

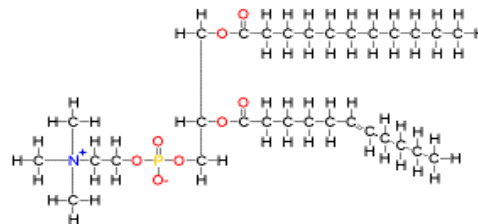
Inhaltsangabe

1.Theoretischer Hintergrund.....	Seite 3
1.1 Zellmembran.....	Seite 3
1.2 Transport über die Membran.....	Seite 4
1.3 Diffusion.....	Seite 5
1.4 Osmose.....	Seite 6
1.5 Donnan- Verteilung.....	Seite 7
1.6 Osmoregulation.....	Seite 9
2. Material und Methode.....	Seite 11
3. Ergebnisse.....	Seite 12
4. Diskussion.....	Seite 14
5. Literaturverzeichnis.....	Seite 14

1.Theoretischer Hintergrund

1.1 Zellmembran

Die selektiv-permeable Zellmembran besteht hauptsächlich aus einer Phospholipiddoppelschicht, außerdem aus Proteinen und Cholesterin. An Proteine und Lipide können zusätzlich Oligosaccharide (Wenigzucker) angelagert sein. Phospholipide bestehen aus einem Glycerinmolekül, das an ein Phosphat mit Rest (polarer, hydrophiler Kopf) und zwei Fettsäureketten (unpolarer, lipophiler Schwanz) gebunden ist.



Phospholipid

Biology Project 04

Abb. 1: Aufbau eines Phospholipides, das an dem Phosphat einen Aminrest gebunden hat.

(<http://www.biology.lsu.edu/introbio/Link2/phospholipid.gif> 10.12.07)

Die Membran wird so gebildet, dass sich die Schwänze aneinanderlagern und so eine Doppelschicht mit hydrophoben Innenmilieu bilden. Zelläußeres und Zellinneres sind hydrophil. Bei den Proteinen der Membran kann es sich um integrale Proteine, die in die Membran eingelagert sind, oder um periphere, die ihr aufgelagert sind, handeln. Die Glycokalyx (Glycolipide und Glycoproteine) dient der Zell-Zell-Erkennung. Außerdem haben Proteine noch die Funktion der Stoffumwandlung. Außerdem dient die Zellmembran der Signalübertragung, der Kommunikation mit anderen Zellen und an ihre laufen Stoffwechselvorgänge ab. Dabei ist die Zellmembran nicht starr, sondern wird über das sogenannte Fluid-Mosaik-Modell beschrieben. Das heißt ihre Bestandteile können sich mehr oder weniger frei in ihr bewegen. Begründen lässt sich dieser Sachverhalt über die sehr schwachen chemischen Bindungen, die die Membran zusammenhalten. Wie oben schon erwähnt ist die Membran semipermeabel, d.h. dass sie nur für bestimmte Moleküle durchlässig ist.

1.2 Transport über die Membran

1.2.1 Passiver Transport

Lipophile Stoffe und kleine Moleküle können ohne Hilfsmittel diffundieren. Des Weiteren gibt es auch Tunnelproteine (Ionenkanäle), die passiv und selektiv größere Moleküle passieren lassen. Die beiden Mechanismen funktionieren entlang des Konzentrationsgefälles und ohne Energieaufwand.

Die Ionenkanäle können sowohl permanent geöffnet bleiben, als auch unter Abhängigkeit von äußeren Faktoren geöffnet und geschlossen werden. Dabei unterscheidet man zwischen ligandenabhängigen und potentialabhängigen Kanälen. Die ligandenabhängigen Kanäle öffnen sich nur, wenn an ihnen ein Ligand bindet. Die potentialabhängigen Kanäle brauchen zum Öffnen eine Änderung des Membranpotentials. Des Weiteren gibt es Transportproteine, sogenannte Carrier, die an die entsprechenden Substanzen binden und sie durch die Membran schleusen.

1.2.2 Aktiver Transport

Beim aktiven Transport wird Energie verbraucht und er funktioniert auch entgegen des Konzentrationsgefälles.

