eines auf die Methode abgestimmten monochromatischen Lichts Intensitätsunterschiede des absorbierten Lichts festgestellt werden können, kommen dazu noch entweder ein Prisma, mit dessen Hilfe einzelne Wellenlängen des sichtbaren Lichts isoliert werden können (Spektralfotometer) oder (bei einfacheren Fotometern) verschiedene Filter, mit deren Hilfe ebenfalls nur bestimmte Wellenlängen herausgefiltert werden. Will man z. B. eine entstandene Blaufärbung quantifizieren, so verwendet man eine Wellenlänge im gelben Spektralbereich (bei 590 nm), da blau seine Komplementärfarbe gelb am stärksten absorbiert. Das Absorptionsmaximum ist für jede Methode angegeben.

Das Lambert-Beer'sche Gesetz und die Extinktion

Wird Licht durch eine gefärbte Flüssigkeit geleitet, so wird dieses in Abhängigkeit von der Stärke der Färbung in unterschiedlichem Ausmaß absorbiert. Man kann den Grad der Absorption des Lichts nicht direkt messen, sondern nur indirekt, nämlich die Lichtdurchlässigkeit der Flüssigkeit, die Transmission.

Man leitet im Fotometer ein monochromatisches Licht bekannter Intensität durch die Flüssigkeit und misst, wie viel Licht hinter der Flüssigkeit auf die Selenzelle fällt. Es ergibt sich: Die Ausgangslichtintensität I_0 vor der Küvette minus der Intensität des hinter der Küvette gemessenen Lichts I_1 (Transmission) = Intensität des absorbierten Lichts (Absorption) in der Küvette.



Es wird jedoch nicht die Absorption angegeben, da diese nicht zur Konzentration der farberzeugenden Substanz in der Lösung linear proportional ist. Stattdessen wird die Extinktion verwendet, die bei den meisten kolorimetrischen Bestimmungen weitgehend linear proportional zur Konzentration der zu bestimmenden Substanz ist. Die Beziehung zwischen den Lichtintensitäten und der Extinktion ist im Lambert-Beer'schen Gesetz formuliert:

$$E_{\lambda} = -\lg\left(\frac{I_1}{I_0}\right) = \epsilon_{\lambda} \cdot c \cdot d$$

Es bedeutet: E = Extinktion; λ = eine bestimmte Wellenlänge; I_1 und I_0 siehe oben; ϵ = der molare Extinktionskoeffizient (die Extinktion, die eine 1M Lösung hat); c = Konzentration der zu bestimmenden Substanz; d = Schichtdicke der durchstrahlten Lösung, z. B. 1 cm.

Die Extinktion ist also der negative dekadische (zehner-) Logarithmus des Verhältnisses von I_1 zu I_0 . Die Extinktion ist dimensionslos.

Beispiel 1: Ausgangslichtintensität $I_0 = 100\%$, Transmission $I_1 = 90\%$, Absorption = 10%

$$\text{Extinktion} = -\log \frac{90}{100} = -\log 0,9 = 0,046$$

Beispiel 2: Ausgangslichtintensität $I_0 = 100\%$, Transmission $I_1 = 50\%$, Absorption = 50%

$$\text{Extinktion} = -\log \frac{50}{100} = -\log 0,5 = 0,301$$

Beispiel 3: Ausgangslichtintensität $I_0 = 100\%$, Transmission $I_1 = 10\%$, Absorption = 90%

$$\text{Extinktion} = -\log \frac{10}{100} = -\log 0,1 = 1$$

Tab. 2 Ergebnisse der Beispielrechnungen zur Extinktion

Transmission (%)	Absorption (%)	Extinktion
90	10	0,046
50	50	0,301
10	90	1,000

Die Praxis des Fotometrierens

Soll die Farbstärke einer Lösung gemessen werden, so wird die Lösung in ein spezielles Gefäß (Küvette) gefüllt. Die meisten Küvetten haben eine Kantenlänge von genau 1 cm, damit die Schichtdicke als Faktor herausfällt (siehe Lambert-Beer'sches Gesetz). Zuerst wird die verlangte Wellenlänge eingestellt. Anschließend wird die Küvette mit dem Reagenzienleerwert in das Fotometer gestellt, mit diesem eine Extinktion von Null eingestellt und danach die Extinktion von Eichlösungen (bzw. Standard) und Proben abgelesen.

Häufige Fehlerquellen beim Fotometrieren:

- Küvette zu wenig befüllt, für Halbmikroküvetten ca. 1 ml nehmen
- Küvette wird falsch herum in das Fotometer gestellt
- Küvette wird nicht oben, sondern an der durchstrahlten Fläche angefasst.
- Küvetten werden vertauscht (Abhilfe: oben am Rand durchnummerieren)
- Falsche Wellenlänge eingestellt
- Nummerierung des Drehtellers am Fotometer wird nicht beachtet.

Die Verhältnisgleichung (Dreisatz)

Die Verhältnisgleichung ist eine sehr einfache Methode, um mit Hilfe von 3 bekannten Größen eine vierte unbekannte Größe zu ermitteln und wird ständig gebraucht.

Beispiel 1: Es wurden 2000 Erythrozyten in einem Volumen von 0,004 µL gezählt. Wie viele Erythrozyten befinden sich in 1 µL? Es verhält sich 2000 zu 0,004 wie **X** zu 1. (Es geht auch anders herum: Es verhält sich 0,004 zu 2000 wie 1 zu **X**.)

Berechnung:

$$\frac{2000 \text{ (Anzahl)}}{0,004 \text{ (Volumen, } \mu\text{l)}} = \frac{\mathbf{X} \text{ (Anzahl)}}{1 \text{ (Volumen, } \mu\text{l)}}$$

Es folgt die Kreuzmultiplikation, die ergibt: $2000 \times 1 = 0,004 \times \mathbf{X}$

Da **X** gesucht wird, muss es allein stehen, daher Division beider Seiten der Gleichung durch 0,004.

Ergebnis: $\mathbf{X} = 500.000$.

Antwort: Es befinden sich 5×10^5 Erythrozyten in 1 µl Probe.

Beispiel 2: Es wurde eine Blutzuckerbestimmung im Vollblut eines Probanden durchgeführt. Es wurden 10 µl einer Standardlösung eingesetzt, die 120 mg Glucose / 100 mL enthält. Die Messung des Standards ergab eine Extinktion von 0,380.

Die Probe (10 µl Vollblut) hat eine Extinktion von 0,245.

Welche Glucosekonzentration hat die Probe? Angabe in mg / 100 mL.

Der Standard hat eine Konzentration von 120 mg/100 mL.

Es verhält sich 120 (mg/100 mL) zu 0,380 wie **X** zu 0,245.

$$\frac{120 \text{ (mg/100 mL)}}{0,380} = \frac{\mathbf{X}}{0,245}$$

Kreuzmultiplikation: $120 \text{ (mg/100 mL)} \times 0,245 = 0,380 \times \mathbf{X}$ anschließende Division beider Seiten der Gleichung durch 0,38 ergibt:

$$\frac{120 \text{ (mg/100 mL)} \times 0,245}{0,380} = \mathbf{X}$$

Ergebnis: $\mathbf{X} = 77,4 \text{ mg/100 mL}$

Antwort: Der Proband hat 77,4 mg Glucose in 100 mL Vollblut.

Pipettieren mit automatischen Pipetten

Es gibt verschiedene automatische Pipetten mit unterschiedlichen Pipettierbereichen. Am häufigsten verwendet werden die „Tausender“, die in einem Bereich von 100 bis 1000 µL arbeiten, die „Hunderter“ mit einem Arbeitsbereich von 10 bis 100 µL und die „Zehner“ mit ca. 1 bis 10 µL. Am genauesten arbeiten die Pipetten an ihrem Maximalbereich, unter 20% dessen sollte man nicht gehen. Auf die Tausender passen blaue Spitzen, auf die Hunderter gelbe und auf die Zehner weiße Spitzen. Eine Pipette mit gefüllter Spitze darf nicht abgelegt werden, da die Flüssigkeit dann in das Getriebe läuft, Pipette also immer senkrecht halten. Generell langsam pipettieren, damit der Wasserfaden nicht abreißt und immer unter Sichtkontrolle.

Kurzprotokoll Grundlagen von Biochemie und Physiologie

Protokollant, Name

Matr.-Nr.

Datum

BITTE STETS KORREKTE DIMENSIONEN EINTRAGEN!

1. Herstellen der Eichverlösungen

Beschreiben oder zeichnen Sie, wie Sie hierbei vorgegangen sind. Geben Sie jeweils die gewünschte Konzentration an, die Verdünnungen (1 : X) an sowie die eingesetzten Mikroliter.

2. Eichlösungen

2.1. Extinktionen

Leerwert _____

5 µg/mL _____

10 µg/mL _____

25 µg/mL _____

50 µg/mL _____

125 µg/mL _____

250 µg/mL _____

500 µg/mL _____

2.2. Fügen Sie bitte eine handgezeichnete und mit Namen versehene Eichkurve bei.

3. Probenvorbereitung

Beschreiben oder zeichnen Sie, wie Sie das Kapillarblut verdünnt haben. Geben Sie die Verdünnungen (1 : X) an sowie die eingesetzten Mikroliter.

4. Ergebnisse der Proteinbestimmungen

4.1. Tabellarische Darstellung

(Verdünnungsfaktor berücksichtigen, Angabe der Endergebnisse in [mg/ml])

Probe	Extinktion	Interpolierter Rohwert	Verdünnungsfaktor	Endergebnis (manuelle Eichkurve)	Endergebnis (mittels Standardlösung)
Testprobe A					
Testprobe B					
Eigener Urin					-----
Kapillarblut					-----
Kapillarblut					-----
Kapillarblut					-----
Kapillarblut					-----

4.2. Vergleichen Sie die manuell aus der Eichkurve interpolierten Ergebnisse mit den per Standard errechneten. Wie groß sind bei Testserum A und B die Abweichungen vom Sollwert in Prozent?

		Abweichung vom Soll in Prozent	
	Sollwert	Eichkurve	Standardlösung
Testserum A			
Testserum B			

4.3. Welche der drei Auswertemethoden erscheint Ihnen am genauesten, unter welchen Voraussetzungen und warum?

Methode 1: Interpolation der manuell erstellten Eichkurve_____

Methode 2: Berechnung mit Hilfe eines Standardwertes_____

Methode 3: Berechnung mit Hilfe einer computergestützten Eichgeraden_____

Unterschrift Student

Unterschrift Dozent

Enzymkinetik

Einleitung

Biomoleküle wie Proteine, Fette und Kohlenhydrate sind energiereich. Bei ihrem Abbau bilden sich stufenweise energieärmere Substanzen bis hin zu Kohlendioxid und Wasser. Tiere nutzen die aus dem Energiegefälle gewonnene Energie für ihre Lebensprozesse. Im Prinzip laufen Reaktionen, die zu einem niedrigeren Energieniveau führen, zwar von selbst ab, sind jedoch außerordentlich langsam, da energiereiche Übergangszustände überwunden werden müssen. Dies ist auch der Grund, warum Biomoleküle und damit auch die Organismen relativ stabil („metastabil“) sind.

Enzyme sind spezifische Biokatalysatoren, die einzelne Stoffwechselreaktionen erheblich beschleunigen, indem sie die notwendige Aktivierungsenergie absenken. Sie selbst gehen dabei unverändert aus der Reaktion hervor. Enzyme verschieben nicht das chemische Gleichgewicht einer Reaktion, sie beschleunigen nur dessen Einstellung: Enzymatische Reaktionen laufen bis zu 10^{17} -mal schneller ab als die spontanen Reaktionen. Sämtliche physiologischen Vorgänge sind davon abhängig, dass metastabile Moleküle mit Hilfe von Enzymen ganze Reaktionsketten weitaus schneller durchlaufen, als dies spontan möglich wäre. Ein Enzym (E) katalysiert also die Umwandlung eines Substrats (S) in ein Produkt (P). Die Reaktion läuft dabei über eine Zwischenstufe, dem Enzym-Substrat-Komplex (ES), ab, in der das Enzym sein Substrat in seinem aktiven Zentrum bindet:



Die Geschwindigkeit einer Reaktion (v) ist definiert als umgesetzte Substratmenge (c) pro Zeitintervall (t): $v = \Delta c / \Delta t$. Die Gleichgewichtseinstellung in Schritt 1 verläuft bei allen Enzym-Reaktionen weitaus schneller als die in Schritt 2. Schritt 2 ist somit geschwindigkeitsbestimmend für die Gesamtreaktion. Die Umsatzgeschwindigkeit v hängt also davon ab, wie viel Enzym-Substrat-Komplexe gebildet werden. Die Aktivität (= Umsatzgeschwindigkeit) eines Enzyms ist z.B. durch pH-Wert, Ionenkonzentration, Temperatur und osmotischen Wert sowie durch die Bindung niedermolekularer (allosterischer) Effektoren beeinflussbar. Hält man all dies auf einem für das betreffende Enzym günstigen Level konstant, so hängt die Umsatzgeschwindigkeit nur von der Konzentration von Enzym und Substrat ab.

Unter Enzymkinetik versteht man die Messung der Umsatzgeschwindigkeit eines Substrates durch ein bestimmtes Enzym bei verschiedenen Substratkonzentrationen unter Konstanthaltung aller anderen Messgrößen. Im einfachsten Fall folgen die Messwerte der **Michaelis-Menten-Kinetik**: Erhöht man bei konstanter Enzymkonzentration die Substratkonzentration c_s , so wird die Umsatzgeschwindigkeit immer höher (d.h. es wird pro Zeitintervall mehr Substrat umgesetzt), weil immer mehr Enzym-Substrat-Komplexe vorliegen. Das geht theoretisch so lange, bis alle vorhandenen Enzymmoleküle ständig „beschäftigt“, d.h. mit Substrat gesättigt sind. In der Praxis nimmt bei höheren Substratkonzentrationen die Geschwindigkeit der Reaktion vor Erreichen der theoretischen Maximalgeschwindigkeit V_{\max} wieder ab („Substrathemmung“). Wird die Geschwindigkeit V gegen die Substratkonzentration c_s aufgetragen, erhält man eine hyperbolische Sättigungskurve (= Michaelis-Menten-Diagramm; Abb. 1). Zur Beschreibung dieser Kurve wurde die Michaelis-Konstante K_M eingeführt. K_M

entspricht der Substratkonzentration, bei der die halbmaximale Reaktionsgeschwindigkeit ($v_{\max}/2$) erreicht ist, und ist ein ungefähres Maß der Affinität eines Enzyms: Je größer die Affinität, desto steiler die Kurve und desto kleiner K_M .

Theoretische Grundlagen:

Annahmen:

- 1) Das Enzym (E) und das Substrat (S) müssen aufeinander treffen und aneinander binden (keine Fernwirkungen). Das heißt, es muss eine Affinität vorhanden sein, die zur Bildung eines ES-Komplexes führt.
- 2) Die Bildung des ES-Komplexes ist sehr schnell, der geschwindigkeitsbestimmende Schritt der Reaktion ist tatsächlich der Zerfall des ES-Komplexes in Enzym und Produkt.



- 3) Die Umsatzgeschwindigkeit v ist proportional zur Konzentration des ES-Komplexes. Wenn die Konzentration des Enzyms gleich der Konzentration des ES-Komplexes ist, also alle Enzymmoleküle mit Substrat gesättigt sind, dann arbeitet das Enzym mit der Geschwindigkeit V_{\max} .
- 4) Da aus thermodynamischen Gründen eine Reaktion sowohl in die Hin- wie auch die Rückrichtung verlaufen kann, gilt dieses auch für die Bildung des ES-Komplexes:



- 5) Darauf kann man das Massenwirkungsgesetz anwenden:

$$[ES] / ([E] \times [S]) = K_a$$

Die Gleichgewichtskonstante K_a ist ein Maß für die Bindungsfähigkeit (Affinität) des Enzyms für das Substrat. Auf der Grundlage dieser Annahmen wurde die Gleichung

$$V = \frac{V_{\max} \cdot c_s}{c_s + K_M}$$

von **Michaelis und Menten** entwickelt. Dabei bedeutet:

V : Umsatzgeschwindigkeit bei der Substratkonzentration c_s

V_{\max} : theoretische Maximalgeschwindigkeit; bei unendlich hohem c_s

c_s (oder $[S]$): Substratkonzentration

K_M : Michaelis-Konstante

Ist $c_s = K_M$ wird die Umsatzgeschwindigkeit $V = V_{\max} / 2$

Mit einem Michaelis-Menten-Diagramm (Umsatzgeschwindigkeit V aufgetragen gegen Substratkonzentration c_s ; Abb. 1) können V_{\max} und K_M meist nur ungenau bestimmt werden, da beispielsweise die Substrathemmung das Erreichen von V_{\max} verhindert. Daher ist es notwendig, die Messdaten in das **Lineweaver-Burk-Diagramm** in dem $1/v$ gegen $1/c_s$ aufgetragen wird, zu transformieren (Abb. 2). Eine Darstellung nach Lineweaver und Burk ist eine rein mathematische Umformung in eine doppelt reziproke Michaelis-Menten-Darstellung, die statt einer Hyperbel eine Gerade liefert (daher auch: „Doppelt-Reziprok-Diagramm“), die es erlaubt, anhand weniger Messpunkte V_{\max} und K_M wegen Substrathemmung zu ermitteln.

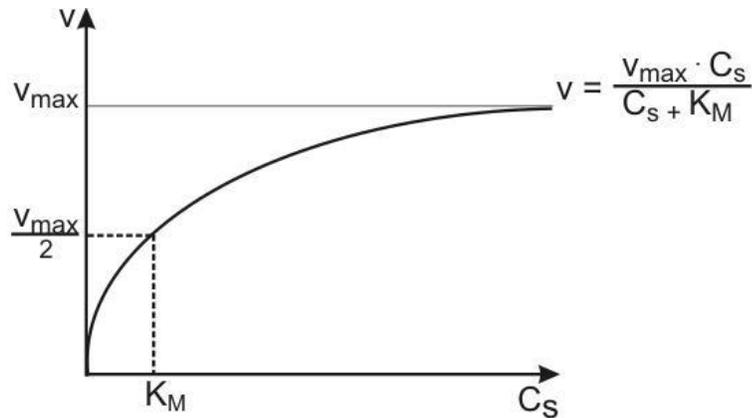


Abb. 1: Michaelis-Menten-Diagramm

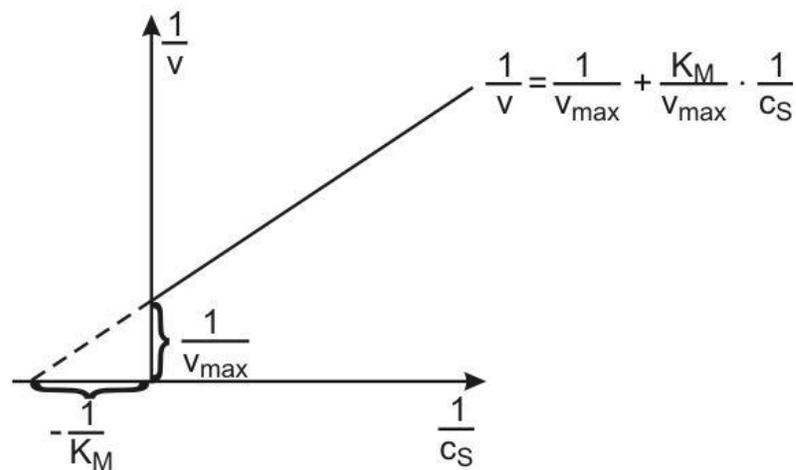


Abb. 2: Lineweaver-Burk-Diagramm

Literatur zur Vorbereitung

Alternativ angegebene Kapitel aus dem "Campbell" oder "Purves":

1. Campbell, N.A. & Reece, J.B. (2009). Biologie. Biologie. Pearson Education Deutschland; 8. Auflage, Kapitel 8 "Konzepte des Stoffwechsels", S. 193-219, insbesondere Kapitel 8.4.
2. Markl, J., Sadava, D., Orians G. & Heller, H.C. (2012). Purves Biologie. Spektrum Akademischer Verlag; 9. Auflage, Kapitel 8 "Energie, Enzyme und Stoffwechsel", S. 194 -219, insbesondere die Abschnitte über Enzyme.

Bei älteren Ausgaben können sich andere Kapitelnummern oder Seitenzahlen ergeben.

Versuch 1: Stärkeabbau durch Speichelamylase

A) Methodik

Im Versuch wird die Enzymaktivität unseres Speichels durch den Abbau von Stärke (Amylose) durch Speichelamylase ermittelt. Stärke ergibt mit Jod-Reagenz (1% J_2 und 2% KJ in H_2O) eine blaue bis tiefblaue Lösung in neutralem oder saurem Medium. Die Extinktion dieser Lösung, gemessen bei 578 nm, ist der Stärkekonzentration proportional. Damit ergibt sich die Möglichkeit, den Stärkeabbau photometrisch quantitativ zu verfolgen. Die Voraussetzung dafür ist das Erstellen einer Eichkurve. Die Eichkurve dient in unserem Fall dazu, einen Zusammenhang zwischen der Konzentration der Amylose und der Absorption bei 578 nm zu erstellen. Anhand dieser Eichgeraden wird die durch die Speichelamylase abgebaute Menge Amylose bestimmt.

B) Durchführung

⇒ **Wichtig: Beschriften Sie alle Reagenzgläser und Küvetten!**

a. Erstellung der Eichgeraden (ACHTUNG: Sie führen diesen Versuchsteil aus Zeitgründen nicht selbst durch, sondern verwenden die zur Verfügung gestellten Werte!)

1) Auf Ihrem Tisch finden Sie eine Stärkestammlösung angesetzt in einem wässrigen NaCl-Phosphatpuffer (1 Teil Phosphatpuffer 0,1 M [pH 7,0] + 1 Teil 0,2 M NaCl). Diese Lösung hat eine Konzentration von 2 mg/ml Stärke und dient dem Erstellen der Eichgeraden.

Setzen Sie zunächst die folgenden Stärkelösungen an. Überlegen Sie sich dazu zunächst ein einfaches und effizientes Pipettierschema aus der Stärkestammlösung und dem Puffer.

- a) keine Stärke, nur Puffer (Leerwert, zum Eichen des Photometers)
- b) 1 mg/ml
- c) 0,5 mg/ml
- d) 0,25 mg/ml
- e) 0,125 mg/ml
- f) 0,063 mg/ml

2) In eine entsprechende Anzahl von Reagenzgläsern legen Sie jeweils **4,9 ml Essigsäure** und **0,1 ml Jod-Reagenz** vor. Dazu geben Sie **1 ml der angesetzten Stärkeverdünnungen**.

3) Lassen Sie die Reaktionsreihe für 10 min bei **Zimmertemperatur** stehen.

4) Messen Sie im Photometer bei **578 nm** die Absorption der Lösungen gegen den **Leerwert**.

5) Die gemessenen Extinktionen werden grafisch auf Millimeterpapier gegen die eingesetzten Stärkekonzentrationen aufgetragen, und es wird eine **Ausgleichsgerade** durch die Punkte gezogen. (**Verwenden Sie die zur Verfügung gestellten Werte!**)

b. Messung des zeitlichen Verlaufs des Stärkeabbaus

1) Bereiten Sie 8 Reagenzgläser vor mit jeweils

4,9 ml Essigsäure

0,1 ml Jod-Reagenz

0,9 ml Puffer

→ gut mischen mit Reagenzglasschüttler.

2) Stellen Sie nun folgende **Verdünnungen** her:

(A) Geben Sie **4,5 ml Stärkelösung + 0,3 ml Pufferlösung** in ein Reagenzglas und mischen Sie gut.

(B) Verdünnen Sie Ihren **Speichel 1:15** (d.h. 1 Teil Speichel + 14 Teile Puffer) und mischen Sie gut.

3) **Versuchsstart:**

⇒ **Verdünnung C:** In ein neues Reagenzglas füllen Sie **4,5 ml Stärke** und **0,3 ml von Verdünnung B** (verdünnten Speichel). Leichtes Schütteln nicht vergessen.

⇒ **Nach ½, 1, 2, 4, 6 und 8 min** überführen Sie **0,1 ml** des Stärke-Speichel-Gemischs in die vorbereiteten Reagenzgläser 3 bis 8. **Mischen Sie gut!**

Dadurch wird die Enzymreaktion gestoppt, und die noch nicht abgebaute Stärke färbt sich entsprechend blau. Warten Sie **10 min** und messen Sie bei **578 nm** photometrisch die Proben (inkl. T₀) gegen den **Leerwert**.

4) Zum Nullabgleich des Photometers benötigen Sie **RG 1 (= Leerwert)**, der alle Reagenzien außer der Stärke enthält.

5) Mit **RG 2** wird der Ausgangswert zur Zeit T₀ bestimmt.

Tab. 1. Pipettierschema für Messung des zeitlichen Verlaufs des Stärkeabbaus

	RG 1	RG 2	RG 3	RG 4	RG 5	RG 6	RG 7	RG 8
	Leerwert	T₀	T_{1/2}	T₁	T₂	T₄	T₆	T₈
Essigsäure	4,9 ml							
Jod	0,1 ml							
Puffer	0,9 ml							
Verdünnung A		0,1 ml						
Verdünnung C			0,1 ml (zeitabhängig!!!)					
Puffer	0,1 ml							

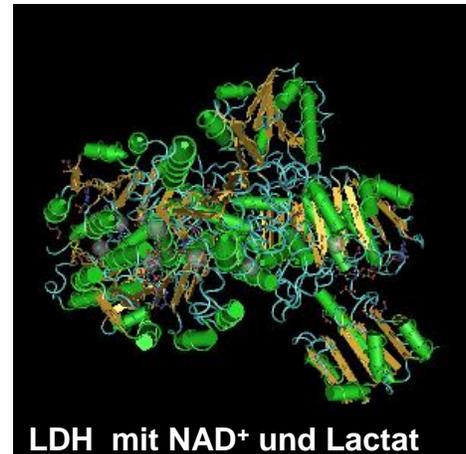
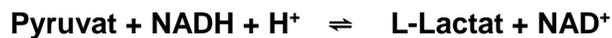
C) Auswertung

- 7) Bestimmen Sie die Extinktionsänderung / Zeit ($\Delta E \cdot \text{min}^{-1}$) indem Sie die Extinktion gegen die Zeit ($\frac{1}{2}$, 1, 2, 4, 6, 8 Minuten) auf Millimeterpapier auftragen.
- 8) Lesen Sie aus der Eichgeraden nun die Menge an abgebauter Stärke ab. Vergessen Sie nicht die Verdünnung mit einzuberechnen.
- 9) Bestimmen Sie V_{max} der Amylase in $\text{mg} / (\text{ml} \cdot \text{min})$.

Versuch 2: Kinetik des Enzyms Lactatdehydrogenase

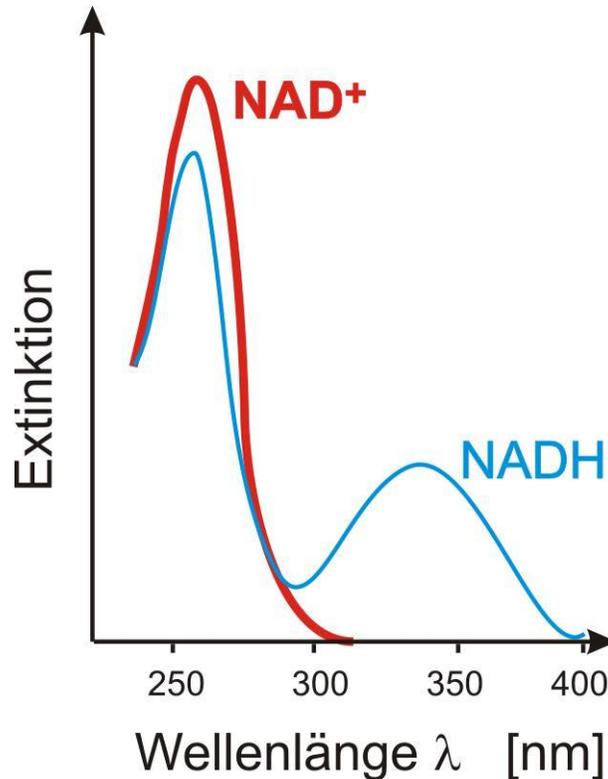
A) Methodik

Im Versuch werden Sie das Enzym Lactatdehydrogenase (LDH) untersuchen. Es katalysiert unter anaeroben Bedingungen die Umsetzung des Substrats Pyruvat in das Produkt Lactat.



Pyruvat wird zu Lactat reduziert, wobei NADH stöchiometrisch zum NAD⁺ oxidiert wird. Dadurch wird das NAD⁺ recycelt und die Glykolyse kann unter Anreicherung von Lactat längere Zeit ablaufen. Dieses Phänomen ist für die anaerobe Energiegewinnung im Muskel von Bedeutung.

Das Prinzip der Messmethode beruht auf dem optischen Test nach WARBURG. Dabei macht man sich zunutze, dass NADH Licht der Wellenlänge 340 nm absorbiert, die oxidierte Form NAD⁺ dagegen nicht. Je mehr Pyruvat durch LDH zu Lactat umgesetzt wird, desto mehr NADH wird zu NAD⁺ oxidiert, desto geringer ist die Absorption bei 340 nm. Im Photometer ist dies durch eine Abnahme der Extinktion nachweisbar.



B) Durchführung**Benötigte Lösungen (sind für Sie angesetzt):**

- **Pyruvat-Stammlösung:** 84 mmol/l Na-Pyruvat in H₂O gelöst
- **Puffer-NADH-LDH-Gemisch:** 0,040 µg/ml LDH (**Mr = 140.000 (g/mol)**)
0,13 mmol/l NADH
in 50 mmol/l KH₂PO₄-Puffer, pH 7,4 gelöst

Messung der Kinetik der Lactatdehydrogenase (LDH)

- 1) Machen Sie sich mit der Benutzung des Photometers und der Software (v.a. der Kinetikmessungen) vertraut.
- 2) 1 ml Puffer-NADH-LDH-Gemisch in eine Küvette pipettieren, 50 µl Wasser dazugeben und Küvette ins Photometer stellen (**Leerwert**).
- 3) Setzen Sie in Eppendorfreaktionsgefäßen die Pyruvat-Verdünnungsreihe 1 - 9 aus der Stammlösung (84 mmol/l) entsprechend der Tabelle (siehe unten) an. Setzen Sie erst alle 9 Verdünnungen an, dann führen Sie erst die Messung wie in (4) beschrieben durch.
- 4) 1 ml Puffer-NADH-LDH-Gemisch in die Küvette pipettieren, 50 µl der zu messenden Pyruvatverdünnung (1 - 9) dazugeben (=> Verdünnungsfaktor $f_2 = 21$ in Tabelle), mit Parafilm verschließen, durch mehrmaliges Invertieren mischen und Küvette **sofort** ins Photometer stellen. **Jede Messung muss sofort nach der Zugabe der Pyruvatverdünnung erfolgen!** Überlegen Sie sich den dadurch erzielten Verdünnungsfaktor. Messen Sie und notieren Sie die Werte (Abnahme der Extinktion pro Minute für jede Pyruvatverdünnung) in Ihrem Laborbuch!

C) Auswertung

- 5) Berechnen Sie die in der Tabelle fehlenden Werte mit

a) den Pyruvatkonzentrationen c_s (**VOR DEM KURSTAG BERECHNEN!**) ausgehend von der Pyruvatstammlösung (84 mmol/l) unter Berücksichtigung aller Verdünnungsfaktoren.

b) den Reaktionsgeschwindigkeiten $V = \Delta c / \Delta t$, also Substratumsatz pro Zeit (**Berechnungsbeispiel aufschreiben**). Im Versuch haben Sie den Substratumsatz als Extinktionsabnahme gemessen:

$$\Delta c = \Delta E / [\epsilon * d] \text{ (LAMBERT-BEERsches Gesetz).}$$

$$\text{Daraus folgt: } V = \Delta E / [\epsilon * d * \Delta t]$$

Δc : Konzentrationsänderung von NADH

ΔE : Extinktionsänderung

ϵ : Extinktionskoeffizient von NADH = 6,3 ml/[µmol * cm]

d : Lichtweg durch die Küvette (1 cm)

Δt : Messzeit in Sekunden

- 6) Zeichnen Sie die Kurve V über c_s (Michaelis-Menten-Diagramm). Ermitteln Sie V_{\max} und K_M .
- 7) Zeichnen Sie die Kurve $1/V$ über $1/c_s$ (Lineweaver-Burk-Diagramm).
- 8) Vergleichen Sie aus den beiden Diagrammen V_{\max} und K_M .
- 9) Berechnen Sie die **Wechselzahl W** der LDH. Diese gibt die Anzahl der Substratmoleküle an, die pro Sekunde von einem Enzymmolekül bei der theoretischen V_{\max} umgesetzt werden:

$$\frac{V_{\max} (\mu\text{mol Substat /ml} * \text{sec})}{\text{LDH-Menge} (\mu\text{mol/ml})} = \frac{(\mu\text{mol})}{(\text{sec} * \mu\text{mol})} = \frac{1}{\text{sec}}$$

- 10) **Hinweis:** Das Protokoll muss die Messwerte und die Berechnungen aus den Schritten 5-9 enthalten.

Auswertung

Ansatz Nr.	μl Pyruvat Stamm-Lsg. (84 mmol/l)	μl H ₂ O	Verd. Faktor 1 (Pyruvat mit H ₂ O) ($f = V_{\text{gesamt}} / V_{\text{Pyruvat}}$)	Konz. der Pyruvatlösungen (für Testansätze) ($\mu\text{mol/l}$)	Verd.-Faktor 2 (NADH/LDH-Gem. in d. Küvette + Pyruvat Lsg.)	c_s Pyruvat-Konz. in der Küvette ($\mu\text{mol/l}$)	$1/c_s$ (l/ μmol)	$\Delta E/\Delta t$ (min ⁻¹)	$V = \Delta E / (\Delta t \cdot d \cdot \epsilon)$ ($\mu\text{mol}/(\text{ml} \cdot \text{s})$) $\epsilon = 6,3 \text{ ml}/(\mu\text{mol} \cdot \text{cm})$ $d = 1 \text{ cm}$ $\Delta t = 60 \text{ s}$ (1 min)	$\frac{1}{V}$ (ml * s / μmol)
1	1000	0			1 ml + 0,05 ml (V_{Pyruvat}) = 1,05 ml (V_{gesamt}) f = 21					
2	750	250								
3	500	500								
4	250	750								
5	125	875								
6	60	660								
7	25	750								
8	15	750								
9	10	700								

Kurzprotokoll Enzyme_____
Datum_____
Protokollant, Name_____
Matr.-Nr.**1. Ergebnis Stärkeabbau durch Amylase** V_{\max} der Speichelamylase _____

Gr. 1	Gr. 2	Gr. 3	Gr. 4	Gr. 5	Gr. 6	Gr. 7	Gr. 8	Gr. 9	Gr. 10

Grafiken im Anhang.**2. Enzymkinetik Lactatdehydrogenase** V_{\max} nach Michaelis-Menten _____ K_M nach Michaelis-Menten _____**Michaelis-Menten Diagramm im Anhang.** V_{\max} nach Lineweaver-Burk _____ K_M nach Lineweaver-Burk _____Wechselzahl W der LDH _____**Lineweaver-Burk Diagramm im Anhang.**_____
Unterschrift Kursleiter

Energetik und Thermoregulation

Dozenten:

Kathrin Dausmann (kathrin.dausmann@uni-hamburg.de)

Energetik und Thermoregulation

Hintergrund

Alle Organismen sind auf Energie angewiesen. Tiere nehmen diese in Form von chemischer Energie über die Nahrung auf. Da ihnen Energie nicht unbegrenzt zur Verfügung steht, müssen sie mit ihrem Energiebudget haushalten und versuchen, eine Balance zwischen Energiegewinn und -verbrauch zu erreichen, um somit ihr individuelles Überleben und ihre Reproduktion zu sichern. Selbst in Ruhe benötigt ein Tier Energie, um die Körperfunktionen und bei Endothermen die Körpertemperatur aufrecht zu erhalten. Wenn ein Tier genau so viel Energie umsetzt, wie es als metabolisierbare (=nutzbare) Energie aufnimmt, liegt ein ausgeglichenes **Energiebudget** vor.

Es gibt zahlreiche Faktoren, die den individuellen Energiebedarf beeinflussen. Diese lassen sich in zwei Kategorien unterteilen. Zum einen in die **intrinsischen Faktoren**, zu denen u.a. das Körpergewicht, die Phylogenie, physiologische Eigenschaften wie die Möglichkeit Torpor zu nutzen und sich fortzupflanzen und Verhaltensmerkmale wie beispielsweise Nahrungswahl zählen. Zum anderen die **extrinsischen Faktoren**, die sowohl Umweltbedingungen wie Temperatur, Wetter und geographische Lage als auch soziale Faktoren beinhalten.

Daraus lässt sich schließen, dass es sowohl inter- als auch intraspezifische Variationen in der Stoffwechselrate gibt. Die Körpermasse scheint dabei den größten Anteil der Variation zu erklären. Bei Säugetieren nimmt der **gewichtsspezifische Energieumsatz** mit abnehmendem Körpergewicht zu. Ein Grund (neben anderen) hierfür ist, dass kleine endotherme Tiere einen größeren Wärmeverlust über die Körperoberfläche haben und somit, gerade bei niedrigen Umgebungstemperaturen, sehr viel Energie in die Thermogenese investieren müssen, um ihre Körpertemperatur aufrecht zu erhalten.

Aerobe Organismen beziehen die zum Leben notwendige Energie aus der Oxidation von Nährstoffen. Fast der gesamte eingeatmete Sauerstoff (O_2) wird in der Atmungskette in den Mitochondrien verbraucht. Hier werden die energiereichen Reduktionsäquivalente ($NADH + H^+$, $FADH_2$), die in den katabolen Prozessen gebildet werden, oxidiert und ihre Elektronen auf O_2 übertragen. Dabei entsteht (unter Aufnahme von Protonen) **Wasser**. Die Energie, die bei den schrittweise ablaufenden Redox-Reaktionen frei wird, nutzt der Organismus um in der oxidativen Phosphorylierung **ATP** zu synthetisieren.

Daher gilt, dass der Sauerstoffverbrauch auch ein gutes Maß für den Energiebedarf des Organismus ist. Dieses „**energetische Äquivalent**“ beträgt ca. 20 kJ pro l Sauerstoff. Im heutigen Versuch wird der Energieumsatz verschiedener Organismen anhand des Sauerstoffverbrauchs bestimmt (indirekte Kalorimetrie).

Neben dem metabolisch gebildeten Wasser ist das zweite Hauptprodukt der Oxidation der Nährstoffe Kohlendioxid (CO_2). Die biochemischen Vorgänge der CO_2 -Produktion liegen im Wesentlichen im Citratzyklus und in der oxidativen Decarboxylierung. Sofern das CO_2 nicht für den Aufbau von Schalen oder Knochen, oder zur Pufferung des Blutes benötigt wird, muss es an die Umwelt abgegeben werden.

Das Verhältnis der CO_2 -Abgabe zu O_2 -Verbrauch bezeichnet man als **respiratorischen Quotienten** (RQ). Anhand des RQ lässt sich erkennen, welches der primäre Energielieferant ist (Fett ~0,7; Protein ~0,8; Kohlenhydrat ~1,0). Der unterschiedliche RQ für die drei Grundnährstoffe kommt dadurch zustande, dass sie unterschiedlich oxidiert sind und daher unterschiedlich viel O_2 benötigen, um zu CO_2 und H_2O oxidiert zu werden.

Literatur:

- Purves et al. „Biologie“, Spektrum, 9. Auflage, 2011
Kapitel 40, insbesondere 40.2, Grundlagen von Kapitel 9, 49, 51, insbesondere S.1411-1412
- Campbell & Reece „Biologie“, Pearson, 8. Auflage 2009
Kapitel 40.2, 40.3, 40.4, insbesondere S. 1174-1179; Grundlagen von Kapitel 9
- weiterführend: Heldmaier et al. „Vergleichende Tierphysiologie“, Springer, 2. Auflage 2013
Kapitel 2 und 3

Energieumsatz bei Tieren – indirekte Kalorimetrie

Theorie

Eine Methode zur Ermittlung des Energieverbrauchs eines Tieres ist, die verbrauchte Menge Sauerstoff oder die entstandene Menge Kohlendioxid zu messen. Man spricht in diesem Fall von indirekter Kalorimetrie.

Zur Messung des Sauerstoffverbrauchs wird ein Tier in eine luftdicht verschlossene Kammer gesetzt. Seine Stoffwechselprodukte CO_2 und H_2O werden chemisch absorbiert, so dass der Verbrauch an Sauerstoff die Gasmenge in der Kammer allmählich verringert. In einer Messkammer mit starren Wänden und konstantem Volumen senkt dies den Luftdruck, die Säule des Manometers steigt zur Messkammer hin an und die verbrauchte Menge O_2 kann aus der Druckminderung berechnet werden. Bei längerfristigen Messungen wird reiner O_2 zum Druckausgleich über ein Ventil nachgefüllt, und diese Nachfüllmenge entspricht dem O_2 -Verbrauch.

Beschreibung der Apparatur

Als Versuchsgefäß dient hier ein mit Luft gefüllter Exsikkator, in dem sich das Tier auf einem Gitter befindet (Abb. 1). In dem geschlossenen Gefäß wird das ausgeatmete CO_2 durch Atemkalk am Boden unter dem Gitter absorbiert, indem durch den Wasserdampf der ausgeatmeten Luft Calciumhydroxid entsteht. An den Exsikkator ist ein Manometer angeschlossen, das mit BRODIE-Lösung (besonders empfindlich für Druckschwankungen) gefüllt ist. Außerdem ist an den Exsikkator noch eine Spritze angeschlossen, die mit reinem Sauerstoff befüllt ist und über die der vom Tier verbrauchte Sauerstoff wieder aufgefüllt werden kann.

In diesem Versuch werden Hausmäuse (*Mus musculus*) und Hausmeerschweinchen (*Cavia porcellus*) als Versuchstiere verwendet.

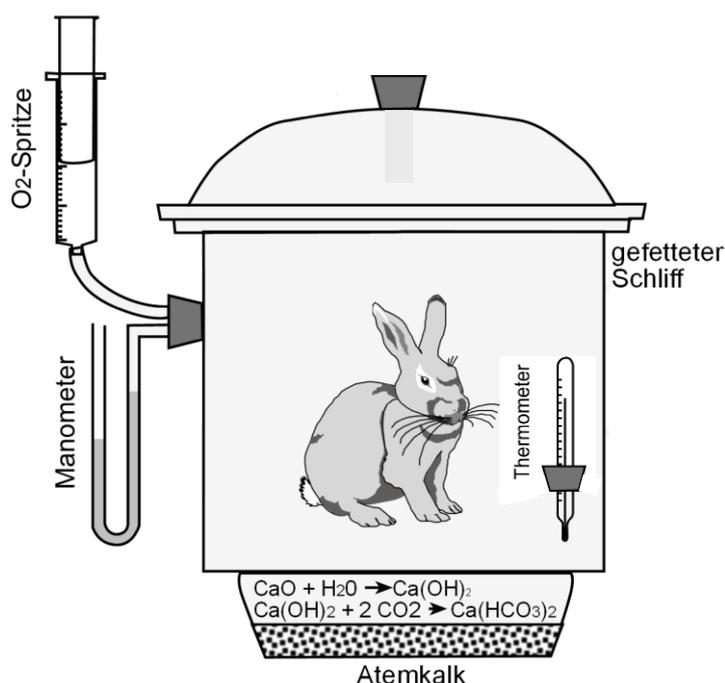


Abb. 1: Aufbau des indirekten Kalorimeters zur Bestimmung des Sauerstoffverbrauchs von Kleintieren.

Durchführung

- 1) Prüfen Sie zunächst die Dichtigkeit der Apparatur: Setzen Sie den Deckel auf und drehen Sie diesen so lange, bis der gefettete Schliff klar ist. Drücken Sie anschließend mit einer Spritze Luft in den Exsikkator und markieren Sie den Stand der BRODIE-Lösung im Manometer (U-Rohr) mit einem Filzschreiber. Der angezeigte Überdruck muss erhalten bleiben.
- 2) Setzen Sie das Versuchstier (Maus bzw. Meerschweinchen) und das Thermometer auf die perforierte Platte im Exsikkator. **Mäusen** sollten Sie eine Klopapierrolle als Versteck bieten, bei **Meerschweinchen** decken Sie vor Beginn des Versuchs den gesamten Exsikkator mit Geschirrtuch ab. Bei Mäusen können Sie außerdem Holzklötze mit in den Exsikkator geben, um das Luftvolumen zu verringern, und mehrere Tiere gleichzeitig messen, um die Messung zu verdeutlichen. Setzen Sie den Deckel auf den Exsikkator und erlauben Sie dem Tier, sich etwa 5 min an die Umgebung zu gewöhnen. Achten Sie darauf, dass am Schliff keine Haare, Streu etc. kleben, da sonst die Apparatur nicht dicht ist.
- 3) Füllen Sie nun die Spritze mit Sauerstoff und verbinden Sie diese mit dem Schlauch des Stopfens (vgl. Abb. 2). Verschließen sie den Zuführschlauch. Markieren Sie den Meniskus der BRODIE-Lösung an dem Tier näheren Manometerschenkel mit einem Filzschreiber. Natürlich muss die Spritze beim Transport von der Füllflasche abgedichtet sein.
- 5) Der Versuch kann nun gestartet werden. Geben Sie in Abständen von etwa 2-5 Minuten gerade soviel Sauerstoff in das Versuchsgefäß, bis der markierte Manometerstand wieder erreicht ist. Ausschlaggebend ist nicht, immer exakt gleichgroße Abstände einzuhalten, sondern die Abstände genau zu notieren! Verwenden Sie für die Mäuse die 20 ml, für das Meerschweinchen die 60 ml Spritze und achten Sie darauf, immer O₂-gefüllte Ersatzspritzen parat zu haben. Vergessen Sie nicht, den Zuführschlauch jedes Mal zu schließen. Lesen Sie jeweils den Spritzenstand ab und tragen Sie die Werte in eine **Tabelle** ein. Notieren Sie ebenfalls in Minutenabständen die im Gefäß herrschende Temperatur. Beobachten Sie das Verhalten des Tieres und machen Sie dazu kurze Angaben (3 Kategorien). Lassen Sie den Versuch für etwa 30 min laufen, wenn das Tier unruhig ist, gegebenenfalls mehr.
- 6) Nach Beendigung des Versuches wiegen Sie das Versuchstier.
- 7) Wiederholen Sie den Versuch bei einer anderen Umgebungstemperatur, und anschließend mit einem anderen Versuchstier bei einer der beiden Temperaturen (insgesamt 3 Versuchsdurchgänge/Gruppe).

