



*Aus der Lehre*

# **Alternativen zu Tierexperimenten im physiologischen Praktikum für Medizinstudenten an der Universität Freiburg (Schweiz)**

## **Ersetzen der Froschversuche**

M. Wiesendanger und J. Durand, Universität Freiburg i.Ue.

### **1. Ausgangssituation**

Froschversuche sind seit Jahrzehnten integrierende Bestandteile der Physiologie-Didaktik und -Examina gewesen. Mit diesen Versuchen haben die Studenten gelernt, grundlegende Prozesse der Erregbarkeit des Nervengewebes, der Mechanik des Skelett- und Herzmuskels, die Rückenmarksreflexe sowie die Mechanismen des Epitheltransportes (als Nierenmodell) zu analysieren. Neben den eigentlichen didaktischen Zielen für das Verständnis physiologischer Regelprozesse war es auch ein besonderes Anliegen, die Studenten für die Empfindlichkeit des lebenden Gewebes gegen äussere Noxen zu sensibilisieren. Es wurde stets darauf geachtet - und dies besonders seitdem die Frösche in unserem Land selten geworden sind - mit dem Minimum der Tiere auszukommen (es handelt sich um Frösche, die in viel grösseren Mengen für kulinarische Zwecke importiert werden). Da es sich bei allen Froschversuchen um überlebendes Gewebe nach Tötung des Tieres gehandelt hat, konnten die entsprechenden Gewebe und Organe derselben Tiere für die verschiedenen Aufgaben benützt werden. Um die Zahl der Frösche noch mehr zu vermindern, wurde die Präparation allerdings nicht mehr vom Studenten, sondern von einem erfahrenen Mitarbeiter durchgeführt. Damit verloren allerdings die Studenten z.T. die Möglichkeit zu lernen, sauber und schonend zu präparieren. Dies war ein wesentlicher Grund, warum wir uns entschlossen haben, die Froschversuche aufzugeben. Zusätzlich ergaben sich ganz neue technische Möglichkeiten, die Versuche beim Menschen oder an Zellkulturen durchzuführen, u.z. unter Beibehaltung der Lernziele. Mit diesen Bemerkungen möchten wir betonen, dass die Wahl der Alternativen zum Froschversuch komplexe Gründe hat und dass die Bemühungen zur Reduktion und optimalen Einsetzung eine lange Vorgeschichte haben.



## 2. Kreation neuer Praktikumsaufgaben, die am Menschen und an Kulturen von Epithelzell-Linien (Monolayer) durchgeführt werden

Die neuen Praktikumsplätze betreffen 6 Themenkreise : Physiologie der Nervenfasern, des Skelettmuskels, die Organisation der Reflexe, der Intentionbewegung, die Übertragung in sensorischen Leitungsbahnen (gemessen anhand der evozierten Potentiale), und die Physiologie der Transporte durch Epithelzellen. Bei den 5 ersten Aufgaben, die alle am Menschen durchgeführt werden, erfolgt die Kontrolle des Versuchsablaufes, die Datenaquisition, die Auswertung, die Darstellung der biologischen Signale und schliesslich die graphische Darstellung der numerischen Werte mit Hilfe des Personal Computer (PC). Das interaktive Vorgehen und die Möglichkeit, jederzeit Hilfetexte am Bildschirm einzusehen, erlauben eine Verkürzung der Praktikumsanleitungen auf das Wesentliche. Die Erfahrung hat gezeigt, dass die Studenten mit Enthusiasmus und mit weniger Angst vor komplizierten Apparaturen (Oszilloskope, Reizgeräte etc.) an die Arbeit gehen. Aus Platzgründen beschränken wir uns im folgenden auf die kurze Beschreibung der 2 Plätze "Peripherer Nerv des Menschen" und "Epitheltransport". Die ausführliche Beschreibung dieser 2 Plätze ist an alle Direktoren der Physiologie-Institute in der Schweiz geschickt worden.

