

Institut für Experimentelle und Klinische Pharmakologie und Toxikologie

Lehrstuhl für Pharmakologie und Toxikologie

Adresse

Fahrstraße 17
91054 Erlangen
Tel.: +49 9131 8522771
Fax: +49 9131 8522774
www.pharmakologie.uni-erlangen.de

Direktor

Prof. Dr. med. Andreas Ludwig

Ansprechpartner

Prof. Dr. med. Andreas Ludwig
Tel.: +49 9131 8522220
Fax: +49 9131 8522774
Andreas.Ludwig@fau.de

Forschungsschwerpunkte

- Signaltransduktion der kardialen Rhythmogenese und Herzhypertrophie
- Nierenfunktion bei Sepsis
- HCN-Kanäle im Nervensystem
- pharmakologische fMRT-Bildgebung

Struktur des Lehrstuhls

Professuren: 2
Beschäftigte: 24
• Wissenschaftler: 9
(davon drittmittelfinanziert: 3)
• Promovierende: 5

Strukturelle Besonderheit

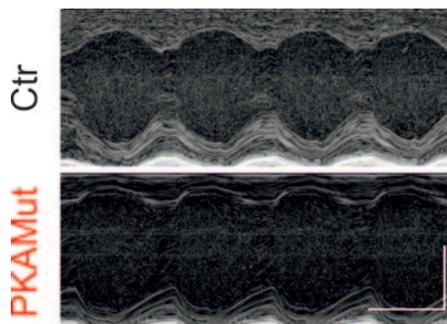
Geschäftsführender Institutsdirektor im zweijährigen Wechsel mit dem Lehrstuhl für Klinische Pharmakologie und Klinische Toxikologie

Forschung

Am Lehrstuhl für Pharmakologie und Toxikologie werden verschiedene Aspekte des Herz-Kreislauf-Systems sowie des zentralen und peripheren Nervensystem im Säugerorganismus untersucht. Einen Schwerpunkt stellen die molekularen Mechanismen der Generierung des Herzrhythmus und die Signaltransduktionsmechanismen bei kardialer Hypertrophie dar. Weiterhin werden Mechanismen des akuten Nierenversagens bei Sepsis analysiert. Ein weiteres Arbeitsgebiet stellt die Rolle von HCN-Kanälen im Nervensystem dar, insbesondere bei der Schmerzentstehung und im Thalamus. Schließlich wird die Gehirnfunktion unter verschiedenen Bedingungen (Pharmaka, Verhaltensstudien, Erkrankungen) durch nicht-invasive Analysen mit Hilfe der funktionellen Magnetresonanztomographie (fMRT) untersucht.

Signaltransduktion der kardialen Rhythmogenese und Herzhypertrophie

PI: PD Dr. S. Herrmann, PD Dr. J. Stieber, Prof. Dr. A. Ludwig
Wir haben festgestellt, dass sowohl herzspezifische Ryanodinrezeptor RyR2- als auch Calciumkanal CaV1.2-Mutanten ein Modell der menschlichen dilatativen Kardiomyopathie darstellen. Es wurden pathophysiologische Mechanismen sowie neue Behandlungsstrategien in diesem Krankheitsmodell charakterisiert. Weiterhin wurde die Rolle der Proteinkinase A (PKA) für die Herzfunktion durch eine herzspezifische induzierbare PKA-Mutante untersucht. In den Mutanten zeigte sich eine eingeschränkte Herzfunktion, eine Hochregulation kardialer Stressmarker sowie eine verlangsamte Sarkomerrelaxation und Calcium-Elimination. Ursache dieser Veränderungen ist vermutlich eine reduzierte Phosphorylierung von verschiedenen kontraktiven Proteinen und Phospholamban. Bei zwei verschiedenen pathologischen Zuständen konnte gezeigt werden, dass die PKA-Aktivität zum einen wesentlich für den kardiotoxischen Effekt einer beta1-adrenergen Stimulation ist. Zum anderen ist die PKA essentiell für die kompensatorische Aufrechterhaltung der Herzleistung bei einer chronischen Druckbelastung.



