

Carboanhydrase IV vermittelt das Prickeln der Kohlensäure in Getränken

Andreas Dunkel und Thomas Hofmann*

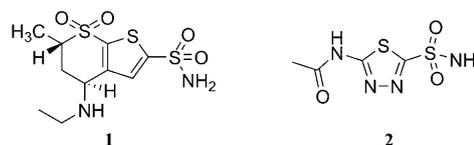
Carboanhydrasen · Geschmack · Kohlensäure · Metalloenzyme · Rezeptoren

Wir Menschen nehmen unsere Umwelt mithilfe einer Vielzahl von sensorischen Systemen wahr. Während die meisten unserer Sinne wie Sehen, Hören, Tasten, Temperatursinn und Propriozeption auf die Erkennung physikalischer Reize optimiert sind, werden Geruch und Geschmack durch die Aktivierung spezifischer Chemorezeptoren im Nasen- und Mundraum durch flüchtige und nichtflüchtige Moleküle induziert. Der menschliche Geschmackssinn unterteilt sich in die fünf Grundgeschmacksqualitäten bitter, süß, sauer, salzig und umami und beruht auf der Aktivierung von Geschmacksrezeptorzellen, die in Geschmacksknospen angeordnet sind und in verschiedenen Papillen über die Zunge und den Gaumen verteilt sind. Durch Anwendung moderner, postgenomischer Arbeitstechniken ist es im Verlauf des letzten Jahrzehntes gelungen, verschiedene metabotrope, G-Protein-gekoppelte 7-Transmembranproteine als Chemorezeptoren für süße (hT1R2/hT1R3),^[1,2] bittere (hT2Rs)^[3] und umami-artige Geschmacksstoffe (hT1R1/hT1R3)^[2,4] zu identifizieren. Zwar werden der epitheliale Natriumkanal (ENaC)^[5] sowie die Transient-Receptor-Potential (TRP)-Ionenkanäle PKD2L1 und PKD1L3^[6] als Rezeptorproteine für Salz- bzw. Sauer Geschmack diskutiert, doch steht der eindeutige Beweis hier noch aus. Darüber hinaus gibt es orosensorische Empfindungen wie kühlend, scharf, elektrisierend oder adstringierend, die nicht durch spezifische Rezeptorzellen, sondern durch die freien sensiblen Nervenendigungen des *Nervus trigeminus* in der Mundhöhle vermittelt werden.

Außer für diese gustatorisch sowie trigeminal vermittelten Reize ist unser Mundraum auch empfindlich für CO₂, das als Bestandteil von kohlensäurehaltigen Getränken das typisch prickelnde Gefühl beim Genuss von Bier, Sekt oder Erfrischungsgetränken verursacht. Bislang wurde der wahrgenommene prickelnde Effekt solcher Getränke der Aktivierung von Mechanorezeptoren durch zerplatzende CO₂-Bläschen zugeschrieben.^[7] Diese These steht jedoch im Widerspruch zur Beobachtung, dass die Wahrnehmung des typi-

schen Prickelns unabhängig vom Luftdruck zu sein scheint. Der Verzehr von kohlensäurehaltigem Wasser unter Überdruckbedingungen, die die Bildung von CO₂-Bläschen unterdrücken, führte zu keinem abweichenden Sinneseindruck im Vergleich zum Experiment unter Normaldruck.^[8] Dass neben der primär prickelnden Empfindung zeitlich verzögert auch ein brennender, kribbelnder und leicht betäubender Sinneseindruck beschrieben wurde, machte die Beteiligung eines chemosensorischen Transduktionsmechanismus wahrscheinlich.^[9]

Psychophysikalische Studien zur oralen Wahrnehmung von kohlensäurehaltigem Wasser vor und nach Behandlung der Zungenoberfläche mit Carboanhydrase-Inhibitoren wie Dorzolamid oder Acetazolamid (Schema 1) – diese werden

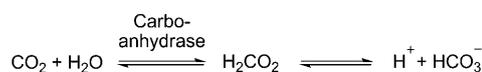


Schema 1. Carboanhydrase-Inhibitoren Dorzolamid (1) und Acetazolamid (2).