**Physiologie des peripheren menschlichen Nerven :** Die Gesetze der Erregungsbildung und Erregungsleitung werden z.T. indirekt mittels Messung der elektromyographischen Antwort (EMG) im Muskel analysiert oder direkt mittels epikutaner Registrierung des Potentials des Hautnerven am Zeigefinger; im ersten Fall prüfen wir die motorischen Nervenfasern, im zweiten Fall die sensiblen Nervenfasern. Die winzigen Potentialänderungen des Nerven, die über der Haut registriert werden, benötigen sehr rauscharme Verstärker; das Verhältnis "Signal : Rauschen" kann weiterhin durch die computer-unterstützte Mittelung verbessert werden. Folgende Aufgaben sind bisher in 2 Jahreskursen erfolgreich durchgeführt worden : 1) Rekrutieren von Nervenfasern mit zunehmender Reizstärke oder -dauer; 2) Bestimmung der Reizzeit-Spannungskurve mit Chronaxie und Rheobase; 3) Messung der Leitungsgeschwindigkeit; 4) Bestimmung der absoluten und relativen Refraktärperiode (s. Abb.). Die didaktischen Lernziele des entsprechenden Froschversuches konnten voll beibehalten werden : das Sichtbarmachen der passiven Membraneigenschaften ("leaky condenser") und der aktiven Prozesse der erregbaren Membran.



Es ist unseres Wissens das erste Mal, dass in einem Studentenpraktikum direkte Messungen des Nervenpotentials beim Menschen mit Erfolg durchgeführt werden.

**Physiologie des Epitheltransportes :** Die Froschhaut gilt als experimentelles Modell der Niere, da beide Gewebe identische Transportmechanismen für das Salz (NaCl) aufweisen. Heute verfügt man über Zellkulturen (sog. Zell-Linie A6), deren Transporteigenschaften ähnlich sind wie bei der Froschhaut und damit auch wie bei der Niere. Die Möglichkeit, für die gestellte Aufgabe im Praktikum auf die Frösche zu verzichten, wurde erfolgreich getestet. Die Versuchsanordnung wurde optimiert, um auch unter den erschwerten Bedingungen eines Praktikums für Studenten zu genügen (Erhöhung der Zellaktivität, einfache Handhabung, Senkung der Kosten). Die einschichtige Zellkultur (Monolayer) erzeugt transzelluläre Potentialänderungen, die mit dem Salztransport gekoppelt sind. Je nach didaktischem Bedarf können verschiedene Aspekte des Transportes von Na<sup>+</sup>-Ionen studiert werden, wie z.B. Leitfähigkeit der Membran, Strom-Spannungs Plot, Gleichgewichtspotential und Diffusionspotential. Ebenso können pharmakologische Einwirkungen getestet werden. In 2 Jahreskursen wurden folgende Aufgaben mit Erfolg durchgeführt : 1) Quantitative Messung des aktiven Na-Transportes; 2) Aktivierung dieses Transportes via cAMP (mittels Theophyllin oder Forskolin); 3) Dosis-Antwort-Kurve unter Einwirkung eines Diuretikums (Amilorid) sowie Bestimmung der Konzentration, die 50 % der maximalen Antwort ergibt; 4) Hemmung des Na-Transportes durch Ouabain. Ein Assistent ist für das Gedeihen der Zellkultur verantwortlich, die Experimente können von den Studenten selbständig durchgeführt werden und sind auch Gegenstand der praktischen Prüfung.

#### **Verdankung:**

Wir sind dankbar für die glänzende Programmierarbeit von Herrn stud.math. R. Staub, die tatkräftige finanzielle Unterstützung durch die Stiftung 3R, den Hochschulrat der Universität Freiburg und die Erziehungsdirektion des Kantons Freiburg. Ferner sei gedankt: Herrn J.-F. Descloux für seinen Einsatz bei der Beschaffung der PC und Drucker; Herrn Kollege P. Haab für sein stets gezeigtes Interesse; allen Assistenten, die bei der Erprobung der Versuche und bei der Übersetzung der Texte mitgeholfen haben; und, last but not least, den Studentinnen und Studenten für ihre kritischen Bemerkungen und die positive Aufnahme.