Beim Uniport wird nur ein Stoff transportiert (Bsp.: Ca^{2+} -Ionenpumpe wird direkt von ATP angetrieben).

Beim Cotransport werden verschiedene Stoffe transportiert. Der erste Stoff wird aktiv transportiert. Durch den dadurch entstandenen Konzentrationsgradienten oder durch passives Zurückdiffundieren kann nun ein weiterer Stoff in gleiche oder in die entgegengesetzte Richtung "mitgezogen" werden. Hierbei unterscheidet man noch zwischen dem Symport (beide Stoffe bewegen sich in dieselbe Richtung) und dem Antiport (die Stoffe bewegen sich entgegengesetzt). Ein Beispiel für den Symport ist die aktive Aufnahme von Glucose und Aminosäuren durch einen Na^+ -Gradienten in den Darmzellen. Als Antiport bezeichnet man unter anderem den Aufbau des elektrochemischen Gefälles: Die Na^+/K^+ -Pumpe schleust unter ATP-Verbrauch 3 Na^+ -Ionen aus dem Zellinneren nach außen und 2 K^+ -Ionen in die entgegengesetzte Richtung.

Zudem gibt es auch noch einen primären oder einen sekundären aktiven Transport. Bei ersterem wird die benötigte Energie direkt vom Ionenkanal durch die Hydrolyse von ATP gewonnen. Beim sekundären aktiven Transport wird die Energie indirekt aus einer anderen Energiereserve bezogen, oft ist diese ein Natrium-Gradient.

1.3 Diffusion

Unter dem Begriff Diffusion versteht man das Bestreben der Teilchen in Gasen oder Flüssigkeiten (in sehr geringem Maße auch in Feststoffen) sich zu einer Gleichverteilung im Medium auszubreiten. Die Teilchen werden dabei von der sogenannten Brownschen Molekularbewegung angetrieben. Diese ist temperaturabhängig, das heißt, sie nimmt mit steigender Temperatur zu. Da die Teilchen nach einer maximalen Unordnung (Entropie) streben, ist ein Teilchengradient Voraussetzung für die Diffusion. Die Teilchen nehmen schließlich am Ende der Diffusion einen größtmöglichen Abstand voneinander ein. Die Diffusionsrichtung orientiert sich von dem Ort mit der höheren Konzentration zum Ort der niedrigeren Konzentration.

Die Diffusion ist ein relativ langsamer Prozess. Der Teilchenfluss (J) (J =Stoffmenge pro Zeitintervall), bzw die Diffusionsgeschwindigkeit, ist abhängig von der Membrandicke (dx) und dem Konzentrationsunterschied (dc). Je größer der Gradient und je dünner die Membran, desto stärker ist der Fluss. Der Gradient ist von dem Kompartiment mit der geringeren Konzentration zum Kompartiment der höheren Konzentration gerichtet. Der Teilchenfluss (J) bewegt sich umgekehrt. Daraus ergibt sich das negative Vorzeichen in der Formel:

$$J = -dc/dx$$

Das Ficksche-Gesetz gibt an, wie groß der Fluss (J) pro Konzentrationsgefälle ($-dc/dx$) und der Fläche (A) ist. Dies hängt von der Diffusionskonstanten (D) ab, die für jeden Stoff in demselben Lösungsmittel konstant ist. Sie hängt unter anderem vom Gewicht der Moleküle ab.

Die Formel lautet demnach:

$$J = - D * A * dc/dx$$

J: Teilchenfluss

D: Diffusionskonstante

dc: Konzentrationsunterschied ($dc = c$: Ort mit hoher Teilchenkonzentration; $-c$: Ort mit niedriger Teilchenkonzentration)

dx: Dicke der Membran

Die Diffusionsgeschwindigkeit (J) hängt von einigen Faktoren ab. Je höher der Konzentrationsgradient desto höher ist der Teilchenfluss (J). Das gleiche gilt für die Temperatur und die Größe der Fläche (A), über die der Teilchenaustausch stattfindet. Andere wichtigen Faktoren bilden die Viskosität und das Molekulargewicht der Teilchen. Je höher diese beiden Faktoren sind, desto niedriger ist J . Außerdem spielt die Ladung und die Ladungsdichte der Teilchen und die Permeabilität der Membran eine wichtige Rolle.

