

Aus der Klinik für Nephrologie
der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf
Direktor: Univ. - Prof. Dr. med. L. Christian Rump

Experimentelle und klinische Untersuchung zur Ablagerung von
Advanced glycation endproducts im Peritoneum und zur
Pentosidinkonzentration in Serum und Effluat
unter chronischer Peritonealdialyse

Dissertation

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

vorgelegt von
Margit Wonsyld
2016

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

Dekan: Univ.-Prof. Dr. med. Joachim Windolf

Referent: PD Dr. med. Andreas Fußhüller

Korreferent: Univ.-Prof. Dr. med Matthias Schott

*Meinem Ehemann Tim
meiner Tochter Luisa
meinem Sohn Konstantin*

I. Zusammenfassung

Um eine ausreichende Flüssigkeitselimination bei der Peritonealdialyse (PD) zu erreichen, ist der Einsatz von Glukoselösungen bei der PD unverzichtbar. Langzeitanwendung glukosehaltiger Peritonealdialyselösungen bei PD-Patienten führt zur Ablagerung von Advanced glycation endproducts (AGEs) im Peritoneum und Pentosidinen in Körperflüssigkeiten.

Ziel war, einen Zusammenhang zwischen AGEs-Ablagerungen im Peritoneum und Pentosidinkonzentrationen in Serum und Effluat bei chronischen PD-Patienten herzustellen. Pentosidine sollten dabei als geeigneter Frühindikator von AGEs-Ablagerung im Peritoneum beurteilt werden. Ebenso prüften wir Zusammenhänge zwischen AGEs-Ablagerung im Peritoneum und Pentosidinen in Serum und Effluat in Abhängigkeit von Dauer der Peritonealdialyse, von Dialyseart CAPD und CCPD, von Lebensalter der Patienten, von einer bestehenden arteriellen Hypertonie und einem Diabetes mellitus, sowie von den klinischen Daten zum peritonealen Stofftransport und Ultrafiltration.

Es wurden Peritonealgewebeproben (n = 55) im Bereich der Katheterinsertionsstelle entnommen zum Nachweis von AGEs im Peritoneum mittels Immunhistochemie. Die Pentosidinkonzentration wurde mit Hilfe der HPLC-Methode (High Performance Liquid Chromatography) aus den 27 Serum- und Effluatproben bestimmt. Die Abnahme der Proben (n = 27) erfolgte bis zu 12 Monate vor oder nach der Biopsieentnahme im Rahmen des routinemäßigen erweiterten PETs (erweiterter peritonealer Equilibrationstest). AGEs im Peritoneum und Pentosidine in Serum und Effluat konnten wir nachweisen.

Es konnte einzig ein positiver Zusammenhang zwischen der Pentosidinkonzentration im Serum und der Dauer der Peritonealdialyse hergestellt werden. Somit könnten Pentosidine im Serum ein geeigneter Frühindikator zur Beurteilung des Risikos von AGEs-Ablagerung im Peritoneum sein, da andere Untersuchungen zeigen, dass AGEs-Ablagerungen mit der Dauer der Behandlung zunehmen.

Möglicherweise waren die geringe Probandenzahl sowie die kurze Dauer der Peritonealdialyse bei der Vielzahl der untersuchten Einflussgrößen nicht ausreichend, um weiter signifikante Zusammenhänge zu erkennen.

II. Abkürzungsverzeichnis

A. dest.	destilliertes Wasser (Aqua destillata)
Abb.	Abbildung
AGE	Advanced glycation endproducts
AK	Antikörper
APD	Automatisierte Peritonealdialyse
AQP-1	Aquaporin-1
CA125	Cancer antigen 125
CML	Carboxymethyl-Lysin
CAPD	Continuous Ambulatory Peritoneal Dialysis
CCPD	Continuous Cycler Peritoneal Dialysis
DAB	3,3 `Diaminobenzidin
D	Dialysat
D/P	Dialysat/Plasma
D/Pcreat%	Dialysat – zu Plasma – Verhältnis für Kreatinin
EUf	Effektive Ultrafiltration
et al.	und andere (et alius)
HbA1C	Hämoglobin A 1C
HFBA	Heptafluorobutyric acid
HPLC	High Performance Liquid Chromatography
ICH	Immunhistochemie
IPV	intraperitoneale Volumen
GDP	Glucose degradation products
GFR	Glomeruläre Filtrationsrate
g	Gramm
h	Stunden
HCL	Salzsäure
HD	Hämodialyse
HE	Hämalaun-Eosin
Ig	Immunglobulin
ICH	Immunhistochemie

IL-6	Interleukin-6
IL-1 β	Interleukin-1 β
Kcal	Kilokalorien
LAR	Lymphatische Absorptionsrate
m	Meter
ml	milliliter
Min.	Minuten
N	Normalität
N ₂	Stickstoff
NO	nitric oxide, Stickstoffmonoxid
NOS	nitric oxide-synthase , Stickstoffmonoxid-Synthase
NTX	Nierentransplantation
Nf κ B	nuclear factor-kappaB
o.g.	oben genannt
OST	Oligosaccaryl-Transferase
pAVK	peripher arterielle Verschlusskrankheit
P	Serum (Plasma)
PBS	Phosphat gepufferte Saline (phosphate buffered saline)
PD	Peritonealdialyse
PDL	Peritonealdialyselösung
PET	Peritonealer Equilibration Test (peritoneal equilibration test)
RAGE	Spezifischer Rezeptor für AGEs
SP	Small pores
Sec	Sekunde
SR	Scavenger Receptor
t	Zeit
TNF- α	Tumornekrosefaktor- α
Tris	Tris-(hydroxymethyl)-aminomethan
TBS	Tris gepufferte Saline (tris buffered saline)
TCUF	transkapilläre Ultrafiltration
TCA	Trichloressigsäure

UF	Ultrafiltration
UFF	Ultrafiltrationsversagen (Ultrafiltration failure)
UFSP	Wassertransport über die kleinen Poren
UFUSP	Aquaporin-1-vermittelter freier peritonealer Wassertransport
UPM	Umdrehungen pro Minute
USP	Ultrasmall pores
V	Volumen
VEGF	Vascular endothelial growth factor

III. Inhaltsverzeichnis

1.	Einleitung.....	1
1.1.	Die Peritonealdialyse.....	1
1.1.1.	Historische Entwicklung der Peritonealdialyse.....	1
1.1.2.	Anwendungsprinzip der Peritonealdialyse.....	4
1.1.3.	Dialyselösungen.....	6
1.1.4.	Vor- und Nachteile der Peritonealdialyse.....	9
1.1.5.	Das Peritoneum, Aufbau und Funktion.....	10
1.2.	AGEs.....	17
1.2.1.	Definition.....	17
1.2.2.	Biochemie/ Maillard-Reaktion.....	17
1.2.3.	Wirkung.....	19
1.2.4.	Vorkommen.....	21
1.3.	Komplikation der Peritonealdialyse und Bedeutung der AGEs Entstehung.....	23
1.3.1.	Langzeitperitonealdialyse und deren Auswirkung auf das Peritoneum.....	23
1.3.2.	Langzeitperitonealdialyse und die Entstehung von GDP und AGEs.....	24
1.4.	Zielsetzung und Fragestellung.....	30
2.	Patienten, Material und Methodik.....	31
2.1.	Patienten.....	31
2.2.	Geräteliste und Chemikalien.....	35
2.2.1.	Geräteliste.....	35
2.2.2.	Chemikalien.....	36
2.3.	Immunhistochemie von Peritonealgewebe.....	38
2.3.1.	Anfertigung der Schnitte.....	38
2.3.2.	Immunhistochemie (IHC).....	38
2.3.3.	Auswertung.....	41
2.4.	Klinische Untersuchung der peritonealen Transporteigenschaften.....	41
2.4.1.	Erweiterter Peritonealer Equilibrationstest.....	41
2.4.1.1.	Peritonealer Stofftransport.....	44
2.4.1.2.	Formeln zur Berechnung der peritonealen Flüssigkeitskinetik.....	44
2.5.	Hochleistungs-Säulenflüssig-Chromatographie (HPLC).....	48
2.5.1.	Probengewinnung und Aufbereitung.....	48

2.5.1.1.	Totalpentosidin	48
2.5.1.2.	Freies Pentosidin	49
2.5.2.	Messung von Totalpentosidin – und freiem Pentosidin mittels HPLC.....	49
2.5.2.1.	Messung Pentosidin mit HFBA.....	50
2.5.3.	Statistische Auswertung.....	52
3.	Ergebnisse.....	53
3.1.	Immunhistochemie an Peritonealgewebeschnitten.....	53
3.1.1.	Advanced Glycation End Products im Peritoneum	55
3.1.2.	Pentosidinkonzentrationen im Serum und Effluat.....	56
3.1.3.	Advanced Glycation End Products im Peritoneum in Beziehung zur Pentosidinkonzentration im Serum	57
3.1.4.	Advanced Glycation End Products im Peritoneum in Beziehung zur Pentosidinkonzentration im Effluat.....	59
3.2.	Advanced Glycation End Products und Pentosidine in Beziehung zur PD-Dauer, Dialyse-Modalität und Alter der Patienten.....	61
3.2.1.	Advanced Glycation End Products im Peritoneum in Beziehung zur PD-Dauer	61
3.2.2.	Pentosidine im Serum und Effluat in Beziehung zur PD-Dauer	63
3.2.3.	Advanced Glycation End Products im Peritoneum in Beziehung zur Dialyse- Modalität CAPD und CCPD	67
3.2.4.	Pentosidine im Serum und Effluat in Beziehung zur Dialyse-Modalität CAPD und CCPD	67
3.2.5.	Advanced Glycation End Products im Peritoneum in Beziehung zum Alter der Patienten.....	68
3.2.6.	Pentosidine im Serum und Effluat in Beziehung zum Alter der Patienten.....	70
3.3.	Advanced Glycation End Products und Pentosidine in Beziehung zu den klinischen Parametern des erweiterten peritonealen Equilibrationstests (PET).....	72
3.3.1.	Ergebnisse des erweiterten peritonealen Equilibrationstests	72
3.3.2.	Advanced Glycation End Products in Beziehung zu den klinischen Parametern des erweiterten PETs	73
3.3.3.	Pentosidine im Serum und Effluat in Beziehung zu den klinischen Parametern des erweiterten PETs	75
3.4.	Advanced Glycation End Products und Pentosidine in Beziehung zu Diabetes mellitus und arterieller Hypertonie	78
3.4.1.	Advanced Glycation End Products in Beziehung zu Diabetes mellitus und arterieller Hypertonie	78
3.4.2.	Pentosidine in Serum und Effluat in Beziehung zu Diabetes mellitus und arterieller Hypertonie	79
4.	Diskussion	80

5.	Schlussfolgerung.....	91
6.	Literaturverzeichnis	92
7.	Abbildungsverzeichnis	106
8.	Tabellenverzeichnis	108

1. Einleitung

1.1. Die Peritonealdialyse

1.1.1. Historische Entwicklung der Peritonealdialyse

Bereits 1744 wurde der Grundstein der Peritonealdialyse am Menschen gelegt: Stephen Hales (1) und der englische Chirurg Christopher Warrick (2) instillierten bei einer Patientin mit Aszites nach Entfernen des Bauchwassers zur Hälfte Wasser und zur Hälfte Wein mit Hilfe eines eingelassenen Lederrohres in die Bauchhöhle. Die Vermutung war, dass Wein einen antibakteriellen Effekt haben würde. Da die Patientin starke Reaktionen auf die Therapie zeigte, musste diese bereits nach 3 Anwendungen abgebrochen werden.

Die ersten belegten Untersuchungen zum Flüssigkeitsentzug durch die Peritonealdialyse und somit der peritonealen Ultrafiltration stammen aus der zweiten Hälfte des 19. Jahrhunderts. In tierexperimentellen Untersuchungen instillierte Wegner 1877 (4) hypertone Lösungen in die Abdominalhöhle und wies eine Exsudation aus den Gefäßen über das Peritoneum in die Bauchhöhle nach. Der Wasserverlust betrug mehr als 8% des Körpergewichts.

Starling und Tubby 1894 (5) begründeten den Flüssigkeitsverlust mit der osmotischen Wirkung der hypertonen Lösung, registrierten ein Absinken der Salzkonzentration in der Spüllösung und führten die Flüssigkeitsresorption auf die Blutgefäße des Peritoneums zurück.

Dies bestätigte Orlow 1895 (6).

Zu Beginn des 20. Jahrhunderts fanden dann erste Versuche zur Therapie der terminalen Niereninsuffizienz statt. Die Funktion des Peritoneums wurde von Putman 1922 (8) erstmals als eine Dialysemembran bei Hunden, Katzen und Kaninchen beschrieben. Er beobachtete, dass die Konzentration von Harnsäure, Kreatinin und Harnstoff im Dialysat mit der intraperitonealen Verweildauer der Lösung anstieg.

Ganter (9) leistete wichtige Grundlagenarbeit für die Entwicklung der Peritonealdialyse. Er untersuchte während seiner Forschungsarbeit in Greifswald (1918) und Würzburg (1926) Diffusionsvorgänge an biologischen Membranen. 1918 führte er bei einem urämischen Patienten eine Punktion mittels Nadel durch, ließ 750 ml Flüssigkeit aus der Pleurahöhle abfließen, infundierte anschließend das gleiche Volumen physiologische Kochsalzlösung, und beobachtete eine Besserung der Symptome. In weiteren Untersuchungen an Meerschweinchen und Kaninchen erzeugte er durch Unterbindung der Ureteren ein Nierenversagen, das sich dann durch peritoneale Spülungen mit Kochsalzlösung erfolgreich behandeln ließ. Ganter erweiterte sein System, indem er einer physiologischen Elektrolytlösung Dextrose hinzufügte, um eine Entwässerung zu erreichen. Diese Lösung wurde in einer Flasche gekocht, um Keimfreiheit herzustellen. Davon instillierte er 1 bis 3 Liter über eine Hohlnadel, die einen Gummischlauch mit dem Vorratsgefäß verband. Die Verweildauer betrug 30 Minuten bis 3 Stunden. Diese Behandlung führte er solange durch, bis annehmbare Werte erreicht wurden. Ganters Entdeckungen haben heute noch Gültigkeit in der Peritonealdialyse: Sterile Lösungen verhindern das Auftreten einer Infektion, der Flüssigkeitsentzug wird durch die Dextrosekonzentration bestimmt.

Zu dieser Zeit hatten Heusser und Werder (10) bei Versuchen mit Hunden beobachtet, dass die Eliminationsrate von Flüssigkeit über das Peritoneum sogar die der Nieren übertreffen kann. Ihre erste Peritonealdialyse am Menschen führten sie 1927 durch unter Verwendung einer erwärmten Ringerlösung mit einem Zusatz von 2-5% Glukose, um einen osmotischen Gradienten herzustellen. Aufgrund des zu geringen Lösungsvolumens konnten sie jedoch keine Besserung der klinischen Symptome feststellen.

Über die erzielten Teilerfolge der Peritonealdialyse zwischen 1923 und 1948 berichteten 1950 Odel et al. (12). So konnte bei etwa 50% der Patienten mit reversiblen Erkrankungen eine deutliche Besserung des Zustandes erreicht werden, während Patienten mit einer chronischen Niereninsuffizienz nicht überlebten. Die Peritonealdialyse konnte sich wegen zahlreicher Komplikation und technischer Unzulänglichkeiten nicht breitflächig durchsetzen gegen die sich ständig verbessernde Hämodialyse (13).

Handhabung und Sicherheit der Peritonealdialyse verbesserte Tenckhoff 1968 (14). Durch die Entwicklung eines gewebeverträglichen Siliastic-Katheters mit 2 Dacronmanschetten (eine Manschette liegt zwischen Peritoneum und Faszie und eine unter der Epidermis) und eines Peritonealdialysegerätes, was die Infektionsrate erheblich reduzierte (Abb. 2).

Ein weiterer Meilenstein in der Geschichte der Peritonealdialyse (PD) war 1976 das von Popovich und Moncrief (15) etablierte heutige Basisverfahren, der kontinuierlichen ambulanten Peritonealdialyse (CAPD), um dem Körper ununterbrochen Flüssigkeit und harnpflichtige Substanzen zu entziehen. Hierfür wurden zwei Liter Dialyselösung in die Bauchhöhle instilliert und konnten alle 4-8 Stunden gegen unverbrauchte Dialyselösung ausgetauscht werden. Dieses Verfahren verbesserte die Mobilität der Patienten im Alltag, doch hatte der häufige Beutelwechsel den Nachteil, dass die Diskonnektionen des Schlauchsystems zu einer hohen Peritonitisrate führten.

Orepoulos präsentierte 1978 (16) flexible Dialysebeutel aus Kunststoff und verbesserte die Konnektionssysteme in puncto Sicherheit, wodurch die Peritonitisrate halbiert wurde. Derzeit werden ungefähr 15% aller Dialysepatienten weltweit mit diesem Verfahren dialysiert (17).

In Deutschland wurden 2006 66.508 Patienten mit einer Dialyseersatztherapie behandelt, von denen 4,8% PD erhielten. Der prozentuale Anteil hält sich seit 1995 auf diesem Niveau (Quasi Niere 2006-2007).

1.1.2. Anwendungsprinzip der Peritonealdialyse

Zur Anwendung der Peritonealdialyse wird dem Patienten ein perkutaner Silikonverweilkatheter, häufig der sogenannter Tenckhoffkatheter, periumbilikal in die Peritonealhöhle implantiert. In der Heinrich-Heine-Universität wird der Oreopoulos-Zellermann-Katheter mit zwei Dacron-Muffen verwendet (Abb. 2). Die Ausleitung des Katheters erfolgt über den Mittel-bis Unterbauch, das proximale Katheterende liegt im Douglas Raum (Abb. 1).

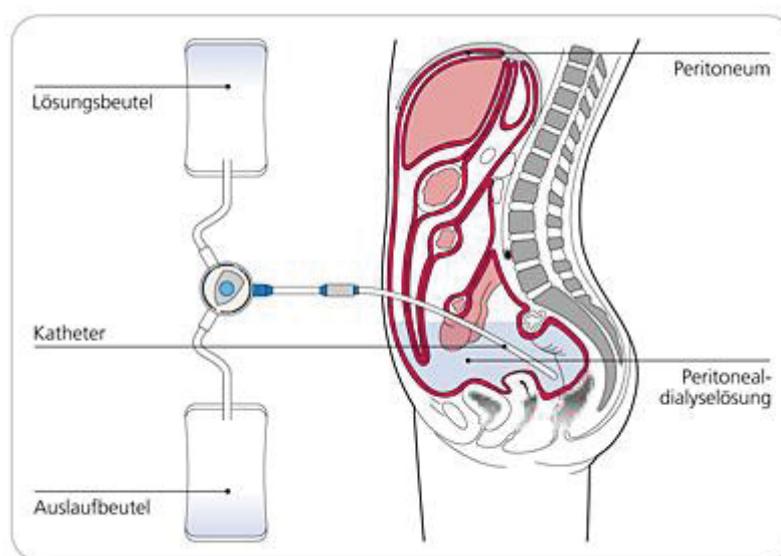


Abb. 1: Darstellung der Katheteranlage und Prinzip des Beutelwechsel Firma Fresenius

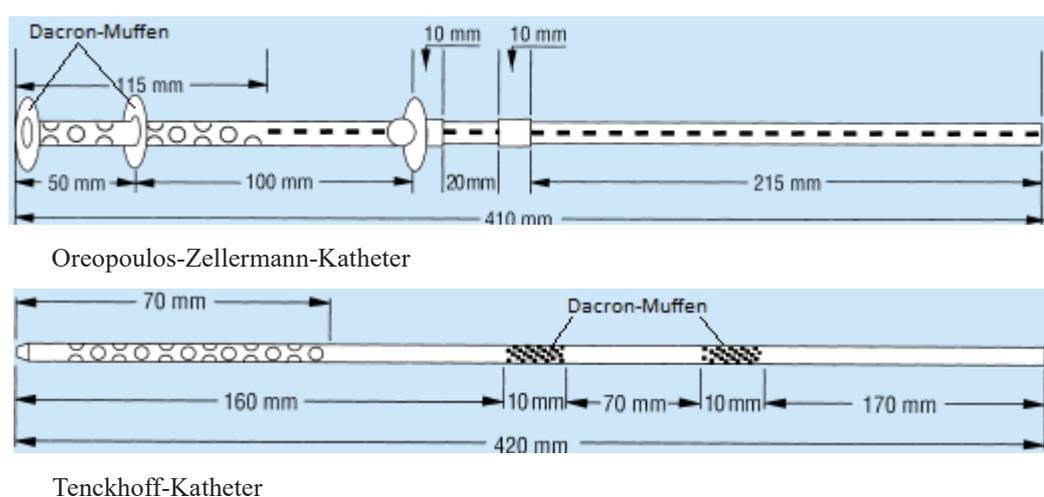


Abb. 2: Katheter der Peritonealdialyse, Firma Baxter

Die PD nutzt das durchblutete Peritoneum als körpereigene Dialysemembran. Es handelt sich um eine intrakorporale Nierenersatztherapie (18). Dabei wird zwischen der CAPD (continuous ambulatory peritoneal dialysis) und der APD (automated peritoneal dialysis) unterschieden. Bei dem Basisverfahren der Peritonealdialyse, der sogenannten kontinuierlichen ambulanten Peritoneldialyse (CAPD), beschrieben nach Popovich (15), werden unter streng sterilen Voraussetzungen in der Regel täglich drei bis fünf Beutelwechsel mit jeweils 1,5-2,0 Liter über die Schwerkraft instilliert, mit einem längeren nächtlichen Intervall. Von intravasal über die Peritonealmembran gelangen per Diffusion, Osmose und Konvektion harnpflichtige Substanzen und Wasser in das Abdomen, wobei fast annähernd äquimolare Dialysat- und Plasmakonzentrationen der harnpflichtigen Substanzen erreicht werden. Nach ca. vier Stunden führt der Patient einen Wechsel durch und lässt das verbrauchte Dialysat (Effluat) durch Schwerkraft mittels des permanent implantierten PD-Katheters in einen konnektierten Auslaufbeutel fließen. Anschließend wird eine neue Dialysatlösung instilliert, die wieder für ca. vier Stunden in der Bauchhöhle verweilt. Der CAPD-Wechsel inklusive des neuen Einlaufs dauert ca. 20-30 Minuten.

Eine Weiterentwicklung der CAPD ist die 1981 von José Diaz-Buxo vorgeschlagene zyklische kontinuierliche Peritonealdialyse (continuous cycled peritoneal dialysis - CCPD).

Hier findet mit Hilfe einer Peritonealdialysemaschine, dem sog. Cycler, ein maschinell gesteuerter automatischer Beutelwechsel statt (APD). Die Anzahl der Beutelwechsel und die Dialysatmenge werden in die Maschine einprogrammiert. Der Patient schließt sich am Abend an den Cycler an und es erfolgen vier bis zehn Dialysatwechsel während der Nacht, mit einem Dialysatvolumen von jeweils 2 Liter. Nach dem letzten Beutelwechsel am Morgen verbleibt die zuletzt instillierte Dialyselösung tagsüber in der Bauchhöhle, der Katheter wird steril verschlossen und der Patient kann seinen Beschäftigungen nachgehen. Dies ermöglicht einen größtmöglichen Freiraum in der Gestaltung seines Tagesablaufes.

In Abbildung 3 ist der zeitliche Verlauf des Dialysatvolumens in der Peritonealhöhle für CAPD und CCPD schematisch dargestellt.

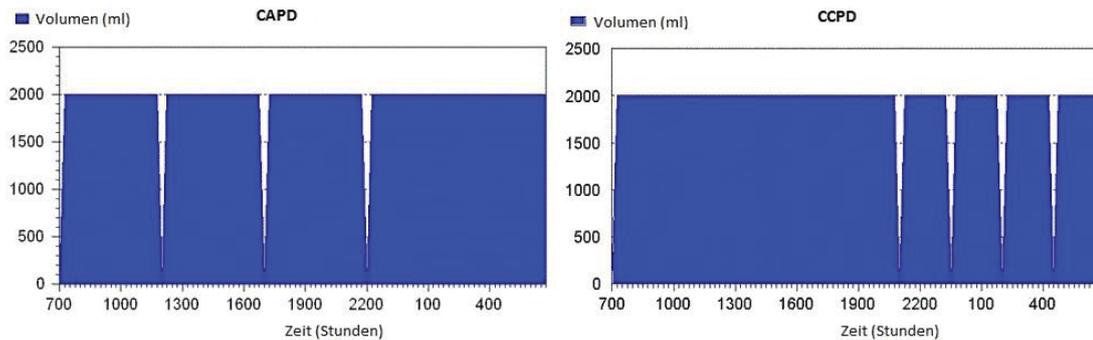


Abb. 3: Volumenkonzentration und zeitlicher Ablauf der CAPD und CCPD nach Advanced renal education program 2006

1.1.3. Dialyselösungen

Das reich mit Blutgefäßen versehene und gut durchblutete Peritoneum dient als natürliche Dialysemembran. Durch Kontakt der Spüllösung mit den peritonealen Kapillaren erfolgt die Elimination von harnpflichtigen Substanzen und Stoffwechselprodukten aus dem Körper als Hauptfunktion der PD. Zur Regulierung des Flüssigkeitshaushalts muss dem Organismus wegen mangelnder Restharnbildung Wasser durch osmotische Agentien entzogen werden. Dafür werden Dialyselösungen unterschiedlicher Zusammensetzung für individuelle Therapieregime angeboten. Durch entsprechende Konzentration der Lösung wird zum einen der Elektrolythaushalt, zum anderen der Säure-Basen-Haushalt reguliert (18). Die Dialyselösung muss pyrogen- und keimfrei sein.

Glukose als osmotisches Agens

Heusser und Werder führten 1927 das heute am häufigsten verwendete Osmotikum Glukose in die Peritonealdialyse ein (10). Es sind Dialysate mit unterschiedlichen Glukosekonzentrationen erhältlich (1,36%, 2,27%, 3,86%). Glukoselösungen besitzen eine höhere Osmolarität als das Serum, d.h. Peritonealdialyselösungen sind im Verhältnis zum Blut hyperten und bewirken bei entsprechender Verweilzeit somit einen Flüssigkeitsentzug (18). Glukose kann über das Peritoneum in den Körperkreislauf aufgenommen werden, da die Membran für niedermolekulare Solute durchlässig ist.

Mit zunehmender Verweilzeit nimmt daher der osmotische Gradient und damit die Ultrafiltrationsrate ab. Aufgrund der schnellen Resorption von Glukose ist die maximale Ultrafiltration nach 2-3 Stunden erreicht. Danach kann es nach langen Verweilzeiten zu einer Rückresorption von Flüssigkeit kommen. Außerdem entstehen durch vermehrte Glukoseaufnahme metabolisch ungünstige Veränderungen wie Hyperlipidämie, Hyperglykämie und Hyperinsulinämie (7, 161).

Peritonealdialyselösungen können sich auch negativ auf die Funktionsfähigkeit des Peritoneums auswirken, weil durch Autoklavieren und längere Lagerung der PDL giftige Produkte der Glukose, die Glucose degradation products (GDPs) entstehen, die in vitro zu einer Störung der Zellfunktion führen (122).

Als Glukoseersatz können dem Dialysat Aminosäuren oder Glukosepolymere zugesetzt werden. Polyglukose wird langsam resorbiert und führt zu einer langanhaltenden Osmolarität, entsprechend höherer Ultrafiltration bei langer Verweilzeit. Aminosäuren zeigen die gleichen osmotischen Eigenschaften wie Glukose und können den Proteinverlust über das Peritoneum in die Dialyselösung ausgleichen. Dies ist vor allem bei Fehl- oder Mangelernährung indiziert (18).

Puffer

Puffer dienen zum Ausgleich der azidotischen Stoffwechsellage. Bis vor wenigen Jahren war eine saure Dialyselösung (auch als Standardlösung bekannt) am weitesten verbreitet, in der eine Laktatlösung (10-40 mmol/l) eingesetzt wurde (Tabelle 1). Laktat wird in der Leber zu Bikarbonat metabolisiert. Der pH dieser Lösung liegt bei 5,2-5,5 (18), da ein höherer pH zur Karamellisierung der Glukose beim Sterilisationsprozess führen würde.

Die hohe Laktatkonzentration in Verbindung mit einem niedrigen pH des Dialysats hat einen negativen Einfluss auf die Zellfunktion der Peritonealzellen, da der intrazelluläre pH-Wert in Neutrophilen, Makrophagen und Mesothelzellen gesenkt wird, wie in vitro Studien zeigten (20, 22). In seltenen Fällen kann der niedrige pH als Nebenwirkung zu Einlaufschmerzen während der PD führen.

Ein großes Problem ergibt sich bei konventionellen Dialyselösungen auch aus der Bildung der bereits oben erwähnten Glucose degradation products (GDPs), die während der Autoklavierung von glukosehaltigen Lösungen gebildet werden (118). Eine Bildung von GDP wird durch einen hohen pH-Wert während der Sterilisation gefördert (153).

Ursprünglich wurde nach Boen 1961 u.a. Bikarbonat als Puffer verwendet (19). Allerdings zeigte sich, dass sich Bikarbonatanionen mit dem im Dialysat enthaltenen Magnesium und Calcium zu saurem Magnesium- und Calciumkarbonat präzipitieren und unter der Hitzesterilisation eine Karamellisierung der enthaltenen Glukose stattfindet (18).

Um diese Probleme zu unterbinden, werden heutzutage Doppelkammerbeutel (Abb. 4) angeboten. In einem Kompartiment wird Glukose mit Magnesium und Calcium im sauren Milieu (pH 3,0), im anderen der Puffer (Laktat, Bikarbonat, oder Kombination Laktat/Bikarbonat) im alkalischen Milieu sterilisiert und aufbewahrt. Erst vor Gebrauch der PDL werden die Lösungen gemischt und somit ein pH-Wert von 6,5-7,4 erreicht (153). Dies ermöglicht den Einsatz von einem physiologischen bikarbonathaltigen Puffer und die Sterilisation der Glukose in saurer Umgebung (3, 152). Durch Separierung der Glukose und anschließendem Anheben des pH-Wertes wird die Konzentration der Glukosabbauprodukte reduziert (153). Die Azidose wird unter Bikarbonatlösung besser korrigiert (165). Auch kann der Infusionsschmerz durch eine pH-neutrale Lösung deutlich verringert werden (162). GDPs stimulieren die Bildung von Advanced glycation endproducts (AGEs), deren Bildung ebenso bei Verwendung des Zweikammersystem verringert ist (153). GDP und AGEs werden im weiteren Verlauf dieser Arbeit genauer erläutert.

Elektrolyte

Zur Steuerung des Elektrolythaushaltes werden in der Peritonealdialyselösung Natrium (130-134 mmol/l), Kalzium (1,0-1,75 mmol/l), Magnesium (0,5-1,0 mmol/l) und Chlorid (96-105 mmol/l) verwendet (18).

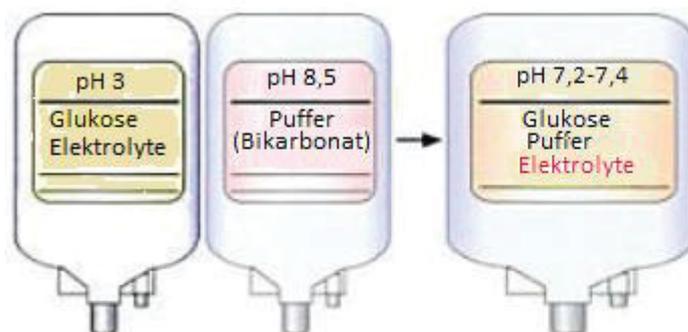


Abb. 4: Prinzip des 2-Kammer-Systems. Kuhlmann U, Walb D; Nephro. 2008

In Tabelle 1 sind die Konzentrationen der Elektrolyte, Puffer und osmotischen Agenzien gebräuchlicher Peritonealdialyselösungen dargestellt.

	Konventionelles Einkammerdialysat	Modernes Doppelkammer-Dialysat	Polyglukose	Aminosäurelösung
Elektrolyte, mmol /l				
Natrium	132	132	133	132
Calcium	1,25	1,25	1,75	1,25
Magnesium	0,25	0,25	0,25	0,25
Chlorid	95	95	96	105
Puffer, mmol/l				
Laktat	40	0 - 15	40	40
Hydrogenkarbonat		25 - 40		
Osmotisches Agens und Osmolarität, mOsm/l				
1,36% Glukose	344	344		
2,27% Glukose	395	395		
3,86% Glukose	483	483		
7,5% Polyglukose			284	
1,1% Aminosäuren				365
pH-Wert	5,5	7,4	5,8	6,7

Tabelle 1: Komposition verschiedener Dialyselösungen

1.1.4. Vor- und Nachteile der Peritonealdialyse

Ein bedeutender Vorteil der Peritonealdialyse ist die zeitliche und räumliche Unabhängigkeit der Patienten vom Dialysezentrum. Der Beruf kann in der Regel ausgeübt und Urlaubsreisen können problemlos unternommen werden, da die Beutelwechsel auch anderenorts möglich sind. Aufgrund des kontinuierlichen Flüssigkeitsentzuges sind symptomatische Hypotonien seltener. Eine Kaliumeinschränkung ist weniger erforderlich und somit eine Diät liberaler. Die Nierenrestfunktion bleibt länger erhalten als an der Hämodialyse.

Eine Anämie durch Blutverluste tritt seltener auf, so dass Erythropoetingaben weniger erforderlich sind.

