



Aus der Klinik für Nephrologie
der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf
Leiter: Prof. Dr. med. B. Grabensee

**Peritonealer Stoff- und Flüssigkeitstransport und peritoneale
Immunkompetenz an der automatisierten Peritonealdialyse (APD)
nach Langzeitbehandlung mittels Bikarbonat/Laktat gepuffertem Dialysat.
Ein Vergleich zu Laktat gepuffertem Dialysat.**

Dissertation

zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin
Der Medizinischen Fakultät der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

vorgelegt von

Marcus Plail

2006

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

gez.: Univ.-Prof. Dr. med. Dr. rer. nat. Bernd Nürnberg
Dekan

Referent: Prof. Dr. med. Jörg Plum

Koreferent: Prof. Dr. med. Norbert Gattermann

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	1
1.1	Historische Entwicklung und aktueller Stand der Peritonealdialyse	1
1.2	Durchführung der Peritonealdialyse	4
1.2.1	Das Prinzip	4
1.2.2	Therapieformen	6
1.2.3	Das Peritoneum - biologische Dialysemembran	8
1.3	Peritonealer Stoff- und Flüssigkeitstransport	10
1.4	Komplikationen der PD	12
1.5	Biokompatibilität	15
1.5.1	CA 125 – Marker der Mesothelintegrität	15
1.5.2	Transforming growth factor- β 1 (TGF- β 1) – Marker für Fibrose und Neoangiogenese	16
1.6	Peritoneale Immunabwehr (“host defence“)	17
1.6.1	Das peritoneale Abwehrsystem	17
1.6.2	Respiratory burst	19
1.7	Dialyselösungen	20
1.7.1	Elektrolyte	20
1.7.2	Osmotisch wirksame Substanzen	21
1.7.2.1	Niedermolekulare Substanzen	22
1.7.2.2	Makromolekulare Substanzen	23
1.7.3	Puffer	24
1.8	Fragestellung und Zielsetzung	27
2	Material und Methoden	29
2.1	Studiendesign	29
2.2	Patienten	31
2.3	Die verwendeten Dialyselösungen	33
2.4	Klinische Untersuchungen zum peritonealen Transport	35
2.4.1	Peritonealer Equilibrationstest	35
2.4.1.1	Berechnung des peritonealen Stofftransports	36
2.4.1.2	Berechnung der Flüssigkeitskinetik	38

2.5	Klinische Untersuchungen zum Flüssigkeitshaushalt	40
2.5.1	Ultrafiltrationsprofil	40
2.5.2	Restdiurese	40
2.6	Klinische Untersuchungen zum Säure-Base-Haushalt	40
2.7	Dialyseeffektivität	41
2.7.1	Kreatininclearance	41
2.7.2	Harnstoffclearance (Kt/V)	42
2.7.3	Normalized protein catabolic rate (nPCR)	43
2.8	Subjektive Verträglichkeit / Einlaufschmerzen	44
2.9	Proben und Analysen	44
2.10	Experimentelle Untersuchungen zur Biokompatibilitätsprüfung	45
2.10.1	Reagenzien, Material, Gerätschaften	45
2.10.1.1	Zellkulturmedium	45
2.10.1.2	Krebs-Ringer-Phosphat-Puffer	45
2.10.1.3	Herstellung der "Serum Treated Zymosan"-Stammlösung	46
2.10.1.4	pH Wert im Dialysat	46
2.10.2	Isolation humaner peritonealer Makrophagen aus gebrauchtem Dialysat	47
2.10.3	Isolation humaner Blutmonozyten aus Vollblut	47
2.10.4	Quantifizieren der Zellzahl nach Isolation	49
2.10.5	Trypan-Blau-Färbung	49
2.10.6	alamarBlue-Assay	49
2.10.7	Chemolumineszens-Assay	50
2.10.8	Zymosan-Phagozytose-Assay	51
2.10.9	Diff-Quick-Färbung	53
2.10.10	Zytokin Stimulationstest mit Lipopolysaccharid (LPS)	53
2.10.11	Enzyme linked immunosorbent assay (ELISA)	54
2.10.11.1	Interleukin 6 (IL-6) ELISA	57
2.10.11.2	"Transforming growth factor- β 1" (TGF- β 1) ELISA	57
2.10.11.3	C-reaktives Protein (CRP) ELISA	57
2.10.11.4	Aquaporin-1 (AQP-1) und "Advanced glycosylation end-products" (AGEs) ELISA	57
2.10.11.5	Tumorantigen CA 125	58
2.11	Statistische Auswertung	59

3	Ergebnisse	60
3.1	Peritonealer Stofftransport	60
3.1.1	Effektive Membranoberfläche - Massentransferflächenkoeffizient (MTAC)	60
3.1.2	Niedermolekularer Stofftransport - D/P_{ratio} kleiner Solute	65
3.1.3	Glucoseerhalt im Dialysat	69
3.2	Flüssigkeitskinetik	70
3.2.1	Intraperitoneales Volumen (IPV), effektive Ultrafiltration (EUF) und transkapilläre Ultrafiltration (TCUF)	70
3.2.2	Aquaporin vermittelter freier Wassertransport (FWT)	72
3.2.3	Lymphatische Absorption (LA)	73
3.2.4	Residualvolumen (RV)	73
3.3	Flüssigkeitshaushalt und Ultrafiltrationsprofil	74
3.3.1	Restdiurese	74
3.3.2	Glucosebelastung	75
3.3.3	24 Stunden Ultrafiltration	76
3.3.4	Ultrafiltration am Cycler	77
3.4	Säure-Base Haushalt	78
3.4.1	Blutgasanalyse	78
3.5	Dialyseeffektivität	79
3.6	Biokompatibilität und peritoneale Immunabwehr	81
3.6.1	pH Bestimmung im Dialysat	81
3.6.2	Isolation der peritonealen Makrophagen	82
3.6.3	Phagozytose-Assay	83
3.6.4	Chemolumineszens-Assay	84
3.6.5	Vitalität der humanen Blutmonozyten	85
3.6.6	LPS stimulierte Zytokinsekretion (IL-6) der humanen Blutmonozyten	86
3.6.7	Interleukin 6 im Dialysat	87
3.6.8	Interleukin 6 im Serum	89
3.6.9	Tumorantigen CA 125 im Dialysat	90
3.6.10	Transforming growth factor- β 1 im Dialysat	91
3.6.11	Advanced glycosylated end-products (AGEs) im Dialysat	92
3.6.12	Aquaporin-1 im Dialysat	93
3.6.13	C-reaktives Protein (CRP) im Dialysat	94
3.6.14	Einlaufschmerzen	95

4	Diskussion	96
4.1	Methodische Aspekte	96
4.2	Peritonealer Stoff- und Flüssigkeitstransport	101
4.2.1	Effektive peritoneale Oberfläche / Massentransferflächenkoeffizient (MTAC)	101
4.2.2	Niedermolekularer Stofftransport	103
4.2.3	Flüssigkeitstransport	105
4.2.4	Dialyseeffektivität und Verträglichkeit	106
4.3	Biokompatibilität und peritoneale Immunabwehr	107
4.3.1	Kulturversuche mit humanen Blutmonozyten	108
4.3.2	Kulturversuche mit peritonealen Makrophagen	109
4.3.3	Intraperitoneale Zytokinsekretion (IL-6)	109
4.3.4	Zelluläre und strukturelle Veränderungen des Peritoneums	111
5	Klinischer Ausblick	114
6	Zusammenfassung	116
7	Anhang	120
7.1	Literaturverzeichnis	120
7.2	Abbildungsverzeichnis	131
7.3	Tabellenverzeichnis	134
7.4	Formelverzeichnis	134
7.5	Glossar	136
7.6	Danksagung	139
7.7	Veröffentlichungen und Publikationen	140
7.8	Lebenslauf	141

1 Einleitung

1.1 Historische Entwicklung und aktueller Stand der Peritonealdialyse

Bereits gegen Ende des 19. Jahrhunderts begann die Grundlagenforschung der peritonealen Dialyse mit ersten Funktionsuntersuchungen des Peritoneums. Starling und Tubby berichteten 1894 als erste über osmotisch induzierte peritoneale Flüssigkeitsverschiebungen [143]. Orlow beschrieb ein Jahr später anhand seiner kinetischen Untersuchungen die peritonealen Vorgänge als physiologischen Prozess [108]. 1922 bestimmten Putnam *et al.* Kreatinin, Harnstoff und Harnsäure in der peritonealen Spülflüssigkeit von Hunden, Katzen und Kaninchen. Sie konnten einen zeitabhängigen Konzentrationsanstieg dieser Solute nachweisen und stellten ferner eine Abhängigkeit von Teilchengröße und Diffusionsgeschwindigkeit fest [124]. Heute, mehr als 80 Jahre später, sind Stoff- und Flüssigkeitskinetik der peritonealen Membran immer noch Gegenstand intensiver klinischer Forschung.

Den Grundstein zur therapeutisch induzierten Peritonealdialyse am Menschen legten ab 1923 zum einen Ganter [41], zum anderen Heusser und Werder [54], die umfangreiche Dialysen an Tieren durchführten. Ausgehend von der Erkenntnis, dass bei genügend hoher Flussrate der Spüllösung die peritoneale Dialyse der Eliminationsleistung der Niere zumindest ebenbürtig ist, führten Heusser und Werder 1927 ihre ersten Peritonealdialysen am Menschen durch. Dazu verwendeten sie eine mit 2 bis 5% Glucose angereicherte Ringerlösung. 1950 berichteten Odel *et al.* über die bis dato erzielten Teilerfolge der Peritonealdialyse (PD). Bei etwa der Hälfte der Patienten mit reversiblen Erkrankungen wurde eine zum Teil deutliche Besserung des Zustandes erreicht. Patienten mit chronischer Niereninsuffizienz überlebten die Behandlungen hingegen nicht [106]. Trotz weiterer Forschung und Verbesserungen verhinderten zahlreiche Komplikationen und technische Unzulänglichkeiten und nicht zuletzt die Fortschritte in der Hämodialyse (HD) die breite Anwendung der Peritonealdialyse als Nierenersatztherapie. Erst 18 Jahre später ebnete Tenckhoff den Weg zur chronischen Peritonealdialysetherapie. Er entwickelte Ende der 60er Jahre einen gewebeverträglichen Silastic-Katheter mit 2 Darcronmanschetten (siehe Abbildung 4) und ein für den breiten Einsatz geeignetes Dialysegerät und verbesserte damit Handhabung und Sicherheit des Verfahrens erheblich [147]. Ein weiterer Meilenstein in der Geschichte der PD war das 1976

von Popovich und Moncrief vorgestellte heutige Basisverfahren “continuous ambulatory peritoneal dialysis“ (CAPD) [122]. Oreopoulos *et al.* präsentierten wenig später auf dem Nephrologenkongress in Montreal die ersten Resultate. Die Arbeitsgruppe um Oreopoulos entwickelte in Toronto auch die Beutel der Dialysatflüssigkeiten und verbesserte die Konnektionssysteme in punkto Sicherheit [107]. Damit wurde die Peritonealdialyse für den breiten klinischen und ambulanten Einsatz anwendbar.

Heute ist die Peritonealdialyse ein der Hämodialyse gleichwertiges Therapieverfahren für Patienten mit chronischer Niereninsuffizienz. Vergleichende Studien zeigen Vor- und Nachteile beider Formen auf [33] [96] [95]. Im jährlichen Report des United States Renal Data System, Institute of Health, von 1996, werden 249,6 Sterbefälle für die Hämodialyse im Vergleich zu 298,5 Sterbefälle für die Peritonealdialyse pro tausend Patientenjahre angegeben. Eine New Yorker Studie vom Dezember 2000 ermittelte gleiche Überlebensraten für PD- und HD-Patienten [146]. Collins *et al.* berichten im April 2002 hingegen von einem signifikant schlechterem Outcome bei PD therapierten Patienten über 67 Jahren [17]. Die Behandlungskosten pro Patient und Jahr sind je nach Therapiemodalität für PD und HD in etwa identisch [104]. Die Abbildung 1 zeigt einen Kostenvergleich der verschiedenen Behandlungsverfahren für Patienten mit terminaler Niereninsuffizienz.

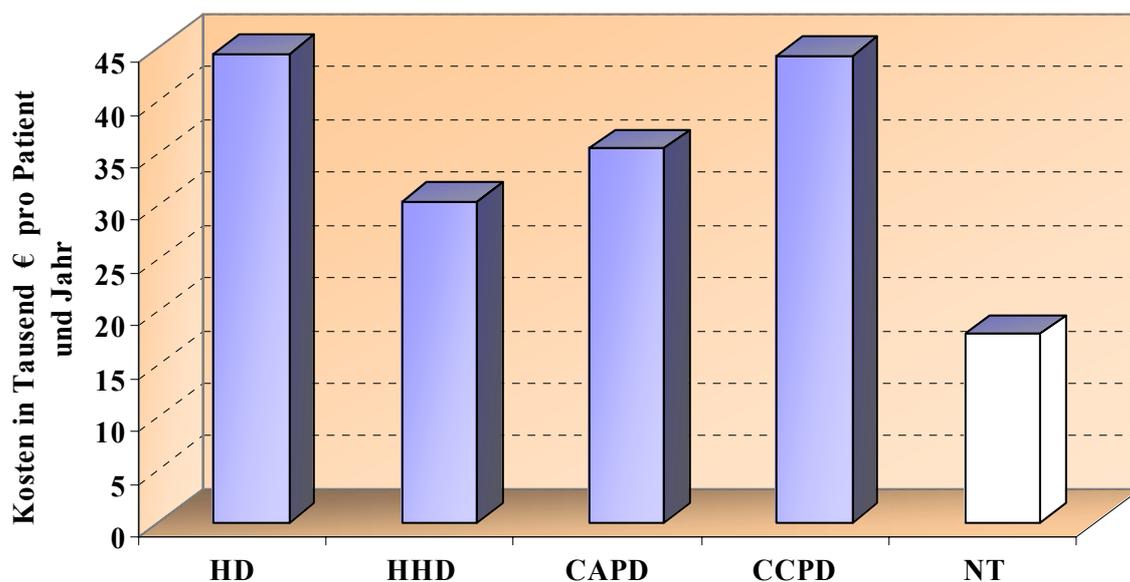


Abbildung 1: Kostenvergleich der verschiedenen Behandlungsverfahren der terminalen Niereninsuffizienz in Deutschland im Jahr 1999. Aufgezeigt sind die Therapiekosten pro Patient und Jahr [104].

HD = Hämodialyse, HHD = Heimhämodialyse, NT = Nierentransplantation

Folglich kann die Wahl der Therapieform, unter Beachtung der Indikationsstellung und möglichen Kontraindikationen, in großem Maße vom Patienten getragen und anhand der individuellen Lebensumstände ausgerichtet werden. Der Anteil der Patienten an der Peritonealdialyse zeigt weltweit große Unterschiede auf. Die Abbildung 2 gibt die Daten aus dem Jahr 1996 wieder.

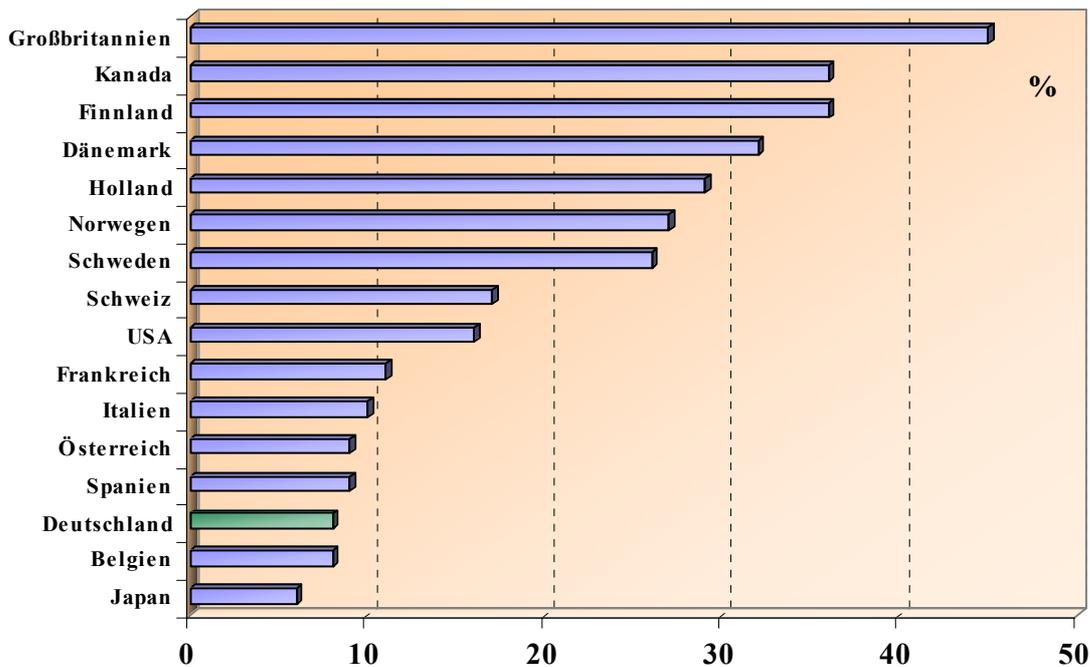


Abbildung 2: Prozentualer Anteil der der Patienten an der PD im Jahr 1996 [2].

War zu Beginn der 80er Jahre die CAPD die dominierende Form der PD, ist seit dem ein kontinuierlicher Anstieg der “automated peritoneal dialysis“ (APD) zu verzeichnen. Ausschlaggebend ist sicherlich die konsequente technische Weiterentwicklung, welche die APD effizienter, zuverlässiger, sicherer und komfortabler macht (siehe hierzu Kapitel 1.2.2). Heute werden in der Universität Düsseldorf etwa 60 % der PD-Patienten mit der APD behandelt [38], in den USA sind es ca. 45 %.

1.2 Durchführung der Peritonealdialyse

1.2.1 Das Prinzip

Grundvoraussetzung der Peritonealdialyse (PD) ist die Anlage eines PD-Katheters. Dieser wird operativ (laparoskopisch oder offen) unter Eröffnung der Peritonealhöhle implantiert. Ein transmuraler, paramedianer Tunnelverlauf durch den M. rectus abdominis mit Ausleitung des Katheters im linken Mittel- bis Unterbauch ist die Regel. Die Katheterspitze kommt im tiefsten Punkt der Peritonealhöhle, dem Douglas Raum, zu liegen. Die anatomischen Verhältnisse und die Lage des implantierten Katheters sind in Abbildung 3 dargestellt. In Abbildung 4 sind die heute verfügbaren unterschiedlichen Kathetermodelle aufgezeigt.

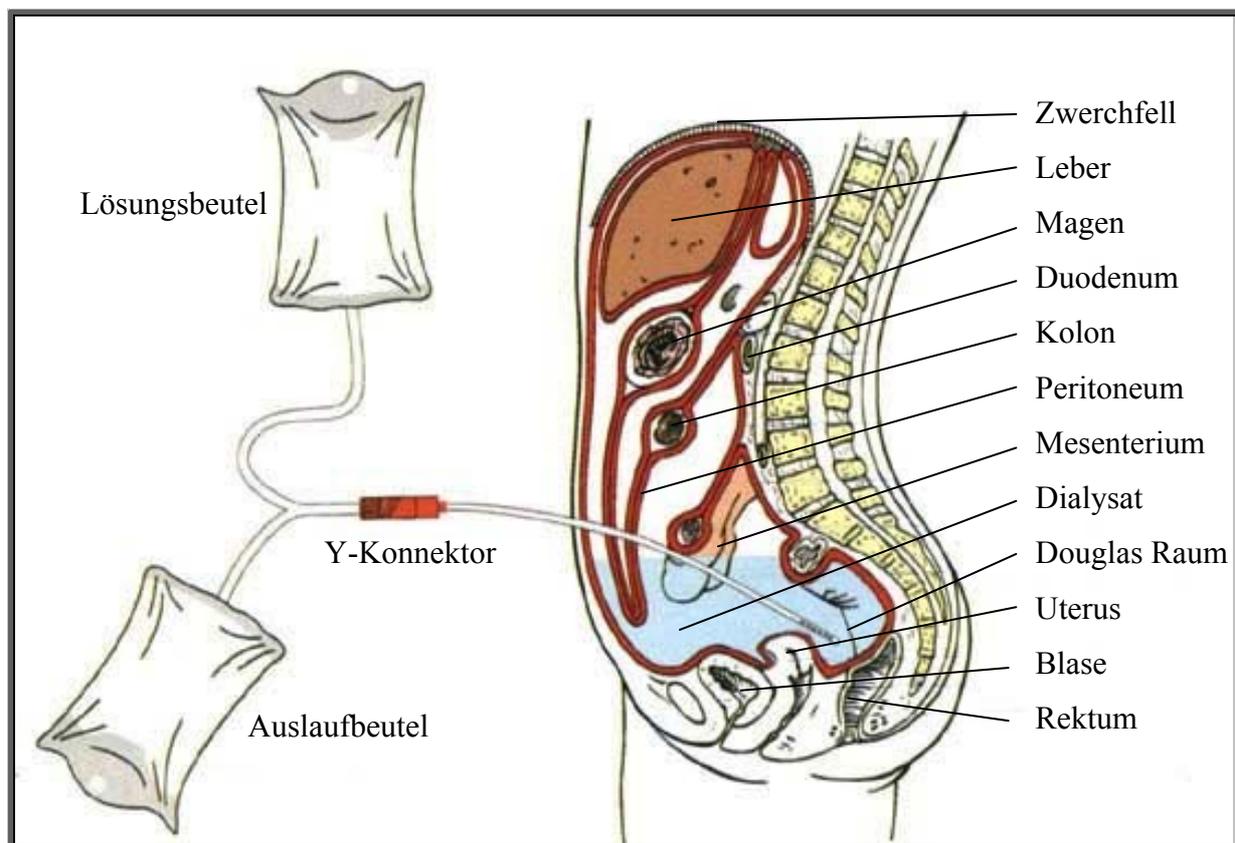


Abbildung 3: Schematische Darstellung anatomischen Strukturen und der Katheterlage.

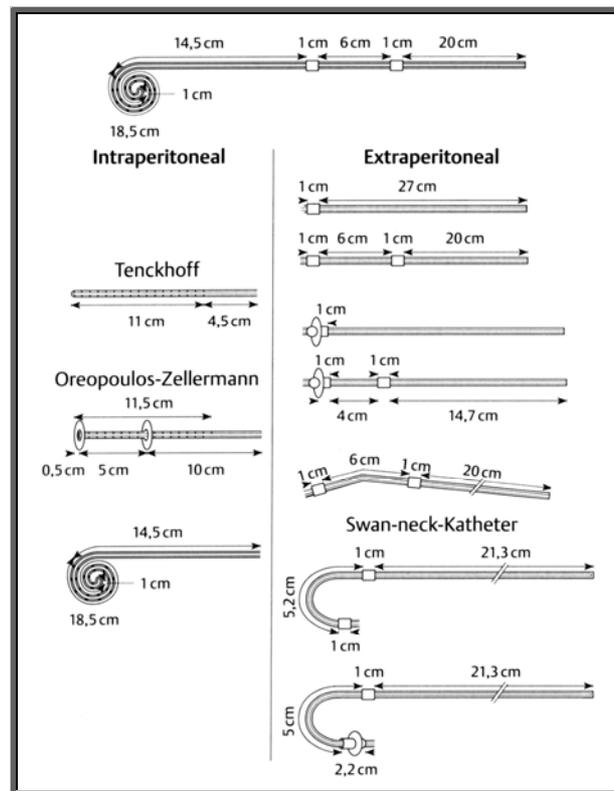


Abbildung 4: Schematische Darstellung der heute verwendeten verschiedenen Modelle von Peritonealdialysekathetern. Die intraperitoneal gelegenen Segmente können mit den extraperitoneal gelegenen Anteilen kombiniert werden. In der Heinrich-Heine-Universität wird, wie in vielen anderen Zentren auch, der Oreopoulos-Zellermann-Katheter mit zwei Dacron-Muffen und geradem Überleitungsstück implantiert [36].

Unmittelbar nach der Implantation beginnt im Düsseldorfer Zentrum die Therapie mit kleinen Füllvolumina (500 ml). Bei komplikationslosem Verlauf werden die Instillationen innerhalb von 2 Wochen auf bis zu 2000 bis 2500 ml gesteigert und das Therapieregime eingestellt. Das postoperative Management ist in den verschiedenen Zentren unterschiedlich und bedarf der individuellen Anpassung an den Patienten. Im Rahmen des stationären Aufenthaltes beginnt das Anlernen des Patienten in die Grundtechniken der Peritonealdialyse. Alle Patienten beginnen mit der CAPD, (siehe unten) werden individuell betreut und eventuell auf andere Therapieformen trainiert und umgestellt.

1.2.2 Therapieformen

Die Peritonealdialyse kann auf verschiedene Arten durchgeführt werden.

Continuous Ambulatory Peritoneal Dialysis (CAPD)

Die CAPD ist das Basisverfahren der Peritonealdialyse. Über den permanent implantierten PD-Katheter, das Verbindungssystem und ein Überleitungsschlauchsystem, heute werden fast nur noch Y-Systeme verwendet (siehe Kap. Komplikationen), werden der Schwerkraft folgend bis zu 2,5 Liter Dialysat instilliert. Dazu entleert der Patient zuvor das im Abdomen befindliche Dialysat. Nach einer Verweilzeit von 4 bis 8 Stunden führt der Patient einen erneuten Wechsel aus. Ein CAPD-Handwechsel dauert etwa 20 Minuten. Unterdessen kann der Patient anderen Tätigkeiten nachgehen wie zum Beispiel lesen oder essen. Grundvoraussetzung des manuellen Dialysataustausches ist die sterile Handhabung. Dazu gehören das Tragen eines Mundschutzes und eine gründliche Händedesinfektion genauso, wie die hygienische Pflege der Katheterraustrittsstelle.

Automated Peritoneal Dialysis (APD)

Unter dem Oberbegriff APD werden die mittels eines pumpengesteuerten Wechselgerätes (Cycler) durchgeführten Therapieregime CCPD (Continuous Cyclic Peritoneal Dialysis), NIPD (Nightly Intermittent Peritoneal Dialysis), IPD (Intermittent Peritoneal Dialysis) subsumiert. Bei dieser Methode übernimmt der Cycler die Temperierung der Beutel, das Entleeren und Befüllen des Abdomens sowie die Therapiekontrolle. Die Abbildung 5 zeigt die verschiedenen Peritonealdialyseverfahren im Schema. Der Patient richtet vor dem Zubettgehen den Cycler her und konnektiert sich einmalig mittels eines langen Verbindungsschlauches mit dem Cycler. Über Nacht wird die automatisierte Therapie durchgeführt. Therapieregime, Anzahl und Dauer der Zyklen, Dialysatumsatz und Glucosekonzentration werden individuell auf den Patienten abgestimmt. Die letzte Füllung des Cyclers kann bis zur nächsten Nacht im Abdomen verweilen ("last bag"). Auch ist ein zusätzlicher CAPD-Wechsel im Laufe des Tages möglich. Stößt die CAPD bei anurischen

Patienten oder bei solchen mit großer Körperoberfläche rasch an ihre therapeutischen Grenzen, so ermöglicht die APD hierbei eine effektivere Dialyse durch Steigerung des Dialysatumsatzes [39]. Die überwiegend nachts stattfindende Therapie ermöglicht dem Patienten einen größtmöglichen Freiraum in der Gestaltung seines Tagesablaufes, wodurch die Lebensqualität deutlich gesteigert werden kann [10].

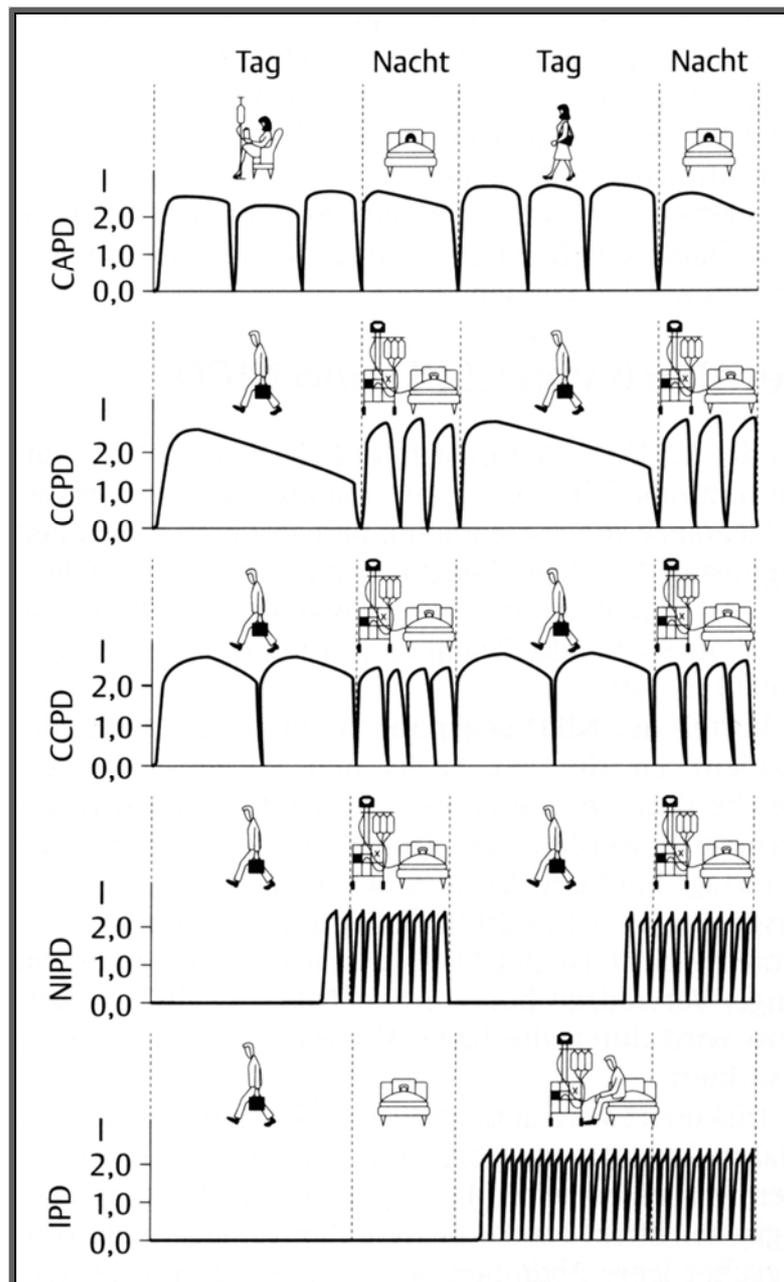


Abbildung 5: Die verschiedenen Peritonealdialyseverfahren CAPD, CCPD, NIPD und IPD sind hier anhand der intraabdominalen Volumenkurve schematisch dargestellt. Anzahl, Dauer und Volumen eines Füllzyklus sind individuell verschieden (nach Khanna *et al.*).

1.2.3 Das Peritoneum - biologische Dialysemembran

Die Peritonealhöhle bildet beim gesunden Menschen einen kapillaren Spaltraum, gefüllt mit etwa 15 bis 50 ml seröser Flüssigkeit, der als Verschiebeschicht der intestinalen Organe fungiert. Eine Volumenzunahme um das 40 bis 50fache wird ohne Komplikationen toleriert.

Das Peritoneum bildet als seröse Haut die Ummantelung der Peritonealhöhle. Etwa 90 % umkleiden als viszerales Blatt die inneren Organe, 10 % überziehen als parietales Blatt die innere Bauchwand und das Zwerchfell. Die anatomische Oberfläche beträgt in Abhängigkeit von der Körperoberfläche 1,5 bis 2 m² und ist von der funktionellen oder effektiven Oberfläche, jenem Anteil der dem Stoff- und Wasseraustausch zur Verfügung steht, zu unterscheiden. Letztere ist wesentlich kleiner und insbesondere von der Kapillarisation und Durchblutung der Peritonealmembran abhängig [166]. Dem parietalen Anteil scheint hier eine größere Bedeutung zuzukommen als dem viszeralen [35]. Histologisch besteht die Peritonealmembran aus Mesothel, Interstitium und Gefäßen (siehe Abbildung 6). Das Mesothel besteht aus einer flachen, polygonalen Zellreihe mit Mikrovillibusatz. Das Interstitium besteht aus einem Netzwerk kolloidreicher Mukopolysaccharide, in das zelluläre Bestandteile in Form von Fibroblasten, Makrophagen und Mastzellen eingebettet sind.

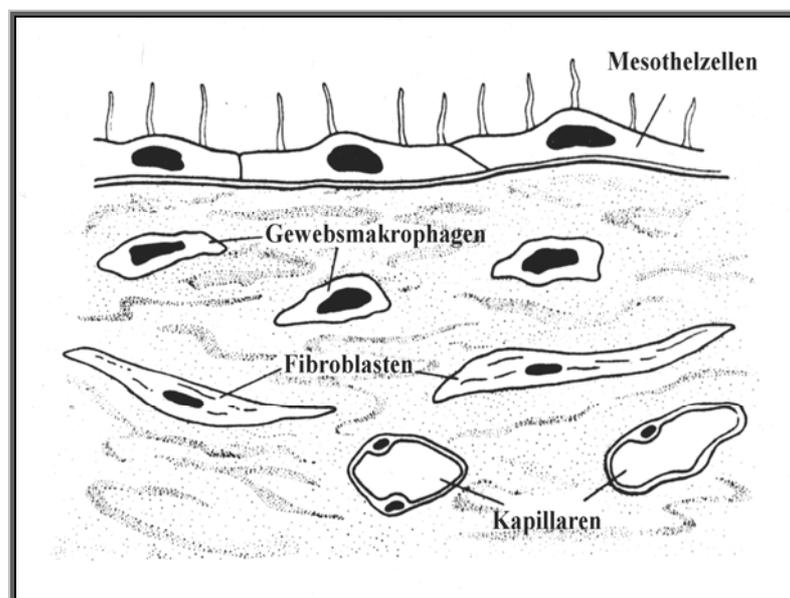


Abbildung 6: Histologischer Bau der Peritonealmembran.

Die Kapillaren und postkapillären Venolen sind der Ort des Stoff- und Flüssigkeitsaustausches zwischen Blut und Dialysat. Dabei bildet das Endothel die Hauptbarriere. Anhand der heute gültigen Vorstellung des „Drei-Poren-Modells“, siehe Abbildung 7, unterscheidet man zahlreiche kleine Poren (Radius: 4 – 5 nm) von großen Poren (Radius > 20 nm) und von sehr kleinen transzellulären Poren (Radius: < 0,2 nm) [130]. Bei letzteren handelt es sich nach neueren Erkenntnissen um den wasserspezifischen Transportkanal Aquaporin 1 [111].

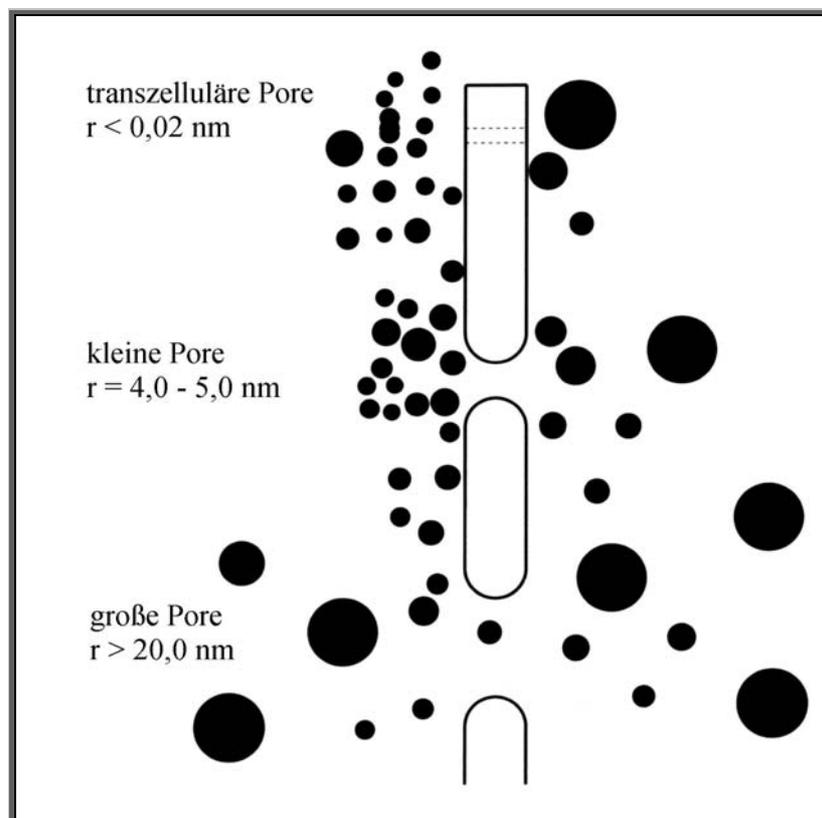


Abbildung 7: Dreiporenmodell der Peritonealmembran (frei nach Rippe *et al.*).

Niedermolekulare Solute (z.B. Harnstoff und Elektrolyte) passieren bevorzugt die in den Interzellularspalten gelegenen kleinen Poren per Diffusion. Größere Solute wie Plasmaproteine, Albumin und IgG werden per Konvektion über die großen Poren in die Peritonealhöhle transportiert. Etwa 90 % des gesamten Flüssigkeitstransports geschieht über die kleinen Poren. Die Aquaporine scheinen jedoch in der frühen Phase der intraperitonealen Verweilzeit bis zu 50 % der Nettoultrafiltration zu gewährleisten [170].

1.3 Peritonealer Stoff- und Flüssigkeitstransport

Der Stofftransport über die peritoneale Membran geschieht über Diffusion und Konvektion. Unter Diffusion versteht man gemäß dem 1. Fickschen Gesetz die Bewegung eines gelösten Stoffes entlang eines Konzentrationsgefälles. Die diffusive Transportrate (J_D) ist proportional zur Differenz der Stoffkonzentrationen im Blut (C_b) und derer im Dialysat (C_d). Die Proportionalitätskonstante wird durch die peritoneale Permeabilität (P) und Oberfläche (A) definiert. Das Mitreißen von gelösten Stoffen mit dem Ultrafiltrat durch eine Membran wird als Konvektion bezeichnet. Die konvektive Transportrate wiederum ist proportional zur transperitonealen Ultrafiltration (J_{UF}) und zur Stoffkonzentration im Blut (C_b). Die konvektive Permeabilität der Membran wird durch den Siebkoeffizienten (S) ausgedrückt. Unter Ultrafiltration (UF) versteht man den Flüssigkeitstransport durch die peritoneale Membran. Die treibende Kraft ist ein osmotischer Gradient entlang der Wegstrecke (z.B. erzeugt durch Glucose).

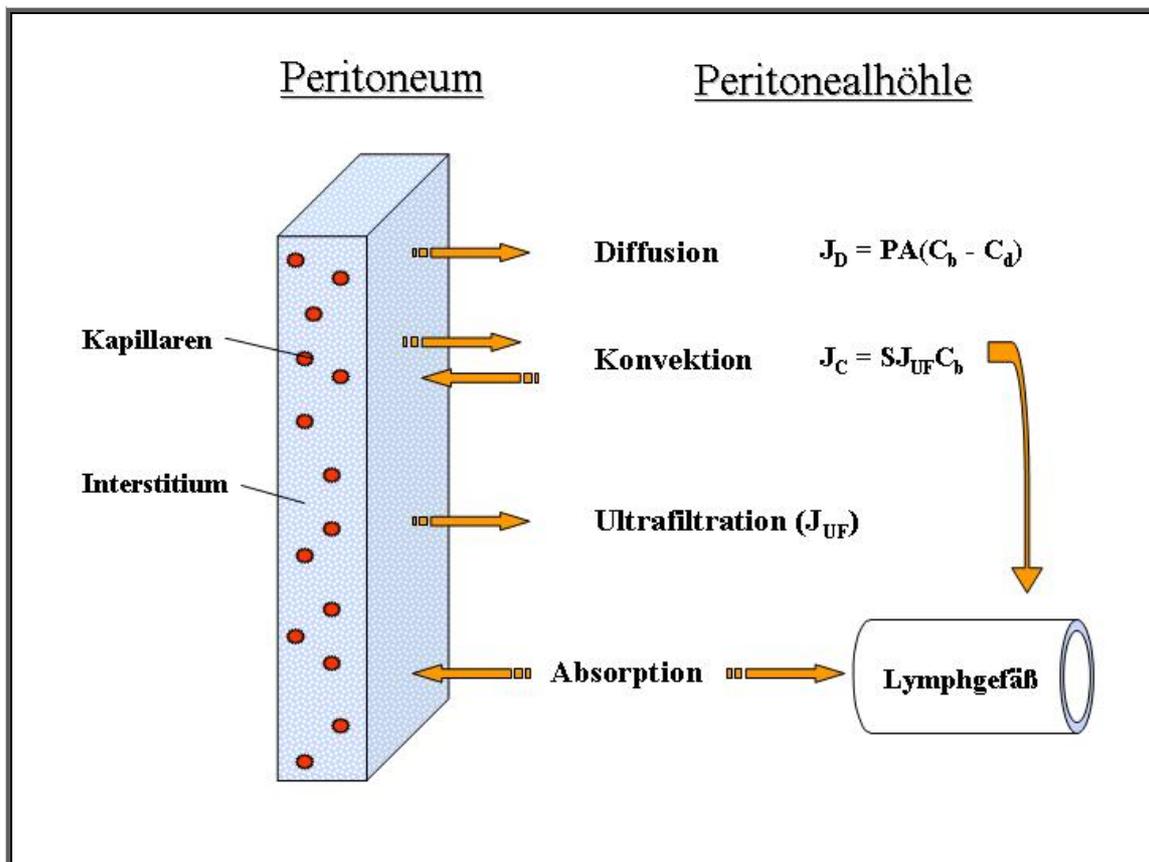


Abbildung 8: Wege und Mechanismen des peritonealen Stoff- und Flüssigkeitstransports.

Ein vorhandener hydrostatischer Druck, die Distanz und die Leitfähigkeit der Membran beeinflussen diesen Vorgang nachhaltig. Der peritoneale Flüssigkeitstransport ist bidirektional. Der Ultrafiltration steht die Flüssigkeitsabsorption, zum einen direkt über die Membran, zum anderen über den lymphatischen Abtransport, gegenüber. Damit findet auch der konvektive Stofftransport in beide Richtungen statt. Die Diffusion ist bei Verwendung niederosmolarer Lösungen der quantitativ entscheidende Mechanismus des niedermolekularen Stofftransportes in der PD. Kommen hochosmolare Lösungen zum Einsatz (z.B. 3,86 % Glucose, wie im PET), gewinnt die Konvektion zunehmend an Bedeutung. In der Abbildung 8 sind die einzelnen Wege schematisch dargestellt.

1.4 Komplikationen der PD

Die mit der Peritonealdialyse einhergehenden Komplikationen sind vielfältig. Im Sinne einer Zusammenfassung kann eine Einteilung vorgenommen werden in:

- infektiöse Komplikationen
- nichtinfektiöse katheterassoziierte Komplikationen
- Komplikationen , hervorgerufen durch den intraabdominellen Druck
- metabolische Komplikationen
- Ultrafiltrationsprobleme
- Sonstige

Um der Komplexität dieses Themas Rechnung zu tragen wird, hier auf die entsprechende Fachliteratur verwiesen. Es sollen nur kurz die infektiösen Komplikationen betrachtet und das Ultrafiltrationsversagen angesprochen werden, erhofft man sich doch gerade hier Vorteile durch den Einsatz des Bikarbonat/Laktat Puffers. Die Abbildung 9 zeigt die Infektionswege der Peritonitis auf.

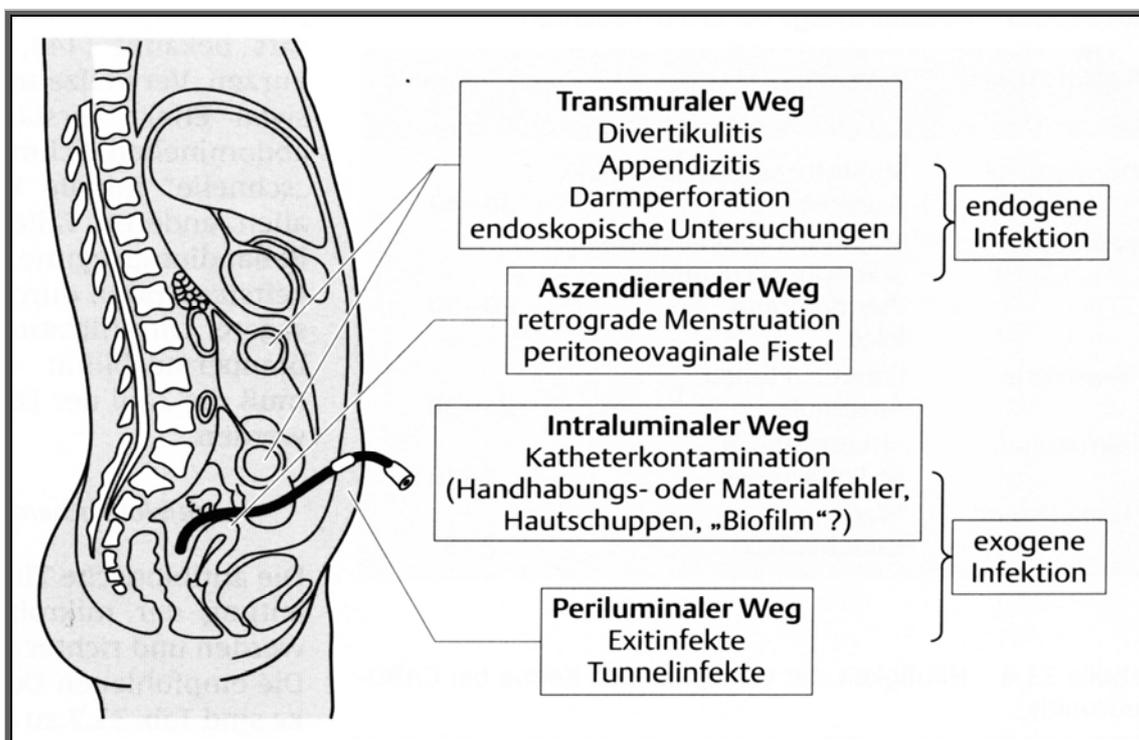


Abbildung 9: Infektionswege der peritonealen Kontamination durch Mikroorganismen[37].

Obgleich durch Fortschritte in der technischen Entwicklung („Save-Lock-Konnektor“, Doppelbeutel mit Y-System), Patientenschulung und Therapie der Peritonitis die Peritonitisrate von 2 bis 3 auf 24 bis 36 Patientenmonate gesenkt werden konnte, ist die Peritonitis nach wie vor eine der Hauptursachen für das Systemversagen der Peritonealdialyse [44]. Weitere Möglichkeiten bestehen in der Verbesserung der Dialysate per se. Ziel der Forschung ist es, Dialysatflüssigkeiten zu entwickeln, welche sich durch eine optimale Biokompatibilität auszeichnen. Mit der Entwicklung von neutral gepufferten Dialysaten auf Bikarbonatbasis scheint hier ein wichtiger Schritt getan zu sein. Ein möglichst physiologisches Dialysat sollte die peritoneale lokale Immunabwehr nicht belasten und könnte damit entscheidenden Einfluss auf entzündliche Prozesse und letztlich auch auf das Systemüberleben nehmen.

Symptome der Ultrafiltrationsprobleme sind reduzierte Dialysatauslaufmengen, Zunahme des Körpergewichts und manifeste Überwässerung. Differentialdiagnostisch sind von der echten UF-Störung, Zunahme des Körpergewichts durch große Trinkmengen, die Verminderung der Restdiurese sowie verminderte Dialysatauslaufmengen durch Katheterdislokation, „Leaks“ oder Adhäsionen abzugrenzen.

Krediet *et al.* berichteten 1993 [82], mäßig bis schwere UF-Störungen fänden sich in bis zu 30 % der CAPD-Patienten innerhalb der ersten beiden Behandlungsjahre. Heimbürger, Wang und Lindholm hingegen postulierten 1999, die Ultrafiltrationscharakteristik sowie der Transport niedermolekularer Substanzen seien innerhalb der ersten 3 Behandlungsjahre relativ stabil. Erst ab einer Behandlungszeit von etwa 4 Jahren zeigten sich Hinweise auf eine reduzierte UF-Leistung und einen Anstieg des diffusiven Stofftransports [51].

Der echten Ultrafiltrationsstörung können nach Heimbürger *et al.* 4 pathophysiologische Mechanismen zugrunde liegen [51].

Typ 1. Anstieg der Transportrate für kleinmolekulare Substanzen (high transporter)

Dies ist der häufigste Grund des UF-Versagens. Aus der beschleunigten Glucoseabsorption resultiert ein rascher Abfall des osmotischen Gradienten, der Triebkraft der Ultrafiltration. Zahlreiche Arbeitsgruppen berichteten bereits Anfang der 90er Jahre über einen Anstieg der Membranpermeabilität mit konsekutivem Rückgang der Ultrafiltration im Laufe der Therapiezeit. Neuere Daten bestätigen diesen Sachverhalt [21] [51].

Typ 2. Beeinträchtigung des transzellulären Wassertransports

Die Bedeutung des transzellulären freien Wassertransports ist noch nicht eindeutig geklärt. Es gibt Hinweise auf Beeinträchtigung der Aquaporinfunktion im Verlauf der PD-Therapie [56] [82] [101].

Typ 3. Entwicklung eines hypopermeablen Peritoneums

Dies tritt zum Beispiel infolge einer sklerosierenden Peritonitis mit beeinträchtigtem Wassertransport und einer reduzierten effektiven peritonealen Oberfläche auf. Einige Autoren berichten über einen Zusammenhang von Peritonitisinzidenz und Änderungen der UF-Charakteristik [109] [22] [139]. Konträre Ergebnisse anderer Arbeitsgruppen liegen ebenfalls vor [145] [31]. Fußhöller *et al.* konnten im Jahr 2002 diesen Zusammenhang für ein Patientenkollektiv der Universität Düsseldorf ebenfalls nicht nachweisen [40].

Typ 4. Gesteigerte Flüssigkeitsabsorption

Sowohl lymphatische- als auch Flüssigkeitsabsorption in das interstitielle Gewebe werden diskutiert. Eine Steigerung der lymphatischen Absorptionsrate nach langjähriger PD-Therapie kann nachgewiesen werden [39]

1.5 Biokompatibilität

Der Begriff der Biokompatibilität ist in vielen Bereichen der Medizin von aktueller Bedeutung. Im Allgemeinen versteht man darunter die Inertia eines mit dem Körper in Kontakt gebrachten Materials. Betrachtet wird dabei der Einfluss eines therapeutischen Vorgehens auf die normale Physiologie des Individuums.

Für den Bereich der Peritonealdialyse gibt es, obwohl in stetigem Gebrauch und in den letzten Jahren Schwerpunkt zahlreicher Forschungsarbeiten, keine einheitliche Definition des Begriffs. Welchen Bereich umfasst die Biokompatibilität? Ist sie Ausdruck lokaler Veränderungen, oder sollen systemische Effekte mit berücksichtigt werden? Wie lässt sich die Biokompatibilität eines Stoffes erfassen und gibt es verlässliche Marker? Interaktionen zwischen Peritonealmembran und Dialysierflüssigkeit stehen im Mittelpunkt des Interesses. Anatomisch strukturelle, funktionelle und immunologische Veränderungen der Peritonealmembran im Zuge der PD-Therapie können dabei zur Quantifizierung des Begriffs herangezogen werden [26] [57] [97]. Auch Williams betont die Bedeutung der peritonealen Veränderungen, weitet den Begriff jedoch auf den Gesamtorganismus aus und bezieht damit systemische Effekte der Therapie mit ein [169]. Ausgehend von den strukturellen und funktionellen Veränderungen des Peritoneums im Zuge bakterieller Infektionen oder in Folge einer Peritonitis erachten viele Autoren ein ungestörtes lokales Abwehrsystem der Peritonealhöhle als den vielleicht wichtigsten Aspekt der Biokompatibilität [24] [69] [153]. Biochemische und physiologische Interaktionen zwischen Dialysat und Membran resultieren nicht nur in Funktionseinschränkungen der Membran im Sinne der Dialyseeigenschaften, sie haben ebenso Einfluss auf die zelluläre und humorale Immunabwehr des Peritoneums.