1.4 Osmose

Als Osmose bezeichnet man die Diffusion eines Lösungsmittels (im Allgemeinen Wasser) durch eine für verschiedene Stoffe unterschiedlich permeable Membran. Sie ist in Zellen, Geweben und Organen wichtig für die Verteilung von Wasser. Durch folgendes Experiment kann der Prozess der Osmose veranschaulicht werden:

Durch ein Wasserbecken wird eine nur für Wasser durchlässige Membran gestellt (siehe Abbildung). Nun wird auf der einen Seite das Wasser durch eine wässrige Zuckerlösung ersetzt. Da die Membran nicht permeabel für die Zuckermoleküle, jedoch für Wasser ist, kann sich Wasser im Gefäß frei bewegen. Dies führt zu einem Druckanstieg auf der Seite mit der Zuckerlösung, da das Wasser eine Gleichverteilung seiner Konzentration anstrebt und somit insgesamt, zusammen mit dem Zucker mehr Teilchen auf der einen Seite sind.

a) Start

I	A
$[H_2O] >$	$[H_2O]$ Zucker

b) Druckaufbau durch Osmose:

I	A
$[H_2O] =$	$[H_2O]$ ← ← <i>Osmotischer Druck</i> ← Zucker

Der osmotische Druck ($\Delta\pi$) lässt sich mithilfe der Van't-Hoff-Gleichung mathematisch berechnen:

$$\Delta\pi = (n/V) * R * T$$

(n/V): Stoffmengendichte (Molzahl / Volumen) der gelösten Teilchen, bzw.

Stoffmengenkonzentration

R: Allgemeine Gaskonstante

T: Temperatur

An der Formel erkennt man, dass für den osmotischen Druck allein die Stoffmengenkonzentration eine Rolle spielt und nicht die Art der Teilchen.

Für den Vergleich zweier Lösungen in Bezug auf den osmotischen Druck unterscheidet man folgende drei Fälle: Isoosmotische Lösungen besitzen den gleichen Druck. Hypoosmotische Lösung besitzt einen geringeren Druck als die Bezugslösung. Hyperosmotische Lösung besitzt einen höheren Druck als die Bezugslösung.

Ein weiterer Begriff ist die Tonizität. Sie beschreibt das osmotische Verhalten in Bezug auf eine Zelle:

Eine isotone Lösung besitzt die gleiche Osmolarität wie eine Zelle. In einer isotonischen Lösung nimmt eine Zelle weder Wasser auf noch gibt sie welches ab. Hypotonische Lösungen besitzen eine geringere Konzentration an gelösten Substanzteilchen und somit einen geringeren Druck (Tonus) als das Cytoplasma einer Zelle. In einer hypotonischen Lösung dringt Wasser in die Zelle ein, sie schwillt an und kann bei zu hohem Druck platzen. Hypertonische Lösungen weisen eine höhere Konzentration an gelösten Substanzteilchen und somit einen größeren osmotischen Wert oder Druck als das Cytoplasma auf. In einer hypertonischen Lösung gibt die Zelle Wasser ab und schrumpft.

Teilchen diffundieren immer von der hypotonischen in Richtung der hypertonischen Lösung.

1.5 Donnanverteilung

Die Donnanverteilung kann sehr gut am Beispiel der Na^+/K^+ -Ionenpumpe beschrieben werden. Stellt man sich vor, dass diese ausfällt, entsteht folgendes Szenario: Im Zellinneren (innen=i) befinden sich Proteine (A^-), die eine negative Nettoladung besitzen und nicht durch die Membran in den Extrazellulärraum (außen=a) diffundieren können. Für K^+ -Ionen, für

Wasser und in gewissem Maße für Na^+ -Ionen ist die Membran permeabel. Das Donnan-Gleichgewicht beschreibt welche Ionenkonzentrationen sich dann zu beiden Seiten der Membran einstellen. Es stellt sich durch die sogenannten Festladungen (geladenen Teilchen, die nicht diffundieren können) eine asymmetrische Verteilung der anderen Ionen ein.