Die Peritonealdialyse setzt allerdings als selbst appliziertes Heimdialyseverfahren Disziplin, Eigenverantwortung und Selbstständigkeit voraus. Im Bereich der Katheterinsertionsstelle kann sich eine Infektion bis hin zur Peritonitis entwickeln. Katheterdislokation und-obstruktion können auftreten. Über das Peritoneum werden aus dem Dialysat täglich 100-200 g Glukose resorbiert, welches eine Kalorienzufuhr über das Peritoneum von 400-800 kcal bedeutet. Die erhöhte Glukosebelastung kann eine Hyperinsulinämie und Hyperproteinämie bewirken und zu einem erhöhtem Insulinbedarf bei Diabetes mellitus führen. Die PD begünstigt auch Adipositas und Völlegefühl und trägt zur Hyperlipidämie bei, die möglicherweise das Arterioskleroserisiko erhöht. Im Laufe der Jahre kommt es zu einer Veränderung der Peritonealmembran, die zum Ultrafiltrationsversagen führen kann. Ca. 30% der CAPD-Patienten zeigten Ultrafiltrationsstörungen in den ersten zwei Behandlungsjahren (101). Nach einer sechsjährigen Behandlungszeit entwickelte sich in bis zu 50% der Fälle ein Ultrafiltrationsversagen (163). Das Überleben zeigte sich in großen Mortalitätsstudien als nicht wesentlich unterschiedlich zwischen Hämo-und Peritonealdialyse.

1.1.5. Das Peritoneum, Aufbau und Funktion

Die CAPD ist ein intrakorporales Dialyseverfahren, bei der das Peritoneum als Dialysemembran fungiert (25).

Es besteht aus einem Peritoneum viszerale (60%), welches die innere Organe überzieht, dem Mesenterium und Omentum (30%) und einem Peritoneum parietale (10%), welches das Zwerchfell und innere Bauchdecke auskleidet. Zwischen dem parietalen und visceralen Blatt liegt das Cavum peritoneale (36).

Die Peritonealmembran besitzt eine mittlere Dicke von 13 ± 6 mm. Sie wird aus 3 Anteilen gebildet: dem Mesothel, dem Submesothel und den Gefäßen (Abb. 5). Unter dem Lichtmikroskop zeigt sich apikal eine Mesothelzellschicht aus flachen, polygonalen Zellen, die auf ihrer Oberfläche Mikrovilli tragen. Die submesotheliale Schicht besteht aus Kollagenfaserbündeln, elastischen Bindegewebe und extrazellulärer Matrix und enthält zelluläre Bestandteile wie Fibroblasten, Makrophagen und Mastzellen.

Die Kapillaren, postkapillären Venulen und kleinen Venen bilden zwischen Blut und Dialysat während der Peritonealdialyse mit ihrem Endothel die Hauptbarriere für den Stoff- und Wasseraustausch (29,30).

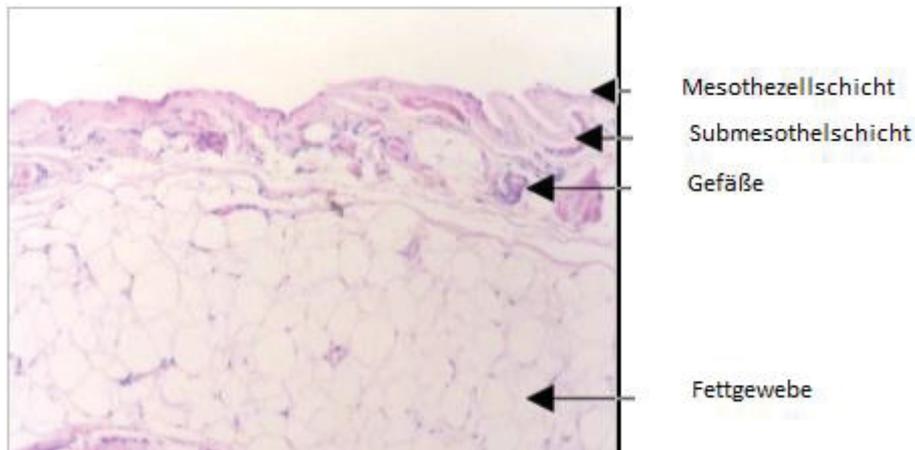


Abb. 5: Peritonealmembran, HE Färbung , G. Schoenicke

Die anatomische Gesamtoberfläche des Peritoneum beträgt ca. 1,5-2 m² und entspricht damit der Oberfläche der menschlichen Haut. Die funktionelle oder effektive Oberfläche, die für den Stoff- und Flüssigkeitsaustausch tatsächlich zur Verfügung steht, beträgt 0,5-1 m² in Abhängigkeit von der Durchblutung und Verteilung der Kapillaren. Dabei scheint das viszerale Peritoneum eine geringere Bedeutung zu besitzen als das parietale Peritoneum (36).

Drei-Poren Modell

Zum Verständnis des Flüssigkeit- und Stofftransports über die peritoneale Membran wird das Dreiporenmodell postuliert.

In der Peritonealmembran befinden sich 3 Arten von Poren:

- ▶ Die **großen Poren** ($r > 20$ nm) liegen zwischen den Endothelzellen. Sie sind für den Transport durch Konvektion von Makromolekülen, wie zum Beispiel Serum-Protein, IgG und Albumin verantwortlich (36, 38). Beschrieben von Karnovsky, Nolph und Miller befinden sich diese Poren entlang der Mukopolysaccharid-matrix (31, 32, 33). Hyperosmolare Dialyselösungen können zu einer Verengung der Poren und somit zu einer Erschwerung des Transports für große Moleküle führen. Für die Peritonealdialyse sind diese Poren jedoch nicht von Bedeutung, sie machen 0,01% der Poren aus.
- ▶ Bei den **kleinen Poren** (SP = small pores, r : 4-6 nm) handelt es sich ebenfalls um interendotheliale Spalten. Diese Poren sind für Wasser (über den osmotischen Gradienten) und konvektiven Transport niedermolekularer Substanzen, z.B. Glukose, Harnstoff und Kreatinin, durchlässig. Sie sind für ca. 50%-60% der Ultrafiltration verantwortlich.
- ▶ Die **ultrakleinen transzellären Poren** (USP = ultra small pores, $r < 0,5$ nm) sind nicht für Solute durchlässig. Es handelt sich dabei um ein wasserspezifisches Kanalprotein in den Endothelzellen, das ausschließlich für Wasser durchlässig ist und molekularbiologisch als Aquaporin-1 Transportkanal beschrieben ist. Über diesen Kanal findet ca. 50% der Gesamtultrafiltration statt (36, 38).

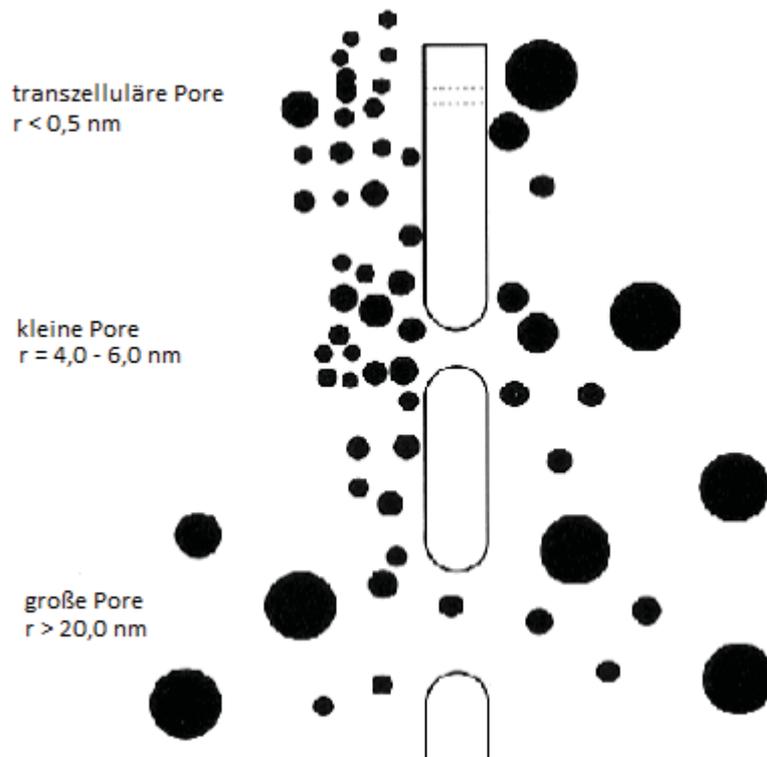


Abb. 6: 3-Poren-Modell der Peritonealmembran (nach Gokal u. Nolph).
Schematische Darstellung der Transportvorgänge für gelöste Substanzen
und freies Wasser

Stoff – und Transportvorgänge

Das Peritoneum fungiert als eine semipermeable Membran. Zur Beseitigung von Wasser und harnpflichtiger Substanzen werden Stoff- und Transportvorgänge unterschieden.

Diffusion und Konvektion sind von Bedeutung für den transperitonealen Stofftransport, welcher über die Kapillare und Kapillarwände der Poren erfolgt.

Die Diffusion ist ein Transport in Lösungen vom Ort der höheren Konzentration zum Ort der niedrigeren Konzentration. Für Glukose besteht ein Konzentrationsgefälle aus der Peritonealhöhle (höhere Konzentration) in die Blutbahn (niedrigere Konzentration), d.h. Glukose wird resorbiert. Für Urämietoxine (z.B. Harnstoff, Kreatinin) besteht ein Gefälle in umgekehrte Richtung, d.h. von der Blutbahn in die Peritonealhöhle.

Urämiotoxine diffundieren in die Dialysespüllösung, bis das Dialysat eine Sättigung erreicht hat.

Konvektiver Stofftransport ist ein Mitreißen von Makromolekülen im Wasserstrom aus der Blutbahn in die Dialyselösung im Rahmen der Ultrafiltration. In Verbindung mit einem ungleichen transperitonealen Flüssigkeitsvolumen (hydrostatische Druckdifferenz) werden darin gelöste Teilchen entsprechend ihrer Molekulargröße mitgezogen (36, 151).

Osmotische Ultrafiltration und Flüssigkeitsrückresorption sind für den Wassertransport von Bedeutung. Die Osmotische Ultrafiltration dient zur Entfernung des überschüssigen Körperwassers. Es findet ein Konzentrationsausgleich von Flüssigkeiten aus den Kapillaren des Peritoneums durch das Interstitium in die Peritonealhöhle statt. Dieses wird bestimmt durch die osmotischen und hydrostatischen Druckverhältnisse. Zur Erlangung einer hohen Ultrafiltration werden in der Peritonealdialyse hypertone Lösungen, wie z.B. Glukose verwendet, die einen osmotischen Druckgradienten erzeugen.

Es kann aber auch zu einer Flüssigkeitsrückresorption kommen, für die 2 Mechanismen verantwortlich sind. Sie erfolgt einerseits über die lymphatischen Gefäße, andererseits gelangt Glukose mit steigender Verweilzeit über Diffusion in die Blutbahn, so dass der osmotische Gradient und somit die Ultrafiltration bei zunehmender Verweilzeit abnehmen (36, 151).

Zu Beginn der Dialyse ist die Ultrafiltrationsfähigkeit am höchsten bei hoher Glukosekonzentration im Dialysat. Durch erhöhten Wassertransport (Osmotischer Gradient) und Glukoseabsorption aus dem Dialysat nehmen im Verlauf die Glukosekonzentration im Dialysat und die Ultrafiltration ab. Nach ca. 3 Stunden ist das maximale Ultrafiltrationsvolumen erreicht. Das intraperitoneale Volumen sinkt anschließend wieder ab, die Flüssigkeitsrückresorption ist größer als die Ultrafiltration (209).

Peritonealer Equilibrationstest (PET)

Zur Ermittlung der individuellen Transportkapazitäten des Peritoneums führten wir in der vorliegenden Arbeit einen erweiterten peritonealen Equilibrationstest (PET) durch. Die Entscheidung, welches PD-Verfahren für den jeweiligen Patienten am ehesten geeignet ist, kann mit Hilfe dieses Tests getroffen werden.

Der klassische PET wurde von Twardowski et al. 1987 eingeführt. Zu einem definierten Zeitpunkt wird eine 2,27% Dialysatlösung (2,27% Glukose) instilliert und der Konzentrationssausgleich von kleinmolekularen Soluten wie Kreatinin und Harnstoff in Dialysat und Plasma (D/P Quotient) sowie die Absorption der osmotisch wirksamen Substanz Glukose im Dialysat (sowie das Ultrafiltrationvolumen) über vier Stunden untersucht. Von Bedeutung ist v.a. die Bestimmung des D/P Quotienten für Kreatinin und der Glukosekonzentration im Dialysat (209).

Aus der PET-Verlaufskurve (Abb.7) lassen sich Dynamik der peritonealen Austauschvorgänge und Transporteigenschaften des Peritoneums ableiten. Dies ermöglicht zu Beginn der Peritonealdialyse eine Beurteilung der Ultrafiltrations- und Clearanceleistung des Peritoneums zur Optimierung des Dialyseregimes. Dabei muss beachtet werden, dass sich unter laufender Therapie die Membraneigenschaften verändern können, mit Transportsteigerung für kleinmolekulare Solute und Rückgang der Ultrafiltrationsleistung, so dass in regelmäßigen Abständen ein PET erforderlich ist.

Je nach Ergebnis werden Schnellaustauscher (high transporter), durchschnittliche Schnellaustauscher (average transporter), durchschnittliche Langsamaustauscher (low average transporter) und Langsamaustauscher (low transporter) unterschieden.

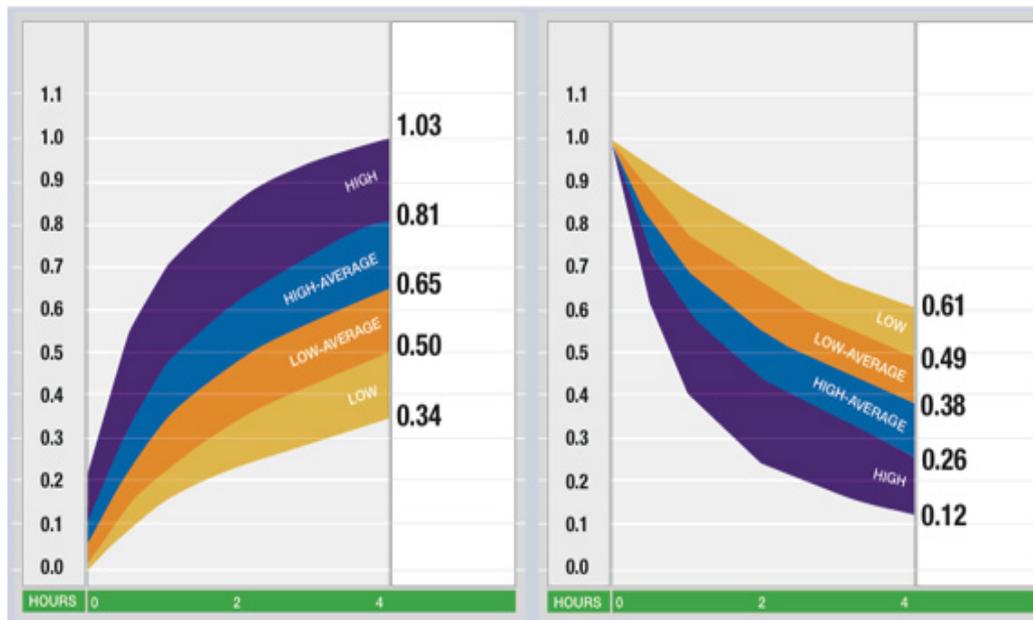
High transporter oder eine hohe Permeabilität für kleine Teilchen equilibrieren Harnstoff und Kreatinin schnell und drainieren zu Beginn eine hohe Menge Ultrafiltrat in die Peritonealhöhle. Bei langer Verweilzeit führt eine hohe Glukoseabsorption mit abfallendem osmotischen Gradienten zu starker Reabsorption von Wasser aus der Peritonealhöhle mit geringen Ultrafiltrationsvolumina. Für Patienten dieses Typs ist eine CCPD mit kurzer Verweilzeit geeignet.

Low transporter oder eine niedrige Permeabilität für kleine Teilchen bedeutet eine langsame Diffusion von Urämietoxinen ins Dialysat und eine langsame Glukoseresorption aus dem Dialysat. Diese Patienten sind geeignet für die CAPD mit höherem Füllvolumen bei langer Verweilzeit.

High average- und low average transporter mit mittelschnellen Transporteigenschaften eignen sich sowohl für die CAPD als auch für die mittels Zyklern durchgeführte APD (automatisierte Peritonealdialyse) (36).

D/P Kreatinin

D/D0 Glukose



Membrantransporttyp	D/P Kreatinin (4 h)
HIGH	.82 – 1.03
HIGH-AVERAGE	.65 – .81
LOW-AVERAGE	.50 – .64
LOW	.34 – .49

Abb. 7: Peritonealer Equilibrationstest nach Twardowski et al., 1997 aus PD Prescription Guide: PET Calculations

D/P Kreatinin : Dialysat Kreatinin Konzentration nach 0, 2 und 4 Stunden Verweilzeit
 Plasma Kreatinin Konzentration nach 2 Stunden Verweilzeit

D/D0 Glukose: Dialysat Glukose Konzentration nach 2 und 4 Stunden Verweilzeit
 Dialysat Glukose Konzentration nach 0 Stunden Verweilzeit

1.2. AGEs

1.2.1. Definition

AGEs werden als „Advanced glycation endproducts“ beschrieben. Sie wurden 1912 von dem französischen Biochemiker Louise Camille Maillard (1878-1936) als ein gelb-bräunliches Produkt beschrieben, welches durch Erhitzen einer Mischung aus Glukose und Aminosäuren entstand. Damit legte er den Grundstein für die Forschung der AGEs. Die Bräunungsreaktion wird als Maillard-Reaktion beschrieben (39).

Diese Pigmente resultieren aus einer extrazellulären nicht-enzymatischen Glykierungsreaktion zwischen Glukose und einer freien Aminogruppe von Proteinen, daher auch in der deutschen Sprache übersetzt als eine „nicht-enzymatische Glykierung“. Die Reaktion mit Glukose kann ebenfalls mit Peptiden und Phospholipiden, als Bestandteile der Zellmembran oder den Nukleinsäuren, den Trägern der Erbinformation auftreten (40, 41, 42). Diese bräunliche Färbung ist auch verantwortlich für die knusprige Kruste von gebratenen, gebackenen und gerösteten Lebensmitteln (LCI Lebensmittelchemisches Institut Köln).

1.2.2. Biochemie/ Maillard-Reaktion

Carbonylgruppen der Glukose reagieren mit einer freien, reaktiven Aminogruppe eines Proteins und bilden so innerhalb von Minuten bis Stunden in einer nicht-enzymatischen Reaktion eine instabile, hochreversible Schiff'sche Base, die sogenannten Aldimine (Abb. 8). Bereits nach Stunden bis Wochen bilden sich stabilere Amadoriprodukte, Ketoamine, die weniger reversibel sind und an Proteinen gebunden werden. Bei Absinken der Glukosekonzentration zerfällt die Verbindung innerhalb von Minuten, da der Glykosilierungsgrad abhängig ist von der Zuckermenge (43). Dieses ist z.B. im Rahmen einer Diabetes mellitus Therapie von Bedeutung. Ein sehr bekanntes Amadoriprodukt ist das HbA1C (Hämoglobin A 1C), welches ein Maß des durchschnittlichen Blutglukosespiegels der letzten Wochen ist (44).

Durch komplexe chemische Reaktionen reagieren die Amadoriprodukte durch Oxidation, Dehydration und anschließender Elimination und Kondensation nach Wochen bis Monaten zu den Endprodukten der Maillard-Reaktion, den Advanced glycation endproducts (AGEs), die irreversibel an Proteinen gebunden und somit stabil sind (45, 46, 54).

AGEs entwickeln sich über einen längeren Zeitraum und kommen daher insbesondere in langlebigen Proteinen wie z.B. kollagenem Gewebe vor. Die Konzentrationen nehmen im Alter zu und sind auch bei Diabetes mellitus erhöht (154). AGEs lagern sich mit zunehmender Dauer der Peritonealdialyse im Peritoneum ab.

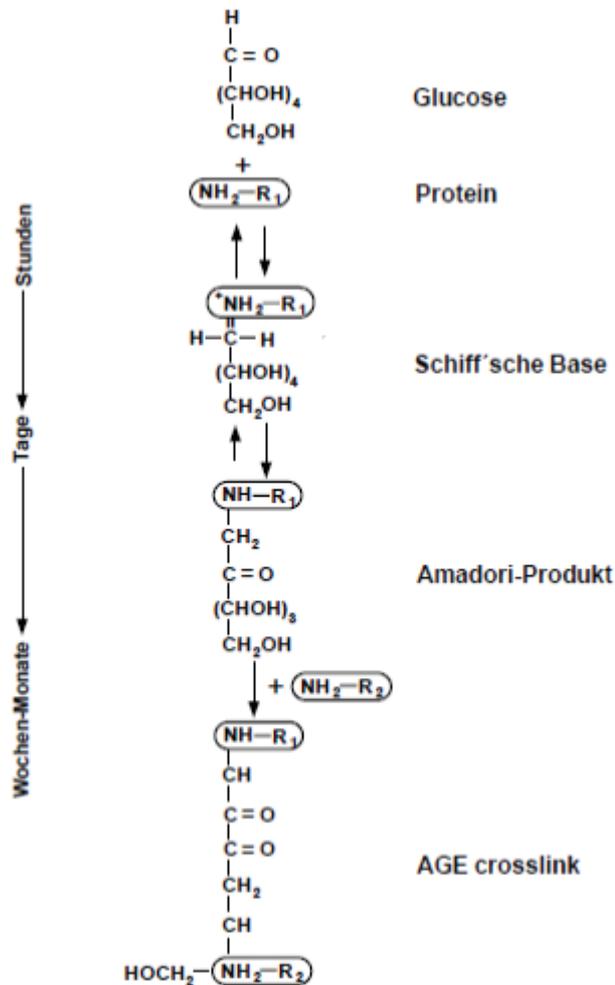


Abb. 8: Maillard-Reaktion, mod. nach Nawroth, P.P. et al. 1999

Aus den AGEs können sich neue Quervernetzungen mit anderen Proteinen bilden, welche komplexere Formen von AGEs entstehen lassen können. Am häufigsten wurden N ϵ -Carboxymethyl-Lysin (CML) und Pentosidine diskutiert (45, 46). Pentosidine sind Gegenstand der vorliegenden Arbeit (Abb. 9). Sie sind nachweisbar in Körperflüssigkeiten, wie Plasma und Urin und im Bindegewebe.

Diese Verbindungen der fortgeschrittenen Maillard-Reaktion wurden von Monnier et al. (1992) als in vivo Indikatoren angesehen (47, 54). Es wird vermutet, dass das Amadori-Produkt zwischen Lysin und einer Pentose entsteht und im zweiten Schritt mit Arginin zu Pentosidin kondensiert. Pentosidine können nach Hydrolyse der Proteine mittels HPLC bestimmt werden und in pmol/mg Protein angegeben werden (210).

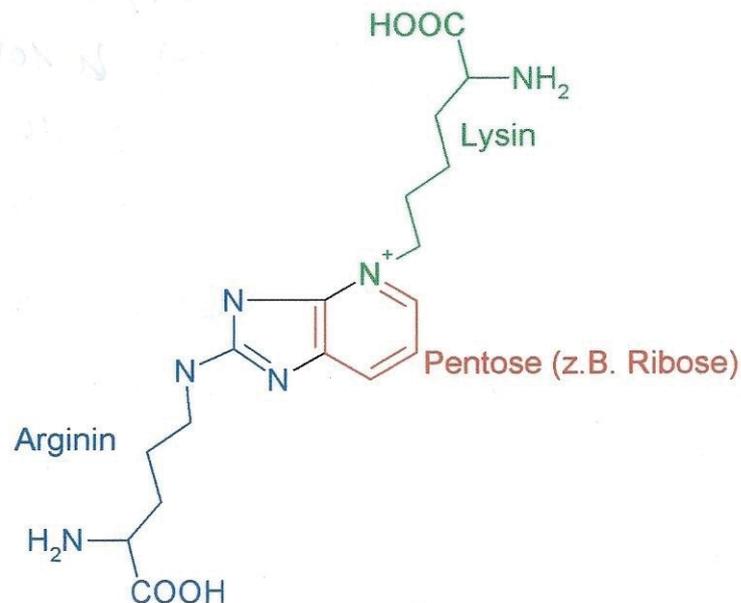


Abb. 9: Pentosidin Strukturformel - Lexikon der medizinischen Laboratoriumsdiagnostik 2007

1.2.3. Wirkung

Die Wirkung von AGEs wird ausgelöst durch Bindung an einem Rezeptor. Zu den unterschiedlichen AGE-Rezeptoren zählen:

Macrophage Scavenger Receptor Typ I und II (SR-A), Fructoselysin, Lactoferin, Lysozym, AGE-R1 (OST 48 / Oligosaccaryl Transferase 4), AGE-R2 (80 K-H / Proteinkinase C Substrat), AGE-R3 (Galectin-3), deren Auswirkung weitgehend unbekannt sind und der spezifische Receptor RAGE (48, 54).

RAGE wird auf Zelloberflächen exprimiert und zählt zur Familie der Immunglobulin Superfamilie (49). Auch wenn er als ein spezifischer Rezeptor für AGEs beschrieben wird, so ist er auch ein Ligand für andere Proteine wie z.B. β -Faltblatt-Fibrillen oder S100/Calgranulin und Amphoterin (50). RAGE besitzt ein Molekulargewicht von ca. 35 kD und zeigt eine höhere Expression auf Endothelzellen, glatten Muskelzellen, Neuronen, T-Lymphozyten, Monozyten/Makrophagen und Erythrozyten (40, 51, 52, 54).

Nach Bindung der AGEs von RAGE wird intrazellulär eine Signalkaskade in Gang gesetzt, die im Zellinnern oxidativen Stress auslöst (40, 51, 52). Bedingt durch den oxidativen Stress wird im Zytoplasma ein Transkriptionsfaktor NF κ B (nuclear factor-kappaB) aktiviert, der wiederum im Zellkern eine Genexpression auslöst (52, 53).

NF κ B reguliert die Expression inflammatorischer und immunologischer Gene und hat somit eine bedeutende Rolle in der Körperabwehr und bei chronischen Entzündungsreaktionen (96, 97). Die RAGE-abhängige Aktivierung erfolgt kontinuierlich und dauerhaft, während andere Rezeptoren nur für einige Stunden angeregt werden können (54). Außerdem kann eine Stimulation von anderen Rezeptorsystemen einen negativen Feedbackmechanismus auslösen. Im Gegensatz dazu führt eine Aktivierung von NF κ B zur vermehrten Expression des Rezeptors für AGE (RAGE), andererseits führt eine Aktivierung von RAGE zur Steigerung der Transkription von NF κ B (58). Dieses ist von Bedeutung bei an Diabetes mellitus, terminaler Niereninsuffizienz oder metabolischem Syndrom erkrankten Patienten, die eine erhöhte Konzentration von AGEs zeigen. Es tritt auch bei inflammatorischen Erkrankungen des Bindegewebes auf (59).

Das Peritoneum wird unter PD-Behandlung dauerhaft hohen Glukosebelastungen ausgesetzt. Bedingt durch die Hitzesterilisation der glukosehaltigen Dialysatlösung entstehen Glukoseabbauprodukten (GDP) (55), die im weiteren Verlauf irreversibel zu AGEs umgebaut werden können, die an RAGE-Rezeptoren z.B. der Mesothelzellen des Peritoneums binden (56). GDPs und AGEs sind ausgeprägt toxische Substanzen, die beide eine wesentliche Rolle für Entzündungsreaktionen am Peritoneum spielen (54, 57).

1.2.4. Vorkommen

Vor 100 Jahren entdeckte Louise Maillard eine Ursache für chronische Erkrankungen (Abb. 10) der heutigen Zeit (39). AGEs können mit natürlichen und krankhaften Vorgängen in Verbindung gebracht werden. Während des normalen Alterungsprozesses akkumulieren AGEs (63), die aus exogenen Quellen wie hitzebehandelten kohlenhydrat-, protein- oder fettreichen Speisen (93, 94, 95) oder Nikotinabusus stammen, als auch endogen im Körper gebildet werden durch rezidivierende Hyperglykämien bei Diabetes mellitus, oxidativen Stress oder molekularen Turnover (60).

Allerdings begünstigt oxidativer Stress nicht nur die Bildung von AGEs. Diese sind auch in der Lage, oxidativen Stress auszulösen (61), was wiederum zur vermehrten Bildung von AGEs und zu Veränderungen der Glukosebindungspartner führt (den Proteinen, Phospholipiden und Nukleinsäuren) und eine Dysfunktion der Organsysteme zur Folge hat (62).

AGEs werden nur über die Niere ausgeschieden, da sie sich dem enzymatischen Metabolismus entziehen (64). Sie binden dabei an spezifische Rezeptoren der Makrophagen und führen zu deren Degradation. Es entstehen lösliche AGE-Peptide, die über die Nieren durch Filtration, Reabsorption und Metabolisierung eliminiert werden (91). Dieses stellt aufgrund der verminderten Exkretion und der damit verbunden ansteigenden AGEs-Konzentration im Organismus eine Problematik für Patienten mit Niereninsuffizienz dar (64). Es wurde experimentell nachgewiesen, dass zirkulierende AGEs im Serum bei Diabetes mellitus aufgrund einer erhöhten Glukosekonzentration im Blut wesentlich höher liegen als bei Gesunden (65).

Spätfolgen des Diabetes mellitus, wie z.B. Makroangiopathie, Retinopathie, Neuropathie oder die diabetische Nephropathie, treten wesentlich früher auf (66, 67, 68). Bei der diabetischen Nephropathie finden sich AGEs in der verdickten Glomeruluskapillarwand, den Mesangiumzellen, sowie den Arterienwänden (92). In weiteren histologischen Nierenbiopsieuntersuchungen wurde eine Akkumulation von Pentosidinen und CML in den Glomeruli entdeckt (54).

Diabetes mellitus steht im Zusammenhang mit unterschiedlichen Komplikationen. In Folge der Arteriosklerose kann es zu Myokardinfarkt, pAVK oder Apoplex kommen, da AGEs unter anderem in den atheromatösen Plaques akkumulieren (69, 70, 71, 72).

Eine erhöhte AGE-Konzentration stellt einen Prädiktor für eine erhöhte kardiovaskuläre Mortalität dar (83, 84). Ebenso zeigen erhöhte Pentosidinkonzentrationen im Serum ein Risiko für kardiovaskuläre Erkrankungen (211). Es wird vermutet, dass sich die Gefäßsituation bei Nierentransplantation aufgrund der Elimination von AGE-Proteinen verbessert (82). Eine weitere Verbindung besteht bei neurodegenerativen Erkrankungen. In den pathologischen Läsionen des Morbus Parkinson und den Amyloidplaques des Morbus Alzheimer konnten AGEs nachgewiesen werden (73,74). Bei der Alzheimer Demenz wurden AGEs im Liquor festgestellt (75). AGEs akkumulieren auch in Knorpel oder im Kollagengewebe z.B der Haut. Dabei werden vor allem langlebige Proteine glykiert (76, 77, 78, 79), was eine verringerte Elastizität des Gewebes verursacht (80). Im Kollagengewebe der Augenlinse kann die Akkumulation von AGEs einen Katarakt hervorrufen (86, 87). Bei der Osteoporose wird vermutet, dass AGEs die Osteoklastenaktivität hemmen während Pentosidine die Osteoklasten aktivieren (81). Ebenso zeigten sich erhöhte Pentosidinwerte bei Patienten die an Fibromyalgie erkrankten (85).

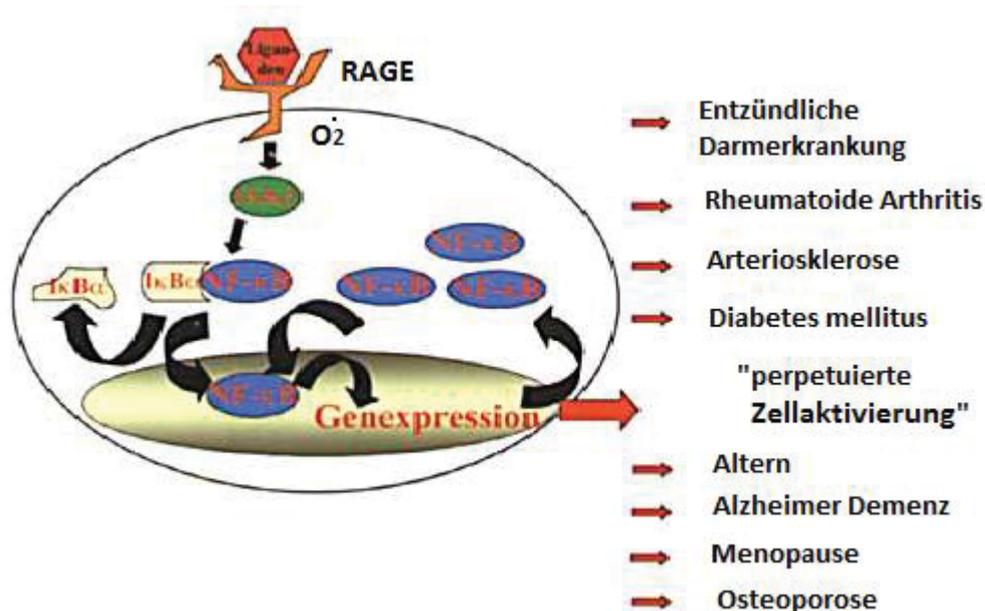


Abb. 10: AGEs binden an RAGE-Rezeptoren in der Zellmembran und aktivieren im Zellinnern NF-κB, was zu chronischen Erkrankungen führen kann (aus Forschungsmagazin Ruperto Carola Universität Heidelberg; Frau Dr. A. Bierhaus, Prof. Dr. P. Nawroth 3/2002)

1.3. Komplikation der Peritonealdialyse und Bedeutung der AGEs Entstehung

Die Peritonealdialyse wird als Therapie der terminalen Niereninsuffizienz eingesetzt. Der Erfolg der Behandlung resultiert aus der Funktionsfähigkeit der Peritonealmembran (103). Allerdings können verschiedene Komplikationen in der Anwendung der Langzeitperitonealdialyse auftreten.