üblicherweise zur Behandlung von Glaukomen, epileptischen Anfällen sowie Höhenkrankheit eingesetzt – zeigten eine deutlich reduzierte Empfindung des Prickelns nach Inhibitor-Applikation.^[10] Carboanhydrasen gehören zu einer Klasse von Zink-haltigen Metalloenzymen, die reversibel die Umwandlung von Kohlendioxid in Hydrogencarbonat und freie Protonen katalysieren (Schema 2), und spielen eine Schlüsselrolle bei der Aufrechterhaltung des Säure/Base-Gleichgewichts im Blut und in anderen Geweben sowie beim Abtransport von Kohlendioxid aus Geweben.^[11]

Eine Beteiligung von Carboanhydrasen an der chemosensorischen Wahrnehmung von CO₂ wurde zwar diskutiert,^[11,12] allerdings gelang es erst kürzlich Zuker und Mit-

[*] A. Dunkel, Prof. Dr. T. Hofmann
Lehrstuhl für Lebensmittelchemie und Molekulare Sensorik
Technische Universität München
Lise-Meitner-Straße 34, 85354 Freising (Deutschland)
Fax: (+49) 8161-71-2949
E-Mail: thomas.hofmann@wzw.tum.de
Homepage: <http://www.molekulare-sensorik.de>



Schema 2. Carboanhydrase katalysiert die Umwandlung von Kohlendioxid und Wasser in Hydrogencarbonat und freie Protonen.

arbeiten, den molekularen Mechanismus des Prickelns von Bier, Champagner oder Limonaden zu belegen.^[13] Nach Stimulation von Geschmacksrezeptorzellen (GRZ) mit gasförmigem CO₂ in wässrigem Puffer gelöstem CO₂ sowie kohlenstoffhaltigen Getränken konnten dosisabhängig Aktionspotentiale an Hauptnervenfaser gemessen werden, wogegen die Applikation von Druckluft keinerlei Reaktion induzierte.

Um die CO₂-empfindlichen Geschmacksrezeptorzellen zu lokalisieren, wurden genetisch modifizierte Mäuse erzeugt, in denen einzelne Populationen von Geschmacksrezeptorzellen durch die gezielte Expression eines abgeschwächten Diphtherie-Toxins ablatiert wurden. Diese Mäuse, die nicht mehr in der Lage waren süß, salzig, umami usw. zu schmecken, wurden auf ihre verbliebene Empfindlichkeit für CO₂ untersucht. Die Ablation der sauerempfindlichen Geschmacksrezeptorzellen, die das Sauerrezeptorprotein PKD2L1 tragen, führte außer zum Verlust der Empfindlichkeit für saure Stimuli überraschenderweise auch zu einem Ausbleiben der Empfindlichkeit für CO₂. Eine Profilierung der Genexpression in Sauerrezeptorzellen und der Vergleich mit der mRNA aus Geschmacksknospen von Sauerrezeptorzellen-ablatierten Mäusen ermöglichte die Identifizierung des Gens *Car4*. Dieses Gen ist hoch spezifisch für PKD2L1 exprimierende Zellen (Abbildung 1) und kodiert für das Enzym

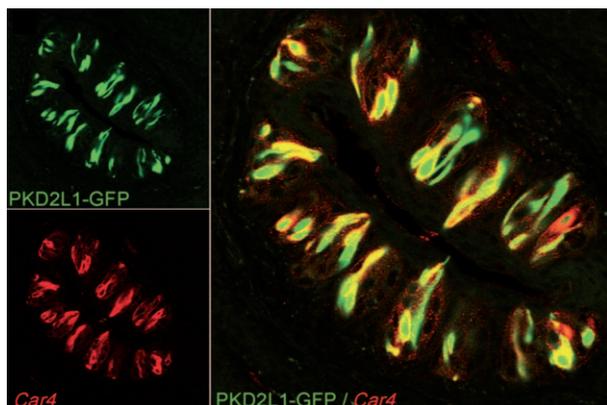


Abbildung 1. Immunhistochemische Anfärbung der *Car4*-Expression (links unten, rot) in Geschmacksknospen von transgenen Mäusen mit GFP-Fluoreszenz-markierten Sauerrezeptorzellen (PKD2L1-GFP; links oben, grün); im rechten Bildteil ist überlagert die Doppelfärbung abgebildet. GP = grün fluoreszierendes Protein. Wiedergabe aus Lit. [13] mit Genehmigung. Copyright AAAS.

