

Abteilung Vegetative Physiologie

Prof. Dr. med. Gerolf Gros

I. Forschungsprofil der Abteilung

Der Forschungsschwerpunkt der Abteilung liegt auf den Gebieten Muskelphysiologie und CO₂-Transport. Auf dem Gebiet der Muskelphysiologie werden die Mechanismen der Muskelplastizität untersucht, d.h. der Anpassung des Skelettmuskels an verschiedene Belastungsformen. Solche Anpassungen sind zum einen Muskelhypertrophie, und zum anderen die Umwandlung des Muskelfasertyps z.B. bei mäßiger aber anhaltender Belastung. Hierbei stehen das Verhalten des Muskelstoffwechsels und der Myosine sowie die intrazellulären Signalwege, die deren Änderungen vermitteln, im Zentrum des Interesses. Die elektromechanische Kopplung des Skelettmuskels wird von der Juniorprofessur Papadopoulos bearbeitet, die dem Zentrum Physiologie zugeordnet ist und Untersuchungen zur Struktur und Funktion des skelettmuskulären Dihydropyridinrezeptors anstellt. - Der CO₂-Transport im Skelettmuskel wird anhand der im Skelettmuskel identifizierten Carboanhydrase-Isoenzyme untersucht: hier sind zwei membrangebundene Isoformen von besonderem Interesse, die Carboanhydrasen IV und XIV, die offenbar an der elektromechanischen Kopplung und am muskulären Milchsäuretransport beteiligt sind. Ein weiteres Projekt zum CO₂-Transport stellt die Frage nach den Mechanismen, die manche biologischen Membranen extrem gut permeabel für CO₂ und andere Gase machen (wie z.B. die Erythrocytenmembran), andere Membranen dagegen sehr schlecht permeabel (wie z.B. die apikalen Epithelmembranen in Colon und Magen). Im Fall der Erythrocytenmembran haben wir gezeigt, daß einige integrale Membranproteine bzw. membranassoziierte Proteine zusammenwirken um einen "CO₂-Kanal" in der Membran zu erzeugen, der eine optimale Anpassung des Erythrocyten an seine Funktion beim Gasaustausch darstellt.

II. Forschungsprojekte

1. Niedrige CO₂-Permeabilität der apikalen Epithelmembran im Colon.

Einleitung.- Für einige epitheliale Membranen ist eine sehr niedrige Permeabilität für NH₃ berichtet worden, so z.B. für die apikalen Membranen der Tubuluszellen im dicken aufsteigenden Schenkel der Henleschen Schleife der Niere und für die apikalen Membranen der Epithelzellen von Magen und Colon. Im Falle von NH₃ erscheint eine "gasdichte" Membran an der apikalen Epithelseite deshalb sinnvoll, weil in den Lumina der genannten Organe hohe luminale NH₃-Partialdrücke herrschen können, die, wenn der epitheliale Intrazellulärraum ihnen in unverminderter Höhe ausgesetzt wäre, sie dort möglicherweise toxisch wirken würden. Wir stellten uns die Frage, ob CO₂, das im Lumen von Magen und Colon mit extrem hohen Partialdrücken von bis zu 0.5 atm vorliegen kann, durch eine Barriere davon abgehalten wird, im Intrazellulärraum der Epithelien voll wirksam zu werden. Ideal für eine solche Schutzfunktion wäre eine Lokalisation einer Diffusionsbarriere für CO₂ in der apikalen Membran, da dann unmittelbar hinter dieser Membran der CO₂-Partialdruck erheblich reduziert wäre und das Zellinnere den hohen CO₂-Drücken nicht ausgesetzt wäre. Wenn eine solche Diffusionsbarriere nicht so hoch ist, daß tatsächlich eine Impermeabilität vorliegt, würde trotz des über sie hinweg erfolgenden starken CO₂-Partialdruckabfalls und des nur mäßig erhöhten auf die Zelle einwirkenden CO₂-Partialdrucks immer noch CO₂ resorbiert werden können, wenn auch mit verminderter Geschwindigkeit.