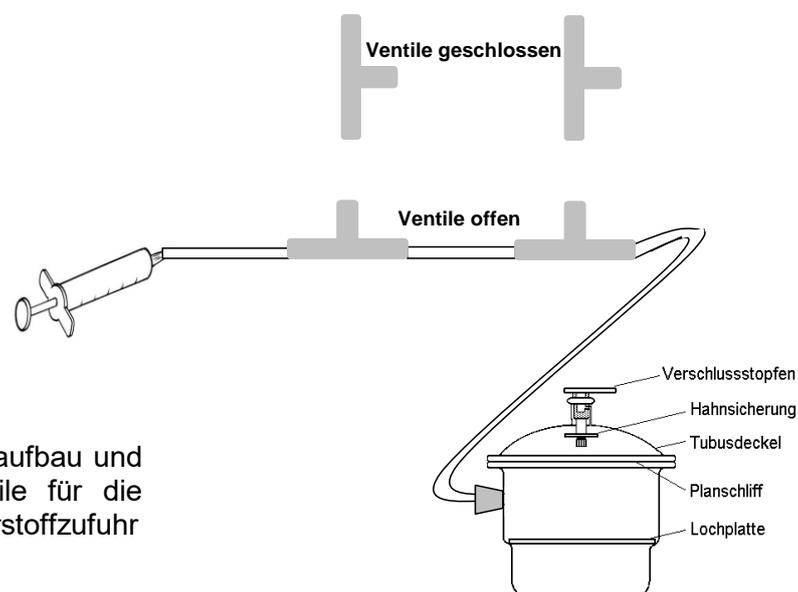


Abb. 2: Versuchsaufbau und Stellung der Ventile für die Kontrolle der Sauerstoffzufuhr

Auswertung

Berechnen Sie aus dem O₂-Verbrauch der Tiere deren Energieumsatz. Ermitteln Sie etwa 10 Minuten, während denen die Tiere möglichst ruhig waren, und berechnen Sie aus diesen Werten den O₂-Verbrauch der Tiere pro Stunde (Vorsicht beim Ablesen der Werte!). Bestimmen Sie auch den Mittelwert der Temperatur aus diesem Intervall.

Da das Volumen einer Gasmenge vom Druck und der Temperatur abhängt, gelten Gasmengen immer nur für eine bestimmte Temperatur und einen bestimmten Druck. Als Normbedingungen gelten die so genannten STPD-Bedingungen (Standard for Temperature, Pressure, Dry; d. h. 101,3 kPa, 0°C, und Trockenheit). Ein Barometer liegt vorne im Kursraum aus und der abgelesene Wert gilt auch für die Kühlkammer.

Der Umrechnung liegt folgende Gleichung zugrunde (Vorsicht: Einheiten beachten!):

$$V_0 = V * \frac{P_b}{1013 \text{ mbar}} * \frac{273 \text{ K}}{T}$$

V₀ = auf Standard-Bedingungen (STPD) reduziertes Volumen

V = gemessenes Volumen in ml/h

P_b = Barometerdruck in mbar

T = Messtemperatur in K (K = °C + 273)

(1 bar = 100 kPa; 1 mm Hg = 1 torr = 133,3 Pa = 0,133 kPa)

Berechnen Sie nun ausgehend von dem standardisierten, mittleren O₂-Verbrauch den Energieumsatz des Versuchstieres mit Hilfe des energetischen Äquivalents. Da in unserem Versuch die CO₂-Produktion nicht mitbestimmt wurde, wird für die Berechnung ein respiratorischer Quotient (RQ) von 0,85 angenommen (entspricht einem etwa gleichen Verbrauch von Fett und Kohlenhydraten). Für diesen RQ beträgt das kalorische Äquivalent 20,37 J/ml O₂ (= 4,862 cal/ml O₂). Aus dem im Versuch bestimmten O₂-Verbrauch pro Stunde wird der Umsatz des Versuchstieres in Joule pro Stunde und Gramm Tier, sowie in Watt pro Kilogramm Tier berechnet (1 cal= 4,19 J; Watt = J/s).

Ergebnisse

Versuchstier 1:	Körpergewicht:	Umgebungstemperaturen:	
		a)	b)
Ø O ₂ -Verbrauch pro Stunde (ml/h): V ₀			
Energieumsatz des Versuchstieres in J/(h*g):			
Energieumsatz des Versuchstieres in Watt/kg:			

Versuchstier 2:	Körpergewicht:	Umgebungstemperaturen:	
		a)	b)
Ø O ₂ -Verbrauch pro Stunde (ml/h):			
Energieumsatz des Versuchstieres in J/(h*g):			
Energieumsatz des Versuchstieres in Watt/kg:			

Kurzprotokoll Energetik

Datum

Protokollant, Name
Matr.-Nr.

1. Warum kann man über den Sauerstoffverbrauch auf den Energieumsatz schließen?

2. Energieumsatz verschiedener Tierarten

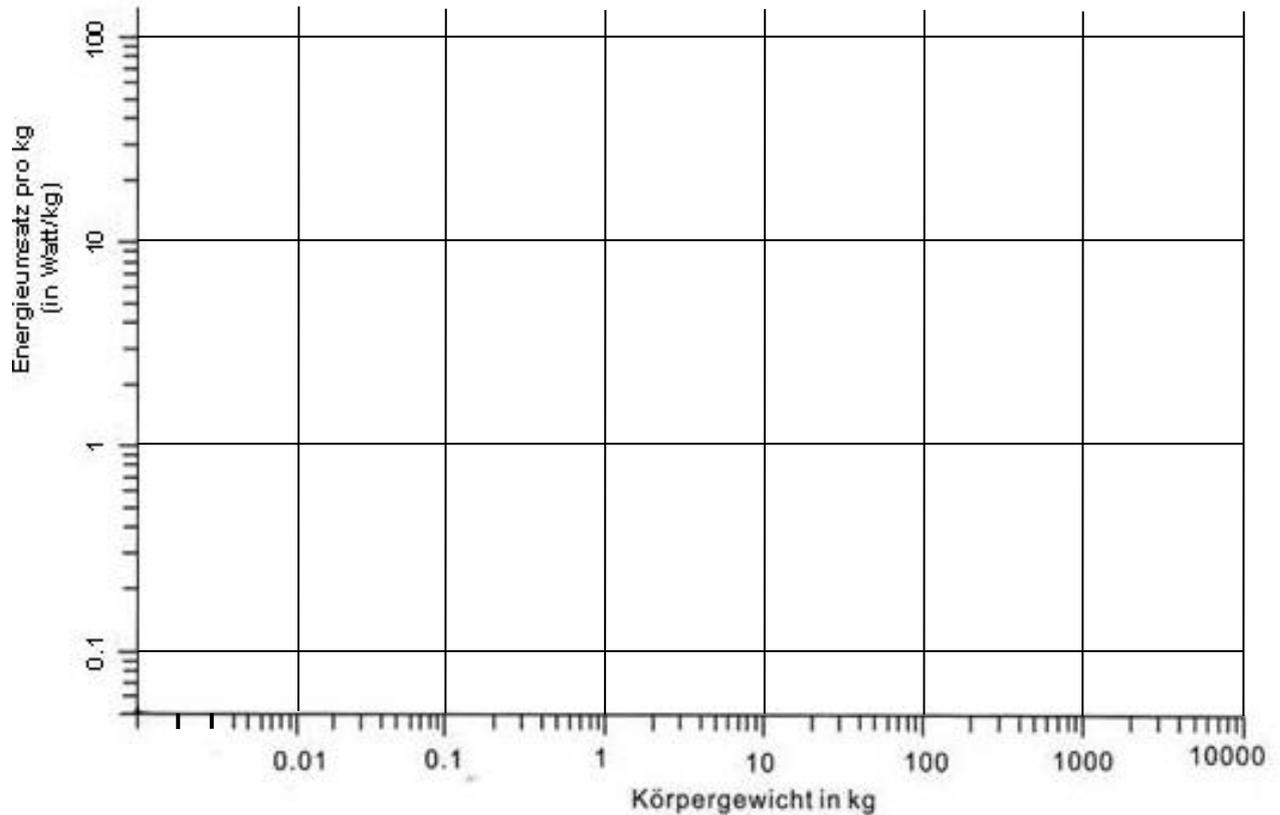
Vergleichen Sie Ihre Ergebnisse mit denen anderer Gruppen, vor allem denen, die mit anderen Tieren gearbeitet haben. Tragen Sie die gemittelten Messwerte aller Gruppen in folgende Tabelle ein (getrennt für Tiere bei Raumtemperatur und in der Kühlkammer).

Tierart	Körpergewicht (in g)	Gesamter O ₂ -Verbrauch (in ml/h) (V ₀)	O ₂ -Verbrauch pro Gramm (in ml/h*g)	Energieumsatz pro Gramm (in J/h*g)	Energieumsatz pro kg (in Watt/kg)
Spitzmaus	4,8	35,5	7,40		
Zwergmaus	9,0	22,5	2,50		
Kängururatte	15,2	27,3	1,80		
Maus	25	41,0	1,65		
Erdhörnchen	96	98,8	1,03		
Ratte	290	250	0,87		
Katze	2500	1700	0,68		
Hund	11700	3870	0,33		
Schaf	42700	9590	0,22		
Pferd	650000	71100	0,11		
Elefant	3833000	268000	0,07		
Maus					
Meerschweinchen					

~5°C

~20°C

3. Tragen Sie die relativen Energieumsätze (in Watt/kg) der in obiger Tabelle aufgelisteten Tierarten zusammen mit den von Ihnen experimentell ermittelten Werten in einer doppelt logarithmischen Darstellung auf (die beiden Achsen sind logarithmisch, nicht die Werte!). Beschriften Sie die Werte und heben Sie die 4 heute ermittelten Mittelwerte des gesamten Kurses bunt hervor.



4. Diskutieren Sie Ihre Ergebnisse.

4.1 Wie erklären Sie Unterschiede bei Säugetieren verschiedener Körpergröße?

4.2 Welche Veränderungen im Energieumsatz haben Sie bei den verschiedenen Arten bei unterschiedlichen Temperaturen gemessen?

4.3 Warum liegen Ihre Werte evtl. über den Tabellenwerten?

Unterschrift Student

Unterschrift Kursleiter

Exkretion

4. Kurstag

Kurstagleitung: Cornelia Geßner (cornelia.gessner@uni-hamburg.de)
und Annette Schlosser (annette.beatrix.schlosser@uni-hamburg.de)

1. Einleitung

Unter Exkretion versteht man die Entfernung von Abfallprodukten aus dem Stoffwechselkreislauf. Insbesondere aus dem Protein- und Nukleotidstoffwechsel fallen toxische, stickstoffhaltige Stoffwechselendprodukte an.

Je nach Ausscheidungsform der stickstoffhaltigen Abfallprodukte unterscheidet man **Ammoniotelier** (Ausscheidung als Ammoniak, z.B. Quallen, kleine Knochenfische), **Ureotelier** (Ausscheidung von Harnstoff, z.B. die meisten Knochenfische, Säugetiere) und **Uricotelier** (Ausscheidung von Harnsäure, z.B. Insekten, Reptilien, Vögel).

Das Exkretionsorgan der Säuger ist in erster Linie die **Niere**. Sie übernimmt sechs Aufgaben in der Homöostase:

Kontrolle des Ionenhaushalts, Einhaltung des osmotischen Gleichgewichts, Kontrolle des Blutdrucks, pH-Regulation, Exkretion und Hormonproduktion.

Sie ist aufgebaut aus zahlreichen parallel angeordneten Nierenkanälchen, den **Nephrons**, die die funktionelle Einheit der Niere bilden (ca. 1 Million pro menschliche Niere). Ein Nephron ist aufgebaut aus **Glomerulus**, der **Bowman-Kapsel**, distalen und proximalen **Tubulus** sowie der **Henle-Schleife** und einem **Sammelrohr**.

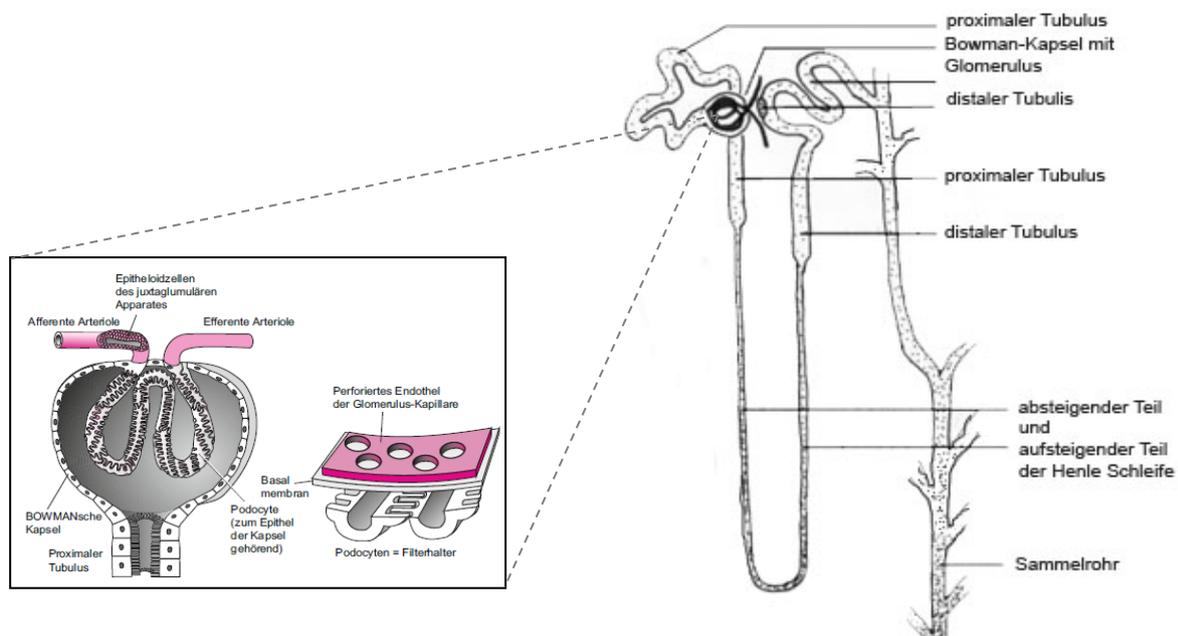


Abb. 1: Schematische Darstellung eines Glomerulus (links) und eines Nephrons (rechts): der Primärharn aus dem Glomerulus wird über den proximalen Tubulus, Henle-Schleife, distalen Tubulus und Sammelrohr zum Nierenkelch geleitet. (verändert nach Müller und Frings, Tier- und Humanphysiologie (links) und www.urologielehrbuch.de (rechts))

Im Glomerulus wird das Blut filtriert. Der Filter wird gebildet aus Podocyten (Zellen mit Fußfortsätzen, die die Kapillare umgeben) und der Basalmembran der Kapillare. Ein Teil des Wassers aus dem Blutplasma wird durch einen Druckaufbau durch Mesangialzellen, die die Blutgefäße im Glomerulus umgeben, in die Bowman-Kapsel abgegeben. Alle Stoffe mit einem Molekulargewicht unter 5000 Da werden ungehindert mit abgegeben. Dieses Filtrat (= filtriertes Blutplasma = Primärharn = Vorharn) sammelt sich zunächst in der Bowman-Kapsel. Von dort gelangt es weiter in den proximalen Tubulus durch die Henle-Schleife über den distalen Tubulus in das Sammelrohr. Der Primärharn wird im folgenden Tubulussystem vielfältig verändert; er wird durch Wasserentzug konzentriert, bestimmte Stoffe werden aktiv sezerniert und andere werden resorbiert. Der schließlich abgegebene Harn hat nur noch etwa 1/100tel des Primärharnvolumens. Bestimmte Stoffe (z.B. Glucose, Aminosäuren, Salze) sind ganz oder teilweise entzogen worden, während andere nun stark aufkonzentriert vorliegen.

Einige Stoffe, wie z.B. das Kohlenhydrat Inulin, oder das aus der Muskelarbeit entstehende Kreatinin, werden frei filtriert und auf ihrem Weg durch die ableitenden Nierenkanäle weder resorbiert noch zusätzlich sezerniert, sie liegen lediglich aufgrund des Wasserentzugs im Endharn in wesentlich höheren Konzentrationen vor als im Primärharn. Aus diesem Grund eignet sich die Messung solcher Substanzen als Nierenfunktionstest.

Da bei diesen Stoffen das Produkt aus Konzentration x Volumen in Primärharn (ultrafiltriertes Plasma) und Endharn gleich ist, eignen sie sich zur Bestimmung der **glomerulären Filtrationsrate (GFR)**, d. h. des pro Zeiteinheit gebildeten Primärharnvolumens. Die GFR stellt eine wichtige Nierenfunktionsprüfung dar.

Ein weiterer Begriff aus der Nierenphysiologie ist die **Clearance** (to clear = reinigen). Darunter versteht man das Blutplasmavolumen, das pro Zeiteinheit von einem bestimmten Stoff (z. B. ein Medikament) befreit wird. Betrachtet man die Clearance für Inulin und Kreatinin entspricht diese der GFR.

Bitte informieren Sie sich auch anhand der angegebenen Literatur über Grundsätzliches zur Exkretion.

2. Ablauf

1. Zuerst werden alle notwendigen Verdünnungen berechnet und mit den Dozenten abgeglichen.
2. Ein Gruppenmitglied gibt eine Urinprobe ab.
3. Im Anschluß daran werden Kreatinin-, Harnstoff- und Harnsäurebestimmung photometrisch durchgeführt. Für eine genaue Bestimmung der zu ermittelnden Konzentrationen ist sorgfältiges Verdünnen und Pipettieren unerlässlich. Erst wenn einer der Dozenten die Ergebnisse abgeglichen hat, können die Proben entsorgt werden. Die **Entsorgung** der Reagenzien erfolgt in den entsprechenden Sondermüll-Kanistern unter dem Abzug. **Die Entsorgung der Urinproben erfolgt im WC!**
4. Erstellen Sie (jeder) aus den Messungen des Kükenkots ein Diagramm auf Millimeterpapier, das Sie dem Kurzprotokoll beilegen.
5. Bearbeiten Sie alle Aufgaben des Kurzprotokolls.

3. Protokoll

Die formalen Anforderungen an das Protokoll sind im Musterprotokoll dargestellt und müssen berücksichtigt werden.

Insbesondere gilt:

- Am Ende der Einleitung steht die Aufgabenstellung im laufenden Text! Nicht wie im Skript mit 1., 2. und 3. auführen.
- Rechenwege müssen erläutert und Werte müssen in Formeln einmal exemplarisch eingesetzt werden.
- Gliederung der Ergebnisse und Diskussion in Mensch und Huhn.
- Ergebnisse: Tabellen und Abbildungen müssen beschriftet und im Text erläutert werden.
- Ergebnisse werden nicht nur in Tabellen, sondern auch in einem Schlusssatz formuliert.
- Aussagekräftige Abschnittsüberschriften auswählen („Kreatininbestimmung“ ist nicht aussagekräftig).
Bitte fügen Sie die Graphik mit den Ergebnissen des Kükenkotes ein.
Fügen Sie an den **thematisch passenden Stellen** die Berechnungen des Kurzprotokolls (Punkt 5) ein.

4. Literatur zur Vorbereitung (auch für Quicktests):

- Campbell, N. A. & Reece, J. B., „Osmoregulation und Exkretion“, Kap. 45, S. 1314–1342. In: Biologie. Pearson Studium, München, 8. Auflage, 2009.
- Sadava, D., Hillis, D. M., Heller, H. C., Berenbaum, M. R. „Salzhaushalt, Wasserhaushalt und Stickstoffausscheidung, Kap. 52, S. 1442-1469, insbesondere Kap. 52.4 – 52.6. In: Purves Biologie. Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg, 9. Auflage, 2011.
- Moyes, C. D., Schulte, P. M., „Ionen- und Wasserhaushalt“, Kap. 11, S. 493 – 547. In: Tierphysiologie. Pearson Studium, München, 2008.

→Bei älteren oder neueren Ausgaben können sich andere Kapitelnummern oder Seitenzahlen ergeben.

Praktikumsaufgaben:

1. Berechnung der glomerulären Filtrationsrate (GFR) beim Menschen:

Die Kreatininkonzentration in einer Serum-, sowie in zwei Urinproben wird bestimmt. Daraus wird dann die GFR errechnet.

2. Ermittlung der Harnstoff-Clearance beim Menschen:

Dazu wird die Harnstoffkonzentration der Proben bestimmt, für die auch schon die GFR berechnet wurde. Mit den Ergebnissen wird dann die Clearance berechnet.

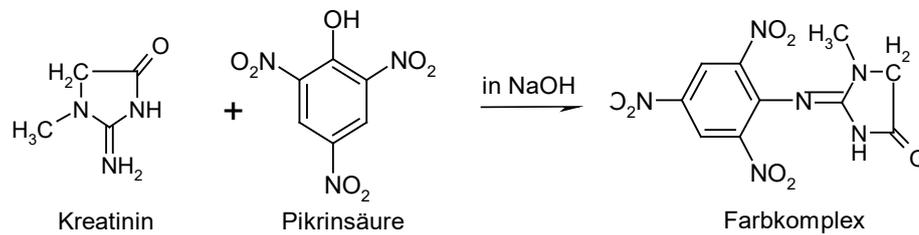
3. Untersuchung der Ausscheidungsmodalitäten bei Hühnerküken:

Wie verändern sich die Harnstoff- und die Harnsäurekonzentration im Kot junger Küken in Abhängigkeit des Alters? Hierzu wird die Harnstoff- und die Harnsäurekonzentration in aufbereitetem Kot von 1, 10 und 20 Tage alten Küken bestimmt.

1. Kreatininbestimmung

A) Testprinzip:

(grüne Beschriftung)



B) Proben und Reagenzien: (DiaSys Creatinin FS Kit)

1 Reagenzlösung:

NaOH 0,2 mol / l

Pikrinsäure (giftig!) 20 mmol / l

Schutzbrille und Handschuhe

2 Proben:

1. Leerwert: H₂O, bidest
2. Standard **2mg /100ml** (bzw. 177µmol / l)
- 3.- 5. Dozentenserum, unverdünnt (3x)
6. Dozentenurin → 1 : 50 verdünnen
7. Eigenurin → 1 : 50 verdünnen

C) Testansatz:

1000 µl Reagenzlösung (B1)	}	gründlich mischen
50 µl Probe (B2)		

1. Inkubation der Ansätze 2 Minuten bei Raumtemperatur
2. sofortige photometrische Bestimmung der Extinktion bei **492 nm**

D) Berechnung: $C_{\text{Probe}} : \text{Ext. Probe} = C_{\text{Standard}} : \text{Ext. Standard}$

Gleichung auflösen nach Probenkonzentration (C_{Probe}), Verdünnungen berücksichtigen!

Berechnung der **GFR**:

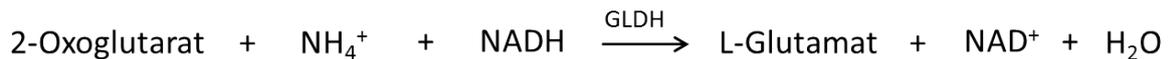
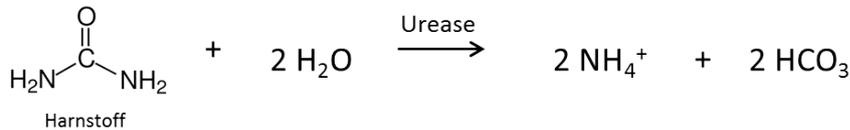
$$C_{\text{Serum}} \times \text{Vol. Serum} = C_{\text{Urin}} \times \text{Vol. Urin}$$

Gleichung auflösen nach Volumen Serum (entspricht Volumen gereinigtes Plasma), das Volumen des Sammelurins beträgt 1,5 Liter / 24 Stunden (1,5 L/d), Einheiten beachten.

2. Harnstoffbestimmung

A) Testprinzip:

(blaue Beschriftung)



GLDH: Glutamatdehydrogenase

B) Proben und Reagenzien:

1 Reagenz 1: (giftig!, Schutzbrille und Handschuhe)

TRIS	150 mmol/l pH7,8
2-Oxoglutarat	9 mmol/l
ADP	0,75 mmol/l
Urease	≥ 7 kU/l
GLDH	≥ 1 kU/l

2 Reagenz 2: (giftig!, Schutzbrille und Handschuhe)

NADH	1,3 mmol/l
------	------------

3 Proben:

1. Leerwert: H₂O, bidest
2. Standard **50 mg/100 ml** (bzw. 8,33 mmol/l)
3. Dozentenserum → 1:10 verdünnen
4. Dozentenurin → 1:50 verdünnen
5. Eigenurin → 1:50 verdünnen
6. Kot von 1 Tag altem Küken (bereits 1:50 verdünnt)
7. Kot von 10 Tage altem Küken (bereits 1:50 verdünnt)
8. Kot von 20 Tage altem Küken (bereits 1:50 verdünnt)

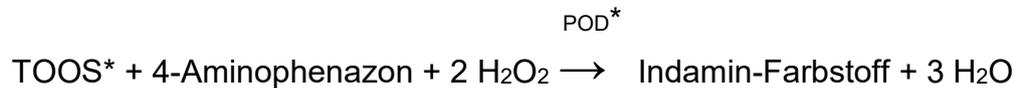
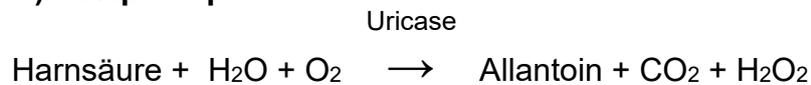
C) Testansatz:

- Reagenzlösung ansetzen: 8,8 ml Reagenz 1 (B1)
2,2 ml Reagenz 2 (B2)
→ mischen und 30 min bei Raumtemperatur inkubieren
- Testansatz ansetzen: 1000 µl Reagenzlösung
10 µl Probe (B2)
→ invertieren und 5 min bei Raumtemperatur inkubieren, danach sofort Extinktionen bei **365 nm** bestimmen

D) Berechnung: C_{Probe} berechnen wie bei Kreatinin, Verdünnungen berücksichtigen, Clearance berechnen wie für die GFR beschrieben.

3. Harnsäurebestimmung

A) Testprinzip: (schwarze Beschriftung)



*TOOS = N-Ethyl-N-(2-hydroxy-3-sulfopropyl)-3-methylanili

*POD = Peroxidase

B) Proben und Reagenzien: (DiaSys Harnsäure FS)

1 Reagenz 1:

Phosphatpuffer	100 mmol/l, pH 7
TOOS	1,25 mmol/l
Ascorbatoxidase	≥ 1,2 kU/l
Detergenz	48 g / l

2 Reagenz 2:

Phosphatpuffer	100 mmol/l, pH 7
Kaliumhexacyanoferrat (II)	50 µmol/l
4-Aminophenazon	1,5 mmol/l
Peroxidase (POD)	≥ 5 kU/l
Uricase (EC 1.7.3.3)	≥ 250 U/l

3 Proben:

1. Leerwert: H₂O, bidest
 2. Standard **6 mg/100 ml**
 3. Kot von 1 Tag altem Küken (bereits 1:50 verdünnt)
 4. Kot von 10 Tage altem Küken (bereits 1:50 verdünnt)
 5. Kot von 20 Tage altem Küken (bereits 1:50 verdünnt)
-

C) Testansatz: 1000 µl Reagenz 1 (B1)
20 µl Probe (B3)

→ vorsichtig invertieren (Schaumbildung vermeiden), 5 min bei Raumtemperatur inkubieren

+
250 µl Reagenz 2 (B2)

→ vorsichtig invertieren (Schaumbildung vermeiden), 10 min bei Raumtemperatur inkubieren und (nach erneutem Mischen) die Extinktionen bei **546 nm** bestimmen

D) Berechnung: C_{Probe} berechnen, Verdünnungen berücksichtigen.

Kurzprotokoll Exkretion

Name:

Datum:

1. Tragen Sie Ihre Ergebnisse in die Tabelle (Kurzprotokoll und an der Tafel) ein, beachten Sie dabei die vorgegebenen Einheiten.

<u>Mensch</u>	Serum	Urin		GFR [L/24h]		Clearence [L/24h]	
	Doz.	Doz.	Stud.	Doz.	Stud.	Doz.	Stud.
Kreatinin [mg/dL]						-	-
Harnstoff [mg/dL]				-	-		

<u>Küken</u>	Tag 1	Tag 10	Tag 20
Harnstoff [mg/dL]			
Harnsäure [mg/dL]			

2. Glomeruläre Filtrationsrate

2.1 Liegen die Ergebnisse in den jeweiligen Normbereichen? _____

2.2 Wie könnte es zu einer erhöhten GFR kommen? _____

3. Harnstoffclearance

3.1 Liegen die Ergebnisse in den jeweiligen Normbereichen? _____

3.2 Warum könnte es zu Abweichungen gekommen sein? _____

4. Ausscheidungsmodalität bei Hühnerküken

4.1. Fügen Sie ein handgezeichnetes Diagramm der Ergebnisse bei. (Millimeterpapier wird ausgehändigt)

5. Rechnungen

5.1. Wie viel Primärharn produziert ein Glomerulus pro Stunde bei Dozent und Student? (Angaben in μl)

Dozent: _____ Student: _____

5.2. Wie viel Blut muss für die ermittelte GFR täglich die Nieren passieren?

Dozent: _____ Student: _____

(prozentualer Plasmaanteil des Blutes = ca. 55%, in der Niere als Primärharn abfiltrierter Prozentsatz des Plasmas = ca. 20%)

5.3. Ein Mensch hat ca. 5 – 7 Liter Blut. Wie oft pro Tag passiert das Blut die Nieren?

5 Liter: _____ 7 Liter: _____

5.4. Wie viel Gramm Harnstoff wird pro Tag ausgeschieden bei Dozent und Student?

Dozent: _____ Student: _____

5.5. Wie viel Prozent Harnstoff wurden resorbiert bei Dozent und Student?

Dozent: _____ Student: _____

Unterschrift Student

Unterschrift Dozent

Blut und Sauerstofftransport

Kursleitung: Cornelia Geßner (cornelia.gessner@uni-hamburg.de)
und Paressa Papadopoulou-Wörner(paressa.papadopoulou-woerner@uni-hamburg.de)

■ Allgemeine Einleitung

Sauerstoff (O₂) ist im wässrigen Medium schlecht löslich. So sind bei 37°C in einem Liter Blutplasma nur etwa vier ml O₂ physikalisch gelöst. Das Blut vieler Tiere enthält daher ein respiratorisches Protein (Hämoglobin, Hämocyanin oder Hämerythrin), welches den Sauerstofftransport von den respiratorischen Oberflächen (beispielsweise der Lunge) zu den inneren Geweben verbessert.

Hämoglobin (Hb) kommt in zahlreichen Varianten in fast allen Tierstämmen vor. Bei Wirbeltieren ist es beinahe durchweg vorhanden (einzig bekannte Ausnahme sind einige Eisfische). Das native Hämoglobin der Wirbeltiere besteht aus insgesamt vier Globinketten, und zwar zwei α - und zwei β -Globinketten. Jede Globinkette ist mit einer Hämgruppe, ein Protoporphyrin-Ring mit einem zentralen Fe²⁺-Ion, assoziiert. An das Fe²⁺-Ion kann ein O₂-Molekül reversibel binden. Da bei dieser Bindung keine Elektronen übertragen werden, spricht man nicht von einer Oxidierung sondern von einer Oxygenierung. Zudem transportiert Hämoglobin ein Teil des CO₂ von den Geweben zu den respiratorischen Oberflächen. Bei Wirbeltieren (im Gegensatz zu den meisten Wirbellosen) ist das Hämoglobin immer in Blutzellen verpackt, den roten Blutkörperchen oder Erythrozyten.

Neben dem Transport von Sauerstoff erfüllt das Blut weitere wichtige Funktionen, beispielsweise beim Transport von Nähr- und Abfallprodukten, Hormonen und Wärme. Es besteht zu etwa 55% aus Plasma (Wasser mit den darin gelösten Salzen und Proteinen) und zu etwa 45% aus Zellen (Hämatokrit). Neben den Erythrozyten, die den Hauptbestandteil des Hämatokrits bilden, gibt es noch die Leukozyten (weiße Blutkörperchen) und die Thrombozyten (Blutplättchen). Während die Leukozyten unterschiedliche Funktionen bei der Immunabwehr haben, sind die Thrombozyten für die Blutgerinnung zuständig.

Am heutigen Versuchstag werden Sie zunächst eine Blutprobe eines Hasen mit Hilfe der SDS-Polyacrylamidgelelektrophorese (SDS-PAGE) untersuchen und dabei die Molekülmasse des Hämoglobins bestimmen. Außerdem werden Sie die Hämoglobinkonzentration und die Anzahl der Erythrozyten Ihres eigenen Bluts ermitteln. Zuletzt werden Sie anhand der ermittelten Werte die O₂-Transportkapazität Ihres Bluts und Ihren MCH (*mean corpuscular haemoglobin*) Wert errechnen. „Schnelle Gruppen“ haben zudem die Möglichkeit, ihre Blutgruppe zu bestimmen.

Für den Kurstag relevante Literatur

- Sadava, D., Hillis, D. M., Heller, H. C., Berenbaum, M. R. „Wie transportiert das Blut Atemgase“, Kap. 49.4, S. 1369-1372 und „Blut: Ein flüssiges Bindegewebe“, Kap. 50.4, S. 1394-1396. In: Purves Biologie. Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg, 9. Auflage, 2011.
- Moyes CD, Schulte M.S, „Blut“, Kap. 9.5, S. 424-428 und „Gastransport in Geweben“, Kap. 10.4, S. 469-481. In: Tierphysiologie. Pearson Studium, München, 2008.

Bei älteren Ausgaben können sich andere Kapitelnummern oder Seitenzahlen ergeben.

1. Molekülmasse des Hämoglobins

■ Theoretischer Hintergrund

Das native Hämoglobin der Wirbeltiere besteht aus vier einzelnen Hämoglobinketten. Jede Hämoglobinkette ist mit einer Hämgruppe assoziiert und kann folglich ein O₂-Molekül binden. Zur Bestimmung der O₂-Transportkapazität des Bluts (Versuch 2) und des MCH Werts (Versuch 3) ist es zunächst erforderlich, die Molekülmasse des nativen Hämoglobins zu ermitteln. Dies geschieht mit Hilfe der sogenannten SDS-Polyacrylamidgelelektrophorese (SDS-PAGE).

Das native Hämoglobin wird dabei zunächst mit SDS (Natriumdodecylsulfat) denaturiert, wobei es in die vier einzelnen Hämoglobinketten zerfällt. Außerdem lagert sich das SDS an das Rückgrat der Hämoglobinketten an. Dabei entsteht eine negative Nettoladung, welche zur Molekülmasse der Hämoglobinketten proportional ist. Im elektrischen Feld wandern die Hämoglobinketten somit ausschließlich aufgrund dieser negativen Nettoladung vom Minus- zum Pluspol. Eine Auftrennung der Proteine nach ihrer Molekülmasse wird dabei durch das Polyacrylamid erreicht, welches wie ein molekulares Sieb wirkt. Kleinere Proteinketten passieren das Polyacrylamid mehr oder weniger ungehindert, während größere Proteinketten stärker aufgehalten werden und dementsprechend langsamer durch das Gel wandern. Nach einer bestimmten Zeit wird die Elektrophorese abgebrochen und die Hämoglobinketten werden über ihre Hämgruppe mittels einer Farbreaktion sichtbar gemacht. Die Bestimmung der Molekülmasse erfolgt nun mit Hilfe sogenannter Eichproteine, welche sich durch bereits bekannte Molekülmassen auszeichnen. Die Molekülmasse der Hämoglobinketten kann somit anhand der unterschiedlichen Laufweiten der Eichproteine ermittelt werden.

■ Praktische Durchführung

- 1) Verdünnen Sie die Blutproben wie im Kurs besprochen mit Natriumchlorid-Lösung. 35 µl jeder Verdünnungsstufe werden mit 10 µl SDS-Lösung und 5 µl Bromphenolblau/Glyzerin-Lösung versetzt. Ansätze vorsichtig mischen und für mindestens fünf Minuten bei Raumtemperatur inkubieren lassen.
- 2) Setzen Sie die Elektrophoreseapparatur wie besprochen zusammen. Befüllen Sie die äußere Kammer der Elektrophoreseapparatur mit SDS-Laufpuffer (etwa 4-5 cm). Füllen Sie die innere Kammer der Elektrophoreseapparatur bis zur Oberkante mit SDS-Laufpuffer auf. Ziehen Sie nun vorsichtig die grünen Platzhalter aus dem Polyacrylamidgel.
- 3) Beladen Sie die Taschen des Gels mit jeweils 45 µl der vorbereiteten Blutproben und mit 15 µl der ausgegebenen Eichproteinlösung. Dazu die beladene Pipettenspitze vorsichtig zwischen die beiden Glasplatten in die Geltasche eingeführt und kurz vor Erreichen des Taschenbodens die Probe langsam aus der Spitze drücken (nur bis zum ersten Druckpunkt).
- 4) Setzen Sie den Deckel auf die Elektrophoreseapparatur und schließen Sie die Apparatur an den Spannungsgeber an. Starten Sie Elektrophorese indem Sie eine Spannung anlegen (Betreuer fragen). **Führen Sie in der Wartezeit die Versuche 2, 3 und gegebenenfalls 4 durch.**
- 5) Die Elektrophorese wird abgebrochen, wenn sich das Bromphenolblau kurz vor der unteren Kante des Gels befindet (Betreuer fragen). Dazu den Spannungsgeber ausschalten und den SDS-Laufpuffer in den Abfluß gießen.

- 6) Das Polyacrylamidgel samt Glasplatten aus der Elektrophoreseapparatur entfernen (Betreuer fragen). Die kleinere Glasplatte abheben und vorsichtig das Gel von der größeren Glasplatte lösen. Das Polyacrylamidgel vorsichtig in eine Schale mit Azetatpuffer legen. Mindestens zehn Minuten inkubieren lassen.
- 7) Verwerfen Sie den Azetatpuffer (Abfluß) und inkubieren Sie nun das Gel für einige Minuten im Dunkeln in einer AEC-Färbelösung (38 ml Azetatpuffer; 2 ml AEC-Lösung; 400 µl 3%iges H₂O₂) bis die Hämoglobinketten deutlich als dunkelrot-bräunliche Banden zu erkennen sind.
- 8) Notieren Sie die Laufweiten sowohl der einzelnen Eichproteine als auch der Hämoglobinketten. Dazu messen Sie mit einem Lineal den Abstand von dem Taschenboden bis zur Mitte der jeweiligen Bande.
- 9) Erstellen Sie anhand der Laufweiten der Eichproteine eine Eichgerade auf einfach logarithmischem Millimeterpapier (siehe im Kurs ausgegebene Information zu den Eichproteinen). Bestimmen Sie anhand dieser Eichgerade und der Laufweite der Hämoglobinketten deren Molekülmasse.

■ Auswertung

- 1) Was für eine Molekülmasse hat eine einzelne Hämoglobinkette? Berechnen Sie daraus auch die Molekülmasse des nativen Hämoglobins (Angabe in kDa).
- 2) Wieviel wiegt ein Mol natives Hämoglobin (Angabe in kg)?
- 3) Wieviel Mol Sauerstoff können von einem Mol nativen Hämoglobin transportiert werden?

2. Hämoglobinkonzentration des Bluts

■ Theoretischer Hintergrund

Die Hämoglobinkonzentration des Menschen hängt vom Geschlecht aber auch von individuellen Faktoren wie beispielsweise der Ernährung ab. Bei Männern beträgt die durchschnittliche Hämoglobinkonzentration 160 Gramm pro Liter Blut (Normbereich: 135-175 g/l) und bei Frauen 146 Gramm pro Liter Blut (Normbereich: 120-160 g/l). Liegt die Hämoglobinkonzentration unter dem jeweiligen Normbereich, spricht man von einer Anämie (Blutarmut), welche sich oft durch leichte Ermüdbarkeit und Luftknappheit bemerkbar macht. Die häufigste Ursache für Anämien ist ein Eisenmangel, wodurch die Neusynthese der Hämgruppe und damit auch die Neusynthese des Hämoglobins gestört ist.

Bei der Messung der Hämoglobinkonzentration mittels Farbreaktion und anschließender photometrischer Quantifizierung wird die Blutprobe zunächst mit einem basischen Konversionsreagens versetzt. Dieses Konversionsreagens bildet mit dem Hämoglobin einen stabilen Farbkomplex, welcher Licht der Wellenlänge 546 nm absorbiert und dementsprechend photometrisch quantifiziert werden kann. Dabei gilt folgender linearer Zusammenhang: Je größer die Extinktion der Probe bei 546 nm ist, desto größer ist auch die Konzentration an Hämoglobin im Blut. Die genaue Hämoglobinkonzentration können Sie mit folgender Formel berechnen: Hämoglobinkonzentration in g/l Blut = Extinktionswert bei 546 nm x 367,7 g/l.

■ Praktische Durchführung

- 1) Legen Sie zunächst das Konversionsreagenz gemäß den Angaben der Tabelle in drei Küvetten vor:

	Leerwert	Kontrolle	Probe
Konversionsreagenz	1,25 ml	1,25 ml	1,25 ml
Kontrollprobe	-----	5 µl	-----
Eigene Blutprobe	-----	-----	5 µl

- 2) Ritzen Sie eine mit Ethanol desinfizierte Fingerbeere (nicht gerade die des häufig gebrauchten Zeigefingers) mit der Lanzette an (durch vorheriges Schleudern ihres Arms erhöhen Sie die Ausbeute erheblich). Lassen Sie das Blut frei austreten.
- 3) Nehmen Sie mit der Kapillare 5 µl Blut auf. Anschließend wird die Kapillarenspitze abgewischt und das Blut mit Hilfe des Gummibällchens in die Konversionslösung eingeblasen. Durch mehrmaliges Aufziehen und Ausblasen von Konversionslösung werden sämtliche Blutreste aus der Kapillare in die Küvette gespült.
- 4) Mischen Sie das Blut umgehend mit der Konversionslösung durch vorsichtiges Invertieren (evtl. Parafilm verwenden). Achten Sie darauf, dass sich das Blut nicht am Boden der Küvette abgesetzt hat sondern vollständig in der Konversionslösung verteilt ist.
- 5) Pipettieren Sie 5 µl der jeweiligen Kontrolllösung in die dafür vorgesehenen Küvette und invertieren Sie diese (siehe oben). Die Kontrollprobe hat eine bekannte Konzentration und dient als Indiz, ob sie genau gearbeitet haben.

- 6) Quantifizieren Sie den in jeder Küvette entstandenen Farbkomplex nach frühestens 3 Minuten am Photometer anhand seiner Absorption bei 546 nm.
- 7) Berechnen Sie aus dem ermittelten Extinktionswert die Hämoglobinkonzentration. Berechnen Sie auch die Konzentrationen für die Kontrolle. Wenn Sie alles richtig gemacht haben, sollten Sie folgenden Wert erhalten: Kontrolle = 15 g/dl.

■ Auswertung

- 1) Berechnen Sie die Hämoglobinkonzentration der Versuchsperson in g/l. Geben Sie die Hämoglobinkonzentration auch in Mol/l an (Ergebnisse aus Versuch 1 für die Berechnung verwenden). Notieren Sie das Geschlecht der Versuchsperson. Berechnen Sie anhand der Kursergebnisse die durchschnittliche Hämoglobinkonzentration von Männern und Frauen.
- 2) Berechnen Sie die O₂-Transportkapazität des Bluts (Angaben in Mol/l). Geben Sie die O₂-Transportkapazität auch in ml an (**Hinweis:** Ein Mol eines Gases hat ein Volumen von etwa 22,4 Litern).
- 3) Um welchen Faktor erhöht sich die Sauerstofftransportkapazität des Bluts durch die Anwesenheit des Hämoglobins (**Hinweis:** Pro Liter Blutplasma sind etwa vier ml Sauerstoff physikalisch gelöst)?

3. Erythrozytenzahl pro Liter Blut

■ Theoretischer Hintergrund

Das Hämoglobin befindet sich bei Säugetieren in den kernlosen Erythrozyten. Das Hämoglobin würde, wenn es frei im Plasma gelöst wäre, den kolloidosmotischen Druck des Bluts sehr stark erhöhen und einen weitaus größeren Blutdruck erforderlich machen. In diesem Versuch werden Sie unter Verwendung einer Thoma-Zählkammer Ihre Erythrozyten mikroskopisch auszählen. Anhand der Erythrozytenzahl und der Hämoglobinkonzentration (Versuch 2) werden Sie den mittleren Hämoglobingehalt eines Erythrozyten (MCH; *mean corpuscular haemoglobin*) bestimmen. Im Normalfall sollte der MCH sowohl bei Männern als auch bei Frauen zwischen 28 und 33 pg liegen.

$$\text{MCH (pg)} = \text{Hämoglobinkonzentration (g/l)} / \text{Anzahl an Erythrozyten pro Liter}$$

Während eine verminderte Hämoglobinkonzentration im Blut generell eine Anämie anzeigt, kann diese über den MCH näher charakterisiert werden. Somit können letztlich die möglichen Ursachen der Anämie identifiziert werden. Eine hypochrome Anämie (MCH < 28 pg) liegt beispielsweise vor, wenn die Hämoglobinsynthese durch einen Eisenmangel gestört ist. Eine normochrome Anämie (MCH zwischen 28 und 33 pg) liegt vor, wenn es durch einen Blutverlust (Unfall oder Hämolyse) zu einem größeren Verlust an Erythrozyten kommt und eine hyperchrome Anämie (MCH > 33 pg) liegt vor, wenn die Bildung der Erythrozyten durch einen Mangel an den Vitaminen Folsäure oder B12 gestört ist.

■ Praktische Durchführung

- 1) Legen Sie in einem Reaktionsgefäß 990 µl einer 3,8%igen Natrium-Citrat-Lösung vor.
- 2) Ritzen Sie eine mit Ethanol desinfizierte Fingerbeere (nicht gerade die des häufig gebrauchten Zeigefingers) mit der Lanzette an (durch vorheriges Schleudern ihres Arms erhöhen Sie die Ausbeute erheblich). Lassen Sie das Blut frei austreten.
- 3) Nehmen Sie mit der Kapillare 10 µl Blut auf. Anschließend wird die Kapillarenspitze abgewischt und das Blut mit Hilfe des Gummibällchens in die Natrium-Citrat-Lösung eingeblasen. Durch mehrmaliges Aufziehen und Ausblasen von Natrium-Citrat-Lösung werden sämtliche Blutreste aus der Kapillare in das Reaktionsgefäß gespült.
- 4) Mischen Sie das Blut umgehend mit der Natrium-Citrat-Lösung durch vorsichtiges Schwenken. Achten Sie darauf, dass sich das Blut nicht am Boden abgesetzt hat sondern vollständig in der Natrium-Citrat-Lösung verteilt ist.
- 5) Feuchten Sie die Zählkammer etwas an (anhauchen) und schieben Sie das Deckglas quer mit leichtem Druck auf die Glasstege. Das Deckgläschen sitzt korrekt, wenn es nicht verrutscht und man NEWTONsche Ringe (Interferenzmuster unter dem Deckglas) sieht.
- 6) Nun einen kleinen Tropfen der verdünnten Blutprobe mit der Pipette an die Deckglaskante auf den mittleren Glassteg der Zählkammer aufbringen (vgl. Abb. 1). Die Blutprobe wird nun durch die Kapillarkraft unter das Deckglas gesogen.
- 7) Zählen Sie im Mikroskop die Erythrozyten in fünf Mittelquadraten aus (Kantenlänge: 200 µm; Abb. 1) und bilden Sie den Mittelwert. Erythrozyten die auf dem Rand liegen, werden nur mitgezählt, wenn es sich entweder um den oberen oder linken Rand handelt. Die Kleinquadrate (Kantenlänge: 50 µm) dienen als Orientierungshilfe.