1.3.1. Langzeitperitonealdialyse und deren Auswirkung auf das Peritoneum

Die Langzeitperitonealdialyse hat Einfluss auf die histomorphologische Funktion des Peritoneums durch Peritonitiden, die urämische Situation (Stoffwechsellage), aber insbesondere durch den regelmäßigen Kontakt mit der Dialyselösung mit hoher Osmolarität und Glukosekonzentration (105, 106).

Typische funktionelle Veränderung der Langzeitperitonealdialyse sind eine erhöhte Permeabilität für kleinmolekulare Solute, was häufig im Ultrafiltrationsversagen endet. Veränderungen der Peritonealmembran treten wahrscheinlich unter dem Einfluss von NO (Stickstoffmonoxid), proinflammatorischen Zytokinen (IL-1 β , TNF-alpha, IL-6) und Prostaglandinen auf (134). Als klinische Konsequenz führt dies zu einer Erhöhung der effektiven peritonealen Oberfläche mit zunehmender Hyperpermeabilität für niedermolekulare Solute und primärem Ultrafiltrationsversagen (115).

Typische histopathologische Veränderungen bei Langzeitperitonealdialyse sind eine submesotheliale Fibrose und Angiogenese im Peritoneum (136). Es wird davon ausgegangen, dass IL-1 β und TGF- β (transforming growth factor) verantwortlich sind für die Ausbildung einer Fibrose, und proinflammatorische Zytokine (IL-1 β , TNF-alpha, IL-6) eine Angiogenese fördern.

Als Folge rezidivierender Peritonitiden oder auch durch Langzeitperitonealdialyse generell kann sich eine enkapsulierende peritoneale Sklerose entwickeln (108). Morphologisch zeigt sich eine plattenartige, derbe, weißliche Verdickung des Peritoneums. Aufgrund der Zunahme von Myofibroblasten im Bindegewebe entstehen kontraktile Eigenschaften, welche im umliegenden Gewebe zu einer Obstruktion mit folgender Dilatation des Dünndarms führen können (109). Es bilden sich Verwachsungen und Verkalkungen (103,110).

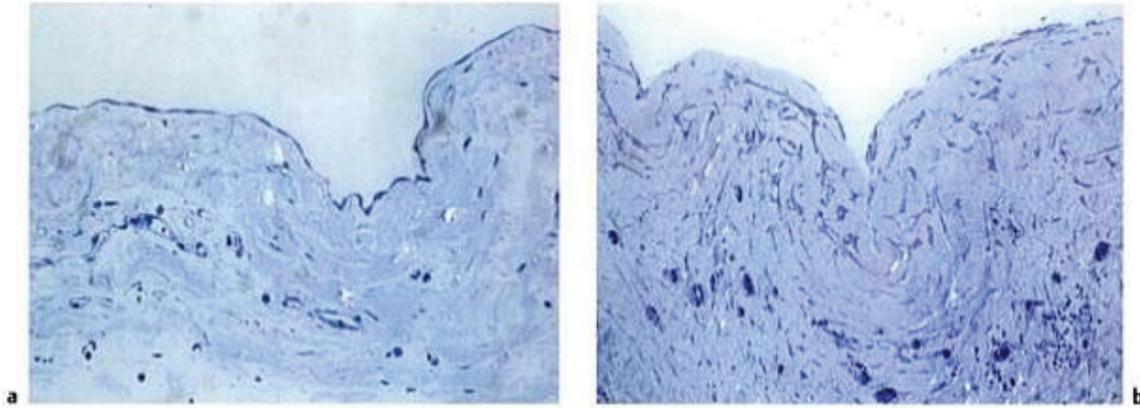


Abb. 11: Veränderungen des Peritoneums während der Peritonealdialyse

a) Normales Peritoneum mit einlagiger Mesothelschicht und submesothelialen Bindegewebe (40µm, Vergr. x 400)

b) Peritoneum nach 8 jähriger Peritonealdialyse mit rupturierter Mesothelschicht, Proliferation interstitieller Zellen und obliterierten Gefäßen sowie submesothelialer Verdickung (3000µm, Vergr. x 200)

1.3.2. Langzeitperitonealdialyse und die Entstehung von GDP und AGEs

Wie bereits in 1.1.3 beschrieben, bestehen Dialyselösungen aus Puffer, Elektrolyten und osmotischen Agen. Es wird die konventionelle Dialyselösung vom Doppelkammerdialysat unterschieden. Zur Erlangung einer hohen Ultrafiltration werden hyperosmolare Lösungen in der Peritonealdialyse verwendet, am häufigsten Glukose (99, 100).

Wiederholte Anwendungen hoher Glukosekonzentrationen in konventionellen Dialyselösungen führen zur Bildung von Abbauprodukten, den sogenannten Glucose degradation products (GDPs), diese wiederum stimulieren die Bildung von AGEs (153).

GDP (Glucose degradation products)

Neben den einwirkenden Einflüssen der PDL wie pH-Wert, Osmolarität und Puffer, beschrieben Wieslander et al. 1991 eine chronisch wirksame Toxizität bedingt durch die Hitzesterilisation der Lösungen (121), weil Glukose mit ansteigender pH-Wert und zunehmender Temperatur in Glukoseabbauprodukte umgewandelt wird (122).

Zu den bedeutendsten Glukoseabbauprodukten zählen Fruktosen und Aldehyde, die in der folgenden Tabelle dargestellt sind.

Substanz	Konzentration ($\mu\text{mol/l}$)
Acetaldehyd	120 – 420
Formaldehyd	6,0 – 15
2-Furaldehyd	0,05 – 2,0
Glyxoaal	3,0 – 14
5-Hydroxymethylfurfural	6,0 – 30
Methylglyxoaal	2,0 – 33
3 Deoxy-Glukose	118 – 154
3,4 Dideoxy-Glukose-3-ene	9,0 – 22

Tabelle 2: Glukoseabbauprodukte in kommerziell angebotenen Peritonealdialyselösungen (nach Wieslander et al. 1993 und Linden 2002)

Es konnte gezeigt werden, dass steril gefilterte Dialyselösungen keine bedeutsamen GDP-Konzentrationen enthielten, während in hitzesterilisierten Lösungen hohe Werte auftraten (123). Zahlreiche in-vitro-Studien zeigten, dass die Zellfunktion im größerem Ausmaß durch hitzesterilisierte Lösungen beeinträchtigt wurden. So demonstrierten Wieslander et al. eine direkte Inhibierung von Zellkulturen unter GDP-Einfluss (124). In weiteren Versuchen mit tierischen oder modifizierten menschliche Zellen (z.B. Mäuse L929 Fibroblasten und RAW 264.7 Makrophagen) konnten allerdings keine wesentlichen Veränderungen der Zellfunktionen festgestellt werden (124). Witowski et al. untersuchten die akute Wirkung (24 Stunden) von GDP und verschiedenen sterilen glukosehaltigen Peritonealdialyselösungen auf humanen peritonealen Mesothelzellen und beobachteten, dass Zellproliferation, Vitalität und Freisetzung von Il-6 durch verschiedene GDPs gehemmt wurden. In filtersterilisierten Lösungen wurde dagegen erst durch Zugabe höherer Dosen GDP eine Hemmung der Proliferation humaner peritonealer Mesothelzellen erreicht.

Um einen chronischen Verlauf prüfen zu können, entwickelte Witowski et al. ein Modell, in dem das Peritoneum über einen Zeitraum von 36 Tagen einer konventionellen Dialyselösung ausgesetzt wurde. Dies führte zu einer Reduktion von Il-6 und der extrazellulären Matrix, einem Vitalitätsverlust und morphologischen Veränderungen der Zellen. Zum Ende der Versuchsreihe war die Zellzahl um 60% reduziert.

Anschließend normalisierte sich allerdings die Funktion der Zellproliferation in einem GDP-freiem Medium (125). Inzwischen können positive Effekte bei Anwendung niedriger GDP-Konzentrationen (Doppelkammersystemen) nachgewiesen werden.

So beobachteten Mortier et al. in einer experimentellen Studie mit Ratten, dass eine Standard-PD-Lösung im Gegensatz zu einer mit niedriger GDP-Konzentration eine vermehrte Expression von VEGF (vascular endothelial growth factor), eine submesotheliale Fibrose und eine mikrovaskuläre Proliferation zur Folge hatte, was eine verminderte Netto-Ultrafiltration bei Anwendung der konventionellen Dialyselösung zur Folge hatte (156, 157).

Rippe et al. untersuchten über 24 Monate 80 Patienten mit hohen oder niedrigen GDP-Konzentrationen in den PD-Lösungen und stellten fest, dass sowohl die Mesothelzellen als auch das Interstitium durch die niedrigen GDP-Konzentrationen weniger geschädigt wurden. Unterschiede im Wasser- und Stofftransport konnten nicht beobachtet werden (155). Kawanishi et al. verwendeten Lösungen mit niedriger GDP-Konzentration und stellten eine verminderte Ausbildung einer Peritonealmembranfibrose sowie Gefäßsklerose fest. Allerdings nahm die Dichte der Kapillare zu (213). Auch in der Euro Balance Studie von Williams et al. zeigten sich die Vorteile niedriger GDP-Konzentration in der PDL: Die Serumspiegel von CML (Carboxymethyllysin) und Imidazol (Marker für AGE Konzentration im Serum) zeigten sich verringert (166). Es deutete sich an, dass diese Patienten einen Überlebensvorteil gegenüber den konventionell dialysierten Patienten hatten (167).

AGEs (Advanced glycation endproducts)

Die Bildung von AGEs wird begünstigt durch Anwendung konventioneller Dialyselösungen mit kontinuierlich hohen Glukose- und GDP-Konzentrationen. Diese sind nach 2 bzw. 8 Stunden nicht mehr im Effluat enthalten, was erklärt, dass sie systemisch resorbiert werden und im Peritoneum akkumulieren (126). Eine Abnahme der Nierenfunktion führt ebenfalls zu erhöhten Serumwerten von AGEs, da sie wegen fehlender Metabolisierung nur über die Niere ausgeschieden werden können (64). Glykotoxine über Nahrung oder Rauchen aufgenommen, wurden von Gesunden innerhalb von 48 Stunden bis zu 50%, von Patienten mit Niereninsuffizienz hingegen zu weniger als 5% ausgeschieden (54). Sowohl die vermehrte Bildung der AGEs als auch ihre verminderte Ausscheidung über die Niere spielen eine entscheidende Rolle für die ansteigenden AGE Konzentrationen im Organismus.

1997 beschrieben Nakayama et al. einen Zusammenhang zwischen dem Vorhandensein von AGEs im humanen Peritoneum und der Dauer der Peritonealdialyse. Dauerhafte Anwendung glukosehaltiger PDL über Monate bis Jahre zeigten zunehmende AGEs-Konzentrationen im Bauchfell. Dabei war die Akkumulation von AGEs in den Gefäßwänden des Peritoneums eine mögliche Ursache für die Zunahme der peritonealen Permeabilität mit Rückgang der Ultrafiltrationsleistung (127). In zahlreichen Untersuchungen konnte bereits nach 3 Monaten Anwendung der Peritonealdialyse AGEs im Mesothel, submesothelialen Stroma und in den Gefäßwänden nachgewiesen werden (127, 136, 146-148). Die Pentosidinkonzentrationen im Effluat verringerte sich unter Langzeitperitonealdialyse bei niedriger Glukosekonzentration im Dialysat, hier wurde ein direkter Zusammenhang hergestellt (158). Ebenso zeigten sich erhöhte Pentosidinwerte bei Ultrafiltrationsversagen unter Langzeit-PD im Gegensatz zu Patienten, die mit der PD begonnen hatten (159).

In-vivo-und in-vitro-Studien zeigten eine vermehrte Expression von VEGF (vascular endothelial growth factor) in Peritonealzellen unter hoher Glukosekonzentration (131, 132). Sowohl VEGF als auch AGEs konnten durch Biopsien in Mesothelzellen und Gefäßendothel lokalisiert werden (146, 149). Es bestand ein positiver Zusammenhang zwischen der Akkumulation von AGEs, der Bildung von VEGF und der peritonealen Neoangiogenese (130, 131), mit einer gesteigerten Transportkapazität für osmotische Agenzien, die zu einer Verminderung oder sogar einem Verlust der Ultrafiltrationskapazität führten. Honda et al. beschrieben einen Zusammenhang zwischen der Akkumulation von AGEs unter Langzeitperitonealdialyse und dem Grad der Ausbildung einer interstitiellen Fibrose sowie der Ausdehnung einer vaskulären Sklerose (139). Plum et al. stellten einen Zusammenhang zwischen dem Ausmaß der peritonealen Sklerose, dem jeweiligen Peritonealdialyseverfahren und dem Transporttyp her. Hier zeigte sich ebenso eine Korrelation zwischen zunehmender Fibrosierung und erhöhter Permeabilität des Peritoneums. Betroffen waren eher High transporter. Die peritoneale Sklerose war bei CCPD-Patienten ausgeprägter als bei CAPD-Patienten. Ursache hierfür war vermutlich der vermehrte Verbrauch von Dialyselösung bei CCPD und die damit verbundene höhere Zufuhr von GDP (138). Konventionelle Dialyselösungen mit hohen GDP-Konzentrationen stimulieren die AGEs-Bildung, was Linden et al. überwiegend auf 3 Deoxy-Glukose und 3,4 Didoxy-Glukose-3-ene zurückführten (128). Dialysate mit niedrigem GDP-Gehalt induzieren keine AGEs-Bildung (160). Mortier et al. beschrieben, dass konventionelle Dialyselösungen eine Akkumulation von AGEs und eine Hochregulierung des AGE-Rezeptors RAGE in der peritonealen Membran hervorrufen und folgerten, dass das Peritoneum bei Anwendung eines Doppelkammersystems besser erhalten bleibt (156, 157). Bei Umstellung der PD auf niedrige GDP-Lösungen trat eine Abnahme des Imidazol-Serum-Spiegels ein. Es wird vermutet, dass es sich dabei nicht nur um einen positiven lokalen Effekt handelt, sondern die AGE-Bildung auch systemisch beeinflusst wird (169).

Es lässt sich zusammenfassen, dass der kontinuierliche Einfluss des Dialysats während der Peritonealdialyse, rezidivierende Peritonitiden und die urämische Stoffwechsellage zu morphologischen Veränderungen der Peritonealmembran im Sinne einer submesothelialen Fibrose, Angiogenese mit Zunahme der effektiven Gesamtoberfläche und Vaskulopathie mit ansteigender Permeabilität des Peritoneums führen. GDPs und AGEs fördern diese inflammatorischen, fibrotischen und angiogenetischen Effekte, welches zum Kardinalproblem der Langzeitperitonealdialyse, dem Ultrafiltrationsversagen führt (150). Allerdings kann unter Verwendung des Doppelkammersystems eine AGE-Akkumulation reduziert und ein erniedrigter AGE-Gehalt im Blut nachgewiesen werden (153).

1.4. Zielsetzung und Fragestellung

Den nachfolgenden Fragen wurde im Rahmen dieser Arbeit nachgegangen:

1. Bestehen Zusammenhänge zwischen der Ablagerung von AGEs von chronischen PD-Patienten im Peritoneum und der Pentosidinkonzentration im Serum bzw. Effluat?
2. Bestehen spezifische Zusammenhänge zwischen der Ablagerung von AGEs von chronischen PD-Patienten im Peritoneum bzw. der Pentosidinkonzentration im Serum bzw. Effluat mit der Peritonealdialysedauer?
3. Bestehen spezifische Zusammenhänge zwischen der Ablagerung von AGEs von chronischen PD-Patienten im Peritoneum bzw. der Pentosidinkonzentration im Serum bzw. Effluat mit der Dialyse-Modalität (CCPD und CAPD)?
4. Bestehen spezifische Zusammenhänge zwischen der Ablagerung von AGEs von chronischen PD-Patienten im Peritoneum bzw. der Pentosidinkonzentration im Serum bzw. Effluat mit dem Alter der Patienten?
5. Bestehen spezifische Zusammenhänge zwischen der Ablagerung von AGEs von chronischen PD-Patienten im Peritoneum bzw. der Pentosidinkonzentration im Serum bzw. Effluat mit Parametern der Flüssigkeitskinetik des erweiterten peritonealen Equilibrationstests (PET)?
6. Bestehen spezifische Zusammenhänge zwischen der Ablagerung von AGEs von chronischen PD-Patienten im Peritoneum bzw. der Pentosidinkonzentration im Serum bzw. Effluat mit Diabetes mellitus und arterieller Hypertonie?

2. Patienten, Material und Methodik

2.1. Patienten

Frauen	36
Männer	19
Alter (Jahre)	20 bis 67 (42,71 ± 11,13)
Diabetes mellitus	14
Hypertonie	48
Anlaß der peritonealen Biopsie-Immunhistochemie	
Katheterneuanlage	37
- Patienten mit PET	19
Katheterwechsel	14
- Patienten mit PET	6
Katheterexplantation nach NTX	4
- Patienten mit PET	4
Dialyse - Modalität	
CCPD	n = 41
- Patienten mit PET	n = 20
CAPD	n = 14
- Patienten mit PET	n = 7

Peritonealdialysedauer:	2 – 151 Monate (18,91 ± 31,79)
Dialyselösung:	
Einkammersystem	
Dianeal 1,36%, 2,27% und 3,86 %	n = 28
Doppelkammersystem (GDP reduziert)	
Physioneal 1,36% und 3,86%	n = 18
Stay safe 1,5%, 2,3% und 4,25%	n = 7
Gambrosol Trio 1,5%, 2,5% und 3,9%	n = 2
Polyglukose oder Aminosäuren	
Extraneal, zusätzlich zu o.g.	n = 1
Nutrineal, zusätzlich zu o.g.	n = 3

Tabelle 3: Anthropometrische-und klinische Daten

Hämolytisch urämisches Syndrom	n = 3
Glomerulonephritis	n = 15
Diabetische Nephropathie	n = 10
Zystennieren	n = 5
Rezidivierende Pyelonephritiden	n = 3
IgA-Nephropathie	n = 11
Hypertensive-oder vaskuläre Nephropathie	n = 3
Lupusnephritis bei SLE	n = 3
Nierenamyloidose	n = 2

Tabelle 4: Grunderkrankungen und Ursache des Nierenversagens

Aus dem Patientenkollektiv der nephrologischen Klinik der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf erfolgte eine Auswahl von 55 Patienten , 36 weibliche und 19 männliche Probanden, bei denen peritoneale Biopsien immunhistochemisch auf submesotheliale, interstitielle, endotheliale und perikapilläre AGEs-Ablagerungen untersucht wurden. Die Gewebeprobe konnten entnommen werden, wenn die Indikation zur Katheterneuanlage, Katheterwechsel oder Unterbrechung der PD aufgrund Katheterexplantation zur Nierentransplantation (NTX) gegeben war. Die Biopsieentnahmen fanden im Bereich der Katheterinsertionsstelle statt, wie in Kapitel 3.3.1. beschrieben. Zu diesem Zeitpunkt lag weder eine lokale, wie z.B. eine Tunnelinfektion, noch eine systemische Entzündung bei den Patienten vor.

Für die HPLC-Methode (High Performance Liquid Chromatography) standen 27 Serum- und Dialysatproben, die im Rahmen von 27 erweiterten PETs (erweiterten peritonealen Equilibrationstest) gewonnen wurden, zur Verfügung.

Die Abnahme der Serum-und Dialysatproben für den erweiterten PET erfolgte in zeitlicher Nähe (bis zu 12 Monate nach der Biopsieentnahme bei Patienten mit Katheterneuanlage oder bis zu 12 Monate vor der Biopsieentnahme bei Patienten mit folgendem Katheterwechsel oder Katheterentfernung nach NTX). Somit konnte bei diesen 27 Patienten sowohl Daten zur Immunhistochemie, zum erweiterten PET, als auch zur Pentosidinkonzentration erhoben werden.

Patienten mit Diabetes mellitus und arterieller Hypertonie wurden in diese Studie mit einbezogen.

Alle Patienten wurden über die Gewebeentnahme und Laboruntersuchung aufgeklärt und gaben ihre schriftliche Einverständniserklärung.

2.2. Geräteliste und Chemikalien

2.2.1. Geräteliste

Immunhistochemie

Objektträger

Fettstift -Dako Pen

Dako Cytomation Hamburg

IHC Inkubations-Feuchtkammer
Düsseldorf

Werkstatt der Heinrich-Heine-Universität

Mikroskop:

Olympus Hamburg

Olympus BX 50

Mikroskopkamera:

Olympus Hamburg

Zoom c 3030

Kameraadapter:

ADU Japan

Zoom c 3040

Objektive:

Olympus Hamburg

10 x /0,25 Ph 1 (Plan)

40 x /0,75 Ph 2 (U Plan FI)

HPLC

HPLC-Anlage

MerckHitachi Darmstadt

bestehend aus:

Gradientenpumpe L7100

Autosampler L7200

Fluoreszenzdetektor L7480

Computerinterface D7000

RP-18-Säule CliChroCART 250-4

Säule Merck (LiChroCart 250-4) 5 µm

Vorsäulenkartusche (LiChroCart 4-4) 5 µm

Säulhalterung Manu-Cart 4

Reaktionsgefäße	Waters GmbH Pico Taq (USA)
Assistent 100 Reagenzgläser starkwandig, No. 2775/0 50 x 6,5mm	Hecht, Sondheim
Millipore Ultrafree MC 0,45 Filter Unit, Cat. No. UFC 30HV00	Millipore GmbH Schwalbach
Universal - Wärmeschrank	Memmert GmbH + CoKG Schwabach
Ultrazentrifuge L7-55	Beckman instruments GmbH München
Vortex Typ REAX 2000	Heidolph Kelheim

2.2.2. Chemikalien

Immunhistochemie

Proteinase K	Dako Cytomation, Hamburg
PBS, Phosphatpuffer	Serrag-Wiessner, Naila, Deutschland
Hydrogen Peroxid aus LSAB 2 Kit	DAKO Cytomation, Hamburg
Anti AGE Monoclonal Antibody Mouse, Clone No. 6D12	Trans genic. Inc., Japan
Primärantikörper IgG Maus, Immunglobulin, IgG Code No. X0931	DAKO Cytomation, Hamburg
Negativkontrolle Dako Antibody Diluent, Antikörper-Verdünnungslösung, Code No. S3022	DAKO Cytomation, Hamburg
biotinylierten Linker, gelbe Tropfen Sekundärantikörper	DAKO Cytomation, Hamburg
Streptavidin HRP, rote Tropfen	DAKO Cytomation, Hamburg
DAB (3,3 `Diaminobenzidin)	DAKO Cytomation, Hamburg
gepuffertes Substrat	DAKO Cytomation, Hamburg
Hämalaun	Mayer, Deutschland

HPLC

10 N Salzsäure	Merck, Darmstadt, Deutschland
5 N Natronlauge	Merck, Darmstadt, Deutschland
PBS, Phosphatpuffer	Serrag-Wiessner, Naila, Deutschland
Acetonitril, Merck: 1.000.30.2500	Merck, Darmstadt, Deutschland
Trichloressigsäure, Fluka 91699	Fluka, Schnelldorf, Deutschland
Pyridoxamin-Dihydrochlorid Fluka 9380	Fluka, Schnelldorf, Deutschland
Heptafluorobutyric acid solution purum Fluka 49540	Fluka, Schnelldorf, Deutschland

2.3. Immunhistochemie von Peritonealgewebe

2.3.1. Anfertigung der Schnitte

Zur Herstellung von Peritonealgewebeschnitten wurde parietales Peritoneum operativ entnommen.

Es wurden 10 Gewebestücke von ca. 1 cm Größe für jeweils 24 Stunden in 3,7% Formalin (Fixierungslösung ph 7,3) fixiert. Die in Parafin eingebetteten Gewebestücke wurden anschließend in 5-7 µm dicke Scheiben geschnitten und auf einen Objektträger gebracht und dann wie folgt behandelt.

2.3.2. Immunhistochemie (IHC)

Es wurden 10 Objektträger pro Durchlauf bearbeitet mit jeweils einer Negativkontrolle (9/1).

Die Präparate wurden zu Beginn in Xylol deparaffiniert. Anschließend wurde zur Entfernung überschüssiger Flüssigkeit und Xylol eine Alkoholreihe absteigender Konzentration verwendet und im Anschluß die Objektträger in Aqua destillata (Ersatz für Alkohol) gewässert.

Für alle Bäder wurde jeweils 250 ml Flüssigkeit verwendet.

Verlauf:

Paraffinierte Gewebeschnitte in Xylolbad für 2 x 3 Minuten

Ethanol 100% 2 x 3 Minuten

Ethanol 96% 2 x 3 Minuten

Ethanol 80% 2 x 3 Minuten

Ethanol 70% 2 x 3 Minuten

Aqua destillata 2 x 3 Minuten

Nach 40 verarbeiteten Objektträgern mussten alle Bäder (jeweils 250 ml) erneuert werden, um eine Hintergrundfärbung durch enthaltende Mediumreste zu verringern.

Die Präparate wurden umrandet mit Dako-Pen Fettstift (DAKO), damit ein Abfließen der Lösungen verhindert werden konnte.

Die Dünnschnitte wurden zunächst für 5 Minuten mit 150 µl einer gebrauchsfertigen Proteinase K Lösung (DAKO) behandelt, um die AGEs-Epitope zu demaskieren, da die Formalinfixierung die Proteine des Präparates quervernetzt, was zu einer Maskierung der gesuchten Epitope führen kann.

Im Anschluß daran wurden die Dünnschnitte mit Phosphat gepufferte Salzlösung (PBS) gewaschen und dann für 5 Minuten mit 150 µl Hydrogen Peroxid (DAKO, LSAB-2-Kit 3%) je Präparat bedeckt. Dies war bereits vor Beginn der Anfärbung mit 3,3`Diaminobenzidin (DAB, DAKO, LSAB 2 System) wichtig, um später nur das an Streptavidin gebundene Enzym nachweisen zu können. Dadurch konnte die endogene Peroxidase blockiert werden, die vorrangig in roten und weißen Blutkörperchen vorkommt. Im weiteren Zwischenschritt wurde wieder mit PBS gewaschen.

Zwischen den einzelnen Arbeitsschritten wurden die Objektträger in eine mit PBS gefüllte Küvette gestellt, um eine Austrocknung zu verhindern.

Die Präparate wurden dann für 16 Stunden bei einer Temperatur von 4°C mit jeweils 150 µl Primärantikörper IgG Antikörper (Maus, monoklonaler AK 0,25 mg/ml, von Trans genic. Inc.) pro Präparat bedeckt. Der Primärantikörper bindet mit seinem Fab-Fragment an das gesuchte Antigen (AGEs), unter Bildung eines Immunkomplexes (Primärantikörper gegen Antigen AGEs bilden Immunkomplex).

Die Konzentration der Antikörper (AK) wurde mit einem Antikörperverdünnungsmedium (DAKO Antibody Diluent DAKO, S3022) hintergrundreduzierend auf eine sich als günstig erwiesenen AK-Konzentration von 1 µg/ml verdünnt, (da auch AK unspezifisch braun färben = Hintergrundrauschen, nicht nur AGEs) um eine möglichst intensive Differenzierung bei geringer Hintergrundfärbung zu erreichen. Eine Anfärbung eines Präparates, die nicht eine Antigen-Antikörper Bindung darstellt, wird als unspezifische Hintergrundfärbung bezeichnet.

Um die Präparate vor dem Austrocknen zu schützen, wurden sie wiederum in eine feuchte Kammer gestellt.

Die Objektträger wurden nach 16 Stunden Inkubationszeit erneut in PBS gewaschen und anschließend 10 Minuten mit einem Sekundärantikörper (DAKO, LSAB 2 System) behandelt, der mit Biotin konjugiert (biotinylierten Linker) ist. Der Fab-Teil des Sekundärantikörpers bindet an den Primärantikörper.

Nach weiterer Waschung mit PBS wurde für 10 Minuten die Streptavidin HRP Lösung (Horse radish peroxidase, DAKO, LSAB 2 System) aufgetragen. Streptavidin bindet an das Biotin des Sekundärantikörpers. Die Präparate wurden erneut in PBS gewässert und schließlich für 10 Minuten in 150 µl DAB-Lösung (3,3` Diaminobenzidin, DAKO, LSAB 2 System) belassen, deren Konzentration 1 Tropfen (20 µl) auf 1 ml gepuffertes Substrat (DAKO, LSAB-2 System) betrug.

Mit DAB konnte das Enzym Peroxidase (und somit das gesuchte Antigen AGE) sichtbar gemacht werden, indem ein braunes Reaktionsprodukt gebildet wurde. Die braune Farbreaktion wurde durch Spülung mit PBS gestoppt.

Die Gegenfärbung fand in Mayers-Hämatoxylin für 5 Minuten statt.

Hämatoxylin ist ein Inhaltsstoff des Blauholz. Er wird v.a. zur Anfärbung von Zell- und Gewebestrukturen wie z.B. Zellkern, Mitochondrien, Elastin, Kollagen verwendet.

Anschließend wurden die Präparate in Aqua destillata für 5 Minuten gewässert.

Die Schnittpräparate wurden zum Abschluss in ansteigender Alkoholreihe dehydriert, 3 Minuten in ein Xylolbad gegeben, mit Eukitt (Kindler GmbH & Co., Freiburg) eingedeckt, anschließend mit einem Deckglas versehen und somit dauerhaft fixiert.

Bei jeder Färbung wurden Negativkontrollen mitgeführt. Der spezifische Primärantikörper wurde dabei durch einen unspezifischen Antikörper der gleichen Klasse in gleicher Konzentration von 1 µg/ml ersetzt. Ziel der Negativkontrolle war zu zeigen, dass der verwendete Primärantikörper gegen AGEs mit seinem Fc-Teil nicht unspezifisch bindet.

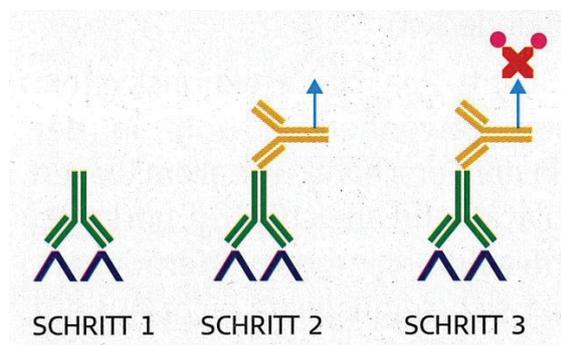


Abb. 12: Prinzip der Antikörperbindungen im DAKO LSAB-2 System®: blau = gesuchtes Epitop, grün = Primärantikörper, gelb = biotinylierter Sekundärantikörper, rot = Streptavidin HRP

2.3.3. Auswertung

Unter dem Lichtmikroskop (Olympus-Mikroskop BX 50) wurde die immunhistochemische Färbung im Submesothel, Endothel, im Bereich der Gefäße und im tiefliegenden Interstitium mit Hilfe von vorgefertigten und bewerteten Präparaten graduiert. Alle Parameter wurden dreimal erhoben und ein Mittelwert gebildet, der dem Endwert entsprach.

Es wurde in 4 Gruppen unterschieden: siehe Abb 14-17.

0: keine Färbung vorhanden

1: sehr schwache Anfärbbarkeit

2: schwache Anfärbbarkeit

3: starke Anfärbbarkeit

2.4. Klinische Untersuchung der peritonealen Transporteigenschaften

2.4.1. Erweiterter Peritonealer Equilibrationstest

Da ein klassischer PET keine ausreichende Aussage über die Flüssigkeitskinetik liefert, wird der erweiterte Dextran-PET mit 3,86%iger Glukoselösung unter Zugabe des Makromoleküls Dextran 70, welches ca. 70 kD groß ist, in der Universitätsklinik Düsseldorf angewendet. Das Glukosepolymer Dextran 70 fungiert als Volumenmarker. Es unterliegt nur einem geringgradigen Metabolismus, da es nur über den lymphatischen Weg aus dem Dialysat über das Peritoneum resorbiert wird.

Vor dem Test wurde die Bauchhöhle mit 2 Litern 1,36% Glukoselösung gespült. Danach wurde 2150 ml 3,86% ige Lösung, einschließlich 300 g des Makromoleküls Dextran 70 eingefüllt. Zum Ende der Einlaufzeit erfolgte die Entnahme von Serum (P)-und einer Dialysatprobe (D), zur Bestimmung der Konzentration von Kreatinin, Harnstoff, Glukose, Natrium und Dextran (im Dialysat). Dies entsprach dem Zeitpunkt Null (D/P0). Weitere Beprobungen des Dialysats fanden nach 15, 60, 120 und 240 Minuten statt (D0min; D15min; D60min; D120min; D240min). Glukose wurde zu den Zeitpunkten D0 und D240 bestimmt. Protein zum Zeitpunkt D240. Das Serum wurde nach vier Stunden ein zweites Mal auf Kreatinin, Harnstoff, Glukose; Protein und Natrium analysiert (P240).

Die Dialysat/Plasma Ratio wurde berechnet. Zum Abschluss der 4-stündigen Verweilzeit wurde die Bauchhöhle vollständig entleert und ein zweiter Spülzyklus mit einer 1,36%igen Spüllösung für 10 Min. durchgeführt.

Durch die Konzentrationsbestimmung des Glukosepolymers Dextran 70 in den Dialysatproben lässt sich die lymphatische Absorptionsrate (LAR) und die transkapilläre Ultrafiltration (TCUF) errechnen. Kommt es im Verlauf zum Abfall der Dextrankonzentration in den Dialysatproben, so ist das intraperitoneale Flüssigkeitsvolumen angestiegen.

Das Residualvolumen wird anhand der Dextrankonzentration aus dem letzten Spülbeutel bestimmt.

Nach 240 Minuten wird die effektive Ultrafiltration (EUF) berechnet, indem die LAR von der TCUF subtrahiert wird. Desweiteren beinhaltet die TCUF den Aquaporin-1-vermittelten freien peritonealen Wassertransport (UFUSP) und den Wassertransport über die kleinen Poren (UFSP).

