

- Zusammenfassung -

Conghui Zhang

Dr.med.

Molecular mechanisms of vascular transformation in children on peritoneal dialysis and after kidney transplantation

Fach/Einrichtung: Kinderheilkunde

Doktorvater: Prof. Dr. med. Claus Peter Schmitt

Patienten mit chronischer Niereninsuffizienz haben ein deutlich erhöhtes kardiovaskuläres Risiko, unter Peritonealdialyse (PD) steigt dieses noch erheblich an. PD Lösungen enthalten Glukose in weit supraphysiologischen Konzentrationen, um einen osmotischen Gradienten für den Entzug von Wasser und darin gelöster Toxine zu ermöglichen. Abhängig vom Herstellungsverfahren enthalten PD-Lösungen auch hohe Konzentrationen an Glukoseabbauprodukten (GDP), die rasch resorbiert werden. Ihre Bedeutung für die Vaskulopathie ist unklar. Nach Nierentransplantation (NTx) weisen Patienten anfänglich meist eine normale Nierenfunktion auf, die vaskuläre Prognose verbessert sich jedoch nur gering. Wenig untersucht ist auch, inwieweit die durch PD induzierte Schädigung der Peritonealmembran nach NTx reversibel ist. Die vorliegende Promotionsarbeit adressiert diese Fragen mithilfe pädiatrischer Gewebeproben und omental arteriolären Transkriptom- und Proteomanalysen.

Kinder, die mit GDP reichen PD Lösungen behandelt wurden, wiesen 3-fach höhere arterioläre Konzentrationen an Advanced Glycation Endproducts (AGE) auf als mit GDP armen Lösungen behandelte Kinder. Durch hohe GDP Exposition wurden arteriolär Gene der Zelltod-, Apoptose-Signalwege aktiviert, supprimierte Biofunktionen betrafen das Zellüberleben, die Zytoskelett-Organisation und die Immunantwort. Mit Gefäßerkrankungen assoziierte kanonische Signalwege, die sowohl auf mRNA als auch auf Proteinebene gleichsinnig reguliert waren, umfassen Zelltod, Apoptose, Zytoskelett-Organisation, Detoxifikation, Zell-Junctions-Signalwege und die Immunantwort. Diese Befunde wurden in gematchten, unabhängigen Patientenkohorten in parietal peritonealen Arteriolen validiert. Diese sind gegenüber PD Lösungen exponiert, d.h. neben GDP wirken auch hohe Glukosekonzentrationen. Im Vergleich zur GDP armen Lösung führte die Verwendung der GDP reichen Lösung zu einer signifikanten Einengung des Gefäßlumens. Die Intima, nicht aber die Mediadicke, war durch die hohe GDP Exposition erhöht, der arterioläre Gefäßumfang jedoch zwischen den Gruppen vergleichbar. In diesen Arteriolen korrelierte die GDP Exposition mit der arteriolären AGE Konzentration, die

AGE Rezeptor Abundanz korrelierte mit der AGE Deposition. Endothelial fand sich eine Zunahme von Caspase 3, p16 und pSMAD2/3 bei hoher GDP Exposition, anti-apoptotisch wirkendes Lamin A/C war vermindert. Absolut und relativ zur endothelialen Lumenzirkumferenz war bei hoher GDP Exposition die Zahl der Endothelzellen um 40 bzw. 23% reduziert und invers mit der GDP Exposition korreliert. Die parietal peritoneale Mikrogefäßdichte und die VEGF-A Abundanz waren bei mit GDP reichen Lösungen behandelten Kindern reduziert und invers mit der individuellen GDP Exposition korreliert. IL-17, ein Mediator peritonealer Angiogenese war reduziert. *In vitro* zeigte sich in humanen umbilikalen arteriellen Endothelzellen (HUAEC) eine durch GDP 3,4-DGE dosisabhängige Suppression von Lamin A/C, eine Hochregulation von pSMAD2/3 und eine Desintegration von ZO-1 in der Zellmembran. In Transwell-Studien fand sich eine dosisabhängige Abnahme der transendothelialen Resistenz und eine Zunahme der 4- und 10-kDa Dextran-Permeabilität.

Bei Zustand nach PD mit GDP armen Lösungen war bei Kindern 4-8 Wochen nach NTx auf Transkriptom- und Proteomebene die omental arterioläre Fettsäure Biosynthese im Vergleich zur PD und CKD5 hochreguliert. Bei PD waren im Vergleich zu CKD5 arterioläre Zellzyklusarrest- und Apoptose-Signalwege induziert und durch NTx nicht modifiziert. Muskelzellproliferation, Detoxifikation und Komplementaktivierung wurden jedoch durch NTx auf das Niveau von CKD5 reduziert. In unabhängigen, gematchten Patientenkohorten, bestätigte die Proteinquantifikation die spezifische Induktion der Fettsäuresynthese (FASN) nach NTx: die Fettsäuren-Deposition war in der arteriolären Media erhöht, nicht aber in der Intima. Des Weiteren war die Abundanz der Caspase 3, von p16 und pSMAD2/3 höher als bei Kindern an der PD. Die bei GDP armer PD vorhandene arterioläre Komplementaktivierung und Zunahme der Thrombospondin-1 Abundanz war nach NTx auf das Niveau von Kindern mit CKD5 reduziert. *In vitro* zeigt sich in HUAEC und glatten Gefäßmuskelzellen eine Zunahme der FASN durch Methylprednisolon und Tacrolimus, nicht jedoch durch Mycophenolatmofetil. Parietal peritoneal war die durch GDP arme PD induzierte Hypervaskularisierung 4-8 Wochen nach NTx auf CKD5 Niveau reduziert, die Zahl der submesothelialen, CD45 positiven Leukozyten sank ebenfalls und war in multivariablen Analysen unabhängig mit der peritonealen Mikrogefäßdichte korreliert. Proangiogenetisches HIF-1A und die Angiopoietin 1/2 Ratio waren nach NTx reduziert. Die Abundanz der profibrotischen Fibrin-Ablagerungen, sowie ASMA und EMT Zellen waren jedoch arteriolär als auch submesothelial unverändert hoch.

Die vorliegenden Befunde zeigen eine fundamentale Rolle von GDP bei der PD assoziierten Gefäßschädigung. Die PD abhängige systemische GDP Exposition führt zu endothelialer AGE Deposition, Endothelzell-Dysfunktion und Apoptose. Diese Schädigungsmechanismen sollten in zukünftigen Studien adressiert werden. Wenige Wochen nach NTx wird die arterioläre FASN signifikant induziert und die arterioläre Fettsäuredeposition nimmt zu. Dies stellt einen neuen Pathomechanismus der Gefäßschädigung nach NTx dar, der weiter intensiv untersucht und potentielle Interventionen analysiert werden sollten. Im parietalen Peritoneum normalisiert sich die Mikrogefäßdichte nach NTx rasch, was vermutlich zu einer Verbesserung der peritonealen Ultrafiltrationskapazitäten führt; die nach NTx persistierende profibrotische Aktivität ist allerdings bedenklich, zum einen hinsichtlich der Wiederaufnahme der PD nach Transplantatversagen als auch bezüglich der Entwicklung einer enkapsulierenden peritonealen Sklerose.