Aus der Klinik für Nephrologie
Moorenstr. 5
40225 Düsseldorf

Direktor: Univ.-Prof. Dr. med. Rump

Veränderungen der peritonealen Morphologie bei Peritonealdialyse unter Betrachtung peritonealer Funktionsparameter sowie klinischer und dialysatspezifischer Einflussgrößen

Dissertation

zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin

Der Medizinischen Fakultät der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

vorgelegt von

Christoph Rzeszut

2008

Als Inauguraldissertation gedruckt mit Genehmigung der
Medizinischen Fakultät der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

gez.: Univ.-Prof. Dr. med. Joachim Windolf
Dekan
Referent: PD Dr. med. Andreas Fußhöller
Korreferent: Univ.-Prof. Dr. med. L. Christian Rump

1. Einleitung ... 4
1.1. Ätiologie und epidemiologische Grundlagen der Niereninsuffizienz ... 4
1.2. Die Peritonealdialyse als Nierenersatzverfahren ... 7
1.3. Aufbau des parietalen Peritoneums - histologische Besonderheiten ... 13
1.4. Morphologische Veränderungen unter Peritonealdialyse ... 15
1.5. Fragestellungen ... 18
2. Material und Methoden ... 19
2.1. Präparation des parietalen Peritoneums und histopathologische Aufbereitung ... 19
2.2. Histologische Auswertung ... 22
2.2.1. Mesotheliale Zellschicht ... 22
2.2.2. Submesotheliale Fibrose ... 22
2.2.3. Gefäßparameter ... 23
2.3. Patientendaten ... 26
2.4. Potenziell einflussnehmende Faktoren auf die Morphologie des Peritoneums ... 29
2.5. Statistik ... 30
3. Ergebnisdarstellung ... 32
3.1. Morphologie ... 33
3.1.1. Mesotheliale Zellschicht ... 33
3.1.2. Submesotheliale Fibrose ... 36
3.1.3. Gefäßparameter ... 38
3.1.3.1. Beurteilung der perivaskulären Veränderungen ... 38
3.1.3.2. Relative Gefäßfläche (RGF) ... 40
3.1.3.3. Relative Gefäßanzahl pro Fläche (RGAF) ... 41
3.1.3.4. Relative Gefäßanzahl pro Länge der peritonealen Oberfläche (RGAL) ... 41
3.2. Einfluss der Dialysate auf die Morphologie des Peritoneums ... 43
3.3. Korrelationsanalyse ... 44
3.4. Einzelfalldarstellung ... 46
4. Diskussion ... 48
5. Zusammenfassung ... 66
6. Literaturverzeichnis ... 69
7. Anhang ... 76

1. Einleitung

1.1. Ätiologie und epidemiologische Grundlagen der Niereninsuffizienz

Bereits vor nahezu 2500 Jahren beschäftigten sich Mediziner mit der Physiologie und den Erkrankungen der Niere. Als „Vater der Nephrologie“ zu dieser Zeit zählt Hippokrates von Kos (Eknoyan 1988). Neben dem rein medizinischen Interesse an dem paarig angeordneten Organ fanden sich interessanterweise auch vielerlei mystische Assoziationen. So wurde im religiösen Kult der Antike die Niere als Sitz der Seele verstanden und dieser die Verleihung von Kraft zugeschrieben. Es sind im alten Testament sogar zahlreiche Passagen, bei denen die Niere im Einklang mit dem Herzen Erwähnung findet. Diese metaphorische Verschmelzung kann als Bildnis der gesamten Persönlichkeit des Menschen verstanden werden (Maio 1999). Lange hielt sich diese mystische Verschmelzung, die jedoch erstmals unter medizinischen Gesichtspunkten von Richard Bright („Vater der neuzeitlichen Nephrologie“, 1789 bis 1858) dargestellt wurde. Dieser beschrieb zum Beispiel bei Patienten mit chronischer Niereninsuffizienz eine Zunahme der linksventrikulären Hypertrophie und somit indirekt, auch wenn er zu dieser Zeit noch keinen Blutdruck messen konnte, den Zusammenhang zwischen Nierenerkrankungen und Bluthochdruck (Eknoyan 2004).
Heutzutage werden die Funktionen und Zusammenhänge zwischen den Nieren und anderen Organsystemen des menschlichen Körpers intensiv erforscht. Die Hauptaufgaben der retroperitoneal gelegenen, paarig angeordneten Organe liegen in der Produktion von Harn und Exkretion harnpflichtiger Substanzen, der Osmoregulation und in der Produktion renaler Hormone.
Fällt eine oder mehrere der oben genannten Funktionen aus, so mündet dies je nach Ausprägung in ein akutes oder chronisches Nierenversagen, deren Symptome im Folgenden beschrieben werden.

Beim chronischen Nierenversagen treten in der Regel zunächst Allgemeinsymptome wie Leistungsschwäche und Müdigkeit auf, welche zumeist nicht sofort einer Niereninsuffizienz zugeschrieben werden. Laborchemisch ergeben sich in diesem Zusammenhang häufig eine renale Anämie (normochrom, normozytär), eine urämische Blutungsneigung sowie Störungen des Wasser-, Elektrolyt- und Säure-Basen-Haushalts (z. B. Hyperkaliämie, renale metabolische Azidose). Des Weiteren entwickeln zahlreiche Patienten im Rahmen ihrer Niereninsuffizienz kardiovaskuläre Erkrankungen wie eine

Herzinsuffizienz, koronare Herzkrankheit, urämische Perikarditis und eine, wie bereits zuvor kurz erwähnt, renale Hypertonie. Interessanterweise ist auch das neuromuskuläre System im Rahmen einer Niereninsuffizienz betroffen. Die urämische Polyneuropathie (Myelinverlust und axonale Degeneration), die urämische Enzephalopathie mit Müdigkeit, Apathie sowie Ruhelosigkeit mit Tremor im Frühstadium und der Ausbildung generalisierter Krampfanfälle im Spätstadium sowie Myopathien und Muskelkrämpfe spiegeln den Befall des zentralen sowie peripheren Nervensystems wieder.
Ein wichtiger Aspekt im Rahmen des chronischen Nierenversagen ist der sekundäre renale Hyperparathyreoidismus und die renale Osteopathie, worunter im Allgemeinen die Ostitis fibrosa, die Osteomalazie (Low-Turnover-Osteopathie), die aplastische Knochenerkrankung (dead-bone disease) sowie gemischte Störungen zusammengefasst werden. Damit einhergehend sollten Gelenkerkrankungen, die zum Beispiel im Rahmen einer die Nieren und Gelenke schädigenden Grunderkrankung, durch Kristallablagerungen in den Gelenken oder durch die Entwicklung einer Amyloidose, nicht unerwähnt bleiben.

Im Gegensatz hierzu ist das akute Nierenversagen definiert als eine prinzipiell reversible, rasche Abnahme der Nierenfunktion über Stunden oder Tage. Einteilen lässt sich diese rasche Abnahme der Nierenfunktion in eine prärenale, eine intrarenale und eine postrenale Form. Der Verlauf eines akuten Nierenversagens kann in drei Phasen untergliedert werden:

1) Initialphase
2) Phase des manifesten Nierenversagens (oligurischer, nicht-oligurischer Verlauf)
3) Diuretische oder polyurische Phase

Die Komplikationen eines akuten Nierenversagens entsprechen im Wesentlichen denen der chronischen Niereninsuffizienz, welche bereits oben teilweise aufgeführt wurden (Kuhlmann et al. 2003).

Die klinische Entscheidung, ab wann ein Nierenersatzverfahren zum Einsatz kommen sollte, orientiert sich an der glomerulären Filtrationsrate (GFR). Dialysepflichtigkeit besteht etwa ab einer GFR < 10 ml/min und entsprechender Klinik. Weitere Indikationen zur Einleitung der Dauerdialyse bei chronischem Nierenversagen, welche heute noch als klinisch relevant anzusehen sind, fassten Samtleben und Blumenstein 1999 wie folgt zusammen:

- Urämische Symptome (Übelkeit, Brechreiz, Perikarditis, Polyneuropathie, Pruritus)
- Schwer einstellbare arterielle Hypertonie

- Unkontrollierbare Hyperkaliämie
- Schwere Hyperphosphatämie
- Überproportionale Anämie
- Schwere metabolische Azidose

Die Ursachen terminalen Nierenversagens sind mannigfaltig und können aus Abbildung 1.1 entnommen werden. Bei diesen Zahlen handelt es sich um Befragungen innerhalb deutscher Dialysezentren, wobei die Daten von etwa 58.503 Patienten ausgewertet werden konnten.

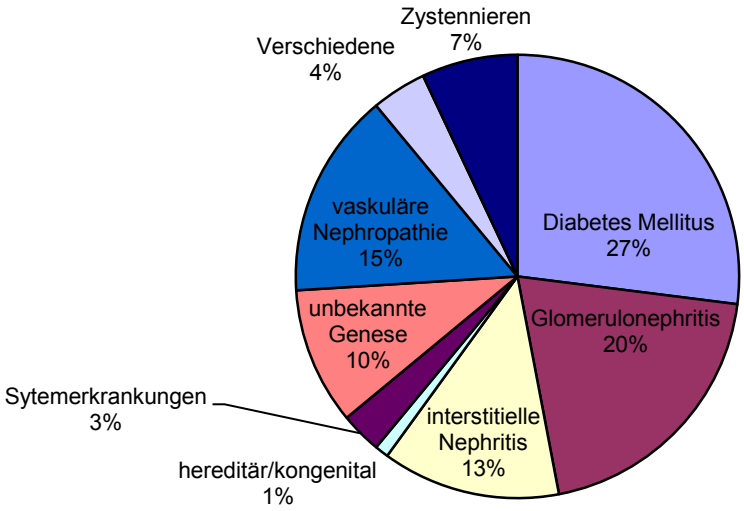


Abbildung 1.1: Diagnoseverteilung bei Dialysepatienten von 1996–2004 (Prävalenz). Quelle: Frei und Schober-Halstenberg 2005 in Quasi-Niere-Report 2004/2005.

Bemerkenswert ist, dass der Diabetes Mellitus, insbesondere der Diabetes Mellitus Typ II (Typ II: 23 %; Typ I: 4 %) im obigen Beobachtungszeitraum immer mehr an Bedeutung gewinnt und zudem kontinuierlich an erster Stelle der Ursachen für ein terminales Nierenversagen steht. Allerdings hat seit Mitte der 90er Jahre die vaskuläre Nephropathie, ebenfalls eine Erkrankung des Alters, rasant an Bedeutung zugenommen.

Betrachtet man die chronischen Nierenersatztherapien im internationalen Vergleich, so fällt auf, dass es im Bezug auf Prävalenz und Inzidenz länderspezifische Unterschiede gibt.

Des Weiteren ist aber ebenso auffällig, dass die Verteilung zwischen Hämodialyse und Peritonealdialyse (PD) in vielen Ländern sehr unterschiedlich ist. Die in Tabelle 1.1 dargestellten Daten beschreiben lediglich die Situation der Staaten mit einem Bevölkerungsanteil von mehr als 15 Millionen Einwohnern.

Tabelle 1.1: Nierenersatztherapie im internationalen Vergleich - Stand Oktober 2005. Quelle: Modifiziert nach Frei und Schober-Halstenberg 2005 in Quasi-Niere-Report 2004/2005.

Land	**Jahr**	**Nierenersatztherapie**			**% Anteil PD an Dialyseverfahren**	**Bevölkerung in Mio.**
		Patienten	**Prävalenz pmp**	**Inzidenz pmp**		
Australien	2003	13 652	685	98	23,8	19,9
Chile	2003	12 190	773	130	5,7	15,3
Deutschland	2004	82 305	998	194	4,6	82,5
England und Wales	2003	37 382	632	104	27,0	39,9
Frankreich (7 Regionen)	2003	15 148	898	123	10,5	16,5
Italien	2003	51 281	886	133	10,4	57,8
Japan	2004	258 166	1943	271	3,5	127,8
Kanada	2003	29 566	934	157	18,9	31,7
Malaysia	2004	13 141	513	101	10,0	24,9
Niederlande	2004	11 551	713	104	25,7	16,2
Polen	2003	17 448	457	105	9,5	38,2
Spanien	2004	---	893	127	18,1	44,4
Türkei	2004	32 036	444	123	11,6	73,3
USA	2003	452 957	1509	341	8,0	290,8

pmp: pro Million Einwohner (**p**er **m**illion **p**opulation)

1.2. Die Peritonealdialyse als Nierenersatzverfahren

Wie oben schon erwähnt, hat sich neben der schon länger bekannten Hämodialyse in den vergangenen Jahrzehnten zunehmend die Peritonealdialyse (PD) als sicheres und effizientes Verfahren zur Behandlung einer terminalen Niereninsuffizienz etabliert.

Die erste Peritonealdialyse wurde bereits 1923 durch Georg Ganter am Patienten mit postrenaler Niereninsuffizienz durchgeführt. Der Durchbruch zur kontinuierlichen Dialyseform, mit der man auch chronisch niereninsuffiziente Patienten behandeln konnte, folgte jedoch erst Mitte der 70er Jahre mit den Veröffentlichungen von Robert Popovic und Jack Moncrief. Beide Wissenschaftler arbeiteten an einer Möglichkeit, die bis zu diesem Zeitpunkt bereits etablierte Dialyse auch Patienten zukommen zu lassen, die keiner Hämodialyse zugänglich waren. Ein großes Problem waren jedoch die hohen Komplikationsraten zum Beispiel in Form rezidivierender Peritonitiden (http://www.fmc-ag.com).

Trotz der Abnahme dieser Komplikationen in der heutigen Zeit, vor allem aufgrund technischer Fortschritte wie dem Y-System, dem Doppelbeutelsystem oder dem „flush

before fill“-Prinzip (Spülung der Konnektionsstelle mittels steriler Dialyselösung, bevor die Bauchhöhle befüllt wird), ist dieses Verfahren jedoch nicht in allen Ländern gleich häufig vertreten. Die Gründe hierfür sind vielfältig und reichen von unterschiedlicher Verfügbarkeit des Therapieverfahrens über fehlende Erfahrung/Unwissen des behandelnden Arztes bis hin zu unterschiedlichen Vergütungsstrukturen. Es fällt auf, dass zahlreiche „nicht-medizinische“ Faktoren bei der Zuweisung zu einer bestimmten Dialyseform überwiegen (Vychytil 2005, Lameire et al. 2006). Daher sollte die Entscheidung, welche Dialyseform für welchen Patienten zutreffend ist, bei fehlenden Kontraindikationen stets patientenbezogen getroffen werden. Derzeit bleibt diesbezüglich festzuhalten, dass umfangreiche prospektive Studien zum Vergleich der Mortalität von PD und Hämodialyse fehlen. Fenton und Mitarbeiter konnten jedoch bereits 1997 nach Auswertung des kanadischen Registers (Canadian Organ Replacement Register) einen Überlebensvorteil der Peritonealdialyse-Patienten in den ersten zwei Jahren der Dialyse im Vergleich zur Hämodialyse feststellen (Fenton et al. 1997).

Das **Prinzip der Peritonealdialyse** basiert vor allem auf einem Stoff- und Wassertransport entlang eines Konzentrationsgradienten (Diffusion, Osmose, konvektiver Stofftransport, Flüssigkeitsrückresorption), bei dem das Peritoneum als „Dialysemembran“ fungiert (Abb. 1.2).

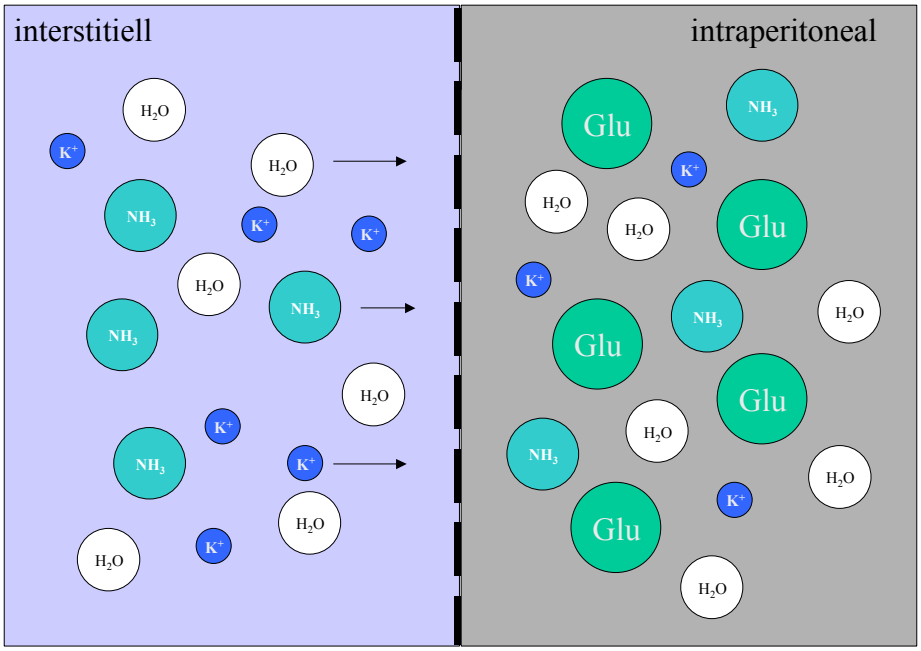


Abbildung 1.2: Prinzip des Stoff- und Wassertransportes (Modifiziert nach Kuhlmann et al. 2003).

Erläuterungen:
Glu = Glukose

Wie aus der Abbildung ersichtlich, erfolgt aufgrund des osmotischen Gradienten vorwiegend der Entzug von Wasser. Gleichzeitig passieren jedoch auch zahlreiche

Elektrolyte, kleinmolekulare Substanzen (Kreatinin) und Harnstoff die Barriere entsprechend des Konzentrationsgefälles (Diffusion, konvektiver Stofftransport).

Den wohl größten Einfluss als Barriere für den peritonealen Transport hat zum einen das Endothel der Kapillaren und zum anderen die die Gefäße umgebene Zellmatrix (Flessner 2005).

Diesbezüglich sind zahlreiche Theorien entwickelt worden, um den transendothelialen Transport von Wasser sowie von Molekülen unterschiedlicher Größe zu beschreiben. Große Bedeutung heutzutage hat das von Rippe und Kollegen aufgestellte „3-Poren-Modell“ welches zwischen kleinen, großen und ultrakleinen Poren unterscheidet. Kleine Poren (r = 4-6 Å) bilden den Hauptbestandteil und sind vor allem für den Wasser- sowie den klein- bis mittelmolekularen Transport verantwortlich. Große Poren (r > 20 Å) sind vor allem für makromolekulare Substanzen (z. B. Proteine) durchlässig. Ausschließlich für den Wassertransport sind die ultrakleinen Poren (r < 0,5 Å), welche aus wasserkanalformenden Membranproteinen – den so genannten Aquaporinen (Aquaporin-1) – gebildet werden, verantwortlich (Rippe 1993, Rippe et al. 2001).

Zur Beurteilung des peritonealen Stofftransports bedient man sich des Peritoneal-Äquilibrationstests (PET), der in seiner ursprünglichen Form von Twardowsky entwickelt wurde und vor allem Auskunft über den peritonealen Transport kleiner Moleküle gibt. Der Test, welcher 4-6 Wochen nach Einleitung der Dialyse durchgeführt werden sollte, läuft nach einem standardisierten Protokoll, welches etwa vier Stunden in Anspruch nimmt. Nach dem vollständigen Leeren des Bauchraums erfolgt das Befüllen in der Regel mit zwei Litern einer 2,27 %igen Dialyselösung (Dialysat). Zu Beginn, zumeist nach zwei Stunden sowie am Ende des Tests werden Proben aus dem Dialysat entnommen. Zur Berechnung der Dialysat- zu Plasma-Ratio z. B. für Kreatinin erfolgt während des Tests eine Blutentnahme. Nach 4-stündiger Verweildauer des Dialysats lassen sich mittels obigen Ratios Aussagen über das individuelle Transportverhalten des Patienten machen, wonach dieser in „high“-, „high-average“-, „low-average“- oder „low“-Transporter klassifiziert wird, in Abhängigkeit der Geschwindigkeit des kleinmolekularen Stofftransports (Kuhlmann et al. 2003, Hörl und Wanner 2004).

Insbesondere dem Harnstoff kommt bei der Beurteilung der **Dialyseeffektivität** eine wichtige Bedeutung zu. Hier gilt der Kt/V-Wert als entscheidender Parameter. Bei diesem

Wert handelt es sich um die Clearance von Harnstoff, sei es mittels Dialyse alleine oder durch eine noch vorhandene Nierenrestfunktion, bezogen auf das Harnstoff-Verteilungsvolumen (etwa 60 % des Körpergewichts bei männlichen Patienten) über eine Woche:

$$Kt/V = \frac{\text{Harnstoff (Dialysat)}}{\text{Harnstoff (Serum)}} * \text{Volumen(Dialysat)} * \frac{1}{\text{Verteilungsvolumen}} * 7$$

Die unterschiedlichen **Verfahren der Peritonealdialyse** sind sehr variabel und haben sich vorwiegend innerhalb der letzten 30 Jahre entwickelt. Im Folgenden werden diesbezüglich einige wichtige Abkürzungen kurz erläutert (modifiziert nach http://www.dialyseforum.de):

CAPD **Kontinuierliche ambulante Peritonealdialyse**
Täglicher manueller Wechsel des Dialysats durch den Patienten zu Hause, über Nacht verbleibt eine Füllung im Bauchraum.

APD **Automatische Peritonealdialyse**
Maschineller Dialysatwechsel mit Cyclergerät.

CCPD **Kontinuierliche zyklische Peritonealdialyse**
Behandlung mit Cyclergerät zu Hause über Nacht (8-10 h). Eine Beutelfüllung verbleibt über den Tag im Bauchraum.

TPD **Tidal Peritonealdialyse**
Bei einem Dialysatwechsel mit Cyclergerät wird nur jeweils ein Teil der im Bauchraum befindlichen PD-Lösung ausgetauscht.

IPD **Intermittierende Peritonealdialyse**
Behandlung im Zentrum, maschinell mit Cyclergerät (z. B. dreimal pro Woche 10-12 Stunden).

Ein wichtiges Instrument der Peritonealdialyse ist der **Peritonealdialyse-Katheter**, welcher sich in der Regel am tiefsten Punkt des Bauchraums (Douglas-Raum) befindet (Abb. 1.3).

Die Entwicklung unterschiedlicher Dialyseverfahren sowie die Reduktion der Komplikationen hängt maßgeblich mit der Einführung flexibler Dialysekatheter zusammen. So entwickelte Henry Tenckhoff 1968 in den USA den nach ihm benannten

Katheter, welcher der erste Dauerkatheter war und mit Hilfe seiner zwei Manschetten in das Peritoneum sowie in tiefere Bauchschichten einwachsen kann.

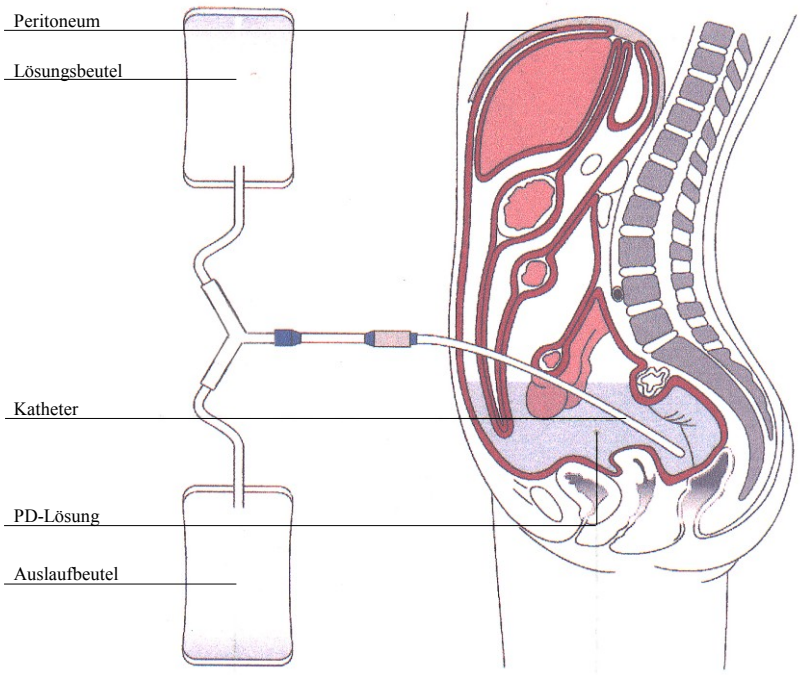


Abbildung 1.3: Platzierung des Katheters - Beutelanlage (Modifiziert nach Fresenius-Medical-Care: www.fmc-ag.de).

Heutzutage werden zahlreiche Katheterformen, sowohl intra- als auch extraperitoneal eingesetzt. Beispiele für intraperitoneale Anteile sind der bereits oben beschriebene gerade Tenckhoff-Katheter, der mit zwei Siliconscheiben versehene Oreopoulos-Zellermann-Katheter oder der mit einem aufgerollten Ende versehenen Coil-Catch-Katheter (Abb. 1.4).

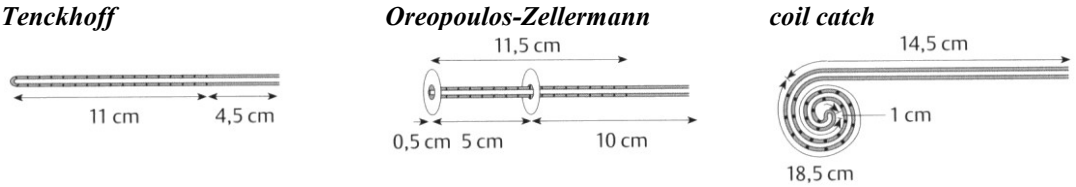


Abbildung 1.4: Intraperitoneale Kathetermodelle zur Peritonealdialyse (Modifiziert nach Hörl und Wanner 2004)

Die in dieser Studie zur Anwendung kommenden **Dialyselösungen** und deren Zusammensetzung sind in Tabelle 1.2 zusammengefasst. Zu jeder der zum Einsatz kommenden Lösung gehören zahlreiche Elektrolyte, ein Puffer sowie eine osmotisch oder kolloidosmotische Substanz bei der es sich in den meisten Fällen, mit Ausnahme von Icodextrin (Extraneal®), um Glukose handelt. Die Hersteller gehen zunehmend vom Einkammer- zum Mehrkammer-System über, um eine bessere Biokompatibilität der

Lösungen zu erreichen, da hier weniger toxische Glukose-Abbauprodukte (GDP – Glukosedegradationsprodukt) enthalten sind. Unter Biokompatibilität einer Peritonealdialyselösung kann man allgemein die Fähigkeit verstehen, die anatomischen und funktionalen Charakteristika des Peritoneums über die Zeit unbeeinflusst zu lassen (Di Paolo et al. 1995). Zahlreiche Studien, unter anderem auch Wieslander et al. 2001, konnten in diesem Zusammenhang als Hauptursachen für die Bioinkompatibilität von Dialyselösungen einen sauren pH-Wert und das bereits oben angeführte Vorliegen von Glukose-Abbauprodukten herausarbeiten.
Bei GDPs, welche für die Veränderung der peritonealen Membran und Funktion verantwortlich gemacht werden, handelt es sich vor allem um Aldehyde und Fructose, die zum Beispiel im Rahmen von In-vitro-Studien zu einer deutlichen Wachstumshemmung von Fibroblasten führten (Nilsson-Thorell et al. 1993).

Zur Vermeidung der Bildung letzterer werden vermehrt Doppelkammersysteme verwendet, welche die Hitzesterilisation bei niedrigem pH-Wert erlauben, ohne dass übermäßig GDPs anfallen. Somit wird die elektrolythaltige Glukoselösung erst kurz vor der Dialyse durch den Patienten mit der im zweiten Beutel befindlichen Pufferlösung zusammengebracht. Ein weiterer Aspekt ist anstatt der Verwendung der osmotisch aktiven Glukose, die des kolloidosmotisch aktiven Glukose-Polymers Icodextrin oder die von Aminosäuren, um Glukose und Glukose-Abbauprodukte zu vermeiden.

Tabelle 1.2: Zusammensetzung der Peritonealdialyselösungen nach Herstellerangaben.

	Dianeal PD 1 ®	Dianeal PD 4 ®	Stay-Safe-Balance ® 1,5 - 4,25%	Physioneal 35 ®	Physioneal 40 ®	Gambrosol trio 10 ®	Gambrosol trio 40 ®	Extraneal ®
E-lyte [mmol/l]								
Natrium	132	132	134	132	132	131-133	131-133	133
Calcium	1,75	1,25	1,25/1,75	1,75	1,25	1,70-1,79	1,31-1,38	1,75
Magnesium	0,75	0,25	0,5	0,25	0,25	0,24-0,26	0,24-0,26	0,25
Chlorid	102	95	100,5/101,5	101	95	96,0-96,2	95,2-95,4	96
Puffer [mmol/l]								
Laktat	35	40	35	10	15	39-41	39-41	40
Hydrogen-carbonat	---	---	---	25	25	---	---	---
pH, Osmotika	5,5	5,5	7	7,4	7,4	5,5-6,5	5,5-6,5	5-6
Glukose [g/dl]	1,36/2,27/ 3,86	s. PD 1	1,5/2,3/ 4,25	s. PD 1	s. PD 1	1,5/ 2,5/ 3,9	s. trio 10	---
Polyglucose [g/dl]	---	---	---	---	---	---	---	7,5
Osmolarität [mosm/l]	347/398/ 486	344/395/ 483	356/400/ 510	345/396/ 484	344/395/ 483	357/409/ 483	356/408/ 482	284

Die in dieser Arbeit verwendete Begrifflichkeit der „physiologischen“ Dialyselösungen bezieht sich auf die Anwendung von Doppelkammerdialysaten und im Gegensatz hierzu die der „unphysiologischen“ Dialyselösungen auf die von Einkammerdialysaten.