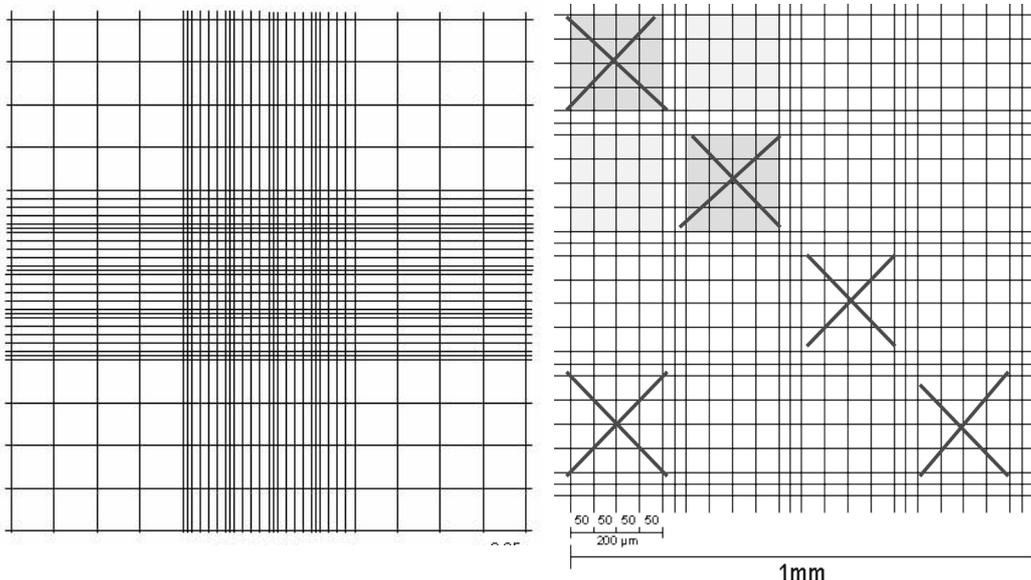
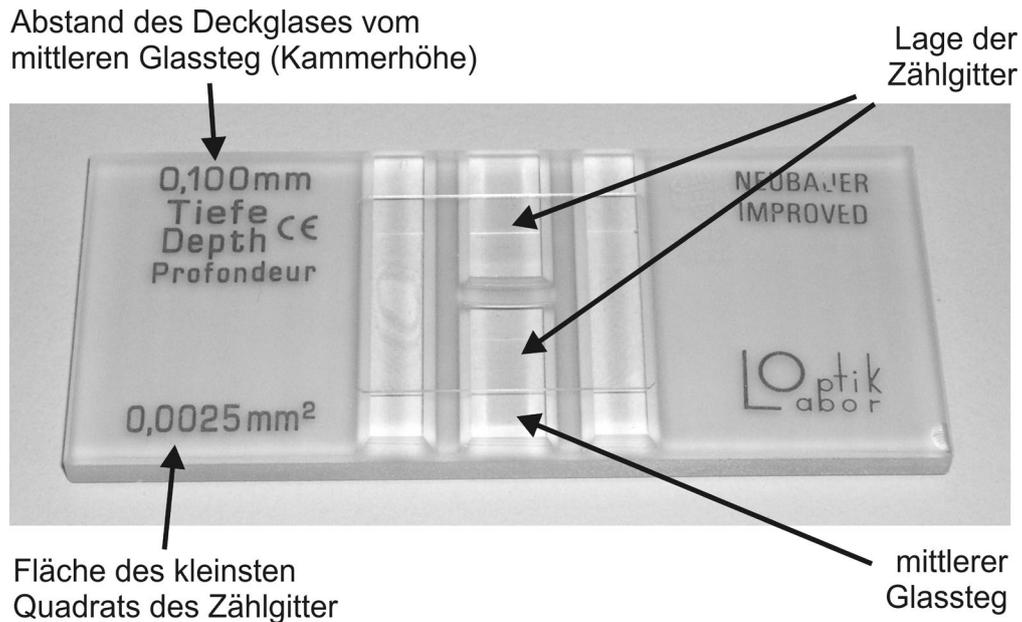


Abb. 1: Oben: Thoma-Zählkammer vom Typ „Neubauer improved“. Unten links: Darstellung des Zählgitters der Zählkammer mit dem Großquadrat in der Mitte. Unten rechts: Vergrößerte Darstellung des Großquadrats. Es besteht aus 16 Mittelquadraten (fünf davon sind in der Abbildung mit einem Kreuz markiert), welche jeweils wiederum aus 16 Kleinquadraten bestehen.

■ Auswertung

- 1) Die Kantenlänge eines Kleinquadrates beträgt $50\ \mu\text{m}$ ($0,05\ \text{mm}$) und seine Fläche folglich $0,0025\ \text{mm}^2$ (vgl. Abb. 1). Die Höhe der Kammer, also der Abstand zwischen Zählgitter und Deckglas beträgt $0,1\ \text{mm}$. Berechnen Sie anhand dieser Angaben die Anzahl der Erythrozyten pro Liter Blut ($\text{mm}^3 \approx \mu\text{l}$). Beachten Sie dabei, dass die ausgezählten Erythrozyten verdünnt wurden. Notieren Sie auch das Geschlecht der Versuchsperson.
- 2) Berechnen Sie unter zur Hilfenahme der Ergebnisse aus Versuch 2 Ihren MCH Wert, also den durchschnittlichen Hämoglobingehalt eines Erythrozyten (Angabe in Picogramm; $\text{pg} = 10^{-12}\ \text{g}$).

4. Blutgruppenbestimmung (optional)

■ Theoretischer Hintergrund

Die Verträglichkeit der Blutproben zweier Individuen wird bestimmt durch spezifische Oberflächenmoleküle der Erythrozytenmembran (Antigene) und im Blutplasma gelöste Antikörper gegen diese Antigene. Die Mischung von Blut unterschiedlicher Blutgruppen kann deshalb bei den AB0-Blutgruppen zur Verklumpung (Agglutination) der Erythrozyten führen. Die Antikörper erkennen und binden dabei die Blutgruppenantigene (Antigen-Antikörper-Reaktion). Auf diese Weise werden die roten Blutkörperchen miteinander vernetzt und fallen aus.

Man unterscheidet heute mindestens 14 genetisch fixierte Systeme: AB0, Rh, MN, P, Lutheran, Kell, Lewis, Duffy, Kidd, Diego, Yt, J, Xg, Dombrock. Im AB0-System, das besonders wichtig für Bluttransfusionen ist, unterscheidet man nach den Antigeneigenschaften der Erythrozyten die Blutgruppen A, B, AB und 0 sowie die Antikörper Anti-A und Anti-B (vgl. Tab. 1). Das Vorkommen eines Antigens schließt das gleichzeitige Vorhandensein des spezifischen Antikörpers im Blut aus.

Tabelle 1: Antigene und Antikörper des AB0-Systems.

Blutgruppe	Antigen	Antikörper im Blut
A	A	anti-B
B	B	anti-A
AB	A und B	-
0	-	anti-A und anti-B

■ Praktische Durchführung

- 1) Geben Sie jeweils etwa 3 Tropfen der Testseren (Anti-A, Anti-B, Anti-A und Anti-B) in die entsprechenden Vertiefungen der Tüpfelplatte.
- 2) Ritzen Sie eine desinfizierte Fingerkuppe mit einer sterilen Lanzette an, nehmen Sie etwas Blut des austretenden Bluttröpfens ab und verrühren Sie es mit dem Testserum in der ersten Vertiefung der Tüpfelplatte. Wiederholen sie diesen Schritt bis alle Testseren mit Blut versetzt wurden.
- 3) Mit der Tüpfelplatte werden vorsichtig kreisende Bewegungen durchgeführt.
- 4) Innerhalb von 1 - 2 min (spätestens nach 5 min) läuft die Reaktion ab. Eine positive Reaktion zeigt sich am Verklumpen (Agglutination) der Blutmischung.

Kurzprotokoll Blut

Name:

Matr.-Nr.:

Datum:

BITTE STETS KORREKTE DIMENSIONEN EINTRAGEN!

1. Molekülmasse des Hämoglobins

1.1 Molekülmasse Hämoglobinkette / natives Hämoglobin: _____ / _____.

1.2 Gewicht von einem Mol nativen Hämoglobin: _____.

1.3 Ein Mol natives Hämoglobin kann _____ Mol Sauerstoff transportieren.

2. Hämoglobinkonzentration des Bluts

2.1 Hämoglobinkonzentration der Versuchsperson: _____.

2.2 O₂-Transportkapazität des Bluts: _____.

2.3 Faktor um den Hämoglobin die O₂-Transportkapazität des Bluts erhöht: _____.

3. Erythrozytenzahl pro Liter Blut

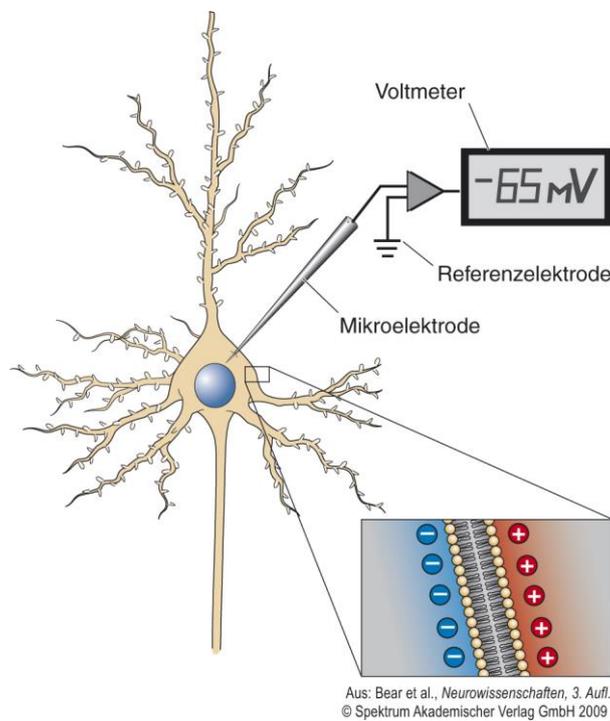
3.1 Anzahl an Erythrozyten der Versuchsperson pro Liter Blut: _____.

3.2 Mittleren Hämoglobingehalt eines Erythrozyten (MCH): _____.

Unterschrift Dozent

USB-Stick mitbringen!!

Neurophysiologie



Kursleitung: Prof. Dr. Christian Lohr (christian.lohr@uni-hamburg.de)
Dr. Natalie Rotermund (natalie.rotermund@uni-hamburg.de)
Dr. Kristina Schulz (kristina.schulz@uni-hamburg.de)

Das Aktionspotential

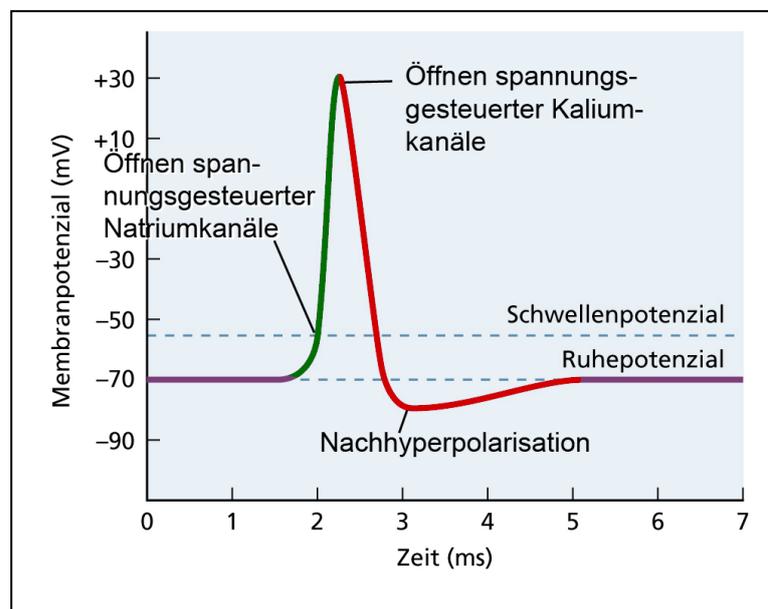
Einleitung

Aktionspotentiale sind die Informationseinheiten der Neurone. Sie beruhen auf der Tatsache, dass Neurone in der Lage sind das Membranpotential von einem negativen Ruhewert (ca. **-50 bis -70 mV**) binnen einer Millisekunde auf einen Wert von ca. 30 mV umzupolen. Zudem kann das Aktionspotential entlang des Axons mit einer Geschwindigkeit von ca. 10-100 m/s fortgeleitet werden.

Um die Entstehung und Fortleitung eines Aktionspotentials verstehen zu können, muss zunächst das Ruhepotential betrachtet werden. Das **Ruhepotential** ist das Resultat der Aktivität von **Na⁺-K⁺-Pumpen** und einiger geöffneter **K⁺-Kanäle** in der Plasmamembran. Die Na⁺-K⁺-Pumpe sorgt in den Zellen für eine **niedrige Na⁺-Konzentration** und **hohe K⁺-Konzentration**, wohingegen in der Extrazellulärflüssigkeit die Na⁺-Konzentration hoch und die K⁺-Konzentration niedrig ist. Aufgrund einer gewissen, wenn auch geringen Anzahl geöffneter K⁺-Kanäle diffundieren einige K⁺ aus der Zelle, weshalb das Zellinnere mehr negative Ladung aufweist als das Zelläußere, das Membranpotential hat also einen negativen Wert (z.B. -60 mV). Es liegt nahe dem **Gleichgewichtspotentials** von K⁺.

Zu Beginn eines Aktionspotentials öffnen sich einige **Na⁺-Kanäle**, wodurch Na⁺ einströmt, das Zellinnere an positiver Ladung gewinnt und die Zellmembran um wenige mV depolarisiert. Diese **Depolarisation** öffnet weitere spannungsgesteuerte Na⁺-Kanäle, was die Depolarisation verstärkt und bei Erreichen des **Schwellenpotentials** zum simultanen Öffnen einer großen Anzahl von Na⁺-Kanälen führt (Abb. 1). Der folgende Einstrom vieler Na⁺-Ionen bewirkt ein Umladen der Membran zu positiven Werten von ca. 20-30 mV. Das Erreichen dieses positiven Wertes **inaktiviert die Na⁺-Kanäle** und öffnet **spannungsgesteuerter K⁺-Kanäle**, woraufhin viele K⁺-Ionen aus der Zelle ausströmen und es zur Repolarisation der Zellmembran kommt. Dabei ist der Ausstrom von K⁺-Ionen so groß, dass das Membranpotential negativere Werte als das Ruhepotential erreicht. Man spricht von einer **Nachhyperpolarisation**.

Abb.1: Öffnen von spannungsgesteuerten Natriumkanälen führt zur Depolarisation (grün). **Inaktivierung der Natriumkanäle** und Aktivierung spannungsgesteuerter Kaliumkanäle bewirkt die **Repolarisation** und **Nachhyperpolarisation** der Zellmembran (rot). Nach wenigen Millisekunden erreicht das Membranpotential den Ruhewert.



Das Aktionspotential ist demnach ein zeitlich hoch koordiniertes Zusammenspiel von spannungsgesteuerten Na^+ - und K^+ -Kanälen. Die initiale Depolarisation, die das Aktionspotential auslöst, kann unterschiedlichen Ursprungs sein. Unter natürlichen Umständen führt häufig eine synaptische Erregung zur Depolarisation, erreicht diese das Schwellenpotential, wird ein Aktionspotential ausgelöst. Ob eine synaptische Erregung ausreicht, um das Schwellenpotential zu erreichen, hängt von verschiedenen Faktoren ab. Zum einen ist die Größe der synaptischen Erregung ausschlaggebend, zum anderen bestimmen die physikalischen Eigenschaften der postsynaptischen Zelle, wie weit sich die synaptische Erregung vom Dendriten in den Zellkörper fortpflanzt und folglich ob am **Axonhügel** ein Aktionspotential ausgelöst wird. Sind viele Ionenkanäle geöffnet, ist der elektrische Widerstand der Zellmembran (**Membranwiderstand**) niedrig und ein Großteil des synaptischen Stroms geht auf dem Weg vom Dendriten zum Axonhügel verloren. Die synaptische Erregung versiegt, bevor ein Aktionspotential ausgelöst werden kann. Treffen jedoch mehrere synaptische Erregungen kurz hintereinander auf (**zeitliche Summation**), summieren sie sich zu einer großen synaptischen Antwort auf, die ausreicht um das Schwellenpotential zu überschreiten. Wird ein Aktionspotential ausgelöst, so läuft es mit großer **Geschwindigkeit** entlang des Axons (10-100 m/s).

An den Endigungen der Axone befinden sich **synaptische Boutons**, d.h. präsynaptische Verdickungen, an denen bei Einlaufen eines Aktionspotentials Neurotransmitter ausgeschüttet werden (Abb. 2). Die Neurotransmittermoleküle diffundieren im synaptischen Spalt und binden an **Neurotransmitterrezeptoren** in der postsynaptischen Membran. Prä- und postsynaptische Bereiche und synaptischer Spalt bilden zusammen die **chemische Synapse**. Dies führt zum Öffnen der Rezeptorkanäle und zur De- bzw. Hyperpolarisation, je nach Rezeptortyp. Bei Erreichen des Schwellenpotentials in Folge einer oder mehrerer, sich aufsummierender Depolarisationen wird in der postsynaptischen Zelle ein Aktionspotential ausgelöst.

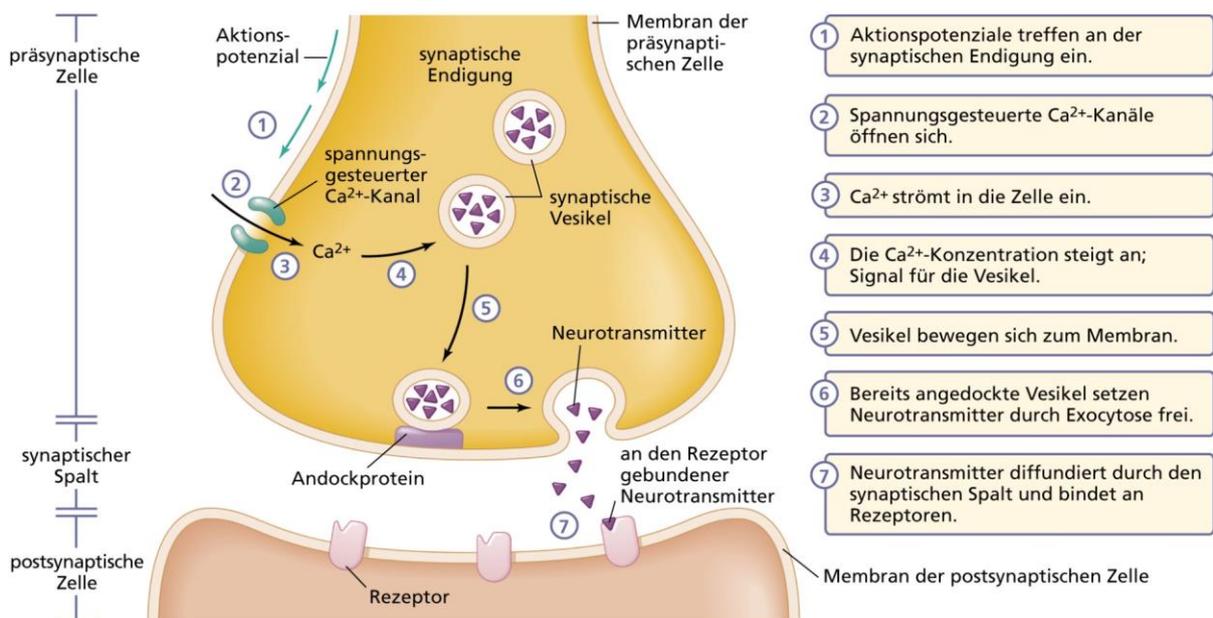


Abb. 2. Mechanismus der synaptischen Übertragung

Ziel des Kurses

Ziel des heutigen Kurses ist es, die theoretischen Grundlagen des Ruhemembranpotentials, der Ausbreitung synaptischer Potentiale und des Aktionspotentials mit Hilfe eines Computerprogramms zu begreifen.

Vorbereitung

Informieren Sie sich über die fett gedruckten Schlagworte in den gängigen Lehrbüchern bzw. der Vorlesung.

Literatur zur Vorbereitung

1. Campbell, N.A. und Reece, J.B. (2009): Biologie. Pearson Studium Verlag; 8. Auflage, **Kapitel 48, Seiten 1413-1422, Neurone, Synapsen und Signalgebung.**
2. Sadova, D., Orians, G.H. und Heller, H.C. (2011): Purves Biologie. Spektrum Akademischer Verlag; 9. Auflage, **Kapitel 45.1-45.3, Seiten 1248 - 1264, Nervenzellen und Nervensysteme.**

Experimenteller Teil

Mit Hilfe des Computerprogramms "MetaNeuron" werden unterschiedliche Situationen im "Alltag" eines Neurons simuliert und die Folgen für die Informationsverarbeitung und –weiterleitung untersucht. Hierzu wird das Programm geöffnet.

Öffne "MetaNeuron"

Im Menü oben links wird zunächst unter "File" die Funktion "Restore all to default" ausgewählt, um Einstellungen ihrer Vorgänger zu löschen.

(Merke: Sollten Sie im Laufe einer "Untersuchung" den Überblick über die geänderten Werte verlieren, können Sie jederzeit mit dieser Funktion die Werte zurück stellen)

"File" – "Restore all to default"

Im Menü "Lesson" wählen Sie "Lesson 1".

"Lesson" – "Lesson 1"

Lesson 1: Ruhemembranpotential

In dem sich nun öffnenden Fenster können Sie die Auswirkung der Membranleitfähigkeiten von Na^+ und K^+ auf das Ruhemembranpotential untersuchen (Abb. 3). Die Membranleitfähigkeit gibt an, wie viel Kanäle für einen bestimmten Ionentyp geöffnet sind und wie gut demnach diese Ionen durch die Membran hindurchgeleitet werden. Aktuell ist die relative K^+ -Leitfähigkeit (K^+ permeability) 65, die relative Na^+ -Leitfähigkeit (Na^+ permeability) 1; d.h. dass in Ruhe 65-mal mehr K^+ -Kanäle offen sind als Na^+ -Kanäle. Die Gleichgewichtspotentiale (equilibrium potential) für die beiden Ionen werden angegeben. Diese werden als grüne bzw. blaue Linie im Graphen angezeigt. Das Membranpotential wird gelb dargestellt und kann außerdem im oberen grauen Feld abgelesen werden bzw. wird per Mausklick rechts unten angezeigt. **Notieren Sie sich das Ruhemembranpotential!**



Abb. 3: Lesson 1.

Aufgabe: 1) Verringern Sie die Na^+ -Leitfähigkeit (Na^+ permeability) von 1 auf 0 (entspricht dem Schließen aller Na^+ -Kanäle). Wie wirkt sich das Schließen von Na^+ -Kanälen auf das Ruhemembranpotential aus? Wie verhält sich das Ruhemembranpotential zum K^+ -Gleichgewichtspotentiale (K^+ equilibrium potential)?

2) Stellen Sie die Na^+ -Leitfähigkeit (Öffnen von Na^+ -Kanälen) auf 10, dann auf 20. Wie wirkt sich das Öffnen von Na^+ -Kanälen auf das Ruhemembranpotential aus?

Aufgabe: 3) Stellen Sie alles zurück (*Restore*). Verringern Sie die K^+ -Leitfähigkeit (K^+ permeability) von 65 auf 30, dann auf 10 (entspricht dem Schließen von K^+ -Kanälen) und letztendlich auf 0 (alle K^+ -Kanäle geschlossen). Wie wirkt sich das Schließen von K^+ -Kanälen auf das Ruhemembranpotential aus?

Unter Berücksichtigung der Ergebnisse aus 1) - 3), welche Rollen spielen K^+ -Kanäle sowie Na^+ -Kanäle unter "normalen Bedingungen" für das Ruhemembranpotential?

Erklärung:

5) Stellen Sie alle Werte zurück (Restore)! Geben Sie dann für extrazelluläres K^+ folgende Werte ein (in mM): 1, 5, 10, 50, 100. Lesen Sie jeweils das K^+ -Gleichgewichtspotential und das Ruhemembranpotential ab und tragen Sie beides in folgendes Koordinatensystem ein (z.B. mit verschiedenen Symbolen) und verbinden Sie die zusammengehörigen Messwerte (Abb. 4).

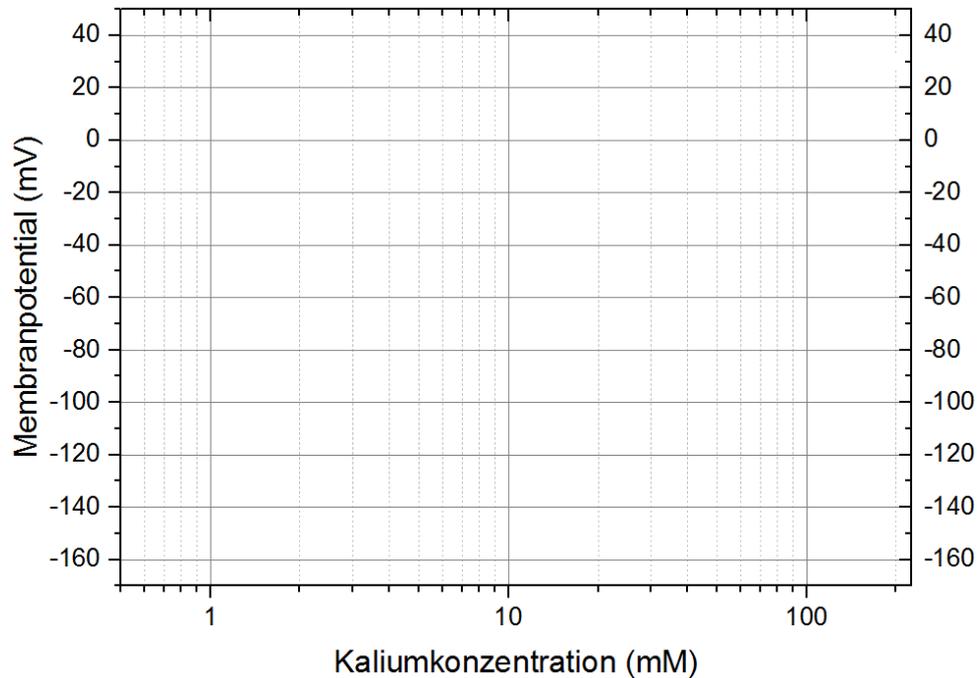


Abb. 4. Abhängigkeit des K^+ -Gleichgewichtspotentials und des Membranpotentials von der extrazellulären K^+ -Konzentration.

Welche Auswirkung hat die Erhöhung der extrazellulären K^+ -Konzentration auf das K^+ -Gleichgewichtspotential?

... und auf das Ruhemembranpotential einer Nervenzelle? Warum?

Antwort:

Welche mathematische Abhängigkeit besteht zwischen der extrazellulären K^+ -Konzentration und dem Ruhemembranpotential (Skalierung beachten!)?

Antwort:

Lesson 2: Zeitkonstante

Die Zeitkonstante gibt an, wie lange eine Membranpotentialänderung (z.B. eine synaptische Erregung oder Inhibition) andauert. Sie ist größtenteils vom Widerstand der Zellmembran abhängig. Öffnen Sie "Lesson 2".

"Lesson" – "Lesson 2"

In diesem Fenster können Sie den Membranwiderstand, die Größe einer Stimulation sowie Anzahl und Abstand wiederholter Stimuli einstellen. Im Graphen sehen Sie den zeitlichen Verlauf einer Depolarisation in einem Dendriten (gelb) sowie die Schwelle (Threshold) zum Feuern von Aktionspotentialen.

Aufgabe: 1) Da wir synaptische Ereignisse simulieren wollen, **stellen Sie das Feld "Stimulus" auf "Synaptic Potential"**. Es werden im folgenden zwei Möglichkeiten untersucht, die Feuerschwelle zu erreichen.

2) Simulieren Sie eine verstärkte Transmitterausschüttung. Erhöhen Sie hierzu die Größe der synaptischen Erregung (Stimulus – Amplitude), bis der Schwellenwert erreicht wird, also die gelbe Linie die magentafarbene Linie berührt (es wird kein Aktionspotential graphisch dargestellt!).

3) Stellen Sie die Amplitude zurück. Simulieren Sie eine zeitliche Summation. Erhöhen Sie hierzu die Anzahl an Stimuli (Stimulus train – Number of stimuli) auf 2, dann auf 3.

4) Lassen Sie den Wert auf 3 stehen. Nun verringern Sie den Membranwiderstand/Membrane resistance (Öffnen von Leckleitfähigkeiten wie unspezifischen Ionenkanälen) auf 8 kOhm. Wie wirkt sich der verringerte Membranwiderstand auf die zeitliche Summation aus? Warum?

Antwort:

4) Verkürzen Sie den Abstand zwischen den Stimuli (Stimulus train – Period) auf 2 ms. Was geschieht?

Antwort:

Lesson 3: Längskonstante

Die Längskonstante gibt an, wie weit sich eine Membranpotentialänderung entlang eines Dendriten oder eines Axons passiv (d.h. ohne Generierung eines Aktionspotentials) fortpflanzt. Die Längskonstante ist abhängig vom Membranwiderstand, dem elektrischen Widerstand des Cytosols und dem Durchmesser des Dendriten oder Axons. Öffnen Sie "Lesson 3".

"Lesson" – "Lesson 3"

Beachten Sie, dass hier die X-Achse Entfernungen, nicht Zeit wiedergibt!

Aufgabe: 1) Stellen Sie zunächst den **Stimulus auf "Synaptic Potential"** und die Amplitude auf 10 pA. Der elektrische Widerstand des Cytosols (Internal Resistivity) ändert sich üblicherweise in einer Zelle nicht deutlich und wird während der "Untersuchung" konstant gelassen.

2) Erhöhen Sie den Membranwiderstand auf Werte von 10, 15, 20 kOhm.

Wie wirkt sich die Erhöhung des Membranwiderstandes (Schließen von unspezifischen Ionenkanälen) auf die Ausbreitung der synaptischen Erregung aus (betrachten Sie, welcher Membranpotentialwert bei -500 μm erreicht wird)? Warum? Angenommen, der Axonhügel läge bei -500 μm und der Schwellenwert zum Auslösen eines Aktionspotentials bei -60 mV, welchen Unterschied würde das Schließen von Ionenkanälen im Dendriten (z.B. von 5 kOhm auf 20 kOhm) machen.

Antwort:

2) Vergrößern Sie den Durchmesser des Dendriten (1 μm). Wie wirkt sich die Erhöhung des Durchmessers auf die Ausbreitung des Signals aus? Warum?

Antwort:

Lesson 4: Aktionspotential

Viele Faktoren bestimmen, ob durch eine Erregung ein Aktionspotential ausgelöst wird und welche Form das Aktionspotential hat. Dies ist entscheidend für die Informationsverarbeitung im Gehirn. Ohne Aktionspotentiale fehlt die Grundlage der Information. Aber auch die Form des Aktionspotentials ist von Bedeutung; so führt ein großes, lang anhaltendes Aktionspotential beim Einlaufen in die präsynaptische Endigung zu einer stärkeren Transmitterausschüttung als kleine, kurze Aktionspotentiale. Öffnen Sie "Lesson 4".

"Lesson" – "Lesson 4"

Aufgaben:

1) Erhöhen Sie die Stimulationsstärke (Stimulus 1 – Amplitude) auf 100 μA . Warum wird dadurch das Aktionspotential nicht größer?

Antwort:

2) Es sollen zwei Aktionspotentiale mit unterschiedlicher K^+ -Leitfähigkeit verglichen werden. Um dies anschaulich darzustellen, verwenden Sie die "Range"-Funktion des Programms. Hierzu wird das rechte Kontrollkästchen hinter der Einstellung für die Membranleitfähigkeit für K^+ (gK max) auf "RANGE" gestellt (Abb. 5). Im Messfenster werden nun viele Aktionspotentiale bei unterschiedlichen Membranleitfähigkeit für K^+ abgebildet. Um nur zwei Aktionspotentiale darzustellen, nämlich bei gK max von 30 mS (Milli-Siemens) und 70 mS, muss der "RANGE" neu definiert werden. Hierzu wird "Begin value" auf 30 und "End value" auf 70 sowie das "Increment" auf 40 gesetzt. Hinweis: Wenn Sie wissen wollen, welches der beiden dargestellten Aktionspotentiale zu 30 bzw. 70 mS gK max gehört, wechseln Sie zwischen der Anzeige mit und ohne "RANGE" hin und her (Häkchen weg klicken).

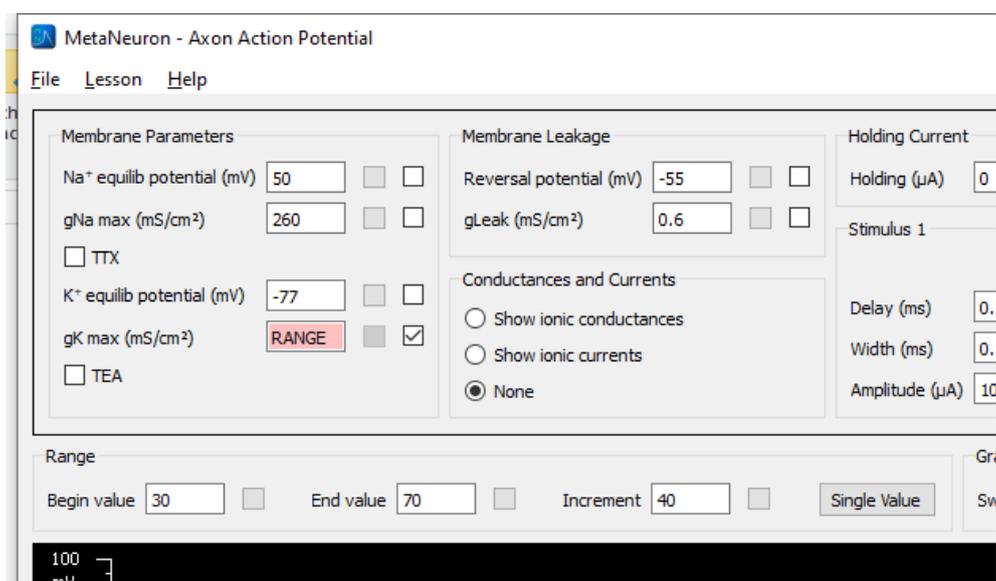


Abb. 5. Definieren von "Range" für die K^+ -Leitfähigkeit (gK max).

Aufgabe:

Wie wirkt sich die K^+ -Leitfähigkeit auf die Dauer des Aktionspotentials und auf die Nachhyperpolarisation aus?

Antwort:

3) Schalten Sie "RANGE" aus (gK max soll 70 mS sein). Fügen Sie einen zweiten Stimulus hinzu (Stimulus 2 – On) und verlängern Sie die Zeitachse (Graph – Sweep duration) auf 20 ms (Millisekunde). Erhöhen Sie den Abstand zwischen den beiden Pulsen (Stimulus 2 – Delay) in Schritten von 1 ms. Wie groß muss der Abstand sein, damit ein zweites Aktionspotential ausgelöst wird?

Antwort:

4) Verringern Sie den zeitlichen Abstand zwischen den beiden Pulsen wieder um 1 ms, so dass gerade eben kein zweites Aktionspotential ausgelöst wird. Erhöhen Sie die Amplitude des zweiten Stimulationspulses auf 100 μ A. Was passiert? Warum?

Antwort:

5) Stellen Sie die Amplitude des zweiten Stimulus zurück auf 65 μA . Stellen Sie jetzt wieder "RANGE" für die Membranleitfähigkeit für K^+ ein, diesmal von 50 bis 70 mS, Increment 20. Was passiert beim Schließen von Kaliumkanälen (also bei 50 mS im Vergleich zu 70 mS)? Wie erklären Sie sich das Ergebnis (Nachhyperpolarisation und Schwellenwert beachten)? Welche Funktion besitzen Kaliumkanäle folglich zusätzlich zur Repolarisation?

Antwort:

6) Schalten Sie "RANGE" sowie den zweiten Puls aus, erhöhen Sie die Zeitachse auf 50 ms und verringern Sie die Membranleitfähigkeit für K^+ (gK max) auf 40 mS (weitere Kaliumkanäle werden geschlossen). Was passiert? Wie erklären Sie das Ergebnis? Nehmen Sie zur Erklärung Ihre Überlegungen zu Lesson 1, Aufgabe 3 zur Hilfe (wie wirkt sich das Schließen von Kaliumkanälen auf das Ruhemembranpotential aus?) und überlegen Sie, wo der Schwellenwert liegt.

Antwort:

Versuch 2: Elektrische Stimulation zur Bestimmung der Fortleitungsgeschwindigkeit von Aktionspotentialen

Warnung! Elektrische Reizung von Nerven sollte nur an **freiwilligen Probanden** vorgenommen werden. Die Probanden dürfen **keine Herzschrittmacher** oder sonstige durch elektrische Felder beeinflussbare Geräte tragen. Uhren und Schmuck sind abzulegen! Die Reizung verursacht ein leichtes, eventuell unangenehmes Kribbeln, das jedoch mit Gewöhnung leicht zu akzeptieren ist. Die Geräte sind erdfrei ausgelegt, für den Einsatz beim Menschen speziell angepasst und daher unbedenklich.

a) Erlernen der elektrischen Stimulation mit gleichzeitiger EMG Ableitung

Lernziel:

Eine elektrische Stimulation von Motoneuronen in Nervenbahnen kann eine Muskelaktivität auslösen, die man über ein Elektromyogram messen kann. Im ersten Versuchsteil soll die gleichzeitige elektrische Stimulation und EMG Messung erlernt und optimiert werden.

Versuchsdurchführung:

Anschließen der Elektroden am Daumenmuskel (*Abductor pollicis brevis*)

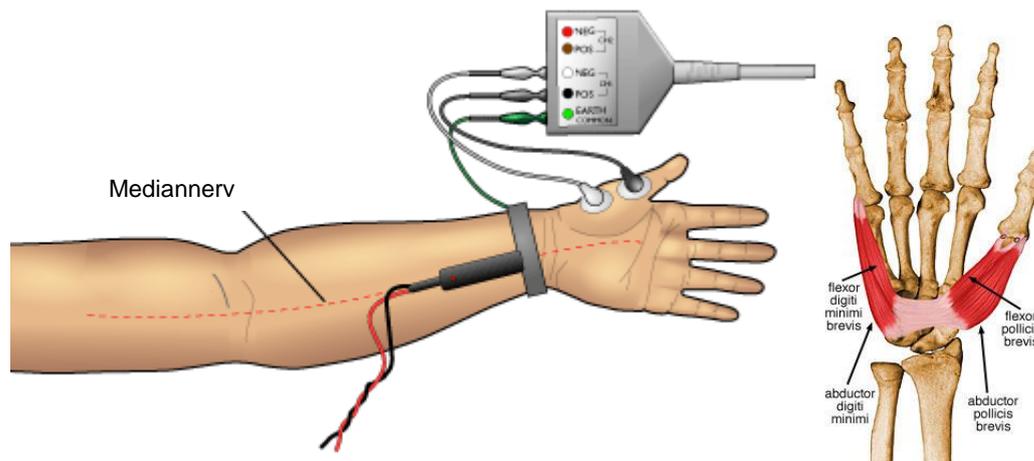


Abb. 4: Reizung des Medianernerven und EMG-Ableitung am Abductorpollicisbrevis-Muskel des Daumens

- Kleben Sie zwei Snap-on ECG Einmalelektroden (Druckknopf) auf den Daumenmuskel (siehe Abb. 4). Sie sollten sich beide auf dem Muskel befinden, einander jedoch nicht berühren (2-3 cm entfernt). Bei Bedarf bitte Klebeflächen der Einmalelektroden kleiner schneiden. Verbinden Sie die Kabel mit dem Adapter und diesen mit dem PowerLab (Bio Amp).

Starten der Software

- Doppelklick auf die Datei: **stimuli_05.adiset**
- Kanal 1: integriertes Signal des Daumen-EMG
- Kanal 2: elektrischer Reiz/Stimulation
- Kanal 3: Daumen-EMG

Abbildung 5 zeigt das Messfenster.

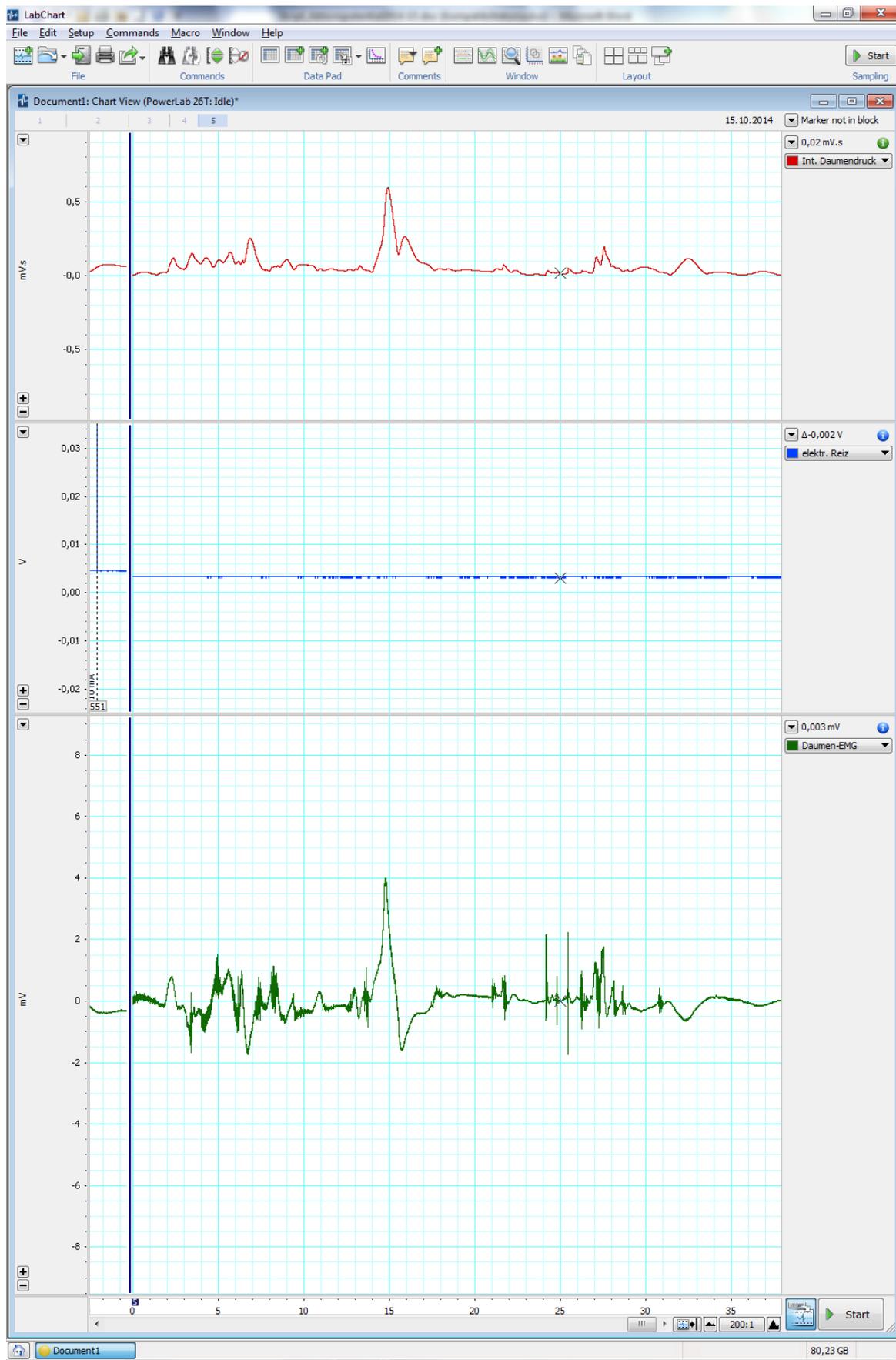


Abb. 5: Messfenster in LabChart.

Messen des Daumen-EMG

- Bewegen Sie den Daumen und beobachten Sie gleichzeitig die EMG-Ableitung. Das Signal-Rausch-Verhältnis zwischen Ruhe und Aktivität sollte größer als 2-3 liegen. Falls Sie die Muskelbewegung im EMG nicht auflösen können, oder das Signal zu klein ist, optimieren Sie die Lage der Ableitelektroden und die Messbereichseinstellung.

Stimulation des Mediannervens

- Die Reiz-/Stimulationselektrode (schwarze Leiste mit 2 Metallknöpfen) wird mit dem erdfreien isolierten Stimulatoreingang des PowerLabs verbunden: rot nach rot (positiv) und schwarz nach schwarz (negativ)

- Die Reizelektrode soll entlang dem zu reizenden Nerven ausgerichtet werden, das heißt die positive Elektrode (roter Punkt) sollte in Richtung des Ellenbogens ausgerichtet sein.

- Die Reizdauer, die Reizamplitude und die zeitliche Abfolge der Reize werden über das Stimulator Fenster in LabChart (im Hauptmenü unter „Setup“ und „Stimulator Panel“) gesteuert.

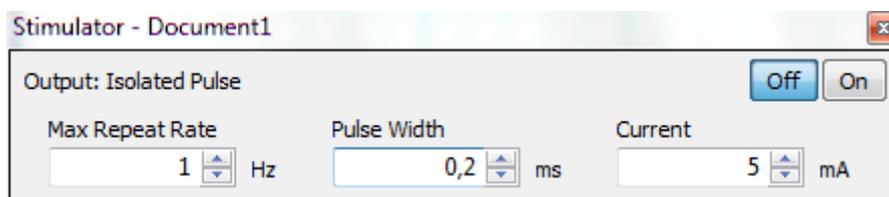


Abb. 6: Stimulator Panel. Wiederholungsrate: 1 Puls je s (Hz); Pulsdauer: 0,2 ms; Reizstromstärke: 5 mA.

- Um die Aufnahme zu beginnen drücken Sie „Start“ (oben rechts) und danach im Stimulatorfenster „On“.

- Der Proband legt den Unterarm entspannt auf die Tischplatte. Schalten Sie den Stimulator mit dem ON-Schalter auf dem PowerLab ein und erhöhen Sie ausgehend von einer Reizstärke 5 mA die Reizstärke um jeweils 1 mA, bis der Muskel kontrahiert. Meistens wird ein Daumenzucken erst ab einer Reizstärke von ca. 5-10 mA hervorgerufen. Bei manchen Probanden erzeugt schon eine Reizintensität von 3 mA eine Muskelzuckung (höhere Reizstärken sind dann oft unangenehm), bei anderen wird eine Reizstärke von bis zu 15 mA benötigt, um eine Daumenbewegung auszulösen. Man muss daher oft etwas länger probieren, bis die optimale Lage der Reizelektrode und die optimale Reizstärke für eine Kontraktion des Daumenmuskels gefunden wird.

- Beenden Sie die Aufnahme durch Drücken von "Stop".

- Bestimmen Sie den Zeitabstand in Sekunden zwischen Stimulation und Kontraktion des Muskels (Latenz) im "Zoom View".

