

Sebastian Felix Anton Pichl

Dr. med.

Regulation der Synthese und Sekretion oberflächenaktiver Phospholipide humaner Peritonealmesothelzellen durch Peritonealdialyselösungen

Fach: Kinderheilkunde

Doktorvater: Prof. Dr. med. Claus Peter Schmitt

Bei der Peritonealdialyse (PD) werden die semipermeablen Eigenschaften der peritonealen Membran für Toxin und Wasserentzug genutzt. Die dafür benötigten Peritonealdialyselösungen weisen jedoch eine sehr unphysiologische Zusammensetzung auf und führen, durch Alteration des Peritoneums, im Verlauf von Jahren regelhaft zu einem Therapieversagen. Daher ist die Verbesserung der Biokompatibilität von PD-Lösungen von großer klinischer Bedeutung. Phospholipide (PL) schützen das Peritoneum vor Friktionen und Adhäsionen und verbessern die peritoneale Transportfunktion. Ihre Regulation durch PD ist bisher weitgehend unbekannt gewesen.

In der vorliegenden Arbeit wurde deshalb der Einfluss der verschiedenen, aktuell in der klinischen Anwendung befindlichen Dialyselösungen sowie ihrer Bestandteile auf die Produktion oberflächenaktiver Phospholipide (PL) in humanen peritonealen Mesothelzellen (HPMC) untersucht. Zusätzlich wurde der Einfluss von Dexamethason, Glutamin sowie die Rolle der intrazellulären Messenger Proteinkinase A und C untersucht. HPMC wurden hierzu aus Omenten nierengesunder, erwachsener Spender isoliert und kultiviert. Die Expression der drei das PL Phosphatidylcholin synthetisierenden Enzyme des *Kennedy-Pathways* wurde mittels RT-PCR quantifiziert, PL massenspektrometrisch bestimmt.

Die Zusammensetzung von in HPMC gespeicherten und sezernierten PL unterscheidet sich deutlich von der aus der Lunge bekannten Zusammensetzung. DPPC ist nur in geringen Konzentrationen vorhanden, ungesättigte PL wie PMPC überwiegen in HPMC. Neutralen pH aufweisende, Bikarbonat-haltige PDL führen anders als Icodextrin und saure, laktathaltige PD Lösungen mit hohem Gehalt an Glukoseabbauprodukten (GDP) nicht zu einer Suppression der PL-Sekretion von HPMC. Eine entsprechende Validierung in Effluaten von erwachsenen PD Patienten gelang nicht, allerdings erfolgte diese auch nicht im Rahmen einer prospektiven Studie, sondern aus Proben der Global PD Biobank. Keiner der Patienten wurde mit Bikarbonat-haltiger pH neutraler Lösung dialysiert. In der Analyse einzelner Komponenten der PD-Lösungen zeigte sich bei hohen Glukosekonzentrationen eine Reduktion der PL-Sekretion, während hohe,

Mannitol vermittelte Osmolarität die PL-Sekretion erhöht. Ein unphysiologisch hoher bzw. niedriger pH-Wert vermindert die intrazellulären PL-Speicherung. Weder Calcium, das GDP 3,4-DGE noch Glutamin oder Dexamethason führen zu einer konsistenten Veränderung der PL-Homöostase in HPMC. Inhibition der Proteinkinase A hemmt die PL-Sekretion, Inhibition der PKC erhöht die Expression von Enzymen des Kennedy-Pathways, ohne jedoch die PL-Speicherung und Sekretion zu beeinflussen.

In seneszenten HPMC sind sowohl die Enzyme des *Kennedy-Pathways* vermehrt exprimiert, als auch die PL-Speicherung und Sekretion von PL stark erhöht. Elektronenmikroskopisch konnten mehr Lamellarkörperchen - die Speicherorte für PL - als bei jungen HPMC nachgewiesen werden. Dies legt, neben den vorbeschriebenen negativen Folgen der Seneszenz von Mesothelzellen für die peritoneale Integrität, einen protektiven Einfluss der Zellseneszenz von HPMC auf die peritoneale Membran nahe.

Insgesamt zeigt sich somit *in vitro* eine Hemmung der PL-Sekretion durch einen Teil der aktuell eingesetzten PD-Lösungen. Dabei sind einzelne Komponenten der Lösungen unterschiedlich bedeutsam. Insbesondere aber zeigt sich in seneszenten Mesothelzellen eine starke Aktivierung der Synthese, sowie der Speicherung und der Sekretion von PL. *In vivo* Untersuchungen müssen nun die klinische Bedeutung dieser *in vitro* erhobenen Befunde validieren. Anzustreben wären unter anderem Vergleiche der PL-Konzentrationen in Effluaten bei Verwendung der unterschiedlichen PD-Lösungen unter Berücksichtigung der peritonealen Mesothelzellmasse und der peritonealen Dialysatexposition, außerdem die Auswirkung der zellulären Seneszenz. Gelingt es, die peritoneale PL-Sekretion bei chronischer Peritonealdialyse langfristig zu bewahren bzw. zu verbessern, könnten möglicherweise der peritoneale Umbau und Adhäsionen verhindert und die peritoneale Transportfunktion besser erhalten werden.