Der UFUSP kann über einen Umweg über das Sodium sieving unter Verwendung einer 3,86% igen Glukoselösung errechnet werden.

Abbildung 13 zeigt ein Beispiel eines erweiterten peritonealen Dextran-Equilibrationstests, wie es in der Universitätsklinik-Düsseldorf durchgeführt wird.

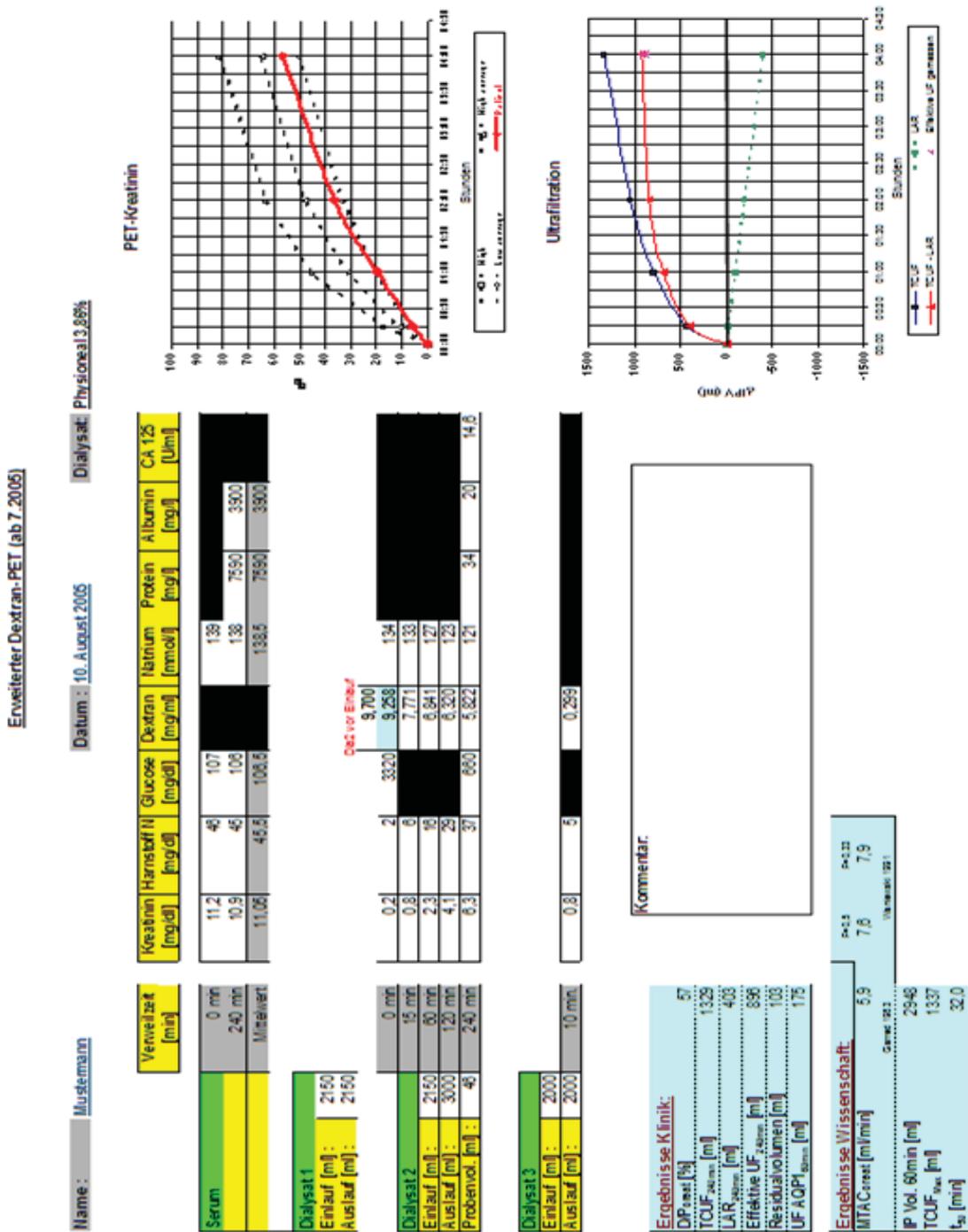


Abb. 13: Erweiterter peritonealer Dextran-Equilibrationstest aus der Nephrologischen Klinik der Universitätsklinik Düsseldorf

2.4.1.1 Peritonealer Stofftransport

D/Pcreat%

Das Dialysat-zu Plasmaverhältnis für Kreatinin (D/Pcreat%) wurde errechnet und im Verhältnis zur Dialysatverweilzeit in einem Diagramm graphisch aufgetragen. Dabei wurde die Dialysatkonzentration des intraperitonealen Solute zu einer definierten Verweilzeit zum Zeitpunkt t=0, 15, 60, 120 und 240 Minuten (D0min; D15min; D60min; D120min; D240min.) durch das arithmetische Mittel der Plasmakonzentration des Stoffes vor und nach der Equilibration (P0 und P240) dividiert. Es dient als Parameter für den Transport kleinmolekularer Solute. Ein Anstieg ist ein Indikator für höhere Permeabilität der Peritonealmembran.

Dieses wird in der Abbildung 13 PET-Kreatinin dargestellt.

2.4.1.2 Formeln zur Berechnung der peritonealen Flüssigkeitskinetik

Residualvolumen

Für viele Berechnungen der peritonealen Transportkinetik diente das intraperitoneale Volumen (IPV) als Basis. Dieses wurde für die Zeitpunkte t = 60 min., t = 120 min. und t = 240 min. berechnet. Dazu wurde die Dextrankonzentration des Dialysates zum Zeitpunkt t = 0 min. mit dem instillierten Volumen multipliziert und durch die Dextrankonzentration zum Zeitpunkt t dividiert.

Unter Berücksichtigung des Residualvolumens, welches die Ausgangskonzentration des Dextrans nach beendeter Instillation absenkt (Verdünnung), wurde die Dextrankonzentration nach 15 Minuten als der korrektere Bezugswert für die weiteren Berechnungen betrachtet. Das Residualvolumen errechnete 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..

$$RV[ml] = \frac{V_{rs} \times C_{rs}}{C_{ts}} \quad \text{Formel 1}$$

Die intraperitoneale Volumenveränderung ist auf die lymphatische Absorptionsrate (LAR) und auf die transkapilläre Ultrafiltration (TCUF) zurück zu führen.

Beide Parameter werden mit dem intraperitonealen Volumenmarker Dextran bestimmt.

Transkapilläre Ultrafiltration

Die Konzentrationsänderung des intraperitonealen Dextrans diene gleichermaßen der Berechnung der transkapillären Ultrafiltration zu einem bestimmten Zeitpunkt ($TCUF_t$). Sie wird beschrieben als die Änderung des IPV in Abwesenheit der lymphatischen Absorption (168).

Der Quotient aus instillierter Dextranmenge C_{15} zum Zeitpunkt $t = 15$ min. und die Dextrankonzentration (C_t) zum Zeitpunkt t wurde dazu vom Füllvolumen V_i subtrahiert.

$$TCUF_t [ml] = \frac{C_{15} \times V_i}{C_t} - V_i \quad \text{Formel 2}$$

Lymphatische Absorptionsrate

Dextran wird über den lymphatischen Weg rückresorbiert. Der Verlust an intraperitonealen Dextran gibt Aufschluss über die lymphatische Absorptionsrate. Berechnungsgrundlage ist die Abnahme der intraperitoneal applizierten Dextranmasse über die Zeit. Die lymphatische Absorptionsrate (LAR) ist durch folgende Formel definiert.

$$LAR_t [ml/min] = \frac{D_i - D_t}{C_{geom} \times t} \quad \text{Formel 3}$$

Der UFUSP kann über einen Umweg über das Sodium sieving unter Verwendung einer 3,86% igen Glukoselösung nach 60 min. errechnet werden.

D_i = instillierte Dextranmenge (bei $t = 15$ min.)

D_t = Dextranmenge zum Zeitpunkt t

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

t = Zeit

Effektive Ultrafiltration

Aus dem Zusammenhang der traskapillären Ultrafiltration und der lymphatischen Absorbtiionsrate ergibt sich die effektive Ultrafiltration (EUF). Diese wird durch Subtraktion der beiden Parameter ermittelt. Durch das während der Testphase abgenommene Probenvolumen erfolgt eine Korrektur.

$$EUF [ml] = TCUF - LAR \quad \text{Formel 4}$$

Sodium sieving

Es wird nach folgender Formel berechnet:

$$Sodium\ sieving [mM] = Na+D0min - Na+D60min \quad \text{Formel 5}$$

$Na+Dt$ = Natrium im Dialysat

Anhand der La Milia-Methode (2002) wurde der Aquaporin 1 (AQP-1) vermittelte Wassertransport nach folgenden Formeln berechnet. Zunächst musste dafür die Ultrafiltration durch kleine Poren (small pores = UFSP) errechnet werden.

Ultrafiltration durch kleine Poren (small pores)

$$UFSP_{60min} [ml] = [NaR(mM) \times 1000] / Na_p \quad \text{Formel 6}$$

$UFSP_{60min}$ = Ultrafiltration durch small pores t

NaR = Natriumremoval

Na_p = Natrium im Plasma

AQP-1 vermittelter freier peritonealer Wassertransport (ultrasmall pores)

$$UFUSP_{60min} [ml] = IPVol_{60min} - \text{Einlauf-UFSP} \quad \text{Formel 7}$$

$UFUSP_{60min}$ = Ultrafiltration durch ultrasmall pores t

$IPVol_{60min}$ = Intraperitonealvolumen t

Einlauf-UFSP = Dialysateinlaufvolumen

2.5 Hochleistungs-Säulenflüssig-Chromatographie (HPLC)

HPLC ist die Abkürzung für High Performance Liquid Chromatography.

Sie gehört zu den chromatographischen Trennverfahren.

Mittels der HPLC wurde der Pentosidingehalt in Serum und Dialysat bestimmt.

2.5.1 Probengewinnung und Aufbereitung

Es wurden die Proben aus der PET Serum (P0) und Dialysat (D240min) verwendet.

Der Pentosidinmessung lag die von Miyata et al. (1996) beschriebene HPLC-Methode zugrunde.

Das Serum und das Dialysat wurden vorher jeweils aufgetaut, geschüttelt und für 3 Minuten bei 8000 Upm zentrifugiert.

Dann wurde folgendermaßen vorgegangen:

2.5.1.1 Totalpentosidin

Totalpentosidin setzt sich aus proteingebundenen und freien Pentosidin zusammen.

1. Es wurden 50 µl Serum-bzw. Dialysat Probe (entspricht 4 mg Protein) mit 50 µl 32%ige Salzsäure (10 N HCL) in Assistent-Reagenzgläser gemischt und anschließend für 3 Minuten bei 1000 Upm und 4°C zentrifugiert.
2. Die Waters-Reaktionsgefäße wurden jeweils mit 100 µl Aqua destillata und 100 µl Salzsäure (10 n HCL) gefüllt. 10 Reagenzgläser wurden jeweils in ein Reaktionsgefäß hineingestellt und verschlossen.
3. Mit Hilfe einer Wasserstrahlpumpe wurde eine N₂-Atmosphäre über dem Ansatz durch dreimaliges Absaugen der Luft mit Ausgleich des Unterdrucks mit N₂ erzeugt.
4. Die Proben wurden für 16 Stunden bei einer Temperatur von 110°C in den Wärmeofen (Universal-Wärmeschrank, Memmert) gestellt. Durch Hydrolyse unter N₂-Bedingungen wurde das Totalpentosidin im Serum/Dialysat in seine protein-bzw. peptidfreie Form überführt.
5. Zur Neutralisierung des Hydrolysats wurden 100 µl Natronlauge (5 N NaOH) und 200 µl Phosphatpuffer (pH 7,4) eingesetzt und geschüttelt.

6. Die Reinigung des Ansatzes wurde mittels Millipore-Filter (0,45 µm Porengröße) vorgenommen, unter Zentrifugation für 3 Min. bei 8000 Upm und Raumtemperatur von 20°C.
7. 200 µl Dialysatprobe wurden lyophilisiert (eingetrocknet) um den basischen pH und die Flüssigkeit zu entfernen und abschließend mit PBS 1:5 verdünnt. 50 µl Serumprobe wurden lyophilisiert und in 500 µl 4µM Pyridoxaminlösung in Laufpuffer A aufgenommen (1:10 verdünnt). Das HPLC Injektionsvolumen der Proben war 50 µl.

2.5.1.2 Freies Pentosidin

1. Es wurden 50 µl Probe (Serum bzw. Dialysat) mit 150 µl Aqua destillata und 200 µl 10%ige Trichloressigsäure (TCA) in Assistent Reagenzgläsern geschüttelt, anschließend für 5 Minuten bei 8000 Upm unter Raumtemperatur (20°C) zentrifugiert.
2. Der Überstand wurde in Millipore Filter (0,45 µm) überführt und zentrifugiert für 3 Minuten bei 80000 Upm und Raumtemperatur (20°C) Verdünnungsfaktor 8.
3. Dialysat-Proben wurden nicht eingedämpft (hydrolysiert) und nicht lyophilisiert. 50 µl Serum-Proben wurden lyophilisiert und in 25 µl 4µM Pyridoxaminlösung in Laufpuffer A aufgenommen (2:1 aufkonzentriert). Das HPLC Injektionsvolumen der Proben war 50 µl.

2.5.2 Messung von Totalpentosidin – und freiem Pentosidin mittels HPLC

In dieser Verdünnung wurde der Pentosidin-Gehalt nach Gradiententrennung an einer RP-18-Säule mittels HPLC (high performance liquid chromatography) unter Fluoreszenzdetektion bestimmt (Wellenlängen: Excitation 335 nm; Emission 385 nm). Zur Kalibrierung der HPLC-Methode stand eine Standardlösung mit definierten Konzentrationen an synthetischem Pentosidin zur Verfügung.

Die HPLC-Anlage (Merck-Hitachi) bestand aus einer Gradientenpumpe (L7100), Autosampler (L7200), Fluoreszenzdetektor (L7480) und Computerinterface (D7000).

Laufmittel für die Messung des Pentosidingehaltes mit HFBA (Heptafluorobutyric acid):

Laufpuffer:

Lösung A: 12% Acetonitril, 0,01 M HFBA (Heptafluorobutyric acid) in Aqua destillata

Lösung B: 60% Acetonitril, 0,01 M HFBA (Heptafluorobutyric acid) in Aqua destillata

Das Zeitprogramm setzte sich aus der in Tabelle 5 aufgeführten Gradienten zusammen.

Es wurde sowohl das Totalpentosidin bestimmt, dass sich aus proteingebundenen und freien Pentosidin zusammensetzt, als auch das freie Pentosidin. Somit konnte der proteingebundene Pentosidingehalt festgelegt werden. Der zu ermittelnde Pentosidingehalt wurde in pmol/mg angegeben, bezogen auf die jeweilige Proteinmenge. Die Proteine wurden mittels erweiterten PET bestimmt (D240min/P240)

Der Pentosidingehalt wurde wie folgt bestimmt:

$$\frac{\text{Totalpentosidin [pmol/ml]} - \text{freies Pentosidin [pmol/ml]}}{\text{Proteinkonzentration [mg/ml]}} \quad \text{Formel 8}$$

2.5.2.1 Messung Pentosidin mit HFBA

Einstellungen für HPLC:

Floureszenzdetektor:

Attenuation:4

Gain: x100

Excitation Lambda: 335 nm

Emission Lambda: 385 nm

Pumpe:

Flussrate: 1 ml/min

Pumpenprofil

Pumpengrogramm

Zeit (min.)	% Lösung B	Step	Min.	%A
0	0	0	0	100
5	0	1	5	100
55	40	2	50	60
60	100	3	5	0
70	100	4	10	0
75	0	5	5	100
85	0	6	10	100

Tabelle 5: Zeitprogramm der HPLC mit Gradientenangabe mit Laufpuffer HFBA

Laufpuffer:

Lösung A: 12% Acetonitril, 0,01 M HFBA (Heptafluorobutyric acid) in Aqua destillata

Lösung B: 60% Acetonitril, 0,01 M HFBA (Heptafluorobutyric acid) in Aqua destillata

Stocklösung A: 0,1 M HFBA

2.5.3 Statistische Auswertung

Die Ergebnisse sind als Mittelwerte \pm Standardabweichung angegeben. Zur Berechnung der Gruppenunterschiede wurde der Student-t-Test für verbundene Stichproben angewendet. Ein α -Fehler von $\leq 0,05$ wurde als signifikant angenommen. Bei der Analyse von Zusammenhängen wurde der Korrelationsfaktor nach Pearson bestimmt. Die Berechnungen wurden mit dem Programm Open office[®] (Calc) vorgenommen.

3. Ergebnisse

3.1 Immunhistochemie an Peritonealgewebeschnitten

Die Einteilung der AGE-Formation (n = 55) an Submesothel, Endothel, im Bereich der Gefäße und im tief liegenden Interstitium erfolgte in 4 Graden (Grad 0-3). Grad 0 wurde vergeben, wenn keine Braunfärbung sichtbar war, Grad 1 wenn eine sehr schwache, Grad 2 wenn eine schwache und Grad 3 wenn eine starke Braunfärbung sichtbar war. Die folgenden Abbildungen 14-17 zeigt Beispiele für das AGEs-Grading bei 500 facher Vergrößerung.

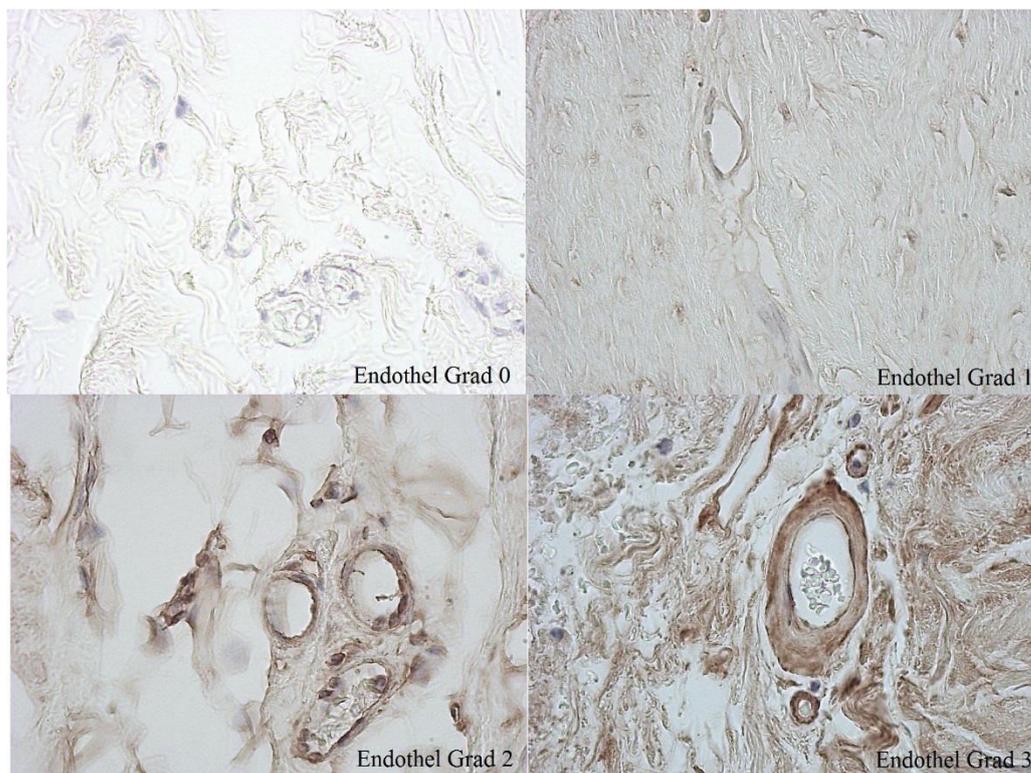


Abb. 14: Anfärbungsgrad 0-3 Endothel der Gefäße im Peritoneum, 500 fache Vergrößerung

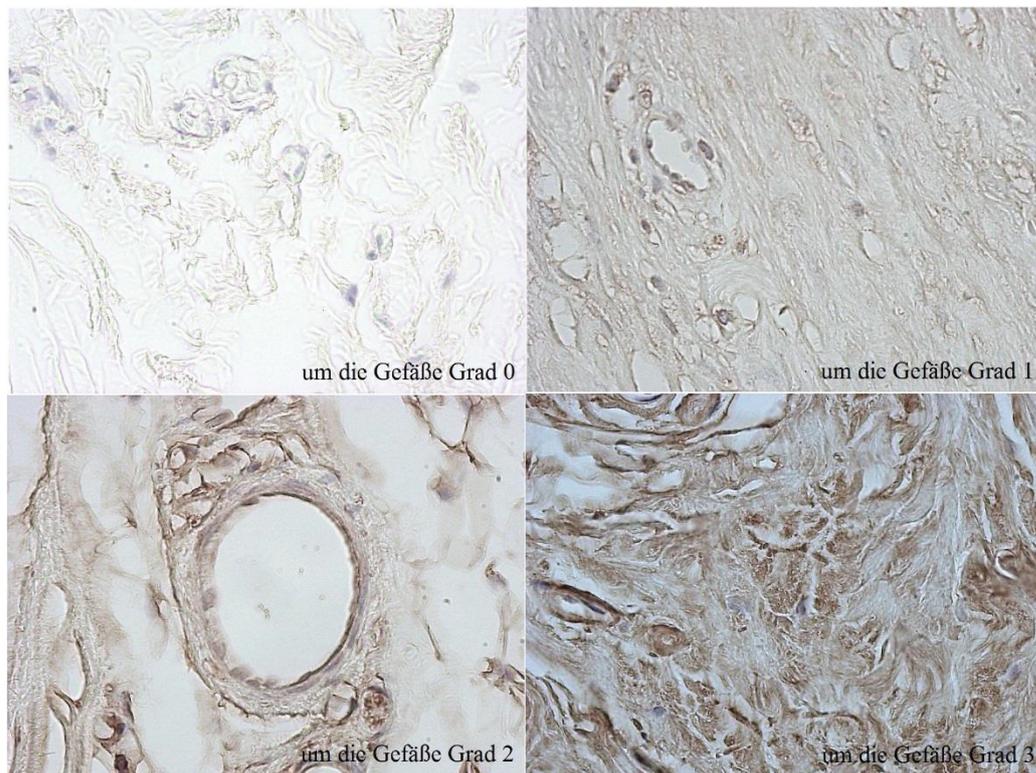


Abb. 15: Anfärbungsgrad 0-3 um die Gefäße im Peritoneum, 500 fache Vergrößerung

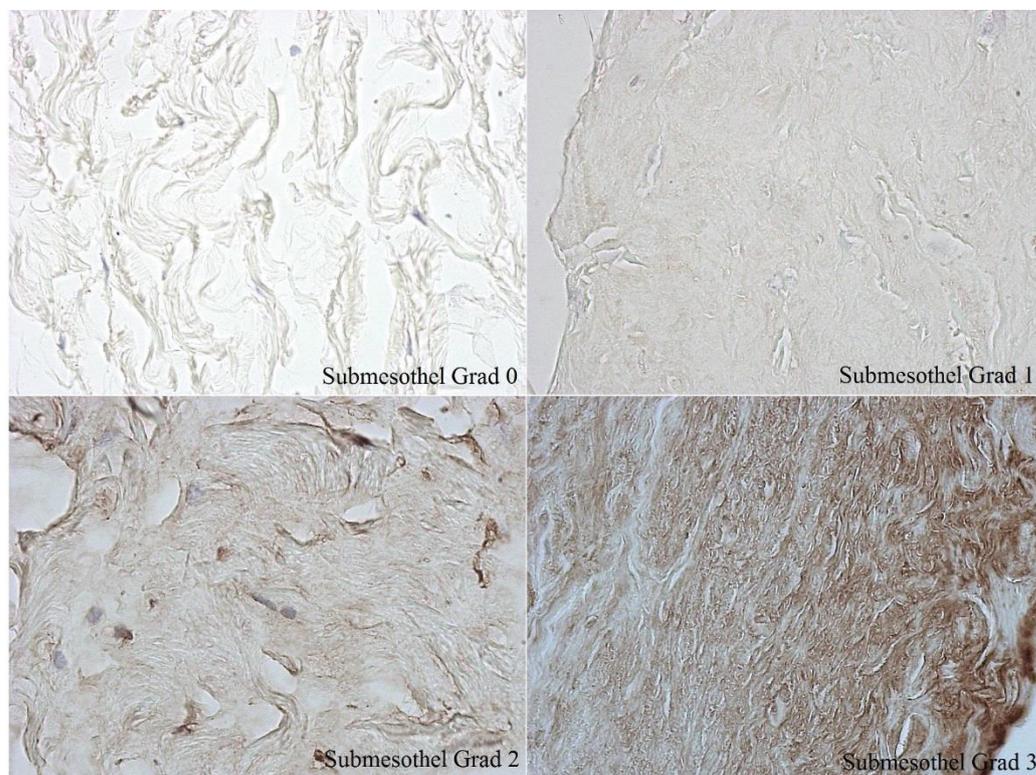


Abb. 16: Anfärbungsgrad 0-3 Submesothel im Peritoneum, 500 fache Vergrößerung

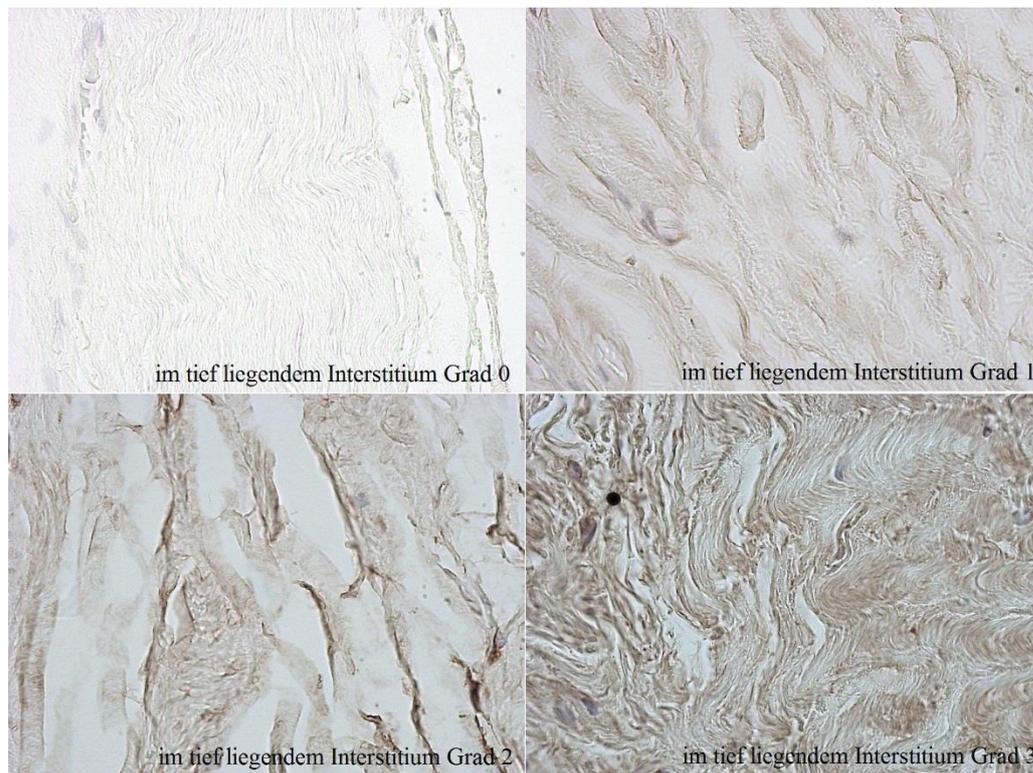


Abb. 17: Anfärungsgrad 0-3 im tief liegendem Interstitium im Peritoneum, 500 fache Vergrößerung

3.1.1 Advanced Glycation End Products im Peritoneum

Das Submesothel zeigte bei 49 Patienten eine Anfärbung. Hier bewegte sich der Anfärungsgrad von 1 bis 3. Im tief liegenden Interstitium, im Endothel und im Bereich der Gefäße konnte eine Anfärbung bei 45 Patienten ermittelt werden. Hier zeigte sich ebenfalls eine Anfärbung von Grad 1 bis 3.

Die mittlere Stärke der AGE-Anfärbung aller 55 Patienten betrug im Submesothel $1,2 \pm 0,65$, im Endothel $1,13 \pm 0,84$, im Bereich der Gefäße $1,02 \pm 0,68$ und in der Tiefe des Interstitiums $1,0 \pm 0,69$.

Der Mittelwert der Anfärbung aus Submesothel, Endothel, Interstitium und um die Gefäße (AGEs Gesamt) war $1,09 \pm 0,68$ (Tab. 6).

AGE Formation	Submesothel	Endothel	Um die Gefäße	Interstitium	Gesamt
Grad	$1,2 \pm 0,65$	$1,13 \pm 0,84$	$1,02 \pm 0,68$	$1,0 \pm 0,69$	$1,09 \pm 0,68$

Tabelle 6: AGE-Formation bei allen 55 Peritonealgewebeproben in der peritonealen Membran

Bei den Peritonealgewebeproben der 27 Patienten, die für den erweiterten PET und die Messung der Pentosidinkonzentration mittels HPLC zur Verfügung standen, konnte bei 22 Patienten eine Anfärbung im Submesothel nachgewiesen werden. 20 Gewebeproben wiesen eine Anfärbung im tief liegenden Interstitium, im Endothel und im Bereich der Gefäße auf.

Für die Peritonealgewebeschnitte ($n = 27$) ergab sich ein Mittelwert der AGE-Anfärbung im Submesothel von $1,1 \pm 0,75$, im Endothel von $0,95 \pm 0,83$, um die Gefäße von $0,89 \pm 0,64$, im tief liegenden Interstitium von $0,89 \pm 0,64$.

Der mittlere Anfärbungsgrad aus allen vier Anteilen ergab $0,97 \pm 0,68$ (Tab. 7).

AGE Formation	Submesothel	Endothel	Um die Gefäße	Interstitium	Gesamt
Grad	$1,1 \pm 0,75$	$0,94 \pm 0,83$	$0,89 \pm 0,64$	$0,89 \pm 0,64$	$0,97 \pm 0,68$

Tabelle 7: AGE-Formation in der peritonealen Membran, bei 27 Patienten die für den erweiterten PET zur Verfügung standen

3.1.2 Pentosidinkonzentrationen im Serum und Effluat

Bei 27 Patienten ergab sich eine mittlere Pentosidinkonzentrationen im Serum von $82,09 \pm 58,48$ pmol/mg und eine mittlere Pentosidinkonzentration im Effluat von $43,51 \pm 50,15$ pmol/mg.

Die Pentosidinkonzentration im Serum zum Zeitpunkt 0 war damit doppelt so hoch wie im Effluat während des erweiterten PETs zum Zeitpunkt 240min. ($n=27$).

Im Effluat konnte bei 7 Patienten kein Pentosidin nachgewiesen werden. Hiervon erhielten 4 Patienten eine Katheterneuanlage und 3 Patienten einen Katheterwechsel.

3.1.3 Advanced Glycation End Products im Peritoneum in Beziehung zur Pentosidinkonzentration im Serum

In der unten abgebildeten Grafik (Abb. 18) wurde die Pentosidinkonzentration im Serum (pmol/mg) zum Zeitpunkt 0 in Abhängigkeit von dem Grad der AGEs-Ablagerungen im Peritoneum im Durchschnitt der vier untersuchten Gewebe dargestellt. Es war kein Zusammenhang zu erkennen ($n = 27$).

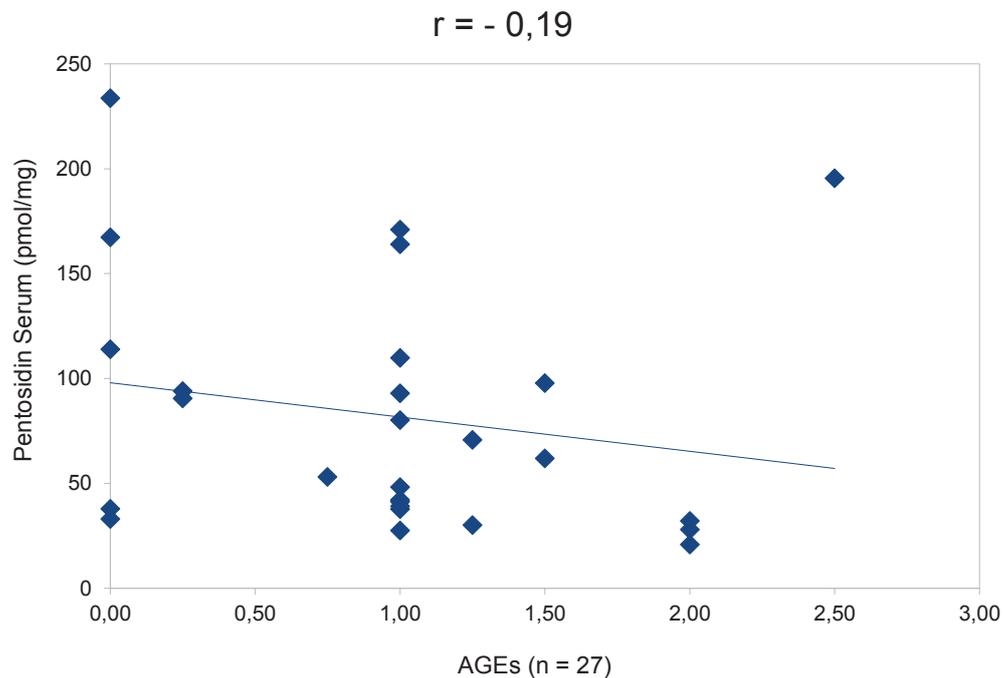


Abb 18: Korrelation zwischen AGEs im Peritoneum und der Pentosidinkonzentration im Serum (pmol/mg)

Ebenso bestand keine Korrelation (Tab. 8) zwischen dem Grad der AGEs-Ablagerung in Submesothel, Interstitium, Endothel, und um die Gefäße und der Pentosidinkonzentration im Serum (pmol/mg) während des erweiterten PETs zum Zeitpunkt 0 (n=27).

