

## **Projekttitle: Führt eine Membranexpression der delF508 Mutante zu einer vermehrten epithelialen HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> Sekretion?**

### **Beteiligte**

**Wissenschaftler:** Ursula Seidler, Fang Xiao, Anurag Kumar Singh, Brigitte Riederer, Mingmin Chen, Nicole Stieger, Qin Yu, Georg Lamprecht, Bob Scholte, Hugo deJonge

**Projektnummer:** 07/08

**Laufzeit:** 2009-2012

### **Datum**

**Projektabschluss:** März 2013

**Fördervolumen:** ings. 120 000€

### **Ziel des Projekts:**

CF Epithelien weisen einen ausgeprägten Defekt im Ionentransport auf. Neben dem Chlorid (Cl<sup>-</sup>) Transport ist auch die Sekretion von Bikarbonationen (HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>) gestört, wodurch Veränderungen im pH-Wert entstehen. Das wiederum führt zu verminderter Aktivität körpereigener antibakterieller Substanzen im Bronchialsystem, zu einer erhöhten Viskosität des Schleims in den Atemwegen, dem Gastrointestinal- und Genitaltrakt, und zu einem Verdauungs- und Nährstoffabsorptionsdefekt im Dünndarm. Mutationen im CF Gen, die die HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> Leitfähigkeit des CFTR Gens beeinflussen, sind mit schweren Krankheitsverläufen in Verbindung gebracht worden.

Die häufigste Mutation im CFTR Gen ist die F508del Mutation, die zu einem Faltungsdefekt im CFTR Protein und einem verfrühten Abbau des Proteins durch die zelluläre Qualitätskontrolle führt. Neue Therapiestrategien zielen darauf ab, diese zelluläre Qualitätskontrolle zu umgehen und so einen vermehrten Einbau der F508del Mutante in die Plasmamembran zu erreichen.

Unbekannt ist allerdings, ob die in die Membran eingebaute F508del Mutante dann auch die HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> Sekretion und damit den pH-Wert wieder herstellen kann.

Ziel des Projektes war es herauszufinden, ob ein vermehrter Einbau der F508del Mutante in die Plasmamembran in Dünn- und Dickdarm die HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> Sekretion dieser Epithelien erhöht und welche molekularen Mechanismen dabei eine Rolle spielen. Weiterhin sollten Mechanismen gefunden werden, die die HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> Sekretionsrate steigern können und eventuell therapeutisch nutzbar machen.

### **Ergebnisse:**

Als Versuchsmodell wurden Mäuse mit der F508del Mutation verwendet. Als Kontrollen wurden genetisch unveränderte Mäuse sowie Mäuse untersucht, die keinerlei CFTR Protein haben („Null“ Mäuse). Von diesen hinsichtlich des CFTR-Gens verschiedenen Mäusen wurden Proben aus dem Darmepithel entnommen und es wurde in speziellen Geräten (Ussing-Kammer) untersucht, ob HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> durch die Membran transportiert wird. Während die Sekretion von negativ geladenen Ionen (HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>, aber auch Cl<sup>-</sup>) in den Mäusen mit der F508del-Mutation im Vergleich zu den normalen Kontroll-Mäusen stark eingeschränkt war (ca. nur 5-10% Ionentransport im Vergleich zur Kontroll-Maus), war die HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> Sekretion in den F508del-Mäusen weniger stark eingeschränkt (30-50% der Sekretionsrate der normalen Mäuse).

Dieser begünstigende Effekt der F508del Expression auf die HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> Sekretion war sowohl in Dünn- als auch Dickdarmschleimhaut, und sowohl im isolierten Epithel als auch in der lebenden Maus nachweisbar. Demnach könnte sich der vermehrte Einbau des F508del CFTR Proteins mithilfe von sogenannten „Korrektoren“ positiv auf die Normalisierung des HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> Sekretion auswirken.

Die Untersuchungen zeigten aber auch, dass das HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> in den verschiedenen Mäusen unterschiedliche Wege durch die Zellmembran nahm. Bei der normalen Maus funktionierte die HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> Sekretion überwiegend durch den CFTR Kanal selbst, während bei der F508del Maus, ein anderer Transportkanal (Cl<sup>-</sup>/HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> Austausch) die HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> Sekretion bewerkstelligte.

Zusammenfassend ist davon auszugehen, dass „Korrektor-Therapien“ mit dem Ziel, mehr F508del Protein in der Plasmamembran zu verankern, nicht nur die epitheliale Flüssigkeits- sondern auch  $\text{HCO}_3^-$  Sekretion erhöhen werden. Das F508del Protein ist dabei weniger als Transporter beteiligt, sondern wirkt regulatorisch auf andere Transportwege des  $\text{HCO}_3^-$ -Transports.