

Institut für Zelluläre und Molekulare Physiologie

Lehrstuhl für Physiologie (Vegetative Physiologie)

Adresse

Waldstraße 6
91054 Erlangen
Tel.: +49 9131 8522301
Fax: +49 9131 8522770
www.physiologie2.fau.de

Direktor

Prof. Dr. med. Christoph Korbmacher

Ansprechpartner

Prof. Dr. med. Christoph Korbmacher
Tel.: +49 9131 8522301
Fax: +49 9131 8522770
physiologie2-sekretariat@fau.de

Forschungsschwerpunkte

- renale Natrium- und Kaliumhomöostase
- epithelialer Natriumkanal (ENaC)
- Regulation von ENaC durch hormonelle und lokale Faktoren
- Aktivierung von ENaC durch Proteasen
- funktionelle Charakterisierung epithelialer Ionenkanäle

Struktur des Lehrstuhls

Professur: 1

Beschäftigte: 21

- Wissenschaftler: 9
- (davon drittmittelfinanziert: 3)
- Promovierende: 3

Strukturelle Besonderheit

Der Lehrstuhl für Physiologie (Vegetative Physiologie) und die Professur für Herz-Kreislaufphysiologie bilden gemeinsam das Institut für Zelluläre und Molekulare Physiologie. Leiter und stellvertretender Leiter des Instituts sind der Lehrstuhlinhaber beziehungsweise der Inhaber der Professur.

Forschung

Der Forschungsschwerpunkt der Arbeitsgruppe von Prof. Dr. C. Korbmacher ist die Physiologie und Pathophysiologie renaler und epithelialer Ionenkanäle. In der Niere und in anderen epithelialen Organen sind Ionenkanäle an der Vermittlung des hochselektiven und regulierten trans-epithelialen Ionen transports beteiligt. Die Erforschung dieser Ionenkanäle und ihrer Regulation ist von physiologischer und pathophysiologischer Relevanz, da eine gestörte Funktion renaler Ionenkanäle beispielsweise zu arteriellem Bluthochdruck, renalen Salzverlustsyndromen oder polyzystischer Nierenerkrankung führen kann.

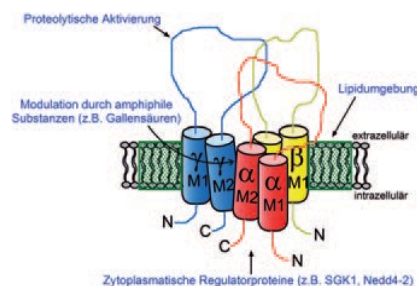
Renale Natrium- und Kaliumhomöostase

Natrium- und Kaliumhomöostase sind eng miteinander verbunden und lebenswichtig für den menschlichen Organismus. Die homöostatische Regulation hängt vor allem von der Fähigkeit der Niere ab, die renale Natrium- und Kaliumausscheidung der Natrium- und Kaliumaufnahme mit der Nahrung anzupassen. Eine ausgeglichene Natriumbilanz

ist essentiell für die Aufrechterhaltung des extrazellulären Flüssigkeitsvolumens und des Blutdrucks. Eine übermäßige Natriumretention verursacht eine Expansion des extrazellulären Flüssigkeitsvolumens und kann zu Bluthochdruck und Ödemen führen. Umgekehrt führt ein renaler Natriumverlust zu einer Verarmung des extrazellulären Flüssigkeitsvolumens, was zu einer Abnahme des Blutdrucks bis hin zum Kreislaufkollaps führen kann. Die Aufrechterhaltung der Kaliumhomöostase ist für viele zelluläre Funktionen von kritischer Bedeutung, beispielsweise für die Erregbarkeit von Nerven- und Muskelzellen. Eine renale Kaliumretention oder renale Kaliumverluste können zu einer Hyperkaliämie beziehungsweise Hypokaliämie führen und dadurch Herzrhythmusstörungen oder sogar einen Herzstillstand verursachen. Pathophysiologische Störungen der renalen Natrium- oder Kaliumhomöostase können also lebensbedrohliche Symptome hervorrufen. Daher ist es von großem Interesse, die Funktion und Regulation von Ionenkanälen zu verstehen, die an der renalen Natrium- und Kaliumhomöostase beteiligt sind.