AGEs / Pentosidin Serum	Submesothel	Interstitium	Endothel	um die Gefäße
r =	-0,11	-0,25	-0,31	-0,25

Tabelle 8: Korrelation zwischen IHC AGEs in Submesothel, Interstitium, Endothel, um die Gefäße und der Pentosidinkonzentration im Serum (pmol/mg) während des erweiterten PETs zum Zeitpunkt 0.

Der Gruppe der Patienten mit AGEs-Ablagerung ≤ 1 (n = 19) wurde eine Patientengruppe mit AGEs-Ablagerung > 1 (n = 8) hinsichtlich der Pentosidinkonzentration im Serum gegenübergestellt (Abb. 19). Es bestand zwischen den beiden Gruppen kein Unterschied, $p = 0,41$.

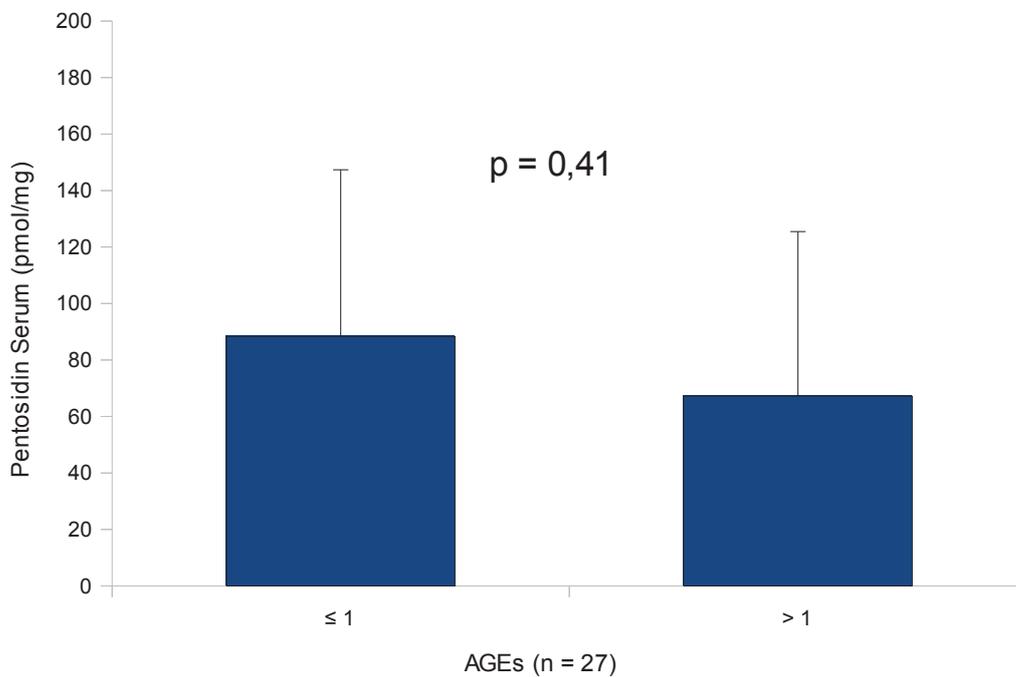


Abb. 19: Gruppenvergleich zwischen AGEs ≤ 1 (n = 19) sowie > 1 (n = 8) und der im Serum gemessenen Pentosidinkonzentration (pmol/mg)

3.1.4 Advanced Glycation End Products im Peritoneum in Beziehung zur Pentosidinkonzentration im Effluat

Die folgende Grafik (Abb. 20) zeigt die Pentosidinkonzentration im Effluat (pmol/mg) während des erweiterten PETs zum Zeitpunkt 240min. in Abhängigkeit von dem durchschnittlichen Grad der AGE-Ablagerung im Peritoneum (n = 27). Es bestand keine Korrelation zwischen den beiden Größen.

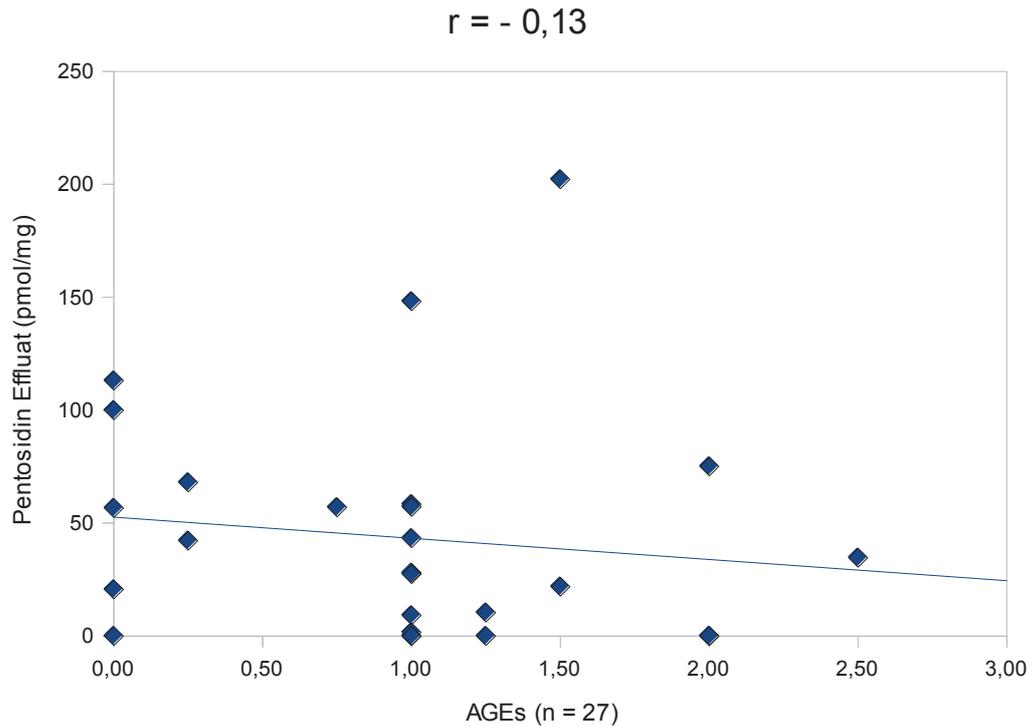


Abb. 20: Korrelation zwischen AGEs im Peritoneum und der Pentosidinkonzentration im Effluat (pmol/mg)

Ebenso bestand keine Korrelation (Tab. 9) zwischen AGE-Ablagerung in Submesothel, Interstitium, Endothel, um die Gefäße und Pentosidinkonzentration im Effluat (pmol/mg) während des erweiterten PETs zum Zeitpunkt 240min. (n = 27).

AGEs / Pentosidin Effluat	Submesothel	Interstitium	Endothel	um die Gefäße
r =	-0,04	-0,19	-0,08	-0,19

Tabelle 9: Korrelation zwischen IHC AGEs-Ablagerung in Submesothel, Interstitium, Endothel, um die Gefäße und der Pentosidinkonzentration im Effluat (pmol/mg) während des erweiterten PETs zum Zeitpunkt 240min.

Der Gruppe der Patienten mit AGEs-Ablagerung ≤ 1 (n = 19) wurde eine Patientengruppe mit AGEs Ablagerung > 1 (n = 8) hinsichtlich der Pentosidinkonzentration im Effluat gegenübergestellt (Abb.21). Es zeigte sich zwischen den beiden Gruppen keine Signifikanz, $p = 0,98$

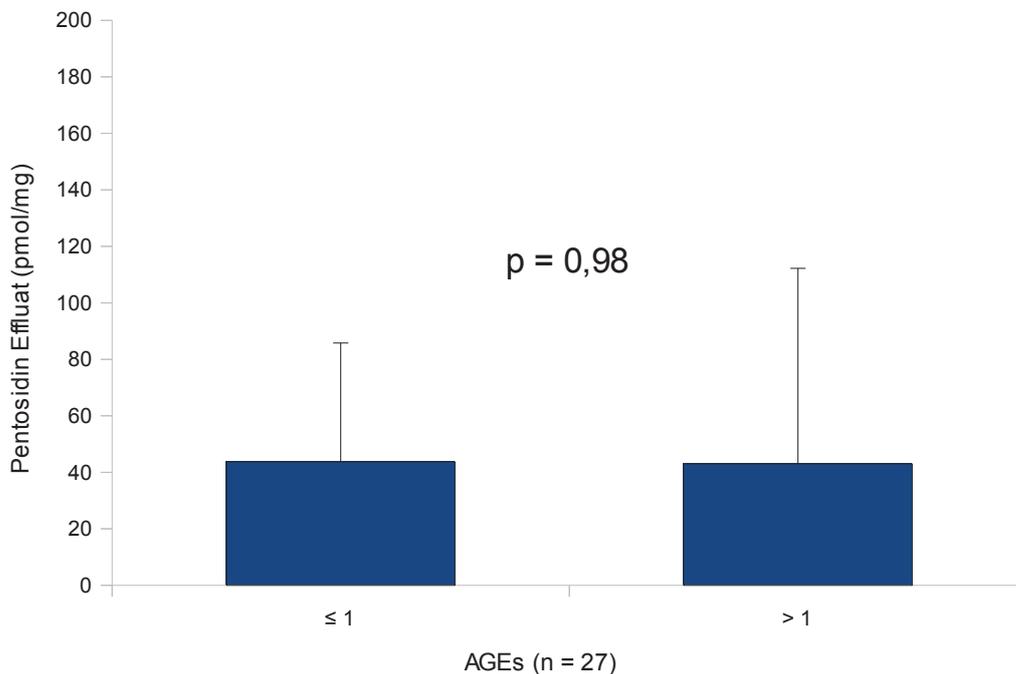


Abb. 21: Gruppenvergleich zwischen AGEs ≤ 1 (n = 19) sowie > 1 (n = 8) und der im Effluat gemessenen Pentosidinkonzentration (pmol/mg)

3.2 Advanced Glycation End Products und Pentosidine in Beziehung zur PD-Dauer, Dialyse-Modalität und Alter der Patienten

3.2.1 Advanced Glycation End Products im Peritoneum in Beziehung zur PD-Dauer

Die nachfolgende Grafik (Abb. 22) zeigte die fehlende Korrelation zwischen der Peritonealdialysedauer (2 bis 151 Monate) und Ablagerung von AGEs (Gesamt) im Peritoneum (n = 55).

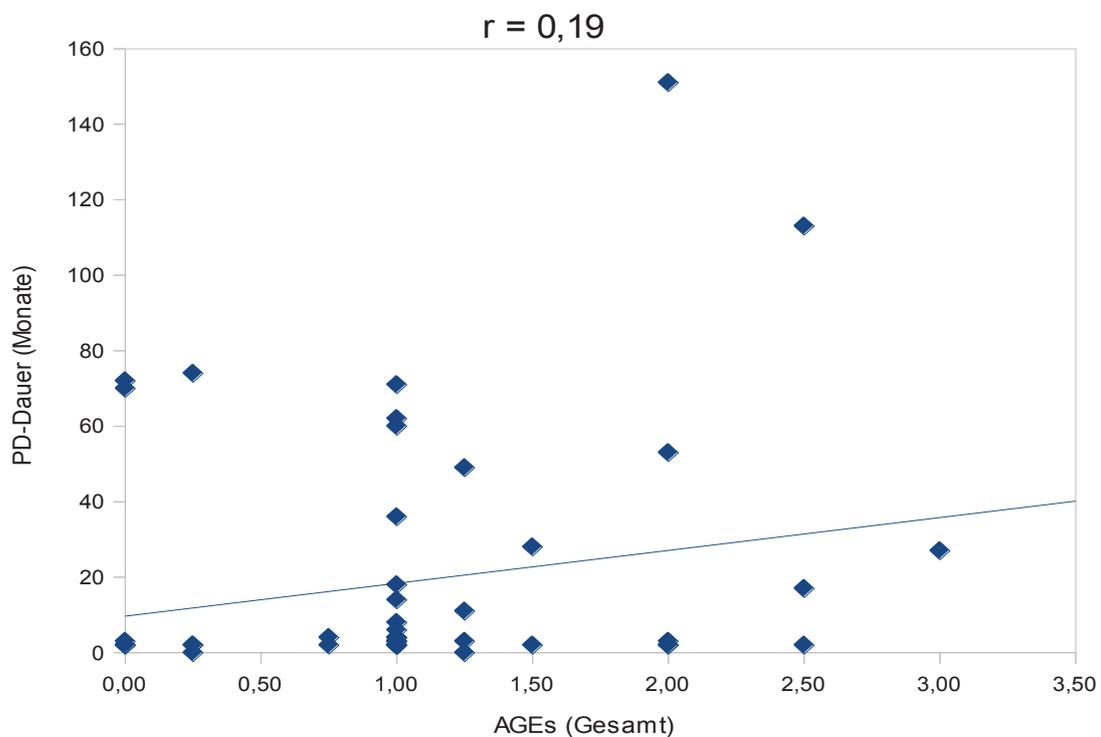


Abb. 22: Korrelation zwischen Peritonealdialysedauer und AGEs (Gesamt) im Peritoneum

Im Gruppenvergleich der Peritonealdialysedauer ≤ 4 Monate ($n = 35$) zeigten sich tendenziell geringere AGEs-Ablagerung im Peritoneum als bei der Patientengruppe mit einer Peritonealdialysedauer > 4 Monate ($n = 20$), $p = 0,18$ (Abb. 23). Das Signifikanzniveau wurde aber nicht erreicht.

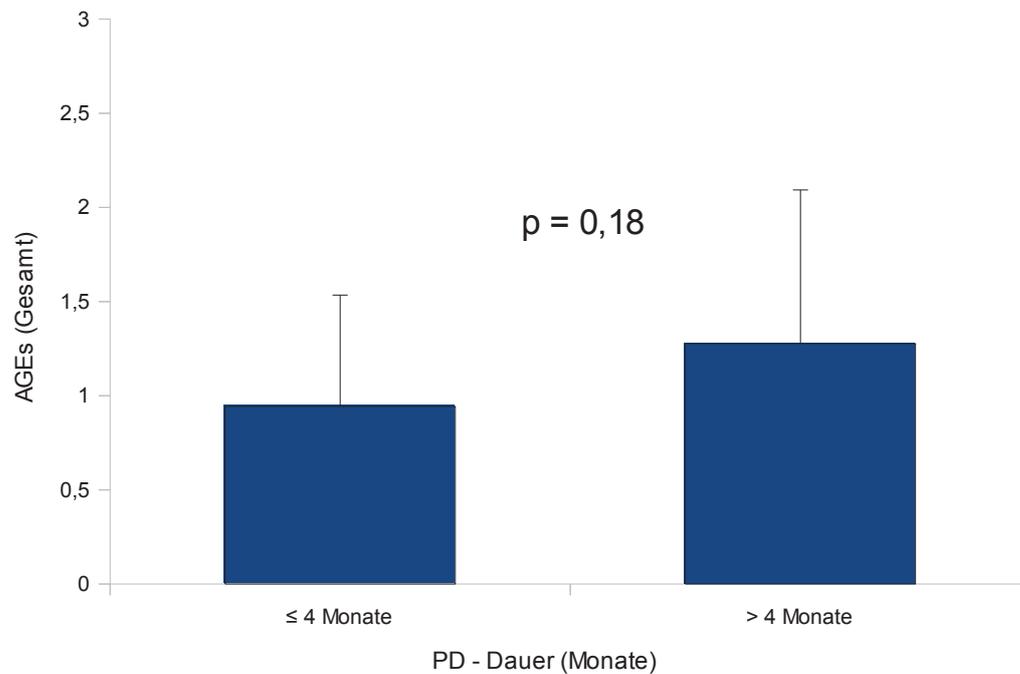


Abb. 23: Vergleich zwischen der Gruppe mit einer Behandlungsdauer ≤ 4 Monate und der Gruppe mit einer Behandlungsdauer > 4 Monate in Bezug auf AGEs (Gesamt) im Peritoneum

3.2.2 Pentosidine im Serum und Effluat in Beziehung zur PD-Dauer

Die folgende Abbildung (Abb. 24) zeigt eine Korrelation zwischen der PD-Dauer in Monaten und der Pentosidinkonzentration im Serum (pmol/mg), $r = 0,51$ ($n = 27$).

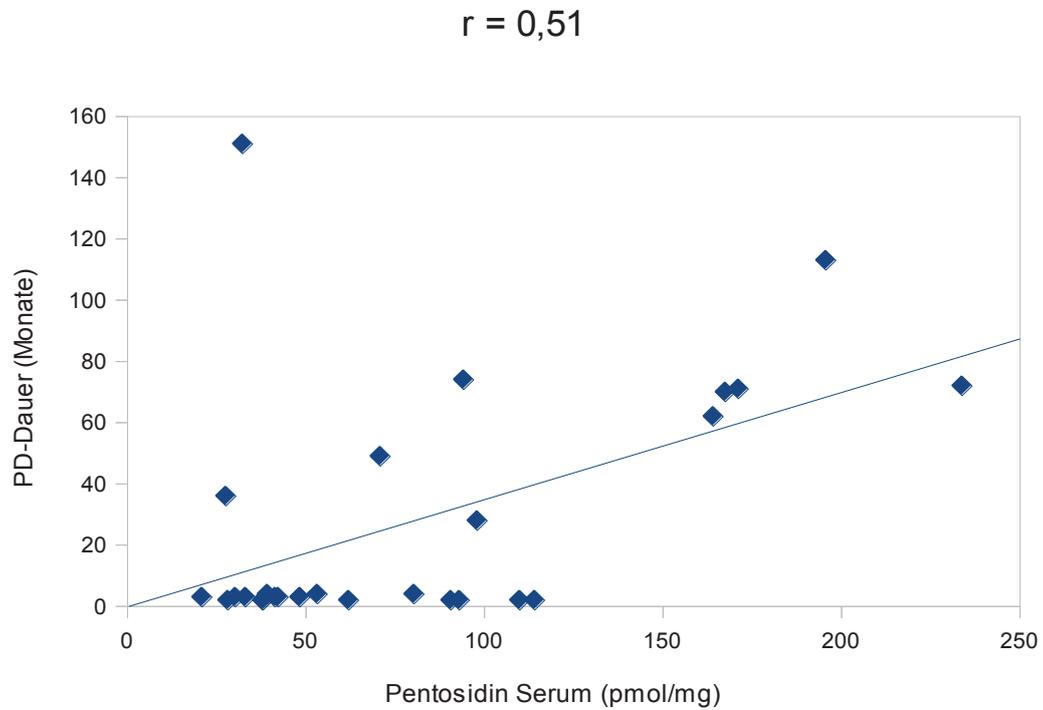


Abb. 24: Korrelation zwischen Peritonealdialysedauer und der Pentosidinkonzentration im Serum (pmol/mg)

Der Gruppe mit einer Peritonealdialysedauer ≤ 4 Monate ($n = 17$) wurde eine Patientengruppe mit einer Peritonealdialysedauer > 4 Monate ($n = 10$) gegenübergestellt (Abb. 25). Es zeigte sich ein signifikanter Unterschied zwischen den beiden verglichenen Gruppen hinsichtlich der Pentosidinkonzentration im Serum, $p = 0,01$.

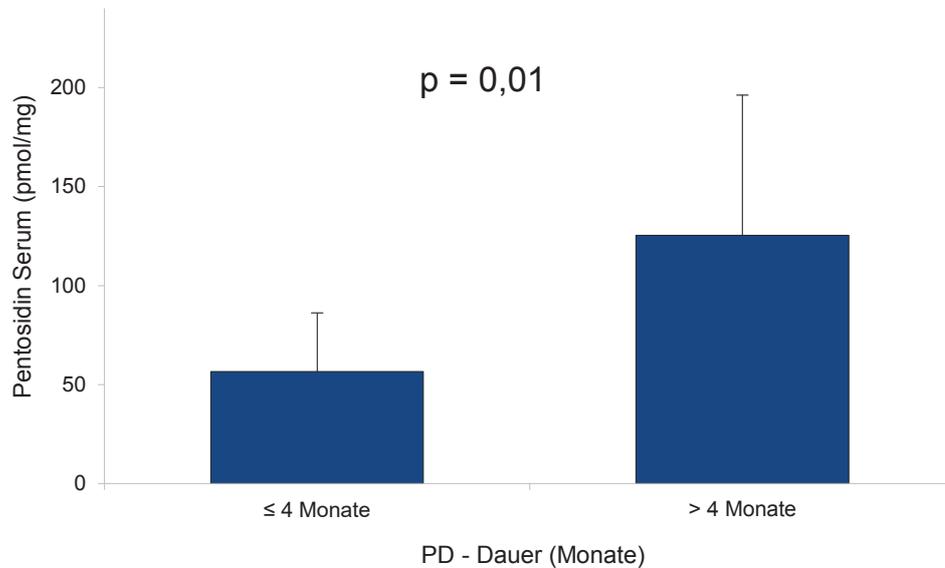


Abb. 25: Vergleich zwischen der Gruppe mit einer Behandlungsdauer ≤ 4 Monate und der Gruppe mit einer Behandlungsdauer > 4 Monate in Bezug auf die Pentosidinkonzentration im Serum (pmol/mg)

Eine fehlende Korrelation (Abb. 26) lag vor zwischen der PD-Dauer in Monaten und der Pentosidinkonzentration im Effluat (pmol/mg), $r = -0,25$ ($n = 27$).

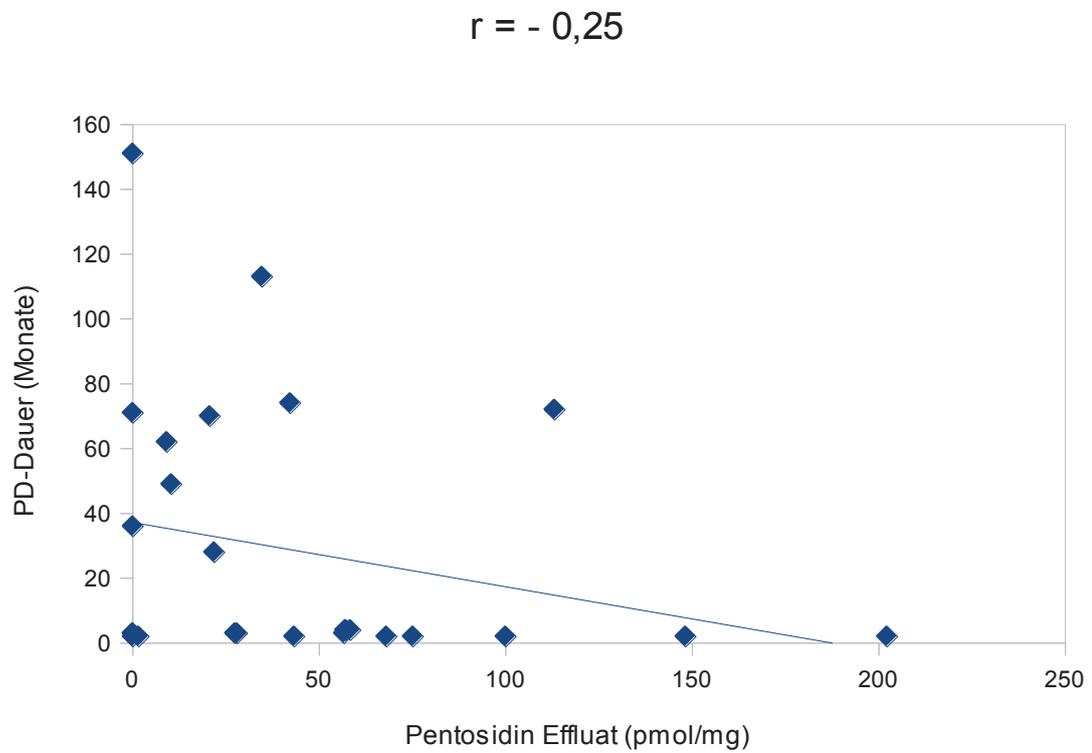


Abb. 26: Korrelation zwischen Peritonealdialysedauer und der Pentosidinkonzentration im Effluat (pmol/mg)

Der Gruppe mit einer Peritonealdialysedauer ≤ 4 Monate ($n = 17$) wurde eine Patientengruppe mit einer Peritonealdialysedauer > 4 Monate ($n = 10$) gegenübergestellt (Abb. 27). Es zeigte sich keine Signifikanz zwischen den beiden Gruppen hinsichtlich der Pentosidinkonzentration im Effluat, $p = 0,1$.

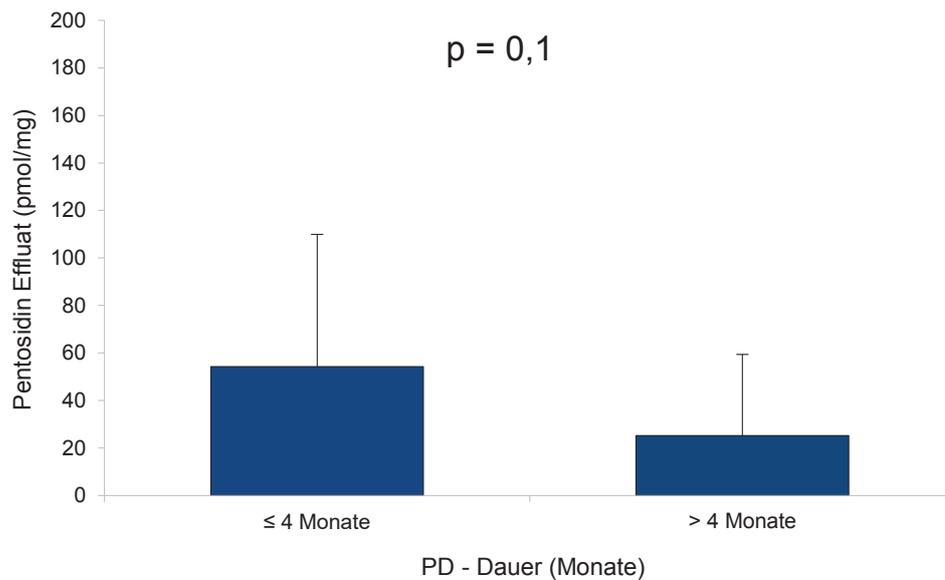


Abb. 27: Vergleich zwischen der Gruppe mit einer Behandlungsdauer ≤ 4 Monate und der Gruppe mit einer Behandlungsdauer > 4 Monate in Bezug auf die Pentosidinkonzentration im Effluat (pmol/mg)

3.2.3 Advanced Glycation End Products im Peritoneum in Beziehung zur Dialyse-Modalität CAPD und CCPD

Der Patientengruppe mit der Dialyseart CAPD (n = 14) wurde eine Patientengruppe mit der Dialyseart CCPD (n = 41) gegenübergestellt (Tab. 10). Es zeigte sich zwischen den beiden verglichenen Gruppen keine Signifikanz hinsichtlich AGE-Ablagerung (Gesamt) im Peritoneum, $p = 0,66$.

	CAPD (n = 14)	CCPD (n = 41)
AGEs Peritoneum (Gesamt)	1,04 ± 0,65	1,13 ± 0,74
$p = 0,66$		

Tabelle 10: Vergleich zwischen Dialysemodalität und AGE-Ablagerung im Peritoneum

3.2.4 Pentosidine im Serum und Effluat in Beziehung zur Dialyse-Modalität CAPD und CCPD

Pentosidinkonzentrationen in Serum und Effluat (n = 27) wurden hinsichtlich der Dialysemodalität verglichen. 20 Patienten führten CCPD und 7 Patienten CAPD durch.

Es zeigte sich zwischen CAPD und CCPD hinsichtlich der Pentosidinkonzentration im Serum keine Signifikanz, $p = 0,85$ (Tab. 11).

Ebenso ergab sich keine Signifikanz hinsichtlich der Pentosidinkonzentration im Effluat, $p = 0,8$ (Tab. 12).

	CAPD (n = 7)	CCPD (n = 20)
Pentosidin Serum (pmol/mg)	78,79 ± 51,09	83,25 ± 62,05
$p = 0,85$		

Tabelle 11: Vergleich zwischen Dialysemodalität und Pentosidinkonzentration im Serum

	CAPD (n = 7)	CCPD (n = 20)
Pentosidin Effluat (pmol/mg)	49,42 ± 76,9	41,44 ± 39,4
p = 0,8		

Tabelle 12: Vergleich zwischen Dialysemodalität und Pentosidinkonzentration im Effluat

3.2.5 Advanced Glycation End Products im Peritoneum in Beziehung zum Alter der Patienten

Die folgende Grafik (Abb. 28) zeigt die fehlende Korrelation zwischen dem Alter der Patienten (n = 55) und AGE-Ablagerung im Peritoneum, $r = 0,07$.

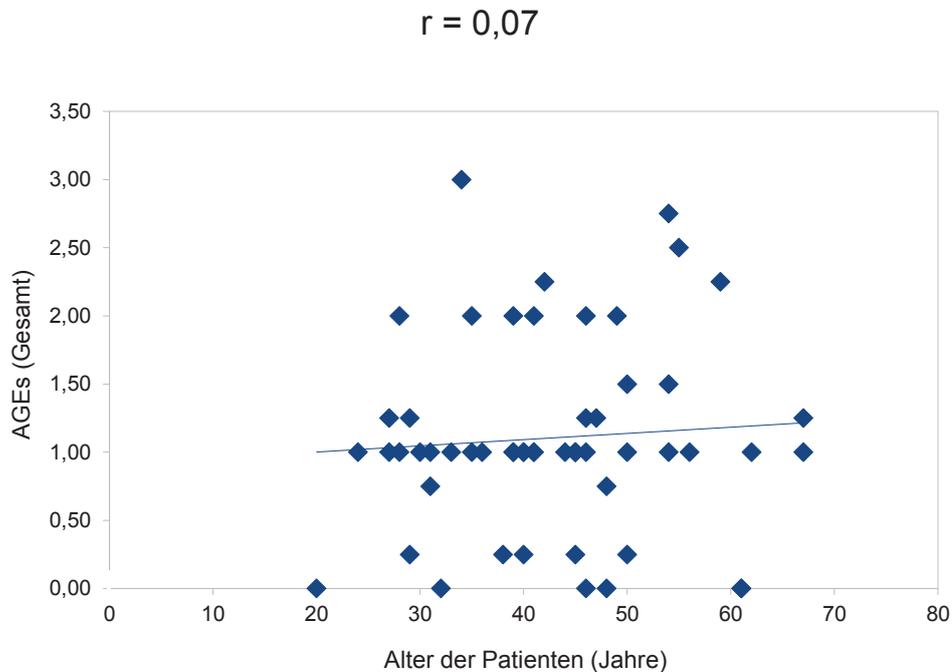


Abb. 28: Korrelation zwischen dem Alter der Patienten und AGEs im Peritoneum (Gesamt)

Der Patientengruppe im Alter von < 40 Jahre (n = 21) wurde eine Patientengruppe im Alter von \geq 40 Jahre (n =34) gegenübergestellt (Abb. 29). Es zeigte sich bei einem $p = 0,86$ keine Signifikanz hinsichtlich der peritonealen AGE-Ablagerung.

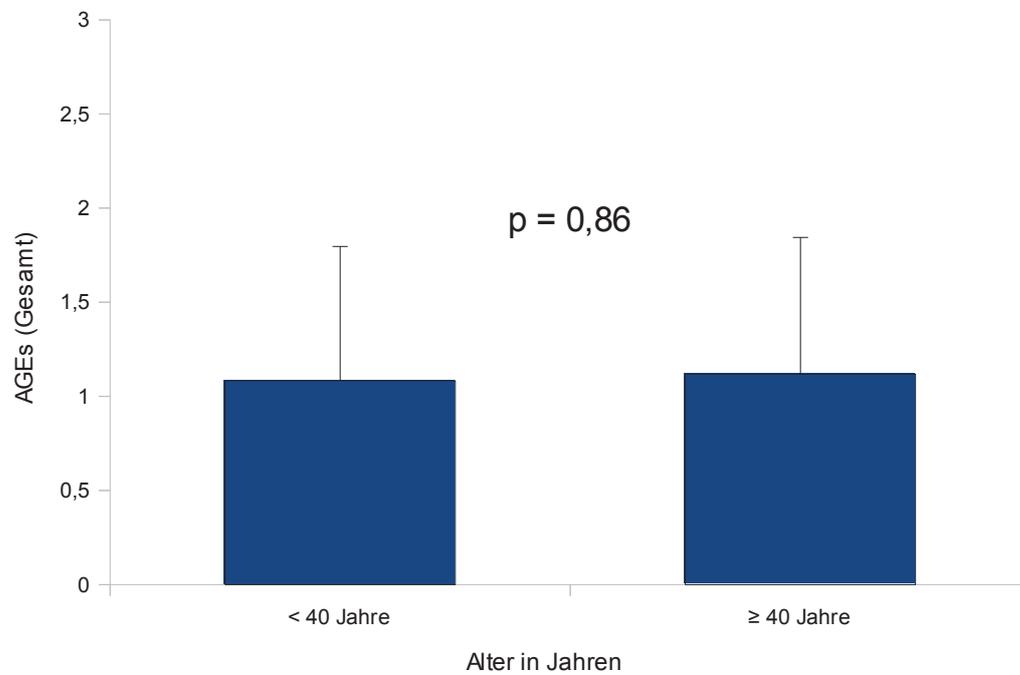


Abb. 29: Vergleich zwischen der Gruppe mit dem Alter der Patienten < 40 Jahre und der Gruppe mit dem Alter der Patienten \geq 40 Jahre in in Bezug auf die AGEs im Peritoneum (Gesamt)

3.2.6 Pentosidine im Serum und Effluat in Beziehung zum Alter der Patienten

Die folgenden Abbildungen (Abb. 30) zeigen die fehlende Korrelation zwischen dem Alter der Patienten ($n = 27$) und der Pentosidinkonzentration im Serum (pmol/mg), $r = 0$ sowie der Pentosidinkonzentration im Effluat (pmol/mg), $r = 0,21$.

