

Maria Bartosova

Dr. sc. hum.

The Peritoneum in Health, CKD5 and during Peritoneal Dialysis and underlying Molecular Mechanisms of Transformation

Fach/Einrichtung: Kinderheilkunde

Doktorvater: Prof. Dr. med. Claus Peter Schmitt

Neben der Hämodialyse und Nierentransplantation stellt insbesondere bei Kindern die Peritonealdialyse (PD) das Nierenersatzverfahren der Wahl dar. Die PD nutzt die semipermeablen Eigenschaften des Peritoneums als Dialysemembran. Allerdings führt die unphysiologische Zusammensetzung von Dialyselösungen zum Umbau des Peritoneums, der die Effizienz und dauerhafte Anwendung der PD erheblich einschränkt.

Im Rahmen dieser Doktorarbeit wurde erstmals das Peritoneum diesbezüglich gesunder Spender im Alter von 0 - 60 Jahren histomorphometrisch quantifiziert und altersabhängige Normkurven etabliert. Submesotheliale Blut- und Lymphgefäße sowie Nerven finden sich überwiegend in drei distinkten Schichten. Die submesotheliale Dicke, die Blut- und Lymphgefäßdichte variieren signifikant mit dem Alter. Die Gefäßdichte ist bei Säuglingen am höchsten, im Schulalter am geringsten. Zelluläre Infiltration, VEGF-A und pSMAD2/3 Abundanz sind gering, EMT ist nicht nachweisbar. Diese Befunde dienen als Grundlage für die Analyse von pathologischen Zuständen des Peritoneums.

Im zweiten Teil der Promotion wurden omentale und parietale Gewebeproben von Patienten mit chronischer Niereninsuffizienz Stadium 5 (CKD5) bzw. an der PD mit pH neutralen, Glucose-Abbauprodukt (GDP)-armen, sowie sauren, GDP-reichen Lösungen untersucht. Bereits bei CKD5 finden sich im parietalen Peritoneum bei CKD5 vermehrt Entzündungszellen, CD90 positive Fibroblasten und Fibrin sowie einzelne Cytokeratin- und FSP- positive EMT Zellen, die Kapillardichte ist erhöht. Auch signifikante Gefäßlumen Einengung ist nachweisbar, die endotheliale Telomerlänge reduziert. Im Omentum ist bei CKD5 die Blutgefäßdichte um 30 % reduziert, die Angpt-2 Abundanz erniedrigt, die von Angp-1, VEGF-A, VEGF-R, Caspase 3 und von Autophagiemarker LC3A/B jedoch nicht verändert.

Ein starker Umbau des parietalen Peritoneums findet bei PD Patienten statt. Bereits nach vier Monaten PD mit GDP armen Lösungen sind die Blutgefäße und die endotheliale

Austauschfläche im parietalen Peritoneums verdoppelt, die Zellinfiltration, Fibroblasten- und EMT Zellen sowie VEGF-A erhöht, die Vaskulopathie verstärkt. Der fibrotische Umbau verläuft langsamer. TGF- β induzierte SMAD Phosphorylierung ist erst nach 1 Jahr PD vermehrt nachweisbar. Bei Anwendung GDP reicher PD-Lösungen sind die submesotheliale Fibrose, die diffuse Podoplaninpositivität und die Vaskulopathie noch stärker ausgeprägt. Uni- und multivariaten Analysen zu Folge wird der peritoneale Stofftransport durch die submesotheliale Gefäßdichte bestimmt. Die rasche Zunahme der peritonealen Gefäßdichte mit GDP armen PD-Lösungen ist in Übereinstimmung mit klinischen Studien, die im ersten Jahr einen entsprechend rascheren Stofftransport und eine geringere Ultrafiltrationsleistung zeigen. Im omentalen Peritoneum sind die Umbauprozesse geringer, die Gefäßdichte korreliert jedoch mit den Befunden im parietalen Peritoneum bei CKD5 und PD Patienten.

Die Lebenserwartung von PD Patienten ist erheblich eingeschränkt, die Hauptursache sind kardiovaskuläre Erkrankungen. Mittels Transkriptom - und Proteomanalysen mikrodissasierter Arteriolen konnte erstmals vaskuläre Komplementaktivierung bei PD Patienten nachgewiesen und in einer unabhängigen Kohorte bestätigt werden. Bei direkter Dialysatexposition und bei Anwendung GDP reicherer PD-Lösungen ist die Komplementaktivierung stärker. Sie korreliert mit der Glucose-Exposition, der pSMAD2/3 Abundanz und der Vaskulopathie, jedoch nicht mit VEGF-A.

Transcriptomics peritonealer Mesothelzellen und nachfolgende Quantifizierung zeigen den suppressiven Effekt von PD-Lösungen hinsichtlich Zellzyklus und Vitalität, sowie die untergeordnete Rolle von nicht durch EMT modifizierter Mesothelzellen für die Angiogenese. Ein bisher wenig beachteter, durch PD-Lösungen modifizierter und durch Seneszenz erheblich verstärkter, Schutzmechanismus stellt die mesotheliale Phospholipidsekretion dar.

Auch die Puffersubstanz von PD-Lösungen beeinflusst die peritoneale Angiogenese. Die Angpt-1 / Angpt-2-Ratio wird in vitro durch Bikarbonathaltige Lösungen erhöht, d.h. Gefäßmaturation verstärkt, der TEK Rezeptor in die Endothelzellmembran transloziert, Angiogenese verstärkt. Ex vivo ist im Peritoneum von mit Bikarbonatlösungen behandelten Kindern endotheliales Angp-1 sowie der Gefäßquerschnitt, ein Marker für Maturation, höher als bei entsprechender Laktat basierter PD. Diese Befunde erklären vermutlich den besseren Erhalt der Ultrafiltration, der in einer randomisierten Studie mit GDP armer PD-Lösung mit Bikarbonatpuffer im Vergleich zur entsprechenden Laktathaltigen Lösung gezeigt wurde.

Als neue Effektoren bzw. Biomarker der peritonealen Fibrose und des peritonealen Stofftransportes konnten in Kooperation mit einer AG in Cardiff in vitro, in PD Effluaten und

peritonealen Geweben miR-21 und in Kooperation mit einer AG in Berlin die CD90 positive Fibroblastensubpopulation identifiziert werden.

Insgesamt konnten im Rahmen dieser Dissertation somit eine Vielzahl neuer Erkenntnisse zum Aufbau des gesunden Peritoneums, dessen Umbau bei CKD5 und durch PD gewonnen werden. Die Rolle vorbeschriebener molekularer Mechanismen wurde dargestellt, aber auch neue Pathomechanismen und potentielle Biomarker des peritonealen Umbaus und der Funktion identifiziert. Aus diesen ergeben sich zahlreiche neue Fragestellungen und potentielle Therapieansätze, die in experimentellen Interventionsstudien überprüft und mittelfristig in klinischen Studien validiert werden sollten, um die nach wie vor unbefriedigende Prognose von Kindern und Erwachsenen an der chronischen PD verbessern zu können.