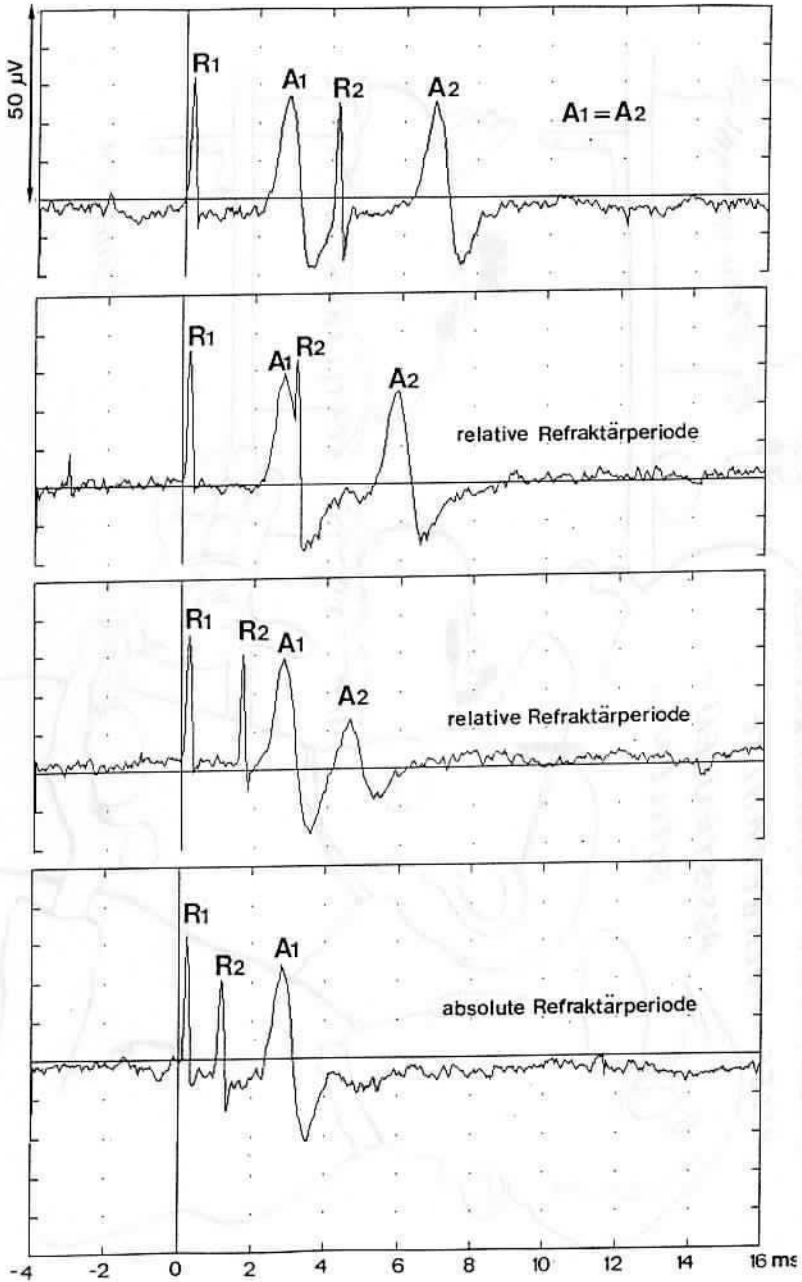


Abb. 1

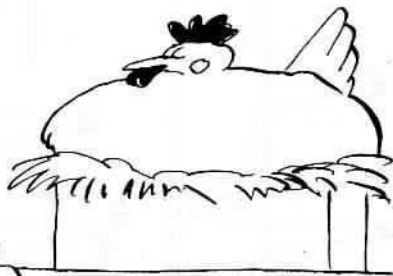
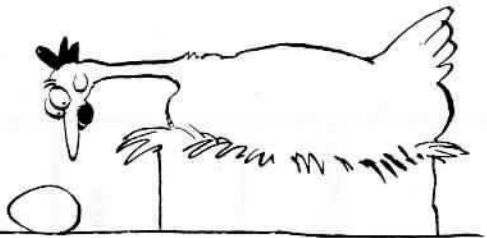
### **Untersuchung der maximalen Informationsübertragungsrate in den peripheren Nervenfasern des Menschen**

Elektrische Doppelreize  $R_1$  und  $R_2$  werden mit Elektroden dem Nervus medianus am Handgelenk zugeführt. Bei einem Reizintervall von 4ms erzeugen beide Reize  $R_1$  und  $R_2$  nach einer Latenzzeit von 2ms eine Antwort  $A_1$  und  $A_2$  eines kleinen Nervenastes am Zeigefinger. Es handelt sich um das Nervpotential, das mit einer Geschwindigkeit von 75m/sec. entlang der Nervenfasern propagiert wird.

Bei abnehmendem Reizintervall wird die Antwort  $A_2$  zunehmend kleiner (= relative Refraktärperiode) und verschwindet ganz bei einem Intervall von 1ms (= absolute Refraktärperiode). Aus diesem Versuch ist ersichtlich, dass die Übertragungsrate in einem Informationskanal des Nervensystems nicht höher als 1000 Hz sein kann.



... VORBRUT FÜR  
EMBRYONALE HÜHNERHIRNZELLEN.  
ALLES HOCHBEZAHLTE  
ASSISTENTEN -  
STELLEN...



KISTNER 91