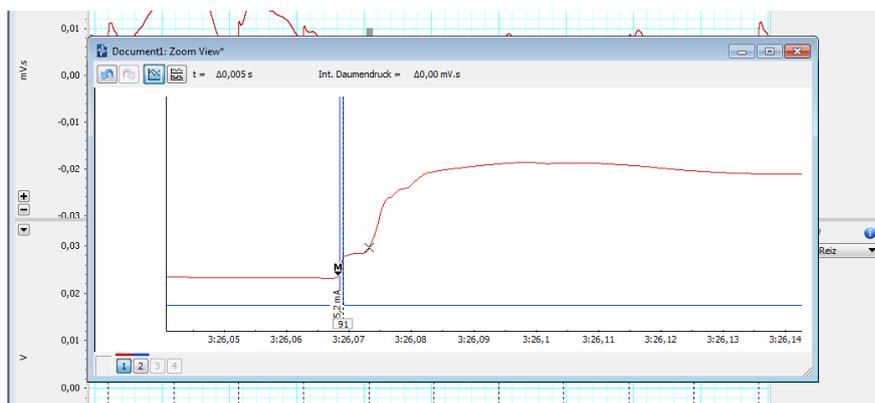


Abb. 7: Ausmessen der Latenz im Fenster "Zoom View".

- Reduzieren Sie die Reizstromstärke auf 5 mA. Stimulieren Sie unter der Achsel, bis der Daumenmuskel zuckt. Die richtige Position der Stimulationselektrode muss üblicherweise durch Ausprobieren gesucht werden. Dies macht der Proband am besten selbst. Achtung! Da hier viele Nerven entlang laufen, werden mehrere Muskeln zucken. Dies stört nicht, solange der Daumenmuskel ebenfalls zuckt und ein Signal gemessen werden kann.
- Beenden Sie die Aufnahme durch Drücken von "Stop". **Speichern Sie ihre Daten durch "File - Save as".**
- Bestimmen Sie erneut den Zeitabstand in ms zwischen Stimulation und Kontraktion des Muskels im "Zoom View".
- Messen Sie den Abstand in Meter zwischen den beiden Reizstellen (Achsel, Handgelenk).
- Errechnen Sie daraus die Geschwindigkeit, mit der ein Aktionspotential entlang dieses Nervs fortgeleitet wird.

Auswertung:

Latenz 1 (Handgelenk – Daumenmuskel): _____ s

Latenz 2 (Achsel – Daumenmuskel): _____ s

Zeit Achsel – Handgelenk: _____ s

Strecke Achsel – Handgelenk: _____ m

Geschwindigkeit des Aktionspotentials: _____ m/s

Name Student: _____

Unterschrift Kursleiter: _____

Protokoll: Speichern Sie ihre Daten aus dem zweiten Kursteil sowie die Installationsdateien von LabChart Reader und MetaNeuron auf einen USB-Stick. Wiederholen Sie zuhause die Auswertung von Versuch 1, Lesson 4 (Lesson 1-3 müssen nicht ins Protokoll aufgenommen werden) sowie Versuch 2 auf einem privaten Rechner (falls nicht vorhanden, bitte melden) und fertigen Sie "Screenshots" (durch Drücken der Kombination "Alt + Druck") von wichtigen Schritten an. Binden Sie die Screenshots mit Abbildungslegenden an geeigneter Stelle in das Protokoll ein. Sollte die Abbildungsbeschriftung (z.B. Achsenbeschriftung) zu klein sein, müssen diese im Word-Programm nachträglich in lesbarer Größe eingefügt werden.

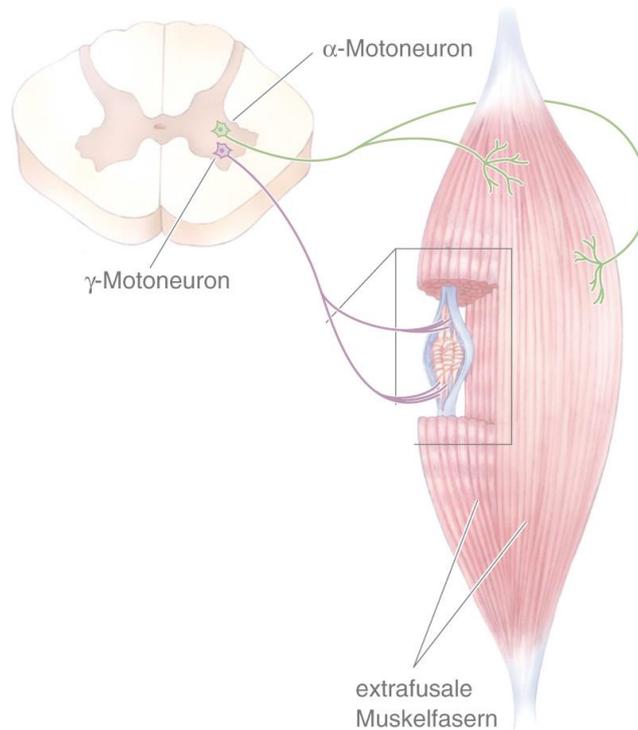
Beachten Sie auch die allgemeinen Hinweise zum Anfertigen des Protokolls auf den ersten Seiten des Skripts und das Musterprotokoll!

Skript Praktikum Tierphysiologie

Muskel

Dr. Daniela Hirnet (daniela.hirnet@uni-hamburg.de)
Dr. Natalie Rotermund (natalie.rotermund@uni-hamburg.de)
Dr. Kristina Schulz (kristina.schulz@uni-hamburg.de)

Bitte USB-Stick und kurze Hose (Sporthose) mitbringen!



Einleitung

Muskeln dienen der Bewegung, sei es der Fortbewegung oder der Motorik der inneren Organe. Man findet sie bei allen echten mehrzelligen Tieren (Eumetazoa). Bei Vertebraten wie dem Menschen werden **drei Muskeltypen** unterschieden, die Skelettmuskulatur, die Herzmuskulatur und die glatte Muskulatur, die der Kontraktion und Peristaltik innerer Organe wie Darm, Harnblase und Arterien dient. Der heutige Kurstag beschäftigt sich ausschließlich mit der Skelettmuskulatur.

Aufbau der Skelettmuskulatur

Muskeln sind aus **Muskelfasern** aufgebaut (Abb. 1). Diese sind langgestreckte Muskelzellen mit einer Vielzahl an Zellkernen, da sie während der Embryonalentwicklung aus der Verschmelzung vieler embryonaler Muskelzellen (Embryoblasten) hervorgegangen sind. Mehrere Muskelfasern werden von einer Bindegewebsschicht zusammengehalten und bilden ein Muskelfaserbündel. Jeder Muskel besteht aus mehreren Muskelfaserbündeln und ist über endständige **Sehnen** am Knochen befestigt.

Im Inneren der Muskelfasern befinden sich fadenartige Strukturen, Myofibrillen genannt, die die gesamte Muskelfaser der Länge nach durchspannen. Myofibrillen bestehen aus regelmäßig angeordneten **dünnen Actin- und dickeren Myosinfilamenten**, wobei jedes Myosinfilament von 6 Actinfilamenten, jedes Actinfilament von 3 Myosinfilamenten umgeben ist (Abb. 1). Actinfilamente sind an einem Ende an sog. Z-Scheiben befestigt. Das andere Ende der Actinfilamente weist von den Z-Scheiben weg und überlappt (bei entspanntem Muskel) geringfügig mit den offenen Enden der Myosinfilamente, welche am gegenüberliegenden Ende an der sog. M-Linie anheften (Abb. 1). Der Bereich zwischen zwei Z-Scheiben wird **Sarkomer** genannt.

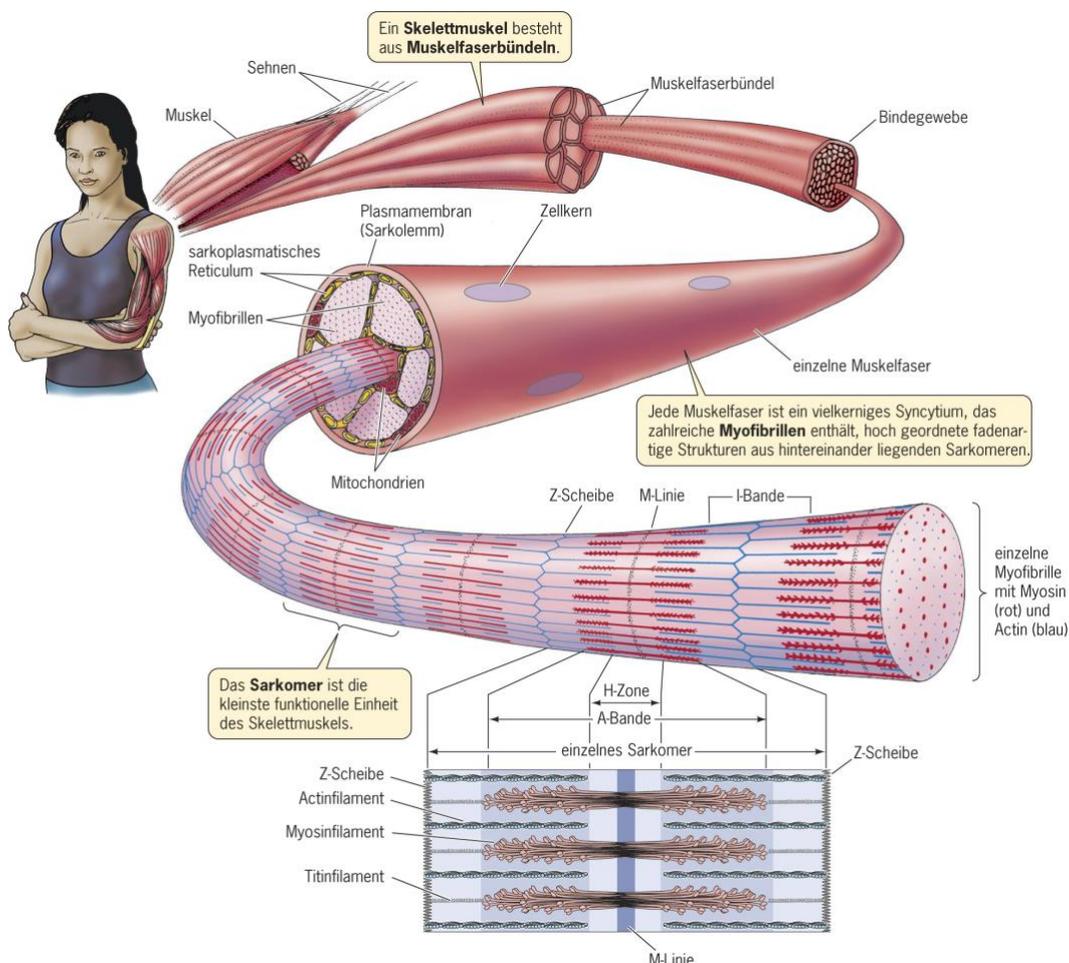
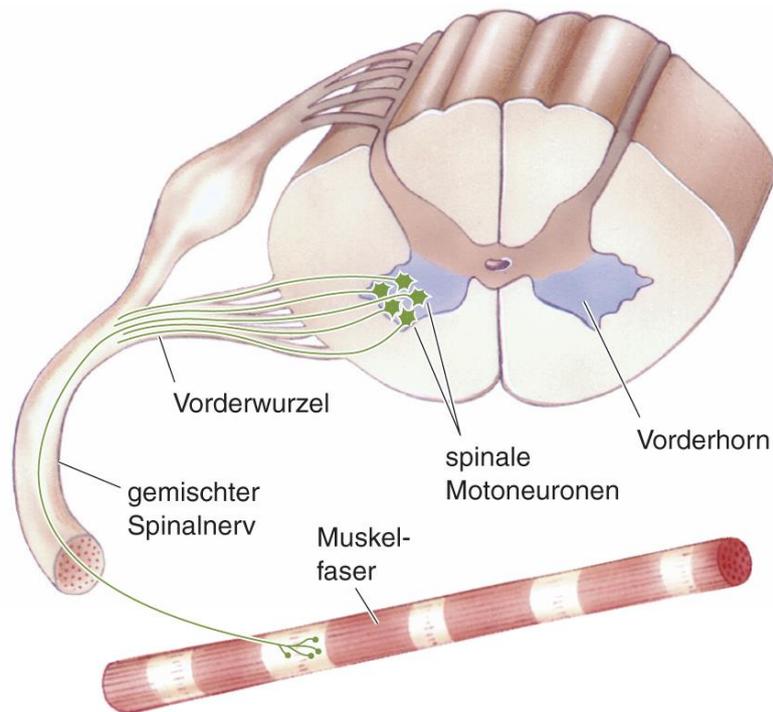


Abb. 1: Aufbau des Skelettmuskels. Details siehe Text. Aus Purves Biologie (2011).

Innervation der Skelettmuskulatur

Die Skelettmuskulatur der Säuger wird durch spinale **Motoneurone** in den Vorderhörnern des Rückenmarks innerviert (Abb. 2). Die Motoneurone entsenden ihr Axon durch die Vorderwurzel in den Spinalnerv, der die Axone bis zum Muskel leitet. Jede Muskelfaser wird nur von einem Motoneuron innerviert, wobei jedes Motoneuron durchaus mehrere Muskelfasern innervieren kann, die folglich immer synchron aktiviert werden. Alle Motoneurone, die einen Muskel innervieren, werden als "**Motoneuronenpool**" zusammengefasst.



Aus: Bear et al., *Neurowissenschaften*, 3. Aufl.
© Spektrum Akademischer Verlag GmbH 2009

Abb. 2: Innervation der Muskelfaser. Zellkörper der Motoneurone liegen in den Vorderhörnern des Rückenmarks. Die Axone der Motoneurone verlassen das Rückenmark durch die Vorderwurzeln und folgen dem Spinalnerv bis zum Muskel, wo sie synaptische Verbindungen, sog. motorische Endplatten, mit Muskelfasern ausbilden. Aus Bear et al. (2009).

Die Axone der Motoneurone gehen mit den Muskelfasern synaptische Verbindungen ein, die **motorische Endplatten** genannt werden (Abb. 3). Aktionspotentiale in den Axonen der Motoneurone führen an den Axonendigungen zur Ausschüttung des Neurotransmitters **Acetylcholin**. Dieses bindet an nikotinische Acetylcholin-Rezeptoren in der postsynaptischen Membran der Muskelfasern, wodurch diese depolarisiert und bei Überschreiten des Schwellenwertes ein Aktionspotential in der Muskelfaser ausgelöst wird. Dieses Aktionspotential bewirkt eine kurze Kontraktion der Muskelfaser, ein Muskelzucken. Durch kurz aufeinander folgende Aktionspotentiale an derselben Muskelfaser (**zeitliche Summation**) oder gleichzeitig aktivierte benachbarte Muskelfasern desselben Muskels (**räumliche Summation bzw. Rekrutierung**) kann die Muskelkontraktion verstärkt werden.

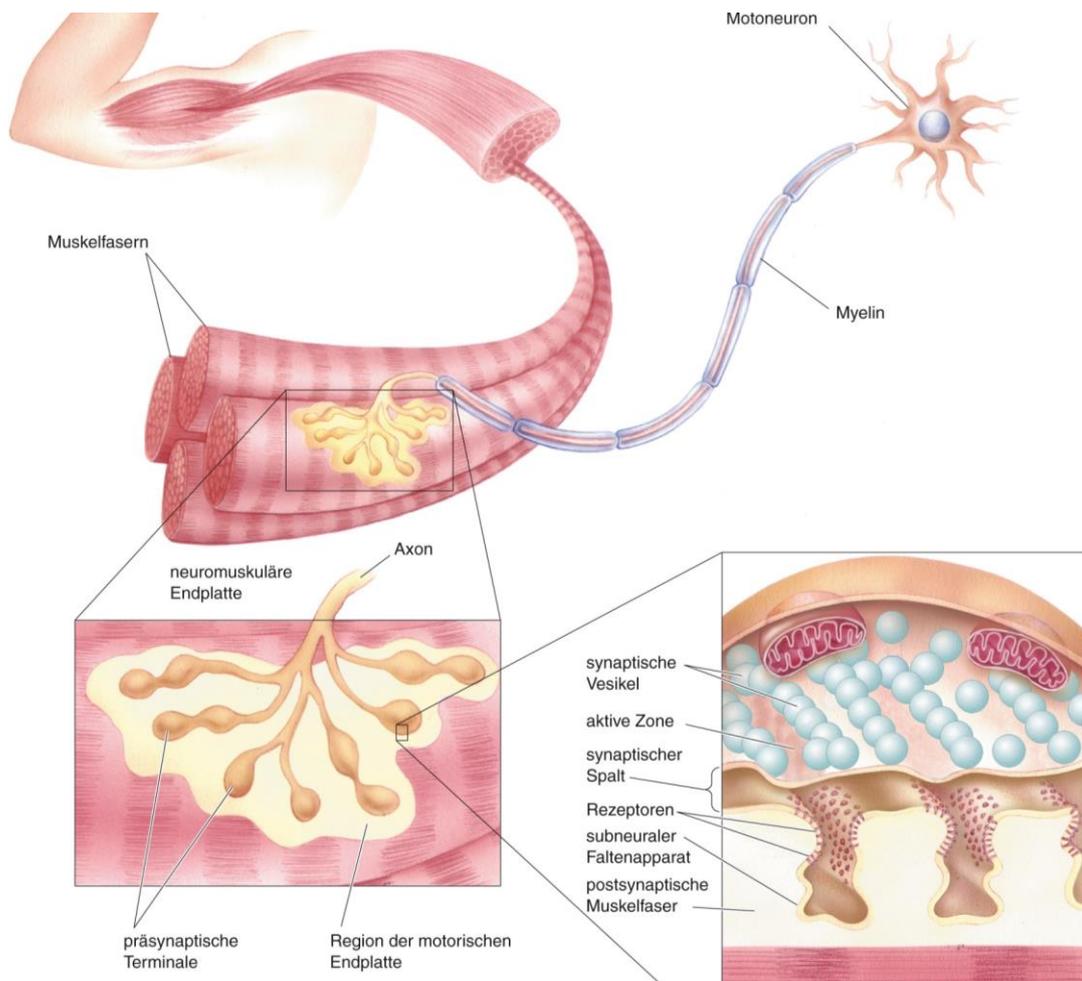


Abb. 3: Motorische Endplatte. Axonendigungen der Motoneurone bilden mit Muskelfasern synaptische Verbindungen aus, die motorische Endplatte genannt werden. In den präsynaptischen Terminalen befindet sich eine große Anzahl an synaptischer Vesikel, deren Inhalt (Acetylcholin) bei einem Aktionspotential in den synaptischen Spalt ausgeschüttet wird. Acetylcholin bindet an Rezeptoren der postsynaptischen Muskelfasermembran, die zur Oberflächenvergrößerung eingefaltet ist. Aus Bear et al. (2009).

Muskelkontraktion

Wird in der Muskelfaser ein Aktionspotential ausgelöst, so breitet sich dieses von der motorischen Endplatte über die gesamte Membran der Muskelfaser aus und gelangt letztendlich über T-Tubuli (schlauchartige Membraneinstülpungen) ins Innere der Muskelfaser (Abb. 4). Dort bewirkt das Aktionspotential die Freisetzung von Ca^{2+} aus dem **sarkoplasmatischen Retikulum**, einer muskeltypischen Sonderform des endoplasmatischen Retikulums. Ca^{2+} bindet an Troponin C, welches den Actinfilamenten aufliegt und dadurch die Bindung von Myosinfilamenten verhindert. Durch das Binden von Ca^{2+} werden die Myosinbindestellen der Actinfilamente freigegeben und Myosinfilamente binden durch Bildung einer Querbrücke an Actinfilamente (Abb. 4). Unter ATP-Verbrauch rotiert der an Actin gebundene Myosinkopf und zieht dadurch das Actinfilament zu sich heran; Actin- und Myosinfilamente gleiten ineinander, die Sarkomere und damit der Muskel verkürzen sich. Nach Beendigung des Aktionspotentials wird Ca^{2+} wieder ins sarkoplasmatische Retikulum transportiert, die Myosinköpfe lösen sich vom Actinfilament und der Muskel erschlafft. Da die Myosinköpfe nur in eine Richtung aktiv rotieren können und sich folglich **Muskeln nicht aktiv dehnen bzw. strecken können**, bedarf es allerdings eines Gegenspielers, um den Muskel wieder in seine Ausgangslänge zu bringen. So dehnt beispielsweise der **Trizeps** (Oberarmstrecker) den zuvor kontrahierten **Bizeps** (Oberarmbeuger) und umgekehrt.

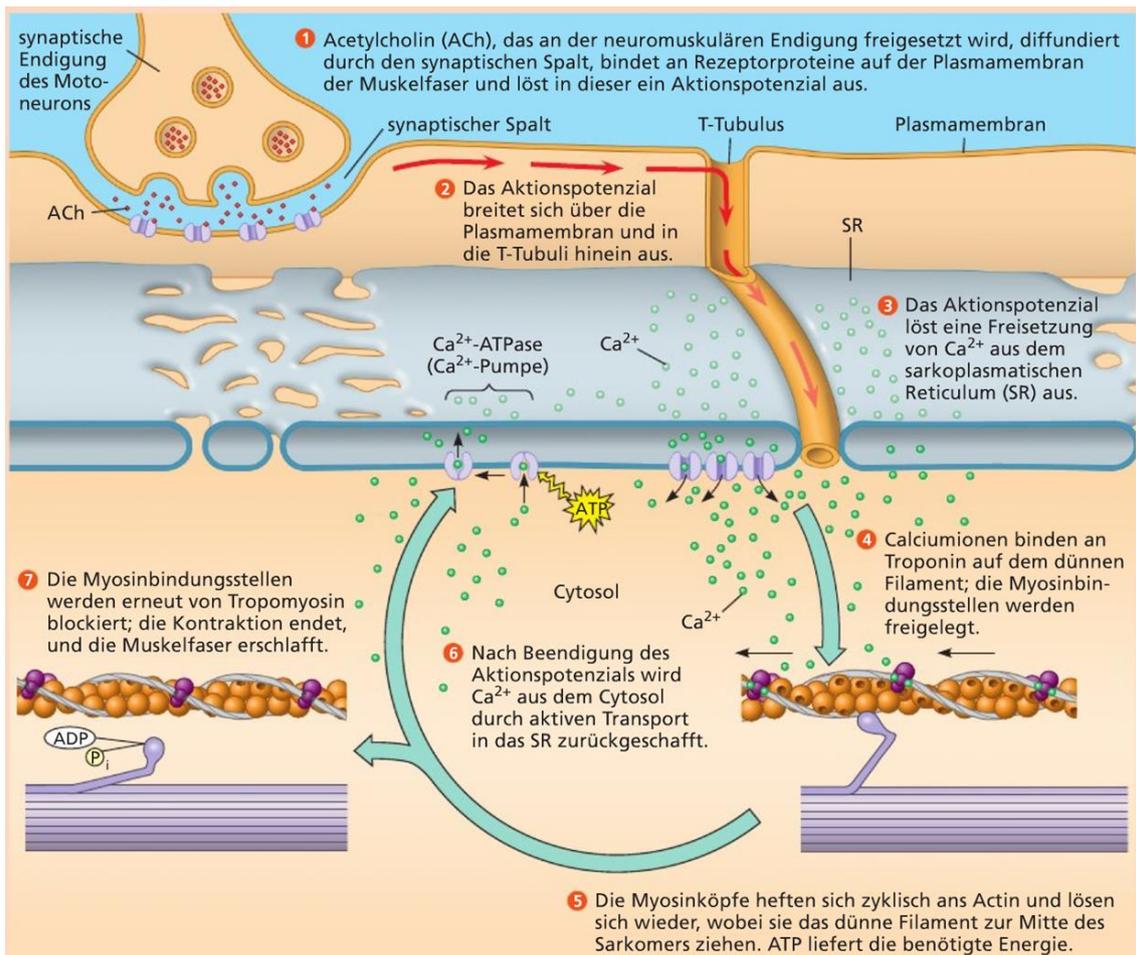


Abb. 4: Wechselwirkung von Actin und Myosin löst Muskelkontraktion aus. Erläuterung siehe Bildbeschriftung. Aus Campbell und Reece (2009).

Literatur zur Vorbereitung / Lernziele:

Informieren Sie sich über die fett gedruckten Begriffe. Sie können folgende Literatur zur Hilfe nehmen:

Literatur:

- Ausgewählte Kapitel über Muskelaufbau und Funktion, z.B. in
- Campbell NA, Reece JB: Biologie (8. Auflage 2009), Kapitel 49.1 (Neuronenschaltkreise), 50.5 (Muskelkontraktion) und 50.6. (Muskel und Bewegung)
 - Purves: Biologie (9. Auflage 2011), Kapitel 47.1 (Nervensystem der Säuger) und 48 (Muskel und Skelette).
 - Müller WA, Frings S: Tier- und Humanphysiologie (3. Auflage 2007), Kapitel 16.
 - Moyes CD, Schulte PM: Tierphysiologie (Bafög-Ausgabe 2010), Kapitel 6.3. (Muskeln: Aufbau und Regulation)

Lernziele:

- Elektromotorische Kopplung
- Querbrückenzyklus der Muskelkontraktion
- Muskelermüdung
- Kontraktionsvarianten
- Reflexe

Material und Methode:

Überprüfen Sie die Teile der apparativen Ausstattung auf Vollständigkeit und machen Sie sich mit den Geräten vertraut:

Apparative Ausstattung (siehe Abbildung):

- 1 Rechnerystem (PC mit Bildschirm, Tastatur, Maus und USB-Anschluss)
- 2 Powerlab 26T (mit Bio-Verstärker und BioAmp-Anschlussstecker; Vorder- und Rückansicht)
- 3 LabChart Software (Vers. 7.0) auf Windows Basis
- 4 BioAmplifier-Anschluss Kabel (5 Kanäle)
- 5 ECG/EMG Snap-on Kabel (5 Stück)
- 6 Snap-on ECG Elektroden (MLA1010; 4-6 Stück, einmal verwendbar)
- 7 Dynamometer/Kraftmesser (MLT003/D)
- 8 Fingerpulstransducer (MLT1010)
- 9 Reiz-/Stimulationselektrode (Leistentyp) (MLADDF30)
- 10 Erdungsarmband (MLAYDG)
- 11 Reflexhammer (MLA93, wird mit Nachbarapparatur geteilt) mit Adapter
- 12 Elektrodenpaste (MLA1095, Ten20 conductive)
- 13 Alkohol-Tupfer (MLA1094; Skin-cleaning Swaps, einmal verwendbar)



Einsatz des Computerprogramm:

- Schalten Sie **zuerst** den PowerLab-Verstärker an (hinten links)
- Starten Sie **erst dann** den Computer
- Starten Sie nun das Programm LabChart vom Desktop aus (falls das Programm den Verstärker nicht gleich erkennt und eine Fehlermeldung anzeigt, bitte das Starten des Programms mehrmals hintereinander wiederholen!)
- Laden Sie die jeweils die bei den Experimenten erwähnte LabChart Datei aus dem Ordner „Muskel“ auf dem Desktop in das Programm.
- Bereits beim Aktionspotential-Versuch wurde die eingesetzte Computersoftware LabChart vorgestellt und verwendet. Bitte rufen Sie sich die Funktionen von Labchart in Erinnerung.

Versuche:

Versuch 1: Elektromyogramm (EMG) von Bizeps und Trizeps

a) Erlernen der EMG Ableitung

Lernziel:

EMGs können oberflächlich, unmittelbar über den aktiven Muskeln mittels Elektroden auf der Haut abgeleitet werden. Gemessen wird die elektrische Aktivität der rekrutierten Muskelfasern. Je nach Positionierung der Elektroden können große Signalunterschiede bei gleicher Muskelaktivität vorhanden sein. Im ersten Versuchsteil sollen die Messprinzipien der EMG-Messung und deren Optimierung erlernt werden.

Versuchsdurchführung:

Anschließen der Elektroden an Biceps und Triceps (Abb. 5)

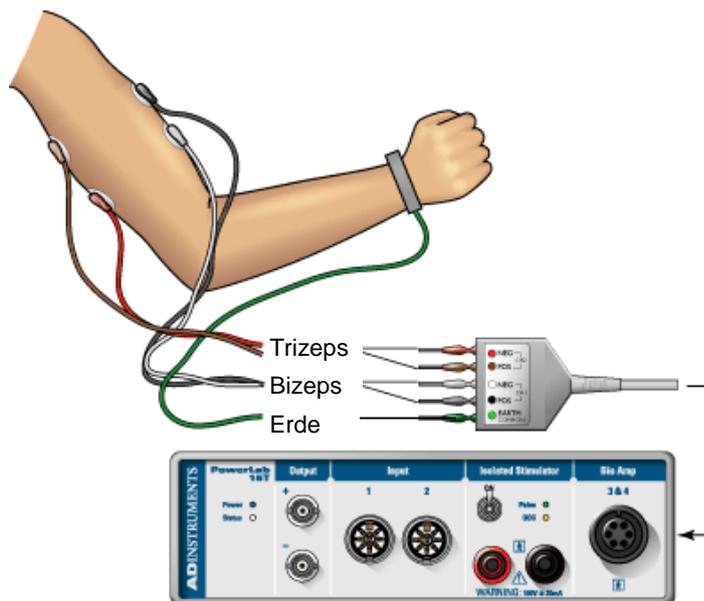


Abb. 5: Geräteaufbau für EMG Experimente, hier am Beispiel einer EMG-Ableitung an Biceps und Triceps.

- Verbinden Sie das BioAmplifier-Anschluss Kabel (5 Kanäle) mit dem BioAmp Ausgang des PowerLabs
- Verbinden Sie die ECG/EMG Snap-on Kabel (5 Stück) mit dem BioAmplifier-Anschluss Kabel (5 Kanäle)
- Verbinden Sie die oberen 4 der ECG/EMG Snap-on Kabel mit Snap-on ECG Einmalelektroden (Druckknopf)
- Ziehen Sie die Schutzfolie von den Einmalelektroden und befestigen Sie 2 davon (Abstand ca. 5 cm) am Oberarm am Biceps (Beuger; weiss und schwarz) und 2 am Triceps (Strecker; rot und braun) (falls nötig reinigen Sie die Hautstellen vorher mit einem Alkohol-Tupfer)
- Verbinden Sie das 5. ECG/EMG Snap-on Kabel (grün) mit dem Erdungsarmband und befestigen Sie dieses mit dem Klettverschluss am Handgelenk (frei von Uhr, Armband,...).
- Achten Sie auf gute Kontakte!

Starten der Software

- Laden Sie in LabChart die Datei: **Desktop/Muskel/EMG_Kraft_new.adiset**

Auf dem Schirm sollten nach kurzer Zeit erscheinen:

- Kanal 1: Dynamometer (nur für Versuch b und c wichtig)
- Kanal 2 und 3: Rohdaten des Biceps und Triceps-EMGs
- Kanal 4 und 5: integriertes Signal von Biceps und Triceps

Messen des EMG-Signals

- Drücken Sie auf den Start Knopf
- Spannen Sie Ihren Biceps und Triceps abwechselnd durch versuchtes Beugen und Strecken des Arms an, halten aber dabei mit der anderen Hand dagegen (alternativ: Arm mit Elektroden abwechselnd aktiv an Schulter pressen und aktiv überstrecken versuchen).

Speichern Sie die Aufnahme (File - Save as)

Datenanalyse: Beobachten Sie das gemessene Rohsignal auf Kanal 2 und 3. Kontrollieren Sie auf welchem Kanal Sie das Triceps bzw. das Biceps-Signal aufnehmen. Um die Amplituden verschiedener EMGs zu vergleichen wird oft das gleichgerichtete und mit einer bestimmten Zeitkonstante integrierte Signal bestimmt. Auf Kanal 4 und 5 wird das gleichgerichtete und integrierte Signal (Zeitkonstante: 0.1 s) aufgenommen.

- **Anpassen des Messbereichs:** Passen Sie als nächstes in den 4 Kanälen den Messbereich so an, dass ein maximales Signal **auf keinen Fall** den Messbereich überschreitet. Das Signal sollte aber für eine bessere Auflösung der Messwerte einen möglichst großen Bereich (1/2 bis 2/3 des Fensters) umfassen.

- **Verbesserung der Ableitung:** Der Messwert des Signals sollte bei Aktivität mindestens doppelt so groß sein wie Messwerte der Grundlinie (Signal ohne Muskelaktivität). Nur so lassen sich die gemessenen Signale vernünftig vom Rauschen unterscheiden (gutes Signal-Rausch Verhältnis). Falls das Signal-Rausch-Verhältnis zu schlecht ist, überprüfen Sie als erstes die Lage und Haftung der Elektroden. Verändern Sie diese so lange, bis Sie ein ausreichend großes Rohsignal erhalten. Das gleiche gilt auch für das integrierte Signal. Sollte sich das Signal-Rausch-Verhältnis durch diese Maßnahme nicht verbessern, ziehen Sie einen Assistenten zu Rate.

DIESE PUNKTE MÜSSEN VOR JEDER EMG-MESSUNG BEACHTET WERDEN!!!

Bitte führen Sie für die Versuchsteile b und c mit dem gleichen Probanden durch und belassen Sie die Elektroden an den nun etablierten Hautstellen kleben!!!

b) Kraftentwicklung und Muskelaktivität

Lernziel:

Während einer Muskelkontraktion werden Muskelfasern aktiviert, deren Muskelpotentiale sich zu einem Elektromyogramm (EMG) aufsummieren. Die EMG Aktivität ist proportional zur Kontraktionskraft, welche wiederum abhängig von der Aktivierungsrate der Muskelfasern und der Anzahl der rekrutierten Muskelfasern ist.

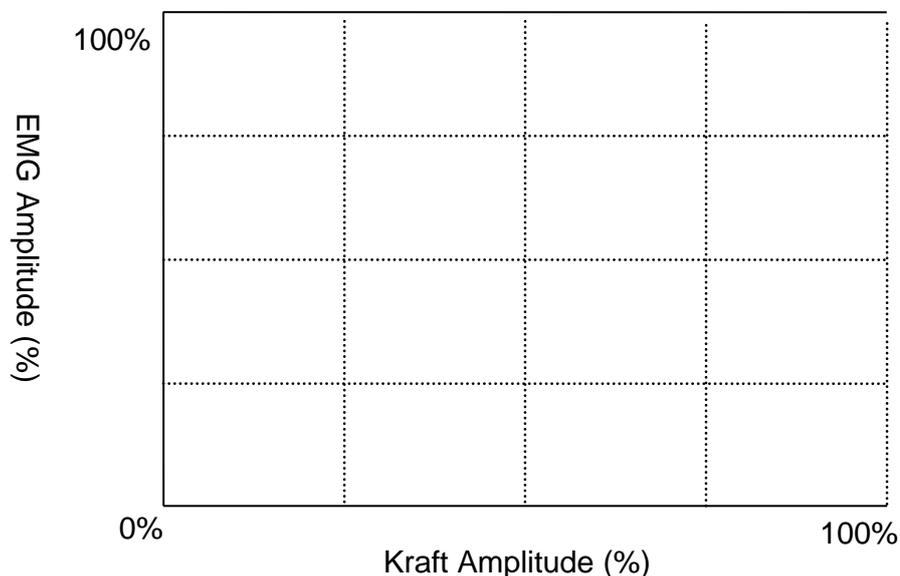
Versuchsdurchführung:

- Verwenden Sie den Aufbau und das LabChart Programm wie in a).
- Schließen Sie das Dynamometer (Kraftmesser) an den Input 1 Eingang des PowerLabs an und halten Sie ihn mit einer Hand von unten gegen die Tischplatte.
- Halten Sie das Dynamometer mit dem Handballen der anderen Hand von unten gegen die Tischplatte und stützen Sie den Ellbogen auf Ihr Knie oder Oberschenkel auf.
- Starten Sie die Aufnahme und drücken Sie das Dynamometer mit der flachen Hand langsam mit möglichst linear ansteigender Kraft bis hin zu maximaler Kraft nach oben gegen die Tischplatte. Verfolgen Sie dabei den Verlauf der Kraft auf dem Bildschirm.
- Lesen Sie die Kraft-Amplitude (Kanal 1) und die korrespondierende EMG-Amplitude bei maximaler Kraft (100%) und bei 75%, 50% und 25% der maximalen Kraft ab.
- Wiederholen Sie diesen Versuch dreimal und errechnen Sie die Durchschnittswerte

Speichern Sie die Aufnahme (File – Save as)

Datenanalyse: Vergleichen sie die Amplitude des EMG gegenüber der Kraftentwicklung am Dynamometer in tabellarischer und graphischer Form:

Kraft Amplitude (%max)	Kraft Amplitude (mV)	EMG Amplitude (mV)	EMG Amplitude (%)
0%			
25%			
50%			
75%			
100%			



c) Muskelermüdung

Lernziel:

Fortdauernde Kontraktion von Muskelfasern führt zu einer Verminderung der Kontraktionskraft (Ermüdung des Muskels), die auf verschiedenen Phänomene zurückgeführt werden kann (Verminderung des zentralen Antriebs, Leistungsrückkopplung, verminderte neuromuskuläre Übertragung, Reduktion der Ca^{2+} -Freisetzung in der Erregungs-Kontraktionskopplung, Reduktion des Blutflusses durch Gefäßkompression, Ansäuerung des Gewebes, etc.).

Versuchsdurchführung:

- Verwenden Sie den Aufbau und das LabChart Programm wie in a) und b).
- Der Proband beobachtet die Amplitude der Krafterzeugung auf dem Bildschirm und bestimmt seine maximale Greifkraft mit dem Hand-Dynamometer.
- Der Versuchspartner startet die EMG-Aufnahme mit einer zeitlichen Auflösung von 50:1, liest dem Probanden die folgenden Versuchsschritte vor und misst jeweils die Zeit für die folgenden Schritte:
 - a) Bestimmen Sie die maximale Greifkraft (Kanal 5), die Sie für 10 Sekunden halten können.
 - b) Erholen Sie sich für 30 Sekunden.
 - c) Versuchen Sie nun die maximale Greifkraft für 120 Sekunden zu halten.
 - d) Erholen Sie sich für 30 Sekunden.
 - e) Entwickeln und halten Sie die maximale Greifkraft für 30 Sekunden **ohne Blick auf den Schirm!**
 - f) Erholen Sie sich für 30 Sekunden.
 - g) Entwickeln und halten Sie die maximale Greifkraft für 30 Sekunden **mit Blick auf den Bildschirm!**
 - h) Erholen Sie sich für 30 Sekunden.
 - i) Üben Sie Ihre maximale Greifkraft für 30s aus während Ihr Versuchspartner Sie anfeuert.

Speichern Sie die Aufnahme (File - Save as)

Datenanalyse: Beschreiben Sie den Zeitverlauf der Muskelermüdung.

- Erläutern Sie den Effekt der visuellen Kontrollen und des Anfeuerns durch eine weitere Personen.

Fragen zu b) und c):

- Welche Faktoren beeinflussen die Kraftentwicklung an einem Muskel?
- Wie unterscheidet sich ein kräftiger von einem weniger kräftigen Muskel?
- Warum können wir unsere Muskeln nicht aktiv strecken?
- Welche Faktoren können zur Muskelermüdung beitragen? Beschreiben Sie eine Komponente genauer.

Versuch 2: Reflektorische Kontrolle der Muskellänge

Lernziel:

Reflexbogen: Durch eine plötzliche Belastung der Sehne des Quadriceps (Patellarsehne, Kniesehne) durch einen Schlag mit dem Reflexhammer wird der Muskel passiv gedehnt (Muskelspindelaktivierung) und zu einem Streckreflex zur Kontraktion der Arbeitsmuskulatur veranlasst, der die Auslenkung wieder korrigiert.

Versuchsdurchführung:

- Verwenden Sie dieselbe Datei wie zuvor.
- Entfernen Sie den Hand-Dynamometer vom Input1 Eingang am PowerLab und verbinden Sie den Reflexhammer mit dem extra Adapter. Der Reflexhammer besitzt einen Drucksensor, der bei Aufschlag einen elektrischen Impuls (Trigger) an den Verstärker gibt. Stellen Sie den Messbereich so ein (10-20 mV), dass keine Oszillationen entstehen.
- Schließen Sie zwei Elektroden (Neg. und Pos. von Channel 1) am großen Oberschenkelmuskel (M. quadriceps) sowie das Erdungsband wie in Abb. 6 an.

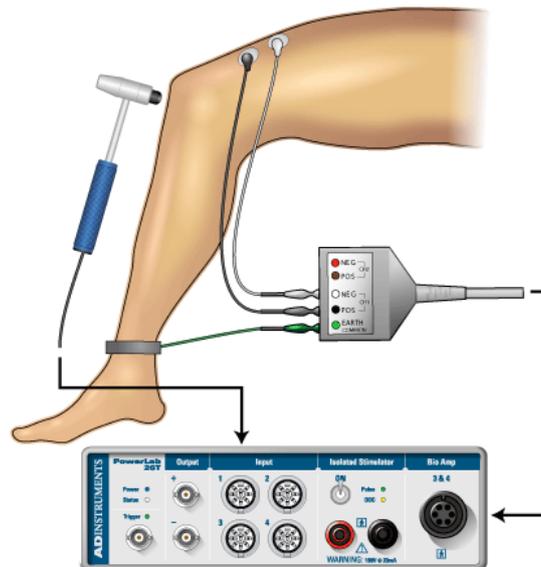


Abb. 6: Aufbau zur Messung des Kniesehnenreflexes

- Ein kurzer Schlag mit dem Reflexhammer auf den Sehnenansatz sollte zu einer Aktivität des Quadricepsmuskels und somit zu einer Unterschenkelbewegung führen (Abb. 7). Der Unterschenkel muss dazu frei schwingen können und entspannt sein.



Abb. 7: Schlag mit dem Hammer auf die Patellarsehne.

- Messen Sie nun 10 Durchgänge, bei denen der Proband eine deutliche Bewegung des Beines fühlen konnte.

Speichern Sie die Aufnahme (File - Save as)

Datenanalyse:

- Bestimmen Sie mit Hilfe des Markers und Cursor die Latenzzeit. Benutzen Sie die Zoom-Funktion („Lupe“). Die Latenzzeit ist die Zeit zwischen dem Beginn des Reflexhammersignals und dem Beginn der EMG-Aktivität (zu bestimmen am Rohsignal, nicht am integrierten Signal).

Durchgang #	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.	10.
Latenzzeit (ms)										

- Bestimmen Sie den Mittelwert und die Standardabweichung der Latenz für 10 Durchgänge (z.B. mit Hilfe eines Taschenrechners, Excel, oder OpenOffice-Tabellendokument).

Fragen zu Versuch 2:

- Beschreiben Sie kurz den diesem Phänomen zu Grunde liegenden Reflexbogen (Zeichnung). Ist die gemessene Latenzzeit in diesem Zusammenhang sinnvoll?
- Wie würde sich die Latenzzeit bei einem doppelt so starken Schlag auf die Sehne ändern?

Versuch 3: Elektrische Stimulation zur Auslösung von Muskelaktivität am Daumen

Warnung! Elektrische Reizung von Nerven sollte nur an **freiwilligen Probanden** vorgenommen werden. Die Probanden dürfen **keine Herzschrittmacher** oder sonstige durch elektrische Felder beeinflussbare Geräte tragen. Uhren und Schmuck sind abzulegen! Die Reizung verursacht ein leichtes, eventuell unangenehmes Kribbeln, das jedoch mit Gewöhnung leicht zu akzeptieren ist. Die Geräte sind erdfrei ausgelegt, für den Einsatz beim Menschen speziell angepasst und daher unbedenklich.

a) Erlernen der elektrischen Stimulation mit gleichzeitiger EMG Ableitung

Lernziel:

Eine elektrische Stimulation von Motoneuronen in Nervenbahnen kann eine Muskelaktivität auslösen, die man über ein EMG messen kann. Im ersten Versuchsteil soll die gleichzeitige elektrische Stimulation und EMG Messung erlernt und optimiert werden.

Versuchsdurchführung:

Anschließen der Elektroden am Daumenmuskel (*abductor pollicis brevis*) (Abb. 8)

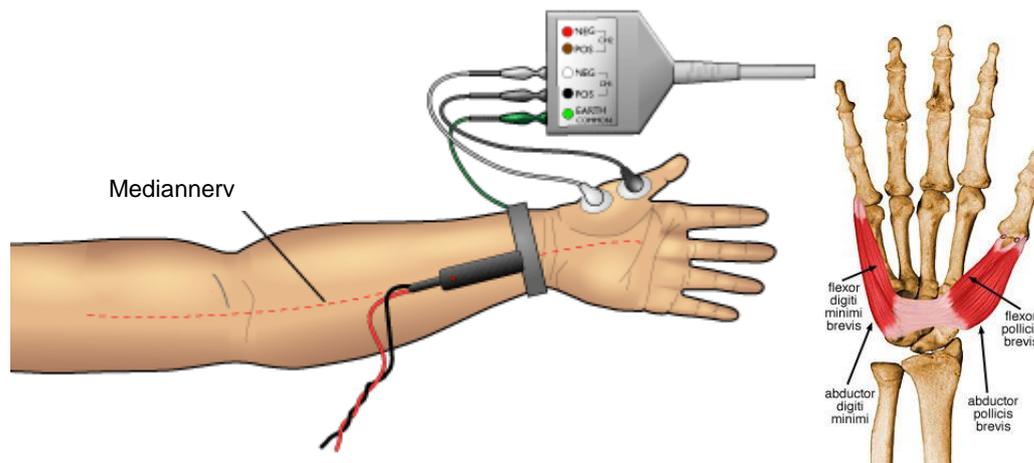


Abb. 8: Reizung des Medianenervens und EMG-Ableitung am Abductor des Daumens

- Verwenden Sie die gleichen Kabel wie in Versuch 1 und versetzen die Kabel vom Biceps zum Daumenmuskel (*abductor pollicis brevis*) und nehmen die Kabel zum Triceps weg.
- Kleben Sie zwei Snap-on ECG Einmalelektroden (Druckknopf) auf den Daumenmuskel. Sie sollten sich beide auf dem Muskel befinden, einander jedoch nicht berühren (2-3 cm entfernt). Bei Bedarf bitte Klebeflächen der Einmalelektroden kleiner schneiden.

Starten der Software

- Laden Sie in LabChart die Datei: **Desktop/Muskel Kramer/stimuli_05.adiset**
- Kanal 1: integriertes Signal vom Daumendruck (für Versuchsteil b)
- Kanal 2: elektrischer Reiz/Stimulation
- Kanal 3: Daumen-EMG
- Kanal 4: integriertes Signal des Daumen-EMG

Messen des Daumen-EMG

- Bewegen Sie den Daumen und beobachten Sie gleichzeitig die EMG-Ableitung. Das Signal-Rausch-Verhältnis zwischen Ruhe und Aktivität sollte wieder größer als 2-3 liegen.

Falls Sie die Muskelbewegung im EMG nicht auflösen können, oder das Signal zu klein ist, optimieren Sie die Lage der Ableitelektroden und die Messbereichseinstellung.