Gäbe es nur die beiden Ionen K^+ und Cl^- , die beide durch eine Membran permeabel sind, würde sich nach einiger Zeit ein Gleichgewicht einstellen. Dies zeigen folgende vereinfachten Grafiken:

a) Start:

I	A
K^+	
Cl^-	

b) Gleichgewicht:

I	A
$[\text{K}^+] = [\text{K}^+]$	
$[\text{Cl}^-] = [\text{Cl}^-]$	

Bei gleichzeitigem Vorhandensein eines mehrfach negativ geladenen, nicht diffusionsfähige eines Makromoleküls (A^-), so entsteht eine Neuordnung des Systems, K^+ und Cl^- gruppieren sich neu:

a) Start:

I	A
A^-	
K^+	
Cl^-	

b) Gleichgewicht:

I	A
A^-	
$[\text{K}^+] > [\text{K}^+]$	
$[\text{Cl}^-] < [\text{Cl}^-]$	

Das Gleichgewicht das nun erreicht ist, heißt Donnan-Gleichgewicht, das man durch folgende Formel charakterisieren kann:

$$[K^+]_I * [Cl^-]_I = [K^+]_A * [Cl^-]_A$$

Es entsteht durch die teilweise Ladungstrennung eine gewisse Ungleichverteilung der Ionen. Dies wird durch die Elektroneutralität hervorgerufen.

In den meisten lebenden Zellen ist diese Ungleichverteilung allerdings durch weitere Mechanismen (z.B.: Na^+ -/ K^+ -Ionenpumpe) und Faktoren weitaus größer. Falls also wie zu Beginn beschrieben die Na^+ -/ K^+ Pumpe ausfällt, stellt sich bald darauf ein Donnan-Gleichgewicht ein.

1.6 Osmoregulation

1.6.1 Allgemeines

Die Osmoregulation dient dem Aufrechterhalten des Milieus im Körperinneren im Bezug auf den Ionen- und Wasserhaushalt. Sie gleicht die Abgabe bzw. die Aufnahme der gelösten Salze aus.

1.6.2 Arten der Osmoregulation

1.6.2.1 Osmoregulierer (Homoiosmatische Tiere)

Die intrazelluläre Flüssigkeit einiger Tiere unterscheidet sich deutlich vom Außenmedium. Sie benötigen deshalb verschiedene Organe zur aktiven Osmoregulation, was viel Energie erfordert. Bei den Protozoa ist es die kontraktile Vakuole, die den Wasser-Salz-Haushalt reguliert. Insekten besitzen hierzu Malphigische Gefäße, Crustaceen und Mollusken haben Nephridien, Evertebraten Proto- und Metanephridien und die Vertebraten haben schließlich als osmoregulierendes Organ die Nieren. Bei den Osmoregulierern unterscheidet man strenge und beschränkte Osmoregulierer. Erstere schaffen es, dass ihr Zellinneres ständig konstant bleibt, auch wenn sich die äußeren Bedingungen stark ändern. Bei Zweiteren ist dies nur eingeschränkt, also in einem gewissen Bereich der Fall. Wird dieser verlassen, verhalten sie sich wie Osmokonformer. Beispiele für homoiosmotische Tiere sind zum einen Süßwasserorganismen, oder auch die im Versuch verwendete Strandkrabbe *Carcinus maenas*, die bis zu einem gewissen Grad ihr inneres Milieu konstant halten kann, also ein beschränkter Osmoregulierer ist.

1.6.2.2 Osmokonformer (Poikilosmotische Tiere)

Bei Osmokonformern hingegen finden wir keine aktive Regulation ihres Wasser- und Ionenhaushaltes. Diese Tiere passen sich in ihrer Osmolarität deshalb vollständig ans Außenmedium an, sind also isoosmotisch mit der Umwelt.

Extreme Osmokonformer passen ihre inneren osmotischen Verhältnisse zu hundert Prozent an die Umwelt an. Zu ihnen zählen die meisten marinen Invertebraten wie beispielsweise auch die Miesmuschel *Mytilus edulis*.