Carboanhydrase IV (CA4), ein Membranenzym mit einer Glycosylphosphatidylinosit-Ankergruppe und einem Molekulargewicht von 35 kDa (Abbildung 2).^[14]

Um die Bedeutung von CA4 als selektivem CO₂-Sensor zu bestätigen, wurden *Car4*-Knockout-Mäuse hinsichtlich ihrer gustatorischen Reaktion auf CO₂ und andere Stimuli untersucht. Basisgeschmacksstoffe wie organische Säuren konnten von diesen Knockout-Tieren detektiert werden, während die sensorische Wahrnehmung von CO₂ – selbst in hohen Konzentrationen bis zu 30 % CO₂ – drastisch reduziert war (Abbildung 3). Die Schlüsselrolle von CA4 als wesentli-

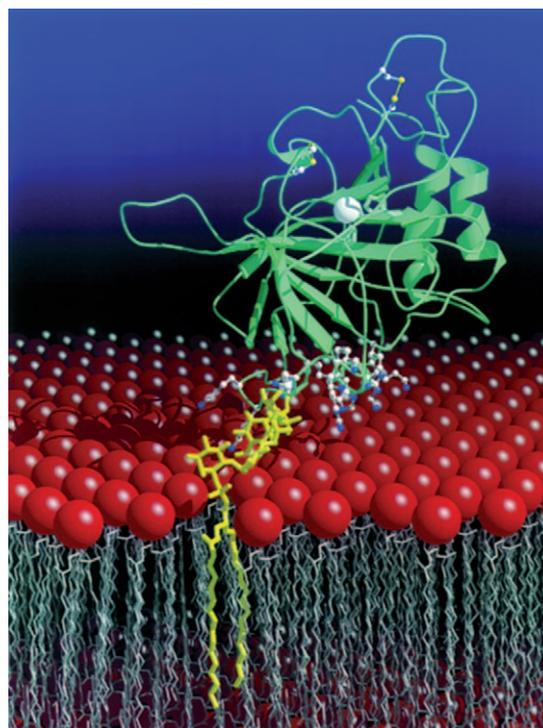


Abbildung 2. Abbildung der durch einen Glycosylphosphatidylinosit-Anker (gelb) mit einer Membran verknüpften Carboanhydrase IV (grün); das Zinkion des aktiven Zentrums ist als große weiße Kugel dargestellt. Wiedergabe aus Lit. [14c] mit Genehmigung. Copyright 1996, National Academy of Sciences, USA.

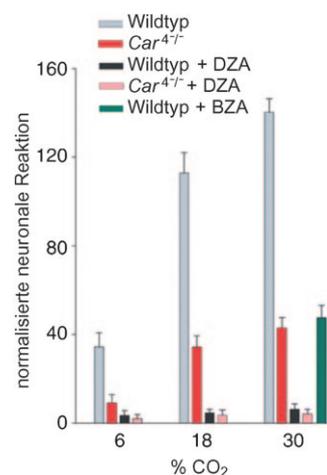


Abbildung 3. Kohlendioxid-Antworten von Wildtyp- (grau) und *Car4*-Knockout-Mäusen (rot) vor und nach Behandlung mit dem membrangängigen Carboanhydrase-Inhibitor Dorzolamid (DZA) oder dem Carboanhydrase-Inhibitor Benzolamid (BZA). Wiedergabe aus Lit. [13] mit Genehmigung. Copyright AAAS.

cher Kohlendioxid-Sensor wurde noch dadurch bekräftigt, dass die Behandlung der Mäuse mit dem Carboanhydrase-Inhibitor Dorzolamid zu einer vollständigen Inhibition der gustatorischen CO₂-Empfindlichkeit führte.^[13] Zudem zeigten gentechnisch veränderte Tiere, in denen die Aktivierung

der die Sauer Geschmackszellen innervierenden Nervenfasern durch Verhinderung der Neurotransmitter-Ausschüttung unterdrückt wurde, weder Reaktion auf saure Geschmacksstoffe noch auf CO₂. Allerdings waren diese Tiere weiterhin empfindlich für andere Geschmacksqualitäten (süß, umami usw.), wodurch die Bedeutung von Sauer Geschmackszellen als zelluläre Sensoren für die Wahrnehmung von CO₂ bestätigt werden konnte. Da CO₂ nicht nur Sauer Geschmackszellen, sondern auch weitere somatosensorische Signalwege aktiviert,^[10] beruht das typisch prickelnde Geschmackserlebnis von kohlen säurehaltigen Getränken wahrscheinlich auf der multimodalen Integration gustatorischer und somatosensorischer Eingaben. Interessanterweise liefern diese Erkenntnisse eine Erklärung für das bereits vor über 20 Jahren beschriebene Phänomen des „Champagner Blues“. Bergsteiger, die zur Prävention von Höhenkrankheit den Carboanhydrase-Inhibitor Acetazolamid einnahmen, beschrieben den Geschmack von Champagner oder Bier nicht mehr als prickelnd, sondern als spülwasserartig.^[15] Einmal mehr macht diese Beobachtung am Menschen deutlich, dass das prickelnde Geschmackserlebnis kohlen säurehaltiger Getränke durch die Carboanhydrase IV vermittelt wird.