Stimulation des Mediannervens

- Die Reiz-/Stimulationselektrode (Leistentyp) wird mit dem erdfreien isolierten Stimulatorausgang des PowerLabs verbunden: rot nach rot (positiv) und schwarz nach schwarz (negativ)
- Eine kleine Menge Elektrodenpaste auf beide Pole der Elektrode auftragen und Elektrode platzieren. Elektrodenpaste auf der Haut zwischen den Elektroden führt zur Abschwächung der Potenziale und sollte entfernt werden.
- Die Reizelektrode soll entlang dem zu reizenden Nerven ausgerichtet werden, das heißt die positive Elektrode (roter Punkt) sollte in Richtung des Ellenbogens ausgerichtet sein.
- Die Reizdauer, die Reizamplitude und die zeitliche Abfolge der Reize werden über das Stimulator Fenster in LabChart (im Hauptmenü unter „Setup“ und „Stimulator...“ bzw. „Stimulator Panel“) gesteuert. Um die Aufnahme zu beginnen drücken Sie „Start“ und danach im Stimulatorfenster „Stimulate“.
- Achten Sie in diesem und auch in den folgenden Versuchen darauf, dass zu Beginn des Versuches die Reizstärke auf einen minimalen Wert und wenn die Schwelle bekannt ist, unterschwellig eingestellt ist.
- Schalten Sie den Stimulator mit dem ON-Schalter auf dem PowerLab ein und erhöhen Sie ausgehend von einer Reizstärke 0 mA die Reizstärke um jeweils 1 mA, bis der Proband ein feines Kribbeln fühlt oder der Muskel kontrahiert. Bestimmen Sie daraufhin die Schwelle und optimieren sie die Elektrodenposition bei leicht überschwelliger Reizstärke. Die benötigte Reizstärke, sowie der beste Stimulationsort für eine Muskelkontraktion (Daumenzucken) sind individuell sehr unterschiedlich. Meistens wird ein Daumenzucken erst ab einer Reizstärke von ca. 5-10 mA hervorgerufen. Bei manchen Probanden erzeugt schon eine Reizintensität von 3 mA eine Muskelzuckung (höhere Reizstärken sind dann oft unangenehm), bei anderen wird eine Reizstärke von bis zu 15 mA benötigt, um eine Daumenbewegung auszulösen. Man muss daher oft etwas länger probieren, bis die optimale Lage der Reizelektrode und die optimale Reizstärke für eine Kontraktion des Daumenmuskels gefunden wird.

Speichern Sie die Aufnahme (File - Save as)

Datenanalyse: Bestimmen Sie den Schwellenwert von 5 Durchläufen:

Durchlauf #	1	2	3	4	5
Reizschwelle (mA)					

- Bestimmen Sie nun die Latenzzeit zwischen Stimulus und EMG-Signal (Zoom View) von 5 Durchläufen. Liegen beide Signale zeitlich exakt aufeinander, kann davon ausgegangen werden, dass Stimulus- und Ableitelektroden zu nahe beieinander liegen, und daher der Strom direkt (über die Haut) von der Stimulus- zur Ableitelektrode fließt. Suchen Sie einen neuen, etwas weiter entfernten Stimulationsort, der auch eine Daumenzuckung auslöst (erhöhen Sie gegebenenfalls die Reizstromstärke).

Durchlauf #	1	2	3	4	5
Latenzzeit (ms)					

b) Einzelzuckungen (Twitch-Response) und Rekrutierung (Recruitment)

Lernziel:

Die Gesamtheit eines Muskels wird von zahlreichen Motoneuronen gesteuert, die unterschiedlich viele Muskelfasern innervieren können (motorische Einheit). Die Stärke der Muskelkontraktion wird gesteuert durch die Anzahl der aktiven Motoneurone und damit der Anzahl der aktivierten Muskelfaserzuckungen (Einzelzuckungen). Mit zunehmender Reizstärke werden mehr und mehr Motoneurone und deren innervierte Muskelfasern rekrutiert.

Versuchsdurchführung:

- Verwenden Sie den Aufbau und das Programm wie in a).
- Befestigen Sie den Fingerpulstransducer locker am Daumen mit dem Klettverschluss und verbinden Sie ihn mit dem Input 1 Eingang am PowerLab. Testen Sie, ob Sie bei leichtem Druck auf den Transducer ein gut auflösbares Signal in Kanal 1 erhalten (eventuell anpassen des Messbereichs). Legen Sie den Daumen entspannt auf den Tisch und testen Sie wiederum, dass das Transducersignal auf Null geht.
- Bestimmen Sie nochmals den Schwellenwert wie in a) beschrieben.
- Führen Sie eine Messreihe durch: ca. 1 mA unter der Schwelle beginnen und in Schritten von 1 mA die Abhängigkeit der Reizantwort von der Reizstärke aufzeichnen, bis keine weitere Antworterhöhung mehr erfolgt (meist zwischen 10-15 mA).

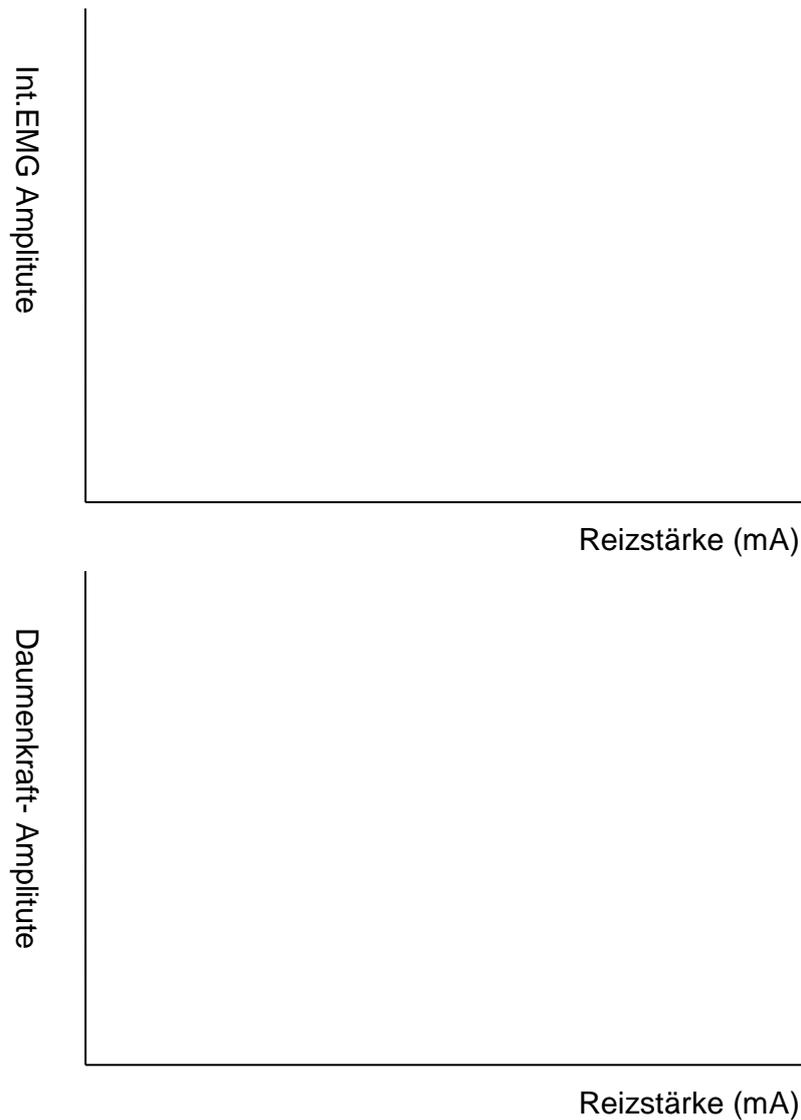
Speichern Sie die Aufnahme (File - Save as)

Datenanalyse: Bestimmen Sie den Schwellenwert von 5 Durchläufen:

Durchlauf #	1	2	3	4	5
Reizschwelle (mA)					

- Analysieren Sie die Korrelation von Reizintensität (mV) und der resultierenden integrierten EMG-Amplitude, Daumenkraft-Amplitude und Latenzzeit.

Reizintensität (mA)	Integrierte EMG Amplitude	Daumenkraft Amplitude	Latenzzeit (ms)
Schwelle -1mA			
Schwelle			
Schwelle +1mA			
Schwelle +2mA			



Fragen zu b):

- Wie verändert sich die Latenzzeit in Abhängigkeit von der Reizintensität?

c) Summation und Tetanus

Lernziel:

Bei niedrigen Entladungsraten der Motoneurone (< ca. 5Hz) kehrt die intrazelluläre Ca^{2+} -Ionenkonzentration wieder auf den Ruhewert zurück und es werden Einzelzuckungen erzeugt. Verkürzt man bei Mehrfachreizen das Zeitintervall zwischen den Einzelreizen (ca. 5–15 Hz) wird nur eine partielle Erholung der Ca^{2+} -Ionenkonzentration erreicht, dann verschmelzen die Einzelzuckungen und summieren sich auf. Bei noch höheren Entladungsraten entspannt sich der Muskel zwischen den Einzelreizen nicht mehr und zeigt eine glatte Kontraktion, den so genannten Tetanus.

Versuchsdurchführung:

- Verwenden Sie den Aufbau wie in b) und laden Sie die LabChart Datei: **Desktop/Muskel Kramer/summation_05.adiset**
 - Kanal 1: integriertes Signal vom Daumendruck
 - Kanal 2: elektrischer Reiz/Stimulation
 - Kanal 3: Daumen-EMG
 - Kanal 4: integriertes Signal des Daumen-EMG
- .
- Den Reizstrom am Isolated Stimulator auf ca. 2 mA über den vorher ermittelten Schwellenwert für die Reizung einstellen.
 - Gehen Sie von „continuous“ zu „number of pulses“ und stellen Sie die Anzahl der Pulse auf 10. Aktivieren Sie im Stimulatorfenster unter Start: „manually“.
 - Erhöhen Sie schrittweise die Reizfrequenz auf 2, 5, 10, 15 und 20 Hz.

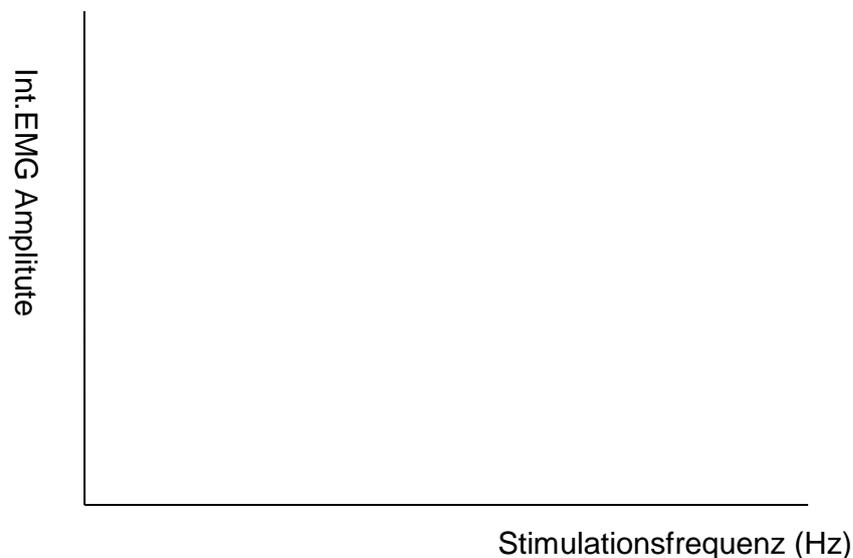
Speichern Sie die Aufnahme (File - Save as)

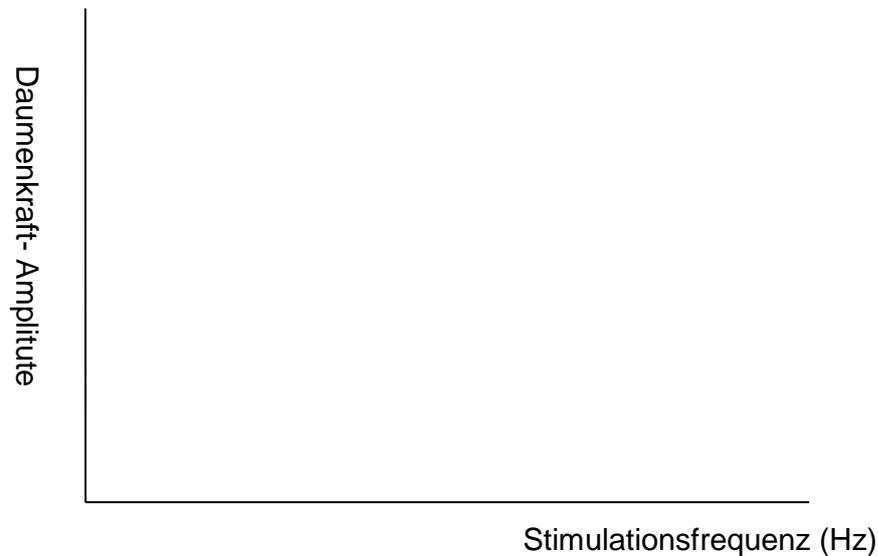
Datenanalyse:

- Analysieren Sie die Korrelation der Stimulationsfrequenz mit der resultierenden integrierten EMG-Amplitude und Daumenkraft-Amplitude.

Stimulationsfrequenz (Hz)	Integrierte EMG Amplitude	Daumenkraft Amplitude
2		
5		
10		
15		
20		

Tragen Sie die Werte in die beiden folgenden Diagramme ein!





Fragen zu c):

- Vergleichen Sie die maximale Kraftentwicklung bei 10 und 15 (20) Hz Stimulationsfrequenz mit der bei einer Einzelzuckung?
- Welche physiologischen Vorgänge können zu einer Summation der Muskelaktivität beitragen?

Ausführliches Protokoll

Protokoll: Für das Protokoll verwenden Sie die Daten aus den Versuchen 1b und c sowie Versuch 3 (komplett), die übrigen (Teil-)Versuche müssen nicht ins Protokoll aufgenommen werden. Speichern Sie ihre Daten sowie die Installationsdatei von LabChart Reader auf einen USB-Stick. Wiederholen Sie die Auswertung beider Kursteile mittels LabChart Reader auf einem privaten Rechner (falls nicht vorhanden, bitte melden) und fertigen Sie "Screenshots" (durch Drücken der Kombination "Alt + Druck") von wichtigen Schritten an. Erstellen Sie außerdem die Diagramme aus diesem Skript in einem Datenanalyseprogramm (z.B. Excel, OpenOffice Calc) und exportieren Sie die Diagramme als Grafik (z.B. *.jpg). Binden Sie die Screenshots und Diagramme mit Abbildungslegenden an geeigneter Stelle in das Protokoll ein, so dass das Protokoll zu jedem Teilversuch mindestens eine aussagekräftige Messspur und das dazugehörige Diagramm enthält. Achten Sie auf Lesbarkeit der Achsenbeschriftung etc., ggf. muss die Beschriftung im Word-Programm nachträglich eingefügt werden. Für die Diskussion können Sie sich an den Fragen im Skript zu den Versuchen orientieren.

Beachten Sie auch die allgemeinen Hinweise zum Anfertigen des Protokolls auf den ersten Seiten des Skripts und das Musterprotokoll!

Name Student: _____ Unterschrift Kursleiter: _____

USB-Stick mitbringen!!!!!!

Dozenten: Dr. Clemens Wülfing (clemens.wuelfing@uni-hamburg.de)
Dr. Daniela Hirnet (daniela.hirnet@uni-hamburg.de)

Das Herz-Kreislauf-System der Säuger

Das Herz und der Blutkreislauf

Transport und Verteilung von Nährstoffen und Gasen wie Sauerstoff und Kohlendioxid erfolgt bei vielen Organismen über das Blutgefäßsystem. Den Antriebsmotor stellt das Herz (Abb. 1) dar, ein Hohlmuskel, der bei Säugern aus vier Abschnitten besteht, den beiden **Atrien** (Vorhöfen) und den beiden **Ventrikeln** (Herzkammern). Das **rechte** und das **linke Herz** sind durch ein **Septum** (Scheidewand) voneinander getrennt. Das Blut tritt in das Herz über das rechte Atrium ein, gelangt dann in den rechten Ventrikel, von dem es über die Arteria pulmonalis zur Lunge fließt. In der Lunge erfolgt die Sauerstoffsättigung. Aus der Lunge fließt das Blut über die Lungenvenen zurück zum Herzen, genauer gesagt zum linken Atrium, dies ist der **Lungenkreislauf**. Vom linken Vorhof gelangt das Blut in den linken Ventrikel, von da über die Aorta in den Körper, wo es über Arterien und Arteriolen die Körperzellen versorgt. Es wird in Venolen und Venen gesammelt und schließlich über die Obere und Untere Hohlvene zum rechten Atrium zurückgeführt, dies nennt man den **Körperkreislauf**. **Venen** nennt man per Definition Gefäße, die Blut zum Herzen hin führen, während **Arterien** Gefäße sind, die Blut vom Herzen weg führen.

Zur Richtungslenkung des Blutes sind zwischen Atrien und Ventrikeln **Segelklappen** sowie an den Austrittsstellen der großen Arterien **Taschenklappen** eingesetzt.

Die Herzkammern wechseln in einem Zweitakt rhythmus zwischen Kontraktion (**Systole**) und Erschlaffung (**Diastole**).

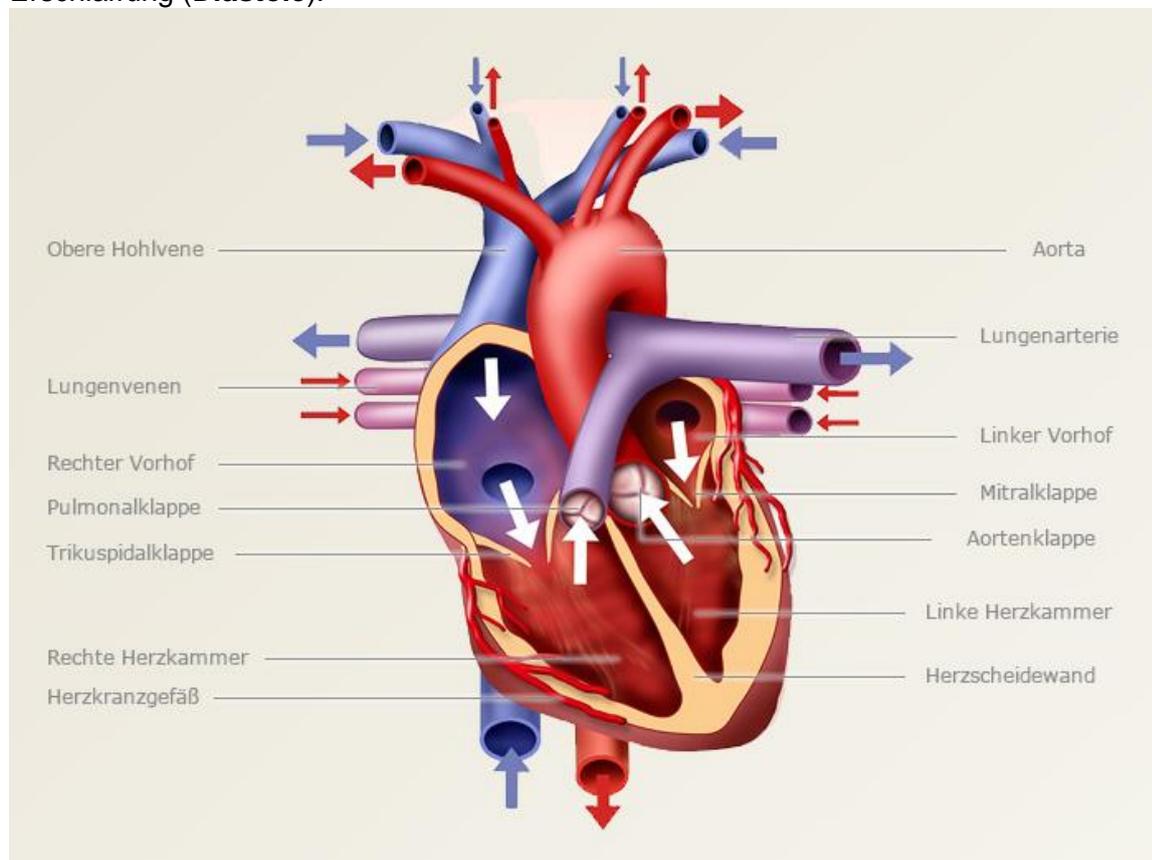


Abb.1 Querschnitt durch das menschliche Herz. Blaue Pfeile= sauerstoffarmes Blut, Rote Pfeile= sauerstoffreiches Blut

Die Steuerung des Herzens

Das Herz schlägt ohne nervöse Innervierung, es besitzt seinen eigenen Taktgeber - man spricht auch von einer **Autonomie** (auch Autorhythmie). Die zur Erregungsbildung und -leitung gehörenden Strukturen bestehen aus **umgewandelten** und nicht mehr zur Kontraktion fähigen **Muskelzellen**: Der **Sinusknoten** in der Wand des rechten Atriums stellt das übergeordnete primäre Erregungszentrum (Schrittmacher) dar, ein nachfolgendes (sekundäres) befindet sich an der Grenze zwischen rechtem Atrium und Ventrikel, der **Atrioventrikularknoten**. Dieser sog. AV-Knoten kann bei Ausfall des Sinusknotens die Herzerregung mit langsamerer Frequenz übernehmen. Ein tertiäres Erregungszentrum mit noch langsamerer Frequenz ist das **His'sche Bündel**, von dem aus beiderseits des Septums die **Tawara-Schenkel** zu den Spitzen der Ventrikel führen. Die Tawara-Schenkel verzweigen sich in die **Purkinje-Fasern**, die von den Ventrikelspitzen an den Kammerwänden wieder aufwärts ziehen. Die normale Erregungsausbreitung am Herzen erfasst in gleicher Reihenfolge ausgehend vom Sinusknoten zunächst die Muskulatur beider Atrien, ergreift dann den AV-Knoten, läuft von hier aus rasch das His'sche Bündel und die Tawara-Schenkel hinunter, um sich durch die fein verzweigten Purkinje-Fasern von den Ventrikelspitzen her über die Zellen der Ventrikelmuskulatur auszubreiten. Ist die Erregung von den Erregungsbildnern und Erregungsleitern auf die Herzmuskelzellen übertragen worden, so folgt unmittelbar darauf deren Kontraktion. Es kontrahieren sich gemäß der Erregungsausbreitung nacheinander zuerst die Atrien, danach erst die Ventrikel. Nach der Kontraktion findet die Erregungsrückbildung statt.

Die nervöse Modulation des Herzens

Obwohl das Herz ein autonomes Erregungszentrum besitzt, ist die Herzfrequenz nervös beeinflussbar. Wir alle wissen, dass sowohl bei körperlicher Anstrengung und auch bei psychischem Stress die Herzfrequenz steigt. Der parasympathische Nervus vagus setzt die Herzfrequenz herab, der sympathische N. accellerans bewirkt eine Frequenzsteigerung. Die parasympathischen Neurone schütten Acetylcholin aus, das eine Frequenzverminderung bewirkt, während die sympathischen Neurone für die Ausschüttung des frequenzsteigernden Adrenalins sorgen. Den größeren Einfluss von beiden übt jedoch der N. vagus aus, der durch Impulserhöhung den Herzschlag verlangsamen, durch Herabsetzen seiner Impulse die Herzfrequenz erhöhen kann.

Das Ruhepotential

Alle Zellen verfügen über ein elektrisches **Membranruhepotential**, d. h. zwischen der Außen- und der Innenseite der Zellmembran ist eine Spannung messbar, die etwa -70 mV beträgt, negativ im Cytosol. Diese auftretenden Potentialdifferenz über der Zellmembran kommt durch die Arbeit der **ATP-abhängigen Na⁺/K⁺-Pumpe (Na/K-ATPase)** im Zusammenspiel mit der **selektiven Kalium-Ionenleitfähigkeit** der Membran zustande:

Bedingt durch die N/K-ATPase ist die Na⁺-Konzentration außen höher als in der Zelle, während K⁺-Ionen in der Zelle höher konzentriert sind als außen. Im Ruhezustand besitzt die Membran keine Leitfähigkeit für Na⁺, d.h. die Na⁺-Ionenkanäle sind geschlossen, dagegen sind einige K⁺-Kanäle geöffnet. K⁺-Ionen diffundieren also dem Konzentrationsgradienten folgend nach außen, durch den Verlust an positiver Ladung steigt die negative Ladungsdichte in der Zelle an (die negativen „Gegenionen“ z.B. Cl⁻ oder negativ geladene Proteine können die Zellmembran nicht passieren), das Potential wird negativer. Bei einem bestimmten negativen Potential, dem Ruhepotential, werden die K⁺-Ionen durch die elektrostatische Anziehung jedoch in der Zelle zurückgehalten: Der **Konzentrationsgradient** und der **elektrische Gradient** gleichen sich gerade aus, d.h. das Ruhepotential ist ein **K⁺-Gleichgewichtspotential**.

Das Aktionspotential

Wird eine Nervenzelle gereizt, so öffnen sich Kationenkanäle in der Zellmembran, positive Ladung fließt in das Zellinnere, d.h. die Zelle depolarisiert. Liegt diese **Depolarisation** über einem Schwellenwert, öffnen sich spannungsabhängige Na⁺-Kanäle, d.h. es kommt zu einem

schlagartigen Einstrom von Na^+ -Ionen. Der massive Einstrom positiver Ionen in die Zelle kehrt das Membranpotential um, es entsteht ein **Aktionspotential** (AP). Anschließend erfolgt eine Rückkehr zum Ruhepotential, genannt **Repolarisation**. Die Repolarisation wird durch Öffnen zusätzlicher K^+ -Kanäle und Ausstrom von K^+ eingeleitet. Anschließend wird durch Rücktransport von Na^+ und K^+ an ihren Ausgangsort mittels **Ionenpumpen** der Ruhezustand wieder hergestellt.

Die erregbaren Zellen im Herzen weisen einige elektrophysiologische Besonderheiten auf:

Die Erregungsbildung im myogenen Erregungsleitungssystem des Herzens

Während die Zellen der Arbeitsmuskulatur nur durch einen Fremdreiz depolarisiert werden können, depolarisieren die erregungsbildenden Zellen (z. B. Sinusknoten) von selbst (**Autorhythmie**). Das Geheimnis liegt in den **HCN (hyperpolarization and cyclic nucleotide activated) – Kanälen**, auch „pacemaker“ Kanäle genannt: Die HCN-Kanäle öffnen sich am tiefsten Punkt der Repolarisation und lassen geringe Mengen an Na^+ -Ionen einströmen, wodurch das Membranpotential langsam ansteigt (instabiles Ruhepotential) (Abb. 2). Bei einem Schwellenwert von -55 mV öffnen sich zusätzlich **spannungsabhängige Ca^{2+} -Kanäle** und es kommt es zu einem plötzlichen Einschleusen von **Ca^{2+} -Ionen, die das AP auslösen** auf eine Höhe von ca. $+30 \text{ mV}$ (diese Zellen besitzen **keine schnellen Na^+ -Kanäle** wie die Arbeitsmuskulatur). Nach etwa 200 ms schließen sich die Ca^{2+} -Kanäle wieder, und die K^+ -Kanäle öffnen sich. Dadurch wird die Repolarisation eingeleitet und der Zyklus beginnt von Neuem.

Die Kontraktion der Arbeitsmuskulatur

Die Herzmuskelzellen erregen sich nicht autonom, sondern werden von den erregungsbildenden Zellen aktiviert. Bei den Herzmuskelzellen wird die Depolarisation durch den Einstrom von Na^+ -Ionen und Ca^{2+} -Ionen bedingt. Bei der **Arbeitsmuskulatur** bleibt die Depolarisation mit einer langen Plateauphase im Bereich von 200 bis 300 msec erhalten, während der besonders großen Mengen an Ca^{2+} -Ionen einströmen. Während dieser Zeit ist das Herz nicht neu erregbar (**absolute Refraktärzeit**) (Abb. 2 rechts). Die großen Mengen an Ca^{2+} -Ionen sind erforderlich für die Muskelkontraktion: Genau wie beim Skelettmuskel werden die Bindungen des **Troponins** zum **Tropomyosin** und zum **Aktin** durch Ca^{2+} gelockert, so dass das Tropomyosin in die Furche zwischen den Aktinmolekülen rutscht und die Bindungsstellen für Myosin freigibt, was zur Kontraktion führt (**Elektromechanische Kopplung**). Während der Repolarisation, eingeleitet durch einen K^+ -Ausstrom, werden die Ca^{2+} -Ionen durch ihre entsprechende Ionenpumpen ins extrazelluläre Medium bzw. in die in intrazellulären Speicher zurücktransportiert.

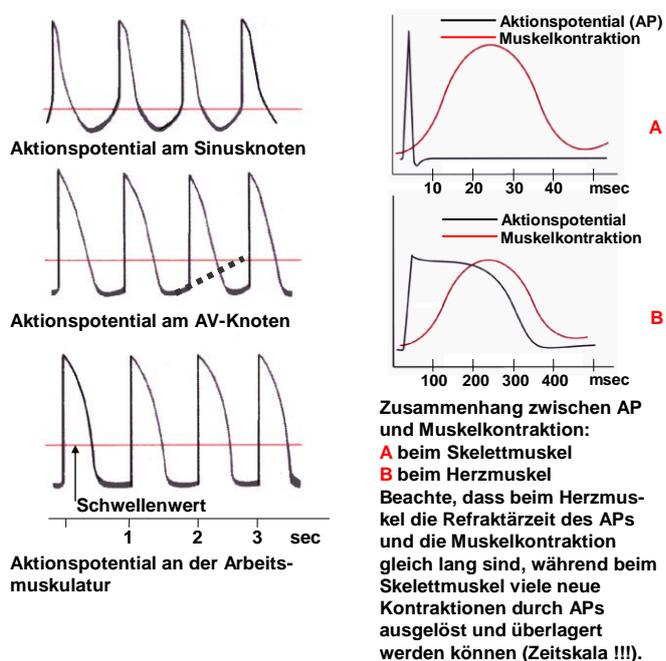


Abb. 2 Aktionspotentiale bei verschiedenen Herzgeweben. Links: die Membranspannungen an Sinusknoten, AV-Knoten und Arbeitsmuskulatur. Rote Linie = Schwellenwert. Links Mitte: Der AV-Knoten folgt der Frequenz des Sinusknotens. Fällt dieser aber aus, übernimmt der AV-Knoten die Herzerregung mit etwa halber Frequenz (gestrichelte Linie), da die HCN-Kanäle des AV-Knotens für Na^+ etwas weniger durchlässig sind als beim Sinusknoten und somit der Schwellenwert später erreicht wird. Die rechte Spalte stellt die elektrischen Spannungsverhältnisse und die Kontraktionsdauer an Skelett- und Herzarbeitsmuskulatur gegenüber.

Das EKG

Das **Elektrokardiogramm** ist eine Aufzeichnung der extrazellulär abgeleiteten elektrischen Aktivitäten des Herzens, die sich aus den Aktionspotentialen der einzelnen Herzabschnitte ergeben. Zu jedem Zeitpunkt stellt das Herz mit einem erregten, depolarisierten Teil des **Herzmuskels** und einem nicht erregten, repolarisierten Teil vereinfacht gesagt einen **Dipol** dar, der ein entsprechendes **elektrisches Feld** erzeugt. Dieses elektrische Feld, das sich aufgrund der guten Leitfähigkeit der Körperflüssigkeit bis zur Körperoberfläche ausdehnt (Abb. 3), kann dort abgeleitet werden. Am stärksten ist das elektrische Feld im Brustbereich, es setzt sich jedoch bis in die Extremitäten fort. Wir werden im Praktikum die bipolaren Extremitäten-Ableitungen nach Einthoven (1903) durchführen, bei denen folgendermaßen abgeleitet wird: Einthoven I zwischen rechtem und linkem Arm, Einthoven II zwischen rechtem Arm und linkem Fuß. Der rechte Fuß dient jeweils der Erdung. Die größte Potentialdifferenz ist bei einer Ableitung zwischen dem re. Arm und dem li. Bein (Einthoven II) zu erwarten, da diese Registrierung (meist) parallel zur Herzachse verläuft.

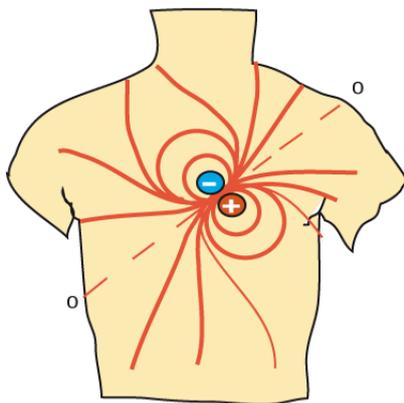


Abb. 3 Äquipotentiallinien des von der Herzaktivität erzeugten elektrischen Feldes auf der Körperoberfläche. Entlang einer Äquipotentiallinie lässt sich kein Potentialunterschied messen, dagegen misst man senkrecht zu den Feldlinien große Potentialunterschiede.

Da sich die erregten bzw. nicht erregten Anteile des Herzmuskels durch die Herzarbeit ständig ändern, d.h. der Dipol sich zeitlich verändert, misst man über die Zeit immer andere Potentiale zwischen den Elektroden. Das Muster dieser Potentialänderungen ist charakteristisch für verschiedene Herzaktionen und kehrt mit jedem Herzschlag wieder (Abb. 4): Die **P-Welle** ist der Ausdruck der Depolarisation des Vorhofs, die **QRS-Zacke** der Ausdruck der Kammerdepolarisation. Die **T-Welle** spiegelt die Repolarisation der Kammern wider, während die Repolarisation der Vorhöfe in die QRS-Zacke mit eingeht. Das RT-Intervall entspricht der **Systole**, das TR-Intervall der **Diastole**, wobei die Spitze der R-Zacke als Messpunkt gilt.

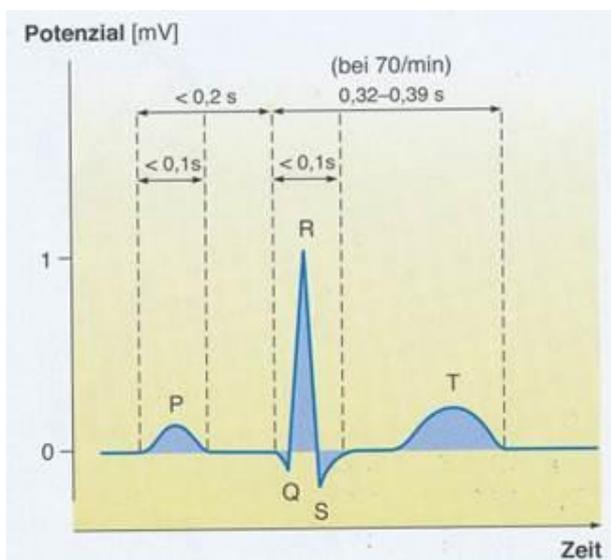


Abb. 4 Ein typisches (idealisiertes) Elektrokardiogramm

Die Pulswellengeschwindigkeit

Bei jeder Systole wird Blut in die Aorta ausgeworfen, was zu einer Erschütterung der Aortawandungen führt. Diese Erschütterung pflanzt sich über die Gefäße fort bis in den Finger (wo der Puls gemessen wird). Die **Pulswellengeschwindigkeit** besagt, wie schnell diese Vibration der Gefäßwände weitergeleitet wird und wird angegeben in Metern pro Sekunde [m/sec]. Die Pulswellengeschwindigkeit ist ein beliebtes Maß für die Qualität der Gefäßwände und sie darf nicht verwechselt werden mit der **Blutflussgeschwindigkeit**, die selbst in der Aorta viel niedriger liegt und mit der Entfernung vom Herzen aufgrund des größeren Gesamtquerschnittes der Gefäße weiter fällt.

Die Herztöne

Wir werden ein Phonokardiogramm aufnehmen, wobei das Mikrophon etwa von der Mitte des Schlüsselbeins links etwa auf Höhe der fünften Rippe aufgelegt wird.

Der Blutdruck

Der Blutdruck, also der Druck, den das Blut und die Gefäße aufeinander ausüben, hängt ab von der Stärke der Herztätigkeit, vom Blutvolumen, dem Querschnitt der Gefäße und der Nachgiebigkeit der Gefäße. Der Blutdruck ist in der Aorta am größten und wird zu den Kapillaren hin aufgrund des größeren Gesamtquerschnittes der Gefäße immer geringer. Außerdem kommt der hydrostatische Druck (also das Gewicht der Wassersäule) hinzu d. h. der Blutdruck ist beim Stehenden z. B. im Kopfbereich wesentlich geringer als am Fuß. Um vergleichbare Ergebnisse zu erzielen, wird der Blutdruck des Menschen üblicherweise am Oberarm in Herzhöhe in sitzender Position des Probanden gemessen.

Da das Blut vom Herzen pulsatil ausgeworfen wird, schwankt der Blutdruck zwischen einem **systemischen** und einem **diastolischen Druck**.

Physiologische Einflussfaktoren sind somit das Herzschlagvolumen, die Nierenfunktion, die über die Wasserausscheidung das Blutvolumen verändert sowie die Qualität der Gefäße (verengt oder frei, starr oder elastisch). Ein zu hoher Blutdruck (Hypertonie) führt zu Arteriosklerose und erhöht das Risiko einen Herzinfarkt bzw. Schlaganfall zu erleiden.

Zur Vorbereitung (auch für Quicktests):

- Skript
- Vorbesprechung Montag der Kurswoche
- Moyes, C. D., Schulte, P. M., Tierphysiologie, 1. Auflage (2008) Kap. 9 „Kreislaufsysteme“, S. 375–424 (d.h. ohne Unterkapitel 9.5 „Blut“) Pearson Verlag.
- Klinker, Pape, Kurtz, Silbernagl: Physiologie, 6. Aufl. (2009), Kap. 5 („Das Herz“) und 6 („Das Kreislaufsystem“) S.134-222, Thieme Verlag

Bei älteren Ausgaben können sich andere Kapitelnummern oder Seitenzahlen ergeben.

Versuche

Hinweise zur Durchführung

- Pro Gruppe dient **ein/e** StudentIn als Versuchsperson **für alle** Aufzeichnungen, die anderen nehmen die Verkabelung und die Computeraufzeichnung vor. Die Versuchsperson soll Uhren und Schmuck von den Hand- und Fußgelenken entfernen. Sie soll entspannt und ruhig sitzen, um Bewegungs-Artefakte zu minimieren.
- Zur Unterstützung dient die auf dem Computer befindliche **Power-Point-Anleitung**.
- Alle Streckenmessungen am EKG werden **mindestens 3-mal** ausgeführt und davon der Mittelwert gebildet.
- Alle errechneten Werte werden **sofort** am Dozentenrechner in eine Excel-Tabelle eingetragen. Sie dient zur Nachbesprechung und wird den Protokollanten zur Verfügung gestellt
- Öffnen Sie sich im Hintergrund ein Word-Dokument und speichern Sie aus der Zoom-Ansicht durch Strg c und Strg v zunächst eine unvergrößerte Übersichtsgrafik dort hinein. Sofort beschriften! Es kann sinnvoll sein, aus der Zoomansicht zusätzlich eine vergrößerte Detailaufnahme, an der die Messungen vorgenommen wurden, abzuspeichern. Diese Datei für das Protokoll auf USB Stick abspeichern.

Für die Aufgabe 1a wird zunächst eine Aufzeichnung in Ruhe vorgenommen und ausgewertet, während der Auswertung trinkt der Kaffee-Trinker (Einteilung nehmen Dozenten vor) möglichst viel Kaffee in möglichst kurzer Zeit!

1a. Ermittlung der Herzfrequenz, der Dauer der Systole und der Diastole sowie der Pulswellengeschwindigkeit in Ruhe, Korrelation der Herztöne mit den Ereignissen am Herzen.

Ausführung:

Pulsaufzeichnung + Elektrokardiogramm (EKG), Ableitung Einthoven I und II, Herztonaufzeichnung

Auswertung:

Bestimmung der Pulsfrequenz mittels Pulskurve, Angabe in Schlägen/min.

Bestimmung der Herzfrequenz mittels R-R-Intervall, Angabe in Schlägen/min.

Bestimmung der Dauer der Systole: Zeit von der Spitze der R-Zacke bis zum Ende der T-Welle (siehe Abb. 4) bei Abl. I oder II, Angabe in sec.

Bestimmung der Dauer der Diastole: Zeit vom Ende der T-Welle bis zur Spitze der R-Zacke (Abb. 4) bei Abl. I oder II, Angabe in sec.

Bestimmung der Pulswellengeschwindigkeit: beim Probanden mit einem Zentimetermaß die Strecke vom Pulsmessgerät bis zum Herzen ausmessen sowie die Zeit vom Beginn der Systole bis zum Maximum der Pulswelle, Angabe in m/sec.

Herztonaufzeichnung: Bei welcher EKG-Struktur treten 1. bzw 2. Herzton auf und welche Ereignisse finden da gerade statt? Überlegen Sie, wodurch die Töne zustande kommen könnten.

Für Aufgabe 1b wird NUR ein EKG nach der Belastung (Treppe bzw. Kaffee) aufgezeichnet (Puls- und Herztonmessung NICHT erforderlich).

1b. Ermittlung der Herzfrequenz sowie der Dauer von Systole und Diastole nach einer Belastung und Vergleich mit den Ergebnissen in Ruhe.

Ausführung:

Für den Belastungsversuch wird das Treppenhaus zweimal über 6 Stockwerke gelaufen ODER möglichst viel Kaffee getrunken (Einteilung durch Dozent). Nach der Rückkehr **sofort** verkabeln und die Schreibung des EKG, Einthoven I und II vornehmen

Auswertung:

(Grundlage kann entweder Ableitung Einthoven I oder II sein, abhängig vom Probanden)
Bestimmung von Frequenz, Dauer der Systole und der Diastole, Vergleich mit Ruhewerten.
Verkürzt sich unter Belastung die Systole (RT-Intervall) stärker oder die Diastole (TR-Intervall)? Berechnen Sie jeweils die prozentuale Zu- bzw. Abnahme (Ruhewert=100%).

Für Aufgabe 2 ist das Hinzuziehen des Assistenten Pflicht!

2a. Ermittlung der Herzfrequenz beim Eintauchen des Gesichtes in kaltes Wasser.

Ausführung:

EKG-Schreibung Einthoven I und II. Proband steht vor Eisbad bereit, Schreibung wird gestartet. Nach einem Vorlauf von ca. 30 sec (zur Ermittlung des Referenzwertes) wird das Gesicht für **mind. 20 Sekunden** in kaltes Wasser gehalten. Setzen sie Kommentare in die Messspur, wann der Kopf eingetaucht wurde und wann wieder aufgetaucht wurde. Vor jedem Teilversuch (a, b, c) jeweils eigenen Referenzwert bestimmen und Änderung auf diesen jeweiligen Referenzwert beziehen!

Auswertung:

Bestimmen Sie die Herzfrequenz kurz vor dem Eintauchen und am Ende der Tauchphase. Geben Sie die ungefähre Dauer der Tauchphase an. Geben Sie die Differenz zwischen Tauchpuls (gegen Ende) und Puls vor dem Eintauchen (=100%) in Prozent an.

2b. Ermittlung der Puls bzw. Herzfrequenz bei Tauchen mit Schnorchel

Ausführung und Auswertung wie unter 7. beschrieben, aber mit Schnorchel tauchen.

2c. Ermittlung der Puls- bzw. Herzfrequenz bei einfachem Luftanhaltens zum Vergleich mit 7.

Ausführung:

EKG bei angehaltener Luft (in gleicher Haltung wie Tauchversuch: stehend vor Eisbad)

Auswertung:

Vergleichen Sie die Puls/ Herzfrequenz vor der Atempause mit dem Ende der Pause.

3. Blutdruckmessung

Ausführung: Sphygmomanometer (Blutdruckmessgerät)

Legen Sie die Manschette auf Herzhöhe fest um den Oberarm des Probanden und pumpen Sie Luft ein bis zu einem Druck von etwa 160 mm Hg. Lassen Sie langsam Luft abfließen bis Sie mit Hilfe des in der Armbeuge platzierten Stethoskopes ein „Klopf“-Geräusch (Korotkow-Geräusch) wahrnehmen und lesen Sie diesen Wert am Manometer ab (systolischer Blutdruck). Lassen Sie weiter Luft abfließen bis das Geräusch wieder verschwindet und merken sich ebenfalls diesen Wert (diastolischer Blutdruck).

Kurzprotokoll

BITTE STETS AUF KORREKTE DIMENSIONEN ACHTEN!

Aufgabe 1a

- Puls in Ruhe**

Zeitdifferenz zwischen zwei Pulsschlägen: _____ [s]

Pulsfrequenz: _____ [Schläge/min]

- Pulswellengeschwindigkeit**

Intervall Spitze R-Zacke bis Maximum Pulswelle [s]	1)
	2)
	3)
	MW =
Strecke von Pulsabnehmer bis Herz [m]	
Pulswellengeschwindigkeit [m/s]	

- Korrelation der Herztöne mit dem EKG**

Herzton 1 erscheint bei EKG-Struktur: _____

Herzaktion, die Herzton 1 erzeugt: _____

Herzton 2 erscheint bei EKG-Struktur: _____

Herzaktion, die Herzton 2 erzeugt: _____

Aufgabe 1a und b

- Herzfrequenz, Dauer von Systole, Diastole in Ruhe (1a)
- und nach Belastung (1b)

	Ruhe-EKG	EKG nach Belastung (Treppe oder Kaffee)
R-R-Intervall (= Dauer eines Herzschlages) [s]	1) 2) 3) MW =	1) 2) 3) MW =
Herzfrequenz [Schläge/min]		
Dauer Systole [s]	1) 2) 3) MW = (=100%)	1) 2) 3) MW =
Dauer Diastole [s]	1) 2) 3) MW = (=100%)	1) 2) 3) MW =

Verkürzung der Systole in Prozent vom Ruhewert _____

Verkürzung der Diastole in Prozent vom Ruhewert _____

Aufgabe 2

- Tauchreflex

t	Vor dem Eintauchen	Vor Luftanhalten	Vor Schnorcheln
R-R-Intervall (= Dauer eines Herzschlages) [s]	1) 2) 3) MW =	1) 2) 3) MW =	1) 2) 3) MW =
Herzfrequenz [Schläge/min]	=	=	=
Referenzwert HF in [%]	= 100%	= 100%	= 100%
t	Ende der Tauchphase	Ende Luftanhalten	Ende Schnorcheln
R-R-Intervall (= Dauer eines Herzschlages) [s]	1) 2) 3) MW =	1) 2) 3) MW =	1) 2) 3) MW =
Herzfrequenz [Schläge/min]	=	=	=
HF in [%] zum Referenzwert	= %	= %	= %
Dauer der Phase [sec]			

Änderung de HF in Prozent beim Tauchen_____

Änderung de HF in Prozent beim Schnorcheln_____

Änderung de HF in Prozent beim Luftanhalten_____

Wie lautet die Fragestellung in diesem Versuch, welchem Zweck dienen die 3 Teilversuche?

Aufgabe 3

- **Blutdruck**

Blutdruckwert_____ [mmHg]

Was sind die 3 Hauptrisikofaktoren für Arteriosklerose?

Datum, Name

Matr.-Nr.