Echokardiographische Untersuchung der linksventrikulären Funktion von Kontrolltieren (oben) und der PKA-Mutante (unten)

Die Mutante zeigt eine verminderte Ejektionsfraktion und erhöhte enddiastolische sowie endsystolische Volumina.

Nierenfunktion bei Sepsis

PI: Prof. Dr. K. Höcherl

Eine verminderte Durchblutung der Nieren aufgrund einer renalen Vasokonstriktion scheint ein zentraler Faktor im akuten Nierenversagen bei einer Sepsis zu sein. Eine erhöhte renale Bildung an vasodilatorischen Prostaglandinen, wie Prostaglandin E2 (PGE2) und Prostazyklin (PGI2), könnte eine wichtige Rolle für die Aufrechterhaltung der Nierenfunktion spielen. Am Tierrmodell der Endotoxämie konnten wir zeigen, dass die Expression von EP2-, EP4- und IP-Rezeptoren,

über die PGE2 und PGI2 eine Vasodilatation bewirken, erhöht ist, gleichzeitig aber die Expression von EP1- und EP3-Rezeptoren, über die PGE2 vasokonstriktorisch wirken kann, vermindert ist. Zudem fanden wir im Modell der isoliert perfundierten Niere, dass der vasodilatorische Effekt dieser Prostaglandine in Nieren von Lipopolysaccharid-behandelten Tieren deutlich ausgeprägter ist. Unsere Ergebnisse zeigen, dass im Rahmen einer Endotoxämie die vasodilatorische Wirkung von PGE2 und PGI2 verstärkt ist und somit diese Prostaglandine zur Aufrechterhaltung der Nierenfunktion im Rahmen einer Endotoxämie beitragen. Weiterhin wurde der Fibroblastenwachstumsfaktor-23 (FGF23) in den letzten Jahren als ein wichtiger Regulator im Calcium- und Phosphathaushalt sowie im Vitamin D-Stoffwechsel charakterisiert. Dabei bindet FGF23 an den FGF-Rezeptor-Klotho-Komplex. Störungen im FGF23-Klotho-Vitamin D Signalweg als auch Expressionsänderungen von renalen Calcium und Phosphat-Transportern könnten ursächlich für die bei einer Sepsis häufig beobachtete Hypokalzämie und Änderungen im Phosphat- und Vitamin D-Haushalt sein. Am Tiermodell konnten wir zeigen, dass LPS eine Hypokalzämie und eine Hyperphosphatämie verursacht. Während dabei die Plasmakonzentrationen von FGF23, Parathormon und Vitamin D3 erhöht sind, ist die renale Expression von Klotho vermindert. Zudem war die Expression von Calcium und Phosphat-Transportern verändert. Während die renale Expression von TRPV5, TRPV6 und Pit1 erhöht ist, wird die Expression von Calbindin-D28K, NCX1, NaPi-2a und NaPi-2c vermindert. Unsere Ergebnisse zeigen eine renale Störung im FGF23-Klotho-Vitamin D Signalweg als auch Änderungen von spezifischen renalen Transportern für Phosphat und Calcium im Rahmen einer Endotoxämie.

HCN-Kanäle im Nervensystem

PI: PD Dr. S. Herrmann, Prof. Dr. A. Ludwig
Die Zielproteine des cAMP-abhängigen Signalweges bei der Nozizeption sind nicht genau bekannt. Wir haben die Funktion des Ionenkanals HCN2 und der Proteinkinase PKA selektiv in peripheren nozizeptiven Neuronen ausgeschaltet. In beiden Mutanten wurde ein fast völliges Fehlen der Sensibilisierung auf eine cAMP-abhängige Entzündungsreaktion festgestellt. Der Verlust von HCN2 als auch die Hemmung der PKA eliminierte den cAMP-abhängigen Anstieg von Calcium-Transienten in isolierten DRG-Neuronen. Die Modulation des h-Stroms durch cAMP war in Neuronen ohne PKA-Aktivität nicht mehr vorhanden. Die Ergebnisse zeigen die wichtige