1.5.1 CA 125 – Marker der Mesothelintegrität

Das Tumor-Antigen CA 125 ist ein hochmolekulares Glycoprotein. Seine Funktion ist bis heute nicht bekannt. In Epithelzellen des weiblichen Genitaltraktes, Tumoren von Ovar, Uterus, Cervix und Mamma, aber auch in mesothelialeem Gewebe von Pleura, Perikard und Peritoneum wird es expremiert [72] [63] [158]. Einige Arbeitsgruppen konnten die positive Korrelation von mesothelialer Zellmasse und CA 125 Konzentration in Zellkulturexperimenten nachweisen [77] [161].

Auch der Zusammenhang von CA 125 im Auslaufdialysat von PD-Patienten und deren Mesothelzellichte gilt als gesichert [161] [174] [134]. Dieser spiegelt die Integrität des peritonealen Mesothels wieder [81]. In Anbetracht hoher interindividueller Variabilität sind allein stehende Werte nicht unbedingt aussagekräftig. Die Unversehrtheit des Mesothels ist ein wichtiger Aspekt der peritonealen Immunabwehr und kann auch als Indikator für die Biokompatibilität der zur Therapie eingesetzten Dialysate herangezogen werden. Das CA 125 wird daher häufig als ein guter *in vivo* Marker der Biokompatibilität eingesetzt.

1.5.2 Transforming growth factor- β 1 (TGF- β 1) – Marker für Fibrose und Neoangiogenese

Die Freisetzung des "transforming growth factor- β 1" (TGF- β 1) ist ein potenter Stimulus fibrosierender Prozesse und der Neoangiogenese in zahlreichen Krankheitsprozessen [6]. Die lokale Sekretion durch peritoneale Mesothelzellen und Makrophagen wird unter anderem durch hohe Glucosekonzentrationen im Dialysat getriggert [73] [177]. Strukturelle Veränderung der Peritonealmembran, insbesondere die mit der Zeit zunehmende Fibrosierung der submesothelialen Matrix werden in unmittelbaren Zusammenhang mit Beeinträchtigungen der Membranfunktionen gebracht [89] [119].

1.6 Peritoneale Immunabwehr (“host defence“)

1.6.1 Das peritoneale Abwehrsystem

Eine bakterielle oder fungirale Kontamination der Peritonealhöhle führt nicht zwangsläufig zu einer Peritonitis. Entscheidenden Einfluss auf deren Entstehung haben dabei Anzahl und Virulenz der Erreger einerseits, die lokale Immunabwehr andererseits. Die so genannte “first-line“ der peritonealen “host defence“ setzt sich aus lymphatischem Abtransport, Opsonierung von Mikroorganismen sowie deren Phagozytose und Lyse durch peritoneale Makrophagen (PM Φ) zusammen. Die Bedeutung der lymphatischen Drainage bei der Immunabwehr ist in der PD noch nicht geklärt. Die Mechanismen der zellulären und humoralen Immunantwort sind in den letzten Jahren eingehend beleuchtet worden. Es handelt sich hierbei um ein kompliziertes Netzwerk bestehend aus Fibroblasten, Mesothel, residenten und transienten Makrophagen und neutrophilen Granulozyten. Diese stehen mittels einer Reihe unterschiedlicher pro- und antiinflammatorischer Mediatoren, darunter Cytokine, Leukotriene (LT) und Prostaglandine (PG), miteinander in Verbindung.

Gestützt auf die Sekretionseigenschaft der PM Φ postulierten Topley *et al.*, die PM Φ seien die Basis der inflammatorischen Kaskade [152]. Ein durch chemische Reize, Mikroorganismen oder deren Exoprodukte aktivierter Makrophage sezerniert Interleukin-1 β (IL-1 β), Interleukin-6, (IL-6) und Tumornekrosefaktor- α (TNF- α). Dabei wirken IL-1 β und TNF- α stimulierend auf Mesothelzellen und Fibroblasten. Diese produzieren ihrerseits IL-6, IL-8, PGI₂, PGE₂ und LTB₄. Die Prostaglandine wirken vasodilatatorisch und erleichtern so das Recruitment weiterer durch IL-8 chemotaktisch angeregter Makrophagen und neutrophiler Granulozyten. Mittels der Adhäsionsmoleküle ICAM-1 und VCAM-1 sowie komplementärer Integrine, gelingt diesen Zellen die Diapedese in die Peritonealhöhle. Das von Makrophagen und Mesothelzellen sezernierte IL-6 besitzt dosisabhängig sowohl pro- als auch antiinflammatorische Eigenschaften. Es wirkt zum einen auf Makrophagen zurück, indem es die FC-Rezeptorexpression und die Phagozytosefähigkeit stimuliert. Weiterhin fördert es die B-Zellreifung und induziert die Immunglobulinproduktion. IgG aber auch Komplement C3 und Fibronectin dienen der Opsonierung von Mikroorganismen. Diese werden durch Makrophagen phagozytiert.

In der Zellkultur sind mindestens etwa 10^5 Makrophagen pro ml von Nöten, um ein bakterielles Wachstum zu supprimieren [15]. Bedingt durch den ständigen Verlust und die Zellschädigung durch unphysiologische Dialysate, ist die Anzahl der freien PMΦ in der Peritonealhöhle von PD-Patienten gegenüber gesunden Personen mitunter deutlich reduziert [69]. Des Weiteren berichteten einige Autoren über einen unterschwellig chronischen Aktivierungszustand der von PD-Patienten gewonnenen Makrophagen [7] [86]. Die Effektivität der Immunabwehr könnte dadurch beeinträchtigt sein. Die erläuterten Zusammenhänge zeigen die zentrale Rolle der Makrophagen auf. Sie sind idealer Indikator des Aktivierungsgrades und der Effektivität der peritonealen Abwehr. Als Parameter können die Sekretionsleistungen, Phagozytoseeigenschaften und der mit der Phagozytose einhergehende so genannte „respiratory burst“ dienen.

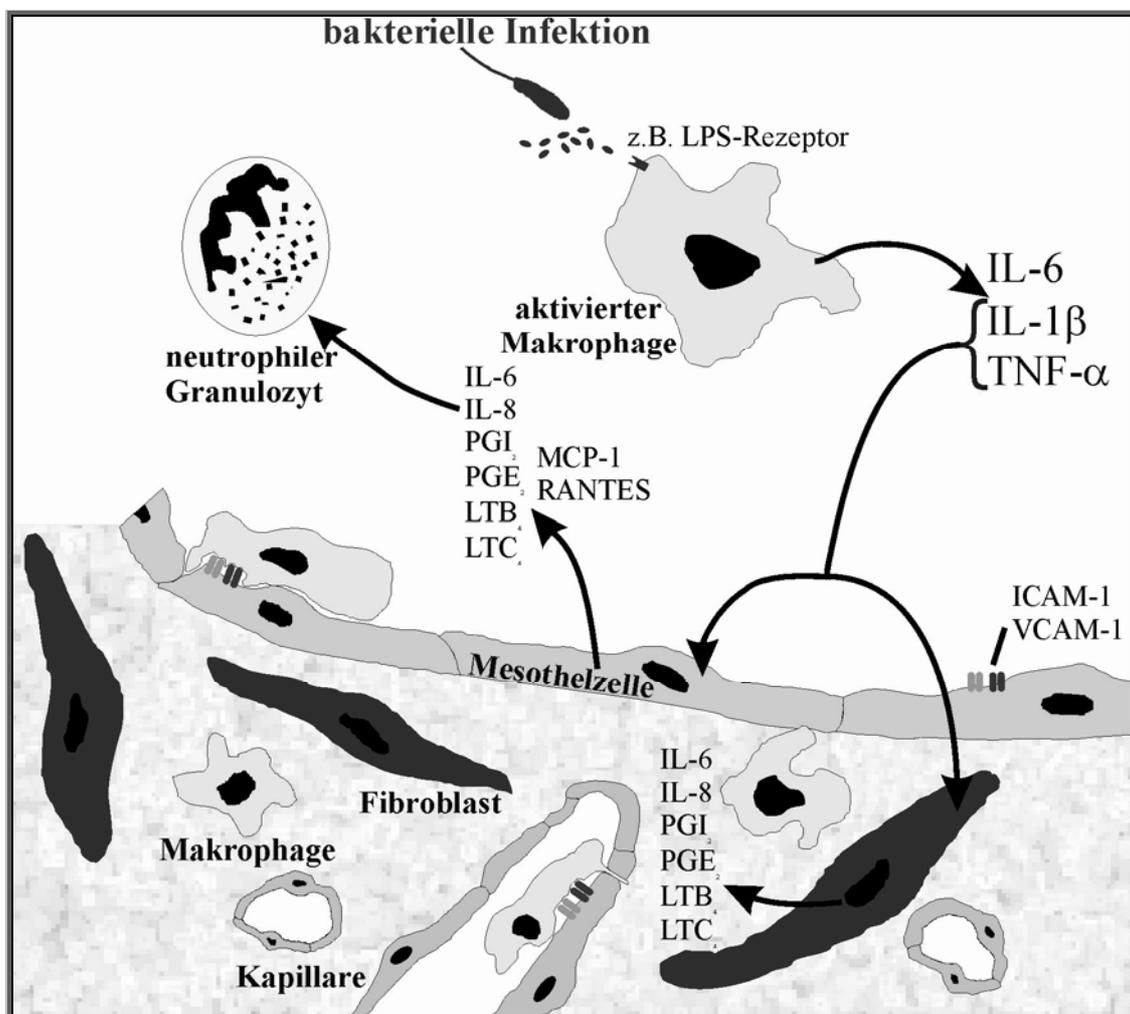


Abbildung 10: Peritoneale Immunabwehr und deren Mediatoren (vereinfachtes Schema).

1.6.2 Respiratory burst

Unter dem Begriff “respiratory burst“ versteht man den Anstieg des nicht-mitochondrialen Sauerstoffverbrauchs infolge der Phagozytose. Er steigt innerhalb von Sekunden um das hundertfache an, da durch eine in der Plasmamembran lokalisierte NADPH-abhängige Oxidase Sauerstoff, nach der Reaktion



zum Superoxidanion (O_2^-) reduziert wird. Dieses wird durch die Superoxyddismutase zu Wasserstoffperoxyd (H_2O_2) oxidiert oder kann mit bereits gebildetem Wasserstoffperoxyd unter Bildung hochreaktiver Hydroxylradikale (OH^\bullet) reagieren.



Diese Sauerstoffverbindungen verursachen die Peroxidation von Membranlipiden des Bakteriums.

1.7 Dialyselösungen

Die Notwendigkeit der Dialyse ergibt sich aus dem Funktionsverlust der Niere. Die Therapie besteht in erster Linie in der Elimination harnpflichtiger Substanzen, der Bilanzierung des Elektrolyt- und Säure-Base-Haushaltes sowie der Entfernung überschüssigen Wassers. Diese Aufgaben übernimmt das Dialysat. Im Sinne einer sicheren und effektiven Therapie müssen die verwendeten Lösungen gut zu lagern, steril und pyrogenfrei und möglichst biokompatibel sein. Zudem sichert eine wirtschaftliche Produktion die längerfristige, breite klinische Anwendung. Dialyselösungen, die heute zur Peritonealdialyse eingesetzt werden, bestehen prinzipiell aus 3 Komponenten.

- Elektrolytgemisch
- Osmotische Substanz
- Puffer

1.7.1 Elektrolyte

Die Elektrolytzusammensetzung richtet sich nach dem Ziel eines ausgeglichenen Elektrolythaushaltes. Alle Gemische enthalten Natrium, Chlorid, Magnesium und Calcium. Kalium ist fakultativ enthalten.

Ein Peritonealdialysat enthält je nach Hersteller zwischen 132 und 134 mmol/l Natrium. Die Natriumelimination aus dem Körper erfolgt über Konvektion. Ausgehend von einer täglichen oralen Natriumaufnahme von ca. 150 mmol und einer Elimination von durchschnittlich 70 mmol pro Liter Ultrafiltrat, wird zumeist nur bei verbleibender Restdiurese eine ausgeglichene Natriumbilanz erzielt. Daher empfiehlt Colombi bei Patienten mit fehlender Nierenrestfunktion den Einsatz von 130 mmol/l Natriumkonzentration im Dialysat [18]. Zu den Auswirkungen unterschiedlicher Natriumkonzentrationen auf den Stoff- und Flüssigkeitstransport liegen zurzeit nur tierexperimentelle Daten vor [14].

In der Regel wird kaliumfreies Dialysat verwendet. Die tägliche peritoneale Kaliumelimination von ca. 30 mmol/d [43] induziert bei 10 bis 36 % der Patienten eine Hypokaliämie [142], die jedoch zumeist über eine erhöhte Kaliumzufuhr mit der Nahrung ausgeglichen werden kann.

PD-Lösungen enthalten zwischen 0,25 und 0,75 mmol/l Magnesium. Ziel ist es, die bei vielen Patienten bestehende Hypermagnesiämie zu korrigieren.

Früher enthielt eine Standard-PD-Lösung 1,75 mmol/l Calcium. Heute besteht die Therapie in der Verwendung von Lösungen niedrigerer Calciumkonzentrationen (1,0 oder 1,25 mmol/l) in Verbindung mit einer oralen Calciumsubstitution (z.B. Calciumcarbonat) [46].

1.7.2 Osmotisch wirksame Substanzen

Der Zusatz von osmotisch wirksamen Substanzen ist erforderlich, um über den osmotischen Gradienten dem Körper Flüssigkeit zu entziehen. Der Flüssigkeitsaustausch erfolgt mittels Ultrafiltration und Diffusion [94]. Folgende Eigenschaften der osmotischen Agenzien sind wünschenswert.

- anhaltende Ultrafiltration
- komplette Verstoffwechslung möglich
- wertvoll hinsichtlich der Ernährung
- minimale Absorption
- keine metabolischen Störungen
- nicht allergisierend
- nicht toxisch für Peritoneum/Immunabwehr
- niedrige Kosten und einfache Herstellung

Prinzipiell können die Osmotika nach ihrem Molekulargewicht (MG) unterschieden werden. Die in der PD eingesetzten niedermolekularen Verbindungen haben ein Molekulargewicht von ca. 90-1000 Dalton. Die hochmolekularen Substanzen sind langkettige Verbindungen (MG: > 10.000 Dalton). Charakteristisch für niedermolekulare Substanzen (Aminosäuren, Fructose, Glucose, Glycerol, Sorbitol, Xylitol) ist, dass sie zu einer schnellen Ultrafiltration führen (siehe Abbildung 11) und schnell molekulargewichtsabhängig resorbiert werden.

Makromolekulare Substanzen (Albumin, Dextran, Dextransulfat, Gelatine, Glucosepolymere, Peptide) wirken über einen kolloidosmotischen Druck, werden langsamer und molekulargewichtsunabhängig überwiegend lymphatisch resorbiert. Daraus resultiert eine langsame aber lang (ca. 9-12 Stunden) anhaltende Ultrafiltration.

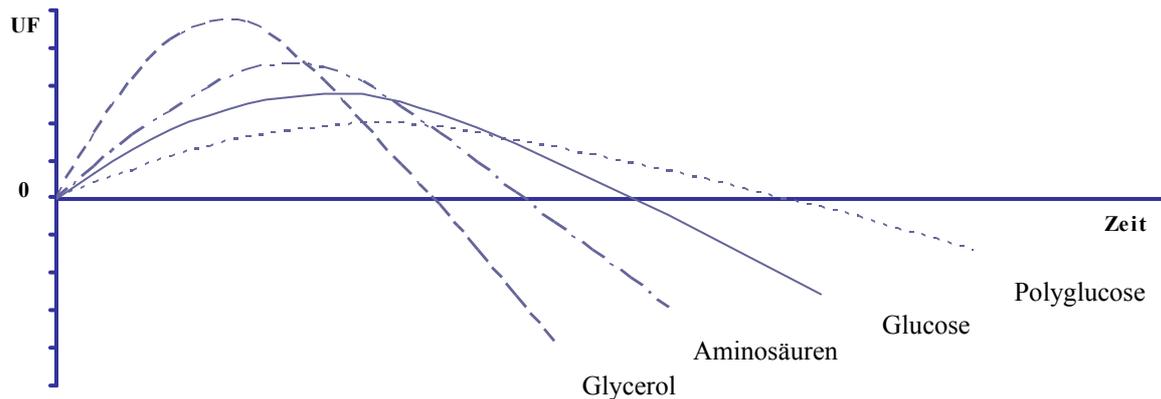


Abbildung 11: Ultrafiltrationsprofil unterschiedlicher osmotischer Agenzien.

1.7.2.1 Niedermolekulare Substanzen

Fructose, Sorbit, Xylit und Glycerol wären als osmotische Agenzien denkbar, haben sich aber wegen des Auftretens von Hyperosmolarität nicht durchgesetzt [20] [50] [49]. Für den Einsatz von Aminosäuren spricht die hohe Inzidenz malnutritierter PD-Patienten [4] [64] [173]. Eine Verbesserung des Ernährungszustandes konnte in zahlreichen Studien belegt werden [65] [78]. Ein Anstieg des Serum-Harnstoffes und die Verstärkung der metabolischen Azidose beschränken den Einsatz dieser Lösung auf 1 bis 2 Beutel pro Tag. Im Vergleich zu einer Glucoselösung werden mit äquimolaren Aminosäure-Dialysaten bei geringfügig reduzierter Ultrafiltrationsleistung gleiche Clearancewerte für niedermolekulare Substanzen erreicht. Die Indikation für Aminosäurelösungen besteht in erster Linie bei malnutritierten Patienten und Diabetikern.

Bis heute ist die Glucose das verbreitetste osmotische Agens in der Peritonealdialyse. Die Konzentrationen liegen zwischen 1,36 und 4,25 %. Glucose wird rasch resorbiert, sodass die maximale Ultrafiltration schon nach 2 bis 4 Stunden erreicht ist. Bei einer täglichen

Glucoseresorption von 200 bis 300 g besteht besonders unter der APD-Therapie die Tendenz zu Hyperlipidämie, Hyperglykämie und Hyperinsulinismus [3] [5] [74] [90]. Weitere Nachteile der Glucose als osmotisches Agens sind die nachteiligen Effekte auf die histologische Feinstruktur und die lokale zelluläre Abwehr der Peritonealhöhle. Toxische Glucoseabbauprodukte wie Acetaldehyde, Methylglyoxal, 5-OH-Methylfurfurale entstehen bei der Hitzesterilisation und nach längerer Lagerung (ca. 18 Monate) der Beutel [75] [105]. Einige *in vitro* Studien konnten zeigen, dass hohe Glucosekonzentrationen die Formation von glykosyliertem Albumin und so genannten „advanced glycated end products“ (AGEs) begünstigen. Die Glykosylierung des Peritoneums wird als eine der zahlreichen Ursachen für den terminalen Ultrafiltrationsverlust und damit das Therapieversagen der PD angesehen [85].

1.7.2.2 Makromolekulare Substanzen

Klinisch haben sich nur Glucosepolymere (GP) durchgesetzt. Substanzen wie Dextran, Gelatine, Hydroxyäthylstärke haben sich infolge Allergenität, Hyperviskosität und Toxizität nicht bewährt [129] [156]. Glucosepolymere sind eine Mischung aus Polysacchariden mit variabler Kettenlänge von 4 bis > 400 Glucosemolekülen mit einem mittleren Molekulargewicht von 20.000 Dalton. Die Energiezufuhr ist im Vergleich zur Glucose um die Hälfte reduziert. Ein glucoseinduzierter Hyperinsulinismus tritt bei Verwendung von GP-Dialysaten nicht auf [156]. Nach vorwiegend lymphatischer Absorption werden die Glucosepolymere hydrolysiert. Das entstehende Disaccharid Maltose akkumuliert im Plasma. Bisher konnten allerdings keine daraus resultierenden Nebenwirkungen abgeleitet werden [118]. Weitere klinische Langzeituntersuchungen sind hier sicherlich sinnvoll. Der Einsatz von GP-Dialysaten ist auf 1 bis 2 Beutel pro Tag beschränkt. GP-Dialysate besitzen eine geringere Osmolarität im Vergleich zur Glucose, anhand dessen die geringere Zelltoxizität und höhere Biokompatibilität in Zellkultur-Studien erklärt werden kann [24] [71].

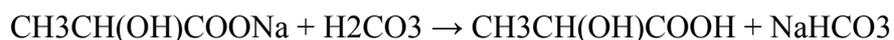
Das ideale Osmotikum in der Gruppe der Makromoleküle wäre das Albumin. Metabolische und toxische Effekte sind wohl nicht zu erwarten [144] [47], jedoch besteht das Problem zu hoher Kosten.

1.7.3 Puffer

Das Puffersystem der Dialysate soll die mit einer Niereninsuffizienz einhergehende metabolische Azidose korrigieren. Die Anforderungen an dieses System sind:

- keine lokalen oder systemischen metabolischen Nebenwirkungen
- gute Biokompatibilität
- Lagerungsstabilität
- einfache und kostengünstige Herstellung

1962 beschrieb Boen als erster die Verwendung von Acetat als Puffersubstanz. Aufgrund akuter Einlaufschmerzen, Ultrafiltrationsverlusten und vermehrten Auftretens von sklerosierenden Peritonitiden hat Acetat in der heutigen Therapie keine Bedeutung mehr [48] [32] [140]. Zurzeit findet noch Laktat die meiste Anwendung in der PD. Das aus dem Dialysat resorbierte Na-Laktat wird nach der unten stehenden Reaktionsgleichung in Leber und Niere zu Laktat metabolisiert. Dies wird über die Zwischenstufe Pyruvat zu Acetyl-CoA abgebaut und so den energiegewinnenden Stoffwechselzyklen zugeführt. Bei normaler Leberfunktion stellt die Laktataufnahme kein metabolisches Problem da [30].

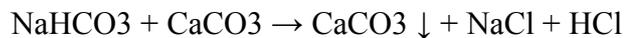


Formel 3

Da eine Laktatkonzentration von 35 mmol/l die metabolische Azidose nicht gänzlich kompensieren kann [45], ist heute eine Konzentration von 40 mmol/l durchgehender Standard. Um das Karamellisieren der Glucose bei der Autoklavierung zu verhindern, ist der pH-Wert der mit Laktat gepufferten Lösungen unphysiologisch sauer (5,0 bis 5,5). Die Entwicklung des Mehrkomponentensystems (z.B. PD-Bio[®], Gambro, Lund, Schweden) ermöglichte die Anhebung des pH-Wertes der gebrauchsfertigen Lösung auf 6,5 auch unter Einsatz von Laktat. Zahlreiche *in vitro* Studien verschiedenster Arbeitsgruppen konnten den negativen Einfluss den die Kombination saurer pH und Laktat auf die Funktion von immunologisch tätigen Zellen, wie Leukozyten, Monozyten, Makrophagen aber auch Mesothelzellen hat, nachweisen [29] [57] [69] [87] [151]. Die beschriebenen Funktionseinschränkungen beruhen wohl, so zeigen es die Untersuchungen von Liberek und

Zhou, auf der Hemmung pH abhängiger Enzyme durch den unphysiologisch niedrigen intrazellulären pH [88] [176]. Eine weitere akute Nebenwirkung ist das partielle Auftreten von Einlaufschmerzen. Die Erkenntnisse über die Unzulänglichkeiten auch dieses Puffersystems haben zu weiteren Forschungen Anlass gegeben. So berichteten Brunkhorst *et al.* 1995 über mögliche Vorteile, die Pyruvat gegenüber Laktat in Zellkulturen zeigte [11]. Die zellprotektiven Mechanismen von Pyruvat sind noch nicht vollständig bekannt. Antioxidative und bezüglich des intrazellulären pH's homöostatische Eigenschaften scheinen hier beteiligt zu sein [62] [175]. Weitere, insbesondere klinische Studien zu diesem Thema sind hier erforderlich.

Schon 1979 wurde der vermeintlich idealste Puffer, das Bikarbonat zur Behandlung der Laktatazidose eingesetzt [159]. Allerdings sind Herstellung und Lagerung derartig gepufferter Dialysate schwierig. Bei der Autoklavierung, längerer Lagerung und einem pH $\geq 7,0$ reagiert das Bikarbonatanion, wie in der folgenden Gleichung gezeigt, mit dem in der Lösung vorhandenen Calciumchlorid zu Calciumcarbonat [34]. Dieses ist schlecht löslich und fällt aus.



Formel 4

Mit der Entwicklung des Doppelkammerbeutel durch Feriani wurde dieses Problem umgangen. Die Abbildung 12 zeigt das Prinzip der Neuerung. Erst unmittelbar vor Instillation in die Bauchhöhle werden die 2 Komponenten mittels eines in der Trennwand eingearbeiteten Brechventils miteinander vermischt. Aus Sicherheitsgründen ist der Verbindungsschlauch so positioniert, dass ein versehentliches Befüllen des Patienten mit dem hochosmolaren Elektrolyt-Glucosegemisch (Kammer A) alleine unmöglich ist. Die gebrauchsfertige Lösung ist auf einen physiologischen pH von 7,4 eingestellt und enthält nach dem Mischen Elektrolyte, das osmotische Agens und den Puffer. In den meisten erhältlichen Lösungen wird ein Puffergemisch bestehend aus 25 mmol/l Bikarbonat und 15 mmol/l Laktat verwendet (Bik./Lak.).

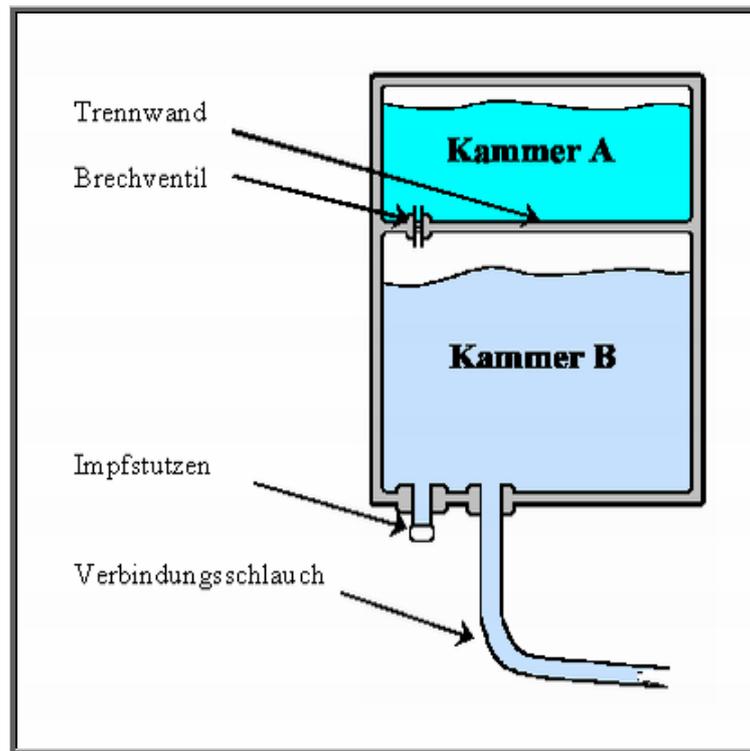


Abbildung 12: Schema eines Doppelkammerbeutels.

Eine weitere Möglichkeit die Calciumcarbonat-Präzipitation der Bikarbonatlösung zu vermeiden, ist die Stabilisierung mittels Zusatz von Glycylglycin. Diese findet allerdings keinen kommerziellen Einsatz [171] [172].

Zahlreiche Arbeitsgruppen fanden für die neutral gepufferten Bikarbonatdialysate eine im Vergleich zu allen anderen PD-Lösungen höhere Biokompatibilität und geringere Toxizität bezüglich der Zellaktivität von Leukozyten, Monozyten, Makrophagen und Mesothelzellen [27] [58] [68] [70] [120]. Auch ergaben sich Vorteile in der Therapie der Laktatazidose [159]. Die Abnahme der Inzidenz und Intensität akuter Einlaufschmerzen an der CAPD verdeutlicht die Verträglichkeit und förderte die Patientenakzeptanz [93] [154].

Da durch die sich häufig wiederholenden kurzen Zyklen und den höheren Dialysatumsatz der ADP ein längerer Kontakt zu frischem saurem unphysiologischem Dialysat resultiert als unter CAPD, gewinnen hier die neutralgepufferten Lösungen eine besondere Bedeutung.

Bisher existieren keine Angaben oder Ergebnisse bezüglich einer kontrollierten Anwendung von neutral gepufferten Bikarbonat/Laktat Dialysaten an der APD.

1.8 Fragestellung und Zielsetzung

Die Beeinträchtigung des Stoff- und Flüssigkeitstransports der Peritonealmembran resultiert nicht selten in einem vollständigen Ultrafiltrationsverlust und ist daher neben der Peritonitis eine der Hauptursachen für das Systemversagen der Peritonealdialyse. In wie weit die neuen neutral gepufferten Bikarbonat/Laktat Lösungen im oben genannten Kontext agieren, ist Gegenstand der Forschung. Diese Arbeit soll dazu einen Beitrag leisten.

Diese Studie vergleicht ein konventionelles Laktat gepuffertes Dialysat mit einer neuen physiologisch neutral eingestellten Lösung mit einem Bikarbonat/Laktat-Puffer an einem mit der APD behandelten Patientenkollektiv. Zielsetzung ist es, Einflüsse und/oder Unterschiede beider unterschiedlich gepufferten Lösungen zu eruieren.

1. im Hinblick auf den peritonealen **Stofftransport** und die **Flüssigkeitskinetik**
2. in Bezug auf die **peritoneale lokale Immunabwehr** und **Biokompatibilität**
3. unter Berücksichtigung der **Dialyseeffektivität**

Stofftransport und Flüssigkeitskinetik

- In wie weit ergeben sich Unterschiede des niedermolekularen Stofftransports?
- Sind Änderungen der Membranpermeabilität und der effektiven Oberfläche zu erkennen?
- Wie werden die unterschiedlichen Wege des Flüssigkeitstransports beeinflusst?
- Zeigen sich Unterschiede der erbrachten Ultrafiltrationsleistung?

Peritoneale Immunabwehr (“host defence“) und Biokompatibilität

- Zeigt die neutrale Bikarbonat/Laktat Lösung hinsichtlich der peritonealen Immunabwehr Vorteile gegenüber des sauren Laktat gepufferten Dialysates?
- Zeigen sich Unterschiede in der Biokompatibilität?

Dialyseeffektivität

- Ist unter Verwendung der Bikarbonat/Laktat gepufferten Lösung eine gemäß den DOQI-Richtlinien effiziente Dialyseeffektivität unter APD zu erreichen? Unterscheidet sich diese von der erbrachten Effektivität eines mit Laktat gepuffertem Dialysates unter identischem Therapieregime?

2 Material und Methoden

2.1 Studiendesign

Das Studienprotokoll dieser Arbeit wurde der Ethikkommission der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf unter dem Arbeitstitel „Peritonealer Stofftransport und peritoneale Host Defence unter Physioneal[®] im Vergleich zu Dianeal[®], ein Cross-over A/B Vergleich“ vorgelegt und genehmigt. Unter Berücksichtigung der statistischen Verwertbarkeit der gewonnenen Daten und der Praktikabilität der Durchführung wurden 14 Patienten in zwei Gruppen randomisiert. Alle Patienten wurden binnen 6 Monaten in die Studie eingeschlossen. Patientenausfälle infolge unzureichender Konkordanz, Unverträglichkeit, Peritonitis, Tod etc. sollten durch Neuaufnahme ausgeglichen werden, sofern die Mindestanzahl von 12 Patienten unterschritten würde. Das Cross-over Design erlaubt sowohl die intra- als auch die inter-individuelle Datenauswertung und ermöglicht zudem, Zeit- und Reihenfolge bedingte Effekte der Therapie zu untersuchen.

6 Patienten begannen mit der herkömmlichen Laktat gepufferten Lösung (Gruppe A) und wurden nach 6 Monaten, unter Beibehalt von Füllmengen und Glucosekonzentrationen, auf die neutral gepufferte Bikarbonat/Laktat Lösung umgestellt. 8 Patienten (Gruppe B) begannen mit der Bikarbonat/Laktat Lösung und wechselten entsprechend auf die Kontrolllösung. Die insgesamt 4 standardisierten Untersuchungseinheiten (**U 1 bis U 4**) pro Patient erfolgten jeweils zu Beginn und am Ende der sechsmonatigen Therapiephase (siehe **Abbildung 13**).

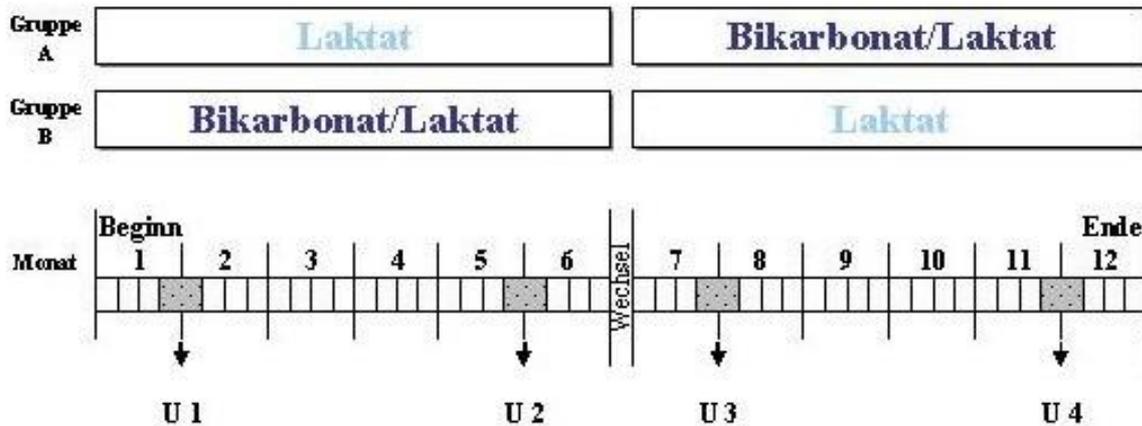


Abbildung 13: Studiendesign zur Evaluation von Unterschieden zwischen einer herkömmlichen Laktat gepufferten sauren Lösung und einer pH neutralen Bikarbonat/Laktat gepufferten Dialysat.

Die erste Einheit erfolgte 4 Wochen (± 1 Woche) nach Studienbeginn, die zweite 4 Wochen (± 1 Woche) vor Ende der Phase 1. Die dritte Untersuchung wurde 4 Wochen (± 1 Woche) nach dem Dialysatwechsel durchgeführt. Die letzten Messungen erfolgten 4 Wochen (± 1 Woche) vor Ablauf der Studie. Ein Vorlauf von 3 Wochen vor den Untersuchungen 1 und 3 wurde als ausreichend angenommen um Überschneidungseffekte mit dem jeweils zuvor benutzten Dialysat zu minimieren. Gleichzeitig ist das Intervall der Untersuchungen 2 und 3 klein genug um frühzeitige Veränderungen infolge des Dialysatwechsels zu dokumentieren.

2.2 Patienten

Die Patienten wurden aus dem Patientenkollektiv der Peritonealdialyse Ambulanz der Heinrich-Heine-Universität ausgewählt. Es wurden 14 terminal niereninsuffiziente PD Patienten (10 Frauen und 4 Männer) in die Studie aufgenommen. Die Tabelle 1 zeigt die Verteilung der Grunderkrankungen auf, in Tabelle 2 sind die antropometrischen Daten dargestellt.

Alle Patienten wurden vor Studienbeginn nicht länger als maximal ein Jahr mit der Peritonealdialyse behandelt. Die durchschnittliche Behandlungszeit lag bei 23 ± 23 Wochen (**Gruppe A:** 14 ± 19 Wochen - **Gruppe B:** 34 ± 19 Wochen). Das mittlere Patientenalter betrug zu Beginn der Studie $40,7 \pm 11,0$ Jahre (**Gruppe A:** $40,0 \pm 5,8$ Jahre - **Gruppe B:** $41,1 \pm 5,8$ Jahre). Der Dialysatumsatz pro 24 Stunden aller Patienten betrug zu Beginn der Studie 15 Liter. Ein Patient wurde nach 8 Wochen Laufzeit auf 20 Liter Umsatz eingestellt, sodass sich ein mittleres Volumen von $15,4 \pm 1,4$ Liter ergab. Alle Patienten erhielten einen „last bag“ von 0,7 bis 2 Liter Volumen (**Studienbeginn:** $1,52 \pm 0,36$ Liter; **Studienende:** $1,49 \pm 0,34$ Liter).

Ausschlusskriterien bei Studienaufnahme waren eine gemäß den amerikanischen DOQI-Richtlinien nicht adäquate Dialyseeffektivität mit einem Kt/V (auf das Verteilungsvolumen bezogene Harnstoffelimination) von $\leq 2,1$ und/oder einer wöchentlichen Kreatininclearance von ≤ 63 Liter/Woche/ $1,73 \text{ m}^2$ BSA, eine PD-Behandlungszeit von mehr als 12 Monaten und die vorherige Behandlung an der Hämodialyse. Weiterhin wurden keine Patienten mit bestehender Immunsuppression, kardialer Insuffizienz und ohne schriftliche Einverständniserklärung aufgenommen.

2 Patientinnen schieden vorzeitig aus der Studie aus (Wechsel zur Hämodialyse und Schmerzen unter Laktat-Dialysat-Therapie), sodass 12 Patienten ausgewertet wurden (**Gruppe A:** $n = 5$; **Gruppe B:** $n = 7$).

Tabelle 1: Grunderkrankungen der Studienpatienten

Grunderkrankung	Alle Patienten	Gruppe A	Gruppe B
diabetische Nephropathie	3	2	1
diffuse Glomerulosklerose	1	1	0
familiäre Nephronophthise	1	1	0
chronische GN	2	0	2
mesangioproliferative GN	1	0	1
fokal segmentale GN	1	0	1
rapid progressive GN	2	2	0
Ig A Nephropathie	2	0	2
maligne Nephrosklerose	1	1	0

Tabelle 2: Anthropometrische Daten und klinische Daten der Dialyseeffektivität bei den Patienten mit Beginn der Studie (#: $p = 0,002$).

	Alle Patienten	Gruppe A	Gruppe B
Patientenzahl	14	6	8
Alter (Jahre)	40,0 ± 10,7	39,5 ± 5,9	40,4 ± 13,7
Größe (cm)	170 ± 7	169 ± 3	170 ± 9
Gewicht(kg)	62,7 ± 20,1	62,8 ± 8,3	62,7 ± 26,5
BSA (m ²)	1,77 ± 0,16	1,72 ± 0,09	1,80 ± 0,20
Dialysedauer vor Studienbeginn (Wochen)	23 ± 23	13 ± 19	30 ± 24
Füllvolumen (l/Tag)	15 ± 0	15 ± 0	15 ± 0
Füllvolumen (ml/Zyklus)	2136 ± 191	2100 ± 89	2163 ± 245
Glucosebelastung (mmol/Tag)	1362 ± 282	1448 ± 313	1298 ± 258
Restdiurese (ml/Tag)	1387 ± 707	1440 ± 791	1346 ± 690
Serum pH	7,39 ± 0,05	7,40 ± 0,06	7,39 ± 0,04
Serum HCO ₃ ⁻	28,07 ± 1,96	28,35 ± 2,22	27,86 ± 1,87
Serumkreatinin	7,6 ± 1,9	6,5 ± 1,7	8,4 ± 1,8
Serumharnstoff	41 ± 14	33 ± 14	46 ± 12
Kt/V (renal und peritoneal)	3,26 ± 0,71	3,85 ± 0,65 #	2,82 ± 0,33 #
wCcr (l/Woche/1,73m ² , renal und peritoneal)	111 ± 39	133 ± 42	95 ± 30
nPCR (g/kg/Tag)	0,94 ± 0,21	0,96 ± 0,30	0,92 ± 0,14

2.3 Die verwendeten Dialyselösungen

Als Testlösungen kamen 2 Peritonealdialyselösungen der Firma Baxter Healthcare (Hersteller: Baxter SpA, Italien) zur Anwendung. Eine konventionelle Laktat gepufferte Lösung (Lak.) (Dianeal® PD4) mit einem sauren pH von 5,5 (Herstellerangabe) stand in unterschiedlichen Konfektionen als CAPD-Doppelbeutel sowie als 5 Liter CCPD-Beutel zur Verfügung. Das Bikarbonat/Laktat gepufferte Dialysat (Bik./Lak.) (Physioneal®) ist auf einen physiologisch neutralen pH von 7,4 eingestellt. Das Produkt stand aus produktionstechnischen Gründen nur als 2,5 Liter CAPD-Doppelbeutel zur Verfügung. Dies hatte zur Folge, dass die Patienten 6 statt wie gewohnt 3 Beutel pro APD-Therapie mit dem Cyclor konnektieren mussten. Dazu stand ein entsprechendes Set bereit.

Das Bikarbonat/Laktat Dialysat wird in einem Zweikammerbeutel hergestellt (siehe Abbildung 12). Mittels eines in die Trennwand eingelassenen Brechventils werden unmittelbar vor der Verwendung beide Komponenten miteinander vermischt. Beide Lösungen sind standardmäßig mit 1,36 %, 2,27 % und 3,86 % Glucose zu beziehen. Die genaue Zusammensetzung beider Peritonealdialyselösungen sowie der einzelnen Komponenten sind in Tabelle 3 und Tabelle 4 dargestellt.

Tabelle 3: Inhaltsstoffe von Dianeal® PD4 und Physioneal® (Quelle: Baxter).

Dianeal® PD4 1,36 % / 2,27 % / 3,86 %	
Glucose-Monohydrat	15,0 / 25,0 / 41,25 g/l
Natriumchlorid	5,38 g/l
Calciumchlorid-Dihydrat	0,184 g/l
Magnesiumchlorid-Hexahydrat	0,051 g/l
Natriumlaktat	4,48 g/l
Physioneal® 1,36 % / 2,27 % / 3,86 %	
Kammer "A"	
Glucose-Monohydrat	15,0 / 25,0 / 41,25 g/l
Calciumchlorid-Dihydrat	0,507 g/l
Magnesiumchlorid-Hexahydrat	0,14 g/l
Kammer "B"	
Natriumchlorid	8,43 g/l
Natriumhydrogencarbonat	3,29 g/l
Natriumlaktat	2,63 g/l
Lösung nach Rekonstitution	
Glucose-Monohydrat	15,0 / 25,0 / 42,25 g/l
Natriumchlorid	5,38 g/l
Calciumchlorid-Dihydrat	0,184 g/l
Magnesiumchlorid-Hexahydrat	0,051 g/l
Natriumhydrogencarbonat	2,1 g/l
Natriumlaktat	1,68 g/l
Ein Liter gebrauchsfertige Physioneal-Lösung besteht aus 362,5 ml der Komponente "A" und 637,5 ml der Komponente "B".	

Tabelle 4: Zusammensetzung der gebrauchsfertigen Lösungen in mmol/l (Quelle: Baxter).

	Dianeal®	Physioneal®
Wasserfreie Glucose	75,5 / 126 / 214 mmol/l	75,5 / 126 / 214 mmol/l
Natrium	132 mmol/l	132 mmol/l
Calcium	1,25 mmol/l	1,25 mmol/l
Magnesium	0,25 mmol/l	0,25 mmol/l
Chlorid	95 mmol/l	95 mmol/l
Hydrogencarbonat	-	25 mmol/l
Laktat	40 mmol/l	15 mmol/l
Osmolarität	344 / 395 / 483 mOsm/l	344 / 395 / 483 mOsm/l
pH	5,5	7,4

2.4 Klinische Untersuchungen zum peritonealen Transport

2.4.1 Peritonealer Equilibrationstest

Der peritoneale Equilibrationstest (PET) ist eine verbreitete diagnostische Maßnahme die individuellen peritonealen Eigenschaften bezüglich des Wasser- und Stofftransportes eines Patienten zu bestimmen [155;157]. In Anlehnung an Krediet *et al.* wurde ein durch Zusatz des Volumenindikators Dextran 70 erweiterter PET durchgeführt [83]. Je nach Gruppenzugehörigkeit kamen dabei beide verwendeten Lösungen zum Einsatz. Zur Herstellung des Testbeutels wurden 300 ml einer Lösung, bestehend aus 6 %igem Dextran 70, gelöst in 0,9 % NaCl Lösung (Longasteril; Bad Hamburg, Germany), in einen 2 Liter Dialysatbeutel einer Glucosekonzentration von 3,86 % infundiert. Zur Prävention möglicher allergischer oder anaphylaktischer Reaktionen auf das Dextran wurden dem Patienten vor Instillation des Testbeutels 20 ml eines niedermolekulares Dextran 1 (Promit; Pharmed AB) intravenös appliziert [128]. Die Testlösung wurde ausgiebig gemischt und mittels einer Heizplatte auf 37 °C erwärmt. Vor Instillation der Testlösung wurde die Peritonealhöhle des Patienten entleert und ein Spülbeutel appliziert. Dazu wurden 2 Liter eines 1,36 % glucosehaltigen Dialysates auf 37 °C temperiert, instilliert und unmittelbar nach Beendigung des Einlaufens, der Schwerkraft folgend, wieder entleert. Dieses Prozedere schafft standardisierte Bedingungen. Nun erfolgte mit Hilfe einer elektronischen Federwaage die Applikation einer definierten Menge (2150 ml) Testlösung. Über den Testzeitraum von 4 Stunden wurden vor der Applikation, nach 15, 60, 120 und 240 Minuten Dialysatproben über den Infusionsstutzen des Lösungsbeutels entnommen. Dazu wurde vorübergehend ein Flüssigkeitsvolumen von 200 bis 300 ml in den Vorratsbeutel entleert um eine Verfälschung der Messergebnisse durch das Totraumvolumen des Schlauchsystems entgegenzuwirken. Um Kontaminationen zu vermeiden, wurde der Infusionsstutzen mit einer mit Desinfektionsmittel getränkten Kapsel verschlossen. Nach Ablauf der 4stündigen Verweilzeit wurde die Peritonealhöhle vollständig entleert und erneut, wie oben beschrieben mit frischem Dialysat gespült. Zur Ermittlung des Residualvolumens (RV) wurden Proben des Spülbeutels entnommen. Die für die Berechnung der Transportkinetiken notwendigen Serum Werte wurden anhand von venösen Blutproben unmittelbar vor und nach dem Testintervall asserviert.

2.4.1.1 Berechnung des peritonealen Stofftransports

Gemäß dem 1. Fickschen Gesetz beeinflussen die Permeabilität der Membran, die Diffusionsstrecke (Δx), die zur Verfügung stehende Oberfläche (A), die Konzentrationsdifferenz der Stoffe (ΔC) und der Diffusionskoeffizient (K_d) die Diffusion.

$$St = \frac{K_d}{\Delta x} \times A \times \Delta C \quad \text{Formel 5}$$

Der Term $K_d \times A / \Delta x$ wird als Massentransferflächenkoeffizient (MTAC) bezeichnet. Er stellt somit den diffusiblen Stofftransport dar und kann als ein Maß der funktionellen/effektiven peritonealen Oberfläche oder der Permeabilität der Membran dienen. Er beschreibt die theoretisch maximale Clearance eines niedermolekularen Stoffes durch Diffusion über die Membran und das, bevor die Diffusion eingesetzt hat. Also zu Beginn des Dialysatzyklus.

Es wurden unterschiedliche Modelle für die Berechnung des MTAC entwickelt. Die Modelle von Garred und Waniewski *et al.* unterscheiden sich in der Gewichtung der Bedeutung von Diffusion und Konvektion auf den niedermolekularen Stofftransport. Das Berechnungsmodell nach Garred spricht der Konvektion größere Bedeutung zu als der Diffusion. Die Berechnung des MTAC erfolgt nach der Formel:

$$MTAC[ml / min] = \frac{V_d}{t} \times \ln \left(\frac{V_i \times P}{V_d \times (P - D_t)} \right) \quad \text{Formel 6}$$

in der V_i das instillierte Volumen, und V_d das Auslaufvolumen des Testbeutels darstellen. D_t ist die Dialysatkonzentration des Solutes zum Zeitpunkt t , P dessen mittlere Plasmakonzentration über diesen Zeitraum [42].

Das Modell von Waniewski *et al.* gewichtet Diffusion und Konvektion durch den Gewichtungsfaktor F [165].

Wir setzten nach Vorschlag von Waniewski in unseren Berechnungen einen Wert von $F = 0,3$ und $F = 0,5$ ein. Im Modell nach Garred ist $F = 0$ (fehlt). Das Modell nach Waniewski benutzt die Formel:

$$MTAC[ml / min] = \frac{V_m}{t} \times \ln \left(\frac{V_{10}^{1-F} \times (P - D_{10})}{V_t^{1-F} \times (P - D_t)} \right) \quad \text{Formel 7}$$

in der V_{10} und D_{10} das intraperitoneale Volumen und die Stoffkonzentration im Dialysat zum Zeitpunkt 10 Minuten sind. P stellt die mittlere Plasmakonzentration des Solute, und t die Zeit dar. V_m ist das mittlere intraperitoneale Volumen im Zeitintervall.

Weiterhin kam das Modell von Popovich, Pyle and Moncrief [123] zur Anwendung.

$$MTAC[ml / min] = \frac{V_g}{t} \times \ln \left(\frac{1 - \frac{D_t}{P}}{1 - \frac{V_{ir} \times D_0}{V_g \times P}} \right) \quad \text{Formel 8}$$

Die Summe von instilliertem Volumen und Residualvolumen wird hier als V_{ir} bezeichnet. Analog steht V_{dr} für die Summe aus Auslaufvolumen und Residualvolumen. V_g ist das geometrische Mittel aus V_{ir} und V_{dr} . D steht für die Dialysat-, P für die Plasmakonzentration des niedermolekularen Stoffes.

Der MTAC für Kreatinin und Kalium wurden anhand der Wertekonstellation nach 60, 120 und 240 Minuten errechnet.

Mit Hilfe der gewonnenen Daten von Kreatinin, Harnstoff, anorganisches Phosphat und Kalium wurde für die Zeitpunkte 60, 120 und 240 Minuten das Dialysat/Plasma Konzentrationsverhältnis (D/P_{ratio}) dieser Stoffe errechnet. Die Kalkulation erfolgt durch Division der Dialysatkonzentration D_t der jeweiligen Substanz zu einer der definierten Verweilzeiten durch das arithmetische Mittel (P_m) der Plasmakonzentration dieser Substanz vor (P_{0min}) und nach (P_{240min}) Equilibration.

2.4.1.2 Berechnung der Flüssigkeitskinetik

Das Glucosepolymer Dextran 70 unterliegt intraperitoneal einem nur geringgradigen Metabolismus. Es dient im Rahmen des PET als Volumenindikator, mit dessen Hilfe die einzelnen Transportwege der peritonealen Flüssigkeitskinetik erfasst werden können.

Das intraperitoneale Volumen (IPV) ist die Basis für viele Berechnungen der Peritonealen Transportkinetik. Es wurde für die Zeitpunkte $t = 60$ min, $t = 120$ min und $t = 240$ min berechnet. Dazu wurde die Dextrankonzentration des Dialysates zum Zeitpunkt $t = 15$ min mit dem instillierten Volumen von 2150 ml multipliziert und durch die Dextrankonzentration zum Zeitpunkt t dividiert. Unter Berücksichtigung des Residualvolumens, welches die Ausgangskonzentration des Dextran nach beendeter Instillation absenkt, wurde die Dextrankonzentration nach 15 Minuten als der korrektere Bezugswert für die weiteren Berechnungen betrachtet. Das Residualvolumen gemäß

$$RV[ml] = \frac{V_{rs} \times C_{rs}}{C_{ts}} \quad \text{Formel 9}$$

errechnet sich aus dem Produkt von Volumen und Dextrankonzentration (V_{rs} und C_{rs}) des letzten Spülbeutels, dividiert durch die Dextrankonzentration der Testlösung (C_{ts}) bei $t = 240$ min.

