

Aus dem Robert-Bosch-Krankenhaus Stuttgart
Akademisches Lehrkrankenhaus der Universität Tübingen
Zentrum für Innere Medizin IV
Abteilung für Allgemeine Innere Medizin und Nephrologie
Chefarzt Professor Dr. U. Kuhlmann

**Immunhistochemische Untersuchungen über die
Pathogenese der verkapselnden Peritonealsklerose
(EPS) bei Peritonealdialyse-Patienten**

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin

der
Medizinischen Fakultät
der Eberhard-Karls-Universität
zu Tübingen

vorgelegt von
Fabian Raoul Reimold
aus Nördlingen

2008

Dekan: Professor Dr. Ingo Autenrieth
1. Berichterstatter: Professor Dr. Mark Dominik Alscher
2. Berichterstatter: Professor Dr. Teut Risler

Meinen Eltern und
meiner Schwester

Inhaltsverzeichnis

INHALTSVERZEICHNIS	5
1. EINLEITUNG	10
1.1 Bedeutung der chronisch-dialysepflichtigen Niereninsuffizienz	10
1.2 Technik und Geschichte der Peritonealdialyse	16
1.2.1 Geschichte der Peritonealdialyse	16
1.2.2 Technik der Peritonealdialyse	22
1.3 Verkapselnde Peritonealsklerose (“encapsulating peritoneal sclerosis”, EPS)	25
1.3.1 Einleitung	25
1.3.2 Epidemiologie und Geschichte	29
1.3.3 Pathogenese und Pathophysiologie der EPS	34
1.3.3.1 Die „two hit“-Theorie	37
1.4 Ziel der Studie	41

2. MATERIAL UND METHODEN	42
2.1 Patienten	42
2.2 Histologische Bearbeitung	45
2.3 Hämatoxylin-Eosin-Färbung (HE-Färbung)	46
2.3 Immunhistochemische Färbungen	47
2.3.1 Prinzip der EnVision-Technik	47
2.3.2 Durchführung der Färbung mit der EnVision-Technik	48
2.3.3 Anfärbung mit Antikörpern gegen NF- κ B	51
2.3.4 Anfärbung mit Antikörpern gegen FGF-BP	51
2.3.5 Anfärbung mit Antikörpern gegen TGF- β 1	52
2.3.6 Anfärbung mit Antikörpern gegen TGF- β 2	52
2.3.7 Anfärbung mit Antikörpern gegen TGF- β -R1	53
2.3.8 Anfärbung mit Antikörpern gegen TGF- β -R2	53
2.3.8 Anfärbung mit Antikörpern gegen CTGF	54
2.3.9 Anfärbung mit Antikörpern gegen VEGF	54
2.4 Semiquantitative Auswertung	55
2.4.1 Auswertung der Hämatoxylin-Eosin (HE)-Schnitte	56
2.4.2 Auswertung der immunhistochemischen Präparate	58
2.5 Statistische Aufarbeitung	60
2.5.1 Kappa-Statistik	60
2.6 Fotografie	61
2.7 Ethikvotum	61

3. ERGEBNISSE	62
3.1 Klinische Daten	62
3.1.1 Patientencharakteristika	62
3.1.1.1 Altersspektrum des Gesamtkollektivs	62
3.1.1.2 Weitere Charakteristika	64
3.1.2 Laborparameter	66
3.1.2.1 Anzahl der Leukozyten im Blut	67
3.1.2.2 Hämoglobin-Konzentration im Plasma	69
3.1.2.3 Calcium-Konzentration im Serum	71
3.1.2.4 Kreatinin-Konzentration im Serum	72
3.2 Semiquantitative Auswertung der histologischen und histo- pathologischen Daten	74
3.2.1 Auswertung der Anfärbungen mit Hämatoxylin-Eosin (HE)	75
3.2.2 Antikörper gegen "nuclear factor"- κ b (NF- κ b)	77
3.2.3 Antikörper gegen „fibroblast growth factor-binding protein“ (FGF-BP)	79
3.2.4 Antikörper gegen "transforming growth factor"- β 1 (TGF- β 1)	81
3.2.5 Antikörper gegen "transforming growth factor"- β 2 (TGF- β 2)	83
3.2.6 Antikörper gegen "transforming growth factor"- β 1 Rezeptor (TGF- β 1R)	84
3.2.7 Antikörper gegen "transforming growth factor"- β 2 Rezeptor (TGF- β 2R)	86
3.2.8 Antikörper gegen "connective tissue growth factor" (CTGF)	88
3.2.9 Antikörper gegen "vascular endothelial growth factor" (VEGF)	90
3.3 Kappa-Statistik zur Bestimmung der Validität	92

4. DISKUSSION	93
4.1 Verkapselnde Peritonealsklerose (EPS)	93
4.1.1 Klinik der verkapselnden Peritonealsklerose (EPS)	93
4.1.2 Diagnostik der verkapselnden Peritonealsklerose (EPS)	95
4.1.2.1 Klinische Diagnostik	95
4.1.2.2 Radiologische Diagnostik	97
4.1.2.3 Histologische Diagnostik	98
4.2 Peritonealfibrose	103
4.2.1 Mechanismen der Fibrosierung	103
4.2.3 Pathogenese der Peritonealsklerose	107
4.3 Verknöcherung der Peritonealmembran	113
4.4 Cytokine und Wachstumsfaktoren	114
4.4.1 „nuclear factor“ κ B (NF- κ B)	114
4.4.2 „transforming growth factor“- β (TGF- β)	119
4.4.3 „fibroblast growth factor-binding protein“ (FGF-BP)	122
4.4.4 „connective tissue growth factor“ (CTGF)	123
4.4.5 „vascular endothelial growth factor“ (VEGF)	125
4.5 Histologische Auswertung	128
4.6 Immunhistologische Ergebnisse	129
4.6.1 „nuclear factor“- κ b (NF- κ b)	129
4.6.2 „fibroblast growth factor-binding protein“ (FGF-BP)	129
4.6.3 „transforming growth factor“- β (TGF- β)	130
4.6.4 „connective tissue growth factor“ (CTGF)	132
4.6.5 „vascular endothelial growth factor“ (VEGF)	133
4.7 Diskussion der Laborergebnisse	134
4.7.1 Leukozyten im Blut	134
4.7.2 Hämoglobin-Konzentration im Plasma	134
4.7.3 Calcium-Konzentration im Serum (mmol/l)	134

4.7.4 Kreatinin-Konzentration im Serum (mg/dl)	135
4.8 Therapie der EPS	136
4.8.4 Ileusstadium	140
4.9 Fazit	143
4.10 „targeted therapy“ und therapeutischer Ausblick	145
5. LITERATURVERZEICHNIS	147
6. PUBLIKATION	158
7. DANKSAGUNG	159
8. LEBENSLAUF	160

1. Einleitung

1.1 Bedeutung der chronisch-dialysepflichtigen Niereninsuffizienz

Zur Veranschaulichung des Stellenwertes einer terminalen Niereninsuffizienz innerhalb des pathologischen Panoptikums möchte ich einige Zahlen voranstellen.

Am 31. Dezember 2005 befanden sich in Deutschland 87.151 Patienten in einem chronischen Nierenersatzverfahren. Das entspricht einer Prävalenz von 1.057 Patienten pro eine Million Einwohner. Die Prävalenz derer, die an einer Nierenerkrankung leiden und bei denen noch keine Dialysepflicht besteht, ist wesentlich höher (Frei and Schober-Halstenberg 2005). Daten aus den USA zeigen, dass in der Altersgruppe der über 75-jährigen bis zu 6 % aller Patienten an einer chronischen Niereninsuffizienz leiden. Die Prävalenzrate der Patienten, die ein Nierenersatzverfahren begannen, betrug im Jahr 2004 1.542 Patienten pro eine Million Einwohner (USRDS, 2006) .

Table 1. Stages of Chronic Kidney Disease

Stage	Description	GFR (mL/min/1.73 m ²)
1	Kidney damage with normal or ↑ GFR	≥90
2	Kidney damage with mild ↓ GFR	60-89
3	Moderate ↓ GFR	30-59
4	Severe ↓ GFR	15-29
5	Kidney failure	<15 (or dialysis)

Chronic kidney disease is defined as either kidney damage or GFR <60 mL/min/1.73 m² for ≥3 months. Kidney damage is defined as pathological abnormalities or markers of damage, including abnormalities in blood or urine tests or imaging studies.

Abb. 1 Stadien der chronischen Niereninsuffizienz GFR = glomeruläre Filtrationsrate (Mason und Wahab, 2003)

Eine Indikation zur Dialyse besteht in aller Regel erst im Stadium 5 bei der terminalen Niereninsuffizienz (Abb. 1). Dieses Stadium fünf der Stadien- Einteilung nach K/DOQI der NKF („national kidney foundation“) entspricht definitionsgemäß einer glomerulären Filtrationsrate (GFR) geringer als 15 ml/min/1,73 m² (Frei und Schober-Halstenberg, 2006).

An dem oben genannten Stichtag befanden sich 63.427 Patienten in Deutschland in Dialysebehandlung, was einer Prävalenz von 769 Patienten pro einer Million Einwohner entspricht. Davon wurden 60.411 Patienten mit Hämodialyse behandelt und 3.016 mit Peritonealdialyse. Das entspricht einem prozentualen Anteil von nur 4,8 %. Im Vergleich der deutschen Bundesländer hatte die Peritonealdialyse in Baden-Württemberg mit 6,3 % den prozentual größten Anteil (Frei und Schober-Halstenberg, 2006). Die Prävalenz stieg in den Jahren von 2000 bis 2004 um drei bis vier Prozent (Frei und Schober-Halstenberg, 2005).

Im Jahr 2005 wurden 16.766 Patienten neu in die Therapie mit chronischen Nierenersatzverfahren aufgenommen. Die Inzidenz im Jahr 2005 lag damit bei 203 Patienten pro einer Million Einwohner. Die Inzidenz der Hämodialyseverfahren stieg in den Jahren von 1995 bis 2004 um etwa 26 Prozent. Dabei begannen im Jahr 2005 15.578 Patienten mit Hämodialyse und 973 mit Peritonealdialyse (Frei und Schober-Halstenberg, 2006).

Die Anzahl der Patienten aller Dialyseformen nahm im Zeitraum von 1995 bis 2005 von 41.350 auf 63.427 zu. Nach einer stetigen Abnahme des relativen Anteils der Patienten mit Peritonealdialyse von 7,5 % im Jahr 1995 auf 4,6 % im Jahr 2004, stieg der Prozentsatz zum ersten Mal wieder im Jahr 2005 auf 4,8 % (Frei und Schober-Halstenberg, 2006).

Fasst man die Zahlen zusammen, ist damit zu rechnen, dass die Bedeutung der Nierenerkrankungen und aller Dialyseformen absolut gesehen in den kommenden Jahren weiter zunimmt. Nicht zuletzt trägt dazu auch die demographische Entwicklung bei, da insbesondere die diabetische Nephropathie und die Nephrosklerose heute schon für mehr als die Hälfte der dialysepflichtigen Nierenversagen verantwortlich sind und diese mit steigendem Lebensalter gehäuft auftreten. Das mediane Alter der prävalenten Patienten in Deutschland stieg von 59 Jahren im Jahr 1996 auf 66 Jahre im Jahr 2005 an (Frei und Schober-Halstenberg, 2006).

Im gleichen Zeitraum stieg das Alter der inzidenten Patienten von 63 Jahre auf 70 Jahre an (Frei und Schober-Halstenberg, 2006).

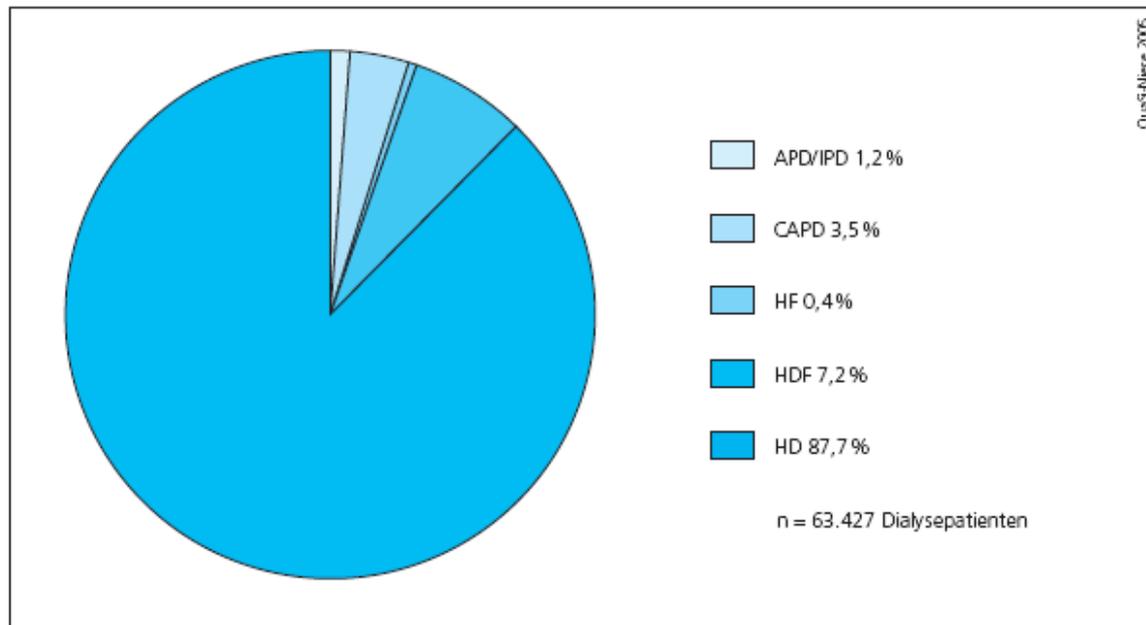


Abb. 2 Prozentualer Anteil der jeweiligen Dialyseverfahren. APD = apparative Peritonealdialyse, IPD = intermittierende Peritonealdialyse, CAPD = chronisch-ambulante Peritonealdialyse, HF = Hämofiltration, HDF = Hämodiafiltration, HD = Hämodialyse (Frei und Schober-Halstenberg, 2006)

In einem internationalen Vergleich aus dem Oktober 2006 ist die Prävalenz der Patienten aller Nierenersatzverfahren in Deutschland vergleichbar mit denen anderer Länder. Lediglich die USA mit 1.563 Patienten pro Million Einwohner und Japan mit 2.016 Patienten pro Million Einwohner fallen deutlich aus dem Rahmen hinsichtlich der Größe der Prävalenzzahlen (Frei und Schober-Halstenberg, 2006).

Deutliche Unterschiede gibt es bei der Verteilung der verschiedenen Dialyseverfahren. Für die Peritonealdialyse (PD) fanden sich in Deutschland, wie oben erwähnt, im Jahr 2005 gerade einmal 4,8 % aller Dialysepatienten, die entsprechend therapiert wurden, in Schweden 21 %, in Großbritannien 24 % und in Neuseeland 38,8 %. Prozentual weniger PD-Patienten gab es nur in Bosnien-Herzegowina mit 4,3 % und in Japan mit 3,7 % (Frei und Schober-Halstenberg, 2006).

Bei den Kindern bzw. Jugendlichen unter 15 Jahren wurden zum Stichtag 578 Patienten mit Nierenersatzverfahren behandelt. Davon wurden 53 Kinder in Hämodialyse und 109 Kinder mit Peritonealdialyse behandelt, 416 Patienten befanden sich in Transplantationsnachsorge. Das entspricht einem prozentualen Anteil der Peritonealdialyse an den Dialyseformen von 67 %. Bei den Jugendlichen von 15 bis 18 Jahren wurden 349 Patienten mit chronischen Nierenersatzverfahren behandelt, davon 48 mit Hämodialyse und 26 mit Peritonealdialyse. 275 befanden sich in Transplantationsnachsorge, was einem Anteil von 35 % entspricht. Insgesamt betrug die Prävalenz bei Kindern und Jugendlichen 927 Fälle. Neu dazu kamen insgesamt 133 Fälle (Frei und Schober-Halstenberg, 2006).

Als dritte Säule der Nierenersatztherapie muss an dieser Stelle die Nierentransplantation erwähnt werden. Aufgrund der Tatsache, dass die Komorbiditäten der anderen Nierenersatztherapien nicht im Vordergrund stehen und bei guter Transplantatfunktion der Patient auch nicht ständig an ärztliche Einrichtungen gebunden ist, bedeutet das verglichen mit anderen Formen des Nierenersatzes einen großen Vorteil an Morbidität, Mortalität und Lebensqualität. Bei der Anführung der Zahlen der Niereninsuffizienz wird auf die Angaben von Eurotransplant Leiden (ET) und der Deutschen Stiftung Organtransplantation (DSO) zurückgegriffen. Diese Einrichtungen registrieren das Transplantationsgeschehen auf Grund gesetzlicher Vorgaben (Frei und Schober-Halstenberg, 2006).

Im Jahr 2005 erhielten 2.712 Patienten ein Nierentransplantat. Davon waren 62 % Männer und 38 % Frauen. Durchschnittlich warteten die Patienten 40 Monate (Median 34 Monate) auf eine Organspende. Maximal warteten sie 15 Jahre. Im Jahr 2005 standen in Deutschland 8.853 Patienten auf der Warteliste für eine Nierentransplantation. Im Verlauf desselben Jahres wurden 2.730 Patienten zur Nierentransplantation angemeldet. Damit wurden mehr Patienten neu angemeldet als transplantiert (Frei und Schober-Halstenberg, 2006).

Seit dem Jahr 2000 erhöhte sich der Altersmedian der Transplantierten um drei Jahre auf 50 Jahre. 19,2 % (522) der Patienten erhielten das Transplantat von einem Lebend-Spender. Bei 82 erwachsenen Patienten, 6 Jugendlichen und 19 Kindern wurden präemptive Nierentransplantationen durchgeführt. Bei diesen Patienten waren keine Dialysebehandlungen vorangegangen (Frei und Schober-Halstenberg, 2006).

759 Patienten mussten im Jahr 2004 aufgrund eines Transplantatversagens in eine Dialysebehandlung zurückkehren. Im Bundesdurchschnitt wurden 3,6 % der Patienten mit Transplantat wieder in die Dialyse aufgenommen (Frei und Schober-Halstenberg, 2006).

Die Nierentransplantation als Ersatzverfahren steht häufig an erster Stelle der Überlegungen. Wie jedoch oben beschrieben sind weit weniger Transplantate vorhanden als gebraucht werden. Eine Wartezeit von bis zu 40 Monaten und die Möglichkeit des Transplantatversagens, im Jahr 2005 mussten 3,1 % der Transplantierten in Deutschland zu einer anderen Form der Nieren-Ersatztherapie zurückkehren, unterstreichen die Notwendigkeit anderer Formen des Nierenersatzes (Frei und Schober-Halstenberg, 2006).

Van Biesen et al. beschrieben in einer Studie ein integriertes Konzept, bei dem die Patienten zuerst mit der Peritonealdialyse begonnen hatten und später zur Hämodialyse wechselten, wenn Probleme mit der PD auftraten. Es hat sich gezeigt, dass durch die PD die Nierenrestfunktion in der Regel länger erhalten werden kann. Weiterhin ist die Überlebenswahrscheinlichkeit in den ersten zwei Jahren bei der PD höher. Nach vier bis fünf Jahren gleichen sich die Überlebensraten an (Van Biesen et al., 2000).

Es zeigte sich, dass die Peritonealdialyse eine wichtige Rolle in der Nierenersatztherapie spielt, da im Rahmen des integrierten Konzeptes finanzielle und logistische Probleme einfacher zu lösen sind als bei der Hämodialyse. Das ist vor allem insofern wichtig, als diese Probleme bei einer immer größer werdenden Anzahl von Patienten mit terminalem Nierenversagen in den Vordergrund rücken. Gleichzeitig erfahren die Patienten, wie oben beschrieben, keinen Nachteil im Hinblick auf Mortalität, Morbidität und „outcome“ in den ersten 4–5 Jahren der Peritonealdialyse (Van Biesen et al., 2000).

1.2 Technik und Geschichte der Peritonealdialyse

1.2.1 Geschichte der Peritonealdialyse

Bereits im 18. Jahrhundert wurde das Konzept der Peritonealdialyse von Forschern diskutiert. Im Jahr 1740 verwendete Christopher Warrick eine Lösung aus „Bristol-water“ und „claret wine“ als Dialyselösung bei einer Patientin mit Aszites. Instilliert wurde die Lösung mit einem Lederrohr. Der Wein wurde von ihm deshalb ausgesucht, weil man diesem einen antibiotischen Effekt zuschrieb. Nach nur drei Applikationen musste er die Therapie wegen massivem Missfallens der Patientin allerdings abbrechen (Groß, 2002 e).

Zu diesem Zeitpunkt interessierten sich die Wissenschaftler vor allem für die Fähigkeit des Peritoneums, Giftstoffe wie Harnstoff und Kreatinin zu eliminieren. Ein potentieller Wasserentzug war sekundär für die Problemstellungen (Groß, 2002 e).

Im Jahr 1877 machte G. Wegener aus Deutschland die ersten Versuche auf diesem Gebiet. In Tierversuchen verwendete er verschiedene Lösungen und beschrieb die Absorptionsrate des Peritoneums. E. H. Starling und A. H. Tubby beobachteten 1894 den Flüssigkeitsentzug. Diese Entdeckung wurde 1895 von W. N. Orlow bestätigt (Groß, 2002 e).

1918 zeigte Desider Engel, dass Proteine das Peritoneum durchwandern können. Diese Tatsache wurde experimentell von späteren Forschern bestätigt, die zeigen konnten, dass die Peritonealdialyse hinsichtlich der Eliminierung von Proteinen effektiver ist als die Hämodialyse. Ein Jahr später bemerkte M. Rosenberg, dass die peritoneale Flüssigkeit die gleiche Konzentration an Harnstoff enthielt, wie das Blut und dass mit Hilfe der Peritonealdialyse der Harnstoff entfernt werden konnte. Tracy Putnam von der Johns Hopkins University in Baltimore vermutete 1923, dass mit Hilfe des Peritoneums ein Ungleichgewicht der Elektrolyte ausgeglichen werden kann (Groß, 2002 e).

Zum ersten klinischen Einsatz kam die Peritonealdialyse im Jahr 1923, als Georg Ganter in Würzburg eine Patientin mit Peritonealdialyse behandelte. Er gab einen bis drei Liter Lösung über eine Dauer von 30 Minuten bis drei Stunden. Dies führte er solange durch, bis die Patientin wieder normale Nierenwerte erreicht hatte. Leider beendete Ganter daraufhin die Therapie und die Patientin starb später an der Urämie (Groß, 2002 d).

Ganter war vor allem daran gelegen, eine Dialyseform zu entwickeln, die ohne die Notwendigkeit der Antikoagulation auskam. Er stellte eine sterile Dialyselösung her, die Dextrose enthielt, um eine Entwässerung zu erreichen. Die Lösung wurde über eine Hohnadel in den Bauchraum instilliert. Die Entdeckungen Ganters waren ein großer Schritt in Richtung klinischer Einsatzfähigkeit der Peritonealdialyse. Einige seiner Beobachtungen gehören noch heute zu den Grundsätzen der Peritonealdialyse. So stellte er fest, dass die Dextrosemenge den Flüssigkeitsentzug bestimmt. Die Menge und die Verweildauer der Lösung im Peritoneum beeinflussen die „clearance“ der Giftstoffe (Groß, 2002 d).

Im weiteren Verlauf der Entwicklung galt es vor allem, einen besseren Zugang in den Bauchraum zu finden. Stephen Rosenak und P. Sewon entwickelten 1920 einen Metallkatheter für die kontinuierliche Peritonealdialyse. Zu dieser Zeit war jedoch die Peritonitisrate sehr hoch, was einige Forscher entmutigte (Groß, 2002 d).

1936 führte eine Forschergruppe des Wisconsin General Hospital die erste kontinuierliche PD-Behandlung bei einem Patienten mit Harnleiterstenose durch, bis diese korrigiert war. Damit bewiesen die Wissenschaftler, dass zumindest vorübergehend eine Nierenersatztherapie mit Peritonealdialyse möglich ist (Groß, 2002 d).

In den Jahren 1945 bis 1953 entwickelten Kop, ein früherer Kollege Kolffs und Seligman, und Fine und Frank vom Beth Israel Hospital in Boston ein Verfahren, bei dem das Dialysat mittels Schwerkraft instilliert wurde. Es wurden Latexschläuche, Porzellanbehälter und Glaskatheter verwendet, die sterilisierbar waren. Durch den Koreakrieg stimuliert, entwickelte die Bostoner Gruppe eine Anordnung, die unter „Schlachtfeldbedingungen“ eine Peritonealdialyse möglich machte. Als einer der wichtigsten Meilensteine auf dem Weg zur Etablierung der Peritonealdialyse gilt ein Fall aus dem Jahr 1945, bei dem die Gruppe Seligman ihr System bei einem Patienten verwendete, der nach einer Überdosis „Sulfadrogen“ an einem akuten Nierenversagen litt (Groß, 2002 d).

Arthur Grollmann von der Southwestern Medical School in Dallas entwickelte 1952 einen Katheter aus Polyethylen. Der Katheter war flexibel und hatte am Ende mehrere Löcher, um einen besseren Ein- und Ausfluss zu gewährleisten. Er sollte die spätere Etablierung der kontinuierlichen ambulanten Peritonealdialyse (CAPD) ermöglichen (Groß, 2002 a).

Morton Maxwell beauftragte 1959 eine Firma, eine sterile Dialyseflüssigkeit zu produzieren und führte ein System ein, bei dem deutlich weniger Konnektionen und Diskonnektionen nötig waren als bei den Systemen bisher. Damit verminderte er weiter das Auftreten von Infektionen. Er implementierte eine Methode, die als „Maxwell Technik“ bekannt wurde. Bei dieser Methode instillierte er zwei Liter Dialysat, ließ es 30 Minuten im Bauchraum verweilen und danach in die Originalgefäße zurücklaufen. Damit waren auch Krankenhäuser, die nicht auf Dialyse spezialisiert waren, in der Lage, die Peritonealdialyse durchzuführen (Groß, 2002 a).

Während des Koreakriegs im Jahr 1959 entwickelte Paul Doolan zusammen mit W. Murphy im Naval Hospital in San Francisco einen flexiblen Katheter aus Polyethylen für den Dauereinsatz. Er hatte gerillte Segmente, um das Verstopfen der Löcher zu vermeiden und um die „flow rate“ zu maximieren (Groß, 2002 a).

Im gleichen Jahr begann Richard Ruben an gleicher Stelle eine Therapie bei einer Patientin, die an Nierenversagen litt. Er implantierte einen „Doolan-Katheter“ und führte eine 24 Stunden Therapie durch. Bei der Patientin stellte sich eine massive Verbesserung des Gesundheitszustands ein und Ruben entließ sie mit implantiertem Katheter. Nach einer Woche verschlechterte sich der Zustand der Patientin wieder und Ruben führte eine weitere Dialysetherapie durch. Er hatte die erste intermittierende Peritonealdialyse begonnen. Er führte die Therapie weiter fort und dialysierte die Patientin immer am Wochenende. In einem Zeitraum von sieben Monaten musste der Katheter nur einmal gewechselt werden (Groß, 2002 a).

B. Scribner sah sich 1960 in Seattle einem Mangel an Hämodialyse-Ressourcen gegenüber und gelangte daher zu der Ansicht, dass man Peritonealdialyse als alternative Therapie zur Hämodialyse verwenden muss, nicht zuletzt im Hinblick auf die Möglichkeit Geld zu sparen. Er beauftragte Fred Boen, ein PD-Programm zu entwickeln, welches die ambulante Behandlung zu Hause ermöglichen sollte. Zusammen mit George Shilipetar entwickelte Boen ein automatisches Gerät, welches unbeaufsichtigt in der Nacht die Dialyse durchführen konnte. Allerdings benötigte das Gerät einen 40 Liter Tank für die Dialyseflüssigkeit, die den Patienten nach Hause geliefert wurde. Die leeren Behälter wurden wieder zurückgenommen (Groß, 2002 g).

Diese Gruppe entwickelte auch den Automaten „Solenoid“, ein Gerät, das den Einfluss und Ausfluss selbst regulieren konnte. Damit wurde die Peritonealdialyse einmal pro Woche durchgeführt (Groß, 2002 g).

Henry Tenckhoff trat die Nachfolge von Boen an der Washington University an und vereinfachte 1963 das Boen'sche System, indem er die großen Tanks ersetzte und bei den Patienten zu Hause eine Wasseraufbereitungsanlage installieren ließ. Das Dialysat wurde als Konzentrat zugesetzt. Später modifizierte er die von Russel Palmer entwickelten Siliconschläuche mit Dacron-Muffen und entwickelte einen Trocar, mit dem der Katheter leichter implantiert werden konnte. Zum Einsatz kamen an der Spitze aufgerollte „picktail“-Katheter. Es stand nun ein komplettes System zur Durchführung der chronisch intermittierenden Peritonealdialyse zur Verfügung (Groß, 2002 g).

Zuvor hatte Russel Palmer einen Peritonealdialysekatheter aus Silicon entwickelt, der permanent im Peritoneum verbleiben konnte. Inspiriert wurde er von der Entwicklung von Scribner und Quinton, die einen Langzeitgefäßzugang aus Silicon produziert hatten (Groß, 2002 g).

Norman Lasker vom Seton Hall College in New Jersey entwickelte den ersten „peritoneal cycler“. Dabei verband er die Techniken von Boen, Tenckhoff und Palmer. Er verwendete Zweiliterflaschen mit Dialyseflüssigkeit, die mit Hilfe der Schwerkraft instilliert wurde. Mit dem „cyclor“ wurden die Patienten in die Heimdialyse entlassen (Groß, 2002 g).

Dimitrios Oreopolus vom Toronto Western Hospital führte das erste Heimdialyseprogramm mit intermittierender Peritonealdialyse im größeren Rahmen durch. 1974 behandelte er eine Patientengruppe von 70 Patienten mit dem von Lasker entwickelten Cyclor. Er verwendete dafür den von Tenckhoff entwickelten Katheter (Groß, 2002 g).

Jack Moncrief und Robert Popovic von der University of Texas entwickelten die kontinuierliche ambulante Peritonealdialyse (CAPD). Sie schufen ein System, bei dem zwei Liter Dialyseflüssigkeit über vier Stunden im Peritoneum belassen wurden und die Prozedur fünf Mal in 24 Stunden durchgeführt wurde. Damit war es möglich, anders als bei der intermittierenden Form, den Flüssigkeitsentzug und die Blutreinigung gleichmäßiger zu gestalten. Ein Nachteil war zu dieser Zeit die weiterhin hohe Infektionsrate (Groß, 2002 g).

1979 wurde das erste CAPD-System von Baxter auf den Markt gebracht. Die Lösung war mit Traubenzucker in drei verschiedenen Konzentrationen verfügbar (Groß, 2002 g).

Zunächst wurde die CAPD aufgrund der befürchteten Komplikationen nicht bei Diabetes-Patienten angewandt. Carl Kjellstrand von der University of Minnesota schlug als erster vor Insulin während der CAPD zu instillieren. Weiter ging noch die Arbeit von C. T. Flynns aus dem Jahr 1979, der vorschlug, gerade Patienten mit Nierenversagen und Diabetes mit CAPD zu behandeln. Mit langer Verweildauer wäre es möglich, eine ausreichende Diffusion des Insulin zu erreichen und tatsächlich war es damit möglich, den Blutzucker während der Dialyse auf einem konstanten Niveau zu halten. Dies ist für eine erfolgreiche Therapie Voraussetzung. Zuvor war das Insulin nur bei Kurzdialysen von 30 Minuten zur Verwendung gekommen. Aufgrund seiner großen molekularen Struktur reichte diese Zeit nicht aus, um das Insulin vom Peritoneum aufnehmen zu lassen (Groß, 2002 g).

Weiterhin wurden Anstrengungen unternommen, um die Komplikationsrate zu verringern und Bauchfellentzündungen zu verhindern. So wurden beispielsweise die Dialysate während des Austauschverfahrens mit UV-Strahlung behandelt (Groß, 2002 g).

1.2.2 Technik der Peritonealdialyse

Die Peritonealdialyse kann in verschiedene Verfahren unterteilt werden. Am weitesten verbreitet ist sicher die kontinuierliche ambulante Peritonealdialyse (CAPD). Daneben gibt es die automatische Peritonealdialyse (APD), die intermittierende Peritonealdialyse (IPD), die kontinuierliche zyklische Peritonealdialyse (CCPD), die nächtliche intermittierende Peritonealdialyse (NIPD) und eine Kombination von CAPD und NIPD (Groß, 2002 h).

Im Gegensatz zur Hämodialyse finden bei der Peritonealdialyse die Austauschvorgänge zur Entwässerung und Entgiftung im Bauchraum statt. Als Dialysemembran dient hierbei das den Bauchraum auskleidende Peritoneum (Groß, 2002 h).

Das Peritoneum ist eine dünne Haut mit einer Oberfläche von ein bis zwei Quadratmeter, die den Bauchraum auskleidet und die Bauchorgane größtenteils überzieht. Es ist sehr gut durchblutet und hat somit gute Voraussetzungen für eine Austauschmembran. Über den fest eingenähten Katheter wird das Dialysat eingelassen. Das Peritoneum wird davon umspült und gibt die harnpflichtigen Substanzen und Flüssigkeit an das Dialysat ab. Später wird die mit Schlackenstoffen angereicherte Dialyseflüssigkeit wieder abgelassen (Groß, 2002 h).

Die Flüssigkeitsbilanz wird durch die Osmose reguliert. Überschüssige Flüssigkeit wird entzogen, da Traubenzucker mit einer Konzentration von 1,35 % bis 3,8 % (entsprechend 83 $\mu\text{mol/l}$ bis 236 $\mu\text{mol/l}$) einen entsprechenden osmotischen Druck aufbaut. Neben Traubenzucker werden auch andere osmotisch aktive Substanzen wie Aminosäuren und Icodextrin verwendet. Die Giftstoffe werden mittels Diffusion an das Dialysat abgegeben (Groß, 2002 h).

Bei der CAPD wird drei- bis fünfmal täglich über einen Katheter etwa zwei Liter sterile Dialyseflüssigkeit in den Bauchraum instilliert und später wieder abgelassen. Während einer Verweildauer von vier bis acht Stunden nimmt das Dialysat Giftstoffe und Flüssigkeit auf. Diese kontinuierliche Form der Peritonealdialyse kommt der ständigen, kontinuierlichen Entgiftungsfunktion der Niere nahe. Bei dieser Form der Dialyse sind die Patienten, sobald sie die Technik des Beutelwechsels und der Pflege des Systems erlernt haben, weitgehend unabhängig von einer Dialyseeinrichtung. Natürlich setzt dies voraus, dass die Patienten grundsätzlich funktionell und intellektuell in der Lage sein müssen, den Beutelwechsel vorzunehmen und dabei eine entsprechend sterile Arbeitsweise einzuhalten (Groß, 2002 b).

Abhängig von der Nierenrestfunktion, den anfallenden Giftstoffen, den Essgewohnheiten und der körperlichen Aktivität werden jeden Tag drei bis fünf Beutelwechsel vorgenommen. Dabei werden die Beutel vor jeder Anwendung auf Körpertemperatur erwärmt. Das Beutelvolumen beträgt meist zwei bis zweieinhalb Liter (Groß, 2002 b).

Der Katheter wird in einer etwa 30-minütigen Operation in den Bauchraum eingepflanzt. Er ist aus biegsamem Kunststoff und hat einen Durchmesser von ca. fünf Millimeter. Bei der Implantation kommt der Katheterausgang etwa auf Höhe des Nabels zu liegen. Der Katheter selbst läuft dann präperitoneal mehrere Zentimeter nach kaudal, bevor er in den Bauchraum mündet. Die Katheterspitze sollte in der tiefsten Stelle des Abdomens zu liegen kommen, damit das gesamte Dialysat wieder abfließen kann (Groß, 2002 b).

Die kontinuierliche zyklische Peritonealdialyse (CCPD) basiert auf der CAPD. Diese Behandlungsform wird vorwiegend von den Patienten während der Nacht durchgeführt. Dabei wird eine Peritonealdialysemaschine verwendet. Die Maschine führt automatisch mehrere Dialysatwechsel durch und belässt das letzte Dialysat den Tag über im Bauchraum, bis der Patient sich am Abend wieder an die Maschine anschließt (Groß, 2002 c).

