

Marc Ivemeyer
Dr. sc. hum.

Untersuchungen zur physiologischen Funktion der Titinfilamente in den Myofibrillen der Herz- und Skelettmuskulatur unter statischen und dynamischen Bedingungen

Geboren am 17.1.1967 in Damme i.O.
Reifeprüfung am 7.6.1986 in Bad Essen
Studiengang der Fachrichtung Biologie vom WS 1988/89 bis WS 1994/95
Vordiplom am 8.10.1990 in Heidelberg
Diplom am 17.1.1995 in Marburg/Lahn

Promotionsfach: Physiologie
Doktorvater: Priv.-Doz. Dr. rer. nat. Wolfgang A. Linke

Die quergestreifte Muskulatur der Säuger erzeugt bei Dehnung eine von Aktin und Myosin unabhängige rückstellende Kraft. Einen wichtigen Beitrag zur Erzeugung dieser Kraft leistet das filamentöse Riesenprotein Titin, das die Halbsarkomere der Myofibrillen durchspannt. Im Bereich des A-Bandes ist es mit den dicken Filamenten assoziiert, der I-Bandanteil des Titins zeigt *in vivo* eine nicht lineare Elastizität. Im I-Band Titin flankieren Abfolgen repetitiver Motive vom Immunglobulin (Ig)-Domänentyp einen zentralen Bereich (PEVK-Region) mit einem ca. 70%igen Anteil der Aminosäuren Prolin (P), Glutamat (E), Valin (V) und Lysin (K). Beide Sequenzmotive werden in muskeltypspezifischen Isoformen unterschiedlicher Länge exprimiert.

In dieser Arbeit wurden immunfluoreszenzmikroskopische Untersuchungen und Kraftmessungen an einzelnen, relaxierten Myofibrillen kombiniert, um die Rolle der verschiedenen Strukturelemente des I-Band-Titins bei der Erzeugung passiver Spannung zu untersuchen, unter Berücksichtigung der strukturellen und funktionellen Unterschiede zwischen Herz- und Skelettmuskulatur. Neben elastischen Kräften unter statischen Bedingungen wurden die Streßrelaxation nach schneller Dehnung als eine prominente Meßgröße des viskoelastischen Spannungsanteils sowie die dynamische Steifheit (gemessen als Amplitude der Kraftantwort auf kleine Längenzosillationen) untersucht.

Dehnungsexperimente bei gleichzeitiger Fluoreszenzmarkierung verschiedener I-Band Titinepitope zeigten die Ig-Domänen als eine „weiche“ Feder, die sich bei beginnender Dehnung verlängern, während das PEVK-Titin erst mit einem meßbaren Spannungsanstieg deutlich an Länge zunahm. In Herzmuskelfibrillen waren diese Phasen praktisch nicht unterscheidbar. Eine enzymatische Aktinextraktion in Herzmuskelfibrillen setzte einen ansonsten steifen Z-Scheiben-nahen Titinanteil frei und erniedrigte dabei die passive Spannung der Fibrillen deutlich. Aus den Daten läßt sich ein Modell ableiten, in dem die Ig-Domänenbereiche des Titins vor allem die Länge des physiologischen Arbeitsbereiches festlegen (besonders kurz im Herzmuskel). Die Dehnungskurve der Ig-Domänenbereiche ließ sich mit einem *wormlike chain* Modell für entropische Polymerelastizität gut modellieren. Dagegen mußte dieses Modell für die steifere PEVK-Region um eine enthalpische Komponente ergänzt werden, um die Meßdaten zu beschreiben. Der enthalpische Anteil könnte durch intra- und intermolekulare Wechselwirkungen, bedingt durch die hohe Dichte an geladenen Seitengruppen, erklärt werden. Eine gemessene Abnahme der dynamischen Steifheit bei Erhöhung der Ionenstärke im Skelettmuskel deutet ebenfalls auf eine Bedeutung elektrostatischer Wechselwirkungen in den elastischen Strukturen hin.

Die Messungen zum Zeitverlauf myofibrillärer Streßrelaxation zeigten, daß die schnellen Anteile der Streßrelaxation des Gesamtmuskels auf intramyofibrilläre Strukturen zurückgeführt werden können. Hier spielt eventuell eine Entfaltung einzelner Ig-Domänen im I-Band eine Rolle.

Bei niedrigen Ionenstärken konnte durch schnelle Dehnung ein verzögerter Kraftanstieg, vergleichbar der „Dehnungsaktivierung“ im Insektenflugmuskel, ausgelöst werden, der bei der Körpertemperatur von Säugern wahrscheinlich auch *in vivo* eine Rolle spielt. Dieser Effekt war durch die Substanz BDM, d.h. eine Blockade von Aktin-Myosin-Wechselwirkungen, hemmbar. Es könnte sich hierbei um einen Schutzmechanismus bei schneller Dehnung handeln.