

Olga Kruglikova
Dr.med.

Isolierung, Kultivierung und Charakterisierung von humanen Mesothelzellen

Geboren am 26.02.1982 in Charkow (Ukraine)
Staatsexamen am 21-23.04.2009 an der Universität Heidelberg

Promotionsfach: Innere Medizin (Nephrologie)
Doktorvater: Priv.-Doz. Dr. Vedat Schwenger

In der Therapie der terminalen Niereninsuffizienz ist die Peritonealdialyse ein der Hämodialyse gleichwertiges Verfahren. Die Vorteile der Peritonealdialyse liegen insbesondere in einer höheren Lebensqualität durch größere Flexibilität der Patienten, da dieses Verfahren als Heimdialyseverfahren durchgeführt wird und somit nur wenige Klinikaufenthalte notwendig sind. Das Verfahren ist jedoch zeitlich begrenzt durch lokale toxische Effekte von Dialysatlösungen, insbesondere von, während der Hitzesterilisation von Glukose entstehenden, Glukoseabbauprodukten (GDPs). Diese GDPs werden zu Advanced Glycation Endproducts (AGEs) umgewandelt, die wiederum mit dem Rezeptor für AGEs, RAGE, interagieren. Die zentrale Rolle von RAGE für die peritoneale Schädigung konnte in Tierexperimenten gezeigt werden. Zellkulturdaten liegen bislang nur in begrenzter Anzahl vor. Daten inwieweit die Methode der Zellgewinnung, die Art der Zellen, d.h. ob Mesothelzellen von nierengesunden oder nierenkranken Probanden bzw. von Peritonealdialyse-Patienten gewonnen werden, von Bedeutung sind, liegen momentan noch nicht vor. Ziel der Arbeit war es, zum einen unterschiedliche Möglichkeiten der Zellgewinnung und Kultivierung zu etablieren und zum anderen zu untersuchen inwieweit sich das Zytoskelett, aber auch die RAGE-Lokalisation in humanen peritonealen Mesothelzellen von nierengesunden Freiwilligen, von nierenkranken Patienten und von Peritonealdialyse-Patienten unterscheiden. Es zeigte sich, dass bei der Isolierung von humanen Mesothelzellen viszerales Peritoneum zu bevorzugen ist. Bei allen isolierten peritonealen Mesothelzellen konnte eine eindeutige Zuordnung durch den charakteristischen Mesothelzellmarker Cytokeratin 18 erfolgen. Als Zeichen einer beginnenden Transformation der Mesothelzellen von Peritonealdialyse-Patienten, zeigten sich Veränderungen in Zellform und -anfärbbarkeit von Cytokeratin 18, die vermutlich auf Interaktion von AGEs mit RAGE zurückzuführen sind. Es zeigte sich in der Aktin-Immunfluoreszenz in Mesothelzellen von Bauchfelldialyse-Patienten eine Umverteilung der Aktin-Struktur von einer kortikalen zu

einer ungeordnet zytosolischen Form, dies kann als erstes Zeichen einer Zelltransformation angesehen werden. Die durch Peritonealdialysat erwartete Depolarisation der Aktin-Polymere war nicht zu beobachten. Postuliert wurde zudem, dass Mesothelzellen, die einem urämischen Milieu bzw. Peritonealdialysat ausgesetzt waren, ein anderes RAGE-Verteilungsmuster aufwiesen. Dies konnte nicht bestätigt werden. In den durchgeführten Immunfluoreszenzen zeigte sich die RAGE-Verteilung in allen Zelltypen (Mesothelzellen von nierengesunden Probanden, Mesothelzellen von urämischen Patienten und Mesothelzellen von Peritonealdialyse-Patienten) gleich zytosolisch als auch perinukleär angeordnet.

Die korrekte Art der Isolierung und der Kultivierung von Mesothelzellen bildet die Grundlage für wissenschaftliche Arbeiten mit Mesothelzellen und spielt für deren Beurteilung eine entscheidende Rolle.