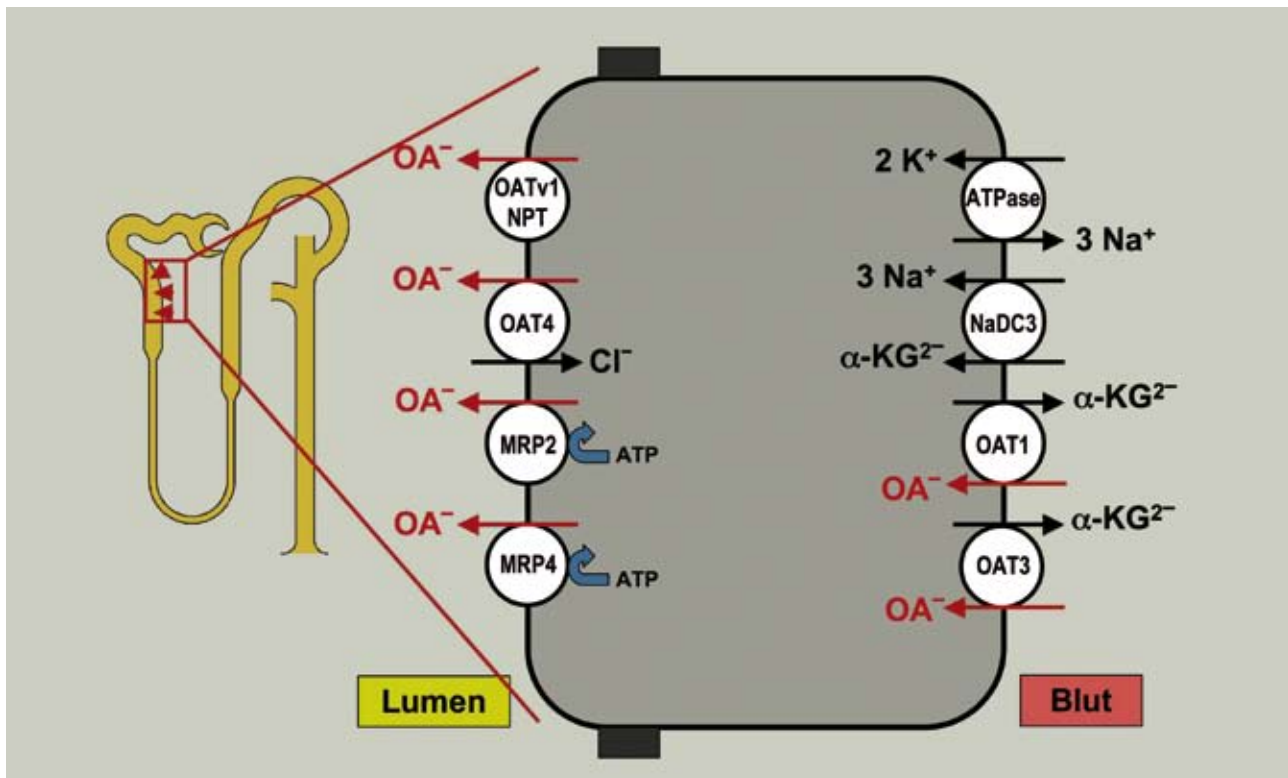


Zentrum Physiologie und Pathophysiologie  
 Abteilung Vegetative Physiologie und Pathophysiologie  
 Centre for Physiology and Pathophysiology  
 Department of Systemic Physiology and Pathophysiology



Forschungsschwerpunkte Research Foci

- ▷ Charakterisierung von renalen Transportern für organische Anionen
- ▷ Charakterisierung eines Sulfat-Anionen-Austauschers
- ▷ Interaktion von Pharmaka und Toxinen mit renalen Transportern
- ▷ Geschlechtsabhängige Expression renaler Transportproteine
- ▷ Renale Ausscheidung von Dicarboxylaten bei der Glutarazidurie
- ▷ Characterization of renal transporters for organic anions
- ▷ Characterization of a sulfate-anion-exchanger
- ▷ Interaction of drugs and toxins with renal transporters
- ▷ Gender differences in renal transporter expression
- ▷ Renal excretion of dicarboxylates in glutaric aciduria



**Abteilungsdirektor** Head of Department

Prof. Dr. med. Gerhard Burckhardt

**Kontaktdaten** Contact

Abteilung Vegetative Physiologie und Pathophysiologie  
 UNIVERSITÄTSMEDIZIN GÖTTINGEN  
 Humboldtallee 23, D-37073 Göttingen  
 Telefon +49-551 / 39-5881, Fax +49-551 / 39-5883  
 gburckh@gwdg.de  
 www.physiol.med.uni-goettingen.de/

**Hochschullehrer/innen** Professors and Lecturers

+49-551 /

Bahn, Andrew (bis 03.2008)	PD Dr. rer. nat.	abahn@physiol.med.uni-goettingen.de	39-5894
Burckhardt, Birgitta C.	Apl. Prof. Dr. phil. nat.	bcburckhardt@physiol.med.uni-goettingen.de	39-5880
Burckhardt, Gerhard	Prof. Dr. med.	gburckh@gwdg.de	39-5881
Hagos, Yohannes	PD Dr. rer. nat.	hagos@physiol.med.uni-goettingen.de	39-5894
Krick, Wolfgang	PD Dr. rer. nat.	wkrick@gwdg.de	39-5907

