

Ersatz von Tierexperimenten in der Lehre - neurophysiologische Grundlagenkenntnisse aus dem Computer

Helmut Kettenmann, Thomas Müller and Melitta Schachner*

Neurobiologie der Universität Heidelberg

Im Neuenheimer Feld 345, D-6900 Heidelberg

* Neurobiologie der ETH Zürich, Hönggerberg, CH-8093 Zürich

Zusammenfassung

In der Ausbildung von Biologie- und Medizinstudenten werden in physiologischen Praktika Tier- bzw. Organexperimente durchgeführt. In diesem Artikel wird beschrieben, daß solche Versuche durch Simulationsprogramme an einem Computer ersetzt werden können. Programme für einen neurophysiologischen Versuch wurden an der Neurobiologie der Universität Heidelberg entwickelt und werden seit mehreren Jahren an der Fakultät für Biologie im Grundpraktikum eingesetzt.

Summary: Alternatives to Animal Experimentation in University Education: Principles of Neurophysiology Exemplified by the Computer

The basic physiology courses for students in biology and medicine include experiments on live animals or animal tissue. This article describes alternatives by replacing such experiments with simulation programs on personal computers. Programs for a neurophysiological experiment were developed at the Department of Neurobiology, University of Heidelberg, within the last years and have served to replace animal experiments in the basic training of biologists.

Einleitung

Experimente an Tieren oder Tierorganen sind ein fester Bestandteil der Ausbildung an den Hochschulen. Im Rahmen von Laborpraktika müssen Studenten der Biologie oder der Veterinär-, Human- und Zahnmedizin diese Experimente, besonders im Grundstudium, durchführen. An einigen Universitäten können Studenten von diesen Experimenten freigestellt werden, während an anderen Universitäten ein Studium ohne diese Experimente nicht möglich ist. An diesem Punkt stellt sich die Frage, ob Studenten für ihre akademische Laufbahn diese Experimente benötigen, oder ob eine



moderne Ausbildung auch mit anderen Methoden erreicht werden kann. Für beide Standpunkte gibt es Argumente:

Ein Hauptargument der Befürworter von Tierexperimenten ist, daß Biologen und Mediziner lernen müssen, ein Tier zu präparieren. Sie sollten Organe einmal 'live' gesehen haben, und zwar an Tieren, die gewisse allgemeine Prinzipien mit dem Menschen gemeinsam haben. Die Gegner halten dagegen, daß in dem Massenbetrieb an Universitäten nicht der einzelne Student selbst, sondern der Praktikumsassistent die Präparation der Organe durchführt. Dem Studenten bliebe sowieso nur die Rolle des passiven Zuschauers, die ihm auch über einen Lehrfilm vermittelt werden könnte. Zudem sei die Fertigkeit einer bestimmten Präparation nicht in einem einzelnen Versuch erlernbar. Darüber hinaus sei es fraglich, wieviele der Studenten in ihrer weiteren Laufbahn Präparationstechniken benötigten.

Ein weiteres Argument für Experimente an Tieren ist, daß ein selbst praktiziertes Experiment weit besser im Gedächtnis bleibt als angelesenes Wissen oder passiv erlebte Demonstrationen. Gerade in diesem wichtigen Punkt zeigt sich, daß es bisher sehr wenige überzeugende Alternativen zu Tierversuchen gibt. Hier haben wir nun angesetzt und begonnen, Praktikumsversuche auszuarbeiten, die klassische Tier- bzw. Organversuche ersetzen, den Praktikanten aber aktiv daran teilnehmen läßt. Wir haben ein Computerprogramm entwickelt, das eine Alternative zu einem klassischen physiologischen Versuch in der Ausbildung der Biologen und Mediziner darstellt.

Das Lernziel

Die Grundkenntnisse über Erregungsvorgänge einzelner Zellen bilden die Grundlagen zum Verständnis von Hirn- und Muskelfunktionen. Die Erregung innerhalb einer Zelle wird durch ein elektrisches Ereignis weitergeleitet, das sich im Bereich der Zellmembran abspielt. Ionenkanäle, die in diese Membran eingelagert sind, steuern den Stromfluß durch die Membran. Das Schaltverhalten dieser Ionenkanäle, deren Struktur und Funktion derzeit aufgeklärt werden, vermittelt den elektrischen Erregungsvorgang in der Zelle. Das Ziel des ausgearbeiteten Versuches ist, dem Studenten das Verständnis näherzubringen, wie diese Ionenkanäle funktionieren und wie ihr Zusammenspiel in ein elektrisches Signal eines biologischen Systems umgesetzt wird.