Die Konzentrationsänderung des intraperitonealen Dextrans diene gleichermaßen der Berechnung der transkapillären Ultrafiltration (TCUF). Sie ist definiert als die Änderung des IPV in Abwesenheit der lymphatischen Absorption [83].

Der Quotient aus instillierter Dextranmasse bei $t = 15$ min und Dextrankonzentration zum Zeitpunkt t (C_t) wurde dazu vom Füllvolumen V_i subtrahiert.

$$TCUF_t[ml] = \frac{C_{15} \times V_i}{C_t} - V_i \quad \text{Formel 10}$$

Der Verlust an intraperitonealem Dextran hingegen gibt Aufschluss über die lymphatische Flüssigkeitsabsorption. Berechnungsgrundlage ist die Abnahme der Dextranmasse über die Zeit.

Die effektive lymphatische Absorptionsrate (ELAR) ist durch die folgende Formel definiert.

$$ELAR_t [ml / min] = \frac{D_i - D_t}{C_{geom} \times t}$$

Formel 11

D_i = instillierte Dextranmasse (bei $t = 15$ min)

D_t = Dextranmasse zum Zeitpunkt t

C_{geom} = geometrisches Mittel der Dextrankonzentration im Zeitraum t_0 bis t

t = Zeit

Durch Multiplikation der ELAR mit der Zeit t errechnet sich die lymphatische Absorption (LA).

Aus dem Zusammenspiel von Ultrafiltration und lymphatischer Absorption ergibt sich die effektive Ultrafiltration (EUF). Sie kann direkt durch Subtraktion der beiden Parameter ermittelt werden oder anhand der Differenz von IPV und V_i und RV errechnet werden. In beiden Fällen erfolgt eine Korrektur durch das während der Testphase abgenommene Probenvolumen (PV).

Der durch die Aquaporine stattfindende freie Wassertransport scheint großen Anteil an der Ultrafiltrationsleistung des Peritoneums zu haben [170]. Er bedingt eine Verdünnung der Na-Ionen Konzentration. Durch diese Na-Ionendilution lässt sich das Volumen des freien Wassers errechnen. Sie ist unter Verwendung einer hochprozentigen (3,86 %) Glucoselösung besonders ausgeprägt und zeigt ihr Maximum nach etwa einer Stunde. Der freie Wassertransport (FWT) wird nach der Formel

$$FWT [ml] = \frac{Na_0 \times V_i}{Na_t} - V_i$$

Formel 12

berechnet, in der V_i das instillierte Volumen, Na_0 die Ausgangsnatriumkonzentration und Na_t die Natriumkonzentration zum Zeitpunkt t sind.

2.5 Klinische Untersuchungen zum Flüssigkeitshaushalt

2.5.1 Ultrafiltrationsprofil

Zur Quantifizierung der täglichen Ultrafiltrationsmenge und deren im Verlauf der nächtlichen Cyclerbehandlung wurden die vom Patienten täglich geführten Cyclerprotokolle herangezogen. Im Verlauf des 5monatigen Behandlungszeitraumes wurden die Daten unmittelbar zu Beginn (Monat 0), nach 1, 3 und 5 Monaten erhoben. Dazu wurde der Mittelwert aus 7 aufeinander folgenden Tagen mit identischem Therapieregime ermittelt.

Aus den Cyclerprotokollen wurden die Ultrafiltration über 24 Stunden, die UF im Verlauf der nächtlichen Therapie, die intraperitoneale Verweilzeit sowie die verwendete Glucosemenge entnommen.

2.5.2 Restdiurese

Im Rahmen der Effektivitätskontrolle führten die Patienten eine 24stündige Urinsammlung zur Bestimmung der Restdiurese durch.

2.6 Klinische Untersuchungen zum Säure-Base-Haushalt

Mit der ersten Blutabnahme unmittelbar vor dem PET wurde eine venöse Blutgasanalyse (BGA) durchgeführt. Die Probe wurde aerob gewonnen und binnen 2 Minuten analysiert (ALB 505 Radiometer, Kopenhagen, Dänemark). Gemessen wurden bei 37 °C: pH, pCO₂, HCO₃⁻, SBC und SBE.

2.7 Dialyseeffektivität

Zur Bestimmung der wöchentlichen Harnstoff- und Kreatininclearance wurde von den Patienten eine 24stündige Sammlung von Dialysat und Urin vorgenommen ("batch collection" (BC)). Am darauf folgenden Morgen wurde, 2 bis 4 Stunden nach Beendigung der APD-Therapie, die Blutentnahme zur Kreatinin- und Harnstoffbestimmung durchgeführt.

2.7.1 Kreatininclearance

Die wöchentliche Kreatininclearance ($Cw_{Krea.}$) ergibt sich aus der Summe von renaler und peritonealer Clearance und wurde wie folgt berechnet

$$Cw_{Krea.} [l/Woche] = (Cr_{Krea.} + Cp_{Krea.}) \times 10,08 \quad \text{Formel 13}$$

sowie auf die Standardkörperoberfläche (BSA) von 1,73 m² bezogen.

Um der glomerulären Filtrationsrate näher zu kommen, wurde die renale Kreatininclearance ($Cr_{Krea.}$) nach Vorschlag von Milutinovic et. al. [100] aus dem Mittelwert von Kreatinin- und Harnstoffclearance berechnet.

$$Cr_{Krea.} [ml/min] = \left(\frac{U_{Krea.} \times V_U}{P_{Krea.} \times t} + \frac{U_{Harnst.} \times V_U}{P_{Harnst.} \times t} \right) \div 2 \quad \text{Formel 14}$$

$U_{Krea./Harnst.}$ = Kreatinin/Harnstoffkonzentration im 24 Stunden Urin [mg/dl]

$P_{Krea./Harnst.}$ = Kreatinin/Harnstoffkonzentration im Plasma [mg/dl]

V_U = Urinvolumen in 24 Stunden [ml]

t = Zeit [min]

Die peritoneale Clearance berechnet sich wie folgt:

$$C_{P_{Krea.}} [ml / min] = \frac{D_{Krea.} \times D_{Vol.}}{P_{Krea.} \times t} \quad \text{Formel 15}$$

$P_{Krea.}$ = Kreatininkonzentration im Plasma [mg/dl]

$D_{Krea.}$ = Kreatininkonzentration im Auslaufdialysat [mg/dl]

$D_{Vol.}$ = Auslaufvolumen des Dialysates [ml]

t = Zeit [min]

2.7.2 Harnstoffclearance (Kt/V)

Das Kt/V als Parameter der Harnstoffelimination wurde kalkuliert als die Summe der renalen und peritonealen Harnstoffclearance pro Tag, dividiert durch das anhand der Watson-Formel [167] errechnete Harnstoffverteilungsvolumen ($V_{Harnst.}$). Das errechnete Kt/V wurde mit 7 multipliziert und als Kt/V pro Woche ausgedrückt.

$$Kt / V = \left[\frac{U_{Harnst.} \times V_U}{P_{Harnst.}} + \frac{D_{Harnst.}^2}{P_{Harnst.}} \right] \div V_{Harnst.} \quad \text{Formel 16}$$

$U_{Harnst.}$ = Harnstoffkonzentration im 24 Stunden Urin [mg/dl]

$P_{Harnst.}$ = Harnstoffkonzentration im Plasma [mg/dl]

V_U = Urinvolumen in 24 Stunden [L]

$V_{Harnst.}$ = Harnstoffverteilungsvolumen nach der Watson-Formel [L]

Watson-Formel:

Frauen:

$$V_{Harnst.} = -2,097 + (0,1069 \times Gr\ddot{o}\beta e[kg]) + (0,2466 \times Gewicht[kg])$$

Männer:

$$V_{Harnst.} = 2,447 - (0,09516 \times Alter[Jahre]) + (0,1074 \times Gr\ddot{o}\beta e[cm]) + (0,3362 \times Gewicht[kg])$$

Formel 17

2.7.3 Normalized protein catabolic rate (nPCR)

Der Vorteil der Bestimmung der Harnstoffkinetik gegenüber der Kreatininclearance besteht in der gleichzeitigen Bestimmungsmöglichkeit der "normalized protein catabolic rate" (nPCR). Diese ermöglicht Aussagen über den Ernährungszustand des Patienten. Die (nPCR) wurde nach der Randerson-Formel berechnet [125].

$$nPCR = 10,76 \times (G_{Harnst.} + 1,46) \div V_{Harnst.}$$

Formel 18 $G_{Harnst.}$ = Harnstoffgenerationsrate [mg/min] $V_{Harnst.}$ = Harnstoffverteilungsvolumen nach der Watson-Formel [L]

2.8 Subjektive Verträglichkeit / Einlaufschmerzen

Beim Befüllen des Abdomens können Einlaufschmerzen auftreten. Im Allgemeinen werden diese Schmerzen auf den unphysiologisch niedrigen pH der frischen Lösung zurückgeführt. Die Schmerzintensität sollte von den Patienten in Form einer Ordinalskala bewertet werden. Zur Auswahl standen die Kategorien „keine Schmerzen“, „sehr leicht“, „leicht“, „mäßig“, „stark“, „sehr stark“. Diese wurde zur Auswertung in Zahlenwerte von null = „keine Schmerzen“ bis 5 = „sehr stark“ transformiert. Bewertet werden sollten das 5monatige Therapieintervall mit jeweils beiden Dialyselösungen und die Schmerzerfahrung vor Beginn der Studie (Basis).

2.9 Proben und Analysen

Die zur Berechnung des peritonealen Stoff- und Flüssigkeitstransportes sowie der Dialyseeffektivität benötigten Parameter wurden im Nephrologischen Labor und im Zentrallabor der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf bestimmt. Kreatinin, Harnstoff, Elektrolyte, anorganisches Phosphat wurden mit dem Synchron Clinical System CX5Δ (Beckmann Coulter GmbH, Krefeld, Deutschland) bestimmt. Die Glucose wurde anhand der Hexokinase-Methode (EPOS 5060, Eppendorf, Hamburg, Deutschland) gemessen. Mit der Nephelometrie (BN II, Dade-Behring, Marburg, Deutschland) wurde das Albumin im Dialysat bestimmt. Zur Quantifizierung der Dextranskonzentration im Dialysat nutzten wir die „high performance liquid chromatography“ (HPLC) [116]. Zum Einsatz kam das isokratische Pumpensystem LC-250 (Perkin-Elmer, Rodgau-Jügesheim, Deutschland), die Bio-Gel Säule TSK 30 XL (Bio-Rad, München, Deutschland) und das Refraktometer LC-30 der Firma Perkin-Elmer.

Des Weiteren fanden während des PET asservierte Dialysatproben in den *in vitro* Versuchen zur Biokompatibilitätsbestimmung Verwendung. Diese und alle anderen nicht umgehend analysierten Asservate lagerten bis zur Bearbeitung bei -70 °C.

2.10 Experimentelle Untersuchungen zur Biokompatibilitätsprüfung

2.10.1 Reagenzien, Material, Gerätschaften

2.10.1.1 Zellkulturmedium

Für die Zellkulturen und einige *in vitro* Versuche wurde RPMI 1640 als Nährmedium verwendet. Dies wurde zur Optimierung mit den Zusätzen L-Glutamin (Gibco BRL, Paisley, Schottland), Penicillin/Streptomycin (ICN Biomedicals, Meckenheim, Deutschland), Amphotericin B (Gibco BRL, Paisley, Schottland) und mit hitzeinaktiviertem fetalem Kälberserum (FCS) (Gibco BRL, Paisley, Schottland) versetzt. Die genaue Zusammensetzung ist in Tabelle 5 dargelegt.

Tabelle 5: Zusätze zum Zellkulturmedium RPMI 1640.

Zusatz	Endkonzentration in RPMI 1640
L-Glutamin	2 mM
Penicillin	50 IU/ml
Streptomycin	50 µg/ml
Amphotericin B	0,25 µg/ml
Fetales Kälberserum	100 µl/ml

2.10.1.2 Krebs-Ringer-Phosphat-Puffer

Der für die Chemolumineszenz benötigte Krebs-Ringer-Phosphat-Puffer (KRP) wurde gemäß unten aufgeführter Rezeptur hergestellt. Die als Salze (Merck, Darmstadt, Deutschland) zur Verfügung stehenden Bestandteile wurden zunächst in einigen Millilitern *Aqua ad injecta* (B.Braun Melsungen AG, Melsungen Deutschland) gelöst, sodann mit *Aqua ad injecta* auf einen Liter aufgefüllt und mit einem Einmalfilter (0,2 µm) (Schleicher & Schuell, Dassel, Deutschland) steril filtriert. Der pH-Wert des KRP-Puffers beträgt 7,0.

Tabelle 6: Zusammensetzung des KRPG-Puffers.

Na ₂ HPO ₄ + 7 H ₂ O	12,7 mM
D-Glucose	11,0 mM
NaCl	120 mM
KCl	4,8 mM
CaCl ₂	0,7 mM
MgSO ₂ + H ₂ O	1,2 mM

2.10.1.3 Herstellung der “Serum Treated Zymosan“-Stammlösung

Von dem Hefestamm *Saccharomyces cerevisiae* wird das Polysaccharid Zymosan industriell gewonnen. Dieses wurde mit gepooltem humanem Serum inkubiert. Zur Herstellung der Stammlösung wurden in einem 15 ml Falcon Tube (Becton Dickinson, Franklin Lakes, NJ, USA) 40 mg Zymosan Pulver (Sigma-Aldrich Chemikalien GmbH, Steinheim, Deutschland) in 1 ml KRPG-Puffer und 3 ml gepooltem Humanserum bei 37°C im Rotationsinkubator aufgelöst. Anschließend wurde das Tube bei Raumtemperatur 10 min lang mit 300 g zentrifugiert, der Überstand abpipettiert und das Pellet in 2 ml KRPG-Puffer resuspendiert. Durch zweimalige Zentrifugation unter den oben genannten Bedingungen und Auffüllen mit 2 ml KRPG-Puffer wurde das Zymosan gewaschen. Um eine Endkonzentration von 10 mg/ml zu erhalten, wurde das Pellet in einem letzten Schritt mit 4 ml KRPG-Puffer aufgefüllt. Diese Stammlösung wurde aliquotiert und bei -70°C gelagert.

2.10.1.4 pH Wert im Dialysat

Der pH Wert beider Lösungen wurde in frischem, ungebrauchtem Dialysat und in Proben des PET-Testbeutels nach 15, 60 und 120 Minuten bestimmt. Auf den 240 min Wert wurde unter Annahme der bis dahin vollständigen intraperitonealen Equilibration auch des sauren Dialysates verzichtet. Alle zu messenden Proben wurden nach ihrer Lagerung bei - 70 °C langsam aufgetaut und über 12 Stunden bei 37 °C und 5 % CO₂ equilibriert. Die Messungen erfolgten bei 37 °C mit einer pH-Glaselektrode (Hanna, Italien) in Doppelbestimmung.

2.10.2 Isolation humaner peritonealer Makrophagen aus gebrauchtem Dialysat

Die Peritonealmakrophagen (PM Φ) wurden aus gebrauchtem Patientendialysat isoliert. Dazu wurde der "last bag" des Patienten nach einer Verweildauer von 6 Stunden mittels CAPD-Handwechsel gewonnen. Erfahrungen unserer Arbeitsgruppe haben gezeigt, dass die Isolation von PM Φ bei Raumtemperatur und anschließender Spülung mit 4 °C kaltem fetalem Kälberserum quantitativ unzureichend ist. Um die Adhäsion der PM Φ an die Kunststoffoberfläche des Leerbeutels zu minimieren, wurde dieser bereits 10 min vor dem Wechsel auf Eis gekühlt. Somit konnte die Temperatur des Dialysates binnen kurzer Zeit auf 4 °C abgekühlt werden. Die weiteren Isolationsschritte erfolgten ebenfalls bei einer Temperatur von 4 °C. Alle Reagenzien, Behältnisse und Geräte wurden auf 4 °C temperiert um die Adhäsionsfähigkeit der PM Φ für den Zeitraum der Isolation zu minimieren. Das gewonnene Dialysat wurde dann in entsprechend viele 50 ml Falcon Tubes (Becton Dickinson, Franklin Lakes, NJ, USA) aliquotiert und anschließend bei 350 g für 30 min zentrifugiert. Danach wurde der Überstand rasch dekantiert, das Zellpellet resuspendiert und vorsichtig abpipettiert. Die Tubes wurden mit 1 ml PBS-Puffer (Serag Wiessner, Naila, Deutschland) gespült und mit der Zellsuspension in ein 50 ml Falcon Tube überführt. Anschließend wurde ein zweites Mal unter den obigen Bedingungen zentrifugiert. Restanteile des Dialysates wurden so ausgewaschen. Nach dem Waschen wurde wiederum rasch dekantiert und die Zellen in der verbleibenden Flüssigkeit resuspendiert.

2.10.3 Isolation humaner Blutmonozyten aus Vollblut

Bei der Plasmagewinnung aus Vollblutkonserven bildet sich bei der Zentrifugation von ungerinnbar gemachtem Blut zwischen Plasma und sedimentierten Erythrozyten eine Schicht aus Leukozyten und Thrombozyten, der so genannte Buffy-Coat. Nach der Separation des Plasmas verbleiben die zellulären Bestandteile im Konservenbeutel. Dieses Zellkonzentrat wurde vom Institut für Blutgerinnungswesen und Transfusionsmedizin der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf bezogen. Es stellt das Ausgangsprodukt zur Isolation humaner Blutmonozyten dar.

In einem ersten Schritt wurden die mononukleären Zellen (MNC) über eine Dichtegradientenzentrifugation separiert. Dazu wurden in 50 ml Falcon Tubes (Becton

Dikinson, Franklin Lakes, NJ, USA) je 25 ml einer Mischung aus 1:2,5 Teilen Zellkonzentrat und PBS-Puffer (mit Zusatz von 0,1 % bovinem Serumalbumin (BSA)) vorsichtig über 15 ml Ficoll Paque (Pharmacia, Uppsala, Schweden) geschichtet. Nach 25minütiger Zentrifugation bei 900 g und 20 °C sedimentierten Erythrozyten und Granulozyten durch das Ficoll Paque. Die MNC konnten mit einer Pasteurpipette aus der Interphase zwischen Serum/PBS und Ficoll Paque abgenommen werden (siehe Abbildung 14). Sie wurden in ein 50 ml Falcon Tube überführt, in 30 ml PBS/0,1 % BSA resuspendiert und 3 mal durch Zentrifugation für 10 min bei 225 g und 4 °C und anschließende Resuspension mit frischem PBS/0,1 % BSA gewaschen. Nach dem letzten Waschvorgang wurden die Zellen in 50 ml RPMI 1640 (inkl. Zusätzen) aufgenommen und in eine 175 cm² Kulturfläche (Becton Dickinson, Franklin Lakes, NJ, USA) überführt. Während einer 90minütigen Groth Arrest Phase bei 37 °C und 5 % CO₂ adherierten die Monozyten an der Plastikoberfläche. Alle anderen Zellen blieben frei und konnten durch mehrmaliges Waschen mit 50 ml warmen PBS Puffer entfernt werden. Nach Zugabe von 50 ml Medium konnten die Monozyten mit Hilfe eines Zellscharbers (Becton Dickinson, Franklin Lakes, NJ, USA) schonend vom Schalenboden abgelöst und durch anschließende Zentrifugation für 10 min bei 225 g und 4 °C konzentriert werden. Anhand der Zellzahlbestimmung in der Neubauerkammer wurden 1×10⁵ Zellen pro Well in 500 µl RPMI 1640 plus Zusätze überführt und 90 Minuten bei 37 °C und 5 % CO₂ inkubiert.

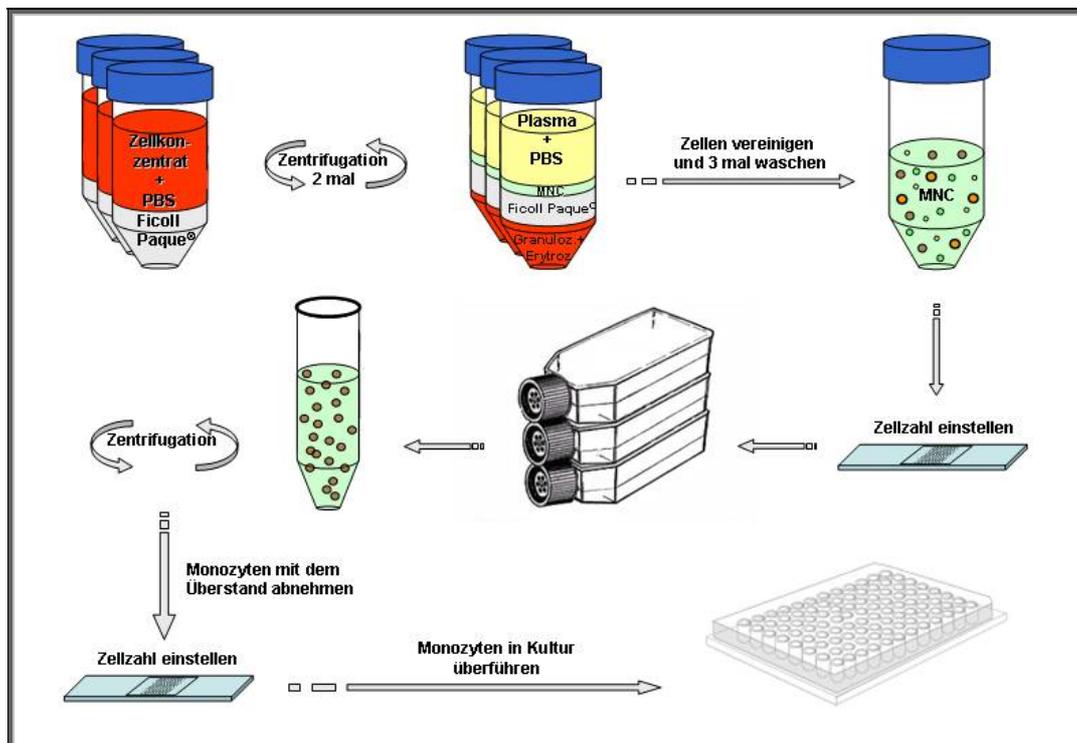


Abbildung 14: Isolation humaner Blutmonozyten aus Vollblutkonserven.

2.10.4 Quantifizieren der Zellzahl nach Isolation

Zur Zellzahlbestimmung von PM Φ und Monozyten wurden 10 μ l der gewonnenen Zellsuspension mit 190 μ l einer 4 %igen Essigsäure (Merck, Darmstadt, Deutschland) versetzt und so eventuell vorhandene Erythrozyten lysiert. Mit der Neubauer-Zählkammer wurden die Zellen lichtmikroskopisch ausgezählt (SM-LUX Leitz, Wetzlar, Deutschland) und die Zellzahl pro ml wiedergegeben.

2.10.5 Trypan-Blau-Färbung

Die Zellvitalität der PM Φ wurde unmittelbar nach der Isolation mit Hilfe der Trypan-Blau-Färbung (Seromed, Pollenfeld, Deutschland,) kontrolliert. Das Prinzip dieser Färbung beruht auf der hohen Proteinaffinität des sauren Farbstoffes. Die intakte Zellmembran lebender Zellen trennt beide Komponenten voneinander. Die Zellen bleiben farblos und heben sich gegen den hellblauen Hintergrund in der Zählkammer ab. Hingegen kann der Farbstoff durch die geschädigte Membran toter Zellen diffundieren. Diese werden tief blau angefärbt. Der Ansatz bestand aus gleichen Teilen einer 0,5 %igen Trypan-Blau-Lösung und PBS-Puffer. 10 μ l der isolierten Zellsuspension wurden mit 190 μ l dieser Lösung versetzt und 5 min lang bei Raumtemperatur inkubiert. Zur Auswertung wurden 200 Zellen in der Neubauer-Zählkammer ausgezählt und der prozentuale Anteil lebender (ungefärbter) Zellen wiedergegeben.

2.10.6 alamarBlue-Assay

Bei dem alamarBlue-Assay handelt es sich um einen leicht handhabbaren globalen Vitalitätstest für Zellkulturen. Er gestattet die quantitative Messung der Zellproliferation oder der zytotoxischen Eigenschaften bestimmter Agenzien. Dazu wird dem Zellkulturmedium 10 % v/v der Indikatorsubstanz (alamarBlue[®], Serotec Inc. Raleigh, NC, USA) hinzugefügt. Die in humanen Zellen vorkommende Cytochromoxidase a₃ reduziert die oxidierte, blaue Form des REDOX-Indikators. Der Farbumschlag nach rot kann photometrisch gemessen werden.

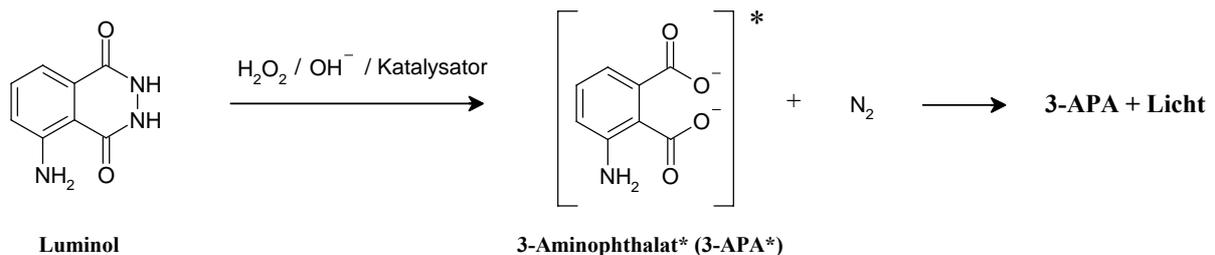
Wir inkubierten in 48-Well-Platten (Becton Dickinson, Franklin Lakes, NJ, USA) 1×10^5 humane Blutmonozyten pro Well für 60 Minuten bei 37 °C und 5 % CO₂ mit Dialysaten und Kontrollmedien. Neben ungebrauchtem Dialysat, welchem Dextran 70 in identischer Konzentration der PET-Testbeutel zugesetzt war, kamen Dialysatproben des PET mit einer intraperitonealen Verweildauer von 60 und 240 Minuten zum Einsatz. Als Kontrolle dienten RPMI Medium (inkl. Zusätze) und Medium dem Glucose und Dextran 70 zugesetzt wurden. Nach einmaligem Waschen mit 200 µl warmem PBS Puffer wurden die Zellen mit 200 µl frischem RPMI Medium (inkl. Zusätzen) plus 10 % v/v alamarBlue bei obigen Bedingungen für 24 Stunden inkubiert. Der Farbumschlag wurde anschließend im Spektralphotometer (Ultraspec II, Biochrom, Cambridge, England) bei 570 und 600 nm gemessen.

2.10.7 Chemolumineszens-Assay

Die während des "respiratory burst" gebildeten Sauerstoffmetabolite reagieren mit Luminol (5-Amino-2,3-Dihydro-1,4-Phthalazinedione) (Sigma-Aldrich Chemikalien GmbH, Steinheim, Deutschland) nach unten stehender Reaktionsgleichung (

Formel 19) zu Stickstoff und 3-Aminophthalat.

Dieses emittiert blaues Licht.



Formel 19

Für diesen Testansatz wurden nach oben beschriebener Isolation $0,25 \times 10^6$ Zellen auf 50µl KRPG-Puffer eingestellt und mit 50 µl Luminol-Arbeitslösung in eine weiße 96-Well Platte pipettiert. Alle Lösungen wurden auf 37 °C erwärmt. Die Luminol-Arbeitslösung, bestehend aus 12 mg 5-Amino-2,3Dihydro-1,4-Phthalazinedione in 50 ml *Aqua dest.* gelöst, wurde alle 2 Wochen neu angesetzt und bei + 8 °C lichtgeschützt gelagert. Unmittelbar vor Beginn der Messung wurden die Makrophagen der Messansätze mit 100 µl Zymosan-Arbeitslösung stimuliert. Diese bestand aus einer 1:10 Verdünnung mit KRPG-Puffer der in Kapitel 2.10.8

beschriebenen STZ-Stammlösung. Unstimulierte Probenansätze dienten als Referenzwerte. Diesen wurden 100 µl KRPG-Puffer zugesetzt. Bei 37 °C wurde die Chemolumineszenz von einem Luminometer (MLY Microtiter® Plate Luminometer, Dynex Technologies INC., Chantilly, VA, USA) über einen Zeitraum von einer Stunde alle 60 Sekunden detektiert und als relative light units (RLU) wiedergegeben. Die Messungen erfolgten als Doppelbestimmung.

Die Messwerte der stimulierten Proben und deren Referenzansätze wurden mit dem Programm Origin 6.0 (Microcal Software, Inc., Northampton, MA, USA) integriert und als “area under the curve“ (AUC) ausgedrückt.

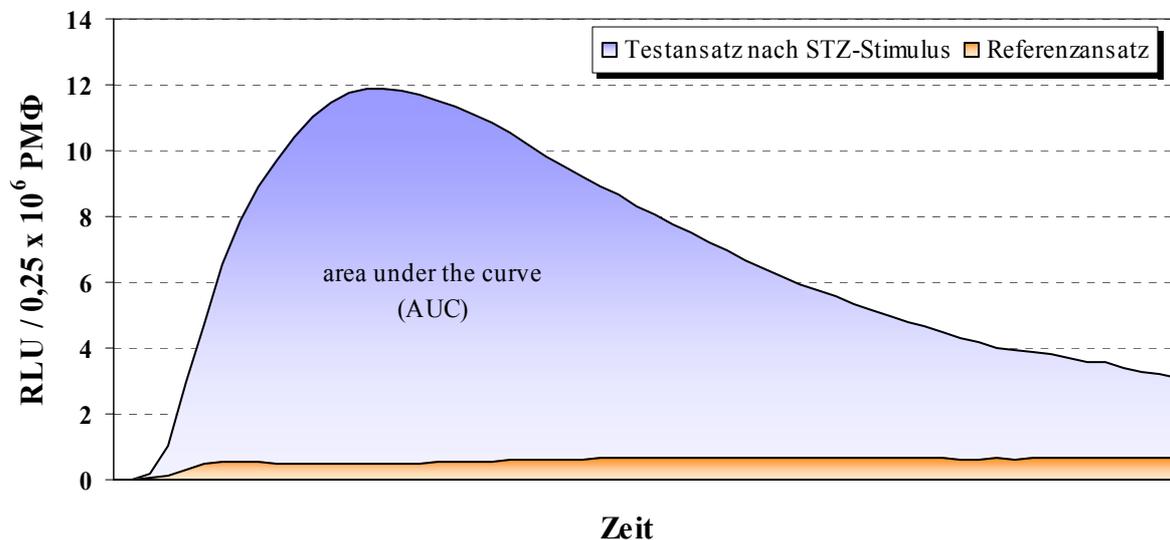


Abbildung 15: Zur Ermittlung des “respiratory burst“ werden die relativen Lichteinheiten (RLU) der mit ST-Zymosan stimulierten Probe und des Referenzansatzes gegen die Zeit aufgetragen. Die Fläche unter der Kurve (AUC) im Messintervall von einer Stunde gibt die Aktivität des respiratory burst wieder.

2.10.8 Zymosan-Phagozytose-Assay

Zur Quantifizierung der Phagozytosefähigkeit der isolierten PMΦ diente der Zymosan-Phagozytose-Assay. Die isolierten PMΦ wurden in RPMI 1640 plus Zusätze (siehe Kapitel 2.10.1.1) auf eine Zellzahl von 2×10^6 Zellen pro ml eingestellt. 1 ml dieser Zellsuspension wurde in einer Kunststoffpetrischale (Inter Med Nunc, Nunclon Delta, Roskilde, Dänemark) für 90 min bei 37 °C und 5 % CO₂ inkubiert (Begasungsschrank BB 16, Heraeus instruments,

Hanau, Deutschland). In dieser Zeit wurden die Makrophagen an der Kunststoffoberfläche adherent. Nach dreimaligem Waschen mit 37 °C warmen PBS-Puffer lagen die Zellen in großer Reinheit und definierter Menge vor. Es folgte eine Inkubation für 30 min mit 1 ml der Zymosan-Nährmedium-Arbeitslösung unter den obigen Bedingungen. Die Zymosan-Nährmedium-Arbeitslösung bestand aus einer frisch angesetzten Verdünnung von 1 Teil ST-Zymosan-Stammlösung zu 99 Teilen RPMI 1640 plus Zusätze. Diese wurde vor jedem Versuch frisch angesetzt. Während der 30minütigen Inkubation begannen die PM Φ die STZ-Partikel zu phagozytieren. Anschließend wurde der Ansatz 6-mal mit warmem PBS-Puffer gewaschen und über Nacht luftgetrocknet. Nach Anfärbung der Zellen mittels Diff-Quick-Färbung wurde der prozentuale Anteil jener Zellen lichtmikroskopisch ermittelt, die eindeutig ein oder mehrere Zymosanpartikel inkorporiert hatten. Dazu wurden 2×200 Zellen ausgezählt. Die Bestimmung fand im Doppelansatz statt.

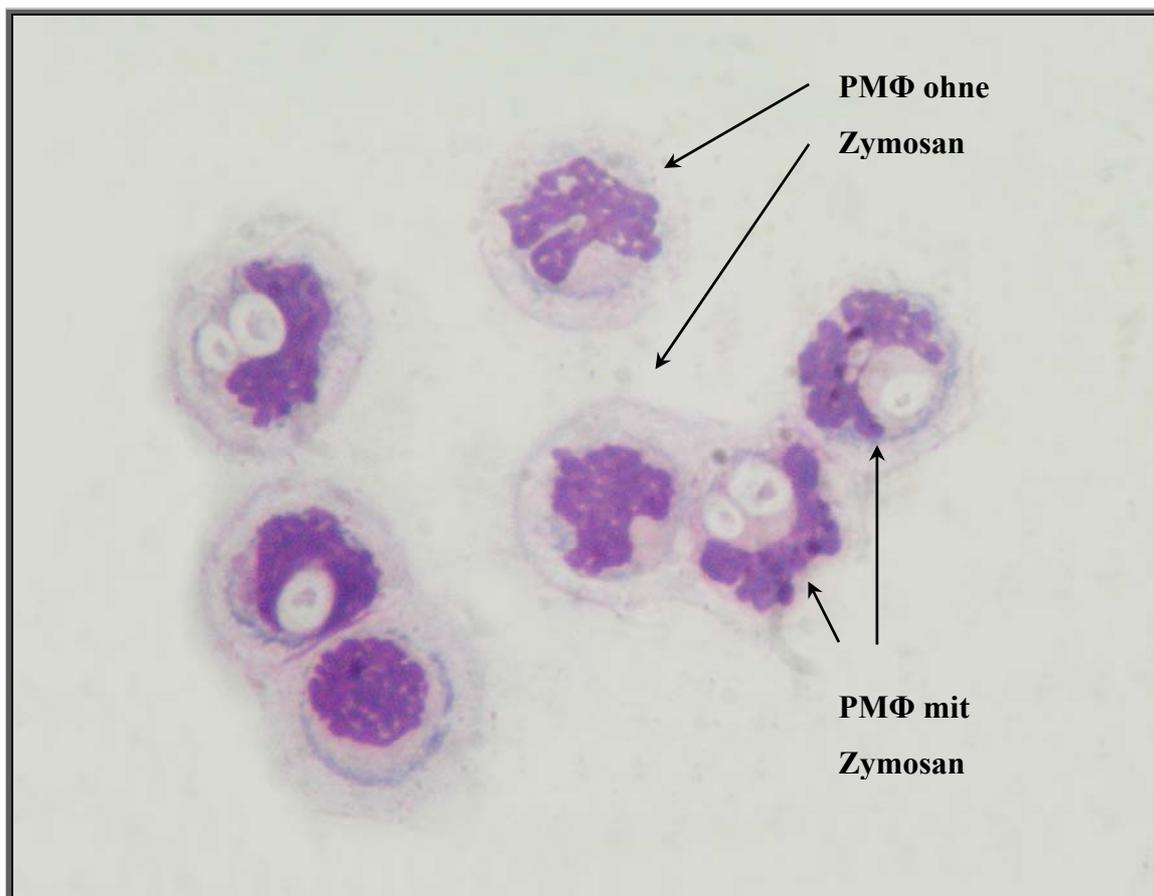


Abbildung 16: Aus dem Auslaufdialysat isolierte PM Φ nach Diff-Quick-Färbung. Die Zymosanpartikel stellen sich wie „Spiegeleier“ als Zytoplasmaausparung dar (Vergrößerung: 1000fach).

2.10.9 Diff-Quick-Färbung

Die Diff-Quick-Färbung (Dade Diff-Quick, Dade AG, Düdingen, Schweiz) stellt eine modifizierte Pappenheim-Färbung dar. Als Schnellfärbemethode wird sie unter anderem zur Herstellung von Differenzialblutbildern aus Blutausstrichen verwendet. Auf die nach dem Zymosan-Phagozytose-Assay luftgetrockneten PM Φ wurden 2 mal 1 ml der Fixierlösung (Fast Green in Methanol [2 mg/l]) gegeben und unter leichtem Schwenken je 1 min lang fixiert. Nach dem Absaugen der Fixierlösung wurde in gleicher Weise die Anfärbung des eosinophilen Zytoplasmas mittels der Färbelösung 1 (Eosin G in Phosphatpuffer [1,22 g/l; pH 6,6]) vorgenommen. Ebenso wurde der basophile Zellkern anschließend mit Färbelösung 2 (Thiazin-Farbstoff in Phosphatpuffer [1,1g/l; pH 6,6]) angefärbt. Nach kurzem Abspülen der Petrischalen mit *Aqua dest.* wurde die Färbung bei Raumtemperatur luftgetrocknet und lichtmikroskopisch ausgewertet.

2.10.10 Zytokin Stimulationstest mit Lipopolysaccharid (LPS)

Die aus dem Auslaufdialysat isolierten PM Φ wurden mit 1 ml RPMI Medium plus Zusätze in Petrischalen (Inter Med Nunc, Nunclon Delta, Roskilde, Dänemark) auf eine Zellzahl von 1×10^6 Zellen/ml eingestellt. In der darauf folgenden 90minütigen Groth Arrest Phase bei 37 °C und 5 % CO₂ wurden die Zellen an der Plastikoberfläche adherent. Mit 1 ml 37 °C warmen PBS-Puffers wurden die Zellen 3-mal für einige Sekunden vorsichtig gewaschen und anschließend 1 ml frisches RPMI Medium plus Zuätze hinzugefügt. Es erfolgte nun eine 18stündige Stimulation bei 37 °C und 5 % CO₂. Dazu wurden den Ansätzen 10 µg LPS des Bakteriums *E.coli* serotype 055:B5 (Sigma-Aldrich Chemikalien GmbH, Steinheim, Deutschland) hinzu gegeben. Zur Bestimmung der basalen Zytokinfreisetzung wurden Kontrollansätze ohne LPS-Stimulation inkubiert. Der Überstand wurde nach 18 Stunden abgenommen, in Eppendorf Gefäße (Save Lock 1,5 ml, Eppendorf-Netheler-Hinz GmbH, Hamburg, Deutschland) überführt und für 6 Minuten bei 800 g zentrifugiert um Zelltrümmer zu entfernen. Alle Proben wurden im Doppelansatz hergestellt und bis zur Messung bei – 70 °C gelagert.

Die aus Vollblut isolierten Monozyten wurden mit 0,5 ml RPMI Medium plus Zusätze in 48-Well Platten (Becton Dickinson, Franklin Lakes, NJ, USA) auf eine Zellzahl von 1×10^5 Zellen pro Well eingestellt und 90 Minuten bei 37 °C und 5 % CO₂ inkubiert. Die Zellen wurden an der Plastikoberfläche adherent. Nach vorsichtigem Waschen mit 0,5 ml 37 °C warmem RPMI Medium wurden die Zellen anschließend für 60 Minuten mit 0,25 ml Dialysat inkubiert. Um die intraperitoneale Dialysatequilibration beider Dialysate zu simulieren, erfolgte die Inkubation mit aus dem PET zu unterschiedlichen Zeiten (0, 60, 240 Minuten) gewonnenen Dialysatproben. Als Referenz diente eine Inkubationsreihe mit RPMI 1640 Medium, dem die zu den jeweiligen Abnahmezeiten vorhandenen Konzentrationen an Glucose und Dextran zugesetzt wurden. Diese wurden aus den Mittelwerten aller PET errechnet (n = 48). Es folgte die 18stündige Stimulation bei 37 °C und 5 % CO₂ mit 10 µg LPS. Zur Bestimmung der basalen Zytokinfreisetzung wurden auch hier Kontrollansätze ohne LPS-Stimulation inkubiert. Der Überstand wurde nach 18 Stunden abgenommen, für 6 Minuten bei 800 g zentrifugiert und bis zur Messung bei – 70 °C gelagert. Auch hier wurden Doppelansätze durchgeführt.

2.10.11 Enzyme linked immunosorbent assay (ELISA)

Folgende Parameter wurden unter Zuhilfenahme eines solid sandwich ELISA bestimmt:

- IL-6 in Serum und Dialysat
- CRP im Dialysat
- TGF-β1 im Dialysat

Bei einem ELISA handelt es sich um einen immunologischen Test zur quantitativen Bestimmung phasengebundener Antigene (siehe Abbildung 18). Nach der Adsorption des “capture“ Antikörpers an die Oberfläche des Reaktionsgefäßes wird die Gefäßoberfläche mit Albumin gegen unspezifische Bindungen abgeblockt. Im zweiten Schritt wird das zu bestimmende Antigen am “capture“ Antikörper gebunden. Es folgt die Zugabe des “detection“ Antikörpers der am zu bestimmenden Protein bindet. Dieser kann bereits mit einem Enzym gekoppelt sein. Ansonsten erfolgt die Zugabe eines enzymgekoppelten sekundären Antikörpers, der den Antigen-Antikörperkomplex markiert. Die Enzymreaktion

wird durch Zugabe des Substrates gestartet. Die Extinktion des dabei gebildeten Farbstoffes ist der Menge an umgesetzten Substrat proportional und wird photometrisch gemessen.

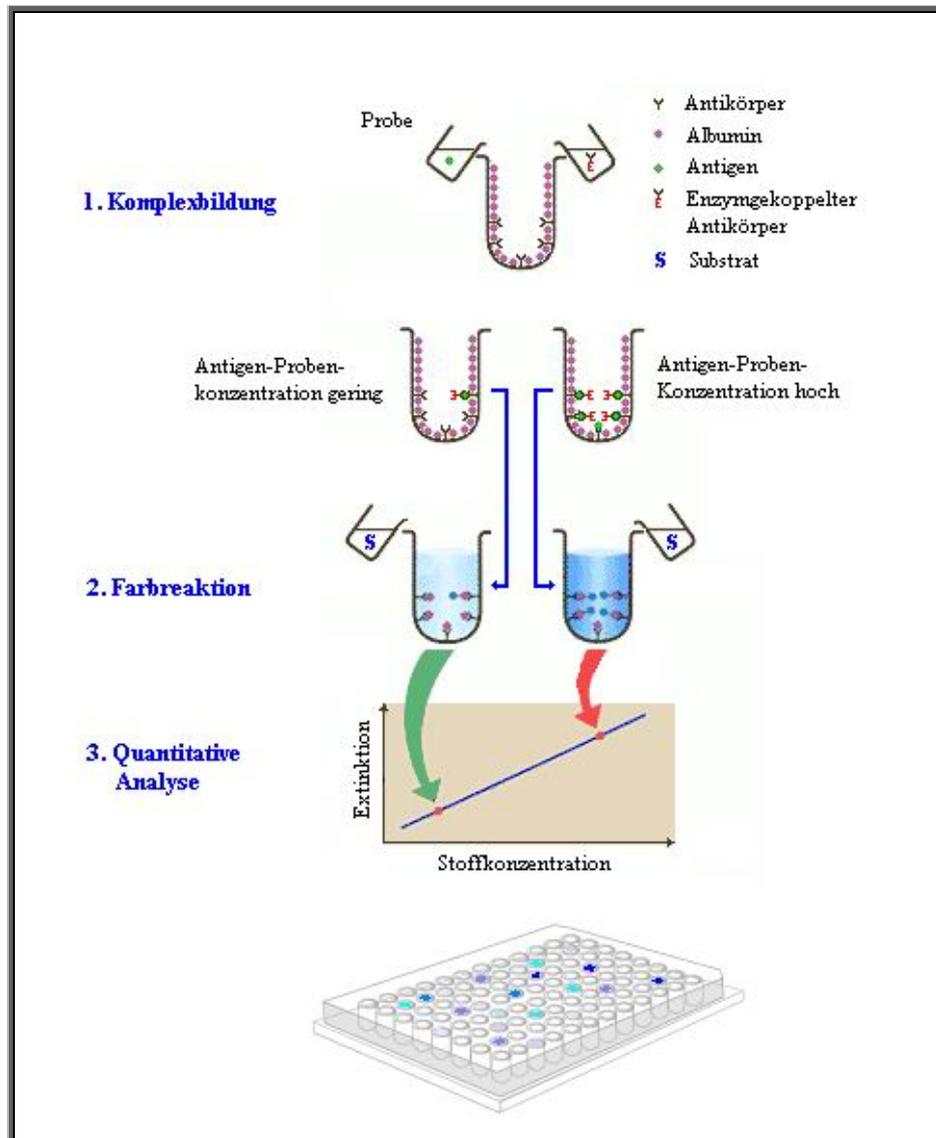


Abbildung 17: Prinzip eines ELISA

Die Bestimmung von

- Aquaporin-1 im Dialysat und
- AGEs im Dialysat

erfolgte mit einem indirekt kompetitiven ELISA. Das zu quantifizierende Antigen wird auf die Platte gebracht und die Oberfläche gegen unspezifische Bindungen abgeblockt. Das

Probenmaterial und der zum gesuchten Protein konjugierende spezifische Antikörper werden in der Platte gemeinsam inkubiert. Das Protein in der Probe fungiert als kompetitiver Inhibitor, indem es freie Antikörper durch Immunkomplexbildung abfängt. Diese freien Komplexe werden durch Waschen entfernt. Wandständig gebundenen Antikörper werden wiederum mit einem enzymgebundenen sekundären Antikörper markiert, die Farbreaktion durch Substratzugabe gestartet und die Extinktion photometrisch gemessen (siehe Abbildung 18).

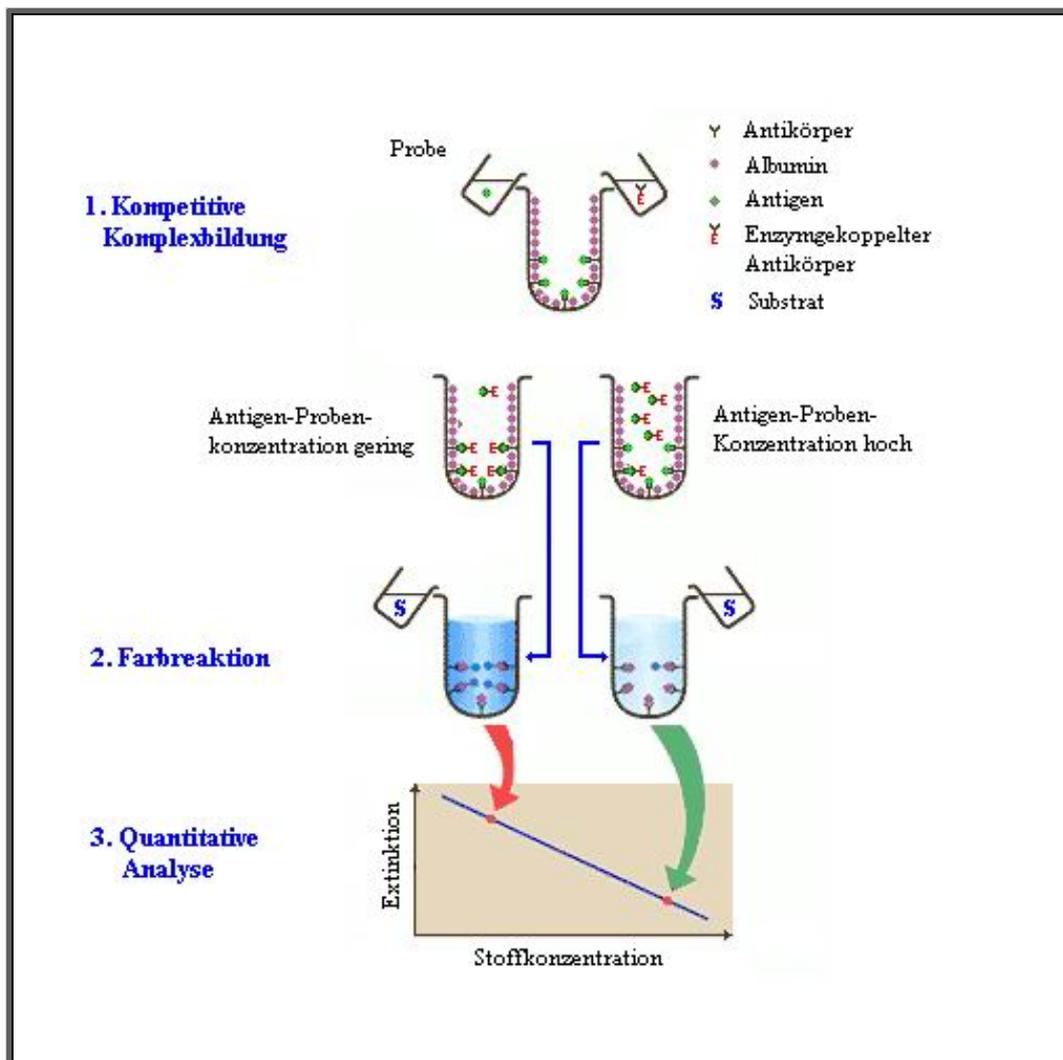


Abbildung 18: Funktionsweise eines kompetitiven ELISA

Neben den Proben, Standards und Plattenkontrollen wurden zur Überprüfung unspezifischer Reaktionen Kontrollen der Dialysate und Medien der Kulturversuche mitgeführt.

Die Extinktionen wurden photometrisch mit dem Anthos 2001 Automatic Microplate Reader (Anthos Labtech International, Raleigh, USA) gemessen.

2.10.11.1 Interleukin 6 (IL-6) ELISA

Der Nachweis des IL-6 in Serum, Dialysat und den Medien der Zellkulturen, wurde mit dem human IL-6 Elisa der Firma R&D Systems Inc. (Minneapolis, USA) geführt. Dabei wurde nach Herstellerangaben verfahren. Serum- und Dialysatproben wurden unverdünnt, die Überstände der *in vitro* Versuche 1:10 verdünnt gemessen.

2.10.11.2 "Transforming growth factor- β 1" (TGF- β 1) ELISA

Ebenfalls von der Firma R&D Systems wurde der TGF- β 1 ELISA bezogen. Auch hier wurde nach Herstellerangaben verfahren. Die zu untersuchenden Dialysate des last bag wurden 1:1,4 vorverdünnt.

2.10.11.3 C-reaktives Protein (CRP) ELISA

Das CRP im Dialysat wurde zuerst mittels Turbidimetrie (Hitachi Modular, Roche Diagnostics, Heidelberg, Deutschland) bestimmt. Nachträglich kam ein ELISA zum Einsatz (siehe Kapitel 2.10.11.3).

Die Bestimmung des CRP im Dialysat erfolgte aus 1:100 verdünntem Probengut des 6stündigen last bag mit dem CPR-ELISA KIT der Firma Alpha Diagnostic International (San Antonio, USA). Die Messuntergrenze liegt bei diesem Test bei 0,35 ng/ml. Die Intra-Assay-Varianz beträgt 3 %. Die Inter-Assay-Varianz wurde mit 3-7 % angegeben.