Die meisten Patienten beginnen zuerst mit CAPD und entscheiden sich später für einen Wechsel zur CCPD bei nachlassender Effektivität, da diese durch maschinelle Verfahren in der Regel gesteigert werden kann (Groß, 2002 c).

Bei der intermittierenden Peritonealdialyse findet die Therapie dreimal wöchentlich in einem Dialysezentrum statt. Die Therapie dauert acht Stunden und wird mittels Dialyse-Maschine durchgeführt (Groß, 2002 f).

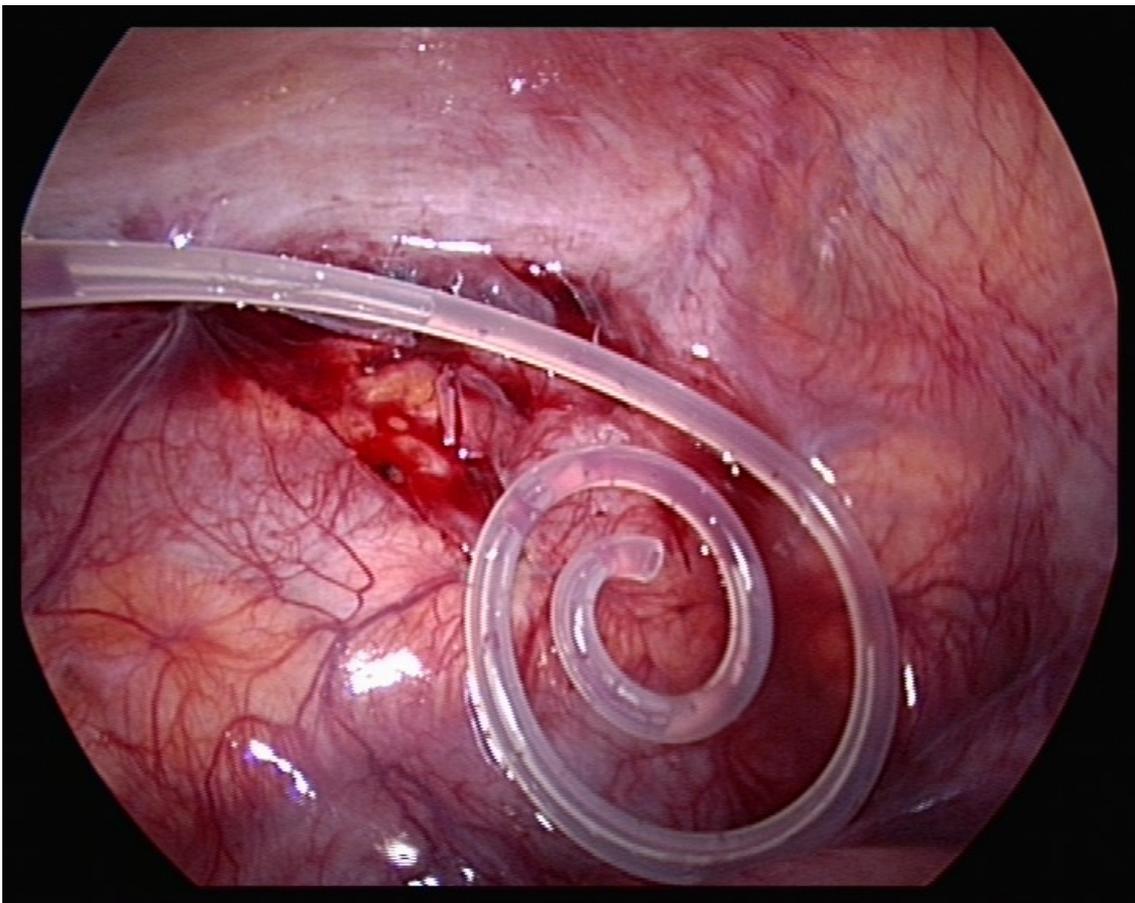


Abb.3 Laparoskopischer OP-Situs: PD-Katheter bei EPS

1.3 Verkapselnde Peritonealsklerose (“encapsulating peritoneal sclerosis”, EPS)

1.3.1 Einleitung

Das den Bauchraum auskleidende und mehrere abdominelle Organe umgebende Peritoneum ist ein sehr robustes Gewebe. Es enthält Ausstülpungen, die als Omentum majus und Appendices epiploicae im Rahmen der Infektabwehr wichtig sind. Bei abdominellen Entzündungen kann das Peritoneum deshalb entzündetes Gewebe und Organe so umgeben, dass die anderen Bauchorgane vor der drohenden Entzündung geschützt werden.

Weiterhin ist das Bauchfell sehr gut durchblutet und aufgrund seines histomorphologischen Aufbaus fähig, eine Ultrafiltration zu ermöglichen. Diese Fähigkeit macht man sich bei der Peritonealdialyse (CAPD) zunutze.

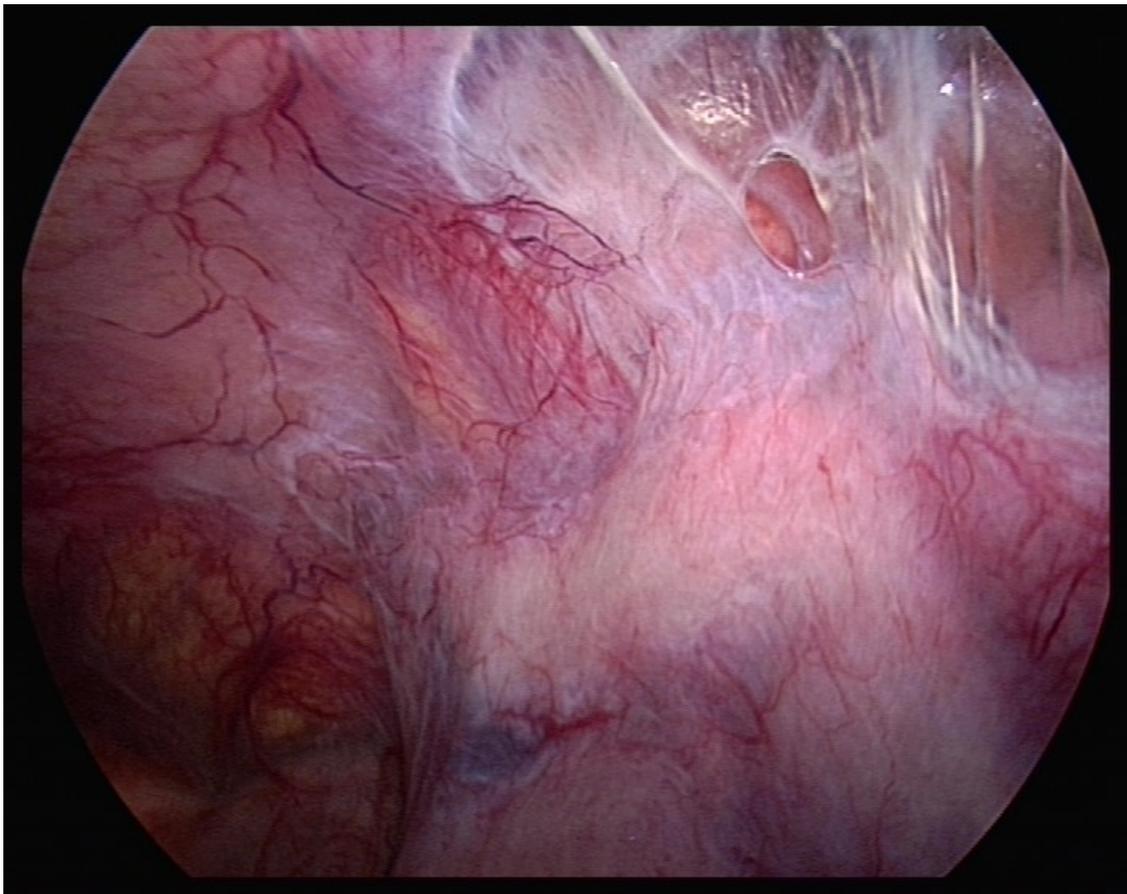


Abb.4 Laparoskopischer OP-Situs einer verkapselnden Peritonealsklerose

Eine Beeinträchtigung dieser Fähigkeit kann durch eine Peritonitis hervorgerufen werden. Wird die zelluläre Integrität und damit sukzessiv die Funktion des Peritoneums geschädigt, nimmt die Ultrafiltrationsfähigkeit ab und in vielen Fällen muss die Peritonealdialyse abgebrochen werden. Die Patienten müssen in diesem Fall auf ein anderes Nierenersatzverfahren wie die Hämodialyse ausweichen.

In vielen Fällen hängt die Peritonitis direkt mit den Umständen der Peritonealdialyse zusammen. Es liegt in der Natur der Sache, dass durch eine ständige Verbindung mit der Außenwelt Keime in das Abdomen gelangen können. Dies ist insbesondere der Fall, wenn die empfohlenen Hygienebedingungen nicht eingehalten werden. Bei der sogenannten CAPD-assoziierten Peritonitis wird eine lokale, aber auch systemisch wirksame antibiotische Therapie intraperitoneal durchgeführt und abhängig vom Keim entschieden, ob der Katheter explantiert und über einen gewissen Zeitraum hämodialysiert werden muss.

In seltenen Fällen jedoch tritt bei der Peritonealdialyse eine besondere Komplikation auf, die so genannte verkapselnde Peritonealsklerose oder „encapsulating peritoneal sclerosis“. Diese Erkrankung ist besonders für die Patienten, die eine Peritonealdialyse durchführen, eine schwerwiegende Beeinträchtigung und eine lebensbedrohliche Komplikation. Die Reaktionen des Peritoneums auf eine Noxe sind individuellen Schwankungen unterworfen. Es ist bekannt, dass durch die Peritonealdialyse das Peritoneum in seiner Funktion alteriert wird.

In einer langangelegten Studie über den Zeitraum von 1979 bis 2000 beobachteten Cancarini et al. 510 Patienten, die in dieser Zeit mit der Peritonealdialyse begonnen hatten. Im Mittel führten die Patienten die Peritonealdialyse über einen Zeitraum von 8,79 Jahren durch. Im beobachteten Zeitraum wechselten 130 Patienten das Dialyseverfahren (Cancarini et al., 2000).

Die Gründe hierfür waren sehr unterschiedlich. Jedoch führten bei 46 Patienten (35,4 %) Peritonitiden und deren Komplikationen zum Abbruch des Verfahrens. Weitere 11 Patienten (8,5 %) wechselten das Verfahren aufgrund von Hernien, peritoneal und pleuraler Komplikationen und abdominellen Beschwerden als Folge des erhöhten intraabdominellen Druckes. 10 Patienten (7,7 %) brachen wegen schlechter „clearance“ der harnpflichtigen Substanzen und 5 (3,8 %) wegen inadäquater Ultrafiltration ab (Cancarini et al., 2000).

In diesem Rahmen forderten die Autoren den verstärkten Einsatz von biokompatiblen Dialysaten, da damit erreicht werden könnte, dass das Peritoneum nicht in gleichem Maße seine Abwehrfähigkeit gegenüber pathogenen Organismen verliert wie beim Einsatz herkömmlicher Dialysate (Cancarini et al., 2000).

Daneben tritt die EPS auch bei anderen Krankheiten oder auch idiopathisch auf. Sie betrifft vor allem junge weibliche Patientinnen aus tropischen und subtropischen Regionen; in der Literatur findet man jedoch auch einzelne andere Fälle aus anderen Teilen der Welt. Sie wurde zum ersten Mal 1978 von Foo et al. beschrieben (Serafimidis et al., 2006).

Die Wahrscheinlichkeit eines Auftretens ist jedoch wesentlich höher, wenn man langjährig eine Peritonealdialyse durchführt (Oreopoulos et al., 2005).

Seit der Einführung der kontinuierlichen Peritonealdialyse 1975 hat es viele Entwicklungen und Erfindungen gegeben, wie zum Beispiel neue Konnektoren, die die Infektionsraten drastisch gesenkt haben. Icodextrin oder Aminosäurelösungen finden als Dialysat gerne Anwendung, da diese Substanzen experimentell inert sind, die Ultrafiltration verbessern, das Peritoneum weniger belasten sollen und die Glukosebelastung des Organismus senken (Oreopoulos et al., 2005).

Glucose als Grundsubstanz spielt über die Entstehung von Glucose-Degradations-Produkten (GDP) und „advanced glycation end products“ (AGE) bei der Entstehung der peritonealen Fibrose eine wichtige Rolle (Garosi, 2003). Es besteht eine positive Korrelation der Akkumulation von AGEs mit reduzierter Ultrafiltration und peritonealer Fibrose (Honda et al., 1999). Auf die einzelnen Mechanismen wird im Kapitel über Peritonealfibrose (4.2) eingegangen.

Die EPS wird heute als typische Komplikation einer Peritonealdialyse eingestuft (Oreopoulos et al., 2005). Am sichtbarsten ist die Signifikanz der EPS in Japan. Das liegt zum einen daran, dass dort Transplantate nur ganz selten verfügbar sind und nur 0,003 % der Patienten mit chronischem Nierenversagen ein funktionierendes Transplantat haben. Weiterhin scheint es in Japan eine höhere Prävalenz und Inzidenz der EPS zu geben. Diese Tatsache lässt sich damit erklären, dass in Japan viele Patienten länger mit Peritonealdialyse behandelt wurden als in anderen Ländern. So wurden 14 % der jetzigen Peritonealdialyse-Patienten schon mehr als zehn Jahre mit Peritonealdialyse behandelt (Oreopoulos et al., 2005).

1.3.2 Epidemiologie und Geschichte

Im Jahr 1980, als zum ersten Mal bei Patienten, die Peritonealdialyse durchgeführt hatten, eine EPS diagnostiziert wurde, galt diese Komplikation als fatal. Diese Auffassung hat die Akzeptanz und die weitere Verbreitung der PD insbesondere in Japan zunächst einmal gedämpft. (Kawanishi und Moriishi, 2005)

Jedoch helfen uns Einblicke in die zugrundeliegende Pathophysiologie und in die Möglichkeit der Prävention und Therapie mehrere Aspekte der Krankheit besser zu verstehen, und es konnte in jüngster Zeit eine Reduktion der hohen Mortalität dokumentiert werden (Kawanishi und Moriishi, 2005).

Nach den ersten Fällen aus dem Jahr 1980, die von Gandhi et al. (Gandhi et al., 1980) und Denis et al. beschrieben wurden, konnte in den Folgejahren eine Großzahl von Berichten mit zumeist kleinen Patientenzahlen veröffentlicht werden (Kawanishi und Moriishi, 2005).

Die erste große Studie, die 68 Fälle von EPS beschrieb, wurde 1987 von Slingeneyer et al. veröffentlicht. Darin ist ausgeführt, dass bei vielen Patienten Episoden von Peritonitiden vorausgegangen waren und schwere Symptome von Peritonitis bei 45 % der Fälle vorlagen. 66 % der Fälle von EPS traten erst nach der Absetzung der Peritonealdialyse auf. In 57,5 % der Fälle wurde Azetat als Dialysat verwendet, woraus man schloss, dass Azetat in der Entwicklung der EPS eine wichtige Rolle spielt (Slingeneyer, 1987).

Ein Jahr später berichteten Oules et al. von 55 Fällen von EPS aus dem Register der „European Dialysis and Transplant Association“. Bei der Studie wurden Fälle erfasst, bei denen durch Laparoskopien oder Obduktionen verlässlich gezeigt wurde, dass es im Darm zur typischen Verkapselung von Darmschlingen durch eine fibröse Membran („coccon“) gekommen war (Oules et al., 1988).

Die Inzidenz variierte dabei zwischen verschiedenen europäischen Ländern. Sie lag zwischen 2,1 und 3,1 Fällen (jeweils pro tausend Patienten) in Frankreich und Belgien, bei 1,5 Fällen in Großbritannien, der Schweiz und in Schweden und bei nur 0,3 Fällen in Spanien (Oules et al., 1988).

Dabei wurden mehrere potentielle Risikofaktoren für das Entstehen der EPS beschrieben. Unter ihnen waren vorausgegangene Episoden von Peritonitiden, die Verwendung von Desinfektionsmitteln, die Art des Dialysats (Azetat, Laktat), intraperitoneale Medikamentenapplikation und die Einnahme von β -Blockern. Die einzige statistisch signifikante Verknüpfung ($p < 0,01$) mit der EPS lag allerdings nur bei Chlorhexidin vor, das zum Desinfizieren von Katheterverbindungen verwendet wird (Oules et al., 1988).

Nachdem die EPS in den Mittelpunkt des Interesses gerückt war, wurden großangelegte retrospektive Studien von Rigby und Hawley aus Australien und von Nimito et al. aus Japan publiziert. Eine Folgestudie wurde von Kawanishi und Kawaguchi angefertigt (Kawanishi und Moriishi, 2005).

Die Untersuchung von Hawley und Rigby umfasste alle Patienten ($n = 7374$) aus Australien und Neuseeland, die von 1980 bis 1994 Peritonealdialyse durchgeführt hatten. Dabei wurden 54 Fälle von EPS gefunden, was einer Inzidenz von 0,7 % (7 pro 1000 Patienten) entsprach. Die mittlere PD-Dauer betrug 52 ± 30 Monate (Intervall 8–127 Monate). Die Inzidenz der EPS korrelierte mit Dauer der Peritonealdialyse. So betrug die Inzidenz nach zwei Jahren PD-Dauer 1,9 %, nach fünf Jahren 6,4 %, nach sechs Jahren 10,8 % und nach acht Jahren 19,4 %. Bei 85 % ($n = 46$) der Patienten wurde die klinische Diagnose durch eine Operation ($n = 44$) oder Computertomographie ($n = 2$) bestätigt (Rigby und Hawley, 1998).

Bei 40 % der Patienten wurde anamnestisch über eine vorangegangene Peritonitis berichtet. Die Autoren schlossen, dass bei einer PD-Dauer von mehr als fünf Jahren das EPS-Risiko stark ansteigt und demnach diese Patienten besonders sorgfältig untersucht werden sollten. Bei dieser Studie wurde nicht gezeigt, wie viele Patienten erst nach dem Absetzen der Peritonealdialyse eine EPS entwickelten (Rigby und Hawley, 1998).

Nomoto et al. veröffentlichten ihre Studie im Jahr 1996. Dabei fanden sie 124 Fälle von EPS in einer Population von 7343 PD-Patienten. Das entsprach einer Inzidenz von 1,7 %. Die mittlere PD-Dauer betrug 82,9 Monate und bei 54 % der Patienten entwickelte sich die Krankheit erst nach Absetzen der Peritonealdialyse. Dabei vergingen im Mittel 4,5 Monate zwischen Absetzen der PD und dem Auftreten der EPS. Die Mortalität betrug nach dem Auftreten der EPS im ersten Jahr 31,5 %, im zweiten Jahr 41,7 % und im dritten Jahr 62 % (Nomoto et al., 1996).

Die Studie von Nomoto et al. hatte die Bestimmung der Inzidenz der EPS bei PD-Patienten zum Ziel. Diese enthielt aber keine genaue Information über die therapeutischen Methoden, die bei den Patienten angewendet worden waren. Deshalb wiederholten Kawanishi und Kawaguchi im Jahr 2000 diese Studie. Sie fanden 106 Fälle von EPS in einer Gruppe von 3760 Patienten, was einer Inzidenz von 2,8 % entsprach. Die mittlere PD-Dauer betrug 86,7 Monate (Intervall 4–198 Monate). Bei Patienten, die länger als fünf Jahre Peritonealdialyse durchgeführt hatten, betrug die Inzidenz 8,0 %. Bei 85 % der Patienten begann die EPS erst nach dem Absetzen der Peritonealdialyse. Die Mortalität war nach dem ersten Jahr der Erkrankung 36 % und nach dem zweiten 42 %. Alle Patienten erhielten totale parenterale Ernährung (TPN). Die Remissionsrate betrug bei TPN alleine 30,1 %, bei zusätzlicher Therapie mit Corticosteroiden 36,3 % und bei zusätzlicher chirurgischer Therapie 35,4 %. Daher wurde es als nützlich angesehen, die Patienten zu operieren und sie mit Corticosteroiden zu behandeln (Kawanishi und Moriishi, 2005).

Nakamoto et al. führten eine weitere retrospektive Studie durch, die Ergebnisse der Studien von Nomoto und Kawanishi einschloss. Er fand in einer Population von 11.549 PD-Patienten 256 Patienten, die eine EPS entwickelt hatten. Damit betrug die Inzidenz 2,2 %. Daneben beschrieben sie eine sehr hohe Einjahres-Mortalität von 39,1 % nach Ausbruch der EPS. Sie betonten die Notwendigkeit der psychologischen Betreuung der EPS-Patienten (Nakamoto et al., 2002).

Da alle vorhergegangenen Studien retrospektiv angelegt waren, begannen Kawanishi und Kollegen im Jahr 1999 eine prospektive Studie zur Ermittlung der Inzidenz der EPS und zur Beziehung zwischen Absetzen der Peritonealdialyse und Auftreten der EPS. Über einen Zeitraum von vier Jahren wurden 1958 PD-Patienten in 57 Zentren beobachtet. EPS trat bei 48 Patienten auf, was einer Inzidenz von 2,5 % entspricht. Dabei waren die Patienten im Mittel 114,3 Monate (Intervall 36–201,4 Monate) mit Peritonealdialyse behandelt worden. In 68,8 % der Fälle trat die EPS nach dem Absetzen der Peritonealdialyse auf. Wie in anderen Studien stieg die Inzidenz mit vorangegangener PD-Dauer. Die Inzidenz und Mortalität sowie die Remissionsraten in Abhängigkeit von der PD-Dauer sind in der Abbildung 5 aufgelistet (Kawanishi et al., 2004).

Drei therapeutische Ansätze wurden bei der EPS verfolgt. Neben der alleinigen totalen parenteralen Ernährung wurden Patienten auch mit Corticosteroiden behandelt oder operiert. Keiner der Patienten, die nur TPN erhielten, kam in Remission. Dagegen erholten sich 38,5 % der Patienten, die zusätzlich noch Corticosteroide erhalten hatten, und 58,3 % der Patienten, die zusätzlich noch operiert wurden. Insgesamt kamen 45,8 % der Patienten in Remission und 37,5 % starben. Bei 16,7 % der Patienten blieb der Zustand im Zeitraum der Untersuchung unverändert. Die Gruppe schloss daraus, dass das Risiko, EPS zu bekommen, stark erhöht ist, wenn man länger als acht Jahre Peritonealdialyse durchführt und die heutigen, auf Glukose basierenden, Dialysate verwendet (Kawanishi et al., 2004).

PD-Dauer [Jahre]	Patienten [n]	Inzidenz [n (%)]	Mortalität [n (%)]	Remission [n (%)]
<3	337	0	0	0
3-<5	554	4 (0,7)	0 (0)	4 (100)
5-<8	576	12 (2,1)	1 (8,3)	10 (83,3)
8-<10	239	14 (5,9)	4 (28,6)	6 (42,9)
10-<15	223	13 (5,8)	8 (61,5)	2 (15,3)
≥15	29	5 (17,2)	5 (100)	0 (0)
Gesamt	1958	48 (2,5)	18 (37,5)	22 (45,8)

Abb. 5 Inzidenz und „outcome“ von Patienten mit EPS in Abhängigkeit von der Peritonealdialysedauer (Kawanishi und Moriishi, 2005)

Zusammenfassend lassen sich drei zentrale Punkte im heutigen Verständnis der EPS formulieren:

1. Diese Erkrankung kommt gehäuft bei Patienten vor, die über lange Zeit Peritonealdialyse durchführen.
2. Rezidivierende Peritonitiden sind Risikofaktoren für das Auftreten.
3. In zahlreichen Fällen tritt die EPS erst nach Beendigung der Peritonealdialyse auf (Kawanishi und Moriishi, 2005).

1.3.3 Pathogenese und Pathophysiologie der EPS

Einige Autoren nehmen an, dass die schlechte Biokompatibilität der Dialysate der Hauptgrund für die zunehmende Peritonealsklerose ist, die in histologischen Schnitten von PD-Patienten regelmäßig zu finden ist. Viele Studien beschreiben die Auswirkungen der Peritonealdialyse auf Mesothelzellen, Makrophagen, neutrophile Granulozyten, Lymphozyten und Fibroblasten (Garosi, 2003).

Bei der EPS handelt es sich klinisch um ein eigenständiges Krankheitsbild, das aber häufig auf dem Boden einer Peritonealsklerose gefunden wird. Es sind lediglich Risikofaktoren bekannt, wie zum Beispiel eine lange Peritonealdialysedauer, die mit der Entstehungswahrscheinlichkeit korreliert sind. Aber auch das ist nicht notwendigerweise immer der Fall, da auch Fälle bekannt sind, bei denen die EPS schon kurz nach Initiation der PD-Therapie aufgetreten ist (Garosi, 2003).

Die schlechte Biokompatibilität der Dialysate könnte ein das Krankheitsbild bahnender wichtiger Risikobegleitfaktor sein. Früher wurde der Ausbruch der EPS mit Acetat-Puffer-Lösungen, Chlorhexidin, Povidon-Iod, Bakterienfiltern, Plastikpartikeln und Weichmachern in Verbindung gebracht. Die einzige signifikante Assoziation allerdings wurde mit den Acetat-Lösungen beschrieben (Garosi, 2003). Daraufhin wurden die Dialysate durch Lösungen auf Lactat-Basis ersetzt und die EPS-Inzidenz fiel schnell (Oreopoulos et al., 2005).

In anderen Fällen, in denen die EPS nicht auf die Peritonealdialyse zurückzuführen ist, wurde der β -Blocker Practolol mit hunderten von Fällen von EPS in Nicht-Dialyse-Patienten in Verbindung gebracht (Garosi, 2003).

Andere β -Blocker, wie Atenolol, Metoprolol, Propranolol, Oxprenolol und Timolol wurden mit eingeschlossen. In Tiermodellen hemmten die β -Blocker die Freisetzung von Surfactant aus Pneumozyten Typ II. Damit könnten im ganzen Körper seröse Häute geschädigt werden. Tatsächlich wurden in 25 % der Fälle von EPS, die mit Practolol in Verbindung gebracht worden waren, Fibrosierungen der Pleura, Perikarditiden und Gelenkergüsse beschrieben (Garosi, 2003).

Im Hinblick auf die EPS bei PD-Patienten liegt allerdings keine signifikante Verbindung vor (Oreopoulos et al., 2005).

Eine infektiöse Peritonitis ist der häufigst genannte Risikofaktor für EPS. Das wird auch durch signifikante epidemiologische Daten gestützt. Jedoch ist eine bakterielle Peritonitis nicht eine „sine qua non“, um die EPS zu entwickeln. Weiterhin erhöhen einige Erreger das Risiko deutlich. Staphylococcus aureus, Pilze, Pseudomonas spp. und Hämophilus influenzae sind hervorzuheben, da sie fähig sind, eine große Menge Fibrin zu produzieren (Garosi, 2003).

Aus morphologischer Sicht gibt es zwei entscheidende, verursachende Faktoren. Der eine ist die Fibrinablagerung. Die Fibrinablagerung und -organisation folgt der Exsudation des Fibrins aus den peritonealen Gefäßen. Da die kleinen Gefäße bei Langzeit-PD-Patienten oft sklerosiert sind, ist die Exsudation auch ein chronischer Prozess. Daneben fördert auch die chronische Entzündung die Plasmaexsudation (Honda und Oda, 2005).

Mehrere Autoren haben die verstärkte Aktivität der Nitritoxidsynthase (NOS) und die Bildung von „advanced glycation end products“ (AGE) in den Peritonea von Langzeit-PD-Patienten beschrieben. Beide Faktoren können die Bildung von VEGF einleiten. In experimentellen Peritonealdialyse-Ratten konnte durch die Gabe von VEGF die Neoangiogenese induziert und eine vermehrte Exsudation des Peritoneums bewirkt werden (Nakayama, 2005).

Eine Vasculopathie, die bei Langzeitpatienten der Peritonealdialyse auftritt, geht mit spezifischen Schwellungen besonders im Bereich der Wand von Venulen einher. Qualitative und quantitative Veränderungen des Gefäßsystems könnten Änderungen der Mikro-zirkulation des Peritoneums bewirken. Diese führen zu einem erhöhten hydrostatischen Druck in den übrigen Gefäßen. Als Folge steigt der Stofftransport und die Wasserfiltration über die Membran (Nakayama, 2005).

Während der PD-Therapie wird anfänglich Fibrin durch das Dialysat abgewaschen. Wird die Peritonealdialyse jedoch abgesetzt, beschleunigt sich der Prozess, da die Exsudation weiter stattfindet. Aus diesem Grund sollte, folgt man einigen Autoren, bei Verdacht auf EPS oder auf eine Entzündung im Peritoneum eine Peritoneallavage durchgeführt werden, bis die Entzündungszeichen verschwinden (Honda und Oda, 2005).

Zusätzlich gilt nach Initiierung durch Fibrinablagerungen bei vermindertem Abbau die Aktivierung und Vermehrung der Fibroblasten in dieser Fibrinmatrix als wichtig. Die Verklebung des Peritoneums bewirkt die schwere Darmimmobilität, die dann zum Ileus führen kann. Solch eine Fibrosierung des Peritoneums kommt in Entzündungssituationen des Peritoneums häufig vor. Die Aktivierung und Vermehrung der Fibroblasten und die daraus resultierende Fibrosierung sind hoch signifikant in der Entwicklung der EPS (Honda und Oda, 2005).

Es scheint also nützlich, Veränderungen in der Aktivierung und Vermehrung der Fibroblasten zu beurteilen, um die EPS zu diagnostizieren. Viele entzündungsfördernde Faktoren wie Cytokine und Wachstumsfaktoren spielen eine wichtige Rolle in der Proliferation und Aktivierung der Fibroblasten (Honda und Oda, 2005).

1.3.3.1 Die „two hit“-Theorie

Diese Theorie geht davon aus, dass für das Auftreten der EPS zwei Faktoren benötigt werden:

1. Ein prädisponierender Faktor, wie die Schädigung des Peritoneums durch die langjährige Peritonealdialyse.
2. Ein auslösender Faktor, wie ein durch „Plasmaleak“ verursachter vermehrter Austritt von Fibrin und unzureichender Abbau desselben durch fehlende Mastzellen (Alscher et al., 2007).

Die Schädigung des Peritoneums, wie teilweise schon angeführt, präsentiert sich als morphologische und funktionelle Veränderung als Folge von verschiedenen Verletzungen des Peritoneums. Dazu gehören bioinkompatible Dialyselösungen, wiederkehrende Peritonitiden und urämische Zustände (Honda und Oda, 2005).

Die morphologischen Veränderungen umfassen die Ablösung der Mesothelzellen, interstitielle Fibrose, Gefäßsklerose und Neoangiogenese. Bei den funktionellen Veränderungen fallen der erhöhte Stofftransport und eine verringerte Ultrafiltration auf. Dieser Zustand wird als Peritonealsklerose bezeichnet und wird regelmäßig in den Peritonea der EPS-Patienten gefunden. Die Schädigung des Peritoneums führt zu einer erhöhten Neigung zur Plasmaexsudation von Fibrin und Koagulationsfaktoren wie Fibrinogen. Durch diese Stoffe werden die Verkapselung und die Verklebung der Darmschlingen vorangetrieben (Honda und Oda, 2005).

Normalerweise wird Fibrin durch die Tryptase der Mastzellen abgebaut. Allerdings fanden Alscher et al., dass die Anzahl der Mastzellen bei Patienten mit EPS verringert war. In anderen chronisch-inflammatorischen Erkrankungen des Peritoneums sowie bei Langzeitpatienten der PD war die Anzahl der Mastzellen deutlich erhöht (Alscher et al., 2007).

Sie fanden weiterhin eine negative und hochsignifikante Korrelation zwischen der Anzahl der Mastzellen und der Fibrose und eine signifikante, positive Korrelation zwischen der Anzahl der Mastzellen und der Vasculopathie. Bleibt die fibrinolytische Aktivität der Mastzelltryptase durch die verminderte Anzahl der Mastzellen aus, wird die Fibrinablagerung erleichtert und die Fibrose verstärkt (Alscher et al., 2007).

Mastzellen enthalten angiogenetische Faktoren wie VEGF und auch die Mastzell-Tryptase, die zu einem früheren Zeitpunkt der Pathogenese der EPS zu einer vermehrten Bildung von Gefäßen führen kann. Diese Gefäße sind jedoch deutlich vulnerabler und permeabler als andere Gefäße und erleichtern durch den sogenannten Plasmaleak den Austritt von Fibrin in das Peritoneum (Alscher et al., 2007).

In dem zweiten „Schlag“ werden durch einen Plasmaleak aus den brüchigen, neugebildeten Gefäßen Plasmaproteine freigesetzt, unter denen sich auch Fibrin befindet. Durch den oben beschrieben verminderten Mastzellbestand bei EPS-Patienten ist der Abbau von Fibrin verringert und die Coccon-Bildung schreitet voran (Alscher et al., 2007).

Weiterhin können auch inflammatorische Stimuli zur Schädigung des Peritoneum beitragen. Die Entzündungsfaktoren fördern auch die Vermehrung der Fibroblasten und damit die Peritonealsklerose und die intestinalen Verklebungen (Honda und Oda, 2005).

Basierend auf mehreren pathologischen und klinischen Beobachtungen kann das mögliche Verhältnis zwischen dem Grad des ersten und zweiten „Schlages“ beschrieben werden. Der Grad der peritonealen Schädigung (der erste „Schlag“) nimmt mit Dauer der Peritonealdialyse zu. Der Ausbruch der EPS hängt vom absoluten Ausmaß der Schädigung des Peritoneums und der aufgelagerten Entzündung ab (Honda und Oda, 2005).

Dabei muss das absolute Ausmaß größer als die Schwelle zum Ausbruch der EPS sein. Mit Zunahme der PD-Dauer nimmt die Schwelle der benötigten Entzündung ab. Demnach reicht bei Patienten, die lange Zeit mit PD therapiert worden sind, ein geringer entzündlicher Stimulus aus, um eine EPS zu entwickeln. Bei Patienten, die erst seit kurzer Zeit Peritonealdialyse machen, muss der Stimulus dagegen umso stärker sein, da deren Peritoneum weniger vorgeschädigt ist (Honda und Oda, 2005).

EPS wurde bei Patienten ohne PD oft in Verbindung mit Tumoren beschrieben. Darunter sind das Magenkarzinom, das Ovarialkarzinom, das Pankreaskarzinom, das Nierenzellkarzinom, das histiozytäre Lymphom und die adenomatöse Polypose des Kolons. Ahlméns Gruppe betrachtete diese Fälle als Paraneoplasien (Garosi, 2003).