**Weitere Arbeitsgruppenleiter/innen** Other Group Leaders

Henjakovic, Maja (seit 09.2008)	Dr. rer. nat.	henjakovic@physiol.med.uni-goettingen.de	39-5901
---------------------------------	---------------	--	---------

## EINLEITUNG

Viele organische Anionen, zu denen häufig eingesetzte Pharmaka wie z. B.  $\beta$ -Lactam-Antibiotika, Diuretika, Urikosurika und Virostatika gehören, werden in den proximalen Nierentubuli sezerniert und auf diese Weise effektiv mit dem Urin ausgeschieden. Wir untersuchen, wie diese Stoffe aus dem Blut durch die basolaterale Membran in die Zellen der proximalen Tubuli aufgenommen (1. Schritt der Sekretion) und anschließend durch die luminalen Membran aus den Zellen in den Primärharn abgegeben werden (2. Schritt der Sekretion). Der erste Schritt beruht auf dem Zusammenwirken dreier Transportsysteme in der basolateralen Membran: der  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -ATPase, dem  $\text{Na}^+$ -Dicarboxylat-Kotransporter 3 (NaDC3) und den Organische-Anion/ $\alpha$ -Ketoglutarat-Austauschern OAT1 und OAT3. In der luminalen Membran sind je nach untersuchter Spezies Austauscher (OAT2, OAT4, OAT5, OAT10, URAT1), ATP-getriebene Transporter (MRP2, MRP4) und/oder spannungsabhängige Transporter (OAT1) am Transport organischer Anionen beteiligt. Ziele unserer Arbeiten sind die funktionelle Charakterisierung von NaDC3, OAT1, OAT4 und OAT10, der Nachweis der geschlechtsabhängigen Expression von OAT1-5 und die Aufklärung der Bedeutung dieser Transporter für die Ausscheidung von Stoffwechselendprodukten und Pharmaka.

## PREFACE

Many organic anions including frequently prescribed drugs such as  $\beta$ -lactam antibiotics, diuretics, uricosurics and antivirals are secreted in renal proximal tubules and, thus, efficiently disposed of with the urine. We are investigating how organic anions are taken up from the blood into proximal tubule cells across the basolateral membrane (1<sup>st</sup> step of secretion) and released across the luminal membrane (2<sup>nd</sup> step). To accomplish the first step, three transport systems cooperate: the  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -ATPase, the sodium-dicarboxylate cotransporter 3 (NaDC3), and the organic anion/ $\alpha$ -ketoglutarate antiporters OAT1 and OAT3. Depending on the species, anion release across the luminal membrane involves antiporters (OAT2, OAT4, OAT5, OAT10, URAT1), ATP-driven systems (MRP2, MRP4), and/or voltage-driven transporters (OAT1). The aims of our studies are the functional characterization of NaDC3, OAT1, OAT4, and OAT10, the investigation of gender differences in the expression of OAT1-5, and the elucidation of the role of these transporters in the excretion of metabolic end products and drugs.

### 1. Charakterisierung von renalen Transportern für organische Anionen

Wir haben die Organische-Anionen-Transporter 4 und 10 (OAT4, OAT10) nach heterologer Expression funktionell charakterisiert. Der nur bei Primaten vorkommende OAT4 ist in der luminalen Membran proximaler Tubuluszellen lokalisiert und sowohl für die Resorption

von Östronsulfat und Urat aus dem Primärharn als auch für die Sekretion von anionischen Fremdstoffen in den Primärharn zuständig. Der OAT4 arbeitet als asymmetrischer Anionenaustauscher: die Resorption ist an den Austausch gegen intrazelluläre Dicarboxylat- oder Hydroxylionen, die Sekretion an den Austausch gegen extrazelluläres Chlorid gekoppelt. Ein früher als „Kationentransporter“ kloniertes Genprodukt (ORCTL3; SLC22A3) hat sich als hoch-affiner Transporter für das anionische Vitamin Nicotinat herausgestellt. Weitere Substrate sind Urat und *p*-Aminohippurat, die gegen Dicarboxylate ausgetauscht werden. Wir haben deshalb das Genprodukt OAT10 genannt. Der Transporter ist in der luminalen Membran proximaler Tubuluszellen und von Enterozyten lokalisiert.

Bei allen bislang untersuchten Spezies findet sich in der 11. Transmembranhelix ein Arginin. Der Ersatz dieses Arginins beim humanen OAT1 (R446) durch das ebenfalls positiv geladene Lysin hebt die Chloridabhängigkeit des *p*-Aminohippurat-Transports auf, ohne die Affinität für dieses organische Anion zu ändern. Der Ersatz des Arginins durch eine ungeladene oder negativ geladene Aminosäure verhindert die Interaktion mit Dicarboxylaten, weshalb wir annehmen, dass R446 eine wesentliche Rolle bei der Bindung von Chlorid und Dicarboxylaten spielt. Beim Natrium-Dicarboxylat-Transporter NaDC3 führt der Ersatz des positiv geladenen Lysins an der Position 114 (K114) durch ungeladene oder negativ geladene Aminosäuren zu einer Änderung der Stoichiometrie: während der Wildtyp-NaDC3 drei Natriumionen zusammen mit einem Succinatmolekül ko-transportiert, sind es bei den Mutanten nur zwei Natriumionen. K114 scheint daher für die Ausbildung einer Bindungstasche für eines der drei Natriumionen verantwortlich zu sein.