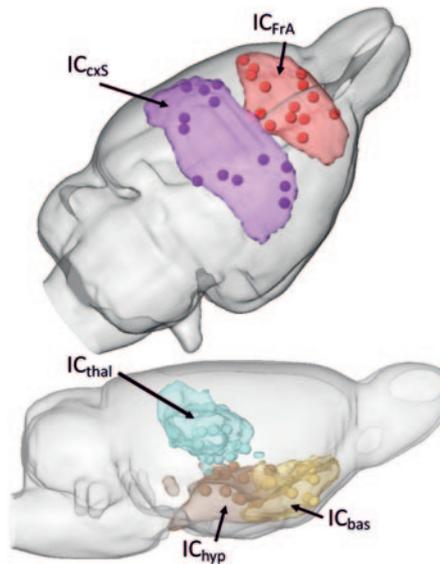
Rolle von HCN2 und PKA beim Entzündungsschmerz und lassen überraschenderweise vermuten, dass eine PKA-abhängige Aktivierung von HCN2 für die cAMP-getriggerte neuronale Sensibilisierung verantwortlich ist. In Kooperation mit Prof. Dr. T. Budde (Westfälische Wilhelms-Universität Münster) wurde zudem die Rolle von HCN4-Ionenkanälen im Thalamus definiert. Wir konnten zeigen, dass HCN4 Kanäle in verschiedenen thalamischen Projektionsneuronen essentiell für die Produktion rhythmischer intrathalamischer Oszillationen sind. Weiterhin kontrollieren die Kanäle die normale thalamocorticale oszillatorische Aktivität im wachen Zustand.

Pharmakologische fMRT-Bildgebung

PI: Prof. Dr. A. Hess

Diese Arbeitsgruppe benutzt die nicht-invasive funktionelle Magnetresonanztomographie (fMRT) zur Erforschung dynamisch-plastischer Prozesse im zentralen Nervensystem von Nagern und Menschen. In den letzten zwei Jahren wurden u.a. zwei BMBF Verbundprojekte bearbeitet (NeuroImpa und NeuroRad). Im Rahmen des Projekts NeuroImpa wurden plastische Prozesse im Gehirn in verschiedenen Arthritismodellen (Prof. Dr. H.-G. Schaible und Prof. Dr. T. Kamradt, Universitätsklinikum Jena) und bei der Knochenheilung (Prof. Dr. S. Grässel, Universität Regensburg) analysiert. Im NeuroRad-Projekt wurden in Zusammenarbeit mit Prof. Dr. M. Löbrich (TU Darmstadt) die Effekte von unterschiedlichen Gammastrahlenexpositionen auf die Gehirnfunktion von embryonalen und postnatalen Mäusen mit Hilfe von Verhaltensversuchen und funktioneller MRT Bildgebung charakterisiert. Weitere dynamische Gehirnprozesse wurden im Rahmen von Studien mit Nagern zu Lernverhalten (Prof. Dr. J. Braun, Otto-von-Guericke-Universität Magdeburg), Depression (Prof. D. Pollak, Medizinische Universität Wien) und Angst-assoziierten Gehirnstrukturen (Dr. W. Haubensak, Research Institute of Molecular Pathology, Wien) untersucht. Bei allen diesen Projekten erwies sich die von uns in mehrjähriger Entwicklungsarbeit etablierte graph-theoretische Netzwerkanalyse als ein sehr potentes Verfahren, mit dem selektiv dynamische Prozesse im Gehirn analysiert werden können. Die in präklinischen Studien ausgearbeiteten Verfahren konnten darüber hinaus zur Analyse von fMRT-Patientendaten eingesetzt werden. In Kooperation mit den Medizinischen Kliniken 1 und 3, der Neurologischen Klinik sowie der Neuroradiologischen Abteilung haben wir so diese Methoden zur Therapievalidierung bei verschiedenen Er-