1.6.3 Toleranzbereiche der Osmoregulation

Unter allen diesen Tiergruppen gibt es welche, die einen engen Toleranzbereich gegenüber Umweltänderungen haben. Sie nennt man stenöke Tiere. In Bezug auf die Änderungen der Salzkonzentration bezeichnet man sie als stenhalin. Dagegen nennt man Organismen mit einem breiten Toleranzbereich euryök bzw. euryhalin.

Euryhalin sind beispielsweise maulbrütende Buntbarsche *Cichlidae sp.*

1.6.4 Tierbeispiele zur Osmoregulation

Die verschiedenen Strategien zur Osmoregulation werden an folgenden Beispielen homoiosmotischer Lebewesen veranschaulicht:

1.6.4.1 Limnische Tiere

Süßwasserfische sind im Vergleich zu ihrem Lebensraum hyperosmotisch. So müssen sie genügend Salze aufnehmen, um den osmotischen Wert in ihrem Inneren auf einem konstanten Niveau zu halten. Sie scheiden zum Einen verdünnten Harn in großen Mengen aus, trinken niemals Süßwasser und es können Salze aktiv mit Hilfe von speziellen Chloridzellen an den Kiemen aufgenommen werden.

1.6.4.2 Marine Tiere

Meeresfische dagegen sind, anders als Süßwasserfische, hypoosmotisch gegenüber ihrer Umwelt. Sie müssen Salze ausscheiden. Das erreichen sie durch die Ausscheidung kleiner Mengen hochkonzentrierten Harns, Exkretion der Ionen über die Chloridzellen an den Kiemen und sie trinken aktiv große Mengen Meerwasser. Die Knorpelfische (*Chondrichthyes*) bilden eine Sonderstellung. Sie sind mit dem Meerwasser isoosmotisch. Das erreichen sie durch eine hohe Konzentration an Harnstoff in ihrem Blut. Dazu brauchen sie zum Schutz ihrer Proteine und Enzyme vor einer Denaturierung Trimethylaminoxid

(TMAO) in ihrer Körperflüssigkeit. Überschüssige Salze werden über Rektaldrüsen und ihre Niere ausgeschieden.

1.6.4.3 Terrestrische Tiere

Landtiere, insbesondere Wüstenbewohner, haben mit einem hohen Wasserverlust durch Atmung, Verdunstung über die Haut und durch die Ausscheidung von Harn und Exkrementen zu kämpfen. Sie zeigen spezielle Anpassungen in Körperbau und Lebensweise: Ein extremes Beispiel stellt die Känguruhratte *Dipodomys merriami* dar. Sie gewinnt Wasser zu 90% aus dem metabolisch gewonnenen Oxidationswasser und ihrer Nahrung. Desweiteren drosselt sie ihren Wasserverlust durch die Abgabe eines hochkonzentrierten Harns und durch ihre lange Schnauze, in der die ausgeatmete Luft durch Abkühlung kondensiert. Außerdem besitzt sie eine sehr lange Henle-Schleife in den Nieren, die zur Wasserresorption dienen und sie verbringt den heißen Tag in unterirdischen, kühlen Höhlen und wird erst nachts aktiv.

Marine Vögel und Reptilien besitzen spezielle Salzdrüsen, die bei den Vögeln über den Augen sitzt. Über diese Drüsen scheiden sie stark hyperosmotische, konzentrierte Salzlösungen aus.

2. Material und Methoden

Für den Versuch werden Strandkrabben (*Carcinus maenas*) und Miesmuscheln (*Mytilus edulis*) verwendet, die in vier verschiedenen Salzwasserbecken gehalten werden. Diese haben eine Salzkonzentration von 600, 800, 1000, 1200 mmol/ kg.

Man entnimmt sowohl den Krabben als auch den Muscheln mit Hilfe einer Glaskapillare Hämolymphe.

Dies wird bei den Krabben folgendermaßen durchgeführt: Aufgrund der fehlenden Panzerung zwischen den Beinen, sticht man dort die Glaskapillare ein, wodurch man die Hämolymphe gewinnt. Bei den Miesmuscheln hingegen muss man deren Schale aufbrechen, um die Hämolymphe durch Anstechen des Eingeweidesacks zu erhalten.

Außerdem wird aus den vier Wasserbecken jeweils eine Probe des Haltungswassers entnommen. Man wertet die entnommenen Proben mit Hilfe eines Osmometers aus. Nun vergleicht man für jedes Becken die Osmolarität des Wassers mit der Osmolarität der Hämolymphe.