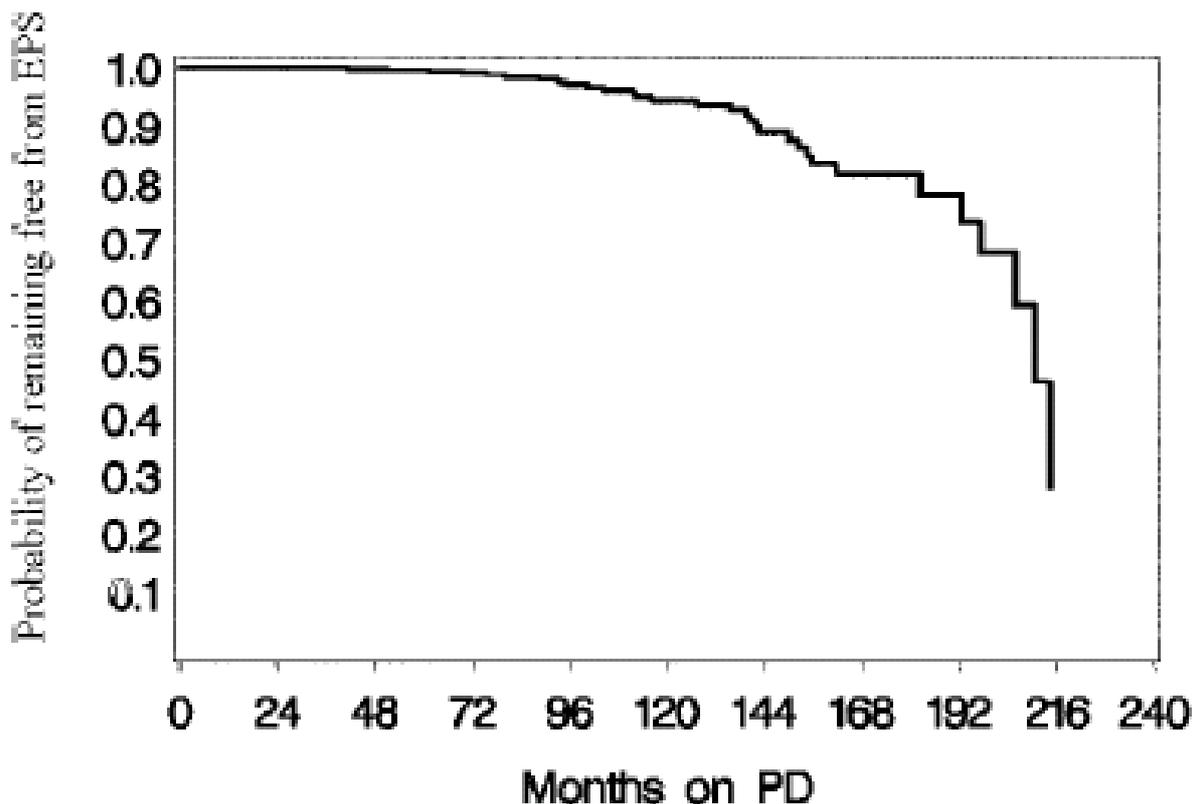


Abb. 6 Wahrscheinlichkeit, nicht an der EPS zu erkranken in Abhängigkeit von der Dauer der Peritonealdialyse. PD = Peritonealdialyse (Kawaguchi et al., 2005)

In Fällen von EPS bei Patienten, die keine Peritonealdialyse durchführen und bei denen keine anderen bekannten Auslöser zu erheben sind, sind zwei weitere Gesichtspunkte zu berücksichtigen. Zum einen sind in solchen Fällen oft andere seröse Häute im Körper betroffen, was eine autoimmune Genese möglich erscheinen lässt. Und zweitens könnte es eine genetische Prädisposition geben: die EPS findet sich gehäuft bei Frauen in den Subtropen und es gibt familiäre Formen, wie die familiäre multifokale Fibrosklerose (Garosi, 2003).

1.4 Ziel der Studie

Die EPS ist eine schwerwiegende Komplikation der Peritonealdialyse und obwohl selten damit aber als typische Komplikation von großer Relevanz für das gesamte Verfahren. Die Ätiologie und Pathogenese dieser Erkrankung ist noch nicht ausreichend präzise bekannt. Es sind Einzelfaktoren in der Diskussion, eine systematische Evaluierung von Fibrosefaktoren ist aber bisher nicht durchgeführt worden.

Bei dieser Arbeit soll überprüft werden, ob jene Faktoren die Entstehung einer Fibrose verursachen oder zumindest begünstigen können und bei der EPS erhöht nachweisbar sind.

2. Material und Methoden

2.1 Patienten

Es wurden Gewebeproben von Peritonea von 50 Patienten verwendet, die im Rahmen von Operationen gewonnen wurden. Davor wurde von den Patienten eine Einverständniserklärung eingeholt. Neben der Verumgruppe wurden vier weitere Patientengruppen in die Studie einbezogen.

In die Verumgruppe der Patienten mit EPS wurden neun Patienten eingeschlossen, die klinisch und pathologisch die Diagnosekriterien einer EPS erfüllten. Die Peritonea der Patienten mit EPS konnten alle den „high transporter“ zugeordnet werden. Für diese Gruppe wurden auch Histologien von Patienten aus Lahr und Freiburg verwendet. Dabei wurden folgende klinische und histologische Diagnosekriterien angewandt:

Klinische Diagnosekriterien	
<u>Zeichen des Ileus</u> <ul style="list-style-type: none">• Appetitlosigkeit• Nausea und Vomitus• Völlegefühl• Abdominalschmerzen• Abwesenheit von Darmgeräuschen• Verstopfung• Diarrhö• Anorexie• Gewichtsverlust	<u>Zeichen der Entzündung</u> <ul style="list-style-type: none">• Fieber• Aszites• Schwäche• Gewichtsverlust
	<u>Zeichen der peritonealen Verklebungen</u> <ul style="list-style-type: none">• blutiges Dialysat• Aszites• abdominelle Beschwerden• abdominelle Raumforderung

Abb. 7 Klinische Diagnosekriterien der EPS (Honda et al., 2003)

Histologische Diagnosekriterien für die EPS

- Fibrinablagerung
- Abtragung der Mesothelzellen
- Interstitielle Fibrose
- Schwellung der Fibroblasten
- Perivaskuläre Blutungen
- Kapillarangiogenese
- Mikrovaskuläre Sklerosierung
- Interstitielle Monozyten-Infiltration
- Anwesenheit immunhistochemischer Marker für Fibroblastenaktivierung und Fibroblastenvermehrung im Peritoneum

Abb. 8 Histologische Diagnosekriterien der EPS (Honda et al., 2003)

In eine weitere Gruppe wurden elf Paraffinschnitte einbezogen, die histologisch dem Bild einer Fibrosierung des Peritoneums entsprachen, klinisch und laborchemisch aber nierengesund waren. Acht Patienten wurden einer Herniotomie bei bestehender Hernia inguinalis unterzogen, zwei wurden zum Zweck der Adhäsiolyse operiert und einem wurde ein Dysgerminom entfernt. Alle Patienten hatten eine normale Nierenfunktion und untergingen keinem Nierenersatzverfahren.

Die dritte Patientengruppe umfasste zehn Paraffinschnitte von Patienten, bei denen histologisch eine chronische Appendizitis diagnostiziert wurde. Die chronische Appendizitis wurde wie folgt definiert: Narben in der Submucosa und geringe bis mittlere lymphoplasmazelluläre Infiltration in die Tunica Propria oder Subserosa.

Die vierte Gruppe schloss die Paraffinschnitte von zehn Patienten ein, die CAPD („continuous ambulatory peritoneal dialysis“) als Nierenersatzverfahren verwenden und bei denen klinisch und histologisch keine verkapselnde Peritonealsklerose diagnostiziert worden war. Die Proben wurden mindestens 10 cm vom PD-Katheter entfernt entnommen.

Bei der letzten Patientengruppe handelte es sich um zehn Proben von vier männlichen und sechs weiblichen Patienten, die histologisch dem Normalbefund eines gesunden Peritoneums entsprachen. Die Proben wurden im Rahmen von Hernioplastiken bei direkten und indirekten Herniae inguinales gewonnen. Diese Gruppe wurde während der Studie als Kontrollgruppe bezeichnet.

Die Patienten der Gruppen EPS und CAPD verwendeten mit der Ausnahme eines Patienten der Peritonealdialyse-Gruppe Dialyselösungen mit saurem pH (5,2). Bei dem einzelnen Patienten wurden neutrale Lösungen (pH 7,0–7,7) eingesetzt.

2.2 Histologische Bearbeitung

Von den meisten Patienten waren mehrere Paraffinblöcke im Archiv der Pathologie des Robert-Bosch-Krankenhauses vorhanden. Von den Patienten aus Lahr und Freiburg wurden uns die Paraffinblöcke freundlicherweise überlassen. Es wurden Blöcke ausgewählt, die makroskopisch einen großen Anteil Peritoneum enthielten.

Die Präparate wurden mit einer Dicke von 3 µm mit einem Leica RM2055 Mikrotom (Fa. Leica, Deutschland) geschnitten und auf einen ChemMate Objektträger (Fa. DAKO BioTek Solutions, USA) aufgebracht. Die Paraffinschnitte wurden dann über Nacht bei 56° Celsius getrocknet und auf dem Objektträger fixiert.

Daran schloss sich die Entparaffinierung an, um histologische und immunhistochemische Färbungen möglich zu machen. Die einzelnen Schritte der Entparaffinierung werden in den Abschnitten der einzelnen Färbungen näher beschrieben.

2.3 Hämatoxylin-Eosin-Färbung (HE-Färbung)

Für die Entparaffinierung verwendet man Microclear (Fa. Vogel, Deutschland) und lässt die Schnitte darin 15 Minuten stehen. Daran schließen sich Bäder in Alkohollösungen mit absteigender Alkoholkonzentration an. In 100-prozentigem Alkohol wird das Microclear herausgewaschen. In einer absteigenden Alkoholreihe (96 %, dann 70 %) und schließlich in Aqua dest. werden die Schnitte gespült, um sie den wässrigen Farbstoffen zugänglich zu machen.

Als erste Färbung werden die Schnitte dann mit filtriertem Hämalaun (Fa. Merck, Deutschland) fünf Minuten inkubiert. Damit wird eine dunkelblaue Färbung der Zellkerne erreicht. Anschließend wird fünf Minuten lang ausgiebig unter fließendem Leitungswasser gespült, um die Säurereste des Farbstoffs herauszuwaschen.

Als Gegenfärbung werden nun die Schnitte in Eosin (Fa. Surgipath Medical Industries, USA) eine Minute lang inkubiert. Damit werden Zellplasma, Muskulatur und Bindegewebe rosa gefärbt. Hinterher werden die Schnitte kurz mit Aqua dest. gespült. Mit 70-prozentigem Alkohol wird überschüssige Farbe entfernt, diesen Vorgang nennt man Differenzieren. Dazu beginnt hier die Entwässerung der Schnitte, die in der aufsteigenden Alkoholreihe (96 %, dann 100 %) fortgesetzt wird. Die Schnitte werden für eine Minute in Microclear-Lösung eingelegt und anschließend mit einem Papiertuch vorsichtig abgetupft und leicht feucht bis trocken eingedeckt.

Schließlich wird ein dünner Streifen Gurr DePeX Mounting Medium (Fa. BDH, USA) auf den Schnitt aufgetragen und darauf ein passendes Deckglas gelegt. Eventuell entstandene Luftblasen werden vorsichtig mit einer Pinzette herausgeschoben, so dass das Gewebe komplett durch das Kunstharz konserviert wird. So geschützt sind die Präparate ohne Qualitätsverlust jahrelang haltbar.

2.3 Immunhistochemische Färbungen

Die immunhistochemischen Färbungen wurden entweder von Hand oder mit der Maschine TechMate 500 Plus (Fa. DAKO, Deutschland) durchgeführt. Die Färbungen liefen in EnVision-Technik, einem Zwei-Schritt-Detektionssystem ab. Hierfür wurde der EnVision Detection Kit (Fa. DAKO BioTek Solutions, USA) verwendet. Das Prinzip wird im folgenden Abschnitt besprochen.

2.3.1 Prinzip der EnVision-Technik

Bei der EnVision-Technik wurden zwei verschiedene Antikörper verwendet. Dabei bindet der Primärantikörper am Schnitt am entsprechenden Antigen. An den Primärantikörper bindet der Sekundärantikörper, der auf einem Dextran-Polymer mit dem Enzym HRP (Meerrettichperoxidase) gekoppelt ist. Das Enzym HRP setzt das Substrat DAB (Diaminobenzidin) in ein braunes, unlösliches Präzipitat um. Durch diese Braunfärbung kann das Vorhandensein des Primärantikörpers und damit des entsprechenden Antigens indirekt nachgewiesen werden. Im EnVision Detection Kit (Fa. DAKO BioTek Solutions, USA) sind der HRP-markierte Sekundärantikörper sowie die DAB-Lösung enthalten.

Die Zellkerne werden kurz mit Hämalaun gegengefärbt. Der Sekundärantikörper, der von Ziegen stammt, kann mit Primärantikörpern von Maus und Kaninchen verwendet werden. Neben den zu untersuchenden Proben werden immer Positiv- und Negativkontrollen mitgeführt. Damit kann festgestellt werden, ob die Färbung funktioniert hat oder nicht. Die Kontrollen werden bei den einzelnen Färbungen besprochen.

2.3.2 Durchführung der Färbung mit der EnVision-Technik

Nachdem die Paraffinschnitte eine Nacht bei 56° Celsius im Brutschrank waren, werden sie der Entparaffinierung zugeführt. Als erster Schritt werden die Schnitte für 30 Minuten in Microclear (Fa. Vogel, Deutschland) inkubiert.

An die Entparaffinierung mit Microclear schließt sich die Behandlung mit der absteigenden Alkoholreihe an. Mit Alkohollösungen mit 100-prozentiger, 96-prozentiger und 70-prozentiger Alkoholkonzentration wird das Microclear ausgewaschen. Die Schnitte verbleiben je für fünf Minuten in den Lösungen. Danach werden sie in TBST („tris buffered saline tween“ 80) Waschpuffer überführt.

Nach dem Spülen wird die für den Primärantikörper zur Antigen-Demaskierung benötigte Vorbehandlung vorbereitet. Für jeden Antikörper wurde in Vorversuchen sowohl die richtige Vorbehandlung als auch die optimale Antikörper-Verdünnung ermittelt, die zur optimalen Darstellung notwendig ist.

Bei einigen Antikörpern kam als Vorbehandlung der Dampfgerar, ein Haushaltsgerät der Fa. Kenwood, Japan, zur Verwendung. In den Dampfgerar muss bis zu einer entsprechenden Markierung Aqua dest. eingefüllt werden.

Der Dampfgerar-Puffer pH 6 (Fa. DAKO BioTek Solutions, USA), in dem die Schnitte inkubiert werden, wird als 10-fach-Konzentrat geliefert und muss 1:10 mit Aqua dest. verdünnt werden, um die Gebrauchslösung zu erhalten. Diese Lösung soll 20 Minuten vorgewärmt werden.

Im Dampfgerar werden die Paraffinschnitte 30 Minuten lang gekocht und dann 20 Minuten zum Abkühlen in der heißen Lösung stehen gelassen.

Alle Objektträger werden anschließend in TBST Waschpuffer zwei mal fünf Minuten gespült. TBST wird hergestellt, indem man TBS mit 0,1-prozentigem Detergenz Tween 80 (Fa. Merck, Deutschland) versetzt. Die 10-fache TBS erhält man durch Lösung von 160 g NaCl (Fa. Merck, Deutschland), 4 g KCl (Fa. Merck, Deutschland) und 60 g Tris (Fa. Roth, Deutschland) in destilliertem Wasser (Aqua dest.), das bis zu einem Volumen von 2 l aufgefüllt wird. Der pH-Wert wird mit konzentrierter HCl auf 7,4 eingestellt.

Alle folgenden Inkubationsschritte finden in einer feuchten Kammer statt. Als feuchte Kammer bezeichnet man ein verschließbares Behältnis, das mit Zellstofftüchern ausgelegt wird, die mit Wasser befeuchtet werden. In diese Kammer stellt man die Objektträger-Bänkchen, auf denen die Objektträger horizontal liegen. Zum Schutz vor Austrocknung werden die Objektträger mit Deckgläsern abgedeckt, die nach den Inkubationsschritten wieder entfernt werden.

100 µl Peroxidase Blocking Solution (Fa. DAKO BioTek Solutions, USA) werden auf jeden Schnitt aufgetragen und fünf Minuten lang damit inkubiert. Damit wird die endogene Peroxidase im Gewebe blockiert, ansonsten könnte hier DAB reagieren, das von der Meerrettichperoxidase am Sekundärantikörper umgesetzt werden soll. Danach werden die Schnitte mit Aqua dest. gespült und schließlich für fünf Minuten in TBST gewaschen.

Der Primärantikörper wird in TBST angesetzt und 100 µl davon auf den Objektträger gebracht und mit einem Deckglas vor Austrocknung geschützt. Die Objektträger werden bei Raumtemperatur eine Nacht in einer feuchten Kammer inkubiert.

Am darauffolgenden Tag werden alle Schnitte in destilliertem Wasser gespült, nachdem die Deckgläser entfernt wurden. Anschließend werden die Schnitte noch einmal für zwei mal fünf Minuten mit TSBT gespült. Damit sollen alle ungebundenen Antikörper abgewaschen werden.

Daraufhin wird jeder Schnitt mit zwei Tropfen aus der Tropfflasche des Sekundärantikörpers 30 Minuten lang inkubiert. Wie bereits oben beschrieben, sind die Sekundärantikörper auf Dextran mit Peroxidase gekoppelt. Danach werden alle Schnitte wieder in destilliertem Wasser gespült und noch einmal für zweimal fünf Minuten mit TSBT gespült.

Dann werden auf jeden Objektträger 100 µl DAB (Diaminobenzidin) aufgetragen, Deckgläser aufgelegt und die Proben für 10 Minuten in einer feuchten Kammer inkubiert. Die DAB-Lösung darf erst kurz vor Gebrauch angefertigt werden. DAB wird in organischer Lösung geliefert. Zu 50 µl dieser Lösung gibt man 1 ml Substratpuffer, damit ist die DAB-Lösung zum Auftragen bereit.

Anschließend wird wieder fünf Minuten lang unter fließendem Leitungswasser gespült. Nun kann das Hämalaun zur Gegenfärbung der Kerne filtriert werden. Dies soll einmal täglich geschehen. Daraufhin färbt man mit Hämalaun für 15 Sekunden bis einer Minute, woraufhin wieder fünf Minuten lang unter fließendem Leitungswasser gespült wird.

Die aufsteigende Alkoholreihe schließt die Schritte mit wässrigen Lösungen ab. Mit einer aufsteigenden Konzentration von 70 %, 96 % und 100 % werden die Schnitte gut entwässert, so dass sie anschließend wieder mit Microclear behandelt werden können. Nachdem die Objektträger mit Tüchern getrocknet wurden, wird ein dünner Streifen Gurr DePeX Mounting Medium (Fa. BDH, USA) auf den Schnitt aufgetragen und darauf ein passendes Deckglas gelegt.

2.3.3 Anfärbung mit Antikörpern gegen NF-κB

Bei der ersten immunhistochemischen Färbung wurde als Primärantikörper Kaninchen-IgG gegen „nuclear factor“-κB (NF-κB, Fa. Santa Cruz Biotechnologies, USA) verwendet. Dieser Antikörper kommt als 1:200 verdünnte Lösung zum Einsatz. Die Färbung wurde mit dem Färbeautomat TechMate (Fa. DAKO BioTek Solutions, USA) durchgeführt. Als Vorbehandlung kam der Dampfgerar mit dem oben beschriebenen Verfahren zur Anwendung. Als Gegenfärbung wurde eine Minute mit Hämalaun inkubiert. Als Positivkontrollen wurden Niere und Magenschleimhaut verwendet. Bei den Auslass- oder Negativkontrollen wurden einmal der Primärantikörper, einmal der EnVision-Komplex und einmal die DAB-Lösung weggelassen. Hier kamen Schnitte mit akuter Appendizitis zur Verwendung.

2.3.4 Anfärbung mit Antikörpern gegen FGF-BP

Bei der zweiten immunhistochemischen Färbung wurde ein Primärantikörper vom Kaninchen gegen „fibroblast growth factor-binding protein“ verwendet (FGF-BP, wurde uns von Dr. Achim Eigner vom Institut für Pharmakologie und Toxikologie der Universität Marburg überlassen). Dieser Antikörper wurde 1:50 verdünnt. Die Färbung wurde mit TechMate (Fa. DAKO BioTek Solutions, USA) durchgeführt. Bei dieser Färbung war keine Vorbehandlung vorausgegangen. Als Gegenfärbung wurde eine Minute mit Hämalaun inkubiert. Als Positivkontrollen wurden Schnitte mit Prostatakarzinom verwendet. Bei den Auslass- oder Negativkontrollen wurden einmal der Primärantikörper, einmal der EnVision-Komplex und einmal die DAB-Lösung weggelassen. Hier kamen Schnitte mit akuter Appendizitis zur Verwendung.

2.3.5 Anfärbung mit Antikörpern gegen TGF-β1

Bei der nächsten Färbung wurde als Primärantikörper Maus-IgG1 kappa, Clone T321 gegen „transforming growth factor“-β 1 (TGF-β1, Fa. Serotec, USA) verwendet. Dieser Antikörper wurde 1:1500 mit TBST verdünnt. Die Färbung wurde von Hand durchgeführt. Bei dieser Färbung wurde keine Vorbehandlung gemacht. Die Zellkerne wurden 15 Sekunden in Hämalaun gegengefärbt. Als Positivkontrolle wurde ein Schnitt mit Nierengewebe verwendet. Als Auslass- oder Negativkontrolle wurde der Primärantikörper weggelassen. Hier kam ein Schnitt mit akuter Appendizitis zur Verwendung.

2.3.6 Anfärbung mit Antikörpern gegen TGF-β2

Bei der vierten immunhistochemischen Färbung wurde als Primärantikörper Maus-IgG2B, Clone 8607 gegen „transforming growth factor“-β 2 (TGF-β2, Fa. R&D Systems, USA) verwendet. Dieser Antikörper wurde 1:25 mit TBST verdünnt. Die Färbung wurde von Hand durchgeführt. Bei dieser Färbung war keine Vorbehandlung vorausgegangen. Die Zellkerne wurden 15 Sekunden in Hämalaun gegengefärbt. Als Positivkontrolle wurde ein Schnitt mit Nierengewebe verwendet. Bei den Auslass- oder Negativkontrollen wurden einmal der Primärantikörper, einmal der EnVision-Komplex und einmal die DAB-Lösung weggelassen. Hier kamen Schnitte mit akuter Appendizitis zur Verwendung.

2.3.7 Anfärbung mit Antikörpern gegen TGF- β -R1

Bei dieser Färbung wurde als Primärantikörper Kaninchen-IgG gegen „transforming growth factor“- β -Rezeptor 1 (TGF- β -R1, Fa. Santa Cruz Biotechnology, USA) verwendet. Dieser Antikörper wurde 1:40 mit TBST verdünnt. Die Färbung wurde von Hand durchgeführt. Bei dieser Färbung war keine Vorbehandlung vorausgegangen. Die Zellkerne wurden 15 Sekunden in Hämalaun gegengefärbt. Als Positivkontrolle wurde ein Schnitt mit Nierengewebe verwendet. Bei den Auslass- oder Negativkontrollen wurden einmal der Primärantikörper, einmal der EnVision-Komplex und einmal die DAB-Lösung weggelassen. Hier kamen Schnitte mit akuter Appendizitis zur Verwendung.

2.3.8 Anfärbung mit Antikörpern gegen TGF- β -R2

Bei dieser Färbung wurde als Primärantikörper Kaninchen-IgG gegen „transforming growth factor“- β -Rezeptor 2 (TGF- β -R2, Fa. Santa Cruz Biotechnology, USA) verwendet. Dieser Antikörper wurde 1:50 mit TBST verdünnt. Die Färbung wurde von Hand durchgeführt. Bei dieser Färbung war keine Vorbehandlung vorausgegangen. Die Zellkerne wurden 15 Sekunden in Hämalaun gegengefärbt. Als Positivkontrolle wurde ein Schnitt mit Nierengewebe verwendet. Bei den Auslass- oder Negativkontrollen wurden einmal der Primärantikörper, einmal der EnVision-Komplex und einmal die DAB-Lösung weggelassen. Hier kamen Schnitte mit akuter Appendizitis zur Verwendung.

2.3.8 Anfärbung mit Antikörpern gegen CTGF

Bei dieser immunhistochemischen Färbung wurde als Primärantikörper Kaninchen-IgG gegen „connective tissue growth factor“ (CTGF, Fa. Abcam, USA) verwendet. Dieser Antikörper wurde 1:200 mit TBST verdünnt. Die Färbung wurde von Hand durchgeführt. Bei dieser Färbung wurde keine Vorbehandlung durchgeführt. Die Zellkerne wurden 15 Sekunden in Hämalaun gegengefärbt. Als Positivkontrollen wurden Schnitte mit Haut und Peritoneum verwendet. Bei den Auslass- oder Negativkontrollen wurden einmal der Primärantikörper, einmal der EnVision-Komplex und einmal die DAB-Lösung weggelassen. Hier kamen Schnitte mit Hautgewebe zur Verwendung.

2.3.9 Anfärbung mit Antikörpern gegen VEGF

Bei dieser Färbung wurde als Primärantikörper Kaninchen-IgG gegen den „vascular endothelial growth factor“ (VEGF, Fa. Santa Cruz Biotechnology, USA) angewandt. Dabei wurde eine Verdünnung von 1:50 mit einem Verdünnungsmedium (DAKO, S 2022) angewandt. Eine Gegenfärbung wurde mit Hämatoxylin durchgeführt. Als Positivkontrollen wurde Schnitte von Nierengewebe verwendet. Bei den Auslass- oder Negativkontrollen wurden einmal der Primärantikörper, einmal der EnVision-Komplex weggelassen. Hier kamen ebenfalls Nierenschnitte zur Verwendung.

2.4 Semiquantitative Auswertung

Die Auswertung wurde mit den Mikroskopen Leica Orthoplan (Fa. Leica, Deutschland) und Leica DM2000 (Fa. Leica, Deutschland) durchgeführt.

Bei der semiquantitativen Auswertung der gefärbten Schnitte wurde die Auswertung von dem Doktoranden durchgeführt. Anschließend wurde stichprobenartig die Auswertung von einem erfahrenen Pathologen durchgeführt – in den meisten Fällen Dr. Peter Fritz, Chefarzt der Pathologie des Robert-Bosch-Krankenhauses. Um die Übereinstimmung zwischen dem Auswertenden und dem Kontrollierenden zu objektivieren, wurde anhand der stichprobenartig ausgewerteten Proben eine Kappa-Statistik angefertigt.

Die mikroskopische Untersuchung wurde verblindet durchgeführt. Das heißt, dass von der Rekrutierung der Patienten, respektive ihrer Paraffinblöcke, diese Patienten mit einer vom Institut für Pathologie des Robert-Bosch-Krankenhauses festgelegten Journalnummer kodiert waren. Erst in der statistischen Auswertung wurden die Ergebnisse der Blöcke zu ihren jeweiligen Gruppen sortiert.

2.4.1 Auswertung der Hämatoxylin-Eosin (HE)-Schnitte

Die Auswertung der HE-Schnitte beruht auf vier verschiedenen Merkmalen:

1. Ausmaß der Proliferation der Mesothelzellen; dieses Merkmal wurde in vier verschiedene Grade eingeteilt:
 - a. Grad 0 entspricht einer Mesothelzellschicht von ein bis zwei Schichten.
 - b. Grad 1 entspricht einer Mesothelzellschicht von drei bis vier Schichten.
 - c. Grad 2 entspricht einer Mesothelzellschicht von fünf bis sechs Schichten.
 - d. Grad 3 entspricht einer Mesothelzellschicht von sieben bis acht Schichten.

2. Anzahl der polymorphkernigen Leukozyten, als Hinweis auf den Grad der akuten Entzündung; dieses Merkmal wurde in vier Grade eingeteilt:
 - a. Grad 0 entspricht keinen auffindbaren Leukozyten.
 - b. Grad 1 entspricht wenig Leukozyten.
 - c. Grad 2 entspricht mäßig vielen Leukozyten.
 - d. Grad 3 entspricht vielen Leukozyten.

3. Anzahl der Lymphozyten und Plasmazellen als Hinweis auf die chronische Entzündung; dieses Merkmal wurde in vier Grade eingeteilt:
 - a. Grad 0 entspricht keinen auffindbaren Lymphozyten und Plasmazellen.
 - b. Grad 1 entspricht wenig Lymphozyten und Plasmazellen.
 - c. Grad 2 entspricht mäßig vielen Lymphozyten und Plasmazellen.
 - d. Grad 3 entspricht vielen Lymphozyten und Plasmazellen.

4. Ausmaß der Verbreitung von Kollagenfasern als Zeichen der Fibrosierung des Gewebes; dieses Merkmal wurde in vier Grade eingeteilt:

- a. Grad 0 entspricht keinen auffindbaren Kollagenfasern.
- b. Grad 1 entspricht wenig Kollagenfasern.
- c. Grad 2 entspricht mäßig vielen Kollagenfasern.
- d. Grad 3 entspricht vielen Kollagenfasern.

Nach dem Auswerten wurden die Ergebnisse der Blöcke den entsprechenden Gruppen zugeordnet. Anschließend wurden die oben genannten Grade für jeden Block addiert und dann für jede Gruppe der Mittelwert ausgerechnet. Diese Werte wurden dann der statistischen Prüfung zugeführt.

2.4.2 Auswertung der immunhistochemischen Präparate

Die Auswertung der immunhistochemischen Präparate beruht auf der durch das DAB verursachten Braunfärbung an den Stellen, an denen der Primärantikörper gebunden hat. Die Anfärbung wurde an fünf verschiedenen Merkmalen festgemacht:

1. Ausmaß der Anfärbung des Plasmas und der Zellkerne der Mesothelzellen; dieses Merkmal wurde in vier verschiedene Grade eingeteilt:
 - a. Grad 0 entspricht keiner Anfärbung.
 - b. Grad 1 entspricht einer schwachen Anfärbung.
 - c. Grad 2 entspricht einer mäßigen Anfärbung.
 - d. Grad 3 entspricht einer starken Anfärbung.

2. Ausmaß der Anfärbung der polymorphkernigen Leukozyten; dieses Merkmal wurde in vier Grade eingeteilt:
 - a. Grad 0 entspricht keiner Anfärbung.
 - b. Grad 1 entspricht einer schwachen Anfärbung.
 - c. Grad 2 entspricht einer mäßigen Anfärbung.
 - d. Grad 3 entspricht einer starken Anfärbung.

3. Ausmaß der Anfärbung der Lymphozyten und Plasmazellen; dieses Merkmal wurde in vier Grade eingeteilt:
 - a. Grad 0 entspricht keiner Anfärbung.
 - b. Grad 1 entspricht einer schwachen Anfärbung.
 - c. Grad 2 entspricht einer mäßigen Anfärbung.
 - d. Grad 3 entspricht einer starken Anfärbung.

4. Ausmaß der Anfärbung der Kollagenfasern; dieses Merkmal wurde in vier Grade eingeteilt:
 - a. Grad 0 entspricht keiner Anfärbung.
 - b. Grad 1 entspricht einer schwachen Anfärbung.
 - c. Grad 2 entspricht einer mäßigen Anfärbung.
 - d. Grad 3 entspricht einer starken Anfärbung.

5. Ausmaß der Anfärbung der Blutgefäße; dieses Merkmal wurde in vier Grade eingeteilt:
 - a. Grad 0 entspricht keiner Anfärbung.
 - b. Grad 1 entspricht einer schwachen Anfärbung.
 - c. Grad 2 entspricht einer mäßigen Anfärbung.
 - d. Grad 3 entspricht einer starken Anfärbung.

Ähnlich der Auswertung der HE-Schnitte wurden die ausgewerteten Schnitte gruppiert. Dann wurde der Immunreaktive Score (IRS) berechnet. Dafür wurde wieder für jeden Schnitt die oben genannten Grade für die einzelnen Merkmale addiert. Dann wurde anhand der Einzelergebnisse ein Mittelwert der Gruppen bestimmt. Dieser wurde wiederum der statistischen Untersuchung zugeführt.

2.5 Statistische Aufarbeitung

Bei der Aufarbeitung der Ergebnisse wurden zuerst die Mittelwerte der einzelnen Patientengruppen berechnet. Als erster statistischer Test wurde als „one-way“ ANOVA der Kruskal-Wallis-Test durchgeführt. Dieser Test überprüft, ob es bei den berechneten Durchschnitten der Mittelwerte der Patientengruppen signifikante Unterschiede gibt.

Ist dies der Fall, so schließt sich als Post-Test der „Dunn's multiple comparison test“ mit einem 95 % Konfidenzintervall an. Dabei werden zuerst die Gruppen untereinander auf signifikante Unterschiede untersucht. In einem zweiten Durchlauf sucht der Test nach signifikanten Unterschieden beim Vergleich der Patientengruppen mit der Gruppe der Patienten mit histologisch normalen Peritonea, die auch als Kontrollgruppe bezeichnet wird.

2.5.1 Kappa-Statistik

Anhand der Kappa-Statistik soll die Übereinstimmung zweier Auswertender objektiviert werden. In diesem Fall ging es um die Validierung der durch den Doktoranden erhobenen Auswertungsergebnisse durch stichprobenartigen Vergleich mit Auswertungen durch erfahrene Kliniker oder Pathologen.

Praktisch werden bei der Kappa-Statistik die bei der Auswertung erhaltenen vier verschiedenen Grade in nur zwei verschiedene Grade umgewandelt. So entsprechen die Grade null und eins dem neuen Grad null. Die Grade zwei und drei entsprechen dem neuen Grad eins. Anhand dieser neuen Grade wird mittels Übereinstimmung der Grade zwischen den Auswertenden der Kappa-Wert berechnet. Ein Kappa-Wert von eins ist der beste erreichbare Wert. Im Ergebnisteil ist eine Tabelle aufgeführt, die die Wertigkeit der Kappa-Werte einschätzt.

2.6 Fotografie

Fotographien der Präparate wurden mit der CCD Kamera des Leica DM2000 Mikroskops (Fa. Leica, Deutschland) aufgenommen und dann an den angeschlossenen Computer gesendet.

2.7 Ethikvotum

Bei der stationären Aufnahme haben alle Patienten ihr Einverständnis gegeben, dass im Rahmen von Operationen gewonnenes Gewebe zur nicht kommerziellen Forschung verwendet werden kann. Dabei wurden die Proben anonymisiert.

Das Vorgehen ist konform mit den Richtlinien der nationalen Ethikkommission der Bundesärztekammer der Bundesrepublik Deutschland.

3. Ergebnisse

3.1 Klinische Daten

3.1.1 Patientencharakteristika

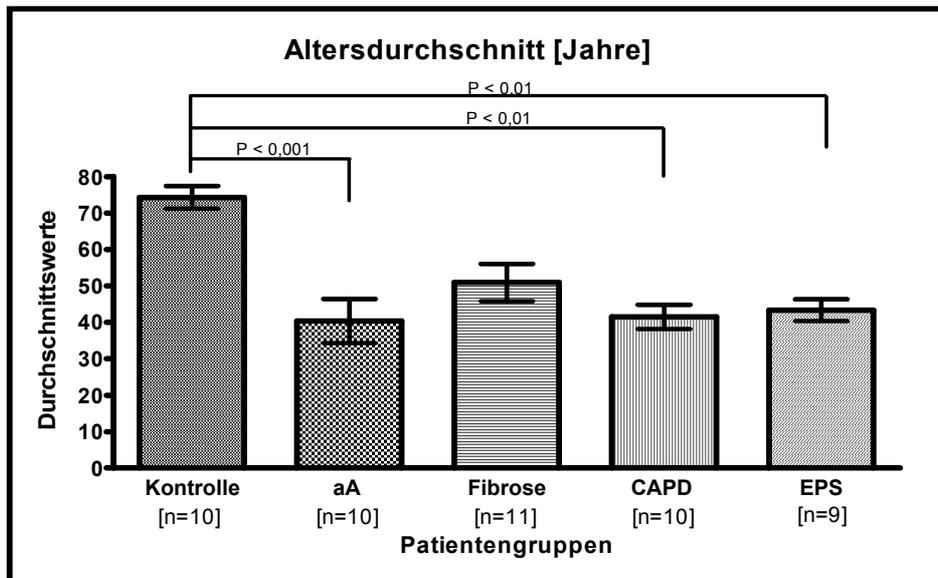
3.1.1.1 Altersspektrum des Gesamtkollektivs

Es wurden 50 Patienten in verschiedenen Gruppen in die Studie aufgenommen. Davon waren 27 Patienten männlich und 23 weiblich. Statistisch gibt es keinen signifikanten Unterschied beim Geschlecht der Probanden.

Die Patienten waren im Mittel 50 ± 18 Jahre alt [Altersbereich 20-94 Jahre]. Statistisch wurde nun untersucht, ob es signifikante Unterschiede zwischen den Altersmitteln der einzelnen Gruppen gab.

Dabei wurden Abkürzungen verwendet, die im weiteren Verlauf noch öfters Anwendung finden: EPS entspricht hier der Gruppe der Patienten mit EPS, PF entspricht Peritonealfibrose, nN entspricht der Gruppe der Patienten mit histologischem Normalbefund des Peritoneums und ist in dieser Studie die Kontrolle. CAPD entspricht der Gruppe, die CAPD betrieben hatte, bei denen zum Entnahmedatum aber keine Zeichen einer EPS vorlagen. Schließlich entspricht aA der Gruppe der Patienten, die histologisch mit einer akuten Appendizitis diagnostiziert worden waren.