1.3. Aufbau des parietalen Peritoneums - histologische Besonderheiten

Das Peritoneum besteht aus einem großen viszeralen Teil, der die Eingeweide und Mesenterien überzieht, und einem parietalen Teil, der Zwerchfell und Bauchwand bedeckt (Korten 1984). Beim Erwachsenen entspricht die peritoneale Oberfläche etwa der der Körperoberfläche von 1,5 - 2,0 m^2, wovon allerdings nur etwa 0,5 - 1 m^2 effektiv zum Stoff- und Flüssigkeitsaustausch zur Verfügung steht. Des Weiteren hängt diese „effektive“ oder „funktionelle“ Oberfläche sowohl von der Durchblutung der peritonealen Kapillaren, als auch vom Dialysatvolumen ab.

Es finden sich drei Hauptbestandteile der peritonealen Membran (Abb. 1.5):

- das Mesothel an der Oberfläche,
- das Interstitium mit kolloidreicher, wasserarmer und kolloidarmer, wasserreicher Phase,
- Gefäße, als wichtiger Ort des Stoff- und Flüssigkeitsaustausches.

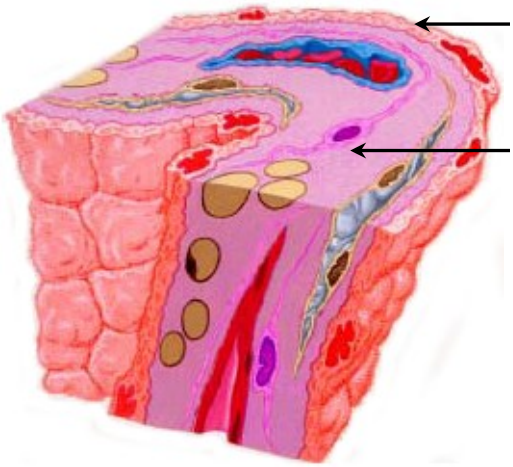


Abbildung 1.5: Aufbau des Peritoneums in der Übersicht (Modifiziert nach Di Paolo und Sacchi 2000).

Die mesotheliale Zellschicht als oberste Barriere besteht aus polygonalen Zellen, welche im Bereich der Mesenterien, des Diaphragmas und der abdominellen Wand flach und einreihig angeordnet sind. Die Zellschicht, die die Ovarien und abdominellen Organe wie Leber und Milz bedecken, haben in der Regel eher eine kubische Ausprägung. In der Transmissions-Elektronen-Mikroskopie (TEM) lassen sich die zahlreichen Mikrovilli auf der Oberfläche darstellen, welche der Oberflächenvergrößerung dienen und durch komplizierte interzelluläre Kontakte miteinander verbunden sind (Di Paolo und Sacchi 2000). Aus den Abbildungen 1.6 und 1.7 gehen die Formation der mesothelialen Zellschicht sowie der Mikrovilli im Bereich des parietalen Peritoneums hervor.

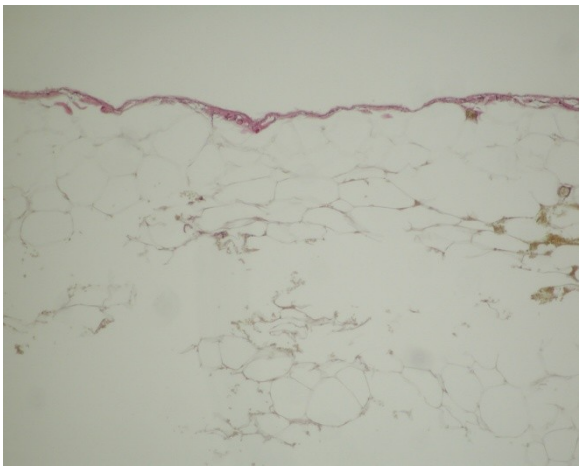


Abbildung 1.6: Schmales Interstitium mit sehr schmaler, in dieser Auflösung kaum dargestellten mesothelialen Zellschicht eines Nierengesunden (HE, 100fach), aus: Präparatesammlung der Klinik für Nephrologie der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf.

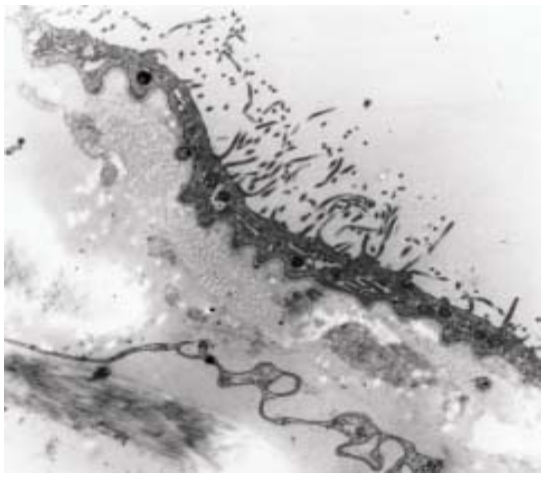


Abbildung 1.7: Darstellung der Mikrovilli auf der mesothelialen Oberfläche (TEM, 10.000fach), aus: Di Paolo und Sacchi 2000.

Neben der oben beschriebenen Vergrößerung der Oberfläche um etwa den Faktor 40 (Moog 1981), die durch das Vorhandensein der Mikrovilli erreicht werden kann, kommen ihnen weitere Aufgaben zu. So beschreiben Di Paolo und Sacchi 2000, dass die mesothelialen Mikrovilli als „Flüssigkeitsfallen“, insbesondere für positiv geladene Phospholipide fungieren, wodurch ein effizienter Schmierfilm erzeugt werden kann. Diese Theorie unterstützen sie mit ihrer Beobachtung, dass vor allem an Stellen, wo besonders viel Reibung zwischen Organen und dem parietalen Peritoneum stattfindet, eine hohe Anzahl an Mikrovilli zu finden sind. Ein weiterer Aspekt, der insbesondere im Hinblick auf die Beurteilung der Biokompatibilität von Dialyselösungen eine wichtige Rolle zu spielen scheint, ist die Tatsache, dass die Zellen des Mesotheliums CA 125 sezernieren. Unter der Annahme, dass der CA 125-Gehalt im Dialysatablauf mit der mesothelialen Zellmasse korreliert, kann somit versucht werden auf die Biokompatibilität der Dialyselösung bzw. auf die so genannte „peritoneale Integrität“ zurückzuschließen (Teitelbaum und Burkart 2003). Allerdings zeigten Breborowicz et al. 2005 in einer mit menschlichen Mesothelzellen durchgeführten In-vitro-Studie, dass dieser Aspekt mit großer Vorsicht zu nutzen ist. Ihrer Meinung nach hängt die CA 125-Produktion von mesothelialen Zellen von zahlreichen Faktoren ab, von denen das Alter der Zellen und deren Umgebungsbedingungen eine wichtige Rolle spielen.

Die submesotheliale Zellschicht, welche zum größten Teil dem üblichen Bau des Bindegewebes mit Grundsubstanz, Fasern oder Faserbündeln und Zellen wie Fibroblasten, Histiozyten und Makrophagen entspricht, kann als Bindeglied zwischen Kapillaren und

Mesothel verstanden werden. Di Paolo und Sacchi 2000 beschreiben im Rahmen ihrer Arbeiten vor allem das Vorkommen von Kollagen Typ I und III.
Somit stellt die submesotheliale Zellschicht eine Barriere für den Stofftransport aus den peritonealen Kapillaren in das Dialysat dar und verzögert die Diffusion verschiedener gelöster Substanzen. Dabei nimmt der Widerstand, den das Interstitium dem Stofftransport entgegensetzt, mit größerer Entfernung der Kapillaren zur peritonealen Oberfläche, wie sie zum Beispiel in Form submesothelialer Fibrose zu vermuten ist, als auch mit steigendem Molekulargewicht der transportierten Substanz, zu (Hörl und Wanner 2004).

Neben Blutgefäßen befinden sich im submesothelialen Gewebe zahlreiche Lymphbahnen. Besonderheit dieses lymphatischen Systems ist das von einer Vielzahl von Autoren beschriebene Vorhandensein von Spaltöffnungen in der peritonealen Oberfläche.
Besonders die subdiaphragmalen Anteile des Peritoneums machen mit etwa 55 % den größten Anteil beim lymphatischen Abtransport von intraabdomineller Flüssigkeit aus. Etwa 30 % findet im viszeralen und 10-15 % im parietalen Peritoneum statt. Nach dem mathematischen Modell von Stachowska-Pietka et al. 2006 werden jedoch lediglich etwa 20-40 % der sich im Interstitium befindlichen Flüssigkeit mit Hilfe der lymphatischen Bahnen abtransportiert. Beim lymphatischen Stofftransport, der so genannten lymphatischen Absorption, handelt es sich um einen der peritonealen Ultrafiltration entgegengesetzten Kraft.
Aktivierungswege und genaue Aufgaben des lymphatischen Gewebes im parietalen Peritoneum bedürfen allerdings noch einer Vielzahl von Untersuchungen.
Ähnliches gilt auch für die, vor allem im großen Netz vorzufindenden so genannten „milky spots“, bei denen es sich um Anhäufungen von Lymphozyten und Makrophagen handelt. Diese werden von zahlreichen Autoren als zentrale immunologische Einheit der peritonealen Höhle und somit als ersten Abwehrmechanismus bei Entzündungen im Peritoneum angesehen und sollen deshalb an dieser Stelle Erwähnung finden (Di Paolo und Sacchi 2000).

1.4. Morphologische Veränderungen unter Peritonealdialyse

Im Rahmen der bereits oben beschriebenen peritonealen Barrieren des Stoff- und Flüssigkeitstransports bei der Peritonealdialyse wurde schon früh darüber nachgedacht, welche morphologischen Veränderungen stattfinden und inwieweit diese mit funktionellen Veränderungen in Verbindung gebracht werden können.

Die erste Schicht, bei der sich Veränderungen sowohl licht- wie auch elektronenmikroskopisch feststellen lassen, ist die mesotheliale Zellschicht. Zum einen kann eine Degeneration in Form des völligen Verlustes der Zellen, als auch zunehmende Veränderungen in der Formation der Mikrovilli beobachtet werden (Abb. 1.8). Zum anderen nehmen die noch vorhandenen Zellen zum größten Teil im apikal-basolateralen Durchmesser zu und zeigen zahlreiche Vakuolen an der Basis, was als eine zunehmende Aufweitung der interzellulären Verbindungen gedeutet wird (Di Paolo et al. 1986, Dobbie et al. 1990, Williams et al. 2003).

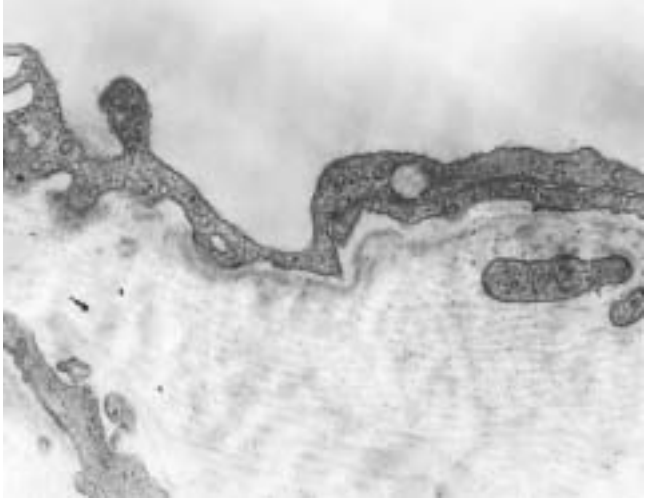


Abbildung 1.8: Parietales Peritoneum nach elf Monaten Dialyse. Dargestellt ist ein dünnes, erhaltenes Mesothel mit fehlenden Mikrovilli (TEM, 43.000fach), aus: Di Paolo und Sacchi 2000.

Ein weiteres morphologisch auffälliges Merkmal ist die Vermehrung des submesothelialen Gewebes. Dieses Phänomen wird von Plum et al. 2001 vor allem auf die Vermehrung von submesothelialem kollagenem Bindegewebe zurückgeführt, wobei in gleicher Ausprägung die Vermehrung elastischer Fasern beobachtet werden konnte. Diesbezüglich stellten Mateijsen et al. 1999 eine Vermehrung von kollagenem Bindegewebe Typ IV besonders bei Patienten mit ausgedehnter submesothelialer Fibrose fest. Di Paolo und Sacchi 2000 sahen die Vermehrung des submesothelialen Gewebes jedoch vor allem im Zusammenhang mit der sich durch die Peritonealdialyse entwickelnden ödematösen Schwellung.

Wichtig ist diesbezüglich die Unterscheidung zwischen einfacher submesothelialer Fibrose und der lebensbedrohlichen so genannten enkapsulierenden peritonealen Sklerose (EPS). Neben klinischen Unterscheidungskriterien ist die submesotheliale Dickenzunahme bei EPS ausgeprägter und vergesellschaftet mit entzündlichen Infiltraten und Kalzifikationen (Di Paolo und Garosi 1999).

Neben mesothelialen und interstitiellen Veränderungen werden von zahlreichen Autoren Veränderungen im submesothelialen Stroma beschrieben, die sich vor allem auf die Anzahl

und die Beschaffenheit der sich dort befindlichen Blutgefäße beziehen (Mateijsen et al. 1999, Plum et al. 2001, Williams et al. 2002). So zeigten beispielsweise Mateijsen et al. 1999 eine Vermehrung der Gefäßanzahl mit der Zunahme der Dialysedauer (Neoangiogenese), einhergehend mit der Dickenzunahme der arteriellen Gefäßwand (bei positiver Anfärbung von kollagenem Bindegewebe Typ IV) bei Patienten mit peritonealer Fibrose. Williams et al. 2002 beschrieben innerhalb der Gruppe der Dialysepatienten vaskulopathische Veränderungen vor allem für Patienten, die schon seit über sechs Jahren Peritonealdialyse durchführten. Interessanterweise sprechen einige Autoren im Rahmen dieser Veränderungen, welche sich unter anderem mit der Perjodsäure-Schiff-Reaktion (PAS) darstellen lassen, von mikroangiopathischen Veränderungen, wie sie auch bei diabetischen Patienten zu beobachten sind (Dobbie 1995, Di Paolo und Sacchi 2000).

1.5. Fragestellungen

In der vorliegenden Arbeit wurden vor allem morphologische aber auch funktionelle Veränderungen der peritonealen Membran chronischer PD-Patienten studiert, wobei folgende Fragestellungen definiert wurden:

- Welche morphologischen Veränderungen lassen sich in dem vorliegenden Patientengut im Rahmen eines 3-Gruppenvergleiches für nicht-urämische (Kontrolle), Peritonealdialyse- (PD-Patienten) und urämische Patienten (Urämie) herausarbeiten?

- Haben die Parameter Diabetes Mellitus, Immunsuppression, Hypertonie, antihypertensive Therapie mit ACE-Hemmern, Stofftransportrate (D/Pratio für Kreatinin), effektive Ultrafiltration (< 400 ml/4h vs. ≥ 400 ml/4h mit 3,86 %iger Glukoselösung), Dialyse-Art (CADP vs. CCDP), Dialysat-Menge, Dialyselösung (physiologisch vs. unphysiologische), PD-Dauer, Glukosebelastung, das Vorhandensein von Icodextrin im Regime und die Häufigkeit stattgehabter Peritonitiden einen Einfluss auf die Morphologie des Peritoneums während chronischer Peritonealdialyse?

- Lassen sich mit Hilfe von Korrelationsanalysen signifikante Zusammenhänge innerhalb der erhobenen morphologischen Daten für alle drei Untersuchungsgruppen sowie zwischen den morphologischen Daten und funktionellen Parametern innerhalb der PD-Patienten herausarbeiten?

2. Material und Methoden

2.1. Präparation des parietalen Peritoneums und histopathologische Aufbereitung

Die Präparation des parietalen Peritoneums erfolgte im Rahmen eines chirurgischen Eingriffs, in dem etwa 10 * 10 mm große Proben gewonnen wurden. Bei der Urämie- und Dialysegruppe handelte es sich um Eingriffe, bei denen entweder ein Dialysekatheter angelegt, gewechselt oder, wegen des Ausscheidens aus der Peritonealdialyse, entfernt wurde. Die Ursachen der elektiven operativen Eingriffe bei den Patienten der Kontrollgruppe (nicht urämische Patienten) werden im Kapitel 2.3. '*Patientendaten*' kurz dargelegt. Alle Patienten gaben vor der Biopsieentnahme nach eingehender Aufklärung ihr Einverständnis zur Teilnahme an dieser Studie. Die Ethikkommission des Universitätsklinikums der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf gab ihre Zustimmung zur Durchführung dieses Studienprofils. Die histopathologische Aufbereitung erfolgte in Zusammenarbeit mit dem Institut für Pathologie des Universitätsklinikums der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf.

Nach der Präparation wurden die gewonnenen Proben direkt mit Stecknadeln auf Korkplatten (Ø 20 mm, Slee Medical GmbH & Slee Technik GmbH, Mainz, D) befestigt und mit auf neutralem pH-Wert (7,3) gepuffertem 4-5 %igem Formalin (PathoMed. Logistik GmbH, Viersen, D) fixiert. Dem geeigneten Zuschnitt folgte die etwa 14 Stunden dauernde automatische Entwässerung (Tissue-Tek® VIP®, Sakura Finetek Germany GmbH, Heppenheim, D) mittels Alkoholreihe in aufsteigender Konzentration 70/96/99,9%ig. Xylol diente als Intermediärmedium zwischen dem am Ende folgenden Paraffin und dem Alkohol. Der Entwässerung schloss sich der Vorgang des Einbettens in Paraffin (Engelbrecht Medizin- und Labortechnik, Erdemünde, D) an, wonach von den Paraffinblöcken 5 - 7 µm dicke Scheiben mittels Schlittenmikrotoms (HM 400, MICROM International GmbH, Walldorf, D) abgeschnitten wurden.
Die automatische Färbung (Tissue-Tek® Prisma®, Sakura Finetek Germany GmbH, Heppenheim, D), der auf Objektträger aufgebrachten Serienschnitte, erfolgte in Anlehnung an Plum et al. 2001. Ein Schnitt eines Patienten wurde zunächst mit Hämatoxylin-Eosin (HE) nach Meyer zur Beurteilung der mesothelialen Zellschicht angefärbt:

Hämatoxylin (10 Min.) - Abspülen mit H_2O - Differenzieren in HCl-Alkohol (1 %) - Abspülen in H_2O - Bläuen in H_2O - Eosinlösung (5 Min.) - Abspülen in H_2O - 70%, 96% Alkohol - Alkohol absolut - Xylol - Eindecken mit Eukitt.

Lösungen: **Hämatoxylin**

1000 ml Aqua dest.

1 g Hämatoxylin (Mayers Hämalaunlösung, Merck KGaA, Darmstadt, D)

0,2 g Natriumjodat (Merck KGaA, Darmstadt, D)

50 g Ammoniumkaliumsulfat (Merck KGaA, Darmstadt, D)

aufkochen-abkühlen (über Nacht)

1 g Zitronensäure

50 g Chloralhydrat

auflösen-filtrieren

Eosinlösung

1000 ml Aqua dest.

10 g Eosin (Eosin G, Merck KGaA, Darmstadt, D)

HCl-Alkohol: 1000 ml 70 %iger Alkohol + 10 ml 25 %ige HCl

Die Beurteilung der perivaskulären Veränderungen erfolgte zur Kenntlichmachung von Polysacchariden, neutralen Mukopolysacchariden, Muko- und Glykoproteinen und Glykolipiden für einen weiteren Schnitt mit der Perjodsäure-Schiff-Reaktion (PAS) nach Hotchkiss und McManus:

0,5 %ige Perjodsäurelösung (5 Min.) - Abspülen mit Aqua dest. - Schiff'sches Reagenz (15 Min.) - Abspülen mit H_2O - Hämatoxylin - Abspülen in H_2O - Bläuen - 70%, 96% Alkohol - Alkohol absolut - Xylol - Eindecken mit Eukitt.

Lösungen: **Hämatoxylin (s.o.)**

Perjodsäurelösung

0,5 g Perjodsäure zur Analyse (Merck KGaA, Darmstadt, D)

100 ml Aqua dest.

Schiffs Reagenz für Mikroskopie (Merck KGaA, Darmstadt, D)

Zur Beurteilung der submesothelialen Fibrose und der Vaskularisierung wurden die entparaffinierten Schnitte mit einer Trichromfärbung (Elastica van Gieson - EvG) behandelt:

Elastica-Lösung (10 Min.) - Abspülen in H_2O - Differenzieren in HCl-Alkohol (1 %) - Abspülen in H_2O - Eisenhämatoxylin nach Weigert (5 Min.) - Abspülen in H_2O - Differenzieren in HCl-Alkohol (1 %) - van Gieson-Gemisch (3 Min.) - Abspülen in Aqua dest. - 96 % Alkohol - Alkohol absolut - Xylol - Eindecken mit Eukitt.

Lösungen: **Elastica-Lösung**

1000 ml 80 %iger Alkohol

10 g Resorcin-Fuchsin, Weigert (Waldeck GmbH & Co Division Chroma, Münster, D)

(Erwärmen und nach dem Abkühlen 20 ml 25 % HCl zugeben und filtrieren)

Eisenhämatoxylin nach Weigert

Lösung A und B im Verhältnis 1:1

Weigert A: 100 ml Alkohol absolut
+ 1 g Hämatoxylin

Weigert B: 95 ml Aqua dest.
+ 4 ml 10%iges Eisenchlorid
+ 1 ml 25 %ige HCl

van Gieson-Gemisch

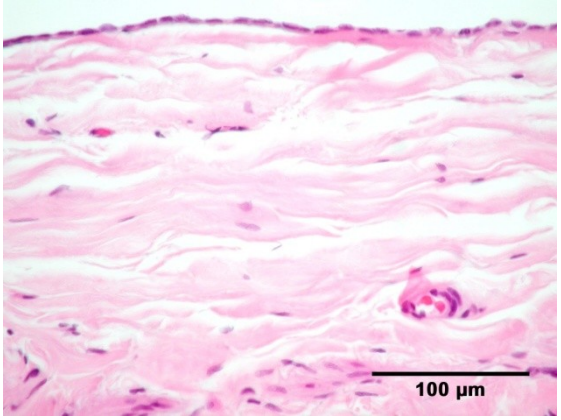
1000 ml gesättigte wässrige Pikrinsäure (Fluka® Analytical (Riedel-de-Haën, Sigma-Aldrich), Seelze, D)

+ 100 ml 1 %iges wässriges Säurefuchsin für die Mikroskopie (Merck KGaA, Darmstadt, D)

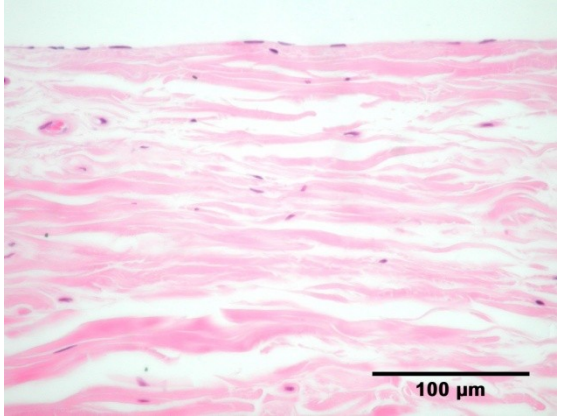
2.2. Histologische Auswertung

2.2.1. Mesotheliale Zellschicht

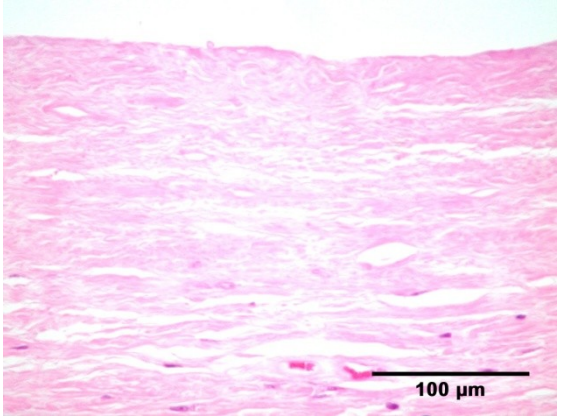
Die semiquantitative Bewertung der mesothelialen Zellschicht erfolgte lichtmikroskopisch (BX 50; Olympus Optical Co., Hamburg, D) nach Durchsicht des gesamten Präparats. Je nach Vollständigkeit wurde das Präparat in Analogie zur Arbeit von Plum et al. 2001 einer von drei Graduierungen zugeordnet, welche aus Abbildung 2.1 a/b/c hervorgehen. Die Beurteilung erfolgte in 400facher Vergrößerung am mit Hämatoxylin-Eosin gefärbten Präparat.



a) Grad 1 (400fach, HE)



b) Grad 0,5 (400fach, HE)



c) Grad 0 (400fach, HE)

Erläuterungen:
Grad 1 = vollständig erhaltene Zellschicht
Grad 0,5 = vereinzelt erhaltene Zellschicht
Grad 0 = vollständiges Fehlen der Zellschicht

Abbildung 2.1 a – c) Bewertung der mesothelialen Zellschicht (nach Plum et al. 2001).

2.2.2. Submesotheliale Fibrose

Das Ausmessen der submesothelialen Fibrose, welche als Mittelwert aus drei repräsentativen Bereichen des Präparates ermittelt wurde (Abb. 2.2 a/b), erfolgte ebenfalls lichtmikroskopisch am Messokular nach Eichung mittels Objektmikrometers. Die Beurteilung erfolgte in der Regel bei 100facher Vergrößerung am mit Elastica von Gieson gefärbten Präparat.

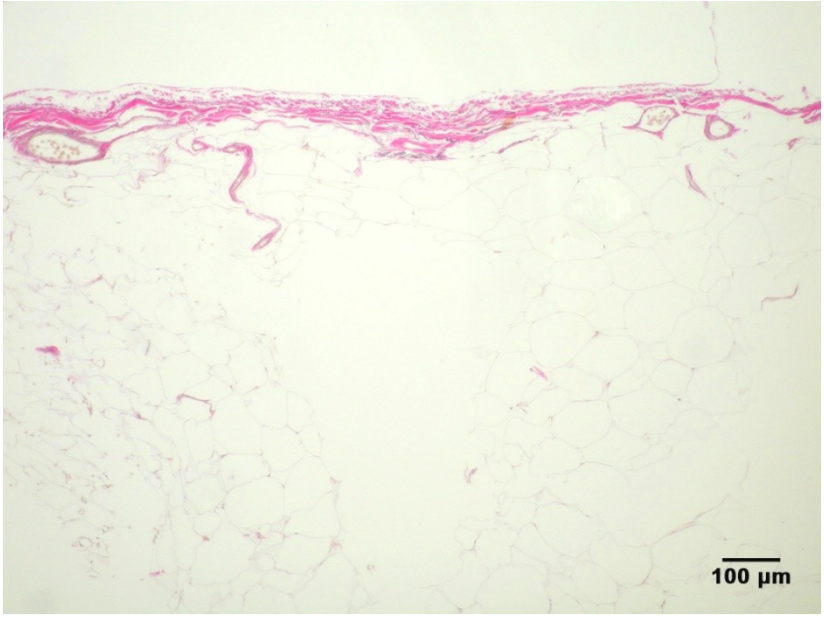


Abbildung 2.2 a)
Submesotheliale Bindegewebsvermehrung bei einem 68-jährigen urämischen Patienten vor Katheterneuanlage (100fach, EvG).

