

Benjamin Zeier

Dr. med.

## **Renale und kardiovaskuläre Toxizität durch Glukosedegradationsprodukte bei CAPD**

Promotionsfach: Innere Medizin

Doktorvater: Prof. Dr. med. Vedat Schwenger

Bei der Peritonealdialyse werden hitzesterilisierte glukosehaltige Dialysatlösungen eingesetzt, um eine adäquate Ultrafiltration zu erzielen. Während der Hitzesterilisierung dieser Lösungen entstehen hochreaktive und toxische Glukosedegradationsprodukte (GDPs). Diese GDPs verursachen zum Einen eine direkte peritoneale Schädigung, zum Anderen führen sie zur Bildung von AGEs (advanced glycation end-products). Durch die Interaktion von AGE mit dem Rezeptor für AGE (RAGE) kommt es zur Aktivierung von Signaltransduktionswegen, die in der Folge pro-inflammatorische Signalkaskaden in Gang setzen. Neben der bekannten lokalen Toxizität für das Peritoneum konnte in klinischen Studien eine systemische Resorption dieser GDPs nachgewiesen werden. Daher liegt dieser Arbeit die Frage zugrunde, ob systemisch resorbierte GDPs bei Urämie neben der bereits bekannten lokalen peritonealen Schädigung zu einer additiven renalen und kardiovaskulären Schädigung führen.

Für die Untersuchung beider Schädigungsmodelle (renal und kardiovaskulär) wurden Sprague Dawley Ratten in jeweils drei Gruppen randomisiert: eine Kontrollgruppe, eine subtotal nephrektomierte Gruppe (SNX) und eine SNX-Gruppe, der GDPs intravenös verabreicht wurden (SNX+GDP). Für das renale Schädigungsmodell waren dies je 6 Tiere für die Gruppen Sham und SNX sowie 12 Tiere für die SNX+GDP Gruppe; für das kardiovaskuläre Schädigungsmodell jeweils 7 Tiere pro Gruppe. Via osmotischer Minipumpe erhielten die SNX+GDP Tiere über einen zentralvenösen Gefäßzugang für 28 Tage GDP, die anderen Tiere 0,9% NaCl-Lösung. Vor Beendigung der Versuche wurde über einen Zeitraum von 24 Stunden Urin in Diuresekäfigen gesammelt und die Blutentnahmen sowie die Blutdruckmessungen durchgeführt. Mit den gewonnenen Urinproben wurden mittels ELISA unter Anderem Albumin quantifiziert. Zusätzlich wurden Marker des

oxidativen Stresses wie AOPP, ROS, CML und AGE-spezifischer Fluoreszenz im Serum bestimmt. Renale Schädigung wurde zusätzlich morphometrisch mittels Glomerulosklerose Index und des Index für tubulointerstitiellen Schaden quantifiziert. Außerdem wurden immunhistochemisch Oxidations-, Inflammations-, Fibrose- und Apoptosemarker wie CML, MGO, VEGF, CD 3, IL-6, Caspase 3, TUNEL und TGF- $\beta$ 1 sowie die Podozytenmarker Desmin, Nephritin und Synaptopodin ausgewertet. Für das kardiovaskuläre Schädigungsmodell wurden in der Aorta und dem Myokard unter Anderem Färbungen für CML, RAGE und Caspase 3 untersucht sowie zusätzlich für die Aorta der oxidative Stressmarker eNOS.

Unsere Untersuchungen belegen bei Urämie eine additive durch GDP induzierte renale als auch kardiovaskuläre Schädigung. Dies wurde einerseits durch eine GDP induzierte additive Albuminurie nach 28-tägiger Behandlung mit GDP deutlich. Andererseits ergaben sich erhöhte Werte für die oxidativen Stressmarker AOPP und ROS im Serum. Immunhistochemisch zeigten sich bei den durchgeführten Färbungen dazu ergänzend eine signifikant erhöhte Expression der Oxidations-, Inflammations-, Fibrose- und Apoptosemarker im renalen Restgewebe der SNX+GDP Gruppe sowie kardiovaskulär für Herz und Aorta ebenfalls erhöhte Expressionen der Oxidations- und Apoptosemarker. Die morphometrisch nachgewiesene vermehrte Glomerulosklerose und Schädigung des Tubulointerstitium geht mit einer gesteigerten Apoptose des Tubulointerstitiums und der Podozyten einher. Diese Podozytenschädigung konnte durch eine reduzierte Expression des Schlitzmembranproteins Nephritin zusätzlich verifiziert werden. Oxidativer Stress, in Folge einer AGE/ RAGE Interaktion und konsekutiver Signalkaskadenaktivierung spielen hier eine wichtige Rolle. Dies trifft auch für die kardiovaskuläre Schädigung zu. Hier wurde ebenfalls eine gesteigerte Expression der Oxidations-, Inflammations- und Apoptosemarker beobachtet. Insbesondere die gesteigerte Expression von CML in der Intima und der Media der Aorta deuten darauf hin, dass AGE per Endozytose in das Endothel und darüber hinaus per Transzytose in die Media gelangt. Neben diesen Ergebnissen lassen die AGE-spezifischen Fluoreszenzen vermuten, dass GDPs in der Langzeitwirkung oxidativen Stress auf Proteine induzieren und damit zu einer additiven renalen und kardiovaskulären Schädigung im urämischen Rattenmodell führen.

Unsere Untersuchungen, die eine additive systemische Toxizität von GDPs belegen, lassen vermuten, dass sowohl die Schädigung der für Peritonealdialysepatienten

wichtigen Restnierenfunktion als auch ein Anstieg des kardiovaskulären Risikos durch erhöhte Konzentrationen von GDPs verursacht sein könnten. Es kann abschließend resümiert werden, dass Peritonealdialyselösungen mit hohen GDP Konzentrationen zum Einen eine bislang nicht bekannte und unterschätzte toxische Wirkung auf die Restfunktion der Niere haben und zum Anderen für kardiovaskuläre Schädigung verantwortlich sein können. Innovativen Strategien, mit dem Focus auf Verminderung der durch GDP induzierten Toxizität, kommen daher in Zukunft bei Peritonealdialyse eine besondere Bedeutung in Klinik und Forschung zu.