2.10.11.4 Aquaporin-1 (AQP-1) und "Advanced glycosylation end-products" (AGEs) ELISA

Die AQP-1 und AGEs Konzentration im Dialysat wurde in zellfreien Proben des "last bag" gemessen. Die Microtiterplatte wurde dazu über Nacht mit AQP-1-Antigen (1 ng/ml)

(Biotrend Chemikalien GmbH, Köln, Deutschland), respektive AGEs-Antigen (eigene Produktion der nephrologischen Arbeitsgruppe) ge-coated. 50 µl unverdünntes Dialysat wurden mit 50 µl monoklonalem AQP-1 Antikörper (0,5µg/ml) (Biotrend Chemikalien GmbH, Köln, Deutschland), respektive AGEs Antikörper (Kumamoto Immunochemical Laboratory Co., Ltd., Kumamoto, Japan) und 150 µl Verdünnungsreagenz (PBS mit 1,4 % Opticlear (R&D Systems, Minneapolis, USA) und 0,05 % Tween 20) versetzt und 1 Stunde in der Platte inkubiert. Die Immunkomplexmarkierung und anschließende Enzymreaktion wurden mit dem DAKO StreptABComplex/HRP Duet Kit (mouse/rabbit) der Firma DAKO Diagnostika GmbH (Hamburg, Deutschland) durchgeführt. Die Extinktion wurde bei 492 nm (Referenzfilter 620 nm) gemessen. Bei einer Sensitivität von 40 pmol/l betrug die Inter-Assay Varianz des Aquaporin ELISA < 5 %, die Intra-Assay Varianz < 7 %.

2.10.11.5 Tumorantigen CA 125

Ein “electro chemoluminescens immuno assay“ (ECLIA) (Lecsys 2010, Roche Diagnostics, Heidelberg, Deutschland) diente der Bestimmung des Tumorantigens CA 125. Es wurde nach 4stündiger Verweilzeit aus dem Auslaufdialysat des PET bestimmt.

2.11 Statistische Auswertung

Die Ergebnisse sind als Mittelwerte \pm Standardabweichung angegeben. Die Datenmengen der Gruppen wurden mittels F-Test auf Normalverteilung überprüft. Zur Berechnung der Gruppenunterschiede wurde der Student-t-Test für verbundene Stichproben angewendet. Im Falle einer nicht normal verteilten Wertemenge wurde der Wilcoxon-Rangtest angewandt. Ein α -Fehler von $\leq 0,05$ wurde als signifikant angenommen. Die Berechnungen wurden mit dem Programm SPSS 10.0.7 (SPSS Inc.) vorgenommen.

3 Ergebnisse

3.1 Peritonealer Stofftransport

3.1.1 Effektive Membranoberfläche - Massentransferflächenkoeffizient (MTAC)

Die Berechnung nach dem Modell von Popovich und Pyle zeigten im Behandlungsverlauf einen Rückgang des MTAC von Kreatinin in der Bik./Lak. Gruppe zum Zeitpunkt $t = 60$ min auf (**B/L-M1_{60min}**: $15,47 \pm 5,69$ ml/min *versus* **B/L-M5_{60min}**: $13,24 \pm 4,52$ ml/min / $p = 0,049$). Daraus resultierte nach 5monatigem Behandlungsverlauf ein gegenüber der Laktat Gruppe reduzierter MTAC (**B/L-M5_{60min}**: $13,24 \pm 4,52$ ml/min *versus* **L-M5_{60min}**: $15,01 \pm 4,53$ / $p = 0,05$). Weiterhin zeigten die Berechnungen für die Laktat Gruppe einen in der Frühphase der Verweilzeit ($t = 60$ min) höheren MTAC als nach 4stündiger Verweilzeit ($t = 240$ min) ($p \leq 0,05$). In der Bik./Lak. Gruppe war dieser Sachverhalt nur zu Beginn des Behandlungsintervalls zu erkennen ($p = 0,026$).

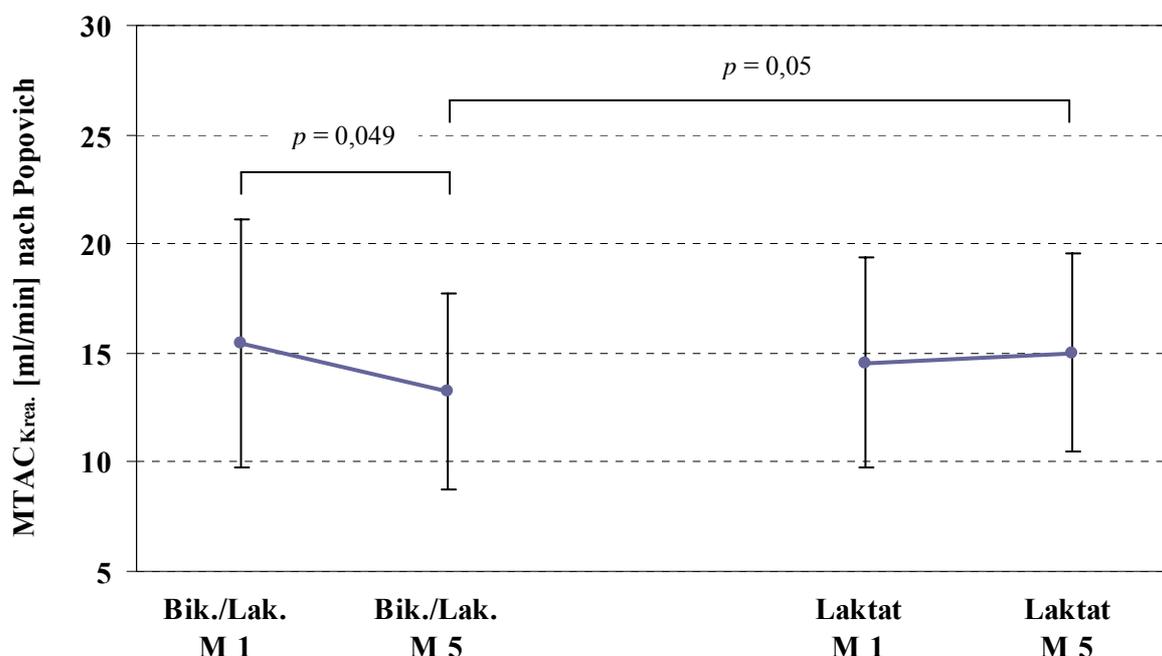


Abbildung 19: Darstellung des Massentransferflächenkoeffizienten für Kreatinin [ml/min] für den Equilibrationszeitpunkt 60 Minuten nach Berechnung mit dem Modell nach Popovich und Pyle (Mittelwerte \pm Standardabweichung).

Die Berechnungen mit dem Modell nach Garred zeigten wiederum einen höheren MTAC nach 60 Minuten als nach 240 Minuten für die Laktat Gruppe auf ($p < 0,05$). Die Bik./Lak. Gruppe wies nach 5 Monaten niedrigere 60 min-Werte als die Kontrollgruppe Laktat auf (**B/L-M5_{60min}**: $17,44 \pm 4,82$ ml/min *versus* **L-M5_{60min}**: $21,36 \pm 5,93$ ml/min / $p = 0,016$). Der im Behandlungsverlauf zu allen Zeitpunkten sichtbare Rückgang des MTAC der Bik./Lak. Gruppe wurde für den Zeitpunkt $t = 240$ min signifikant (**B/L-M1_{240min}**: $17,63 \pm 6,66$ ml/min *versus* **B/L-M5_{240min}**: $15,62 \pm 6,00$ ml/min / $p = 0,034$).

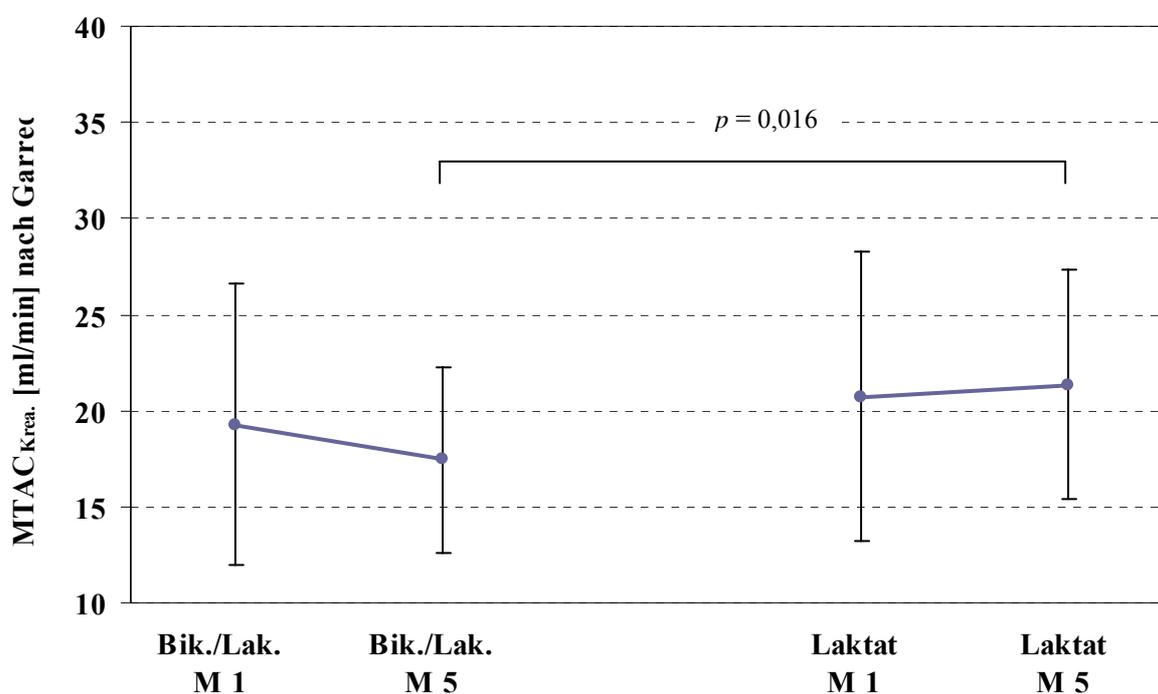


Abbildung 20: Darstellung des Massentransferflächenkoeffizienten von Kreatinin [ml/min] für den Equilibrationszeitpunkt 60 Minuten nach Berechnung mit dem von Krediet vereinfachten Modell nach Garred (Mittelwerte \pm Standardabweichung).

In den Abbildung 21 und 22 (Berechnung nach Waniewski) wird im Verlauf des Behandlungszeitraumes während der Frühphase ein Anstieg des MTAC in der Laktat Gruppe aufgezeigt (Waniewski, $f = 0,3$: **L-M1_{60min}**: $15,92 \pm 5,07$ ml/min versus **L-M5_{60min}**: $17,49 \pm 5,03$ ml/min / $p = 0,025$; Waniewski, $f = 0,5$: **L-M1_{60min}**: $15,11 \pm 5,15$ ml/min versus **L-M5_{60min}**: $16,95 \pm 5,13$ ml/min / $p = 0,015$).

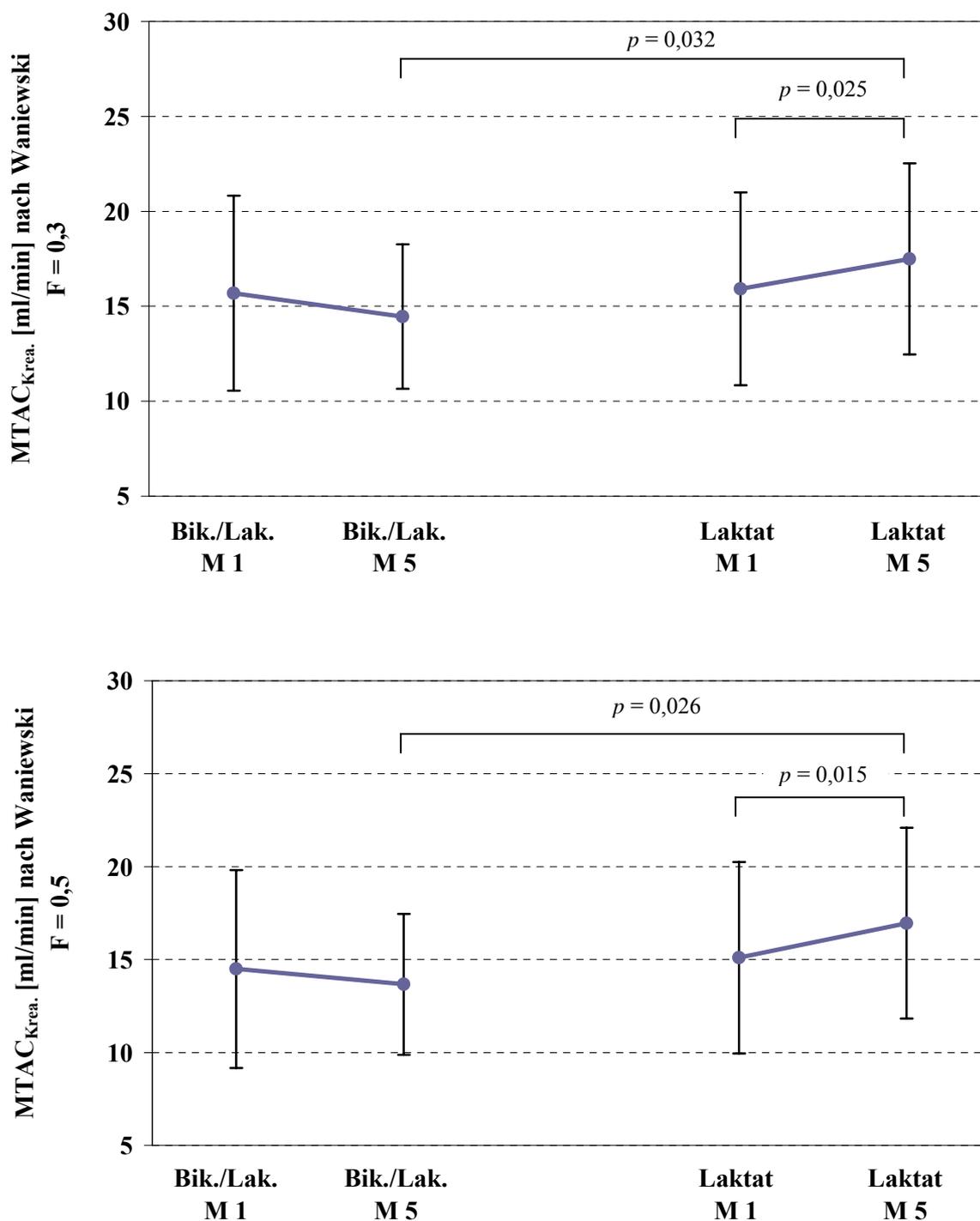


Abbildung 21 und 22: Darstellung des Massentransferflächenkoeffizienten von Kreatinin [ml/min] für den Equilibrationszeitpunkt 60 Minuten nach Berechnung mit dem Modell nach Waniewski *et al.* (Mittelwerte \pm Standardabweichung).

Die Berechnungen des MTAC für Kalium zeigten ähnliche Ergebnisse wie die des Kreatinin. Das Modell von Waniewski kann hier nicht angewendet werden, da ein benötigter Datenwert außerhalb des Messbereichs lag. Die unten stehende Abbildung 23 zeigt, dass der MTAC, berechnet nach Popovich und Pyle, nach 60 Minuten unabhängig von Gruppenzugehörigkeit und Therapiedauer höher lag als nach 240 Minuten (alle $p \leq 0,02$). Zudem wurde ein Anstieg binnen 5 Monaten in der Laktat Gruppe zu den Zeitpunkten $t = 60$ und $t = 120$ min gemessen (**L-M1**_{60min}: $24,30 \pm 3,88$ ml/min *versus* **L-M5**_{60min}: $26,88 \pm 5,46$ ml/min / $p = 0,029$; **L-M1**_{120min}: $21,09 \pm 2,92$ ml/min *versus* **L-M5**_{120min}: $23,27 \pm 3,98$ ml/min / $p = 0,01$). Für den 60 Minuten Wert ergab sich zwischen den Gruppen ein signifikanter Unterschied nach 5monatiger Therapie (**B/L-M5**_{60min}: $22,54 \pm 5,92$ ml/min *versus* **L-M5**_{60min}: $26,88 \pm 5,43$ ml/min / $p = 0,014$).

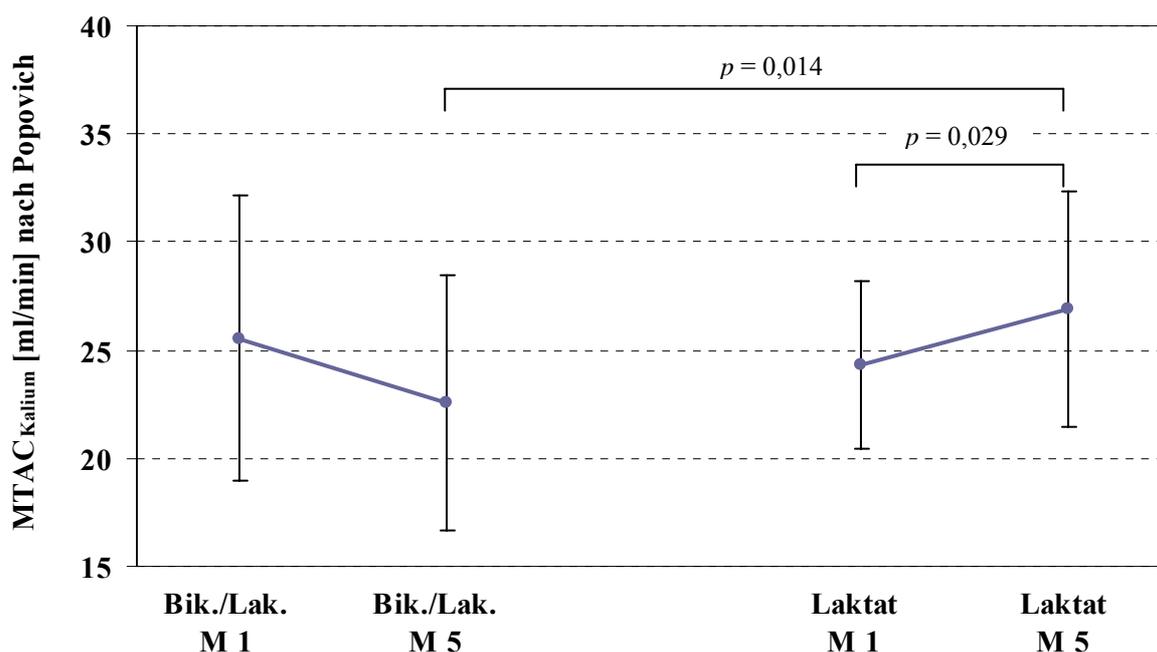


Abbildung 23: Darstellung des Massentransferflächenkoeffizienten von Kalium [ml/min] für den Equilibrationszeitpunkt 60 Minuten nach Berechnung mit dem Modell nach Popovich und Pyle (Mittelwerte \pm Standardabweichung).

Der Anstieg des MTAC für Kalium der Laktat Gruppe im Behandlungszeitraum war nach Berechnung anhand des Garred-Modells bei 60 und 120 Minuten nachweisbar (**L-M1_{60min}**: $19,14 \pm 3,55$ ml/min *versus* **L-M5_{60min}**: $22,05 \pm 5,28$ ml/min / $p = 0,005$; **L-M1_{120min}**: $17,21 \pm 3,32$ ml/min *versus* **L-M5_{120min}**: $18,94 \pm 4,14$ ml/min / $p = 0,03$). Für den 60 Minuten-Wert (siehe Abbildung 24) resultierte nach 5monatiger Therapie ein hochsignifikanter Unterschied zur Bik./Lak. Gruppe (**B/L-M5_{60min}**: $17,35 \pm 5,39$ ml/min *versus* **L-M5_{60min}**: $22,05 \pm 5,28$ ml/min / $p = 0,006$). Unterschiede des MTAC zwischen den Zeitpunkten $t = 60$ min und $t = 240$ min waren in der Kontrollgruppe Laktat nachweisbar ($p < 0,05$).

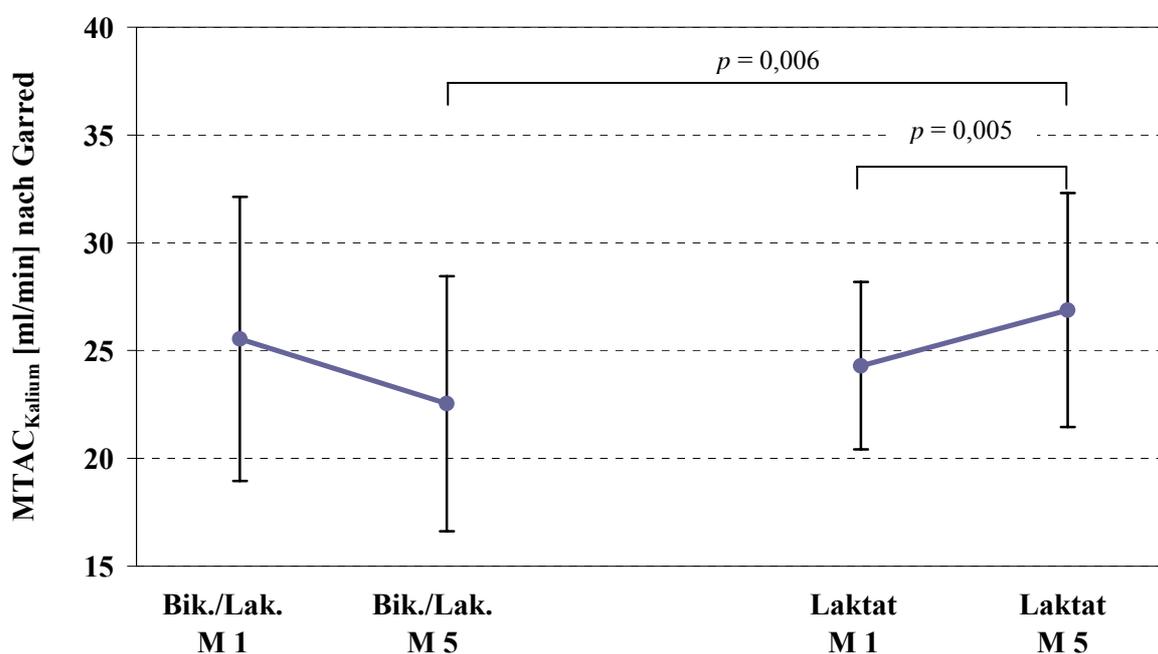


Abbildung 24: Darstellung des Massentransferflächenkoeffizienten von Kalium [ml/min] für den Equilibrationszeitpunkt 60 Minuten nach Berechnung mit dem von Krediet vereinfachten Modell nach Garred (Mittelwerte \pm Standardabweichung).

3.1.2 Niedermolekularer Stofftransport - D/P_{ratio} kleiner Solute

Anhand der im PET gewonnenen Proben wurden Berechnungen des peritonealen Stofftransportes für die kleinen Solute Kreatinin, Harnstoff, anorganisches Phosphat und Kalium nach 60, 120 und 240 Minuten Verweilzeit durchgeführt. Signifikante Veränderungen der Transportraten zeigten sich insbesondere in der Frühphase der intraperitonealen Verweildauer.

Die D/P_{ratio} für Kreatinin der Bik./Lak. Gruppe zum Zeitpunkt 60 Minuten zeigte im Behandlungsverlauf eine negative Tendenz (**B/L-M1_{60min}**: $0,31 \pm 0,09$ versus **B/L-M5_{60min}**: $0,28 \pm 0,07$ / $p = 0,10$) und wies nach 5monatigem Therapiedurchlauf einen signifikanten Unterschied zur Laktat therapierten Kontrollgruppe auf (**B/L-M5_{60min}**: $0,28 \pm 0,07$ versus **L-M5_{60min}**: $0,32 \pm 0,07$ / $p = 0,031$). Diese stieg im gleichen Zeitraum von $0,30 \pm 0,08$ auf $0,32 \pm 0,07$ ($p = 0,026$) an. In der Bik./Lak. Gruppe war der tendenzielle Rückgang der D/P_{ratio} binnen des Therapieintervalls auch nach 120 und 240 Minuten zu erkennen. Die Dialysat /Plasma Äquilibration von Kreatinin ist in Abbildung 25 grafisch dargestellt.

Ähnlich präsentierten sich die Ergebnisse der Berechnung der D/P_{ratio} des Harnstoffs (siehe Abbildung 26). Ein zeitlicher Rückgang zeigte sich in der Bik./Lak. Gruppe. Für den Zeitpunkt 60 min wurden statistisch signifikante Werte erreicht (**B/L-M1_{60min}**: $0,50 \pm 0,08$ versus **B/L-M5_{60min}**: $0,45 \pm 0,06$ / $p = 0,05$). Der Vergleich zur Kontrollgruppe zeigte nach 5 Monaten eine erniedrigte Transportrate (**B/L-M5_{60min}**: $0,45 \pm 0,06$ versus **L-M5_{60min}**: $0,50 \pm 0,07$ / $p = 0,05$).

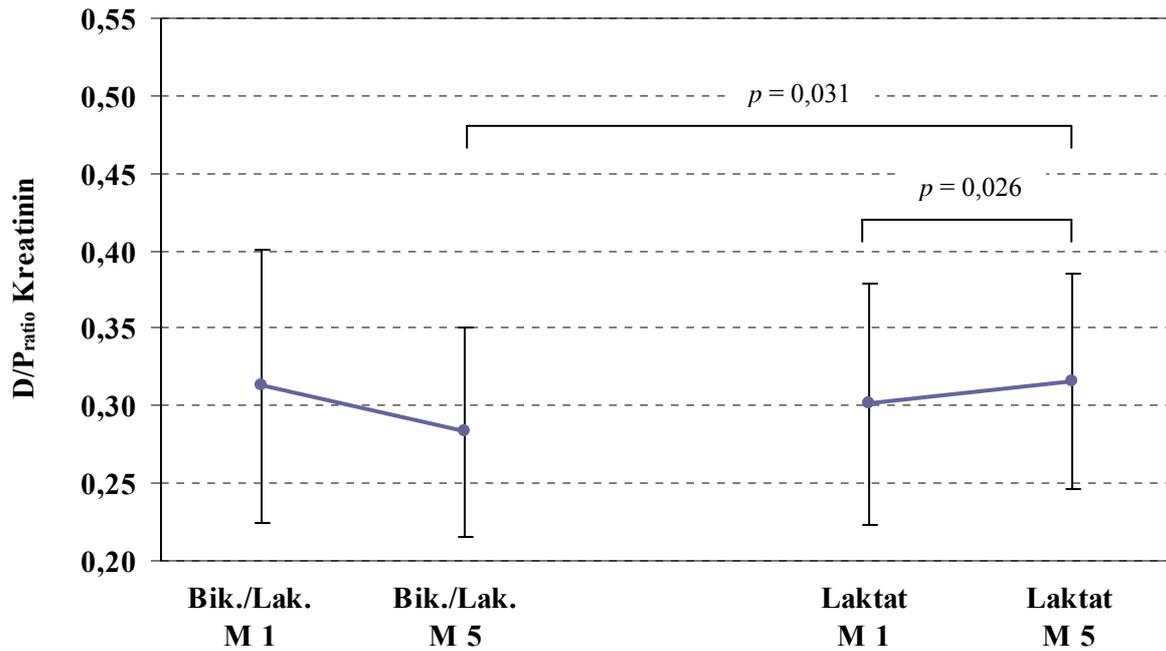


Abbildung 25: Darstellung der D/P_{ratio} von Kreatinin für den Equilibrationszeitpunkt 60 Minuten (Mittelwerte \pm Standardabweichung).

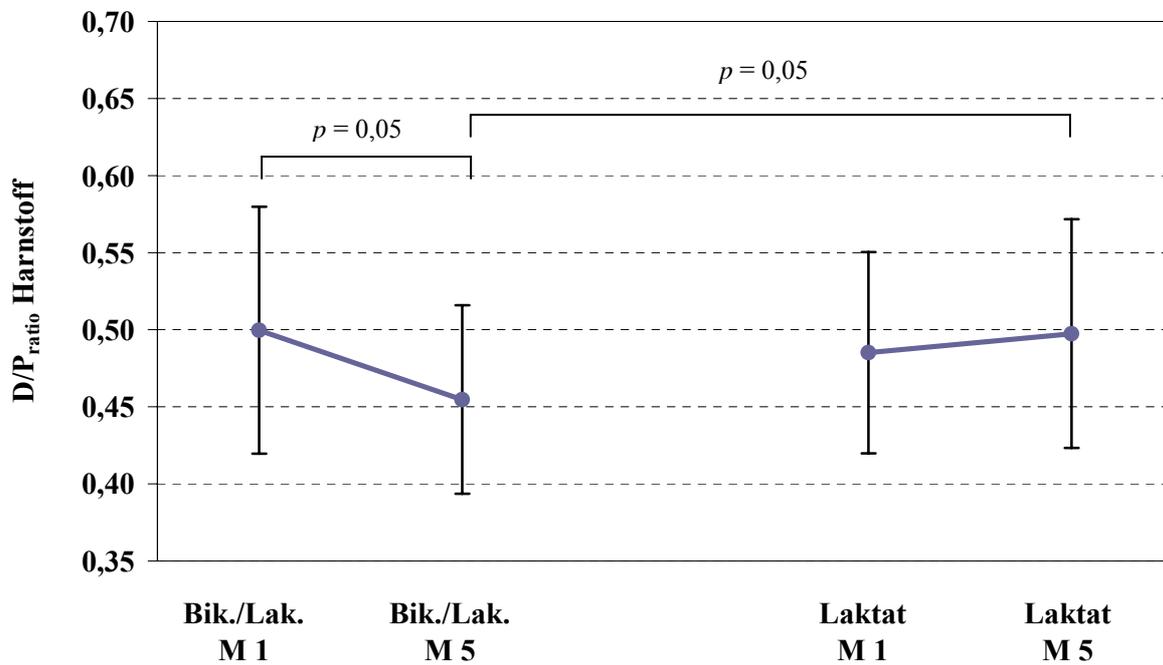


Abbildung 26: Darstellung der D/P_{ratio} von Harnstoff für den Equilibrationszeitpunkt 60 Minuten (Mittelwerte \pm Standardabweichung).

Bei Betrachtung der D/P_{ratio} des anorganischen Phosphats werden die Unterschiede der Gruppen deutlicher. So wies die Bik./Lak. Gruppe zu Beginn der Behandlung eine im Vergleich zur Kontrollgruppe höhere D/P_{ratio} nach 60 Minuten (**B/L-M1_{60min}**: $0,26 \pm 0,07$ versus **L-M5_{60min}**: $0,21 \pm 0,10$ / $p = 0,046$) und nach 120 Minuten auf (**B/L-M1_{120min}**: $0,40 \pm 0,10$ versus **L-M1_{120min}**: $0,34 \pm 0,12$ / $p = 0,032$). Im Laufe der 5monatigen Therapie zeigte die Bik./Lak. Gruppe einen Rückgang der D/P_{ratio} zu allen berechneten Zeitpunkten. Signifikante Werte wurden zum Zeitpunkt 60 min erreicht (**B/L-M1_{60min}**: $0,26 \pm 0,07$ versus **B/L-M5_{60min}**: $0,22 \pm 0,09$ / $p = 0,030$) (siehe Abbildung 27). In der mit Laktat behandelten Gruppe waren tendenziell ansteigende Werte zu verzeichnen (**L-M1_{60min}**: $0,21 \pm 0,10$ versus **L-M5_{60min}**: $0,25 \pm 0,07$ / $p = 0,08$; **L-M1_{120min}**: $0,34 \pm 0,12$ versus **L-M5_{120min}**: $0,38 \pm 0,08$ / $p = 0,05$).

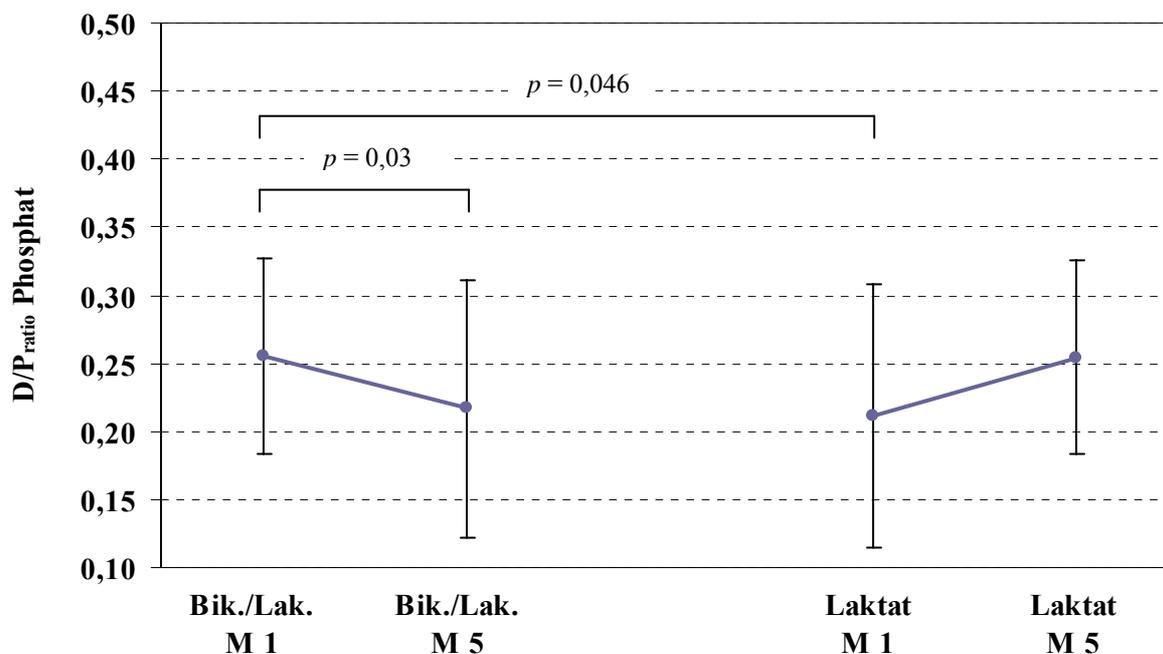


Abbildung 27: Darstellung der D/P_{ratio} des anorganischen Phosphates für den Equilibrationszeitpunkt 60 Minuten (Mittelwerte \pm Standardabweichung).

Die D/P_{ratio} des Kaliums ist in Abbildung 28 wiedergegeben. Im Laufe des Therapieintervalls fiel die D/P_{ratio} der Bik./Lak. Gruppe von $0,45 \pm 0,08$ auf $0,41 \pm 0,08$ ab ($p = 0,041$). In der Kontrollgruppe war demgegenüber für den Zeitpunkt $t = 60$ min ein deutlicher Anstieg zu verzeichnen (L-M1_{60min}: $0,44 \pm 0,05$ versus L-M5_{60min}: $0,47 \pm 0,07$ / $p = 0,021$). Daraus resultierte nach 5monatiger Therapie ein hochsignifikanter Gruppenunterschied (B/L-M5_{60min}: $0,41 \pm 0,08$ versus L-M5_{60min}: $0,47 \pm 0,07$ / $p = 0,009$).

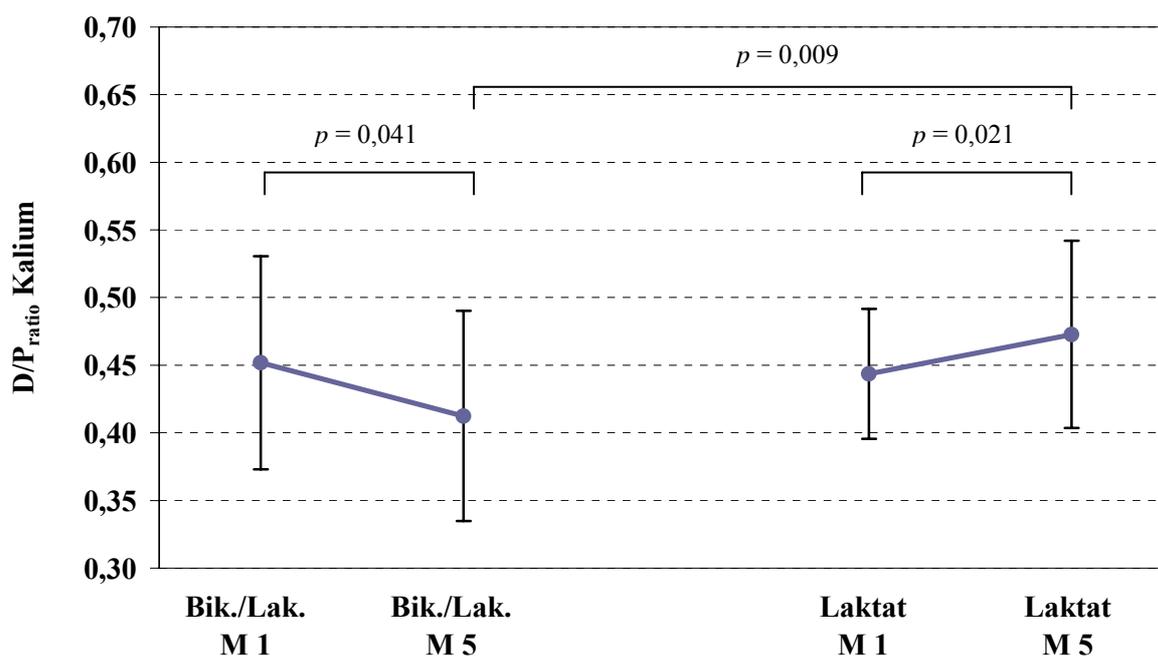


Abbildung 28: Darstellung der D/P_{ratio} von Kalium für den Equilibrationszeitpunkt 60 Minuten (Mittelwerte \pm Standardabweichung).

3.1.3 Glucoseerhalt im Dialysat

Änderungen oder Unterschiede der peritonealen Glucoseresorption traten nur andeutungsweise in Erscheinung. Dazu wurden die Glucosekonzentrationen verschiedener Zeitpunkte relativ zur Ausgangskonzentration aufgetragen (siehe Abbildung 29). Lediglich der Gruppenvergleich des 15 min-Wertes nach 5monatiger Therapie erreichte das Signifikanzniveau (**B/L-M5_{15min}**: $0,86 \pm 0,15$ versus **L-M5_{15min}**: $0,74 \pm 0,13$ / $p = 0,046$). Die Glucosekonzentrationen der Laktat Gruppe zum Zeitpunkt 15 und 60 Minuten waren im Therapieintervall tendenziell rückläufig (n.s.) (**L-M1_{15min}**: $0,82 \pm 0,14$ versus **L-M5_{15min}**: $0,74 \pm 0,13$ / $p = 0,064$; **L-M1_{60min}**: $0,58 \pm 0,16$ versus **L-M5_{60min}**: $0,50 \pm 0,10$ / $p = 0,109$).

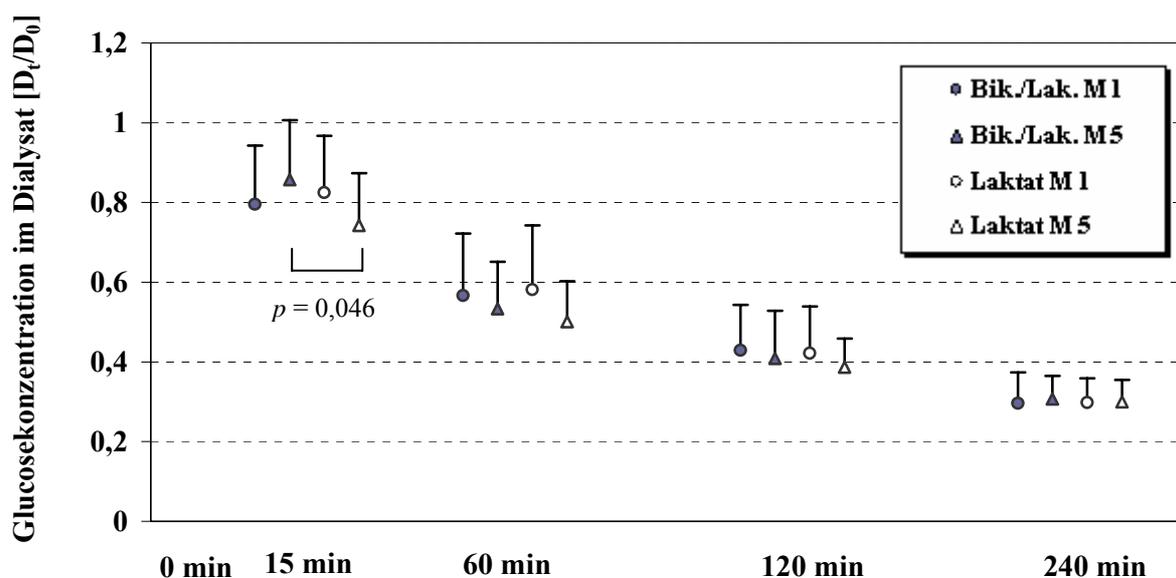


Abbildung 29: Darstellung der Glucosekonzentration [mg/ml] relativ zur Ausgangskonzentration (Mittelwerte \pm Standardabweichung).

3.2 Flüssigkeitskinetik

3.2.1 Intraperitoneales Volumen (IPV), effektive Ultrafiltration (EUF) und transkapilläre Ultrafiltration (TCUF)

Die Parameter der Flüssigkeitskinetik wurden ebenfalls für die Zeitpunkte 60, 120, 240 Minuten anhand der PET-Proben errechnet. Für das intraperitoneale Volumen (IPV), die effektive (EUF) und transkapilläre Ultrafiltration (TCUF) konnten keine signifikanten Unterschiede sowohl im Gruppenvergleich als auch in der zeitlichen Entwicklung des Behandlungszeitraumes nachgewiesen werden. Die Messwerte sind in der Abbildung 30, Abbildung 31 und Abbildung 32 grafisch aufgetragen.

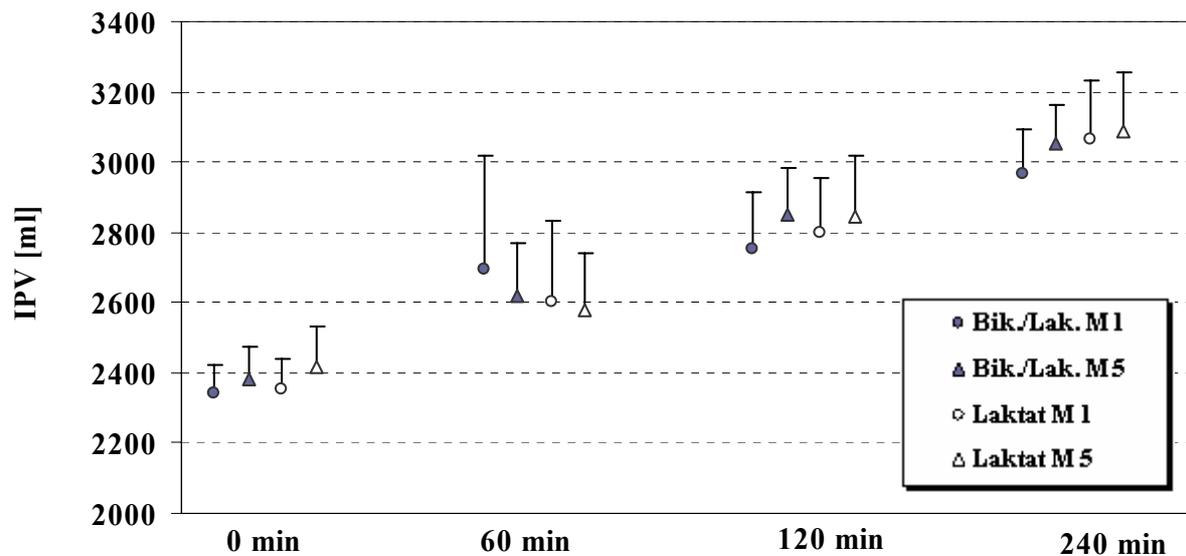


Abbildung 30: Darstellung des intraperitonealen Volumens während des 4stündigen PET (Mittelwert \pm Standardabweichung).

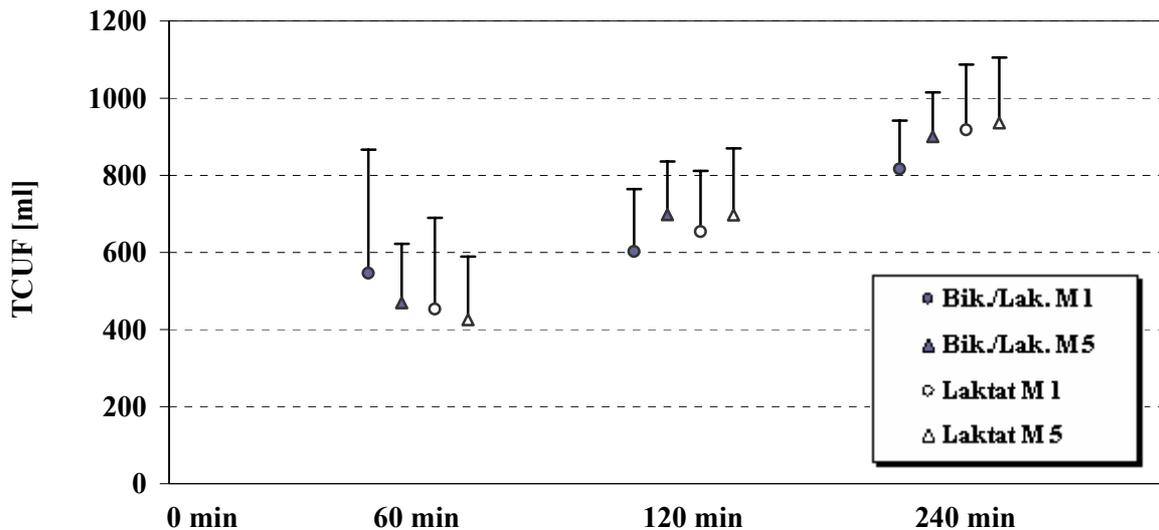


Abbildung 31: Darstellung der transkapillären Ultrafiltration während des 4stündigen PET-Test (Mittelwert \pm Standardabweichung).

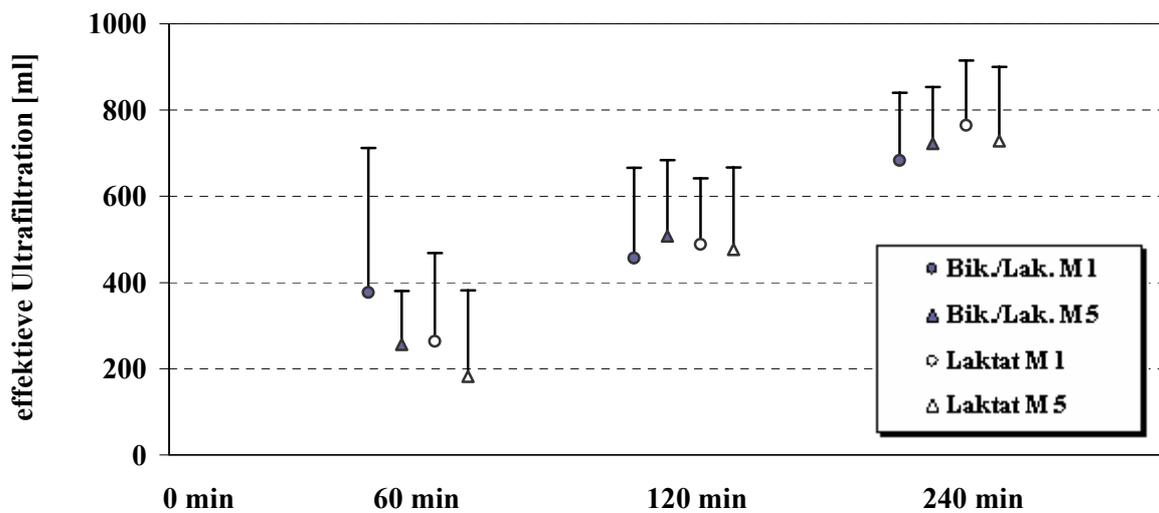


Abbildung 32: Darstellung der effektiven Ultrafiltration während des 4stündigen PET (Mittelwert \pm Standardabweichung).

3.2.2 Aquaporin vermittelter freier Wassertransport (FWT)

Es konnten deutliche gruppenübergreifende Transportdifferenzen festgestellt werden. Bereits 4 Wochen nach Beginn der Therapie mit dem entsprechenden Dialysat wiesen die Bik./Lak. behandelten Patienten eine im Vergleich zur Kontrollgruppe reduzierte Transportmenge innerhalb der ersten 60 Minuten auf (**B/L-M1_{60min}**: 131 ± 52 ml *versus* **L-M1_{60min}**: 168 ± 49 ml / $p = 0,05$). Nach 5 Monaten Therapie war dieser Unterschied hochsignifikant (**B/L-M5_{60min}**: 120 ± 41 ml *versus* **L-M5_{60min}**: 176 ± 52 ml / $p = 0,004$) und auch nach 120 Minuten intraperitonealer Verweilzeit nachweisbar (**B/L-M5_{120min}**: 185 ± 66 ml *versus* **L-M5_{120min}**: 242 ± 81 ml / $p = 0,021$) (siehe Abbildung 33).

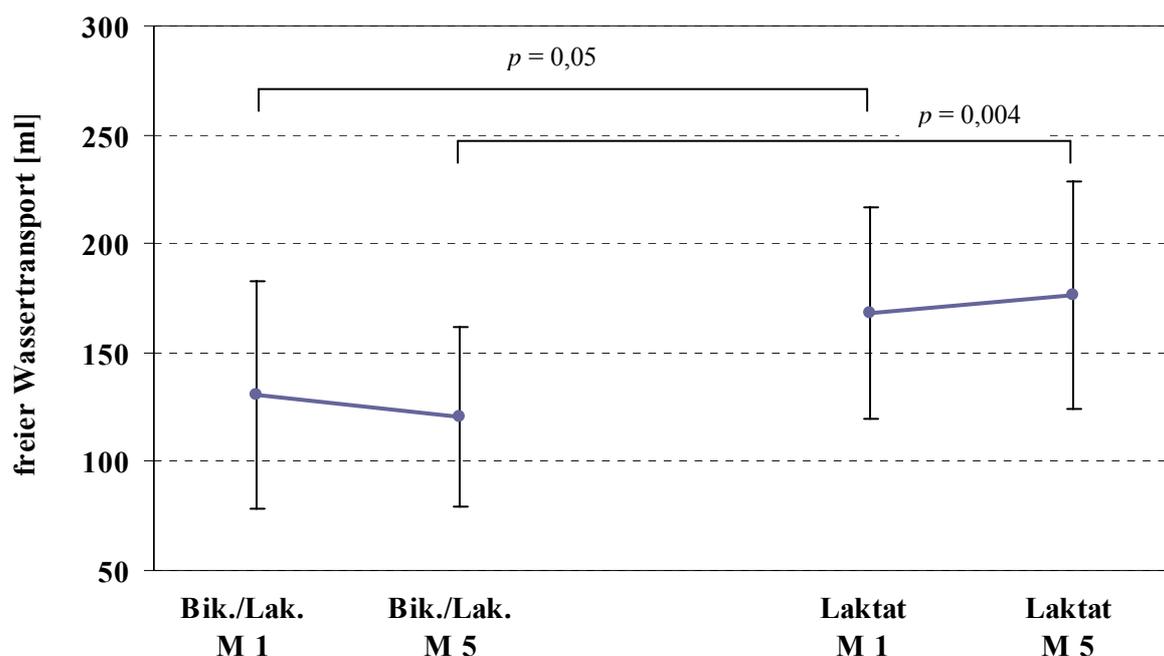


Abbildung 33: Darstellung des Aquaporin vermittelten freien Wassertransportes nach 60 Minuten intraperitonealer Verweilzeit (Mittelwert \pm Standardabweichung).

3.2.3 Lymphatische Absorption (LA)

Die effektive lymphatische Absorptionsrate (ELAR), grafisch dargestellt in Abbildung 34, war nicht konstant. Es zeigte sich ein von Puffersubstanz und Therapiedauer unabhängiger Rückgang der ELAR binnen der 4stündigen Verweilzeit der PET-Testlösung. Der Vergleich von Beginn und Ende des Behandlungsintervalls zeigte in beiden Gruppen einen tendenziellen Anstieg der ELAR an. Signifikante Werte wurden nicht erreicht. Keine Unterschiede ließen sich im Gruppenvergleich ermitteln.