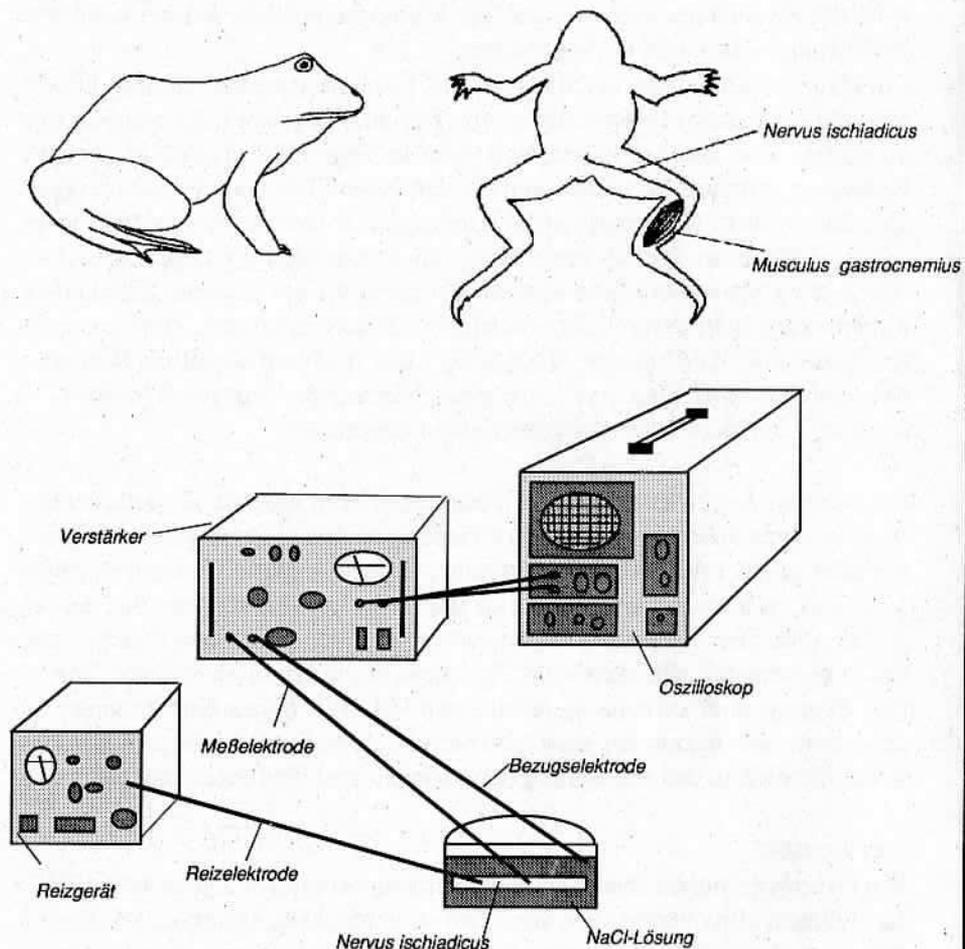


Abb. 1 Der klassische neurophysiologische Versuch am Frosch

Ein Wasserfrosch (*Rana esculenta*) wird decapitiert und der Ischiasnerv (*Nervus ischiadicus*) freipräpariert. Der Nerv wird in einem Organbad eingespannt und mit Meß- und Reizelektroden verbunden. Mithilfe eines Reizgerätes werden Aktionspotentiale ausgelöst. Das Meßsignal wird nach Verstärkung auf einem Oszilloskop dargestellt.

Der klassische Versuch

Für neurophysiologische Versuche im Rahmen eines physiologischen Grundpraktikums in der Biologie und Medizin wurde traditionell die Erregungsleitung im isolierten Froschnerven unter verschiedenen experimentellen Bedingungen bestimmt. Zur Präparation des Nerven wurde das Tier dekapitiert und der Ischiasnerv freigelegt. Am isolierten Nerven wurden dann die klassischen neurophysiologischen Versuche durchgeführt: Der Nerv wird gereizt und die elektrische Aktivität mit Hilfe eines Oszillographen dargestellt (Abb. 1; Abb. 2b). Pro Studentengruppe (4 Personen) wurde mindestens ein Frosch benötigt. Bei einer Gesamtzahl von 180 Studenten