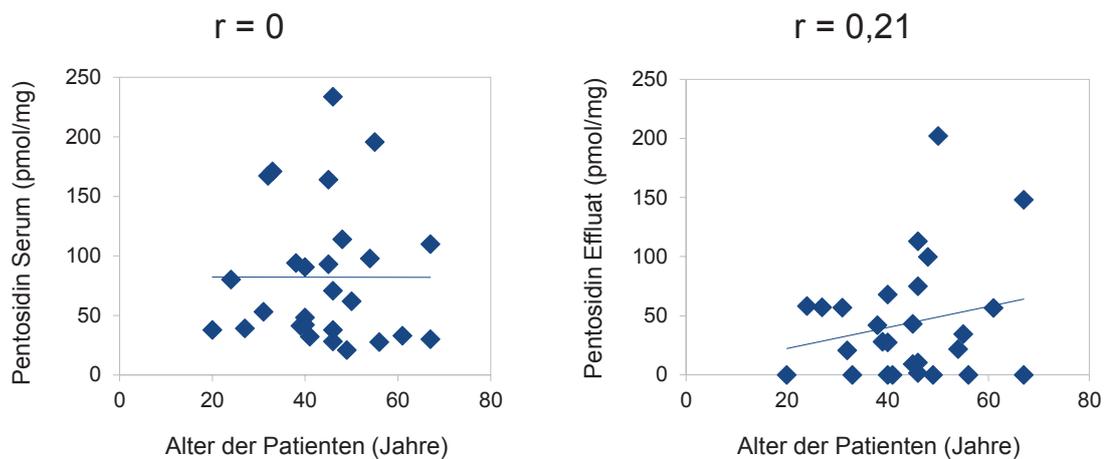


Abb. 30: Korrelation zwischen dem Alter der Patienten in Jahren und der Pentosidinkonzentration im Serum (pmol/mg) und der Pentosidinkonzentration im Effluat (pmol/mg)

Der jüngeren Patientengruppe mit dem Alter < 40 Jahre ($n = 8$) wurde die ältere Patientengruppe mit dem Alter ≥ 40 Jahre ($n = 19$) gegenübergestellt (Abb. 31). Es zeigte sich hier bei einem $p = 0,84$ keine Signifikanz in den Gruppenunterschieden hinsichtlich der Pentosidinkonzentration im Serum.

Im Gruppenvergleich der Patienten mit dem Alter < 40 Jahre ($n = 8$) zeigten sich tendenziell niedrigere Pentosidinwerte im Effluat im Vergleich zur Patientengruppe mit dem Alter ≥ 40 Jahre ($n = 19$) (Abb. 31). Das Signifikanzniveau wurde aber nicht erreicht, $p = 0,35$.

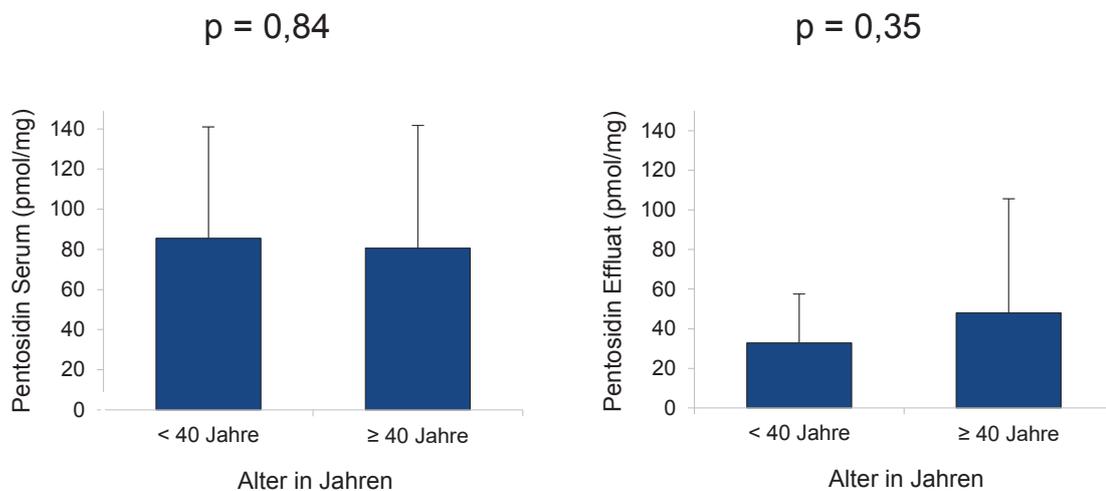


Abb. 31: Vergleich zwischen der Gruppe mit dem Alter der Patienten < 40 Jahre und der Gruppe mit dem Alter der Patienten ≥ 40 Jahre in Bezug auf die Pentosidinkonzentration im Serum bzw. im Effluat (pmol/mg)

3.3 Advanced Glycation End Products und Pentosidine in Beziehung zu den klinischen Parametern des erweiterten peritonealen Equilibrationstests (PET)

3.3.1 Ergebnisse des erweiterten peritonealen Equilibrationstests

Bei den 27 Patienten, die für den erweiterten peritonealen Equilibrationstest zur Verfügung standen, ergaben sich folgende Ergebnisse hinsichtlich der peritonealen Transporteigenschaften (Tab. 13).

	Patienten PET (n = 27)
D/Pcreat%	71,22 ± 9,65
TCUF240min (ml)	1498,04 ± 502,73
LAR240min (ml/min.)	858,77 ± 447,10
EUUF240min (ml)	575,63 ± 230,49
UFUSP60min (ml)	190,41 ± 93,19
UFSP60min (ml)	626,22 ± 363,29

Tabelle 13: Flüssigkeitskinetik und D/P Ratio Kreatinin im Rahmen des erweiterten PETs

3.3.2 Advanced Glycation End Products in Beziehung zu den klinischen Parametern des erweiterten PETs

Die folgende Tabelle 14 zeigt die Korrelation zwischen AGEs Gesamt, AGEs im Submesothel, Interstitium, Endothel und um die Gefäße in Beziehung zu den klinischen Parametern des erweiterten peritonealen Equilibrationstests (n = 27).

Es bestanden kein Zusammenhänge zwischen AGEs-Ablagerungen und den Parametern des peritonealen Flüssigkeitstransportes.

	AGEs Gesamt (n = 27)	Sub- mesothel (n = 27)	Interstitium (n = 27)	Endothel (n = 27)	Um die Gefäße (n = 27)
D/Pcreat%	r = -0,02	r = 0,09	r = - 0,05	r = -0,08	r = -0,05
TCUF _{240min} (ml)	r = 0,13	r = 0,01	r = 0,18	r = 0,12	r = 0,18
LAR _{240min} (ml/min.)	r = 0,04	r = -0,04	r = 0,10	r = 0	r = 0,1
EU _{F240min} (ml)	r = 0,2	r = 0,12	r = 0,19	r = 0,26	r = 0,19
UFUSP _{60min} (ml)	r = 0,01	r = 0,01	r = 0,03	r = -0,01	r = 0,03
UFSP _{60min} (ml)	r = 0,1	r = 0,01	r = 0,13	r = 0,11	r = 0,13

Tabelle 14: Korrelation zwischen AGEs im Peritoneum und den Parametern des peritonealen Flüssigkeitstransportes

Im Gruppenvergleich wurde der Patientengruppe mit AGE-Ablagerung > 1 ($n = 8$) eine Patientengruppe mit AGE-Ablagerung ≤ 1 ($n = 19$) gegenübergestellt (Tab.15). Zwischen den beiden Gruppen zeigte sich keine Signifikanz hinsichtlich der Parameter des peritonealen Flüssigkeitstransportes.

	D/Pcreat%	TCUF240min (ml)	LAR240min (ml/min.)	EUUF240min (ml)	UFUSP60min (ml)	UFSP60 min(ml)
AGEs > 1 ($n = 8$) $1,75 \pm 0,44$	70,63 $\pm 10,25$	1405,25 $\pm 349,89$	690,38 $\pm 337,29$	671 $\pm 215,47$	170,63 $\pm 51,48$	566 $\pm 184,17$
AGEs ≤ 1 ($n = 19$) $0,64 \pm 0,46$	71,47 $\pm 9,66$	1537,11 $\pm 558,58$	929,68 $\pm 476,02$	535,47 $\pm 230,08$	198,74 $\pm 106,14$	651,58 $\pm 418,52$
	$p = 0,84$	$p = 0,47$	$p = 0,16$	$p = 0,17$	$p = 0,36$	$p = 0,47$

Tabelle 15: Gruppenvergleich zwischen AGEs im Peritoneum > 1 ($n = 8$) und ≤ 1 ($n = 19$) und den Parametern des peritonealen Flüssigkeitstransportes

3.3.3 Pentosidine im Serum und Effluat in Beziehung zu den klinischen Parametern des erweiterten PETs

Die folgende Tabelle 16 zeigt die Korrelation zwischen der Pentosidinkonzentration im Serum bzw. Effluat und den klinischen Parametern des erweiterten peritonealen Equilibrationstests (n = 27).

Der Zusammenhang der miteinander verglichenen Parameter war nicht signifikant. Es bestand keine Abhängigkeit zwischen Pentosidinen und den Parametern des peritonealen Flüssigkeitstransportes.

	Pentosidine Serum (pmol/mg)	Pentosidine Effluat (pmol/mg)
D/Pcreat%	r = 0,05	r = -0,28
TCUF240min (ml)	r = -0,04	r = 0,17
LAR240min (ml/min.)	r = -0,02	r = 0,14
EUUF240min (ml)	r = -0,06	r = 0,07
UFUSP60min (ml)	r = -0,01	r = 0,03
UFSP60min (ml)	r = -0,21	r = -0,05

Tabelle 16: Korrelation zwischen der Pentosidinkonzentration im Serum bzw. Effluat und den Parametern des peritonealen Flüssigkeitstransportes

Der Gruppe mit Pentosidinkonzentrationen im Serum < 80 pmol/mg ($n = 15$) wurde eine Patientengruppe mit Pentosidinkonzentrationen im Serum ≥ 80 pmol/mg ($n = 12$) gegenübergestellt (Tab. 17). Zwischen den beiden Gruppen zeigte sich keine Signifikanz hinsichtlich der Parameter des peritonealen Flüssigkeitstransportes.

	D/Pcreat%	TCUF240min (ml)	LAR240min (ml/min.)	EUUF240min (ml)	UFUSP60min (ml)	UFSP60 min (ml)
Pentosidin Serum < 80 pmol/mg ($n = 15$) 40,32 \pm 13,51	70,53 $\pm 9,51$	1490,73 $\pm 418,7$	839,6 $\pm 433,06$	592,67 $\pm 251,05$	183,20 $\pm 89,37$	694,07 $\pm 450,54$
Pentosidin Serum ≥ 80 pmol/mg ($n = 12$) 134,31 \pm 49,97	72,08 $\pm 10,18$	1507,17 $\pm 611,62$	882,75 $\pm 482,36$	554,33 $\pm 210,88$	199,42 ± 101	541,42 $\pm 198,71$
	p = 0,69	p = 0,94	p = 0,81	p = 0,67	p = 0,67	p = 0,25

Tabelle 17: Gruppenvergleich zwischen der Pentosidinkonzentration im Serum (pmol/mg) < 80 ($n = 15$) und ≥ 80 ($n = 12$) und den Parametern des peritonealen Flüssigkeitstransportes

Der Gruppe mit Pentosidinkonzentrationen im Effluat < 80 pmol/mg ($n = 23$) wurde eine Patientengruppe mit Pentosidinkonzentrationen im Effluat ≥ 80 pmol/mg ($n = 4$) gegenübergestellt (Tab. 18). Zwischen den beiden Gruppen bestand ebenfalls kein signifikanter Unterschied hinsichtlich der Parameter des peritonealen Flüssigkeitstransportes.

	D/Pcreat%	TCUF240min (ml)	LAR240min (ml/min.)	EU240min (ml)	UFUSP60min (ml)	UFSP60 min (ml)
Pentosidin Effluat < 80 pmol/mg ($n = 23$) 26,58 \pm 25,78	72,65 $\pm 9,28$	1416,3 $\pm 431,36$	790,78 $\pm 399,61$	569,91 $\pm 242,56$	186,39 $\pm 100,22$	610,57 $\pm 379,89$
Pentosidin Effluat ≥ 80 pmol/mg ($n = 4$) 140,86 \pm 45,69	63 $\pm 8,37$	1968 $\pm 692,93$	1249,75 $\pm 567,61$	608,5 $\pm 165,2$	213,5 $\pm 27,67$	716,25 $\pm 269,83$
	p = 0,1	p = 0,21	p = 0,2	p = 0,71	p = 0,29	p = 0,53

Tabelle 18: Gruppenvergleich zwischen der Pentosidinkonzentration im Effluat (pmol/mg) < 80 ($n = 23$) und ≥ 80 ($n = 4$) und den Parametern des peritonealen Flüssigkeitstransportes

Im Gruppenvergleich der Patienten mit einer Pentosidinkonzentration im Effluat < 80 pmol/mg ($n = 23$) zeigten sich tendenziell niedrigere Werte der LAR (lymphatischen Absorptionsrate), als bei der Patientengruppe mit einer Pentosidinkonzentration im Effluat ≥ 80 pmol/mg ($n = 4$) und der LAR (Tab. 18). Ein Signifikanzniveau wurde aber nicht erreicht.

3.4 Advanced Glycation End Products und Pentosidine in Beziehung zu Diabetes mellitus und arterieller Hypertonie

3.4.1 Advanced Glycation End Products in Beziehung zu Diabetes mellitus und arterieller Hypertonie

Es wurden Patientengruppen mit und ohne Diabetes mellitus sowie mit und ohne arterieller Hypertonie hinsichtlich des Auftretens von AGE-Ablagerung im Peritoneum (n = 55) analysiert.

Die Patientengruppen mit und ohne Diabetes mellitus unterschieden sich nicht signifikant, $p = 0,61$ (Tab. 19).

Die Patientengruppe mit und ohne arterieller Hypertonie unterschieden sich ebenfalls nicht hinsichtlich der AGE-Ablagerungen im Peritoneum, $p = 0,72$ (Tab. 20).

	Diabetes mellitus (n = 14)	Kein Diabetes mellitus (n = 41)
AGEs Peritoneum (Gesamt)	$1 \pm 0,77$	$1,12 \pm 0,7$
$p = 0,61$		

Tabelle 19: Gruppenvergleich zwischen Patienten mit (n = 14) und ohne Diabetes mellitus (n =41) hinsichtlich der AGE-Ablagerung im Peritoneum

	Arterielle Hypertonie (n = 48)	Keine arterielle Hypertonie (n = 7)
AGEs Peritoneum (Gesamt)	$1,12 \pm 0,71$	$1 \pm 0,8$
$p = 0,72$		

Tabelle 20: Gruppenvergleich zwischen Patienten mit (n = 48) und ohne arterieller Hypertonie (n =7) hinsichtlich der AGE-Ablagerung im Peritoneum

3.4.2 Pentosidine in Serum und Effluat in Beziehung zu Diabetes mellitus und arterieller Hypertonie

Es wurden Patientengruppen mit und ohne Diabetes mellitus sowie mit und ohne arterieller Hypertonie hinsichtlich des Vorhandenseins von Pentosidinen in Serum und Effluat (n = 27) analysiert.

Die Patientengruppe mit und ohne Diabetes mellitus zeigten keine Signifikanz hinsichtlich der Pentosidinkonzentration im Serum, $p = 0,12$ (Tab. 21).

Die Patientengruppen mit und ohne Diabetes mellitus unterschieden sich ebenfalls nicht hinsichtlich der Pentosidinkonzentration im Effluat, $p = 0,73$ (Tab. 21).

	Diabetes mellitus (n = 7)	Kein Diabetes mellitus (n = 20)
Pentosidin Serum (pmol/mg)	55,02 ± 34,38	91,57 ± 62,79
$p = 0,12$		
Pentosidin Effluat (pmol/mg)	43,12 ± 37,38	43,64 ± 54,78
$p = 0,73$		

Tabelle 21: Gruppenvergleich zwischen Patienten mit (n = 7) und ohne Diabetes mellitus (n=20) hinsichtlich der Pentosidinkonzentration in Serum und Effluat (pmol/mg)

Die Patienten mit und ohne arterieller Hypertonie zeigten keine Signifikanz hinsichtlich der Pentosidinkonzentration im Serum, $p = 0,96$ (Tab. 22).

Die Patientengruppe mit und ohne arterieller Hypertonie unterschieden sich ebenfalls nicht hinsichtlich der Pentosidinkonzentration im Effluat, $p = 0,69$ (Tab. 22).

	Arterielle Hypertonie (n = 23)	Keine arterielle Hypertonie (n = 4)
Pentosidin Serum (pmol/mg)	81,74 ± 56,67	84,11 ± 78
$p = 0,96$		
Pentosidin Effluat (pmol/mg)	44,57 ± 53,52	37,41 ± 27,17
$p = 0,69$		

Tabelle 22: Gruppenvergleich zwischen Patienten mit (n = 23) und ohne arterieller Hypertonie (n=4) hinsichtlich der Pentosidinkonzentration in Serum und Effluat (pmol/mg)

4. Diskussion

Der Erfolg einer Peritonealdialyse resultiert aus der Funktionsfähigkeit der Peritonealmembran (103). Ablagerung von AGEs im Peritoneum fördern inflammatorische, fibrotische und angiogenetische Effekte welche zum Kardinalproblem der Langzeitperitonealdialyse, dem Ultrafiltrationsversagen führen (150), das mit einer Prävalenz von 50% nach 6 Jahren eintritt (102). Eine vermehrte Bildung von AGEs wird begünstigt durch Anwendung der konventionellen Dialyselösung mit kontinuierlich hohen Glukose- und GDP-Konzentrationen. Diese sind nach 2 bzw. 8 Stunden nicht mehr im Effluat enthalten, was erklärt, dass sie systemisch resorbiert werden und im Peritoneum akkumulieren (126). Der regelmäßigen Kontakt der Dialyselösung mit der Peritonealmembran, die hohe Osmolarität, der niedrige pH und die hohe Glukosekonzentration führen zu histomorphologischen Veränderungen des Peritoneums (105, 106). Zum anderen werden AGEs über die Niere ausgeschieden. Eine Abnahme der Nierenfunktion führt ebenfalls zu erhöhten Serumwerten (64).

In der vorliegenden Arbeit untersuchten wir zum einen immunhistochemisch die submesotheliale, endotheliale, perikapilläre und interstitielle AGEs-Formation an Peritonealgewebeproben. Zum anderen wurden Pentosidine in Serum und Effluat mittels der HPLC-Methode ermittelt.

Diese Ergebnisse wurden in Zusammenhang gebracht mit der Dauer der Dialysebehandlung, der Dialysemodalität, dem Alter und bestimmten Komorbiditäten der Patienten und den Parametern des erweiterten PETs und damit der Flüssigkeitskinetik von PD-Patienten.

Immunhistochemie und HPLC

Die Advanced Glycation Endproducts konnten in unserer Arbeit in sämtlichen peritonealen Kompartimenten nachgewiesen werden. Von 55 Patienten zeigte das Submesothel bei 49 Patienten eine Anfärbung. Im tief liegenden Interstitium, im Endothel und im Bereich der Gefäße konnte eine Anfärbung bei 45 Patienten ermittelt werden. Der Anfärbungsgrad bewegte sich von 1 bis 3.

Ähnliche Ergebnisse zeigten sich bei den Peritonealgewebeproben der 27 Patienten, die für den erweiterten PET und die Messung der Pentosidine mittels HPLC zur Verfügung standen. 22 Peritonealschnitte zeigten eine Anfärbung im Submesothel, während 20 Gewebeproben Bräunungsreaktionen im tief liegenden Interstitium, im Endothel und im Bereich der Gefäße ermittelt werden konnten. Die stärkste Anfärbung zeigte sich im Submesothel, gefolgt vom Endothel der Gefäße, um die Gefäße und schließlich dem Interstitium.

In zahlreichen Untersuchungen konnte bereits nach 3 Monaten unter Anwendung der Peritonealdialyse AGEs im Mesothel, submesothelialen Stroma und in der Gefäßwand der Patienten nachgewiesen werden (127, 136, 146-148). Die beobachtete Akkumulation spricht für AGEs-Ablagerung im Bereich der höchsten Glukosebelastung, vor allem im Submesothel, welches der Mesotheloberfläche unmittelbar anliegt, und dem Endothel in der Gefäßwand. Eine Studie von Nakayama beschreibt eine Übereinstimmung zwischen Peritoneum, welches stark dem Dialysat und somit der Glukose ausgesetzt ist und AGEs-Ablagerung in der Gefäßwand (127). Witowski et al. beobachteten die akute Wirkung von GDP und verschiedenen sterilen glukosehaltigen PD-Lösungen auf humanen peritonealen Mesothelzellen. Eine zusätzliche Zugabe von höheren Dosen GDP führte zur Hemmung der Proliferation humaner peritonealer Mesothelzellen. Unter Anwendung konventioneller, glukosehaltiger Dialyselösungen konnten sie nach 36 Tagen eine Reduktion der Mesothelzellen nachweisen (125), was vermuten lässt, dass das Dialysat bei chronischer PD näher in Kontakt tritt mit der submesothelialen Schicht.

Unsere Versuche ergaben ähnliche Ergebnisse. Allerdings wäre zu erwarten gewesen, dass 37 Gewebeproben mit Katheterneuanlage keinen Anfärbungsgrad gezeigt hätten. Dies lässt vermuten, dass die Lebensumstände wie vermehrte Aufnahme von hitzebehandelten Nahrungsmitteln, Nikotinabusus oder chronische Erkrankungen wie z. B. Diabetes mellitus eine Ursache für die vermehrte AGEs-Ablagerung im Peritoneum sein könnten.

Die Anwendung von konventionellen Dialyselösungen mit kontinuierlich hoher Glukosekonzentrationen als osmotisches Agens begünstigt die Ausbildung von AGEs (126). Durch Hitzesterilisation und ansteigendem pH-Werten des Dialysates kommt es zum Zerfall der Glukose und es werden GDPs ausgebildet (122). AGEs entwickeln sich über Wochen bis Monate aus und kommen vor allem in langlebigen Proteinen, wie beispielsweise Kollagenen vor (154). Da die Bildung irreversibel ist, kann kein Gleichgewicht hergestellt werden zwischen Auf- und Abbau (173).

Mittels HPLC konnten wir bei 27 Patienten Pentosidine in Serum und Effluat ermitteln. Die Serumwerte waren nahezu doppelt so hoch wie im Effluat. Pentosidine zählen zu den fortgeschrittenen Glykosilierungs-Endprodukten, die im Serum als freies Pentosidin und als proteingebundene Form bei Patienten mit chronischen Nierenversagen vorkommen (171). Pentosidine entstehen durch Glykoxydation des Amadoriproduktes oder durch Autooxydation von Glukose (178). Die Bildung erfolgt über das Ketoamin, welches in weiteren Reaktionen direkt oder über ein reaktives Zwischenprodukt wie beispielsweise 3 Deoxy-Glukose (174) zur Ausbildung von AGE-Crosslinks führen (173). Diese gelangen überwiegend über erleichterte Diffusion und aktiven Transport durch die Peritonealmembran, was den proteingebundenen Pentosidingehalt im Dialysat erhöht im Vergleich zum Serum (172). In der hiesigen Studie und nach Kumano et al. konnten die Aussagen nicht bestätigt werden. Kumano et al. (1995) stellten fest, dass die Plasmawerte der Pentosidine wesentlich höher waren bei CAPD-Patienten als bei HD-Patienten (179). Aufgrund der chronischen Niereninsuffizienz steigen die AGE-Serumwerte an, welches ebenfalls die AGE-Formation in der Peritonealmembran fördert (64). Makita et al. beobachteten, dass die ansteigenden AGE-Serumwerte in Abwesenheit einer Hyperglykämie auftraten und vermutete einen Zusammenhang aufgrund eines erhöhten Umsatzes von Serum-AGEs oder eine verminderte Ausscheidung von AGEs über die Niere bei renaler Dysfunktion (180,181). Wells-Knecht et al. stellten ähnliche Ergebnisse wie Makita fest, und beschrieben, dass die Reaktionswege, die zur Bildung von Pentosidinen führen, noch nicht eindeutig geklärt sind. Sie können abhängig von der Glukosekonzentration variieren und stehen daher nicht im engeren Zusammenhang mit Diabetes mellitus (178, 179).

Unsere Ergebnisse zeigten keine signifikante Korrelation der AGE-Akkumulation ($n = 27$) mit der Pentosidinkonzentration im Serum. In der Patientengruppe ($n=19$) mit AGEs-Ablagerungen ≤ 1 traten tendenziell höhere aber nicht signifikante Pentosidinserumwerte auf, als bei der Patientengruppe ($n = 8$) mit AGEs-Ablagerungen > 1 . Ebenso konnte kein signifikanter Zusammenhang der AGE-Akkumulation ($n = 27$) mit der Pentosidinkonzentration im Effluat nachgewiesen werden. In der Patientengruppe ($n=19$) mit AGEs-Ablagerungen ≤ 1 zeigten sich ähnliche Pentosidinwerte im Effluat, wie bei der Patientengruppe ($n = 8$) mit AGEs-Ablagerungen > 1 .

Die Validität der Pentosidinbestimmung mittels HPLC Methode ist bisher nicht ausreichend gut evaluiert. Die Eignung der Pentosidinkonzentration in Serum und Effluat als Frühindikator für AGE-Ablagerung im Peritoneum muss in weiteren Studien belegt werden.

Eine Ursache für die fehlenden Korrelation könnte zudem die kurze PD-Dauer und somit die zu kurzfristige Anwendung der Dialyselösung mit hohen Glukose- und GDP-Konzentrationen sein.

Peritonealdialysedauer

Einen statistisch signifikanten Einfluss der PD-Dauer auf die AGE-Akkumulation konnten wir nicht nachweisen. Es bestand allerdings eine Tendenz, dass die AGEs-Ablagerung mit der PD-Dauer zunehmen.

Nakayama et al. untersuchten das Peritoneum mit unterschiedlicher Peritonealdialysedauer und teilte die Patienten in 3 Gruppen ein. Er stellte fest, dass sich bei langer Anwendung mit glukosehaltiger PDL über Monate bis Jahre zunehmend AGEs im Bauchfell nachweisen ließen. Dabei war die Akkumulation von AGEs in den Gefäßwänden des Peritoneums eine mögliche Ursache für die Zunahme der peritonealen Permeabilität mit Rückgang der Ultrafiltrationsleistung (127). Konventionelle Dialyselösungen mit hohen GDP-Konzentrationen führen zur Stimulation der AGE-Bildung, die nach Linden et al. überwiegend auf 3 Deoxy-Glukose und 3,4 Dideoxy-Glukose-3-ene zurückzuführen ist (128). Miyata et al. beschrieben in ihrer Studie, dass sich AGEs unter PD aufgrund des sich hier induzierten oxidativen Stresses und vorhandener Carbonylverbindungen bilden (164). Es werden intra- und extrazelluläre Kaskaden in Gang gesetzt, die eine chronische Entzündungsreaktionen zur Folge haben können (96, 97), die wir bei unseren Patienten zum Zeitpunkt der Probenentnahme weder lokal noch systemisch beobachteten. Ein Grund für die fehlende Korrelation könnte auch hier die kurze PD-Dauer sein.

Allerdings beobachteten wir eine positive Korrelation zwischen der PentosidinKonzentration im Serum und der PD-Dauer. (Abb. 25) Die Gruppe der Langzeitdialysepatienten > 4 Monate ($n = 10$) hatte eine doppelt so hohe PentosidinKonzentration im Serum wie die Patientengruppe ≤ 4 Monate ($n = 17$). Schalkwijk fand ebenfalls erhöhte Pentosidinwerte im Serum von Langzeit-PD-Patienten im Gegensatz zu Patienten, die mit der PD begonnen hatten (159). Nach einer sechsständigen Verweilzeit unter PD sind 75% der Glukose über das Peritoneum aus der Bauchhöhle absorbiert (182). Dies macht die hohe Glukose- und GDP-Belastung des Peritoneums deutlich und lässt auch die hohen PentosidinKonzentrationen im Serum vermuten (127).

Eine Korrelation zwischen den Pentosidinen im Effluat und der Peritonealdialysedauer konnte von unserer Seite nicht ermittelt werden. Ho-dac-Pannekeet et al. stellten eine positive Korrelation zwischen der PD-Dauer und der Effluat-PentosidinKonzentration her. Die Konzentration sank unter Anwendung eines glukosefreien Dialysats (158). Miyata et al. beobachteten, dass Pentosidine überwiegend durch Diffusion und aktiven Transport während der PD durch die Peritonealmembran gelangen und somit erhöhte PentosidinKonzentrationen im Effluat im Vergleich zur PentosidinKonzentration im Serum zu erklären sind (172). Ursache für die fehlende Korrelation könnte auch hier eine zu kurze PD-Dauer bei geringer Probandenzahl sein.

Dialysemodalität

In einer weiteren Signifikanzfolge haben wir die Dialysemodalität mit der AGE-Akkumulation im Peritoneum als auch der PentosidinKonzentration in Serum und Effluat untersucht. In der Nephrologie der Universitätsklinik Düsseldorf werden ca. 60% der Patienten mittels automatisierter Peritonealdialyse behandelt.

Der Unterschied der CCPD zur CAPD sind unter anderem die kürzere Verweilzeit (183) bei erhöhtem Dialysatumsatz (184), eine geringere Glukoseresorption und eine bessere Ultrafiltrationsleistung der maschinell gesteuerten CCPD (183). Ebenfalls erfolgt eine verbesserte Clearance für kleinmolekulare Substanzen wie Harnstoff, Kreatinin und Glukose und intensiviert somit die Dialyseeffektivität (184). Auch wurde in unterschiedlichen Studien vermutet, dass sich die negative Wirkung von pH, Glukose und GDP auf das Peritoneum und dessen Transporteigenschaften unter Anwendung der automatischen Peritonealdialyse (APD) verbessern (197-199).

Plum et al. stellten fest, dass bei High transportern im Rahmen der CCPD ein vermehrter Verbrauch der Dailyselösung und damit ein erhöhter Umsatz von GDP von Bedeutung ist zur Entwicklung einer peritonealen Sklerose (138).

Es wäre zu erwarten gewesen, dass die Patientengruppe unter Anwendung der CAPD aufgrund der geringeren Glukosebelastung niedrigere Werte AGEs und Pentosidine aufweisen.

Es konnte keine signifikante Korrelation sowohl unter Anwendung der CCPD als auch CAPD festgestellt werden. Die Probandenzahl der CAPD war vermutlich zu gering um eine Korrelation herzustellen. Die Dialysemodalität war wahrscheinlich nachrangig und es standen die Zusammensetzungen der Dialyselösungen im Vordergrund.

Alter der Patienten

Zwischen der von uns verifizierten AGE-Akkumulation im Peritoneum bzw. der Pentosidinkonzentration in Serum und Effluat und dem Alter der Patienten war ein positiver Zusammenhang anzunehmen. Dies ließ sich jedoch nicht bestätigen. Die Patientengruppe mit einem Lebensalter unter 40 Jahre zeigten tendenziell geringere AGE-Ablagerung im Peritoneum als die Patientengruppe ab 40 Jahre. Eine Signifikanz bestand nicht. Ebenso beobachteten wir Tendenzen aber keinen signifikanten Zusammenhang zwischen der Pentosidinkonzentration im Effluat und dem Lebensalter. Die Pentosidinkonzentration im Serum verhielt sich gegenläufig zum Lebensalter da in der jüngeren Patientengruppe unter 40 Jahre höhere Pentosidinserumwerte ermittelt wurden, während in der älteren Patientengruppe ab 40 Jahre niedrigere Serumpentosidine festgestellt wurden.

Mortier et al. entdeckten, dass konventionelle Dialyselösungen zu einer Akkumulation von AGEs und einer Hochregulierung des AGE-Rezeptors RAGE in der peritonealen Membran führten (156, 157). RAGE kommt im gesamten Körper vor, wie zum Beispiel in Gewebe und Blutzellen. Der Rezeptor ist von Bedeutung bei komplexen Alterungsprozessen und chronischen Erkrankungen wie z.B. Diabetes mellitus. Auch AGEs treten vermehrt während des normalen Alterns auf (185). Bayness et al. beschrieben dies als einen physiologischen Prozess (187). Eine Zunahme von AGEs wurde vor allem im Bindegewebe beobachtet. Fortgeschrittene Glykierungsprodukte binden an den RAGE-Rezeptor, Informationen werden ins Zellinnere weitergeleitet, Sauerstoffmoleküle (Sauerstoffradikale) werden aktiviert die Enzyme stimulieren.

Eine Phosphatgruppe wird auf den Transkriptionsfaktor NF-kappa B übertragen und aktiviert (185). Diese wandern in den Zellkern und rufen Erbinformationen ab. Glykierte Proteine können ihrer normalen Funktion im Organismus nicht mehr nachgehen. Der körpereigene Abbau von AGEs erfolgt lediglich über Makrophagen, die zu dessen Degradation führen und über die Niere ausgeschieden werden (91). Eine andere körpereigene Möglichkeit ist bisher nicht bekannt.

Mit diesem Hintergrund beschrieben Bierhaus und Narowth einen Zusammenhang zwischen der Entstehung von AGEs, welches durch Anwendung der PD und dem Alterungsprozess gefördert wird (185). Makita et al. stellten ebenfalls im Gegensatz zu jungem Gewebe eine Zunahme der AGEs-Ablagerung in Geweben mit zunehmendem Alter fest. Diese Akkumulation korrelierte auch mit erhöhten Serum-AGE-Konzentrationen bei Abwesenheit einer Hyperglykämie (180, 181).

Ursächlich für den in dieser Studie fehlenden Zusammenhang könnte das junge Lebensalter der Patienten sein, das im Mittel 42 Jahre betrug (n = 55). Vermutlich ist das Lebensalter in dieser Studie nachrangig.

Erweiterter Peritonealer Equilibrationstest (PET)

Ein Ultrafiltrationsverlust liegt vor, wenn weniger als 400 ml Flüssigkeit ultrafiltriert werden nach einer vierstündigen Verweilzeit einer 3,86% igen Glukoselösung. Es wird angenommen, dass der Rückgang der Ultrafiltration unter Anwendung der PD zunimmt.