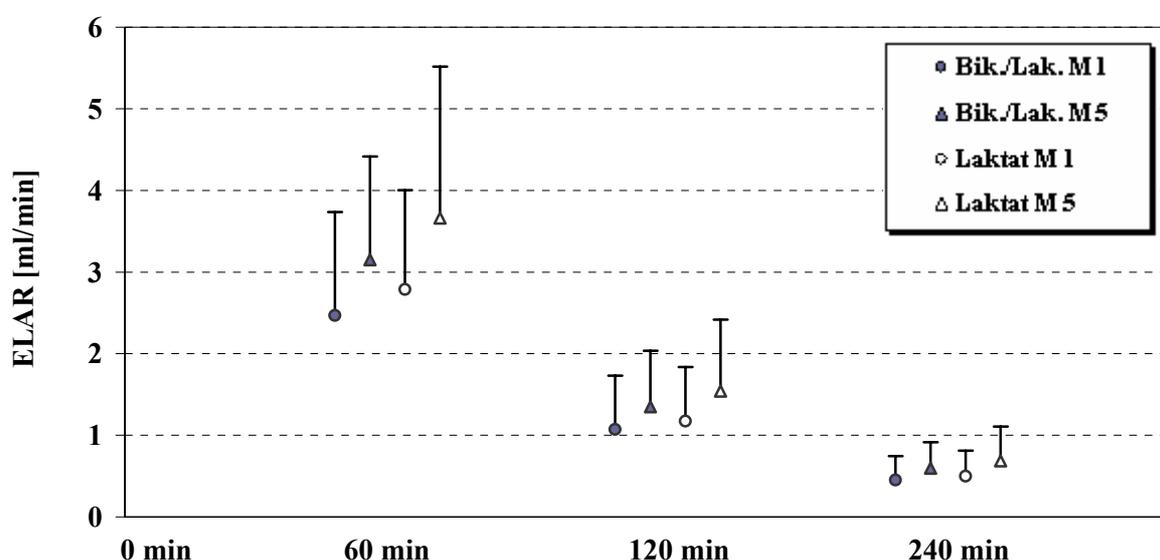


Abbildung 34: Darstellung der effektiven lymphatischen Absorptionsrate während des 4stündigen PET-Test (Mittelwert \pm Standardabweichung).

3.2.4 Residualvolumen (RV)

Das Residualvolumen nach Auslauf des PET-Testbeutels betrug durchschnittlich 244 ± 96 ml ($n = 48$). Beide Gruppen wiesen nach 1 und 5 Monaten keine signifikanten Unterschiede auf (**B/L-M1**: 190 ± 81 ml *versus* **L-M1**: 209 ± 86 ml; **B/L-M5**: 234 ± 87 ml *versus* **L-M5**: 264 ± 121 ml).

3.3 Flüssigkeitshaushalt und Ultrafiltrationsprofil

3.3.1 Restdiurese

Die renale Restausscheidung war in beiden Gruppen im Behandlungszeitraum tendenziell rückläufig. Signifikante Differenzen zwischen den Gruppen ergaben sich nicht. Die Abbildung 35 zeigt die Mittelwerte der einzelnen Gruppen und deren Standardabweichung.

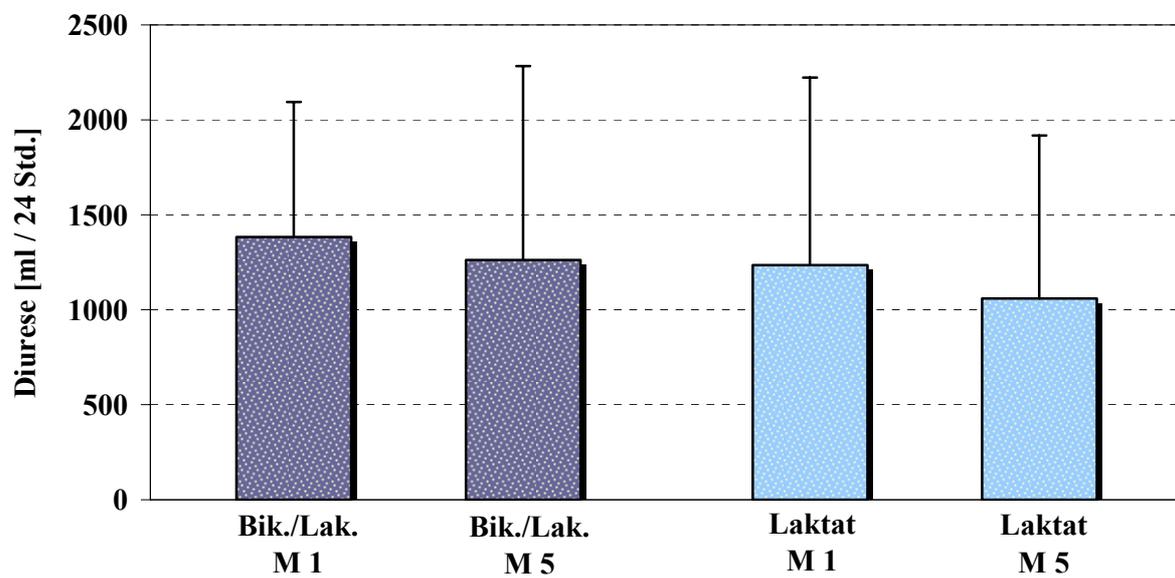


Abbildung 35: Darstellung der Restdiurese über 24 Stunden (Mittelwert \pm Standardabweichung).

3.3.2 Glucosebelastung

Die binnen 24 Stunden vom Patienten zugeführte Glucosemenge wurde anhand der Cyclerprotokolle erhoben. In der Abbildung 36 ist eine geringfügig höhere Glucosebelastung in der Laktat Kontrollgruppe zu erkennen. Die Differenz zur Bik./Lak. Gruppe ist jedoch bei weitem nicht signifikant. Demnach ist der Glucosebedarf in beiden Gruppen als identisch zu werten.

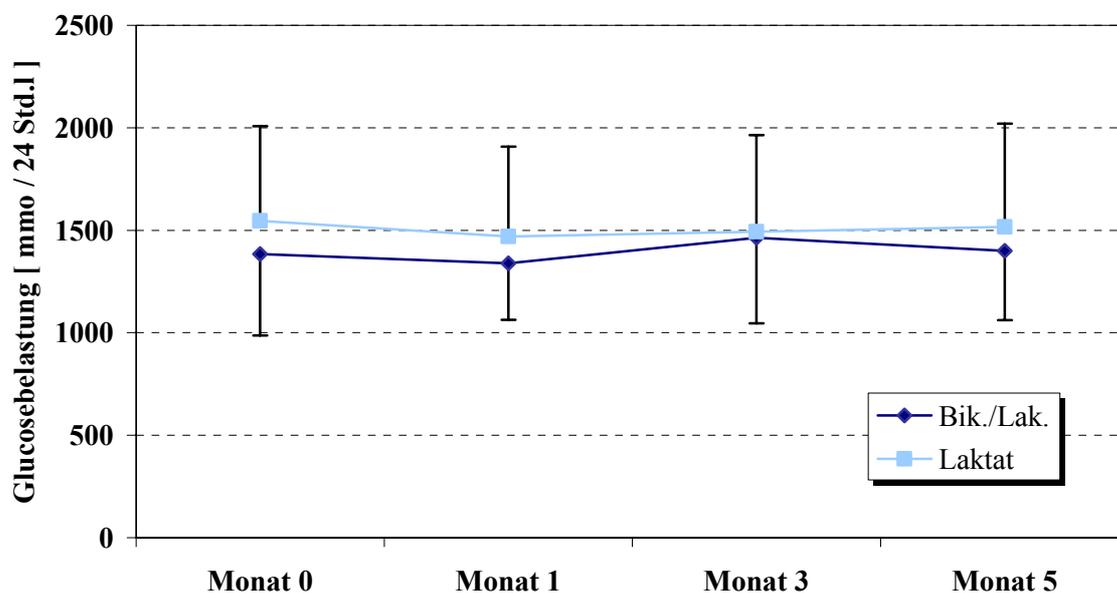


Abbildung 36: Darstellung der Glucosebelastung über 24 Stunden (Mittelwert \pm Standardabweichung; n = 11).

3.3.3 24 Stunden Ultrafiltration

Unmittelbar zu Beginn der Therapie (innerhalb der ersten Woche) bestand in der Bik./Lak. Gruppe eine im Vergleich zur Kontrollgruppe deutlich reduzierte Ultrafiltrationsleistung über 24 Stunden (**B/L-M0**: 152 ± 650 ml *versus* **L-M0**: 716 ± 775 ml / $p = 0,036$). Nach bereits 4 Wochen Therapie war dieser Unterschied nicht mehr nachweisbar (**B/L-M1**: 335 ± 639 ml *versus* **L-M1**: 527 ± 759 ml). Während der leicht konkave Kurvenverlauf der Laktat Gruppe keine statistisch signifikanten Änderungen aufweist, zeigt die Kurve der Bik./Lak. behandelten Patienten einen stetigen Aufwärtstrend (**B/L-M0**: 152 ± 650 ml *versus* **B/L-M5**: 786 ± 927 ml / $p = 0,017$). Nach 3monatiger Therapie wiesen beide Gruppen eine nahezu identische UF-Leistung auf (siehe Abbildung 37).

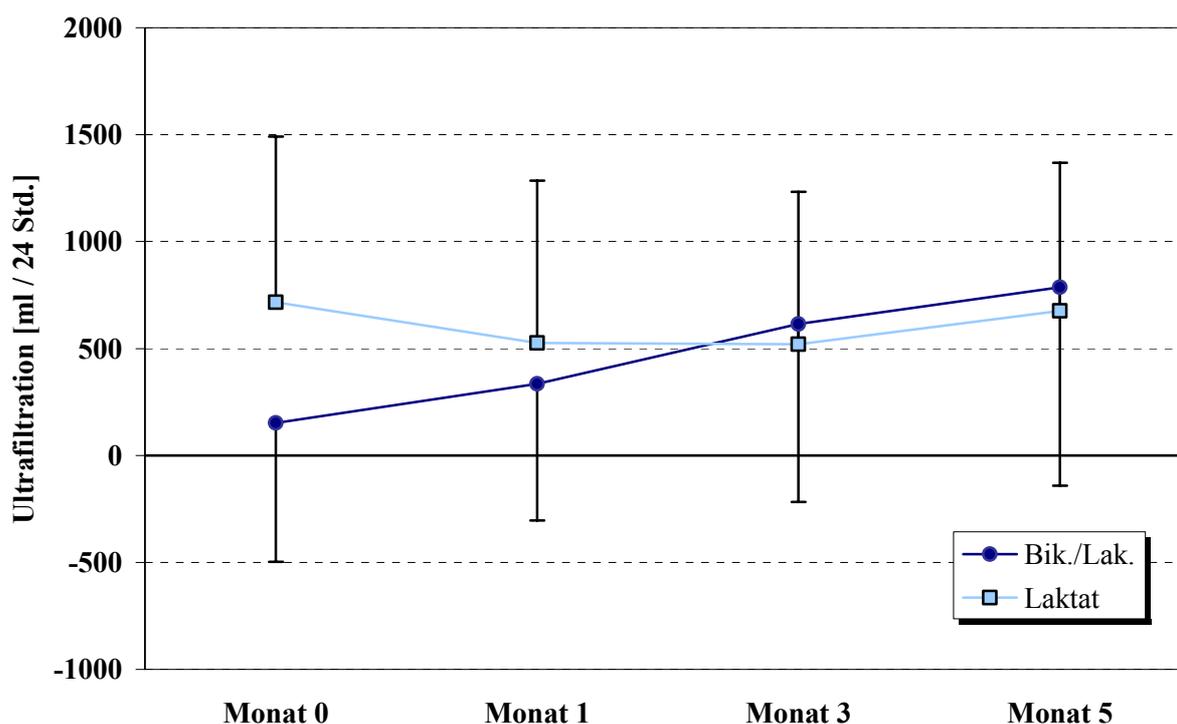


Abbildung 37: Darstellung der Ultrafiltration über 24 Stunden (Mittelwert \pm Standardabweichung; $n = 11$)

(**B/L-M0** *versus* **L-M0**: $p = 0,036$; **B/L-M0** *versus* **B/L-M5**: $p = 0,017$).

3.3.4 Ultrafiltration am Cycler

Ein Vergleich der Abbildung 37 und Abbildung 38 zeigt einen ähnlichen Verlauf der UF-Kurven der 24 Stunden-UF und derer über Nacht am Cycler. So war auch während der nächtlichen Cyclertherapie die reduzierte Ultrafiltrationsleistung der Bik./Lak. Gruppe zu Beginn der Therapie nachzuweisen. (**B/L-M0**: 521 ± 383 ml *versus* **L-M0**: 972 ± 554 ml / $p = 0,007$). Die Differenz nach 4wöchiger Therapie war bereits nicht mehr signifikant ($p = 0,14$), und nach 3 Monaten wiesen beide Gruppen identische Ultrafiltrationsvolumina auf. In der Bik./Lak. Gruppe war im Therapieintervall ein signifikanter UF-Anstieg zu verzeichnen (**B/L-M0**: 521 ± 383 ml *versus* **B/L-M5**: 968 ± 649 ml / $p = 0,011$).

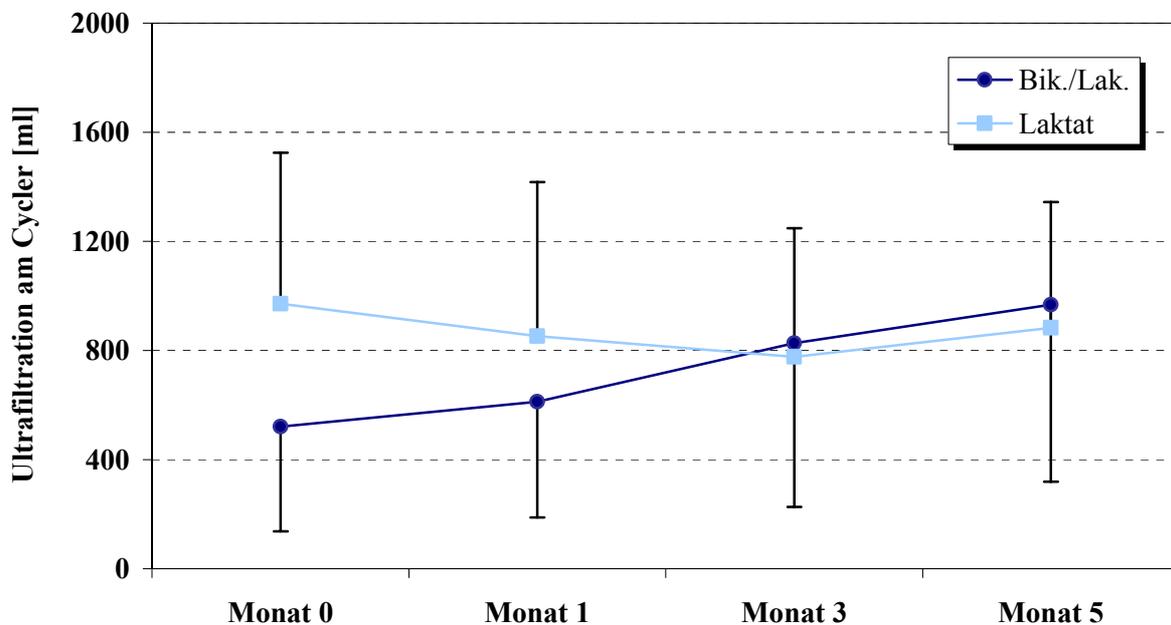


Abbildung 38: Darstellung der Ultrafiltration am Cycler (Mittelwert \pm Standardabweichung; $n = 11$)

3.4 Säure-Base Haushalt

3.4.1 Blutgasanalyse

Die Tabelle 7 zeigt die Messdaten der venös gewonnenen Blutgasanalyse. Signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen ergaben sich nicht.

Tabelle 7: Ergebnisse der Blutgasanalyse (Mittelwerte \pm Standardabweichung)

	Bik./Lak.	Bik./Lak.	Laktat	Laktat
	M 1	M 5	M 1	M 5
pH	7,39 \pm 0,04	7,38 \pm 0,03	7,39 \pm 0,03	7,38 \pm 0,03
p CO ₂ [mmHg]	49,33 \pm 5,63	51,10 \pm 5,85	48,15 \pm 5,00	48,99 \pm 3,72
HCO ₃ ⁻ [mmol/l]	29,08 \pm 2,83	30,05 \pm 2,73	28,12 \pm 2,06	28,21 \pm 3,02
SBC [mmol/l]	26,53 \pm 2,19	27,08 \pm 2,18	25,61 \pm 1,43	25,83 \pm 2,58
SBE [mmol/l]	4,34 \pm 2,72	5,24 \pm 2,61	3,44 \pm 1,94	3,69 \pm 2,95

3.5 Dialyseeffektivität

Die Dialyseeffektivität wurde anhand der wöchentlichen Kreatinin-clearance ($C_{W_{\text{Krea.}}}$), des Kt/V und der "normalized protein catabolic rate" (nPCR) ermittelt (siehe Abbildung 39, Abbildung 40 und Abbildung 41). Auffällige Unterschiede beider Behandlungsgruppen waren nicht zu eruieren. Über den angegebenen Zeitraum war mit beiden Dialysaten und unter identischem Therapieregime eine gleichwertige Dialyseeffektivität zu erreichen.

Die wöchentliche Kreatinin-clearance war in beiden Gruppen in gleichem Maße tendenziell rückläufig (n.s.). Die auf das Verteilungsvolumen bezogene Harnstoffelimination (Kt/V) blieb im Therapieintervall sowohl in der Bik./Lak. als auch in der Laktat Gruppe konstant über 3,0 (DOQI-Richtwert: $\geq 2,1$). Der Vergleich der "normalized protein catabolic rate" (nPCR) zeigte keine signifikanten Unterschiede im Gruppenvergleich und im zeitlichen Verlauf.

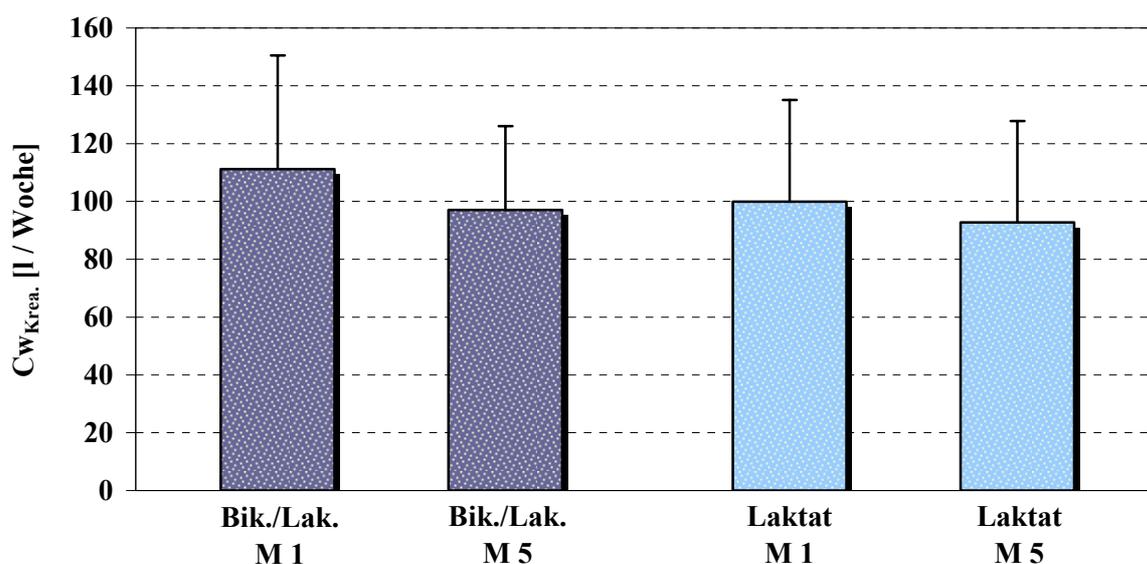


Abbildung 39: Darstellung der wöchentlichen Kreatinin-clearance (renal und peritoneal) (Mittelwert \pm Standardabweichung).

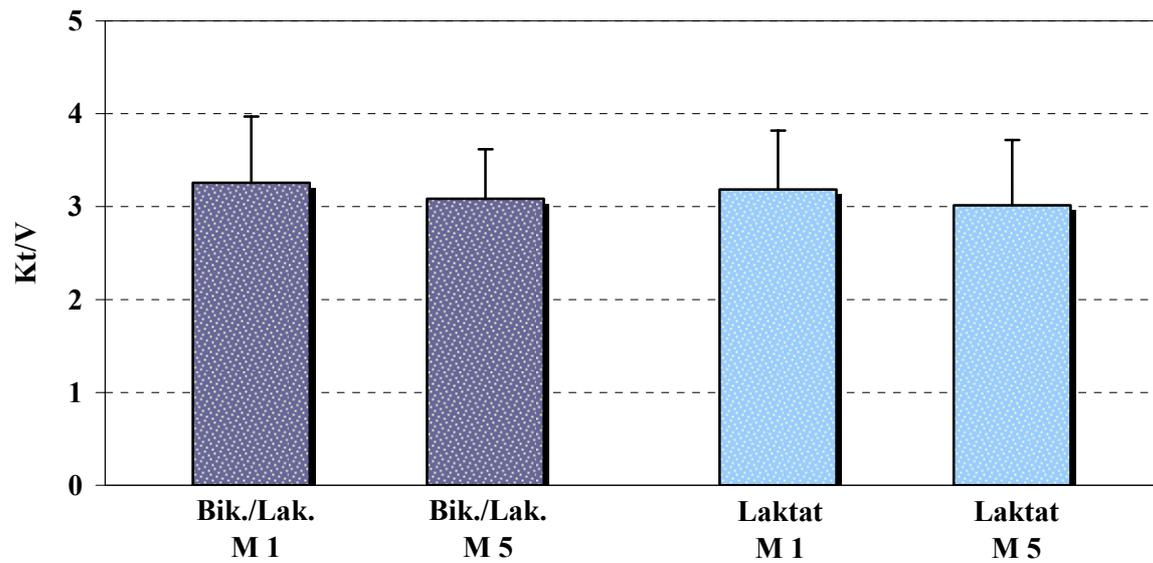


Abbildung 40: Darstellung des Kt/V (Mittelwert \pm Standardabweichung).

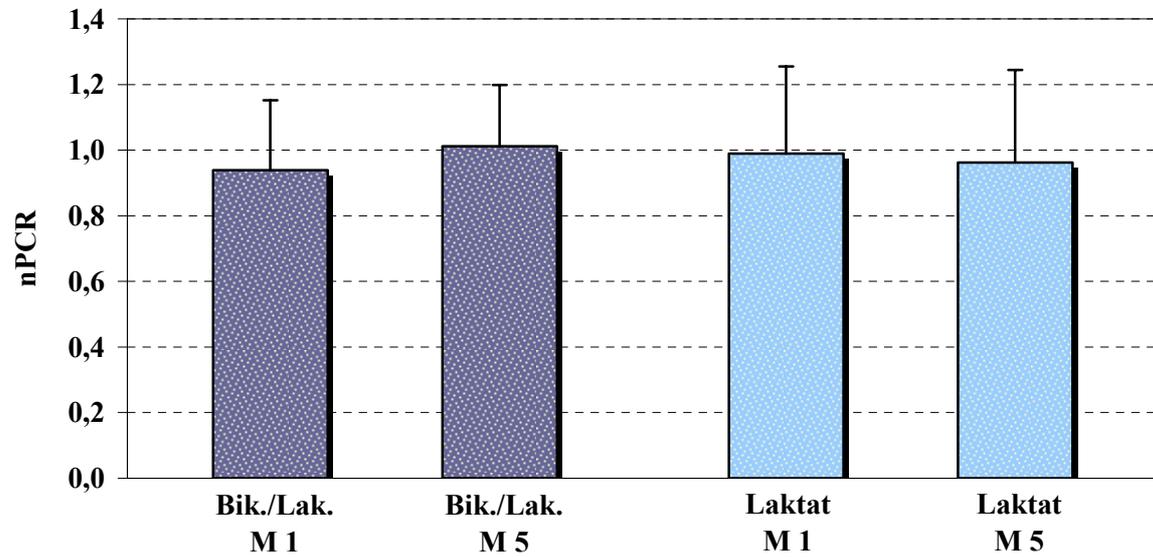


Abbildung 41: Darstellung der "normalized protein catabolic rate" (Mittelwert \pm Standardabweichung).

3.6 Biokompatibilität und peritoneale Immunabwehr

3.6.1 pH Bestimmung im Dialysat

Mit der pH-Elektrode wurden die Dialysatproben des PET nach 12stündiger Equilibration bei 37 °C und 5 % CO₂ untersucht. Auf den 240 min Wert wurde unter Annahme der bis dahin vollständigen intraperitonealen Equilibration auch des Laktat gepufferten Dialysates verzichtet. Wiedergegeben sind die Mittelwerte der Messungen zu Beginn und am Ende des 5monatigen Behandlungsintervalls für die Gruppen Bik./Lak. (n = 12) und Laktat (n = 12). Dabei zeigte sich für das Laktat gepufferte Dialysat in den ersten 60 Minuten der intraperitonealen Verweilzeit eine Anhebung des Ausgangs-pH von 5,1 auf ein nahezu physiologisches Niveau mit einem pH von 7,34 ± 0,17. Nach 120 Minuten lag der pH nahezu unverändert bei 7,38 ± 0,19. Das Bikarbonat/Laktat gepufferte Dialysat stieg binnen einer Stunde von seinem Ausgangswert (pH = 7,60) auf 7,87 ± 0,19 an ($p < 0,01$). Innerhalb der weiteren Stunde tendierte der pH wieder gegen den Ausgangswert und wurde mit 7,78 ± 0,36 bestimmt. Die pH Werte des Bik./Lak. und Laktat gepufferten Dialysates waren zu allen gemessenen Zeitpunkten mit $p < 0,01$ hoch signifikant.

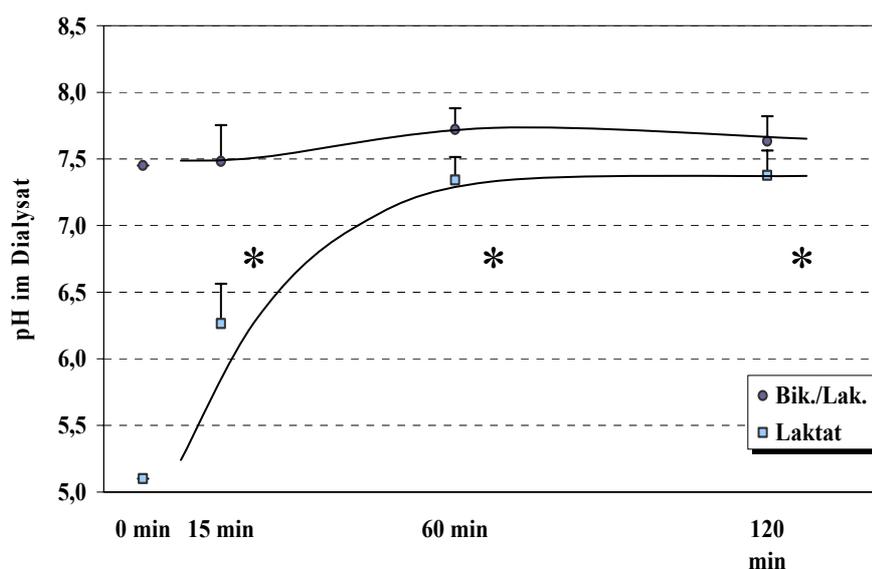


Abbildung 42: Darstellung der pH-Equilibration im Dialysat des PET-Testbeutels in den ersten 2 Stunden (Mittelwert ± Standardabweichung) * = $p < 0,01$.

3.6.2 Isolation der peritonealen Makrophagen

Mit der in Kapitel 2.10.2 beschriebenen Methode konnten nach Auszählung mit der Neubauer-Zählkammer durchschnittlich $9,66 \pm 7,61$ ($n = 48$) Millionen Zellen aus einem Auslaufbeutel isoliert werden. Wurde die für alle Versuche benötigte Mindestmenge von 3,5 Millionen Zellen nicht erreicht, wurde der Patient einige Tage später erneut einbestellt und eine weitere Isolation vorgenommen. Die Abbildung 43 zeigt die Zellverteilung in den einzelnen Gruppen. Die größte Differenz zeigte sich zwischen den Gruppen Bik./Lak. und Laktat zu Beginn der Applikationsphase (**B/L-M1**: $12,35 \pm 9,98$ Mill. Zellen *versus* **L-M1**: $7,39 \pm 5,53$ Mill. Zellen / $p = 0,102$). Nach 5 Monaten hatten sich die Werte nicht deutlich verändert (**B/L-M5**: $11,00 \pm 9,89$ Mill. Zellen *versus* **L-M5**: $7,90 \pm 6,23$ Mill. Zellen / $p = 0,211$). Die Mittelwerte aus M 1 und M 5 beider Gruppen Bik./Lak. erreichten statistisch signifikante Werte (**B/L-M1,5**: $11,67 \pm 9,74$ Mill. Zellen *versus* **L-M1,5**: $7,65 \pm 5,54$ Mill. Zellen / $p = 0,041$).

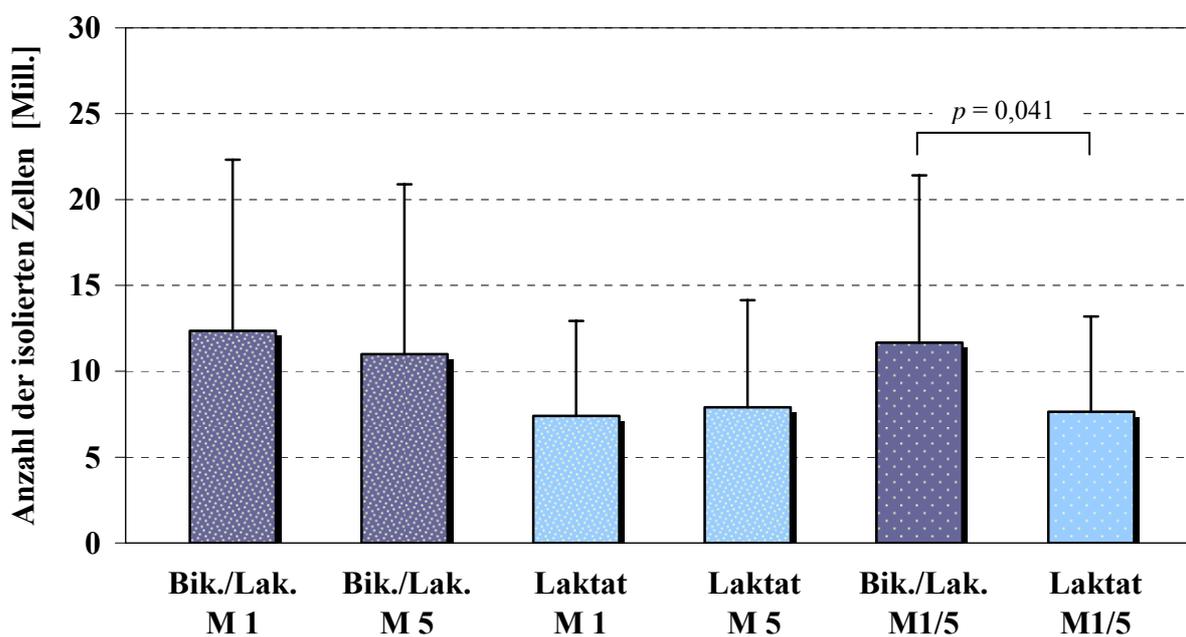


Abbildung 43: Anzahl der aus den gebrauchten Dialysaten mit 6stündiger intraperitonealer Verweilzeit isolierten Zellen. Angegeben sind die Mittelwerte \pm Standardabweichung der Gruppen Bik./Lak. und Laktat nach 1 und 5 Monaten Therapiezeit und deren Durchschnittswert über diesen Zeitraum.

Die anhand des Trypan-Blau-Test ermittelte Zellvitalität betrug $96,7 \pm 2,3$ % ($n = 48$). Unterschiede zwischen den Gruppen gab es nicht.

3.6.3 Phagozytose-Assay

Zu Beginn der Applikationsphase (Monat 1) wiesen die PM Φ beider Gruppen eine ähnliche Phagozytoseaktivität (**B/L-M1**: 14 ± 9 % versus **L-M1**: 17 ± 11 %) auf. Im zeitlichen Verlauf blieb diese in der Laktat Gruppe annähernd konstant (**L-M5**: 15 ± 7 %). Der Anteil der phagozytierenden PM Φ stieg in der Bik./Lak. Gruppe binnen 5 Monaten von 14 ± 9 % auf 25 ± 10 % an ($p = 0,001$). Im Vergleich zur Laktat Gruppe ergab sich daraus eine erhöhte Phagozytoseaktivität (**B/L-M5**: 25 ± 10 % versus **L-M5**: 15 ± 7 % / $p = 0,013$) (siehe Abbildung 44).

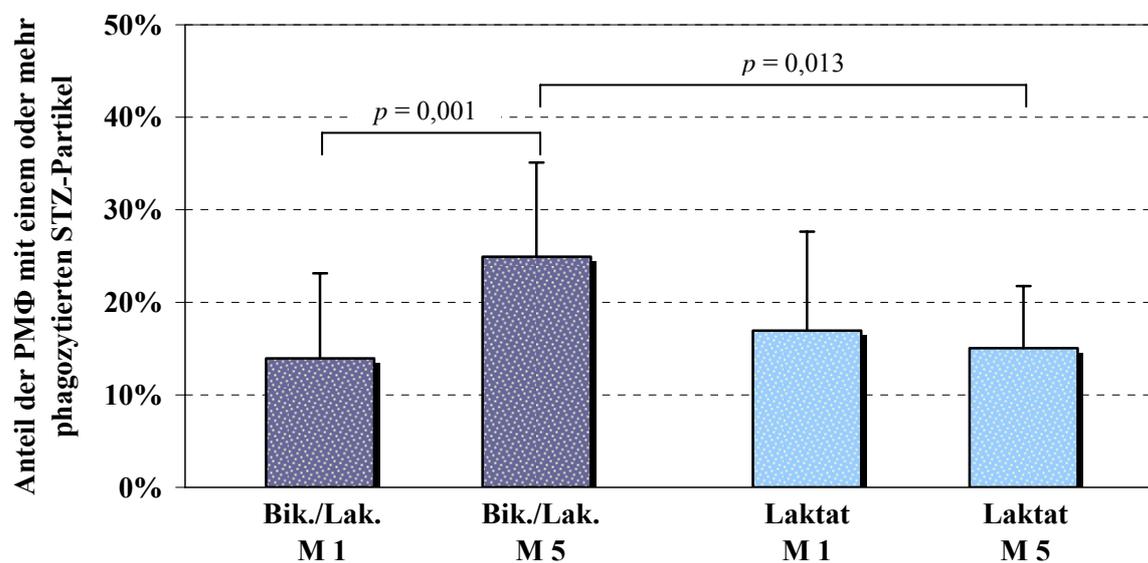


Abbildung 44: Dargestellt ist der prozentuale Anteil von 2 mal 200 lichtmikroskopisch ausgezählten PM Φ , die nach 30minütiger Inkubation mit STZ ein oder mehrere Partikel phagozytiert haben (Mittelwerte \pm Standardabweichung).

3.6.4 Chemolumineszens-Assay

Die anhand der Luminol induzierten Chemolumineszens gemessene Aktivität des respiratory burst war zwischen den Gruppen sowohl zu Beginn als auch am Ende des Applikationszeitraums praktisch identisch (**B/L-M1**: 189 ± 126 versus **L-M1**: 171 ± 102 ; **B/L-M5**: 158 ± 102 versus **L-M5**: 131 ± 89). Zeitliche Veränderungen innerhalb des 5monatigen Intervalls waren allenfalls tendenziell auszumachen (siehe Abbildung 45). Der zeitliche Vergleich aller Patienten ($n = 12$) ungeachtet der Gruppenzugehörigkeit, über den 10monatigen Zeitraum der ersten zur letzten Untersuchung zeigte eine tendenzielle, nicht signifikante Abnahme des respiratory burst (U1: 211 ± 125 versus U4: 135 ± 81 / $p = 0,086$).

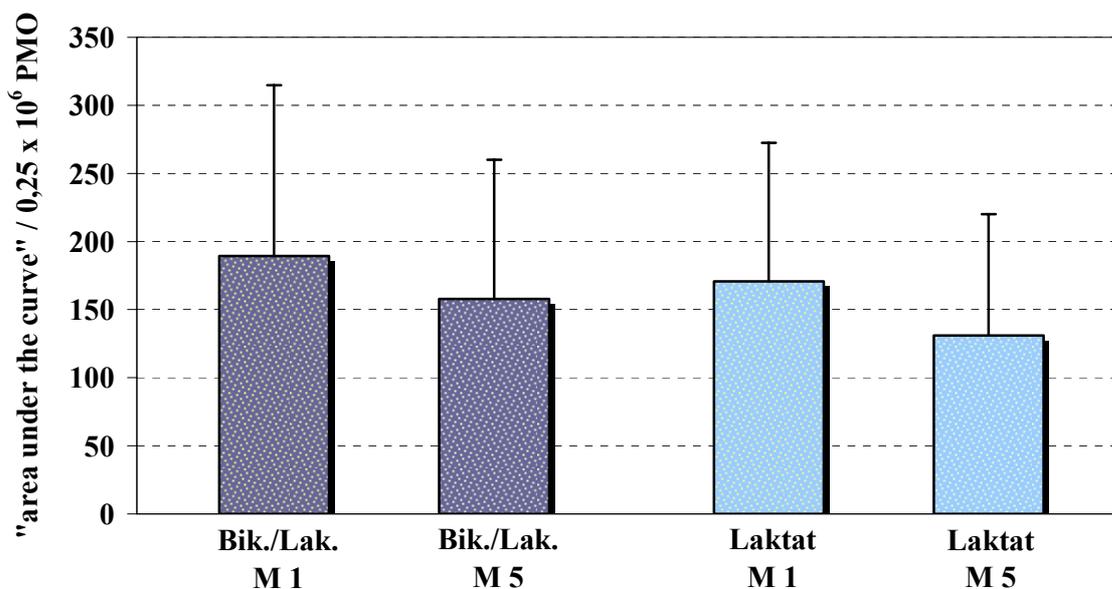


Abbildung 45: Darstellung des respiratory burst, ermittelt aus der Differenz der AUC von stimulierten und nicht stimulierten PM Φ (Mittelwert \pm Standardabweichung).

3.6.5 Vitalität der humanen Blutmonozyten

Die Vitalität der humanen Blutmonozyten nach 60minütiger Inkubation mit Dialysaten unterschiedlich langer intraperitonealer Verweilzeit ist in Abbildung 46 wiedergegeben. Als Referenz dienten Ansätze mit dem Zellkulturmedium RPMI 1640 (inkl. Zusätze), denen Dextran und Glucose zugesetzt worden ist. Deren Zellvitalität wurde als 100 % vital festgesetzt. Die Vitalität der mit Bik./Lak. und Laktat gepuffertem frischem Dialysat (0 min) inkubierten Zellen war gegenüber dem Kontrollmedium reduziert (**Bik./Lak. versus RPMI 1640** plus Dextran und Glucose: $47,8 \pm 6,1 \% / p < 0,01$; **Lak. versus RPMI 1640** plus Dextran und Glucose: $19,5 \pm 4,4 / p < 0,01$). Dabei zeigte sich eine um $59 \pm 4,8 \%$ reduzierte Zellvitalität der mit Laktat gepuffertem Dialysat behandelten Monozyten gegenüber den mit Bik./Lak.- Dialysat inkubierten Zellen ($p < 0,01$). Keine Vitalitätsunterschiede sowohl gegenüber dem Kontrollmedium als auch zwischen den Dialysaten selbst, zeigten die Zellen nach Inkubation mit equilibrierten Dialysaten ($t = 60$ Minuten und $t = 240$ Minuten).

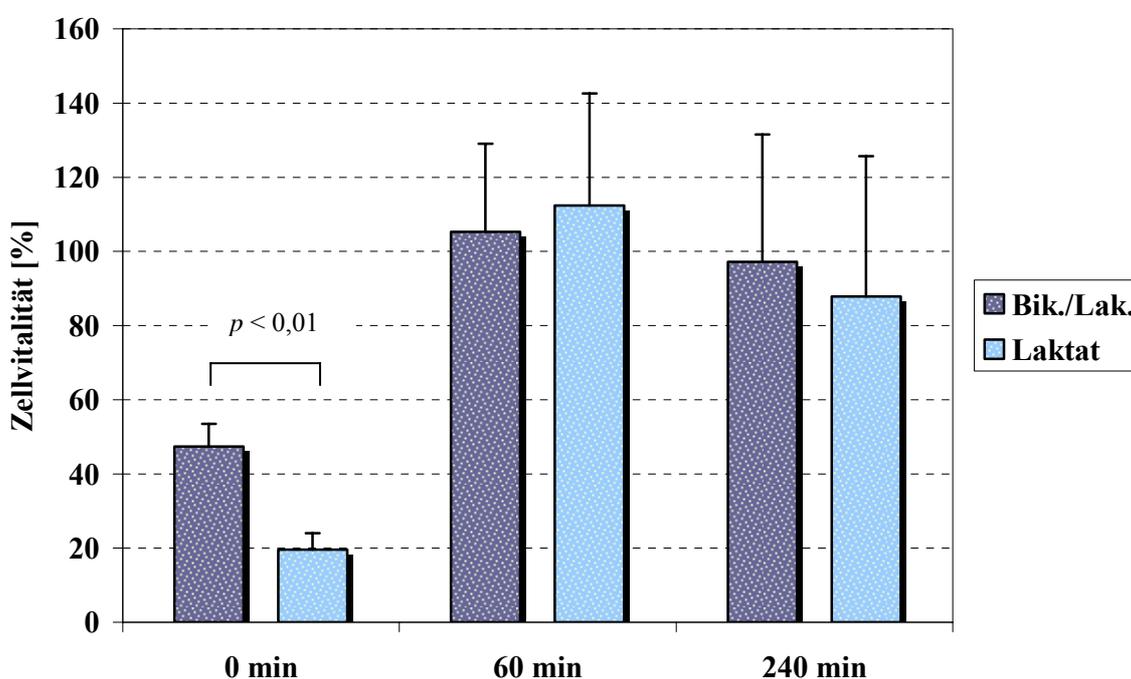


Abbildung 46: Zellvitalität der humanen Blutmonozyten nach 60minütiger Inkubation mit Dialysaten unterschiedlicher intraperitonealer Equilibrationszeiten (Mittelwert \pm Standardabweichung, $n = 12$).

3.6.6 LPS stimulierte Zytokinsekretion (IL-6) der humanen Blutmonozyten

Gegenüber dem Kontrollmedium waren alle mit Dialysat inkubierten Zellen in ihrer unstimulierten und stimulierten Sekretionsleistung supprimiert ($p < 0,01$). Die IL-6 Konzentrationen des mit frischem Laktat gepufferten Dialysat behandelten Zellen lagen unterhalb der Nachweisgrenze des ELISA. Die mit 60 Minuten intraperitoneal equilibriertem Bikarbonat/Laktat Dialysat inkubierten Zellen produzierten unstimuliert und stimuliert signifikant niedrigere IL-6 Mengen als die mit Laktat Dialysat derselben Equilibrationszeit inkubierten Zellen (**unstim.-B/L-60min**: 1717 ± 543 pg/ml *versus* **unstim.-L-60min**: 2029 ± 572 pg/ml / $p = 0,01$; **stim.-B/L-60min**: 4916 ± 1865 pg/ml *versus* **stim.-L-60min**: 5742 ± 1835 pg/ml / $p = 0,043$). Zudem war die basale IL-6 Konzentration im Überstand bei Inkubation mit 60 Minuten equilibriertem Bikarbonat/Laktat Dialysat geringer als bei Inkubation mit gleichem Dialysat nach 240 intraperitonealer Verweildauer (**unstim.-B/L-60min**: 1717 ± 543 pg/ml *versus* **unstim.-B/L-240min**: 2357 ± 675 pg/ml / $p < 0,01$).

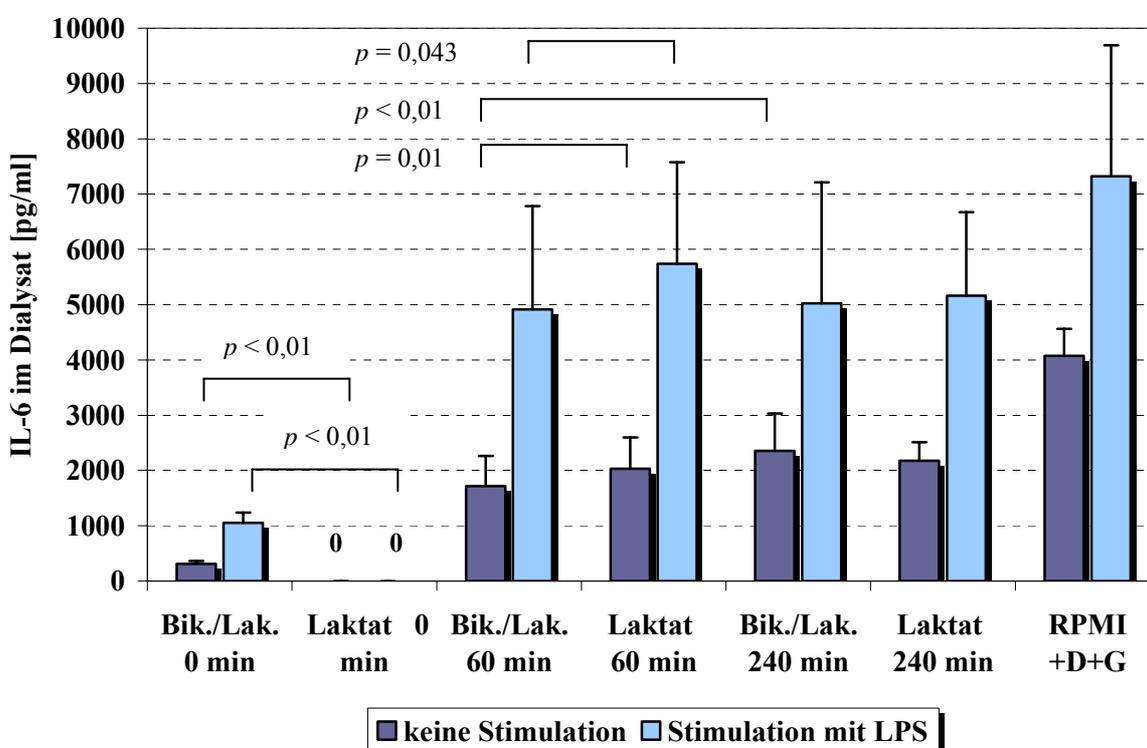


Abbildung 47: IL-6 Konzentration im Kulturüberstand nach 60minütiger Inkubation der Zellen mit Dialysaten und Medium und anschließender 18stündiger Groth Arrest Phase ohne und mit LPS Stimulation. (Mittelwert \pm Standardabweichung, $n = 12$, Dialysat 0 min und RPMI+ Dextran und Glucose $n = 4$)

3.6.7 Interleukin 6 im Dialysat

Die Konzentration des Inflammationsparameters Interleukin 6 (IL-6) wurde im Auslaufdialysat des "last bag" mit 6stündiger Verweilzeit ($n = 12$) und aus den Dialysatproben des PET nach 15, 120 und 240 Minuten bestimmt ($n = 11$).

Die Messwerte des PET sind in Abbildung 48 graphisch dargestellt. In der Laktat Gruppe waren zu den verschiedenen Abnahmezeiten durchweg höhere Werte zu messen als in der Bik./Lak. Gruppe. Diese Differenzen waren nach 5monatiger Therapiedauer signifikant (**B/L-M5_{15min}**: $0,33 \pm 0,41$ pg/ml versus **L-M5_{15min}**: $2,39 \pm 2,80$ pg/ml / $p = 0,041$; **B/L-M5_{120min}**: $3,65 \pm 2,26$ pg/ml versus **L-M5_{120min}**: $10,76 \pm 5,80$ pg/ml / $p = 0,002$; **B/L-M5_{240min}**: $11,52 \pm 7,83$ pg/ml versus **L-M5_{240min}**: $23,28 \pm 15,37$ pg/ml / $p = 0,032$). In der Bik./Lak. Gruppe waren die IL-6 Werte im Therapieverlauf tendenziell rückläufig. Für den Zeitpunkt $t = 240$ Minuten wurde dieser Unterschied signifikant **B/L-M1_{240min}**: $0,59 \pm 0,66$ pg/ml versus **B/L-M5_{240min}**: $0,33 \pm 0,41$ pg/ml / $p = 0,05$). In der Laktat Gruppe wurden binnen 5 Monaten tendenziell ansteigende Werte verzeichnet (n.s.).

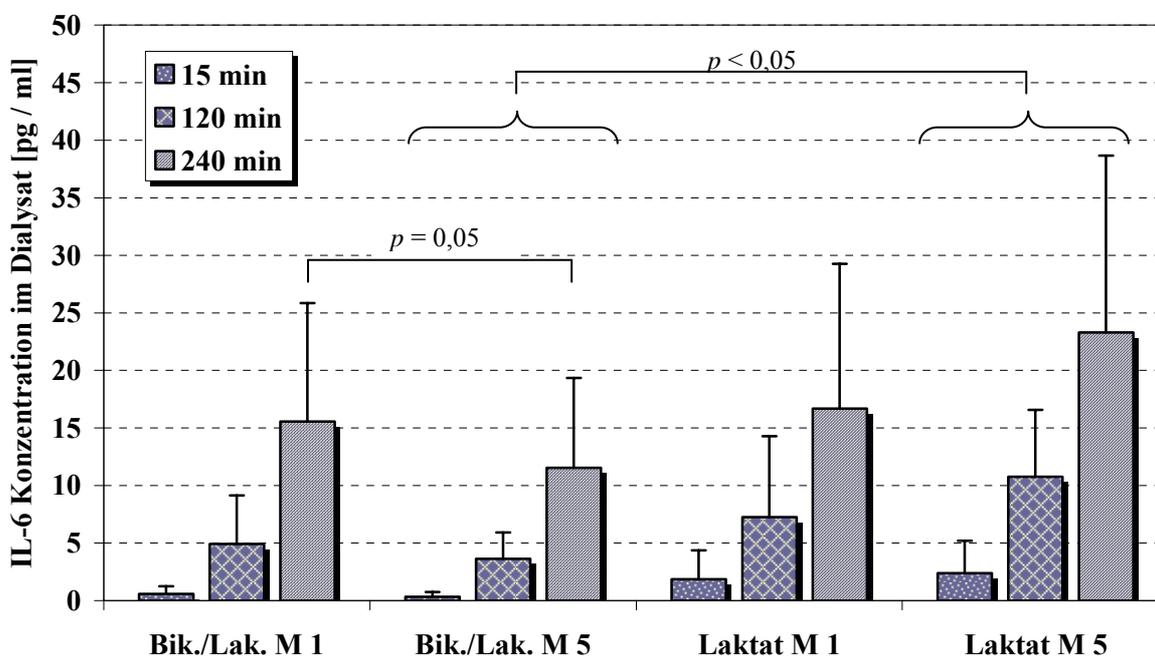


Abbildung 48: IL-6-Konzentration im Dialysat eines 3,86 % Glucosebeutels nach 15, 120 und 240 Minuten Verweilzeit (Mittelwert \pm Standardabweichung; $n = 11$).

Deutliche Unterschiede wiesen auch die IL-6 Konzentrationen im niedrigsmolaren “last bag“ auf. Bereits nach 4wöchiger Therapie waren in der Laktat Gruppe signifikant höhere Konzentrationen nachzuweisen (**B/L-M1**: $22,4 \pm 16,5$ pg/ml versus **L-M1**: $33,2 \pm 21,6$ pg/ml / $p = 0,04$). Während des Therapieintervalls erhöhte sich diese von $32,2 \pm 21,6$ auf $41,2 \pm 21,3$ ($p^* = 0,05$). Die Bik./Lak. Gruppe blieb indes stabil. Es wurde hier nach 5 Monaten eine nur etwa halb so große IL-6 Menge wie in der Laktat Gruppe gemessen (**B/L-M5**: $22,8 \pm 15,0$ pg/ml versus **L-M5**: $41,2 \pm 21,3$ pg/ml / $p = 0,017$). Die Verhältnisse sind in Abbildung 49 wiedergegeben.