Methode.- Wir haben mit zwei unterschiedlichen Methoden die Existenz einer CO₂-Barriere in der apikalen Membran des Colon vom Meerschweinchen nachweisen können, mittels der massenspektrometrischen ¹⁸O-Austausch-Methode und mittels eines Nachweises eines CO₂-Gradienten über die apikale Membran mit der CO₂-Mikroelektrode. Hier wird über die Ergebnisse mit der ersteren Methode berichtet.

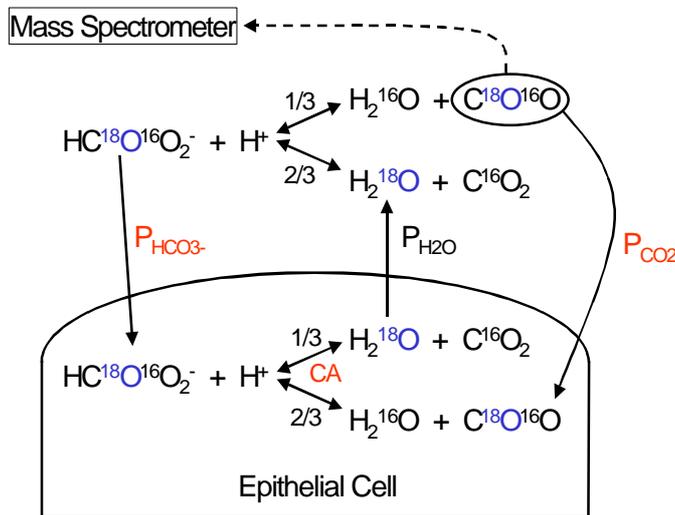


Fig. 1

Um diesen aus mehreren Transportschritten in Verbindung mit den eingezeichneten chemischen Reaktionen bestehenden Vorgang zu verfolgen, registrieren wir massenspektrometrisch den Verlauf der Konzentration von C¹⁸O¹⁶O in der extrazellulären Flüssigkeit. Aus diesem Verlauf, für den Abb. 2 ein Beispiel zeigt, kann man die CO₂-Permeabilität P_{CO₂} und die Bikarbonat-Permeabilität P_{HCO₃⁻} berechnen.

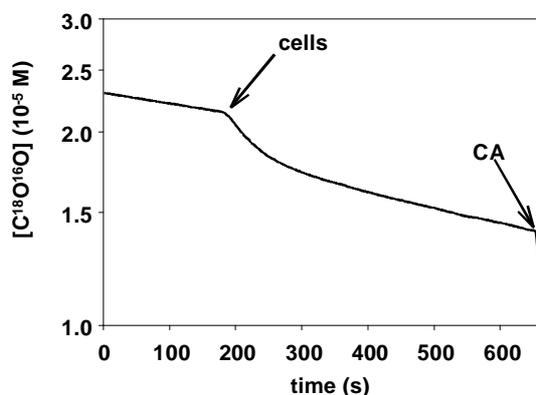


Fig. 2

Abb. 1 zeigt das Prinzip der Messung. Intaktes isoliertes (gestripptes) Epithel wird auf der apikalen Seite in Kontakt mit einer Lösung gebracht, die ¹⁸O-markiertes CO₂ und HCO₃⁻ enthält. Dann strömt in Abhängigkeit von der CO₂-Permeabilität, P_{CO₂}, der apikalen Membran markiertes CO₂ in die Zellen ein, später auch in größerem Umfang markiertes Bikarbonat. Um diesen aus mehreren Transportschritten in Verbindung mit den eingezeichneten chemischen

Ergebnisse.- Dabei setzen wir als intrazelluläre Carboanhydraseaktivität A_i den Wert ein, den wir an isolierten Colonocyten in unabhängigen Experimenten in Anwesenheit von Triton X100 bestimmt haben (proximal A_i = 41 000, distal A_i = 900). Damit lassen sich aus den Messungen am intakten Epithel von proximalem und distalem Colon die in

Tab. I zusammengestellten Permeabilitäten P_{CO₂} und P_{HCO₃⁻} der apikalen Epithelmembran berechnen. Im Hinblick auf die CO₂-Permeabilität zeigt sich, daß die für die apikale Membran

Tabelle I. CO₂- und HCO₃⁻-Permeabilität der apikalen Membran des intakten Epithels von proximalem und distalem Meerschweinchen-Colon

