

Julia Silvia Schäfer
Dr. med.

Expression und Regulation von Aquaporinen in peritonealen Mesothelzellen

Promotionsfach: Kinderheilkunde
Doktorvater: Prof. Dr. med. Claus P. Schmitt

In vorliegender Arbeit wurde die Expression von Aquaporinen (AQP) in primären humanen peritonealen Mesothelzellen (HPMC) und immortalisierten Mesothelzellen (Met5A) in Abhängigkeit von verschiedenen Peritonealdialyselösungen untersucht. Die Expression wurde auf mRNA-Ebene mithilfe der PCR und auf Proteinebene mithilfe von Western Blot und Immunzytochemie untersucht.

HPMC und Met5A exprimieren AQP1, AQP3, AQP9 und AQP11. AQP1 und AQP3 werden in HPMC und Met5A durch eine bikarbonatbasierte Doppelkammerlösung (B-PDL) sowohl im Vergleich zu einer laktatbasierten Doppelkammerlösung (L-PDL) als auch im Vergleich zu einer konventionellen Einkammerlösung (C-PDL) sowie im Vergleich zu Medium deutlich zeit- und konzentrationsabhängig hochreguliert. Dieser Hochregulationseffekt zeigt sich konsistent auf mRNA- und Proteinebene. Die AQP9-Expression nimmt unter B-PDL auf mRNA-Ebene in HPMC zeit- und konzentrationsabhängig ab, AQP11 wird unter B-PDL auf mRNA-Ebene in HPMC zeit- und konzentrationsabhängig hochreguliert.

Osmotisch wirksame Substanzen wie Glukose und Mannitol bewirken in Met5A und HPMC eine Zunahme der AQP1- und AQP3- Expression.

Des Weiteren zeigt sich eine Regulation der AQP1- und AQP3- Expression durch das Gleichgewicht aus CO₂-Gehalt im Inkubator, pH-Wert und Bikarbonatgehalt der Lösungen. Bei höherem pH-Wert von B-PDL und Medium nimmt die Expression von AQP1 und AQP3 zu. Der Anstieg des CO₂-Gehaltes im Inkubator und der damit einhergehende Abfall des pH-Wertes supprimieren die AQP1- und AQP3-Expression sowohl in mit Medium als auch in mit B-PDL inkubierten HPMC und Met5A. Bei Erhöhung des Bikarbonatgehaltes und somit des pH-Wertes von Medium und B-PDL nimmt die AQP1- und AQP3-Expression zu. Die Variation des pH-Wertes von L-PDL hat keine eindeutige Regulation der AQP-Expression zur Folge. Die Zugabe von Bikarbonat zu L-PDL führt zu einem Anstieg des pH-Wertes sowie zu einem Anstieg der AQP1- und AQP3-Expression in HPMC und Met5A. Diese Zunahme entspricht bei vergleichbarer Bikarbonatkonzentration der unter B-PDL erreichten Hochregulation.

Die Glukosedeградationsprodukte 3,4-DGE und Glyoxal regulieren die AQP1- und AQP3-Expression in HPMC und Met5A nicht signifikant. Auch die CA125-Expression der Zellen bleibt dabei unbeeinträchtigt, d.h. direkte toxische Effekte liegen nicht vor.

Inkubation mit B-PDL führt intrazellulär im Vergleich zu Medium und L-PDL zu einer deutlichen Zunahme der ERK- Phosphorylierung.

Die funktionelle Bedeutung der Hochregulation von AQP1 und AQP3 durch B-PDL wurde anhand der Migrationsfähigkeit der Mesothelzellen untersucht. Bei Inkubation mit B-PDL

migrieren signifikant mehr Zellen als bei Inkubation mit Medium und L-PDL. L-PDL führt dahingegen zu einer geringeren zellulären Migrationskapazität im Vergleich zu Medium.

Wir konnten somit zeigen, dass die Wahl des Puffersystems der biokompatiblen Peritonealdialyselösungen die Expression und Funktion eines Schlüsselproteins der Peritonealmembran substantiell beeinflusst. B-PDL führt zu einer Hochregulation der AQP1- und AQP3-Expression und zu einer verbesserten Zellmigrationskapazität nicht nur gegenüber Medium, sondern auch gegenüber L-PDL.

Die differentielle Regulation von AQP1 und AQP3 in peritonealen Mesothelzellen und die unterschiedliche Migrationsfähigkeit der Zellen in Abhängigkeit von der umgebenden Lösung könnte für die peritoneale Homöostase von Peritonealdialysepatienten von zentraler Bedeutung sein. Die Hochregulation von AQP1 könnte möglicherweise zu einer verbesserten Ultrafiltrationsleistung unter B-PDL führen, die Zunahme der zellulären Migrationsfähigkeit unter B-PDL im Vergleich zu L-PDL zu einer besseren peritonealen Wundheilung und damit Aufrechterhaltung der peritonealen Integrität und Funktionalität. Die Wahl des Puffersystems der biokompatiblen Dialyselösungen könnte somit von wesentlicher Bedeutung für die Langzeitfunktion des Peritoneums sein. Entsprechende tierexperimentelle und klinische Studien mit Peritonealdialysepatienten sind erforderlich.