### 1. Characterization of renal transporters for organic anions

Following heterologous expression, we functionally characterized the organic anion transporters OAT4 and OAT10. The OAT4 is restricted to primates and is involved in both, absorption of estrone sulfate and urate from primary urine as well as in the secretion of anionic xenobiotics into the primary urine. Thereby, OAT4 operates as an asymmetric antiporter: absorption is coupled to the release of intracellular dicarboxylates or hydroxyl ions, whereas secretion occurs in exchange for extracellular chloride. The orphan transporter ORCTL3 (gene SLC22A3) turned out to be a high-affinity transporter for the anionic vitamin nicotinate. Other substrates are urate and *p*-aminohippurate that are exchanged against dicarboxylates. We therefore renamed ORCTL3 as OAT10. This transporter is located in the luminal membrane of proximal tubule cells and of enterocytes.

In all species, OAT1 contains a positively charged arginine residue within the 11<sup>th</sup> transmembrane helix. Replacement of this arginine in human OAT1 (R466) against the positively charged lysine blunted the chloride dependence of OAT1, but left its affinity for *p*-aminohippurate unaltered. When R446 was replaced by an uncharged or negatively charged amino acid, OAT1 no longer inter-

acted with dicarboxylates. Hence, we concluded that R466 is part of the binding pocket for chloride ions and dicarboxylates in OAT1. The replacement of lysine at position 114 (K114) in the sodium-dicarboxylate cotransporter 3 (NaDC3) by uncharged or negatively charged amino acids led to a change in the transport stoichiometry: the wildtype NaDC3 co-transport three sodium ions with one dicarboxylate, whereas the mutant appears to transport two sodium ions with one dicarboxylate. It seems that K114 has an impact on the binding pocket for one out of three sodium ions in NaDC3.

#### Arbeitsgruppenleiter/innen Group Leaders

PD Dr. Andrew Bahn

Apl. Prof. Dr. Birgitta C. Burckhardt

PD Dr. Yohannes Hagos

PD Dr. Wolfgang Krick

#### Kooperationen Cooperations

Apl. Prof. Dr. J. Steffgen, Boehringer-Ingelheim, Biberach an der Riss

Dr. I. Sabolic, Institute for Medical Research and Occupational Health, Zagreb, Kroatien

#### Drittmittelförderung Funding

DFG, Graduiertenkolleg 335; 04/1997 - 03/2008

DFG, Einzelantrag BU 998/2-1/2/3; 06/1999-10/2006

#### Ausgewählte Publikationen Selected Publications

Bahn A, Hagos Y, Reuter S, Balen D, Brzica H, Krick W, Sabolic I, Burckhardt G (2008) Identification of a novel asymmetric urate and high affinity nicotinate exchanger in kidney and intestine - human organic anion transporter 10 (hOAT10, SLC22A3) (2008) J BIOL CHEM 382: 16322-16343

Burckhardt G, Koepsell H (2008) Organic anion and cation transporters in renal elimination of drugs. IN: The Kidney: Physiology and Pathophysiology, 4<sup>th</sup> edition. Alpern RJ and Hebert SC, eds. Elsevier, Chapter 73, 2045-2080

Hagos Y, Steffgen J, Rizwan AN, Langheit D, Knoll A, Burckhardt G, Burckhardt BC (2006) Functional roles of cationic amino acid residues in the sodium-dicarboxylate cotransporter 3 (NaDC-3) from winter flounder. AM J PHYSIOL RENAL PHYSIOL 291: F1224-F1231

Hagos Y, Stein D, Ugele B, Burckhardt G, Bahn A (2007) Human renal organic anion transporter 4 (hOAT4) operates as an asymmetric urate transporter. J AM SOC NEPHROL 18: 430-439

Rizwan AN, Burckhardt G (2007) Organic anion transporters of the SLC22 family: Biopharmaceutical, physiological, and pathological roles. PHARMACEUT. RES. 24: 450-470

Rizwan AN, Krick W, Burckhardt G (2007) The chloride dependence of the human organic anion transporter 1 (hOAT1) is blunted by mutation of a single amino acid. J BIOL CHEM 282: 13402-13409

## 2. Charakterisierung eines Sulfat-Anionen-Austauschers

Obwohl der Sulfat-Anionen-Austauscher 1 (sat-1) ursprünglich aus einer Leber-cDNA-Bibliothek kloniert wurde, blieb seine Lokalisation und Funktion in der Leber unklar. Mit monoklonalen Antikörpern konnte erstmals gezeigt werden, dass sat-1 in der sinusoidalen Membran von Hepatozyten lokalisiert ist; die kanalikuläre Membran enthielt dagegen keinen sat-1. Nach heterologer Expression in *Xenopus laevis*-Oozyten wurde die Sulfattransportaktivität des sat-1 charakterisiert. Sulfamoyl-Diuretika hemmten die Aktivität nicht, weswegen davon auszugehen ist, dass sat-1 diese Pharmaka nicht transportiert. Sulfatierte Sexualsteroiden wie Östronsulfat und Dehydroepiandrosteronsulfat wurden von sat-1 ebenfalls nicht als Substrate akzeptiert. Wir gehen davon aus, dass sat-1 die Leberzelle mit Sulfat für die Sulfatierungs-Reaktionen (Phase II beim

Metabolismus endogener und exogener Substrate) versorgt, nicht aber für den Export der sulfatierten Sexualsteroiden über die sinusoidale Membran der Hepatozyten verantwortlich ist.