krankungen (Morbus Crohn, Rheumatoide Arthritis, Epilepsie) erfolgreich verwendet. Im Rahmen der PreCePra-Studie an der Medizinischen Klinik 3, bei der die therapeutische Antwort auf einen TNF alpha-Antagonisten bei rheumatoider Arthritis mit Hilfe von fMRT vorhergesagt werden soll, konnten wir weitere Patientendaten aus den beteiligten internationalen Zentren in die Analyse einschließen. Demnächst wird hier die avisierte Patientenzahl für die Voll-Analyse erreicht werden.



Die Abbildung zeigt die sehr gute Übereinstimmung der Standard ICA (Independent Component Analysis)-Komponenten (große farbige Gebiete) der Ruhegehirnaktivität der Ratte mit den wesentlich feiner aufgelösten Einzelstrukturanalysen unseres neuen graph-theoretischen Analyseansatzes (einzelne farbige Kugeln). Die Gehirnoberfläche der Ratte ist grau transparent dargestellt.

Lehre

Zusätzlich zur Lehre in den Studiengängen Medizin und Molekulare Medizin leistet der Lehrstuhl die Ausbildung der Studierenden der Pharmazie in Pathophysiologie sowie im Staatsexamensfach „Pharmakologie und Toxikologie“ gemäß der Approbationsordnung für Apothekerinnen und Apotheker.

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

Ausgewählte Publikationen

Herrmann S, Rajab H, Christ I, Schirdewahn C, Höfler D, Fischer MJM, Bruno A, Fenske S, Gruner C, Kramer F, Wachsmann T, Wahl-Schott C, Stieber J, Biel M, Ludwig A. Protein kinase A regulates inflammatory pain sensitization by modulating HCN2 channel activity in nociceptive sensory neurons. Pain 2017, 158:2012-2024

Aziz Q, Finlay M, Montaigne D, Ojake L, Li Y, Anderson N, Ludwig A, Tinker A. ATP-sensitive potassium channels in the sinoatrial node contribute to heart rate control and adaptation to hypoxia. J Biol Chem. 2018, 293: 8921

Griessner J, Pasioka M, Böhm V, Grössl F, Kaczanowska J, Pliota P, Kargl D, Werner B, Kaouane N, Strobel S, Kreitz S, Hess A, Haubensak W. Central amygdala circuit dynamics underlying the benzodiazepine anxiolytic effect. Mol Psychiatry. 2018 Nov 30

Kreitz S, de Celis Alonso B, Uder M, Hess A. A new analysis of resting state connectivity and graph theory reveals distinctive short-term modulations due to whisker stimulation in rats. Front Neurosci 2018, 12: 334

Mendez-Torrijos A, Kreitz S, Ivan C, Konecny L, Rösch J, Pischetsrieder M, Moll G, Kratz O, Dörfler A, Horndasch S, Hess A. Snack food as a modulator of human resting-state functional connectivity. CNS Spectr. 2018 Oct;23(5):321-332

Meurer M, Ebert K, Schweda F, Höcherl K. The renal vasodilatory effect of prostaglandins is ameliorated in isolated-perfused kidneys of endotoxemic mice. Pflugers Arch. 2018, 470: 1691

Internationale Zusammenarbeit

Prof. D. Chetkovich, Northwestern University, Chicago: USA

Prof. C. Reid, Florey Institute of Neuroscience and Mental Health, Melbourne: Australien

Prof. A. Landstrom, Duke University, Durham: USA

Dr. W. Haubensak, Research Institute of Molecular Pathology, Wien: Österreich

Prof. I. Vetter, The University of Queensland, Brisbane: Australien

Institute of Experimental and Clinical Pharmacology and Toxicology

Chair of Pharmacology and Toxicology

Address

Fahrstraße 17
91054 Erlangen
Phone: +49 9131 8522771
Fax: +49 9131 8522774
www.pharmakologie.uni-erlangen.de