3. Ergebnisse

Tabelle 1: Osmolaritätswerte für *Mytilus edulis* im Vergleich zum Haltungswasser

Becken	Osmolarität Haltungswasser [mmol/kg]	Osmolarität Hämolymphe [mmol/kg]
1	428	576
2	716	824
3	1012	975
4	1329	1218

Tabelle 1 kann man entnehmen, dass unsere Messergebnisse für die Osmolarität der Hämolymphe von *Mytilus edulis* bei den beiden Becken mit weniger konzentriertem Haltungswasser knapp über den Werten des Haltungswassers liegen. Das Haltungswasser der beiden anderen Becken weist allerdings eine jeweils höhere Osmolarität auf als die, die wir bei den Tieren messen können. Auffallend ist aber, dass die gemessene Osmolarität der Hämolymphe stetig zunimmt, je höher die Osmolarität des Haltungswassers ist.

Nachfolgendem Schaubild ist zu entnehmen, dass fast eine lineare Gerade vorliegt, lediglich der Wert für das dritte Becken scheint etwas zu niedriger zu sein.

Graphische Darstellung der Werte:

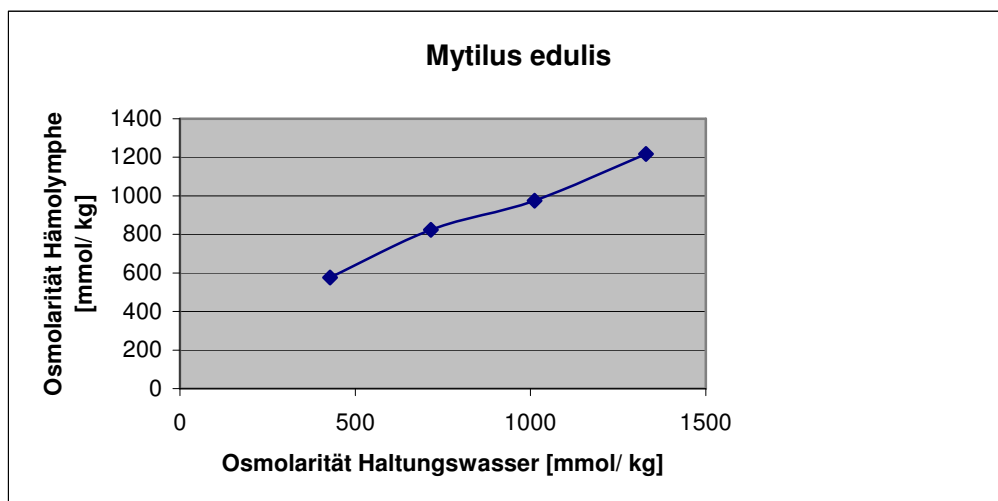


Diagramm 1: Osmoanpassung bei *Mytilus edulis* im Verhältnis zum Haltungswasser

Tabelle 2: Osmolarität für die Hämolymphe und das Haltungswasser bei *Carcinus maenas*

Becken	Osmolarität Haltungswasser [mmol/kg]	Osmolarität Hämolymphe [mmol/kg]
1	591	631
2	839	841
3	932	1013
4	1312	1286

Der Tabelle 2 sind die Werte für *Carcinus maenas* zu entnehmen. Hier liegen die Ergebnisse für die Hämolymphe im ersten und dritten Becken deutlich über jenen des zugehörigen Haltungswassers. Im zweiten Becken hingegen sind die gemessenen Werte für Haltungswasser und Hämolymphe fast identisch. Das vierte Becken zeigt uns eine höhere Osmolarität für das Haltungswasser im Vergleich zur Hämolymphe an.

Dem Schaubild kann man entnehmen, dass die Werte keinesfalls so konstant wie im vorherigen Tierbeispiel sind. Man findet keine Gerade, sondern ein Diagramm mit verschiedenen, uneinheitlichen Steigungen.