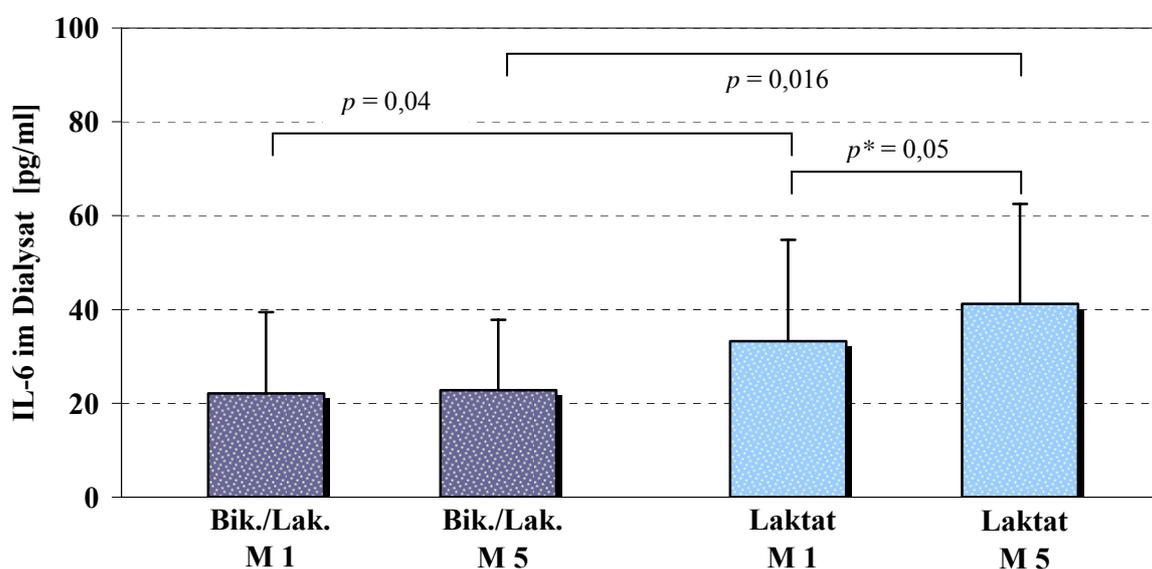


Abbildung 49: IL-6-Konzentration im Auslaufdialysat des 6 Stunden-Beutels (Mittelwert \pm Standardabweichung) * = Wilcoxon-Test.

3.6.8 Interleukin 6 im Serum

Wie aus Abbildung 50 ersichtlich wird, zeigte die IL-6 Konzentration im Serum eine hohe interindividuelle Variabilität. Signifikante Gruppenunterschiede waren nicht zu verzeichnen. Unter Verwendung des Wilcoxon-Tests wurde die Konzentrationsabnahme in der Bik./Lak. Gruppe hoch signifikant (**B/L-M1**: $41,8 \pm 72,0$ pg/ml versus **B/L-M5**: $30,0 \pm 56,2$ pg/ml / $p^* = 0,009$).

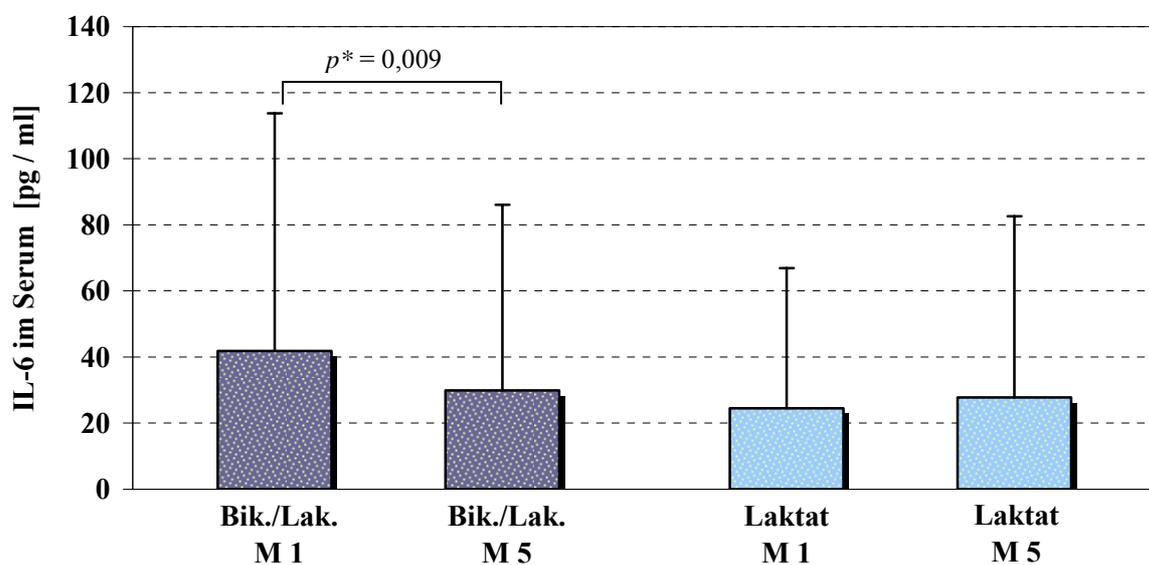


Abbildung 50: Darstellung der IL-6 –Konzentration im Serum (Mittelwert \pm Standardabweichung).

* = Wilcoxon-Test.

3.6.9 Tumorantigen CA 125 im Dialysat

Der Mesothelzellmarker CA 125 wurde im Auslaufdialysat des PET nach 4stündiger Verweilzeit gemessen. Signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen konnten nach einem und 5 Therapiemonaten gemessen werden (**B/L-M1**: $14,5 \pm 4,9$ U/ml versus **L-M1**: $10,8 \pm 3,8$ U/ml / $p < 0,05$), (**B/L-M5**: $13,3 \pm 5,0$ U/ml versus **L-M5**: $9,6 \pm 4,8$ U/ml / $p < 0,05$) (siehe Abbildung 51).

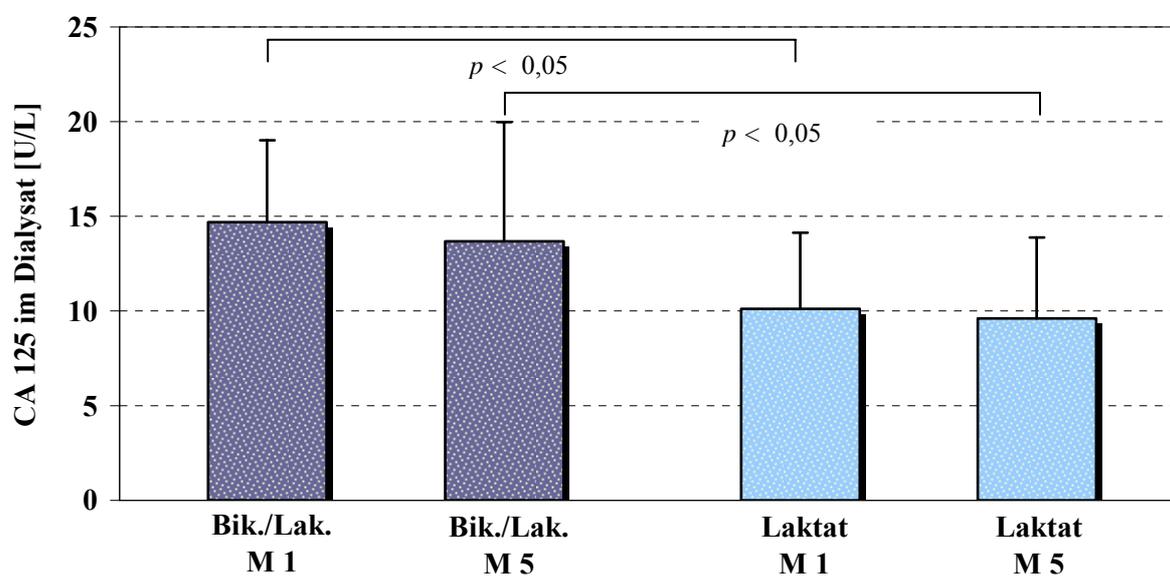


Abbildung 51: Darstellung der CA 125 Konzentration im Dialysat (Mittelwert \pm Standardabweichung).

3.6.10 Transforming growth factor- β 1 im Dialysat

Nahezu gleiche Konzentrationen an TGF1- β konnten im Dialysat der Patienten beider Behandlungsgruppen nachgewiesen werden. Die Werte zeigten auch im zeitlichen Vergleich keine Änderungen (siehe Abbildung 52).

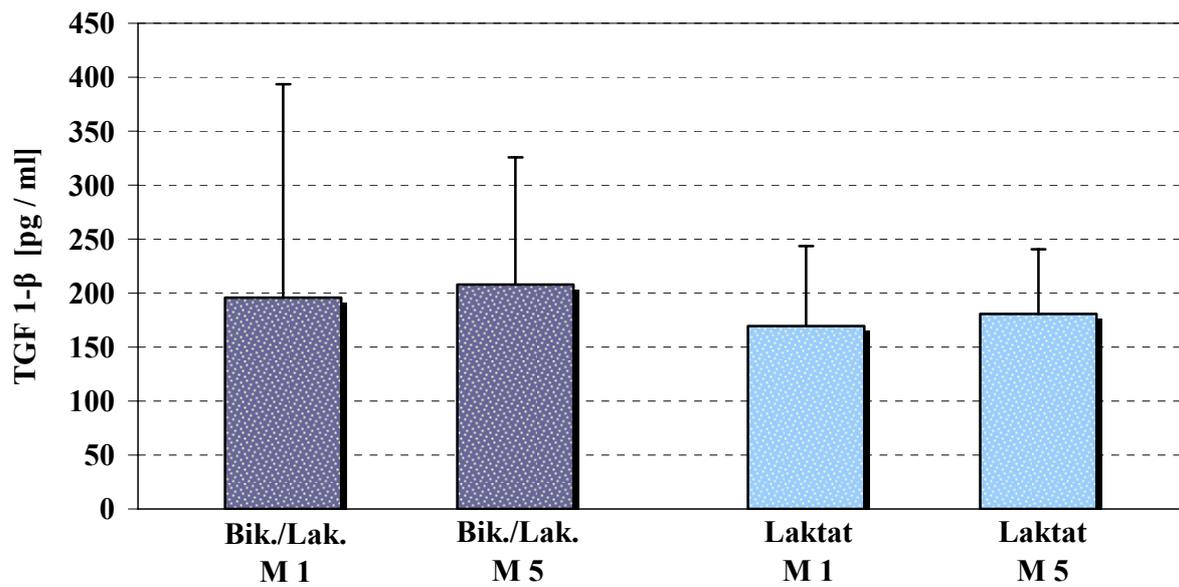


Abbildung 52: Darstellung der TGF- β 1 –Konzentration im Dialysat (Mittelwert \pm Standardabweichung).

3.6.11 Advanced glycosylated end-products (AGEs) im Dialysat

Nach 4wöchiger Therapie konnte kein Unterschied der AGEs Konzentration beider Gruppen gezeigt werden (siehe Abbildung 53). Nach 5 Monaten waren in der Bik./Lak. Gruppe tendenziell weniger AGEs vorhanden als zu Beginn der Therapie (**B/L-M1**: $1,79 \pm 0,19$ pg/ml *versus* **B/L-M5**: $1,68 \pm 0,12$ pg/ml / $p = \text{n.s.}$). Im Vergleich zur Kontrollgruppe Laktat, deren Werte konstant blieben, war die Konzentration zu diesem Zeitpunkt erniedrigt (**B/L-M5**: $1,68 \pm 0,12$ pg/ml *versus* **L-M5**: $1,80 \pm 0,10$ pg/ml / $p = 0,01$).

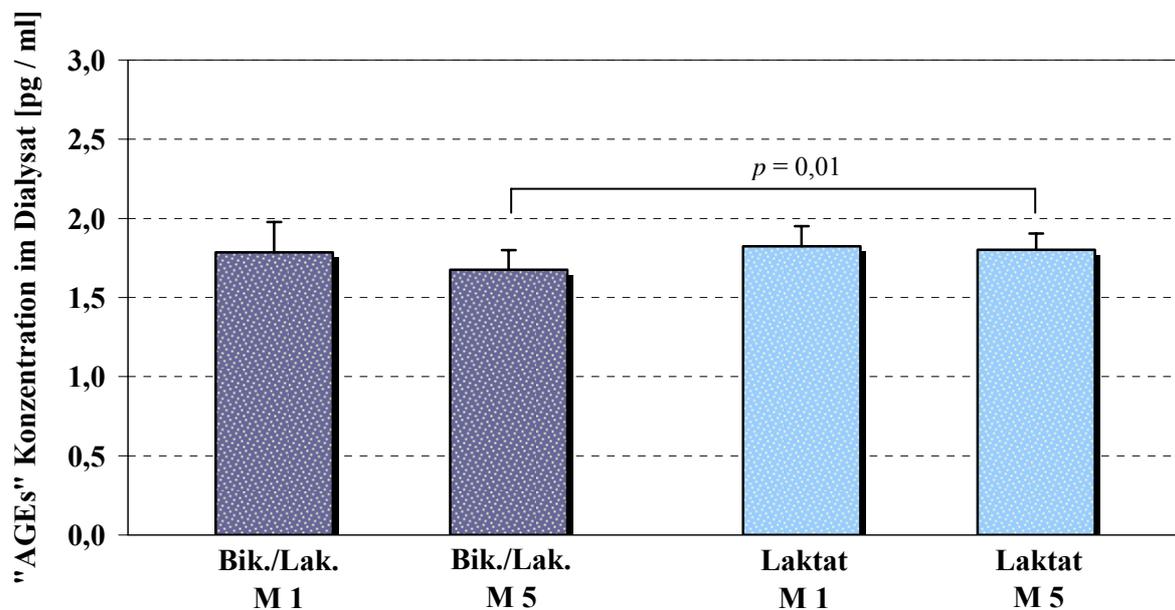


Abbildung 53: Darstellung der "AGEs" Konzentration im Dialysat (Mittelwert \pm Standardabweichung).

3.6.12 Aquaporin-1 im Dialysat

In der Laktat Gruppe zeigte sich im Therapieverlauf kein Unterschied der Aquaporin-1 Konzentration. Die Bik./Lak. Gruppe wies einen signifikanten Rückgang auf (**B/L-M1**: 3024 ± 1055 pmol/l versus **B/L-M5**: 2151 ± 1343 pmol/l / $p = 0,039$).

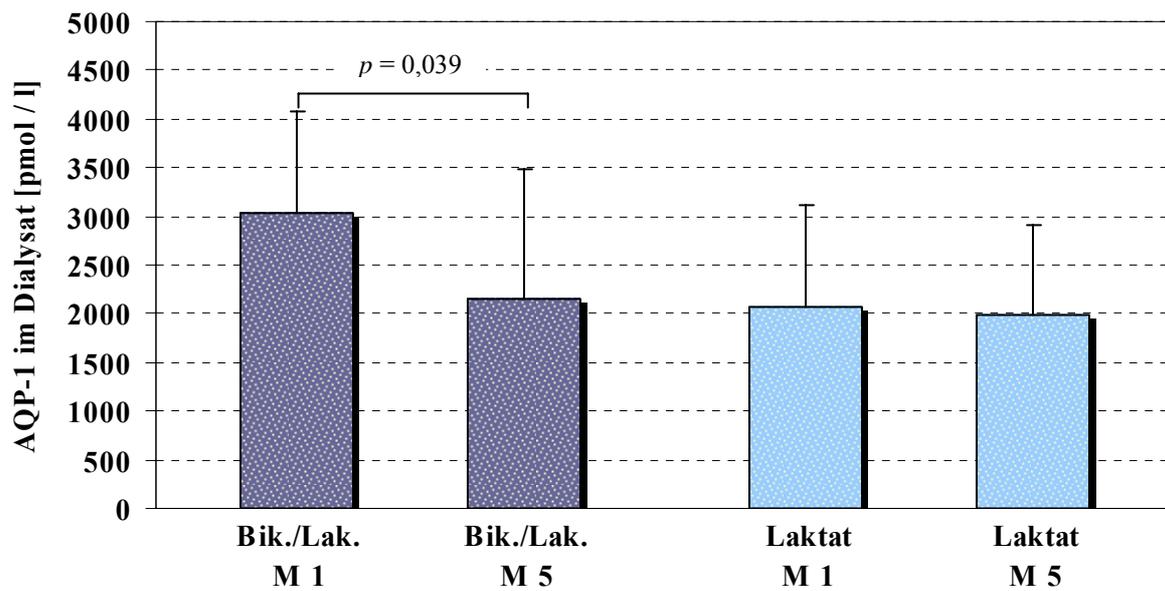


Abbildung 54: Darstellung der Aquaporin-1 Konzentration im Dialysat (Mittelwert \pm Standardabweichung).

3.6.13 C-reaktives Protein (CRP) im Dialysat

Die im Routinelabor ermittelten Werte lagen häufig unterhalb der Nachweisgrenze von 0,3 U/L. Aufgrund dessen wurde die Bestimmung des Mikro-CRP mittels ELISA durchgeführt. Deutlich wurde die hohe Varianz der Patientenwerte. Signifikante Unterschiede waren nicht zu ermitteln. Die Abbildung 55 zeigt die im ELISA ermittelten Werte des Mikro-CRP.

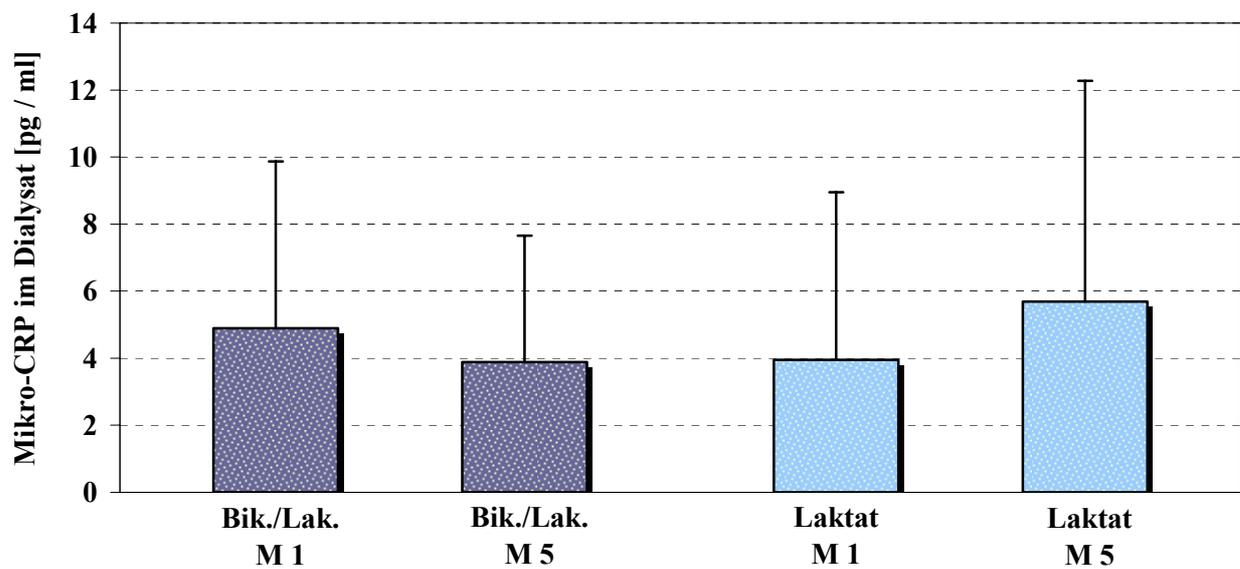


Abbildung 55: Darstellung der Mikro-CRP Konzentration im Dialysat (Mittelwert \pm Standardabweichung).

3.6.14 Einlaufschmerzen

Zur Darstellung der Schmerzintensität bei vorkommenden Einlaufschmerzen wurde die im Fragebogen verwendete Ordinalskala in Zahlenwerte übertragen. Als Basis diente die Gewichtung der Schmerzintensität vor Beginn der Studie. Die Patienten gaben an, unter Therapie mit der Bikarbonat/Laktat gepufferten Lösung weniger Schmerzen bei Einlauf des Dialysates zu empfinden (**Basis:** $1,25 \pm 1,53$ versus **B/L:** $0,46 \pm 0,93$ versus **L:** $1,67 \pm 1,70$; **B/L versus L** $p = 0,05$). Vier der 12 gewerteten Patienten gaben an, während der Behandlung mit beiden Dialysaten gänzlich schmerzfrei zu sein. Infolge stärkster Schmerzzustände nach Wechsel auf das Laktat gepufferte Dialysat brach eine Patientin die Studie vorzeitig ab. Diese Patientin hatte nur einige Tage nach Katheteranlage unter mäßig starken Schmerzen mit einer konventionellen Lösung dialysiert und wurde sodann in die Bikarbonat/Laktat-Gruppe randomisiert.

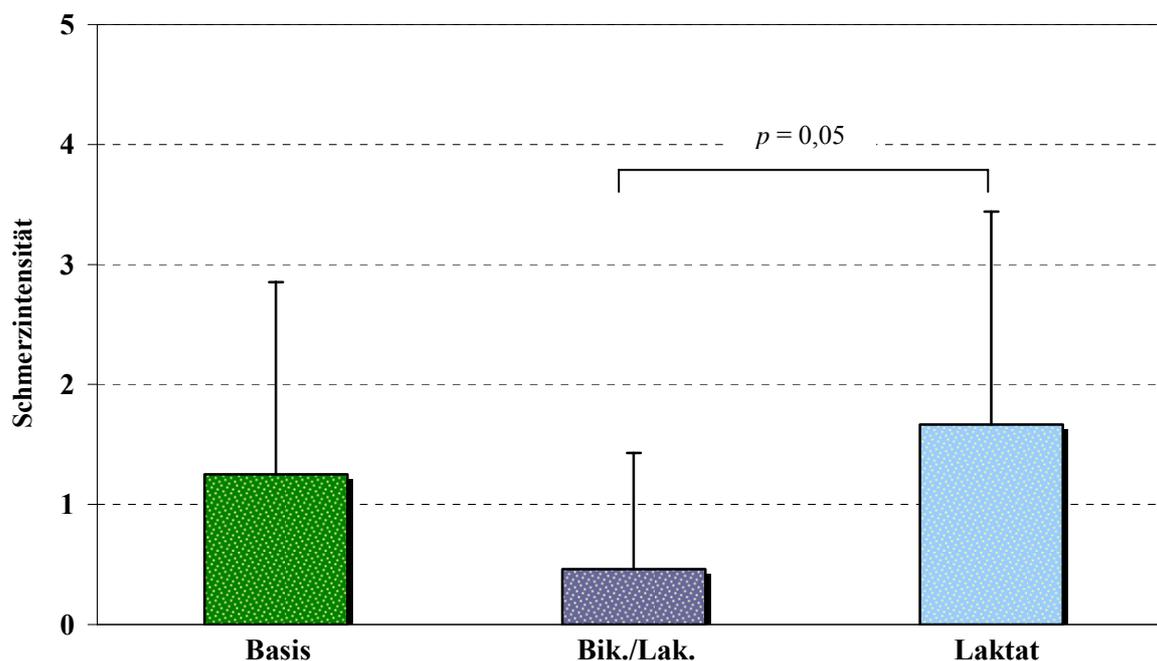


Abbildung 56: Darstellung der Schmerzintensität bei Dialysateinlauf (Mittelwert \pm Standardabweichung).

4 Diskussion

4.1 Methodische Aspekte

Bezogen auf den peritonealen Transport ist der wichtigste Unterschied zwischen CAPD und APD die unterschiedlich lange intraperitoneale Verweilzeit der Dialysatflüssigkeit. Da der initial saure pH einer 40 mmol Laktat gepufferten Lösung nach der Instillation binnen 30 bis 60 Minuten vollständig equilibriert (siehe Ergebnisteil Kapitel 3.6.1) [133], werden pH abhängige Alterationen nur in der Frühphase eines Zyklus manifest. Während unter CAPD diese Phase etwa 20 % der gesamten intraperitonealen Kontaktzeit entspricht, sind es bei der APD mit ihren kurzen Verweilzeiten nahezu 100 %. Betrachtet man die Instillation von frischem saurem Dialysat von physiologischer Seite, so erscheinen eine initiale Vasodilatation und eine chronische Hyperkapillarisation als logisch. Dies könnte zu einem Anstieg der peritonealen Oberfläche und der Permeabilität führen. Auswirkungen auf den peritonealen Stoff- und Flüssigkeitstransport wären dadurch denkbar. Bei Verwendung eines neutral gepufferten Dialysates müssten demgegenüber abweichende Transportcharakteristika, insbesondere in der Frühphase eines Zyklus, zu erheben sein. Klinische Relevanz erlangen derartige Unterschiede systembedingt sicherlich zuerst bei Patienten an der APD.

Die APD schien uns daher als Therapieregime nicht nur besonders geeignet zu sein den Einfluss einer neutralen Lösung auf die peritonealen Transporteigenschaften zu untersuchen, wir sehen insbesondere hier die Notwendigkeit, Erkenntnisse über die Transporteigenschaften des Peritoneums unter Einsatz von neutralen Lösungen zu sammeln. Bisher existieren keine Daten bezüglich des peritonealen Transports mit neutralen, Bikarbonat/Laktat gepufferten Dialysaten an der APD. Bisherige klinische Ergebnisse entstammen aus Untersuchungen an CAPD-Patienten.

Diese Arbeit stellt auch die erste systematische Langzeitanwendung einer neutralen Bikarbonat/Laktat gepufferten Dialyselösung an der APD dar.

Weiterhin sollten eventuelle Vorteile der neutral gepufferten Lösung in punkto Biokompatibilität und peritoneale Immunabwehr untersucht werden. Die in Zellkultur und Tierversuchen ermittelten Vorteile einer neutralen gegenüber einer sauren Lösung sollten

aufgrund der oben erläuterten Expositionscharakteristiken von CAPD und APD insbesondere hier entscheidend sein.

Das verwendete “Cross-over“ Studiendesign erlaubt sowohl die intra- als auch die interindividuelle Datenauswertung, zudem vermindert es den Reihenfolgeeffekt bei der Auswertung gepaarter Stichproben. Ein Applikationszeitraum von 6 Monaten bei einem Untersuchungsintervall von 5 Monaten erschien uns als ausreichend lang, um mittel- bis langfristige Änderungen bezüglich der Fragestellungen zu erfassen. Ein sich dieser Studie unmittelbar anschließendes “Follow-Up“ soll die Langzeitauswirkungen des Bik./Lak. Dialysates über einen Zeitraum von 2 Jahren intensiver beleuchten.

Bezüglich Studiendesign und Fragestellung sind bis dato keine vergleichbaren Arbeiten mit Bikarbonat/Laktat gepufferten Dialysaten veröffentlicht worden.

Zur Bestimmung der peritonealen Transporteigenschaften setzten wir einen Peritonealen Equilibrationstest (PET) ein. Dies ist eine weit verbreitete Methode die individuellen Eigenschaften des Peritoneums als Dialysemembran zu quantifizieren. Der Zusatz des Volumenindikators Dextran 70 ermöglicht die detaillierte Bestimmung des Flüssigkeitstransports [83]. Dextran 70 zeigt keine Auswirkungen auf den peritonealen Transport, Nebenwirkungen nach intraperitonealer Injektion sind nicht bekannt. Dennoch wurde den Patienten zur Prävention möglicher allergischer oder anaphylaktischer Reaktionen auf das Dextran, vor Instillation des Testbeutels 20 ml eines niedermolekulares Dextran 1 (Promit; Pharmed AB) intravenös appliziert [128]. Radioaktiv markierte Makromoleküle wie C¹⁴-Dextran oder Jod¹³¹ markiertes Albumin sind weitere nutzbare Volumenmarker, bergen jedoch den Nachteil der Strahlenbelastung und der aufwendigen Anwendung. Autologes Hämoglobin ist aufwendig und teuer in der Herstellung. Heute wird der PET, so wie auch hier, zumeist mit 3,86 %igem Glucose Dialysat durchgeführt. Anhand des so besser messbaren Natriumsiebeffektes kann der Aquaporin-1 vermittelte transzelluläre Wassertransport genauer bestimmt werden als mit niedriger Glucosekonzentration [80]. Die über einen Zeitraum von 4 Stunden in enger Abfolge asservierten Proben erlaubten die detaillierte Berechnung des peritonealen Transportes, auch in der für die APD wichtigen frühen Equilibrationsphase.

Auf Grundlage der CANUSA Studie wurden die “DOQI-Guidelines“, die Amerikanischen Richtlinien der adäquaten Dialyse entwickelt [1]. Sie waren in dieser Arbeit Einschluss- und Bewertungsmaßstab der Dialyseeffektivität.

Anhand verschiedener Kulturversuche und der Betrachtung geeigneter Markersubstanzen wurde die Biokompatibilität der eingesetzten Dialysate anhand der Vitalität und einiger Zellfunktionen von isolierten peritonealen Makrophagen und humanen Blutmonozyten bestimmt. Dies ist zulässig, da die Biokompatibilität der PD- Lösungen anhand der Integrität des peritonealen Abwehrmechanismus definiert wird (siehe Kapitel 1.5 und Kapitel 1.6). Topley fasste in seinem Artikel „What is the ideal technique for testing the biocompatibility of peritoneal dialysis solutions?“ die zur Biokompatibilitätstestung eingesetzten Verfahren zusammen [148]. Er unterscheidet *in vitro* Versuche, bei denen die zur Testung benötigten Zellen lediglich vom Patienten gewonnen werden und die Dialysatexposition und Stimulation in der Kultur erfolgt, von *in/ex vivo* Ansätzen. Bei dieser Art des Versuchsaufbaus dient die *in vivo* Exposition der Zellen mit dem Dialysat bereits der Abänderung der Zellfunktionen. Die sich anschließende *ex vivo* Stimulation dient der Quantifizierung der Zellfunktionen. Zellvitalität, Chemotaxis, „respiratory burst“, Phagozytoseaktivität, bakterizide Funktionen, Zytokinsekretion oder Integrinexpression sind von mononukleären Zellen und Makrophagen zu bestimmende Parameter. Zusätzlich können die Sekretionseigenschaften von peritonealen Mesothelzellen, Fibroblasten und Makrophagen als direkte *in vivo* Parameter herangezogen werden. Von vielen Seiten ist berechtigte Kritik an den zumeist statischen *in vitro* Test-Designs erhoben worden [8] [69] [148]. Herrscht der einheitliche Konsens, die kommerziellen Laktat gepufferten Dialysate seien aufgrund ihrer Inhaltsstoffe in hohem Maße unphysiologisch und bioinkompatibel [98] (siehe Kapitel 1.7), so wurde doch bemängelt, die anhand solcher Tests ermittelten negativen Einflüsse zu überschätzen. Die ausschließliche Exposition der Zellen zu frischem, ungebrauchtem Dialysat spiegelt eben kaum die *in vivo* herrschenden Bedingungen wieder, in denen es zu einer stetigen Equilibration der Lösungen und damit zur Reduktion der schädigenden/toxischen Einflüsse kommt [8].

Holmes beschrieb 1993 das „coincubation“- und das „preincubation design“ zur Testung der Biokompatibilität. Bei dem „coincubation design“ werden die zu bestimmenden Parameter direkt in oder nach Anwesenheit der Testlösung bestimmt. Das „preincubation design“ war ein erster Schritt, die *in vivo* Verhältnisse zu simulieren. Nach Inkubation der Zellkultur mit der Testlösung schließt sich eine Erholungsphase mit Nährmedium an. Erst dann erfolgt die Messung der Zellfunktionen [57]. Wir griffen die in den letzten Jahren gesammelten Erkenntnisse auf und setzten unterschiedliche Messverfahren und Tests bei der Biokompatibilitätsmessung ein.

Das in Kapitel 2.10.2 beschriebene Isolationsverfahren für PM Φ ermöglichte infolge der Temperatursenkung die schonende Gewinnung einer für die *ex vivo* Versuche ausreichenden Anzahl an Zellen. Die Zellvitalität, gemessen mit dem Trypan-Blau-Test, lag in beiden Gruppen bei über 96 %. Ähnliche Werte bezüglich gewonnener Zellzahl und Zellvitalität wurden auch von anderen Arbeitsgruppen angegeben [28] [150]. Anhand der Peroxidase-Färbung konnten in einem anderen Projekt unserer Arbeitsgruppe 93 % der so isolierten Zellen als mononukleäre Zellen identifiziert werden [127]. Jones *et al.* berichteten erst kürzlich, sie erzielten mit eben diesem Verfahren nach der anschließenden Inkubationsphase und dem Waschvorgang eine Reinheit der PM Φ von mehr als 95 % [67].

Die Eigenschaft der PM Φ , insbesondere nach bakterieller Stimulation deutlich messbare Mengen an Zytokinen, darunter TNF- α , IL-1 und IL-6, zu sezernieren, wurde bereits von zahlreichen Arbeitsgruppen zur Biokompatibilitätsbestimmung herangezogen [25] [28] [67] [91] [92]. Das IL-6 nimmt im peritonealen und humoralen Abwehrgefüge eine zentrale Rolle ein (siehe Kapitel 1.6.1). Es scheint nach Angaben von Topley pro- und antiinflammatorische Eigenschaften zu besitzen [153]. Wir bestimmten die IL-6 Konzentrationen sowohl aus Proben des PET als auch im Auslaufdialysat nach 6stündiger intraperitonealer Verweilzeit und nutzten diesen Parameter als direkten *in vivo* Marker der intraperitonealen Stimulation von Mesothelzellen und Makrophagen. Die Integrität des Mesotheliums bestimmten wir durch die Messung des Tumorentigenes CA 125 im Auslaufdialysat des PET. Die Konzentration des CA 125 korreliert positiv mit der Mesothelzellmasse im Peritoneum [77] [161] [174] und fand bereits in einigen Studien als *in vivo* Marker Verwendung [66;79;81]. Der Fibrose-Marker TGF- β 1, das C-reaktive Protein und die Bestimmung der "advanced glycosylation end-products" vervollständigten die *in vivo* Bestimmungen. Der Phagozytose-Assay und der anhand der Chemolumineszens erfasste "respiratory burst" waren als *in/ex vivo* Versuche angelegt.

Des Weiteren führten wir umfangreiche *in vitro* Stimulationen an humanen Blutmonozyten durch. Nach der Isolation von gesunden Spendern wurden diese Zellen in Kultur gebracht und nach einer Adhäsionsphase mit Dialysat und Kontrollmedien inkubiert. Dabei kam nicht nur ungebrauchtes Dialysat zur Anwendung, sondern auch die aus dem PET zu unterschiedlichen Zeitpunkten (0, 60, 240 Minuten) asservierten Dialysatproben. Anhand der so erstellten Probenreihe war es uns möglich, den intraperitoneal stattfindenden Equilibationsvorgang *in vitro* zu berücksichtigen.

Die Isolation der humanen Monozyten aus Vollblutkonserven erfolgte in 2 Stufen. Über die Dichtegradientenzentrifugation konnten die mononukleären Zellen separiert werden. Der Anteil der Monozyten, der je nach Spender zwischen 15 und 35 % betragen kann, wurde durch die Adhäsion dieser Zellen an die Plastikoberfläche von Kulturschalen von den mononukleären Zellen abgetrennt. Zur Lösung der adherent gewordenen Zellen bedienten wir uns eines Zellschabers und vermieden so unnötige Kälteinkubationen oder den Kontakt mit biochemischen Agenzien, wie beispielsweise Trypsin. Die während der Isolationsschritte zwangsläufig einhergehende Stimulation der Zellen sollte durch kurze, schonende Arbeitsschritte auf ein Minimum reduziert werden. Dieses von unserer Arbeitsgruppe schon mit Erfolg eingesetzte Verfahren ist vergleichsweise preiswert [117] [121]. Mit diesem Verfahren war es möglich, binnen 2 Stunden die Monozyten mit einer Reinheit von > 85 % und einer Vitalität von > 98 % zu isolieren. Nach Isolation und Inkubation mit verschiedenen Testlösungen führten wir einen globalen Vitalitätstest und die Zytokinstimulation (IL-6) mit LPS durch.

4.2 Peritonealer Stoff- und Flüssigkeitstransport

4.2.1 Effektive peritoneale Oberfläche / Massentransferflächenkoeffizient (MTAC)

Es wurden unterschiedliche Modelle für die Berechnung des peritonealen Stofftransports entwickelt. Die so genannten „dezentralen Modelle“ sind sehr komplex und beruhen auf einer Vielzahl von Annahmen. Einfacher gestalten sich die so genannten „konzentrierten Modelle“. Das Peritoneum wird darin als eine „künstliche“ Membran zwischen zwei homogenen Kompartimenten betrachtet. Anhand dieser Modelle ist der MTAC definiert. Zu unterscheiden sind die „numerischen Modelle“, zu denen die von Popovich und Pyle, Randerson und Farrel und Smeby *et al.* zählen [123] [126] [141], von den „analytischen Modellen“ von Garred und Waniewski *et al.* [42] [165]. Die Modelle von Garred und Waniewski *et al.* unterscheiden sich in der Gewichtung der Bedeutung von Diffusion und Konvektion auf den niedermolekularen Stofftransport. Das Berechnungsmodell nach Garred spricht der Konvektion größere Bedeutung zu als der Diffusion [42]. Waniewski *et al.* bewerten die Relevanz von Diffusion und Konvektion für den peritonealen Stofftransport durch Einsatz des Gewichtungsfaktor F [165]. Wir setzten nach Vorschlag von Waniewski in unseren Berechnungen einen Wert von $F = 0,3$ und $F = 0,5$ ein [165]. Im Modell nach Garred ist $F = 0$ (fehlt). Wir verwendeten zum einen das „numerische Modell“ nach Popovich und Pyle, zum anderen die „analytischen Modelle“ von Garred und Waniewski *et al.*.

Der MTAC wird normalerweise am Ende eines 4 bis 6stündigen Dialysatzzyklus bestimmt. Verschiedene Studien konnten jedoch nachweisen, dass dieser in der Frühphase des Zyklus höher liegt als in den nachfolgenden Stunden [164] [61] [60] [53]. Ursächlich für dieses Phänomen kommen der initial saure pH und die Anwesenheit der Puffersubstanz Laktat in Betracht. Auch die hohe Osmolarität des frischen Dialysates kann in diesem Zusammenhang von Bedeutung sein. Wang *et al.* beobachteten 2001 nach wiederholten Injektionen mit hochosmolarer Glucoselösung an Ratten eine gesteigerte Membranpermeabilität in Verbindung mit der Reduktion peritonealer Oberflächenstrukturen [162]. Der Einsatz von 3,86 % im Vergleich zu 1,36 % Glucose im Dialysat zeigte in klinischen Studien Mitte der 90er Jahre weder Einfluss auf den MTAC [59] noch die D/P_{ratio} kleiner Solute [160]. Um

diesen Sachverhalt näher zu beleuchten, wurde der MTAC für Kreatinin und Kalium anhand der Wertekonstellation nach 60, 120 und 240 Minuten errechnet.

Die Berechnungen des MTAC anhand der Modelle von Garred und Popovich *et al.* zeigten, unabhängig vom eingesetzten Dialysat, in der Frühphase des Zyklus höhere Werte als in den darauf folgenden Stunden. Unter Verwendung des Modells nach Waniewski konnte dies nicht gezeigt werden. Die unterschiedliche Gewichtung von Diffusion und Konvektion der beiden Modelle scheint sich in der Frühphase des Zyklus bemerkbar zu machen. Zu erwähnen ist, dass die Ergebnisse des Modells nach Waniewski mit $F = 0,3$ und $F = 0,5$ fast identisch waren.

Mit allen Berechnungsmodellen stellten wir binnen der 5monatigen Therapiephase bei Verwendung des Laktat gepufferten Dialysates einen Anstieg des MTAC, insbesondere in der Frühphase des Zyklus (60 Minuten) fest. Im Gegensatz dazu, blieb der MTAC der Bik./Lak. therapierten Patienten konstant, bzw. war tendenziell rückläufig. Daraus resultierte bei Verwendung von Laktat gepufferter Lösung eine erhöhte effektive peritoneale Oberfläche in der Initialphase des Zyklus gegenüber Bik./Lak. behandelten Patienten. Park *et al.* konnten ähnliche Beobachtungen im Tierversuch machen [112]. Die Ergebnisse der Arbeitsgruppen, die einen initial hohen MTAC beobachteten (siehe oben), basieren auf Untersuchungen mit sauren Dialysaten. Waniewski führte 1999 eine initiale Durchblutungssteigerung um das 6fache und eine Verdopplung der kapillaren Oberfläche als Gründe für diese Beobachtung an [166]. Krediet reflektiert in der "2nd Edition" des "Textbook of Peritoneal Dialysis" die „Regulation der [peritonealen] Oberfläche und Permeabilität“. Demnach ist nicht der peritoneale Blutfluss, sondern das Blutvolumen in der Membran entscheidend. Dieses erhöht sich durch Vasodilatation. Als Auslöser kommen dabei der saure pH und zahlreiche vasoaktiven Substanzen wie Prostaglandine, Zytokine und Stickstoffmetabolite in Betracht, die hinsichtlich ihres Einflusses vielfach untersucht worden sind [80]. Carlsson und Rippe berichteten 1998 über eine im Zuge der Instillation von Laktat gepufferter Lösung initial stattfindende Vasodilatation der peritonealen Gefäße [13]. Der saure pH dieser Lösungen ist dabei wohl ein entscheidender Faktor [112]. Die hier eingesetzte Bik./Lak. Lösung ist pH neutral, die Osmolarität mit der der Laktat Lösung identisch. Unsere Erkenntnisse unterstreichen daher diesen Sachverhalt. Eine im Jahr 2002 veröffentlichte Studie beschreibt den Zusammenhang zwischen chronischer Inflammation, fest gemacht anhand der Dialysatkonzentration von IL-6 und VEGF, und einer hohen Stofftransportrate für Kreatinin [115]. Wang *et al.* kamen zu der Erkenntnis, dass die chronische Aktivierung des peritonealen Abwehrsystems eher nicht mit einer hochpermeablen Membran in Verbindung zu bringen sei,

als sie 1999 in ihrem Artikel die Frage stellten: „ Does a high peritoneal transport rate reflect a state of chronic inflammation?“ [163].

Schmitt *et al.* berichteten 2002 von Bikarbonat und Laktat vergleichenden Untersuchungen an Kindern, bei denen sie unabhängig vom eingesetzten Puffer eine in der Initialphase um 60 % erhöhte Porenoberfläche beobachteten [136]. Sie erwogen daher die Hypothese, ein saurer pH und die Anwesenheit des Laktat seien nicht einzig und allein für die initialen peritonealen Veränderungen verantwortlich. Anhand unserer Untersuchungen beobachteten wir einen deutlichen Unterschied der Membranpermeabilität erst nach einem 5monatigen Therapieintervall. Schmitt *et al.* führten den Vergleich anhand einer 24stündigen standardisierten Therapie durch.

In standardisierten Langzeituntersuchungen an CAPD-Patienten unter Laktat- Therapie beobachtete Selgas einen mit der Therapiedauer ansteigenden MTAC für Kreatinin [139] [138]. Davies berichtete wenig später über mit der Therapiezeit ansteigenden Transportraten kleiner Solute [22].

4.2.2 Niedermolekularer Stofftransport

Die permeablen Eigenschaften der Membran haben, wie oben beschrieben, Einfluss auf den Stofftransport. Heimbürger und Ho-dac Pannekeet haben den engen Zusammenhang von MTAC und P/D_{ratio} kleiner Solute beschrieben [110] [52]. Wir konnten dahingehend Veränderungen der Transportraten kleiner Solute nachweisen. Diese traten in erster Linie in der Frühphase des Zyklus auf. Unterschiede gegen Ende der Verweilzeit waren hingegen marginal. Wiesen Patienten unter Laktat Therapie ansteigende Transportraten auf (D/P_{ratio} von Kreatinin, Kalium, Phosphat), waren diese unter Bik./Lak. Therapie rückläufig (D/P_{ratio} von Harnstoff, Kalium, Phosphat). Die Transportraten von Kreatinin, Harnstoff und Kalium waren zum Ende des Therapieintervalls unter Verwendung von Laktat gepuffertem Dialysat deutlich höher als bei Einsatz der Bik./Lak. gepufferten Lösung. Schmidt *et al.* beobachteten in ihren Untersuchungen ebenfalls eine nach 60 Minuten reduzierte Elimination von Kreatinin und Phosphat unter Einsatz einer Bikarbonat-Lösung [136].

Die neutral gepufferten Lösungen mit einem Bikarbonat/Laktat Puffer mögen folglich vorteilhaft bezüglich der Langlebigkeit der PD sein. Die Entwicklung einer hyperpermeablen Membran im Verlauf langjähriger PD-Therapie ist vielfach als ein limitierender Faktor des

Systemüberlebens der PD beschrieben worden [23] [51] [114] [55]. Davies stellte 2001 in einer retrospektiven Analyse fest: Patienten mit initial hohem Stofftransport weisen ein geringeres Systemüberleben auf, solche mit niedrigen Transportraten verbleiben länger an der Peritonealdialyse [21]. Weiterhin besteht der kürzlich geäußerte Verdacht, eine hochpermeable Membran könne ein Risikofaktor für die Entwicklung einer verkapselnden peritonealen Sklerose darstellen [103].

Ausgehend von einer unter Bik./Lak. Therapie im Vergleich zum Einsatz einer Laktat gepufferten Lösung herabgesetzten Membranpermeabilität und daraus resultierendem reduziertem peritonealem Stofftransport in Richtung Dialysat, wäre unter Einsatz einer neutralen Lösung ein längerer Glucoseerhalt im Dialysat zu erwarten. Rippe *et al.* postulierten anhand von Modellrechnungen für neutrale Lösungen einen besseren Erhalt der Glucosekonzentration im Dialysat. Sie leiten daher, bedingt durch den höheren osmotischen Gradienten, eine im Vergleich zu sauren Dialysaten bessere Ultrafiltrationsleistung ab [133]. Park *et al.* konnten eben diesen Sachverhalt im Tierexperiment zeigen [112]. Auch besteht nach Darstellung von Krediet eine negative Korrelation zwischen der transkapillären UF und dem MTAC für Kreatinin [80]. Wir würden diesbezüglich bei der getesteten Bik./Lak. Lösung einen besseren Glucoseerhalt und eine in der Frühphase des Dialysatzyklus höhere TCUF im Vergleich zur sauren Lösung erwarten.

Unsere Ergebnisse der peritonealen Glucoseabsorption lassen dahingehend keine expliziten Schlüsse zu. Zwar ergeben sich Hinweise auf eine höhere peritoneale Glucoseabsorption innerhalb der initialen sauren intraperitonealen Zeitspanne unter Laktat Therapie, die TCUF war aber in beiden Gruppen zu allen Zeitpunkten vergleichbar. Coles *et al.* fanden weder für den Stoff- noch für den Flüssigkeitstransport Unterschiede beim Einsatz unterschiedlicher Puffersubstanzen unter CAPD [16]. In einer im Jahr 2000 von Tranaeus veröffentlichten Multicenterstudie in 17 nephrologischen Zentren konnten keine Unterschiede zwischen einer konventionellen Laktat gepufferten Lösung und einem Dialysat mit Bik./Lak. Puffer bezüglich des peritonealen Stofftransportes eruiert werden [154]. Die diesbezüglich im PET ermittelten Parameter waren in den Gruppen identisch. Als Ergebnis wurde eine unter Bik./Lak. Therapie (CAPD) gesteigerte Ultrafiltrationsleistung dargestellt. Diese wurde anhand der über 24 Stunden ermittelten Ultrafiltrationsmenge und der im PET nach 4 Stunden gemessenen effektiven UF nachgewiesen.

4.2.3 Flüssigkeitstransport

Anhand der über 24 Stunden und während der nächtlichen Cyclotherapie erhobenen Daten ermittelten wir eine bei Beginn der Therapie mit der neutralen Bik./Lak. Lösung gegenüber dem konventionellen Dialysat deutlich erniedrigte Ultrafiltrationsleistung bei praktisch identischer Restdiurese und Glucosebelastung. Binnen 5 Monaten nahm die UF Menge kontinuierlich zu. Die Angleichung der UF-Mengen gegenüber der mit Laktat gepufferter Lösung behandelten Gruppe war nach etwa 3 Monaten erreicht. Drei Patienten berichteten bei der klinischen Untersuchung, sie hätten in der ersten Woche unter Bik./Lak. Therapie deutlich reduzierte Auslaufmengen registriert.

Die standardisierte UF-Analyse mittels PET zeigte keine Unterschiede auf. Der PET erfolgte 4 Wochen nach Beginn der Therapie. Zu diesem Zeitpunkt waren die Differenzen der 24 Stunden- und Cyclo-UF nicht mehr signifikant. Dies mag der Grund dafür gewesen sein, dass keine Unterschiede bezüglich des intraperitonealen Volumens, der transkapillären und effektiven UF auszumachen waren. Auch die lymphatischen Absorptionsraten verhielten sich in beiden Gruppen gleich. Unsere Ergebnisse widersprechen daher den von Traaneus veröffentlichten Daten. Wir erkennen anhand unserer Daten keinen Vorteil bezüglich der Ultrafiltrationsleistung bei Therapie mit Bik./Lak. gepuffertem Dialysat, auch wenn dies anhand der beobachteten Verhältnisse bezüglich der Membranpermeabilität plausibel wäre. Selgas beobachtete anhand des PET eine reduzierte UF nach 4stündiger Verweilzeit bei Einsatz einer Bikarbonat Lösung [137].

Die Hintergründe der akuten UF- Beeinträchtigung unter Verwendung des neutralen Dialysates sind noch unklar. Weitere Untersuchungen sind hier angezeigt.

Anhand der sich zur Ausgangskonzentration einstellenden Natrium-Konzentrationsdifferenz im Dialysat zum Zeitpunkt $t = 60$ Minuten errechneten wir den durch Aquaporine vermittelten freien Wassertransport. Dieses Vorgehen wurde in den letzten Jahren von einigen Autoren als probate Methode zur Messung des transzellulären Wassertransports vorgeschlagen [55] [101] [131]. Dieser lag bei den Bikarbonat/Laktat behandelten Patienten niedriger als in der Laktat therapierten Kontrollgruppe. Wir konnten im Behandlungsverlauf mit der neutralen Lösung den Rückgang der Aquaporin-1 Konzentration im Dialysat erheben. Die nach 5monatiger Therapie gemessenen Mengen an Aquaporin-1 in beiden Gruppen waren hingegen identisch. Unter der Annahme, die im Dialysat gemessene Menge an Aquaporin-1 spiegelt die am Flüssigkeitstransport beteiligten Kanäle wieder, zeigt sich eine Diskrepanz zwischen der

Funktion und dem zellulären Korrelat. Bisher wurde diese Beobachtung nicht beschrieben. Zur weiteren Abklärung einer unter Bikarbonat/Laktat Therapie eventuell reduzierten Aquaporin-1 Funktion müssen weitere Untersuchungen folgen. Dies ist von besonderer Bedeutung, da die Beeinträchtigung des transzellulären Wassertransports mit dem terminalen Ultrafiltrationsverlust einiger Patienten in Verbindung gebracht wird [55] [101].