Unterschrift Kursleiter

Sinnesphysiologie Teil I: Das visuelle System

Dozenten: Prof. Dr. Christian Lohr (christian.lohr@uni-hamburg.de)
Dr. Clemens Wülfing (clemens.wuelfing@uni-hamburg.de)

Allgemeine Regeln zum Praktikum

- Es gibt insgesamt 10 Stationen, an denen jeweils bestimmte Sinnesleistungen untersucht werden. Teilweise werden an einer Station mehrere Selbstversuche durchgeführt.
- Die 10 Stationen werden im Laufe des Versuchstages von allen Gruppen durchlaufen.
- Symbole zeigen an, ob nur eine Person oder alle Gruppenmitglieder Versuchspersonen sind und ob mit einem oder beiden Augen gearbeitet wird.
- Das Praktikum ERSETZT NICHT das Aneignen des Grundwissens aus den Lehrbüchern, daher ist es sehr zu empfehlen, sich mit der Theorie VORHER vertraut zu machen.
- Grundlage für den **Quicktest** ist der Inhalt der **Vorbesprechung** am Montag der Kurswoche sowie der **Theorieteil dieses Skripts** (fett geschriebene Stichwörter!)

Literatur

Moyes, Schulte: Tierphysiologie, 1. Aufl. (2008) Kap. 7.5 („Photorezeption“) S. 308-324, Pearson Verlag

Müller-Frings: Tier- und Humanphysiologie, 3. Auflage (2007) Kap. 22 („Der Sehsinn“) S. 515-546, Springer Verlag

Bear et al.: Neurowissenschaften, 3. Aufl. (2009), Kap. 9 („Das Auge“) S. 303-337, Spektrum Verlag

Klinke, Pape, Kurtz, Silbernagl: Physiologie, 6. Aufl. (2009), Kap. 21 („Sehsystem und Augenbewegungen“) S. 707-726, Thieme Verlag

Theorie zu den Versuchen

VERSUCH 1

Bestimmung der Sehschärfe (Visus), räumliches optisches Auflösungsvermögen

Wie scharf wir sehen hängt von verschiedenen Faktoren ab:

1) die **Präzision der Lichtbrechung**

Die lichtbrechenden Teile des dioptrischen Apparates müssen also möglichst wenig Lichtstreuung verursachen

2) **Abstand der Photorezeptoren**

Um zwei punktförmige Lichtreize getrennt voneinander wahrnehmen zu können, müssen die jeweils von einem Punkt erregten Photorezeptoren mindestens durch einen unerregten Photorezeptor getrennt sein. Die Photorezeptoren sind nicht gleichmäßig über die Retina verteilt. In der zentralen Retina, genau in der Sehachse befinden sich ausschließlich Zapfen, die dort sehr dicht stehen, daher ist die Sehschärfe (bei Tageslicht) in der **Fovea centralis** am größten und nimmt zur Peripherie der Netzhaut hin ab (s. Abb 1 links).

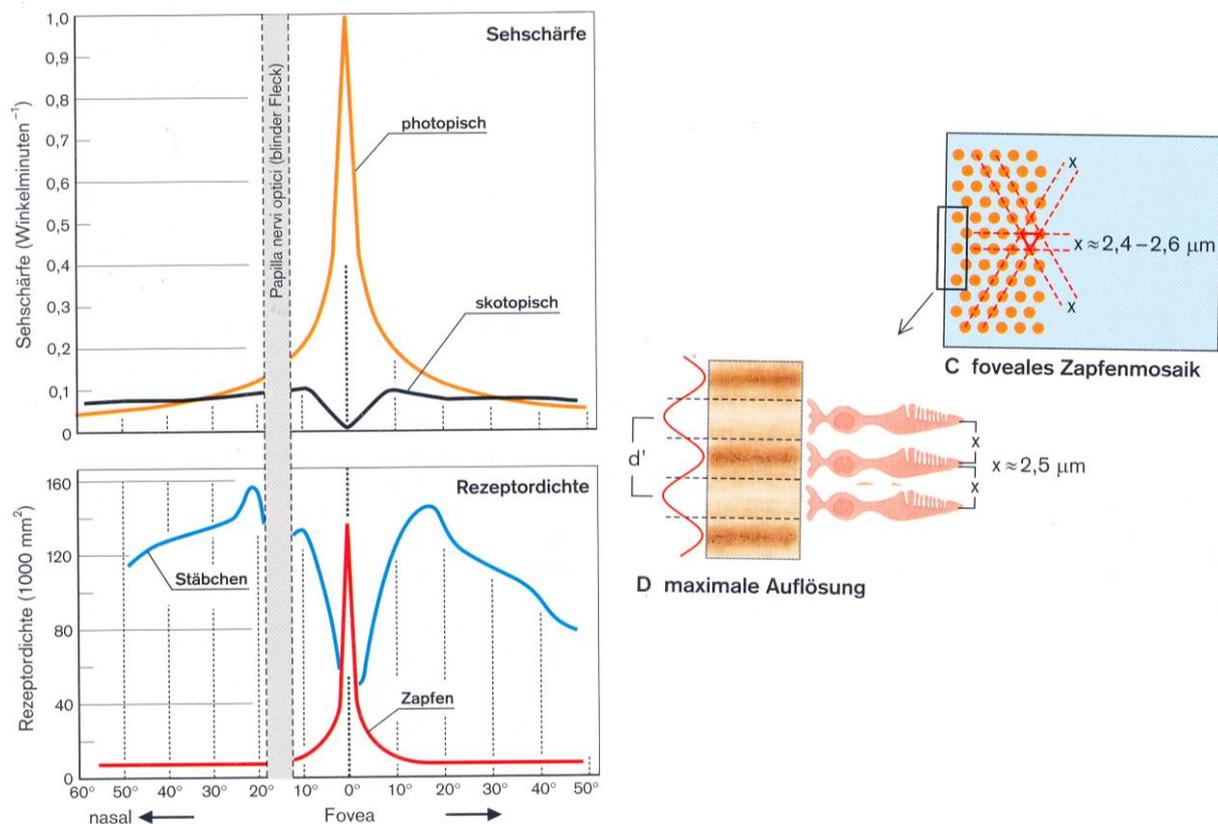


Abb. 1 Photopische und skotopische Sehschärfe und Zapfen- und Stäbchendichte in der Netzhaut. Links: Photopische Sehschärfe (orange) bzw Zapfendichte (rot) mit dem Maximum in der Fovea. Skotopische Sehschärfe (schwarz) und die retinale Verteilung des dazugehörigen Stäbchensystems (blau). Unterbrechung der Kurven in der rezeptorfreen Papille (blinder Fleck). Rechts: Mittlerer Zapfenabstand in der Fovea. (Abb. aus Klinker, Pape, Kurtz, Silbernegel: "Physiologie").

3) Die Größe der rezeptiven Felder

Zu rezeptiven Feldern siehe auch Versuch 5

Bei Helladaptation existieren in der *Fovea centralis* rezeptive Felder, bei denen das Zentrum funktionell aus nur einem Zapfen besteht. Zur Peripherie der Netzhaut hin werden die rezeptiven Feldzentren immer größer. Da also immer mehr Rezeptoren des Feldzentrums auf eine Ganglienzelle **konvergieren**, können Lichtreize, die in dieses Zentrum fallen, nicht mehr einzelnen Photorezeptoren zugeordnet werden. Die Sehschärfe nimmt also ab, je größer das rezeptive Feld ist.

Die Bestimmung der Sehschärfe (**Visus**) ist eine wichtige Funktionskontrolle des Sehsinns. Der Abstand von Bildpunkten auf der Netzhaut kann in Form des Sehwinkels (in Grad bzw. in Winkelminuten) angegeben werden. Das räumliche Auflösungsvermögen ist dann der Sehwinkel, bei dem zwei Objekte gerade noch als getrennt wahrgenommen werden können. Da die Sehschärfe von verschiedenen Faktoren abhängig ist (Netzhautort, Leuchtdichte, räumliche Struktur des Reizes, Adaptationszustand), muss zur Bestimmung ein standardisiertes Verfahren mit genormten Sehprobenzeichen (z.B. Landoltringe) herangezogen werden. Landoltringe sind so konstruiert, dass die Größe der Lücke im Ring bei der jeweils angegebenen Sollentfernung genau dem Sehwinkel von 1 Winkelminute entspricht (s. Abb 2).

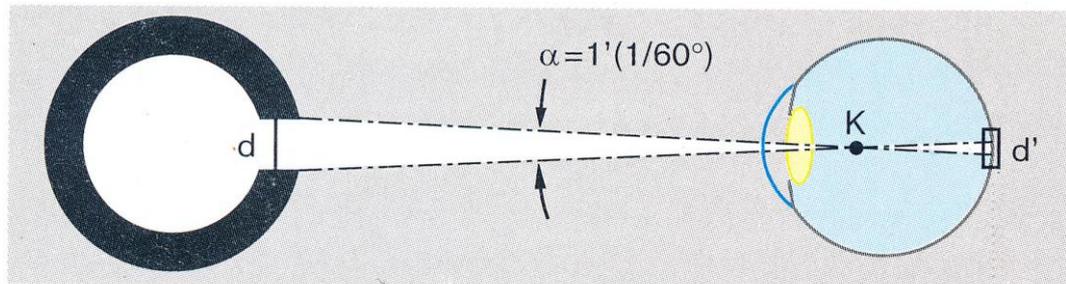


Abb. 2 Visusbestimmung mit Landolt-Ring (Aus: Klinké, Pape, Kurtz, Silbernagel: „Physiologie“)

Die „normale“ Sehschärfe ist definiert als 1, dh wenn man die Lücke im Landoltring (s. Abb) bei einem Sehwinkel α von 1' (1 Winkelminute) noch auflösen kann.

$$\text{Visus} = 1 / \alpha \quad [1/\text{Winkelminuten}]$$

α = Sehwinkel, bei dem zwei Objekte gerade noch als getrennt wahrgenommen werden können.

VERSUCH 2

Akkommodation

Beim Säugetierauge werden unterschiedlich entfernte Gegenstände durch Änderung der Linsenbrechkraft auf die Retina fokussiert. Die Brechkraft wird durch die Linsenform bestimmt: die Linse ist elastisch und nimmt, wenn keine Zugkräfte auf sie einwirken, eine kugelförmige Gestalt an (**Nahakkommodation**). Damit die **Zonulafasern** keinen Zug auf die Linse ausüben, muss der ringförmige **Ziliarmuskel** anspannen. Entspannt der Ziliarmuskel, ziehen die **Zonulafasern** an der Linse, wodurch diese abflacht und an Brechkraft abnimmt (**Fernakkommodation**) (Abb. 3).

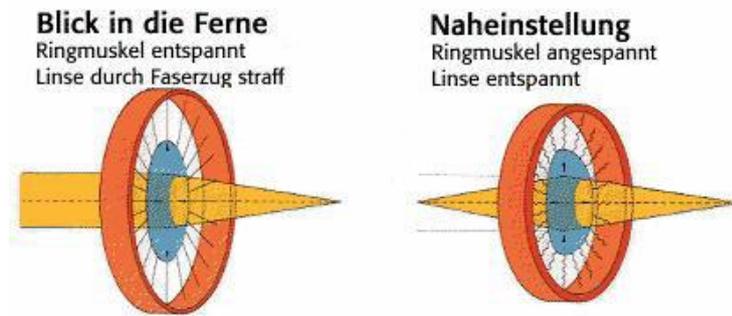


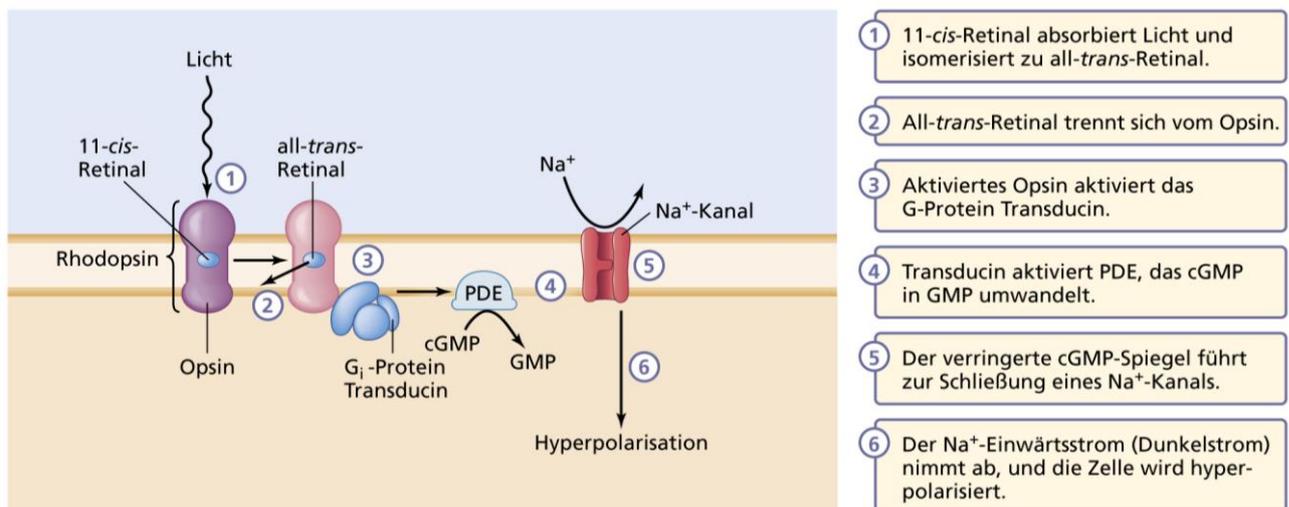
Abb. 3 Zustand von Ringmuskel, Zonulafasern und Linse bei Fern- und Nahsicht

Der kleinste Abstand vom Auge, in dem ein Gegenstand noch scharf gesehen werden kann (also im Zustand maximaler Nahakkommodation) bezeichnet man als **Nahpunkt**. Als **Fernpunkt** bezeichnet man den maximalen Abstand, in dem ein Gegenstand noch scharf gesehen werden kann. Beim normalsichtigen Auge werden Parallelstrahlen genau auf die Retina fokussiert, d.h. der Fernpunkt ist unendlich weit entfernt. Der Nahpunkt wird im Praktikum mit dem Optometer nach Scheiner bestimmt.

VERSUCH 3

Zeitliches optisches Auflösungsvermögen, Pulfrich Pendel

Photorezeptoren wandeln Lichtenergie in Änderungen des Membranpotentials um, ein Vorgang, der als **Phototransduktion** bezeichnet wird (Abb. 4)



(b) Phototransduktion bei Wirbeltier-Photorezeptoren.

Abb.4 **Phototransduktion**: Trifft ein Photon auf den **Sehfarbstoff Rhodopsin** wird 11-*cis*-Retinal zu all-*trans*-Retinal umgelagert. Die damit verbundene Konformationsänderung des Sehfarbstoffs aktiviert ein G-Protein welches wiederum das Enzym **Phosphodiesterase** (PDE) aktiviert. Die PDE baut in der Zelle vorhandenes cyclisches Guanosinmonophosphat (cGMP) zu Guanosinmonophosphat ab (GMP). Es fehlt somit zunehmend das cGMP, welches für die Öffnung eines Natrium-Kanals verantwortlich ist. Der im Dunkeln herrschende Natriumionen-Einstrom (**Dunkelstrom**) nimmt daher ab und die Zelle **hyperpolarisiert**. Die Umlagerung in all-*trans*-Retinal macht den Sehfarbstoff unempfindlich für weitere Lichtreize, er „bleicht aus“ d.h. er zerfällt in all-*trans* **Retinal** und **Opsin** und muss erst wieder regeneriert werden, um für weitere Transduktionsprozesse zur Verfügung zu stehen.

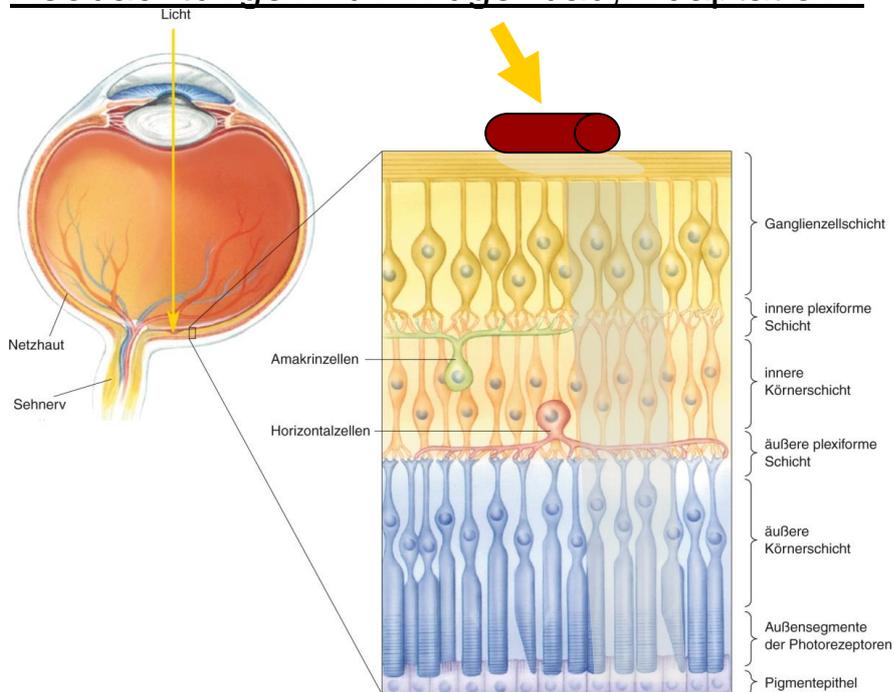
Die Erregung der Photorezeptoren sowie die nachgeschalteten Prozesse innerhalb der Retina und in höheren Zentren der Verarbeitung dauern dabei länger als der eigentliche Lichtreiz. Daher kann nur eine bestimmte Anzahl von Lichtreizen pro

Zeiteinheit verarbeitet werden, das bedeutet, auch das **zeitliche Auflösungsvermögen** ist begrenzt. Im Praktikum bestimmen wir die sogen. „Flimmerfusionsfrequenz“, also die Grenzfrequenz bei der wir schnell aufeinanderfolgende einzelne Lichtreize nicht mehr unterscheiden können.

Bei schwachen Lichtreizen werden weniger Rhodopsinmoleküle pro Zeit angeregt, erst bei einer „Ansammlung“ einer gewissen Anzahl photochemischer Reaktionen durch **zeitliche Summation** kommt es zu einer ausreichenden Zahl aktiver Phosphodiesterasen und somit zu einer Reduktion des Dunkelstroms und zur Hyperpolarisation. Das bedeutet, der schwache Lichtreiz wird erst mit einer gewissen **Latenz** in neuronale Erregung umgesetzt. Die Erregungslatenz im visuellen System wird umso größer, je geringer der Lichtreiz ist. Auf diesem Effekt beruht das Pulfrich-Phänomen: Wenn man ein seitlich schwingendes Pendel mit beiden Augen betrachtet und dabei ein Auge durch einen Filter abdunkelt, entsteht das Bild in dem abgedunkelten Auge Sekundenbruchteile später. Während dieser Zeit hat sich das Pendel für das nicht abgedunkelte Auge jedoch bereits um eine kleine Wegstrecke weiterbewegt. Beide Augen erzeugen also unterschiedliche Informationen. Beim binokularen Sehen werden aber durch Verarbeitung der Informationen vom Gehirn beide Seheindrücke zu einem „Gesamteindruck“ verschmolzen (siehe auch Versuch 8). Die zeitliche Verschiebung der Erregung wird dabei fälschlicherweise als räumliche Verschiebung interpretiert und das Pendel scheint daher in elliptischen Bahnen zu schwingen.

VERSUCH 4

Beobachtungen zum Augenbau, Adaptation I



Aus: Beer et al., Neurowissenschaften, 3. Aufl.
© Spektrum Akademischer Verlag GmbH 2009

Abb. 5 Inverser Aufbau der Retina: die Photorezeptoren liegen auf der lichtabgewandten Seite der Retina, zwischen Seite des Lichteinfalls und Photorezeptoren befinden sich die Neurone der Retina sowie die Blutgefäße des retinalen Gefäßsystems.

Beim menschlichen Auge befinden sich die **retinalen Blutgefäße** und die neurale Schicht der Retina auf der Lichtseite vor der photosensorischen Schicht (**inverser Aufbau des Wirbeltierauges**) s. Abb.5. Man sollte daher annehmen, dass die Absorption und Streuung von Licht, insbesondere durch die retinalen Blutgefäße, zur Erzeugung eines Bilds führen. Dieses Bild wird jedoch durch neuronale Mechanismen (die noch nicht genau untersucht sind) unterdrückt. Eine Richtungsänderung des Lichteinfalls auf die Gefäße setzt diese Unterdrückung aber kurzzeitig außer Kraft und das Bild wird sichtbar (Abb 6 A).

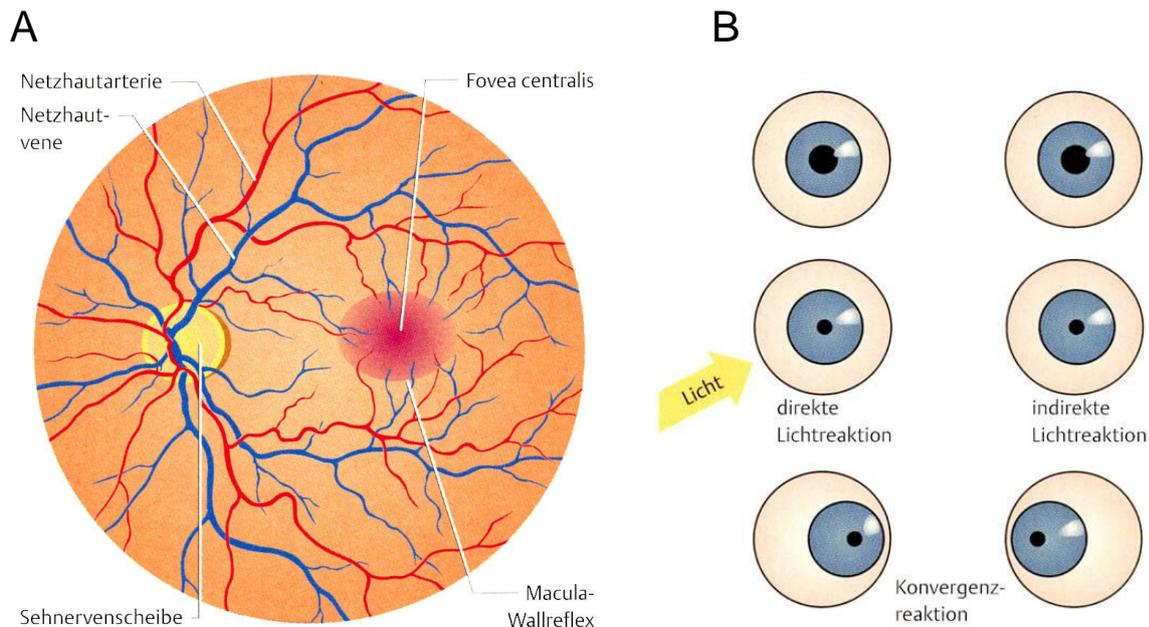


Abb.6 A: Blick auf Augenhintergrund zeigt das retinale Blutgefäßsystem B: Pupillenreaktion bei Lichteinfall und Nahsicht

Das Vertebratenauge ist in der Lage, mit Lichtintensitäten zu „arbeiten“, die sich über mehrere Größenordnungen erstrecken. Dazu passt sich das visuelle System über verschiedene Mechanismen an die unterschiedlichen Helligkeiten an (**Adaptation**). Bei mäßigen Veränderungen der Helligkeit wird der **Pupillenreflex** ausgelöst, um die Leuchtdichte auf der Netzhaut konstant zu halten.

Die **Pupille**, eine Öffnung in der pigmentierten Iris, stellt eine Blendenöffnung dar. In der Iris befinden sich Muskeln, die eine Verengung oder eine Erweiterung der Pupille bewirken. Eine Verengung wird durch Kontraktion ringförmig angeordneter Muskelfasern erreicht, eine Erweiterung durch Kontraktion radiär angeordneter Fasern. Die Kontraktion dieser Muskeln wird durch einen zentralnervösen Mechanismus gesteuert, dessen Ursprung in der Retina selbst liegt. Die Pupillenreaktion dient der schnellen Anpassung an mäßige Schwankungen der Helligkeit (**direkte Lichtreaktion** der Pupille, Abb 6 B). Bei Tieren, deren Gesichtsfelder überlappen, verengt sich nicht nur die Pupille des Auges, welches dem Lichtreiz ausgesetzt ist, sondern auch die Pupille des nicht bestrahlten Auges (**indirekte Lichtreaktion** oder **konsensueller Pupillenreflex**, Abb.6 B).

Bei Abnahme des Pupillendurchmessers erhöht sich außerdem die Tiefenschärfe des Netzhautbildes, dies ist insbesondere bei Betrachtung naher Gegenstände wichtig, daher Verengen sich die Pupillen ebenso beim Fokussieren auf nahe Gegenstände (**konvergente Pupillenreaktion**, Abb.6 B).

VERSUCH 5

Adaptation II, Rezeptive Felder im visuellen System

Für stärkere Wechsel von Lichtintensitäten erfolgen Anpassungen u.a. auf Ebene der Photorezeptoren sowie auf der nachgeschalteten Ebene, bei der neuronalen Verarbeitung der Signale. Auf Ebene der Photorezeptoren findet die sogen. **photochemische Adaptation** statt: Bei starkem Lichteinfall wurde der überwiegende Teil des Sehfärbstoffs in die all-trans Konformation überführt und nur wenig liegt in der lichtempfindlichen 11-cis Form vor. Daher stehen nur relativ wenige Sehfärbstoffmoleküle für die Phototransduktion zur Verfügung, die Empfindlichkeit der Photorezeptoren nimmt ab (**Helladaptation**). Umgekehrt ist das Gleichgewicht zwischen der all-trans und der 11-cis Form im Dunkeln weit auf der Seite des photosensitiven Produkts, da viel Sehfärbstoff regeneriert wurde. Daher nimmt die Sensitivität der Stäbchen für Lichtreize im Dunkeln zu (**Dunkeladaptation**). Das „Erschöpfen“ der Photorezeptoren bei gleichbleibenden Reizen wird im Praktikum anhand von negativen Nachbildern veranschaulicht. Um eine „Erschöpfung“ der Photorezeptoren zu erreichen, fixiert man für längere Zeit einen Punkt. Blickt man dann auf eine leere Fläche, lässt sich ein negatives Nachbild erkennen. Solche Nachbilder, die durch photochemische und neuronale Adaptation entstehen nennt man **Sukzessivkontrast**.

Als weitere Anpassung auf unterschiedliche Lichtverhältnisse verfügt das Vertebratensehssystem über **zwei unterschiedlich lichtempfindliche Rezeptorentypen** (Abb. 7A). So „arbeitet“ das visuelle System bei Helligkeit mit den wenig lichtempfindlichen Zapfen (Zapfensehen = **photopisches Sehen**), bei schwachem Licht dagegen mit den hochlichtempfindlichen Stäbchen (**skotopisches Sehen**). Diese Prozesse verlaufen allerdings im Vergleich zur Pupillenreaktion (innerh. von Sekunden) langsam (wenige Minuten bis zu einer Stunde), dadurch kann aber z.B. bei der Dunkeladaptation eine Empfindlichkeitszunahme von bis zu 7 Zehnerpotenzen erreicht werden!

A

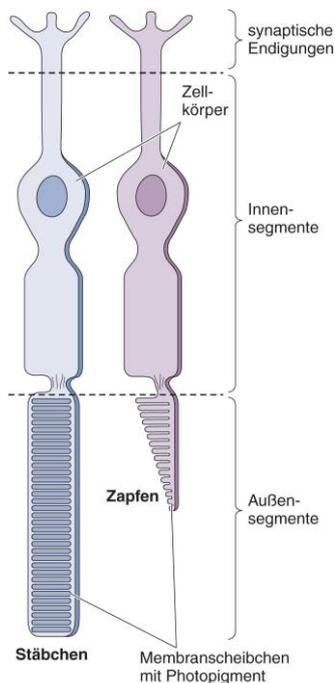


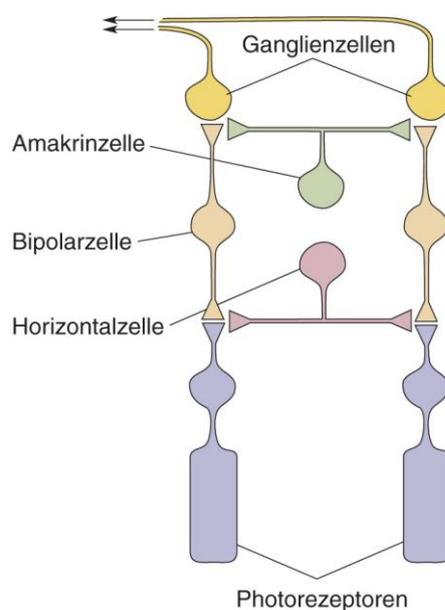
Abb. 7 und

Aus: Bear et al., *Neurowissenschaften*, 3. Aufl. © Spektrum Akademischer Verlag GmbH 2009

A: Bau von Zapfen B:

B

Axone der Ganglienzellen leiten zum Vorderhirn weiter



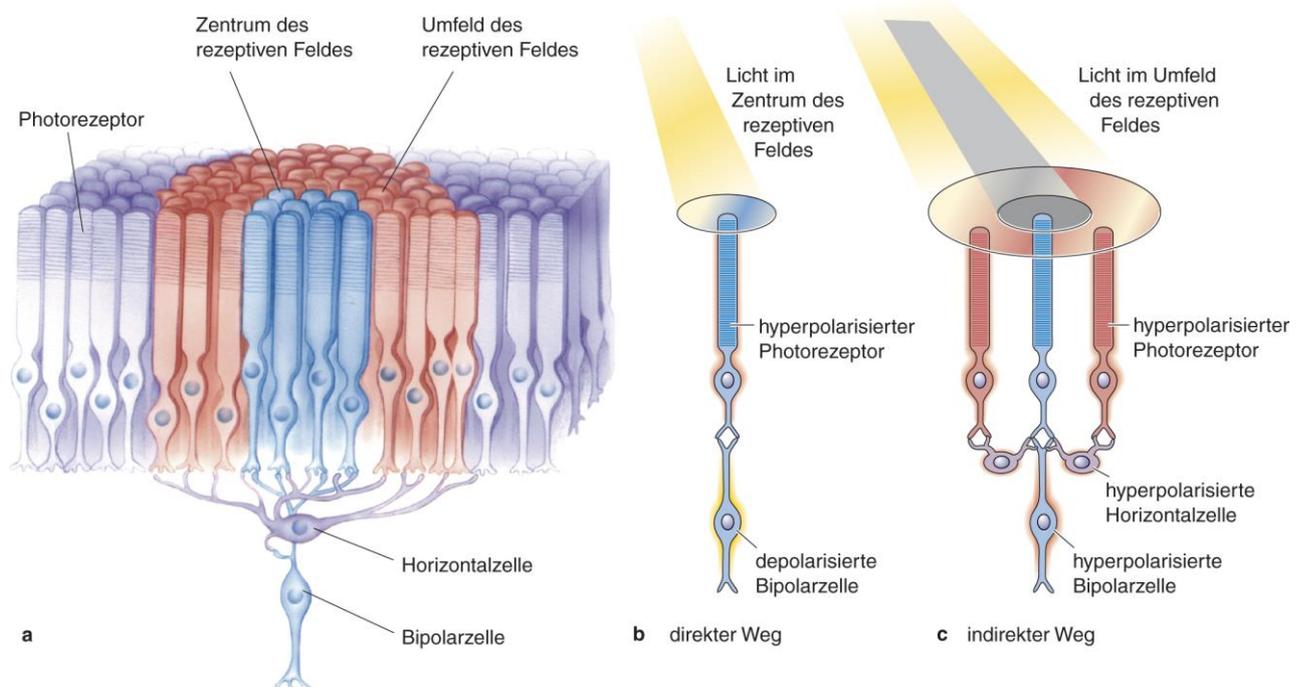
Aus: Bear et al., *Neurowissenschaften*, 3. Aufl. © Spektrum Akademischer Verlag GmbH 2009

Verschaltung der Neurone in der Retina

Die von den Photorezeptoren erzeugten elektrischen Signale werden bereits innerhalb der Retina durch **Bipolarzellen, amakrine Zellen** und **Horizontalzellen** „verarbeitet“ und in dieser Form an die **Ganglienzellen** weitergegeben (Abb.7 B).

Jede Bipolarzelle erhält die Signale von mehreren Photorezeptoren, was man als Konvergenz bezeichnet. Die Fläche, auf der die Photorezeptoren liegen, die mit einer bestimmten Bipolarzelle verschaltet sind, bezeichnet man als das **rezeptive Feld** dieser Bipolarzelle (Abb. 8a). Es gibt verschiedene Typen von Bipolarzellen, die jeweils für die Wahrnehmung von Helligkeitsunterschieden (light ON/OFF), Farben, usw. spezialisiert sind. Allen gemeinsam ist, dass im Zentrum ihres rezeptiven Feldes die Lichtsignale neuronal anders verarbeitet werden als im Umfeld. Trifft Licht zum Beispiel auf das Zentrum eines rezeptiven Feldes einer ON-Bipolarzelle wird diese dadurch depolarisiert (erregt) (Abb. 8b), trifft das Licht dagegen auf das Umfeld des rezeptiven Feldes der gleichen ON-Bipolarzelle, wird sie hyperpolarisiert (gehemmt) (Abb. 8c).

Zentrum und Umfeld eines rezeptiven Feldes reagieren also **antagonistisch**, erreicht wird dieser Effekt durch **laterale Inhibition** über Horizontalzellen. Das Resultat der rezeptiven Felder der Bipolarzellen wird an die Ganglienzellen weitergegeben, dementsprechend gibt es ON- und OFF-Ganglienzellen. Sinn dieser Zentrum/Umfeld-Struktur der rezeptiven Felder ist eine **Verstärkung des Kontrasts** an Hell-Dunkel-Übergängen. Anhand einiger optischer Phänomene lassen sich im Praktikum die Wirkungen der rezeptiven Felder und der lateralen Hemmung veranschaulichen. Hier spricht man – im Gegensatz zu dem Sukzessivkontrast bei Nachbildern – vom **Simultankontrast**, weil sie noch während des Betrachtens sichtbar werden.



Aus: Bear et al., *Neurowissenschaften*, 3. Aufl.
© Spektrum Akademischer Verlag GmbH 2009

Abb. 8 a: Rezeptives Feld einer ON-Bipolarzelle; b und c: Reaktion der Zelle auf Belichtung des Feldzentrums bzw. Reaktion der Zelle auf Belichtung der Feldperipherie (Aus didaktischen Gründen ist die Richtung des Lichteinfalls hier eigentlich falsch dargestellt).

VERSUCH 6

Farbensinn

„Farbe“ ist keine Eigenschaft der physikalischen Welt, sondern lediglich eine Sinnesempfindung. Die unterschiedlichen Wellenlängen des Lichts werden in Nervenimpulse umgewandelt und vom Gehirn interpretiert. Um „Farben“ sehen zu können, benötigt man mindestens zwei Rezeptortypen mit unterschiedlicher spektraler Empfindlichkeit (**Univarianzprinzip**). Die spektrale Empfindlichkeit eines Photorezeptors wird von dem vorhandenen Sehpigment bestimmt. Die im Tierreich verwendeten **Sehpigmente** sind sich erstaunlich ähnlich, sie bestehen jeweils aus einem **Chromophor** (11-cis-Retinal bei den Rhodopsinen bzw. 3-Dehydroretinal bei den Porphyropsinen) und einem Proteinteil, dem **Opsin**. Durch Wechselwirkungen des Proteinteils mit dem Chromophor, verschiebt sich dessen Absorptionsspektrum und so entstehen Sehfärbstoffe mit **unterschiedlichen spektralen Empfindlichkeiten**. Die meisten Säugetiere sind dichromatisch, nur einige Primaten (darunter auch der Mensch) sind trichromatisch, haben also drei verschiedene Zapfentypen. Der Eindruck „Farbe“ entsteht also bei uns durch gleichzeitige aber unterschiedlich starke Reizung der drei Zapfentypen (die man aufgrund der Wellenlänge ihres Absorptionsmaximums vereinfacht als Rot-, Grün- und Blauzapfen bezeichnet), die dann zu einem Farbeindruck „verrechnet“ wird (Abb. 9). Diese Art der Generierung von Farben nennt man **additive Farbmischung**.

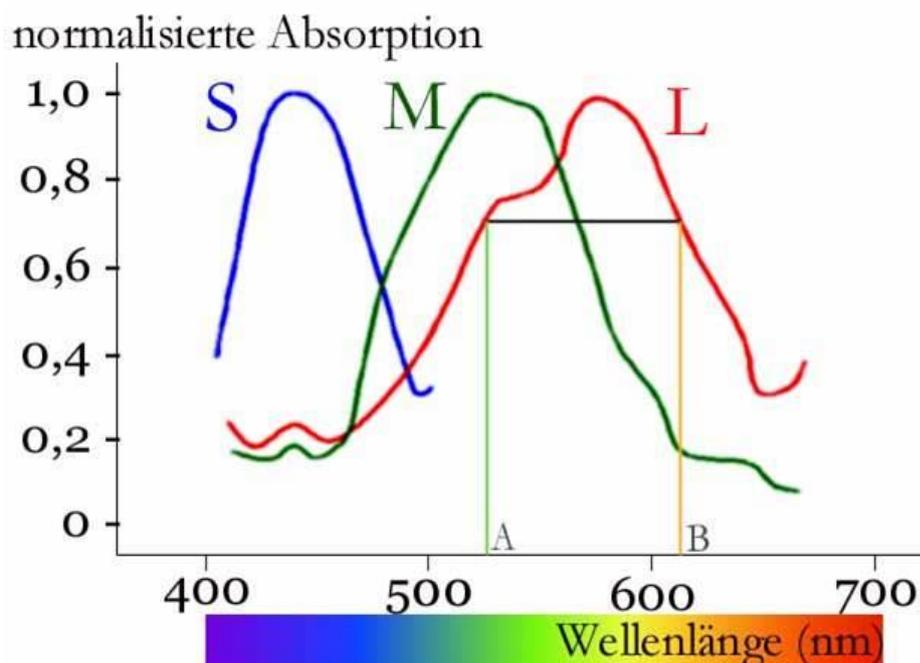


Abb: 9 Additive Farbmischung: der Farbeindruck beim Mischen von Licht verschiedener Wellenlängen entsteht im Gehirn durch Verrechnung der Erregungsintensitäten von Rot-, Grün- und Blauzapfen.

Bei dem gezeigten Beispiel in Abb. 9 ergibt ins Auge fallendes Licht der Wellenlänge A oder B durch die jeweils unterschiedlichen Absorptionen von Grün- und Rotzapfen in einem Fall eindeutig den Farbeindruck „grün“ (Wellenlänge A) und im anderen Fall „gelb“ (Wellenlänge B). Die Reizantworten der verschiedenen Zapfentypen werden bereits innerhalb der Retina verarbeitet. Wie bei den Stäbchen besitzen auch die Ganglienzellen, die Zapfen-Signale verarbeiten, receptive Felder. Die rezeptiven Felder der Zapfensignale haben – ebenso wie die der Stäbchen – Zentrum und Umfeld-Struktur, wobei die Signale im Zentrum und die Signale im Umfeld

antagonistisch wirken. Auch Zapfenpigmente können photochemisch adaptieren, so dass auch beim Zapfensehen Simultankontrast und Sukzessivkontrast beobachtet werden können.

VERSUCH 7

Bestimmung des monokularen Gesichtsfeldes

Das **monokulare Gesichtsfeld** ist der Teil unserer Umwelt, der bei fixiertem Kopf mit nur einem, unbewegten Auge optisch erfasst werden kann. Der mit Sinneszellen besetzte Bereich der Netzhaut im Auge begrenzt das maximale Gesichtsfeld, je nach Augenstellung können aber auch Nase oder Augenbrauen die Wahrnehmung begrenzen. Durch die ungleiche Verteilung von Stäbchen und Zapfen auf der Retina unterscheiden sich die Gesichtsfelder für weiße oder farbige Lichtreize. Der zentrale Teil des Gesichtsfeldes (Bereich der **Fovea centralis**) ermöglicht das scharfe Sehen von Gegenständen, je weiter entfernt vom Zentrum der Gegenstand abgebildet wird, desto unschärfer erscheint er. Der periphere Teil des Gesichtsfelds dient eher der Lenkung der Aufmerksamkeit: Wahrnehmungen im peripheren Gesichtsfeld können reflektorische Augen- und Kopf-Bewegungen auslösen. Im Bereich des Austrittspunktes des optischen Nerves (**Papille**) besitzt die Retina keine Sinneszellen, dort kommt es physiologischerweise zu einem Gesichtsfeldausfall, dem sogen. „**blinden Fleck**“.

VERSUCH 8

Räumliches Sehen

Dadurch, dass wir zwei Augen besitzen, die sich in ihrer Position unterscheiden (6-7cm horizontaler Abstand) sehen wir eigentlich „doppelt“: Jedes unserer Augen nimmt ein „eigenes“ Bild wahr, welches sich von dem Bild des anderen Auges unterscheidet.

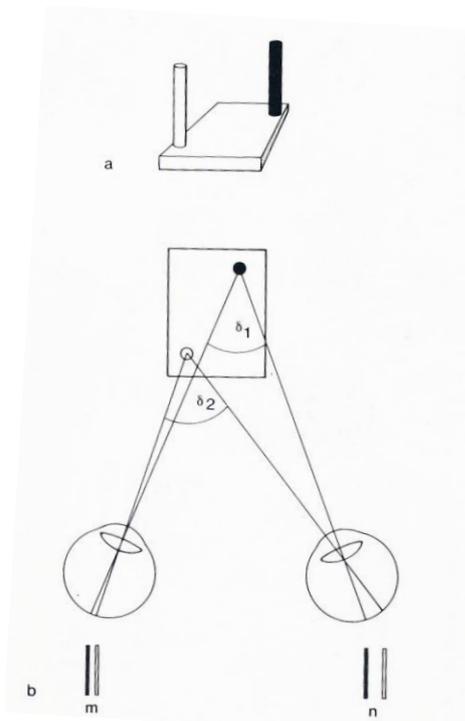


Abb. 10 b: Querdissipation der Netzhautbilder bei Betrachten der Anordnung in a (Aus. Christoph von Campenhausen: „Die Sinne des Menschen“)

Abb. 10 zeigt, dass beim Betrachten der beiden Stäbe in beiden Augen unterschiedliche Netzhautbilder entstehen. Dieser Bildunterschied durch die Verschiebung des Betrachtungswinkels wird **Querdissipation** genannt und ist die Grundlage für unser binokulares räumliches Sehen. Jedoch nehmen wir Dinge, die wir in Augenschein nehmen, nicht doppelt wahr, weil die eigentlich gesehenen Doppelbilder im Gehirn zu einem Einzelbild fusioniert werden. Die Querdissipation wird sozusagen „herausgerechnet“, der Grad der Querdissipation liefert dabei aber dem Gehirn die Information über die räumlichen abgebildeten Dinge.

Beziehungen der

VERSUCH 9

Dunkeladaptation

Die Anpassung des Sehsystems an verschiedene Helligkeiten (**Adaptation**) lässt sich experimentell durch Aufnahme einer Dunkeladaptationskurve verfolgen (Abb. 11).

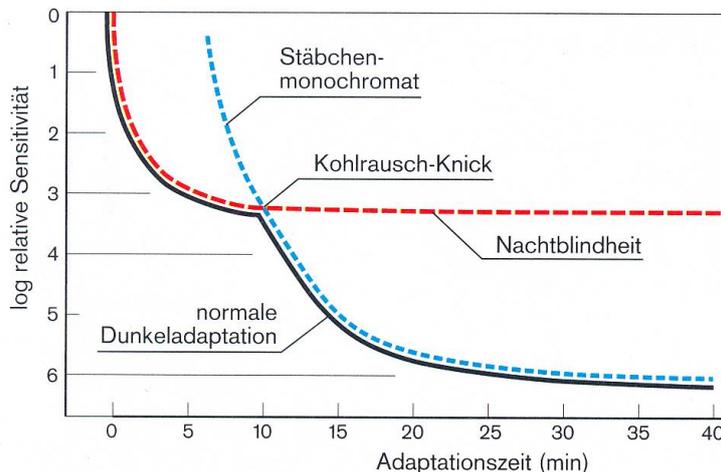


Abb. 11 Dunkeladaptionskurven von normalen Testpersonen (schwarz), Stäbchenmonochromaten (blau) und bei Nachtblindheit (rot). (Aus: Klinke, Pape, Kurtz, Silbernagel: „Physiologie“)

Die Empfindlichkeit des Sehsystems kann über verschiedene Mechanismen (s. Versuche 1, 4 und 5) um das zehnmillionenfache gesteigert werden! Nach der schnellen initialen Pupillenreaktion verläuft die weitere Anpassung jedoch langsam. Nach ca. 10 min geht das **photopische Sehen** in das **skotopische Sehen** über. Im Übergangsbereich sind sowohl Zapfen als auch Stäbchen aktiv, dieser Übergang kann in der Dunkeladaptionskurve als sogenannter „Kohlrauschknick“ beobachtet werden.

VERSUCH 10

Augenbewegungen, Sakkaden

Unsere Augen können sich entlang von 3 Achsen bewegen. Dabei muss man zwischen willkürlichen und unwillkürlichen Augenbewegungen unterscheiden. Man kann ein bestimmtes Ziel mit den Augen „verfolgen“ z.B. einen fliegenden Vogel (Zielfolgebewegung) oder ein Bild betrachten (Exploration). Dabei „entscheidet“ das Großhirn, ob man den Vogel verfolgen will oder welche Teile der bildlichen Darstellung ins „Visier“ genommen werden und in welcher Reihenfolge. Solche Zielfolgebewegungen oder die Blickführung zur Exploration sind **willkürliche Augenbewegungen** und somit kortikal gesteuert. Davon abzugrenzen sind die unwillkürlichen sogen. **kompensatorischen Augenbewegungen**, die dazu dienen, das Bild auf der Retina stabil zu halten, beispielsweise bei Bewegung des Körpers (vestibulookularer Reflex bei Kopfdrehung) oder wenn sich die visuelle Welt bewegt (optokinetischer Reflex beim Herausschauen aus einem fahrenden Zug). Hierzu zählt auch das Schielen beim Betrachten eines nahen Gegenstands (Vergenzbewegung, s. Konvergenzreaktion der Pupille Abb. 6B), die das Auftreten von Doppelbildern verhindert.

Tierphysiologisches Praktikum: Sinnesphysiologie I: das visuelle System

Man unterscheidet langsame und schnelle Augenbewegungen. Die schnellen Augenbewegungen beim Wechsel von Fixationspunkt zum nächsten Fixationspunkt heißen **Sakkaden**.

Beim Betrachten („Explorieren“) unserer Umgebung machen wir ca. 3 willkürliche Sakkaden pro Sekunde. Nach jeder Sakkade stehen die Augen für mindestens 200 ms still in der sogen. **Fixationsperiode**. Nur in dieser Zeit nehmen wir Informationen auf! Sakkaden können aber auch Teil von unwillkürlichen Augenbewegungen sein (zum Beispiel Nystagmus).

VERSUCHE

Die Versuchsergebnisse werden in das Kurzprotokoll am Ende des Skripts eingetragen.