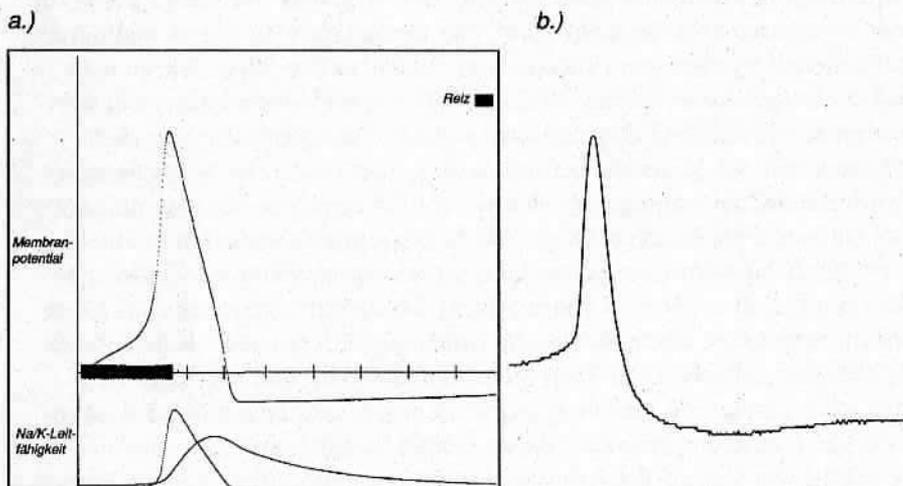


Abb.2 Vergleich eines simulierten mit einem experimentell abgeleiteten Aktionspotential

a.) der Verlauf eines Aktionspotentials wurde basierend auf die von Hodgkin und Huxley entwickelten Gleichungssysteme simuliert. Diese Darstellung sieht der Student am Rechner. Man erkennt den Verlauf des Aktionspotentials und die berechnete Leitfähigkeitsänderungen für Kalium und Natrium.
 b.) Aktionspotential eines Neurons aus einer Zellkultur des Rückenmarks der Ratte. Dieses spontane Aktionspotential wurde durch eine intrazellulär positionierte Glasmikroelektrode von Dr. Marion Wienrich, Battelle Institut, Frankfurt, registriert und die Darstellung für diesen Artikel zur Verfügung gestellt.



pro Jahr, allein an der biologischen Fakultät der Universität Heidelberg, beläuft sich die gesamte Anzahl auf 45 Frösche. Da etliche Tiere den Transport und die nachfolgende Haltung nicht überlebten, mußte ein noch größeres Kontingent an Tieren beschafft werden. In den letzten Jahren wurde die Beschaffung der Frösche immer schwieriger, da Frösche in einigen Ländern unter Naturschutz stehen und es bisher noch nicht gelungen ist, sie im Labor zu züchten. Die einzige Quelle waren daher Frösche, die aus osteuropäischen Ländern importiert wurden.

Die Alternative

Wir haben am Institut für Neurobiologie der Universität Heidelberg ein Computerprogramm entwickelt, welches das Verhalten von Ionenkanälen in einer erregbaren Membran simuliert. Die Grundlagen für dieses mathematische Modell wurden von Hodgkin und Huxley in den 50er Jahren entwickelt (Hodgkin and Huxley, 1952), die für diese Pionierarbeiten mit dem Nobelpreis für Medizin ausgezeichnet wurden. Sie untersuchten an den Riesenaxonen des Tintenfisches mit damals hochmodernen Methoden die Stromverläufe, die während der elektrischen Erregung an der Plasmamembran auftraten. Sie konnten dabei zwei Ströme unterscheiden: zum einen, einen durch Natriumionen getragenen Strom, der einwärts ins Zellinnere fließt, und, zum anderen, Kaliumströme, die auswärts gerichtet sind. Diese Ströme zeigen eine charakteristische Abhängigkeit vom elektrischen Potential über der Zellmembran (dem Membranpotential), und der Zeitverlauf ihrer Aktivierung und Inaktivierung ist in einem sehr engen Bereich reproduzierbar. Das Zusammenspiel dieser beiden Stromtypen ist für den charakteristischen Verlauf des Aktionspotentials verantwortlich, das das Einzelereignis eines jeden Erregungsvorganges widerspiegelt. Hodgkin und Huxley stellten damals das Modell auf, das die Ströme durch ein Zeit- und Spannungs-gesteuertes Öffnen von Ionenkanälen in der Zellmembran verursacht werden. Sie stellten mathematische Modelle auf, die das Zeit- und Spannungs-abhängige Verhalten der Kanäle beschrieben. Mit diesen Modellen konnten sie Aktionspotentialverläufe simulieren. In dem von uns entwickelten Simulationsprogramm werden nun diese Gleichungen angewendet und die Aktionspotentialverläufe auf dem Bildschirm eines Rechners dargestellt (Abb. 2a). Diese Verläufe sind nicht von real meßbaren Aktionspotentialen zu unterscheiden, die üblicherweise auf einem Oszillographenschirm dargestellt werden. Die Studenten können nun diese Aktionspotentiale