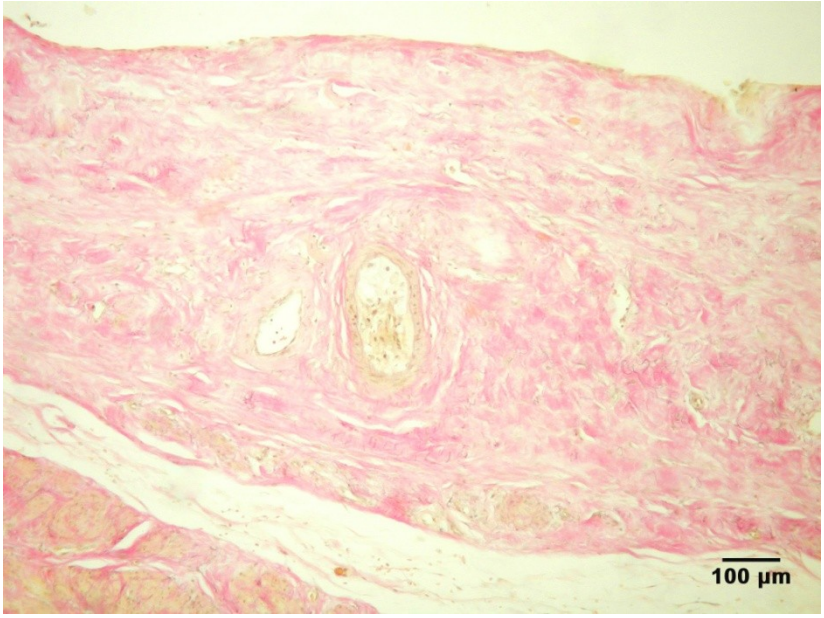
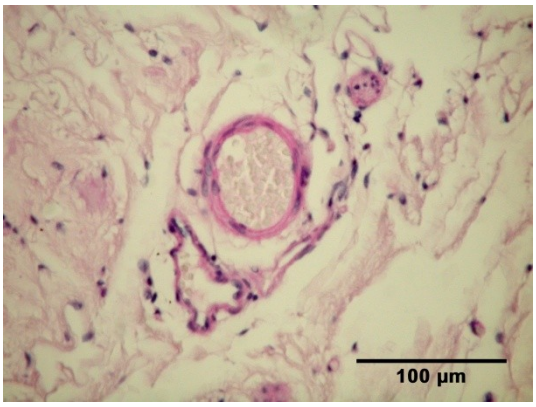


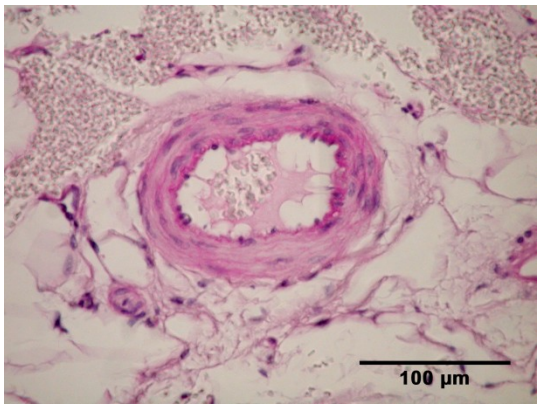
Abbildung 2.2 b)
Submesotheliale Bindegewebsvermehrung bei einer 46-jährigen Patientin vor der Anlage des 2. Katheters. *CAPD, Dialysedauer: 45 Monate* (100fach, EvG).

2.2.3. Gefäßparameter

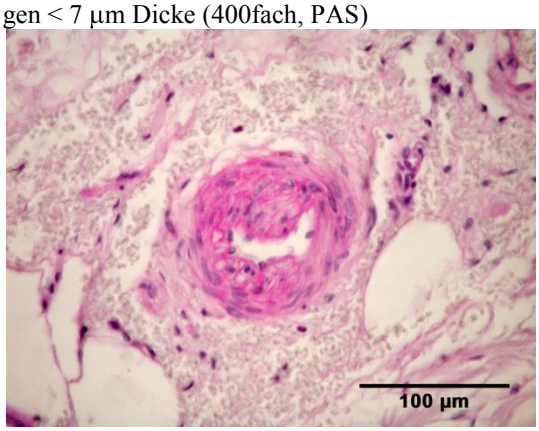
Ebenfalls lichtmikroskopisch erfolgte die Beurteilung der perivaskulären Veränderungen. In Anlehnung an die Arbeiten von Williams et al. 2002 wurden die mit der Perjodsäure-Schiff-Reaktion (PAS) behandelten Präparate, zur Darstellung kohlenhydrathaltiger Komponenten, anhand der Gefäßlumina in vier Grade (Abb. 2.3 a/b/c/d) eingeteilt je nach Überwiegen bestimmter Gefäßveränderungen.



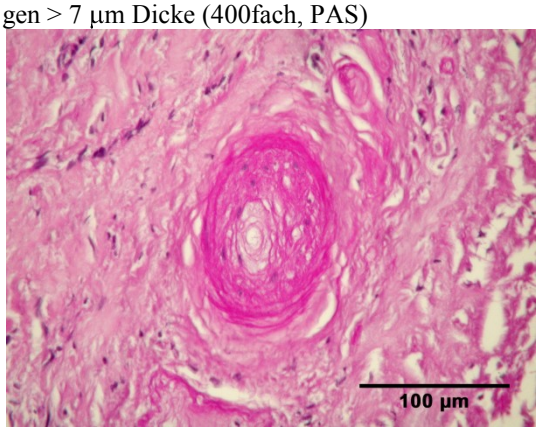
a) Grad 1 - Subendotheliale hyaline Ablagerungen < 7 µm Dicke (400fach, PAS)



b) Grad 2 - Subendotheliale hyaline Ablagerungen > 7 µm Dicke (400fach, PAS)



c) Grad 3 - Deutliche Verschmälerung und Verzerrung des Gefäßlumens (400fach, PAS)

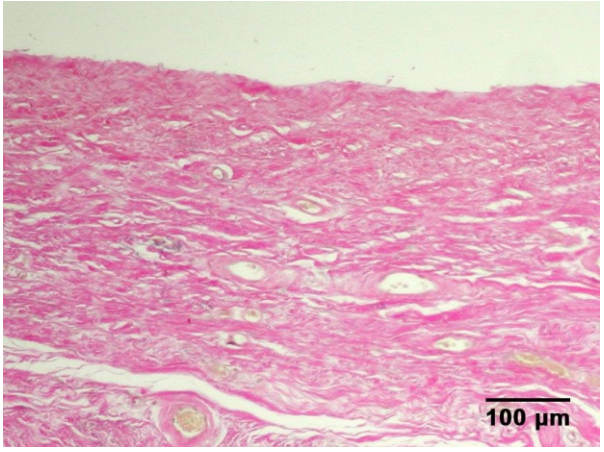


d) Grad 4 - Vollständiger Verschluss des Gefäßlumens (400fach, PAS)

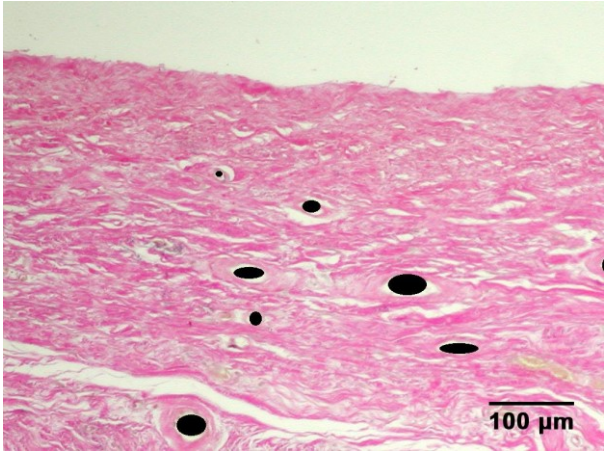
Abbildung 2.3 a – d) Graduierung subendothelialer Ablagerungen peritonealer Gefäße (Williams et al. 2002).
Erläuterungen:
Grad 1 = Subendotheliale hyaline Ablagerungen < 7 µm Dicke
Grad 2 = Subendotheliale hyaline Ablagerungen > 7 µm Dicke
Grad 3 = Deutliche Verschmälerung und Verzerrung des Gefäßlumens
Grad 4 = Vollständiger Verschluss des Gefäßlumens

Für die quantitative Bewertung der peritonealen Vaskularisierung wurden drei repräsentative Gesichtsfelder eines Präparates (EvG) mit einer Auflösung von 2048 x 1536 Bildpunkten digitalisiert (Olympus Camedia Zoom-3030; Olympus GmbH, D) und mit dem Programm ImageJ (Version 1,32j; National Institute of Health, Bethesda, MD, USA) bearbeitet (Abb. 2.4 a/b).

Es erfolgte die Markierung der Gefäßlumina innerhalb eines Gesichtsfeldes, wonach sich zum einen die Gefäßanzahl bestimmen ließ und zum anderen, nach Eichung der Präparate auf einen festgelegten Maßstab zur Feststellung der realen Länge am Bildschirm, das Gefäßlumen in mm^2.



a) Ohne Gefäßdarstellung.



b) Markierte Gefäßlumina zur Erhebung von Gefäßanzahl und Gefäßlumenanteil pro Gesichtsfeld.

Abbildung 2.4 a / b) Markierung der Gefäße in ImageJ zur Beurteilung der Gefäßanzahl und des Gefäßlumenanteils. Präparat-Ausschnitt eines 58jährigen Patienten mit CCPD seit 91 Monaten. OP-Grund: Katheterwechsel. Niereninsuffizienz aufgrund einer IgA-Nephropathie (100fach, EvG).

Mittels der Gefäßanzahl, der Gefäßlumina, der Länge der peritonealen Oberfläche und der Fläche des Präparats im Gesichtsfeld (jeweils in mm bzw. mm^2), die sich aus der Bearbeitung der Bilder mit ImageJ ergab, konnten die in Tabelle 2.1 und in der Literatur empfohlenen Parameter zur Beurteilung des submesothelialen Gefäßzustandes berechnet werden.

Tabelle 2.1: Quotienten zur Beurteilung des Gefäßstatus pro Gesichtsfeld.	
RGF [%]	(Summe der Gefäßlumina pro Gesichtsfeld [mm^2] / Fläche des Präparats im Gesichtsfeld [mm^2]) * 100 (Numata et al. 2003)
RGA/F [1/mm^2]	Relative Gefäßanzahl pro Gesichtsfeld / Fläche des Präparats im Gesichtsfeld [mm^2] (Numata et al. 2003)
RGA/L [1/mm]	Relative Gefäßanzahl pro Gesichtsfeld / Länge der peritonealen Oberfläche [mm] (Williams et al. 2002)

Wie bei Mateijsen et al. 1999 und Numata et al. 2003 beschrieben, wurden Patienten mit Diabetes Mellitus und/oder Vaskulitis aus der Beurteilung der Gefäßparameter ausgeschlossen.

2.3. Patientendaten

Insgesamt wurden 84 histologische Präparate (Tab. 2.2) des parietalen Peritoneums auf die oben dargelegten Merkmale untersucht. Die Kontrollgruppe bildeten 14 nierengesunde Patienten, bei denen Unter- beziehungsweise Oberbauchoperationen (Beispiele: Leistenhernie, Aorto-Renaler-Bypass, Pankreasteilresektion bei Verdacht auf Insulinom, Colonteilresektion bei Verdacht auf Colonkarzinom) stattfanden und eine Peritonitis sicher ausgeschlossen werden konnte. 26 Patienten (PD-Patienten), die bereits einige Zeit Peritonealdialyse durchführten, wurden im Rahmen eines Katheterwechsels oder der Entfernung des Peritonealkatheters biopsiert (Tab. 2.3: Chirurgische Eingriffe - Dialysegruppe). 44 Patienten standen kurz vor der Peritonealdialyse und erhielten zum Zeitpunkt der Katheterneuanlage ihre Biopsie (Urämiepatienten). Die Ursachen des Nierenversagens innerhalb der Urämiegruppe vor Beginn der Dialyse sowie der Dialysegruppe sind in Tabelle 2.4 ersichtlich.

Tabelle 2.2: Anthropometrische Daten mit Serum-Kreatinin [mg/dl].

Gruppe	*Alter [Jahre]*	*Größe [cm]*	*Gewicht [kg]*	*Geschlecht [m/w]*	*Serum- Kreatinin [mg/dl]*
Kontrolle (N = 14)	57,5 ± 15,9	171,6 ± 9,3	72,8 ± 14,3	7/7	0,9 ± 0,1
Dialysepatienten (N = 26)	44,5 ± 12,2	171,8 ± 11,5	69,6 ± 15,2	13/13	9,7 ± 3,1
Urämiepatienten (N = 44)	44,3 ± 13,1	167,9 ± 8,0	66,4 ± 12,4	17/27	5,9 ± 2,4

Darstellung als Mittelwert ± Standardabweichung

Die statistische Auswertung des als Mittelwert ± Standardabweichung oben aufgeführten Serum-Kreatinins zeigten hochsignifikante Gruppenunterschiede mit jeweils $p < 0,01$. Es ergaben sich signifikant höhere Serum-Kreatinin-Werte in der Gruppe der chronischen Dialysepatienten im Vergleich zu den beiden anderen Gruppen. Ebenso lagen die Serum-Kreatinin-Werte der Gruppe der urämischen Patienten vor Dialyse signifikant höher als die der Kontrollgruppe. In den übrigen Eigenschaften (Alter, Größe, Gewicht) unterschieden sich die drei Gruppen nicht signifikant voneinander.

Die Grundlage für den Ausschluss der Peritonitis bei den PD-Patienten bildeten zum einen die Anzahl an Leukozyten im Dialysat (< 100 /µl - vgl. Davies et al. 2001, Plum et al. 2001) und das C-reaktive Protein (CRP), welches zum Zeitpunkt der Biopsie nicht über 1,5 mg/l liegen durfte (Plum et al. 2001). Zudem wurden die Präparate so ausgewählt, dass die letzte Peritonitis länger als 30 Tage vom Biopsiedatum zurücklag.

Tabelle 2.3: Chirurgische Eingriffe - Dialysegruppe.	
Ursache	*Anzahl* (N=26)
Katheterwechsel - Obstruktionen oder rezidivierende Exitsite- und Tunnelinfekte	15
Katheterentfernung - Wechsels zur Hämodialyse (HD)	2
Katheterentfernung - Nierentransplantation (NTP)	8
Biopsie - Oberbauchoperation infolge Pankreatitis	1

Zu bemerken sei im Hinblick auf die Biopsate bei den PD-Patienten welche im Rahmen der Katheterentfernung nach Nierentransplantation gewonnen wurden, dass die Katheter häufig nach der Transplantation noch etwa 2 bis zu 12 Wochen im Bauchraum verblieben, ohne dass sie zur Peritonealdialyse genutzt wurden. Um einen möglichen Effekt dieses zeitlichen Abstandes zwischen dem Ende der Peritonealdialyse und der stattgehabten Biopsie auf die Morphologie des Peritoneums herauszuarbeiten, wurde zunächst diese Patientengruppe aus der statistischen Auswertung herausgenommen. Da sich hierbei jedoch im Hinblick auf die untersuchten morphologischen Eigenschaften keine wesentlichen Unterschiede im Vergleich zur statistischen Auswertung mit der Gesamtheit der Peritonealdialysepatienten zeigte, wurde der Zeitpunkt der Katheterentfernung bei den Patienten nach Nierentransplantation näherungsweise mit dem Zeitpunkt des Einstellens der Peritonealdialyse gleichgesetzt.

Tabelle 2.4: Ursachen für die Dialysepflichtigkeit mit Häufigkeiten (*H*).					
Gruppe	*Ursache*	*H*	*Gruppe*	*Ursache*	*H*
Urämie-patienten vor Beginn der Dialyse	Analgetikanephropathie	1	Dialyse-patienten	Amyloidose	2
	IgA-Nephropathie	5		IgA-Nephropathie	5
	Kollagenose	4		Kollagenose	2
	Nephrosklerose	2		Nephrosklerose	1
	Schrumpfniere	2		Pyelonephritis	1
	Vaskulitis	3		Schrumpfniere	1
	Zystenniere	5		chron. Glomerulonephritis	6
	chron. Glomerulonephritis	6		diabetische Nephropathie	3
	diabetische Nephropathie	9		idiopathische Nephropathie	5
	idiopathische Nephropathie	7			
	Summe	44		Summe	26

Die klinischen Daten der PD-Patienten konnten anhand der in der Dialyseambulanz des Kuratoriums für Hämodialyse (KfH) vorhandenen Patientenakten erhoben werden. Neben den Laborparametern, welche höchstens vier Wochen nach dem OP-Datum liegen durften, wurden ein Peritoneal-Äquilibrationstest (PET) und eine Dialyseeffektivitätsprüfung (DP) in die Auswertung einbezogen, welche aus Tabelle 2.5 hervorgehen und durch den Mittelwert mit Standardabweichung beschrieben werden. Anbei sei erwähnt, dass nicht für alle Biopsien Daten erhoben wurden, was an den jeweiligen Werten vermerkt wurde.

Tabelle 2.5: Labor, Dialyseeffektivitätsprüfung (DP) und PET – Urämie- und Dialysegruppe.					
	Parameter	*Urämiegruppe:*		*Dialysegruppe:*	
Labor		Min/Max (**)	$\bar{x}$ ± STD	Min/Max (**)	$\bar{x}$ ± STD
	Serum-Kreatinin-Spiegel [mg/dl]	2,7/14,1 (43)	5,9 ± 2,4	3,5/16,8	9,7 ± 3,1
	HbA1c [DCCT]	4,7/9,1 (36)	6,1 ± 1,0	4,7/8,4 (22)	5,9 ± 0,8
	Hämoglobin [g/dl]	8,3/16,8 (43)	11,1 ± 1,9	8,5/15,9	12,0 ± 2,2
	C-reaktive Protein [mg/l]	0,1/9,8 (43)	1,6 ± 2,3	0,1/7,3	1,5 ± 2,1
	Parathormon [pmol/l]	0,1/756,0 (42)	47,8 ± 120,6	0,9/141,4 (25)	27,6 ± 33,6
	CA125 im Dialysat [U/ml]	2,4/39,4 (35)	13,5 ± 8,6	1,8/36,4 (23)	11,2 ± 8,0
DP					
	Kreatinin-Clearance in [l/Woche]	45,8/237,4	124,7 ± 49,1	37,9/195,5	92,4 ± 43,2
	renale Kreatinin-Cl [ml/min]	0,0/20,3	8,1 ± 5,2	0,0/17,1	3,0 ± 4,9
	nPCR [g/kg Köpergewicht pro Tag]	0,1/1,6	0,9 ± 0,3	0,4/1,5	0,9 ± 0,2
	Kt/V	1,1/7,5	3,1 ± 1,1	1,0/6,3	2,9 ± 1,0
PET					
	TCUF 240 Min. [ml],	675/1774 (31)	1027 ± 275	179/2115 (25)	1363 ± 416
	AQ1-UF [ml]	130/800 (32)	410,6±135,7	200/600 (23)	373,5±127,0
	effektive UF – 240 Min. [ml]	146/946 (36)	549,2±197,6	-54/1096 (25)	518,3±285,0
	D/Pratio (Kreatinin) [%]	55/90 (37)	70,2 ± 10,1	54/92 (25)	68,8 ± 11,0
Erläuterungen: (**) Patientenanzahl, wenn abweichend von Urämie- (44 Pat.) und Dialysegruppe (26 Pat.); *nPCR:* normalisierte Protein-Katabolie-Rate; *Kt/V:* Harnstoff-Clearance; *TCUF:* transkapilläre Ultrafiltration; *AQ1-UF:* Aquaporin1-vermittelte Ultrafiltration; *effektive UF:* effektive Ultrafiltration					

Die Daten der Dialyseeffektivitätsprüfung, welche für die Urämiegruppe sowie für die Dialysegruppe vorlagen, wurden im Zeitraum von höchstens sechs Monaten vor/nach dem operativen Eingriff ermittelt. Die Daten des PET wurden für einen Zeitraum von höchstens 12 Monaten vor/nach dem operativen Eingriff innerhalb der Dialysegruppe in die Korrelationsanalyse einbezogen. Die Durchführung des PET entsprach dem bei Fußhöller et al. 2002 beschriebenen Prozedere unter Verwendung einer hochprozentigen Dialyselösung (3,86 % Glukose) für die 4stündige Verweildauer und umfasste die Bestimmung der transkapillären Ultrafiltration (TCUF 240 Min.) in [ml], der Aquaporin1-vermittelten Ultrafiltration (AQ1-UF) in [ml], der effektiven UF nach 240 Min. [ml] sowie des zur Einteilung der Dialysepatienten bedeutsamen Dialysat- zu Plasma-Verhältnisses für Kreatinin [%].

2.4. Potenziell einflussnehmende Faktoren auf die Morphologie des Peritoneums

In der vorliegenden Arbeit wurden die erhobenen morphologischen Daten innerhalb der Gruppe der chronischen Dialysepatienten auf potenziell einflussnehmende Faktoren untersucht, welche in Tabelle 2.6 aufgeführt sind. Das Vorhandensein eines Diabetes Mellitus und/oder einer Hypertonie, die Einnahme von ACE-Hemmern, eine medikamentöse Immunsuppression, die Art der Dialyse (CAPD vs. CCPD), die Eigenschaft der Dialyselösung (physiologisch vs. unphysiologisch), das Vorhandensein von Icodextrin im Regime sowie die Häufigkeit des Auftretens von Peritonitiden spielten hierbei eine entscheidende Rolle.
Weitere Faktoren bei denen sich die Gruppenzuteilung jedoch am Median orientierte, waren die D/Pratio für Kreatinin, Dialysat-Menge, PD-Dauer sowie der aus dem Regime hervorgegangene kumulative Glucose-Load (zur Berechnungsmethode siehe Davies et al. 2001). Da die PD-Dauer jeweils auf volle Monate bezogen wurde, ergab sich in beiden Untersuchungskollektiven (Gefäß- und Nicht-Gefäßparameter) eine asymmetrische Verteilung. Zu beachten ist zudem, dass, wie eben bereits kurz angedeutet, aufgrund der veränderten Patientenanzahl nach Ausschluss eines Diabetes Mellitus und/oder einer Vaskulitis im Rahmen der Beurteilung der Gefäßparameter, ein veränderter Median (mit Ausnahme bei der PD-Dauer) bei der statistischen Analyse Beachtung fand.
Die Unterteilung der PD-Patienten gemäß der effektiven Ultrafiltration (< 400 ml/4h / ≥ 400 ml/4h), orientierte sich am Vorschlag von Ho-dac-Pannekeet et al. 1997, bei einer effektiven Ultrafiltration von < 400 ml im 4h-PET mit 3,86 %iger Glukoselösung ein Ultrafiltrationsversagen anzunehmen, und dieser Gruppe von Patienten daher besondere Aufmerksamkeit zu widmen.

Die Korrelationsanalyse befasste sich zum einen mit der Suche nach Zusammenhängen innerhalb der erhobenen morphologischen Daten für alle Untersuchungsgruppen. Des Weiteren umfasste diese jedoch auch in Ergänzung der Zwei-Gruppen-Vergleiche, nach oben angeführten Kriterien innerhalb der Gruppe der chronischen Dialysepatienten, die Suche nach Zusammenhängen zwischen den erhobenen morphologischen Daten und den zur Verfügung stehenden Daten aus Labor, Dialyseeffektivität sowie PET. Die relevanten Parameter werden aus Tabelle 2.5 im vorherigen Kapitel ersichtlich, wobei zur Korrelation

zusätzlich die Faktoren Dialysedauer, Dialysat-Menge und Glucose-Load herangezogen wurden.

Tabelle 2.6: Subgruppen der chronischen Peritonealdialysepatienten nach klinischen Daten und peritonealem Transport.

Merkmal	*Anzahl*[1]	*(N=26)*	*(N=22)*
Diabetes Mellitus	[ja/nein]	4 / 22	-
Immunsuppression	[ja/nein]	6 / 20	5 / 17
Hypertonie	[ja/nein]	22 / 4	18 / 4
ACE-Hemmer	[ja/nein]	15 / 11	11 / 11
PET[2] D/P-ratio Kreatinin	 [< 66 %/≥ 66 %] [< 65 %/≥ 65 %]	*(N=25)* 12 / 13 -	*(N=21)* - 11 / 10
effektive Ultrafiltration	[<400 ml/4h / ≥400 ml/4h]	9 / 16	8 / 13
Dialyse-Art	[CAPD / CCPD]	4 / 22	3 / 19
Dialysat-Menge	[< $28*10^6$ l / ≥ $28*10^6$ l] [< $30*10^6$ l / ≥ $30*10^6$ l]	13 / 13 -	- 11 / 11
PD-Dauer	[< 54 Monate / ≥ 54 Monate]	12 / 14	12 / 10
Glucose-LOAD	[< 500 kg / ≥ 500 kg] [< 505 kg / ≥ 505 kg]	13 / 13 -	- 11/11
Icodextrin[3] im Regime	[ja/nein]	15 / 11	14 / 8
Dialysat[3]:	[A/B/C/D]	18 / 1 / 6 / 1	14 / 1 / 6 / 1
Dialysat[4]:	[physiologisch/unphysiologisch]	8/18	8 / 14
Peritonitiden - Häufigkeiten	[0/1/2/3/4]	6 / 11 / 3 / 3 / 3	5 / 9 / 3 / 2 / 3
Peritonitiden pro Pat.	[< 2 / ≥ 2]	17 / 9	14 / 8

Erläuterungen:
[1] ***N=26*** Grundgesamtheit der Dialysepatienten; ***N=22*** Anzahl der Dialysepatienten für die Beurteilung der Gefäßparameter nach Ausschluss eines Diabetes Mellitus und/oder einer Vaskulitis.
[2] PET: Die PET-Daten konnten aufgrund einer unzureichenden Dialysedauer bei einem Dialysepatienten nicht erhoben werden.
[3] Hersteller und physiologische Dialysate[4]:

A: Dianeal® PD1/ PD4; Baxter Deutschland GmbH, Unterschleißheim, D
B: Gambrosol Trio®; Gambro Medizintechnik, Planegg-Martinsried, D[4]
C: Physioneal®; Baxter Deutschland GmbH, Unterschleißheim, D[4]
D: Stay Safe Balance®; Fresenius Medical Care, Bad Homburg, D[4]
Icodextrin: Extraneal®; Baxter Deutschland GmbH, Unterschleißheim, D

2.5. Statistik

Die Datenaufnahme erfolgte mittels des Programms Microsoft EXCEL 2000 (Microsoft GmbH, Unterschleißheim, D). Die statistische Auswertung wurde nach geeigneter Formatierung der Daten mit dem Programm SYSTAT for Windows V. 11 (Systat Software, Inc., Point Richmond, USA) durchgeführt, und die Ergebnisse durch den Mittelwert ($\bar{x}$) und dessen Standardabweichung (STD) ausgedrückt. Bei Daten mit großer Streuung wurde zur besseren Darstellung der Ergebnisse der Median mit dem Interquartilen-Abstand (IQA: 25% bis 75%) in die Darstellung aufgenommen.

Der Shapiro-Wilk-Test diente der Überprüfung auf Normalverteilung, wonach sich bei 2-Gruppen-Vergleichen entweder ein t-Test, oder bei nicht normalverteilten Variablen ein

Mann-Whitney-U-Test anschloss. Da die zum Vergleich der drei Gruppen (Kontrollgruppe, Chronische Dialysepatienten, Urämische Patienten vor PD) zur Verfügung stehenden Daten nicht normalverteilt vorlagen, wurden diese mittels des Kruskal-Wallis-Tests untersucht. Bei vorhandener Signifikanz schloss sich zur Ermittlung des 2-Gruppenunterschiedes ein Mann-Whitney-U-Test mit anschließender Bonferroni-Korrektur an.

Die Bestimmung der Korrelationskoeffizienten (r) und der zweiseitig untersuchten Wahrscheinlichkeitswerte (p) erfolgte mit dem Statistik-Add-In ANALYSE IT (Analyse-It Software, Ltd., Leeds, England, UK). Es bot sich die Rangkorrelation nach Spearman an, da das Variablenniveau in mindestens einer der beiden Variablen in der Mehrzahl der Fälle nicht intervallskaliert und normalverteilt vorlag. Korrelation lag bei einem Korrelationskoeffizienten $r \geq 0{,}5$ vor.

Das Signifikanzniveau wurde im Vorfeld der Untersuchung auf $\alpha = 0{,}05$ festgelegt.

3. Ergebnisdarstellung

Zunächst erfolgte der Vergleich der drei im Kapitel 2 dargestellten Gruppen bezüglich der histologischen Ergebnisse. Im nächsten Schritt wurden die histologischen Daten der Gruppe der chronischen Dialysepatienten nach signifikanten Unterschieden im Hinblick auf die Merkmale Diabetes mellitus (ja/nein), Immunsuppression (ja/nein), Hypertonie (ja/nein), ACE-Hemmer in der Medikation (ja/nein), D/Pratio für Kreatinin, effektive Ultrafiltration (< 400 ml/4h / ≥ 400 ml/4h), Dialyse-Art (CAPD/CCPD), Dialysat-Menge, PD-Dauer, Glucose-Load, Icodextrin im Regime (ja/nein) und Häufigkeit stattgehabter Peritonitiden untersucht. Diese beiden Untersuchungsschritte sind im Kapitel 3.1 (Morphologie) zusammengefasst, wobei Einzelheiten der Subgruppenanalyse aus Tabelle 2.6 entnommen werden können.

Der Einfluss der Dialysate gemäß ihrer Zuordnung physiologisch/unphysiologisch, auf die erhobenen morphologischen Daten wird gesondert in Kapitel 3.2 dargestellt.

Im letzten Schritt (Kapitel 3.3) wurde eine Korrelationsanalyse durchgeführt, auf der Suche nach signifikanten Zusammenhängen zwischen den einzelnen morphologischen Daten in allen drei Hauptuntersuchungsgruppen. Zusätzlich wurde innerhalb der Gruppe der chronischen Dialysepatienten nach signifikanten Zusammenhängen zwischen den histologischen Daten und den erhobenen Patientendaten gesucht.

Das am Ende dieser Ergebnisdarstellung angeführte Kapitel 3.4 '*Einzelfalldarstellung*' beschäftigt sich mit der Vorstellung der Daten, die sich bei Patienten ergaben, von denen mehrere Biopsien vorlagen und daher im Verlauf beschrieben werden.