VERSUCH 1

Bestimmung der Sehschärfe (Visus)

VERSUCH 1



Visus in heller Umgebung

- Von Markierung aus Sehprobentafel mit einem Auge betrachten
- angeben, in welche Richtung die Lücken in den Ringen zeigen
- diejenige Zeile in der Probentafel ermitteln, in der alle Zeichen noch korrekt erkannt werden
- Der Visus entspricht dann der Istentfernung (6 m) durch die bei der entsprechenden Zeile angegebenen Sollentfernung in m
Bsp: Der Visus ist 1, wenn aus einer Istentfernung von 6 m die Zeichen der Sollentfernung von 6 m korrekt erkannt werden. Er beträgt 0,5, wenn nur die Zeichen der Sollentfernung 12 m fehlerfrei gelesen werden können. Auf den verwendeten Sehprobentafeln ist der Visus für die Testentfernung in jeder Zeile angegeben

VERSUCH 2

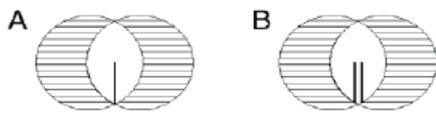
Akkommodation und räumliches optisches Auflösungsvermögen

VERSUCH 2



Bestimmung des Nahpunktes mit dem Optometer nach Scheiner. Diese Vorrichtung wandelt die Kriterien „scharf“ und „unscharf“ in „einfach“ oder „doppelt“ um:

- Brille abnehmen! Kontaktlinsen brauchen nicht entfernt zu werden (Dioptrienzahl im Protokoll vermerken).
- Die Nadel wird ca. 30 cm vor der Lochblende platziert.
- Durch die Löcher auf die Nadel schauen (Optometer gegen einen möglichst hellen Hintergrund ausrichten). Die Nadel erscheint in der Schnittfläche zweier unscharfer Kreise (s. Abb. A).



- Nadel fixieren und solange Richtung Auge heranschieben, bis sie doppelt erscheint (Abb. B) Die Entfernung zwischen Auge und Nadel, bei der die Nadel gerade noch einfach gesehen werden kann, wird ausgemessen, das ist der Nahpunkt.
- Messung dreimal mit dem gleichen Auge wiederholen, der kleinste erzielte Wert zählt.

VERSUCH 3

Zeitliches optisches Auflösungsvermögen

Mit Hilfe einer Leuchtdiode und eines Generators werden Lichtreize in unterschiedlicher Frequenz erzeugt. Die Versuchsperson soll die Blinkfrequenz bestimmen, bei welcher nicht mehr der Eindruck von einzelnen Lichtpulsen sondern von Dauerlicht besteht. Der Versuch wird einmal mit „normalem“ Auge durchgeführt und einmal mit abgedunkeltem Auge.

VERSUCH 3A

Bestimmung der Flimmerverschmelzungsfrequenz:

- Leuchtdiode etwa im Abstand von 10-15 cm vor das linke Auge halten und fixieren, das rechte Auge schließen.
- Helfer erzeugt verschiedene Blinkfrequenzen (beginnend mit 10 Hz, langsam ansteigend).
- Versuchsperson gibt an, ab welcher Frequenz das Blinken in Dauerlicht überzugehen scheint. Diese wird als Flimmerverschmelzungsfrequenz des zentralen Gesichtsfeldes notiert

VERSUCH 3B

- Versuchsperson schaut bedeckt Auge mit Sonnenbrille bei Messung
- Übriges Vorgehen wie bei 3A

Pulfrich Pendel

Die Versuchsperson betrachtet mit beiden Augen ein Pendel, das sich vor einem schwarzen Hintergrund hin und her bewegt. Bei Abdunkeln eines Auges durch eine präparierte Sonnenbrille entsteht eine optische Täuschung.

VERSUCH 3C

- vor das Pendel setzen und Pendelbewegung starten.
- Sonnenbrille mit rechtem Glas aufsetzen, Pendel mit beiden Augen beobachten was beobachtet man (es kann einige Zeit dauern, bis der Eindruck entsteht)?
- Sonnenbrille mit linkem Glas aufsetzen, was verändert sich?

VERSUCH 4

Beobachtungen zum Augenbau, entoptische Erscheinungen

VERSUCH 4A



Retinale Blutgefäße:

- Mit geschlossenen Augen nach links schauen. Strahl der kleinen Taschenlampe auf die rechte Seite des rechten Augenlids richten (Taschenlampe leicht gegen das Augenlid drücken) und etwas hin und her bewegen.
- Durch leichtes Auf- und Abbewegen der Taschenlampe bleibt das verzweigte Zickzackmuster der Gefäße sichtbar.
- In der Mitte des Blickfelds befinden sich keine Blutgefäße. Die Blutgefäße sind kreisförmig um das Feld angeordnet.
- Die meisten Menschen können den Ursprung des verzweigten Gefäßmusters in einem kleinen Bereich rechts neben der Mitte ausmachen. Dies ist der blinde Fleck (die Papille).

VERSUCH 4B



Die direkte und konsensuelle Pupillenreaktion sowie die konvergente Pupillenreaktion bei der Naheinstellung werden beobachtet:

- Versuchsperson legt die rechte Hand mit der Handkante an den Nasenrücken, um rechtes und linkes Auge voneinander abzuschirmen. Dabei den Blick in möglichst dunklen Bereich richten (nicht aus dem hellen Fenster schauen!).
- Helfer leuchtet (vorsichtig und aus mittlerer Entfernung!) mit der Taschenlampe erst in ein Auge der Versuchsperson, dann in das andere Auge. Was kann man beobachten?
- Helfer hält jetzt den Zeigefinger der rechten Hand im Abstand von ca. 10 cm vor die Nase der Versuchsperson, diese schaut dabei in die Ferne
- Auf Kommando soll Versuchsperson nun den vor sie gehaltenen Finger fixieren, dabei beobachten die anderen die Augen. Was passiert?

VERSUCH 4C



Mit Hilfe der Karten nach Mariotte kann die Lage des blinden Flecks relativ zur Fovea bestimmt werden:

- Das rechte Auge wird abgedeckt
- Kreuz vor das linke Auge halten, der Punkt zeigt Richtung linke Schläfenseite
- Das Kreuz fixieren und Karte dabei so von sich weg bzw. zu sich hin bewegen, bis der Punkt in einer bestimmten Position „verschwindet“. In dieser Position verharren.
- mit Hilfe des Lineals den Abstand vom Auge zur Karte ausmessen.

- Die Karte weiter in der gleichen Richtung bewegen, bis der Punkt wieder erscheint. In dieser Position verharren und den Abstand ausmessen.
- Mit Hilfe des Strahlensatzes kann aus dem Abstand von Punkt zu Kreuz auf der Karte, dem Abstand der Karte zum Auge und dem Abstand von Netzhaut zur Linse (17 mm) der Abstand des blinden Flecks zur Fovea bestimmt werden.

VERSUCH 5

Augenbewegungen, Sakkaden

Durch Ableitung eines EOG (Elektrookulogramm) können die Augenbewegungen beim Lesen aufgezeichnet werden. Die Ableitung wird mit dem Power-lab vorgenommen, eine Anleitung hierfür liegt am Platz aus.

VERSUCH 5

- Kabel wie in der Abb. mit den Klebeelektroden verbinden (grün in die Mitte). Klebeelektroden wie in der Abbildung gezeigt zwischen den Augenbrauen und an den äußeren Augenwinkeln der Versuchsperson anbringen.
- Helfer startet das LabTutor Programm, Versuchsperson liest die Texte.
- Nach Abschluss der Messungen Messspur auswerten.

VERSUCH 6

Farbensinn

VERSUCH 6A

Mit Hilfe eines Overhead Projektors und Farbfiltern soll der Unterschied zwischen additiver und subtraktiver Farbmischung verdeutlicht werden:

- Rotes, blaues und grünes Licht mit den justierbaren Spiegeln an die Leinwand spiegeln. Lichtkegel überlappen lassen, welche Mischfarben entstehen, wie nennt man diese Art der Farbmischung?
- Gelb, Cyan und Magenta-Filter auf Overhead-Projektor legen und durchscheinendes Licht betrachten (nicht an Wand spiegeln). Welche Mischfarben entstehen durch Übereinanderlegen der Folien, wie nennt man diese Art der Farbmischung?

VERSUCH 6D

Mit den Farbtafeln nach Ishihara kann man eventuell bestehende Farbfehlsichtigkeiten aufdecken.

- Nacheinander die Farbtafeln Nr. 1,2,6,10,14 und 18 im Abstand von 75 cm betrachten und innerhalb von 3 sec (!) die gezeigte Zahl notieren.

VERSUCH 7

Bestimmung des monokularen Gesichtsfeldes

VERSUCH 7A



Messung

von

Gesichtsfeld und blindem Fleck für weißes Licht mit dem

Perimeter :

- An der Rückseite des Perimeters wird das Koordinatensystem mit der Blaupause entsprechend den Markierungen befestigt. Der Schwenkarm am Perimeter wird waagrecht fixiert (Der Lichtpunkt bewegt sich dann in der Senkrechten). Über die drei kleinen Einstellrädchen am Schwenkarm wird die Größe des Lichtpunkts auf mittel („Ein Strich“), die Lichtfarbe weiß (weisser Punkt) und die Intensität hell (weisser Punkt) eingestellt.
- Die Versuchsperson nimmt am Perimeter Platz und schließt linkes Auge. Mit dem rechten Auge fixiert sie während des kompletten Versuchs den kleinen Spiegel im Zentrum der Perimeterkugel. NICHT DEM LICHTPUNKT HINTERHERSEHEN!
- Helfer bringt den Lichtpunkt über das Einstellrad am Rücken des Perimeters an den äußeren Rand der Halbkugel.
- Helfer bewegt den Lichtpunkt über das Einstellrad langsam in den zentralen Bereich der Halbkugel.
- Die Versuchsperson soll die Position angeben, ab der der Lichtpunkt wahrgenommen wird. Dieser Punkt wird durch Druck auf den Federstift auf dem Koordinatensystem markiert.
- Helfer bewegt Lichtpunkt über das Zentrum hinweg zur gegenüberliegenden Seite der Halbkugel (im Randbereich langsamer bewegen!!).
- Die Versuchsperson gibt Position an, ab welcher der Lichtpunkt nicht mehr wahrgenommen werden kann. Dieser Punkt wird wieder markiert.
- Die Messung wird in 45° -Abständen wiederholt, Dazu wird der Schwenkarm um den entsprechenden Wert geschwenkt. ACHTUNG: Auf der 0-180° Linie befindet sich der blinde Fleck! Zusätzlich die Positionen markieren, an denen der Lichtpunkt verschwindet und wieder auftaucht!

VERSUCH 7B



- Die Messung wird analog mit dem grünen Lichtpunkt (grüner Punkt am Einstellrädchen) wiederholt. WICHTIG für Versuchsperson: beim farbigen Licht erst dann reagieren, wenn die FARBE erkannt wird, NICHT wenn Licht wahrgenommen wird !!!

VERSUCH 8

Räumliches Sehen

Durch die Stellung unserer Augen sehen wir tatsächlich Doppelbilder, wobei die Umgebung jeweils aus unterschiedlichen Winkeln wahrgenommen wird. Diese

Doppelbilder werden im ZNS zu einem räumlichen Eindruck fusioniert. Das kann man mit folgenden Versuchen nachvollziehen.

VERSUCH 8A 

Nachweis der Doppelbilder/Fusion der Doppelbilder :

- Zeigefinger senkrecht vor das Gesicht halten, entfernten Gegenstand mit beiden Augen betrachten, man sieht dann zwei Finger!
- Auf die senkrechte vordere Kante einer Karteikarte schauen, die Karte erscheint wie die Schneide eines Beils oder ein Schiffsbug!
- Gleiche Stellung der Karte und auf den oben eingezeichneten Fixierpunkt schauen. Die obere Kante der Karte hat dann eine X-Form!
- Skript zu „Fernrohr“ zusammenrollen, und mit dem rechten Auge hindurch in die Ferne sehen, gleichzeitig mit linkem Auge die linke Hand etwa im Abstand der halben Fernrohrlänge betrachten: es erscheint ein „Loch“ in der Hand!

VERSUCH 8B 

Abhängigkeit der Tiefenwahrnehmung von der Querdisparität:

- Helfer hält Schachtel in Augenhöhe der Versuchsperson hochkant mit geschlossener Klappe vor Leuchttisch, Klappe öffnen, Versuchsperson gibt an, in welcher räumlichen Beziehung die Stäbe zueinander stehen (in einer Linie, versetzt)?
- Jetzt Klappe schließen, die Schachtel um 90° drehen und Klappe wieder öffnen. Fällt es der Versuchsperson leichter oder schwerer die räumliche Beziehung zu erkennen?

VERSUCH 8C 

Abhängigkeit der Tiefenwahrnehmung von der Querdisparität:

- Stäbe an beliebigen Stellen auf den Linien platzieren
- Auf den Boden knien, ein Auge schließen und Anordnung von der Markierung aus so betrachten, dass man weder die oberen noch die unteren Enden der Stangen sieht: die Stäbe scheinen in einer geraden Reihe zu stehen
- Zweites Auge öffnen: Stäbe „springen“ an ihre wahre Position.

Versuch 8D 

Stereoskopische Scheintiefe („3D Kino“) lässt sich erzeugen, wenn man beiden Augen unterschiedliche Bilder anbietet und vom ZNS fusionieren lässt.

- Präsentation „3D“ öffnen und durchklicken.

VERSUCH 9

Dunkeladaptation 

Messung einer Dunkeladaptationskurve (Erst mit der Messtechnik vertraut machen, dann die Beleuchtung ausschalten!):

- Die helladaptierte Versuchsperson nimmt auf dem Stuhl in dem Dunkelraum Platz mit Blickrichtung zur LED.
- Helfer löscht das Raumlicht (Atelierlampe und Deckenleuchte) und schließt die Tür (völlige Dunkelheit!).
- Helfer schaltet dimmbare LED ein und erhöht die Stromstärke soweit, bis die Versuchsperson das Licht wahrnimmt. Stromstärke an der Reizschwelle notieren.
- Helfer schaltet Leuchte aus und dreht Stromrad wieder auf „0“
- Nach 1 min wird wieder die Stromstärke erhöht, bis die Versuchsperson die Zahl gerade erkennt (Wert notieren). Leuchte sofort wieder aus, Stromrad wieder auf „0“ stellen.
- Im Abstand von 1 min werden weitere Schwellenwerte bestimmt und in das halblogarithmische Koordinatensystem im Auswertungsteil eingetragen.

VERSUCH 10

Adaptation, Rezeptive Felder im visuellen System

VERSUCH 10



Sukzessivkontrast/Simultankontrast :

- Präsentation „Sukzessivkontrast und Simultankontrast“ öffnen und Bildschirmweisungen befolgen.

KURZPROTOKOLL

VERSUCH 1

- Visus: _____
- Welche 3 Faktoren bestimmen die Sehschärfe? _____

VERSUCH 2

- Berechnen Sie aus dem ermittelten Nahpunkt Ihre maximale Brechkraft für Nahakkommodation D_N in Dioptrien (dpt).

Mit:
$$D_N \text{ [dpt]} = \frac{1}{NP} \left[\frac{1}{m} \right]$$

NP = ermittelter Nahpunkt in Meter

VERSUCH 3

- Flimmerfusionsfrequenz „normal“ _____
- Flimmerfusionsfrequenz „dunkel“ _____
- Wodurch entsteht der Unterschied in der FFF?

- Wodurch entsteht die räumliche Illusion beim Betrachten des Pendels?

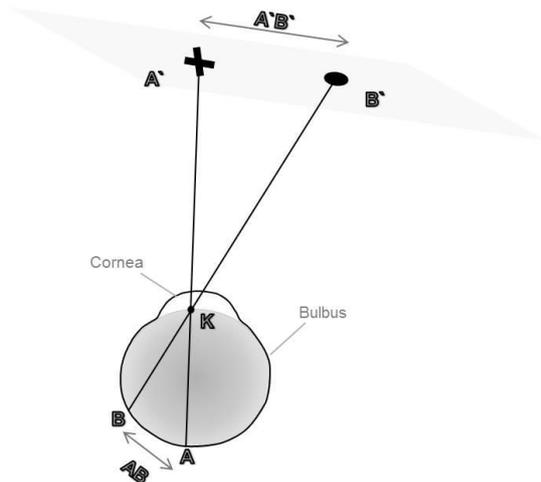
VERSUCH 4

- Was geschieht mit der Pupille des beleuchteten Auges, was mit der Pupille des abgeschatteten Auges? Wie nennt man diese Reaktionen?

- Warum verengt sich die Pupille beim Nahsehen?

- Lage des blinden Flecks:

Minimaler Abstand der Karte zum Auge: $X_{\min} =$
 Maximaler Abstand der Karte zum Auge: $X_{\max} =$
 Mittlerer Abstand: $X_{\text{mittel}} =$
 Durchmesser Bulbus = 24mm
 Abstand Knotenpunkt zur Cornea = 7mm
 Durchmesser Punkt auf der Karte = 10mm
 Abstand Kreuz und Punkt = 75mm



Strahlensatz:

$$AB/A'B' = AK/KA'$$

$$AB =$$

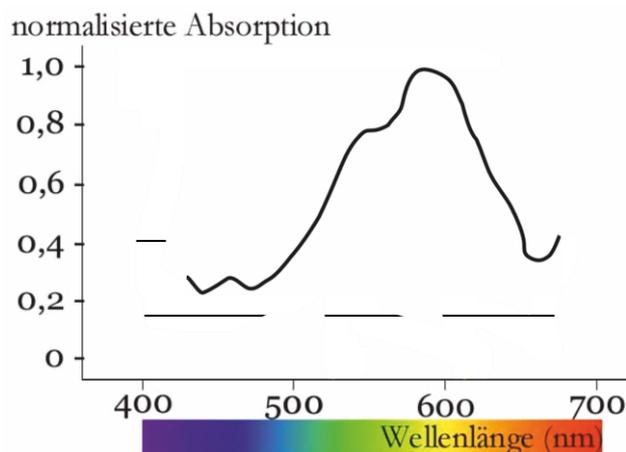
—
—

VERSUCH 5

- Wie lange brauchen die Augen um vom Ende einer Zeile zum Anfang der nächsten Zeile zu springen?

- Welche Phasen dauern beim komplizierten Text länger als beim einfachen Text? Warum?

VERSUCH 6



- Sie verfügen nur über den Zapfen, der die hier gezeigte spektrale Empfindlichkeit hat. Auf Ihren Zapfen fällt Licht der Wellenlänge 550 nm, welche Farbe können Sie dann sehen?

Tierphysiologisches Praktikum: Sinnesphysiologie I: das visuelle System

- Warum entsteht beim Mischen von blauem und gelbem Licht der Eindruck weiss?

- Warum gibt es im Regenbogen nicht die Farbe Magenta?

VERSUCH 7

- Wie unterscheiden sich die beiden Gesichtsfelder für weißes und grünes Licht?

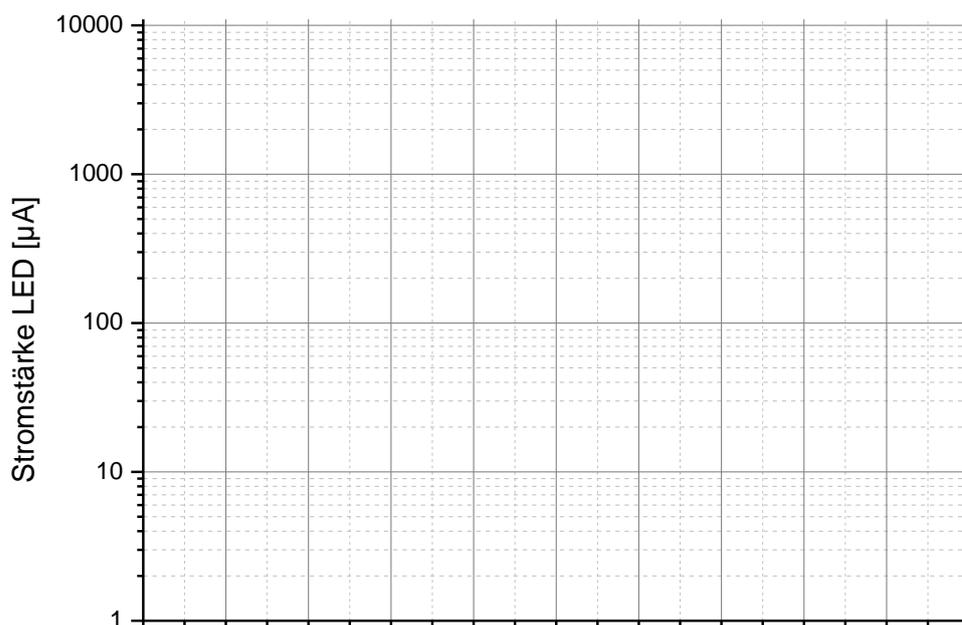
- Warum fällt der blinde Fleck im „Alltag“ nicht weiter auf?

VERSUCH 8

- Warum erkennt man bei dem Dreistäbe-Test schwerer die räumliche Tiefe, wenn die Stäbe waagrecht gehalten werden?

VERSUCH 9

- Tragen Sie die ermittelten Schwellenwerte in das halblogarithmische Koordinatensystem ein. Wie verläuft die Kurve? Begründen Sie den Verlauf.



VERSUCH 10

1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19 20

Minuten

- In der Präsentation „Simultankontrast“: Welcher graue Kreis ist heller? Ist der Farbgradient/Helligkeitsgradient in den einzelnen Streifen echt?

- In der Präsentation „Sukzessivkontrast“: Was erscheint nach längerem „Anstarren“ der schwarz/weiß Abbildung bzw. der farbigen Abbildung, wenn man anschließend die weiße Fläche betrachtet?

- Worauf beruht der Sukzessivkontrast /Negative Nachbilder?

- Worauf beruht der Simultankontrast?

Name, Matrikelnummer: _____

Datum: _____

Teilnahme bestätigt durch Unterschrift des Dozenten: _____

Sinnesphysiologie II

Allgemeine Regeln

- Es gibt 10 Stationen, an denen jeweils bestimmte Sinnesleistungen untersucht werden. Teilweise werden an einer Station mehrere Selbstversuche durchgeführt.
- Die 10 Stationen werden nacheinander von allen Gruppen durchlaufen
- Einige Versuche werden mit nur einer Versuchsperson aus der Gruppe durchgeführt, andere Versuche können alle Gruppenmitglieder selbst austesten (darauf wird bei der jeweiligen Versuchsbeschreibung hingewiesen).
- Das Kapitel „Hintergrundwissen zu den Versuchen“ stellt den Bezug her zwischen den praktischen Übungen und der zugrunde liegenden Theorie. Dieses Kapitel bitte vor dem Praktikum lesen, die Theorie wird vorausgesetzt. Die Fragen der Quicktests orientieren sich am Skript.

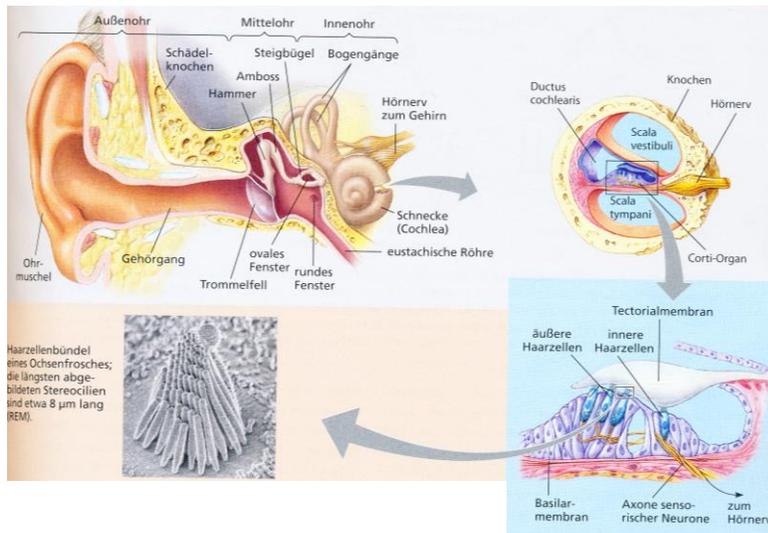
ACHTUNG: am Ende des Praktikumstages wird das Kurzprotokoll durch die Aufsichtsperson kontrolliert und unterschrieben.

Kursleitung: Prof. Dr. Ulf Bickmeyer (ulf.bickmeyer@awi.de)

Hintergrundwissen zu den Versuchen

Auditorischer Sinn

Das empfindlichste Sinnesorgan des Menschen ist das Ohr. Die Schallwellen aus der Luft werden vom **Außenohr**, bestehend aus **Ohrmuschel** und **Gehörgang** in das Gehörssystem eingeleitet. Über das Trommelfell gelangen sie ins **Mittelohr** in dem sich die 3 Gehörknöchelchen **Hammer**, **Amboss** und **Steigbügel** befinden. Das Mittelohr dient zur **Verstärkung der Schallwellen**, die von der gasförmigen Außenluft (also einem Medium mit geringem Widerstand) auf das flüssigkeitsgefüllte Innenohr (einem Medium mit höherem Widerstand) übertragen werden müssen. Zwei Mechanismen sorgen für die Verstärkung: 1. Die Fläche des Eingangs zum Mittelohr (**Trommelfell**) ist um das dreißigfache größer als die Fläche des Ausgangs vom Mittelohr (**ovales Fenster**). Wird Druck von einer großen auf eine kleine Fläche übertragen, verstärkt sich dieser entsprechend. 2. Die Gehörknöchelchen sind hebelartig angeordnet. Die Hebelwirkung der Knöchelchen verstärkt den Druck noch einmal.



Am ovalen Fenster werden die Schallwellen auf die flüssigkeitsgefüllte Cochlea im **Innenohr** übertragen, dem eigentlichen Hörsinnesorgan. Sie besteht aus 3 flüssigkeitsgefüllten Schläuchen: der **Scala Vestibuli**, **Scala Media (Ductus Cochlearis)** und **Scala Tympani** (Abb.1). In der Scala Media liegt die **Basilarmembran**, die das das Corti-Organ mit den **Haarsinneszellen** und der **Tektorialmembran** trägt. Schallwellen lösen eine Wellenbewegung der Endolymphe in den Scalen aus, die sich auf die Basilarmembran überträgt. Die Haarsinneszellen ragen in die

Tektorialmembran und werden bei Schwingungen mechanisch gegen diese ausgelenkt. Dadurch entsteht ein Rezeptorpotential, das mit Hilfe von Neurotransmittern auf das nachfolgende Axon übertragen wird. Haarsinneszellen sind damit **sekundäre Sinneszellen**.

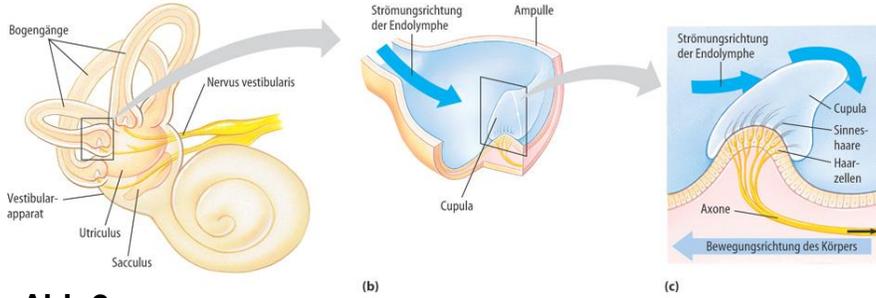
Die ungeheure Präzision des Gehörs wird beim Richtungshören deutlich. Hierzu werden in höheren Hirnzentren (**Olivenkernkomplex**) die von beiden Ohren einlaufenden Serien von Aktionspotentialen verglichen. An dem der Schallquelle näheren Ohr, kommt der Schall immer etwas früher an und ist außerdem etwas lauter als am Gegenohr. Im Praktikum bestimmen wir den Zeitunterschied zwischen dem rechten und dem linken Ohr, bei dem man gerade noch die Richtung, aus der der Schall kommt, wahrnehmen kann (Versuch 1).

Schallwellen können nicht nur über die Luft und das Trommelfell in das Innenohr gelangen, sondern auch über den Schädelknochen, der in Schwingung versetzt wird (**Knochenleitung**). Das spielt insbesondere beim Hören der eigenen Stimme eine Rolle. Da der Knochen über eine höhere Dichte verfügt als die Luft, ist die Knochenleitung weniger effizient als die Luftleitung (Versuch 2).

Die Basilarmembran ist an der Basis schmal und steif und wird zur Spitze hin immer weicher und flexibler. Je nach Tonhöhe (**Frequenz**) werden unterschiedliche Bereiche der Basilarmembran besonders stark zum Mitschwingen angeregt (hohe Töne erregen die Basis optimal, tiefe Töne die Spitze), so dass das Gehirn aus dem Ort der maximalen Auslenkung auf die Frequenz des Tones schließen kann (**Frequenz-Ortsabbildung**). Junge Menschen können Töne zwischen 20 und 20000 Hz wahrnehmen, mit dem Alter nimmt die Obergrenze der Frequenzwahrnehmung ab. Die **Hörschwelle**, also diejenige Schwelle bei der man einen Ton noch wahrnehmen kann hängt von der Frequenz und der Lautstärke (**Amplitude**) eines Tons ab. Im Praktikum wird die untere Hörschwelle bestimmt, indem die Lautstärke eines deutlich hörbaren Tons einer bestimmten Frequenz langsam erniedrigt wird, bis dieser nicht mehr wahrgenommen wird (Versuch 3).

Gleichgewichtssinn

Das Gleichgewichtssystem des Menschen befindet sich ebenfalls im Innenohr und besteht aus dem



Vestibularapparat zu dem zwei Kammern (**Utriculus und Sacculus**) und die drei **Bogengänge** gehören. Die darin enthaltenen Haarzellen messen die Orientierung des Körpers im Raum sowie Beschleunigung. In Utriculus und Saccus wird die Schwerkraft und die Kraft die bei linearer Beschleunigung

Abb 2

© Campbell/Reece, Biologie, 6. Aufl., 2004

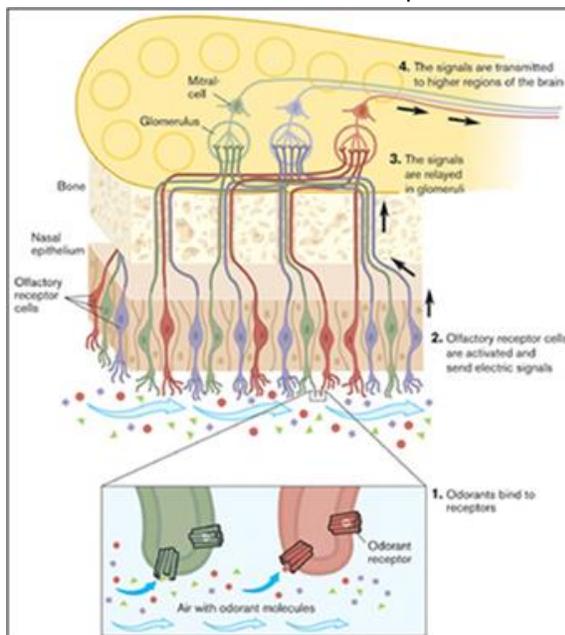
(also Beschleunigung ohne Drehbewegung) registriert. Die benachbarten Bogengänge messen die Drehbeschleunigung. Die drei Bogengänge sind in den drei Ebenen des Raums ausgerichtet. Sie sind mit Endolymphe gefüllt und haben an ihrer Basis jeweils eine Verdickung (Ampulle), in der **Haarzellen** lokalisiert sind (s. Abb 2). Die Cilien der Haarzellen ragen in eine gallertartige Masse (**Cupula**). Wird der Kopf gedreht, bewirkt die Trägheit der Endolymphe in den Bogengängen (die immer etwas hinter der eigentlichen Bewegung „herhinkt“), dass sich die Flüssigkeit nicht schnell genug mit dem Kopf mitbewegt. Dadurch entsteht eine Kraft auf die Cupula und die Cilien der Haarsinneszellen werden abgelenkt. Die Entladungsraten der sensorischen Neurone erhöhen sich proportional zur Beschleunigung. Wird eine Bewegung in gleichbleibender Geschwindigkeit fortgesetzt, setzt eine Anpassung ein. Die Endolymphe bewegt sich ebenso schnell wie der Kopf und die Kraft auf die Cupula lässt nach. Wird die Drehung abrupt gestoppt, bewegt sich die Endolymphe für kurze Zeit weiter und stimuliert die Haarzellen erneut, so dass der Eindruck einer weitergeführten Bewegung entsteht (Versuch 4).

Die chemischen Sinne

Geruch- und Geschmacksinn sind spezialisierte chemische Sinne und haben dieselbe Aufgabe: sie sollen **chemische Verbindungen aus der Umgebung wahrnehmen**.

Geruch

Der Geruchssinn ist sehr empfindlich, er ermöglicht die Detektion auch kleinster Mengen von Geruchssubstanzen und dient dadurch als typischer Fernsinn. Geruchssinneszellen sind **primäre Sinneszellen**. Sie bilden Aktionspotentiale aus und verfügen über ein Axon, welches in das zentrale Nervensystem einwächst und dort die Geruchsinformation auf die nachgeschalteten Neurone überträgt.



Jedes sensorische Neuron exprimiert nur eine „Sorte“ Geruchsrezeptor. Die Sinneszellen mit den unterschiedlichen Rezeptoren sind mehr oder weniger gleichmäßig im Riechepithel verteilt, ihre Axone werden beim Eintritt in den Riechknäuel „sortiert“, so dass die Informationen derjenigen sensorischen Neurone, die denselben Geruchsrezeptor exprimieren, in der gleichen Schaltstelle (Glomerulus) zusammenlaufen (s. Abb 3). Ein Geruchsstoff aktiviert immer **mehrere Geruchsrezeptoren in einem spezifischen Muster**. Dies führt zur charakteristischen Aktivierung mehrerer Glomeruli für jeden Geruch. Diese Muster können sich ähneln, so dass wir beim Riechen oftmals erst bemerken, dass wir „irgendetwas“ riechen (an der sogenannten **Empfindungsschwelle**) und erst bei höheren Konzentrationen den bestimmten Duft erkennen (**Erkennungsschwelle**).

Abb 3

Beim Riechen verschiedener Substanzen gleichzeitig überlappen sich die Aktivitätsmuster. Daher fällt es uns schwer, einzelne Geruchssubstanzen aus einem Gemisch herauszuriechen. Das wird im Praktikum deutlich an der Bestimmung der Empfindungs- und Erkennungsschwelle für einen einzelnen Geruchsstoff und für den Geruchsstoff im Gemisch mit einem anderen (Versuch 5).

Geschmack

Der Geschmacksinn dient zur Kontrolle der Genießbarkeit der aufgenommenen Nahrung und steuert die

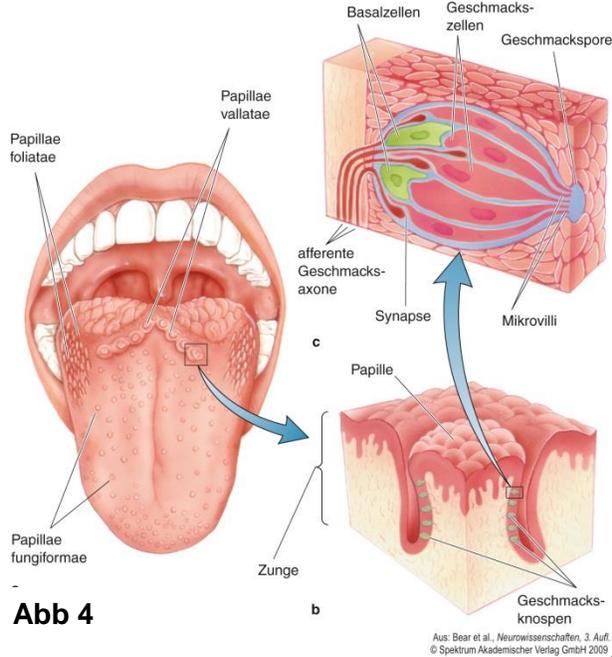


Abb 4

reflektorischen Vorgänge im oberen Gastrointestinaltrakt. Geschmackszellen sind **sekundäre Sinneszellen**, das heißt, dass sie kein eigenes ableitendes Axon besitzen, sondern den Reiz über die Ausschüttung von Neurotransmittern auf das nachfolgende Axon übertragen. Wird eine Geschmackszelle durch eine passende chemische Verbindung aktiviert, verändert sie ihr Membranpotential, sie depolarisiert. Das Rezeptorpotential führt zur Freisetzung eines bisher unbekanntem Neurotransmitters, der die afferenten Neurone erregt.

Etwas 50-150 Geschmackszellen sind zusammen mit Basalzellen in sogenannte **Geschmacksknospen** eingebettet, mehrere hundert solcher Geschmacksknospen sind in einer **Geschmackspapille** zusammengefasst (Abb 4). Geschmackspapillen befinden sich sowohl auf der Zunge als auch in der Mundschleimhaut. Dem Geschmacksinn werden 6 Reizqualitäten zugeordnet: **süß, sauer, bitter, salzig, fettig und umami** (japanisch „köstlich“, ein durch Glutamat

ausgelöster Geschmack). Die einzelnen Geschmacksqualitäten lassen sich nicht ausschließlich auf bestimmte Bereiche der Zunge begrenzen, es gibt jedoch gewisse bevorzugte Zonen für eine bestimmte Geschmackswahrnehmung (Versuch 7).

Das Aroma einer Speise entsteht aus einem komplexen Muster unterschiedlich starker Erregungen der afferenten Fasern und der zusätzlichen Information, die durch den offenen Rachenraum über den Geruchssinn wahrgenommen wird (Versuch 6).

Somatosensorisches System

Im Gegensatz zu allen anderen Sinnessystemen sind die Rezeptoren des somatosensorischen Systems nicht auf ein Sinnesorgan beschränkt, sondern erstrecken sich über den gesamten Körper (**Haut, Muskeln, Organe**). Zum somatosensorischen System gehören der **Tastsinn**, das **Temperaturempfinden**, der **Schmerzsinn** und die **Propriozeption**.

Tastsinn

Mechanorezeptoren sind spezialisierte Zellen, die mechanische Reize, wie zB Druckveränderungen registrieren und in elektrische Signale umwandeln. Sie sind wichtig für die Kontrolle des Zellvolumens, Tast-, Hör-, und Gleichgewichtssinn. Eine Gruppe von Mechanorezeptoren sind die Berührungsrezeptoren, die Berührung, Druck und Vibration auf der Körperoberfläche wahrnehmen. Man unterscheidet mehrere Arten von Berührungsrezeptoren: Freie Nervenendigungen, die in der Epidermis liegen, Merkel-Tastscheiben (freie Nervenendigungen, die mit einer vergrößerten Epidermiszelle in Verbindung stehen), Haarwurzelplexi, die sich um die Basis der Haarfollikel wickeln, Ruffini Körperchen im Bindegewebe und Paccini Körperchen tief in der Haut, sowie in Muskeln und Organen. Sowohl freie Nervenendigungen als auch Merkel Tastscheiben dienen der taktilen Unterscheidung und sind langsam adaptierende, tonische Rezeptoren. Sie sind sehr empfindlich und reagieren auf leichte Berührung oder leichten Druck auf die Hautoberfläche. Die Nervenendigungen des Haarwurzelplexus registrieren wenn Bewegungen auf der Körperoberfläche stattfinden und ein Haar aus seiner Lage gebracht wird. Sie sind rasch adaptierend und phasisch (**Bewegungsänderung**). Ruffini Körperchen nehmen die Dehnung der Haut wahr, Pacini Körperchen vermitteln Vibration.

Bei jeder Berührung nimmt man den Ort der Reizung wahr. Die Genauigkeit mit der der Ort erkannt werden kann, hängt von der **Dichte der Rezeptoren** im gereizten Körperabschnitt ab (Versuch 10).

Thermosensibilität

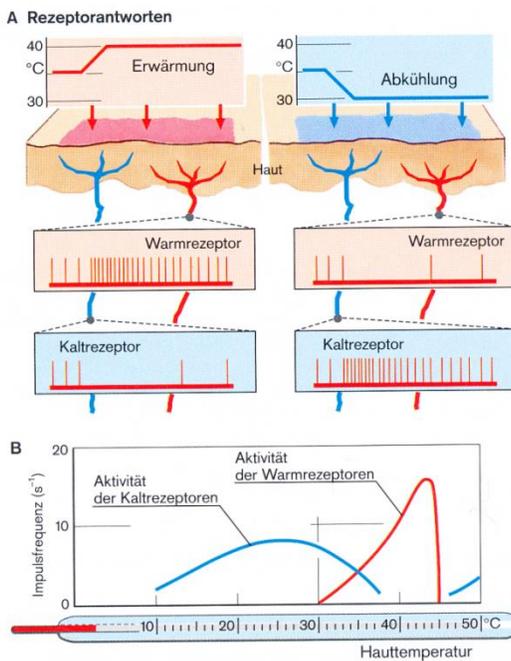


Abb. 18.5 **Aktivität von Kalt- und Warmrezeptoren.** A Antworten eines Warm- und eines Kaltrezeptors bei Erwärmung bzw. Abkühlung der Haut. Beide Thermorezeptoren zeigen PD-Verhalten mit Adaptation sowohl bei Erwärmung als auch bei Abkühlung. B Mittlere Aktivität von Kalt- bzw. Warmrezeptoren bei unterschiedlicher Hauttemperatur. Einige Kaltrezeptoren werden bei Temperaturen über 45°C wieder aktiv und vermitteln dadurch wahrscheinlich die paradoxe Kälteempfindung.

Für Kälte und Wärme gibt es getrennte Rezeptoren. Der Temperatursinn integriert also zwei gegensätzliche **Reizqualitäten** (Kälte und Hitze). Die Rezeptoren sind spontan aktiv und ändern bei einer **Temperaturänderung** Ihre Entladungsrate: die der Warmrezeptoren nimmt bei Erwärmung zu und bei Abkühlung ab, während die Entladungsrate der Kaltrezeptoren bei Erwärmung ab- und bei Abkühlung zunimmt (s. Abb 5). Die Thermorezeptoren besitzen dabei eine typische **PD-Charakteristik**. Bei **Temperaturänderungen** kommt es zunächst zu einer kurzfristigen **hohen Entladungsrate**, womit die Reizveränderung (die **differenzielle Komponente**) kodiert wird. Anschließend wird eine **konstante Entladungsrate** eingehalten, die proportional zur Stärke des Reizes ist (die **proportionale Komponente**). Im Versuch beobachten wir an uns selbst die Empfindung beim Wechsel des Temperaturreizes und nach Adaptation an diese neue Reizstärke (Versuch 8).

Nociception

Nociceptoren signalisieren dem Körper eine drohende oder eingetretene Verletzung. Sie sind eine eigenständige Gruppe von Rezeptoren und nehmen Reize verschiedener Art wahr, darunter Wärme, Druck und Chemikalien. Viele reagieren empfindlich auf eine ganze Reihe gewebeschädigender Reize. Schlafende Nociceptoren sind in gesundem Gewebe mechanisch nicht zu aktivieren, reagieren jedoch auf Entzündungen. Entzündungen oder Verletzungen führen zur Bildung chemischer Substanzen (zB Prostaglandine), die

Nociceptoren aktivieren oder sensibilisieren können. Nociceptive Afferenzen werden im Rückenmark auf Projektionsneurone der aufsteigenden nociceptiven Bahn umgeschaltet und über den Hirnstamm und Thalamus zu verschiedenen Anteilen der Großhirnrinde und des limbischen Systems weitergeleitet.

Wichtig ist es, **Nociception** und **Schmerzempfinden** zu unterscheiden. Nociception ist der sensorische Prozess, der die Signale bereitstellt, die das Schmerzempfinden auslösen. Die **subjektive Wahrnehmung von Schmerz** jedoch wird mehr als alle anderen Sinnessysteme von innen, also vom Gehirn selbst beeinflusst (Versuch 9).

Literatur

Grundwissen:

Moyes, Schulte: Tierphysiologie, Pearson Verlag

Campbell/Reece: Biologie, Spektrum Verlag

Weiterführende Information:

Bear et al.: Neurowissenschaften, Spektrum Verlag

VERSUCHE

VERSUCH 1: Richtungshören

Anhand des Versuchs soll der minimale Laufzeitunterschied bestimmt werden, bei dem es der Versuchsperson möglich ist, die Schallquelle rechts oder links zu orten (Versuch mit nur **einer Person** der Gruppe durchführen):

- VP setzt sich mit dem Rücken zum Tisch und steckt sich das Stetoskop in die Ohren.
- VL legt Schlauch kreisrund hinter der VP auf Tisch aus.
- VL klopft mit Stab auf die markierte Schlauchmitte, die Versuchsperson muss das Klopfen mit beiden Ohren gleichzeitig hören.
- VL klopft in einiger Entfernung rechts oder links von der Mitte auf den Schlauch. VP muss Richtung angeben, aus der der Schall gekommen ist.
- VL klopft in willkürlicher Reihenfolge in verschiedenen Abständen rechts und links von der Mitte, wobei er immer zuerst einmal auf die Mitte klopft und dann mit der gleichen Stärke auf die entsprechende Testseite.
- Bei jeder richtigen Entscheidung wird in die vorbereitete Tabelle ein + gesetzt, bei falschen Antworten ein - .
- Die Tabelle wird vollständig ausgefüllt und für jeden Abstand die prozentuale Trefferquote eingetragen.
- Der minimale Abstand von der Mitte, bei dem die Trefferquote über 75% liegt, wird als Schwellenwert des Richtungshörens notiert.

VERSUCH 2: Knochenschall und Luftschall

Anhand der Versuche soll das Zusammenspiel von Knochen- und Luftschall demonstriert werden. Die Versuche werden von **allen Personen** der Gruppe durchgeführt.

Versuch 2a:

- VP schlägt Stimmgabel an und setzt den Stiel auf das Felsenbein hinter dem Ohr.
- VP wartet ab, bis die Schwingung so gering ist, dass sie nichts mehr hört
- VP hält die immer noch schwingende Stimmgabel direkt vor das Ohr. Was wird wahrgenommen?

Versuch 2b:

- VL schlägt Stimmgabel an und setzt den Stiel auf das Schädeldach der VP. VP gibt an, ob Schall in beiden Ohren gleichlaut gehört wird.
- VP hält sich ein Ohr mit dem Finger zu.
- VL schlägt erneut Stimmgabel an und setzt sie VP auf den Kopf. In welchem Ohr erscheint der Schall lauter?

Versuch 2c:

- Zwei VP setzen sich auf Stühle, die ca 2m voneinander entfernt sind und nehmen jeweils das Ende eines Schlauches in die Hand.
- Eine VP schlägt eine Stimmgabel an und setzt den Stiel auf ihren Kopf.
- In einem Abstand von 2 m kann die zweite VP den Ton der Stimmgabel noch hören.
- Wenn der Ton so leise geworden ist, dass ihn die zweite VP nicht mehr hören kann, stecken sich beide VP das Ende des Schlauchs ins Ohr. Was nimmt die zweite VP jetzt wahr?

VERSUCH 3: Hörtest

Mit einem Computerprogramm soll die untere Hörschwelle einer Testperson bestimmt werden (bitte nur **ein** Ohr).