auslösen, indem sie die 'Zelle' wie in einem Experiment durch Stromimpulse stimulieren. Es können die wichtigen Parameter, wie absolute und relative Refraktärzeit und die Schwelle der Erregung, bestimmt werden. Darüber hinaus können komplexe Experimente simuliert werden, die im Rahmen eines Praktikumsversuches nicht durchgeführt werden können, da dafür ein großer experimenteller Aufwand notwendig ist. Dazu gehören zum Beispiel die Veränderung des Kalium- bzw. Natriumgradienten über der Membran oder die reversible Blockade von Kalium- bzw. Natriumkanälen. Letztere Experimente können am lebenden Organismus nur im Rahmen eines Spezialpraktikums, das sich über einen Zeitraum von mindestens 4 Wochen erstreckt, angeboten werden. Wir glauben daher, daß diese Computersimulation auch didaktisch besser zur Ausbildung von Studenten geeignet ist als ein Tier- bzw. Organversuch.

Erweiterungen dieser Alternative

Wir haben dieses Programm über den ursprünglichen Versuch hinaus erheblich erweitert, um weitere Gebiete der Membranphysiologie abzudecken. Diese Erweiterungen umfassen Programmteile zum Verständnis des Ruhemembranpotentials und Messungen mit der Voltage-Clamp Technik. Basierend auf Gleichungssystemen, die von W. Nernst (1888) und D. E. Goldman (1943) erstellt wurden, kann das Membranpotential einer Zelle unter verschiedenen Bedingungen simuliert werden (Abb. 3). Darüber hinaus können die Studenten die Ionengradienten über der Membran verändern und dadurch verstehen lernen, daß das Membranpotential durch diese Konzentrationsgradienten aufgebaut wird. Die Voltage-Clamp Simulationen sind auch zum Verständnis moderner membranbiologischer Untersuchungsmethoden gedacht, wie zum Beispiel der Patch-Clamp Technik (Sakmann und Neher, 1983).

Kriterien für die Entwicklung von Simulationsprogrammen in der Lehre

Wir haben die erste Version dieses Programmes vor fünf Jahren entwickelt und seit dieser Zeit im biologischen Grundpraktikum an der Fakultät für Biologie der Universität Heidelberg eingesetzt. Dieses Praktikum muß von allen Biologiestudenten an der Universität absolviert werden. Das Programm konnte daher im praktischen Einsatz entwickelt und an die Bedürfnisse der Lernenden und Lehrenden angepaßt werden. Seit 1990 ermöglicht ein För-

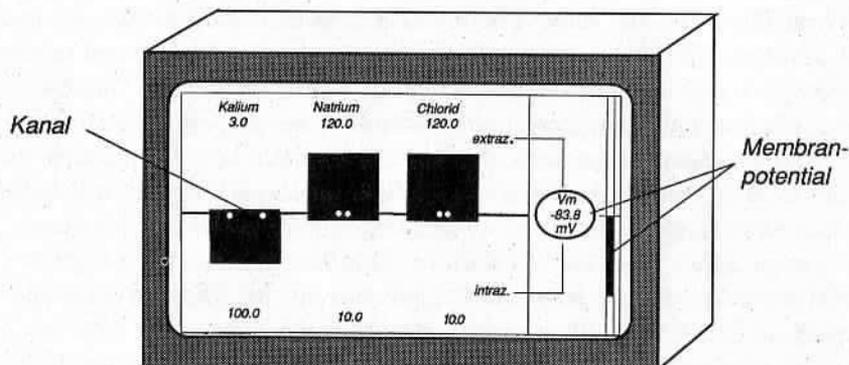


Abb.3 Umsetzung der Goldman-Gleichung in eine Computersimulation der Ionenverteilung über biologischen Membranen

