
Aus dem CharitéCentrum 10
für Magen-, Darm-, Nieren- und Stoffwechselmedizin
Institut für Klinische Physiologie
Direktor: Professor Dr. Michael Fromm

Habilitationsschrift

**Analyse von Transport- und Barrierefunktionen des Epithels:
Charakterisierung von Tight Junction-Proteinen
und Regulation des Epithelialen Na⁺-Kanals (ENaC)**

zur Erlangung der Venia legendi für das Fach
Experimentelle Biomedizin

vorgelegt dem Fakultätsrat der Medizinischen Fakultät
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Dr. rer. nat. Salah Amasheh
geboren am 03.07.1969 in Aachen

Eingereicht: Juni 2007

Dekan: Prof. Dr. med. Martin Paul

1. Gutachter: Prof. Dr. Christoph Korbmacher

2. Gutachter: Prof. Dr. Hans Oberleithner

Für Maren & Yasmin**Inhaltsverzeichnis**

1. Einleitung	4
1.1 Tight Junctions in Epithel und Endothel	5
1.1.1 Charakteristika der Tight Junction	5
1.1.2 Transmembranäre Tight Junction-Proteine	6
1.1.3 Bedeutung von Claudinen	7
1.1.3.1 Claudin-2	7
1.1.3.2 Claudin-5	8
1.1.3.3 Claudin-16	9
1.2 Funktionelle Charakterisierung von Tight Junction-Proteinen	12
1.2.1 Nachweismethoden	13
1.2.2 Funktionelle Analyse	13
1.3 Na⁺-Transport im distalen Colon	14
1.3.1 Charakteristika des Epithelialen Na ⁺ -Kanals ENaC	14
1.3.2 Malabsorption bei Colitis ulcerosa	15
1.3.3 Regulation der parazellulären Na ⁺ -Permeabilität	16
1.4 Analyse der Regulation des ENaC	16
1.4.1 Elektrophysiologische Methoden	18
1.4.2 Molekularbiologische Methoden	18
1.5 Fragestellungen und Ziele dieser Arbeit	20

2	Ergebnisse in Form von Veröffentlichungen	21
2.1.1	Claudin-2 expression induces cation-selective channels in tight junctions of epithelial cells. J. Cell Sci. 115 (2002), 4969-4976.	22
2.1.2	Claudins in the tight junctions of stria vascularis marginal cells. Biochem. Biophys. Res. Commun. 304 (2003): 5-10..	30
2.1.3	Contribution of claudin-5 to barrier properties in tight junctions of epithelial cells. Cell Tissue Res. 321 (2005), 89-96.	37
2.1.4	Disease-associated mutations affect intracellular traffic and paracellular Mg ²⁺ transport function of Claudin-16. J. Clin. Invest. 116 (2006): 878-891.	46
2.1.5	Early aldosterone effect in distal colon by transcriptional regulation of ENaC subunits. Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol. (2000) 278: G718-G724.	61
2.1.6	IL-1beta and TNFalpha regulate sodium absorption in rat distal colon. Biochem. Biophys. Res. Commun. (2004) 317:500-507.	69
2.1.7	Cytokine-dependent transcriptional down-regulation of epithelial sodium channel (ENaC) in ulcerative colitis. Gastroenterology (2004) 126:1711-1720	78
2.1.8	ENaC-mediated Na ⁺ absorption defends from paracellular back-leakage by claudin-8 up-regulation J. Gen. Physiol., <i>submitted</i>	89
2.2	Zusammenfassung der Ergebnisse	125

3	Diskussion	129
3.1	Tight Junctions	129
3.1.1	Expression und Lokalisation von Tight Junction-Proteinen	129
3.1.2	Rolle von Claudin-2, -5, und -16	129
3.2	Regulation des Na⁺-Transports im distalen Colon	133
3.2.1	Physiologische Regulation des ENaC	133
3.2.2	Gestörte Regulation bei Entzündung	134
3.2.3	Regulation der Tight Junction	137
4.	Zusammenfassung	141
5.	Literaturverzeichnis	142
6.	Abkürzungsverzeichnis	156
7.	Erklärung	159