3.1. Morphologie

3.1.1. Mesotheliale Zellschicht

Die Beschreibung der mesothelialen Zellschicht fand, wie bereits oben beschrieben in drei Stufen statt (0; 0,5; 1), deren absolute und relative Häufigkeiten in Tabelle 3.1 dargestellt sind.

Tabelle 3.1: Absolute und relative Häufigkeiten bei der Beurteilung der mesothelialen Zellschicht im Gruppenvergleich.

Beurteilungsgrad	*1*		*0,5*		*0*		*Summe*	
Häufigkeiten / *Gruppe*	*absolut*	*relativ [%]*	*absolut*	*relativ [%]*	*absolut*	*relativ [%]*	N	[%]
Kontrollgruppe	9	64,3	5	35,7	0	0	14	100
chronische Dialysepatienten	2	7,7	17	65,4	7	26,9	26	100
Urämiepatienten	14	31,8	25	56,8	5	11,4	44	100

Die in Tabelle 3.1 dargestellten Ergebnisse lassen sich für jede Gruppe grafisch darstellen, wobei die statistische Auswertung einen im 3-Gruppenvergleich signifikanten Unterschied mit $p < 0,01$ ergab. Bei weiterer Betrachtung zeigten sich die in Abbildung 3.1 und 3.2 dargestellten signifikanten Gruppenunterschiede zwischen der Gruppe der Dialysepatienten und der Kontrollgruppe ($p < 0,01$) sowie zwischen der Gruppe der Urämiepatienten und der der chronischen Dialysepatienten ($p < 0,05$).

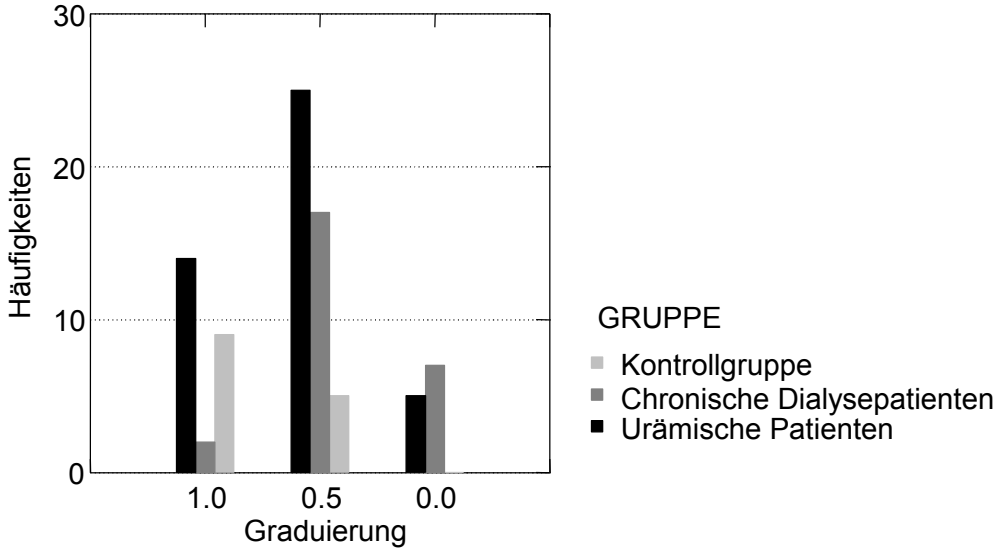


Abbildung 3.1: Absolute Häufigkeiten - Mesotheliale Zellschicht mit Gruppenzuordnung.

Erläuterungen: *Grad 1* = vollständig erhaltene Zellschicht, *Grad 0,5* = vereinzelt erhaltene Zellschicht, *Grad 0* = vollständiges Fehlen der Zellschicht

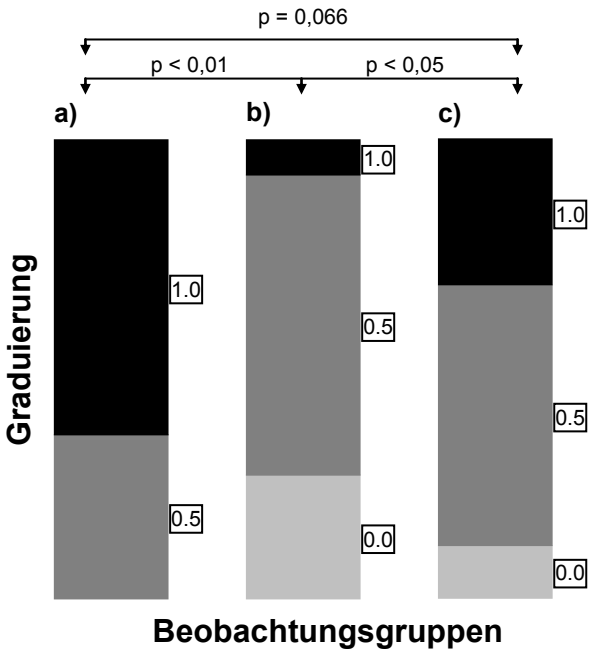


Abbildung 3.2: Relative Häufigkeiten - Mesotheliale Zellschicht im Gruppenvergleich.

Erläuterungen:
Eine Balkenhöhe entspricht 100 %. Einzelwerte gehen aus Tabelle 3.1 hervor. Der 3-Gruppenunterschied im Kruskal-Wallis-Test ergab ein $p < 0,01$. Der zwischen der Gruppe der urämischen Patienten vor PD und der Kontrollgruppe ersichtliche Unterschied ist mit $p = 0,066$ größer als das Signifikanzniveau von $p = 0,05$ und damit nicht signifikant.

a) Kontrollgruppe
b) Chronische Dialysepatienten
c) Urämische Patienten

Die Daten weisen darauf hin, dass in der Gruppe der chronischen Dialysepatienten im Vergleich zu den anderen beiden Gruppen eine signifikante Reduktion der mesothelialen Zellschicht zu beobachten ist.

Innerhalb der Gruppe der chronischen Dialysepatienten ergaben sich im Hinblick auf die in Tabelle 2.6 aufgeführten klinischen Daten ein signifikanter Unterschied bei Einteilung nach dem D/Pratio für Kreatinin (< 66 %/≥ 66 %). Die in Tabelle 3.2 und Abbildung 3.3 dargestellten Daten legen die Vermutung nahe, dass mit erhöhtem D/Pratio für Kreatinin eine signifikante Reduktion ($p = 0,019$) der mesothelialen Zellschicht zu erwarten ist.

Tabelle 3.2: Absolute und relative Häufigkeiten bei der Beurteilung der mesothelialen Zellschicht - Einteilung der Gruppe der chronischen Dialysepatienten nach der D/Pratio für Kreatinin.

Beurteilungsgrad	*1*		*0,5*		*0*		*Summe*	
Häufigkeiten / *D/Pratio für Kreatinin*	*absolut*	*relativ [%]*	*absolut*	*relativ [%]*	*absolut*	*relativ [%]*	N	[%]
< 66 %	2	16,7	9	75	1	8,3	12	100
≥ 66 %	0	0	7	53,8	6	46,2	13	100

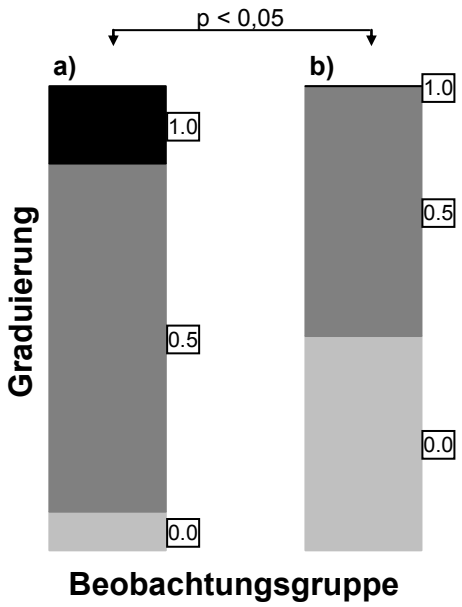


Abbildung 3.3: Mesotheliale Zellschicht, dargestellt in relativen Häufigkeiten für den Subgruppenvergleich der chronischen PD-Patienten nach D/Pratio für Kreatinin.

Erläuterungen:
Eine Balkenhöhe entspricht 100 %. Einzelwerte gehen aus Tabelle 3.2 hervor. Der 2-Gruppenvergleich im Mann-Whitney-Test ergab p = 0,019.

a) Chron. PD mit D/Pratio für Kreatinin < 66 %
b) Chron. PD mit D/Pratio für Kreatinin ≥ 66 %

Im Folgenden wurde versucht den Einfluss der Dialysedauer auf obiges Ergebnis zu minimieren. Ein daraufhin durchgeführtes nachträgliches Matching (paired matching) der in Abbildung 3.3 dargestellten Untersuchungsgruppen im Hinblick auf die Dialysedauer erwies sich als schwierig. Beim Versuch möglichst homogene Patientenpaare zu formen ergaben sich zwei Gruppen mit jeweils nur fünf Patienten deren Dialysedauer sich um maximal vier Monate unterschied. Die statistische Auswertung dieses Kollektivs bestärkt jedoch obige Vermutung mit p = 0,05, dass ein signifikanter Zusammenhang zwischen einer Dialysat- zu Plasma-Ratio ≥ 66 % und der Abnahme der Integrität der mesothelialen Zellschicht, weitestgehend unabhängig von der Dialysedauer, besteht.

3.1.2. Submesotheliale Fibrose

Im Gegensatz zu Garosi und Di Paolo 2001, wo die Grenze zwischen einfacher submesothelialer Fibrose und sklerosierender Peritonitis bei 40 bis 50 µm lag, konnte in der vorliegenden Arbeit bereits bei der Kontrollgruppe im Mittel eine weitaus größere Bindegewebsdicke mit 252 ± 200 µm (Median: 212 µm; IQA: 70 µm bis 403 µm) gemessen werden. Die Gruppe der urämischen Patienten vor der PD unterschied sich mit 231 µm ± 166 µm (Median: 187 µm; IQA: 107 µm bis 322 µm) nicht signifikant von der Kontrollgruppe. Ein mit $p < 0{,}01$ signifikanter Unterschied der submesothelialen Dicke ergab sich allerdings zwischen der Gruppe der urämischen Patienten und der der chronischen Dialysepatienten, deren Dicke im Mittel 409 µm ± 217 µm (Median: 358 µm; IQA: 247 µm bis 577 µm) betrug.

Die grafische Darstellung der Daten geht aus Abbildung 3.4 hervor, wo neben dem Mittelewert ± STA auch der Median mit IQA Beachtung findet.

Im Subgruppenvergleich nach Tabelle 2.6 ergaben sich innerhalb der Gruppe der chronischen Dialysepatienten keine signifikanten Unterschiede.

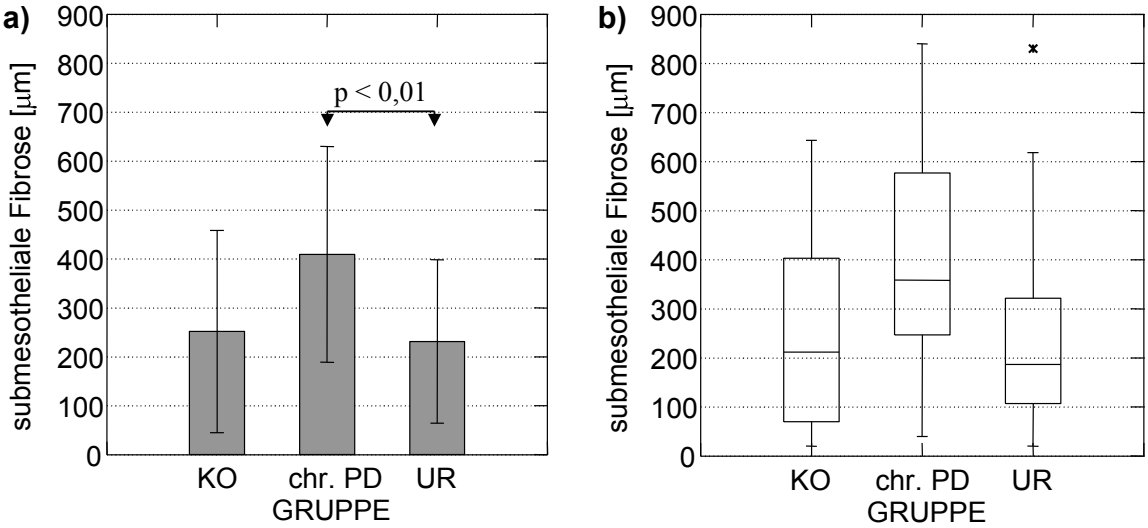


Abbildung 3.4: Darstellung der submesothelialen Fibrose. **a)** $\bar{x}$ ± STD **b)** Median / IQA / kleinster und größter Wert im Abstand von 1,5 Boxlängen vom unteren bzw. oberen Rand der Box.

Erläuterungen: KO = Kontrollgruppe; chr. PD = chronische Dialysepatienten; UR = Gruppe der urämischen Patienten vor Beginn der PD
Der Kruskal-Wallis-Test ergab einen signifikanten 3-Gruppen-Unterschied mit $p < 0{,}01$. Die Signifikanzen wurden zur besseren Übersichtlichkeit nur in Graph **a)** eingezeichnet.
In Graph **b)** liegt * bei UR oberhalb des 1,5fachen Quartilenabstandes: 830 µm

Ein nicht signifikanter, dennoch deutlicher Gruppenunterschied mit $p = 0{,}077$ zeigte sich bei der Einteilung der Gruppe der chronischen Dialysepatienten nach dem D/Pratio für

Kreatinin (Abb. 3.5). Tendenziell zeigte sich bei erhöhtem Dialysat- zu Plasma-Ratio für Kreatinin eine vermehrte submesotheliale Fibrose.

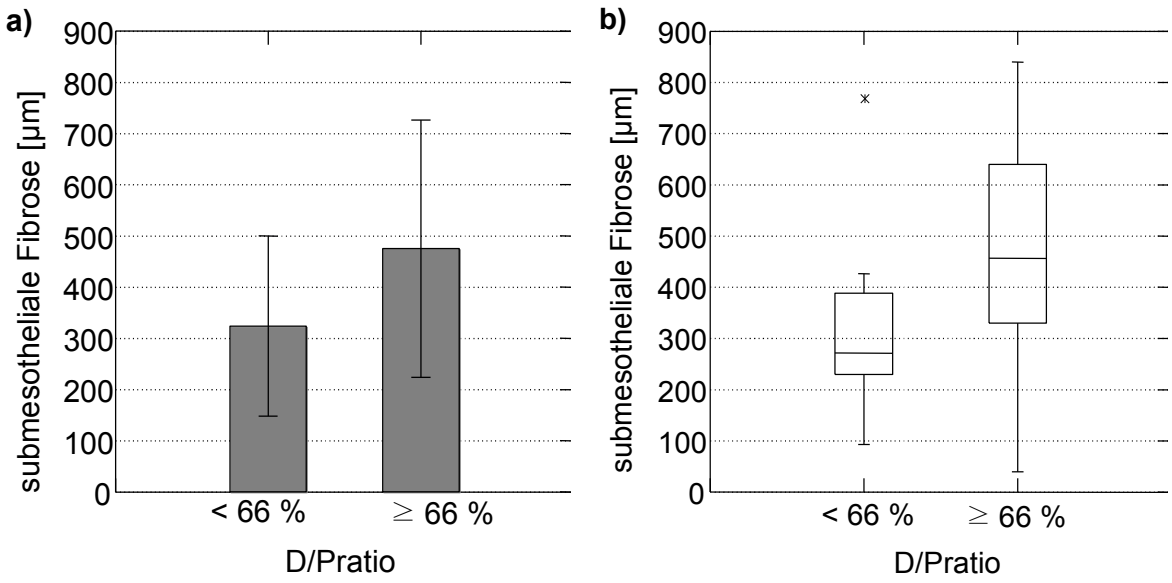


Abbildung 3.5: Darstellung der submesothelialen Fibrose in der Gruppe der chronischen Dialysepatienten mit der Einteilung in D/Pratio für Kreatinin < 66% und ≥ 66%.
a) $\bar{x}$ ± STD **b)** Median / IQA / kleinster und größter Wert im Abstand von 1,5 Boxlängen vom unteren bzw. oberen Rand der Box.

Erläuterungen:
a) < 66%: $\bar{x}$ = 324 µm ± 168 µm; **≥ 66%:** $\bar{x}$ = 475 µm ± 241 µm
b) < 66%: Median: 272 µm / IQA: 230 µm bis 388 µm; **≥ 66%:** Median: 457 µm / IQA: 330 µm bis 640 µm; In Graph **b)** liegt der mit * gekennzeichneten Wert oberhalb des 1,5fachen Quartilabstandes: 770 µm

3.1.3. Gefäßparameter

Bei der Erfassung der Gefäßparameter in Form der Graduierung der perivaskulären Veränderungen (Hist-VAS), der Erfassung der relativen Gefäßfläche (RGF) in [%], der relativen Gefäßanzahl pro Fläche (RGAF) in [1/mm^2] und der relativen Gefäßanzahl pro Länge der peritonealen Oberfläche (RGAL) in [1/mm], wurden die Daten der Patienten, die bis zum Zeitpunkt der Biopsie an einem Diabetes Mellitus und/oder einer Vaskulitis erkrankt waren, nicht in die Gruppenvergleiche einbezogen. Hieraus ergab sich für die einzelnen Gruppen die in Tabelle 3.3 aufgeführte Anzahl an verfügbaren Patienten (*N*).
Da sich für die Parameter RGF und RGAF keine signifikanten Gruppenunterschiede abgezeichnet haben, werden diese lediglich in Form der Mittelwerte ± STD im 3-Gruppenvergleich vorgestellt.

Tabelle 3.3: Anzahl an Patienten *(N)* zur Beurteilung der vaskulären Parameter RGF, RGAF und RGAL.

Grunderkrankung	*Diabetes Mellitus*	*Vaskulitis*	
Gruppe	*Anzahl*		***N***
Kontrollgruppe	0	0	**14**
Chronische Dialysepatienten	4	0	**22**
Urämiepatienten	11	3	**30**

3.1.3.1. Beurteilung der perivaskulären Veränderungen

Die perivaskulären Veränderungen in Form kohlenhydratreicher Ablagerungen in der Gefäßwand ergaben im Vergleich der drei Hauptgruppen einen signifikanten Unterschied von $p < 0{,}01$ (absolute und relative Häufigkeiten siehe Tabelle 3.4). Beim Vergleich der jeweiligen Gruppen untereinander zeigten sich signifikante Unterschiede mit $p < 0{,}01$ zwischen der Gruppe der chronischen Dialysepatienten und der jeweils anderen der beiden Gruppen im Sinne eines vermehrten Vorkommens perivaskulärer Veränderungen nach chronischer Peritonealdialyse (Abb. 3.6 & 3.7).

Tabelle 3.4: Absolute und relative Häufigkeiten bei der Beurteilung der perivaskulären Veränderungen im Gruppenvergleich.

Beurteilungsgrad	*1*		*2*		*3*		*4*		*Summe*	
Häufigkeiten / *Gruppe*	*absolut*	*relativ [%]*	*absolut*	*relativ [%]*	*absolut*	*relativ [%]*	*absolut*	*relativ [%]*	N	[%]
Kontrollgruppe	11	78,6	3	21,4	0	0	0	0	14	100
Chron. Dialysepatienten	5	22,7	12	54,6	3	13,6	2	9,1	22	100
Urämiepatienten	20	66,7	9	30	1	3,3	0	0	30	100

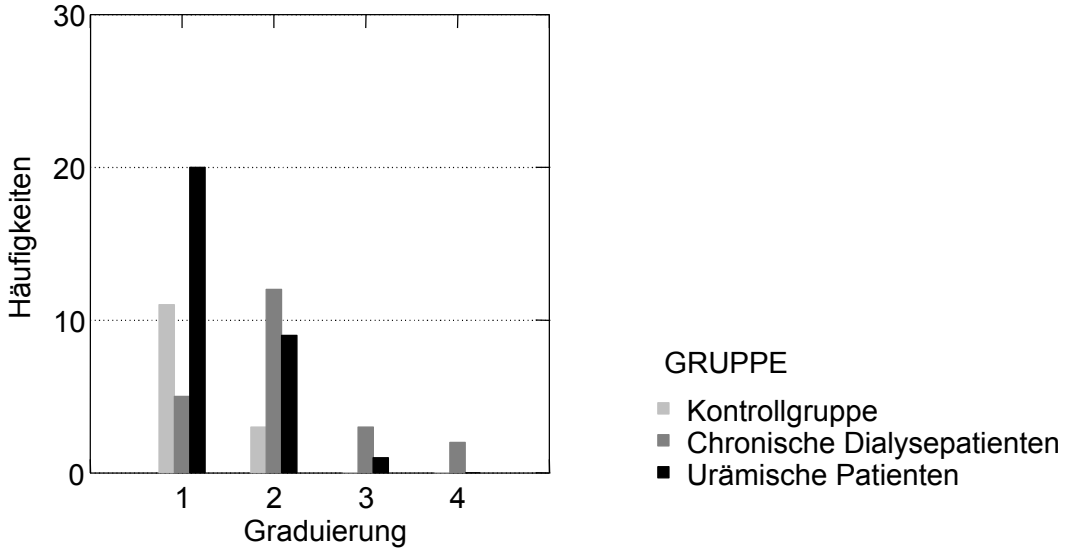


Abbildung 3.6: Absolute Häufigkeiten - Perivaskuläre Veränderungen mit Gruppenzuordnung.

Erläuterungen: Grad 1 = Subendotheliale hyaline Ablagerungen < 7 µm Dicke, Grad 2 = Subendotheliale hyaline Ablagerungen > 7 µm Dicke, Grad 3 = Deutliche Verschmälerung und Verzerrung des Gefäßlumens, Grad 4 = Vollständiger Verschluss des Gefäßlumens.

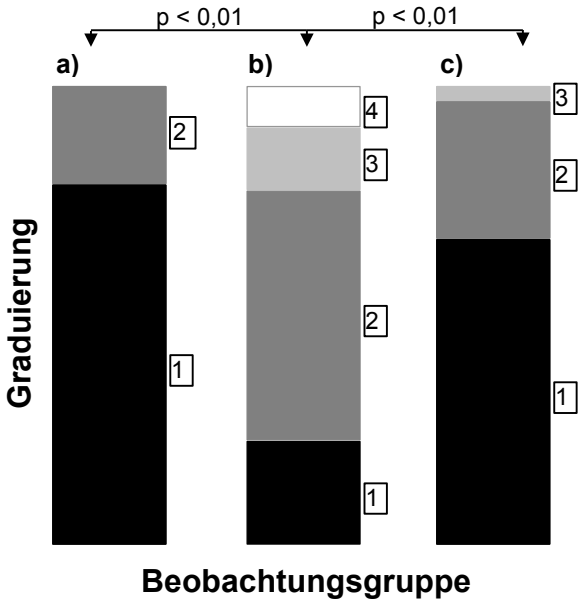


Abbildung 3.7: Relative Häufigkeiten - Perivaskuläre Veränderungen im Gruppenvergleich.

Erläuterungen:
Eine Balkenhöhe entspricht 100 %. Einzelwerte gehen aus Tabelle 3.4 hervor. Der 3-Gruppenunterschied im Kruskal-Wallis-Test ergab ein $p < 0,01$.

a) Kontrollgruppe
b) Chronische Dialysepatienten
c) Urämische Patienten

Bei näherer Betrachtung der Gruppe der chronischen Dialysepatienten fiel auf, dass sich nach der Einteilung gemäß des Icodextrin-Loads im Regime, bei dem 14 Patienten Icodextrin im langen Intervall und acht keines erhielten, ein signifikanter Gruppenunterschied ($p < 0,05$) ergab, der in Abbildung 3.8 dargestellt ist. Gemäß der statistischen sowie grafischen Auswertung zeigen sich bei Patienten mit Icodextrin im Regime signifikant vermehrt perivaskuläre Ablagerungen als bei der Vergleichsgruppe.

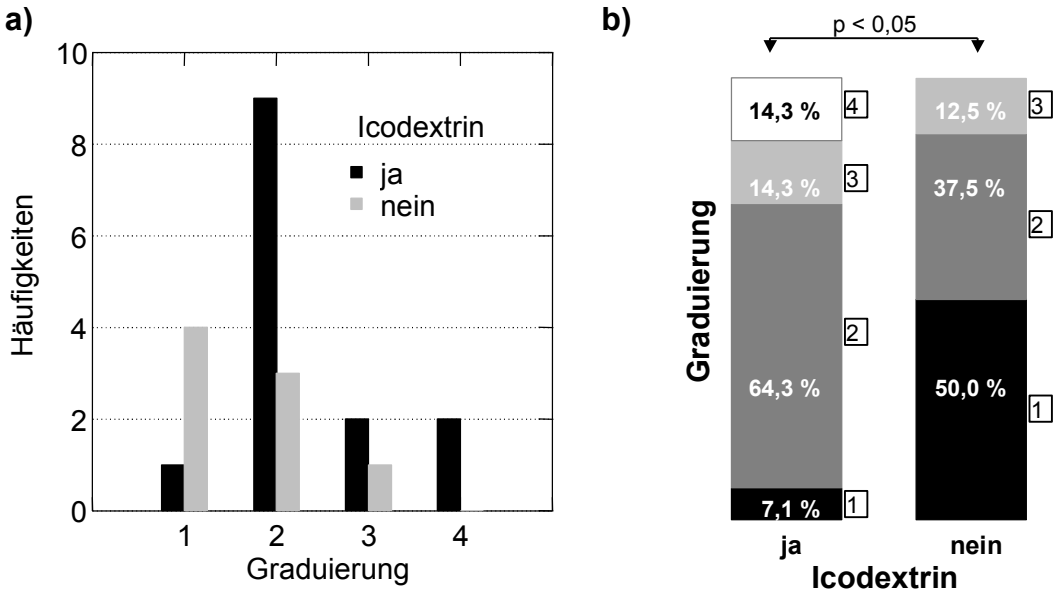


Abbildung 3.8: Icodextrin im Regime – Absolute **a)** und relative Häufigkeiten **b)** - Perivaskuläre Veränderungen mit Gruppenzuordnung.

Erläuterungen: Grad 1 = Subendotheliale hyaline Ablagerungen < 7 µm Dicke, Grad 2 = Subendotheliale hyaline Ablagerungen > 7 µm Dicke, Grad 3 = Deutliche Verschmälerung und Verzerrung des Gefäßlumens, Grad 4 = Vollständiger Verschluss des Gefäßlumens
Relative Häufigkeiten [%] sind in Graph b) eingebunden.

3.1.3.2. Relative Gefäßfläche (RGF)

Die Auswertung der relativen Gefäßfläche (RGF) ergab sowohl im 3-Gruppenvergleich als auch im Subgruppenvergleich der chronischen Dialysepatienten keine signifikanten Unterschiede (Abb. 3.9). Aufgrund der Streuung der Daten wurde die Darstellung mittels Medians und des Interquartilen-Abstandes (IQA) gewählt.

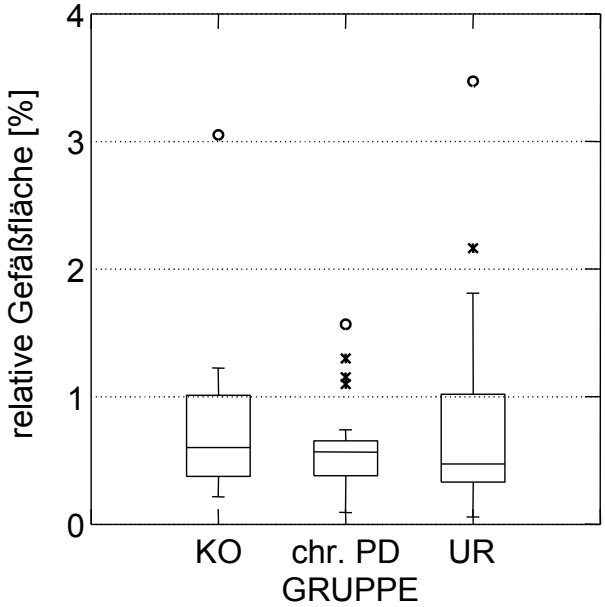


Abbildung 3.9: Relative Gefäßfläche (RGF) in % im Gruppenvergleich (Median / IQA).

Erläuterungen:
KO = Kontrollgruppe; chr. PD = chronische Dialysepatienten; UR = Gruppe der urämischen Patienten vor Beginn der PD.

Median [%]/ IQA [%]:
KO: 0,60 / 0,38 bis 1,01; **chr. PD**: 0,57 / 0,38 bis 0,65; **UR**: 0,47 / 0,33 bis 1,02

*: oberhalb des 1,5fachen Quartilenabstandes vom oberen Rand der Box
°: oberhalb des 3fachen Quartilenabstandes vom oberen Rand der Box

3.1.3.3. Relative Gefäßanzahl pro Fläche (RGAF)

Wie bei der Beurteilung der relativen Gefäßfläche (RGF), ergab sich auch bei der Beurteilung der relativen Gefäßanzahl pro Flächeneinheit weder ein signifikanter Unterschied zwischen den drei Hauptgruppen, noch innerhalb der Gruppe der chronischen Dialysepatienten nach Einteilung in die aus Tabelle 2.6 ersichtlichen Merkmale (Abb. 3.10). Wie bei der Darstellung der RGF wurde auch hier die Darstellung der Ergebnisse durch den Median mit Interquartilen-Abstand bevorzugt.