Bei allen aufgeführten Tabellen bezeichnen die mit * markierten Vergleiche die signifikanten Unterschiede. Mit ns sind die Vergleiche markiert, die keine statistische Differenz aufwiesen.



IRS = Immunreaktiver Score, aA = akute Appendizitis, Fibrose = Peritonealfibrose, CAPD = Peritonealdialyse, EPS = Sklerosierende Peritonitis, * = signifikant, ns = nicht signifikant

Dunn's Multiple Comparison Test	Difference in rank sum	P value	Summary
Kontrolle vs aA	26.30	P < 0.001	***
Kontrolle vs Fibrose	17.41	P > 0.05	ns
Kontrolle vs CAPD	24.35	P < 0.01	**
Kontrolle vs EPS	22.44	P < 0.01	**
aA vs Fibrose	-8.891	P > 0.05	ns
aA vs CAPD	-1.950	P > 0.05	ns
aA vs EPS	-3.856	P > 0.05	ns
Fibrose vs CAPD	6.941	P > 0.05	ns
Fibrose vs EPS	5.035	P > 0.05	ns
CAPD vs EPS	-1.906	P > 0.05	ns

Dunn's Multiple Comparison Test	Difference in rank sum	P value	Summary
Kontrolle vs aA	26.30	P < 0.001	***
Kontrolle vs Fibrose	17.41	P < 0.05	*
Kontrolle vs CAPD	24.35	P < 0.001	***
Kontrolle vs EPS	22.44	P < 0.01	**

“one-way” ANOVA, Kruskal-Wallis-Test, “Dunn's multiple comparison test” mit 95 % KI

Abb. 9 Statistische Auswertung des Durchschnittsalters der Patientengruppen

Im Vergleich der Gruppen untereinander gab es statistisch signifikante Unterschiede bei den Vergleichen Kontrolle gegen akute Appendizitis, Kontrolle gegen Peritonealdialyse und Kontrolle gegen EPS.

Im Vergleich der Gruppen mit der Kontrollgruppe waren alle Vergleiche statistisch unterschiedlich.

3.1.1.2 Weitere Charakteristika

Im Durchschnitt führten die Patienten mit EPS die Peritonealdialyse 84,6 Monate durch. Mit einem $P < 0,05$ ist das signifikant länger als in der Vergleichsgruppe der CAPD-Patienten, die im Schnitt 21,1 Monate CAPD durchgeführt hatten.

Auch bei der Anzahl der stattgehabten Peritonitiden unterscheiden die Gruppen sich deutlich. In der CAPD-Gruppe traten insgesamt nur zwei Peritonitiden in insgesamt 191 Monaten durchgeführter PD auf; das entspricht einem Verhältnis Peritonitis/Monate von 1/95. In der Verumgruppe gab es mindestens 30 Peritonitiden in 725 Monaten PD; das entspricht einem Verhältnis Peritonitis/Monate von 1/24. Es gab nur einen Patient, bei dem nur eine Peritonitis auftrat. Bei zwei Patienten konnte die genaue Anzahl der Peritonitiden aus den Akten nicht eruiert werden.

Die Untersuchung einer Korrelation zwischen β -Blockern und dem Auftreten der EPS, wie sie in der Literatur schon vermutet wurde, erzielte keine entsprechenden Ergebnisse. Insgesamt nahmen nur fünf Patienten β -Blocker zur antihypertensiven Therapie ein, davon befanden sich drei in der CAPD-Gruppe, einer in der EPS-Gruppe und einer in der Gruppe der akuten Appendizitiden.

In der Gruppe der EPS- und der CAPD-Patienten sind die Diagnosen der Krankheiten, die zur terminalen Niereninsuffizienz geführt haben, verschieden, unterscheiden sich aber nicht wesentlich zwischen den beiden Gruppen. In acht Fällen hat eine chronische Glomerulonephritis zur Niereninsuffizienz geführt. Daneben gab es drei Patienten mit vorangegangenem hämolytisch-urämischem Syndrom, drei Patienten mit diabetischer Nephropathie, jeweils einer mit systemischen Lupus erythematodes, autosomal dominanter polyzystischer Nierenerkrankung (ADPKD), toxischer Nephritis und IgA-Nephropathie. Bei zwei Patienten war die Ursache unbekannt.

Bei der Kontrollgruppe der akuten Appendizitis war das Bild der Diagnosen natürlich homogener. Hier unterschieden sich nur die Ausprägungen der Appendizitis.

In der Gruppe der normalen Netze waren sechs Patienten wegen einer Leistenhernie operiert worden, jeweils einer oder eine wegen Bridenileus bei Morbus Crohn, Sigma-Divertikulitis, Ovarial-Carcinom, Ovarial-Dysgerminom und Ovarialzysten.

In der letzten Kontrollgruppe der Peritonealfibrose sind die Diagnosen wieder vielfältig. Sechs Patienten wurden wegen eines Adenocarcinoms des Colon operiert, ein Patient hatte ein Magenlymphom, eine Patientin hatte einen Adnextumor und jeweils ein Patient hatte eine Sigmadivertikulitis und ein Pankreaskopf-Karzinom.

3.1.2 Laborparameter

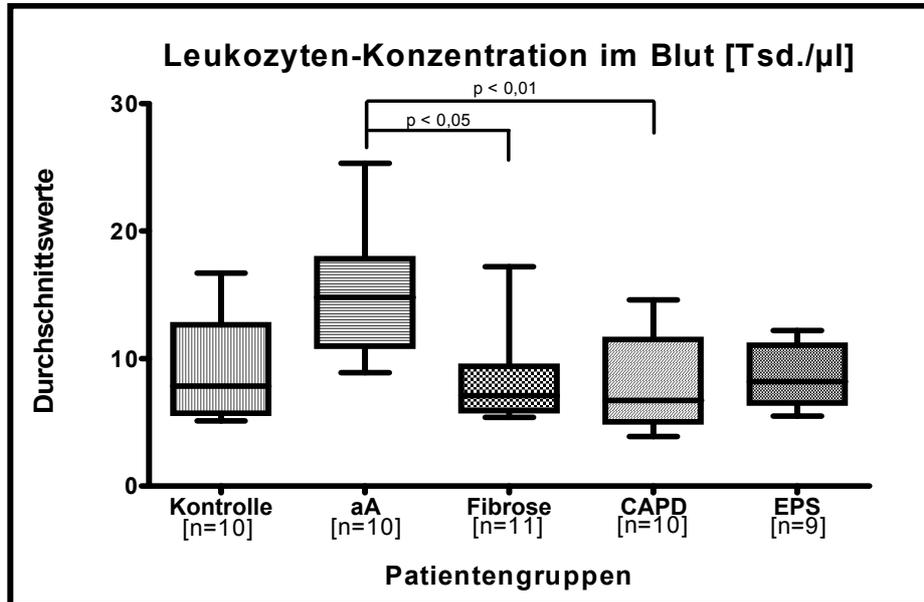
Um die Objektivierbarkeit und Vergleichbarkeit zu überprüfen, wurden auch Laborparameter untersucht. Diese Laborwerte wurden jeweils aus der letzten präoperativen Untersuchung entnommen. Konsistent wurden bei allen Patienten nur folgende vier Parameter erhoben:

1. Anzahl der Leukozyten im Blut (3.1.2.1)
2. Calcium-Konzentration im Serum (3.1.2.2)
3. Kreatinin-Konzentration im Serum (3.1.2.3)
4. Hämoglobin-Konzentration im Plasma (3.1.2.4)

Die vier oben genannten Parameter wurden daraufhin hinsichtlich signifikanter Unterschiede statistisch untersucht. Zuerst wurde mittels „one-way“ ANOVA und Kruskal-Wallis-Test untersucht.

Im Anschluss wurde bei statistisch signifikanten Unterschieden ein Post-Test („Dunn’s multiple comparison test“) durchgeführt.

3.1.2.1 Anzahl der Leukozyten im Blut



IRS = Immunreaktiver Score, aA = akute Appendizitis, Fibrose = Peritonealfibrose, CAPD = Peritonealdialyse, EPS = Sklerosierende Peritonitis, * = signifikant, ns = nicht signifikant

Dunn's Multiple Comparison Test	Difference in rank sum	P value	Summary
EPS vs Fibrose	3.460	P > 0.05	ns
EPS vs aA	-16.97	P > 0.05	ns
EPS vs Kontrolle	0.7778	P > 0.05	ns
EPS vs CAPD	6.278	P > 0.05	ns
Fibrose vs aA	-20.43	P < 0.05	*
Fibrose vs Kontrolle	-2.682	P > 0.05	ns
Fibrose vs CAPD	2.818	P > 0.05	ns
aA vs Kontrolle	17.75	P > 0.05	ns
aA vs CAPD	23.25	P < 0.01	**
Kontrolle vs CAPD	5.500	P > 0.05	ns

Dunn's Multiple Comparison Test	Difference in rank sum	P value	Summary
EPS vs Kontrolle	0.7778	P > 0.05	ns
Fibrose vs Kontrolle	-2.682	P > 0.05	ns
aA vs Kontrolle	17.75	P < 0.05	*
Kontrolle vs CAPD	5.500	P > 0.05	ns

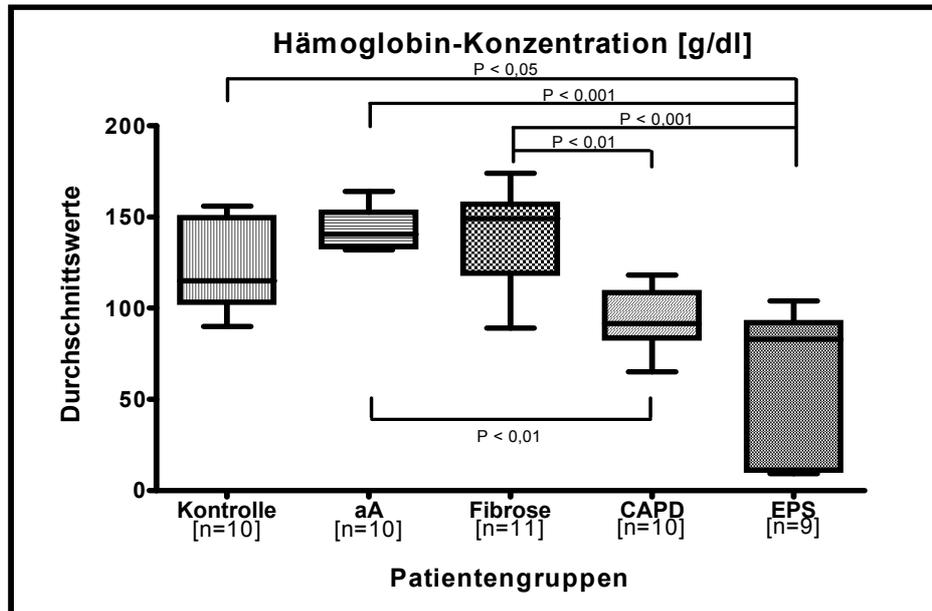
„one-way“ ANOVA, Kruskal-Wallis-Test, „Dunn's multiple comparison test“ mit 95 % KI

Abb. 10 Statistische Auswertung der Leukozytenzahl [tsd./µl] der Patientengruppen

Der erste untersuchte Parameter war die Anzahl der Leukozyten im Blut. Wie zu erwarten war, waren die Leukozytenwerte in der Gruppe der Patienten mit akuter Appendizitis höher als die der anderen Gruppen.

Beim Vergleich der Gruppen untereinander ergaben sich beim Vergleich Peritonealfibrose gegen akute Appendizitis und akute Appendizitis gegen CAPD statistisch signifikante Werte. Bei der Gegenüberstellung der Gruppen mit der Kontrolle ergab sich der einzige statistisch signifikante Unterschied beim Vergleich mit der Gruppe der akuten Appendizitis.

3.1.2.2 Hämoglobin-Konzentration im Plasma



IRS = Immunreaktiver Score, aA = akute Appendizitis, Fibrose = Peritonealfibrose, CAPD = Peritonealdialyse, EPS = Sklerosierende Peritonitis, * = signifikant, ns = nicht signifikant

Dunn's Multiple Comparison Test	Difference in rank sum	P value	Summary
EPS vs Fibrose	-28.54	P < 0.001	***
EPS vs aA	-29.49	P < 0.001	***
EPS vs Kontrolle	-19.59	P < 0.05	*
EPS vs CAPD	-6.744	P > 0.05	ns
Fibrose vs aA	-0.9591	P > 0.05	ns
Fibrose vs Kontrolle	8.941	P > 0.05	ns
Fibrose vs CAPD	21.79	P < 0.01	**
aA vs Kontrolle	9.900	P > 0.05	ns
aA vs CAPD	22.75	P < 0.01	**
Kontrolle vs CAPD	12.85	P > 0.05	ns

Dunn's Multiple Comparison Test	Difference in rank sum	P value	Summary
EPS vs Kontrolle	-19.59	P < 0.05	*
Fibrose vs Kontrolle	8.941	P > 0.05	ns
aA vs Kontrolle	9.900	P > 0.05	ns
Kontrolle vs CAPD	12.85	P > 0.05	ns

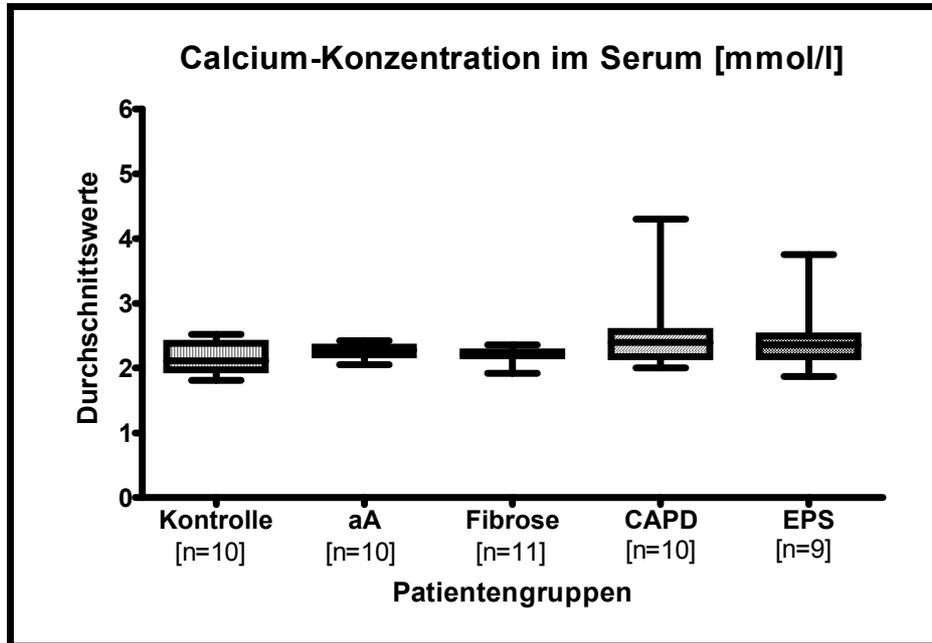
“one-way” ANOVA, Kruskal-Wallis-Test, “Dunn's multiple comparison test” mit 95 % KI

Abb. 11 Statistische Auswertung der Hämoglobin-Konzentration [g/dl] der Patientengruppen

Als weiterer Standardparameter wurden bei allen Patienten die Hämoglobin-Konzentrationen im Blut bestimmt.

Beim Vergleich der Gruppen untereinander wurden signifikante Unterschiede in den Vergleichen EPS gegen Peritonealfibrose, EPS gegen akute Appendizitis, EPS gegen Kontrolle, Peritonealfibrose gegen CAPD und akute Appendizitis gegen CAPD festgestellt. Bei der Gegenüberstellung der Gruppen mit der Kontrollgruppe wurden nur bei der EPS signifikant verschiedene Werte beobachtet.

3.1.2.3 Calcium-Konzentration im Serum



IRS = Immunreaktiver Score, aA = akute Appendizitis, Fibrose = Peritonealfibrose, CAPD = Peritonealdialyse, EPS = Sklerosierende Peritonitis, * = signifikant, ns = nicht signifikant

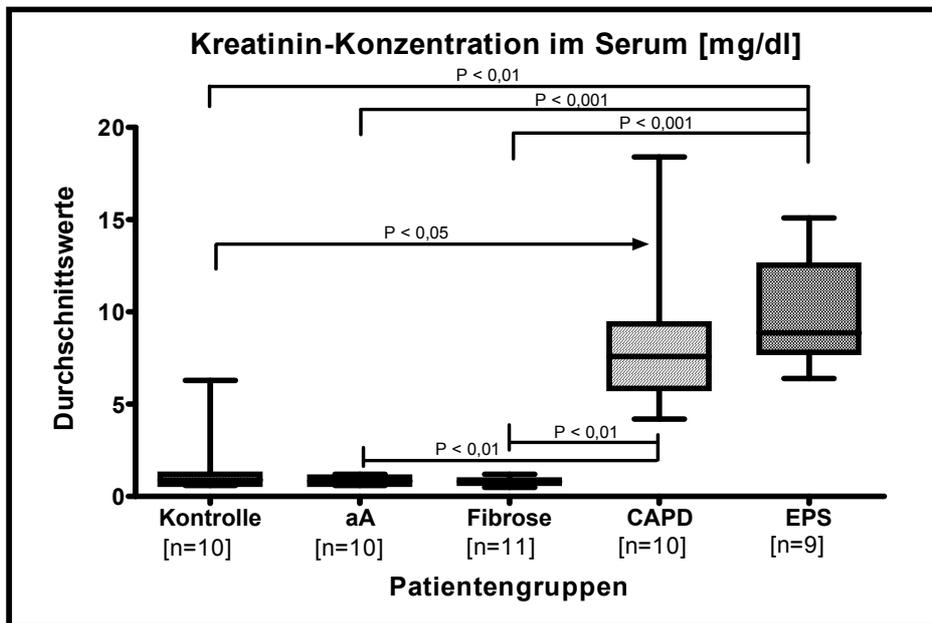
„one-way“ ANOVA

Abb. 12 Statistische Auswertung der Calcium-Konzentration [mmol/l] der Patientengruppen

Die Konzentration des Elektrolyts Calcium im Serum wurde bei allen, außer bei vier Patienten, erhoben. Von diesen vier Patienten waren zwei aus der Gruppe der Peritonealfibrose, einer aus der Gruppe der akuten Appendizitiden und einer aus der Gruppe der normalen Netze.

Beim Vergleich der Calcium-Werte wurden keine signifikanten Unterschiede festgestellt.

3.1.2.4 Kreatinin-Konzentration im Serum



IRS = Immunreaktiver Score, aA = akute Appendizitis, Fibrose = Peritonealfibrose, CAPD = Peritonealdialyse, EPS = Sklerosierende Peritonitis, * = signifikant, ns = nicht signifikant

Dunn's Multiple Comparison Test	Difference in rank sum	P value	Summary
EPS vs Fibrose	29.19	P < 0.001	***
EPS vs aA	27.18	P < 0.001	***
EPS vs Kontrolle	24.98	P < 0.01	**
EPS vs CAPD	4.628	P > 0.05	ns
Fibrose vs aA	-2.009	P > 0.05	ns
Fibrose vs Kontrolle	-4.209	P > 0.05	ns
Fibrose vs CAPD	-24.56	P < 0.01	**
aA vs Kontrolle	-2.200	P > 0.05	ns
aA vs CAPD	-22.55	P < 0.01	**
Kontrolle vs CAPD	-20.35	P < 0.05	*
Dunn's Multiple Comparison Test	Difference in rank sum	P value	Summary
EPS vs Kontrolle	24.98	P < 0.001	***
Fibrose vs Kontrolle	-4.209	P > 0.05	ns
aA vs Kontrolle	-2.200	P > 0.05	ns
Kontrolle vs CAPD	-20.35	P < 0.01	**

“one-way” ANOVA, Kruskal-Wallis-Test, “Dunn's multiple comparison test” mit 95 % KI

Abb. 13 Statistische Auswertung der Kreatinin-Konzentration [mg/dl] der Patientengruppen

Als wichtiger Laborparameter zur Beurteilung der Nierenfunktion wurde die Kreatinin-Konzentration bei den Patienten untersucht. Bei allen Patienten wurde dieser Wert bestimmt. Bei einem Patient aus der Gruppe der Peritonealfibrose wurde der Wert bei der ersten postoperativen Laborkontrolle bestimmt.

Bei der Gegenüberstellung der Gruppen untereinander von EPS gegen Peritonealfibrose, EPS gegen akute Appendizitis, EPS gegen Kontrolle, Peritonealfibrose gegen CAPD, akute Appendizitis gegen CAPD und Kontrolle gegen CAPD wurden statistisch signifikante Unterschiede festgestellt.

Bei dem Vergleich der Gruppen mit der Kontrolle ergaben sich signifikante Unterschiede bei EPS gegen Kontrolle und Peritonealdialyse gegen Kontrolle.

3.2 Semiquantitative Auswertung der histologischen und histo-pathologischen Daten

Es wurde in Abhängigkeit von Menge und Intensität der Anfärbung der Proben der Immunreaktive Score (IRS) ausgerechnet.

Die Bewertung der Proben wurde von dem Doktoranden durchgeführt und von einem erfahrenen Auswerter stichprobenartig kontrolliert. Bei starker Interobservervariabilität wurde die Auswertung wiederholt und nochmals durch den Pathologen kontrolliert.

Neben dem Diagramm der jeweiligen Untersuchung wird eine Tabelle aufgeführt, falls es in der statistischen Untersuchung mittels „one-way“-ANOVA und Kruskal-Wallis-Test signifikante Unterschiede der Mittelwerte des Immunreaktiven Scores gegeben hat.

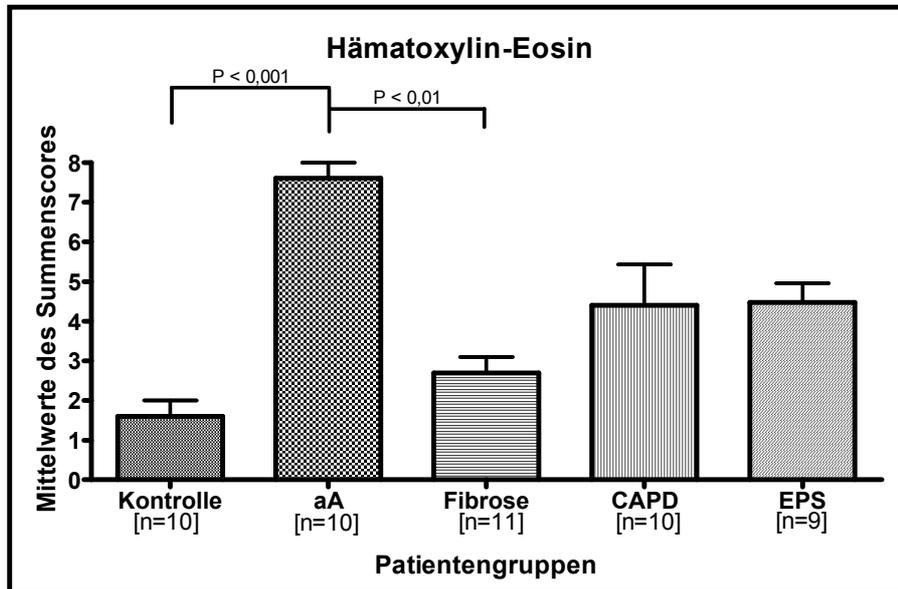
In diesem Fall schließt sich der „Dunn’s multiple comparison test“ an, der die einzelnen Gruppen mit der Kontrolle auf signifikante Unterschiede untersucht.

Sollte es keine signifikanten Unterschiede geben, wird kein weiterer Test angeschlossen und die Tabelle wird nicht abgebildet.

Die Sternchen in der rechten Spalte „summary“ markieren die signifikanten Untersuchungen. Je kleiner der P-Wert und damit je signifikanter der Unterschied, desto mehr Sternchen werden angezeigt.

Der Kontrollgruppe entspricht in der ganzen Studie die Gruppe mit den als histo-pathologischen Normalbefund eingeschätzten Präparaten.

3.2.1 Auswertung der Anfärbungen mit Hämatoxylin-Eosin (HE)



IRS = Immunreaktiver Score, aA = akute Appendizitis, Fibrose = Peritonealfibrose, CAPD = Peritonealdialyse, EPS = Sklerosierende Peritonitis * = Signifikant, ns = nicht signifikant

Dunn's Multiple Comparison Test	Difference in rank sum	P value	Summary
Kontrolle vs aA	-31.55	P < 0.001	***
Kontrolle vs Fibrose	-8.214	P > 0.05	ns
Kontrolle vs CAPD	-14.80	P > 0.05	ns
Kontrolle vs EPS	-18.18	P > 0.05	ns
aA vs Fibrose	23.34	P < 0.01	**
aA vs CAPD	16.75	P > 0.05	ns
aA vs EPS	13.37	P > 0.05	ns
Fibrose vs CAPD	-6.586	P > 0.05	ns
Fibrose vs EPS	-9.970	P > 0.05	ns
CAPD vs EPS	-3.383	P > 0.05	ns

Dunn's Multiple Comparison Test	Difference in rank sum	P value	Summary
Kontrolle vs aA	-31.55	P < 0.001	***
Kontrolle vs Fibrose	-8.214	P > 0.05	ns
Kontrolle vs CAPD	-14.80	P > 0.05	ns
Kontrolle vs EPS	-18.18	P < 0.05	*

“one-way” ANOVA, Kruskal-Wallis-Test, “Dunn's multiple comparison test” mit 95 % KI

Abb. 14 Statistische Auswertung der Anfärbungen mit Hämatoxylin-Eosin

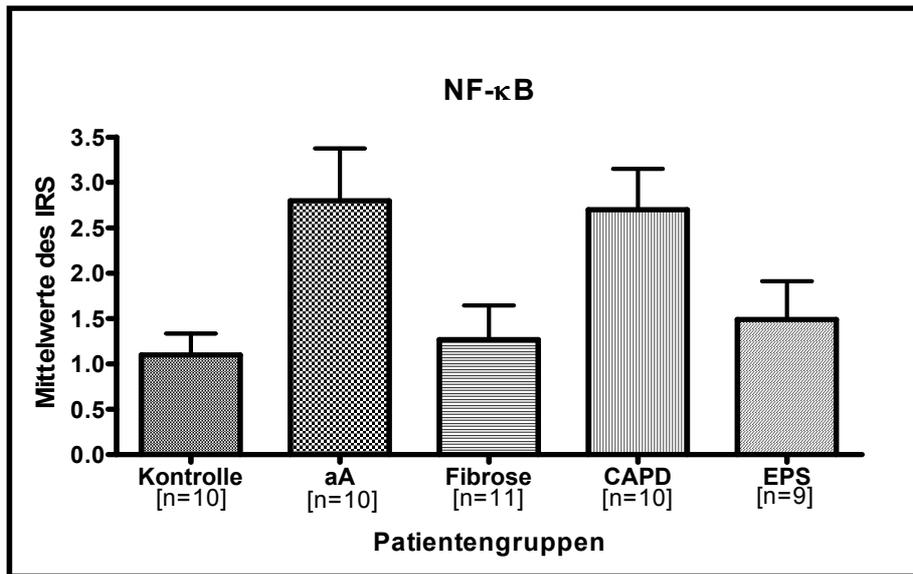
Im ersten Schritt wurden die mit Hämatoxylin-Eosin angefärbten Schnitte untersucht. Bei diesem histologischen Standardverfahren wurde nicht wie bei den anderen Untersuchungen der Grad der Anfärbung bewertet, sondern die Ausprägung, die Anzahl oder die Konzentration in Relation zum gesamten Präparat.

Die Gruppen der Präparate wurden dann untereinander verglichen und schließlich mit der Gruppe der Präparate mit den „Normalen Netzen“, die hier als Kontrolle bezeichnet wird, statistisch verglichen.

Im Vergleich mit der Kontrollgruppe erreichten nur die Gruppe der akuten Appendizitiden und der EPS statistisch signifikante Werte, wobei die Werte der akuten Appendizitiden mit einem P-Wert von unter 0,001 deutlich stärkere Signifikanz aufweisen als jene der EPS.

Bei der Gegenüberstellung untereinander wurden in den Vergleichen Kontrolle gegen akute Appendizitis und Peritonealfibrose gegen akute Appendizitis statistisch signifikante Werte beobachtet.

3.2.2 Antikörper gegen “nuclear factor”-κb (NF-κb)



IRS = Immunreaktiver Score, aA = akute Appendizitis, Fibrose = Peritonealfibrose, CAPD = Peritonealdialyse, EPS = Sklerosierende Peritonitis, * = signifikant, ns = nicht signifikant

Dunn's Multiple Comparison Test	Difference in rank sum	P value	Summary
Kontrolle vs aA	-16.00	P > 0.05	ns
Kontrolle vs Fibrose	-0.6727	P > 0.05	ns
Kontrolle vs CAPD	-16.80	P > 0.05	ns
Kontrolle vs EPS	-3.844	P > 0.05	ns
aA vs Fibrose	15.33	P > 0.05	ns
aA vs CAPD	-0.8000	P > 0.05	ns
aA vs EPS	12.16	P > 0.05	ns
Fibrose vs CAPD	-16.13	P > 0.05	ns
Fibrose vs EPS	-3.172	P > 0.05	ns
CAPD vs EPS	12.96	P > 0.05	ns

Dunn's Multiple Comparison Test	Difference in rank sum	P value	Summary
Kontrolle vs aA	-16.00	P < 0.05	*
Kontrolle vs Fibrose	-0.6727	P > 0.05	ns
Kontrolle vs CAPD	-16.80	P < 0.05	*
Kontrolle vs EPS	-3.844	P > 0.05	ns

“one-way” ANOVA, Kruskal-Wallis-Test, “Dunn's multiple comparison test” mit 95 % KI
Abb. 15 Statistische Auswertung der Anfärbungen mit Antikörpern gegen NF-κb

Bei der ersten immunhistochemischen Anfärbung wurden IgG-Antikörper gegen „nuclear factor“- κ b (NF- κ b) verwendet. Hohe Mittelwerte traten in den Anfärbungen bei den Gruppen akute Appendizitis und CAPD auf.

Beim statistischen Vergleich der Gruppen miteinander traten keine signifikanten Unterschiede auf. Jedoch ergaben sich beim Vergleich der Gruppen mit der Kontrolle statistische Unterschiede bei den Gruppen der akuten Appendizitiden und der Peritonealdialyse.

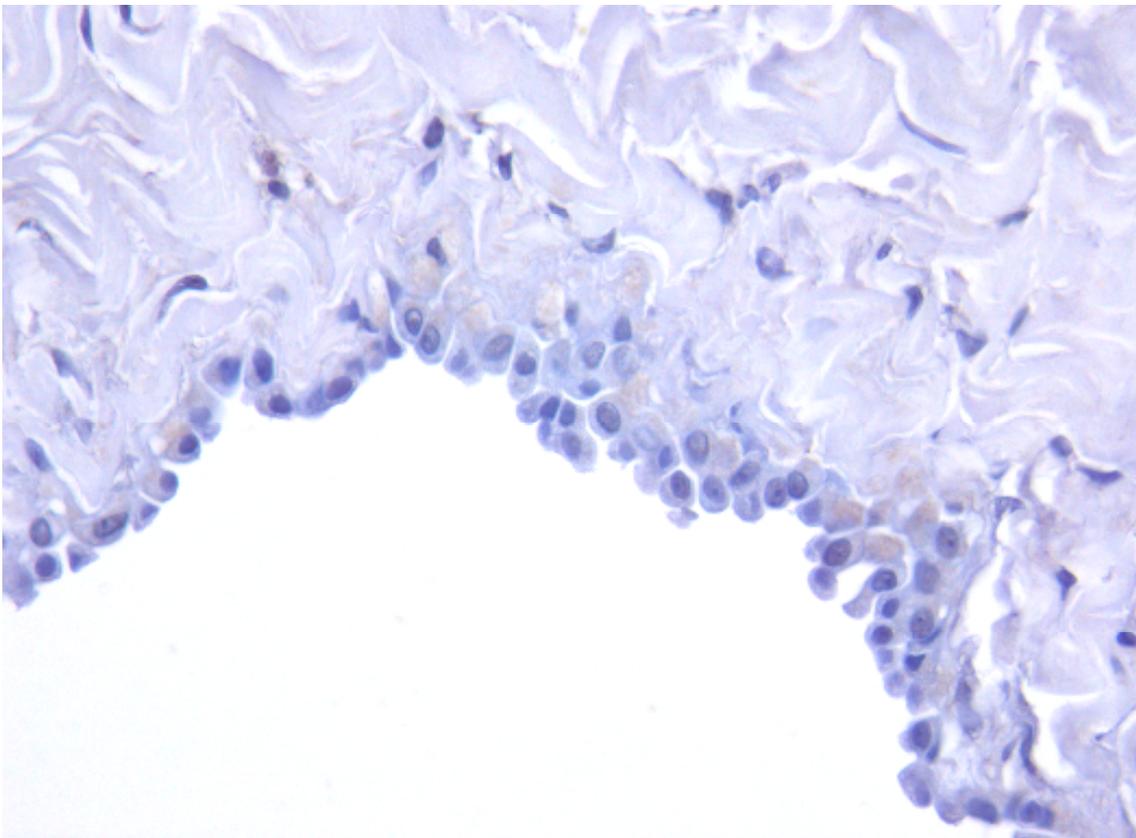
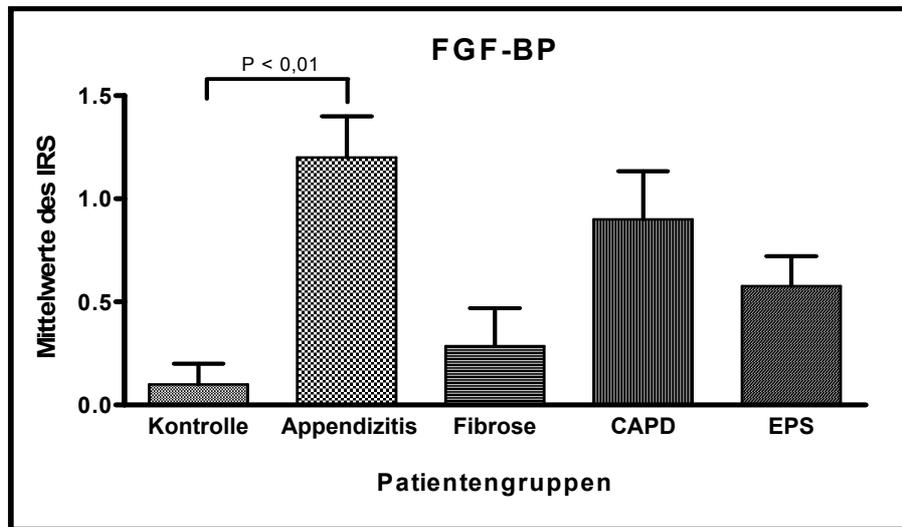


Abb. 16 Mesothelzellen bei immunhistochemischer Untersuchung mit Antikörpern gegen NF- κ B

3.2.3 Antikörper gegen „fibroblast growth factor-binding protein“ (FGF-BP)



IRS = Immunreaktiver Score, aA = akute Appendizitis, Fibrose = Peritonealfibrose, CAPD = Peritonealdialyse, EPS = Sklerosierende Peritonitis, * = signifikant, ns = nicht signifikant

Dunn's Multiple Comparison Test	Difference in rank sum	P value	Summary
Kontrolle vs Appendizitis	-21.05	P < 0.01	**
Kontrolle vs Fibrose	-4.086	P > 0.05	ns
Kontrolle vs CAPD	-15.50	P > 0.05	ns
Kontrolle vs EPS	-11.41	P > 0.05	ns
Appendizitis vs Fibrose	16.96	P > 0.05	ns
Appendizitis vs CAPD	5.550	P > 0.05	ns
Appendizitis vs EPS	9.639	P > 0.05	ns
Fibrose vs CAPD	-11.41	P > 0.05	ns
Fibrose vs EPS	-7.325	P > 0.05	ns
CAPD vs EPS	4.089	P > 0.05	ns

Dunn's Multiple Comparison Test	Difference in rank sum	P value	Summary
Kontrolle vs Appendizitis	-21.05	P < 0.001	***
Kontrolle vs Fibrose	-4.086	P > 0.05	ns
Kontrolle vs CAPD	-15.50	P < 0.05	*
Kontrolle vs EPS	-11.41	P > 0.05	ns

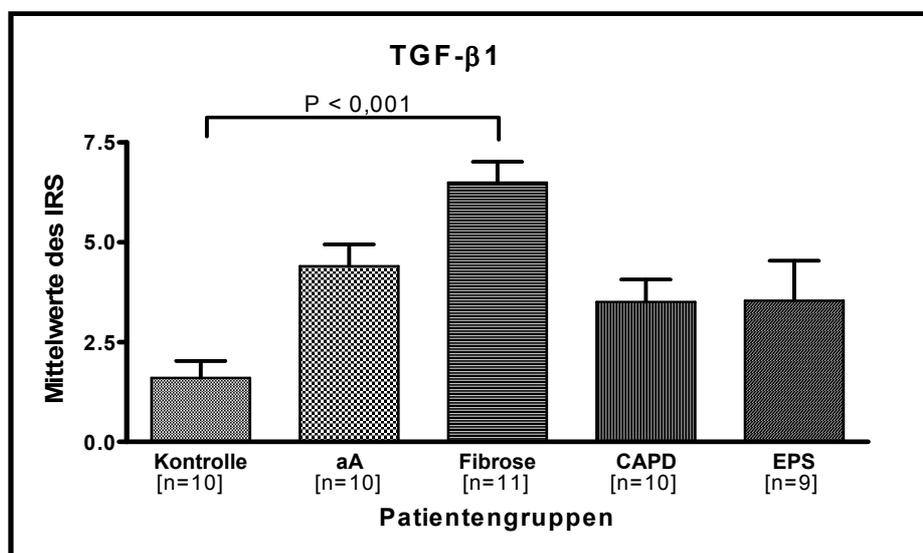
„one-way“ ANOVA, Kruskal-Wallis-Test, „Dunn's multiple comparison test“ mit 95 % KI

Abb. 17 Statistische Auswertung der Anfärbungen mit Antikörpern gegen FGF-BP

Auch bei dieser Untersuchung erzielte die Gruppe der akuten Appendizitiden die höchsten Mittelwerte des Immunreaktiven Scores (IRS). Signifikante Unterschiede ergaben sich beim Vergleich zwischen der Gruppe untereinander in der Gegenüberstellung Kontrolle gegen akute Appendizitis.