	P _{CO₂} (cm / s)	P _{HCO₃⁻} (cm / s)	A _{in}	n
Intaktes Proximales Colon	1.58×10^{-3} $\pm 0.06 \cdot 10^{-3}$	7.6×10^{-4} $\pm 4.0 \cdot 10^{-4}$	41 000	26
Intaktes Distales Colon	0.75×10^{-3} $\pm 0.21 \cdot 10^{-3}$	0.76×10^{-4} $\pm 0.4 \cdot 10^{-4}$	900	17

gefundenen Werte von $1.58 \cdot 10^{-3}$ und $0.75 \cdot 10^{-3}$ cm/s ca. 200 mal niedriger sind als die von uns mit derselben Methode an humanen Erythrocyten gefundene CO₂-Permeabilität von 0.3 cm/s. D.h., daß die apikale Membran des Colonepithels einen 200 mal größeren Diffusionswiderstand für CO₂ aufweist als die Erythrocytenmembran. Dagegen liegt die apikale Bikarbonatpermeabilität im proximalen Epithel in

derselben Größenordnung wie die erythrocytäre Bikarbonatpermeabilität; diejenige im distalen Colon ist 10 mal geringer, was der geringeren Resorptionskapazität des distalen im Vergleich zum proximalen Colon entspricht.

Schlußfolgerung.- Was sind die Konsequenzen der niedrigen apikalen CO₂-Permeabilität des Colonepithels? Abb. 3 zeigt den Verlauf des CO₂-Partialdrucks innerhalb der Epithelzelle für den Fall, daß im Lumen ein CO₂-Partialdruck von 100 mmHg und auf der basalen Seite der Zelle der von der Blutkapillare bestimmte CO₂-Partialdruck von 40 mmHg herrschen. Mit der

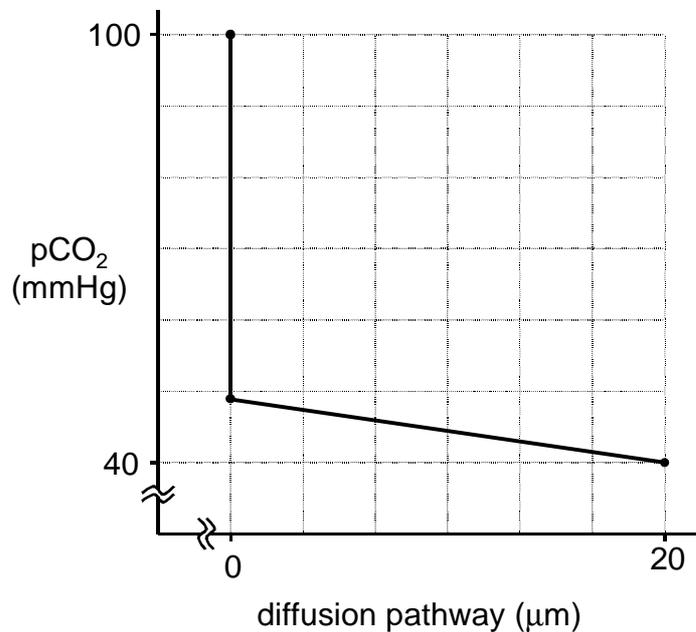


Fig. 3

in Tabelle I aufgeführten apikalen CO₂-Permeabilität und den bekannten Werten des CO₂-Diffusionskoeffizienten im Cytoplasma und der Länge der Diffusionsstrecke in der Zelle läßt sich der in Abb. 3 gezeichnete Partialdruckverlauf berechnen. Dieser Verlauf macht deutlich, daß die apikale Membran dafür sorgt, daß der CO₂-Partialdruck auf der intrazellulären Seite der apikalen Membran gegenüber dem CO₂-Partialdruck auf der luminalen Seite erheblich abfällt und so das Zellinnere vor hohen luminalen Partialdrücken wirksam geschützt wird.

Verantwortlich: Volker Endeward, Anja Sommer, Gerolf Gros. Förderung: DFG/SFB 621, Projekt C5.