Eingegangen am 11. Dezember 2009

Online veröffentlicht am 16. März 2010

-
- [1] G. Nelson, M. A. Hoon, J. Chandrashekar, Y. Zhang, N. J. P. Ryba, C. S. Zuker, *Cell* **2001**, *106*, 381–390.
- [2] a) X. Li, L. Staszewski, H. Xu, K. Durick, M. Zoller, E. Adler, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2002**, *99*, 4692–4696; b) G. Q. Zhao, Y. Zhang, M. A. Hoon, J. Chandrashekar, I. Erlenbach, N. J. P. Ryba, C. S. Zuker, *Cell* **2003**, *115*, 255–266.
- [3] a) E. Adler, M. A. Hoon, K. L. Mueller, J. Chandrashekar, N. J. P. Ryba, C. S. Zuker, *Cell* **2000**, *100*, 693–702; b) B. Bufe, T. Hofmann, D. Krautwurst, J. D. Raguse, W. Meyerhof, *Nat. Genet.* **2002**, *32*, 397–401.
- [4] G. Nelson, J. Chandrashekar, M. A. Hoon, L. Feng, G. Zhao, N. J. P. Ryba, C. S. Zuker, *Nature* **2002**, *416*, 199–202.
- [5] a) G. L. Heck, S. Mierson, J. A. DeSimone, *Science* **1984**, *223*, 403–405; b) F. Stähler, K. Riedel, S. Demgensky, K. Neumann, A. Dunkel, A. Täubert, B. Raab, M. Behrens, J. D. Raguse, T. Hofmann, W. Meyerhof, *Chem. Percept.* **2008**, *1*, 78–90.
- [6] a) A. L. Huang, X. Chen, M. A. Hoon, J. Chandrashekar, W. Guo, D. Traenkner, N. J. P. Ryba, C. S. Zuker, *Nature* **2006**, *442*, 934–938; b) Y. Ishimaru, H. Inada, M. Kubota, H. Zhuang, M. Tominaga, H. Matsunami, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2006**, *103*, 12569–12574.
- [7] a) N. J. N. Yau, M. R. McDaniel, *J. Sens. Stud.* **1990**, *5*, 117–128; b) N. J. N. Yau, M. R. McDaniel, *Chem. Senses* **1991**, *16*, 337–348.
- [8] S. McEvoy, *Chemical senses day XIV abstracts*, Santa Rosa, CA, **1998**.
- [9] B. G. Green, *Chem. Senses* **1992**, *17*, 435–450.
- [10] a) J. M. Dessirier, C. T. Simons, M. I. Carstens, M. O'Mahony, E. Carstens, *Chem. Senses* **2000**, *25*, 277–284; b) C. T. Simons, J. M. Dessirier, M. I. Carstens, M. O'Mahony, E. Carstens, *J. Neurosci.* **1999**, *19*, 8134–8144; c) J. M. Dessirier, C. T. Simons, M. O'Mahony, E. Carstens, *Chem. Senses* **2001**, *26*, 639–643; d) M. Komai, B. P. Bryant, *Brain Res.* **1993**, *612*, 122–129.
- [11] a) S. Lahiri, R. E. Forster, *Int. J. Biochem. Cell Biol.* **2003**, *35*, 1413–1435; b) J. Hu, C. Zhong, C. Ding, Q. Chi, A. Walz, P. Mombaerts, H. Matsunami, M. Luo, *Science* **2007**, *317*, 953–957.
- [12] a) D. Brown, L. M. Garcia-Segura, L. Orci, *Brain Res.* **1984**, *324*, 346–348; b) H. Daikoku, I. Morisaki, Y. Ogawa, T. Maeda, K. Kurisu, S. Wakisaki, *Chem. Senses* **1999**, *24*, 255–261.
- [13] J. Chandrashekar, D. Yarmolinsky, L. von Buchholtz, Y. Oka, W. Sly, N. J. P. Ryba, C. S. Zuker, *Science* **2009**, *326*, 443–445.
- [14] a) T. Okuyama, A. Waheed, W. Kusumoto, X. L. Zhu, W. S. Sly, *Arch. Biochem. Biophys.* **1995**, *320*, 315–322; b) W. S. Sly, P. Y. Hu, *Annu. Rev. Biochem.* **1995**, *64*, 375–401; c) T. Stams, S. K. Nair, T. Okuyama, A. Waheed, W. S. Sly, D. W. Christianson, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1996**, *93*, 13589–13594.
- [15] M. Graber, S. Kelleher, *Am. J. Med.* **1988**, *84*, 979–980.
-