Epithelialer Natriumkanal (ENaC)

Ein besonderer Fokus dieser Arbeitsgruppe ist der durch Amilorid hemmbare epitheliale Natriumkanal (ENaC) und die an seiner Regulation beteiligten molekularen Mechanismen. Der Ionenfluss durch ENaC ist der entscheidende Transportschritt für den Natriumtransport im sogenannten Aldosteron-sensitiven distalen Nephron (ASDN). Die pathophysiologische Bedeutung von ENaC für die renale Natriumhomöostase und die Blutdruckregulation belegen 'gain of function' und 'loss of function' Mutationen des Kanals, die zu einer erblichen Form der salzsensitiven arteriellen Hypertonie (Liddle-Syndrom; Pseudohyperaldosteronismus) beziehungsweise zu einem renalen Salzverlustsyndrom (PAH1; Pseudohypoaldosteronismus Typ 1) führen. Auch im respiratorischen Epithel und im distalen Kolon ist ENaC für die Natrium- und Flüssigkeitsresorption von physiologischer und pathophysiologischer Bedeutung.

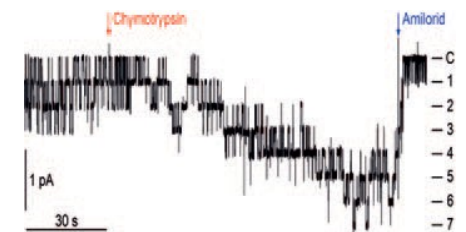


Molekulare Mechanismen der Regulation des aus drei Untereinheiten (α, β, γ) aufgebauten epithelialen Natriumkanals (ENaC)

Regulation von ENaC durch hormonelle und lokale Faktoren

An der Regulation von ENaC ist ein komplexes

Netzwerk hormoneller und lokaler Faktoren beteiligt. Das für die Stimulation der Kanalaktivität wichtigste Hormon ist das Aldosteron, das über den Mineralokortikoidrezeptor (MR) seine Wirkung entfaltet. Hinsichtlich regionaler Unterschiede der Aldosteronwirkung im ASDN und der an der Aldosteronwirkung beteiligten molekularen Mechanismen gibt es noch viele offene Fragen. Auch die differentielle regulatorische Wirkung von Aldosteron auf die Natriumresorption und Kaliumsekretion im ASDN ist erst ansatzweise verstanden. Im ASDN ist der sekretorische Kaliumkanal ROMK (renal outer medullary K^+ channel) hauptsächlich für die Kaliumsekretion verantwortlich. Eine vermehrte ENaC-Aktivität fördert die Kaliumsekretion über ROMK. Dagegen führt die Hemmung von ENaC, z. B. durch Amilorid, zu einer verminderten ROMK-vermittelten Kaliumsekretion. Das regulatorische Zusammenspiel der beiden Kanäle ist daher von zentraler Bedeutung für die renale Natrium- und Kaliumhomöostase. Dabei wird die funktionelle Interaktion von ENaC und ROMK vermutlich durch eine regionale Heterogenität der Kanalregulation bedarfsgerecht justiert. Auf der zellulären und molekularen Ebene sind verschiedene Regulatorproteine (z. B. Kinasen, Proteasen und direkt mit dem Kanal assoziierte Proteine) sowie die Lipidumgebung von ENaC an dessen Regulation beteiligt.

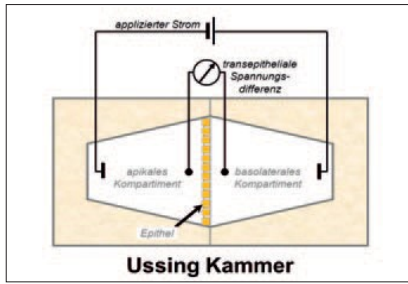


Proteolytische Kanalaktivierung in einem 'outside-out' Patch von einer *Xenopus laevis* Oozyte mit heterologer Expression von humanem ENaC