Die Ursache des Ultrafiltrationsversagens wird in vier Typen unterteilt (102).

Typ I: Hyperpermeables Peritoneum (hohe effektive Oberfläche) für kleinmolekulare Solute, z.B. Harnstoff, Kreatinin, mit raschen Verlust des osmotischen Gradienten. Dieser Typ zählt zu den häufigsten Ursachen (102, 200).

Typ II: Alteration der Aquaporinkanäle (201). Studien beschreiben einen Rückgang des transzellulären Wassertransport der kleinen Poren unter Langzeitperitonealdialyse (88, 89, 127, 201). Es wird vermutet, dass Glukose, Glukoseabbauprodukte und AGEs diesen negativen Einfluss auf das Peritoneum ausüben. Dies hat eine diabetesähnliche Veränderung der Peritonealgefäße mit Zunahme der Kapillare (Neoangiogenese) (138), Zunahme des kleinen Stofftransports und ein hyperpermeables Peritoneum zur Folge.

Typ III: Hypopermeables Peritoneum mit Verlust der effektiven Oberfläche tritt auf nach schwerer Peritonitis mit Verwachsungen, oder unter durchgemachter Sklerose.

Typ IV: Geringe effektive Ultrafiltration durch hohe lymphatische Absorption.

Die letzten beiden Typen sind seltener anzutreffen.

Mit Hilfe der erweiterten Dextran-PET wurde in der Nephrologie der Düsseldorfer Universitätsklinik für diese Arbeit die peritoneale Flüssigkeitskinetik untersucht.

Die Dialysat/Plasma Rate von Kreatinin (D/Pcreat%), die transkapilläre Ultrafiltration (TCUF), die lymphatische Absorptionsrate (LAR), die effektive Ultrafiltration (EUF), die Ultrafiltration durch kleine Poren (UFSP60min.) und der AQP-1 vermittelte freie peritoneale Wassertransport (UFUSP60min.) wurde gemessen und mit der AGEs-Akkumulation im Peritoneum und der Pentosidinkonzentration in Serum und Effluat verglichen.

Einen statistisch signifikanten Einfluss der AGE-Akkumulation im Peritoneum bzw. der Pentosidine in Serum und Effluat auf Parameter des erweiterten PETs konnten wir generell nicht nachweisen.

Daten zeigen, dass Patienten mit ansteigenden Werten für kleine Solute (Dialysat /Plasma Rate für Kreatinin) eine erhöhte Mortalitätsrate besitzen (205). D/Pcreat% ist definiert als eine prozentuale Sättigung des Dialysats im Vergleich zum Plasma nach einer bestimmten Verweildauer, die die peritoneale Permeabilität repräsentiert. Nakayma et al. konnten in Peritonealbiopsien zeigen, dass AGEs unter zunehmender Dauer der Peritonealdialyse in den Gefäßwänden akkumulieren und vermutlich mit der ansteigenden peritonealen Permeabilität für kleine Solute in Zusammenhang stehen. Die Patientengruppe, die der CAPD am längsten ausgesetzt wurde, zeigten vermehrte AGEs-Ablagerungen im Peritoneum und erhöhte D/Pcreat% Werte mit Abnahme der Ultrafiltration (127). In unserer Studie korreliert die Pentosidinkonzentration im Serum signifikant mit der Dauer der PD. Im Zusammenhang mit D/Pcreat% konnten wir lediglich Tendenzen ermitteln.

Die AGE-Akkumulation als auch die Berechnungen der Pentosidine im Effluat zeigten keinerlei Beziehung zur D/Pcreat%. Fußhöller et al. konnten bei zunehmender Peritonealdialysedauer eine erhöhte Permeabilität für kleine Solute und somit einen Anstieg der D/Pcreat%, sowie einen Anstieg der lymphatischen Absorption (LAR) nachweisen. Die effektive Ultrafiltration (EUF) zeigte dabei erniedrigte Werte (117).

Da die LAR abhängig von der Anzahl der Lymphspalten ist, ist dieses vermutlich auf die histomorphologische Alteration des Peritoneums unter Peritonealdialyse zurückzuführen. Die Ergebnisse der erhöhten LAR und der erniedrigten TCUF unter Ultrafiltrationsverlust wurden von Ho-dac Pannekeet et al. ebenfalls dokumentiert (208).

Im Gruppenvergleich der Pentosidinkonzentration im Effluat ergab sich ein tendenzieller Zusammenhang zur LAR. Niedrigere Pentosidinkonzentrationen im Effluat korrelierten tendentiell mit niedrigeren Werten der LAR. AGE-Ablagerung im Peritoneum und Pentosidin im Serum zeigten keinerlei Zusammenhang zur LAR. Wieneke et al. beschrieb in seiner Studie keine Kongruenz bezüglich der PD-Dauer und der LAR. Eine konkrete Erklärung fand er dafür nicht (206).

In der Gruppe der AGE-Ablagerung > 1 ($n = 8$) zeigten sich tendenziell niedrigere Werte der transkapillären Ultrafiltration (TCUF) und höhere Ergebnisse bei AGE-Ablagerung ≤ 1 ($n = 19$). Somit könnte man von einer Tendenz zu einer verminderten Ultrafiltration bei höherer AGE-Ablagerung ausgehen. Bei den ermittelten Pentosidinkonzentrationen in Serum und Effluat ergab sich kein signifikanter Zusammenhang.

Insgesamt ergaben sich hier in unserer Arbeit keine signifikanten Korrelationen.

Die peritoneale Ultrafiltration besteht aus 2 Hauptkomponenten.

40% findet über den freien Wassertransport, durch die Aquaporinkanäle oder ultra small pores und 60% über die small pores statt (201, 202). Es wird vermutet, dass ein niedriger pH-Wert, eine hohe Glukosekonzentration (201) und starke AGEs-Formation (88, 89, 127, 201) die transkapilläre Ultrafiltration durch kleine Poren (UFSP_{60min.}) und dem transzellulären AQP-1 vermittelten freien peritonealen Wassertransport (UFUSP_{60min.}) beeinflussen (90, 98, 138). Eine erhöhte Durchlässigkeit der Peritonealmembran mit Zunahme der Gesamtoberfläche steht im Zusammenhang mit der AGE-Akkumulation im Peritoneum. Die gesteigerte Neoangiogenese wird induziert durch VEGF mit Folge einer hyperpermeablen Membran und Abnahme der Ultrafiltration. Ablagerungen von AGEs führen zu einer Konformationsänderung der AQP-1 Kanäle (AQP-1) und damit zu einer Dysfunktion derselben, mit einem reduzierten Transport für freies Wasser (115, 207). Ein Ultrafiltrationsversagen ist außerdem assoziiert mit ansteigendem Transport kleiner Solute, als auch einer Dysfunktion der AQP-1 unter Langzeitperitonealdialyse (201, 202).

Auch Hoc-dac-Pannekeet et al. beschrieben eine Beeinträchtigung des UFUSP, als eine zusätzliche Ursache für eine eingeschränkte Ultrafiltration (201, 203, 204). Unsere Ergebnisse zeigten bei erhöhter AGEs-Ablagerung einen tendenziell verminderten AQP-1 vermittelten Transport, als auch eine tendenziell verminderte Ultrafiltration über die small pores, allerdings wurde das Signifikanzniveau nicht erreicht.

Es ließ sich zusammenfassend kein Zusammenhang zwischen den Daten des erweiterten PETs und den Ergebnissen der Proben aus Effluat und Serum, sowie den Ergebnissen der histologischen Auswertung bezüglich der AGEs-Ablagerungen nachweisen. 37 Patienten wurden Gewebeproben entnommen, wenn die Indikation zur Katheterneuanlage gegeben war, davon standen 19 peritoneale Biopsien für die Auswertung der PET zur Verfügung. Im Vergleich zu anderen Arbeiten könnte die kurze PD-Dauer und somit die zu kurzfristige Belastung mit dem Dialysat der fehlenden Korrelation zu Grunde liegen.

Diabetes mellitus

Ein signifikanter Zusammenhang zwischen dem Vorliegen eines Diabetes mellitus und der AGE-Ablagerung im Peritoneum, sowie der Pentosidine in Serum und Effluat unter PD ließ sich nicht nachweisen.

Erklärbar wäre dies vermutlich dadurch, dass die Auswirkung eines Diabetes mellitus auf die AGE- und Pentosidinkonzentration unter Anwendung der PD nachrangig ist. Wie bereits beschrieben, konnten diese Ergebnisse in unterschiedlichen Studien nachgewiesen werden. Makita et al. stellten fest, dass unter Abwesenheit einer Hyperglykämie ansteigenden AGE-Serumwerte auftraten (180,181). Wells-Knecht et al. beschrieben, dass Pentosidine nicht im engeren Zusammenhang mit Diabetes mellitus stehen (178, 179). Miayta et al. ermittelten kongruente Ergebnisse. Unabhängig davon, ob die Patienten an Diabetes mellitus litten oder nicht, konnten erhöhte AGEs in Serum und Gewebe nachgewiesen werden (188). Die AGE-Akkumulation im Peritoneum zeigt in unseren Versuchen leicht erhöhte Werte in der nicht an Diabetes mellitus erkrankten Patientengruppe. Die Ursache der fehlenden Korrelation könnte mit der geringen Anzahl an Diabetes mellitus erkrankten in dieser Studie zusammenhängen.

In anderen Studien wurde die erhöhte AGE-Menge infolge eines Diabetes mellitus belegt. Brownlee et al. bezeichneten die Bildung von AGEs als einen irreversiblen Prozess, wo durch Korrektur der Blutzuckerwerte keine Normwerte erreicht werden konnten.

Langandauernde Hyperglykämien führten zu einer vermehrten Anhäufung aufgrund der erhöhten Bildungsrate und dem verminderten Abbau (173). Korbet et al. untersuchten PD-Patienten und konnten erhöhte Serum-AGE-Werte bei Diabetikern nachweisen (186).

Arterielle Hypertonie

Hohe Glukosespiegel und AGEs fördern in den Nierenzellen eine vermehrte Angiotensinsynthese und eine erhöhte Angiotensin II Abgabe in das Nierengewebe, dessen Konzentrationen bis zu 10.000 mal höher liegen, als der systemische Spiegel (190).

Eine arterielle Hypertonie liegt bereits bei über 50% der Patienten bei Erstdiagnose eines Diabetes mellitus vor (191). Die Akkumulation von AGEs in den Gefäßwänden fördern die Progression der Mikro- und Makroangiopathie indem sie zu einer Dysfunktion des Endothels mit Vasokonstriktion und einer Basalmembranverdickung mit Elastizitätsverlust führen (95, 192). Kiuchi et al. beschrieben, dass AGEs eine wichtige Rolle bei der Entwicklung und Progression von Koronaren Herzerkrankungen (KHK) unter Diabetes mellitus spielen. Die Serum-AGEs zeigten erhöhte Werte im Gegensatz zu Patienten, die nicht an einer KHK erkrankt waren (193). Hanssen et al. fanden keinen Zusammenhang bei Patienten mit Herzkreislauf-Erkrankungen und Pentosidine im Serum, die nicht an Diabetes mellitus erkrankt waren (212)

In unserer Studie zeigten Patienten mit arterieller Hypertonie leicht erhöhte Werte bei der AGE-Akkumulation im Peritoneum und der Pentosidine im Effluat, während die Serumwerte niedriger ausfielen, als bei nicht Erkrankten. Von 48 an arterieller Hypertonie betroffenen Patienten sind 14 an Diabetes mellitus erkrankt. Ebenso wie die Auswirkung eines Diabetes mellitus auf die AGE- und Pentosidinkonzentration nachrangig sein könnte, könnte dies ebenso in Bezug auf die arterielle Hypertonie sein, da diese häufig in Zusammenhang gebracht wird mit Diabetes mellitus und der AGE-Akkumulation.

5. Schlussfolgerung

Die jahrelange Anwendung glukosehaltiger Peritonealdialyselösungen führt bei Patienten zu einer vermehrten Ablagerung von Advanced glycation endproducts im Peritoneum. Die Langzeitperitonealdialyse mit konventionellen Dialyselösungen im Einkammersystem begünstigen eine vermehrte Ausbildung von GDP und AGEs mit folgender peritonealer Hyperpermeabilität und dem damit einhergehenden Ultrafiltrationsversagen. Die in den letzten Jahren zunehmende Durchführung der Peritonealdialyse mit dem Zweikammersystem verringert die Bildung von GDP und somit Ausbildung von AGEs bei verminderter Neoangiogenese.

Ziel der vorliegenden Arbeit war es, einen Zusammenhang herzustellen zwischen AGEs im Peritoneum und komplexere Formen von AGEs, den sogenannten Pentosidinen im Serum und Effluat. Zum Nachweis von AGE-Ablagerung im Peritoneum müssen bisher Peritonealgewebeproben immunhistochemisch untersucht werden. Die Möglichkeit, ein operatives Verfahren zu umgehen und Pentosidine in Serum und Effluat als Frühindikator für die Ausprägung der AGE-Ablagerung im Peritoneum zu verwenden, wäre eine Weiterentwicklung im Rahmen der LangzeitPD.

Es konnte eine positive Korrelation zwischen der Pentosidinkonzentration im Serum und der Dauer der PD nachgewiesen werden. Wir vermuten eine positive Korrelation zwischen AGE-Ablagerung im Peritoneum und den Pentosidinen im Serum und Effluat. Ob sich diese Vermutungen bestätigen, sollten weitere Untersuchungen zeigen. Die Eignung der Pentosidinkonzentration in Serum und Effluat als Frühindikator für AGEs-Ablagerung im Peritoneum muss durch weiteren Studien belegt werden.

Durch einen besseren Erhalt der Langzeitfunktion des Peritoneums könnte das Systemüberleben der PD verlängert werden.

6. Literaturverzeichnis

1. Hale S.: A method of conveying liquors into the abdomen during the operation of tapping. Philosoph Transaction Royal Soc 43: 1744; 20
2. Warrick C.: An improvement of the practice of trapping, whereby that operation instead for relief of symptoms, becomes an absolute cure for ascites, exemplified in the cas of Jane Roma. Philosoph Transaction Royal Soc 43: 1744; 12
3. Cancarini GC, Faict D, de Vos C et al.: Clinical evaluation of a peritoneal dialysis solution with 33 mmol/l bicarbonate. Perit Dial Int 1998; 18: 576
4. Wegner G.: Chirurgische Bemerkung über die Peritonealhöhle mit besonderer Berücksichtigung der Ovariotomie. Arch Klin Chir 20: 1877; 51
5. Starling EH And Tubby AH: The influence of mechanical factors on lymph production. J. Physiol 46: 1894; 140
6. Orlow WN: Einige Versuche über die Resorption in der Bauchhöhle. Arch F Phys Pflüger 59: 1895; 170
7. 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 995; Nephron 39: 141-145
8. Putnam T: The living peritoneum as a dialysis membrane. Am J Physiol 63: 192; 548
9. Ganter G:Über die Beseitigung giftiger Stoffe aus dem Blute durch Dialyse. Münch Med Wochenschr 1923; Nr. 70: 1478-1480
10. Heusser H und Werder H: Untersuchungen über die Peritonealdialyse. Bruns Beitr Klin Chir 141: 1927; 38
11. Fhoads JE: Peritoneal Lavage in the treatment of renal insufficiency, Am J Med Sci 196: 1938; 642
12. Odel HM, Ferris DO, Power MH: Peritoneal lavage as an effective means of extrarenal excretion, Am J Med, 9: 1950; 63-77
13. Martin A, Clynes M: Acid Phosphatase: Endpoint for a vitro toxicity tests, In Vitro Cell Dev Biol, 27 A: 1991; 183-184
14. Tenckhoff H, Schechter H: A bacteriologically safe peritoneal access device, Trans Am Soc Artif Intern Organs, 14: 1968; 181-187
15. Popovich RP, Moncrief JW, Nolph KD, Ghods AJ, Twrdowski ZJ, Pyle WK: Continuous ambulatory peritoneal dialysis, Ann Intern Med, 88 (4): 1978; 449-456
16. Oreopoulos D.G. Et al.: A simple and safe technique for CAPD. TASSAIO 24: 1978; 484

17. Gokal R, Mallick NP: Seminar Peritoneal dialysis, *The Lancet*, Vol 353, March 6, 1999
18. B. Grabensee: Checkliste Nephrologie, 2002; 327-328
19. Boen TS: Kinetic of peritoneal dialysis. A comparison with the artificial kidney. *Medicine* 40: 1961; 243-287
20. Feriani M: Adequacy of acid base correction in continuous ambulatory peritoneal dialysis. *Perit Dial Int* 14(Suppl 3): 1984; 133-138
21. Feriani M, Reinhardt B, La Greca G: CaCO₃ precipitation in oversaturated bicarbonate containing CAPD solution in Peritoneal Dialysis-Proceedings of the 4th International Course on Peritoneal Dialysis, 1991; 145-150
22. Passlick-Deetjen J. und Jaeckle-Meyer I.: Bicarbonat buffers in peritoneal dialysis, *Artif. Organs* 22 [1]: 1998: 17-19
23. Liberek T, Topley N, Jörres A, Coles GA, Gahl GM, Williams JD: Peritoneal dialysis fluid inhibition of phagocyte function: Effects of osmolality and glucose concentration, *J Am Soc Nephrol*, Vol. 3, Number 8: 1993; 1508-1515
24. Witowski J, Breborowicz A, Topley N, Martis L, Knapowski J, Oreopoulos DG: Insulin stimulates the activity of Na⁺/K⁺ ATPase in human peritoneal mesothelial cells, *Perit. Dial Int.* 17 [2]: 1997; 186-193
25. Dobbie JW et al.: The morphology of the peritoneum. In: Khanna (ed): *Advances in CAPD* 3: 1985
26. Khanna R et al.: Peritoneal morphology and microcirculation. In: Gokal (ed): *CAPD* 14:1986
27. Korten G: Das Peritoneum als Dialysemembran – eine morphologische Studie. *J Urol Nephrol* 77: 1984
28. Verger C: Relationship between peritoneal membrane structure and its permeability: Clinical implications. In: Khanna (ed): *Advances in CAPD* 87: 1985
29. Gotloib L et al.: Ultrastructure of the rabbit mesentery. In: Gahl (ed): *Advances in Peritoneal Dialysis* 27: 1981
30. Verger C et al.: Structural and ultrastructural peritoneal membrane changes and permeability alterations during CAPD. *Proc. EDTA* 18: 1981; 199
31. Karnovsky MH: The ultrastructural basis of transcapillary exchanges. *Biological Interfaces, Flows and Exchanges*. Little Brown, Boston 64: 1968
32. Nolph KD: Anatomy, physiology and kinetics of peritoneal transport during peritoneal dialysis. In: Legrain (ed): *CAPD* 7: 1980
33. Miller FN: The peritoneal microcirculation. In: Nolph (ed): *Peritoneal Dialysis* 52: 1985
34. Breborowicz A. et al.: Chondroitin sulphate and peritoneal permeability. *Advances in Peritoneal Dialysis* 8: 1992; 11
35. Hörl Walter H., Wanner Christoph: *Dialyseverfahren in Klinik und Praxis* 1997; 77-78

36. Hörl Walter H, Wanner Christoph: Dialyseverfahren in Klinik und Praxis 1997; 69-72
37. Di Pablo N und Sacchi G: Anatomy and physiology of the peritoneal membrane, *Contrib. Nephrol* 84: 1990; 10-26
38. Pannekeet MM, Mulder JB, Weening JJ, Struijk DG, Zweers MM, Krediet RT: Demonstration of aquaporin-CHIP in peritoneal tissue of uremid and CAPD patients. *Perit. Dial. Int.* 16 Suppl 1: 1996; 54-57
39. Maillard L and M Gaultier: Action des acides amines sur les sucres : formation des melanoidines par voie methodique. *C R Seances Acad Sci III*, 154: 1912; 66-68
40. Nawroth PP, Bierhaus A, Vogel GE, Hofmann MA, Zumbach M, Wahl P, Ziegler R: Nichtenzymatische Glykierung und oxidativer Stress bei chronischen Erkrankungen und Diabetes mellitus. *Med Klin*, 94(1): 1999; 29-37
41. Bucala R, Mikata Z, Vega G, Grundy S, Koschinsky T, Cerami A, Vlassara H: Modification of low density lipoprotein by advanced glycosylation end products contributes to the dyslipidemia of diabetes and renal insufficiency. *Proc Natl Acad Sci USA*, 91(20): 1994; 9441-9445
42. Vlassara H: Advanced glycation end-products and atherosclerosis. *Ann Med*, 28(5): 1996; 419-426
43. Ulrich P and A Cerami: Protein glycation, diabetes, and aging. *Recent Prog Horm Res*, 56: 2001; 1-21.
44. Dobbie JW: Advanced glycosylation end products in peritoneal tissue with different solutions. *Perit Dial Int*, 17(2): 1997; 27-30
45. Weiss MF: Pathogenic role of advanced glycation end-products (AGEs): an overview. *Perit Dial Int*, 19(2): 1999; 47-52
46. Hangaishi M et al.: Increased aggregation of human platelets produced by advanced glycation end products in vitro. *Biochem Biophys Res Commun*, 248(2): 1998; 285-292
47. Monnier VM, Sell DR, Nagaraj RH, Miyata S, Grandhee S, Odetti P, Ibrahim SA: Maillard reaction-mediated molecular damage to extracellular matrix and other tissue proteins in diabetes, aging and uremia. *Diabetes* 41: 1992; 36-41
48. de Winther M et al.: Macrophage Scavenger Receptor Class A : A Multifunctional Receptor in Atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 20: 2000; 290-297.
49. Neeper M et al.: Cloning and expression of a cell surface receptor for advanced glycosylation end products of proteins. *J Biol Chem*, 267(21): 1992; 14998-5004
50. Brownlee M: Advanced glycosylation in diabetes and aging. *Annu Rev Med.* 46: 1995; 223-234
51. Bierhaus A, Illmer T, Kasper M, Luther T, Quehenberger P, Tritschler H, Wahl P, Ziegler R, Muller M, Nawroth PP: Advanced glycation end product (AGE)-mediated induction of tissue factor in cultured endothelial cells is dependent on RAGE. *Circulation*, 96(7): 1997; 2262-2271

52. Yan SD, Schmidt AM, Anderson GM, Zhang J, Brett J, Zou YS, Pinsky D, Stern D: Enhanced cellular oxidant stress by the interaction of advanced glycation end products with their receptors/binding proteins. *J Biol Chem*, 269(13): 1994; 9889-9897
53. Baeuerle P and Baltimore D: NF- κ B : ten years after. *Cell*, 87: 1996; 13-20
54. Nawroth PP, Ziegler R: *Klinische Endokrinologie und Stoffwechsel*, 2001; 618–619
55. Witowski J, Bender TO, Gahl GM, Frei U, Jorres A: Glucose degradation products and peritoneal membrane function. *Perit Dial Int* 21: 2001; 201-205
56. Boulanger E, Wautier MP, Wautier JL, Boval B, Panis Y, Wernert N, Danze PM, Dequiedt P: AGEs bind to mesothelial cells via RAGE and stimulate VCAM-1 expression. *Kidney Int* 61: 2002; 148-156
57. Fußhöller A: Histomorphological and functional changes of the peritoneal membrane during long-term peritoneal dialysis. *Pediatr Nephrol*, 23: 2008; 19-25
58. Bierhaus A, Schiekofer S, Schwaninger M, Andrassy M, Humpert PM, Chen J, Hong M, Luther T, Henle T, Kloting I, Morcos M, Hofmann M, Tritschler H, Weigle B, Kasper M, Smith M, Perry G, Schmidt AM, Stern DM, Haring HU, Schleicher E and Nawroth PP: Diabetes-associated sustained activation of the transcription factor nuclear factor- κ B. *Diabetes* 50(12): 2001; 2792-2808
59. Schmidt AM, Yan SD, Yan SF and Stern DM: The biology of the receptor for advanced glycation end products and its ligands. *Biochim Biophys Acta* 1498(2-3): 2000; 99-111
60. Cerami C, Founds H, Nicholl I, Mitsuhashi T, Giordano D, Vanpatten S, Lee A, Al-Abed Y, Vlassara H, Bucala R and Cerami A: Tobacco smoke is a source of toxic reactive glycation products. *Proc Natl Acad Sci U S A* 94(25): 1997; 13915-13920
61. Nawroth PP et al.: Non-enzymatic glycation and oxidative stress in chronic illnesses and diabetes mellitus. *Med Klin*, 94(1): 1999; 29-38
62. Thornalley PJ: Cell activation by glycated proteins. AGE receptors, receptor recognition factors and functional classification of AGEs. *Cell Mol Biol (Noisy-le-grand)*, 44(7): 1998; 1013-23
63. Baynes JW: The role of AGEs in aging: causation or correlation. *Exp Gerontol*, 36(9): 2001; 1527-1537
64. Li YM et al.: Prevention of cardiovascular and renal pathology of aging by the advanced glycation inhibitor aminoguanidine. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 93(9): 1996; 3902-3907
65. Schleicher E, Wagner E and Nerlich A: Increased Accumulation of the Glycoxidation Product Ne-(carboxymethyl)lysine in Human Tissues in Diabetes and Aging. *J. Clin. Invest.*, 99(3): 1997; 457-468
66. Lithner F et al.: Clinical characteristics in diabetic stroke patients. *Diabete Metab*, 14: 1988; 15-19
67. Pyorala K: Diabetes and coronary artery disease: what a coincidence? *Journal of Cardiovascular Pharmacology*, 16: 1990; 8-14

68. Ruderman N and C Haudenschild: Diabetes as an atherogenetic factor. *Progress in cardiovascular Diseases*, 26: 1984; 273-412
69. Hori O, Yan SD, Ogawa S, Kuwabara K, Matsumoto M, Stern D, Schmidt AM: The receptor for advanced glycation end-products has a central role in mediating the effects of advanced glycation end-products on the development of vascular disease in diabetes mellitus. *Nephrol Dial Transplant*, 11(5): 1996; 13-16
70. Basta G, Lazzarini G, Massaro M, Simoncini T, Tanganelli P, Fu C, Kislinger T, Stern DM, Schmidt AM, De Caterina R: Advanced glycation end products activate endothelium through signaltransduction receptor RAGE: a mechanism for amplification of inflammatory responses. *Circulation*, 105(7): 2002; 816-822
71. Kume S et al.: Immunohistochemical and ultrastructural detection of advanced glycation end products in atherosclerotic lesions of human aorta with a novel specific monoclonal antibody. *Am J Pathol*, 147(3): 1995; 654-67.
72. Schleicher E.D, E Wagner and AG Nerlich: Increased accumulation of the glycooxidation product N(epsilon)- (carboxymethyl)lysine in human tissues in diabetes and aging. *J Clin Invest*, 99(3): 1997; 457-68
73. Colaco CA, Ledesma MD, Harrington CR, Avila J: The role of the Maillard reaction in other pathologies: Alzheimer's disease. *Nephrol Dial Transplant*, 11(5): 1996; 7-12
74. Castellani RJ et al.: Hydroxynonenal adducts indicate a role for lipid peroxidation in neocortical and brainstem Lewy bodies in humans. *Neurosci Lett*, 319(1): 2002; 25-8
75. Bar KJ, Franke S, Wenda B, Muller S, Kientsch-Engel R, Stein G, Sauer H: Pentosidine and N(epsilon)-(carboxymethyl)-lysine in Alzheimer's disease and vascular dementia. *Neurobiol Aging*, 24(2): 2003; 333-338
76. Sell DR, NR Kleinman and VM Monnier: Longitudinal determination of skin collagen glycation and glycooxidation rates predicts early death in C57BL/6NNIA mice. *Faseb J*, 14(1): 2000; 145-56
77. Sell DR et al.: Longevity and the genetic determination of collagen glycooxidation kinetics in mammalian senescence. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 93(1): 1996; 485-90
78. DeGroot J et al.: Accumulation of advanced glycation end products decreases collagen turnover by bovine chondrocytes. *Exp Cell Res*, 266(2): 2001; 303-10
79. Verzijl N et al.: Age-related accumulation of Maillard reaction products in human articular cartilage collagen. *Biochem J*, 350(2): 2000; 381-387
80. Singh R et al.: Advanced glycation end-products: a review. *Diabetologia*, 44(2): 2001; 129-46
81. Hein G, Wiegand R, Lehmann G, Stein G, Franke S: Advanced glycation endproducts pentosidin and N epsilon-carboxymethyllysine are elevated in serum of patients with osteoporosis. *Rheumatology (Oxford)*, 42(10): 2003; 1242-1246
82. Keller CK: *Praxis der Nephrologie*, 2002; 489
83. Roberts MA, Thomas MC, Fernando D, Macmillian N, Power DA, Ierino FL: Low molecular weight advanced glycation end products predict mortality in asymptomatic patients receiving chronic haemodialysis. *Nephrol Dial Transplant* 21: 2006; 1611

84. Wagner Z, Molnar M, Molnar GA et al.: Serum carboxymethyllysine predicts mortality in haemodialysis patients. *Am J Kidney Dis* 47: 2006; 294
85. Hein G, Franke S: Are advanced glycation end-product-modified proteins of pathogenetic importance in fibromyalgia. *Rheumatology Oxford*, 41(10): 2002; 1163-1167
86. Argirova M, Breipohl W: Comparison between modification of lens proteins resulted from glycation with methylglyoxal, glyoxal, ascorbic acid and fructose. *J Biochem Mol Toxicol*, 16(3): 2002; 140-145
87. Ahmed MU, Brinkmann Frye E, Degenhardt TP, Thorpe S, Baynes JW: N-epsilon-(carboxyethyl)lysine, a product of the chemical modification of proteins by methylglyoxal, increases with age in human lens proteins. *Biochem J*, 324(2): 1997; 565-570
88. Krediet R: Evaluation of peritoneal membrane integrity. *J Nephrol*, 10: 1997; 238-244
89. Friedlander MA, Wu YC, Monnier V: Advanced glycosylation end products (AGE) in serum and dialysat from patients with ESRD [Abstract]. *J Am Soc Nephrol*, 4: 1993; 405
90. Mateijssen MAM, Wal AC vd, Hendriks PMEM, Zweers MM, Mulder J, Krediet RT: Vascular and interstitial changes in the peritoneum of CAPD patients with peritoneal sclerosis, *Nephrol Dial Transplant*, 12: 1997; 181
91. Miyata T, Ueda Y, Horie K, Nangaku M, Tanaka S, van Ypersele de Strihou C, Kurokawa K: Renal catabolism of advanced glycation end products: the fate of pentosidine. *Kidney Int*, 53: 1998a; 416-422
92. Horie K, Miyata T, Maeda K, Miyata S, Sugiyama S, Sakai H, van Ypersele de Strihou C, Monnier VM, Witztum JL, Kurakawa K: Immunohistochemical colocalization of glycoxidation products and lipid peroxidation products in diabetic renal glomerular lesions. Implication for glycoxidative stress in the pathogenesis of diabetic nephropathy. *J Clin Invest*, 100: 1997; 2995-3004
93. O'Brien J, Morrissey PA: Nutritional and toxicological aspects of the Maillard browning reaction in foods. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 28: 1989; 211-248
94. Koschinsky T, He CJ, Mitsuhashi T, Bucala R, Liu C, Buenting C, Heitmann K, Vlassara H: Orally absorbed reactive glycation products (glycotoxins): an environmental risk factor in diabetic nephropathy. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 94: 1997; 6474-6479
95. Vlassara H, Palace MR: Glycoxidation: the menace of diabetes and aging. *Mt Sinai J Med*, 70: 2003; 232-241
96. Barnes PJ: Nuclear factor-kappa B. *Int J Biochem Cell Biol*, 29: 1997; 867-870
97. Mezzano SA, Barria M, Droguett MA, Burgos ME, Ardiles LG, Flores C, Egido J: Tubular NF-kappaB and AP-1 activation in human proteinuric renal disease. *Kidney Int*, 60: 2001; 1366-1377
98. Dobbi JW: New concept in molecular biology and structural pathology of the peritoneum: Their significance for peritoneal dialysis. *Am J Kidney Dis* 15: 1990; 97-109

99. 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*, 30: 1997; 413-422
100. Chan TM Leung JK, Sun Y, Lai KN, Tsang RC, Yung S: Different effects of amino acid-based and glucose-based dialysate from peritoneal dialysis patients on mesothelial cell ultrastructure and function. *Nephrol Kial Transplant*, 18: 2003; 1086-1094
101. Krediet RT, Imholz AL, Struijk DG, Koomen GC, Arisz L: Ultrafiltration failure in continuous ambulatory peritoneal dialysis. *Perit Dial Int*, 13(2): 1993; 59-66
102. Heimbürger O, Wang T, Lindholm B: Alterations in water and solute transport with time on peritoneal dialysis. *Perit Dial Int*, 19(2): 1999; 83-90
103. Faller B: Amino acid-based peritoneal dialysis solutions, *Kidney Int*, 56: 1996; 81-85
104. Davies S: Longitudinal relationship between solute transport and ultrafiltration capacity in peritoneal dialysis patients. *Kidney Int*, 66: 2004; 2437-2445
105. Heimbürger O, Waniewski J, Werynski A, Tranaeus A, Lindholm B: Peritoneal transport in CAPD patients with loss of ultrafiltration capacity. *Kidney Int*, 38: 1990; 495-505
106. Smit W, Schouten N, Berg N van den, Langedijk MJ, Struijk DG, Krediet RT: The Netherlands Ultrafiltration Failure Study Group, Analysis of the prevalence and causes of ultrafiltration failure during long-term peritoneal dialysis: a cross-sectional study. *Perit Dial Int*, 24: 2004; 562-570
107. Hörl Walter H, Wanner Christoph: *Dialyseverfahren in Klinik und Praxis* 1997; 82-83
108. Keller CK, Gerberth SK, *Praxis der Nephrologie*, 2007; 245-246
109. Riede US, Schaefer HE: *Allgemeine und spezielle Pathologie* 1999/2001; 739
110. Di Paolo, Sacchi G, DeMia M, Gaggiotti E, Capotondo L, Rossi P, Bernini M, Pucci AM, Ibba L, Sabatelli P, Alessandrini C: Morphology of the Peritoneal Membrane during Continuous Ambulatory Peritoneal Dialysis, *Nephron*, 44: 1986; 204-211
111. Colombi A: *Kontinuierliche ambulante Peritonealdialyse CAPD und verwandte Verfahren* F. Enke Verlag Stuttgart 1988
112. Tada H, Shiho O, Kuroshima K, Koyama M, Tsukamoto K: An improved colorimetric assay for interleukin 2 , *J Immunol Meth*. 93: 1986; 157-165
113. Voinescu CG, Khanna R: Peritonitis in peritoneal dialysis. *Int J Artif Organs*. 25: 2002; 249-260
114. Keane WF, Bailie GR, Boeschoten E, et al.: Adult peritoneal dialysis-related peritonitis treatment recommendations - 2000 update. *Perit Dial Int*, 20: 2000; 396-411
115. Jorres A, Bender T: Glucose degradation products and the peritoneal mesothelium. *Perit Dial Int*, 20: 2000; 19-22