4.2.4 Dialyseeffektivität und Verträglichkeit

Für die CCPD gelten nach den DOQI-Richtlinien ein Kt/V von $> 2,1$ und eine wöchentliche Kreatininclearance von > 63 Liter/Woche/ $1,73 \text{ m}^2$ als Grenzwerte der effektiven Dialyседosis. Mit beiden hier eingesetzten Dialyselösungen war unter identischem Therapieregime eine hochadäquate Dialyse zu erzielen. Unterschiede der einzelnen Parameter traten weder im gepaarten Gruppenvergleich noch in der zeitlichen Entwicklung zu Tage. Die Gleichwertigkeit unterschiedlich gepufferter Lösungen bezüglich der Dialyseeffektivität konnte bereits zuvor in einigen Studien an CAPD-Patienten gezeigt werden [16] [133] [154]. Diese Studien zeigten weiterhin die hohe Patientenakzeptanz der neutral gepufferten Dialysate auf. Insbesondere die Reduzierung der Einlaufschmerzen trug dazu bei. Mactier verglich 1997 in einer randomisierten Doppelblindstudie Bikarbonat und Bikarbonat/Laktat gepufferte Lösungen mit einem konventionellen sauren Dialysat an 18 Patienten, die über Schmerzen bei Einlauf von Laktat gepufferter Lösung berichteten [93]. Er beobachtete eine deutliche Schmerzreduktion bei Verwendung der neutralen Lösungen gegenüber dem sauren Laktatpuffer. Im hiesigen Studienkollektiv waren etwa 30 % der Patienten mit beiden Dialysaten schmerzfrei. Bei den anderen Patienten wurde anhand einer verbalen Ratingskala eine signifikante Reduktion der Einlaufschmerzen festgestellt. Diese Erkenntnisse werden durch das Fallbeispiel einer Studienpatientin unterstrichen, die nach Wechsel auf die konventionelle Laktat Lösung akute stärkste Schmerzen entwickelte. Sie wurde unter fortbestehen Schmerzen nach ca. 2 Wochen wieder auf die Bik./Lak. Lösung umgestellt. Ihre Schmerzen besserten sich binnen weniger Tage.

4.3 Biokompatibilität und peritoneale Immunabwehr

Die Biokompatibilität eines Dialysates wird insbesondere anhand der Auswirkungen auf die lokale Immunabwehr definiert (siehe Kapitel 1.5), wenngleich systemische und funktionelle Aspekte in diesen Kontext mit einzubeziehen sind. Wir verglichen die biokompatiblen Eigenschaften beider Lösungen auch unter Berücksichtigung der Therapiemodalitäten CAPD und APD.

Wie auch Rippe et al., beobachteten wir die Equilibration des sauren pH der Laktat gepufferten Lösung auf physiologisches Niveau innerhalb der ersten 60 Minuten der intraperitonealen Verweildauer [133]. Im Gegensatz dazu war der pH der Bikarbonat/Laktat Lösung über diesen Zeitraum im physiologisch neutralen Bereich. Der in der Initialphase des Zyklus saure pH führt (*in vitro*), so zeigt es eine von Topley veröffentlichte Grafik, binnen 60 Sekunden zu einem Absinken des intrazellulären pH von polymorph nukleären Zellen auf unter 6,5. Nach bereits 180 Sekunden wurden Werte von unter 6,0 gemessen. Eine neutralgepufferte Bikarbonat Lösung induzierte nur eine kurze pH Reduktion um ca. 0,15 Punkte, die nach 30 bis 60 Sekunden wieder normalisiert war. Diese Veränderungen waren unabhängig von der Glucosekonzentration [149]. Zahlreiche *in vitro* Studien verschiedenster Arbeitsgruppen konnten den negativen Einfluss, den die Kombination saurer pH und Laktat auf die Funktion von immunologisch tätigen Zellen, wie Leukozyten, Monozyten, Makrophagen aber auch Mesothelzellen hat, nachweisen [29] [57] [69] [87] [151]. Die von diesen Arbeitsgruppen beschriebenen Funktionseinschränkungen beruhen wohl, so zeigen es die Untersuchungen von Liberek und Zhou, auf der Hemmung pH abhängiger Enzyme durch den unphysiologisch niedrigen intrazellulären pH [88] [176]. Durch die mit der Verweilzeit stattfindende Equilibration geraten die Zellen in eine Art Erholungsphase, bis mit der folgenden Instillation erneut frisches Dialysat zugeführt wird. Darauf beruht auch die These, durch statische *in vitro* Versuche mit frischem Dialysat würden die zelltoxischen Eigenschaften eines Dialysates überschätzt werden [57] [148].

4.3.1 Kulturversuche mit humanen Blutmonozyten

Wir führten daher an humanen Monozyten *in vitro* Inkubationen mit frischen und gebrauchten Dialysaten durch, die bereits intraperitonealen Patientenkontakt für 60 und 240 Minuten hatten. Nach derartiger Inkubation zeigten die mit gebrauchtem Dialysat beider Puffersubstanzen behandelten Zellen die gleiche Vitalität wie die mit Zellkulturmedium inkubierten Zellen. Unter Verwendung von frischem neutral gepuffertem Dialysat war die Zellvitalität auf 48 % reduziert. Nach Exposition mit saurem Dialysat waren die Monozyten nur noch zu 20 % vital. Nehmen wir diese Daten als Grundlage der Interpretation für den nach oben beschriebener Inkubation durchgeführten Zytokinsekretionstest. Gemessen wurde die basale und LPS stimulierte IL-6 Sekretionsleistung der inkubierten Monozyten anhand der IL-6 Konzentration im Kulturüberstand.

Die IL-6 Konzentration der Zellen, die mit frischem sauren Dialysat inkubiert worden sind und in ihrer Vitalität um 80 % suppremiert waren, lag unterhalb der Messgrenze. Diejenigen Zellen, die Kontakt zu frischem neutralen Dialysat erfahren haben und noch zu 48 % vital waren, produzierten gegenüber der Kontrolle mit Medium etwa nur ein achtel der IL-6 Menge. Die mit equilibriertem Dialysat inkubierten Kulturen zeigten keine Vitalitätsreduktion gegenüber der Kontrolle, produzierten basal aber nur etwa halb so viel IL-6. Nach LPS Stimulation wurden gegenüber der Kontrolle etwa 80 % IL-6 sezerniert. Es zeigte sich, dass die sezernierte IL-6 Menge bei Inkubation mit 240 Minuten equilibriertem Dialysat unabhängig von der Puffersubstanz identisch waren. Im selbigen Versuchsaufbau mit 60 Minuten equilibriertem Dialysat war die IL-6 Konzentration der Bikarbonat/Laktat behandelten Zellen gegenüber den Laktat behandelten Zellen signifikant reduziert. Dies betraf die basale und stimulierte Freisetzung. Dieses Ergebnis überrascht, da demnach das Bikarbonat/Laktat gepufferte Dialysat, bezogen auf den Zeitpunkt 60 Minuten nach Instillation, stärkere Zellirritationen hervorruft als das Laktat gepufferte. In Anbetracht der Singularität dieser Messung halten wir es für notwendig, diese Daten durch weitere Versuche zu überprüfen. Viele Autoren berichten von biokompatiblen Vorteilen die ein neutraler pH und der Einsatz von Bikarbonat gegenüber sauren Laktat gepufferten Lösungen hat, welchen Einfluss die einzelnen Dialysatbestandteile und die im Zuge der intraperitonealen Verweildauer in die Flüssigkeit übergegangenen Substanzen auf die Immunintegrität haben, ist jedoch komplex. Bereits 1995 schlussfolgerten Breborowicz *et al.* anhand ihrer

vorgelegten Ergebnisse, die Biokompatibilität von Dialysaten schein mit der intraperitonealen Equilibration nicht anzusteigen [9].

Die hier vorgestellten Ergebnisse zeigen erneut, dass frisches neutral gepuffertes Dialysat eine geringere Zellschädigung hervorruft als konventionelle Lösungen. Weiterhin konnten wir die Notwendigkeit des Einsatzes dynamischer *in vitro* Testverfahren zur Biokompatibilitätsbestimmung verdeutlichen.

4.3.2 Kulturversuche mit peritonealen Makrophagen

Bezüglich des mit der Phagozytose einhergehenden respiratory burst konnten wir keine Differenzen zwischen den PM Φ ermitteln, die entweder mit Bikarbonat/Laktat oder mit Laktat Dialysat in Kontakt waren. Der Phagozytoseindex hingegen, also der prozentuale Anteil phagozytischer Zellen, stieg unter Behandlung mit dem neutral gepuffertem Dialysat signifikant an. Nach 5 Monaten war er gegenüber der Laktat therapierten Kontrollgruppe erhöht. Diese Beobachtung steht im Einklang mit der von de Fijter *et al.* [25]. Sie führten einen Cross-over Versuch mit saurem und neutralem Dialysat durch. Dabei zeigte sich, dass die von Patienten isolierte PM Φ eine bessere Phagozytosefunktion aufwies wenn sie mit neutralem Dialysat in Kontakt gekommen waren.

Fassen wir die von uns *in vitro* und *in/ex vivo* erhobenen Daten zusammen, so erkennen wir Vorteile für die Funktion immunkompetenter Zellen wenn diese nicht mit konventionellem, sondern mit neutralgepuffertem Dialysat in Kontakt kommen. Insbesondere dann, wenn wie unter den Bedingungen der APD, die Equilibration des Dialysates noch nicht fortgeschritten ist.

4.3.3 Intraperitoneale Zytokinsekretion (IL-6)

Weitere Möglichkeiten die Biokompatibilität eines Dialysates zu erfassen, ist die Bestimmung geeigneter Markersubstanzen im Auslaufdialysat, die auf inflammatorische Prozesse oder Strukturveränderungen hinweisen.

Das Zytokin IL-6 nimmt im peritonealen und humoralen Abwehrgefüge eine zentrale Rolle ein (siehe Kapitel 1.6.1). Es scheint nach Angaben von Topley pro- und antiinflammatorische Eigenschaften zu besitzen [153]. Wir bestimmten die IL-6 Konzentration im Auslaufdialysat nach 6stündiger intraperitonealer Verweilzeit und beobachteten nach bereits 4wöchiger Therapie einen signifikanten Unterschied zwischen der Bikarbonat/Laktat therapierten Gruppe und der Kontrollgruppe unter Verwendung von konventionellen Laktat gepuffertem Dialysat. Während die IL-6 Konzentration der Bikarbonat/Laktat Gruppe im 5monatigen Therapieverlauf konstant blieb, ermittelten wir einen signifikanten Konzentrationsanstieg der Laktat Gruppe. Es resultierte daraus eine hochsignifikante Konzentrationsdifferenz. Diese Differenz der IL-6 Konzentration beobachteten wir auch bei den nach 15, 120 und 240 Minuten asservierten Effluaten des PET. Ursächlich dafür ist ein tendenzieller Rückgang der IL-6 Konzentration in der Bikarbonat/Laktat Gruppe (für den Zeitpunkt $t = 240$ min signifikant) und ein leichter (nicht signifikanter) Anstieg in der Laktat Gruppe. Bemerkenswert ist, dass nach vorheriger Spülung der Peritonealhöhle mit frischem niedrigprozentigem Dialysat bereits nach 15 Minuten intraperitonealer Verweilzeit signifikante Konzentrationsunterschiede auftreten. Bisher wurden Inflammationsparameter nur aus Effluaten mit langer intraperitonealer Verweilzeit bestimmt. Es wäre zu vermuten gewesen, dass erst nach längerer Verweildauer unterschiedlich hohe Zytokinkonzentrationen messbar werden, die sodann systemisch unterschiedlich wirken könnten. Unter den kurzen Zyklen der APD wären die systemischen Auswirkungen der gebildeten Mediatoren im peritonealen Immunnetzwerk dann nicht zum Tragen gekommen. Da aber bereits in der frühen Equilibrationsphase messbare Differenzen bei Einsatz von saurer und neutraler Lösung bestehen, könnte die Verwendung von physiologischen Dialysaten auch in diesem Zusammenhang Vorteile mit sich bringen. Cooker *et al.* berichteten unlängst über unter Bikarbonat/Laktat Therapie reduzierte IL-6 Spiegel, gemessen im Nachtdialysat von über 60 CAPD Patienten [19]. Anhand unserer Daten gehen wir konform mit der von Cooker *et al.* und anderen Arbeitsgruppen erhobenen These, unter Verwendung von Bikarbonat/Laktat gepufferten Lösungen sei die intraperitoneale Inflammation reduziert. Besonders eindrücklich werden diese Ergebnisse, schaut man auf die Syntheseorte des intraperitoneal sezernierten IL-6. Zu nennen sind hier Mesothelzellen und residente sowie transiente Makrophagen. Es besteht zunehmende Evidenz darüber, dass die Mesothelzellmasse von Laktat therapierten Patienten gegenüber solchen unter Bikarbonat/Laktat Therapie reduziert ist. Gleiches kann auch für die Anzahl von immunkompetenten Zellen, in erster Linie Makrophagen, angenommen werden. Wir ermittelten bei der Laktat Gruppe eine über den Therapiezeitraum

durchschnittlich reduzierte Zellzahl isolierter peritonealer Makrophagen. Ein Mehr an IL-6 produktionskompetenten Zellen scheint während des Kontaktes mit neutral gepuffertem Dialysat weniger IL-6 zu synthetisieren als die reduzierte Zellmasse unter Laktat Therapie.

4.3.4 Zelluläre und strukturelle Veränderungen des Peritoneums

Mit Hinblick auf die von Dialysaten hervorgerufenen Auswirkungen auf das Mesothel der Peritonealhöhle gilt die Konzentration von CA 125 im Dialysat als ein gebrauchsfähiger Marker zur *in vivo* Bestimmung der Biokompatibilität.

Wir bestimmten das CA 125 nach standardisierter 4stündiger intraperitonealer Verweilzeit im Auslaufdialysat des PET. Unter Behandlung mit Bikarbonat/Laktat Dialysat konnten bereits nach 4wöchiger Therapie signifikant höhere Werte gemessen werden als bei der Kontrollgruppe ($p < 0,05$). Wie die unten zitierten Autoren und Arbeitsgruppen vermuten auch wir einen positiven Effekt der alternativen Dialysate auf die Mesothelintegrität. Die Daten des laufenden Langzeitvergleiches werden weiteren Aufschluss darüber geben.

1999 präsentierten Capelli et al. die Daten einer an 31 Patienten durchgeführten offenen Cross-over Studie unter Verwendung einer Glucose/Laktat Lösung mit physiologischem pH und reduzierten Glucoseabbauprodukten (GDP). Das Ergebnis: Das CA 125 im Dialysat stieg binnen 3 Monaten von 24 U/ml auf 44 U/ml, binnen 6 Monaten auf 41 U/ml an. Nach Wechsel auf die konventionelle Lösung sank es nach 3 Monaten wieder auf den Ausgangswert von 22 U/ml ab [12]. Diese Datenlage wurde 2 Jahre später von Rippe *et al.* anhand einer klinisch randomisierten 2-Jahres Studie bestätigt [132]. Mettang präsentierte auf dem 33. Kongress der Gesellschaft für Nephrologie ähnliche Ergebnisse für eine andere GDP-reduzierte Lösung auf Laktat Basis [99]. Das Fazit einer europäischen Multicenterstudie an über 100 Patienten war eine nach 3 und 6 Monaten ansteigende Mesothelzellmasse/ ansteigender Zellturnover bei Bikarbonat/Laktat therapierten Patienten, abgeleitet anhand des im Auslaufdialysat gemessenen Anstieges der Markersubstanz CA 125 [66].

Bisher konnte nicht geklärt werden, ob der in physiologische Bereiche angehobene pH oder die Reduktion toxischer Glucoseabbauprodukte der entscheidende Faktor für die Integrität des peritonealen Mesothels ist. Die Reduktion des Laktat und dessen Ersatz durch Bikarbonat scheint anhand der Studienergebnisse keine Rolle zu spielen, da mit beiden Puffersubstanzen ähnliche Beobachtungen gemacht worden sind.

Ungeachtet der verwendeten Puffersubstanzen enthalten die in Mehrkomponentenbeuteln hergestellten und autoklavierten Dialysate durch die Sterilisation der Glucoselösung in saurem Milieu (pH ca. 3,5) und hohen Glucosekonzentrationen eine geringere Konzentration toxischer Glucoseabbauprodukte als konventionelle Lösungen [168] [76]. Die Glucosedegradationsprodukte (GDPs) führen unter anderem zu unmittelbaren Beeinträchtigungen der peritonealen Immunmechanismen [168]. Sie sind aber auch ein potenter Stimulus zur Bildung von advanced glycation end-products (AGEs) [135] [168]. Die langjährige Glucoseexposition ist ein wichtiger Aspekt bei der Bildung von AGEs und der Glykosylierung des Peritoneums. Diese wird als eine der zahlreichen Ursachen für den terminalen Ultrafiltrationsverlust und damit das Therapieversagen der PD angesehen [84] [85] [113]. Die Amsterdamer Arbeitsgruppe um Ho-dac-Pannekeet berichtete 1999, die Dialysatkonzentration von Pentosidine, dem am meisten untersuchten AGEs, sei bei Patienten mit Ultrafiltrationsstörung höher, verglichen mit erst kurzzeitig PD therapierten Patienten. Die Pentosidine-Konzentration korrelierte direkt mit der PD-Behandlungsdauer. Verwendeten dieselben Patienten ein nicht-glucosehaltiges Dialysat, sank der Pentosidinespiegel im Dialysat [84]. Von Park *et al.* an CAPD Patienten erhobene Daten weisen auf einen kausalen Zusammenhang zwischen der peritonealen Akkumulation von AGEs und einer gesteigerten peritonealen Permeabilität und Ultrafiltrationsverlusten unter Langzeittherapie hin [113]. Wir beobachteten, dass unter Therapie mit der im Doppelkammerbeutel hergestellten und damit GDP-reduzierten Bikarbonat/Laktat Lösung die Konzentration von AGEs im Dialysat gegenüber der konventionell therapierten Kontrollgruppe reduziert war. Da die PD-Behandlungszeit und die verwendeten Glucosemengen in beiden Gruppen identisch waren, scheint dieser Effekt auf die Abwesenheit der Glucosedegradationsprodukte hinzuweisen. Ob zwischen der Reduktion der AGEs und den von uns ermittelten erniedrigten Transportraten und der reduzierten effektiven Oberfläche ein direkter Zusammenhang besteht, ist spekulativ. Um die Zusammenhänge von Azidität, GDPs und Puffersubstanz und deren Einfluss auf den peritonealen Flüssigkeits- und Stofftransport zu klären, führten Musi *et al.* Versuche an Ratten durch. Sie verglichen hitzesterilisierte Lösungen mit saurem und neutralen pH mit sterilfiltrierten Lösungen gleicher Bestandteile. Dabei stellten sie fest, dass die Kombination von azidem pH und GDPs ein Ansteigen des niedermolekularen Transports zur Folge hat. Beide Faktoren für sich alleine beeinflussten die Transportraten nicht [102]. Festzuhalten bleibt, dass GDP- reduzierte Lösungen die Formation von AGEs zu supprimieren vermögen und damit die Glykierung der Peritonealmembran längerfristig gebremst werden könnte.

Strukturelle Veränderung der Peritonealmembran, insbesondere die mit der Therapiedauer zunehmende Fibrosierung der submesothelialen Matrix, werden in unmittelbarem Zusammenhang mit Beeinträchtigungen der Membranfunktionen gebracht [89]. Die Freisetzung des "transforming growth factor- β 1" (TGF- β 1) ist ein potenter Stimulus fibrosierender Prozesse und der Neoangiogenese in zahlreichen Krankheitsprozessen [6]. Die lokale Sekretion durch peritoneale Mesothelzellen und Makrophagen wird unter anderem durch hohe Glucosekonzentrationen im Dialysat getriggert [73] [177]. Durchaus denkbar wäre, dass in diesem Zusammenhang die Anwesenheit von GDPs oder auch ein unphysiologisch niedriger pH von Bedeutung sein könnten. Nach Lin *et al.* ist die Expression des TGF- β 1 seiner Konzentration im Auslaufdialysat proportional. Sie vermuten anhand der TGF- β 1 Konzentrationen, Aussagen über die Entstehung einer peritonealen Fibrose machen zu können [89]. Wir bestimmten den TGF- β 1 im Auslaufdialysat nach 6stündiger Verweilzeit, konnten aber keine Konzentrationsunterschiede zwischen den Gruppen ausmachen. Im zeitlichen Verlauf ergaben sich in beiden Gruppen keine Änderungen. Auch Jones *at al.* konnten keine Unterschiede der TGF- β 1 Konzentration im Auslaufdialysat zwischen Bikarbonat/Laktat und Laktat therapierten Patienten feststellen. Ebenfalls identisch waren die Konzentrationen des gemessenen Prokollagen1-Peptid, einem weiteren potentiellen Marker fibrosierender Umbauvorgänge [66]. Prokollagen1-Peptid und Prokollagen3-Peptid sind in verschiedensten Studien als indirekte Parameter des Kollagenumsatzes benutzt worden. Rippe *et al.* beobachteten ansteigende Werte dieser beiden Parameter bei Therapie mit einer GDP-reduzierten, neutral gepufferten Lösung [132]. Weitere Studien sind hier nötig, den Einfluss alternativer Dialysate auf fibrosierende Umbauvorgänge der Membran und deren Quantifizierung mittels geeigneter Markersubstanzen zu spezifizieren.

5 Klinischer Ausblick

Um die Systemüberlebensrate der Peritonealdialyse zu verbessern, wurden seit ihrer Einführung als alternative Nierenersatztherapie zahlreiche Neuerungen und Weiterentwicklungen, zum Beispiel in der Kathetertechnologie, in den Konnektionssystemen und in der Gerätetechnologie etabliert. Die Entwicklung alternativer Dialysatlösungen stagnierte lange Zeit, wenngleich zahlreiche Studien bereits Anfang der 90er Jahre die Erkenntnis erbrachten, die bis dato eingesetzten Dialysatflüssigkeiten seien unphysiologisch und rufen bei längerem Gebrauch peritoneale Veränderungen hervor. Neuere klinische Studien und Langzeituntersuchungen belegen die von konventionellen Dialysaten ausgehenden strukturellen und funktionellen Veränderungen und deren Auswirkungen auf das Systemüberleben. Umso erfreulicher ist die in den letzten Jahren stattfindende Entwicklung alternativer Dialysate. Zuerst etabliert wurden neue osmotischen Agenzien, die die Therapieoptionen sinnvoll erweiterten. Die Entwicklung neutral gepufferter Dialysate auf Basis von Bikarbonat und/oder Laktat war ein weiterer wichtiger Schritt. Erste experimentelle und klinische Studien zeigen das Potential der physiologisch gepufferten Lösungen auf. Gesichert scheint die Erkenntnis der Reduktion von Dialysat-Einlaufschmerzen. Die Dialyseeffektivität dieser Lösungen ist mit konventionellen Dialysaten vergleichbar. Widersprüchlich ist die Datenlage bezüglich des peritonealen Flüssigkeitstransports. Einige Arbeitsgruppen attestieren den neutralen Lösungen eine gegenüber konventionellen Dialysaten gesteigerte Ultrafiltrationsleistung, andere sehen keine Unterschiede. Bis dato wurden auch keine Unterschiede bezüglich des peritonealen Stofftransports eruiert. Unsere Ergebnisse zeigen eine unter Bikarbonat/Laktat Therapie in der frühen Equilibrationsphase reduzierte effektive peritoneale Oberfläche. Der Stofftransport in dieser initialen Phase ist gegenüber konventionellem Dialysat reduziert. Die im langjährigen Therapieverlauf beschriebene Entwicklung einer peritonealen Hyperpermeabilität und des damit einhergehenden Ultrafiltrationsversagens vermuten wir durch Einsatz von neutral gepuffertem Dialysat günstig beeinflussen zu können. Ob sich diese Vermutung bestätigt, müssen weitere ausgedehnte Studien zeigen. Insbesondere Langzeitvergleiche an APD therapierten Patienten sind hier wünschenswert. Zu hoffen ist, dass durch den besseren Erhalt der Langzeitfunktion des Peritoneums das Systemüberleben der PD verlängert werden könnte. Die von uns und anderen Arbeitsgruppen erhobenen günstigen Biokompatibilitäts-eigenschaften der neutralen Lösungen geben Anlass zur Hoffnung, durch ein wenig beeinträchtigtes lokales Immunsystem

die Anzahl, Dauer und Schwere von Peritonitiden zu verringern. Damit wäre einem Hauptgrund des Systemversagens entgegengewirkt. Auch dieser Fragestellung muss in weiteren Langzeituntersuchungen nachgegangen werden.

In Zukunft werden alternative Dialysate oder deren Komponenten die Sicherheit und Verträglichkeit der Peritonealdialyse nachhaltig verbessern. Ob neutral gepufferte Lösungen auf Bikarbonat- oder Laktatbasis die bisher verwendeten sauren Dialysate ersetzen, kann heute noch nicht beantwortet werden. Neben medizinischen Gesichtspunkten sind ökonomische und wirtschaftliche Aspekte zu berücksichtigen. So bleibt der Appell an die Unternehmen, durch wirtschaftliche Unterstützung und technische Weiterentwicklungen den Weg in die Zukunft mit zu gestalten.

Es bleibt zu hoffen, dass die Peritonealdialyse durch die Erkenntnisse und Errungenschaften der letzten Jahre eine weiter positive Weiterentwicklung als alternatives Dialyseverfahren erfährt. Wir glauben, dazu einen Beitrag geleistet zu haben.

6 Zusammenfassung

Die Peritonealdialyse ist heute der Hämodialyse in punkto Effektivität, Überlebensrate und Wirtschaftlichkeit ebenbürtig. Bezüglich der Langzeitfunktion des Systems konnten die Ergebnisse der Hämodialyse bislang nicht erreicht werden. Rezidivierende Peritonitiden und ein terminaler Ultrafiltrationsverlust infolge struktureller und funktioneller Veränderungen der peritonealen Membran sind die Hauptgründe des Systemversagens. Intensive Forschungen haben die hohe Osmolarität der Lösungen, deren Gehalt an Laktat, Glucose, diverser Glucoseabbauprodukte und den aziden pH als Ursache der beeinträchtigten Membranfunktionen identifiziert. Zahlreiche Studien belegen die von diesen Dialysaten ausgehende Beeinträchtigung der peritonealen Immunabwehr. Die gewonnenen Erkenntnisse trugen zur Entwicklung neutralgepufferter Dialysate bei. Diese mit Bikarbonat und/oder Laktat gepufferten Lösungen erwiesen sich in der Zellkultur und in Tierexperimenten bezüglich der Biokompatibilität als deutlich überlegen. Erste klinische Studien an CAPD-Patienten unterstreichen diese Ergebnisse. Insbesondere vor dem Hintergrund des zunehmenden Einsatzes der APD erlangen neutralgepufferte Dialysate, die auch in der frühen Equilibrationsphase einen physiologischen pH aufweisen, große Bedeutung. Bisher fehlen Daten zu Untersuchungen an APD therapierten Patienten.

Wenig ist auch bezüglich des peritonealen Transports mit neutralen Bikarbonat/Laktat gepufferten Dialysaten bekannt.

Wir untersuchten daher ein neutrales Bikarbonat/Laktat gepuffertes Dialysat bezüglich des peritonealen Stoff- und Flüssigkeitstransports und der Biokompatibilität an einem mit der APD behandelten Patientenkollektiv. In einem Cross-over Studiendesign bildeten die mit konventionellem Dialysat behandelten Patienten die Kontrollgruppe.

Zu Beginn und am Ende eines sechsmonatigen Therapieintervalls wurden anhand eines erweiterten Peritonealen Equilibrationstests (PET) detaillierte Berechnungen des Membrantransports für verschiedene Verweilzeiten durchgeführt. Es erfolgte die Kontrolle der Dialyseeffektivität und der erbrachten Ultrafiltrationsleistung. Mittels *in vitro* und *in/ex vivo* Versuchen sowie der Bestimmung geeigneter Marker (IL-6, TGF-1 β , CA 125, CRP etc.) wurde die Biokompatibilität der Lösung anhand der Integrität der peritonealen Immunabwehr beurteilt.

In Tabelle 8 sind unsere Ergebnisse zum peritonealen Transport, in Tabelle 9 die Ergebnisse zur Biokompatibilitätsprüfung zusammengefasst.

Tabelle 8: Zusammenfassung der Ergebnisse zur Untersuchung des peritonealem Stoff- und Flüssigkeitstransports

Parameter	5 Monate Therapie mit		Gruppendifferenzen nach		Kommentar
	Bik./Lak.	Laktat	1 Monat	5 Monaten	
MTAC _{Kreatinin} (60 min)	↓	○	∅	ja	nach Popovich und Pyle
MTAC _{Kreatinin} (60 min)	(↓)	○	∅	ja	nach Garred
MTAC _{Kreatinin} (60 min)	○	↑	∅	ja	nach Waniewski
MTAC _{Kreatinin} (240 min)	↓	○	∅	∅	nach Garred
MTAC _{Kalium} (60 min)	○	↑	∅	ja	nach Popovich und Pyle
MTAC _{Kalium} (60 min)	○	↑	∅	ja	nach Garred
MTAC _{Kalium} (120 min)	○	↑	∅	ja	nach Popovich und Pyle
MTAC _{Kalium} (120 min)	○	↓	∅	∅	nach Garred
D/P _{ratio} Kreatinin (60 min)	(↓)	↑	∅	ja	
D/P _{ratio} Harnstoff (60 min)	↓	○	∅	ja	
D/P _{ratio} Kalium (60 min)	↓	↑	∅	ja	
D/P _{ratio} Phosphat (60 min)	↓	↑	ja	∅	
Gluc. im Dialysat (15 min)	○	↓	∅	ja	
transzell. Wassertransport	○	○	ja	ja	Bik./Lak. < Laktat
AQP-1 im Dialysat	↓	○	∅	∅	
TCUF	○	○	∅	∅	für 60, 120 und 240 min
eff. UF	○	○	∅	∅	für 60, 120 und 240 min
nächtl. UF am Cyclor	○	○	∅	∅	
24h UF	○	○	∅	∅	
C _W _{Krea.}	○	○	∅	∅	
Kt/V	○	○	∅	∅	
BGA	○	○	∅	∅	

Tabelle 9: Zusammenfassung der Ergebnisse zur Untersuchung der Biokompatibilität und peritonealen Immunabwehr

Parameter	5 Monate Therapie mit		Gruppendifferenzen nach		Kommentar
	Bik./Lak.	Laktat	1 Monat	5 Monaten	
PMΦ Anzahl im Dialysat	O	O	ja	ja	Bik./Lak. > Laktat
PMΦ Phagozytoseaktiv.	↑	O	∅	ja	
PMΦ respiratory burst	O	O	∅	∅	
PMΦ stim. IL-6 Sekret.	O	O	∅	∅	
IL-6 im Dialysat (6 h)	O	↑	ja	ja	Bestimmung im last bag nach 15,120 und 240 min
IL-6 im Dialysat (PET)	(↓)↓	(↑)	∅	ja	
IL-6 im Serum	↓	O	∅	∅	
CA 125 im Dialysat	O	O	(ja)	(ja)	Bik./Lak. > Laktat
TGF1-β im Dialysat	O	O	∅	∅	
AGEs im Dialysat	(↓)	O	∅	ja	Bik./Lak. < Laktat
Dialysat-Einlaufschmerzen	↓	O	-	ja	Bik./Lak. < Laktat

humane Monozyten, inkubiert mit:	Vitalität	IL-6 Sekretion basal	IL-6 Sekretion LPS stim.
frischem Dialysat	Medium > Bik./Lak. > Laktat	Medium > Bik./Lak. > Laktat =0	Medium > Bik./Lak. > Laktat =0
60 Minuten equilibriertem Dialysat	Medium = Bik./Lak. = Laktat	Medium > Laktat > Bik./Lak.	Medium > Laktat > Bik./Lak.
240 Minuten equilibriertem Dialysat	Medium = Bik./Lak. = Laktat	Medium > Bik./Lak. = Laktat	Medium > Bik./Lak. = Laktat

↓ ↑ = signifikanter Anstieg/Abfall

(↓) (↑) = nicht signifikanter (tendenzieller) Anstieg/Abfall

ja = signifikanter Unterschied

(ja) = nicht signifikanter (tendenzieller) Unterschied

O = keine Änderung

∅ = kein Unterschied

- = nicht untersucht

Insbesondere in der frühen Equilibrationsphase sind Unterschiede des peritonealen Transports erkennbar. Unsere Ergebnisse zeigen erstmals unter APD, dass mit dem Einsatz einer Bikarbonat/Laktat gepufferten Lösung eine signifikante Verminderung des Anstieges des niedermolekularen Stofftransports erfolgt. Damit konnte der negative Trend zur Entwicklung eines hyperpermeablen Peritoneums gebremst werden. Unsere Ergebnisse geben Anlass zur Hoffnung, unter Therapie mit neutralem Bikarbonat/Laktat gepuffertem Dialysat die Membranfunktionen über einen längeren Zeitraum erhalten zu können als unter Therapie mit konventionellem Dialysat. Dies würde das Systemüberleben der Peritonealdialyse positiv beeinflussen. Langfristige Verlaufskontrollen der Patienten sind notwendig und derzeit Gegenstand von weiteren prospektiven Studien in unserem Zentrum.

Mit unseren Untersuchungen zur Biokompatibilität und Immunintegrität konnten wir anhand der Zellfunktionen von Makrophagen, Monozyten und Mesothelzellen die protektiven Eigenschaften von neutralem gegenüber saurem Dialysat nachweisen.

Aufgrund der unter APD intensiven Exposition zu frischem Dialysat sehen wir insbesondere für diesen Therapiemodus der Peritonealdialyse besondere Vorteile gegenüber dem Einsatz konventioneller Lösungen.

7 Anhang

7.1 Literaturverzeichnis

1. NKF-DOQI clinical practice guidelines for peritoneal dialysis adequacy. National Kidney Foundation. *Am J Kidney Dis* 1997;30:S67-136.
2. Baxter Healthcare Corporation. Information . 1998.
3. Armstrong VW, Creutzfeldt W, Ebert R, Fuchs C, Hilgers R, Scheler F: Effect of dialysate glucose load on plasma glucose and glucoregulatory hormones in CAPD patients. *Nephron* 1985;39:141-145.
4. Bergstrom J: Why are dialysis patients malnourished? *Am J Kidney Dis* 1995;26:229-241.
5. Bodnar DM, Busch S, Fuchs J, Piedmonte M, Schreiber M: Estimating glucose absorption in peritoneal dialysis using peritoneal equilibration tests. *Adv Perit Dial* 1993;9:114-8.:114-118.
6. Border WA, Noble NA: Fibrosis linked to TGF-beta in yet another disease. *J Clin Invest* 1995;96:655-656.
7. Bos HJ, van Bronswijk H, Helmerhorst TJ, Oe PL, Hoefsmit EC, Beelen RH: Distinct subpopulations of elicited human macrophages in peritoneal dialysis patients and women undergoing laparoscopy: a study on peroxidatic activity. *J Leukoc Biol* 1988;43:172-178.
8. Breborowicz A, Balaskas E, Oreopoulos GD, Martis L, Serkes K, Oreopoulos DG: In vitro study of the effect of osmotic solutes on the interactions between cells from the peritoneum and peritoneal cavity. *Perit Dial Int* 1994;14:149-154.
9. Breborowicz A, Martis L, Oreopoulos DG: Changes in biocompatibility of dialysis fluid during its dwell in the peritoneal cavity. *Perit Dial Int* 1995;15:152-157.
10. Bro S, Bjorner JB, Tofte-Jensen P, Klem S, Almtoft B, Danielsen H, Meincke M, Friedberg M, Feldt-Rasmussen B: A prospective, randomized multicenter study comparing APD and CAPD treatment. *Perit Dial Int* 1999;19:526-533.
11. Brunkhorst R, Mahiout A: Pyruvate neutralizes peritoneal dialysate cytotoxicity: maintained integrity and proliferation of cultured human mesothelial cells. *Kidney Int* 1995;48:177-181.
12. Cappelli G, Bandiani G, Cancarini GC, Feriani M, Dell'Aquila R, Saffioti S, Spisni C, Stingone A, Orazi E, Balocchi S, Renaux JL: Low concentrations of glucose degradation products in peritoneal dialysis fluids and their impact on biocompatibility parameters: prospective cross-over study with a three-compartment bag. *Adv Perit Dial* 1999;15:238-42.:238-242.
13. Carlsson O, Rippe B: Enhanced peritoneal diffusion capacity of ⁵¹Cr-EDTA during the initial phase of peritoneal dialysis dwells: role of vasodilatation, dialysate 'stirring', and of interstitial factors. *Blood Purif* 1998;16:162-170.
14. Cheng HH, Wang T, Heimburger O, Bergstrom J, Lindholm B: Fluid and solute transport using different sodium concentrations in peritoneal dialysis solutions. *Perit Dial Int* 2001;21:65-71.
15. Coles GA, Alobaidi HM, Topley N, Davies M: Opsonic activity of dialysis effluent predicts those at risk of *Staphylococcus epidermidis* peritonitis. *Nephrol Dial Transplant* 1987;2:359-365.

16. Coles GA, O'Donoghue DJ, Pritchard N, Ogg CS, Jani FM, Gokal R, Cancarini GC, Maiorca R, Tranaeus A, De Vos C, Hopwood A, Faict D: A controlled trial of two bicarbonate-containing dialysis fluids for CAPD--final report. *Nephrol Dial Transplant* 1998;13:3165-3171.
17. Collins AJ, Weinhandl E, Snyder JJ, Chen SC, Gilbertson D: Comparison and survival of hemodialysis and peritoneal dialysis in the elderly. *Semin Dial* 2002;15:98-102.
18. Colombi A: Fluid and electrolyte balance in CAPD patients.; in La Greca G, Chiaramonte A, Fabris A, Feriani M (eds): *Peritoneal Dialysis: Proceedings of the Third International Course on Peritoneal Dialysis*. Milano, 1988.
19. Cooker LA, Luneburg P, Holmes CJ, Jones S, Topley N: Interleukin-6 levels decrease in effluent from patients dialyzed with bicarbonate/lactate-based peritoneal dialysis solutions. *Perit Dial Int* 2001;21 Suppl 3:S102-7.:S102-S107.
20. Daniels FH, Leonard EF, Cortell S: Glucose and glycerol compared as osmotic agents for peritoneal dialysis. *Kidney Int* 1984;25:20-25.
21. Davies SJ: Monitoring of long-term peritoneal membrane function. *Perit Dial Int* 2001;21:225-230.
22. Davies SJ, Bryan J, Phillips L, Russell GI: Longitudinal changes in peritoneal kinetics: the effects of peritoneal dialysis and peritonitis. *Nephrol Dial Transplant* 1996;11:498-506.
23. Davies SJ, Phillips L, Naish PF, Russell GI: Peritoneal glucose exposure and changes in membrane solute transport with time on peritoneal dialysis. *J Am Soc Nephrol* 2001;12:1046-1051.
24. de Fijter CW, Verbrugh HA, Oe LP, Heezius E, Donker AJ, Verhoef J, Gokal R: Biocompatibility of a glucose-polymer-containing peritoneal dialysis fluid. *Am J Kidney Dis* 1993;21:411-418.
25. de Fijter CW, Verbrugh HA, Peters ED, Oe PL, van der MJ, Verhoef J, Donker AJ: In vivo exposure to the currently available peritoneal dialysis fluids decreases the function of peritoneal macrophages in CAPD. *Clin Nephrol* 1993;39:75-80.
26. Di Paolo N, Garosi G, Petrini G, Traversari L, Rossi P: Peritoneal dialysis solution biocompatibility testing in animals. *Perit Dial Int* 1995;15:S61-S69.
27. Di Paolo N, Garosi G, Traversari L, Di Paolo M: Mesothelial biocompatibility of peritoneal dialysis solutions. *Perit Dial Int* 1993;13 Suppl 2:S109-12.:S109-S112.
28. Douvdevani A, Rapoport J, Konforti A, Zlotnik M, Chaimovitz C: The effect of peritoneal dialysis fluid on the release of IL-1 beta and TNF alpha by macrophages/monocytes. *Perit Dial Int* 1993;13:112-117.
29. Douvdevani A, Rapoport J, Konforty A, Yulzari R, Moran A, Chaimovitz C: Intracellular acidification mediates the inhibitory effect of peritoneal dialysate on peritoneal macrophages. *J Am Soc Nephrol* 1995;6:207-213.
30. Fabris A, Biasioli S, Chiaramonte C, Feriani M, Pisani E, Ronco C, Cantarella G, La Greca G: Buffer metabolism in continuous ambulatory peritoneal dialysis (CAPD): relationship with respiratory dynamics. *Trans Am Soc Artif Intern Organs* 1982;28:270-5.:270-275.
31. Faller B, Lameire N: Evolution of clinical parameters and peritoneal function in a cohort of CAPD patients followed over 7 years. *Nephrol Dial Transplant* 1994;9:280-286.
32. Faller B, Marichal JF: [Acetate dialysate: responsible for decrease in ultrafiltration in continuous ambulatory peritoneal dialysis]. *Nephrologie* 1984;5:71-76.
33. Fenton SS, Schaubel DE, Desmeules M, Morrison HI, Mao Y, Copleston P, Jeffery JR, Kjellstrand CM: Hemodialysis versus peritoneal dialysis: a comparison of adjusted mortality rates. *Am J Kidney Dis* 1997;30:334-342.

34. Feriani M, Biasioli S, Borin D, Bragantini L, Brendolan A, Chiaramonte S, Dell'Aquila R, Fabris A, Ronco C, La Greca G: Bicarbonate buffer for CAPD solution. *Trans Am Soc Artif Intern Organs* 1985;31:668-72.:668-672.
35. Fox SD, Leypoldt JK, Henderson LW: Visceral peritoneum is not essential for solute transport during peritoneal dialysis. *Kidney Int* 1991;40:612-620.
36. Franz HE, Hörl WH: *Blutreinigungsverfahren*, ed 5. neubearbeitete und erweiterte Auflage, 1997.
37. Franz HE, Hörl WH: *Blutreinigungsverfahren*, ed 5. neubearbeitete und erweiterte Auflage, 1997.
38. Fußhöller, A. Die Automatische Peritonealdialyse (APD) - eine bedeutsame Therapiealternative in der Heimdialyse. <http://www.uni.duesseldorf.de/WWW/MedFak/pd/literatur2.htm> . 2002.
39. Fußhöller A, Rówemeier H, Plum J, Grabensee B: Automatische Peritonealdialyse (APD) bei Patienten ohne renale Restfunktion und/oder großer Körperoberfläche. *Nieren-und Hochdruckkrankheiten* 2002;30:335-345.
40. 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* 2002;13:1055-1060.
41. Ganter G: Ueber die Beseitigung giftiger Stoffe aus dem Blute durch Dialyse. *Münch med Wochenschr* 1923;50:1478-1480.
42. Garred LJ, Canaud B, Farrell PC: A simple kinetic model for assessing peritoneal mass transfer in chronic ambulatory peritoneal dialysis. *ASAIO J* 1983;6:131-137.
43. Gokal R: Continuous ambulatory peritoneal Dialysis; in Maher JF (ed): *Replacement of Renal Funktion by Dialysis*. Kluwer, Dordrecht, 1989 pp 590.
44. Gokal R, Nolph K: *The Textbook of Peritoneal Dialysis*. Kluwer Academic Publishers, 1994.
45. Graham KA, Reaich D, Goodship TH: Acid-base regulation in peritoneal dialysis. *Kidney Int Suppl* 1994;48:S47-50.:S47-S50.
46. Haag-Weber M, Vychytil A: Kontinuierliche ambulante und automatische Peritonealdialyse; in Franz HE, Hörl WH (eds): *Blutreinigungsverfahren*. Stuttgart, Georg Thieme Verlag, 1997 pp 407-445.
47. Hain H, Gahl G: Osmotic agents. An update. *Contrib Nephrol* 1991;89:119-27.:119-127.
48. Hain H, Kessel M: Aspects of new solutions for peritoneal dialysis. *Nephrol Dial Transplant* 1987;2:67-72.
49. Heaton A, Ward MK, Johnston DG, Alberti KG, Kerr DN: Evaluation of glycerol as an osmotic agent for continuous ambulatory peritoneal dialysis in end-stage renal failure. *Clin Sci (Lond)* 1986;70:23-29.
50. Heaton A, Ward MK, Johnston DG, Nicholson DV, Alberti KG, Kerr DN: Short-term studies on the use of glycerol as an osmotic agent in continuous ambulatory peritoneal dialysis (CAPD). *Clin Sci (Lond)* 1984;67:121-130.
51. Heimbürger O, Wang T, Lindholm B: Alterations in water and solute transport with time on peritoneal dialysis. *Perit Dial Int* 1999;19 Suppl 2:S83-90.:S83-S90.
52. Heimbürger O, Waniewski J, Werynski A, Park MS, Lindholm B: Dialysate to plasma solute concentration (D/P) versus peritoneal transport parameters in CAPD. *Nephrol Dial Transplant* 1994;9:47-59.

53. Heimbürger O, Waniewski J, Werynski A, Tranaeus A, Lindholm B: Peritoneal transport in CAPD patients with permanent loss of ultrafiltration capacity. *Kidney Int* 1990;38:495-506.
54. Heusser H, Werder H: Untersuchungen über Peritonealdialyse. *Bruns Beitr Klin Chir Bd* 1927;141:38-49.
55. Ho-dac Pannekeet MM, Atasever B, Struijk DG, Krediet RT: Analysis of ultrafiltration failure in peritoneal dialysis patients by means of standard peritoneal permeability analysis. *Perit Dial Int* 1997;17:144-150.
56. Ho-dac-Pannekeet MM, Schouten N, Langendijk MJ, Hiralall JK, de Waart DR, Struijk DG, Krediet RT: Peritoneal transport characteristics with glucose polymer based dialysate. *Kidney Int* 1996;50:979-986.
57. Holmes CJ: Biocompatibility of peritoneal dialysis solutions. *Perit Dial Int* 1993;13:88-94.
58. Holmes CJ: Peritoneal host defense mechanisms in peritoneal dialysis. *Kidney Int Suppl* 1994;48:S58-70.:S58-S70.
59. Imholz AL, Koomen GC, Struijk DG, Arisz L, Krediet RT: Effect of dialysate osmolarity on the transport of low-molecular weight solutes and proteins during CAPD. *Kidney Int* 1993;43:1339-1346.
60. Imholz AL, Koomen GC, Struijk DG, Arisz L, Krediet RT: Effect of dialysate osmolarity on the transport of low-molecular weight solutes and proteins during CAPD. *Kidney Int* 1993;43:1339-1346.
61. Imholz AL, Koomen GC, Struijk DG, Arisz L, Krediet RT: Fluid and solute transport in CAPD patients using ultralow sodium dialysate. *Kidney Int* 1994;46:333-340.
62. Ing TS, Zhou XJ, Yu AW, Zhou FQ, Vaziri ND: Effects of pyruvate-based or lactate-based peritoneal dialysis solutions on neutrophil intracellular pH. *Int J Artif Organs* 1997;20:255-260.
63. Jacobs I, Bast RC, Jr.: The CA 125 tumour-associated antigen: a review of the literature. *Hum Reprod* 1989;4:1-12.
64. Jones MR: Etiology of severe malnutrition: results of an international cross-sectional study in continuous ambulatory peritoneal dialysis patients. *Am J Kidney Dis* 1994;23:412-420.
65. Jones MR, Martis L, Algrim CE, Bernard D, Swartz R, Messana J, Bergstrom J, Lindholm B, Lim V, Serkes KD, .: Amino acid solutions for CAPD: rationale and clinical experience. *Miner Electrolyte Metab* 1992;18:309-315.
66. Jones S, Holmes CJ, Krediet RT, Mackenzie R, Faict D, Tranaeus A, Williams JD, Coles GA, Topley N: Bicarbonate/lactate-based peritoneal dialysis solution increases cancer antigen 125 and decreases hyaluronic acid levels. *Kidney Int* 2001;59:1529-1538.
67. Jones S, Holmes CJ, Mackenzie RK, Stead R, Coles GA, Williams JD, Faict D, Topley N: Continuous dialysis with bicarbonate/lactate-buffered peritoneal dialysis fluids results in a long-term improvement in ex vivo peritoneal macrophage function. *J Am Soc Nephrol* 2002;13 Suppl 1:S97-103.:S97-103.
68. Jorres A, Bender TO, Finn A, Witowski J, Frohlich S, Gahl GM, Frei U, Keck H, Passlick-Deetjen J: Biocompatibility and buffers: effect of bicarbonate-buffered peritoneal dialysis fluids on peritoneal cell function. *Kidney Int* 1998;54:2184-2193.
69. Jorres A, Gahl GM, Frei U: Peritoneal dialysis fluid biocompatibility: does it really matter? *Kidney Int Suppl* 1994;48:S79-86.:S79-S86.
70. Jorres A, Gahl GM, Ludat K, Frei U, Passlick-Deetjen J: In vitro biocompatibility evaluation of a novel bicarbonate-buffered amino-acid solution for peritoneal dialysis. *Nephrol Dial Transplant* 1997;12:543-549.

71. Jorres A, Gahl GM, Topley N, Neubauer A, Ludat K, Muller C, Passlick-Deetjen J: In-vitro biocompatibility of alternative CAPD fluids; comparison of bicarbonate-buffered and glucose-polymer-based solutions. *Nephrol Dial Transplant* 1994;9:785-790.
72. Kabawat SE, Bast RC, Jr., Bhan AK, Welch WR, Knapp RC, Colvin RB: Tissue distribution of a coelomic-epithelium-related antigen recognized by the monoclonal antibody OC125. *Int J Gynecol Pathol* 1983;2:275-285.
73. Kang DH, Hong YS, Lim HJ, Choi JH, Han DS, Yoon KI: High glucose solution and spent dialysate stimulate the synthesis of transforming growth factor-beta1 of human peritoneal mesothelial cells: effect of cytokine costimulation. *Perit Dial Int* 1999;19:221-230.
74. Kaysen GA: Hyperlipidemia of chronic renal failure. *Blood Purif* 1994;12:60-67.
75. Kjellstrand P, Martinson E, Wieslander A, Holmquist B: Development of toxic degradation products during heat sterilization of glucose-containing fluids for peritoneal dialysis: influence of time and temperature. *Perit Dial Int* 1995;15:26-32.
76. Kjellstrand P, Martinson E, Wieslander A, Kjellstrand K, Jeppsson E, Svensson E, Jarkelid L, Linden T, Olsson LF: Degradation in peritoneal dialysis fluids may be avoided by using low pH and high glucose concentration. *Perit Dial Int* 2001;21:338-344.
77. Koomen GC, Betjes MG, Zemel D, Krediet RT, Hoek FJ: Cancer antigen 125 is locally produced in the peritoneal cavity during continuous ambulatory peritoneal dialysis. *Perit Dial Int* 1994;14:132-136.
78. Kopple JD, Bernard D, Messana J, Swartz R, Bergstrom J, Lindholm B, Lim V, Brunori G, Leiserowitz M, Bier DM, .: Treatment of malnourished CAPD patients with an amino acid based dialysate. *Kidney Int* 1995;47:1148-1157.
79. Krediet RT: Evaluation of peritoneal membrane integrity. *J Nephrol* 1997;10:238-244.
80. Krediet RT: The physiology of peritoneal solute transport and ultrafiltration; in Gokal R, Khanna R, Krediet RT, Nolph KD (eds): *Textbook of Peritoneal Dialysis*. Kluwer Academic Publishers, 2000 pp 135-172.
81. Krediet RT: Dialysate cancer antigen 125 concentration as marker of peritoneal membrane status in patients treated with chronic peritoneal dialysis. *Perit Dial Int* 2001;21:560-567.
82. Krediet RT, Imholz AL, Struijk DG, Koomen GC, Arisz L: Ultrafiltration failure in continuous ambulatory peritoneal dialysis. *Perit Dial Int* 1993;13 Suppl 2:S59-66.:S59-S66.
83. Krediet RT, Struijk DG, Koomen GC, Arisz L: Peritoneal fluid kinetics during CAPD measured with intraperitoneal dextran 70. *ASAIO Trans* 1991;37:662-667.
84. Krediet RT, Zweers MM, Ho-dac-Pannekeet MM, van der Wal AC, Smit W, Douma CE, Mateijsen MA, Struijk DG: The effect of various dialysis solutions on peritoneal membrane viability. *Perit Dial Int* 1999;19 Suppl 2:S257-66.:S257-S266.
85. Lamb EJ, Cattell WR, Dawnay AB: In vitro formation of advanced glycation end products in peritoneal dialysis fluid. *Kidney Int* 1995;47:1768-1774.
86. Lewis SL, Norris PJ: Monocyte/macrophage function in CAPD patients. *Contrib Nephrol* 1990;85:1-9.:1-9.
87. Liberek T, Topley N, Jorres A, Coles GA, Gahl GM, Williams JD: Peritoneal dialysis fluid inhibition of phagocyte function: effects of osmolality and glucose concentration. *J Am Soc Nephrol* 1993;3:1508-1515.