Unsere laufenden Untersuchungen zeigen, dass sat-1 eine wesentliche Rolle bei der Freisetzung von Oxalat aus der Leber spielt. Derzeit untersuchen wir, ob sat-1 einige Vorstufen des Oxalats transportiert und bei der erblichen Hyperoxalurie verändert ist.

## 2. Characterization of a sulfate-anion-exchanger

Although the sulfate anion exchanger 1 (sat-1) was originally cloned from a liver cDNA library, its localization and function in the liver remained elusive. Using monoclonal antibodies we showed that sat-1 is located in the sinusoidal membrane, but not in the canalicular membrane of hepatocytes. The sulfate transport activity of sat-1 was determined following heterologous expression in *Xenopus laevis* oocytes. Sulfate uptake was neither inhibited by sulfamoyl diuretics nor by sulfated sex steroids such as estrone sulfate and dehydroepiandrosterone sulfate, suggesting that sat-1 does not translocate these compounds. We rather assume that sat-1 delivers sulfate to hepatocytes, serving in phase II sulfation of endogenous and exogenous compounds. Sulfated products must then be released from hepatocytes by a transporter different from sat-1. More recent experiments show that sat-1 is involved in oxalate release from hepatocytes. Presently, we are investigating whether sat-1 also transports oxalate precursors and is up-regulated in in-born hyperoxaluria.

#### Arbeitsgruppenleiter/innen Group Leaders

Apl. Prof. Dr. Birgitta C. Burckhardt

PD Dr. W. Krick

#### Kooperationen Cooperations

Prof. Dr. Rainer Herken, PD Dr. Fabio Quondamatteo, Abt. Histologie, Zentrum Anatomie, UMG

Prof. Dr. Giuliano Ramadori, PD Dr. Katrin Neubauer-Saile, Abt. Gastroenterologie und Endokrinologie, UMG

#### Drittmittelförderung Funding

DFG BU 998/4-1; 02/07-05/09

#### Ausgewählte Publikationen Selected Publications

Quondamatteo F, Krick W, Hagos Y, Krüger M-H, Neubauer-Saile K, Herken R, Ramadori G, Burckhardt G, Burckhardt BC (2006) Localization of the sulfate-anion exchanger in the rat liver. AM J PHYSIOL GASTROINTEST LIVER PHYSIOL 290: 1075-1081

## 3. Interaktion von Pharmaka und Toxinen mit renalen Transportern

Mycophenolat Mofetil ist ein bei Herz-, Lungen- und Nierentransplantationen eingesetztes, immunsuppressives Medikament. Im Körper entstehen das wirksame Mycophenolat (MPA) und weitere Metabolite. Da MPA und seine Metabolite renal ausgeschieden werden, untersuchten wir die Beteiligung der Transporter NaDC3, OAT1

und OAT3. MPA und sein Glucuronid (MPAG) erzeugen in NaDC3-exprimierenden Oozyten einen Einwärtsstrom, werden also von NaDC3 transportiert. MPA interagiert auch mit den in Oozyten exprimierten humanen Transportern OAT1 und OAT3. Die etwas größeren Acylglucuronid- und Glucuronid-Derivate des MPA zeigten eine Wechselwirkung mit OAT3, nicht aber mit OAT1. Wir gehen davon aus, dass NaDC3, OAT1 und OAT3 an der renalen Ausscheidung von MPA und seinen Metaboliten beteiligt sind.

Das zur Entwässerung eingesetzte Schleifendiuretikum Torasemid wird in der Leber teilweise metabolisiert und – gemeinsam mit seinen Metaboliten – in den proximalen Nierentubuli in den Primärharn sezerniert. Wir konnten mithilfe von in HEK (Human Embryonic Kidney)-Zellen exprimierten Transportern den zellulären Mechanismus der Sekretion aufklären. In der basolateralen Membran sind OAT1 und OAT3 für die Aufnahme von Torasemid und seinen Metaboliten aus dem Blut in die Tubuluszelle verantwortlich. Die Abgabe über die luminalen Membran erfolgt über den OAT4. Ein natürlich vorkommender, den Promoterbereich betreffender Polymorphismus des OAT4-Gens beeinflusst die renale Torasemidclearance, wie an 95 gesunden Probanden festgestellt wurde. Dieser Befund untermauert die Bedeutung des OAT4 für die Torasemidsekretion in den proximalen Nierentubuli.