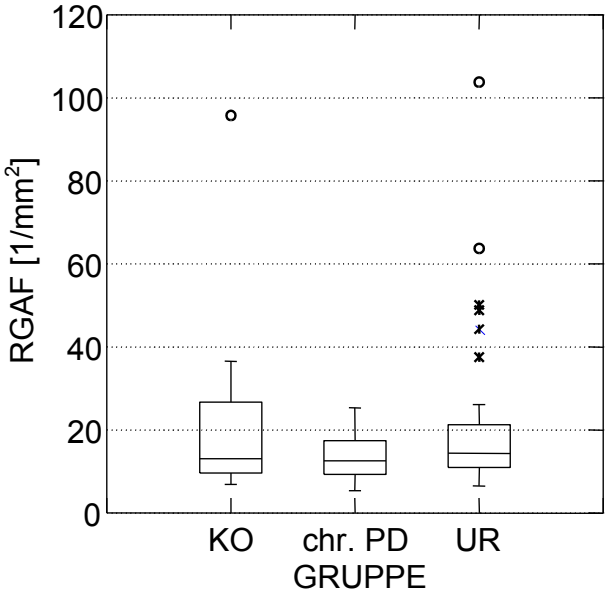


Abbildung 3.10: Relative Gefäßanzahl (RGAF) pro Präparatfläche (RGAF) im Gruppenvergleich (Median / IQA).

Erläuterungen:
KO = Kontrollgruppe; chr. PD = chronische Dialysepatienten; UR = Gruppe der urämischen Patienten vor Beginn der PD.

Median [1/mm²]/ IQA [1/mm²]:
KO: 13 / 10 bis 27; **chr. PD**: 13 / 9 bis 17;
UR: 14 / 11 bis 21
*: oberhalb des 1,5fachen Quartilenabstandes vom oberen Rand der Box
°: oberhalb des 3fachen Quartilenabstandes vom oberen Rand der Box

3.1.3.4. Relative Gefäßanzahl pro Länge der peritonealen Oberfläche (RGAL)

Die Untersuchung der RGAL ergab mit dem Kruskal-Wallis-Test einen signifikanten Unterschied von $p < 0{,}01$ zwischen Kontrollgruppe, dem Patientenkollektiv unter chronischer Peritonealdialyse und der Gruppe der urämischen Patienten vor PD (Tab.3.5).
Bei näherer Betrachtung ließen sich zwischen allen Gruppen signifikante Unterschiede feststellen (Abb. 3.11). Die Patienten unter chronischer Peritonealdialyse zeigten im Vergleich zu den beiden Vergleichsgruppen eine signifikant größere relative Gefäßanzahl pro Länge der peritonealen Oberfläche. Die grafische sowie statistische Auswertung der Daten zeigte beim Vergleich der Kontrollgruppe mit der der urämischen Patienten vor Dialyse eine signifikant höhere RGAL für die Gruppe der urämischen Patienten.

Grafisch wurden die Ergebnisse durch den Mittelwert ± STD sowie den Median mit Interquartilen-Abstand dargestellt.

Tabelle 3.5: Ergebnisse der Beurteilung der relativen Gefäßanzahl pro Länge der peritonealen Oberfläche (Mittelwert ± STD; Median / IQA).

Gruppe	*N*	*Mittelwert ± STD*	*Median / IQA [25 % bis 75 %]*
Kontrollgruppe	14	3,2 ± 1,4	3,1 / 2,1 bis 4,0
Chron. Dialysepatienten	22	8,1 ± 4,2	6,4 / 5,3 bis 9,3
Urämiepatienten	30	5,0 ± 2,2	4,8 / 3,0 bis 6,5

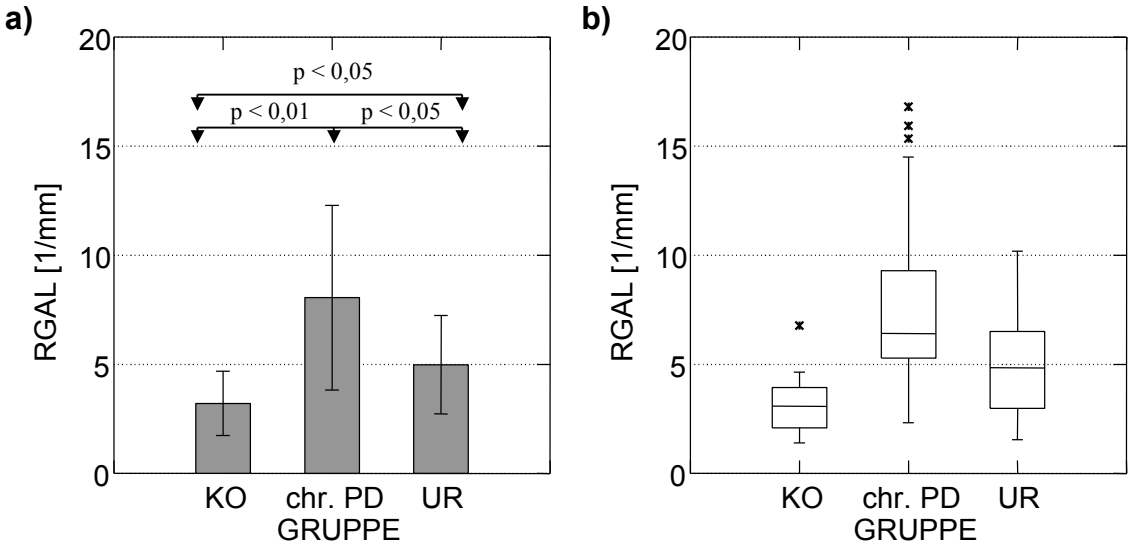


Abbildung 3.11: Darstellung der relativen Gefäßanzahl pro Länge der peritonealen Oberfläche (RGAL). **a)** $\bar{x}$ ± STD **b)** Median / IQA.

Erläuterungen: KO = Kontrollgruppe; chr. PD = chronische Dialysepatienten; UR = Gruppe der urämischen Patienten vor Beginn der PD
Die Signifikanzen werden zur besseren Übersichtlichkeit nur in Graph **a)** angegeben.
*: Werte oberhalb des 1,5fachen Quartilenabstandes vom oberen Rand der Box für KO und chr. PD.

Die Gruppe der chronischen Dialysepatienten ließ sich wie bereits oben beschrieben, auch in diesem Fall wieder in Subgruppen einteilen, innerhalb derer sich keine signifikanten Gruppenunterschiede abzeichneten.

3.2. Einfluss der Dialysate auf die Morphologie des Peritoneums

Unterteilt man die in der Gruppe der Dialysepatienten verwendeten Dialysate bezüglich ihrer Eigenschaften (Patienten mit physiologischen vs. unphysiologischen Dialysaten), so ergibt sich kein signifikanter Gruppenunterschied im Hinblick auf die untersuchten morphologischen Eigenschaften des Peritoneums (Tab. 3.6). Ebenso ergaben sich diesbezüglich keine signifikanten Gruppenunterschiede im Hinblick auf Dialysat-Menge, Dialysedauer oder Glucose-Load. Aufgrund der geringen Anzahl an Patienten mit physiologischen Dialysaten und der Heterogenität des Patientengutes im Bezug auf Dialysat-Menge, PD-Dauer und Glukosebelastung, wurde auf ein nachträgliches Matching (paired matching) für die eben aufgeführten Parameter verzichtet.

Tabelle 3.6: Morphologische Veränderungen und Eigenschaften der Dialysate.

	Physiologische Dialysate[1)]	Unphysiologische Dialysate[1)]	
Patienten	8	18	***p***[(*)]
Dialysat-Menge [$\bar{x}$ ± STD; * 10^6 l]	39,85 ± 24,82	26,05 ± 23,62	*n.s.*
PD-Dauer [$\bar{x}$ ± STD; Monate]	61 ± 28	48 ± 32	
Glucose-LOAD [$\bar{x}$ ± STD; kg]	855 ± 682	480 ± 390	
Morphologie			
Mesothel (Grad 0 / 0,5 / 1)	3/4/1	4/13/1	*n.s.*
Submesoth. Fibrose [$\bar{x}$ ± STD; µm]	414 ± 222	407 ± 221	
Gefäßparameter			
Patienten[2)]	8	14	***p***[(*)]
Hist-VAS (Grad 1/2/3/4)	0/5/1/2	5/7/2/0	*n.s.*
RGF [$\bar{x}$ ± STD; %]	0,66 ± 0,46	0,58 ± 0,33	
RGAF [$\bar{x}$ ± STD; 1/mm^2]	13,32 ± 5,78	13,51 ± 5,6	
RGAL [$\bar{x}$ ± STD; 1/mm]	7,96 ± 3,31	8,1 ± 4,69	

[1)] Physiologische/Unphysiologische Dialysate siehe Tabelle 2.6
[2)] Ausschluss der Patienten mit Diabetes Mellitus/Vaskulitis.
[(*)] n.s. = nicht signifikant im Mann-Whitney-U-Test

3.3. Korrelationsanalyse

Die Korrelationsanalyse vollzog sich in zwei Schritten. Zunächst wurden die histologischen Parameter in allen drei Untersuchungsgruppen auf Korrelation untersucht, was in Tabelle 3.7 dargestellt ist. Diesem Schritt schloss sich die Untersuchung der Dialysegruppe im Hinblick auf Korrelation zwischen den histologischen Parametern und den klinischen Patientendaten, wie Labor, Dialyseeffektivitätsprüfung, PET, Glucose-Load, Dialysat-Menge und PD-Dauer an (Tab. 3.8).

Tabelle 3.7: Korrelationskoeffizienten (r) für alle Untersuchungsgruppen.

Dialysepatienten						
	Meso	Fibrose	Hist-VAS	RGF	RGAF	RGAL
Meso	1.000					
Fibrose	-0.149	1.000				
Hist-VAS	0.066	0.005	1.000			
RGF	0.228	0.211	-0.113	1.000		
RGAF	-0.449	-0.244	-0.021	0.067	1.000	
RGAL	-0.252	0.350	0.194	0.435	0.423	1.000
Urämiegruppe						
	Meso	Fibrose	Hist-VAS	RGF	RGAF	RGAL
Meso	1.000					
Fibrose	-0.317	1.000				
Hist-VAS	-0.170	0.167	1.000			
RGF	-0.035	-0.255	-0.011	1.000		
RGAF	-0.217	-0.652 $^{p<0,01}$	-0.139	0.591 $^{p<0,01}$	1.000	
RGAL	-0.144	0.459 $^{(p<0,05)}$	0.334	0.258	-0.043	1.000
Kontrollgruppe						
	Meso	Fibrose	Hist-VAS	RGF	RGAF	RGAL
Meso	1.000					
Fibrose	-0.166	1.000				
Hist-VAS	0.026	0.022	1.000			
RGF	-0.092	0.086	0.194	1.000		
RGAF	0.536 $^{p<0,05}$	-0.714 $^{p<0,01}$	0.108	-0.011	1.000	
RGAL	-0.203	0.499	0.108	0.402	-0.209	1.000

Erläuterungen: Korrelation $\Rightarrow r \geq 0,5$ ($\alpha = 0,05$)
Meso: Intaktheit der mesothelialen Zellschicht; **Fibrose**: submesotheliale Gewebevermehrung; **Hist-VAS**: Ausmaß perivaskulärer Veränderungen; RGF, RGAF und RGAL siehe Tabelle 2.1.

Signifikante Zusammenhänge ergaben sich bei Betrachtung der histologischen Daten innerhalb der drei Gruppen lediglich für RGAF/Fibrose ($r = -0.652$ / $p < 0,01$) und RGAF/RGF ($r = 0.591$ / $p < 0,01$) in der Gruppe der urämischen Patienten sowie für RGAF/MESO ($r = 0,536$ / $p < 0,01$) und RGAF/Fibrose ($r = -0.714$ / $p < 0,01$) in der Kontrollgruppe.

Tabelle 3.8: Korrelationskoeffizienten (r) - Dialysegruppe.						
	Meso	Fibrose	Hist-VAS	RGF	RGAF	RGAL
Labor						
Serum-Kreatinin	0.072	-0.089	0.106	-0.126	0.046	0.120
HbA1c	-0.116	-0.028	-0.287	0.050	-0.042	-0.132
Hämoglobin	0.243	-0.095	-0.161	-0.004	-0.212	-0.147
C-reaktive Protein	0.132	0.044	0.233	-0.269	-0.061	-0.067
Parathormon	0.146	-0.011	-0.185	0.199	0.004	0.075
CA125 im Dial.	-0.125	0.240	-0.405	-0.289	0.209	-0.154
DP						
Krea-Cl. [l/Wo]	-0.237	0.175	0.068	-0.162	0.120	0.031
Kreatinin-Cl:						
renale [ml/min]	-0.109	-0.095	-0.282	-0.116	0.033	-0.342
nPCR	0.198	-0.102	-0.273	0.355	-0.165	-0.144
Kt/V	-0.118	0.203	-0.053	-0.001	-0.080	-0.079
PET						
TCUF 240 Min.	0.344	-0.305	-0.117	0.262	-0.081	-0.234
AQ1-UF	0.069	-0.080	0.436	0.030	0.133	0.255
eff.-UF – 240 Min	0.180	-0.350	-0.350	0.121	0.053	-0.200
D/Pratio (Krea)	-0.573 $^{p<0,01}$	0.488	0.176	-0.258	-0.070	0.021
Dialysedauer	-0.036	0.203	0.130	0.030	0.135	0.385
Dialysat-Menge	-0.068	0.246	0.232	0.074	0.168	0.453
Glucose-Load	-0.087	0.237	0.330	0.068	0.200	0.518 $^{p<0,05}$

Erläuterungen: Die Einheiten und Erklärungen zu Labor, DP (Dialyseeffektivitätsprüfung), PET (Peritoneal-Äquilibrationstest), Dialysedauer, Dialysat-Menge und Glucose-Load sind ausführlich dem Kapitel 2.3 „*Patientendaten*“ zu entnehmen.
Meso: Intaktheit der mesothelialen Zellschicht; **Fibrose**: submesotheliale Gewebevermehrung; **Hist-VAS**: Ausmaß perivaskulärer Veränderungen; RGF, RGAF und RGAL siehe Tabelle 2.1.

Ein signifikanter negativer Zusammenhang ergab sich im Hinblick auf den durchgeführten PET zwischen dem Erhalt der mesothelialen Schicht und dem Dialysat- zu Plasma-Ratio für Kreatinin ($r = -0.573$ / $p < 0,01$).

Bei Betrachtung der Dialysedauer, der Dialysat-Menge und des Glucose-Loads im Bezug auf morphologische Veränderungen, fiel lediglich ein positiver Korrelationskoeffizient für den Glucose-Load zu RGAL ($r = 0,518$ / $p < 0,05$) auf. Letzteres ist in Abbildung 3.12 grafisch dargestellt.

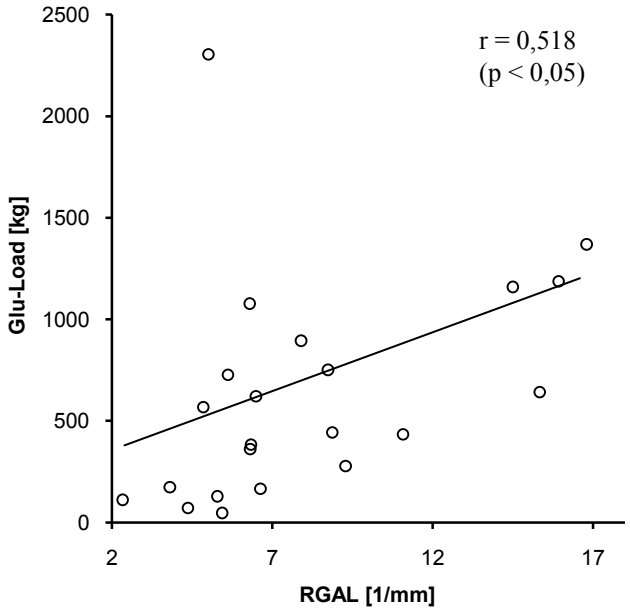


Abbildung 3.12: Spearman-Rang-Korrelation: Relative Gefäßanzahl pro Länge peritonealer Oberfläche (RGAL) und Glukose-Menge (Glu-Load).

3.4. Einzelfalldarstellung

In der Einzelfalldarstellung erfolgt die Vorstellung derjenigen Patienten, welche mehr als eine Biopsie hatten und eine Peritonitis zum Zeitpunkt der Intervention ausgeschlossen werden konnte.

In Tabelle 3.9 sind fünf Patienten vorgestellt mit jeweils zwei Biopsiezeitpunkten. Zwei der Patienten führten zum Zeitpunkt der ersten Biopsie bereits 28 und 59 Monate Peritonealdialyse durch (Tab. 3.10).

Alle Patienten führten nach der Anlage des ersten Katheters chronische Cycler-Peritonealdialyse (CCPD) durch und erhielten Dianeal® gemeinsam mit Icodextrin im langen Intervall als Dialysat. Eine Vaskulitis als Ursache der Niereninsuffizienz lag bei allen Patienten nicht vor.

Tabelle 3.9: Anthropometrische und klinische Daten zum Zeitpunkt der ersten Biopsie.

Patient	*Alter [Jahre]*	*Größe [cm]*	*Gewicht* 1. BZP/2.BZP [kg]*	*Geschlecht***	*Diabetes M.*
Pat. A	29	170	52,2 / 52	w	nein
Pat. B	31	168	82 / 82,3	m	nein
Pat. C	48	160	54,7 / 68	w	ja
Pat. D	54	166	58,4 / 58,4	w	nein
Pat. E	50	156	60,2 / 51,2	w	nein

Erläuterungen:
*) Die Angaben in der Spalte '*Gewicht*' wurden für den ersten und zweiten Biopsiezeitpunkt (BZP) dargestellt.
**) weiblich (w), männlich (m)

Neben den histologischen Daten wird versucht mittels der zur Verfügung stehenden Laborparameter und der Daten des PETs ein umfassendes Bild der Patienten zu den beiden Biopsiezeitpunkten darzustellen (Tab. 3.9 & 3.10). Aufgrund der geringen Patientenzahl wurde in diesem Kapitel auf eine statistische Auswertung der Daten verzichtet.

Tabelle 3.10: Darstellung der anamnestischen, histologischen und PET-Daten (ohne Diabetes Mellitus).

Patienten	*A*		*B*		*D*		*E*	
Parameter BZP*	1.	2.	1.	2.	1.	2.	1.	2.
D/Pratio Kreatinin [%]	-	65	91	83	78	-	-	66
PD-Dauer [Monate]	0	11	59	76	28	52	0	13
Glucose-Load [kg]	0	71	927	1187	443	821	0	174
Hist-MESO [0/0,5/1]	0,5	0,5	0,5	0	0,5	0	0,5	0,5
Hist-Fibrose [µm]	590	403	203	593	757	320	430	247
Hist-VAS [1/2/3/4]	1	1	2	2	2	2	3	2
RGF [%]	0,7	0,73	0,28	0,62	0,59	0,46	0,27	0,2
RGAF [1/mm^2]	16,0	8,6	9,8	19,7	9,7	22,1	5,3	8,6
RGAL [1/mm]	11,2	4,4	4,9	16,0	8,9	3,9	3,6	3,8
ACE-Hemmer	1	1	1	1	0	0	1	0
Immunsuppression	0	0	0	0	1	1	1	1
Peritonitiden [Anzahl]	0	1	0	2	0	4	0	1

Erläuterungen: *) BZP = Biopsiezeitpunkt; PD-Dauer: errechnet bis zum 1. oder 2. BZP;
Hist-MESO: Beurteilung der mesothelialen Zellschicht; Hist-Fibrose: Ausmaß der submesothelialen Fibrose; Hist-VAS: perivaskuläre Veränderungen; RGF, RGAF und RGAL siehe Tabelle 2.1.

Die Darstellung der Diabetespatientin (Pat. C) erfolgt in Tabelle 3.11, wobei hier auf die histologischen Gefäßparameter (perivaskuläre Veränderungen – Hist-VAS; relative Gefäßfläche – RGF; relative Gefäßanzahl pro Fläche – RGAF; relative Gefäßanzahl pro Länge der peritonealen Oberfläche – RGAL) verzichtet wird. Die Patientin erhielt vor und während der Dialyse ACE-Hemmer und wurde im Rahmen einer Leichennierentransplantation, 13 Jahre vor Aufnahme der Peritonealdialyse, immunsupprimiert. Die Dialysepflichtigkeit entstand nach chronischer Transplantatabstoßung. Im Dialysezeitraum von 14 Monaten entwickelte sich bei der Patientin keine Peritonitis.

Tabelle 3.11: Darstellung der histologischen, PET- und Laborparameter von Pat. C (Diabetiker).

Pat. C	*HBA1c [%]*	*D/Pratio-Kreatinin [%]*	*Glucose-Load [kg]*	*Hist-MESO [0/0,5/1]*	*Hist-Fibrose [µm]*
1. BZP*	6,2	-	0	0,5	213
2. BZP*	5,7	75	136	0,5	440

Erläuterungen: *) BZP = Biopsiezeitpunkt;
Hist-MESO: Beurteilung der mesothelialen Zellschicht; Hist-Fibrose: Ausmaß der submesothelialen Fibrose

4. Diskussion

Die Ursachen der dialysepflichtigen Niereninsuffizienz sind mannigfaltig, wobei dem Diabetes Mellitus Typ II heutzutage die größte Bedeutung zukommt. Es stehen im Rahmen der Nierenersatzverfahren die Hämodialyse sowie die Peritonealdialyse als mittlerweile gleichwertige Verfahren nebeneinander, von denen letztere je nach Land (siehe Tab. 1.1) einen Anteil zwischen 3,5 und 27 % einnimmt. Die Entscheidung, welcher Patient welchem Verfahren zugewiesen wird, hängt im wesentlichen von nicht-medizinischen Aspekten ab, was vor allem an den unterschiedlichen Gesundheitssystemstrukturen der Länder liegt.

Das Prinzip der Peritonealdialyse basiert auf den Vorgängen der Diffusion, der Osmose, des konvektiven Stofftransports sowie der Flüssigkeitsrückresorption. Als Membran dient vor allem das parietale Peritoneum, das zunächst aus einer einschichtigen mesothelialen Zellschicht, welche auf einer Basalmembran aufgelagert ist, besteht. Dieser dünnen Zellschicht schließt sich das submesotheliale Gerüst aus Bindegewebe variabler Dicke mit darin befindlichen Zellen, insbesondere des Monozyten-Makrophagen-Systems und zahlreichen Blut-, Lymphgefäßen und Nervenfasern an.

Das bereits seit dem Ende des 19. Jahrhunderts bekannte Prinzip des Stoff- und Flüssigkeitsaustausches über die peritoneale Membran erfuhr seinen Aufschwung mit der Einführung des in den 60er Jahren entwickelten Tenckhoff-Katheters, der es erlaubte einen kontinuierlichen Zugang zum Peritoneum herzustellen. Ab diesem Zeitpunkt schritt die Weiterentwicklung dieser Dialysemethode stetig voran und es liegen mittlerweile einige Verfahren vor, welche vor allem in rein manuelle (z. B. CAPD) und automatisierte Verfahren (z. B. APD) unterschieden werden (Literaturquellen siehe Kapitel I - Einleitung).

Die vorliegende Arbeit zum Thema Peritonealdialyse befasst sich mit den lichtmikroskopisch fassbaren Veränderungen des parietalen Peritoneums mit besonderem Augenmerk auf den Erhalt der mesothelialen Zellschicht, der Dicke der submesothelialen Fibrose und der Beurteilung der im submesothelialen Stroma gelegenen Gefäßbündel im Hinblick auf Anzahl und Gefäßlumen. Es lagen weiterhin zahlreiche klinische sowie funktionelle Daten zur peritonealen Membran vor, welche nach beendeter histologischer Beurteilung im Rahmen der statistischen Auswertung Beachtung fanden.

Die erste Schicht des parietalen Peritoneums bildet das **Mesothel,** dessen Hauptaufgaben vor allem darin liegen, als Schutz- und Verschiebeschicht, der Antigenpräsentation und der Initiation und Beendigung von Entzündungs- und Gewebe-Reparatur-Mechanismen zu dienen (Mutsaers 2004).
Bereits in älteren Studien konnten bei PD-Patienten lichtmikroskopische Veränderungen in Form des vollständigen Verlustes der mesothelialen Zellschicht festgestellt werden, was sich in neueren Arbeiten sowie der hier vorliegenden bestätigen ließ (Di Paolo et al. 1986; Honda et al. 1996; Williams et al. 2003). Im Drei-Gruppenvergleich der vorliegenden Arbeit konnte gezeigt werden, dass chronische PD im Vergleich zu urämischen Patienten vor Dialyse sowie zu nicht urämischen Patienten zu einem signifikanten Verlust der mesothelialen Zellschicht führt. Interessanterweise zeigte die Subgruppenanalyse innerhalb der Gruppe der chronischen Peritonealdialysepatienten im Hinblick auf die Zuordnung gemäß der D/Pratio für Kreatinin einen signifikant stärkeren Verlust des Mesothels bei den Patienten mit einer D/Pratio von ≥ 66 %, worauf zu einem späteren Zeitpunkt näher eingegangen wird. Darüber hinausgehende Unterschiede zwischen Langzeit- und Kurzzeit-PD, Regime und Dialysate fanden sich nicht.

Allerdings ist es wichtig nicht nur lichtmikroskopische Veränderungen, bei der Beurteilung der mesothelialen Zellschicht zu betrachten, sondern auch elektronenmikroskopisch fassbare. So haben Fang et al. 2004 deutliche elektronenmikroskopische Veränderungen in Form der Reduktion des Besatzes mit Microvilli und der zunehmenden Loslösung von der Basalmembran feststellen können, was in einigen Bereichen einen vollständigen Verlust der mesothelialen Zellschicht zur Folge hatte. Neben den elektronenmikroskopischen Veränderung im Bereich der Microvilli mit zum Teil vollständigem Verlust, konnte schon früh damit einhergehend eine Zunahme der Zellgröße infolge der Vermehrung intrazytoplasmatischer Organellen, vor allem des rauen endoplasmatischen Retikulums (RER) nachgewiesen werden (Dobbie 1989). Mögliche Ursachen für diese Veränderungen konnten von Gotloib und Shostak 1996 im Rahmen von Tierexperimenten ausgearbeitet werden. So wurden die Veränderungen im Bereich der Microvilli vor allem bei unphysiologischen pH-Werten der Dialysate beobachtet. Hohe Glukosekonzentrationen führten hingegen zur Ausbildung großer Zellen mit Vermehrung insbesondere des RER. In der vorliegenden Arbeit liegt es nahe anzunehmen, dass neben anderen Faktoren, die hohe Glukosebelastung während der PD an der signifikanten Reduktion der mesothelialen Zellschicht bei PD-Patienten beteiligt war, wobei sich jedoch weder Gruppenunterschiede

im Bezug auf die Menge der zugeführten Glukose, noch im Rahmen des Vorhandenseins von Icodextrin im Regime gezeigt haben. Wie Glukose die mesotheliale Zellschicht schädigt, und ob Glukose per se für die Veränderungen am Mesothel verantwortlich gemacht werden kann, ist aus der derzeitigen Literatur nicht eindeutig ersichtlich.

Einigkeit besteht jedoch darin, dass die das Mesothel schädigende Ablagerungen von AGEs (Advanced Glycosylation-End-Products), welche durch die nicht enzymatische Glykosylierung freier Aminosäureendigungen (Maillard-Reaktion) zustande kommen (Brownlee et al. 1988; Eble et al. 1983), mit hohen Glukosemengen in Zusammenhang gebracht werden können (Yamada et al. 1994).

Neben dem hohen Glucose-Load spielen jedoch mit großer Wahrscheinlichkeit die Akkumulation von Glukosedegradationsprodukten (GDPs), wie sie bei der Hitzesterilisation der Dialysate entstehen, eine vermutlich größere Rolle bei der Degeneration der mesothelialen Zellschicht, wie es Musi et al. 2004 im Tierexperiment mit männlichen Sprague-Dawley-Ratten bei Dialysaten mit hohem Anteil an GDPs beobachten konnten. Nach einer Arbeit von Morgan et al. 2003 sind GDPs (Formaldehyd und 3,4-di-desoxyglucosone-3-ene: 3,4-DGE) sogar wesentlicher an der gestörten Regeneration der mesothelialen Zellschicht beteiligt, als eine hohe Glukosebelastung alleine. Unklar ist jedoch, wie GDPs in vivo die mesotheliale Zellschicht beeinflussen, da bislang vor allem Zellkulturstudien zur Beurteilung der zytotoxischen Effekte untersucht wurden.

So fanden Okabe et al. 2004 einen synergistischen Effekt von GDPs und einem sauren Milieu im Dialysat nach 4stündiger Inkubation kultivierter humaner Mesothelzellen, was zu einer reduzierten Lebensfähigkeit derselben führte. Vermutet wird von den Autoren ein zytotoxischer Effekt auf Membranproteine der Mesothelzellen, wodurch es zur größeren Durchlässigkeit der Membran mit zunehmender Anlagerung von GDPs an intrazelluläre Amino- und Ribonukleinsäuren kommt, was letztendlich für den vorzeitigen Zelluntergang verantwortlich sein soll.