- 2. Elektromechanische Kopplung: Untersuchungen zur Struktur und Funktion des skelettmuskulären Dihydropyridinrezeptors.** Projektleiter: Prof. Dr. Symeon Papadopoulos, Junior-Prof.; Barbara Eckhart. Drittmittelgeber: VW-Vorab.
- 3. Muskelplastizität - intrazelluläre Mechanismen der Muskelhypertrophie und der Fasertyptransformation.** Hans-Peter Kubis, Michael Scholz, Nina Hanke, Joachim Meißner, Renate Scheibe, Gerolf Gros. Förderung: DFG, Projekt Muskelplastizität Gr 489/15.
- 4. Promotorstudie zur Regulation der schweren Myosinketten bei der Weiß-Rot-Transformation des Skelettmuskels.**
Joachim Meißner, Renate Scheibe. Förderung: DFG, Muskelplastizität
- 5. Membrangebundene Carboanhydrasen im Skelett- und Herzmuskel.**
Petra Wetzel, Gerolf Gros; Kooperation W.S. Sly, St. Louis/USA. Förderung: DFG-Projekt Wetzel und Gros.
- 6. Carboanhydrase III des Skelettmuskels.**
Cornelia Geers-Knörr, Petra Wetzel, Gerolf Gros. Kooperation: R. Levine, NIH/USA. Förderung DFG-Projekt Wetzel und Gros.
- 7. Molekulare Mechanismen der CO₂-Permeabilität der Erythrocytenmembran.**
Volker Endeward, Gerolf Gros. Kooperationen: P. Agre, Johns Hopkins/USA; J.-P. Cartron, Paris/Frankreich; W.F. Boron, Yale University/USA; L. Peters, Bar Harbor/USA.
- 8. Rolle des Myoglobins beim Sauerstofftransport in Herz- und Skelettmuskel.**
Klaus-Dieter Jürgens, Gerolf Gros.

III. Publikationen

(1) Originalpublikationen

1. Kirschner SE, Becker E, Antognozzi M, **Kubis H-P**, Francino A, Navarro-López F, Perrot A, Mirakhimov MM, Osterziel K-J, McKenna WJ, Brenner B, Kraft T. 2004. Hypertrophic cardiomyopathy-related β -myosin mutations cause highly variable calcium-sensitivity with functional imbalances among individual muscle cells. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* (November 18, 2004) doi:10.1152/ajpheart.00686.2004
2. Kim G, Lee TH, **Wetzel P**, **Geers C**, Robinson MA, Myers TG, Owens JW, Wehr NB, Eckhaus MW, **Gros G**, Wynshaw-Boris A, Levine RL. 2004. Carbonic Anhydrase III Is Not Required in the Mouse for Normal Growth, Development, and Life Span. *Mol Cell Biol* **24**: 9942-9947
3. **Papadopoulos S**, Leuranguer V, Bannister RA, Beam KG. 2004. Mapping sites of potential proximity between the dihydropyridine receptor and RyR1 in muscle using a cyan

fluorescent protein-yellow fluorescent protein tandem as a fluorescence resonance energy transfer probe. *J Biol Chem.* **279**: 44046-44056

4. Lorenzon NM, Haarmann CS, Norris EE, **Papadopoulos S**, Beam KG. 2004. Metabolic biotinylation as a probe of supramolecular structure of the triad junction in skeletal muscle. *J Biol Chem.* **279**: 44057-44064

(2) Buchbeiträge

Gros G. Atmung. In: Physiologie der Haustiere. Hrsg. Wv Engelhardt und G Breves, Enke-Verlag, 2. Aufl., 2004

(3) Publierte Abstracts: 2004 wurden 10 Abstracts publiziert.

IV. Promotionen / Habilitationen

Michael Scholz: "Einfluss des Ras/Map-Kinase-Signaltransduktionsweges auf die Promotoren der schweren Myosinketten während Proliferation und Differenzierung von Muskelzellen." Promotion, Dr. rer.nat

Hans-Peter Kubis: "Die Signaltransduktion der Weiß-Rot-Transformation in Skelettmuskelzellen." Habilitation "Physiologie".

V. Gutachtertätigkeiten

G. Gros ist als Gutachter für mehrere internationale Journale und als Sondergutachter für die DFG tätig. P. Wetzel und H.P. Kubis sind als Gutachter für internationale Journale tätig, H.P. Kubis ist als Gutachter für "The Wellcome Trust" und andere internationale Förderorganisationen tätig.