In der Gegenüberstellung mit der Kontrolle ergaben sich statistisch signifikante Unterschiede beim Vergleich der akuten Appendizitis und der Kontrolle und beim Vergleich zwischen der Gruppe der CAPD und der Kontrolle.

3.2.4 Antikörper gegen “transforming growth factor”-β1 (TGF-β1)



IRS = Immunreaktiver Score, aA = akute Appendizitis, Fibrose = Peritonealfibrose, CAPD = Peritonealdialyse, EPS = Sklerosierende Peritonitis, * = signifikant, ns = nicht signifikant

Dunn's Multiple Comparison Test	Difference in rank sum	P value	Summary
Kontrolle vs aA	-16.75	P > 0.05	ns
Kontrolle vs Fibrose	-28.32	P < 0.001	***
Kontrolle vs CAPD	-10.85	P > 0.05	ns
Kontrolle vs EPS	-12.77	P > 0.05	ns
aA vs Fibrose	-11.57	P > 0.05	ns
aA vs CAPD	5.900	P > 0.05	ns
aA vs EPS	3.978	P > 0.05	ns
Fibrose vs CAPD	17.47	P > 0.05	ns
Fibrose vs EPS	15.55	P > 0.05	ns
CAPD vs EPS	-1.922	P > 0.05	ns

Dunn's Multiple Comparison Test	Difference in rank sum	P value	Summary
Kontrolle vs aA	-16.75	P < 0.05	*
Kontrolle vs Fibrose	-28.32	P < 0.001	***
Kontrolle vs CAPD	-10.85	P > 0.05	ns
Kontrolle vs EPS	-12.77	P > 0.05	ns

“one-way” ANOVA, Kruskal-Wallis-Test, “Dunn's multiple comparison test” mit 95 % KI

Abb. 18 Statistische Auswertung der Anfärbungen mit Antikörpern gegen TGF-β1

Bei der Anfärbung mit IgG-Antikörpern gegen "transforming growth factor"- β 1 (TGF- β 1) erreichte die Gruppe der Peritonealfibrose die höchsten Mittelwerte des Immunreaktiven Scores (IRS). Bei dem Vergleich der Gruppen untereinander ergaben sich signifikante Unterschiede bei der Gegenüberstellung Fibrose gegen Kontrolle.

Signifikante Unterschiede ergaben sich bei den Vergleichen der Gruppe der Peritonealfibrose mit der Kontrolle und der Gruppe der akuten Appendizitiden und der Kontrolle.

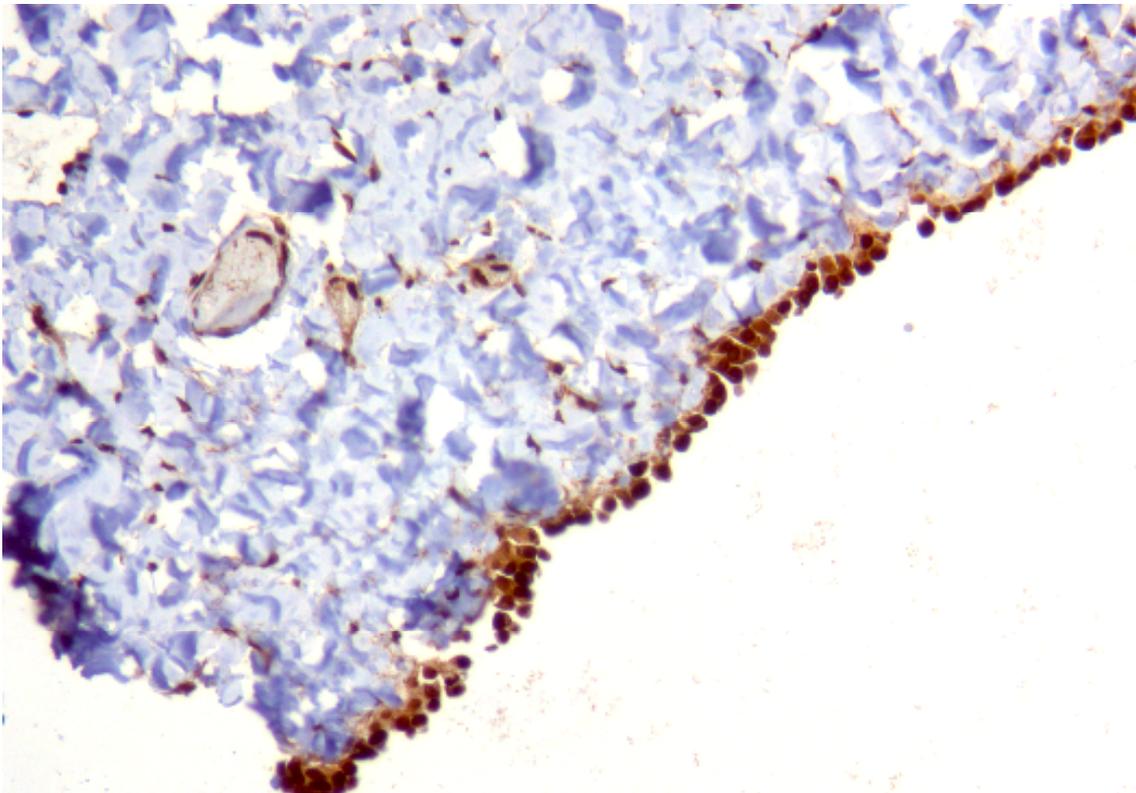
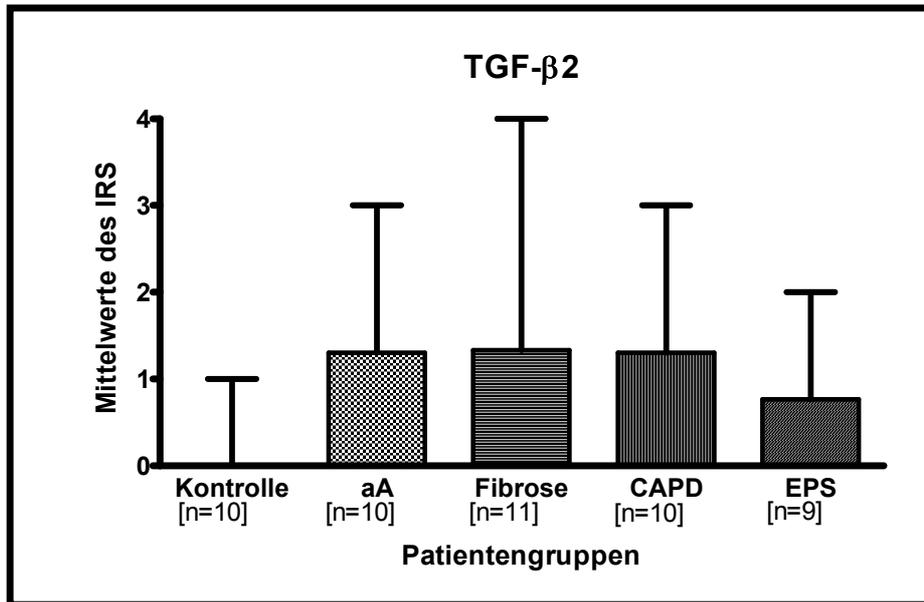


Abb. 19 Anfärbung der Mesothelzellen bei immunohistochemischer Untersuchung mit Antikörpern gegen TGF- β 1

3.2.5 Antikörper gegen “transforming growth factor”-β2 (TGF-β2)



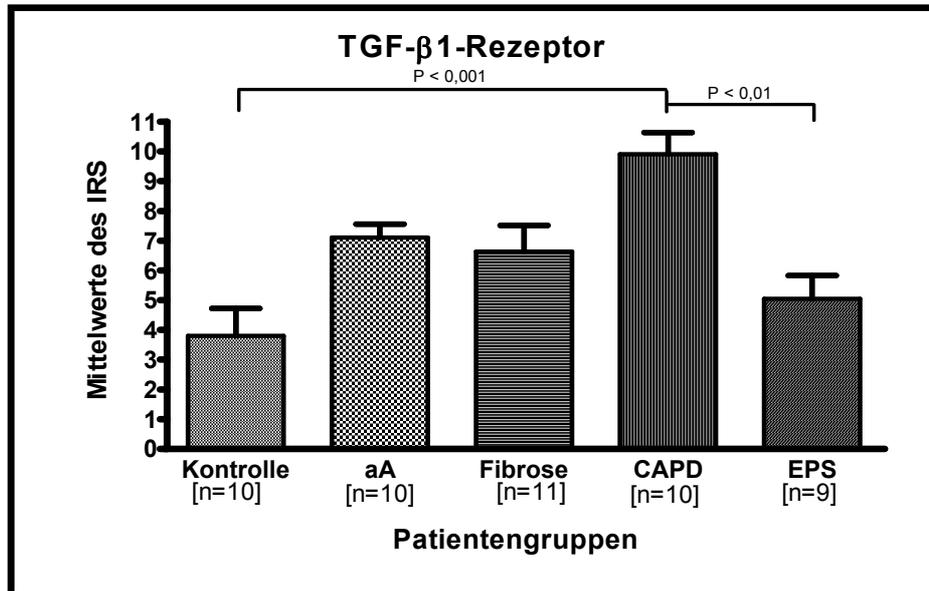
IRS = Immunreaktiver Score, aA = akute Appendizitis, Fibrose = Peritonealfibrose, CAPD = Peritonealdialyse, EPS = Sklerosierende Peritonitis, * = signifikant, ns = nicht signifikant

“one-way” ANOVA, Kruskal-Wallis-Test, “Dunn's multiple comparison test” mit 95 % KI

Abb. 20 Statistische Auswertung der Anfärbungen mit Antikörpern gegen TGF-β2

Bei dieser Anfärbung ergaben sich keine signifikanten Unterschiede, weder beim Vergleich der einzelnen Gruppen mit der Kontrollgruppe noch beim Vergleich der Gruppen unter-einander. Da beim Kruskal-Wallis-Test kein signifikanter Unterschied auftrat, wurde kein anschließender Test durchgeführt.

3.2.6 Antikörper gegen “transforming growth factor”-β1 Rezeptor (TGF-β1R)



IRS = Immunreaktiver Score, aA = akute Appendizitis, Fibrose = Peritonealfibrose, CAPD = Peritonealdialyse, EPS = Sklerosierende Peritonitis, * = signifikant, ns = nicht signifikant

Dunn's Multiple Comparison Test	Difference in rank sum	P value	Summary
Kontrolle vs aA	-13.60	P > 0.05	ns
Kontrolle vs Fibrose	-11.15	P > 0.05	ns
Kontrolle vs CAPD	-26.35	P < 0.001	***
Kontrolle vs EPS	-4.200	P > 0.05	ns
aA vs Fibrose	2.445	P > 0.05	ns
aA vs CAPD	-12.75	P > 0.05	ns
aA vs EPS	9.400	P > 0.05	ns
Fibrose vs CAPD	-15.20	P > 0.05	ns
Fibrose vs EPS	6.955	P > 0.05	ns
CAPD vs EPS	22.15	P < 0.01	**

Dunn's Multiple Comparison Test	Difference in rank sum	P value	Summary
Kontrolle vs aA	-13.60	P > 0.05	ns
Kontrolle vs Fibrose	-11.15	P > 0.05	ns
Kontrolle vs CAPD	-26.35	P < 0.001	***
Kontrolle vs EPS	-4.200	P > 0.05	ns

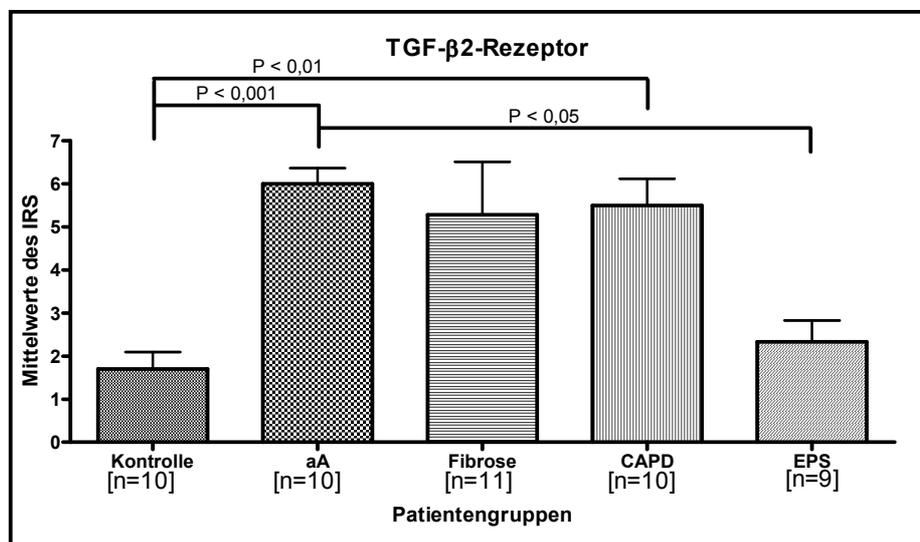
“one-way” ANOVA, Kruskal-Wallis-Test, “Dunn's multiple comparison test” mit 95 % KI

Abb. 21 Statistische Auswertung der Anfärbungen mit Antikörpern gegen TGF-β1 Rezeptor

Bei der Anfärbung mit IgG-Antikörper gegen "transforming growth factor"- β 1 Rezeptor (TGF- β 1R) wurden bei der Gegenüberstellung der Gruppen untereinander signifikante Unterschiede beim Vergleich Kontrolle gegen CAPD und beim Vergleich CAPD gegen EPS festgestellt.

Bei der Gegenüberstellung der Gruppen mit der Kontrolle ergaben sich signifikante Unterschiede beim Vergleich der Gruppe CAPD und der Kontrolle.

3.2.7 Antikörper gegen “transforming growth factor”-β2 Rezeptor (TGF-β2R)



IRS = Immunreaktiver Score, aA = akute Appendizitis, Fibrose = Peritonealfibrose, CAPD = Peritonealdialyse, EPS = Sklerosierende Peritonitis, * = signifikant, ns = nicht signifikant

Dunn's Multiple Comparison Test	Difference in rank sum	P value	Summary
Kontrolle vs aA	-23.10	P < 0.001	***
Kontrolle vs Fibrose	-17.22	P > 0.05	ns
Kontrolle vs CAPD	-19.35	P < 0.01	**
Kontrolle vs EPS	-3.400	P > 0.05	ns
aA vs Fibrose	5.879	P > 0.05	ns
aA vs CAPD	3.750	P > 0.05	ns
aA vs EPS	19.70	P < 0.05	*
Fibrose vs CAPD	-2.129	P > 0.05	ns
Fibrose vs EPS	13.82	P > 0.05	ns
CAPD vs EPS	15.95	P > 0.05	ns

Dunn's Multiple Comparison Test	Difference in rank sum	P value	Summary
Kontrolle vs aA	-23.10	P < 0.001	***
Kontrolle vs Fibrose	-17.22	P < 0.05	*
Kontrolle vs CAPD	-19.35	P < 0.01	**
Kontrolle vs EPS	-3.400	P > 0.05	ns

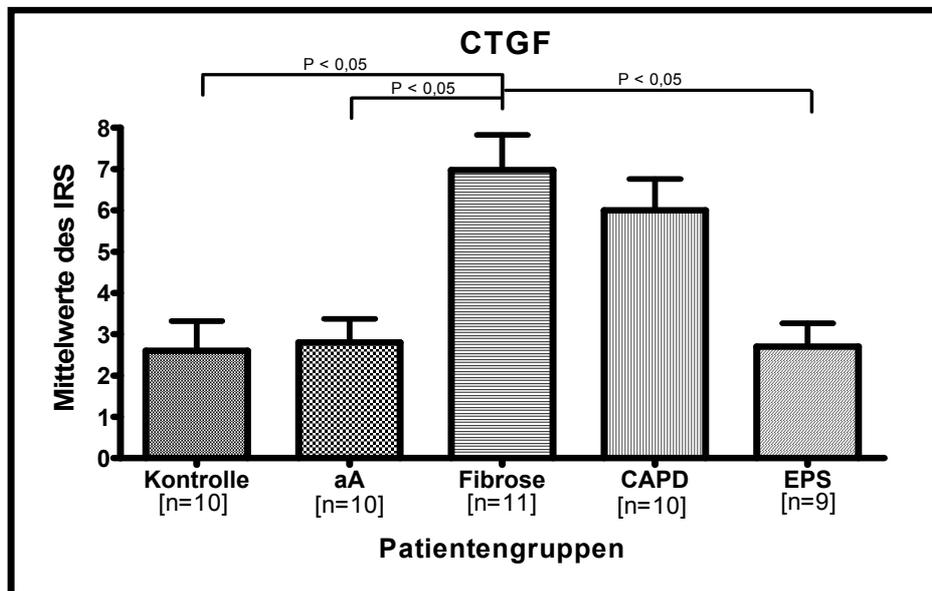
“one-way” ANOVA, Kruskal-Wallis-Test, “Dunn's multiple comparison test” mit 95 % KI

Abb. 22 Statistische Auswertung der Anfärbungen mit Antikörpern gegen TGF-β2 Rezeptor

Bei der Anfärbung mit IgG-Antikörpern gegen "transforming growth factor"- β 2 Rezeptor (TGF- β 2R) wurden beim Vergleich der Gruppen untereinander signifikante Unterschiede in den Vergleichen Kontrolle gegen akute Appendizitis, Kontrolle gegen CAPD und akute Appendizitis gegen EPS festgestellt.

Bei der Gegenüberstellung der Gruppen mit der Kontrolle ergaben sich signifikante Unterschiede beim Vergleich von den drei Gruppen akute Appendizitis, Peritonealfibrose und CAPD mit der Kontrolle.

3.2.8 Antikörper gegen “connective tissue growth factor” (CTGF)



IRS = Immunreaktiver Score, aA = akute Appendizitis, Fibrose = Peritonealfibrose, CAPD = Peritonealdialyse, EPS = Sklerosierende Peritonitis, * = signifikant, ns = nicht signifikant

Dunn's Multiple Comparison Test	Difference in rank sum	P value	Summary
Kontrolle vs aA	-1.500	P > 0.05	ns
Kontrolle vs Fibrose	-20.65	P < 0.05	*
Kontrolle vs CAPD	-17.40	P > 0.05	ns
Kontrolle vs EPS	-0.7000	P > 0.05	ns
aA vs Fibrose	-19.15	P < 0.05	*
aA vs CAPD	-15.90	P > 0.05	ns
aA vs EPS	0.8000	P > 0.05	ns
Fibrose vs CAPD	3.250	P > 0.05	ns
Fibrose vs EPS	19.95	P < 0.05	*
CAPD vs EPS	16.70	P > 0.05	ns

Dunn's Multiple Comparison Test	Difference in rank sum	P value	Summary
Kontrolle vs aA	-1.500	P > 0.05	ns
Kontrolle vs Fibrose	-20.65	P < 0.01	**
Kontrolle vs CAPD	-17.40	P < 0.05	*
Kontrolle vs EPS	-0.7000	P > 0.05	ns

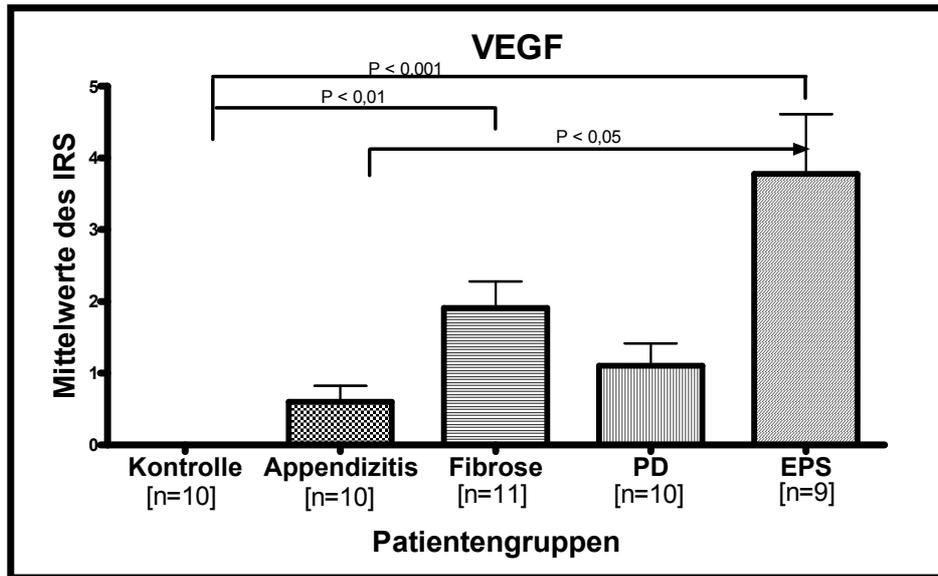
One-way ANOVA, Kruskal-Wallis-Test, Dunn's multiple comparison test mit 95 % KI

Abb. 23 Statistische Auswertung der Anfärbungen mit Antikörpern gegen CTGF

Bei der Anfärbung mit IgG-Antikörpern gegen „connective tissue growth factor“ (CTGF) traten signifikante Unterschiede bei der Gegenüberstellung der Gruppen untereinander bei den Vergleichen Kontrolle gegen Peritonealfibrose, akute Appendizitis gegen Fibrose und Fibrose gegen EPS auf.

Bei den Vergleichen der Gruppen mit der Kontrolle ergaben sich signifikante Unterschiede bei den Vergleichen Kontrolle gegen Peritonealfibrose und Kontrolle gegen CAPD.

3.2.9 Antikörper gegen “vascular endothelial growth factor” (VEGF)



IRS = Immunreaktiver Score, aA = akute Appendizitis, Fibrose = Peritonealfibrose, CAPD = Peritonealdialyse, EPS = Sklerosierende Peritonitis, * = signifikant, ns = nicht signifikant

Dunn's Multiple Comparison Test	Difference in rank sum	P value	Summary
Kontrolle vs Appendizitis	-9.050	P > 0.05	ns
Kontrolle vs Fibrose	-22.55	P < 0.01	**
Kontrolle vs PD	-14.95	P > 0.05	ns
Kontrolle vs EPS	-29.11	P < 0.001	***
Appendizitis vs Fibrose	-13.50	P > 0.05	ns
Appendizitis vs PD	-5.900	P > 0.05	ns
Appendizitis vs EPS	-20.06	P < 0.05	*
Fibrose vs PD	7.595	P > 0.05	ns
Fibrose vs EPS	-6.566	P > 0.05	ns
PD vs EPS	-14.16	P > 0.05	ns
Dunn's Multiple Comparison Test	Difference in rank sum	P value	Summary
Kontrolle vs Appendizitis	-9.050	P > 0.05	ns
Kontrolle vs Fibrose	-22.55	P < 0.001	***
Kontrolle vs PD	-14.95	P > 0.05	ns
Kontrolle vs EPS	-29.11	P < 0.001	***

“one-way” ANOVA, Kruskal-Wallis-Test, “Dunn's multiple comparison test” mit 95% KI

Abb. 24 Statistische Auswertung der Anfärbungen mit Antikörpern gegen VEGF

Bei der Anfärbung mit IgG-Antikörpern gegen „vascular endothelial growth factor“ (VEGF) traten signifikante Unterschiede bei der Gegenüberstellung der Gruppen untereinander bei den Vergleichen von der Kontrollgruppe mit der Peritonealfibrose, Kontrollgruppe mit der EPS und akuter Appendizitis mit der EPS auf.

Bei den Vergleichen der Gruppen mit der Kontrolle ergaben sich signifikante Unterschiede bei den Vergleichen der Peritonealfibrose mit der Kontrolle und EPS mit der Kontrolle.

3.3 Kappa-Statistik zur Bestimmung der Validität

Zur Bestimmung der Validität der Auswertung des Doktoranden wurde eine Kappa-Statistik der stichprobenartig untersuchten Auswertungen angefertigt. Lediglich die Auswertungen der mit Antikörper gegen CTGF und VEGF angefärbten Präparate blieben bei der Kappa-Statistik außen vor.

Bewertete Proben	Kappa-Wert [n = Stichprobengröße]
HE	0,89 [n = 10]
NF-kB	0,73 [n = 10]
FGF-BP	Nicht auszurechnen, da alle Werte übereinstimmen [n = 10]
TGF-beta 1	0,37 [n = 8]
TGF-beta 2	Nicht auszurechnen, da alle Werte übereinstimmen [n = 10]
TGF-beta-Rezeptor 1	0,39 [n = 10]
TGF-beta-Rezeptor 2	0,50 [n = 10]
VEGF	0,61 [n = 10]

Abb. 25 Tabelle der Kappa-Statistiken der einzelnen Auswertungen

Die unten abgebildete Tabelle gibt annäherungsweise einen Einblick, wie diese Kappa-Werte zu deuten sind. Daraus lässt sich ablesen, dass alle Auswertungen mindestens ausreichend, einige sogar gut bis sehr gut übereinstimmen.

Kappa	Grad der Übereinstimmung
0.00	Mangelhaft
0.01-0.20	Unerheblich
0.21-0.40	Ausreichend
0.41-0.60	Mittelmäßig
0.61-0.80	Wesentlich
0.81-1.00	fast perfekt

Abb. 26 Bewertungstabelle der Kappa-Statistik der einzelnen Auswertungen (Chuang, 2001)

4. Diskussion

Die von uns durchgeführten Untersuchungen zeigten, dass nahezu alle von uns untersuchten profibrotischen Gewebefaktoren bei der EPS vermindert waren. Dies betraf das TGF- β - , das CTGF- und Teile des FGF-Systems. Der einzige Faktor, der hochreguliert war, war VEGF.

4.1 Verkapselnde Peritonealsklerose (EPS)

4.1.1 Klinik der verkapselnden Peritonealsklerose (EPS)

Die Klinik der EPS ist charakterisiert durch eine intestinale Obstruktion. Dabei ist der Darm in der Regel diskontinuierlich befallen (Nakamoto, 2005).

Makroskopisch findet sich eine sklerotische Verdickung und Verkapselung des peritonealen Gewebes. Sind dabei benachbarte Darmschlingen betroffen und verwachsen, wird die Darmmotilität gestört und es kommt zum Ileus. Es wird auch eine Schädigung des Plexus myentericus als Mitauslöser diskutiert (Nakamoto, 2005).

Histologisch imponiert die Peritonealmembran als stark verdickt und umgewandelt in dichte Schichten von Bindegewebe. Dabei ist das Gewebe von mononukleären und polymorphnukleären Zellen infiltriert (Nakamoto, 2005).

Die Frühdiagnose der Erkrankung ist wichtig, da dann die Mortalität noch niedrig ist. Glücklicherweise mehren sich in letzter Zeit Berichte über positive Krankheitsverläufe (Nakamoto, 2005).

In den meisten Fällen schreitet die EPS langsam voran und bleibt asymptomatisch über einen langen Zeitraum. In seltenen Fällen treten die ersten Symptome allerdings schon nach einem Jahr nach Aufnahme der Peritonealdialyse auf. In Abbildung 27 sind die Symptome und klinischen Auffälligkeiten der EPS aufgelistet (Nakamoto, 2005).

Symptome und klinische Befunde	
<u>Zeichen des Ileus</u> <ul style="list-style-type: none"> • Appetitsverlust • Nausea und Vomitus • Völlegefühl • Abdominalschmerzen • Abwesenheit von Darmgeräuschen • Verstopfung • Diarrhö • Anorexie • Gewichtsverlust 	<u>Zeichen der Entzündung</u> <ul style="list-style-type: none"> • Fieber • Aszites • Fatigue • Gewichtsverlust <hr/> <u>Zeichen der peritonealen Verklebungen</u> <ul style="list-style-type: none"> • Blutiges Dialysat • Aszites • Abdominale Beschwerden • Abdominale Raumforderung

Abb. 27 Klinische Befunde bei der EPS (Nakamoto, 2005)

Die Symptome sind zu Beginn oft diffus und unspezifisch. Charakteristisch ist bei der EPS das intermittierende Auftreten der Symptome (Nakamoto, 2005).

4.1.2 Diagnostik der verkapselnden Peritonealsklerose (EPS)

4.1.2.1 Klinische Diagnostik

Eine frühzeitige Diagnose wird bei langjähriger Peritonealdialyse und Auftreten von klinischen Zeichen, wie sie in Abbildung 27 dargestellt sind, vermutet. Die Langzeit-Peritonealdialyse ist ein wichtiger Risikofaktor für die EPS (Nakamoto 2005). Die Inzidenz der EPS kann bei einer PD-Dauer von acht Jahren bis zu 19,4 % betragen (Rigby und Hawley, 1998). Es existiert keine pathognomonische Laboruntersuchung für EPS. Als Hinweise könnten eine Erythropoetin-refraktäre Anämie, Hypoproteinämie und erhöhte Plasmaspiegel von C-reaktivem Protein (CrP) gelten, obwohl sie nicht spezifisch für diese Erkrankung sind (Nakamoto, 2005).

Weiterhin kann man oft feststellen, dass die Dialyseeffizienz abnimmt. Der Massen-Transfer-Flächenkoeffizient von Kreatinin und Glukose steigt an und führt zu einem fortschreitenden Verlust der Ultrafiltrationsfähigkeit (Nakamoto, 2005).

Die Erhöhung der peritonealen Permeabilität zeigt die Entwicklung der Vorstufen einer EPS, dem sogenannten Prä-EPS-Stadium, an. Bei Patienten mit einem hohen Risiko für EPS könnte die Früherkennung der Erkrankung erleichtert werden, indem die Patienten regelmäßig im Hinblick auf Veränderungen der Flüssigkeitsausscheidung und der Permeabilität der Peritonealmembran untersucht werden würden (Nakamoto, 2005).

Die Beschaffenheit der Peritonealmembran kann mittels des peritonealen Äquilibrationstest (PET) beurteilt werden (Twardowski, 1990). Yamamoto et al. beschrieben, dass die Entwicklung eines Stadiums mit großen Transportvolumina über die Peritonealmembran bei Patienten beobachtet wurde, die später EPS entwickelten, nachdem die Peritonealdialyse abgesetzt worden war. Somit könnte solch ein Zustand als Frühmarker für die EPS dienen (Nakamoto, 2005).

Bei Untersuchungen der Dialyseflüssigkeit fielen nicht nur das Auftreten von Riesenzellen auf, sondern auch, dass die Größe der Mesothelzellen mit Dauer der Peritonealdialyse signifikant zunahm. Diese morphologischen Indikatoren könnten nützlich sein, um den richtigen Zeitpunkt zum Absetzen der Peritonealdialyse zu finden, um das Entstehen der EPS zu verhindern (Nakamoto, 2005).

Das sogenannte „cancer antigen“ 125 (CA 125) wird von Mesothelzellen produziert. Mit zunehmender PD-Dauer nimmt die Zahl der Mesothelzellen ab. Es ist nicht vollständig anerkannt, ob CA 125 als Marker für die Mesothelzell-Masse gelten kann (Nakamoto 2005). Eine Studie zeigte jedoch, dass CA125 extrem niedrige Werte bei Patienten mit EPS erreichte (Ho-dac-Pannekeet et al. 1997). Weitere Studien zeigten wiederum, dass es keine Beziehung zwischen CA 125-Spiegeln und PD-Dauer gibt (Lai et al., 1997; Kawanishi et al., 2000). Einige Studien zeigten sehr niedrige Werte von CA125 bereits sehr kurz nach Beginn der Peritonealdialyse (Nakamoto, 2005).

Andere peritoneale Marker wie Cytokine wurden als weitere Indikatoren für EPS vor-geschlagen. Erhöhte Werte für Interleukin 1 β (IL-1 β), IL-6, IL-8, „transforming growth factor- β 1 (TGF- β 1), „hepatocyte growth factor“ (HGF) and „platelet derived growth factor“ (PDGF) wurden im Aszites von PD-Patienten gefunden (Nakamoto 2005).

Der „vascular endothelial growth factor“ (VEGF) gilt als ein Mediator der Neoangiogenese. Erhöhte Werte von proinflammatorischen Cytokinen, IL-6 und dem proangiogenetischen VEGF tragen vermutlich zu einer Erhöhung des kleinmolekularen Stofftransports über die Peritonealmembran bei Peritonealdialyse-Patienten bei. Ob diese Parameter jedoch als Marker für die peritoneale Sklerose oder Fibrose verwendet werden können ist umstritten (Nakamoto, 2005).

4.1.2.2 Radiologische Diagnostik

In Abbildung 28 sind die wichtigsten radiologischen Befunde aufgelistet, die bei der EPS häufig erhoben werden. Obwohl die diagnostische Sensitivität der unten genannten Untersuchungen sehr hoch ist, können nur Klinik, Bildgebung und Pathologie zusammen endgültig Aufschluss darüber geben, ob es sich um EPS handelt (Nakamoto, 2005).

Untersuchungsmethode	Radiologische Befunde
<u>Röntgen-Abdomen</u>	<ul style="list-style-type: none"> • Dilatierte Dünndarmschlingen • Flüssigkeitsspiegel im Dünndarm • Verkalkungen des Peritoneums
<u>Kontrastmittel-Untersuchungen</u>	<ul style="list-style-type: none"> • Darmperistaltikstörungen • Abgeteilte, starre, dilatierte Darmabschnitte • Unterschiedliche Verstopfungsgrade begleitet von Abschnitten mit Hypermotilität
<u>Ultraschall</u>	<ul style="list-style-type: none"> • Dilatierte und miteinander verklebte Darmschlingen, die am Peritoneum anhaften • Intraperitoneal echogene Gewebestränge • Echogenes „sandwich“-förmiges Peritoneum • Dreischichtung der Darmwand
<u>CT/MRT</u>	<ul style="list-style-type: none"> • Unterschiedliche Durchmesser von Darmabschnitten • Verklebte, dilatierte Darmabschnitte • Verdickte Darmwand und Peritonealmembran • Erhöhte Dichte des mesenterialen Fettgewebes • Verkalkungen des Peritoneums • Eingeschlossene Flüssigkeitsansammlungen • Luft-Wasser-Spiegel, Darmverschluss und lokoregionärer Aszites

Abb. 28 Radiologische Befunde bei der EPS (Nakamoto, 2005)

4.1.2.3 Histologische Diagnostik

Durch die pathologischen Befunde wird versucht, histologische Diagnosekriterien für die EPS zu erstellen. Der typische makroskopische Befund ist die kokonartige Verkapselung des gesamten Darmtraktes (Honda und Oda, 2005).