88. Liberek T, Topley N, Jorres A, Petersen MM, Coles GA, Gahl GM, Williams JD: Peritoneal dialysis fluid inhibition of polymorphonuclear leukocyte respiratory burst activation is related to the lowering of intracellular pH. *Nephron* 1993;65:260-265.
89. Lin CY, Chen WP, Yang LY, Chen A, Huang TP: Persistent transforming growth factor-beta 1 expression may predict peritoneal fibrosis in CAPD patients with frequent peritonitis occurrence. *Am J Nephrol* 1998;18:513-519.
90. Lindholm B, Bergstrom J: Nutritional aspects on peritoneal dialysis. *Kidney Int Suppl* 1992;38:S165-71.:S165-S171.
91. Mackenzie RK, Holmes CJ, Moseley A, Jenkins JP, Williams JD, Coles GA, Faict D, Topley N: Bicarbonate/lactate- and bicarbonate-buffered peritoneal dialysis fluids improve ex vivo peritoneal macrophage TNFalpha secretion. *J Am Soc Nephrol* 1998;9:1499-1506.
92. Mackenzie RK, Jones S, Moseley A, Holmes CJ, Argyle R, Williams JD, Coles GA, Pu K, Faict D, Topley N: In vivo exposure to bicarbonate/lactate- and bicarbonate-buffered peritoneal dialysis fluids improves ex vivo peritoneal macrophage function. *Am J Kidney Dis* 2000;35:112-121.
93. Mactier RA, Sprosen TS, Gokal R, Williams PF, Lindbergh M, Naik RB, Wrege U, Grontoft KC, Larsson R, Berglund J, Tranaeus AP, Faict D: Bicarbonate and bicarbonate/lactate peritoneal dialysis solutions for the treatment of infusion pain. *Kidney Int* 1998;53:1061-1067.
94. Maher JF: Physiology of the peritoneum. Implications for peritoneal dialysis. *Med Clin North Am* 1990;74:985-996.
95. Maiorca R, Cancarini GC, Brunori G, Zubani R, Camerini C, Manili L, Movilli E: Comparison of long-term survival between hemodialysis and peritoneal dialysis. *Adv Perit Dial* 1996;12:79-88.:79-88.
96. Maiorca R, Cancarini GC, Zubani R, Camerini C, Manili L, Brunori G, Movilli E: CAPD viability: a long-term comparison with hemodialysis. *Perit Dial Int* 1996;16:276-287.
97. Martis L: Industry perspectives on biocompatibility of peritoneal dialysis solutions. *Perit Dial Int* 1995;15:S96-S99.
98. McGregor SJ, Topley N, Jorres A, Speekenbrink AB, Gordon A, Gahl GM, Junor BJ, Briggs JD, Brock JH: Longitudinal evaluation of peritoneal macrophage function and activation during CAPD: maturity, cytokine synthesis and arachidonic acid metabolism. *Kidney Int* 1996;49:525-533.
99. Mettang, T., Lange, C., Mackenzie, R. K., Schaub, T. P., Passlick-Deetjen, J., and Topley, N. European Balance Trial (EBT): Anstieg des CA 125 und Reduktion des Hyaluronans (HA) im Effluat unter Behandlung mit der GDP(Glukoseabbauprodukte)-erniedrigten PD-Lösung "Balance". 2002. 33. Kongress der Gesellschaft für Nephrologie. 28-10-2002.
100. Milutinovic J, Cutler RE, Hoover P, Meijssen B, Scribner BH: Measurement of residual glomerular filtration rate in the patient receiving repetitive hemodialysis. *Kidney Int* 1975;8:185-190.
101. Monquil MC, Imholz AL, Struijk DG, Krediet RT: Does impaired transcellular water transport contribute to net ultrafiltration failure during CAPD? *Perit Dial Int* 1995;15:42-48.
102. Musi B, Carlsson O, Rippe A, Wieslander A, Rippe B: Effects of acidity, glucose degradation products, and dialysis fluid buffer choice on peritoneal solute and fluid transport in rats. *Perit Dial Int* 1998;18:303-310.
103. Nakayama M, Ikeda M, Katoh N, Hayakawa H, Numata M, Otsuka Y, Yamamoto R, Yamamoto H, Yokoyama K, Kubo H, Kawaguchi Y, Hosoya T: [Long-standing high-transport membrane as a risk factor for EPS development after PD withdrawal: an analysis based on changes in peritoneal function during and after CAPD withdrawal]. *Nippon Jinzo Gakkai Shi* 2002;44:396-401.

104. Nebel M: Behandlungskosten der Nierenersatztherapie in Deutschland 1999. *Nieren-und Hochdruckkrankheiten* 2002;3:85-92.
105. Nilsson-Thorell CB, Muscalu N, Andren AH, Kjellstrand PT, Wieslander AP: Heat sterilization of fluids for peritoneal dialysis gives rise to aldehydes. *Perit Dial Int* 1993;13:208-213.
106. Odel HM, Ferris DO, Power MH: Peritoneal lavage as an effective means of extrarenal excretion. *Am J Med* 1950;9:63-77.
107. Oreopoulos DG, Robson M, Izatt S, Clayton S, deVeber GA: A simple and safe technique for continuous ambulatory peritoneal dialysis (CAPD). *Trans Am Soc Artif Intern Organs* 1978;24:484-489.
108. Orlow W: Einige Versuche über die Resorption in der Bauchhöhle. *Arch F Phys Pflüger* 1895;59:170.
109. Ota K, Mineshima M, Watanabe N, Naganuma S: Functional deterioration of the peritoneum: does it occur in the absence of peritonitis? *Nephrol Dial Transplant* 1987;2:30-33.
110. Pannekeet MM, Imholz AL, Struijk DG, Koomen GC, Langedijk MJ, Schouten N, de Waart R, Hiralall J, Krediet RT: The standard peritoneal permeability analysis: a tool for the assessment of peritoneal permeability characteristics in CAPD patients. *Kidney Int* 1995;48:866-875.
111. Pannekeet MM, Mulder JB, Weening JJ, Struijk DG, Zweers MM, Krediet RT: Demonstration of aquaporin-CHIP in peritoneal tissue of uremic and CAPD patients. *Perit Dial Int* 1996;16 Suppl 1:S54-7.:S54-S57.
112. Park MS, Heimburger O, Waniewski J, Werynski A, Lee HB, Bergstrom J, Lindholm B: The effect of dialysate acidity on peritoneal solute transport in the rat. *Perit Dial Int* 1995;15:312-319.
113. Park MS, Lee HB: AGE accumulation in peritoneal membrane and cavity during peritoneal dialysis and its effect on peritoneal structure and function. *Perit Dial Int* 1999;19 Suppl 2:S53-7.:S53-S57.
114. Passlick-Deetjen J, Chlebowski H, Koch M, Grabensee B: Changes of peritoneal membrane function during long-term CAPD. *Adv Perit Dial* 1990;6:35-43.:35-43.
115. Pecoits-Filho R, Araujo MR, Lindholm B, Stenvinkel P, Abensur H, Romao JE, Jr., Marcondes M, De Oliveira AH, Noronha IL: Plasma and dialysate IL-6 and VEGF concentrations are associated with high peritoneal solute transport rate. *Nephrol Dial Transplant* 2002;17:1480-1486.
116. Plum J, Buntgen B, Nemeth R, Grabensee B: Effects of the angiotensin II antagonist valsartan on blood pressure, proteinuria, and renal hemodynamics in patients with chronic renal failure and hypertension. *J Am Soc Nephrol* 1998;9:2223-2234.
117. Plum J, Fuscholler A, Schoenicke G, Busch T, Erren C, Fieseler C, Kirchgessner J, Passlick-Deetjen J, Grabensee B: In vivo and in vitro effects of amino-acid-based and bicarbonate-buffered peritoneal dialysis solutions with regard to peritoneal transport and cytokines/prostanoids dialysate concentrations. *Nephrol Dial Transplant* 1997;12:1652-1660.
118. Plum J, Gentile S, Verger C, Brunkhorst R, Bahner U, Faller B, Peeters J, Freida P, Struijk DG, Krediet RT, Grabensee B, Tranaeus A, Filho JC: Efficacy and safety of a 7.5% icodextrin peritoneal dialysis solution in patients treated with automated peritoneal dialysis. *Am J Kidney Dis* 2002;39:862-871.
119. Plum J, Hermann S, Fuscholler 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 Suppl* 2001;78:S42-7.:S42-S47.
120. Plum J, Razeghi P, Lordnejad RM, Perniok A, Fleisch M, Fuscholler A, Schneider M, Grabensee B: Peritoneal dialysis fluids with a physiologic pH based on either lactate or bicarbonate buffer-effects on human mesothelial cells. *Am J Kidney Dis* 2001;38:867-875.

-
121. Plum J, Schoenicke G, Grabensee B: Osmotic agents and buffers in peritoneal dialysis solution: monocyte cytokine release and in vitro cytotoxicity. *Am J Kidney Dis* 1997;30:413-422.
 122. Popovich RP, Moncrief JW, Nolph KD, Ghods AJ, Twardowski ZJ, Pyle WK: Continuous ambulatory peritoneal dialysis. *Ann Intern Med* 1978;88:449-456.
 123. Popovich RP, Pyle WK, Moncrief JW: Kinetics of peritoneal transport; in Nolph KD (ed): *Peritoneal Dialysis*. Boston, Martinus Nijhoff, 1981 pp 79-123.
 124. Putnam: The living peritoneum as a dialyzing membrane. *Am J Physiol* 1922;63:548.
 125. Randerson DH, Chapman PC, Farrell PC: *Peritoneal Dialysis* Edinburgh, Churchill-Livingstone, 1981.
 126. Randersson DH, Farrell PC: Mass transfer properties of the human peritoneum. *ASAIO J* 1980;3:140-6.
 127. Razeghi, P. In vitro und ex vivo Einfluß handelsüblicher und alternativer Peritonealdialysate auf die Zellvitalität und -Funktion von humanen peritonealen Mesothelzellen und Peritonealmakrophagen. Dissertation . 1999. Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf, Abteilung für Nephrologie und Rheumatologie.
 128. Renck H, Ljungstrom KG, Hedin H, Richter W: Prevention of dextran-induced anaphylactic reactions by hapten inhibition. III. A Scandinavian multicenter study on the effects of 20 ml dextran 1, 15%, administered before dextran 70 or dextran 40. *Acta Chir Scand* 1983;149:355-360.
 129. Ring J, Messmer K: Incidence and severity of anaphylactoid reactions to colloid volume substitutes. *Lancet* 1977;1:466-469.
 130. Rippe B: A three-pore model of peritoneal transport. *Perit Dial Int* 1993;13 Suppl 2:S35-8.:S35-S38.
 131. Rippe B: How to measure ultrafiltration failure: 2.27% or 3.86% glucose? *Perit Dial Int* 1997;17:125-128.
 132. Rippe B, Simonsen O, Heimburger O, Christensson A, Haraldsson B, Stelin G, Weiss L, Nielsen FD, Bro S, Friedberg M, Wieslander A: Long-term clinical effects of a peritoneal dialysis fluid with less glucose degradation products. *Kidney Int* 2001;59:348-357.
 133. Rippe B, Simonsen O, Wieslander A, Landgren C: Clinical and physiological effects of a new, less toxic and less acidic fluid for peritoneal dialysis. *Perit Dial Int* 1997;17:27-34.
 134. Sanusi AA, Zweers MM, Weening JJ, de Waart DR, Struijk DG, Krediet RT: Expression of cancer antigen 125 by peritoneal mesothelial cells is not influenced by duration of peritoneal dialysis. *Perit Dial Int* 2001;21:495-500.
 135. Schalkwijk CG, Posthuma N, ten Brink HJ, ter Wee PM, Teerlink T: Induction of 1,2-dicarbonyl compounds, intermediates in the formation of advanced glycation end-products, during heat-sterilization of glucose-based peritoneal dialysis fluids. *Perit Dial Int* 1999;19:325-333.
 136. Schmitt CP, Haraldsson B, Doetschmann R, Zimmering M, Greiner C, Boswald M, Klaus G, Passlick-Deetjen J, Schaefer F: Effects of pH-neutral, bicarbonate-buffered dialysis fluid on peritoneal transport kinetics in children. *Kidney Int* 2002;61:1527-1536.
 137. Selgas R, Bajo MA, Fernandez-Reyes MJ, Jimenez C, Del Peso G, Sanchez C, De Alvaro F: Peritoneal functional changes induced by dialysate containing bicarbonate instead of lactate. *Adv Perit Dial* 1996;12:49-52.:49-52.
 138. Selgas R, Bajo MA, Paiva A, Del Peso G, Diaz C, Aguilera A, Hevia C: Stability of the peritoneal membrane in long-term peritoneal dialysis patients. *Adv Ren Replace Ther* 1998;5:168-178.

139. Selgas R, Fernandez-Reyes MJ, Bosque E, Bajo MA, Borrego F, Jimenez C, Del Peso G, De Alvaro F: Functional longevity of the human peritoneum: how long is continuous peritoneal dialysis possible? Results of a prospective medium long-term study. *Am J Kidney Dis* 1994;23:64-73.
140. Slingeneyer A, Mion C, Mourad G, Canaud B, Faller B, Beraud JJ: Progressive sclerosing peritonitis: a late and severe complication of maintenance peritoneal dialysis. *Trans Am Soc Artif Intern Organs* 1983;29:633-40.:633-640.
141. Smeby LC, Wideroe T-E, Joerstad S: Individual differences in water transport during continuous peritoneal dialysis. *ASAIO J* 1981;4:27.
142. Spital A, Sterns RH: Potassium supplementation via the dialysate in continuous ambulatory peritoneal dialysis. *Am J Kidney Dis* 1985;6:173-176.
143. Starling E, Tubby A: On absorption from and secretion into the serous cavities. *J Physiol (London)* 1894;16:140.
144. Struijk DG, Bakker JC, Krediet RT, Koomen GC, Stekkinger P, Arisz L: Effect of intraperitoneal administration of two different batches of albumin solutions on peritoneal solute transport in CAPD patients. *Nephrol Dial Transplant* 1991;6:198-202.
145. Struijk DG, Krediet RT, Koomen GC, Boeschoten EW, Hoek FJ, Arisz L: A prospective study of peritoneal transport in CAPD patients. *Kidney Int* 1994;45:1739-1744.
146. Tanna MM, Vonesh EF, Korbet SM: Patient survival among incident peritoneal dialysis and hemodialysis patients in an urban setting. *Am J Kidney Dis* 2000;36:1175-1182.
147. Tenckhoff H, Schechter H: A bacteriologically save access decive for repeated peritoneal dialysis. *Trans Am Soc Artif Intern Organs* 1968;14:181.
148. Topley N: What is the ideal technique for testing the biocompatibility of peritoneal dialysis solutions? *Perit Dial Int* 1995;15:205-209.
149. Topley N: In vitro biocompatibility of bicarbonate-based peritoneal dialysis solutions. *Perit Dial Int* 1997;17:42-47.
150. Topley N, Alobaidi HM, Davies M, Coles GA, Williams JD, Lloyd D: The effect of dialysate on peritoneal phagocyte oxidative metabolism. *Kidney Int* 1988;34:404-411.
151. Topley N, Coles GA, Williams JD: Biocompatibility studies on peritoneal cells. *Perit Dial Int* 1994;14 Suppl 3:S21-S28.
152. Topley N, Jorres A, Luttmann W, Petersen MM, Lang MJ, Thierauch KH, Muller C, Coles GA, Davies M, Williams JD: Human peritoneal mesothelial cells synthesize interleukin-6: induction by IL-1 beta and TNF alpha. *Kidney Int* 1993;43:226-233.
153. Topley N, Williams JD: Role of the peritoneal membrane in the control of inflammation in the peritoneal cavity. *Kidney Int Suppl* 1994;48:S71-8.:S71-S78.
154. Tranaeus A: A long-term study of a bicarbonate/lactate-based peritoneal dialysis solution--clinical benefits. The Bicarbonate/Lactate Study Group. *Perit Dial Int* 2000;20:516-523.
155. Twardowski ZJ: Clinical value of standardized equilibration tests in CAPD patients. *Blood Purif* 1989;7:95-108.
156. Twardowski ZJ, Khanna R, Nolph KD: Osmotic agents and ultrafiltration in peritoneal dialysis. *Nephron* 1986;42:93-101.

157. Twardowski ZJ, Nolph KD, Khanna R, Prowant BF, Ryan LP, Moore H.L., et al.: Peritoneal equilibration test. *Peritoneal dialysis bulletin* 1987;7:138-147.
158. van der Burg ME, Lammes FB, Verweij J: CA 125 in ovarian cancer. *Neth J Med* 1992;40:36-51.
159. Vaziri ND, Ness R, Wellikson L, Barton C, Greep N: Bicarbonate-buffered peritoneal dialysis. An effective adjunct in the treatment of lactic acidosis. *Am J Med* 1979;67:392-396.
160. Virga G, Amici G, da Rin G, Vianello A, Calconi G, da Porto A, Bocci C: Comparison of fast peritoneal equilibration tests with 1.36 and 3.86% dialysis solutions. *Blood Purif* 1994;12:113-120.
161. Visser CE, Brouwer-Steenbergen JJ, Betjes MG, Koomen GC, Beelen RH, Krediet RT: Cancer antigen 125: a bulk marker for the mesothelial mass in stable peritoneal dialysis patients. *Nephrol Dial Transplant* 1995;10:64-69.
162. Wang T, Cheng HH, Liu SM, Wang Y, Wu JL, Peng W, X, Zhong JH, Lindholm B: Increased peritoneal membrane permeability is associated with abnormal peritoneal surface layer. *Perit Dial Int* 2001;21 Suppl 3:S345-8.:S345-S348.
163. Wang T, Heimbürger O, Cheng HH, Bergström J, Lindholm B: Does a high peritoneal transport rate reflect a state of chronic inflammation? *Perit Dial Int* 1999;19:17-22.
164. Waniewski J, Heimbürger O, Werynski A, Lindholm B: Diffusive mass transport coefficients are not constant during a single exchange in continuous ambulatory peritoneal dialysis. *ASAIO J* 1996;42:M518-M523.
165. Waniewski J, Werynski A, Heimbürger O, Lindholm B: Simple models for description of small-solute transport in peritoneal dialysis. *Blood Purif* 1991;9:129-141.
166. Waniewski J, Werynski A, Lindholm B: Effect of blood perfusion on diffusive transport in peritoneal dialysis. *Kidney Int* 1999;56:707-713.
167. Watson PE, Watson ID, Batt RD: Total body water volumes for adult males and females estimated from simple anthropometric measurements. *Am J Clin Nutr* 1980;33:27-39.
168. Wieslander A, Linden T, Musi B, Carlsson O, Deppisch R: Biological significance of reducing glucose degradation products in peritoneal dialysis fluids. *Perit Dial Int* 2000;20 Suppl 5:S23-S27.
169. Williams JD: Biocompatibility in peritoneal dialysis: definitions and mechanisms. *Perit Dial Int* 1995;15:S5-S8.
170. Yang B, Folkesson HG, Yang J, Matthay MA, Ma T, Verkman AS: Reduced osmotic water permeability of the peritoneal barrier in aquaporin-1 knockout mice. *Am J Physiol* 1999;276:C76-C81.
171. Yatzidis H: A new stable bicarbonate dialysis solution for peritoneal dialysis: preliminary report. *Perit Dial Int* 1991;11:224-227.
172. Yatzidis H: Enhanced ultrafiltration in rabbits with bicarbonate glycylglycine peritoneal dialysis solution. *Perit Dial Int* 1993;13:302-306.
173. Young GA, Kopple JD, Lindholm B, Vonesh EF, De Vecchi A, Scalamogna A, Castelnova C, Oreopoulos DG, Anderson GH, Bergström J, .: Nutritional assessment of continuous ambulatory peritoneal dialysis patients: an international study. *Am J Kidney Dis* 1991;17:462-471.
174. Zeillemaker AM, Verbrugh HA, Hoyneck van Papendrecht AA, Leguit P: CA 125 secretion by peritoneal mesothelial cells. *J Clin Pathol* 1994;47:263-265.
175. Zhou FQ: Advantages of pyruvate over lactate in peritoneal dialysis solutions. *Acta Pharmacol Sin* 2001;22:385-392.

176. Zhou XJ, Yu AW, Zhou FQ, Ryu J, Ing TS, Vaziri ND: Effects of an acidic, lactate-based peritoneal dialysis solution and its euhydic, bicarbonate-based counterpart on neutrophilic intracellular pH. *Int J Artif Organs* 1993;16:816-819.
177. Zweers MM, de Waart DR, Smit W, Struijk DG, Krediet RT: Growth factors VEGF and TGF-beta1 in peritoneal dialysis. *J Lab Clin Med* 1999;134:124-132.

7.2 Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Kostenvergleich der verschiedenen Behandlungsverfahren der terminalen Niereninsuffizienz in Deutschland im Jahr 1999. Aufgezeigt sind die Therapiekosten pro Patient und Jahr [128]. HD = Hämodialyse, HHD = Heimhämodialyse, NT = Nierentransplantation	2
Abbildung 2: Prozentualer Anteil der der Patienten an der PD im Jahr 1996 [2].	3
Abbildung 3: Schematische Darstellung anatomischen Strukturen und der Katheterlage.	4
Abbildung 4: Schematische Darstellung der heute verwendeten verschiedenen Modelle von Peritonealdialysekathetern. Die intraperitoneal gelegenen Segmente können mit den extraperitoneal gelegenen Anteilen kombiniert werden. In der Heinrich-Heine-Universität wird, wie in vielen anderen Zentren auch, der Oreopoulos-Zellermann-Katheter mit zwei Dacron-Muffen und geradem Überleitungsstück implantiert [43].	5
Abbildung 5: Die verschiedenen Peritonealdialyseverfahren CAPD, CCPD, NIPD und IPD sind hier anhand der intraabdominalen Volumenkurve schematisch dargestellt. Anzahl, Dauer und Volumen eines Füllzyklus sind individuell verschieden (nach Khanna <i>et al.</i>).....	7
Abbildung 6: Histologischer Bau der Peritonealmembran	8
Abbildung 7: Dreiporenmodell der Peritonealmembran (frei nach Rippe <i>et al.</i>).....	9
Abbildung 8: Wege und Mechanismen des peritonealen Stoff- und Flüssigkeitstransports.....	10
Abbildung 9: Infektionswege der peritonealen Kontamination durch Mikroorganismen[44].	12
Abbildung 10: Peritoneale Immunabwehr und deren Mediatoren (vereinfachtes Schema).....	18
Abbildung 11: Ultrafiltrationsprofil unterschiedlicher osmotischer Agenzien	22
Abbildung 12: Schema eines Doppelkammerbeutels	26
Abbildung 13: Studiendesign zur Evaluation von Unterschieden zwischen einer herkömmlichen Laktat gepufferten, sauren Lösung und einer pH neutralen Bikarbonat/Laktat gepufferten Dialysat.	30
Abbildung 14: Isolation humaner Blutmonozyten aus Vollblutkonserven.	48
Abbildung 15: Zur Ermittlung des "respiratory burst" werden die relativen Lichteinheiten (RLU) der mit ST-Zymosan stimulierten Probe und des Referenzansatzes gegen die Zeit aufgetragen. Die Fläche unter der Kurve (AUC) im Messintervall von einer Stunde gibt die Aktivität des respiratory burst wieder.....	51
Abbildung 16: Aus dem Auslaufdialysat isolierte PM Φ nach Diff-Quick-Färbung. Die Zymosanpartikel stellen sich wie „Spiegeleier“ als Zytoplasmaaussparung dar (Vergrößerung: 1000fach).	52
Abbildung 17: Prinzip eines ELISA	55
Abbildung 18: Funktionsweise eines kompetitiven ELISA.....	56
Abbildung 19: Darstellung des Massentransferflächenkoeffizienten für Kreatinin [ml/min] für den Equilibrationszeitpunkt 60 Minuten nach Berechnung mit dem Modell nach Popovich und Pyle (Mittelwerte \pm Standardabweichung).....	60

Abbildung 20: Darstellung des Massentransferflächenkoeffizienten von Kreatinin [ml/min] für den Equilibrationszeitpunkt 60 Minuten nach Berechnung mit dem von Krediet vereinfachten Modell nach Garred (Mittelwerte \pm Standardabweichung).....	61
Abbildung 21 und 22: Darstellung des Massentransferflächenkoeffizienten von Kreatinin [ml/min] für den Equilibrationszeitpunkt 60 Minuten nach Berechnung mit dem Modell nach Waniewski <i>et al.</i> (Mittelwerte \pm Standardabweichung).....	62
Abbildung 23: Darstellung des Massentransferflächenkoeffizienten von Kalium [ml/min] für den Equilibrationszeitpunkt 60 Minuten nach Berechnung mit dem Modell nach Popovich und Pyle (Mittelwerte \pm Standardabweichung).....	63
Abbildung 24: Darstellung des Massentransferflächenkoeffizienten von Kalium [ml/min] für den Equilibrationszeitpunkt 60 Minuten nach Berechnung mit dem von Krediet vereinfachten Modell nach Garred (Mittelwerte \pm Standardabweichung).....	64
Abbildung 25: Darstellung der D/P_{ratio} von Kreatinin für den Equilibrationszeitpunkt 60 Minuten (Mittelwerte \pm Standardabweichung).....	66
Abbildung 26: Darstellung der D/P_{ratio} von Harnstoff für den Equilibrationszeitpunkt 60 Minuten (Mittelwerte \pm Standardabweichung).....	66
Abbildung 27: Darstellung der D/P_{ratio} des anorganischen Phosphates für den Equilibrationszeitpunkt 60 Minuten (Mittelwerte \pm Standardabweichung).....	67
Abbildung 28: Darstellung der D/P_{ratio} von Kalium für den Equilibrationszeitpunkt 60 Minuten (Mittelwerte \pm Standardabweichung).....	68
Abbildung 29: Darstellung der Glucosekonzentration [mg/ml] relativ zur Ausgangskonzentration (Mittelwerte \pm Standardabweichung).....	69
Abbildung 30: Darstellung des intraperitonealen Volumens während des 4stündigen PET (Mittelwert \pm Standardabweichung).....	70
Abbildung 31: Darstellung der transkapillären Ultrafiltration während des 4stündigen PET-Test (Mittelwert \pm Standardabweichung).....	71
Abbildung 32: Darstellung der effektiven Ultrafiltration während des 4stündigen PET (Mittelwert \pm Standardabweichung).....	71
Abbildung 33: Darstellung des Aquaporin vermittelten freien Wassertransportes nach 60 Minuten intraperitonealer Verweilzeit (Mittelwert \pm Standardabweichung).....	72
Abbildung 34: Darstellung der effektiven lymphatischen Absorptionsrate während des 4stündigen PET-Test (Mittelwert \pm Standardabweichung).....	73
Abbildung 35: Darstellung der Restdiurese über 24 Stunden (Mittelwert \pm Standardabweichung).....	74
Abbildung 36: Darstellung der Glucosebelastung über 24 Stunden (Mittelwert \pm Standardabweichung; n = 11).	75
Abbildung 37: Darstellung der Ultrafiltration über 24 Stunden (Mittelwert \pm Standardabweichung; n = 11)	76
Abbildung 38: Darstellung der Ultrafiltration am Cycler (Mittelwert \pm Standardabweichung; n = 11).....	77
Abbildung 39: Darstellung der wöchentlichen Kreatininclearance (renal und peritoneal) (Mittelwert \pm Standardabweichung).....	79
Abbildung 40: Darstellung des Kt/V (Mittelwert \pm Standardabweichung).....	80

Abbildung 41: Darstellung der “normalized protein catabolic rate“ (Mittelwert ± Standardabweichung).....	80
Abbildung 42: Darstellung der pH-Equilibration im Dialysat des PET-Testbeutels in den ersten 2 Stunden (Mittelwert ± Standardabweichung) * = $p < 0,01$	81
Abbildung 43: Anzahl der aus den gebrauchten Dialysaten mit 6stündiger intraperitonealer Verweilzeit isolierten Zellen. Angegeben sind die Mittelwerte ± Standardabweichung der Gruppen Bik./Lak. und Laktat nach 1 und 5 Monaten Therapiezeit und deren Durchschnittswert über diesen Zeitraum.....	82
Abbildung 44: Dargestellt ist der prozentuale Anteil von 2 mal 200 lichtmikroskopisch ausgezählten PMΦ, die nach 30minütiger Inkubation mit STZ ein oder mehrere Partikel phagozytiert haben (Mittelwerte ± Standardabweichung).....	83
Abbildung 45: Darstellung des respiratory burst, ermittelt aus der Differenz der AUC von stimulierten und nicht stimulierten PMΦ (Mittelwert ± Standardabweichung).....	84
Abbildung 46: Zellvitalität der humanen Blutmonozyten nach 60minütiger Inkubation mit Dialysaten unterschiedlicher Equilibrationszeiten (Mittelwert ± Standardabweichung, n = 12).	85
Abbildung 47: IL-6 Konzentration im Kulturüberstand nach 60minütiger Inkubation der Zellen mit Dialysaten und Medium und anschließender 18stündiger Groth Arrest Phase ohne und mit LPS Stimulation. (Mittelwert ± Standardabweichung, n = 12, Dialysat 0 min und RPMI+ Dextran und Glucose n = 4).....	86
Abbildung 48: IL-6-Konzentration im Dialysat eines 3,86 % Glucosebeutels nach 15, 120 und 240 Minuten Verweilzeit (Mittelwert ± Standardabweichung; n = 11).....	87
Abbildung 49: IL-6-Konzentration im Auslaufdialysat des 6 Stunden-Beutels (Mittelwert ± Standardabweichung) * = Wilcoxon-Test.....	88
Abbildung 50: Darstellung der IL-6 –Konzentration im Serum (Mittelwert ± Standardabweichung).	89
Abbildung 51: Darstellung der CA 125 Konzentration im Dialysat (Mittelwert ± Standardabweichung).	90
Abbildung 52: Darstellung der TGF-β1 –Konzentration im Dialysat (Mittelwert ± Standardabweichung).....	91
Abbildung 53: Darstellung der “AGEs“ Konzentration im Dialysat (Mittelwert ± Standardabweichung).	92
Abbildung 54: Darstellung der Aquaporin-1 Konzentration im Dialysat (Mittelwert ± Standardabweichung). .	93
Abbildung 55: Darstellung der Mikro-CRP Konzentration im Dialysat (Mittelwert ± Standardabweichung)....	94
Abbildung 56: Darstellung der Schmerzintensität bei Dialysateinlauf (Mittelwert ± Standardabweichung).	95

7.3 Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Grunderkrankungen der Studienpatienten.....	32
Tabelle 2: Anthropometrische Daten und klinische Daten der Dialyseeffektivität bei den Patienten mit Beginn der Studie.....	32
Tabelle 3: Inhaltsstoffe von Dianeal® PD4 und Physioneal® (Quelle: Baxter).....	34
Tabelle 4: Zusammensetzung der gebrauchsfertigen Lösungen in mmol/l (Quelle: Baxter).....	34
Tabelle 5: Zusätze zum Zellkulturmedium RPMI 1640.....	45
Tabelle 6: Zusammensetzung des KRPG-Puffers.....	46
Tabelle 7: Ergebnisse der Blutgasanalyse (Mittelwerte ± Standardabweichung).....	78
Tabelle 8: Zusammenfassung der Ergebnisse zur Untersuchung des peritonealem Stoff- und Flüssigkeitstransports.....	117
Tabelle 9: Zusammenfassung der Ergebnisse zur Untersuchung der Biokompatibilität und peritonealen Immunabwehr.....	118

7.4 Formelverzeichnis

$\text{NADPH} + 2 \text{O}_2 \rightarrow \text{NADP}^+ + \text{H}^+ + 2 \text{O}_2^-$ Formel 1	19
$2 \text{O}_2^- + 2 \text{H}^+ \rightarrow \text{H}_2\text{O}_2 + \text{O}_2$ Formel 2	19
$\text{O}_2^- + \text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow \text{OH}^\bullet + \text{OH}^- + \text{O}_2$	
$\text{CH}_3\text{CH}(\text{OH})\text{COONa} + \text{H}_2\text{CO}_3 \rightarrow \text{CH}_3\text{CH}(\text{OH})\text{COOH} + \text{NaHCO}_3$ Formel 3	24
$\text{NaHCO}_3 + \text{CaCO}_3 \rightarrow \text{CaCO}_3 \downarrow + \text{NaCl} + \text{HCl}$ Formel 4	25
$St = \frac{K_d}{\Delta x} \times A \times \Delta C$ Formel 5	36
$MTAC[\text{ml} / \text{min}] = \frac{V_d}{t} \times \ln\left(\frac{V_i \times P}{V_d \times (P - D_t)}\right)$ Formel 6	36
$MTAC[\text{ml} / \text{min}] = \frac{V_m}{t} \times \ln\left(\frac{V_{10}^{1-F} \times (P - D_{10})}{V_t^{1-F} \times (P - D_t)}\right)$ Formel 7	37
$MTAC[\text{ml} / \text{min}] = \frac{V_g}{t} \times \ln\left(\frac{1 - \frac{D_t}{P}}{1 - \frac{V_{ir} \times D_0}{V_g \times P}}\right)$ Formel 8	37

$$RV[ml] = \frac{V_{rs} \times C_{rs}}{C_{ts}} \quad \text{Formel 9} \dots\dots\dots 38$$

$$TCUF_t[ml] = \frac{C_{15} \times V_i}{C_t} - V_i \quad \text{Formel 10} \dots\dots\dots 38$$

$$ELAR_t[ml / min] = \frac{D_i - D_t}{C_{geom} \times t} \quad \text{Formel 11} \dots\dots\dots 39$$

$$FWT[ml] = \frac{Na_0 \times V_i}{Na_t} - V_i \quad \text{Formel 12} \dots\dots\dots 39$$

$$Cw_{Krea.}[l/Woche] = (Cr_{Krea.} + Cp_{Krea.}) \times 10,08 \quad \text{Formel 13} \dots\dots\dots 41$$

$$Cr_{Krea.}[ml / min] = \left(\frac{U_{Krea.} \times V_U}{P_{Krea.} \times t} + \frac{U_{Harnst.} \times V_U}{P_{Harnst.} \times t} \right) \div 2 \quad \text{Formel 14} \dots\dots\dots 41$$

$$Cp_{Krea.}[ml / min] = \frac{D_{Krea.} \times D_{Vol.}}{P_{Krea.} \times t} \quad \text{Formel 15} \dots\dots\dots 42$$

$$Kt / V = \left[\frac{U_{Harnst.} \times V_U}{P_{Harnst.}} + \frac{D_{Harnst.}^2}{P_{Harnst.}} \right] \div V_{Harnst.} \quad \text{Formel 16} \dots\dots\dots 42$$

Frauen:

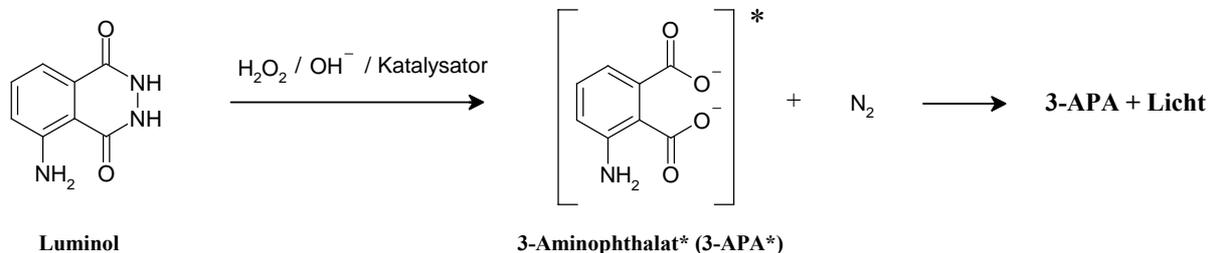
$$V_{Harnst.} = -2,097 + (0,1069 \times Gr\ddot{o}\beta e[kg]) + (0,2466 \times Gewicht[kg])$$

Männer:

$$V_{Harnst.} = 2,447 - (0,09516 \times Alter[Jahre]) + (0,1074 \times Gr\ddot{o}\beta e[cm]) + (0,3362 \times Gewicht[kg])$$

$$\text{Formel 17} \dots\dots\dots 43$$

$$nPCR = 10,76 \times (G_{Harnst.} + 1,46) \div V_{Harnst.} \quad \text{Formel 18} \dots\dots\dots 43$$



$$\text{Formel 19} \dots\dots\dots 50$$

7.5 Glossar

APD.....	A utomatisierte P eritoneal d ialyse
AUC.....	Fläche unter der Kurve (a rea u nder the c urve)
B.....	B ikarbonat
BC.....	Dialysatsammlung (b atch c ollection)
BGA.....	B lutgas a nalyse
BIA.....	B ioelektrische I mpedanz a nalyse
Bik.....	B ikarbonat
BSA.....	Körperoberfläche (B ody s urface a rea)
CAPD.....	Kontinuierliche ambulante Peritonealdialyse (c ontinuous a mbulatory p eritoneal d ialysis)
CCPD.....	Kontinuierlich zyklische Peritonealdialyse (c ontinuous c yclic p eritoneal d ialysis)
C _{W_{Krea}}	wöchentliche K reatin i n c learance
Da.....	D alton
DOQI.....	
ELAR.....	E ffektive lymphatische A bsorptionsrate
et al.....	und weitere
EUF.....	E ffektive U ltrafiltration
FCS.....	Fetales Kälber Serum (f oetal c alf s erum)
FWT.....	F reier W asser t ransport
Glu.....	G lucose
HD.....	H ämodialyse
HHD.....	H eim h ämodialyse
HPLC.....	h igh p erformance l iquid c hromatograph i e
ICAM.....	inter-cellular a dhesion m olecule
IL.....	I nterleukin
IPD.....	Intermittierende Peritonealdialyse (i ntermittent p eritoneal d ialysis)
IPV.....	I ntraperitoneales V olumen
IU.....	international U nit

IU	Internationale Einheit (international unit)
Kap.	Kapitel
KRPG	Krebs-Ringer-Phosphat-Puffer
Kt/V	Harnstoffclearance
L	Laktat
LA	Lymphatische Absorption
Lak	Laktat
LPS	Lipopolysaccharid
MG	Molekulargewicht
min	Minute(n)
mmol	Millimol
MTAC	Massentransferflächenkoeffizient (mass transfer area coefficient)
n.s.	nicht signifikant
NADPH	Nicotinamadenindinucleotidphosphat Wasserstoff (H)
NIPD	Nächtliche intermittierende Peritonealdialyse (nightly intermitted peritoneal dialysis)
NT	Nierentransplantation
p	Signifikanzniveau
PBS	phosphate buffered saline
pCO ₂	CO₂ Partialdruck
PD	Peritonealdialyse
PET	Peritonealer Equilibrationstest
PG	Prostaglandin
PMΦ	Peritoneale Makrophagen
PV	Probenvolumen
RLU	relative light units
RPMI	Roswell Park Memorial Institute
RV	Residualvolumen
SBC	standard bicarbonate (corrected)
SBE	standard base excess
ST	in Serum inkubiert (serum treated)
Std.	Stunde(n)

t.....	Zeit
TCUF.....	Transkapilläre Ultrafiltration (transcapillary ultrafiltration)
TNF.....	Tumor Nekrose Faktor
UF.....	Ultrafiltration
V.....	Volumen
VCAM.....	vascular cell adhesion molecule

7.6 Danksagung

Dem Direktor der Klinik für Nephrologie und Rheumatologie der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf, Herrn Professor Dr. med. B. Grabensee danke ich für die Möglichkeit der Durchführung meiner Arbeit in seiner Abteilung.

Mein ganz persönlicher Dank gilt meinem Doktorvater Herrn Professor Dr. med. J. Plum für sein Vertrauen, mir diese interessante Arbeit zu überlassen. Seine freundliche Art und offenkundiges Interesse an diesem Thema prägten das Arbeitsklima nachhaltig. Er begleitete mich mit seiner stets umfangreichen Unterstützung und ständigen Diskussionsbereitschaft über den gesamten Zeitraum meiner Arbeit. Seine gewissenhafte Förderung ermöglichte mir den Einstieg in wissenschaftliches Arbeiten, auch über diese Arbeit hinaus.

Herr Dr. med. A. Fußhöller war mit der klinischen Betreuung der Patienten beauftragt und begleitete mich kompetent und freundschaftlich während der klinischen Phase dieser Arbeit. Für ein hervorragendes Arbeitsklima und die Bewältigung des nicht unerheblichen Mehraufwandes in der pflegerischen Betreuung der Patienten gebührt meine Anerkennung dem Pflegepersonal der CAPD-Ambulanz, Frau G. Ausobsky, Frau G. Luxem, Frau E. Mücke, Frau H. Post und Herrn E. Smoch.

Frau A. Stanglmeier möchte ich für die Durchführung zahlreicher Analysen, die gelungene Organisation und stetigen Beistand im Labor danken. Ihr sympathisches und hilfsbereites Wesen unterstützte meine Arbeit nachhaltig.

In labortechnischen Fragen stand mir Herr Dr. B. Tiemann mit Rat und Tat zur Seite. Er gab mir zudem wertvolle Hinweise bei der schriftlichen Fertigstellung der Arbeit.

Tatkräftige Unterstützung in der Durchführung der Laboranalysen erhielt ich von Frau A. Plum und den Mitarbeiterinnen des Nephrologischen Labors.

Ich möchte nicht vergessen, an dieser Stelle die Patienten zu erwähnen, die sich bereit erklärt haben an dieser Studie teilzunehmen.

7.7 Veröffentlichungen und Publikationen

Peritoneal transport kinetics in long-term treatment with bicarbonate/lactate-buffered dialysis solution in APD patients

Plum J., Plail M., Fußhöller A., Grabensee B.
Eingereicht zur Veröffentlichung 2005

Biocompatibility pattern of a bicarbonate/lactate-buffered peritoneal dialysis fluid in APD: a prospective, randomized study

Fußhöller A., Plail M., Grabensee B., Plum J.
Nephrol.Dial.Transplant. 19/8/2004

Biocompatibility pattern of a neutral, bicarbonate/lactate-buffered PD solution in chronic patients - a prospective, randomized cross over study

Fußhöller A., Plail M., Grabensee B., Plum J.
Word Congress of Nephrology in Berlin 2003
34. Kongress der Gesellschaft für Nephrologie
Posterpräsentation

Long-term treatment with bicarbonate/lactate-buffered dialysis solution in APD patients – Effects on peritoneal transport properties

M. Plail, A. Fußhöller, G. Schönicke, B. Tiemann, G. Ausobsky, B. Grabensee and J. Plum
Kongress für Nephrologie 2002
33. Kongress der Gesellschaft für Nephrologie
35. Jahrestagung der Deutschen Arbeitsgemeinschaft für Klinische Nephrologie
Posterpräsentation

Langzeitbehandlung mittels Bikarbonat/Laktat gepuffertem Dialysat an der APD – Einflüsse auf den peritonealen Transport

M. Plail, A. Fußhöller, G. Schönicke, B. Tiemann, G. Ausobsky, B. Grabensee und J. Plum
178. Jahrestagung der Rheinisch-Westfälischen Gesellschaft für Innere Medizin 2003
Posterpräsentation

Six months of APD treatment with a bicarbonate/lactate buffered solution - Safety and peritoneal fluid kinetics

J. Plum, M. Plail, A. Fußhöller, G. Schönicke, G. Ausobsky and B. Grabensee
Kongress Nephrologie 2001, Westfaelische Wilhelms-Universität Münster
Posterpräsentation

7.8 Lebenslauf

Persönliche Daten

Marcus Alexander Klaus-Peter Plail
geboren am 12.01.1977
Geburtsort: Düsseldorf
Konfession: römisch-katholisch



Schulausbildung

1983 bis 1987 Besuch der städtischen Gemeinschaftsgrundschule Hochdahl-Trills (Sechseckschule)
1987 bis 1996 Besuch des Gymnasium Hochdahl mit Abschluss der Hochschulreife

Wehrersatzdienst

1996 bis 1997 Stadtsportbund Wuppertal e.V.

Hochschulstudium

April 1998 Immatrikulation an der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf für das Studium der Humanmedizin
März 2000 Ärztliche Vorprüfung
März 2001 1. Abschnitt der Ärztlichen Prüfung
August 2003 2. Abschnitt der Ärztlichen Prüfung
Oktober 2003 bis Januar 2004 1. Tertial des Praktischen Jahres auf der Anästhesie u. Intensivmedizin im Kreisspital Männedorf (Schweiz)
Februar bis Mai 2004 2. Tertial des Praktischen Jahres auf der Chirurgie im Kantonalen Spital Uznach (Schweiz)
Mai bis Oktober 2004 3. Tertial des Praktischen Jahres auf der Inneren Medizin der HHU Düsseldorf
November 2004 3. Abschnitt der Ärztlichen Prüfung

Beruflicher Werdegang

Seit Februar 2005 Assistenzarzt der Medizinischen Klinik I im Johanniter-Krankenhaus Rheinhausen bei Professor Ulrich Reinhard

Peritonealer Stoff- und Flüssigkeitstransport und peritoneale Immunkompetenz an der automatisierten Peritonealdialyse (APD) nach Langzeitbehandlung mittels Bikarbonat/Laktat gepuffertem Dialysat - Ein Vergleich zu Laktat gepuffertem Dialysat

Einleitung: Der dauerhafte Einsatz konventioneller Laktat gepufferter Dialysate in der PD kann zu zunehmender Fibrosierung des Submesotheliums, der Vermehrung der extrazellulären Matrix sowie zu Gefäßproliferationen des Peritoneums führen. Diese histologischen Veränderungen beruhen u. a. auf dem Einfluss des sauren pH Dialysatwertes der hohen Dialysatmolarität und von Glukoseabbauprodukten. Daraus resultiert bereits nach wenigen Therapiejahren eine Hyperpermeabilität des Peritoneums die funktionell vor allem in einem für den Patienten ungünstigen Ultrafiltrationsverlust mündet. Die Instillation von saurem Dialysat induziert initial eine Vasodilatation der peritonealen Gefäße. Daher sind in der Frühphase des Zyklus Unterschiede bezüglich des peritonealen Transports denkbar, die unter APD bei erhöhtem Dialysatumsatz und kürzeren Verweilzeiten bedeutsamer sind als unter CAPD (kontinuierliche ambulante Peritonealdialyse). In einer randomisierten Cross-over Studie untersuchten wir erstmals den peritonealen Stoff- und Flüssigkeitstransport sowie Parameter der peritonealen Biokompatibilität unter Einsatz von Bikarbonat/Laktat (pH 7,4) bzw. Laktat (pH 5,5) gepuffertem Dialysat bei APD-Patienten.

Methode: 14 stabile APD Patienten (Alter: 40 ± 11 Jahre), seit 23 ± 23 Wochen mit der PD behandelt, wurden in einem Cross-over Design randomisiert und über 12 Monate prospektiv untersucht. 6 Patienten erhielten initial eine Laktat gepufferte Lösung (Dianeal[®], Baxter Healthcare), 8 Patienten eine Bik./Lak. Lösung (Physioneal[®], Baxter Healthcare). Nach 6 Monaten erfolgte der Wechsel auf die alternative Lösung. Die tägliche mittlere Glukosebelastung während des Applikationszeitraums war mit 1369 ± 296 mmol in der Bik./Lak. Gruppe und 1493 ± 451 mmol in der Laktat Gruppe vergleichbar. Die Restdiurese war ebenso in beiden Gruppen gleich (Bik./Lak.: 1323 ± 862 vs. Laktat: 1148 ± 908 ml/Tag). Mittels eines erweiterten peritonealen Equilibrationstests (3,86% Glukose mit Dextran 70 als Volumenindikator) wurden in jeder Behandlungsphase nach 1 und 5 Monaten die Dialysat/Plasma (D/P) Ratio und der Massentransferkoeffizient (MTAC) für kleine Solute, die lymphatische Absorptionsrate (LAR), die transkapilläre Ultrafiltration (TCUF), die effektive Ultrafiltration (eff.UF) sowie der freie Wassertransport bestimmt. Die Dialyseeffektivität (Kt/V, Kreatininclearance) wurde anhand von 24h-Dialysat- und Urinsammlungen überprüft. Anhand verschiedener Kulturversuche mit isolierten Monozyten und peritonealen Makrophagen und der Betrachtung geeigneter Markersubstanzen (IL-6, CA 125, TGF- β 1, CRP, „advanced glycosylation end-products“) wurde die Biokompatibilität der eingesetzten Dialysate bestimmt. Tests zur Zellvitalität, Phagozytoseeigenschaften und Zytokinexpression wurden verwendet.

Ergebnisse: In der Laktat Gruppe stieg der MTAC für Kreatinin und Kalium im Bereich der frühen Equilibrationsphase binnen 5 Monaten signifikant an ($p < 0,05$), während die Bik./Lak. Gruppe tendenziell niedrigere Werte aufwies (n.s.). Nach 5monatiger Therapie waren die MTAC-Werte der Laktat Gruppe gegenüber der Bik./Lak. Gruppe signifikant erhöht ($p < 0,05$). Der niedermolekulare Stofftransport der frühen Equilibrationsphase, gemessen anhand der D/P Ratio von Harnstoff, Phosphat und Kalium, war in der Bik./Lak. Gruppe über 5 Monate rückläufig ($p < 0,05$). Die D/P Ratio von Kreatinin und Kalium stieg in der Laktat Gruppe im gleichen Zeitraum an ($p < 0,05$). Daraus ergaben sich nach 5monatiger Therapie unter Bik./Lak. im Vergleich zu Laktat signifikant reduzierte D/P Quotienten für Kreatinin, Harnstoff und Kalium ($p < 0,05$). Die LAR, TCUF und eff.UF waren identisch und zeigten im Behandlungsverlauf keine Unterschiede. Im Vergleich zur Laktat Gruppe war der freie Wassertransport der Bik./Lak. Gruppe signifikant erniedrigt ($p < 0,05$). Die Dialyseeffektivität war mit beiden Lösungen gleichwertig adäquat.

Die Phagozytoseaktivität der Peritonealmakrophagen stieg nach Bik./Lak.-Behandlung signifikant an ($p < 0,05$). Eine deutliche Reduktion der IL-6- und der AGEs-Konzentration im Auslaufdialysat (beide $p < 0,05$) war in der Bik./Lak.-Gruppe zu verzeichnen. Das CA 125 als ein Indikator der Mesothelzellintegrität war bereits nach 1monatiger Therapie mit der Bik./Lak.-Lösung signifikant erhöht ($p < 0,05$). Weiterhin gaben die Patienten deutlich reduzierte Einlaufschmerzen unter Verwendung der neutralen gegenüber der konventionellen Lösung an ($p < 0,05$).

Zusammenfassung: In der frühen Equilibrationsphase beobachteten wir unter Behandlung mit Laktat gepufferter Lösung eine mit der Therapiedauer zunehmende effektive Membranoberfläche bei ansteigendem niedermolekularem Stofftransport. Nach 5monatiger Therapie mit der Bikarbonat/Laktat Lösung war der Stofftransport niedermolekularer Solute dagegen rückläufig. Der Aquaporinkanal vermittelte freie Wassertransport lag bei der sauren Lösung höher, möglicherweise bedingt durch eine vermehrte peritoneale Vasodilatation. Unsere Ergebnisse geben erstmals Hinweise auf einen die Hyperpermeabilität bremsenden Effekt der neutral gepufferten Bik./Lak. Lösung unter APD. Auch in Punkto Biokompatibilität zeigt eine neutral gepufferte Lösung Vorzüge gegenüber konventionellen Dialysaten an der APD – vor allem bezüglich Zellvitalität und Infektabwehrparametern peritonealer Zellen. Längerfristige Untersuchungen müssen zeigen, ob sich die hier gefundenen Entwicklungen positiv auf das technische Systemüberleben und die Patientenprognose an der PD auswirken.