Director

Prof. Dr. med. Andreas Ludwig

Contact

Prof. Dr. med. Andreas Ludwig
Phone: +49 9131 8522220
Fax: +49 9131 8522774
Andreas.Ludwig@fau.de

Research focus

- Signal transduction of cardiac rhythmogenesis and hypertrophy
- HCN channels in the nervous system
- Renal function and sepsis
- Pharmacological fMRI imaging

Structure of the Chair

Professorships: 2

Personnel: 24

- Scientists: 9 (thereof funded externally: 3)
- Graduate students: 5

Special structural feature

The position of the executive director of the Institute rotates between the Chair of Pharmacology and Toxicology and the Chair of Clinical Pharmacology and Clinical Toxicology on a two-year basis.

Research

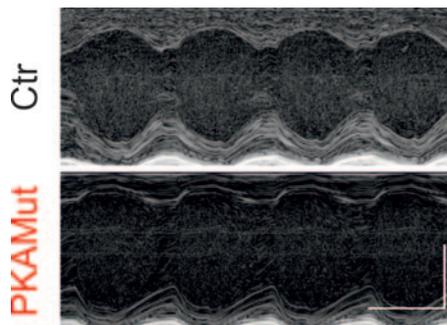
Various aspects of the cardiovascular system as well as of the central and peripheral nervous system in mammals are studied. Research foci are the mechanisms underlying the generation of the cardiac rhythm and signal transduction mechanisms in cardiac hypertrophy. Another research area is the pathogenesis of acute kidney injury under septic conditions. The role of HCN channels in the nervous system and in particular in nociception and in the thalamus is analyzed. Finally, brain function under various conditions (drugs, behavioral paradigms, diseases) is studied by non-invasive brain imaging using functional magnetic resonance imaging (fMRI).

Signal transduction of cardiac rhythmogenesis and hypertrophy

PI: PD Dr. J. Stieber, PD Dr. S. Herrmann, Prof. Dr. A. Ludwig

We found that ventricular RyR2 and CaV1.2-calcium channel mouse mutants develop a cardiac phenotype closely resembling human dilative

cardiomyopathy. Pathophysiological mechanism and new treatment strategies for this disease are studied in both mouse models. In another project, the role of protein kinase A (PKA) for cardiac function was examined by using a cardiac-specific inducible PKA-mutant. Mutant animals developed ventricular dysfunction, upregulation of cardiac stress markers and delayed sarcomere shortening and calcium-decay kinetics most likely due to an impaired phosphorylation of contractile proteins and phospholamban. We could show that under pathological conditions PKA activity plays a pivotal role in the beta1 adrenergic-signaling pathway and the cardiotoxic effects after its chronic activation. Furthermore, PKA activity is important for maintaining cardiac function under chronic pressure overload.



Echocardiograms depicting the left ventricular function of control (top) and PKA-mutant (bottom) animals. PKA mutants display a reduced ejection fraction and increased left ventricular volumes.

HCN channels in the nervous system

PI: PD Dr. S. Herrmann, Prof. Dr. A. Ludwig
Downstream targets of the cAMP-dependent signaling pathway in nociception are not well understood. We disabled the function of either HCN2 or PKA selectively in a subset of peripheral nociceptive neurons. A near-complete lack of sensitization was observed in both mutant strains during cAMP-dependent inflammation. The lack of HCN2 as well as the inhibition of PKA eliminated the cAMP-mediated increase of calcium transients in isolated dorsal root ganglion neurons. Facilitation of the Ih current via cAMP was abolished in neurons without PKA activity. These results show a significant contribution of HCN2 and PKA to inflammatory pain and suggest that PKA-dependent activation of HCN2 underlies cAMP-triggered neuronal sensitization. In collaboration with Prof. Dr. T. Budde (Westfälische Wilhelms-Universität Münster), the role of HCN4 ion channels in the thalamus was analyzed. We could show that HCN4 channels in different thalamic projection neurons are important for the production of rhythmic intrathalamic oscillations. In addition, thalamic HCN4 channels determine the regular thalamocortical oscillatory activity during alert states.