Diese Verkapselung ist oft begleitet von Fibrinablagerungen, örtlichen Blutungen des Peritoneums und verschiedenen Mengen blutigen Aszites. Eine dünne Membran des visceralen Peritoneums trägt zu der Verkapselung des Darmes bei. Histologisch ist diese Membran aus organisiertem Fibrin aufgebaut, das wahrscheinlich von Plasmaexsudaten aus dem Gefäßnetz des Peritoneums stammt (Honda und Oda, 2005).

Im Vergleich zur Peritonealsklerose ergeben sich bei der EPS dramatische Veränderungen der Anatomie des Bauchraums. Das Mesenterium, der Magen, die Leber, die Milz, die Gallenblase, Beckenorgane und die Bauchwand können betroffen sein. Im Gegensatz zur Peritonealsklerose sind bei der EPS die Veränderungen eher im visceralen als im parietalen Peritoneum zu sehen (Garosi, 2003).

Der Durchmesser des Peritoneums ist nicht überall gleich, aber es wurden mit bis zu 4.000 μm sehr hohe Werte beobachtet (Garosi, 2003). Diese Werte sind weit über denen der Peritonealsklerose, die in einzelnen Arbeiten zwischen 20 μm (Rubin et al., 1991) und 270 μm (Williams et al., 2002) liegen. Daneben ist die Muskelschicht komprimiert, was bei der einfachen Peritonealsklerose nicht der Fall ist. Die Pathologie der EPS weist auf ein unabhängiges Geschehen hin, das auf dem Boden der Peritonealsklerose entstanden ist (Garosi, 2003).

Bei der EPS gibt es zelluläre Infiltrate im sklerotischen Gewebe. Dies wird bei der Peritonealsklerose nicht beobachtet. Es finden sich Leukozyten, Erythrozyten, Makrophagen und Riesenzellen (Garosi, 2003).

In manchen Regionen sind die Infiltrate parazellulär und es bilden sich dort Mikroabszesse. Anhäufungen von Entzündungszellen werden auch im Fettgewebe gefunden. Da die Entzündung unter dem Mesothel meistens relativ leicht ist und stärker wird, je tiefer die Zellschicht ist, ist die Biokompatibilität der PD-Lösung zunächst nicht direkt der Grund für diese Entzündung (Garosi, 2003).

Gefäßveränderungen sind weit verbreitet bei der EPS und Gefäßverschlüsse werden zur Regel. Dabei sind alle drei Wandschichten der arteriellen Gefäße betroffen. Verkalkungen des Peritoneums sind bei der Peritonealsklerose sehr selten, kommen aber bei der EPS fast regelmäßig vor. Manchmal ist das Peritoneum sogar verknöchert. Bei einem 20-jährigen Patienten befand sich in diesen Gebieten sogar Knochenmark-ähnliches Gewebe (Garosi, 2003).

Die morphologischen Veränderungen, die im Peritoneum von Patienten beobachtet wurden, die über lange Zeit CAPD durchgeführt hatten, umfassen die Abtragung von Mesothelzellen, submesotheliale interstitielle Fibrosierung und vaskuläre Sklerose. Zusammengenommen bezeichnet man diesen Komplex von Veränderungen als Peritonealsklerose (Di Paolo et al., 1986; Dobbie, 1992; Dobbie et al., 1994).

Er wird auch häufig in den Peritonea der EPS-Patienten beobachtet. Die Schlussfolgerung, dass die EPS einfach eine besonders schwere Form der Peritonealsklerose sei, ist aber falsch. Denn nicht alle Patienten, die von der Peritonealsklerose betroffen sind, entwickeln auch eine EPS. Für die Entstehung der EPS sind noch weitere auslösende Faktoren nötig. Dies sind vermutlich inflammatorische Stimuli, die beispielsweise von einer infektiösen Peritonitis ausgelöst werden (Honda und Oda, 2005).

Nach der „two hit“-Theorie der Pathogenese der EPS spielen Anbahnungsfaktoren, beispielsweise eine lange andauernde Peritonealdialyse als ersten „Schlag“ und die Manifestationsfaktoren, beispielsweise inflammatorischer Stimuli, als zweiter „Schlag“ eine Rolle bei der Entstehung dieser Erkrankung (Honda und Oda, 2005).

Die peritonealen Fibroblasten erscheinen geschwollen und hyperzellulär. Eine Vielzahl verschiedener Proliferations- und Transkriptionsfaktoren ist gleichzeitig vorhanden (Honda und Oda, 2005).

Basierend auf histologischen Untersuchungen wurden der Nachweis der Fibrinablagerung und die morphologisch veränderten Fibroblasten als wichtige Befunde für die frühe Diagnosestellung der EPS vorgeschlagen (Honda und Oda, 2005).

Histologische Diagnosekriterien für die EPS

- Fibrinablagerung
- Abtragung der Mesothelzellen
- Interstitielle Fibrose
- Schwellung der Fibroblasten
- Perivaskuläre Blutungen
- Kapillarangiogenese
- Mikrovaskuläre Sklerosierung
- Interstitielle Monozyten-Infiltration
- Anwesenheit immunhistochemischer Marker für Fibroblastenaktivierung und Fibroblastenvermehrung im Peritoneum

Abb. 29 Histologische Diagnosekriterien für die EPS (Honda et al., 2003)

Persistierende, entzündliche Veränderungen sind ein prädiktiver Faktor für das zukünftige Auftreten der Erkrankung (Honda und Oda, 2005).

Um histologische Diagnosekriterien aufzustellen, wurden Proben von Biopsien des Peritoneums von 69 Patienten untersucht. Darunter waren auch 12 Patienten mit EPS. Dafür wurde die Häufigkeit und die Ausprägung histologischer Parameter untersucht, wie sie schon oben in Abb. 8 dargestellt wurden (Honda et al., 2003). Zur Veranschaulichung wird die Abbildung noch einmal angeführt.

Diese Kriterien sind nicht spezifisch für die EPS, aber zusammen mit laparoskopischen Befunden liefern sie nützliche Informationen, um die Schwere der Erkrankung einschätzen zu können und eine frühe Erkennung und daran angepasste Therapie zu ermöglichen (Honda et al., 2003).

Die Einstufung jedes Parameters wurde mittels eines semiquantitativen Auswertungssystems bestimmt. Dabei entsprach der Grad 0 dem Normalbefund, Grad 1 einer schwachen Ausprägung, Grad 2 einer mäßigen Ausprägung und Grad 3 einer starken Ausprägung der Läsion (Honda et al., 2003).

Die Häufigkeit und die Ausprägung der Läsionen wurde dann bei fünf verschiedenen Patientengruppen miteinander verglichen. Die Gruppen waren zum einen die Patienten mit EPS [$n = 12$], eine Gruppe mit nicht bestätigtem Verdacht auf EPS (Prä-EPS) [$n = 5$], eine Gruppe mit infektiöser Peritonitis [$n = 20$], eine Gruppe mit Ultrafiltrationsverlust [$n = 25$] und eine Gruppe, die kurz davor die PD-Therapie begonnen hatte [$n = 20$] (Honda et al., 2003).

In der immunhistochemischen Untersuchung wurden die Expressionsmuster von „macrophage migratory inhibiting factor“ (MIF), „fibroblast growth factor“ (FGF), FGF-2-Rezeptor (Bek), α -„smooth muscle actin“ (α -SMA), Mib-1 (Ki-7) und Bcl-2 in den Fibroblasten der untersuchten Peritonea erfasst und die fünf oben genannten Gruppen miteinander verglichen (Honda et al., 2003).

In der EPS-Gruppe [$n = 12$] war die Häufigkeit der Fibrinablagerungen, der geschwollenen Fibroblasten, der Kapillarangiogenese und der Monozyteninfiltration signifikant höher als in der Non-EPS-Gruppe [$n = 57$]. Bei Betrachtung der Ausprägungen der histologischen Parameter waren die Ausprägungen der Fibrinablagerungen und der Fibroblastenschwellung in der EPS-Gruppe [$n = 12$] signifikant höher als in der Peritonitisgruppe [$n = 20$] (Honda et al., 2003).

Die Immunhistochemie wies eine verstärkte Expression der Wachstumsfaktoren für Fibroblasten auf. Beim Vergleich der EPS-Gruppe [$n = 12$] mit der Non-EPS-Gruppe [$n = 57$] war die Häufigkeit der positiv auf die Marker MIF, FGF, Bek, Mib-1 und Bcl-2 gefärbten Zellen in der EPS-Gruppe signifikant höher als in der Non-EPS-Gruppe. Jedoch wurden auch in den Peritonea der Patienten mit infektiöser Peritonitis diese Marker häufig gefunden. Damit erscheint es schwer, allein mit dieser Methode die EPS von anderen infektiösen Zuständen im Bauchraum zu differenzieren (Honda et al., 2003).

4.2 Peritonealfibrose

4.2.1 Mechanismen der Fibrosierung

Die Fibrose folgt als normale Reaktion auf eine Gewebsverletzung. In erster Linie ist diese Funktion als positiv anzusehen, führt sie doch meistens sukzessiv zur Neopithelialisierung. In anderen Organsystemen führt die gewebliche Umwandlung jedoch zur Dysfunktion des Gewebes.

Bei Patienten, die Peritonealdialyse durchführen, kann die Fibrosierung des Peritoneums zu einer Verminderung der Ultrafiltrationsfähigkeit und damit schließlich zu einer unzureichenden Dialyseleistung führen. Bei diesen Patienten kann die Peritonealfibrose aus verschiedenen Gründen entstehen. Die Zeitdauer der Peritonealdialyse ist mit dem Auftreten der peritonealen Fibrosierung positiv korreliert.

Die Ursache der Fibrosierung ist noch nicht geklärt. Eine Forschungsgruppe stellte bei Patienten, die Peritonealdialyse durchführen, eine Vaskulopathie und Neoangiogenese fest, während eine andere Gruppe ein erhöhtes α -„smooth muscle actin“ (α -sma) vorfand. Bei den meisten Gruppen fand sich ein totaler Verlust des Mesothels. Weiterhin scheint auch die Art des Dialysats die Fibrosierung zu beeinflussen. Hierbei scheinen die Glucose-Degradations-Produkte (GDP) und die „advanced glycation end products“ (AGE) die bedeutendste Rolle zu spielen (Garosi, 2003). Die Akkumulation von AGEs korreliert positiv mit peritonealer Fibrose und reduzierter Ultrafiltration (Honda et al., 1999).

Grundsätzlich scheint die Fibrosierung einer bestimmten Sequenz zu folgen, die über die Schritte Initiation, Progress und Stillstand oder Regress ablaufen (Garosi, 2003). Im Kapitel über TGF- β wird der Pfad beschrieben, über den nach heutigen Erkenntnissen die Entstehung der Fibrose über AGEs und ROS abläuft (Mason und Wahab, 2003).

Weiterhin wurden bisher vor allem PD-Lösungen verwendet, die als osmotische Grundsubstanz Glucose oder Dextrose benutzten. Diese führen jedoch auch über die Produktion von AGEs und GDPs zur Fibrose und damit zu einer Abnahme der Ultrafiltration. Neuere Lösungen enthalten z. B. Polyglucose (Icodextrin) als Grundsubstanz, die nicht in diesem Maße zur Produktion dieser Metabolite führen und nachweislich die Ultrafiltration länger aufrechterhalten können (Finkelstein et al., 2005). Schließlich kommen auch Aminosäuren als osmotische Agenzien zum Einsatz, denn es gehen 8–15 g an Proteinen täglich bei der PD verloren. Diese Substanzen enthalten keine Glucose und es werden deshalb keine GDPs hergestellt. Bei Verwendung eines Beutels täglich übertrifft die Aufnahme durch das Dialysat den Verlust der Proteine durch die PD. Weiterhin sind sie mit einem pH-Wert von 6,7 weniger azide (Wolfson und Jones, 1999).

Unterschiedliche Dialysate scheinen, wie oben erwähnt, in unterschiedlichem Maße zur Fibrose beizutragen. Saure PD-Lösungen, die zumeist Lactat als Puffer verwenden, schädigen das Peritoneum deutlich stärker als die neueren biokompatiblen PD-Lösungen. In einem sogenannten Zweikammersystem kann durch den Einsatz sowohl von Laktat als auch von Bikarbonat der normale pH-Wert im Peritoneum konstant erhalten bleiben bzw. wiederhergestellt werden. Da die Produktion von Glucose-Abbau-Produkten abhängig vom pH-Wert ist, werden durch den Einsatz solcher Doppelbeutel auch weniger solcher Metabolite hergestellt (Tauer et al., 2001).

Die Peritonealsklerose ist ein sehr häufig beobachtetes Merkmal bei Patienten mit Peritonealdialyse (Garosi, 2003). Williams und Rubin fanden bei allen untersuchten Fällen von PD-Patienten eine Fibrose (Rubin et al., 1991; Williams et al., 2002). Bei pädiatrischen Patienten fanden Schneble et al. eine frühe Form der Fibrose in 50 % der CAPD-Fälle bereits nach 6–12 Monaten Dialyse (Schneble et al., 1992). Garosi et al. beobachteten Zeichen der Peritonealsklerose nach zwei Jahren PD-Dauer in 80 % der Fälle (Garosi, 2003).

Die Peritonealsklerose gehört vermutlich zu den morphologischen Veränderungen, die sehr oft mit der Peritonealdialyse in Verbindung gebracht werden. Diese Veränderungen beginnen mit dem Umbau des Mesothels und gehen über submesotheliale Veränderungen in die Peritonealsklerose über (Garosi, 2003).

Die mesothelialen Veränderungen umfassen den Verlust an Mikrovilli, die Lockerung interzellulärer Haftungsstellen, runde Zellkerne mit erhöhtem Heterochromatin, Hyperplasie und degenerative Veränderungen des rauen endoplasmatischen Retikulums, Pyknose und Schwellung der Mitochondrien, kuboidale Umwandlung der Zelle, Ablösung von der Basalmembran und die Abtragung der Mesothelzellen (Garosi, 2003).

Zu den histologischen Veränderungen der submesothelialen Schichten gehören die Verdickung und Doppelung der mesothelialen Basalmembran, Ödeme, eine bescheidene Zellzunahme und das Vorhandensein von mikroskopisch kleinen Plastikpartikeln von Beuteln und Kathetern der Peritonealdialyse. Daher ist die Peritonealsklerose praktisch immer vorhanden bei Patienten mit Peritonealdialyse nach mehrmonatiger Therapie (Garosi, 2003).

Das Ausmaß der Fibrose ist bei der Peritonealsklerose im Gegensatz zur EPS begrenzt und betrifft nicht das komplette Peritoneum. Es ist vorwiegend das parietale Peritoneum betroffen. Die Dicke der Sklerose ist mit 20–270 µm Durchmesser bei weitem nicht so ausgeprägt wie bei der EPS (Garosi, 2003).

Es gibt keinen morphologischen Hinweis auf Verkalkungen und zelluläre Infiltrationen im Peritoneum. Peritoneale Verknöcherungen treten sehr selten auf. Die Gefäßveränderungen sind leicht ausgeprägt. Es besteht nur eine milde Verdickung der Gefäßwand und wenig Neoangiogenese. Insgesamt bietet sich ein monotones histologisches Bild. Weiterhin gibt es keinen Hinweis darauf, dass sich die Peritonealsklerose weiterentwickelt (Garosi, 2003).

4.2.3 Pathogenese der Peritonealsklerose

Wie oben bereits erwähnt, besteht immer noch Unklarheit über die grundsätzlichen Wege und Reaktionen, die zu der fibrotischen Umwandlung des Gewebes führen. Es existieren verschiedene Hypothesen. Aus diesem Grund erscheint es einleuchtend, dass es auf subzellulärer Ebene eine große Anzahl von Mediatoren gibt, die mit den oben genannten Mechanismen in Verbindung gebracht werden. Wie schon angeführt, haben wohl die Glucose-Degradations-Produkte (GDP) eine wichtige Bedeutung. Sie entstehen bei der Hitzesterilisierung, der die Dialyse-Lösungen während der Produktion unterzogen werden. Sie verändern die Mastzellfunktion und deren Proliferation (Nakamura und Niwa, 2004).

Die AGE werden als weniger potent als die GDP erachtet. Ihnen wird die Fähigkeit zugeschrieben, auf die Kollagenexpression einzuwirken. Sie steigern die Expression von TGF- β . AGE kommen zusammen mit VEGF vor und lagern sich im Interstitium und in den Gefäßwänden ab. Ihre Präsenz ist positiv korreliert mit der Fibrosierung und der Abnahme der Ultrafiltrationsfähigkeit des Peritoneums. glucosefreie Dialysate bewirken eine verminderte AGE-Konzentration (Nakamura und Niwa, 2004).

Weiterhin können die hitzesterilisierten Lösungen bakterielle Epitope enthalten, die dann über bekannte Entzündungskaskaden (IL-6, IL-8, Prostaglandinen, RANTES usw.) eine fibrotische Umwandlung bewirken. Auch auf anderen Wegen können bakterielle Infektionen fibrogenetische Effekte ausüben (Combet et al., 2001).

Versuche mit Adenoviren zeigen eine Hochregulierung fibrogenetischer Faktoren durch IL-1 und TNF- α . Genauer gesagt werden durch IL-1 Fibronectin, Kollagen und plasminogen activator inhibitor (PAI) hochreguliert (Combet et al., 2001).

Eine urämische Stoffwechsellage kann über eine Erhöhung der AGE eine verstärkte Expression von FGF2 bewirken und damit sukzessiv zur Fibrosierung führen (Combet et al., 2001).

Nachweislich werden TGF- β und FGF nach Episoden von Peritonitis hochreguliert, die wiederum zu einer Fibrosierung führen können (Combet et al., 2001).

Combet et al. berichteten, dass schon das Nierenversagen pathologische Veränderungen des Peritoneums induzieren kann. In einem Rattenmodell wurde durch subtotale Nephrektomie ein Zustand des Nierenversagens erzeugt. Beim Voranschreiten des Nierenversagens stieg die Aktivität der Nitrit-Oxid-Synthase im Peritoneum (Combet et al., 2001).

In Peritonea von Patienten mit Peritonealsklerose war die Expression der Nitrit-Oxid-Synthase in einer steigenden Anzahl von Kapillaren erhöht. Weiterhin fanden sich Ablagerungen von „advanced glycation end products“ (AGE) in den Gefäßwänden. Perivaskuläre Fibrosierung wurde auch im Peritoneum beobachtet (Honda et al., 1999).

Den Einfluss des Nierenversagens selbst auf die Verdickung des Peritoneums wurde an anderer Stelle ebenso beschrieben. Die Autoren hatten Proben aus Peritonea von neun gesunden Probanden und 25 Patienten mit chronischem Nierenversagen. Sie zeigten, dass das Peritoneum bei den Patienten signifikant verdickt war. Sie nahmen an, dass in diesen Peritonea schon eine gewisse Form der chronischen Entzündung existieren musste (Williams et al., 2002).

Es gibt drei experimentelle Tiermodelle zur Peritonealfibrose. Die Stoffe, die zur Induzierung der EPS verwendet wurden, waren Lipopolysaccharide (LPS), saure PD-Lösungen mit einem pH von 3,8 und Chlorhexidin Gluconat (CG). Bei den letzten beiden Methoden traten ähnlich Adhäsionen auf, wie sie bei der EPS bekannt sind. Beim CG Modell war das sub-mesotheliale Gewebe beträchtlich verdickt. Darüber hinaus zeigte sich eine erhöhte Anzahl von Gefäßen und eine verstärkte Ablagerung von Kollagen in diesem Gewebe (Honda et al., 1999).

Der Ursprung der erhöhten Anzahl der Fibroblasten in der submesothelialen Zone ist eine wichtige Frage. Yanez-Mo et al. beschrieben die Umwandlung von epithelalem zu mesenchymalem Gewebe von Mesothelzellen. Diese In-Vitro-Studie zeigte eine Umwandlung von peritonealen Mesothelzellen von epithelialen Zellen zu mesenchymalen Zellen. Dazu gehörte auch der Rückgang der Expression von Cytokeratinen und ϵ -Cadherin (Yanez-Mo et al., 2003). Immunhistochemische Untersuchungen von Proben aus Peritonea von PD-Patienten wiesen eine Expression von mesothelialen Markern, wie intercellular adhesion molecule 1 und Cytokeratin in Fibroblasten-ähnlichen Zellen, auf, die in der submesothelialen Zone gefangen waren. Dieser Entdeckung lässt vermuten, dass diese Fibroblasten-ähnlichen Zellen von Mesothelzellen abstammen (Yanez-Mo et al., 2003).

Die Peritonealsklerose ist wahrscheinlich ein unvermeidbarer Schritt bei der Entwicklung der EPS als Folge der PD (Miyazaki und Yuzawa, 2005). Sehr selten tritt die EPS in idiopathischer Form auf, in der kein Zusammenhang mit der PD besteht. Es wurde die Rolle des Kollagen-spezifischen Hitzeschockproteins 47 (HSP47) in der Phase der Vermehrung der extrazellulären Matrix untersucht. Dieses Protein ist unerlässlich bei der Produktion von Kollagen und wird mit fibrotischen Störungen in der Leber, der Lunge und den Nieren in Zusammenhang gebracht (Miyazaki und Yuzawa, 2005).

Untersuchungen zeigten eine erhöhte Expression von HSP 47 in fibrotischen Peritonea von PD-Patienten und ebenso in den Peritonea der Ratten, die mit CG behandelt worden waren. Der Grad der Expression von HSP 47 korreliert signifikant mit der Ansammlung von Kollagen Typ I und III bei Patienten und bei der mit CG induzierten Peritonealsklerose (Miyazaki und Yuzawa, 2005).

Um zu klären, welche Rolle HSP 47 bei der Entwicklung der Peritonealfibrose spielt, unterdrückten Nishino et al. die Expression von HSP 47 auf genetischer Ebene in einem CG-Ratten-Modell. Die hierfür verwendeten Antisense-Oligonukleotide unterbrachen die durch die Expression von HSP 47, Kollagen Typ I und III und α -SMA verursachten Veränderungen in den Peritonea der Ratten. Darüber hinaus bewirkte dies eine Reduktion der Anzahl der einwandernden Makrophagen und der Neoangiogenese (Nishino et al., 2003).

Da bei vielen Patienten mit EPS eine Kapillarangiogenese in deren Peritonea gefunden wird, haben einige Forscher die Auswirkung der Hemmung der Neoangiogenese in einem Mausmodell untersucht. Die Behandlung mit TNP-470 reduzierte die Anzahl von Gefäßen und hemmte die Verdickung des submesothelialen Gewebes (Yoshio et al., 2004). Eine andere Gruppe verwendete Angiostatin als anderen Hemmer der Angiogenese. Dabei konnte keine Reduktion der Dicke des Peritoneums erreicht werden, obwohl weniger Gefäße vorhanden waren (Margetts et al., 2002).

Schließlich wurde die Rolle von Angiotensin II (All) untersucht. Angiotensin II zeigen eine große Breite an biologischen Aktivitäten. Es wurde angenommen, dass All eine wichtige Rolle in der Peritonealsklerose spielt. In einem experimentellen Modell verringerten der ACE-Hemmer Benazepril und der Angiotensin-Rezeptor-Blocker Candesartan die Verdickung der submesothelialen Zone und die Anzahl der CD31 positiven Gefäße. Durch den AT-1-Hemmer wurde ebenfalls die Expression von „transforming growth factor“- β (TGF β) und „vascular endothelial growth factor“ (VEGF), die durch die Gabe von CG induziert waren, gehemmt (Nishino et al., 2003).

Sawada et al. zeigten, dass sich durch Hemmung des „angiotensin converting enzyme“ (ACE) die Peritonealsklerose in einem Mausmodell sogar zurückgebildet hatte, bei dem durch CG die Fibrose induziert worden war (Sawada et al., 2002). Heutzutage werden die ACE-Hemmer und die Angiotensin-II-Rezeptorblocker zur antihypertensiven und antiproteinurischen Therapie bei Patienten mit Nierenerkrankungen angewendet. Es bleibt jedoch zu klären, ob damit die Entstehung der Peritonealfibrose verhindert werden kann (Nishino et al., 2003).

Ein Schlüsselfaktor, der direkt mit der Kollagenproduktion assoziiert wird, ist der „transforming growth factor“- β (TGF- β). Margetts et al. zeigten eine direkte Auswirkung von TGF- β auf die Verdickung des Peritoneums. Der Gentransfer von TGF- β induziert eine Verdickung des Peritoneums, die sich selbst zurückbildet. Decorin, ein natürlicher Inhibitor von TGF- β , verhinderte die peritoneale Verdickung. Diese Studien zeigen, dass durch die Steuerung dieses Wachstumsfaktors das Voranschreiten der Peritonealfibrose moduliert werden könnte (Margetts et al., 2001).

Die Rolle der Entzündung bei der Entwicklung der Peritonealfibrose bleibt unklar. Bei histologischen Untersuchungen fand sich nur eine geringfügige Infiltration mit Makrophagen, jedoch waren die Spiegel von Interleukin-6 (IL-6) und IL-1 β erhöht im Aszites von Patienten und in experimentellen EPS-Modellen (Nishino et al., 2003).

Um die direkte Rolle einer Entzündung in der Peritonealfibrose zu untersuchen, führten Margetts et al. einen Gentransfer von IL-1 β und TNF α in das Peritoneum einer Ratte durch. In beiden Fällen entwickelte sich eine Verdickung des Peritoneums und eine Einspritzung von Gefäßen. Bei TNF α bildeten sich die Veränderungen zurück, bei IL-1 β jedoch nicht (Margetts et al., 2002).

Die Ultrafiltration nahm in beiden Fällen ab, normalisierte sich aber im Fall von TNF- α . Damit zeigte sich, dass beide Faktoren auch Einfluss auf die Funktion des Peritoneums haben. Daraus schlossen die Autoren, dass die Entzündung eine wichtige Rolle spielen muss sowohl in der Fibrosierung als auch in der Verschlechterung der peritonealen Funktion (Margetts et al., 2002).

4.3 Verknöcherung der Peritonealmembran

Bei mehreren Patienten, die an EPS leiden, fanden sich Verknöcherungen im Peritoneum, im Knochenmark und in den Arterien. Bei dieser heterotopen Ossifikation finden sich Kalziumschichten, Osteoklasten und Knochenschichten im Gewebe. Weiterhin fand sich bei diesen Patienten ebenfalls eine lymphozytäre Infiltration, was zu der Hypothese führte, dass die Entzündung „trigger“ für die Ossifikation ist (Di Paolo et al., 2004).

Die Monozyten-Makrophagen-Sequenz spielt eine wichtige Rolle im Knochen-Metabolismus (Di Paolo et al., 2004).

Bei allen Patienten, die an der peritonealen Verknöcherung litten, fanden sich zum Zeitpunkt der Diagnosestellung erhöhte Serum-AP-Werte und hohe CRP-Werte. Diese Patienten hatten im Vergleich zu anderen Patienten, die mit CAPD therapiert wurden, weniger Peritonitis-Episoden und waren kürzer an der Peritonealdialyse. Patienten, bei denen sich eine Verkalkung des Peritoneums fand, waren länger an der PD. Die Dialysedauer war bei den Patienten, die an der EPS leiden, am längsten (Di Paolo et al., 2004).

Dies führte zu der Hypothese, dass es eine Sequenz gibt, die als Funktion der Zeit wirkt und über die Schritte Verknöcherung, Verkalkung und schließlich EPS läuft. Die Patienten mit peritonealer Ossifikation wiesen schwerwiegendere Entzündungszeichen auf als Patienten mit EPS. Diese Tatsache wurde erklärt mit dem fortschreitenden Verlust des Mesothels und damit der Fähigkeit zur Expression von Transkriptions- und Wachstumsfaktoren im Verlauf der oben genannten Sequenz (Di Paolo et al., 2004).

4.4 Cytokine und Wachstumsfaktoren

4.4.1 „nuclear factor“ κ B (NF- κ B)

In chronischen Entzündungskrankheiten wie Asthma bronchiale, chronisch entzündliche Darmerkrankung oder Psoriasis werden durch die chemotaktische Aktivität bestimmter Cytokine aktivierte Immunzellen an den Ort der Läsion gelockt. Dadurch wird die entzündliche Aktivität verstärkt und durch diese Zellen wiederum neue Chemokine produziert, die neue Immunzellen anlocken können (Barnes und Karin, 1997).

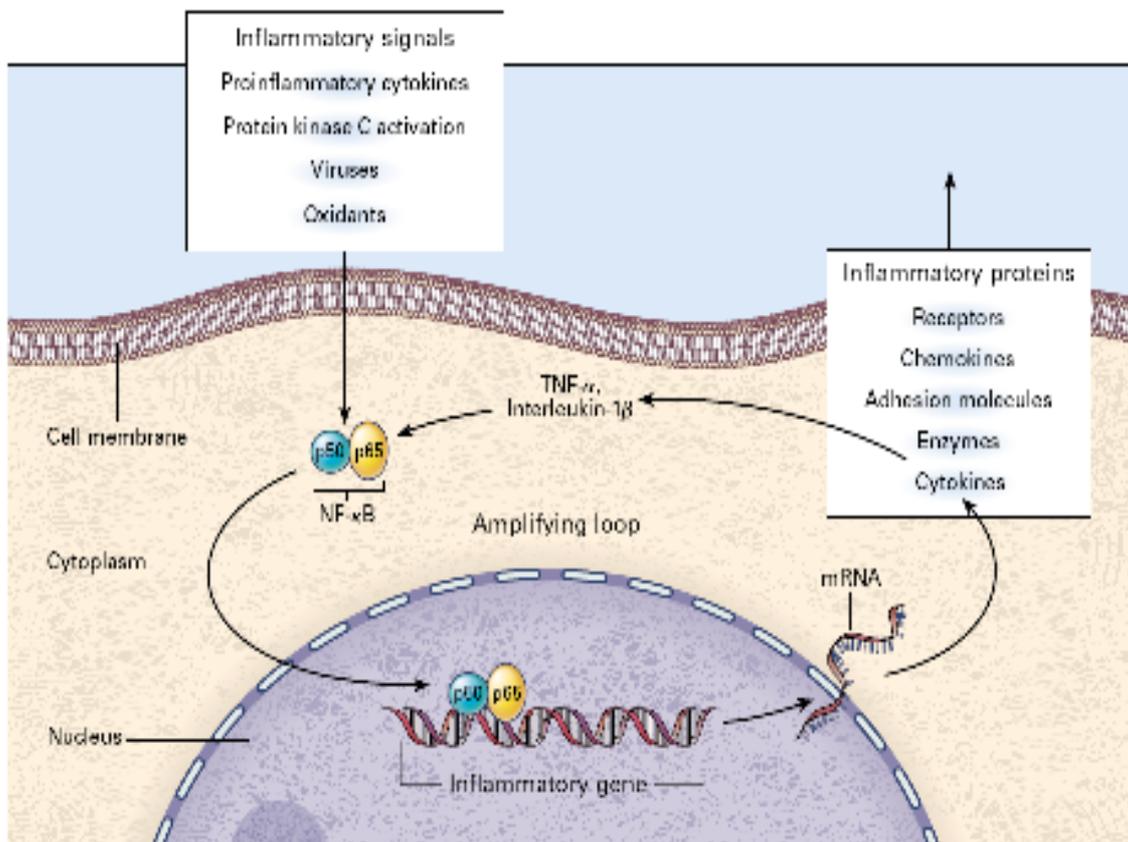


Abb. 30 NF - κ B – Pathway. NF - κ B = „nuclear factor“ κ B, TNF- α = Tumor Nekrose Faktor- α (Barnes und Karin, 1997)

Was genau der Grund für die Entstehung einer solchen chronischen Entzündung ist, ist leider noch nicht vollständig geklärt. Es gibt bestimmte Gene, die für die Atopie bei Asthma bronchiale oder für HLA-Antigene bei der rheumatoiden Arthritis und bei chronisch entzündlichen Darmerkrankungen codieren. Diese Gene könnten entscheiden, ob ein Mensch anfällig für eine chronische Entzündung ist und wie schwer diese Erkrankung verläuft. Aber eine ebenso bedeutende Rolle scheinen Umweltfaktoren zu spielen, die teilweise noch unbekannt sind und den Verlauf einer solchen Erkrankung bestimmen können (Barnes und Karin, 1997).

Heutzutage versteht man die molekularen Mechanismen besser, nach denen Umweltfaktoren den genetischen Code verändern können. Es gibt genspezifische Faktoren, die durch Bindung an spezifische Bindungsstellen die Transkription bestimmter Gene vorantreiben. Dadurch wird vermehrt mRNA gebildet und sukzessiv verstärkt das Genprodukt gebildet (Barnes und Karin, 1997).

Es wurden mehrere verschiedene Formen von NF- κ B Proteinen entdeckt. Die aktivierte Form von NF- κ B ist ein Heterodimer, das üblicherweise aus den beiden Proteinen p65 und p50 aufgebaut ist. Außer p50 und p65, das auch relA genannt wird, können noch andere Untereinheiten wie rel, relB, v-rel und p52 Teil des aktivierten NF- κ B sein. Verschiedene Formen von NF- κ B aktivieren vermutlich verschiedene Zielgene (Barnes und Karin, 1997).

In inaktivierten Zellen liegt NF- κ B an I κ B α und I κ B β gebunden vor, womit verhindert wird, dass NF- κ B in den Kern eindringen kann. Werden diese Zellen aktiviert, phosphorylieren spezifische Kinasen I κ B, das dann von Proteasomen degradiert wird (Barnes und Karin, 1997).

Nachdem NF- κ B von I κ B befreit wurde, wird es in den Kern transportiert, wo es an spezifische Sequenzen in der Promotor-Region des Zielgens bindet und die Transkription dieses Gens vorantreibt (Barnes und Karin, 1997).

Da das I κ B α -Gen eine κ B-Erkennungssequenz in seiner Promotorregion hat, induziert NF- κ B die Synthese von I κ B α . I κ B α bindet im Nucleus an das aktivierte NF- κ B und führt es in das Cytoplasma. Dadurch kommt es zur Terminierung der Transkription. In I κ B α -„knockout“-Mäusen kommt es entsprechend zu einer verlängerten NF- κ B-Wirkung an der DNA (Barnes und Karin, 1997).

Aktivierende Stimuli für NF-κB	
Cytokine	<ul style="list-style-type: none"> • Tumor Nekrose Faktor-α (TNF-α) • Interleukin-1 β (IL-1β) • Interleukin-17 (IL-17)
Proteinkinase C Aktivatoren	<ul style="list-style-type: none"> • Phorbolster • Blutplättchen aktivierender Faktor (PAF)
Oxidantien	<ul style="list-style-type: none"> • Wasserstoffperoxid • Ozon
Viren	<ul style="list-style-type: none"> • Rhinovirus • Influenzavirus • Epstein-Barr Virus • Cytomegalievirus • Adenovirus
Immunstimulatoren	<ul style="list-style-type: none"> • Phytohämagglutinin • Anti-CD3-Antikörper (durch T-Zell-Aktivierung)

Abb. 31 Aktivierende Stimuli für NF- κ B (Barnes und Karin, 1997)

NF- κ B kann durch mehrere Stoffe aktiviert werden, vor allem Cytokine, Aktivatoren von Proteinkinase C, Viren und Oxidationsmittel. Antioxidantien wie Acetylcystein könnten die Phosphorylierung von I κ B verhindern und so die Aktivierung von NF- κ B unterdrücken (Barnes und Karin, 1997).

NF- κ B reguliert die Genexpression vieler Proteine, die in Entzündungsprozessen und Immunantworten involviert sind. Diese Funktion hat es allerdings nicht allein inne. Andere Transkriptionsfaktoren wie AP-1 und der nukleäre Faktor von Il-6 sind ebenso an der Regulierung von Immunprozessen beteiligt (Barnes und Karin, 1997).

NF- κ B wirkt auf die Gene entzündungsfördernder Cytokine oder Chemokine und auf Enzyme, die die Produktion von Entzündungsmediatoren katalysieren. Ebenso hat es einen Einfluss auf die Entstehung von Adhäsionsmolekülen und Immunrezeptoren. Es führt zu einem koordinierten Anstieg der Genexpression von Stoffen, die Entzündungsprozesse und Immunantworten verstärken (Barnes und Karin, 1997).