Ein weiterer Effekt mit dem sich GDPs negativ auf die Intaktheit der mesothelialen Zellschicht auswirken, ist die, wie in der Zellkultur bestätigte Überexpression von AGE-Rezeptoren (RAGE) innerhalb des Mesothels (Lai et al. 2004). Gleichzeitig konnte die oben genannte Forschergruppe nachweisen, dass Glukose alleine zu keiner signifikanten RAGE-Expression führt.

Allerdings stellten Williams et al. 2003 fest, dass die Peritonealdialyse alleine nicht für die morphologisch fassbaren Veränderungen verantwortlich sein kann, da sich bereits bei urämischen Patienten Zellverluste innerhalb des Mesothels einstellen, die jedoch in der

vorliegenden Arbeit nur tendenziell in Erscheinung traten. Somit liegt die Vermutung nahe, dass schon die Urämie die Gefahr mit sich bringt, die mesotheliale Zellschicht zu schädigen und in den oben dargelegten Funktionen zu stören. Der Mechanismus, der hinter dieser zellschädigenden Wirkung der Urämie steht, wird wiederum vor allem der Ablagerung von AGEs zugeschrieben (Henle und Miyata 2003; De Vriese 2005). Zum einen wird die durch die Niereninsuffizienz reduzierte Clearance von AGEs für deren Akkumulation im Körper verantwortlich gemacht, da diese vorwiegend über die Niere ausgeschieden werden. Zum anderen sehen Henle und Miyata die reduzierte AGE-Clearance jedoch nicht als zentralen Faktor an, sondern postulieren vielmehr drei für sie wesentlichere Mechanismen die zur vermehrten Ansammlung von AGEs im Rahmen einer Urämie führen. Hier sind zum einen die Zunahme an oxidativem Stress, die reduzierte Ausscheidung reaktiver Carbonyl-Vorstufen für AGEs und die dadurch resultierende Zunahme an reaktiven Carbonyl-Komponenten im Körper zu nennen (Henle und Miyata 2003).

Die das Mesothel schädigende Wirkung von AGEs kann anhand der molekularbiologischen Arbeiten von Boulanger et al. 2002 mit deren proinflammatorischem Effekt erklärt werden. So zeigte die Arbeitsgruppe im Rahmen von Zellkulturstudien, dass es infolge der AGE-RAGE-Interaktion zur vermehrten Expression von VCAM-1 (Vascular Cell Adhesion Molecule) kommt, das die Adhäsion von Blutleukozyten an mesotheliale Zellen fördert. Neben der VCAM-1-Expression entstehen zusätzlich vermehrt reaktive Sauerstoff-Moleküle, die die Entzündungsreaktion unterhalten.

Die Reduktion der mesothelialen Zellschicht konnte in der vorliegenden Arbeit mit einem signifikant erhöhten kleinmolekularen peritonealen Stofftransport, gemessen an der D/Pratio für Kreatinin, in Zusammenhang gebracht werden. Dieser Zusammenhang ließ sich zum einen im Subgruppenvergleich wie auch in der Korrelationsanalyse bestätigen ($r = -0{,}573$; $p < 0{,}01$). Da das Mesothel keine eigenständige Barrierefunktion übernimmt, müssen molekulare Veränderungen für die Veränderung des kleinmolekularen Stofftransports erwogen werden. Anzunehmen ist, dass vor allem der Mechanismus der als epithelial zu mesenchymalem Übergang von Mesothelzellen (epithelial mesenchymal transition - EMT) beschrieben wird und vor allem unter chronischer Peritonealdialyse auftritt, eine Rolle spielt. Dies würde zum einen den Verlust der Zellen im Zellverband

erklären. Zum anderen konnte in In-vitro-Studien gezeigt werden, dass diese transformierten Zellen eine Hauptquelle für VEGF (vascular endothelial growth factor) bieten (Aroeira et al. 2005). Die Funktion von VEGF wird im Zusammenhang mit dem Stofftransport und der Angiogenese noch einmal aufgegriffen.

Einschränkend sollte jedoch darauf hingewiesen werden, dass vor allem die Ergebnisse der Gruppe der Urämiepatienten vor PD nicht überinterpretiert werden darf, da es sich, wie bereits erwähnt, beim Mesothel um eine sehr dünne und vor allem gegen äußere Einflüsse wie Druck oder Lufttrockenheit sehr anfällige Struktur handelt. So zeigten von Ruhland et al. 2003, dass bereits bei leichtem Druck, wie er bei Operationen regelmäßig stattfindet und bei der Exposition des Biopsates an Luft von mehr als fünf Minuten, Veränderungen stattfinden, welche auch als pathologische Erscheinungen fehl interpretiert werden können. Somit besteht in der vorliegenden Arbeit durchaus auch die Möglichkeit, dass trotz größter Sorgfalt bei der Probenentnahme Traumata stattfanden, die bei der lichtmikroskopischen Beurteilung der mesothelialen Zellschicht fälschlicherweise als Pathologie angesehen wurden.

Veränderungen der **submesothelialen Schicht** hingegen sind wesentlich weniger anfällig gegenüber dem operativen Vorgehen. Außerdem wurde das Biopsat in dieser Untersuchung nach der Entnahme sofort auf Korkplatten fixiert und somit früh einer zunehmenden Umstrukturierung des kollagenen und elastischen Bindegewebes entgegengewirkt. Wie bereits in zahlreichen Publikationen beschrieben und auch in dieser Arbeit signifikant bestätigt, weist das parietale Peritoneum bei länger andauernder Peritonealdialyse eine Zunahme des submesothelialen Bindegewebes auf (Di Paolo und Garosi 1999; Plum et al. 2001; Williams et al. 2002). Allerdings muss festgehalten werden, dass einige Autoren zwischen verschiedenen Arten submesothelialer Fibrose unterscheiden. So beschreiben Garosi und Di Paolo 2001, dass einfache Fibrose zwischen 40-50 µm stattfindet und diese lediglich überschritten wird, wenn die Dickenzunahme in eine lebensbedrohliche sklerosierende Peritonitis mündet. Rubin et al. 1991 beschreiben sogar eine Dickenzunahme von weniger als 20 µm bei 11 von insgesamt 16 Biopsien chronischer Dialysepatienten. Untersuchungen von Williams und Mitarbeitern ergaben allerdings eine mit einem Median von 700 µm weitaus größere submesotheliale Gewebevermehrung bei PD-Patienten. Beim Vergleich der urämischen Patienten vor PD mit den Ergebnissen der oben zitierten Arbeitsgruppe fällt nahezu Übereinstimmung

bezüglich der submesothelialen Bindegewebsvermehrung auf (Williams et al. 2002). Lediglich die Kontrollgruppe (nicht urämische Patienten) vermag im Vergleich zur Mehrzahl der veröffentlichten Studien eine wesentlich breitere Zone submesothelialen Bindegewebes aufzuweisen. Der vorliegende Mittelwert deckt sich am ehesten mit der Arbeit von Plum und Mitarbeitern, welche einen Mittelwert von 327 µm für die Kontrollgruppe fanden (Plum et al. 2001). Dieser Befund wurde von Williams und Mitarbeitern bereits kritisch hinterfragt und darauf hingewiesen, dass, wie es auch in der hiesigen Arbeit der Fall war, ein elektiver abdominaler Eingriff immer die Unsicherheit mit sich bringt, dass eventuell bereits im Vorfeld der Biopsie peritoneale Reizungen stattgefunden haben, die das Biopsieergebnis beeinflussen können (Williams et al. 2002). Dieser Aspekt ist nicht zu vernachlässigen, zudem sich im Hinblick auf den Vergleich der Kontrollgruppe mit der Gruppe der chronischen Dialysepatienten, wider Erwarten, kein signifikanter Gruppenunterschied ergeben hat, was bei den oben zitierten Studien der Fall war. Problematisch ist es immer, vor allem aus ethischer Sicht, eine Peritonealbiopsie am gesunden Menschen durchzuführen. Williams und Mitarbeiter haben sich 2002 dafür entschieden, gesunde Nierenspender mit deren Einwilligung zu biopsieren. In Folgestudien zu der vorliegenden sollte über ein ähnliches Vorgehen nachgedacht werden. Dies würde zu einem späteren Zeitpunkt sogar einen Vergleich mit der jetzigen Kontrollgruppe ermöglich, um den Einfluss eines elektiven Eingriffes auf das parietale Peritoneum besser untersuchen zu können.

Die pathophysiologischen Zusammenhänge einfacher submesothelialer Fibrose sind sehr vielfältig und werden von Margetts und Bonniaud 2003 in die Phasen der Initiation, Progression und Fortbestehen oder Auflösung der Fibrose eingeteilt. Mediatoren peritonealer Reizung, welche zur Zunahme submesothelialen Bindegewebes führen, sind in Analogie zur oben schon dargestellten Schädigung des Mesothels eine zunehmende Niereninsuffizienz, eine hohe Glukosekonzentration, die Akkumulation von GDPs und die Ablagerung von AGEs.

Der initiale Schritt liegt wohl in einer Schädigung der mesothelialen Zellschicht, was zunehmend zur Produktion fibroseauslösender Cytokine führt (Margetts und Bonniaud 2003). Zahlreiche fibroseauslösende Cytokine wie TGF-β (Transforming Growth Factor), CTGF (Connective Tissue Growth Factor), FGF (Fibroblast Growth Factor) und PDGF (Platelet Derived Growth Factor) konnten identifiziert werden, von denen TGF-β in den letzten Jahren besondere Aufmerksamkeit zukam (Oh und Margetts 2005). So konnten Ha

und Mitarbeiter zeigen, dass die Inkubation humaner peritonealer mesothelialer Zellen (HPMC) mit Lösungen hoher Glukosekonzentration von bis zu 24 Stunden zu einer signifikanten Erhöhung der Expression von TGF-β1 führte (Ha et al. 2001).
Einen Zusammenhang zwischen hohen Glukosekonzentrationen und der RAS- (Renin-Angiotensin-System) vermittelten Regulation der TGF-β1-Expression von HPMC konnten Noh et al. 2005 zeigen. Hohe Glukosekonzentrationen führten demnach zu einer erhöhten Expression von Angiotensinogen, ACE und AT1, was indirekt über die Ausbildung von Angiotensin-II zur vermehrten Expression von TGF-β1 führte. Diese Expression ließ sich durch den Einsatz von Losartan und Captopril inhibieren, was verdeutlicht, dass die Beeinflussung des im parietalen Peritoneum ansässigen RAS hauptsächlich durch direkten Einfluss des ACE-Hemmers oder AT1-Rezeptor-Blockers stattfindet (Noh et al. 2005). Aus dem Beschriebenen wird deutlich, warum sich bei der vorliegenden Arbeit keine Gruppenunterschiede bei der Einteilung der Dialysegruppe im Bezug auf die orale Einnahme von ACE-Hemmern zeigte. Die systemische Wirkung von ACE-Hemmern reicht mit großer Wahrscheinlichkeit nicht aus, das peritoneale RAS zu beeinflussen und damit die Fibrose zu verringern.

Ein weiterer bedeutender Aspekt ist das Vorhandensein von GDPs in Dialysaten mit hohem Glukosegehalt und niedrigem pH-Wert, was bei 18 der insgesamt 26 untersuchten chronischen Dialysepatienten der Fall war. Zum einen wirken GDPs direkt zytotoxisch, was im submesothelialen Bindegewebe zu überschießender Regeneration führen könnte und zum anderen induzieren sie mit deutlich größerem Potential als es Glukose alleine bewirkt die Ausbildung von AGEs. Zugleich ist anzunehmen, dass GDPs nicht nur lokal, also auf das Peritoneum begrenzt, sondern auch systemisch wirken (Tauer et al. 2003).
Die Ablagerung von AGEs im submesothelialen Bindegewebe konnte bereits vielfach nachgewiesen werden (Honda et al. 1999; Park et al. 2000). Deren Wirkung auf das parietale Peritoneum sind vielfältig und reichen von der erhöhten Expression von TGF-β1 über die Beeinflussung von Matrix-Proteinen, bis hin zur Einflussnahme auf das Zellwachstum (Devuyst 2002). Eine bedeutende Rolle spielen hierbei RAGEs, welche nach Ansicht von De Vriese 2005 nach der Interaktion mit AGEs zur vermehrten Expression von TGF-β1 führen. Zusätzlich zum direkten Einfluss von TGF-β1 auf die submesotheliale Fibrose spielt dieses Cytokin einen bedeutenden Part bei dem bereits oben erwähnten Mechanismus des epithelialem zu mesenchymalem Übergangs von Gewebe (epithelial mesenchymal transition - EMT). Dieser spielte bereits bei den Veränderungen

an der mesothelialen Zellschicht eine Rolle und führt im submesothelialem Gewebe zur Ausbildung von Myofibroblasten, welche in die pathologische Bindegewebsvermehrung eingebunden sind (Yang et al. 2003).

Neben den oben dargelegten Mechanismen der Bindegewebsvermehrung spielt das von einigen Autoren postulierte Vorhandensein von Peritonitiden über eine mögliche Überexpression proinflammatorischer Cytokine eine sehr entscheidende Rolle (Rubin et al. 1991). IL-1β, IL-6 oder TNF-α, welche im Rahmen von Peritonitiden verstärkt von mesothelialen Zellen gebildet werden, stehen im Mittelpunkt des Geschehens, fibrogenetische Faktoren wie Fibronectin zu aktivieren, wobei IL-1β im Vergleich zu TNF-α eine entscheidendere Rolle spielen soll (Margetts et al. 2002b; Yao et al. 2004).
Allerdings konnte dieser Zusammenhang in der vorliegenden Arbeit nicht bestätigt werden, da sich keine Korrelation zwischen der Anzahl an Peritonitiden und der Dicke des submesothelialen Gewebes herausstellte, was sich unter anderem mit den Ergebnissen von Di Paolo und Mitarbeitern deckt (Di Paolo et al. 1986).

Die klinische Relevanz der Zunahme des submesothelialen Bindegewebes ist vielfältig und reicht vom Verlust der Ultrafiltration (UF) bis hin zur schlimmsten Komplikation im Rahmen einer Peritonealdialyse, der enkapsulierenden peritonealen Sklerose (EPS).
Wie bereits bei Plum et al. 2001 signifikant bestätigt, in dieser Arbeit jedoch nur in Form einer schwachen Korrelation erkennbar, geht mit der Zunahme der submesothelialen Zellschicht auch eine Erhöhung des kleinmolekularen peritonealen Transports (D/Pratio für Kreatinin) einher. Der Mechanismus der hinter diesem Phänomen steht ist noch weitestgehend ungeklärt, ließe sich jedoch mit der Zunahme der submesothelialen Vaskularisation erklären (Margetts und Bonniaud 2003). Da sich in der vorliegenden Studie tendenziell neben der Bindegewebsvermehrung ebenfalls eine Zunahme der Gefäßanzahl pro Länge der peritonealen Oberfläche in der Gruppe der Dialysepatienten im Vergleich zu den beiden anderen Beobachtungsgruppen ergab, wäre dies ein möglicher Erklärungsansatz. Wie bereits erwähnt, ließ sich dieser in der Korrelationsanalyse nicht signifikant bestätigen. Es liegt somit nahe anzunehmen, dass andere Mechanismen als die reine Zunahme der Vaskularisation, für die Veränderung des Transportes kleiner Stoffe durch das Peritoneum, wie es bei Kreatinin der Fall ist, in Betracht gezogen werden müssen.

Der **Stofftransport** innerhalb des Gefäßendothels ließ sich zum Beispiel durch den Einfluss des proinflammatorischen Cytokins TNF-α beeinflussen (Henry und Duling 2000). Klinische Relevanz könnte demnach das bereits oben erwähnte Vorhandensein von Peritonitiden in der Vergangenheit haben, da Fußhöller et al. 2002 im Bezug auf die D/Pratio für Kreatinin eine signifikante Erhöhung bei PD-Patienten herausarbeiten konnten, welche während der PD an einer Peritonitis erkrankt waren. Allerdings wies die Korrelationsanalyse in der vorliegenden Arbeit diesbezüglich ebenfalls keinen signifikanten Zusammenhang nach.

Aus dem Beschriebenen wird deutlich, dass der erhöhte Stofftransport bei Patienten mit höherer submesothelialer Fibrose eher auf das Zusammenwirken von Veränderungen im Gefäßendothel und der Zunahme submesothelialer Vaskularisation zurückzuführen ist.
Diesbezüglich sind jedoch weitere Untersuchungen notwendig, um zu klären, ob die Veränderung im Stofftransport ursächlich auf die Zunahme des submesothelialen Bindegewebes zurückzuführen sind, oder ob fibrogene und proinflammatorische Cytokine, wie sie von Mesothelzellen im Rahmen der Peritonealdialyse oder einer Peritonitis exprimiert werden, gleichzeitig auf die Gefäßpermeabilität und die Bindegewebszunahme Einfluss nehmen.

Neben der Zunahme des submesothelialen Bindegewebes ist wie bereits oben angedeutet, die Zunahme der **Vaskularisation** ein oft beschriebenes Phänomen bei chronischer Peritonealdialyse (Dobbie 1995; Mateijsen et al. 1999; Plum et al. 2001; Williams et al. 2002; Numata et al. 2003).
Bezüglich der erhobenen Gefäßparameter ergaben sich in der vorliegenden Arbeit signifikante Gruppenunterschiede bei der Beurteilung der perivaskulären Veränderungen (Hist-VAS) zwischen den chronischen Dialysepatienten und den beiden anderen Beobachtungsgruppen, mit signifikant mehr vaskulären Ablagerungen im Rahmen chronischer Peritonealdialyse. Signifikante Unterschiede ergaben sich jedoch auch bei der Beurteilung der Gefäßanzahl pro Länge der peritonealen Oberfläche im Gesichtsfeld (RGAL) zwischen allen Untersuchungsgruppen. Hier zeigten sich zunächst bei der Gruppe der chronischen Dialysepatienten signifikant mehr Gefäße pro Länge der peritonealen Oberfläche als in den beiden anderen Untersuchungsgruppen. Eine signifikant größere RGAL zeigte sich jedoch auch in der Gruppe der urämischen Patienten vor PD im Vergleich zur Kontrollgruppe.

Eine signifikante Vermehrung der RGAL für chronische Dialysepatienten im Vergleich zu nicht urämischen und urämischen Patienten konnten Williams et al. 2002 nur bei denjenigen feststellen, welche im Rahmen eines „Membran-Defektes“, wie es die Autoren beschrieben, aus der Peritonealdialyse ausschieden.
Die Parameter RGAF und RGF, wie sie von Numata et al. 2003 vorgeschlagen wurden ergaben keine signifikanten Gruppenunterschiede, was zumindest für RGAF mit den Ergebnissen obiger Arbeitsgruppe übereinstimmt. Wie bereits erläutert, korrelieren die oben dargelegten Gefäßparameter nicht mit dem D/Pratio für Kreatinin innerhalb der Gruppe der chronischen Dialysepatienten, womit sich der bei Numata und Mitarbeitern gezeigte Zusammenhang zwischen D/Pratio für Kreatinin und der relativen Gefäßfläche (RGF) nicht bestätigen ließ. Gleichzeitig zeigte sich bei der oben zitierten Studie eine Zunahme der RGF mit der PD-Dauer, was sich in der vorliegenden Arbeit ebenfalls nicht bestätigte.

Interessanterweise zeigten sich, wie bereits beschrieben, in der vorliegenden Arbeit im Vergleich zur Kontrollgruppe bei der Gruppe der urämischen Patienten vor PD signifikant mehr Gefäße pro Länge peritonealer Oberfläche. Insbesondere diese Veränderungen weisen auf einen vasoproliferativen Effekt der Urämie hin, wie er bereits von zahlreichen Autoren beschrieben wurde. Dieser ist in erheblichem Maße auf eine Zunahme von AGEs bei progredienter Niereninsuffizienz zurückzuführen (Vlassara 1994). Auf weitere Mechanismen, die zur Akkumulation von AGEs während der Urämie und chronischer Peritonealdialyse führen, wurde bereits bei der Diskussion der Veränderungen der mesothelialen Zellschicht eingegangen.

Der Effekt von AGEs liegt neben der Freisetzung der bereits aufgeführten fibroseauslösenden Cytokine auch in einer vermehrten Sekretion von VEGF (Vascular Endothelial Growth Factor) durch HPMC, was sich im Rahmen von Zellkulturstudien bestätigen ließ (Mandl-Weber et al. 2002; Lai et al. 2004). In Anbetracht dessen ist es möglich, dass es sowohl bei den urämischen als auch bei den chronischen PD-Patienten dieser Studie zu vermehrter Produktion von VEGF kam, was das verstärkte Auftreten von Gefäßen erklären würde. Neben VEGF konnte im Tierversuch bei urämischen Ratten zudem eine höhere Aktivität der endothelialen NO-Synthase festgestellt werden, wodurch sich ein zusätzlicher vasoproliferativer Effekt bei den urämischen Patienten dieser

Untersuchung erklären ließe (Combet et al. 2001). Ob dieser Effekt allerdings im Menschen genauso zum Tragen kommt ist noch weitestgehend ungeklärt.
Park et al. 2000 konnten bei der Untersuchung urämischer und chronischer Dialysepatienten, signifikant mehr AGEs im parietalen Peritoneum bei den Patienten finden, die bereits länger an der PD teilnahmen. Dies würde auch den in der hiesigen Studie erbrachten Gruppenunterschied zwischen den urämischen und den chronischen Dialysepatienten erklären. Letztere waren im Rahmen ihrer Dialyse einer hohen Glukosebelastung (Glucose-Load/RGAL: $r=0,52$; $p<0,05$) und zudem einer hohen GDP-Belastung ausgesetzt, was wie bereits beschrieben, beides die Ausbildung von AGEs fördert.
Den positiven Zusammenhang zwischen submesothelialer Fibrose und vermehrter Vaskularisierung konnte in dieser Studie wie oben bereits erwähnt nur für die Gruppe der urämischen Patienten mit einem schwachen Korrelationskoeffizienten (Fibrose/RGAL: $r=0,46$; $p<0,05$) gezeigt werden. Margetts und Bonniaud 2003 begründen diesen Zusammenhang mit dem zunehmenden Substratbedarf fibrotischen Gewebes.
Ob dieser Aspekt jedoch auf die Gruppe der urämischen Patienten zutrifft, oder nicht doch der Einfluss der Akkumulation von AGEs bei zunehmender Niereninsuffizienz im Vordergrund steht, bleibt zu klären.

Wichtigster klinischer Aspekt der diabetiformen Neoangiogenese ist der zunehmende Verlust der Ultrafiltration, was zunehmend zum Verlust der Dialysefähigkeit führt (Krediet et al. 2000). Dieser Zusammenhang konnte in dieser Arbeit jedoch nicht in Form eines positiven Korrelationskoeffizienten zwischen Gefäßanzahl pro Länge peritonealer Oberfläche und den Daten für die peritoneale Ultrafiltration gezeigt werden.
Neben der bereit diskutierten Zunahme der Gefäßanzahl spielen sich innerhalb der Gefäße charakteristische Veränderungen ab, welche in der vorliegenden Studie mittels der Perjodsäure-Schiff-Reaktion, zur Kenntlichmachung kohlenhydratreicher subendothelialer Ablagerungen (Glykoproteine, Glykogen, Muzine), nachgewiesen wurden. Die Ergebnisse dieser Arbeit decken sich weitestgehend mit denen von Williams et al. 2002, welche bei PD-Patienten eine deutliche Vaskulopathie nachweisen konnten. Eine Zunahme der Vaskulopathie mit der PD-Dauer konnte die vorliegende Arbeit im Gegensatz zur oben zitierten Studie jedoch nicht zeigen. Obwohl De Las Casas und Finley 1999 postulierten, diabetische Mikroangiopathie sei überwiegend organassoziiert und kaum im kleinen Becken anzutreffen, konnten sie im Einzelfall diabetische Gefäßveränderungen bei

duodenalen Biopsien nachweisen. Um diese diabetischen Gefäßveränderungen ausschließen zu können, wurden in der vorliegenden Arbeit diabetische PD-Patienten aus der Beurteilung aller Gefäßparameter herausgenommen.

Bereits in früheren Arbeiten konnten Honda et al. 1996 vaskuläre Veränderungen im Rahmen einer chronischen PD-Therapie bei drei Patienten feststellen, was sie vor allem auf die hochosmotisch wirksamen und häufig unphysiologisch sauren Dialysate zurückführten. Sie beobachteten eine deutliche Fibrosierung und Zunahme hyaliner Ablagerungen innerhalb der Gefäß-Media, wobei die endothelialen Zellen weitestgehend intakt waren, woraus sie schlossen, dass die gefäßschädigende Wirkung vor allem von außen, im Bereich der Adventitia, eingetreten sein musste. Weiterhin wiesen sie mittels Immunfluoreszenz-Mikroskopie eine signifikante Zunahme kollagenen Bindegewebes Typ IV in der Gefäßwand nach.

Da die Mehrzahl der chronischen PD-Patienten in der aktuellen Arbeit ebenfalls hochosmotisch wirksamen Glukosemengen ausgesetzt waren und zudem Dialysate mit niedrigem pH-Wert nutzten, könnte die Annahme von Honda und Mitarbeiter auch im aktuellen Fall zutreffen. In einer weiteren Studie der obigen Arbeitsgruppe stellte sich zudem heraus, dass eine niedrige Ultrafiltration mit deutlich mehr vaskulären AGEs und perivaskulärer Fibrose assoziiert war, als eine hohe Ultrafiltration. Zudem korrelierten die vaskuläre Akkumulation von AGEs und die perivaskulären Veränderungen sehr deutlich (Honda et al. 1999). Anzunehmen ist somit, dass es in der vorliegenden Studie im Rahmen der chronischen PD zur Akkumulation von AGEs im vaskulären subendothelialen Gewebe kam, und damit einhergehend zur Aktivierung von Cytokinen, welche im Verdacht stehen, gefäßproliferativ zu wirken.

Eine Möglichkeit ist, wie es Pertynska-Marczewska et al. 2004 in der Zellkultur nachweisen konnten, die Aktivierung von Makrophagen durch AGEs, wodurch diese vermehrt Cytokine wie VEGF, TNF-α oder IL-8 sezernieren. Dieser Effekt wird nicht nur dem im Gefäßsystem vorhandenen Monozyten-Makrophagen-System zugeschrieben, sondern auch dem im Peritoneum ansässigen, wodurch sich unter Hinzunahme der Beobachtungen von Honda und Mitarbeitern die perivaskulären Veränderung in der vorliegenden Arbeit gut erklären ließen.

Da der Einfluss des Monozyten-Makrophagen-Systems jedoch zunächst nur in der Zellkultur nachgewiesen werden konnte, bleibt dessen Bedeutung überaus diskussionswürdig und bedarf weiterer Untersuchungen, um diese Theorie zu festigen.

Was bereits in der Einleitung Erwähnung fand, ist der Einsatz des hochmolekularen Glukose-Polymers Icodextrin, welches es erlaubt eine gleichbleibende Ultrafiltration aufrechtzuerhalten unter Reduktion der hohen Glukosebelastung mit ihren bereits dargelegten Folgen.
Betrachtet man die Auswirkungen von Icodextrin auf die erhobenen histologischen Daten, so fällt auf, dass weder im Bezug auf die Intaktheit der mesothelialen Zellschicht, noch auf die Zunahme submesothelialen Bindegewebes ein Effekt nachzuweisen ist. Bei der Beurteilung perivaskulärer Veränderungen konnten jedoch signifikant vermehrt pathologische Veränderungen in der Icodextrin-Gruppe festgestellt werden.

In den letzten Jahren hat sich gezeigt, dass sich der Einsatz von Icodextrin vor allem bei Patienten mit zunehmendem Ultrafiltrations-Verlust, schnellen Transporteigenschaften und Diabetes Mellitus besonders positiv auswirkt (Johnson et al. 2003). Die bedeutsame klinische Relevanz von Icodextrin als Glukoseersatz konnten insbesondere Finkelstein et al. 2005 in einer ihrer Arbeiten anhand eines zweiwöchigen Untersuchungszeitraumes an 100 CCPD-Patienten zeigen. Hierbei fand sich, wie bereits oben erläutert eine signifikant höhere Netto-Ultrafiltration im PET bei der Icodextrin-Gruppe im Vergleich zu Patienten, welche als osmotisch wirksame Substanz Glukose in einer Konzentration von 4,25 % erhielten. Für die Autoren führte die Kombination aus reduzierter Kohlenhydratabsorbtion und größerer Netto-Ultrafiltration unter Icodextrin-Therapie letztendlich zur signifikanten Erhöhung der effektiven Ultrafiltration.
Allerdings fielen im Rahmen der Icodextrin-Gabe signifikant mehr Hautausschläge auf, was die bereits bekannte allergisierende Potenz von Icodextrin bestätigte.
Mit den positiven Effekten von Icodextrin fiel neben dessen allergisierender Eigenschaft in den letzten Jahren vermehrt das Auftreten aseptischer Peritonitiden unter Icodextrin-Therapie auf, was zum einen auf Kontaminationen der Dialysate mit Peptidoglykanen zurückgeführt werden konnte, zum anderen aber auch mit der erwähnten allergisierenden Wirkung des Glukose-Polymers in Verbindung gebracht wurde (Goffin et al. 2003).
Aus dem Dargelegten vermutet man bereits eine gewisse Bioinkompatibilität von Icodextrin, welche sich in der hiesigen Studie teilweise im Rahmen der Zunahme perivaskulärer Veränderungen bestätigen ließ. Einen möglichen Erklärungsansatz bieten Ha et al. 2002, die bei Icodextrin im Vergleich zu einer Kontrolllösung eine signifikant höhere Produktion von TGF-β1 durch humane peritoneale Mesothelzellen im Rahmen von Zellkulturstudien beobachten konnten. Der gleiche Effekt konnte bei Verwendung einer als

bioinkompatibel geltenden Dialyselösung mit hoher Glukosekonzentration von 4,25 % nachgewiesen werden.