Renal function and sepsis

PI: Prof. Dr. K. Höcherl

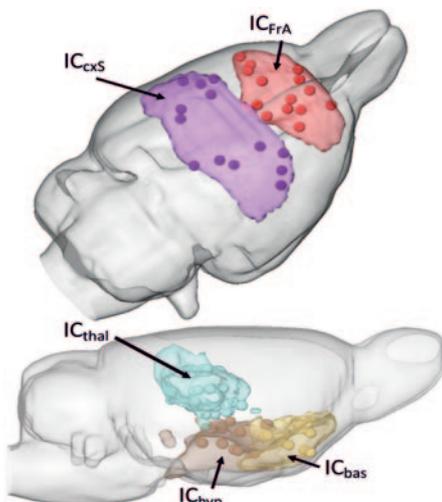
Decreased renal perfusion due to renal vasoconstriction seems to be a central factor in the pathogenesis of septic acute kidney injury. An increased production of vasodilator prostaglandins including prostaglandin E2 (PGE2) and prostacyclin (PGI2) may play an important role in maintaining renal function. By using an animal model of endotoxemia, we showed that the expression of EP2-, EP4-, and IP-receptors, which mediate the PGE2 and PGI2-induced vasodilation, was increased. In contrast, expression of EP1- and EP3-receptors, which transmit the vasoconstrictive effect of PGE2, was reduced. By using the isolated-perfused kidney model we found that the vasodilator effect of the above prostaglandins was much stronger in kidneys from lipopolysaccharide-treated animals as compared to controls. These results demonstrate an increased vasodilating effect of PGE2 and PGI2 during endotoxemia suggesting that these prostaglandins contribute to the maintenance of kidney function under endotoxemic conditions. Recently, the fibroblast growth factor-23 (FGF23) has been identified as an important regulator of calcium and phosphate homeostasis and the metabolism of vitamin D. FGF23 binds to the FGF-receptor-klotho-complex. Abnormal regulation of the FGF23-klotho-vitamin D signal transduction pathway and an altered expression of renal calcium and phosphate transporters may underlie the frequently observed hypocalcemia and changes in phosphate and vitamin D homeostasis during septic conditions. We showed that lipopolysaccharide induces hypocalcemia and hyperphosphatemia in an *in vivo* model. The plasma concentrations of FGF23, parathyroid hormone, and vitamin D3 were increased, whereas renal expression of klotho was reduced. In addition, we detected a change in the expression of various calcium and phosphate transporters. The renal expression of TRPV5, TRPV6, and Pit1 was stronger and the expression of calbindin-D28K, NCX1, NaPi-2a, und NaPi-2c was lower as compared to controls. Our results demonstrate that during endotoxemia a dysregulation in the FGF23-Klotho-vitamin D axis and alterations in various renal phosphate and calcium transporters take place.

Pharmacological fMRI imaging

PI: Prof. Dr. A. Hess

This working group uses non-invasive functional magnetic resonance imaging (fMRI) to investigate dynamic-plastic processes in the central nervous system of rodents and humans. In the last two years, the group worked among other studies on two BMBF joint research projects (NeuroImpa and NeuroRad). In the NeuroImpa project, plastic brain processes were examined in var-