Durch NF-κB regulierte Proteine	
Proinflammatorische Cytokine	<ul style="list-style-type: none"> • Tumor Nekrose Faktor-α (TNF-α) • Interleukin-1 β (IL-1β) • Interleukin-2 • Interleukin-6 • Granulozyten-Makrophagen kolonie-stimulierender Faktor (GM-CSF) • Makrophagen kolonie-stimulierender Faktor (M-CSF) • Granulozyten kolonie-stimulierender Faktor (G-CSF)
Chemokine	<ul style="list-style-type: none"> • Interleukin-8 • Makrophagen inflammatorisches Protein 1 α • Makrophagen chemotaktisches Protein 1 • Gro-α, -β, -γ • Eotaxin
Inflammatorische Enzyme	<ul style="list-style-type: none"> • Nitritoxidsynthase • Cyclooxygenase-2 (COX-2) • 5-Lipoxygenase
Adhäsionsmoleküle	<ul style="list-style-type: none"> • Interzelluläres Adhäsionsmolekül 1 • Vaskuläres Zelladhäsionsmolekül 1 • E-Selektin
Rezeptoren	<ul style="list-style-type: none"> • Interleukin-2-Rezeptor (α-Kette) • T-Zell Rezeptor (β-Kette)

Abb. 32 Durch NF- κ B regulierte Proteine (Barnes und Karin, 1997)

Genprodukte von Genen, die durch NF- κ B aktiviert wurden, bewirken wiederum die Aktivierung von NF- κ B. So werden IL-1 β und TNF- α sowohl von NF- κ B aktiviert als auch NF- κ B von ihnen. Endotoxin (LPS) wirkt aktivierend auf NF- κ B (Blackwell und Christman, 1997).

NF- κ B spielt eine bedeutende Rolle in chronischen Entzündungserkrankungen, wie Asthma bronchiale, rheumatoider Arthritis, Psoriasis und chronisch entzündlicher Darmkrankheit. Es aktiviert unter anderem die Cyclooxygenase-2, die zur Induktion von Thromboxanen und Prostaglandinen führt. Durch die entstehenden Genprodukte werden vermehrt Neutrophile gebildet und vermehrt Leukozyten an den Ort der Entzündung gelockt (Barnes und Karin, 1997).

NF- κ B kann in vivo durch Corticosteroide und Antioxidantien gehemmt werden. Manche Genprodukte wie TNF- α können mit entsprechenden Antikörpern eingedämmt werden (Barnes und Karin, 1997).

4.4.2 “transforming growth factor”- β (TGF- β)

In menschlichen Geweben benötigt die Homöostase exakt ausbalancierte Interaktionen zwischen den Zellen und dem Netz von sezernierten Proteinen, das man extrazelluläre Matrix nennt. Diese Interaktionen laufen über spezifische Rezeptoren ab, an denen die entsprechenden Cytokine binden. Diese Cytokine sind in einer Vielzahl vorhanden und was passiert, wenn die Balance zwischen den Zellen und der extrazellulären Matrix gestört wird, kann man am Beispiel von TGF- β betrachten (Blobe et al., 2000).

TGF- β gehört zu einer Familie von Cytokinen, die auch Aktivine und Knochenmorphogene Proteine (KMP, BMP) umfasst. Dabei handelt es sich um dimere Polypeptide. TGF- β wird praktisch von allen Zellen des Körpers produziert. Dazu gehören epitheliale, endotheliale, hämatopoetische, neuronale und Bindegewebszellen. Alle diese Zellen haben einen Rezeptor für TGF- β (Blobe et al., 2000).

TGF- β reguliert die Proliferation und Differenzierung von Zellen und deren embryonale Entwicklung, Wundheilung und Angiogenese. Um die Rolle von TGF- β bei diesen Vorgängen zu demonstrieren, wurden bei Mäusen die entsprechenden Gene gezielt ausgeschaltet (Blobe et al., 2000).

Die TGF- β -Rezeptoren gehören zur Familie der „aktivin-like“ Kinase (ALK) Rezeptoren. Die Cytokine binden an den TGF- β -Rezeptor Typ II, der daraufhin den TGF- β -Rezeptor Typ I rekrutiert und aktiviert. Der TGF- β -Rezeptor Typ III moduliert die Interaktion zwischen dem TGF- β und seinen Rezeptoren. Der TGF- β -Rezeptor Typ I löst dann durch seine Serin-Threonin-Kinase-Aktivität eine Kaskade von Transduktionsfaktoren aus, die fast ausschließlich über die Schiene der SMAD-Proteine läuft (Blobe et al., 2000).

TGF- β I liegt intrazellulär in inaktiver Form und an das Latenz-assoziierte Protein gebunden vor. Es wird durch Integrin α 6 β , Thrombospondin, Plasmin oder Kathepsin abgespalten und dadurch aktiviert. Das ungebundene, aktive TGF- β wird moduliert durch Matrix-assoziierte Proteoglykane wie Decorin und Biglykan. „connective tissue growth factor“ (CTGF), das durch TGF- β 1 induziert wird, verstärkt seinerseits die Aktivität von TGF- β 1 durch Bindung mit ihm (Blobe et al., 2000).

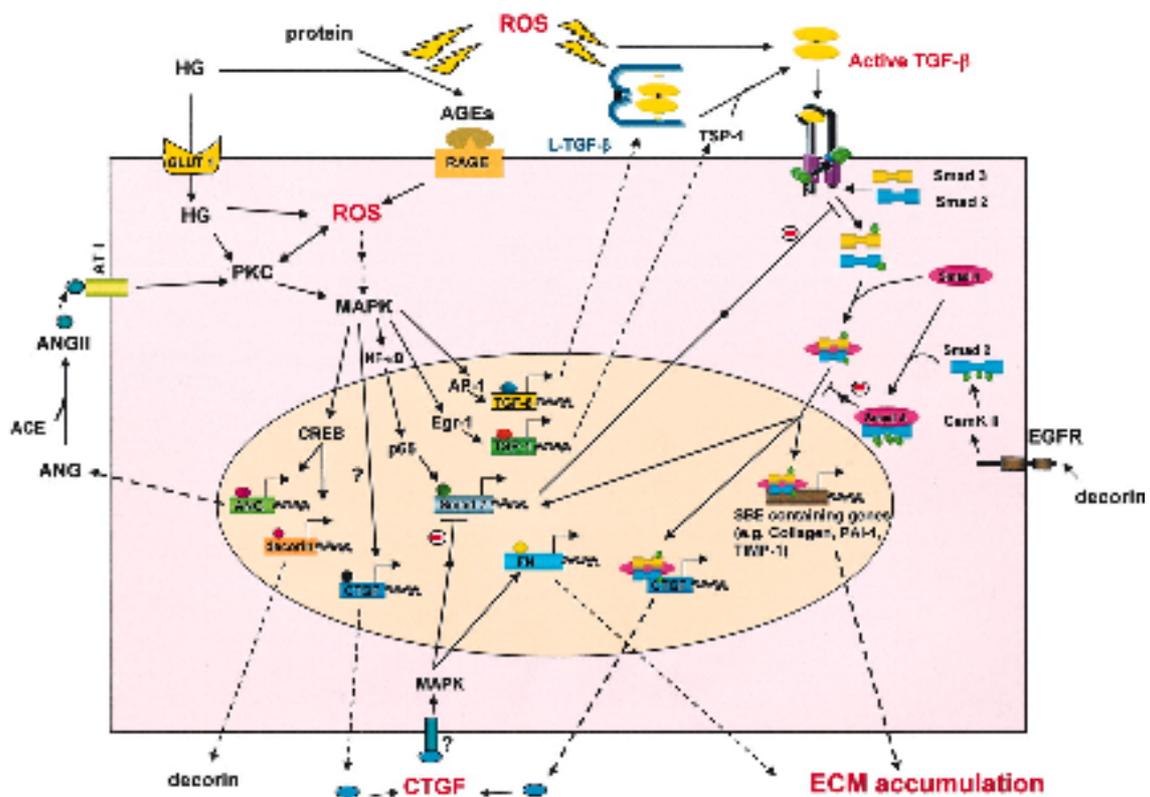


Abb. 34 Metabolismus der extrazellulären Membran. ROS = „reactive oxygen species“, TGF- β = „transforming growth factor“- β , HG = „high glucose“, AGE = „advanced glycation end products“, TSP-1 = Thrombospondin-1, GLUT 1 = Glucose-1-Rezeptor, PKC = Protein Kinase C, AT1 = Angiotensin-II-Rezeptor-Subtyp-1, ANG = Angiotensin, ANG II = Angiotensin II, ACE = „angiotensin converting enzyme“, MAPK = „mitogen-activated protein kinase“, CTGF = „connective tissue growth factor“, ECM = Extrazellulärmatrix, EGFR = „endothelial growth factor receptor“ CamK II = „calmodulin-dependent protein kinase“, FN = Fibronectin, CREB = „cAMP response element-binding“ Protein, NF- κ B = „nuclear factor“ κ B, p65 = Untereinheit von NF- κ B, AP-1 = Aktivatorprotein-1, Egr-1 = „early growth response“-1 Protein, PAI-1 = „plasminogen activator inhibitor“-1, TIMP-1 = „tissue inhibitor of metalloproteinase“-1, SBE = „smad binding element“ (Mason und Wahab, 2003)

Es gibt Anzeichen dafür, dass TGF- β 1 im Peritoneum während Episoden von Peritonitis hochreguliert wird. Eine erhöhte TGF- β -Konzentration im Dialysat korreliert mit einem schlechteren Dialyseergebnis für den Patienten (Blobe et al., 2000).

Wie weiter oben schon beschrieben, spielen die sogenannten AGEs eine bedeutende Rolle in der Aktivierung von TGF- β . Durch diese Stoffe entstehen vermehrt sogenannte „reactive oxygen species“ (ROS), die direkt zur Aktivierung von TGF- β führen können (Mason und Wahab, 2003)

Neben TGF- β 1, TGF- β 2 und TGF- β 3 sind noch andere Cytokine am fibrogenetischen Prozess beteiligt. „platelet derived growth factor“ (PDGF), „fibroblast growth factor“ (FGF) und CTGF tragen zur Initiation der Fibrogenese bei. „plasminogen activator inhibitor“-1 (PAI-1) wird von TGF- β ₁ hochreguliert und hat verschiedene Auswirkungen als Fibrinolyse-Hemmer und im Kollagen-Stoffwechsel (Blobe et al., 2000).

Durch die Einwirkung von PAI-1 im frühen Stadium der peritonealen Fibrosierung entsteht das Gerüst für die Peritonealfibrose durch die Hemmung der Fibrinolyse sowie durch die sukzessive Ansammlung von Fibringewebe (Wu et al., 1991; Powers et al., 2000).

4.4.3 “fibroblast growth factor-binding protein” (FGF-BP)

FGF ist ein bedeutender Wachstumsfaktor für Fibroblasten und Endothelzellen (Folkman und Shing, 1992). Es sind derzeit 20 Isoformen des Proteins bekannt (FGF 1–20) (Wu et al., 1991; Powers et al., 2000) FGF 1 und 2 binden nicht kovalent an das FGF-Bindeprotein (FGF-BP). Das FGF-BP ist ein 17 kD schweres, heparinbindendes Protein. FGF-BP löst FGF aus der extrazellulären Matrix, es verhindert deren Degradation und vermittelt die Interaktion mit den Rezeptoren (Wu et al., 1991).

Neben dem Vorkommen bei Plattenepithel-Karzinomen konnte es bei Mäusen während der Embryogenese in Haut, Darm und Lunge nachgewiesen werden. Nach der Geburt wird es dann in Haut und Darm herunterreguliert und kommt nur noch in Lunge und Ovarien vor (Kurtz et al., 1997).

Bei erwachsenen Ratten, bei denen die Aminosäuresequenz von FGF-BP zu 70 % homolog derer von Menschen ist, findet man FGF-BP in Retina, Lunge, Gastrointestinaltrakt, Haut, Plexus choroideus und den Purkinjezellen des Kleinhirns (Aigner et al., 2000).

Dieser Faktor könnte vor allem durch seine chemotaktische Funktion für Fibroblasten eine Rolle bei der Entwicklung der EPS spielen.

4.4.4 “connective tissue growth factor” (CTGF)

CTGF wird bei der Wundheilung und bei Fibrose stark exprimiert. Nach heutigem Wissensstand wird die fibrogenetischen Eigenschaft von TGF- β durch CTGF vermittelt (Zarrinkalam et al., 2003; Oemar und Lüscher, 1997). Es ist ein Cystein-reiches, aus 349 Aminosäuren bestehendes Polypeptid mit einem Gewicht von 36 bis 38 kD (Oemar und Lüscher, 1997).

Im menschlichen Organismus kommt es in Herz, Lunge, Leber, Muskel, Niere und Pankreas vor, wobei es am häufigsten in der Niere vorkommt. Es wird in Nabelvenen gefunden. Dort lockt es mit seiner chemotaktischen Funktion Fibroblasten an, die post partum zum Verschluss der Vene beitragen sollen (Zarrinkalam et al., 2003).

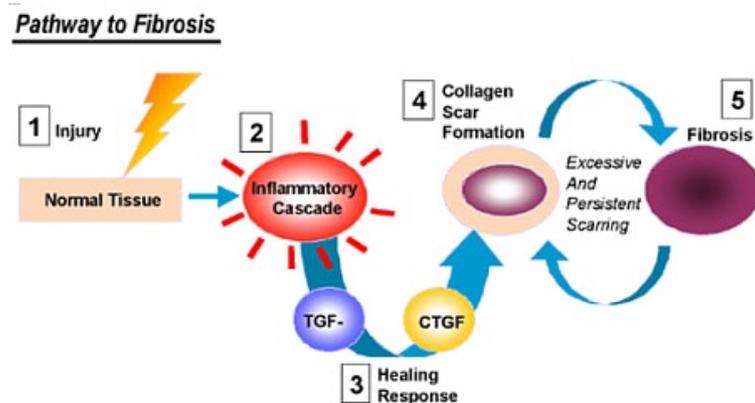


Abb. 35 Pathogenese der Fibrose. TGF = “transforming growth factor”, CTGF = “connective tissue growth factor” (Codes, Asselah et al. 2007)

CTGF-mRNA war in peritonealen Mesothelzellen exprimiert, die aus dem Dialysat von Patienten mit Peritonealdialyse gewonnen worden waren. CTGF wurde von den Mesothelzellen synthetisiert. In Phasen von Peritonitis wurde verstärkt CTGF produziert. CTGF trägt zur Fibrosierung des Peritoneums bei CAPD-Patienten bei. Diese Fibrosierung ist offenbar das Resultat ständiger Exposition mit der Dialyseflüssigkeit und der darauf folgenden fehlgeleiteten Wundheilung. Die CTGF-mRNA war durch das Vorhandensein von TGF- β hochreguliert (Oemar und Lüscher, 1997).

Möglicherweise trägt CTGF auch zur Atherosklerose bei. Die Anwesenheit von CTGF-mRNA wurde in atherosklerotischen Arterien nachgewiesen (Oemar et al., 1997), wohingegen es in gesunden Gefäßen nicht zu finden war (Oemar und Lüscher, 1997).

Weiterhin wird CTGF eng mit der Pathogenese von Morbus Alzheimer in Verbindung gebracht. Es könnte eine Schlüsselrolle spielen bei der Ablagerung von Proteinen im Gehirn bei der Entwicklung der Erkrankung (Ueberham et al., 2003).

Zusammengefasst kann man sagen, dass es durch die obengenannten fibrogenetischen Fähigkeiten und die verstärkte Expression in der Phase der Entzündung sehr wahrscheinlich ist, dass CTGF auch eine Rolle bei der Entwicklung der EPS spielt, bei der solche Prozesse ebenfalls ablaufen.

4.4.5 “vascular endothelial growth factor” (VEGF)

VEGF ist ein homodimerisches Protein mit einem Molekulargewicht von 34–42 kD. Bei seiner Erstbeschreibung wurde es „vascular permeability factor“ (VPF) genannt, weil man herausgefunden hatte, dass es zu einer endothelialen Hyperpermeabilität führen kann (Byrne et al., 2005). 1989 wurde ein Wachstumsfaktor identifiziert, der endotheliale Zellen zum Wachstum anregte. Er wurde „vascular endothelial growth factor“ genannt und erwies sich als identisch mit dem VPF (Ferrara und Henzel, 1989).

Die VEGF-Superfamilie beinhaltet mehrere Isoenzyme. Neben dem VEGF-A, das als VEGF im eigentlichen Sinne bezeichnet wird, gibt es noch VEGF-B, -C, -D, -E und den „placental growth factor“ (PLGF). Während VEGF-A vor allem an der Angiogenese beteiligt ist, spielen VEGF-B und -C eine wichtige Rolle in der Lymphangiogenese (Byrne et al., 2005). VEGF-B kommt gehäuft in Herz, Skelettmuskel und Pankreas vor und scheint durch seine parakrine Aktivität die endotheliale Zellfunktion zu regulieren (Olofsson et al., 1996). Weiterhin wurde es auch bei Astrozytomen (Gollmer et al., 2000) und Plattenepithelkarzinomen (Shintani et al., 2004) gefunden. Hohe Spiegel von VEGF-B und -C sind mit Lymphknotenmetastasen bei colorektalen Karzinomen assoziiert (Kawakami et al., 2003).

Die VEGF-Rezeptoren sind hochaffine Tyrosinkinasen, die in drei Isoformen vorkommen. VEGFR-1 und -2 findet man am vaskulären Endothel, während VEGFR-3 am häufigsten am lymphatischen Endothel vorkommt. Die Subfamilien der Rezeptoren von VEGF und „platelet derived growth factor“ (PDGF) sind strukturell und funktionell sehr ähnlich und scheinen evolutionär eng miteinander verwandt zu sein (Neufeld et al., 1999).

Die Hauptfunktion von VEGF liegt in der Induktion von Proliferation und der Erhaltung der Zellen, weiterhin verstärkt es die Zellmigration. Diese Funktionen werden intrazellulär über mehrere Boten- und Effektorstoffe weitergeleitet (Byrne et al., 2005).

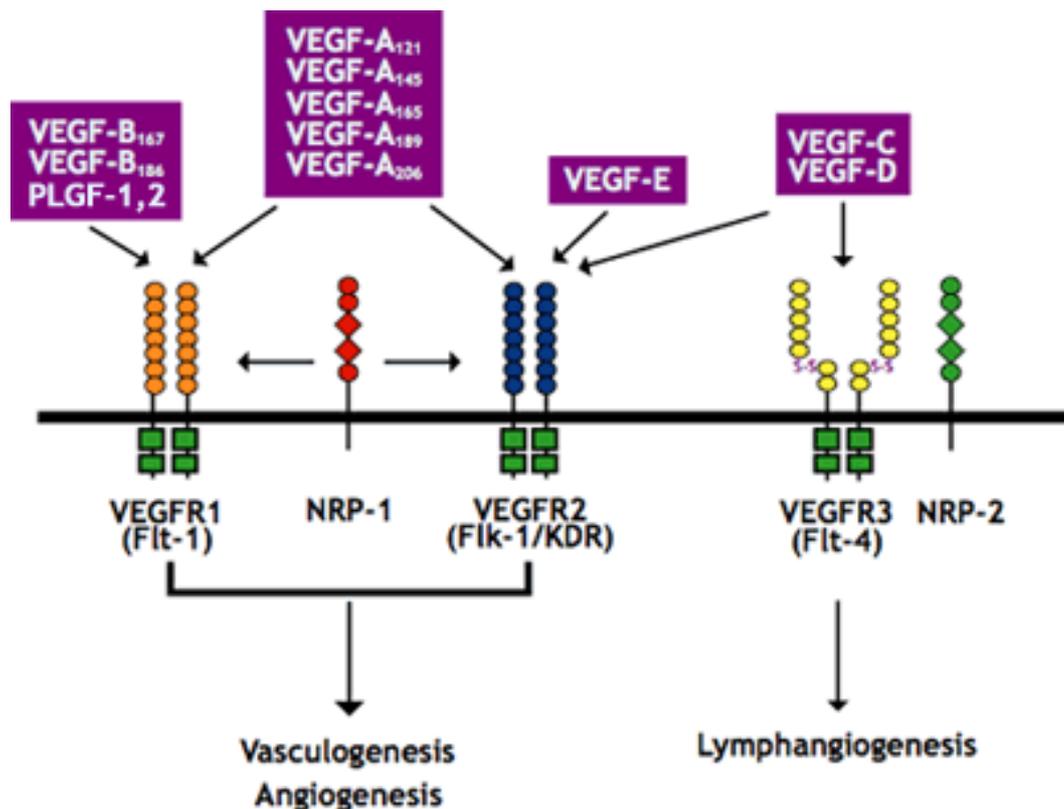


Abb. 36 VEGF-Pathway. VEGF = „vascular endothelia growth factor“, VEGFR = „vascular endothelial growth factor“ Rezeptor, NRP = Neuropilin (Hicklin und Ellis, 2005)

Im normalen gesunden erwachsenen Organismus liegt die Aufgabe von VEGF in der Wundheilung und in der Regulierung der folliculären und lutealen Entwicklung im weiblichen Fortpflanzungssystem und in der Embryogenese (Reynolds und Redmer, 1998).

VEGF spielt auch in vielen pathophysiologischen Situationen eine Rolle. Bei Patienten mit rheumatoider Arthritis wurden erhöhte VEGF-Spiegel in der Synovia gefunden (Walsh et al., 1998). Dort scheint es auch in hypoxischen Zuständen vermehrt ausgeschüttet zu werden, um dem Mangel an Sauerstoff durch Neoangiogenese Herr zu werden (Lee et al., 2001). Bei Patienten mit Diabetes kann es durch einen hyperglykämischen, pseudo-hypoxischen Zustand zur Induktion von VEGF kommen, was zur diabetischen Mikroangiopathie beitragen kann (Tilton et al., 1997).

Tumoren benötigen ab einem Durchmesser von ca 2-3 mm³ eine zusätzliche Blutversorgung, um den gestiegenen Bedarf an Sauerstoff und Nährstoffen zu befriedigen. Sie erreichen das durch Ausschütten von angiogenetischen Wachstumsfaktoren wie VEGF (Brown et al., 1997). Eine erhöhte VEGF-Produktion eines Tumors ist mit vermehrter Metastasierung, Resistenz gegenüber Chemotherapie und einer schlechteren Prognose assoziiert (Toi et al., 1996).

Die neugebildeten Gefäße haben aber nicht die gleiche Stabilität und sind brüchiger. Durch diese Gefäße können aufgrund ihrer Hyperpermeabilität Plasmaproteine entweichen und es entsteht Aszites. Das wurde auch bei den ersten Untersuchungen von VEGF beobachtet, konnte es doch in hoher Konzentration im Aszites von soliden Tumoren gefunden werden (Senger et al., 1983).

Angiogenese beruht auf der Balance zwischen pro-angiogenetischen und anti-angiogenetischen Faktoren. Durch das Tumorwachstum wird eine Imbalance zugunsten der pro-angiogenetischen Faktoren geschaffen, was als „angiogenic switch“ bezeichnet wird (Hanahan und Folkman, 1996). VEGF hat eine autokrine Funktion (Nor et al., 1999; Gerber et al., 2002; Brusselmans et al., 2005), womit es die Tumorzellen vor Hypoxie, Radio- und Chemotherapie schützen kann (Harmey und Bouchier-Hayes, 2002).

Alscher et al. zeigten, dass in den Peritonea der PD-Patienten die Konzentration der Mastzellen im Vergleich zur Kontrollgruppe deutlich erhöht war. Es bestand eine starke positive Korrelation zwischen der Anzahl der Mastzellen und der Vasculopathie. Mastzellen enthalten unter anderem auch VEGF (Alscher et al., 2007). VEGF könnte weiterhin zum Plasmaleak und damit zum zweiten „hit“ und schließlich zur entgeltigen Entwicklung der EPS beitragen oder sogar führen.

4.5 Histologische Auswertung

Bei der Auswertung der Färbungen mit Hämatoxylin-Eosin erzielten die Präparate der Patienten mit akuter Appendizitis die höchsten Summenscores. Am stärksten trugen hierbei die Teilauswertungen der Entzündungszellen bei. Die bei einer Appendizitis regelmäßig vorkommende lokale Invasion von Granulozyten und in einem späteren Stadium auch mit Lymphozyten stellt somit eine überraschende Erkenntnis dar. Weiterhin trägt vor allem bei der Auswertung der EPS die Ausprägung der Fibrose zum Summenscore bei. Dies ist wiederum nicht weiter verwunderlich, gehört doch die Fibrosierung des Peritoneums zu den histologischen Diagnosekriterien für die EPS.

Als schwierig stellte sich die Auswertung der Beschaffenheit der Mesothelzellschicht dar. Bei den Präparaten der EPS wurden sie praktisch gar nicht gefunden, jedoch wurden sie auch bei den vier anderen Gruppen nicht regelmäßig gesehen. Zum histologischen Gesamtbild passt die Abwesenheit der Mesothelzellen.

4.6 Immunhistologische Ergebnisse

4.6.1 „nuclear factor“-κb (NF-κb)

Wie weiter oben beschrieben wird, kann NF-κb von verschiedenen Cytokinen und anderen proinflammatorischen Stoffen aktiviert werden. Bei der akuten Appendizitis trägt vor allem die Anfärbung der Entzündungszellen zum Summenscore bei. Den stärksten Einfluss hat, wie in allen anderen Gruppen, die Anfärbung der Gefäße. Interessant ist, dass bei dieser Färbung der IRS der Gruppe EPS deutlich niedriger ist als in der Gruppe mit der CAPD, denn bei der Pathophysiologie der EPS geht man unter anderem von einem entzündlichen Geschehen aus. Man würde ähnlich hohe oder höhere Werte als bei der Appendizitis erwarten und auf jeden Fall höhere als bei der CAPD. Dass die Werte bei der vermeintlichen Vorstufe, der Gruppe mit der CAPD, deutlich höher sind, könnte darauf hinweisen, dass im endgültigen Stadium der EPS andere Mechanismen als die Entzündung im Vordergrund stehen.

4.6.2 “fibroblast growth factor-binding protein” (FGF-BP)

Entzündungszellen und Mesothelzellen färbten sich in allen Gruppen praktisch gar nicht an. Da FGF-BP, wie oben beschrieben, ein wichtiger Wachstumsfaktor für Fibroblasten und Endothelzellen ist, ist es nicht verwunderlich, dass es gerade in den Gefäßen vorkommt. Ebenso wenig verwunderlich ist, dass es im Bindegewebe vorkommt, denn das Bindegewebe ist schließlich aus Fibroblasten und Fibrozyten aufgebaut. Bei der Pathogenese der EPS scheint die Fibrosierung des Peritoneums eine entscheidende Rolle zu spielen. Erstaunlich ist, dass die Werte des Immunreaktiven Scores bei der Auswertung der Gruppe EPS deutlich niedriger lagen als in der Gruppe der Appendizitis und der CAPD.

4.6.3 “transforming growth factor”- β (TGF- β)

Die TGF- β -Isoformen und ihre Rezeptoren gelten nach heutigem Wissenstand als die wichtigsten subzellulären Faktoren, die zur Entstehung der EPS führen können. TGF- β führt nach Bindung an den extrazellulären Rezeptor über Smad-Proteine und andere Transkriptionsfaktoren zu einer verstärkten Transkription. Es kommt praktisch ubiquitär vor und kann von fast allen Zellen exprimiert werden. Dabei liegt seine Hauptfunktion offenbar in der Regulierung der Proliferation und Differenzierung verschiedener Zellen. Es ist am fibrogenetischen Prozess beteiligt, was seine Relevanz bei der EPS erklärt. TGF- β 1 wird in Peritonea von CAPD-Patienten in Episoden von Peritonitiden gefunden. Genauer wird die TGF- β -Familie weiter oben beschrieben.

Die Werte der EPS waren nicht signifikant erhöht im Vergleich zu den anderen Gruppen und im Vergleich zur Kontrolle. Das ist interessant, denn man würde in den Fällen der EPS eine Hochregulierung von TGF- β 1 erwarten. Dabei trugen vor allem die Teilauswertungen der Fibrose, der Gefäße und teilweise auch der Mesothelzellen zum Ergebnis der Auswertung bei. Das spiegelt das in der Literatur angegebene Vorkommen von TGF- β 1 wieder.

Bei der Auswertung der Präparate, die mit Antikörpern gegen TGF- β 2 angefärbt worden waren, war die Anfärbung der einzelnen Gewebeteile nur schwach ausgeprägt. Es konnte jedoch, obwohl es keine signifikanten Unterschiede gab, die Tendenz der Voruntersuchung wiederholt aufgezeigt und unterstrichen werden.

Überraschend erschienen auch die Ergebnisse der Auswertung von TGF- β -Rezeptor I. Hierbei waren nur die Mittelwerte des IRS der Kontrollgruppe niedriger als die der Gruppe EPS.

Besonders beeindruckend ist, dass die Werte der CAPD-Gruppe in beiden statistischen Vergleichen signifikant höher waren als die der Kontrolle. Das ist vor allem deshalb interessant, weil man erwarten würde, dass in der Gruppe der EPS die Werte zum Einen hoch reguliert sein müssten und vor allem höher sein müssten als in der Gruppe der Peritonealdialyse, in der die EPS noch nicht vorliegt und man von relativ gesunden Peritonea ausgehen kann.

Am deutlichsten wurde die Tendenz in der Auswertung von TGF- β -Rezeptor II. Hier gab es im Vergleich der Gruppen mit der Kontrolle nur bei der EPS keine signifikant verschiedenen Werte zu beobachten.

Wenn man die aktuelle Literatur beachtet, hätte man erwartet, eine Hochregulierung von TGF- β in den vier Auswertungen beobachten zu können. Tatsache ist jedoch, dass TGF- β in diesen Geweben herunterreguliert war. In drei von vier Auswertungen hatten die Gruppen der Peritonealdialyse höhere Werte. Daraus kann geschlossen werden, dass zwischen der Exposition mit der vermeintlichen Noxe bei der CAPD und dem entgeltigen Krankheitsbild eine Regulation auf der Grundlage anderer Faktoren abläuft.

4.6.4 “connective tissue growth factor” (CTGF)

CTGF ist ein Peptid, das unter anderem die fibrogenetische Aktivität von TGF- β vermittelt. Es kann durch seine chemotaktische Funktion Fibroblasten anlocken. Es wird unter anderem von Mesothelzellen sezerniert und ist in Peritonitis-Episoden hochreguliert. Die entsprechende mRNA wurde im Dialysat von Peritonealdialyse-Patienten gefunden. Es scheint, dass CTGF unter anderem als stromabwärts von TGF- β liegendes Peptid an den fibrogenetischen Prozessen teilnimmt, die bei der Pathogenese der EPS vorkommen. Diese Aktivität ist verstärkt in Entzündungssituationen.

Bei der Auswertung wurden diese Erwartungen jedoch nicht erfüllt. Es ergaben sich erstaunliche Ergebnisse, denn die Aktivität von CTGF war in den Gruppen EPS und akute Appendizitis herunterreguliert bzw. auf dem gleich niedrigen Niveau, wie es bei der Kontrollgruppe zu finden war. In der Gruppe der Peritonealfibrose waren die Werte am höchsten, aber auch die Gruppe der Peritonealdialyse erzielte signifikant höhere Ergebnisse im Vergleich mit der Kontrolle. Wie in den anderen Auswertungen auch würde man hier eine Hochregulierung von CTGF in der Gruppe der EPS erwarten, schließlich geht man von einem stark entzündlichen Geschehen aus, das mit Fibrosierung des Peritoneums einher geht. In der Gruppe der CAPD ist dies auch der Fall. Sie stellt aus Sicht der Pathogenese ein frühes Stadium bzw. eine Exposition mit der Noxe, die zu der Erkrankung führen kann, dar. Es ist jedoch unklar, warum diese Herunterregulierung stattfindet.

4.6.5 “vascular endothelial growth factor” (VEGF)

Dies ist die einzige immunhistochemische Untersuchung, bei der die Gruppe der EPS eine stark positive Reaktion erzielte. Im IRS ergaben sich die höchsten Scores und es gab signifikante Unterschiede gegenüber den Gruppen Appendizitis und Kontrolle.

Geht man von der „two-hit“-Theorie aus, könnte es, bevor es zu dem entgeltigen EPS-Stadium kommt, durch eine erhöhte Konzentration von Mastzellen zu einer vermehrten Ausscheidung von VEGF kommen. Die durch das VEGF vermehrt gebildeten und ebenso hyperpermeablen Gefäße erleichtern das Austreten von Plasmaproteinen – das sogenannte „Plasmaleak“. Fibrin macht einen großen Anteil dieser Proteine aus, würde aber im gesunden Organismus durch den Abbau durch die Mastzellen an seiner profibrotischen Aktivität gehindert. Das Fehlen der Mastzellen jedoch verhindert den Abbau und Fibrin kann akkumulieren und die typische Pseudomembran entsteht. VEGF kommt aber in vielen anderen Zellen auch vor und bleibt hochreguliert, weil durch den fibrotischen Umbau der Sauerstoffbedarf der Zellen steigt und neue Gefäße benötigt werden.

4.7 Diskussion der Laborergebnisse

4.7.1 Leukozyten im Blut

Wie zu erwarten, wurden bei den Patienten mit akuter Appendizitis die höchsten Leukozytenwerte festgestellt. In den Vergleichen war dies die einzige Gruppe, die im Vergleich mit den anderen Gruppen oder der Kontrolle signifikante Unterschiede erzielte. Diese signifikanten Unterschiede ergaben sich in den Vergleichen mit der Peritonealdialyse und der Peritonealfibrose. Das weist darauf hin, dass die Entzündungsaktivität während der Entwicklung der EPS sich nicht in einer Leukozytose ausdrückt, da auch beim endgültigen Stadium der EPS keine signifikant höheren Leukozytenwerte vorliegen.

4.7.2 Hämoglobin-Konzentration im Plasma

Beim zweiten Laborparameter wurden Ergebnisse beobachtet, die so auch vorherzusehen waren. Die bei einer chronischen Niereninsuffizienz häufig vorkommende renale Anämie drückt sich in einer signifikant niedrigeren Hämoglobin-konzentration (g/dl) aus. Bei allen Vergleichen der EPS mit den anderen Gruppen traten signifikante Unterschiede auf, mit Ausnahme des Vergleiches mit der Peritonealdialyse. Bei der Peritonealdialyse waren die Ergebnisse nicht ganz so deutlich. Nur bei den Vergleichen mit der Peritonealfibrose und mit der akuten Appendizitis traten signifikante Unterschiede auf.

4.7.3 Calcium-Konzentration im Serum (mmol/l)

Hier ergaben sich keine signifikanten Unterschiede. Das war leider das einzige Elektrolyt, das bei fast allen Patienten bestimmt wurde. Die Aussagekraft wäre bei einem anderen Parameter wie z. B. Kalium wahrscheinlich größer gewesen.

4.7.4 Kreatinin-Konzentration im Serum (mg/dl)

Bei dieser Untersuchung, die einen guten Rückschluss auf die Nierenfunktion des Patienten geben kann, wurden, wie zu erwarten war, hohe Werte bei der Peritonealdialyse und bei der EPS erreicht. Die Vergleiche von EPS und CAPD mit den übrigen Gruppen waren alle signifikant.

Nur der gegenseitige Vergleich war, erwartungsgemäß, nicht signifikant. Insgesamt waren die Werte bei der EPS noch höher als bei der CAPD. Dies könnte daran liegen, dass bei diesen Patienten die Dialyse gerade aufgrund der peritonealen Affektion ineffektiver ist und die Retentionsparameter deshalb noch höher sind.

4.8 Therapie der EPS

Um die frühe Therapie bei der EPS zu ermöglichen, wurde die Einteilung in vier Krankheitsstadien bei der EPS vorgeschlagen. Dieses Vorgehen basiert auf einer retrospektiven Studie, in der die klinischen Befunde von 256 Patienten mit EPS eingeflossen sind (Nakamoto et al., 2002). Es wurde als nützlich erachtet, die Patienten in Abhängigkeit von dem Krankheitsstadium zu behandeln. In der unten aufgeführten Abbildung 37 ist die stadienabhängige Therapie aufgelistet.