- VP startet das Programm „Spaichinger Hörtest“
- Setzen Sie den Kopfhörer auf
- Klicken Sie auf „Hörtest“ „linkes Ohr“
- Falls jemand vor Ihnen den Hörtest durchgeführt hat, klicken Sie auf „Neu“, um die vorher durchgeführten Messungen zu löschen

- Führen Sie nun die Messung der Hörschwelle bei allen vorgegebenen Frequenzen folgendermaßen durch:
- Nach betätigen von „Start“ hören Sie einen Ton, der immer leiser wird. Wenn Sie den Ton nicht mehr hören, drücken Sie sofort die „Stopp“ Taste. Jetzt wird der maximale Schallpegel angezeigt, bei dem Sie nichts mehr wahrnehmen (untere Hörschwelle). Führen Sie die Messung bei allen Frequenzen aus. Falls Sie die Messung wiederholen möchten, drücken Sie einfach noch einmal auf „Start“.
- Klicken Sie auf „Übernehmen“, um die Ergebnisse Ihrer Messung zu speichern.
- Bestimmen Sie nun die Hörschwelle für das rechte Ohr, indem Sie auf „Hörtest“ „rechtes Ohr“ klicken.
- Klicken Sie wieder auf „Übernehmen“, um die Ergebnisse zu speichern.
- Um die Ergebnisse darzustellen klicken Sie auf „Testergebnisse“, „Schaubilder“.
- Die roten Kreuze markieren die Messwerte für die Hörschwelle des linken Ohrs
- Die blauen Kreuze sind die Messwerte des rechten Ohrs
- Die grüne Kurve gibt die Normwerte an
- Betätigt man die Taste „Schaubilder speichern“, gelangt man zu einem Fenster, in dem die Schaubilder dargestellt sind und das Bild kann als JPEG abgespeichert werden.

VERSUCH 4: Gleichgewichtssinn

Versuch 4a: Trägheitsströmung

Die Trägheitsströmung der Endolymphe im Vestibularapparat lässt sich leicht demonstrieren. (**Alle Gruppenmitglieder**)

- VP setzt sich auf einen Drehstuhl
- VP sucht sich einen Fixpunkt im Raum und zeigt darauf
- VP schließt die Augen und zeigt weiterhin auf den Punkt
- Füße hoch!
- VL dreht den Stuhl (am Stuhl direkt, nicht an der Person) wahlweise zügig oder sehr langsam hin und her (maximal 90°)
- Kann die VP den Fixpunkt halten?

- VP setzt sich auf den Drehstuhl und dreht sich mit geschlossenen Augen 5-10 mal zügig um die eigene Achse

- VP stoppt abrupt, öffnet kurz die Augen, sucht sich einen Fixpunkt und zeigt darauf
- Jetzt die Augen wieder schließen und die Füße hoch
- Kann die VP den Fixpunkt halten?

Versuch 4b: Zusammenspiel von Sinnen

- VP nimmt eine Hand vor sein Gesicht, bewegt diese schnell mit gleichbleibender Geschwindigkeit hin und her und versucht die Finger zu erfassen/fixieren
- VP hält die Hand ruhig, bewegt den Kopf schnell hin und her und versucht die Finger zu erfassen/fixieren

VERSUCH 5: Geruch

Versuch 5a: Bestimmung der Empfindungs- und Erkennungsschwelle

Es wird die Detektionsschwelle für einen Geruchsstoff bestimmt, wobei der Geruch zuerst in einem Gemisch, und nachfolgend als Einzelsubstanz präsentiert wird (**alle Personen** der Gruppe).

- VP atmet gleichmäßig durch die Nase
- VL präsentiert den Geruchsstoff, indem er ein geöffnetes Röhrchen der „Mischung“ im Abstand von 3-4 cm unter die Nasenlöcher der VP hält. VL beginnt mit der höchsten Verdünnungsstufe.
- VP gibt an, ob sie einen oder mehrere Gerüche empfindet bzw. erkennt
- VL präsentiert die nächst höhere Konzentration usw. bis die VP den zusätzlichen Geruch wahrnimmt (Empfindungsschwelle) und auch erkennt (Erkennungsschwelle).

- 2-3 Minuten Pause
- Wiederholung des Vorgangs mit dem einzelnen Geruchsstoff (Röhrchen „Reinsubstanz“), wieder beginnend bei der höchsten Verdünnung.
- Ermittlung der Empfindungs- und Erkennungsschwelle.

VERSUCH 6: Geschmacksempfindung

Versuch 6a: Bestimmung der Empfindungs- und Erkennungsschwelle und NaCl

Bestimmt man die Reizschwellen des Geschmacksinns mit steigenden Konzentrationen reiner Geschmacksstoffe, tritt zunächst beim Überschreiten der sogenannten Empfindungsschwelle eine unspezifische Geschmacksempfindung auf, das heißt, man erkennt den Geschmack noch nicht. Erst beim Überschreiten der Erkennungsschwelle kann die Reizqualität eindeutig erkannt werden (**alle Gruppenmitglieder**):

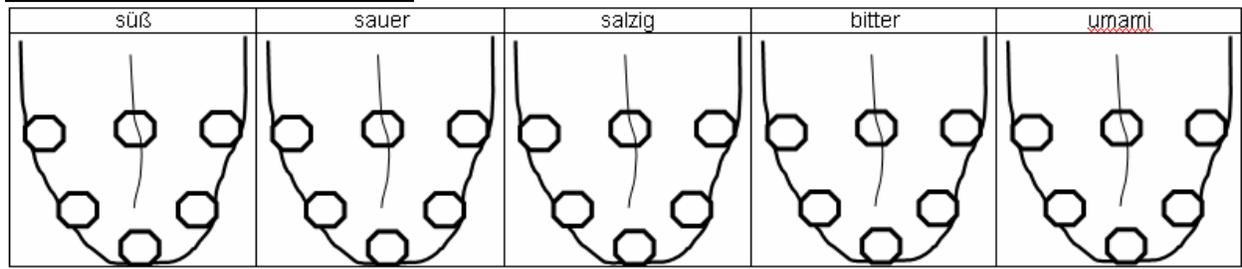
- VP nimmt einen Schluck der am niedrigsten konzentrierten Salzlösung (7 mM) für ca. 5 Sekunden in den Mund und spuckt sie danach aus. Danach die Geschmacksempfindung notieren.
- VP beurteilt nacheinander nach demselben Schema die NaCl-Lösungen der Konzentrationen 9, 10, 20 und 50 mM

Versuch 6b: Aroma von Speisen

Das Aroma einer Speise ergibt sich aus einer Kombination von Geruchs- und Geschmackssinn. Wie groß der Einfluss des Geruchssinns dabei ist, soll der folgende Versuch zeigen (**ein Gruppenmitglied**).

- VP verbindet sich die Augen und legt die Nasenklammer an
- VL legt der VP ein Stück Testnahrung auf die Zunge. VP soll versuchen den Geschmack zu erkennen.
- VP und VL wiederholen den Versuch mit verbundenen Augen aber freier Nase

VERSUCH 7: Geschmackszonen



- Wattestäbchen mit dem jeweiligen Geschmack tränken und auf die gekennzeichneten Stellen der Zunge tupfen
- An Stellen, wo der Geschmack wahrgenommen wurde, wird ein Kreuz gemacht
- **WICHTIG:** nach jeder Geschmacksrichtung gründlich den Mund mit Wasser ausspülen

VERSUCH 8: Thermosensibilität

Versuch 8a:

Die PD-Charakteristik und die ausgeprägte Adaptation der Thermorezeptoren lässt sich sehr gut in folgendem Versuch veranschaulichen (**alle Gruppenmitglieder**):

- VP hält die linke Hand in Wasser der Temperatur 26°C, die rechte Hand in Wasser der Temperatur 38°C
- VP beurteilt den subjektiven Temperaturunterschied
- VP behält Hände für 3 min in den Wannen, dann wird wieder der subjektive Temperaturunterschied beurteilt
- VP hält beide Hände gleichzeitig in Wasser der Temperatur 33°C, welche Empfindung tritt auf?

Versuch 8b:

Thermorezeptoren sind von bestimmten Substanzen beeinflussbar. Der Versuch wird mit **einem Gruppenmitglied** durchgeführt:

- VP trägt auf den Handrücken der linken Hand ABC-Salbe auf, auf den Handrücken der rechten Hand Menthol-Salbe.
- VP hält beide Hände in Wasser der Temperatur 38°C, welche Empfindung tritt an der rechten und linken Hand auf? Bei 26°C wiederholen.

VERSUCH 9: Schmerzempfinden

Die Schmerz Wahrnehmung lässt sich durch Konzentration beeinflussen (**alle Gruppenmitglieder**).

VP hält eine Hand so lange ins Eiswasser bis sie Schmerz empfindet

- Die Zeit wird gestoppt
- VP hält die andere Hand ins Eiswasser
- VL gibt VP Rechenaufgaben aus dem kleinen Einmaleins
- VP nimmt die Hand aus dem Wasser, sobald sie Schmerz empfindet

VERSUCH 10: Somatosensorik**Versuch 10a: Lokalisationsversuch**

- VP zeichnet eine Umrisskizze der linken Hand auf ZWEI Papiere
- Ein Papier bekommt der VL, eines behält die VP und legt es auf ihre rechte Seite
- VP legt die linke Hand auf den Tisch und schaut weg
- VL berührt die Hand von VP mit einer Tastborste (insg. 10 Berührungen)
- VP zeigt mit einem Stift auf ihrer Handskizze, wo der Reiz wahrgenommen wurde
- VL markiert auf ihrer Handskizze die wahren und wahrgenommenen Punkte

Versuch 10b: kleinster wahrnehmbarer Abstand

- VL bestimmt mit Tastzirkel den kleinsten wahrnehmbaren Abstand auf:
- Den Fingerspitzen
- Handinnenfläche
- Stirn
- Rücken

Name:
Matr.nr.:
Datum:

VERSUCH 1

- Berechnen Sie den Laufzeitunterschied, den der Schall beim Auftreffen auf das linke und rechte

links

rechts

Versuch	1	2	3	4	5	6	%	Versuch	1	2	3	4	5	6	%
0,5 cm								0,5 cm							
1,0 cm								1,0 cm							
1,5 cm								1,5 cm							
2,0 cm								2,0 cm							

Trommelfell am ermittelten Schwellenwert des Richtungshörens hat. Die Laufstreckendifferenz beträgt 2 x Schwellenwert. Die Schallgeschwindigkeit in Luft ist 330 m/s.

VERSUCH 2

- Warum kann man den Ton der Stimmgabel wieder hören, wenn sie direkt vor das Ohr gehalten wird?

- In welchem Ohr hört man den Ton lauter, in dem „freien“ oder in dem „verstopften“ Ohr und warum ist das so?

- Warum kann man den Ton durch den Schlauch hören, obwohl man ihn vorher nicht mehr wahrgenommen hat?

VERSUCH 3

- In welchem Frequenzbereich konnten Sie Töne wahrnehmen? In welchem Frequenzbereich war Ihr Gehör am empfindlichsten?

VERSUCH 4

- Kann die VP den Fixpunkt halten, wenn der Stuhl schnell oder langsam bewegt wird und warum?

- Wann kann die VP die einzelnen Finger besser wahrnehmen? Wenn sich die Hand bewegt, oder wenn sie den Kopf bewegt? Warum ist das so?

VERSUCH 5

- Wie hoch ist die Erkennungsschwelle für die Einzelsubstanz, wie hoch für diese Substanz im Gemisch mit einer anderen?
-

VERSUCH 6

- NaCl-Konzentration an der Empfindungsschwelle: _____
- Erkennungsschwelle für salzig: _____
- Wurde das Nahrungsmittel mit freier oder geschlossener Nase schneller erkannt?

VERSUCH 7

- Konnte ein Geschmack an bestimmten Stellen auf der Zunge besser wahrgenommen werden?

VERSUCH 8

- Warum empfindet man den Unterschied zwischen 26°C und 38°C zu Beginn stärker als nach einiger Zeit?

- Wie beeinflussen die eingesetzten Substanzen das Temperaturempfinden?

VERSUCH 9

- Wie lang dauert es, bis Schmerz im Eiswasser empfunden wird? Wie lang dauert es, wenn man dabei Rechenaufgaben lösen muss?

VERSUCH 10

- Warum weichen wahrer und wahrgenommener Berührungspunkt oft voneinander ab?

- Warum unterscheiden sich die kleinsten wahrnehmbaren Abstände an verschiedenen Körperstellen?

Name Teilnehmer

Unterschrift Kursleiter



Universität Hamburg

DER FORSCHUNG | DER LEHRE | DER BILDUNG

Fakultät für Mathematik, Informatik und Naturwissenschaften

Fachbereich Biologie

Institut für Zoologie

Musterprotokoll

Tierphysiologisches Praktikum

Dozent: Dr. Maximiliane Musterfrau

Wintersemester 2018/19

Protokoll

Das Aktionspotential

(Kommentar: Speichern Sie das Protokoll als Word-Dokument (.doc oder .docx) bzw. als Rich-Text-Format (.rtf) ab; pdf bzw. *open office* wird nicht akzeptiert. Benennen Sie das Dokument mit Ihrem Namen und dem Kursthema, damit die Dozenten das Protokoll zuordnen können. Z.B. "Hans_Wurst_Aktionspotential.doc". Schicken Sie das Protokoll an "tierphysiologie@uni-hamburg.de" und schreiben Sie UNBEDINGT ihren Namen und das Kursthema in die Betreffzeile!)

Eingereicht von:

Hamburg, den 19.03.2019

Inhaltsverzeichnis

1 Einleitung	3
2 Material und Methoden	4
3 Ergebnisse	5
3.1 Tag I – Aktionspotentialkinetik: Rolle des Ca^{2+}	5
3.2 Tag II – Kommunikation zwischen Neuronen: Betrachtung der elektrischen Synapse	7
4 Diskussion	10
5 Literatur	11

1. Einleitung (Kommentar: Beschreiben Sie auf ca. 1 Seite, worum es geht und was die Ziele des Kurses sind. Zeitform: Präsens)

Betrachtungsobjekt dieses Praktikums war der medizinische Blutegel *Hirudo medicinalis*. Taxonomisch ordnen sich die Egel *Hirudinea* bei den *Clitellata*, als Untergruppe der *Annelida* ein (Westheide und Rieger 2013). *Hirudinea* besitzen weder Tentakel noch Parapodien. Sie bewegen sich durch die anterior und posterior gelegenen Saugnäpfe fort. Ihr Körper ist nicht in Kompartimente unterteilt (Sadava et al. 2011).

(Kommentar: Für alle Informationen, die über das Allgemeinwissen hinausgehen, MÜSSEN Quellen angegeben werden. Im Text sieht das wie folgt aus: Bei einem oder zwei Autoren in Klammern die Nachnamen und Jahreszahl der Veröffentlichung nennen, bei mehr als zwei nur den ersten und dann "et al." (lat. "und weitere"). Bsp.: "(Schmidt 2009; Müller und Meier 2010; Hartmann et al. 2000)". ALLE Quellen werden am Ende des Protokolls im Literaturverzeichnis aufgelistet.)

Der Fokus in der Elektrophysiologie liegt auf der Untersuchung von Aktionspotentialen in Nervenzellen. Aktionspotentiale, kurz auch *spikes* genannt, treten im Axon auf und sind die Informationseinheiten der Neurone (Moyes und Schulte 2008)

(Kommentar: Fremdworte (lateinisch, englisch, ...) müssen als solche kenntlich gemacht werden, entweder durch kursive Schrift oder durch Anführungszeichen. Vermeiden Sie unbedingt „denglische“ Grammatik wie z.B.“Die Neurone haben schneller gespikt ...“). Während des Ruhemembranpotentials ist intrazellulär die K^+ -Konzentration hoch und die Na^+ -Konzentration niedrig, wohingegen es sich extrazellulär andersherum verhält. Diese Ungleichverteilung der Ionen wird durch die Natrium-Kalium-Pumpe hergestellt, die unter ATP-Verbrauch Na^+ aus und K^+ in die Zelle transportiert (Moyes und Schulte 2008). Durch eine geringe Anzahl stetig geöffneter K^+ -Kanäle diffundieren ständig einige K^+ -Ionen entlang dem Konzentrationsgefälle aus der Zelle heraus, was einen Überschuss von negativer Ladung im Zellinneren bedingt. Die Zelle ist somit mit ca. -60 mV negativ geladen (Sadava et al. 2011, Lohr 2012).

Zur Auslösung eines Aktionspotentials muss zuerst das Schwellenpotential erreicht werden, welches geringfügig positiver als das Ruhemembranpotential ist (Abb. 1). (Kommentar: Jede Abbildung MUSS mindestens einmal im Text mit Querverweis erwähnt werden, wobei der erste Querverweis VOR der Abbildung stehen muss.) Sobald dieses erreicht ist, öffnen sich zeitgleich eine Vielzahl von Na^+ -Kanälen, was einen Na^+ -Einstrom bewirkt und die Zelle somit auf bis zu 30 mV depolarisiert (Bear et al. 2009). Bei Erreichen dieses Wertes werden die Na^+ -Kanäle inaktiviert und spannungsgesteuerte K^+ -Kanäle geöffnet. Durch den daraus

resultierenden K^+ -Ausstrom repolarisiert die Zelle wieder, was meist mit einem Unterschreiten des Ruhemembranpotentials einhergeht, der sogenannten Hyperpolarisation (Bear et al. 2009).

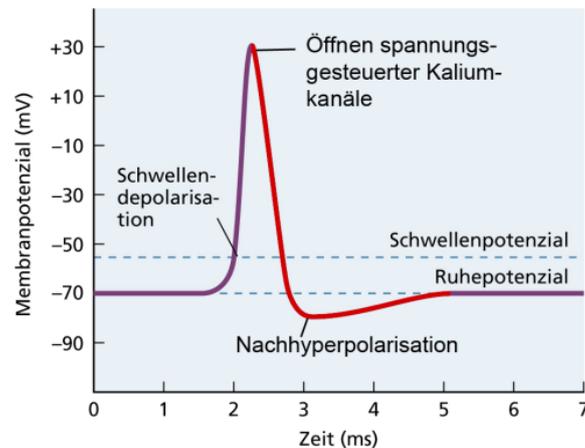


Abb. 1. Zeitlicher Verlauf eines Aktionspotentials. Bei Überschreiten des Schwellenpotentials öffnen alle spannungsgesteuerten Natriumkanäle, was zu einer raschen Depolarisation führt. Bei Erreichen der Spitze des Aktionspotentials inaktivieren Natriumkanäle, wohingegen spannungsgesteuerte Kaliumkanäle aktivieren, die die Repolarisation und Nachhyperpolarisation bewirken. Aus Bear et al. (2009).

(Kommentar: Abbildungen werden mit einer Legende versehen, die grundsätzlich unter der Abbildung steht und diese erklärt. Nur das Wort „Aktionspotential“ oder Ähnliches reicht als Legende nicht. Der Inhalt der Abbildung muss mit Hilfe der Legende zu verstehen sein, ohne das der Haupttext hinzugezogen wird. Die Abbildungen werden fortlaufend nummeriert.)

Ziel des Kurses ist es, Aktionspotentiale in Neuronen des Blutegels mit Hilfe von Mikroelektroden zu messen und den Einfluss von Ca^{2+} auf die Kinetik der Aktionspotentiale zu untersuchen. Im zweiten Teil des Kurses wurde die elektrische Synapse (*Gap junctions*) zwischen zwei Neuronen untersucht. (Kommentar: Die Einleitung endet mit der Formulierung der Zielsetzung bzw. der Fragestellung.)

2. Material und Methoden

Während des Praktikums wurde sich in den Abläufen am Praktikumsskript orientiert (Lohr 2012). Lediglich die Konzentration von EGTA in der Ca^{2+} -freien Versuchslösung wurde in Versuch 3.1 von 0,5 auf 1 mM erhöht.

(Kommentar: Es kann auf das Skript verwiesen werden. Änderungen gegenüber dem Skript müssen kenntlich gemacht werden. Zeitform: Vergangenheit)

3. Ergebnisse (Kommentar: Beschreiben Sie kurz die ermittelten Ergebnisse. Beginnen Sie mit 1-2 Sätzen, die das Ziel des Versuchs beschreiben. Geben Sie dann ebenfalls kurz die wichtigsten methodischen Aspekte wieder, damit klar wird, wie der Versuch durchgeführt wurde, ohne ins Skript schauen zu müssen. Aber beschränken Sie sich auf die allerwichtigsten Informationen. Besteht ein Versuch aus mehreren Teilversuchen, die sich voneinander ableiten, kann eine direkte Schlußfolgerung aus einem Teilergebnis gezogen werden, um zum nächsten Teilversuch überzuleiten. Alle darüber hinausgehenden Schlussfolgerungen gehören jedoch in die Diskussion. Zeitform: Vergangenheit. Für das gesamte Protokoll gilt: direkte Rede (ich, wir, uns) vermeiden. Stattdessen indirekte Rede ("es wurde") verwenden.

3.1 Tag I – Aktionspotentialkinetik: Rolle des Ca^{2+}

Bei der Signalübertragung spielt Ca^{2+} eine entscheidende Rolle. Sie beeinflussen die Form und die Dauer eines Aktionspotentials. Besonderen Einfluss haben sie auf die Nachhyperpolarisation durch die Beeinflussung der Ca^{2+} -abhängigen K^+ -Kanäle (Beck et al. 2001). An diesem Versuchstag sollten die Grundbegriffe der Aktionspotentialkinetik sowie die Beeinflussung dieser Parameter durch die Ca^{2+} -Konzentration betrachtet werden. Um die Auswirkungen des Ca^{2+} -Gehaltes in der Lösung bzw. in dem Präparat zu untersuchen, wurden die Parameter Ruhemembranpotential, Schwellenpotential, Amplitude, Dauer des Aktionspotentials, Negativität der Nachhyperpolarisation und Frequenz der Spontanaktionspotentiale bestimmt (Abb. 2). Für ein besseres Verständnis und für eine erleichterte Vergleichbarkeit der Ergebnisse sind in Abb. 2 die Messspuren zweier spontaner Aktionspotentiale desselben Neurons mit den unterschiedlichen Lösungen übereinander gelagert.

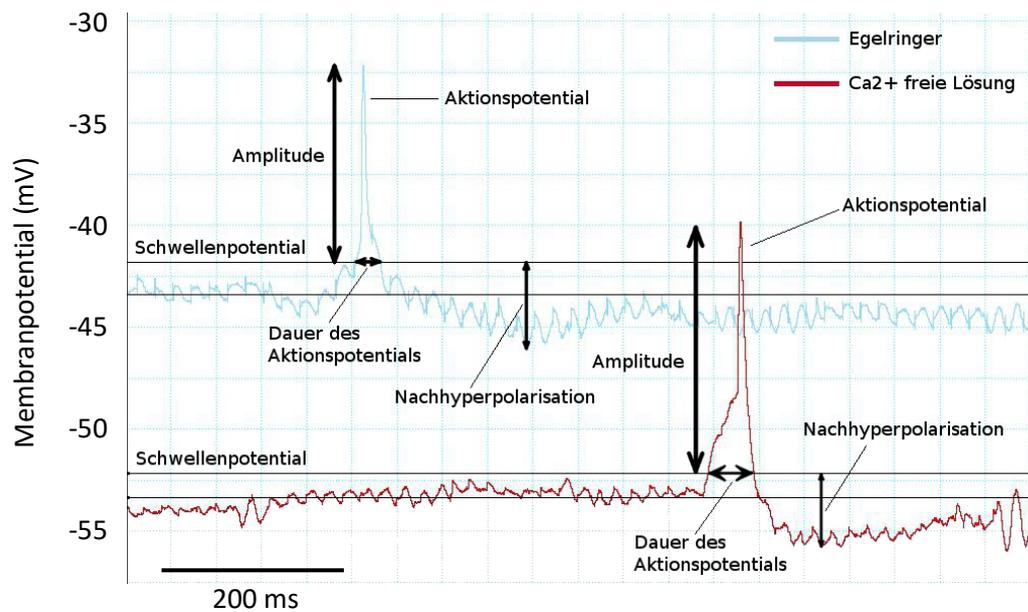


Abb. 2: Vergleich Aktionspotential in Ca²⁺-haltiger Lösung (Egelringer, blaue Kurve) mit einem Aktionspotential in Ca²⁺-freier Lösung (rote Kurve). In der Grafik ist gezeigt, wie die Parameter der Kinetik ausgewertet wurden.

(Kommentar: Wichtig ist bei allen Abbildungen, dass der Leser die Messung interpretieren kann! Voraussetzungen dafür sind lesbare Achsenbeschriftungen (ausreichende Größe) und Angabe der Einheiten! Sollte dies bei einem Screenshot nicht der Fall sein, muss die Abbildung nachträglich bearbeitet werden, z.B. Achsen oder Maßstabsbalken hinzugefügt werden.)

Die aus drei Messungen gemittelten Werte, sowohl in Ca²⁺-haltiger Lösung ("Egelringer") und in Ca²⁺-freier Lösung sind in Tab. 1 aufgeführt. Das Ruhemembranpotential änderte sich von -45 ± 3 mV in Egelringer auf -53 ± 6 mV (n=6) in Ca²⁺-freier Lösung. Die Schwelle zum Auslösen eines Aktionspotentials erhöhte sich von $-42,5 \pm 0,7$ mV auf $-49,8 \pm 1,3$ mV (n=6). Die Amplitude der Aktionspotentiale war in Egelringer mit $9,7 \pm 1,9$ mV deutlich geringer als in Ca²⁺-freier Lösung mit $18,2 \pm 2,4$ mV (n=6). Gleichzeitig erhöhte sich die Dauer der Aktionspotentiale von $28,2 \pm 3,9$ ms auf $31,1 \pm 3,7$ ms (n=6). Die Nachhyperpolarisation erhöhte sich von $3,7 \pm 0,5$ mV auf $-5,8 \pm 0,4$ mV (n=6). Die Feuerfrequenz der Zellen verringerte sich hingegen von $0,8 \pm 0,1$ Hz auf $0,3 \pm 0,1$ Hz (n=6).

(Kommentar: Alle errechneten Mittelwerte müssen in Textform genannt werden, eine reine Angabe in Tabellenform oder als Graphik ist nicht zulässig. Bei der Angabe von gemittelten Werten ist die zugehörige Standardabweichung anzugeben, die Anzahl der Stichproben (Einzelmessungen) wird als n= in Klammern hintenangestellt.)

Tab. 1: Mittelwerte und Standardabweichung der Aktionspotentialkinetik von spontanen Aktionspotentialen in Lösungen mit unterschiedlicher Ca²⁺-Konzentration

Lösung	Ruhemembran-potential in [mV]	Schwellen-potential in [mV]	Amplitude in [Δ mV]	Dauer in [ms]	Nachhyper-polarisation in [Δ mV]	Frequenz in [s ⁻¹]
Egelringer	-45 +/- 3	-42,5 +/- 0,7	9,7 +/- 1,9	28,2 +/- 3,9	-3,7 +/- 0,5	0,8 +/- 0,1
Ca ²⁺ -frei	-53 +/- 6	-49,8 +/- 1,3	18,2 +/- 2,4	31,1 +/- 3,7	-5,8 +/- 0,4	0,3 +/- 0,1

(Kommentar: Tabellen erhalten eine Überschrift. Abkürzungen etc. können bei Bedarf unter der Tabelle beschrieben werden. Tabellen werden ebenfalls fortlaufend und von der Abbildungsnummerierung getrennt nummeriert. Bei der Angabe von Werten überlegen, wie genau die Messmethode eigentlich ist und dementsprechend die Anzahl der Nachkommastellen angeben, also bitte kein „mittleres Ruhepotential von -45,45637 mV“.)

3.2 Tag II – Kommunikation zwischen Neuronen: Betrachtung der elektrischen Synapse

Die Kommunikation, sprich die Informationsübertragung zwischen Neuronen findet an Synapsen statt. Dabei unterscheidet man zwei Grundtypen von Synapsen. Zum einen die elektrischen Synapsen (*Gap junctions*), und zum anderen die chemischen Synapsen (Bear et al. 2009). *Gap junctions* bestehen aus direkten Zell-Zell-Verbindungen und ermöglichen einen Ionenfluss von Zelle zu Zelle, somit können Ströme direkt weitergeleitet werden (Bear et al. 2009). Zur Untersuchung der synaptischen Kommunikation wurden zwei miteinander in Verbindung stehende Neurone des Segmentganglions parallel mit zwei Messelektroden abgeleitet und deren Membranpotentiale aufgezeichnet.

Eine Stimulation der einen Zelle ruft eine verzögerte De-/Hyperpolarisation in der anderen Zelle hervor. Als Maß für die Effektivität dieser Reizweiterleitung dient der Transmissionskoeffizient (Praktikumsskript, 2012):

$$\tau = \frac{\text{Amplitude der 2. (nicht direkt hyperpolarisierten) Zelle}}{\text{Amplitude der 1. (direkt hyperpolarisierten) Zelle}}$$

Die Berechnung der Transmissionskoeffizienten für beide Stimulationsrichtungen erfolgte jeweils anhand von 16 Amplitudenwerten und der anschließenden Mittelwertbildung. Aus diesen Mittelwerten wurde τ berechnet.

Durch abwechselndes Stimulieren der beiden Neurone (erst Neuron 1 stimuliert, dann Neuron 2) wurde die Verbindung der beiden Neurone sichtbar (Abb. 3). Aus den Messspuren ist ersichtlich, dass die Stimulation in beide Richtungen weitergeleitet wird. Ebenfalls erkennbar ist, dass die Reizweiterleitung von Zelle eins nach zwei besser funktioniert, als von zwei nach eins. Die Bezeichnungen „Neuron 1“ und „Neuron 2“ wurden willkürlich gewählt. (Kommentar: Werden sowohl "Rohdaten" (z.B. Messkurven) als auch statistische Auswertungen dieser Messungen (z.B. Balkendiagramme) in Abbildungen gezeigt, werden immer ZUERST die Rohdaten und DANN die Analysen dazu abgebildet. Siehe Beispiel unten.)

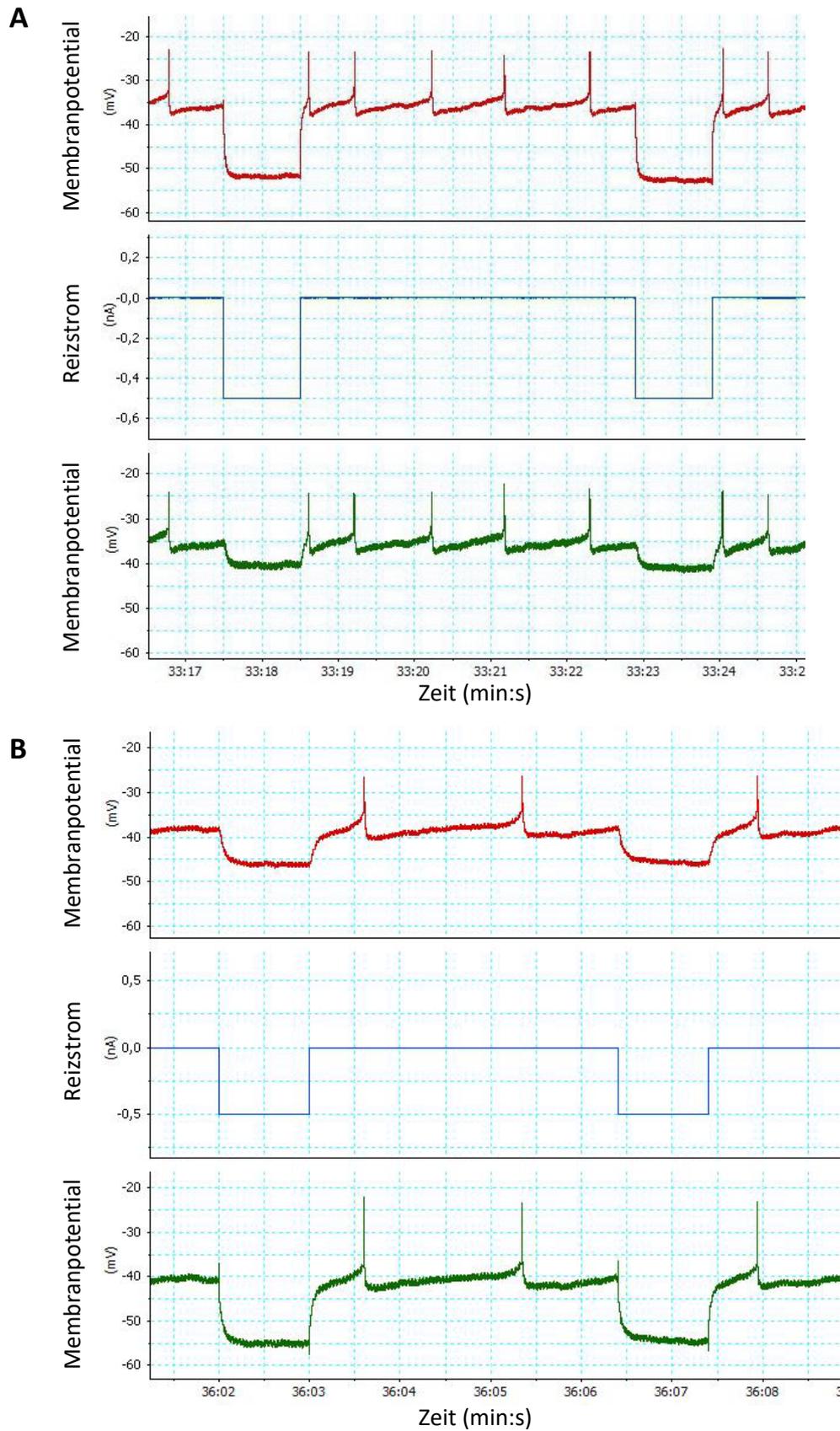


Abb. 3: Stimulationsreihen mit -0,5 nA. **A:** Direkt stimuliert wurde hier Zelle 1 (rot, oben). Indirekt hyperpolarisiert wurde Zelle 2 (grün, unten). Der Stromstärkenverlauf des Reizstromes ist blau abgebildet (Mitte). **B:** Direkt stimuliert wurde hier Zelle 2 (grün, unten).

Bei der Stimulation der ersten Zelle ergab sich ein Transmissionskoeffizient τ (Zelle 1 zu 2) von $0,85 \pm 0,33$ ($n=16$) und für die Stimulation der zweiten Zelle (Zelle 2 zu 1) von $0,75 \pm 0,54$ ($n=16$) (Abb. 4).

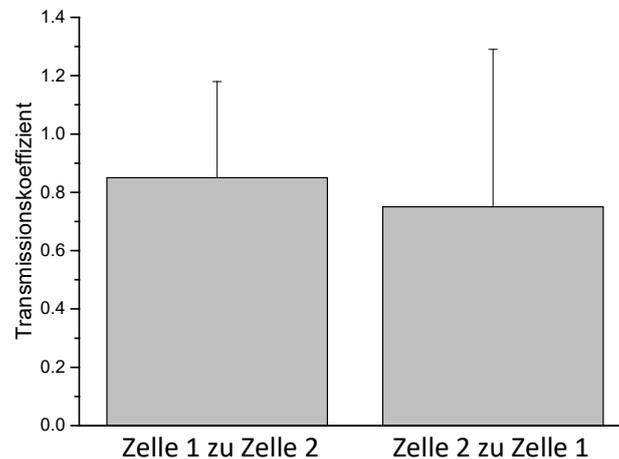


Abbildung 4: Der Transmissionskoeffizienten bei wechselnder Stimulationsrichtung. (Kommentar: Graphen sind auch Abbildungen und werden als solche bezeichnet und nummeriert, nicht etwa als "Graph1" oder "Diagramm 2" etc.)

4 Diskussion (Kommentar: Das wichtigste Ergebnis wird zu Beginn eines jeden Abschnitts der Diskussion qualitativ (d.h. ohne Wiederholung der Messwerte oder ähnlicher Details) genannt. Dann wird mit Hilfe von Literaturangaben (Zitate einfügen!) das Ergebnis interpretiert und es werden Schlussfolgerungen gezogen. Eine ausführliche Fehlerdiskussion wird nur bei methodischen Arbeiten durchgeführt, z.B. wenn eine neue Methode entwickelt wird. Zeitform: Die eigenen aktuellen Daten in **Vergangenheitsform**, Bekanntes dagegen im **Präsens**.)

Die Ergebnisse in Kapitel 3.1 zeigen, dass die Kinetik der Aktionspotentiale in Ca^{2+} -freier Lösung deutlich verändert gegenüber der von Aktionspotentialen in Egelringer ist. Nervenzellen besitzen Ca^{2+} -abhängigen K^+ -Kanäle, die maßgeblich zum Aktionspotential beitragen (Beck et al. 2001). In Ca^{2+} -freier Lösung wird der Ca^{2+} -Einstrom, der als Konsequenz der Depolarisation durch spannungsgesteuerte Ca^{2+} -Kanäle in die Zelle fließt, verhindert und die Aktivierung der Ca^{2+} -abhängigen K^+ -Kanäle bleibt aus. Dadurch wird der Kaliumstrom bei der Repolarisation gehemmt, die Dauer des Aktionspotentials sollte sich

also verlängern und die Amplitude sollte höher ausfallen. Hier entsprechen die gemessenen Ergebnisse den bereits publizierten (Beck et al. 2001). Entgegen den zu erwartenden Ergebnissen (Beck et al. 2001) fiel jedoch bei unseren Messungen die Nachhyperpolarisation in der Ca^{2+} -freien Lösung negativer aus, wofür es keinen ersichtlichen Grund gibt.

Wie bereits aus der Beschreibung der *Gap junction* hervorgeht (Bear et al. 2009) zeigten auch unsere Messwerte, dass die Signalweiterleitung an der elektrischen Synapse in beide Richtungen funktioniert. Dies steht im Unterschied zu chemischen Synapsen, die ausschließlich Signale von prä- zu postsynaptischer Membran übertragen können (Bear et al. 2009). Die unterschiedlich hohen Transmissionskoeffizienten lassen sich allein aufgrund der vorliegenden Messungen nicht endgültig auf eine spezielle Ursache zurückführen. Möglich wäre eine Rektifizierung, bei der Strom in eine Richtung besser durch die *Gap junction* geleitet wird als in umgekehrte Richtung, oder ein Messartefakt, falls der Abgleich des Elektrodenwiderstandes bei einer Messelektrode nicht vollständig erfolgte bzw. sich der Widerstand einer Elektrode während der Messung geändert hat.

5 Literatur (Kommentar: ALLE Zitate im Text MÜSSEN im Literaturverzeichnis mit vollständiger Quellenangabe erscheinen. ALLE Quellen im Literaturverzeichnis MÜSSEN an passender Stelle im Text zitiert werden. Die Quellen werden alphabetisch nach dem Nachnamen des Erstautors sortiert und zunächst die Autoren aufgelistet. Die anschließenden Informationen der Quelle (Jahreszahl der Veröffentlichung, Titel, Buch- oder Zeitschrifttitel, Auflage, Band bzw. Kapitel und Seitenzahlen) können in mehr oder weniger beliebiger Reihenfolge erscheinen, wichtig ist jedoch, dass die Reihenfolge für alle Quellenangaben einheitlich ist.)

Beck A, Lohr C, Deitmer JW (2001) Calcium transients in subcompartments of the leech Retzius neuron as induced by single action potentials. *Journal of Neurobiology* 48:1-18.

Bear MF, Connors BW, Paradiso MA (2009) *Neurowissenschaften*. 3. Auflage. Spektrum Akademischer Verlag: Heidelberg.

Lohr C (2012) *Praktikumsskript Zelluläre Neurobiologie*. Universität Hamburg. (Kommentar: Das Skript kann für Methoden zitiert werden, alle anderen Angaben müssen aus Lehrbüchern oder wissenschaftlichen Artikeln zitiert werden.)

Moyes CD, Schulte PM (2008) *Tierphysiologie*. Pearson Studium: München.

Sadava D, Hillis DM, Heller HC, Berenbaum MR (2011) Purves Biologie. 9. Auflage. Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg.

Westheide W, Rieger G (2013) Spezielle Zoologie. Teil 1: Einzeller und Wirbellose Tiere. 3. Auflage. Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg.

(Kommentar: Auf Internetquellen möglichst verzichten! Erstens können Internetquellen schnell verschwinden, so dass die Quelle nach einer gewissen Zeit nicht mehr zur Verfügung steht. Zweitens gibt es im Internet keine oder nur wenig zuverlässige Qualitätskontrollen, im Gegensatz zu wissenschaftlichen Zeitschriften und Lehrbüchern, die einem standardisierten Begutachtungsverfahren unterliegen.)

Anhang

(Kommentar: Falls große Wertemengen, Tabellen etc. anfallen, können diese als Anhang hinzugefügt werden.)

Erklärung

Hiermit bestätige ich, dass das vorliegende Protokoll von mir selbstständig verfasst wurde und keine anderen als die angegebenen Hilfsmittel – insbesondere keine im Quellenverzeichnis nicht benannten Internet-Quellen – benutzt habe.

Unterschrift

(Kommentar: Plagiate sind kein Kavaliersdelikt! Wenn Sie fremdes Gedankengut verwenden, müssen Sie dies kenntlich machen, sonst gilt es als Plagiat. Plagiate werden dem Prüfungsausschuss gemeldet, das Protokoll wird als nicht bestanden gewertet)



A

Universität Hamburg
TIERPHYSIOLOGISCHES PRAKTIKUM
KLAUSUR WS 2011/12

Fachbereich Biologie

Biozentrum Grindel und
Zoologisches Museum



Martin-Luther-King-Platz 3
D-20146 Hamburg

Name:.....

Matrikel Nr..... (Ausweis vorlegen)

03.02.2012

1. Teil Stoffwechselphysiologie

Fragen Antworten	max. Punktzahl erreichte Punktzahl
1. Sie haben 100 ml einer 1 M NaCl-Lösung und sollen 1 l einer 100 mM NaCl-Lösung herstellen. Wie machen Sie das?	3
2. Was versteht man unter Homöostase? Nennen Sie ein Beispiel, wo die Homöostase greift!	3
3. Was versteht man unter der RGT-Regel und unter der Q10-Regel?	2

4. Was ist der Unterschied zwischen kompetitiver und nicht-kompetitiver Hemmung eines Enzyms?	2
5. Was ist Insulin? Wo wird es hergestellt? Welche Rolle spielt es im Körper?	5
6. Nennen Sie drei Möglichkeiten, wie Tiere ihre Körpertemperatur beeinflussen können.	3
7. Bei einem respiratorischen Quotienten von 1,0 werden vom Körper vorwiegend a) Kohlenhydrate b) Fette c) Proteine verbrannt.	1
8. Was ist ein Vitamin? Definieren Sie diesen Begriff!	2

<p>9. Geben Sie die Vor- und Nachteile der unterschiedlichen Hauptexkretionsprodukte an. Vergleichen Sie dabei Harnstoff und Harnsäure mit Ammoniak:</p>			3
	Vorteile	Nachteile	
Ammoniak			
Harnstoff			
Harnsäure			
<p>10. Das Hämoglobin des Flohkrebsses besteht aus zwei Untereinheiten und hat eine Molekülmasse von ca. 32 kDa. Angenommen Sie messen im Blut eines Flohkrebsses einen Hämoglobingehalt von 16 g/l, wie viel Mol Hämoglobin befinden sich in einem Liter Blut, und wie viel Mol O₂ werden gebunden? <u>Vermerken Sie den Rechenweg!</u></p>			4
<p>11. Welche Voraussetzungen müssen respiratorische Organe erfüllen, um effektiv dem Gasaustausch zu dienen? Nennen Sie mindestens 3!</p>			3

/10

<p>12. Wie beeinflussen jeweils eine Erhöhung der Temperatur, der CO₂-Konzentration und des pH-Werts die Sauerstoffaffinität des Hämoglobins?</p>	<p>3</p>
<p>13. Nennen Sie die beiden wichtigsten Klassen der T-Lymphocyten! Wo werden sie beim Säuger produziert und wo reifen sie?</p>	<p>3</p>
<p>14. Nennen Sie die drei Muskeltypen des Menschen und beschreiben Sie kurz deren Funktion!</p>	<p>3</p>
<p>Summe: maximal mögliche Punktzahl (nur Stoffwechsel)</p> <p>Summe: erreichte Punktzahl (nur Stoffwechsel)</p>	<p>40</p>

2. Teil Neurophysiologie

Fragen	max. Punktzahl														
Antworten	erreichte Punktzahl														
<p>1. Ordnen Sie den angegebenen durchschnittlichen Herzfrequenzen in Ruhe die folgenden Tiere zu: Kanarienvogel, Mensch, Wal, Elefant, Katze, Maus.</p> <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr> <th style="text-align: left;">Herzfrequenz [Schläge/min]</th> <th style="width: 50px;"></th> </tr> </thead> <tbody> <tr><td>15 - 16</td><td></td></tr> <tr><td>25 - 30</td><td></td></tr> <tr><td>60 - 90</td><td></td></tr> <tr><td>110 - 140</td><td></td></tr> <tr><td>550 - 650</td><td></td></tr> <tr><td>800 - 1000</td><td></td></tr> </tbody> </table>	Herzfrequenz [Schläge/min]		15 - 16		25 - 30		60 - 90		110 - 140		550 - 650		800 - 1000		3
Herzfrequenz [Schläge/min]															
15 - 16															
25 - 30															
60 - 90															
110 - 140															
550 - 650															
800 - 1000															
<p>2. Worauf lässt sich die autonome Erregungsbildung des Herzens zurückführen? Beschreiben Sie den Vorgang.</p>	2														
<p>3. Welche zellulären Komponenten beinhaltet im Zentralnervensystem der Säuger die weiße Substanz, welche die graue Substanz?</p>	2														
<p>4. Welche Funktionen können die Antennen von Insekten haben?</p>	3														
Summe															

<p>5. Beschreiben Sie den Mechanismus des Transduktionsprozesses, der im menschlichen Auge den Lichtreiz in neuronale Aktivität umsetzt. Beginnen Sie mit dem Auftreffen des Lichts auf die Photorezeptorzelle und schließen Sie mit der Änderung der Transmitterfreisetzung.</p>	<p>7</p>
<p>6. Photorezeptorzellen: Wie unterscheiden sich Stäbchen und Zapfen?</p>	<p>6</p>
<p>Summe</p>	

<p>7. Membraneigenschaften von Neuronen.</p> <p>a) Berechnen Sie das Kalium-Gleichgewichtspotential in einem Neuron mit einer intrazellulären Kalium-Konzentration von 100 mM und einer extrazellulären Kalium-Konzentration von 10 mM. Rechenweg angeben.</p> <p>b) Das Neuron aus a) hat ein Ruhemembranpotential von -62 mV. Welche Auswirkung hat das Öffnen von Kaliumkanälen auf das Membranpotential?</p> <p>c) Wenn das Neuron aus a) durch die Aktivierung von Na⁺-permeablen Ionenkanälen erregt wird, wie würde sich das gleichzeitige Öffnen der Kaliumkanäle auf die Erregung auswirken?</p>	<p>4</p>
<p>8. Nennen Sie 3 Funktionen von Astrozyten.</p>	<p>3</p>
<p>Summe</p>	

9. Welche 2 grundsätzlichen Typen von Neurotransmitterrezeptoren gibt es und wie funktionieren sie?	5
10. Beschreiben Sie Bau und Funktion der Bogengänge im Innenohr.	5
Summe	
Summe: maximal mögliche Punktzahl (nur Neurophysiologie) Summe: erreichte Punktzahl (nur Neurophysiologie)	40
Summe: Maximal mögliche Punktzahl (gesamt) Erreichte Punktzahl (nur Stoffwechsel) Erreichte Punktzahl (nur Neurophysiologie) Gesamtpunkte	80