Aktivierung von ENaC durch Proteasen

Eine spezifische Eigenschaft von ENaC ist seine Regulation durch eine komplexe proteolytische Prozessierung, die für die Kanalaktivierung entscheidend ist. Im heterologen Expressionssystem kann diese proteolytische Kanalaktivierung eindrucksvoll nachgewiesen werden. Eine Aktivierung von ENaC durch lokal freigesetzte Proteasen könnte im Kontext von entzündlichen Nierenerkrankungen pathophysiologisch bedeutsam sein und beispielsweise beim nephrotischen Syndrom zur Natriumretention beitragen. Die an der proteolytischen Aktivierung von ENaC beteiligten molekularen Mechanismen sind allerdings erst unvollständig verstanden, und die physiologisch und pathophysiologisch relevanten Proteasen müssen noch identifiziert werden. Neben Proteasen, die ENaC durch proteolytische Spaltung spezifischer Schnittstellen direkt aktivieren, könnten interstitielle Proteasen durch eine Aktivierung basolateral lokalisierter Protease-aktivierter Rezeptoren vom Typ 2 (PAR2) den ENaC vermittelten transepithelialen

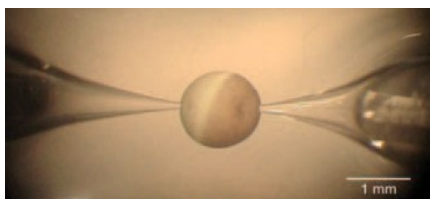
Natriumtransport möglicherweise auch indirekt modulieren.



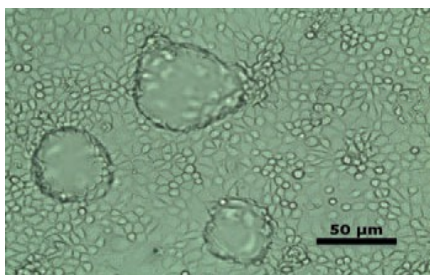
Schematische Darstellung einer sogenannten Ussing-Kammer für Kurzschlussstrommessungen zur Quantifizierung des elektrogenen transepithelialen Ionentransports

Funktionelle Charakterisierung epithelialer Ionenkanäle

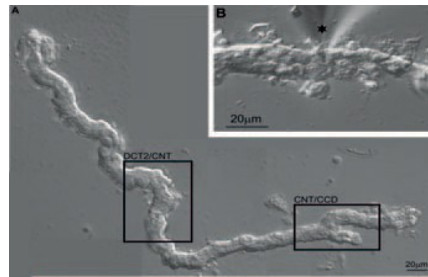
Um die Funktion und Regulation renaler und epithelialer Ionenkanälen zu untersuchen, werden vor allem elektrophysiologische Methoden verwendet, insbesondere transepitheliale Kurzschlussstrommessungen in Ussing-Kammern, Ganzzellstrommessungen mit der TEVC (two-electrode voltage clamp)-Methode sowie Untersuchungen mit der Patch-Clamp-Technik, die neben Ganzzellstrommessungen auch Einzelkanalmessungen ermöglicht. Um die an der Kanalregulation beteiligten molekularen Mechanismen aufzuklären, werden außerdem verschiedene molekularbiologische und zellphysiologische Methoden eingesetzt unter Verwendung von *Xenopus laevis* Oozyten, kultivierten Zellen, nativem Gewebe und Tiermodellen (z. B. genetisch modifizierten Mauslinien). Darüber hinaus ermöglichen die inzwischen verfügbaren Strukturinformationen in Verbindung mit Computersimulationen und zielgerichteter Mutagenese die Untersuchung der funktionellen Bedeutung bestimmter Kanalregionen. Dieser integrative Ansatz bietet faszinierende Möglichkeiten, neue Einblicke in physiologische und pathophysiologische Mechanismen sowie ein besseres Verständnis von molekularen Krankheitsprozessen zu gewinnen.