Dieses Bild zeigt die Bildschirm-Darstellung der Ionenverteilungen an der Simulation einer biologischen Membran basierend auf der Goldman-Gleichung. Die Ionengradienten sind als Balkendiagramme, die Kanäle als Poren und die Membran als eine Linie dargestellt. Das resultierende Membranpotential wird rechts angezeigt.

derpreis des Landes Baden-Württemberg die kontinuierliche Weiterentwicklung. Im Laufe der Entwicklungszeit wurden einige Erfahrungen gesammelt, die bei der Entwicklung eines Lernprogrammes für die studentische Ausbildung zu beachten sind:

1. Das unserer Meinung nach wichtigste Kriterium für die Entwicklung von Simulationsprogrammen ist die Interaktionsmöglichkeit der Studenten mit dem Programm. Der Student muß das Gefühl haben, daß er vor einer Aufgabe steht, die er lösen muß, das heißt, deren gezeigte Lösung er von der Theorie her voraussagen muß. Daher sollten die Versuche nicht wie in einem Film abgespult werden, sondern der Student wählt die gesamten Parameter für einen Versuch selbst und sieht sich dann mit dem Ergebnis konfrontiert, das er mit seiner Voraussage vergleichen kann. Im Falle des hier vorgestellten Programmes wird, oder wird nicht, ein Aktionspotential ausgelöst, dessen Form von den vorgewählten Parametern bestimmt wird. Der Student lernt durch Variation der Parameter die Bedingungen für das Auslösen eines Aktionspotentials kennen und beendet das Programm mit dem Gefühl, aktiv an der logischen Erarbeitung der Lösung beteiligt gewesen zu sein.

2. Ein weiteres Kriterium für ein gutes Lernprogramm ist die leichte Bedienbarkeit. Computerlaien sollten ohne Einarbeitungszeit mit dem Programm arbeiten können. Dies setzt voraus, daß alle Auswahl-Möglichkeiten am Bildschirm angezeigt werden in Kombination mit einem Text, der die Auswahl erklärt. Graphische Darstellungen der Ergebnisse und Simulationsmodelle erleichtern ebenfalls den Einstieg in die Welt des Computers. Für weiterführende Fragen ist ein begleitendes Skript hilfreich. Wahlweise können solche Textstücke auch auf dem Rechner gespeichert sein. Nur unter solchen Voraussetzungen wird ein Programm auch von Computer-Neulingen akzeptiert.

3. Das letzte Kriterium ist die Wahl des Computersystems, auf dem das Programm entwickelt werden soll. Hier sollte ein günstiges, weitverbreitetes System gewählt werden, das an Hochschulen eingeführt ist und das auch in mehreren Einheiten für die Lehre beschafft werden kann. Bei der derzeitigen Marktlage und Verbreitung bieten sich MS-DOS Rechner an, die zum Stückpreis von sFr 2.000.- aufwärts beschafft werden können.

Alternativversuche für weitere Experimente in studentischen Praktika

Im Rahmen der Förderung durch das Land Baden-Württemberg werden derzeit weitere Programme als Alternativen zu Tier- bzw. Organversuchen entwickelt. Es ist geplant, Simulationsprogramme für synaptische Aktivität, Muskelphysiologie und Kreislaufregulation zu entwickeln. Langfristig sollte damit eine ausreichende Anzahl von Alternativen für die studentische Ausbildung in der Physiologie zur Verfügung stehen.

Das Programm kann kostenfrei bezogen werden.
Bitte eine IBM-kompatible, formatierte Diskette senden an:

Dr. H. Kettenmann
Neurobiologie der Universität Heidelberg
Im Neuenheimer Feld 345 6900 Heidelberg , Deutschland

Literatur

- Goldman D. E. (1943) Potential, impedance, and rectification in membranes. *J. Gen. Physiol.* 27:37-60.
- Hodgkin, A. L. and Huxley, A. F. (1952) A quantitative description of membrane current and its application to conduction and excitation in nerve. *J. Physiol. (Lond.)* 117:500-544.
- Nernst, W. (1888) Die elektromotorische Wirksamkeit der Ionen. *Z. Phys. Chem.* 4: 129-181.
- Sakmann, B. and Neher, E. (1983) Single-channel recording. Plenum Press, New York, U.S.A.
- Wheal H. V. (1985) A microcomputer simulation of the Hodgkin-Huxley model for membrane current. *J. Physiol.* Feb.:23P.

