

Sandra Holoch

Dr. med.

## **Stellenwert der Glyoxalase I in der Peritonealdialyse – Untersuchungen am Glyoxalase I knock-down Mausmodell**

Promotionsfach: Nephrologie

Doktorvater: Prof. Dr. med. V. Schwenger

Bei der Peritonealdialyse (PD) handelt es sich um ein der Hämodialyse ebenbürtiges, jedoch intrakorporales Nierenersatzverfahren. Hierbei fungiert die Peritonealmembran als physiologische Dialysemembran. Aufgrund von morphologischen und funktionellen Veränderungen des Peritoneums mit Abnahme der Filterfunktion ist diese Behandlungsmethode durchschnittlich auf einen Zeitraum von 5 bis 7 Jahren begrenzt. Während der Hitzesterilisation konventioneller glukosehaltiger Dialysatlösungen entstehen Glukosedegradationsprodukte (GDP). Den GDP wird eine direkte toxische, aber auch eine indirekt toxische Wirkung über die Bildung von „*advanced glycation endproducts*“ (AGE) zugeschrieben. AGE kumulieren im Peritoneum und schädigen über eine Interaktion mit ihrem Rezeptor RAGE das Peritoneum. Das Glutathion-abhängige Glyoxalase-System konnte als einer der wichtigsten entgiftenden Stoffwechselwege von GDP, insbesondere von Methylglyoxal (MG) und Glyoxal (GO), identifiziert werden. Das Ziel dieser Arbeit war es, den Stellenwert der Glyoxalase I als Teil eines detoxifizierenden Enzymsystems in Bezug auf die Reduktion der durch Dialysatlösungen verursachten peritonealen Schädigungen im Mausmodell zu untersuchen.

Hierzu wurde die Wirkung verschiedener Dialysatlösungen auf Glyoxalase I-exprimierende Wildtyp-Mäuse (WT, C57BL/6, Anzahl = 38) und transgene Glyoxalase I-supprimierte Mäuse (GLO, C57BL/6, Anzahl = 38) untersucht. Bei den transgenen Mäusen handelt es sich um Tiere mit einer 50 - 65 %-igen Suppression von Glyoxalase I. Glyoxalase I knock-out Mäuse sind dagegen nicht überlebensfähig. Den Tieren wurde zweimal täglich im Abstand von 12 Stunden über einen Zeitraum von 12 Wochen 1 ml einer GDP niedrig- (low GDP) oder hochkonzentrierten (high GDP) Dialysatlösung mit 2,5 %-igem Glukoseanteil oder einer glukosefreien (Kip: Kontrolle intraperitoneale Injektion) Lösung intraperitoneal injiziert. Die Kontrollgruppe (K) diente als unbehandelte Vergleichsgruppe. Transgene und Wildtyp-Mäuse

wurden jeweils in vier Gruppen eingeteilt [GLO- bzw. WT-low GDP, GLO- bzw. WT-high GDP, GLO- bzw. WT-Kip und GLO- bzw. WT-K]. Das im Finalversuch entnommene Peritoneum wurde immunhistologisch untersucht. Des Weiteren wurde ein peritonealer Äquilibrationstest (PET) als funktioneller Test der peritonealen Transporteigenschaft durchgeführt. Aus gesammelten Urinproben wurden Albumin-ELISAs durchgeführt, um eine additive glomeruläre Schädigung anzuzeigen.

Tiere, die über den Behandlungszeitraum von 12 Wochen mit einem Dialysat behandelt wurden, wiesen signifikant mehr peritoneale Schäden auf als die entsprechenden Kontrollgruppen. Dies war ein konzentrationsabhängiger Effekt. So wiesen die mit einer GDP hochkonzentrierten Dialysatlösung behandelten Tiere eine ausgeprägtere peritoneale Schädigung auf, als die mit einer GDP niedrigkonzentrierten Dialysatlösung behandelten Tiere. Die ausgeprägtesten peritonealen Schädigungszeichen entwickelten sich bei den Glyoxalase I-supprimierten Tieren, die mit einer Dialysatlösung mit hoher GDP-Konzentration behandelt wurden. Bei diesen war die Kumulation von GDP und AGE im Peritoneum besonders ausgeprägt, ebenso die peritoneale Fibrose, die Neoangiogenese, der Marker der Inflammation und die Epitheliale-Mesenchymale-Transdifferenzierung (EMT). Diese Veränderungen waren zusätzlich mit einer Verschlechterung der peritonealen Transporteigenschaft im PET assoziiert. MG, ein reaktiver Metabolit und ein Hauptsubstrat der Glyoxalase I, induziert über die Bildung von AGE eine Hochregulation von Wachstumsfaktoren, wie „*vascular endothelial growth factor*“ (VEGF) oder „*transforming growth factor- $\beta_1$* “ (TGF- $\beta_1$ ), und Zytokinen, wie Interleukin 6 (IL-6). Diese Faktoren wiederum resultieren unter anderem in einer interstitiellen Fibrose, Neoangiogenese und Inflammation und führen somit zu einer funktionellen und morphologischen Veränderung der peritonealen Membran, welche die PD zeitlich limitiert. Die Glyoxalase I kann diese Veränderungen durch Detoxifikation von GDP und konsekutiv eine Reduktion der Bildung von AGE verringern. Somit ist der signifikante Anstieg der strukturellen und funktionellen peritonealen Schäden in den Glyoxalase I knock-down Mäusen durch die mangelnde Aktivität der Glyoxalase I zu erklären,

Aufgrund unserer Ergebnisse schlussfolgern wir, dass die Anwesenheit einer funktionstüchtigen Glyoxalase I eine wichtige Voraussetzung für eine effektive Detoxifikation von GDP ist.

Um eine Steigerung dieser detoxifizierenden Wirkung der Glyoxalase I zu erreichen und folglich die morphologischen und strukturellen Schäden von GDP und AGE auf das

Peritoneum zu reduzieren, könnte ein therapeutischer Ansatz die Substitution des für die Glyoxalase I notwendigen Kofaktors Glutathion sein. Auch auf gentherapeutischer oder pharmakologischer Ebene könnte man durch Hochregulation der Glyoxalase I eine verstärkte Detoxifikation der GDP erzielen und somit die peritonealen und systemischen Schäden durch GDP und AGE reduzieren.