Xenopus laevis Oozyte mit zwei eingestochenen Mikroelektroden zur Messung von Ganzzellströmen mit Hilfe der TEVC-Technik



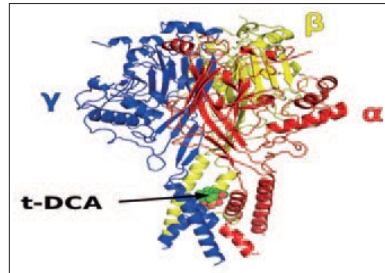
Phasenkontrastmikroskopische Aufnahme von kultivierten Sammelrohrethelzellen (mCCD_{cl}-Zelllinie) mit Epithelblasen („Domes“) als Zeichen des aktiven transepithelialen Elektrolyt- und Flüssigkeitstransports



Differential-Interferenz-Kontrastbild eines mikrodisszezierten distalen Mausnephrons

A Die Übergangszonen vom Ende des distalen Konvoluts zum Verbindungstubulus (DCT2/CNT) und vom Ende des Verbindungstubulus zum kortikalen Sammelrohr (CNT/CCD) sind gekennzeichnet.

B Geöffneter Nierentubulus mit Patchpipette (*)



Homologie-Modell von humanem α,β,γ ENaC mit angelagerter Taurodeoxycholsäure (t-DCA) in einer durch Computersimulation (molecular docking) vorhergesagten Position in der Porenregion des Kanals

Lehre

Das Institut für Zelluläre und Molekulare Physiologie beteiligt sich an der curricularen Lehre in den Studiengängen Medizin, Zahnmedizin und Molekulare Medizin (Bachelor- und Masterstudiengang). Es wird ein Wahlpflichtfach „Angewandte Physiologie“ angeboten.

Außerdem werden Bachelor- und Masterarbeiten sowie medizinische und naturwissenschaftliche Promotionen betreut.

Ausgewählte Publikationen

Mansley MK, Niklas C, Nacken R, Mandery K, Glaeser H, Fromm MF, Korbmacher C, Bertog M. Prostaglandin E2 stimulates the epithelial sodium channel (ENaC) in cultured mouse cortical collecting duct cells in an autocrine manner. *J Gen Physiol.* 2020 Vol. 152 No. 8:e201912525. doi: 10.1085/jgp.201912525. PMID: 32442241

Rauh R, Frost F, Korbmacher C. Effects of syntaxins 2, 3, and 4 on rat and human epithelial sodium channel (ENaC) in *Xenopus laevis* oocytes. *Pflügers Arch.* 2020, 472:461-471. PMID: 32221667

Frindt G, Bertog M, Korbmacher C, Palmer LG. Ubiquitination of renal ENaC subunits in vivo. *Am J Physiol Renal Physiol.* 2020, 318:F1113-F1121. PMID: 32174140

Bohnert BN, Kanse S, Haerteis S, Korbmacher C, Artunc F. Rebuttal to editorial: Sodium retention by uPA in nephrotic syndrome? *Acta Physiol (Oxf).* 2020 Apr;228(4):e13427. doi: 10.1111/apha.13427. PMID: 31794131

Bohnert BN, Daiminger S, Wörn M, Sure F, Staudner T, Ilyaskin AV, Batbouta F, Janessa A, Schneider JC, Essigke D, Kanse S, Haerteis S,

Korbmacher C, Artunc F. Urokinase-type plasminogen activator (uPA) is not essential for epithelial sodium channel (ENaC)-mediated sodium retention in experimental nephrotic syndrome. *Acta Physiol (Oxf).* 2019 Dec; 227(4):e13286. doi: 10.1111. PMID: 31006168

Ilyaskin AV, Sure F, Nesterov V, Haerteis S, Korbmacher C. Bile acids inhibit human purinergic receptor P2X4 in a heterologous expression system. *J Gen Physiol.* 2019, 151:820-833. PMID: 30988062

Internationale Zusammenarbeit

Prof. N. W. Bunnnett, PhD, Columbia University, New York: USA

Prof. E. Hummler, PhD, Université de Lausanne, Lausanne: Schweiz

Prof. Dr. J. Loffing, University of Zurich, Zürich: Schweiz

Prof. L. Martin, PhD, Queen's University Belfast, Belfast: Nordirland

Prof. L. G. Palmer, Ph.D., Weill-Cornell Medical College, New York: USA

Prof. S. Somlo, MD, Yale University, New Haven: USA