

Kim Mareike Völlmer
Dr. med.

Der Beitrag zellulärer Seneszenz zur beschleunigten Atherogenese im Rahmen von Nierenfunktionseinschränkungen und chronischer Niereninsuffizienz – humane und experimentelle Studien

Promotionsfach: Pathologie

Doktormutter: Prof. Dr. Marie-Luise Gross-Weißmann

Seneszenz spielt eine aktive Rolle im Alterungsprozess und der Pathogenese der CVD (Cardiovascular Disease) (Campisi and d'Adda di Fagagna 2007; Cichowski and Hahn 2008; Jeyapalan and Sedivy 2008). Dementsprechend sind seneszente Endothelzellen und seneszente VSMCs vorherrschend in humanen atherosklerotischen Plaques, und die Seneszenz wird v.a. durch oxydativ induzierte DNA-Schäden, eine massive Telomerverkürzung oder durch die Hemmung der Telomeraseaktivität ausgelöst (Samani, Boulby et al. 2001; Matthews, Gorenne et al. 2006). Ebenso konnte man nachweisen, dass diese vaskuläre Seneszenz mit einer Steigerung der Expression von p16 und p21 einhergeht (Matthews, Gorenne et al. 2006; Voghel, Thorin-Trescases et al. 2007; Andreassi 2008; Voghel, Thorin-Trescases et al. 2010).

Darüber hinaus ist auch bekannt, dass Patienten mit CKD eine vorzeitige und massiv gesteigerte Rate an Atherosklerose und damit verbundenen kardiovaskulären Ereignissen aufweisen (Foley, Parfrey et al. 1998; Levey, Beto et al. 1998; USRDS 2009; USRDS 2011). Standard-Risikofaktoren erklären das erhöhte Risiko der CKD-Patienten für CVD jedoch nicht ausreichend (Berl 2006), daher nimmt man an, dass vor allem die nicht-traditionellen Risikofaktoren, wie z.B. oxydativer Stress, der einhergehend mit der Progression der CKD zunimmt (Rinat, Becker-Cohen et al. 2010), für diesen Prozess verantwortlich gemacht werden können. Nachgewiesenermaßen fördert der chronische Einfluss von Risikofaktoren für CVD, so z.B. auch oxydativer Stress, die Entwicklung einer endothelialen Seneszenz, und das Endothel weist ein höheres biologisches Alter auf, als das gesunder Personen (Voghel, Thorin-Trescases et al. 2007; Voghel, Thorin-Trescases et al. 2010).

Somit entstand die Theorie, dass Patienten mit CKD ein gesteigertes Maß an seneszenten vaskulären Zellen aufweisen, die z.B. p16, p21 oder p53 exprimieren. Aufgrund ihrer veränderten Eigenschaften im Zuge der Seneszenz und den dadurch eingeschränkten Reparaturmechanismen können sie die Atherosklerose nur noch unzureichend bekämpfen und bedingen daher das vorzeitige Auftreten der normalerweise altersassoziierten Atherosklerose.

Um diese Hypothese zu überprüfen, analysierten wir die vaskulären Proben aus Aorten und Koronarien von CKD-Patienten vs. altersgleichen Kontrollpersonen, die durch Autopsie gewonnen wurden, auf die Expression von p16, p21 und p53.

Der Seneszenzmarker p16 war in den Aorten der CKD-Patienten vor allem in der Media-Schicht vermehrt exprimiert, in den Koronarien hauptsächlich in der Media-Schicht und plaquenahen Bereichen nachweisbar.

In Bezug auf p21 zeigte sich in den Koronarien vor allem in der Intima sowie in plaquenahen Bereichen eine signifikant höhere Expression.

Innerhalb der Aorta war p21 vor allem in der Intima und plaquenahen Bereichen exprimiert. Es scheint so, als ob für die Ausbildung der Seneszenz und Atherosklerose vor allem der Seneszenzweg über oxydativen Stress und p16 im Bereich der Media im Vordergrund steht, und in der Intima der Weg der replikativen Seneszenz über p21 überwiegt.

Für den Marker p53 konnten keine signifikanten Unterschiede verzeichnet werden.

Um die kardiovaskulären Begebenheiten unter Nierenfunktionsstörungen besser untersuchen zu können, führten wir eine tierexperimentelle Studie durch, in der wir die kardiovaskulären Veränderungen und die Expression der Seneszenzmarker nachvollziehen wollten. Ziel war dabei auch herauszufinden, ob dieses Tiermodell geeignet ist, um z.B. potentielle Therapien der vorzeitigen Seneszenz erforschen zu können. Hierzu untersuchten wir je 40 ApoE-Knockout-Mäuse nach Uninephrektomie (UNX) und 40 nach Schein-Operation (Sham) zu zwei verschiedenen Zeitpunkten und erhielten somit vier Gruppen: Sham 16 Wochen, UNX 16 Wochen, Sham 32 Wochen und UNX 32 Wochen. Die Gruppe UNX 32 Wochen zeigte hier bei allen morphologischen Untersuchungen eine signifikante Zunahme der Wanddicke, des Quotienten aus Wanddicke/Lumendurchmesser, der Fläche der Plaques, dem Quotienten aus Plaquefläche/Lumendurchmesser und der maximalen Plaqueausdehnung ins Lumen hinein.

Im kardialen Bereich zeigte sich bei UNX 32 Wochen eine deutliche Abnahme der Volumendichte der Kapillaren und der Längendichte der Kapillaren. Darüber hinaus wies die UNX-Gruppe nach 32 Wochen auch eine massive Zunahme der interstitiellen Fasern und Fibrocyten in Form einer gesteigerten Fibrose auf, die in der Sirius Rot-Färbung des Myokards erneut bestätigt werden konnte.

Immunhistochemisch ergab sich innerhalb der murinen Aorten unter der eingeschränkten Nierenfunktion eine Zunahme der Expression von Kollagen I vor allem in plaquenahen Bereichen. Fibronectin, das auch im Rahmen von Seneszenz vermehrt exprimiert wird, wurde in den murinen Aorten in allen Wandschichten vermehrt nachgewiesen, vor allem aber auch in plaquenahen Bereichen.

Die Zunahme von TGF- β 1 erfolgte hauptsächlich in der Media-Schicht der Aorten.

In Bezug auf die PCR der Seneszenzmarker konnte im murinen Tiermodell für p16 bei den Tieren der Gruppe UNX 32 Wochen eine tendenziell höhere Expression gefunden werden, für p21 sogar eine signifikante Zunahme der Expression und eine Abnahme der Telomerase-Aktivität.

Insgesamt sprechen die humanen und murinen Ergebnisse dafür, dass das Ausmaß der Seneszenz durch eine eingeschränkte Nierenfunktion im vaskulären Bereich frühzeitig

gesteigert wird. Auch im kardialen Bereich zeigen sich im murinen Versuch verfrüht altersassoziierte Pathologien. Somit ist es denkbar, dass Seneszenz durch die CKD-Situation frühzeitig eingeleitet wird und daher altersassoziierte Pathologien im kardiovaskulären Bereich, wie z.B. Atherosklerose oder kardiovaskuläre Zwischenfälle, vorzeitig auftreten. Hieraus ergibt sich die dringende Indikation zu weiterführenden prospektiv longitudinalen Beobachtungsstudien und experimentellen Interventionsstudien, die den weiteren Zusammenhang zwischen der gesteigerten CVD im Rahmen der CKD und oxydativem Stress bzw. Seneszenz klären, um somit neue Therapieansätze für diese kardiovaskuläre Hochrisikogruppe oder auch für Atherosklerose allgemein zu finden.