Es ist schon länger bekannt, dass harntreibende Medikamente eine Erhöhung des Harnsäurespiegels im Blut hervorrufen können (Diuretika-induzierte Hyperurikämie). Die Verabreichung von Torasemid an Freiwillige führte zur vorübergehenden Einschränkung der Uratausscheidung. Wie wir *in vitro* zeigen konnten, tauschen OAT1, OAT3 und OAT4 Torasemid gegen Urat aus, d. h. die Torasemidsekretion treibt die Uratresorption. Die vermehrte Uratresorption hat eine Erhöhung des Blut-Harnsäurespiegels zur Folge, womit die Ursache dieser klinischen Beobachtung aufgeklärt ist.

Derzeit untersuchen wir, ob Transporter für organische Anionen und organische Kationen die Aufnahme von Zytostatika in Tumorzellen vermitteln können. Ausgangsbeobachtung ist die erhöhte Empfindlichkeit OAT1- oder OAT3-exprimierender Modellzellen gegenüber anionischen Zytostatika wie Chlorambucil und Bendamustin im Vergleich zu Kontrollzellen, die diese Transporter nicht exprimieren. Fernziel dieser Untersuchungen ist es, Tumore mit den für sie maßgeschneiderten, d. h. auf ihren Besatz mit Transportern abgestimmten Zytostatika zu behandeln.

### 3. Interaction of drugs and toxins with renal transporters

Mycophenolate mofetil is an immunosuppressant prodrug used after heart, lung, and kidney transplantation. Within the body, the active drug mycophenolate (MPA) is generated together with other metabolites. Since MPA and its metabolites are excreted with the urine we tested the involvement of the transporters NaDC3, OAT1, and OAT3. MPA and its glucuronide, MPAG, induced an inward current in oocytes expressing NaDC3, indicating uptake by this transporter. In addition, MPA interacted with OAT1 and OAT3, (and) the

more bulky acylglucuronide and glucuronide metabolites solely with OAT3. We conclude that NaDC3, OAT1 and OAT3 contribute to the renal excretion of MPA and its metabolites.

The loop diuretic, torasemide, is partially metabolized in the liver and, together with its metabolites, excreted with the urine. Using transporters stably expressed in HEK cells, we developed a model for proximal tubular torasemide secretion. OAT1 and OAT3 are responsible for the uptake of torasemide and its metabolites from the blood into the tubule cell. The release from the cell into the primary urine occurs via the OAT4. Naturally occurring single nucleotide polymorphisms affecting the promoter region of OAT4 led to an altered torasemide clearance as shown in 95 healthy volunteers, underscoring the importance of OAT4 for torasemide secretion.

It was noted earlier that administration of diuretic drugs leads to an increased blood level of urate (diuretics-induced hyperuricemia). As tested in 98 volunteers, a single dose of torasemide transiently decreased renal urate excretion. Based on our *in vitro* experiments we proposed that secretion of torasemide via OAT1, OAT3, and OAT4 accelerated urate absorption by counter exchange. The increased absorption, in turn, causes the increased blood level of urate that was observed earlier.

Presently, we are investigating whether transporters for organic anions and organic cations can be used to deliver cytostatic drugs into tumor cells. Indeed, OAT1- and OAT3-expressing model cells are more sensitive to the anionic cytostatics, chlorambucil and bendamustin, than control cells not expressing any of these transporters. Our ultimate goal is a tailored chemotherapy of a tumour based on its transporter expression profile.

#### Arbeitsgruppenleiter/innen Group Leaders

PD Dr. Johannes Hagos

PD Dr. Natascha A. Wolff (jetzt Witten-Herdecke)

Apl. Prof. Dr. Birgitta C. Burckhardt

#### Kooperationen Cooperations

Prof. Dr. J. Brockmüller, PD Dr. S.V. Vormfelde, Abt. Klinische Pharmakologie, UMG

Prof. Dr. M. Oellerich, Prof. Dr. V.W. Armstrong, Abt. Klinische Chemie, UMG Göttingen

PD Dr. N. A. Wolff, Physiologisches Institut, Universität Witten-Herdecke, Witten

#### Drittmittelförderung Funding

BU 998/2-2; 2004-2006

DFG, GRK 1034; 01/2005-12/2013

José Carreras Leukämie-Stiftung, Kleinprojektförderung 2006-2007

#### Ausgewählte Publikationen Selected Publications

Hagos Y, Bahn A, Vormfelde SV, Brockmüller J, Burckhardt G (2007) Torasemide transport by organic anion transporters contributes to hyperuricemia. *J AM SOC NEPHROL* 18: 3101-3109

Vormfelde SV, Schirmer M, Hagos Y, Toliat MR, Engelhardt S, Meineke I, Burckhardt G, Nürnberg P, Brockmüller J (2006) Torasemide renal clearance and genetic variation in luminal and basolateral organic anion transporters. *BRIT J CLIN PHARMACOL* 62: 323-335

Wolff NA, Burckhardt BC, Burckhardt G, Oellerich M, Armstrong VW (2007) Mycophenolic acid (MPA) and its glucuronide metabolites interact with transport systems responsible for excretion of organic anions in the basolateral membrane of the human kidney. *NEPHROL DIAL TRANSPLANT* 22: 2497-2503