116. 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*, 23: 1994; 64-73
117. Fußhöller A, zur Nieden S, Grabensee B, Plum J: Peritoneal fluid and solute transport: influence of treatment time, peritoneal dialysis modality, and peritonitis incidence. *J.Am.Soc. Nephrol*, 13: 2002; 1055-1060
118. de Fijter CW, Verbrugh HA, Oe LP, Peters ED, van der Meulen J, Donker AJ, Verhoef J: Peritoneal defense in continuous ambulatory versus continuous cyclic peritoneal dialysis. *Kidney Int*, 42: 1992; 947-950
119. Holmes CJ: Biocompatibility of peritoneal dialysis solutions, *Peritoneal Dialysis International*, 13: 1993; 88-94
120. Jörres A, Gahl GM, Topley N, Neubauer A, Ludat K, Müller C, Passlick-Deetjen J: In-vitro Biocompatibility of alternative CAPD fluids; comparison of bicarbonate-buffered and glucose-polymer-based solutions, *Nephrol Dial Transplant* 9: 1994; 785-790
121. Wieslander A, Nordin M, Kjellstrand P, Pund Boberg U: Toxicity of peritoneal dialysis fluids on cultured fibroblasts, L-929, *Kidney Int*, 40(1); 1991; 77-79
122. Wieslander A, Linden T, Kjellstrand P. Glucose degradation products in peritoneal dialysis fluids: how they can be avoided. *Perit Dial Int*, 21(3): 2001; 119-124
123. 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*, 13: 1993; 208
124. Witowski J, Korybalska K, Wisniewska J, Breborowicz A, Gahl GM, Frei U, Passlick-Deetje J and Jorres A: Effect of glucose degradation products on human peritoneal mesothelial cell function, *J Am Soc Nephrol*, 11(4): 2000; 729-739
125. Witowski J, Wisniewska J, Korybalska K, Bender TO, Breborowicz A, Gahl GM, Frei U, Passlick-Deetjen J and Jorres A: Prolonged exposure to glucose degradation products impairs viability and function of human peritoneal mesothelial cells, *J.Am.Soc.Nephrol*, 12(11): 2001; 2434-2441
126. Hörl Walter H, Wanner Christoph: *Dialyseverfahren in Klinik und Praxis* 1997; 79-80
127. Nakayama M, Kawaguchi Y, Yamada K et al.: Immunohistochemical detection of advanced glycosylation end-products in the peritoneum and its possible pathophysiological role in CAPD. *Kidney Int*, 51: 1997;182-186
128. Linden T, Cohen A, Deppisch R, Kjellstrand P, Wieslander A: 3,4-Dideoxyglucosone-3-ene (3,4-DGE): a cytotoxic glucose degradation product in fluids for peritoneal dialysis, *Kidney Int*, 62: 2002; 697-703
129. Goffin E, Combet S, Jamar F, Cosyns JP, Devuyst O: Expression of aquaporin-1 in long-term peritoneal dialysis patient with impaired transcellular water transport. *Am J Kidney, Dis*, 33: 1999; 383-388

130. Schwenger V, Morath C, Salava A, Amann K, Seregin Y, Deppisch R, Ritz E, Bierhaus A, Narowth PP, Zeier M: Damage to the peritoneal membrane by glucose degradation products is mediated by the receptor for advanced glycation end-products. *J Am Soc Nephrol*, 17: 2006; 199-207
131. de Vries AS, Flyvbjerg A, Mortier S, Tilton RG, Lameire NH: Inhibition of the Interaction of AGE-RAGE Prevents Hyperglycemia-Induced Fibrosis of the Peritoneal Membrane. *J Am Soc Nephrol*, 14: 2003; 2109-2118
132. Mortier S, De Vries AS, Lameire N: Recent concepts in the molecular biology of the peritoneal membrane-implications for more biocompatible dialysis solutions. *Blood Purif*, 21: 2003; 14-23
133. Williams JD, Craig KJ, Topley N, Von Ruhland C, Fallon M, Newman GR, Mackenzie RK, Williams GT; Peritoneal Biopsy Study Group: Morphologic changes in the peritoneal membrane of patients with renal disease. *J Am Soc Nephrol*, 13: 2002; 470-479
134. Albrektsen GE, Wideroe TE, Nilsen TI, Romundstad P, Radtke M, Hallan S, Aasarod K, Oien C, Laegreid IK. Tranperitoneal water transport before, during, and after episodes with infectious peritonitis in patients treated with CAPD. *Am J Kidney Dis*, 43: 2004; 485-491
135. Combet S, Ferrier Ml, Van Landschoot M, Stoeniou M, Moulin P, Miyata T, Lameire N, Devuyst O: Chronic uremia induces permeability changes, increased nitric oxide synthase expression, and structural modifications in the peritoneum. *J Am Soc Nephrol*, 12: 2001; 2146-2157
136. Davies SJ, Phillips L, Griffiths AM, Russell LH, Naish PF, Russell GI: Impact of peritoneal membrane function on long-term clinical outcome in peritoneal dialysis patients. *Perit Dial Int*, 19(2): 1999; 91-94
137. Goffin E, Devuyst O: Phenotype and genotype: perspectives for peritoneal dialysis patients. *Nephrol Dial Transplant*, 21: 2006; 3018-3022
138. Plum J, Hermann S, Fuschöller 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*, 78: 2001; 42-47
139. Honda K, Nitta K, Horita S, Yumura W, Nihei H, Bagai R, Ikeda K, Horiuchi S: Accumulation of advanced glycation end products in the peritoneal vasculature of continuous ambulatory peritoneal dialysis patients with low ultrafiltration. *Nephrol Dial Transplant*, 14: 1999; 1541-1549
140. Lamb EJ, Cattell WR, Dawney Abst.J: In vitro formation of advanced glycation end products in peritoneal dialysis fluid. *Kidney Int*, 47: 1995; 1768-1774
141. Vlassara H, Brownlee M, Manogue KR, Dinarello CA, Pasagian A. Cachectine: TNF and IL-1 induced by glucose-modified proteins: role in normal tissue remodeling. 240: 1988; 1546-1548
142. Tsilibary EC, Charonis AS, Reger LA, Wohlheuter RM, Furcht LT: The effect of glycosylation on the binding of the main noncollagenous Ncl domain to type IV collagen. *J Biol Chem*, 263: 1988; 4302-4308

143. Charonis AS, Reger La, Dege JE et al.: Laninin alterations after in vitro nonenzymatic glycosylation. *Diabetes* 39: 1990; 807-814
144. Hogan M, Cerami A, Bucala R: Advanced glycosylation endproducts block the antiproliferative effect of nitric oxide; Role in the vascular and renal complications of diabetes mellitus. *J Clin Invest*, 90: 1992; 1110-1115
145. Miyata T, Devuyst O, Kurokawa K, van Ypersele de Strihou C: Toward better dialysis compatibility: Advances in the biochemistry and pathophysiology of the peritoneal membranes. *Kidney Int*, 61: 2002; 375-386
146. Combet S, Miyata T, Moulin P, Pouthier D, Coffin E, Devuyst O: Vascular proliferation and enhanced expression of endothelial nitric oxide synthase in human peritoneum exposed to long-term peritoneal dialysis. *J Am Soc Nephrol*, 11: 2000; 717-728
147. Park MS, Lee HA, Chu WS, Yang DH, Hwang SD: Peritoneal accumulation of AGE and peritoneal membrane permeability. *Perit Dial Int*, 20: 2000; 452-460
148. Yamada K, Miyahara Y, Hamaguchi K, Nakayama M, Nakano H, Nozaki O, Miura Y, Suzuki S, Tuchida H, Mumura N: Immunohistochemical study of human advanced glycosylation end-products in chronic renal failure. *Clin Nephrol*, 42: 1994; 354-361
149. Inagi R, Miyata T, Yamamoto T, Suzuki D, Urakami K, Saito A, van Ypersele de Strihou C, Kurokawa K: Glucose degradation product methylglyoxal enhances the production of vascular endothelial growth factor in peritoneal cells: Role in the functional and morphological alterations of peritoneal membranes in peritoneal dialysis. *FEBS Lett*, 463: 1999; 260-264
150. Fußhöller A: Histomorphological and functional changes of the peritoneal membrane during long-term peritoneal dialysis. *Pediatr Nephrol*, 23: 2008; 19-25
151. B. Grabensee: Checkliste Nephrologie. 2002; 312
152. Coles GA, Gokal R, Ogg C et al.: A randomized controlled trial of a bicarbonate and a bicarbonate/lactate-containing dialysis solution in CAPD. *Perit Dial Int*, 17: 1997; 48
153. Haag-Weber M: Influence of new dialysis solutions on outcome in patients treated with peritoneal dialysis. *Wien Klin. Wochenschr*, 117(6): 2005; 89-97
154. Vlassara H, Bucala R, Striker L: Pathogenic effects of advanced glycosylation: biochemical, biologic and clinical implications for diabetes and aging: *Lab Invest*, 70: 1994; 138-151
155. Rippe B, Simonsen O, Heimbürger O, Christensson A, Haraldsson B, Stelin G et al.: Long-term clinical effects of a peritoneal dialysis fluid with less glucose degradation products. *Kidney Int*, 59: 2001; 348-357
156. Mortier S, Faict D, Schalwijk CG, Lameire NH, De Vriese AS: Long-term exposure to new peritoneal dialysis solutions: effects on the peritoneal membrane. *Kidney Int*, 66: 2004; 1257-1265
157. Mortier S, Faict D, Lameire NH, De Vriese AS: Benefits of switching from a conventional to a low GDP bicarbonate/lactate-buffered dialysis solution in a rat model. *Kidney Int*, 67: 2005; 1559-1565

158. Ho-dac-Pannekeet MM, Weiss MF, de Waart DR, Erhard P, Hiralall JK, Krediet RT: Analysis of non enzymatic glycosylation in vivo: impact of different dialysis solutions. *Perit Dial Int*, 19(2): 1999; 68-74
159. Schalkwijk CG, Posthuma N, ten Brink HJ, ter Wee PM, Teerlink T: Induction of 1,2-di-carbonyl compounds, intermediates in the formation of advanced glycation end-products, during heat-sterilization of glucose-based peritoneal dialysis fluids: *Perit. Dial. Int.*, 19: 1999; 325-333
160. Erixon M, Linden T, Kjellstrand P, Carlsson O, Ernebrant M, Forsbäck G et al.: PD fluids contain high concentrations of cytotoxic GCPs directly after sterilization. *Perit Dial Int*, 24: 2004; 392-398
161. Mistry CD, Gokal R: New osmotic agents for peritoneal dialysis: where we are and where we're going? *Semin Dial*, 4: 1991; 9-12
162. Fußhöller A, Plail M, Grabensee B, Plum J: Biocompatibility pattern of a bicarbonate lactate-buffered peritoneal dialysis fluid in APD: a prospective, randomized study. *Nephrol Dial Transplant*, 19: 2004; 2101-2106
163. Heimbürger O, Waniewski J, Werynski A, Tranaeus A, Lindholm B: Peritoneal transport in CAPD patients with permanent loss of ultrafiltration capacity. *Kidney Int*, 38: 1990; 495-506
164. Miyata T, Wada Y, Cai Z, Iida Y, Horie K, Yasuda Y, Maeda K, Kurokawa K, Van Ypersele S: Implication of an increased oxidative stress in the formation of advanced glycation end products in patients with end-stage renal failure: *Kidney Int*, 51: 1997B; 1170-1181
165. Haas S, Schmitt CP, Arbeiter K, Bonzel KE, Fischbach M, John U et al.: Improved acidosis correction and recovery of mesothelial cell mass with neutral-pH bicarbonate dialysis solution among children undergoing automated peritoneal dialysis. *J Am Soc Nephrol*, 14: 2003; 2632-2638
166. Williams JD, Topley NT, Craig KJ, Mackenzie RK, Pischetsrieder M, Lage C et al.: The Euro-Balance Trial: the effect of a new biocompatible peritoneal dialysis fluid (balance) on the peritoneal membrane. *Kidney Int*, 66: 2004; 408-418
167. Lee HY, Park HC, Seo BJ, Do JY, Yun SR, Song HY et al.: Superior patient survival for continuous ambulatory peritoneal dialysis fluid with neutral pH and low glucose degradation product concentration (balance). *Perit Dial Int*, 25: 2005; 248-255
168. Krediet RT, Struijk DG, Koomen GC, Arisz L: Peritoneal fluid kinetics during CAPD measured with intraperitoneal dextran 70. *ASAIO Trans*, 37: 1991; 662-667
169. Tauer A, Zhang X, Schaub P, Zimmeck T, Niwa T, Passlick-Deetjen J et al.: Formation of advanced glycation end products during CAPD. *Am J Kidney*, 41(1): 2003; 57-60
170. Shaw S, Akyol M, Bell J, Briggs JD, Dominiczak MH: Effects of continuous ambulatory peritoneal dialysis and kidney transplantation on advanced glycation endproducts in the skin and peritoneum. *Cell Mol. Biol. (Noisy-le-gand)*, 44: 1998; 1061 - 1068
171. Lamb EJ, Cattel WR, Dawnay A: Glycated albumin in serum and dialysate of patients on continuous ambulatory peritoneal dialysis. *Clin.Sci.(Lond)*, 84: 1993; 619-626

172. Miyata T, Ueda Y, Yoshida A, Sugiyama S, Iida Y, Jadoul M, Maeda K, Kurokawa K, van Ypersele de Stihou C: Clearance of pentosidine, an advanced glycation end product, by different modalities of renal replacement therapy. *Kidney Int*, 51: 1997; 880-887
173. Brownlee M: Glycation products and the pathogenesis of diabetic complications. *Diabetes care*, 15(12): 1992; 1835-1843
174. Dyer DG, Blackledge JA, Thorpe SR, Baynes JW: Formation of pentosidine during nonenzymatic browning of proteins by Glukse. Identification of Glukse and other carbohydrates as possible precursors of pentosidine in vivo. *J. Biol. Chem.* 266 (18): 1991; 11654-11660
175. Kusunoki H, Miyata S, Ohara T, Liu BF, Uriuhara A, Kojima H, Suzuki K, Miyazaki H, Yamashita Y, Inaba K, Kasuga M. Relation between serum 3-deoxyglucosone and development of diabetic microangiopathy. *Diabetes Care*, 26(6): 2003; 1889-1894
176. Niwa T, Takeda N, Yoshizumi H, Tatematsu A, Ohara M, Tomiyama S, Niimura K: Presence of 3-deoxyglucosone, a potent protein crosslinking intermediate of Maillard reaction, in diabetic serum. *Biochem Biophys Res Commun* 196(2): 1993; 837-843
177. Wells-Knecht KJ, Lyons TJ, McCance DR, Thorpe SR, Feather MS, Baynes JW: 3-Deoxyfructose concentrations are increased in human plasma and urine in diabetes. *Diabetes*, 43(9): 1994; 1152-1156
178. Wells-Knecht KJ, Zyzak DV, Litchfield JE, Thorpe SR, Baynes JW: Mechanism of autoxidative glycosylation: identification of glyoxal and arabinose as intermediates in the autoxidative modification of proteins by Glukse. *Biochemistry*, 34(11): 1995; 3702-3709
179. Kumano K, Yokota S, Sakai T, Kobayashi N, Yoshida A, Yoshihara T, Shibata K, Izumi G, Wang H: Kinetic analysis of furosine and pentosidine in CAPD patients. *Adv Perit Dial*, 13: 1997; 53-57
180. Makita Z, Radoff S, Rayfield EJ, Yang Z, Skolnik E, Delaney V, Friedman EA, Cerami A, Vlassara HN: Advanced glycosylation end products in patients with diabetic nephropathy. *Engl. J. Med.* 325: 1991; 836-842
181. Makita Z, Bucala R, Rayfield EJ, Friedman EA, Kaufman AM, Korbet SM, Barth H, Winston JA, Fuh H, Manogue KR, Cerami A, Vlassara H, Manogue KR et al.: Reactive glycosylation endproducts in diabetic uraemia and treatment of renal failure. *Lancet* 343(8912): 1994; 1519-1522
182. Heimbürger O, Waniewski J, Werynski A, Lindholm B: A quantitative description of solute and fluid transport during peritoneal dialysis. *Kidney Int*, 41: 1992; 1320-1332
183. Twardowski ZJ, Khanna R, Nolph KD: Osmotic agents and ultrafiltration in peritoneal dialysis. *Nephron*, 42: 1986; 93-101
184. Fußhöller A, Rówemeier H, Plum J, Grabensee B. Automatische Peritonealdialyse bei 197 Patienten ohne renale Restfunktion und/oder großer Körperoberfläche. *Nieren- und Hochdruckerkrankungen*, 30: 2001; 335-345
185. Bierhaus A, Nawroth P. Schlüssel zum Verständnis chronischer Erkrankungen. *Ruperto Carola* 3/2002

186. Korbet SM, Makita Z, Firanek CA, Vlassara H. Advanced glycosylation end products in continuous ambulatory peritoneal dialysis patients. *Am.J.Kidney Dis*, 22: 1993; 588-591
187. Baynes JW: The role of AGEs in aging: causation or correlation. *Exp. Gerontol*, 36 (9): 2001; 1527-1537
188. Miyata T, Ueda Y, Shinzato T, Iida Y, Tanaka S, Kurokawa K, Ypersele van S, Maeda K: Accumulation of albumin-linked and free-form pentosidine in the circulation of uremic patients with end-stage renal failure: renal implications in the pathophysiology of pentosidine. *J.Am.Soc.Bephrol*, 7: 1996; 1198-1206
189. Wolf G: New insights into the pathophysiology of diabetic nephropathy: from haemodynamics to molecular pathology. *Eur J Clin Invest*, 34(12): 2004; 785-796
190. Pöschel KA, Wolf G: Das Renin-Angiotensin-Aldosteron- System als zentraler Mediator der Progression der Niereninsuffizienz. *Nephrologe* 1: 2006; 233-240
191. Schäfers RF, Lütkes P, Ritz E, Philipp T: Leitlinie zur Behandlung der arteriellen Hypertonie bei Diabetes mellitus. Konsensus-Empfehlung der Deutschen Liga zur Bekämpfung des hohen Blutdruckes e.V. der Deutschen Diabetes-Gesellschaft und der Gesellschaft für Nephrologie. *Diabetes und Stoffwechsel*, 9: 2000; 89-103
192. Singh R, Barden A, Mori T, Beilin L. Advanced glycation endproducts: a review. *Diabetologia*, 44: 2001; 129-146
193. Kiuchi K, Nejima J, Takano T, Ohta M, Hashimoto H: Increased serum concentrations of advanced glycation end products: a marker of coronary artery disease activity in type 2 diabetic patients. *Heart*, 85: 2001; 87-91
194. Barrett BJ, Parfrey PS, Morgan J, Barrè P, Fine A, Goldstein MB, Handa SP, Jindal KK, Kjellstrand CM, Levin A, Mandin H, Muirhead N, Richardson RMA: Prediction of early death in end-stage renal disease patients starting dialysis. *Am J Kidney Dis*, 29: 1997; 214-222
195. Harnett JD, Foley RN, Kent GM: Congestive heart failure in dialysis patients, prevalence, incidence and risk factors. *Kidney int*, 47: 1995; 884-890
196. Ronco C, Hoppio M, House A, Anavekar N, Bellomo R: Cardiorenal syndrom. *Journal of the American College of Cariology*, 52 (19): 2008; 1527-1539
197. Fußhöller A, Rówemeier H, Plum J, Grabensee B: automatische Peritonealdialyse (APD) bei 184 Patienten ohne renale Restfunktion und/oder großer Körperoberfläche. *Nieren- und Hochdruckerkrankungen*, 30: 2001; 345-355
198. Diaz-Buxo JA: The present and the future of APD. *Clin Nephrol*, 53: 2000; 411-416
199. Bro S, Bjorner JB, Tofte-Jensen P, Klem S, Almtoft B, Danielsen H, Meincke M, Friedberg M, Feldt-Rasmussen B: A prospective, randomised multicenter study comparing APD and CAPD treatment. *Perit Dial Int*, 19: 1999; 526-533
200. Struijk DG, Krediet RT, Koomen, Boeschoten EW, Hoek FJ, Arisz L: A prospective study of peritoneal transport in CAPD patients. *Kidney Int*, 45: 1994; 1739-1744
201. Monquil M, Imholz A, Strikj D, Krediet R. Does impaired transcellular water transport contribute to net ultrafiltration failure during CAPD? *Perit Dial Int*, 15: 1995; 42-48

202. 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.*, 17: 1997; 144-150
203. Panekeet MM, Mulder JB, Weening JJ, Struijk DG, Zweers MM, Krediet RT. Demonstration of aquaporinCHIP in peritoneal tissue of uremic and CAPD patients. *Perit Dial Int*, 16: 1996; 54-57
204. Dobbie JW, Krediet RT, Twardowski ZJ, Nichols KW: A 39 - year-old man with loss of ultrafiltration. *Perit Dial Int*, 14: 1994; 384-394
205. Davies SJ, Phillips L, Russell GI: Peritoneal solute transport predicts survival on CAPD independently of residual renal function. *Nephrol Dial Transplant*, 13: 1998; 962-968
206. Michels WM, Zweers MM, Smit W, Korevaar J, Struijk DG, Westrhenen van R, Krediet RT: Does lymphatic absorption change with the duration of peritoneal dialysis? *Perit Dial Int* 24: 2004; 347-382
207. Korbes SM, Rody RA: Peritoneal membrane failure: Differentiell diagnosis evaluation and treatment *Semin Dial*, 7: 1994; 128-137
208. Ho-dac-Pannekeet MM, Atasever B, Struijk DG, Krediet RT: Analysis of ultrafiltration failure in peritoneal dialysis patients by means of standard peritoneal permeability analyses. *Perit Dial Int* 17: 1997; 144-150
209. Nowack R, Birck T, Weinreich T: *Dialyse und Nephrologie für Fachpersonal*. 2009; 226
210. Gressner A, Arndt T: *Lexikon der medizinischen Laboratoriumsdiagnostik*. 2007; 1011
211. Nishizawa Y, Koyama H, Inaba M: AGEs and cardiovascular diseases in patient with end-stage renal diseases: *J Ren Nutr*. 2012 Jan; 22(1): 128-133
212. Hanssen NM, Engelen L, Ferreira I, Scheijen JL, Huijberts MS, van Greevenbroek van der Kallen CJ, Dekker JM, Nijpels G, Stehouwer CD, Schalkwijk CG: Plasma levels of advanced glycation endproducts N ϵ -(carboxymethyl)lysine, N ϵ -(carboxymethyl)lysine, and pentosidine are not independently associated with cardiovascular disease in individuals with or without type 2 diabetes: *J Clin Endocrinol Metab*. 2013 Aug; 1369-1373
213. Kawanashi K, Honda K, Tsukada M, Oda H, Nitta K: Neutral solution low in glucose degradation Produkts is associated with less peritoenal fibrosis and vascular sclerosis in patients receiving peritoneal dialysis: *Perit Dial Int*. 2013 May-Jun; 33(3): 242-251

7. Abbildungsverzeichnis

- Abb. 1: Darstellung der Katheteranlage und Prinzip des Beutelwechsels, Firma Fresenius
- Abb. 2: Katheter der Peritonealdialyse, Firma Baxter
- Abb. 3: Volumenkonzentration und zeitlicher Ablauf der CAPD und APD nach Advanced renal aducation program 2006
- Abb. 4: Prinzip des 2 Kammer Systems. Kuhlmann U, Walb D, Nephrologie. 2008; 5 Auflage, Abb. 16.10
- Abb. 5: Peritonealmembran, HE-Färbung, Bild G. Schoenicke
- Abb. 6: 3-Poren-Modell der Peritonealmembran nach Gokal u. Nolph
- Abb. 7: Peritonealer Equilibrationstest nach Twardowski et al., 1997 aus Prescription Guide: PET - Calculations
- Abb. 8: Maillard – Reaktion, mod. nach Nawroth et al. 1999
- Abb. 9: Strukturformel Pentosidin - Gressner A, Arndt T: Lexikon der medizinischen Laboratoriumsdiagnostik. 2007; 1011
- Abb.10: Forschungsmagazin Ruperto Carola Universität Heidelberg, Frau Dr. A. Bierhaus, Prof. Dr. P. Nawroth 3/2002
- Abb.11: Veränderungen der Peritonealmembran unter Peritonealdialyse. Peritoneal Biopsy Registry. Kraig C, Topley N, Wiliams D
- Abb.12: Prinzip der Antikörperbindungen im DAKO LSAB-2 System®
- Abb.13: Erweiterter peritonealer Dextran-Equilibrationstest aus der Nephrologischen Klinik der Universitätsklinik Düsseldorf
- Abb. 14: Anfärbungsgrad 0-3 Endothel der Gefäße im Peritoneum, 500 fache Vergrößerung
- Abb. 15: Anfärbungsgrad 0-3 um die Gefäße im Peritoneum, 500 fache Vergrößerung
- Abb. 16: Anfärbungsgrad 0-3 Submesothel im Peritoneum, 500 fache Vergrößerung
- Abb.17: Anfärbungsgrad 0-3 im tief liegendem Interstitium im Peritoneum, 500 fache Vergrößerung
- Abb.18: Korrelation zwischen AGEs im Peritoneum und der Pentosidinkonzentration im Serum (pmol/mg)
- Abb.19: Gruppenvergleich zwischen AGEs ≤ 1 (n = 19)) sowie > 1 (n = 8) und der im Serum gemessenen Pentosidinkonzentration (pmol/ml)
- Abb. 20: Korrelation zwischen AGEs im Peritoneum und der Pentosidinkonzentration im Effluat (pmol/mg)
- Abb. 21: Gruppenvergleich zwischen AGEs ≤ 1 (n = 19)) sowie > 1 (n = 8) und der im Effluat gemessenen Pentosidinkonzentration (pmol/ml)
- Abb.22: Korrelation zwischen Peritonealdialysedauer und AGEs (Gesamt) im Peritoneum

- Abb.23: Vergleich zwischen der Gruppe mit einer Behandlungsdauer ≤ 4 Monate und der Gruppe mit einer Behandlungsdauer > 4 Monate in Bezug auf AGEs (Gesamt) im Peritoneum
- Abb.24: Korrelation zwischen Peritonealdialysedauer und der Pentosidinkonzentration im Serum (pmol/mg)
- Abb.25: Vergleich zwischen der Gruppe mit einer Behandlungsdauer ≤ 4 Monate und der Gruppe mit einer Behandlungsdauer > 4 Monate in Bezug auf die Pentosidinkonzentration im Serum (pmol/mg)
- Abb.26: Korrelation zwischen Peritonealdialysedauer und der Pentosidinkonzentration im Effluat (pmol/mg)
- Abb. 27: Vergleich zwischen der Gruppe mit einer Behandlungsdauer ≤ 4 Monate und der Gruppe mit einer Behandlungsdauer > 4 Monate in Bezug auf die Pentosidinkonzentration im Effluat (pmol/mg)
- Abb. 28: Korrelation zwischen dem Alter der Patienten und AGEs im Peritoneum(Gesamt)
- Abb. 29: Vergleich zwischen der Gruppe mit dem Alter der Patienten < 40 Jahre und der Gruppe mit dem Alter der Patienten ≥ 40 Jahre in in Bezug auf die AGEs im Peritoneum
- Abb. 30: Korrelation zwischen dem Alter der Patienten in Jahren und der Pentosidinkonzentration im Serum (pmol/mg) und der Pentosidinkonzentration im Effluat (pmol/mg)
- Abb. 31: Vergleich zwischen der Gruppe mit dem Alter der Patienten < 40 Jahre und der Gruppe mit dem Alter der Patienten ≥ 40 Jahre in Bezug auf die Pentosidinkonzentration im Serum bzw. im Effluat (pmol/mg)

8. Tabellenverzeichnis

- Tabelle 1: Komposition verschiedener Dialyselösungen
- Tabelle 2: Glukoseabbauprodukte in kommerziell angebotenen Peritonealdialyselösungen (nach Wieslander und Mitarbeiter 1993 und Linden 2002)
- Tabelle 3: Antihroprometrische-und klinische Daten Patientenkollektiv
- Tabelle 4: Grunderkrankungen und Ursache des Nierenversagens, Patientenkollektiv
- Tabelle 5: Zeitprogramm der HPLC mit Gradientenangabe mit Laufpuffer HFBA
- Tabelle 6: AGE-Formation bei allen 55 Pertionealgewebeproben in der peritonealen Membran
- Tabelle 7: AGE-Formation in der peritonealen Membran bei 27 Patienten die für den erweiterten PET zur Verfügung standen
- Tabelle 8: Korrelation zwischen IHC AGEs in Submesothel, Interstitium, Endothel, um die Gefäße und der Pentosidinkonzentration im Serum (pmol/mg) während des erweiterten PETs zum Zeitpunkt 0
- Tabelle 9: Korrelation zwischen IHC AGEs-Ablagerung in Submesothel, Interstitium, Endothel, um die Gefäße und der Pentosidinkonzentration im Effluat (pmol/mg) während des erweiterten PETs zum Zeitpunkt 240min.
- Tabelle 10: Vergleich zwischen Dialysemodalität und AGE-Ablagerung im Peritoneum
- Tabelle 11: Vergleich zwischen Dialysemodalität und Pentosidinkonzentration im Serum
- Tabelle 12: Vergleich zwischen Dialysemodalität und Pentosidinkonzentration im Effluat
- Tabelle 13: Flüssigkeitskinetik und D/P Ratio Kreatinin im Rahmen des erweiterten PETs
- Tabelle 14: Korrelation zwischen AGEs im Peritoneum und den Parametern des peritonealen Flüssigkeitstransportes
- Tabelle 15: Gruppenvergleich zwischen AGEs im Peritoneum > 1 (n = 8) und ≤ 1 (n = 19) und den Parametern des peritonealen Flüssigkeitstransportes
- Tabelle 16: Korrelation zwischen der Pentosidinkonzentration in Serum bzw. Effluat und den Parametern des peritonealen Flüssigkeitstransportes
- Tabelle 17: Gruppenvergleich zwischen der Pentosidinkonzentration im Serum (pmol/mg) < 80 (n = 15) und ≥ 80 (n = 12) und den Parametern des peritonealen Flüssigkeitstransportes
- Tabelle 18: Gruppenvergleich zwischen der Pentosidinkonzentration im Effluat (pmol/mg) < 80 (n = 23) und ≥ 80 (n = 4) und den Parametern des peritonealen Flüssigkeitstransportes

- Tabelle 19: Gruppenvergleich zwischen Patienten mit (n = 14) und ohne Diabetes mellitus (n =41) hinsichtlich der AGE-Ablagerung im Peritoneum
- Tabelle 20: Gruppenvergleich zwischen Patienten mit (n = 48) und ohne arterieller Hypertonie (n =7) hinsichtlich der AGE-Ablagerung im Peritoneum
- Tabelle 21: Gruppenvergleich zwischen Patienten mit (n = 7) und ohne Diabetes mellitus (n=20) hinsichtlich der Pentosidinkonzentration in Serum und Effluat (pmol/mg)
- Tabelle 22: Gruppenvergleich zwischen Patienten mit (n = 23) und ohne arterieller Hypertonie (n=4) hinsichtlich der Pentosidinkonzentration in Serum und Effluat (pmol/mg)

Danksagung

Herrn Prof. Dr. Rump danke ich für die Unterstützung und die Möglichkeit der Durchführung meiner Arbeit in seiner Abteilung.

Mein besonderer Dank gilt Herrn Priv. Doz. Dr. Fußhöller für die Anregung zu dieser Arbeit, seine Unterstützung und Diskussionsbereitschaft.

Ebenso herzlich möchte ich den Mitarbeiterinnen und Mitarbeitern im nephrologischen Labor danken, insbesondere Frau Astrid Grosssteinbeck und Herrn Dr. Bernd Tiemann, für ihre tatkräftige Unterstützung bei der Durchführung der Laboranalysen und ihrer Hilfestellung bei organisatorischen und technischen Problemen.

Ganz besonderer Dank gilt auch Herrn Martin Ebert und Herrn Prof. Dr. Manfred Schenk für die Mithilfe und Fertigstellung dieser Dissertation.

Der größte Dank gebührt jedoch meiner Familie, meinem Mann Tim, der mir immer wieder zur Seite stand, mich stützte, mich gelassen hat und mir großes Zutrauen schenkte während meiner Arbeit an dieser Dissertation, sowie meinen Kindern Luisa und Konstantin, die mir Zeit und Geduld gaben und somit viel Kraft und Unterstützung.

Danke

Eidesstattliche Versicherung

Ich versichere an Eides statt, dass die Dissertation selbständig und ohne unzulässige fremde Hilfe erstellt und die hier vorgelegte Dissertation nicht von einer anderen Medizinischen Fakultät abgelehnt worden ist.

26.10.2016

Margit Wonsyld