Wie bereits erläutert, spielt TGF-β1 eine Schlüsselrolle bei der Entstehung submesothelialer Fibrose. In diesem Zusammenhang ist die Synthesesteigerung extrazellulärer Matrixproteine wie Laminin, Fibronektin und von Kollagen Typ I, III und IV besonders hervorzuheben (Oh und Margetts 2005). Wie von Honda und Mitarbeitern bereits früh gezeigt, liegen den perivaskulären Veränderungen eine Vermehrung kollagenen Bindegewebes Typ IV zugrunde, was sich infolge einer gesteigerten Cytokinproduktion durch den Einfluss von Icodextrin erklären ließe.

Die in der **Einzelfalldarstellung** vorgestellten Patienten lassen nur zum Teil die in der Literatur und der hiesigen Arbeit gefundenen Zusammenhänge erkennen. Typische Veränderungen wie die Zunahme der submesothelialen Fibrose oder der Gefäßanzahl unter Peritonealdialyse konnten nur bei zwei der fünf Patienten im Verlauf von zwei unterschiedlichen Biopsiezeitpunkten nachgewiesen werden (siehe Kapitel Einzelfalldarstellung: Patient B und C). Für die anderen Patienten ergab sich ein buntes Bild mit zum Teil heterogenen Ergebnissen. Ein Erklärungsansatz liegt vermutlich in den interindividuellen Unterschieden mesothelialer und submesothelialer Veränderungen, wie sie bereits Honda et al. 1999 aufgefallen sind. So ergaben sich zum Beispiel bei Patienten mit vermeintlich geringer Dialysedauer deutlich höhere Fibrose-Grade als bei anderen mit wesentlich längerer Dialysedauer. Ähnliche interindividuelle Unterschiede fielen im Rahmen vaskulärer Veränderungen, oder der Ablagerung von AGEs auf.
Ursache hierfür könnte eine variable Cytokinfreisetzung im Verlauf der Dialyse sein, wie sie Serre et al. 1997 bei fünf CAPD-Patienten zeigen konnten. Interessanterweise wies diese Arbeitsgruppe deutlichere interindividuelle Unterschiede in der Cytokinkonzentration im Dialysat der Patienten auf, als bei der In-vitro-Stimulation entnommener Zellen.
Einen weiteren Aspekt bietet die bei den hier beobachteten Patienten relativ niedrige Dialysedauer von höchstens 24 Monaten. So wiesen Williams et al. 2002 zum Beispiel eine Zunahme submesothelialer Fibrose mit der PD-Dauer nach. Betrachtet man sich die Daten allerdings etwas genauer, so ist eine deutliche Zunahme submesothelialer Fibrose vor allem bei Dialyse-Zeiträumen jenseits der 49 Monate abzulesen, was auf die hier vorgestellten Patienten nicht zutrifft.

Ob eine immunsuppressive Medikation in die Entstehung submesothelialer Bindegewebsvermehrung eingreift ist fraglich. Zwei der in der Einzelfalldarstellung vorgestellten Patienten zeigten jedoch unter Immunsuppression im zweiten Biopsiezeitpunkt eine geringere submesotheliale Dicke. Einige Studien zeigten bereits bei wenigen Patienten Erfolge beim Einsatz von Immunsuppressiva zur Therapie der sklerosierenden Peritonitis (Junor und McMillan 1993, Wong et al. 2005). Unter der Annahme, dass autoimmunologische Prozesse in den Prozess des zunehmenden Ultrafiltrationsverlustes beteiligt sind, liegt in der Applikation immunsuppressiver Medikamente ein weiterer Forschungsansatz.
Nicht vernachlässigen sollte man als letzten Aspekt den bereits oben erläuterten Einfluss der Probenentnahme auf die Güte des Materials, welcher bei Re-Biopsien, wie sie im Rahmen der fünf Einzelfalldarstellungen vorkamen, sicherlich bedeutender ist, als bei der Untersuchung eines großen Kollektivs von Patienten mit nur einmaliger Probenentnahme.

Die **klinische Relevanz** der im Rahmen der Peritonealdialyse auftretenden histologischen Veränderungen liegt vor allem, wie in der Diskussion der Gefäßparameter bereits angeführt, in einer Reduktion der Ultrafiltration. Wie Smit et al. 2004 in einer Multizenterstudie an 55 PD-Patienten anhand eines PET nachweisen konnten, war insbesondere eine lange PD-Dauer für die Reduktion der Ultrafiltration verantwortlich. Die Autoren schlossen anhand der PET-Daten, dass vor allem eine erhöhte Gefäßfläche und ein beeinträchtigter Wassertransport für den Ultrafiltrations-Verlust verantwortlich zu machen sind. Ein Zusammenhang zwischen den Daten des PET und den Ergebnissen der histologischen Auswertung ließ sich in der vorliegenden Arbeit anhand einer positiven Korrelation nicht nachweisen, was vor allem mit dem, im Vergleich zu anderen Arbeiten längeren Zeitraum zwischen Durchführung des PET und Probenentnahme zusammenhängen könnte (12 Monate vor/nach Probenentnahme).
Zurzeit sind zahlreiche Methoden in Erprobung den Erhalt der Ultrafiltration und damit eine lange Peritonealdialysedauer zu sichern. Neben dem bereits seit den frühen 90er Jahren eingesetzten und nicht mehr ganz unumstrittenen Icodextrin, hat sich zunehmend auch der Einsatz physiologischer Dialysate durchgesetzt. In der vorliegenden Arbeit kommt zum Beispiel Physioneal® mit verschiedenen Glukosekonzentrationen zum Einsatz. Diesbezüglich konnten Hekking et al. 2001 im Vergleich eines herkömmlichen Dialysates (Dianeal®) mit Physioneal® im Tierexperiment vor allem im Hinblick auf funktionelle Parameter, wie der Aktivierung mesothelialer Zellen, einen günstigeren Effekt bei der 9 bis

10wöchigen Instillation von Physioneal® beobachten. Allerdings sollte hierbei besonders darauf hingewiesen werden, dass die Übertragung dieser Ergebnisse auf den Menschen, wie bei allen Tierexperimenten, fraglich ist. Zudem stammten die untersuchten Mesothelzellen vom viszeralen Peritoneum, was bei der Vielzahl der histologischen Patientenstudien nicht der Fall ist.

Wie bereits angedeutet, können die **Dialysate** der hiesigen Studie in physiologische sowie nicht physiologische (herkömmliche) Dialyselösungen eingeteilt werden. Physiologisch wurde ein Dialysat dann bezeichnet, wenn es produktionsbedingt einen niedrigen Anteil von GDPs aufwies. Dies wurde von den meisten Herstellern durch die Verwendung von Mehrkammersystemen realisiert, bei dem kurz vor der Befüllung der Peritoneums die saure Glukoselösung mit einer Pufferlösung kombiniert wird. Teilweise erreichen manche Hersteller auf diese Weise einen annähernd physiologischen pH-Wert. 18 Patienten erhielten ein herkömmliches Dialysat mit einem hohen Anteil an GDPs im Einkammersystem. Die anderen 8 chronischen Peritonealdialysepatienten wurden mit physiologischen Dialysaten behandelt. Lediglich einer dieser Patienten erhielt ein Dialysat bei dem sich nach Zusammenführen der beiden Kammern kein physiologischer pH-Wert einstellt.
Der Zwei-Gruppenvergleich anhand der Aufteilung der Dialysepatienten gemäß des überwiegend verwendeten Dialysats ergab weder hinsichtlich der histologischen Parameter noch im Hinblick auf die Faktoren Dialysat-Menge, Dialysedauer und Glucose-Load signifikante Unterschiede.

Williams et al. 2004 konnten in der Euro-Balance-Studie den Vorteil eines an GDPs deutlich reduzierten Dialysates im Vergleich zu einem herkömmlichen zeigen. Allerdings wurden in dieser Arbeit keine morphologischen Daten erhoben, sondern lediglich das Effluat und das Serum der Patienten auf klinische Marker untersucht. Interessant ist diesbezüglich, dass sich weder bei VEGF noch bei TGFα signifikante Unterschiede ergaben. Allerdings fiel im Hinblick auf die Intaktheit der mesothelialen Zellschicht (gemessen am CA125-Spiegel im Dialysat) ein vorteilhafter Effekt auf das getestete Dialysat (balance).

Ein weiterer Aspekt der hier im Rahmen eines Tierexperiments vorgestellt wird, ist der Einsatz von ACE-Hemmern in der Dialysetherapie. Entscheidend ist hierbei, dass

besonders die lokale Applikation, wie sie von Duman et al. 2004 bei Wistar-Ratten durchgeführt wurde, zu günstigen morphologischen Ergebnissen führt. Beispiele hierfür waren eine geringere submesotheliale Fibrose oder eine deutlich reduzierte Vaskularisation bei der Zugabe von Enalapril zum Dialysat.
Vielversprechend ist der Ansatz von Zareie et al. 2005, wo es vornehmlich um die Reversibilität morphologischer Erscheinungen nach Peritonealdialyse geht. Diese Arbeitsgruppe konnte nach 5wöchiger Dialysetherapie bei Wistar-Ratten und anschließend 3monatiger Pause mit jeweils durchgeführter Biopsie, signifikante Unterschiede in der peritonealen Dicke und der Vaskularisation feststellen. Klinische Relevanz sahen die Autoren darin, bei drohendem Ultrafiltrationsverlust von Patienten, eine Wiederherstellung der Dialysierbarkeit mittels Peritonealdialyse durch ein Pausieren, zum Beispiel in Form vorübergehender Hämodialyse, zu erzielen. Ob sich dieses Vorgehen in der Praxis bewähren wird bleibt abzuwarten. Es stellt jedoch sicherlich eine hoffnungsvolle Verknüpfung zwischen Peritoneal- und Hämodialyse dar.

Weitere, deutlich experimentellere Ansätze, welche den Erhalt der Dialysierbarkeit mittels Peritonealdialyse über längere Sicht sichern sollen, sind in Tabelle 4.1 dargestellt.

Tabelle 4.1: Möglichkeiten der Einflussnahme auf strukturell/funktionelle Veränderungen während Peritonealdialyse.

Methode	***Studienprofil***	***Quelle***
Substitution von Glukose durch Carnitin	In-vitro-Studie an humanen parietalen Mesothelzellen (HPMC); In-vivo-Studie: 36 Kaninchen	Gaggiotti et al. 2005
Inhibition der Ausbildung von AGEs durch OPB-9195	In-vitro-Studie: Inkubation von Rinder-Serum-Albumin mit OPB-9195	Miyata et al. 2000
Einsatz monoklonaler Anti-RAGE-Antikörper	In-vivo-Studie: 36 Wistar-Ratten	De Vriese et al. 2003
Inaktivierung von TGF-beta mittels Adenoviren	In-vivo-Studie: 33 Sprague-Dawley-Ratten	Margetts et al. 2002a
Peritoneale Applikation von Dexamethason	In-vivo-Studie: 20 Wistar-Ratten	Imai et al. 2002

Es wird klar, dass es in Anbetracht der dargestellten Zusammenhänge zwischen morphologischen Veränderungen, welche in dieser Arbeit signifikant unter Peritonealdialyse und zum Teil auch im Rahmen einer bestehenden Urämie auftraten und der zahlreichen Erklärungsansätze, noch viele offene Fragen gibt. Es ist daher unerlässlich, zur Klärung dieser, neben den morphologischen Auswirkungen, wie sie die vorliegende Arbeit versucht hat darzustellen, in Zukunft vermehrt die Auswirkung einer auf Dauer ausgerichteten Peritonealdialyse auf molekulare Vorgänge, zum Beispiel im Hinblick auf die Cytokinfreisetzung, zu klären. Denn insbesondere die Vorgänge auf molekularer Ebene

versprechen auf längere Sicht hin wirksame therapeutische Optionen hervorzubringen, die es erlauben, eine langandauernde und komplikationslose Peritonealdialysetherapie durchführen zu können.

5. Zusammenfassung

Peritonealdialyse (PD) kann als ein zur Hämodialyse gleichwertiges Verfahren angesehen werden. Trotzdem können mit chronischer PD-Therapie Komplikationen einhergehen, die letztendlich in einen Verlust der Dialysierbarkeit führen.
Diesbezüglich beschäftigen sich seit Ende der 70er Jahre eine Vielzahl von Forschern intensivst mit den möglichen Kurz- sowie Langzeitfolgen der Peritonealdialyse auf morphologische, funktionelle und klinische Parameter.
Im Mittelpunkt der vorliegenden retrospektiven Arbeit stand die lichtmikroskopische Untersuchung morphologisch fassbarer Veränderungen, welche sich im Rahmen einer Peritonealdialyse ergeben sowie deren Zusammenhang mit peritonealen Funktionsparametern wie dem Peritoneal-Äquilibrationstest (PET). In diesem Zusammenhang sollten die in der Einleitung (Kapitel 1.5) formulierten Fragen beantwortet und Diskussionsansätze geliefert werden.

Morphologisch fassbare Veränderungen im Rahmen einer Peritonealdialyse waren zunächst die Schädigung der mesothelialen Zellschicht, die sich sowohl im Vergleich zur Urämie- wie auch zur nicht urämischen Kontrollgruppe signifikant zeigte. Des Weiteren stellte sich die submesotheliale Zellschicht bei der Gruppe der Dialysepatienten signifikant dicker dar, als bei der Gruppe der urämischen Patienten. Als letztes histologisches Maß ergab die Beurteilung der Gefäßparameter signifikant mehr perivaskuläre Veränderungen (Hist-VAS, beurteilt mittels PAS-Reaktion) innerhalb der Gruppe der Dialysepatienten im Vergleich zur Urämie- sowie Kontrollgruppe. Die zur Beurteilung der submesothelialen Gefäßanzahl ermittelte relative Gefäßanzahl (gemessen pro Länge peritonealer Oberfläche im Gesichtsfeld - RGAL), zeigte signifikante Unterschiede bei allen drei Untersuchungsgruppen mit wiederum deutlicher Vermehrung in der Gruppe der Dialysepatienten. Auffällig war diesbezüglich die positive Korrelation zwischen dem Gefäßparameter RGAL und der applizierten kumulativen Glukosemenge.

Bei der Zuordnung der Dialysepatienten in die in Tabelle 2.6 aufgeführten Subgruppen zeigte sich eine signifikante Reduktion der mesothelialen Zellschicht in der Gruppe mit einem D/Pratio für Kreatinin ≥ 66 %. Ein signifikanter negativer Zusammenhang zwischen der Intaktheit der mesothelialen Zellschicht und der Höhe des kleinmolekularen Transportes (gemessen am D/Pratio für Kreatinin) bestätigte sich in der Korrelationsanalyse.

Der Subgruppenvergleich ergab außerdem signifikant mehr perivaskuläre Ablagerungen (Hist-VAS) in der Gruppe, welche Icodextrin im Dialyse-Regime hatte.
Die übrige Subgruppenanalyse, insbesondere im Hinblick auf die Art der Dialysate (physiologisch vs. unphysiologisch), die PD-Dauer, die Dialysat-Menge sowie den Glucose-Load ergab keine weiteren signifikanten Unterschiede.

Die Korrelationsanalyse wies, bis auf die bereits erläuterten signifikanten Zusammenhänge, vor allem in der Gruppe der Dialysepatienten, keinerlei signifikante Korrelation innerhalb der erhobenen morphologischen Daten auf.

Diskutiert wurde bezüglich der morphologischen Veränderungen vor allem die schädigenden Einflüsse einer hohen Menge an Glukose, welche als osmotisch aktives Agens im Peritoneum fungiert. Zahlreiche Veröffentlichungen zeigten mit der Applikation eines hohen Glukosegehaltes das Vorhandensein von AGEs (Advanced Glycosylation-End-Products), welche durch die nicht enzymatische Glykosylierung freier Aminosäureendigungen zustande kommen sowie von GDPs (Glukose-Abbauprodukte), die mit der Hitzesterilisation der Dialysate entstehen. Damit einhergehend spielen die Freisetzung proinflammatorischer, fibroseauslösender sowie gefäßproliferativer Cytokine eine bedeutende Rolle, von denen vor allem TGF-β1 Erwähnung finden sollte.
Zur Vermeidung einer hohen Glukosemenge während der Dialyse erhalten zahlreiche Patienten das ebenfalls osmotisch aktive und nicht mehr ganz unumstrittene hochmolekulare Glukose-Polymer Icodextrin. Die fragliche Bioinkompatibilität von Icodextrin konnte anhand signifikant veränderter Gefäße (Hist-VAS) auch in der hiesigen Arbeit gezeigt werden.

Die Einzelfalldarstellung im Kapitel 3.4, bei der fünf Patienten vorgestellt wurden mit mehr als einem Biopsiezeitpunkt, konnte die aktuelle Datenlage nur in zwei Fällen im Bezug auf die Zunahme der submesothelialen Zellschicht bestätigen. Da jedoch auffiel, dass es bei zwei anderen Patienten im Therapieverlauf zu einer Abnahme der submesothelialen Schichtdicke kam und gleichzeitig eine systemische Immunsuppression vorlag, könnte dieser Aspekt für weitere Studien durchaus in Erwägung gezogen werden.

Insgesamt ist festzuhalten, dass sich die morphologisch fassbaren Veränderungen im Rahmen der Peritonealdialyse weitestgehend mit den Beobachtungen anderer

Arbeitsgruppen decken. Offen bleibt jedoch weiterhin die Frage, inwiefern sich diese Veränderungen auf die funktionellen Parameter auswirken und welche zytologischen Vorgänge damit einhergehen.

Sollte die Klärung dieser Fragen in greifbarer Nähe stehen, so lässt sich mit der Verbesserung der Peritonealdialyse per se auch eine deutliche Verbesserung der Lebensqualität für chronische Dialysepatienten erreichen.

6. Literaturverzeichnis

Aroeira, L. S./ Aguilera, A./ Selgas, R./ Ramirez-Huesca, M./ Perez-Lozano, M. L./ Cirugeda, A./ Bajo, M. A./ del Peso, G./ Sanchez-Tomero, J. A./ Jimenez-Heffernan, J. A./ Lopez-Cabrera, M.: Mesenchymal conversion of mesothelial cells as a mechanism responsible for high solute transport rate in peritoneal dialysis: role of vascular endothelial growth factor. *Am J Kidney Dis* 46:938-948, 2005

Boulanger, E./ Wautier, M. P./ Wautier, J. L./ Boval, B./ Panis, Y./ Wernert, N./ Danze, P. M./ Dequiedt, P.: AGEs bind to mesothelial cells via RAGE and stimulate VCAM-1 expression. *Kidney Int* 61:148-156, 2002

Breborowicz, A./ Breborowicz, M./ Pyda, M./ Polubinska, A./ Oreopoulos, D.: Limitations of CA125 as an index of peritoneal mesothelial cell mass. *Nephron Clin Pract* 100:c46-51, 2005

Brownlee, M./ Cerami, A./ Vlassara, H.: Advanced glycosylation end products in tissue and the biochemical basis of diabetic complications. *N Engl J Med* 318:1315-1321, 1988

Combet, S./ Ferrier, M. L./ Van Landschoot, M./ Stoenoiu, M./ Moulin, P./ Miyata, T./ Lameire, N./ Devuyst, O.: Chronic uremia induces permeability changes, increased nitric oxide synthase expression, and structural modifications in the peritoneum. *J Am Soc Nephrol* 12:2146-2157, 2001

Davies, S. J./ Phillips, L./ Naish, P. F./ Russell, G. I.: Peritoneal glucose exposure and changes in membrane solute transport with time on peritoneal dialysis. *J Am Soc Nephrol* 12:1046-1051, 2001

De Las Casas, L. E./ Finley, J. L.: Diabetic microangiopathy in the small bowel. *Histopathology* 35:267-270, 1999

De Vriese, A. S.: The John F. Maher Recipient Lecture 2004: Rage in the peritoneum. *Perit Dial Int* 25:8-11, 2005

De Vriese, A. S./ Flyvbjerg, A./ Mortier, S./ Tilton, R. G./ Lameire, N. H.: Inhibition of the interaction of AGE-RAGE prevents hyperglycemia-induced fibrosis of the peritoneal membrane. *J Am Soc Nephrol* 14:2109-2118, 2003

Devuyst, O.: New insights in the molecular mechanisms regulating peritoneal permeability. *Nephrol Dial Transplant* 17:548-551, 2002

Di Paolo, N./ Garosi, G.: Peritoneal sclerosis. *J Nephrol* 12:347-361, 1999

Di Paolo, N./ Garosi, G./ Petrini, G./ Traversari, L./ Rossi, P.: Peritoneal dialysis solution biocompatibility testing in animals. *Perit Dial Int* 15:S61-69; discussion S69-70, 1995

Di Paolo, N./ Sacchi, G.: Atlas of peritoneal histology. *Perit Dial Int* 20 Suppl 3:S5-96, 2000

Di Paolo, N./ Sacchi, G./ De Mia, M./ Gaggiotti, E./ Capotondo, L./ Rossi, P./ Bernini, M./ Pucci, A. M./ Ibba, L./ Sabatelli, P.: Morphology of the peritoneal membrane during continuous ambulatory peritoneal dialysis. *Nephron* 44:204-211, 1986

Dobbie, J. W.: Morphology of the peritoneum in CAPD. *Blood Purif* 7:74-85, 1989

Dobbie, J. W.: Durability of the peritoneal membrane. *Perit Dial Int* 15:S87-91; discussion S91-82, 1995

Dobbie, J. W./ Lloyd, J. K./ Gall, C. A.: Categorization of ultrastructural changes in peritoneal mesothelium, stroma and blood vessels in uremia and CAPD patients. *Adv Perit Dial* 6:3-12, 1990

Duman, S./ Wieczorowska-Tobis, K./ Styszynski, A./ Kwiatkowska, B./ Breborowicz, A./ Oreopoulos, D. G.: Intraperitoneal enalapril ameliorates morphologic changes induced by hypertonic peritoneal dialysis solutions in rat peritoneum. *Adv Perit Dial* 20:31-36, 2004

Eble, A. S./ Thorpe, S. R./ Baynes, J. W.: Nonenzymatic glucosylation and glucose-dependent cross-linking of protein. *J Biol Chem* 258:9406-9412, 1983

Eknoyan, G.: Origins of nephrology: Hippocrates, the father of clinical nephrology. *Am J Nephrol* 8:498-507, 1988

Eknoyan, G.: On the central role of studies on the kidney in the recognition, conceptual evolution, and understanding of hypertension. *Adv Chronic Kidney Dis* 11:192-196, 2004

Fang, W./ Qian, J. Q./ Yu, Z. Y./ Chen, S. S.: Morphological changes of the peritoneum in peritoneal dialysis patients. *Chin Med J* 117:862-866, 2004

Fenton, S. S./ Schaubel, D. E./ Desmeules, M./ Morrison, H. I./ Mao, Y./ Copleston, P./ Jeffery, J. R./ Kjellstrand, C. M.: Hemodialysis versus peritoneal dialysis: a comparison of adjusted mortality rates. *Am J Kidney Dis* 30:334-342, 1997

Finkelstein, F./ Healy, H./ Abu-Alfa, A./ Ahmad, S./ Brown, F./ Gehr, T./ Nash, K./ Sorkin, M./ Mujais, S.: Superiority of icodextrin compared with 4.25% dextrose for peritoneal ultrafiltration. *J Am Soc Nephrol* 16:546-554, 2005

Flessner, M. F.: The transport barrier in intraperitoneal therapy. *Am J Physiol Renal Physiol* 288:F433-442, 2005

Frei, U./ Schober-Halstenberg, H.-J.: Nierenersatztherapie in Deutschland, in *Bericht über Dialysebehandlung und Nierentransplantation in Deutschland - Jahresvergleich 1995-2004*, Quasi-Niere gGmbH, 2005

Fußhöller, A./ zur Nieden, S./ Grabensee, B./ Plum, J.: Peritoneal fluid and solute transport: influence of treatment time, peritoneal dialysis modality, and peritonitis incidence. *J Am Soc Nephrol* 13:1055-1060, 2002

Gaggiotti, E./ Arduini, A./ Bonomini, M./ Valentini, G./ Sacchi, G./ Sansoni, E./ Salvo, D./ Di Paolo, N.: Prevention of peritoneal sclerosis: a new proposal to substitute glucose with carnitine dialysis solution (biocompatibility testing in vitro and in rabbits). *Int J Artif Organs* 28:177-187, 2005

Garosi, G./ Di Paolo, N.: Morphological aspects of peritoneal sclerosis. *J Nephrol* 14 Suppl 4:S30-38, 2001

Goffin, E./ Cosyns, J. P./ Pirson, F./ Devuyst, O.: Icodextrin-associated peritonitis: what conclusions thus far? *Nephrol Dial Transplant* 18:2482-2485, 2003

Gotloib, L./ Shostak, A.: Large mesothelial cells in peritoneal dialysis: a sign of degeneration or adaptation? *Perit Dial Int* 16:118-120, 1996

Ha, H./ Cha, M. K./ Choi, H. N./ Lee, H. B.: Effects of peritoneal dialysis solutions on the secretion of growth factors and extracellular matrix proteins by human peritoneal mesothelial cells. *Perit Dial Int* 22:171-177, 2002

Ha, H./ Yu, M. R./ Lee, H. B.: High glucose-induced PKC activation mediates TGF-beta 1 and fibronectin synthesis by peritoneal mesothelial cells. *Kidney Int* 59:463-470, 2001

Hekking, L. H./ Zareie, M./ Driesprong, B. A./ Faict, D./ Welten, A. G./ de Greeuw, I./ Schadee-Eestermans, I. L./ Havenith, C. E./ van den Born, J./ ter Wee, P. M./ Beelen, R. H.: Better preservation of peritoneal morphologic features and defense in rats after long-term exposure to a bicarbonate/lactate-buffered solution. *J Am Soc Nephrol* 12:2775-2786, 2001

Henle, T./ Miyata, T.: Advanced glycation end products in uremia. *Adv Ren Replace Ther* 10:321-331, 2003

Henry, C. B./ Duling, B. R.: TNF-alpha increases entry of macromolecules into luminal endothelial cell glycocalyx. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 279:H2815-2823, 2000

Ho-dac-Pannekeet, M. M./ Atasever, B./ Struijk, D. G./ Krediet, R. T.: Analysis of ultrafiltration failure in peritoneal dialysis patients by means of standard peritoneal permeability analysis. *Perit Dial Int* 17:144-150, 1997

Honda, K./ Nitta, K./ Horita, S./ Yumura, W./ Nihei, H.: Morphological changes in the peritoneal vasculature of patients on CAPD with ultrafiltration failure. *Nephron* 72:171-176, 1996

Honda, K./ Nitta, K./ Horita, S./ Yumura, W./ Nihei, H./ Nagai, R./ Ikeda, K./ Horiuchi, S.: Accumulation of advanced glycation end products in the peritoneal vasculature of continuous ambulatory peritoneal dialysis patients with low ultra-filtration. *Nephrol Dial Transplant* 14:1541-1549, 1999

Hörl, W. H./ Wanner, C. H.: *Dialyseverfahren in Klinik und Praxis*, 6 ed. Stuttgart, New York, Georg Thieme Verlag, 2004

Imai, H./ Nakamoto, H./ Fucshima, R./ Yamanouchi, Y./ Ishida, Y./ Suzuki, H.: Glucocorticoid protects against the development of encapsulating peritoneal sclerosis on peritoneal dialysis. *Adv Perit Dial* 18:124-130, 2002

Johnson, D. W./ Agar, J./ Collins, J./ Disney, A./ Harris, D. C./ Ibels, L./ Irish, A./ Saltissi, D./ Suranyi, M.: Recommendations for the use of icodextrin in peritoneal dialysis patients. *Nephrology (Carlton)* 8:1-7, 2003

Junor, B. J./ McMillan, M. A.: Immunosuppression in sclerosing peritonitis. *Adv Perit Dial* 9:187-189, 1993

Korten, G.: [Peritoneum as dialysis membrane--a morphologic study]. *Z Urol Nephrol* 77:721-727, 1984

Krediet, R. T./ Zweers, M. M./ van der Wal, A. C./ Struijk, D. G.: Neoangiogenesis in the peritoneal membrane. *Perit Dial Int* 20 Suppl 2:S19-25, 2000

Kuhlmann, U./ Walb, D./ Luft, F. C.: Nephrologie (Pathophysiologie-Klinik-Nierenersatzverfahren), (vol 4), Georg Thieme Verlag ed, Stuttgart, New York, 2003

Lai, K. N./ Leung, J. C./ Chan, L. Y./ Li, F. F./ Tang, S. C./ Lam, M. F./ Tse, K. C./ Yip, T. P./ Chan, T. M./ Wieslander, A./ Vlassara, H.: Differential expression of receptors for advanced glycation end-products in peritoneal mesothelial cells exposed to glucose degradation products. *Clin Exp Immunol* 138:466-475, 2004