#### 4. Geschlechtsabhängige Expression renaler Transportproteine

Seit einigen Jahren beschäftigen wir uns – in Zusammenarbeit mit der Gruppe von I. Sabolic – mit der geschlechtsabhängigen Expression von Pharmaka-Transportern in den Nieren von Ratten. In der basolateralen Membran proximaler Tubuluszellen sind die Organische-Anionen-Transporter OAT1 und OAT3 und der Organische-Kationen-Transporter OCT2 bei männlichen Tieren in größerer Menge vorhanden als bei weiblichen. In der luminalen Membran proximaler Tubuluszellen sind die ATP-getriebenen Transporter MRP4 und MDR1 bei männlichen, und die Organische-Anionen-Transporter OAT2 und OAT5 bei weiblichen Tieren stärker ausgeprägt, wie immunhistologische Untersuchungen zeigten. Der bei männlichen Ratten dominierende Expression von OAT1 und OAT3 liegt eine Stimulation der Genexpression durch Testosteron und eine Hemmung durch Östrogene zugrunde. Bei OAT2 und OAT5 führt Testosteron zu einer starken Hemmung der Genexpression, während Östrogene einen leicht stimulierenden Effekt haben. Ob die Geschlechtsunterschiede auch beim Menschen auftreten und für eine unterschiedliche Ausscheidung von Pharmaka verantwortlich sind, ist derzeit unbekannt. Zurzeit untersuchen wir in Modellzellen, welche Abschnitte auf dem OAT1-Promoter für die Stimulation durch Testosteron verantwortlich sind.

#### 4. Gender differences in renal transporter expression

In collaboration with Dr. I. Sabolic, Zagreb, we are investigating the gender-dependent expression of drug transporters in the kidneys of rats. As compared to female rats, male rats exhibited a stronger expression of OAT1, OAT3 and the organic cation transporter OCT2 in the basolateral membrane of proximal tubule cells. In the luminal membrane, male rats showed greater amounts of the ATP-driven transporters MRP4 and MDR1 whereas, in female rats, OAT2 and OAT5 exhibited a higher expression, as demonstrated in immunohistochemical studies. The expression of OAT1 and OAT3 was strongly stimulated by testosterone, and inhibited by estrogens. On the other hand, testosterone inhibited the expression of OAT2 and OAT5, and estrogens weakly stimulated it. We do not know whether similar gender differences are occurring in humans, contributing to different drug excretion rates. Presently, we are investigating which elements within the promoter region of OAT1 confer the stimulatory effect of testosterone.

#### Arbeitsgruppenleiter/innen Group Leaders

Dr. Maja Henjakovic

PD Dr. Andrew Bahn

#### Kooperationen Cooperations

Dr. W.E. Budach, Dr. C. Wanke, Novartis, Basel, Schweiz

Dr. I. Sabolic and coworkers, Institute for Medical Research and Occupational Health, Zagreb, Kroatien

#### Drittmittelförderung Funding

Graduiertenkolleg 335; 1997-2008

#### Ausgewählte Publikationen Selected Publications

Ljubojevic M, Balen D, Breljak D, Kusak M, Anzai N, Bahn A, Burckhardt G, Sabolic I (2007) Renal expression of organic anion transporter OAT2 in rats and mice is regulated by sex hormones. *AM J PHYSIOL RENAL PHYSIOL* 292: F361-F372

Sabolic I, Asif AR, Budach WE, Wanke C, Bahn A, Burckhardt G (2007) Gender differences in kidney function. *PFLÜGERS ARCH - EUROP J PHYSIOL* 455: 397-429

#### 5. Renale Ausscheidung von Dicarboxylaten bei der Glutarazidurie

Glutarazidurien sind seltene, angeborene Stoffwechselerkrankungen, deren Bezeichnung sich von der vermehrten Ausscheidung der Glutarsäure bzw. des Dicarboxylats Glutarat mit dem Urin herleitet. Ursächlich sind Störungen des Lysinstoffwechsels, die mit einer Anhäufung von Glutarat, 2L- und 2D-Hydroxyglutarat und 3-Hydroxyglutarat im Blut einhergehen. Die betroffenen Kinder können zwischen dem 6. und 18. Lebensmonat eine Neurodegeneration der Basalganglien mit lebenslanger, schwerer Bewegungseinschränkung erleiden. Wir haben untersucht, welche Transportsysteme an der renalen Ausscheidung dieser Metabolite in den proximalen Tubuluszellen beteiligt sind.

Zunächst wiesen wir in elektrophysiologischen Experimenten mit *Xenopus laevis* Oozyten nach, dass Glutarat und 3-Hydroxyglutarat von NaDC3 Natrium-abhängig transportiert werden. Die Affinität des NaDC3 für Glutarat war dabei 24-mal höher als die für 3-Hydroxyglutarat. Glutarat und seine an den Positionen 2 und 3 hydroxylierten Metabolite sind Substrate des OAT1 und des OAT4. OAT3 interagiert dagegen nur mit Glutarat und nicht mit seinen Metaboliten. Damit ergibt sich folgendes Bild der renalen Ausscheidung: Glutarat und seine Metabolite werden über NaDC3 und OAT1 aus dem Blut in die proximalen Tubuluszellen aufgenommen und über den OAT4 aus den Zellen an den Primärharn abgegeben.