Graphische Darstellung der Messergebnisse:

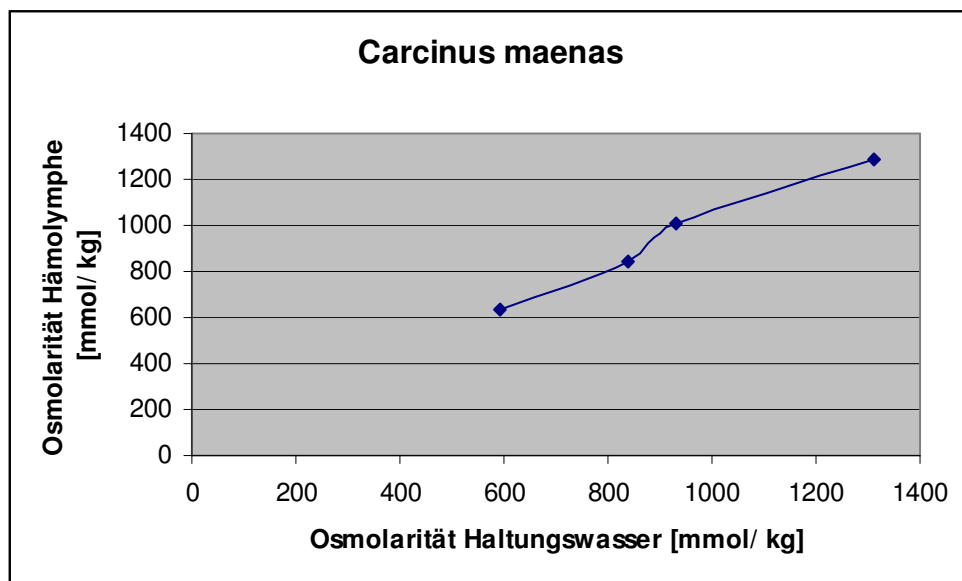


Diagramm 2: Osmoregulation bei *Carcinus maenas* anhand verschiedener Haltungswasserkonzentrationen

4. Diskussion

In unseren Diagrammen kann man sehr gut sehen, dass es sich bei der Miesmuschel (*Mytilus edulis*) um einen Osmokonformer handelt, dass sie sich also an das Haltungswasser anpassen muss.

Im Gegensatz dazu sieht man bei der Strandkrabbe (*Carcinus maenas*), dass der Graph einen anderen Verlauf hat. Da es sich hier um einen beschränkten Osmoregulierer handelt, rechnet man zwischen Punkt zwei und drei mit einer deutlich flacheren Steigung. In diesem Bereich sollte sich die Steigung dem Wert Null annähern, da sich das Tier hier nicht ans Außenmedium anpassen muss. Dies ist einem Schaubild aus der Literatur zu entnehmen (Eckert, R.: Tierphysiologie, 2.Auflage, S.440). Der Grund für diese Abweichung ist schwer nachzuvollziehen, da das Osmometer am Versuchstag nicht funktionierte. Begründen könnte man die Werte eventuell durch Irritationen des Tieres in der unnatürlichen Umgebung, oder durch fehlerhaftes Entnehmen der Hämolymphe, wenn zum Beispiel noch zusätzliches Wasser in die Pipette gelangt. Abgesehen von der unnatürlichen Steigung zwischen Punkt zwei und drei entspricht die Kurve unseren Erwartungen.

Die Literaturangaben der Osmolarität der Tiere in natürlicher Umgebung liegen für die Miesmuscheln bei 680mmol/kg und für die Strandkrabben bei 760mmol/kg (Wehner/Gehring: Zoologie, 24.Auflage, S.357, dem Schaubild zu entnehmen).

5. Literaturverzeichnis

- Eckert, Roger: Tierphysiologie; 2. Auflage, 1993, Thieme
- Campell/ Reece: Biologie, 6. Auflage, 2006, Pearson
- Penzlin, Heinz: Lehrbuch der Tierphysiologie; 6. Auflage, 1996, Gustav Fischer
- Schmidt/ Thews: Physiologie des Menschen, 29. Auflage, 2005, Springer
- Wehner/ Gering: Zoologie, 24. Auflage, 2007, Thieme
- H. Hart, L.E. Craine, D.J. Hart: Organische Chemie, 2. Auflage, 2002, Wiley-VCH