ious arthritis models (Prof. H.-G. Schaible and Prof. T. Kamradt, Universitätsklinikum Jena) as well as in bone healing (Prof. Dr. S. Grässel, Universität Regensburg). In the NeuroRad project, effects of different dosages of gamma-radiation on brain function of embryonic and postnatal mice were investigated in collaboration with Prof. Dr. M. Löbrich (TU Darmstadt) by using behavioral tests and fMRI. Further dynamic brain processes were investigated in rodent studies dealing with learning behavior (together with Prof. Dr. J. Braun, Otto-von-Guericke-Universität Magdeburg), depression (cooperation with Prof. D. Polak, Medizinische Universität Wien) and anxiety-associated brain structures (cooperation with Dr. W. Haubensak, Research Institute of Molecular Pathology, Vienna). In all these projects, the graph-theoretical network analyses that we have established over several years proved to be a very potent method for selectively analyzing dynamic processes in the brain. These techniques, which had been developed in preclinical studies, were also successfully applied to the analysis of fMRI data from patients. In cooperation with the departments of Medicine 1 and 3, Department of Neurology, and the Division of Neuroradiology), we used our methods for therapy validation in various diseases (Crohn's disease, rheumatoid arthritis, epilepsy). As part of the PreCePra study at the Department of Medicine 3, which examines an fMRT-based prediction of the therapeutic response to a TNF alpha-inhibitor in rheumatoid arthritis, we could include additional patient data from the participating international centers. Therefore, we soon will have reached the number of patients envisaged for the full analysis.



The picture shows the excellent overlap of the standard ICA components (big coloured areas) of the resting state activity in the rat brain with the much finer resolved structural analysis from our newly developed graph-theoretical methods (coloured balls). The surface of the rat brain is depicted in translucent grey.

Teaching

In addition to the teaching duties in the degree programs Medicine and Molecular Medicine, the Chair provides the complete training in pharmacology for pharmacy students (as required to acquire the license to practice pharmacy). This includes lectures covering pharmacology and pathophysiology as well as seminars and laboratory internships.

Bachelor's and Master's theses as well as MD and PhD theses are supervised.

Selected publications

Herrmann S, Rajab H, Christ I, Schirdewahn C, Höfler D, Fischer MJM, Bruno A, Fenske S, Gruner C, Kramer F, Wachsmann T, Wahl-Schott C, Stieber J, Biel M, Ludwig A. Protein kinase A regulates inflammatory pain sensitization by modulating HCN2 channel activity in nociceptive sensory neurons. *Pain* 2017, 158:2012-2024

Aziz Q, Finlay M, Montaigne D, Ojake L, Li Y, Anderson N, Ludwig A, Tinker A. ATP-sensitive potassium channels in the sinoatrial node contribute to heart rate control and adaptation to hypoxia. *J Biol Chem*. 2018, 293: 8921

Griessner J, Pasięka M, Böhm V, Grössl F, Kaczanowska J, Pliota P, Kargl D, Werner B, Kaouane N, Strobel S, Kreitz S, Hess A, Haubensak W. Central amygdala circuit dynamics underlying the benzodiazepine anxiolytic effect. *Mol Psychiatry*. 2018 Nov 30

Kreitz S, de Celis Alonso B, Uder M, Hess A. A new analysis of resting state connectivity and graph theory reveals distinctive short-term modulations due to whisker stimulation in rats. *Front Neurosci* 2018, 12: 334

Mendez-Torrijos A, Kreitz S, Ivan C, Konecny L, Röscher J, Pischetsrieder M, Moll G, Kratz O, Dörfler A, Horndasch S, Hess A. Snack food as a modulator of human resting-state functional connectivity. *CNS Spectr*. 2018 Oct;23(5):321-332

Meurer M, Ebert K, Schweda F, Höcherl K. The renal vasodilatory effect of prostaglandins is ameliorated in isolated-perfused kidneys of endotoxemic mice. *Pflugers Arch*. 2018, 470: 1691

International cooperations

Prof. D. Chetkovich, Northwestern University, Chicago: USA

Prof. C. Reid, Florey Institute of Neuroscience and Mental Health, Melbourne: Australia

Prof. A. Landstrom, Duke University, Durham: USA

Dr. W. Haubensak, Research Institute of Molecular Pathology, Vienna: Austria

Prof. I. Vetter, The University of Queensland, Brisbane: Australia