#### 5. Renal excretion of dicarboxylates in glutaric aciduria

Glutaric acidurias are rare, inborn diseases named after the excretion of large amounts of glutaric acid (dicarboxylate anion: glutarate) with the urine. The primary gene defect affects the degradation of lysine, leading to an accumulation of glutarate, 2D- and 2L-hydroxy glutarate, and 3-hydroxy glutarate in the blood. At an age of 6 to 18 months, children carrying the gene defect may develop neurodegeneration within their basal ganglia and experience a severe dystonic-dyskinetic movement disorder. We investigated the mechanism of the renal excretion of glutarate and its metabolites.

In electrophysiological experiments, we demonstrated that glutarate and 3-hydroxy glutarate are translocated by NaDC3 in a sodium-dependent manner. The affinity of NaDC3 for glutarate turned out to be 24 times higher than that for 3-hydroxy glutarate. OAT3 interacted with glutarate solely, whereas OAT1 and OAT4 accepted glutarate and its hydroxylated metabolites. We concluded that glutarate and its metabolites are taken up from the blood into proximal tubule cells by NaDC3 and OAT1, and are released from the cells into the primary urine by OAT4.

#### Arbeitsgruppenleiter/innen Group Leaders

Apl. Prof. Dr. Birgitta C. Burckhardt

PD Dr. Johannes Hagos

PD Dr. Wolfgang Krick

#### Kooperationen Cooperations

Prof. Dr. T. Braulke, Dr. C. Mühlhausen, Kinderklinik, Universitätsklinikum Eppendorf, Hamburg

#### Drittmittelförderung Funding

Else-Kröner-Fresenius-Stiftung P22/07/A19/07, 12/2007-05/2010

#### Ausgewählte Publikationen Selected Publications

Hagos Y, Krick W, Braulke T, Mühlhausen C, Burckhardt G, Burckhardt BC (2008) Organic anion transporters OAT1 and OAT4 mediate high affinity transport of glutarate derivatives accumulating in patients with glutaric acidurias. PFLÜGERS ARCH - EUROP J PHYSIOL 457: 223-231

Mühlhausen C, Burckhardt BC, Hagos Y, Burckhardt G, Keyser B, Lukacs Z, Ullrich K, Braulke T (2008) Membrane translocation of glutaric acid and its derivatives. J INHERIT METAB DIS 31: 188-193

Stellmer F, Keyser B, Burckhardt BC, Koepsell H, Streichert T, Glatzel M, Jabs S, Thiem J, Herdering W, Koeller DM, Goodman SI, Lukacs Z, Ullrich K, Burckhardt G, Braulke T, Mühlhausen C (2007) 3-Hydroxyglutaric acid is transported via the sodium-dependent dicarboxylate transporter NaDC3. J MOL MED 85: 763-770

## Anhang Appendix

#### Habilitationen

Hagos Y, Expression und Funktion der Organische-Anionen-Transporter in den Nieren, dem Gehirn und der Nebennierenrinde. Habilitation Universität Göttingen 2008.

Bahn A, Physiologie und Pharmakologie der Organische-Anionen-Transporter 1 und 3 (OAT1 und OAT3). Habilitation Universität Göttingen 2007.

#### Medizinische Dissertationen (Dr. med.; Dr. med. dent.)

##### Doctorate Theses (Dr. med.; Dr. med. dent.)

Drinkuth B, Dr. med., Wechselwirkungen von 2,3-Dimercaptopropan-1-sulfonsäure (DMPS) und Meso-2,3-Dimercaptosuccinat (DMSA) am Natrium-abhängigen Dicarboxylattransporter der basolateralen Membran der Nieren (fNaDC-3). Dissertation Universität Göttingen 2007.

Gronow T, Dr. med., Die Proteinkinase-C-vermittelte Regulation des Natrium-abhängigen Dicarboxylattransporters, fNaDC-3, aus den Nieren der Winterflunder. Dissertation Universität Göttingen 2007.

Hundertmark PC, Dr. med., Interaktion von Zytostatika mit den organischen Anionentransportern 1, 3 und 4 und deren Expression in Leukämiezellen. Dissertation Universität Göttingen 2008

Mathys C, Dr. med. Regulation des basolateralen Natrium-Dicarboxylat-Cotransporters der Winterflunder-Niere (fNaDC3) durch die Protein-Kinase C, Dissertation Universität Göttingen 2006

Pöhler M, Dr. med., Die kurzzeitige Regulation des humanen natriumanhängigen Dicarboxylattransporters. Dissertation Universität Göttingen 2008.

Schubert K, Dr. med. dent, Lokalisation des Sulfattransporters sat-1 im Gastrointestinaltrakt der männlichen Ratte. Dissertation Universität Göttingen 2008.

Wallis S, Dr. med., Vergleichende elektrophysiologische Untersuchungen zur Charakterisierung der organischen Anionen-Transporter aus den Nieren des Menschen (hOAT1) und der Winterflunder (fROAT). Dissertation Universität Göttingen 2007.

Ebbinghaus C, Dr. med., Klonierung und funktionelle Charakterisierung von Isoformen des renalen humanen Organische-Anionen-Transporter 1 (hOAT1). Dissertation Universität Göttingen 2008.

Braun I, Dr. med., Transport organischer Anionen über die basolaterale Membran der proximalen Tubuli der Schweinenieren. Dissertation Universität Göttingen 2006.