Lameire, N./ Peeters, P./ Vanholder, R./ Van Biesen, W.: Peritoneal dialysis in Europe: an analysis of its rise and fall. *Blood Purif* 24:107-114, 2006

Maio, G.: The metaphorical and mythical use of the kidney in antiquity. *Am J Nephrol* 19:101-106, 1999

Mandl-Weber, S./ Cohen, C. D./ Haslinger, B./ Kretzler, M./ Sitter, T.: Vascular endothelial growth factor production and regulation in human peritoneal mesothelial cells. *Kidney Int* 61:570-578, 2002

Margetts, P. J./ Bonniaud, P.: Basic mechanisms and clinical implications of peritoneal fibrosis. *Perit Dial Int* 23:530-541, 2003

Margetts, P. J./ Gyorffy, S./ Kolb, M./ Yu, L./ Hoff, C. M./ Holmes, C. J./ Gauldie, J.: Antiangiogenic and antifibrotic gene therapy in a chronic infusion model of peritoneal dialysis in rats. *J Am Soc Nephrol* 13:721-728, 2002a

Margetts, P. J./ Kolb, M./ Yu, L./ Hoff, C. M./ Holmes, C. J./ Anthony, D. C./ Gauldie, J.: Inflammatory cytokines, angiogenesis, and fibrosis in the rat peritoneum. *Am J Pathol* 160:2285-2294, 2002b

Mateijsen, M. A./ van der Wal, A. C./ Hendriks, P. M./ Zweers, M. M./ Mulder, J./ Struijk, D. G./ Krediet, R. T.: Vascular and interstitial changes in the peritoneum of CAPD patients with peritoneal sclerosis. *Perit Dial Int* 19:517-525, 1999

Miyata, T./ Ueda, Y./ Asahi, K./ Izuhara, Y./ Inagi, R./ Saito, A./ Van Ypersele De Strihou, C./ Kurokawa, K.: Mechanism of the inhibitory effect of OPB-9195 [(+/-)-2-isopropylidenehydrazono-4-oxo-thiazolidin-5-yla cetanilide] on advanced glycation end product and advanced lipoxidation end product formation. *J Am Soc Nephrol* 11:1719-1725, 2000

Moog, F.: The lining of the small intestine. *Sci Am* 245:154-158, 160, 162 et passiom, 1981

Morgan, L. W./ Wieslander, A./ Davies, M./ Horiuchi, T./ Ohta, Y./ Beavis, M. J./ Craig, K. J./ Williams, J. D./ Topley, N.: Glucose degradation products (GDP) retard remesothelialization independently of D-glucose concentration. *Kidney Int* 64:1854-1866, 2003

Musi, B./ Braide, M./ Carlsson, O./ Wieslander, A./ Albrektsson, A./ Ketteler, M./ Westenfeld, R./ Floege, J./ Rippe, B.: Biocompatibility of peritoneal dialysis fluids: long-term exposure of nonuremic rats. *Perit Dial Int* 24:37-47, 2004

Mutsaers, S. E.: The mesothelial cell. *Int J Biochem Cell Biology* 36:9-16, 2004

Nilsson-Thorell, C. B./ Muscalu, N./ Andren, A. H./ Kjellstrand, P. T./ Wieslander, A. P.: Heat sterilization of fluids for peritoneal dialysis gives rise to aldehydes. *Perit Dial Int* 13:208-213, 1993

Noh, H./ Ha, H./ Yu, M. R./ Kim, Y. O./ Kim, J. H./ Lee, H. B.: Angiotensin II mediates high glucose-induced TGF-beta1 and fibronectin upregulation in HPMC through reactive oxygen species. *Perit Dial Int* 25:38-47, 2005

Numata, M./ Nakayama, M./ Nimura, S./ Kawakami, M./ Lindholm, B./ Kawaguchi, Y.: Association between an increased surface area of peritoneal microvessels and a high peritoneal solute transport rate. *Perit Dial Int* 23:116-122, 2003

Oh, K. H./ Margetts, P. J.: Cytokines and growth factors involved in peritoneal fibrosis of peritoneal dialysis patients. *Int J Artif Organs* 28:129-134, 2005

Okabe, E./ Tomo, T./ Tezono, K./ Kikuchi, H./ Kadota, J./ Nasu, M.: Synergistic cytotoxicity of acidity and glucose degradation products in peritoneal dialysis fluid. *J Artif Organs* 7:155-160, 2004

Park, M. S./ Lee, H. A./ Chu, W. S./ Yang, D. H./ Hwang, S. D.: Peritoneal accumulation of AGE and peritoneal membrane permeability. *Perit Dial Int* 20:452-460, 2000

Pertynska-Marczewska, M./ Kiriakidis, S./ Wait, R./ Beech, J./ Feldmann, M./ Paleolog, E. M.: Advanced glycation end products upregulate angiogenic and pro-inflammatory cytokine production in human monocyte/macrophages. *Cytokine* 28:35-47, 2004

Plum, J./ Hermann, S./ Fussholler, A./ Schoenicke, G./ Donner, A./ Rohrborn, A./ Grabensee, B.: Peritoneal sclerosis in peritoneal dialysis patients related to dialysis settings and peritoneal transport properties. *Kidney Int - Supplement* 78:S42-47, 2001

Rippe, B.: A three-pore model of peritoneal transport. *Perit Dial Int* 13 Suppl 2:S35-38, 1993

Rippe, B./ Rosengren, B. I./ Venturoli, D.: The peritoneal microcirculation in peritoneal dialysis. *Microcirculation* 8:303-320, 2001

Rubin, J./ Herrera, G. A./ Collins, D.: An autopsy study of the peritoneal cavity from patients on continuous ambulatory peritoneal dialysis. *Am J Kidney Dis* 18:97-102, 1991

Samtleben, W./ Blumenstein, M.: [Indications for and selection of dialysis methods in acute and chronic renal failure including continuous methods]. *Internist (Berl)* 40:3-12, 1999

Serre, A. F./ Marie, C./ Beaujon, G./ Betail, G./ Cavaillon, J. M./ Deteix, P.: Variations of cytokine levels and production in CAPD patients. *Int J Artif Organs* 20:614-621, 1997

Smit, W./ Schouten, N./ van den Berg, N./ Langedijk, M. J./ Struijk, D. G./ Krediet, R. T.: Analysis of the prevalence and causes of ultrafiltration failure during long-term peritoneal dialysis: a cross-sectional study. *Perit Dial Int* 24:562-570, 2004

Stachowska-Pietka, J./ Waniewski, J./ Flessner, M. F./ Lindholm, B.: Distributed model of peritoneal fluid absorption. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2006

Tauer, A./ Zhang, X./ Schaub, T. P./ Zimmeck, T./ Niwa, T./ Passlick-Deetjen, J./ Pischetsrieder, M.: Formation of advanced glycation end products during CAPD. *Am J Kidney Dis* 41:S57-60, 2003

Teitelbaum, I./ Burkart, J.: Peritoneal dialysis. *Am J Kidney Dis* 42:1082-1096, 2003

Vlassara, H.: Serum advanced glycosylation end products: a new class of uremic toxins? *Blood Purif* 12:54-59, 1994

von Ruhland, C. J./ Newman, G. R./ Topley, N./ Williams, J. D.: Can artifact mimic the pathology of the peritoneal mesothelium? *Perit Dial Int* 23:428-433, 2003

Vychytil, A.: [How can the approach and the clinical results of peritoneal dialysis continue to be better in the future?]. *Wien Klin Wochenschr* 117 Suppl 6:1-4, 2005

Wieslander, A./ Linden, T./ Kjellstrand, P.: Glucose degradation products in peritoneal dialysis fluids: how they can be avoided. *Perit Dial Int* 21 Suppl 3:S119-124, 2001

Williams, J. D./ Craig, K. J./ Topley, N./ Von Ruhland, C./ Fallon, M./ Newman, G. R./ Mackenzie, R. K./ Williams, G. T./ Peritoneal Biopsy Study, G.: Morphologic changes in the peritoneal membrane of patients with renal disease. *J Am Soc Nephrol* 13:470-479, 2002

Williams, J. D./ Craig, K. J./ von Ruhland, C./ Topley, N./ Williams, G. T./ Biopsy Registry Study, G.: The natural course of peritoneal membrane biology during peritoneal dialysis.[see comment]. *Kidney Int - Supplement*:S43-49, 2003

Williams, J. D./ Topley, N./ Craig, K. J./ Mackenzie, R. K./ Pischetsrieder, M./ Lage, C./ Passlick-Deetjen, J./ Euro Balance Trial, G.: The Euro-Balance Trial: the effect of a new biocompatible peritoneal dialysis fluid (balance) on the peritoneal membrane. *Kidney Int* 66:408-418, 2004

Wong, C. F./ Beshir, S./ Khalil, A./ Pai, P./ Ahmad, R.: Successful treatment of encapsulating peritoneal sclerosis with azathioprine and prednisolone. *Perit Dial Int* 25:285-287, 2005

Yamada, K./ Miyahara, Y./ Hamaguchi, K./ Nakayama, M./ Nakano, H./ Nozaki, O./ Miura, Y./ Suzuki, S./ Tuchida, H./ Mimura, N./ et al.: Immunohistochemical study of human advanced glycosylation end-products (AGE) in chronic renal failure. *Clin Nephrol* 42:354-361, 1994

Yang, A. H./ Chen, J. Y./ Lin, J. K.: Myofibroblastic conversion of mesothelial cells. *Kidney Int* 63:1530-1539, 2003

Yao, V./ Platell, C./ Hall, J. C.: Peritoneal mesothelial cells produce inflammatory related cytokines. *ANZ J Surg* 74:997-1002, 2004

Zareie, M./ Keuning, E. D./ ter Wee, P. M./ Beelen, R. H./ van den Born, J.: Peritoneal dialysis fluid-induced changes of the peritoneal membrane are reversible after peritoneal rest in rats. *Nephrol Dial Transplant* 20:189-193, 2005

Internetseiten:

- http://www.fmc-ag.de
- http://www.dialyseforum.de

7. Anhang

Abbildungen

Abbildung 1.1: Diagnoseverteilung bei Dialysepatienten von 1996–2004 (Prävalenz). Quelle: Frei und Schober-Halstenberg 2005 in Quasi-Niere-Report 2004/2005. 6

Abbildung 1.2: Prinzip des Stoff- und Wassertransportes (Modifiziert nach Kuhlmann et al. 2003)..... 8

Abbildung 1.3: Platzierung des Katheters - Beutelanlage (Modifiziert nach Fresenius-Medical-Care: www.fmc-ag.de)..... 11

Abbildung 1.4: Intraperitoneale Kathetermodelle zur Peritonealdialyse (Modifiziert nach Hörl und Wanner 2004)..... 11

Abbildung 1.5: Aufbau des Peritoneums in der Übersicht (Modifiziert nach Di Paolo und Sacchi 2000)..... 13

Abbildung 1.6: Schmales Interstitium mit sehr schmaler, in dieser Auflösung kaum dargestellten mesothelialen Zellschicht eines Nierengesunden (HE, 100fach), aus: Präparatesammlung der Klinik für Nephrologie der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf. 14

Abbildung 1.7: Darstellung der Mikrovilli auf der mesothelialen Oberfläche (TEM, 10.000fach), aus: Di Paolo und Sacchi 2000..... 14

Abbildung 1.8: Parietales Peritoneum nach elf Monaten Dialyse. Dargestellt ist ein dünnes, erhaltenes Mesothel mit fehlenden Mikrovilli (TEM, 43.000fach), aus: Di Paolo und Sacchi 2000. 16

Abbildung 2.1 a – c) Bewertung der mesothelialen Zellschicht (nach Plum et al. 2001)..... 22

Abbildung 2.2 a) Submesotheliale Bindegewebsvermehrung bei einem 68-jährigen urämischen Patienten vor Katheterneuanlage (100fach, EvG)..... 23

Abbildung 2.2 b) Submesotheliale Bindegewebsvermehrung bei einer 46-jährigen Patientin vor der Anlage des 2. Katheters. *CAPD, Dialysedauer: 45 Monate* (100fach, EvG). 23

Abbildung 2.3 a – d) Graduierung subendothelialer Ablagerungen peritonealer Gefäße (Williams et al. 2002)..... 24

Abbildung 2.4 a / b) Markierung der Gefäße in ImageJ zur Beurteilung der Gefäßanzahl und des Gefäßlumenanteils. Präparat-Ausschnitt eines 58jährigen Patienten mit CCPD seit 91 Monaten. OP-Grund: Katheterwechsel. Niereninsuffizienz aufgrund einer IgA-Nephropathie (100fach, EvG). 25

Abbildung 3.1: Absolute Häufigkeiten - Mesotheliale Zellschicht mit Gruppenzuordnung. 33

Abbildung 3.2: Relative Häufigkeiten - Mesotheliale Zellschicht im Gruppenvergleich..... 34

Abbildung 3.3: Mesotheliale Zellschicht, dargestellt in relativen Häufigkeiten für den Subgruppenvergleich der chronischen PD-Patienten nach D/Pratio für Kreatinin. 35

Abbildung 3.4: Darstellung der submesothelialen Fibrose. a) $\bar{x}$ ± STD b) Median / IQA / kleinster und größter Wert im Abstand von 1,5 Boxlängen vom unteren bzw. oberen Rand der Box. 36

Abbildung 3.5: Darstellung der submesothelialen Fibrose in der Gruppe der chronischen Dialysepatienten mit der Einteilung in D/Pratio für Kreatinin < 66% und ≥ 66%. 37

Abbildung 3.6: Absolute Häufigkeiten - Perivaskuläre Veränderungen mit Gruppenzuordnung. 39

Abbildung 3.7: Relative Häufigkeiten - Perivaskuläre Veränderungen im Gruppenvergleich. 39

Abbildung 3.8: Icodextrin im Regime – Absolute a) und relative Häufigkeiten b) - Perivaskuläre Veränderungen mit Gruppenzuordnung. 40

Abbildung 3.9: Relative Gefäßfläche (RGF) in % im Gruppenvergleich (Median / IQA). 40

Abbildung 3.10: Relative Gefäßanzahl (RGAF) pro Präparatfläche (RGAF) im Gruppenvergleich (Median / IQA). 41

Abbildung 3.11: Darstellung der relativen Gefäßanzahl pro Länge der peritonealen Oberfläche (RGAL). a) $\bar{x}$ ± STD b) Median / IQA. 42

Abbildung 3.12: Spearman-Rang-Korrelation: Relative Gefäßanzahl pro Länge peritonealer Oberfläche (RGAL) und Glukose-Menge (Glu-Load). 46

Tabellen

Tabelle 1.1: Nierenersatztherapie im internationalen Vergleich - Stand Oktober 2005. Quelle: Modifiziert nach Frei und Schober-Halstenberg 2005 in Quasi-Niere-Report 2004/2005. 7

Tabelle 1.2: Zusammensetzung der Peritonealdialyselösungen nach Herstellerangaben. 12

Tabelle 2.1: Quotienten zur Beurteilung des Gefäßstatus pro Gesichtsfeld. 25

Tabelle 2.2: Anthropometrische Daten mit Serum-Kreatinin [mg/dl]. 26

Tabelle 2.3: Chirurgische Eingriffe - Dialysegruppe. 27

Tabelle 2.4: Ursachen für die Dialysepflichtigkeit mit Häufigkeiten (*H*). 27

Tabelle 2.5: Labor, Dialyseeffektivitätsprüfung (DP) und PET − Urämie- und Dialysegruppe. 28

Tabelle 2.6: Subgruppen der chronischen Peritonealdialysepatienten nach klinischen Daten und peritonealem Transport. 30

Tabelle 3.1: Absolute und relative Häufigkeiten bei der Beurteilung der mesothelialen Zellschicht im Gruppenvergleich. 33

Tabelle 3.2: Absolute und relative Häufigkeiten bei der Beurteilung der mesothelialen Zellschicht - Einteilung der Gruppe der chronischen Dialysepatienten nach der D/Pratio für Kreatinin. 34

Tabelle 3.3: Anzahl an Patienten *(N)* zur Beurteilung der vaskulären Parameter RGF, RGAF und RGAL. 38

Tabelle 3.4: Absolute und relative Häufigkeiten bei der Beurteilung der perivaskulären Veränderungen im Gruppenvergleich. 38

Tabelle 3.5: Ergebnisse der Beurteilung der relativen Gefäßanzahl pro Länge der peritonealen Oberfläche (Mittelwert ± STD; Median / IQA). 42

Tabelle 3.6: Morphologische Veränderungen und Eigenschaften der Dialysate. 43

Tabelle 3.7: Korrelationskoeffizienten (r) für alle Untersuchungsgruppen. 44

Tabelle 3.8: Korrelationskoeffizienten (r) - Dialysegruppe. 45

Tabelle 3.9: Anthropometrische und klinische Daten zum Zeitpunkt der ersten Biopsie. 46

Tabelle 3.10: Darstellung der anamnestischen, histologischen und PET-Daten (ohne Diabetes Mellitus). 47

Tabelle 3.11: Darstellung der histologischen, PET- und Laborparameter von Pat. C (Diabetiker). 47

Tabelle 4.1: Möglichkeiten der Einflussnahme auf strukturell/funktionelle Veränderungen während Peritonealdialyse. 64

Abkürzungen

AGE	Advanced Glycosylation-End-Product (nicht enzymatische Glykosylierung freier Aminosäureendigungen (Maillard-Reaktion)
APD	Automatische Peritonealdialyse
AQ1-UF	Aquaporin1-vermittelte Ultrafiltration
BZP	Biopsiezeitpunkt
CAPD	Kontinuierliche ambulante Peritonealdialyse
CCPD	Kontinuierliche zyklische Peritonealdialyse
chr. PD	Chronische Peritonealdialysepatienten
CRP	C-reaktives Protein
CTGF	Connective Tissue Growth Factor
D/Pratio Kreatinin = D/Pratio	Dialysat zu Plasma Ratio für Kreatinin
DP	Dialyseeffektivitätsprüfung
effektive UF	Effektive Ultrafiltration
E-lyte	Elektrolyte
EMT	Epithelial Mesenchymal Transition – epithelialer zu mesenchymalem Übergang von Mesothelzellen
EPS	Enkapsulierende peritoneale Sklerose
EvG	Elastica van Gieson
FGF	Fibroblast Growth Factor
Fibrose = Hist-Fibrose	Ausmaß der submesothelialen Fibrose
GDP	Glukose-Abbauprodukte
GFR	Glomeruläre Filtrationsrate
Glu	Glukose
Glucose-LOAD	Kumulative Glukosmenge [kg] über die Dialysedauer
HD	Hämodialyse
HE	Hämatoxylin-Eosin
Hist-Fibrose = Fibrose	Ausmaß der submesothelialen Fibrose
Hist-MESO = Meso	Intaktheit der mesothelialen Zellschicht
Hist-VAS	Graduierung der perivaskulären Veränderungen
HPMC	Humane peritoneale mesotheliale Zellen
IL-x	Interleukin
IPD	Intermittierende Peritonealdialyse
IQA	Interquartilen-Abstand (25% bis 75%)
KO	Kontrollgruppe
Krea-Cl.	Kreatinin-Clearance
Kt/V	Harnstoff-Clearance
Meso = Hist-MESO	Intaktheit der mesothelialen Zellschicht

nPCR	Normalisierte Protein-Katabolie-Rate
NTP	Nierentransplantation
PAS	Perjodsäure-Schiff-Reaktion
PD	Peritonealdialyse
PDGF	Platelet Derived Growth Factor
PET	Peritoneal-Äquilibrationstests
pmp	per million population
r	Korrelationskoeffizient
RAGE	AGE-Rezeptoren
RAS	Renin-Angiotensin-System
RER	Raues endoplasmatisches Retikulum
RGA/F = RGAF	Relative Gefäßanzahl pro Fläche [1/mm^2]
RGA/L = RGAL	Relative Gefäßanzahl pro Länge der peritonealen Oberfläche [1/mm]
RGF	Relative Gefäßfläche [%]
STD	Standardabweichung
TCUF	Transkapilläre Ultrafiltration
TEM	Transmissions-Elektronen-Mikroskopie
TGF-x	Transforming Growth Factor
TNF-α	Tumor-Nerkose-Faktor-α
TPD	Tidal Peritonealdialyse
UR	Gruppe der urämischen Patienten vor Beginn der PD
VCAM	Vascular Cell Adhesion Molecule
VEGF	Vascular Endothelial Growth Factor

Lebenslauf

Christoph Rzeszut geboren am 25. Juni 1975 in Bad Kreuznach (Rheinland-Pfalz)

Schulausbildung

1981 - 09. Juni 1994	Bad Kreuznach, Rheinland-Pfalz. Abschluss**:** Abitur

Studium

1994 - 1996	Studium des Bauingenieurwesens an der Universität Kaiserslautern
Oktober 1996 bis 23. August 2000	Studium der Sportwissenschaft an der Deutschen Sporthochschule Köln (DSHS) mit dem Abschluss Dipl.-Sportwissenschaftler (Rehabilitation und Prävention)
Mai 2000 bis 13. November 2006	Studium der Humanmedizin an der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf
31. März 2001	Auszeichnung mit der August-Bier-Plakette der Deutschen Sporthochschule Köln für herausragende Studienleistungen
17. November 2006	Erteilung der Approbation als Arzt

Praktika

Juli - August 1999 | Praktikum im Bereich **Sportrehabilitation** in der Westerwaldklinik Waldbreitbach**,** Schwerpunktklinik für Neurologie und Psychosomatik.

September - Oktober '03 | Famulatur im Bereich **innere Medizin** im Marien-Hospital Düsseldorf (Lehrkrankenhaus der HHU-Düsseldorf) Chefarzt PD Dr. med. R. Lüthen.

Februar - März 2004 | Famulatur im Bereich **Neurologie** im Johanna-Etienne-Krankenhaus in Neuss (Chefarzt Dr. S. Mohr).

März 2004 | zweiwöchige Famulatur in der **neurologischen Gemeinschaftspraxis** von PD Dr. med. Rautenberg und andere in Düsseldorf.

August 2004 | zweiwöchige Famulatur in der Abteilung für **Gynäkologie** und Geburtshilfe im Diakonie-Krankenhaus Bad Kreuznach (Chefarzt Dr. med. M. Langold).

September 2004 | zweiwöchige Famulatur in der **nephrologischen** Abteilung der MNR-Klinik der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf (Chefarzt Prof. Dr. med. Grabensee).

September 2004 | zweiwöchige Famulatur in der **neurologischen Ambulanz** des Johanna-Etienne-Krankenhauses in Neuss**.**

Praktisches Jahr Oktober 2005 - September 2006

17. Oktober 2005 - 03. Februar 2006

Chirurgie	Centre Hospitalier Universitaire Nantes (Frankreich) **Allgemeinchirurgie** Chefarzt Prof. Paineau/Prof. Le Neel **Herz-Thoraxchirurgie** Chefarzt Prof. Despin

06. Februar 2006 - 26. Mai 2006

Neurologie	Evangelisches und Johanniter Klinikum Duisburg (Lehrkrankenhaus der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf) Chefarzt PD Dr. med. Grehl (Betriebsteil - Duisburg Nord)

29. Mai 2006 - 15. September 2006

Innere Medizin Evangelisches und Johanniter Klinikum Duisburg
Pneumologie Chefarzt Prof. Dr. Rausch (Betriebsteil Oberhausen-Sterkrade)
Gastroenterologie und Endokrinologie Chefarzt Prof. Dr. Schneider (Betriebsteil Duisburg-Nord)
Kardiologie Chefarzt Prof. Dr. Schöls (Kaiser-Wilhelm-Krankenhaus Duisburg)

Praktische Tätigkeiten

Februar - Juli 1999	Studentische Hilfskraft im Institut für Biomechanik der Deutschen Sporthochschule Köln.
Januar - Juni 2000	Einstellung als Übungsleiter bei der VHS Rhein-Erft (bei Köln) im Bereich Sport und Gymnastik.
seit Januar 2001	Einstellung als Dipl.-Sportwissenschaftler (Honorarvertrag) im Bereich Gerätetraining bei der Reha-Düsseldorf GmbH.
Januar 2003 - Januar 2005	Tätigkeit als Dipl.-Sportwissenschaftler bei der VHS-Düsseldorf im Bereich der Erwachsenenbildung.
Dezember 2006 - 31. August 2007	Assistenzarzt in der Klinik für Neurologie im St.-Johannes-Hospital Hagen Chefarzt Prof. Dr. med. Köller.
seit Februar 2008	Assistenzarzt in der Klinik für Neurologie im Helios-Klinikum Wuppertal Chefarzt Prof. Dr. med. Isenmann

Veränderungen der peritonealen Morphologie bei Peritonealdialyse unter Betrachtung peritonealer Funktionsparameter sowie klinischer und dialysatspezifischer Einflussgrößen

Rzeszut Christoph

Abstract:

Die Peritonealdialyse (PD) hat sich mittlerweile als zur Hämodialyse gleichwertiges Verfahren etabliert. Langzeit-Peritonealdialyse führt jedoch zu funktionellen Veränderungen des Peritoneums als körpereigene Dialysemembran und unter Umständen zum Versagen der PD. Die funktionellen Veränderungen sind Folge von erheblichen morphologischen Alterationen des Peritoneum durch verschiedene PD-spezifische Faktoren wie Glukose, Glukoseabbauprodukte und AGE`s. Lichtmikroskopisch fassbare Veränderungen betreffen zum einen die Intaktheit der mesothelialen Zellschicht, die Dicke des submesothelialen Stromas sowie die Anzahl und Veränderung dort ansässiger Gefäße. Im Hinblick auf Veränderungen im peritonealen Stofftransport (Peritoneal-Äquilibrationstest – PET) kommt vor allem der Zunahme der peritonealen Permeabilität und dem Verlust der Ultrafiltration eine große Bedeutung zu.

Zur Beurteilung der peritonealen Morphologie wurden urämischen Patienten vor und während laufender Peritonealdialyse im Rahmen von PD-Katheteroperationen und Kontrollpatienten Proben aus dem parietalen Peritoneum entnommen, mittels HE, EvG und PAS angefärbt und lichtmikroskopisch auf die angeführten Veränderungen untersucht. Ein 3-Gruppenvergleich für chronische PD-Patienten (n=26), Kontrolle (n=14) und urämische Patienten vor PD (n=44) schloss sich an. Eine Subgruppenanalyse erfolgte für chronische PD-Patienten nach klinischen Daten (u.a. Eigenschaft der Dialysate „physiologisch vs. unphysiologisch", Anzahl an Peritonitiden, Glukosebelastung, PD-Regime, Medikation) und peritonealem Transport (PET). Eine Korrelationsanalyse wurde sowohl für die histologischen Parameter als auch für die Daten des peritonealen Transportes, des Labors und der Dialyseffektivitätsprüfung durchgeführt.

Unter chronischer PD ergab sich eine signifikante Reduktion der mesothelialen Zellschicht (HE) im Vergleich zur Urämie- ($p < 0,05$) sowie zur Kontrollgruppe ($p < 0,01$). Die submesotheliale Zellschicht (EvG) stellte sich im Vergleich zu Urämiepatienten ($p < 0,01$) signifikant dicker dar. In der PAS-Färbung zeigten sich signifikant mehr perivaskuläre Veränderungen (Hist-VAS) bei Dialysepatienten im Vergleich zur Urämie- ($p < 0,01$) und Kontrollgruppe ($p < 0,01$). Hinsichtlich der Gefäßanzahl pro Länge peritonealer Oberfläche im Gesichtsfeld (RGAL), wiesen Dialysepatienten im Vergleich zur Kontrolle ($p < 0,01$) sowie Urämiegruppe ($p < 0,05$) vermehrt Gefäße auf. Die Subgruppenanalyse der Dialysepatienten zeigte eine signifikante Reduktion der mesothelialen Zellschicht bei einem D/Pratio für Kreatinin ≥ 66 % ($p < 0,05$). Positive Korrelation ergab sich zwischen RGAL und der kumulativen Glukosemenge. Perivaskuläre Ablagerungen waren in der Gruppe mit Icodextrin im Regime vermehrt ($p < 0,05$).

Die morphologisch fassbaren Veränderungen hinsichtlich Mesothelzellverlust, submesothelialer Fibrose und vaskulären Veränderungen im Rahmen der Peritonealdialyse decken sich weitestgehend mit den Beobachtungen anderer Arbeitsgruppen. Die kumulative Glukosebelastung konnte als bedeutsamer Faktor für die Entwicklung von Gefäßveränderungen definiert werden. Eine klare Korrelation zwischen morphologischen und spezifischen funktionellen Veränderungen des peritonealen Transportes fanden sich nicht. Ein positiver oder protektiver Effekt im Hinblick auf die peritoneale Morphologie ließ sich für moderne, „physiologische" Dialysate nicht herausarbeiten. Eine gewisse Bioinkompatibilität in Bezug auf vermehrte perivaskuläre Ablagerungen bei Patienten mit Icodextrin im PD-Regime ist bemerkenswert und sollte weiter ursächlich untersucht werden. Offen bleibt weiterhin die Frage, inwiefern sich morphologische Veränderungen auf funktionelle Parameter auswirken und welche zytologischen Vorgänge damit einhergehen.

Betreuer der Dissertation: PD. Dr. med. A. Fußhöller (Klinik für Nephrologie)