König A, Dr. med., Elektrophysiologische Untersuchungen zur Translokation von Quecksilber- und Bleitionen sowie von meso-2,3-Dimercaptosuccinat über den hochaffinen Na<sup>+</sup>-abhängigen Dicarboxylattransporter (fNaDC-3) aus den Nieren der Winterflunder (Pseudopleuronectes americanus). Dissertation Universität Göttingen 2006.

Lorenz J, Dr. med., Interaktionen von Nichtsteroidalen Antirheumatika, Benzylpenicillin und Folat mit dem Na<sup>+</sup>-abhängigen Dicarboxylat-Cotransporter (NaDC-3) aus den Nieren des Menschen und der Winterflunder - Vergleichende Untersuchungen nach Injektion von cRNA und Expressio. Dissertation Universität Göttingen 2006.

Mathys C, Dr. med., Regulation des basolateralen Natrium-Dicarboxylat-Cotransporters der Winterflunder-Niere (fNaDC-3) durch die Protein-Kinase C. Dissertation Universität Göttingen 2006.

Rödiger M, Dr. med. dent., Untersuchungen zur Spezifität der Triebkräfte des organischen Anionentransporters 1 des Kaninchens (rbOAT1) sowie Klonierung und vergleichende Untersuchungen am Orthologen des OAT3 (rbOAT3). Dissertation Universität Göttingen 2006.

#### Naturwissenschaftliche und andere Dissertationen (Dr. rer. nat. und andere) / Doctorate Theses (Dr. rer. nat. and others)

Rizwan, Ahsan Naqi, Dr. rer. nat., The importance of charged amino acids in the human organic anion transporter 1, Universität Göttingen, Göttingen, 2007

Shnitsar, Volodymyr, Dr. rer. nat. Expression von polyspezifischen Transportern in renalen Tumoren und ihre Bedeutung für die Chemotherapie, Universität Göttingen, Göttingen, 2008

#### Wissenschaftliche Tagungen Scientific Meetings

Göttinger Transporttage 2006, B.C. Burckhardt, G. Burckhardt, Göttingen, 04.-05.11.2006

Göttinger Transporttage 2007, B.C. Burckhardt, G. Burckhardt, Göttingen, 10.-11.11.2007

Göttinger Transporttage 2008, B.C. Burckhardt, G. Burckhardt, Göttingen, 22.-23.11.2008

#### Mitgliedschaften und Mitarbeit in wissenschaftlichen Gremien und Kommissionen Memberships and Activities in Scientific Boards and Committees

##### Apl. Prof. Dr. Birgitta C. Burckhardt

Mitglied der Deutschen Physiologischen Gesellschaft

Mitglied der Deutschen Gesellschaft für Nephrologie

##### Prof. Dr. G. Burckhardt

Sprecher des Graduiertenkollegs 335 „Klinische, zelluläre und molekulare Biologie innerer Organe“ (1997-2008)

Mitglied des Kontrollgremiums des IMPP (2004-2009)

Mitglied der Deutschen Akademie der Naturforscher Leopoldina

Mitglied der American Society for Biochemistry and Molecular Biology

Mitglied der American Society of Nephrology

Mitglied der International Society of Nephrology

Mitglied der American Society of Physiology

Mitglied der Deutschen Physiologischen Gesellschaft

Mitglied der Deutschen Gesellschaft für Nephrologie

#### Universitäre Gremien University Boards

##### Prof. Dr. Birgitta C. Burckhardt

Mitglied der Habilitationskommission (seit 06/2003)

Mitglied der Bibliothekskommission (seit 06/2003)

Mitglied der Tierschutzkommission (seit 07/2005)

Mitglied des Gutachterausschusses zur Forschungsförderung (2007 - 2009)

Mitglied des Wahlausschusses für die Wahlen zu den Kollegialorganen (seit 10/2008)

##### Prof. Dr. G. Burckhardt

Sprecher der Kommission zur Evaluation von Juniorprofessuren (2005-2008)

Mitglied der Studienkommission (seit 2005-2008)

Studiendekan (seit 04/2008)

#### Fachgutachtertätigkeit Function as Expert Consultant

##### Prof. Dr. B.C. Burckhardt

DFG

##### Prof. Dr. G. Burckhardt

DFG, Schweizer Nationalfonds, Wellcome Trust

**Herausgebertätigkeit Editorial Work**

**Prof. Dr. B.C. Burckhardt**

Mitglied des Editorial Boards von Nephron Physiology (seit 10/2008)

**Prof. Dr. G. Burckhardt**

Mitglied des Editorial Boards von Pflügers Archiv - European Journal of Physiology (2004-2008)

**Internationale wissenschaftliche Kooperationen**

**International Scientific Cooperations**

Dr. Ivan Sabolic, Institute for Medical Research and Occupational Health, Zagreb, Kroatien

**Stipendiaten/Stipendiatinnen Scholarship Holders**

Ashan Rizwan, GRK 335, 03/2004-02/2007

Volodymyr Shnitsar, GRK 1034, 06/2005-05/2008

Julia Grottker, GRK 1034, 05/2008 - 04/2010

**Firmenkooperationen Industrial Cooperations**

Sanofi-Aventis, Frankfurt

Johnsen & Johnsen, Beerse, Belgien

Novartis, Basel, Schweiz