Stadium	Klinische Befunde	Therapieoptionen
Stadium 1 (Prä-EPS-Stadium)	<ul style="list-style-type: none"> • Verlust der Ultrafiltrationsfähigkeit • Entwicklung eines Stadiums mit hohem Flüssigkeitstransport • Hyperproteinämie • Blutiges Dialysat, Aszites • Verkalkung des Peritoneums 	<ul style="list-style-type: none"> • Absetzen der PD, Beruhigung des Peritoneums • Peritoneallavage • Glucocorticoide
Stadium 2 (Entzündungsphase)	<ul style="list-style-type: none"> • Erhöhte CrP-Werte • Erhöhte Leukozytenzahl • Fieber • Blutiges Dialysat • Aszites • Gewichtsverlust • Appetitsverlust • Diarrhoe 	<ul style="list-style-type: none"> • Glucocorticoide
Stadium 3 (Verkapselungsstadium, Fortgeschrittenes Stadium)	<ul style="list-style-type: none"> • Verschwinden der Entzündungszeichen • Auftreten von Ileussyptomen (Nausea, Vomitus, Bauchschmerzen, Verstopfung, Raumforderung, Aszites, Fehlernährung durch schweren Proteinmangel) 	<ul style="list-style-type: none"> • Glucocorticoide • Totale parenterale Ernährung (TPN)
Stadium 4 (Ileus- oder Endstadium)	<ul style="list-style-type: none"> • Anorexie • Kompletter Darmverschluss • Abdominale Raumforderung 	<ul style="list-style-type: none"> • Operation

Abb. 37 Stadienangepasste Therapie der verkapselnden Peritonealsklerose (Nakamoto, 2005)

4.8.1 Prä-EPS-Stadium

Im vorgeschlagenen Prä-EPS-Stadium stehen ein hoch permeables Peritoneum, der Verlust der Ultrafiltrationsfähigkeit, Hypoproteinämie, blutiges Dialysat und Aszites im Vordergrund. Zeichen der intestinalen Obstruktion fehlen jedoch (Nakamoto, 2005). Einige Berichte zeigen, dass das Einstellen der Peritonealdialyse und das Entfernen des Peritonealkatheters in diesem Stadium eine Besserung des Zustandes bewirkt (Nomoto et al., 1996; Moriishi et al., 2002; Rodrigues et al., 2002). Weiterhin sollte sich, vor allem bei Patienten mit Langzeit-PD, eine radiologische Abklärung der Situation anschließen. Sollte diese den Verdacht der EPS erhärten, sollte eine entsprechende Therapie in Betracht gezogen werden (Nakamoto, 2005).

Das Absetzen der Peritonealdialyse verhindert jedoch nicht immer eine Progression der Erkrankung (Nakamoto, 2005). Der Krankheitsverlauf kann sich unter diesen Umständen sogar noch beschleunigen. Durch die Dialyse können sich neu bildende Fibrinbeläge entfernt und so eine Organisation und Ablagerung verhindert werden. Demnach könnte das Fehlen der freien Dialyseflüssigkeit zwischen den Darmschlingen das Verkleben derselben erleichtern und beschleunigen (Nomoto et al., 1996; Moriishi et al., 2002; Rodrigues et al., 2002). Wenn die Diagnose Prä-EPS-Stadium gestellt ist, scheint das Absetzen der Peritonealdialyse und der Wechsel zur Hämodialyse die einzige Option. Um das Risiko der weiteren Progression zu minimieren, empfiehlt es sich, Maßnahmen zu ergreifen, die das Peritoneum schützen. Hier wurde eine intraabdominale Lavage durchgeführt und teilweise Corticosteroiden und andere Immunsuppressiva gegeben (Nakamoto, 2005).

Die Langzeit-Anwendung der intra-abdominellen Lavage scheint die Membranfunktion des Peritoneums zu verbessern (Nakamoto et al., 2003). Breborowicz und Oreopoulos empfehlen zu Beginn der Lavage eine Lösung zu verwenden, die biokompatibler ist als reine Salzlösung (Nakamoto, 2005).

4.8.2 Entzündungsstadium

Die klinischen Befunde entsprechen denen einer Entzündungssituation. Dabei können Fieber, Gewichts- und Appetitsverlust, Fatigue, Aszites, blutiges Dialysat und Bauchschmerzen auftreten. Episoden von nicht zurückgehender Peritonitis wurden auch beschrieben. Klinisch fällt die Unterscheidung zwischen bakterieller oder fungaler Peritonitis und einem frühen Stadium von EPS schwer (Nakamoto, 2005).

Auch im Entzündungsstadium kann eine Peritoneallavage und die Beendigung einer Peritonealdialyse zur Besserung führen. Wenn eine bakterielle oder fungale Infektion ausgeschlossen ist, kann die Gabe von Corticosteroiden erwogen werden (Nakamoto, 2005). Manche Studien empfehlen eine Methylprednisolon-Pulstherapie mit einer Dosis von 500–1000 mg pro Tag für zwei bis drei Tage. Damit soll ein Rückgang der Entzündung und die Besserung der Symptome wie Fieber, Gewichts- und Appetitsverlust, Nausea und Bauchschmerzen erreicht werden (Kawanishi et al., 2001).

In anderen Studien wurde eine kontinuierliche Prednisolon-Therapie mit 0,5–1,0 mg pro Kilogramm Körpergewicht verwendet, die dann verringert wurde (Yamamoto et al., 2002). Jedenfalls gibt es in der Literatur keine Übereinstimmung, was die Dosis anbetrifft und es fehlen Therapiestudien, so dass keinesfalls eine Empfehlung ausgesprochen werden kann (Nakamoto, 2005).

4.8.3 Verkapselungsstadium

Im Verkapselungsstadium ist das klinische Bild durch das Vorhandensein einer Obstruktion des Dünndarms charakterisiert. Demnach sollte bei einem Verdacht auf Ileus in diesem Stadium der dringende Verdacht auf EPS gestellt werden. Die Symptome, die diesen Verdacht erhärten könnten, sind Bauchschmerzen, Nausea, Vomitus und Obstipation (Nakamoto, 2005).

Eine Strategie zu diesem Zeitpunkt wäre das Absetzen der Peritonealdialyse, der Wechsel zur Hämodialyse und die Behandlung mit totaler parenteraler Ernährung (TPN) (Nakamoto 2005). Die letztgenannte Therapieoption ist jedoch nicht ganz unumstritten (Gandhi et al., 1980; Pusateri et al., 1986; Assalia et al., 1993; Tsunoda et al., 1993; Smith et al., 1997; Celicout et al., 1998; Rigby und Hawley, 1998; Martins et al., 1999; Kawanishi et al., 2000; Kawanishi et al., 2001; Klimopoulos et al., 2002).

Daneben hat sich die Anwendung von Corticosteroiden allein oder in Kombination mit Adhäsiolyse bei manchen Patienten mit EPS als günstig erwiesen. Wenn keine Kontraindikationen vorliegen, kann deshalb der Einsatz von Corticosteroiden diskutiert werden. Bei Versagen der konservativen Therapie muss eine Operation in Betracht gezogen werden (Nakamoto, 2005).

4.8.4 Ileusstadium

Dieses Stadium ist dadurch charakterisiert, dass der Patient Zeichen eines kompletten Darmverschlusses hat. Wenn die Symptome sich nicht bessern oder die Ileus-Symptomatik in wenigen Monaten wiederkehrt, sollte die Dosis der Corticosteroide reduziert werden und der Patient auf totale parenterale Ernährung gesetzt werden (Gandhi et al., 1980; Pusateri et al., 1986; Assalia et al., 1993; Tsunoda et al., 1993; Smith et al., 1997; Celicout et al., 1998; Rigby und Hawley, 1998; Martins et al., 1999; Kawanishi et al., 2000; Kawanishi et al., 2001; Klimopoulos et al., 2002).

Jedoch ist diese Therapie in den meisten Fällen nicht ausreichend und es sollte eine chirurgische Therapie in Erwägung gezogen werden, insbesondere dann, wenn die Ileus-Symptomatik ohne Hinweis auf einen entzündlichen Prozess fortbesteht (Nakamoto, 2005).

In der Vergangenheit war die operative Therapie der EPS kontraindiziert. Obwohl es Berichte gegeben hatte, wonach Patienten davon profitiert hatten, war die postoperative Prognose speziell in besonders schweren Fällen schlecht. Bei der am meisten verbreiteten Operationsmethode wurden die vom Ileus betroffenen Darmabschnitte reseziert und die Resektionsenden anastomosiert. Oft führt aber die Langzeit-Peritonealdialyse zur Serosadegeneration in der Darmwand. Dadurch steigt das Risiko für eine Anastomoseninsuffizienz (Nakamoto, 2005).

Kawanishi et al. berichteten über eine postoperative Mortalität von 82 % (Kawanishi et al., 2000; Kawanishi et al., 2001).

Deshalb entwickelten Kawanishi et al. eine neue Operationstechnik, die daraus besteht, lediglich die Darmschlingen voneinander und vom Peritoneum zu lösen. Hier zeigen die neuesten Daten eine postoperative Mortalität von 4 % (Kawanishi et al., 2000; Kawanishi et al., 2001).

In Japan wurde eine retrospektive Studie durchgeführt, in die 256 EPS-Patienten einbezogen wurden. 101 von diesen Patienten erhielten unterschiedliche Therapieformen. 84 Patienten (83 %) bekamen Corticosteroide als Pulstherapie oder niedrig dosiert und 80 Patienten (79 %) wurden mit total parenteraler Ernährung versorgt. Bei 31 Patienten (31 %) wurde eine Adhäsionolyse der Darmschlingen durchgeführt. Andere Immunsuppressiva wurden bei acht Patienten (8 %) angewendet. Dazu wurde bei 53 Patienten (52 %) zusätzlich eine Ablösung des visceralen Peritoneums vorgenommen (Nakamoto, 2005).

Es wurde also bei vielen Patienten Kombinationstherapien durchgeführt. Insgesamt starben 100 Patienten (39,1 %). Nach zwei Jahren waren noch 143 Patienten (55,9 %) am Leben. Das „outcome“ von 13 weiteren Patienten (5 %) war nicht bekannt (Nakamoto, 2005).

Die Zweijahres-Überlebensrate der mit Steroiden therapierten Patienten lag bei 73 % (61 von 84 Patienten). Patienten, die keine Steroide bekommen hatten, hatten nur eine Zweijahres-Überlebensrate von 48 % (82 von 173 Patienten) (Nakamoto, 2005).

Eine Vielzahl therapeutischer Ansätze bei der EPS wurde in der Literatur beschrieben. Der Grund für diese große Anzahl liegt wohl in der Seltenheit der Krankheit und der Tatsache, dass es kein weit verbreitetes, gemeinsames Therapieschema gibt. Zumeist wird über Therapieansätze nur in kleinen Studien berichtet (Nakamoto, 2005). Eine frühere Studie hatte gezeigt, dass eine Steroid-Therapie bei 65 % der EPS-Patienten wirksam ist (Nomoto et al., 1996).

Viele Studien beleuchten den günstigen Effekt von Corticosteroiden in der Therapie. In den meisten Studien wurden die Steroide in Kombination mit anderen Immunsuppressiva gegeben. Mori et al. berichten über einen Patienten, der mit einer alleinigen Therapie mit Steroiden geheilt werden konnte (Mori et al., 1997).

Kürzlich beschrieben Allaria et al. einen Fall von EPS, der erfolgreich mit Tamoxifen behandelt worden war. Eine 67-jährige Frau hatte nach acht Jahren Peritonealdialyse eine EPS entwickelt. Sie wurde drei Monate lang mit Tamoxifen 10 mg am Tag behandelt und erholte sich nach und nach (Allaria et al., 1999). Tamoxifen greift vermutlich in den Stoffwechsel von TGF- β 1 ein und könnte somit nützlich sein bei der Behandlung der EPS (Tavassoli et al., 2002; Brandt et al., 2003).

Des Weiteren zeigten einige Berichte, dass Inhibitoren des Renin-Angiotensin-Aldosteron-Systems das Fortschreiten der Peritonealfibrose und der peritonealen Verklebungen im Tierversuch verhindern konnten (Duman et al., 2001). Phosphatidylcholin übt einen protektiven Effekt bei Patienten mit Peritonealsklerose aus (Struijk et al., 1989). EPS-Patienten haben auch von einer Nierentransplantation profitiert, was auf einen Nutzen von Cyclosporin hinweisen könnte (Novello und Port, 1986; De Vriese et al., 2003).

4.9 Fazit

Folgt man unseren und vorangegangenen Untersuchungen, ist es sehr wahrscheinlich, dass die Pathogenese der EPS über ein „two-hit“-Modell“ abläuft. Dabei kommt es wie oben beschrieben durch eine langwährende Exposition des Peritoneums mit dem entsprechenden Dialysat zu einer Schädigung desselben. Dabei kommen vor allem saure und glucosehaltige Lösungen zum Einsatz, unter deren Einfluss sich AGEs und GDPs bilden, die zur Zerstörung des Peritoneums beitragen.

Heutzutage geht man immer häufiger dazu über sogenannte biokompatible Dialyselösungen zu verwenden, die mit einem isotonischen pH-Wert und niedrigeren Glucosekonzentrationen das Peritoneum nicht in dem Maße schädigen, wie es die bisherigen Dialysate tun. Darüber hinaus gibt es auch Dialysate, die auf Aminosäuren basieren und die den täglichen Verlust an Proteinen über die Peritonealdialyse ausgleichen können.

Bisher wurde davon ausgegangen, dass es sich bei dem zweiten Schritte um einen inflammatorischen Stimulus handelt, der über ubiquitär im Organismus vorhandene Mediatoren und Effektorstoffe über eine Entzündung des Gewebes schließlich zu einer Fibrosierung und Verkapselung kommt. Diesem Hintergrund folgend wurde diese Erkrankung früher auch „sklerosierende Peritonitis“ genannt. Zu diesen Stoffen gehörten profibrotische Proteine der TGF- β -Familie, NF- κ B, CTGF und die FGF-Familie.

Alle Untersuchungen, die wir in Hinblick dieser Annahme unternommen hatte, brachten jedoch das Ergebnis, dass diese Stoffe in der Gruppe der EPS nicht hochreguliert und teilweise sogar herunterreguliert waren.

Der zweite Schritt scheint, nach unseren Untersuchungen, auf dem Einfluss des VEGF zu beruhen. Durch diesen Faktor kommt es zu einer starken Neoangiogenese, bei der vor allem auch sehr fragile und durchlässigere Gefäße entstehen. Diese Gefäße erlauben einen leichteren Austritt von Plasmaproteinen wie Fibrin. Diese Theorie sehen wir durch unsere immunhistochemischen Untersuchungen gestärkt, war doch VEGF in den Peritonea der EPS-Patienten stark hochreguliert.

Es wurde festgestellt, dass in den Peritonea der EPS-Patienten die Anzahl der Mastzellen reduziert war. Durch das Fehlen dieser Mastzellen kann das sich anreichernde Fibrin nicht mehr abtransportiert werden und die Fibrosierung schreitet voran (Alscher et al., 2007).

4.10 „targeted therapy“ und therapeutischer Ausblick

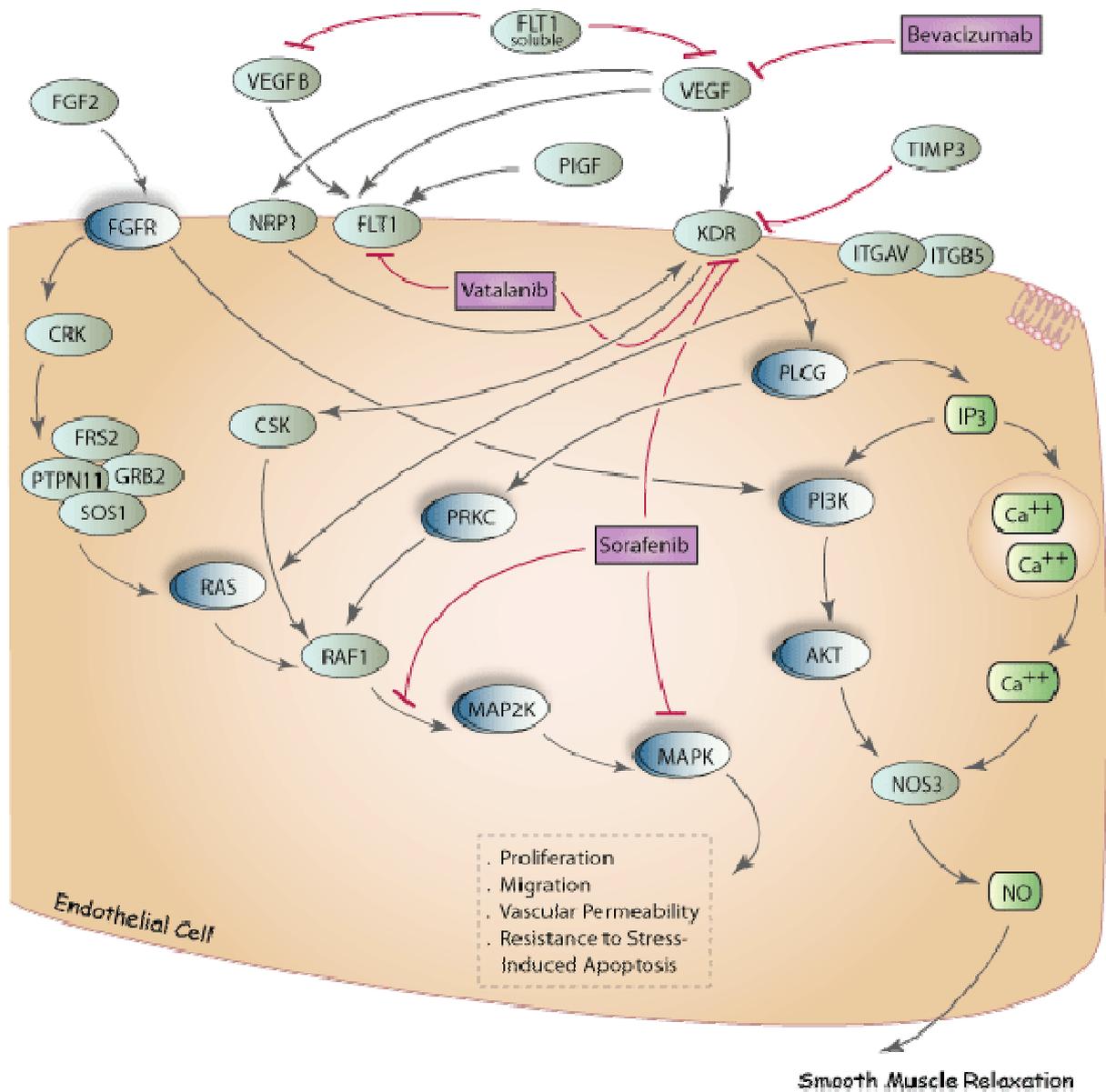


Abb. 38 VEGF-„pathway“ und „targeted therapy“. FLT1 = „fms-related tyrosine kinase“ 1, VEGF = „vascular endothelial growth factor“, VEGFB = „vascular endothelial growth factor“ B, FGF2 = „fibroblast growth factor“ 2, FGFR = „fibroblast growth factor receptor“, TIMP-3 = „tissue inhibitor of metalloproteinase“-3, NRP1 = Neuropilin-1, PlGF = „placental growth factor“, KDR = „kinase insert domain-containing receptor“ = extrazelluläre Domäne des VEGF-Rezeptors, ITGAV = Integrin alpha V, ITGB5 = Integrin beta 5, Crk = „CT 10 regulated kinase“, FRS2 = „fibroblast growth factor receptor substrate 2“, PTPN11 = „protein tyrosine phosphatase, nonreceptor type 11“, GRB2 = „growth factor receptor-binding protein 2“, SOS1 = „Grb2-Son of sevenless“ 1, CSK = „cytoplasmic tyrosine kinase“, PLCG = Phospholipase C gamma, PRKC = Proteinkinase C, MAPK = „mitogen-activated protein kinase“, MAP2K = „mitogen-activated protein 2 kinase“, IP3 = Inositoltriphosphat, PI3K = Phosphoinositide 3-Kinase, NOS3 = „nitric oxide Synthase“ 3, NO = Stickstoffmonoxid, AKT= Protein Kinase B (Maitland et al., 2005)

Da VEGF eine wichtige Rolle in der Neoangiogenese bei Tumorerkrankungen spielt, liegt es nahe zu versuchen den therapeutischen Ansatz hier zu suchen.

Man könnte annehmen, dass durch die Gabe von Inhibitoren von VEGF oder weiter unten auf dem „pathway“ gelegenen Effektorstoffen durch die Verminderung der Vaskularisation der Tumoren die Effektivität von Chemotherapeutika abnimmt. Tatsache ist jedoch, dass die Gabe dieser Inhibitoren die Wirkung von Chemo- und auch Radiotherapie verbessern. Einerseits kann das durch die fehlende autokrine Funktion von VEGF erklärt werden, womit Tumorzellen offenbar vor äußeren Einflüssen geschützt werden können (Gorski et al., 1999; Krause et al., 2005).

Andererseits könnte dies auch der Grund dafür sein, dass zuerst die neuen, brüchigen Gefäße angegriffen werden und somit der Blutweg zu den Tumoren frei bleibt (Jain, 2005).

Im Hinblick auf die EPS könnte das bedeuten, dass man mit Hilfe obengenannter Inhibitoren frühzeitig das Entstehen der EPS zumindest hinauszögern könnte. Nach unseren Erkenntnissen, nach denen VEGF eine entscheidende Rolle spielt, könnte es in bestimmten Fällen vielleicht sogar verhindert werden.

Ist erst das Endstadium erreicht, könnte man auch dort eine klinische Verbesserung erwarten, wenn man davon ausgeht, dass durch die Hemmung der autokrinen Funktion von VEGF die Effektivität antiproliferativer Stoffe wie den Glucocorticoiden auch zunimmt.

Zur Prophylaxe der EPS und zur möglichst langen Erhaltung der Ultrafiltration sollten neuere biokompatible PD-Lösungen zum Einsatz kommen. Wie oben beschrieben, können diese das Entstehen der Fibrose verringern oder zumindest hinauszögern.

5. Literaturverzeichnis

Aigner, A., C. Malerczyk, et al. (2000). "Tissue distribution and retinoid-mediated downregulation of an FGF-binding protein (FGF-BP) in the rat." Growth Factors **18**(1): 51–62.

Allaria, P. M., A. Giangrande, et al. (1999). "Continuous ambulatory peritoneal dialysis and sclerosing encapsulating peritonitis: tamoxifen as a new therapeutic agent?" J Nephrol **12**(6): 395–7.

Alscher, D. M., N. Braun, et al. (2007). "Peritoneal mast cells in peritoneal dialysis patients, particularly in encapsulating peritoneal sclerosis patients." Am J Kidney Dis **49**(3): 452–61.

Assalia, A., M. Schein, et al. (1993). "Problems in the surgical management of sclerosing encapsulating peritonitis." Isr J Med Sci **29**(11): 686–8.

Barnes, P. J. und M. Karin (1997). "Nuclear factor-kappaB: a pivotal transcription factor in chronic inflammatory diseases." N Engl J Med **336**(15): 1066–71.

Blackwell, T. S. und J. W. Christman (1997). "The role of nuclear factor-kappa B in cytokine gene regulation." Am J Respir Cell Mol Biol **17**(1): 3–9.

Blobe, G. C., W. P. Schiemann, et al. (2000). "Role of transforming growth factor beta in human disease." N Engl J Med **342**(18): 1350–8.

Brandt, S., A. Kopp, et al. (2003). "Effects of tamoxifen on transcriptional level of transforming growth factor beta (TGF-beta) isoforms 1 and 2 in tumor tissue during primary treatment of patients with breast cancer." Anticancer Res **23**(1A): 223–9.

Brown, L. F., M. Detmar, et al. (1997). "Vascular permeability factor/vascular endothelial growth factor: a multifunctional angiogenic cytokine." Exs **79**: 233–69.

Brusselmans, K., F. Bono, et al. (2005). "A novel role for vascular endothelial growth factor as an autocrine survival factor for embryonic stem cells during hypoxia." J Biol Chem **280**(5): 3493–9.

- Byrne, A. M., D. J. Bouchier-Hayes, et al. (2005). "Angiogenic and cell survival functions of vascular endothelial growth factor (VEGF)." J Cell Mol Med **9**(4): 777–94.
- Cancarini, G. C., M. Sandrini, et al. (2000). "Long-term peritoneal dialysis outcome in a single center." Perit Dial Int **20 Suppl 2**: S121–6.
- Celicout, B., H. Levard, et al. (1998). "Sclerosing encapsulating peritonitis: early and late results of surgical management in 32 cases. French Associations for Surgical Research." Dig Surg **15**(6): 697–702.
- Chuang, J.-H. (2001). "Agreement between Categorical Measurements: Kappa Statistics."
- Codes, L., T. Asselah, et al. (2007). "Liver fibrosis in women with chronic hepatitis C: evidence for the negative role of the menopause and steatosis and the potential benefit of hormone replacement therapy." Gut **56**(3): 390–5.
- Combet, S., M. L. Ferrier, et al. (2001). "Chronic uremia induces permeability changes, increased nitric oxide synthase expression, and structural modifications in the peritoneum." J Am Soc Nephrol **12**(10): 2146–57.
- De Vriese, A. S., A. Flyvbjerg, et al. (2003). "Inhibition of the interaction of AGE-RAGE prevents hyperglycemia-induced fibrosis of the peritoneal membrane." J Am Soc Nephrol **14**(8): 2109–18.
- Di Paolo, N., G. Sacchi, et al. (1986). "Morphology of the peritoneal membrane during continuous ambulatory peritoneal dialysis." Nephron **44**(3): 204–11.
- Di Paolo, N., G. Sacchi, et al. (2004). "Ossification of the peritoneal membrane." Perit Dial Int **24**(5): 471–7.
- Dobbie, J. W. (1992). "Pathogenesis of peritoneal fibrosing syndromes (sclerosing peritonitis) in peritoneal dialysis." Perit Dial Int **12**(1): 14–27.
- Dobbie, J. W., J. D. Anderson, et al. (1994). "Long-term effects of peritoneal dialysis on peritoneal morphology." Perit Dial Int **14 Suppl 3**: S16–20.

- Duman, S., A. I. Gunal, et al. (2001). "Does enalapril prevent peritoneal fibrosis induced by hypertonic (3.86 %) peritoneal dialysis solution?" Perit Dial Int **21**(2): 219–24.
- Ferrara, N. und W. J. Henzel (1989). "Pituitary follicular cells secrete a novel heparin-binding growth factor specific for vascular endothelial cells." Biochem Biophys Res Commun **161**(2): 851–8.
- Finkelstein, F., H. Healy, et al. (2005). "Superiority of icodextrin compared with 4.25 % dextrose for peritoneal ultrafiltration." J Am Soc Nephrol **16**(2): 546–54.
- Folkman, J. und Y. Shing (1992). "Angiogenesis." J Biol Chem **267**(16): 10931–4.
- Frei, U. und H.-J. Schober-Halstenberg (2005). "Nierenersatztherapie in Deutschland-Jahresbericht 2004/2005." 45.
- Frei, U. und H.-J. Schober-Halstenberg (2006). "Nierenersatztherapie in Deutschland-Jahresbericht 2005/2006." 46.
- Gandhi, V. C., H. M. Humayun, et al. (1980). "Sclerotic thickening of the peritoneal membrane in maintenance peritoneal dialysis patients." Arch Intern Med **140**(9): 1201–3.
- Garosi, G. (2003). "Different aspects of peritoneal sclerosis." Contrib Nephrol(140): 18–29.
- Gerber, H. P., A. K. Malik, et al. (2002). "VEGF regulates haematopoietic stem cell survival by an internal autocrine loop mechanism." Nature **417**(6892): 954–8.
- Gollmer, J. C., A. Ladoux, et al. (2000). "Expression of vascular endothelial growth factor-b in human astrocytoma." Neuro-oncol **2**(2): 80–6.
- Gorski, D. H., M. A. Beckett, et al. (1999). "Blockage of the vascular endothelial growth factor stress response increases the antitumor effects of ionizing radiation." Cancer Res **59**(14): 3374–8.
- Groß, W. (2002 a). "Bahnbrechende Katheterentwicklung."

Groß, W. (2002 b). "CAPD."

Groß, W. (2002 c). "CCPD."

Groß, W. (2002 d). "Der klinische Einsatz beginnt."

Groß, W. (2002 e). "Erste Erkenntnisse und experimentielle Phase der Peritonealdialyse."

Groß, W. (2002 f). "IPD."

Groß, W. (2002 g). "Von der automatischen Peritonealdialyse bis zum Cycler."

Groß, W. (2002 h). "Wie funktioniert die Peritonealdialyse."

Hanahan, D. und J. Folkman (1996). "Patterns and emerging mechanisms of the angiogenic switch during tumorigenesis." Cell **86**(3): 353–64.

Harmey, J. H. und D. Bouchier-Hayes (2002). "Vascular endothelial growth factor (VEGF), a survival factor for tumour cells: implications for anti-angiogenic therapy." Bioessays **24**(3): 280–3.

Hicklin, D. J. und L. M. Ellis (2005). "Role of the vascular endothelial growth factor pathway in tumor growth and angiogenesis." J Clin Oncol **23**(5): 1011–27.

Ho-dac-Pannekeet, M. M., J. K. Hiralall, et al. (1997). "Longitudinal follow-up of CA125 in peritoneal effluent." Kidney Int **51**(3): 888–93.

Honda, K., K. Nitta, et al. (2003). "Histologic criteria for diagnosing encapsulating peritoneal sclerosis in continuous ambulatory peritoneal dialysis patients." Adv Perit Dial **19**: 169–75.

Honda, K., K. Nitta, et al. (1999). "Accumulation of advanced glycation end products in the peritoneal vasculature of continuous ambulatory peritoneal dialysis patients with low ultra-filtration." Nephrol Dial Transplant **14**(6): 1541–9.

- Honda, K. und H. Oda (2005). "Pathology of encapsulating peritoneal sclerosis." Perit Dial Int **25 Suppl 4**: S19–29.
- Jain, R. K. (2005). "Normalization of tumor vasculature: an emerging concept in antiangiogenic therapy." Science **307**(5706): 58–62.
- K/DOQI (2003). "K/DOQI Clinical Practice Guidelines for Bone Metabolism and Disease in Chronic Kidney Disease."
- Kawaguchi, Y., A. Saito, et al. (2005). "Recommendations on the management of encapsulating peritoneal sclerosis in Japan, 2005: diagnosis, predictive markers, treatment, and preventive measures." Perit Dial Int **25 Suppl 4**: S83–95.
- Kawakami, M., T. Furuhashi, et al. (2003). "Expression analysis of vascular endothelial growth factors and their relationships to lymph node metastasis in human colorectal cancer." J Exp Clin Cancer Res **22**(2): 229–37.
- Kawanishi, H., Y. Harada, et al. (2001). "Treatment options for encapsulating peritoneal sclerosis based on progressive stage." Adv Perit Dial **17**: 200–4.
- Kawanishi, H., Y. Harada, et al. (2000). "Surgical treatment for sclerosing encapsulating peritonitis." Adv Perit Dial **16**: 252–6.
- Kawanishi, H., Y. Kawaguchi, et al. (2004). "Encapsulating peritoneal sclerosis in Japan: a prospective, controlled, multicenter study." Am J Kidney Dis **44**(4): 729–37.
- Kawanishi, H. und M. Moriishi (2005). "Epidemiology of encapsulating peritoneal sclerosis in Japan." Perit Dial Int **25 Suppl 4**: S14–8.
- Kawanishi, H., M. Moriishi, et al. (2000). "Necessity of correcting cancer antigen 125 appearance rates by body surface area." Adv Perit Dial **16**: 22–5.
- Klimopoulos, S., I. E. Katsoulis, et al. (2002). "Sclerosing encapsulating peritonitis secondary to CAPD: the effect of fibrotic debridement on further dialysis." J R Coll Surg Edinb **47**(2): 485–90.

- Krause, S., Y. Forster, et al. (2005). "Vascular endothelial growth factor antisense pretreatment of bladder cancer cells significantly enhances the cytotoxicity of mitomycin C, gemcitabine and Cisplatin." J Urol **174**(1): 328–31.
- Kurtz, A., H. L. Wang, et al. (1997). "Expression of a binding protein for FGF is associated with epithelial development and skin carcinogenesis." Oncogene **14**(22): 2671–81.
- Lai, K. N., K. B. Lai, et al. (1997). "Dialysate cell population and cancer antigen 125 in stable continuous ambulatory peritoneal dialysis patients: their relationship with transport parameters." Am J Kidney Dis **29**(5): 699–705.
- Lee, S. S., Y. S. Joo, et al. (2001). "Vascular endothelial growth factor levels in the serum and synovial fluid of patients with rheumatoid arthritis." Clin Exp Rheumatol **19**(3): 321–4.
- Maitland, M Lou, X. J., Ramirez J, Desai, A, McLeod, H, Weichselbaum, R, Ratain, M (2005). "VEGF Pathway."
- Margetts, P. J., S. Gyorffy, et al. (2002). "Antiangiogenic and antifibrotic gene therapy in a chronic infusion model of peritoneal dialysis in rats." J Am Soc Nephrol **13**(3): 721–8.
- Margetts, P. J., M. Kolb, et al. (2001). "Gene transfer of transforming growth factor-beta1 to the rat peritoneum: effects on membrane function." J Am Soc Nephrol **12**(10): 2029–39.
- Martins, L. S., A. S. Rodrigues, et al. (1999). "Sclerosing encapsulating peritonitis: a case successfully treated with immunosuppression." Perit Dial Int **19**(5): 478–81.
- Mason, R. M. und N. A. Wahab (2003). "Extracellular matrix metabolism in diabetic nephropathy." J Am Soc Nephrol **14**(5): 1358–73.
- Miyazaki, M. und Y. Yuzawa (2005). "The role of peritoneal fibrosis in encapsulating peritoneal sclerosis." Perit Dial Int **25 Suppl 4**: S48–56.
- Mori, Y., S. Matsuo, et al. (1997). "A case of a dialysis patient with sclerosing peritonitis successfully treated with corticosteroid therapy alone." Am J Kidney Dis **30**(2): 275–8.

- Moriishi, M., H. Kawanishi, et al. (2002). "Preservation of peritoneal catheter for prevention of encapsulating peritoneal sclerosis." Adv Perit Dial **18**: 149–53.
- Nakamoto, H. (2005). "Encapsulating peritoneal sclerosis--a clinician's approach to diagnosis and medical treatment." Perit Dial Int **25 Suppl 4**: S30–8.
- Nakamoto, H., Y. Kawaguchi, et al. (2002). "Encapsulating peritoneal sclerosis in patients undergoing continuous ambulatory peritoneal dialysis in Japan." Adv Perit Dial **18**: 119–23.
- Nakamoto, H., H. Takane, et al. (2003). "Longitudinal changes of peritoneal function calculated by personal dialysis capacity in a patient after long-term continuous ambulatory peritoneal dialysis." Adv Perit Dial **19**: 97–102.
- Nakamura, S. und T. Niwa (2004). "Advanced glycation end-products and peritoneal sclerosis." Semin Nephrol **24**(5): 502–5.
- Nakayama, M. (2005). "The plasma leak-to-response hypothesis: a working hypothesis on the pathogenesis of encapsulating peritoneal sclerosis after long-term peritoneal dialysis treatment." Perit Dial Int **25 Suppl 4**: S71–6.
- Nakayama, M., H. Yamamoto, et al. (2002). "Risk factors and preventive measures for encapsulating peritoneal sclerosis--Jikei experience 2002." Adv Perit Dial **18**: 144–8.
- Neufeld, G., T. Cohen, et al. (1999). "Vascular endothelial growth factor (VEGF) and its receptors." Faseb J **13**(1): 9–22.
- Nishino, T., M. Miyazaki, et al. (2003). "Antisense oligonucleotides against collagen-binding stress protein HSP47 suppress peritoneal fibrosis in rats." Kidney Int **64**(3): 887–96.
- Nomoto, Y., Y. Kawaguchi, et al. (1996). "Sclerosing encapsulating peritonitis in patients undergoing continuous ambulatory peritoneal dialysis: a report of the Japanese Sclerosing Encapsulating Peritonitis Study Group." Am J Kidney Dis **28**(3): 420–7.

- Nor, J. E., J. Christensen, et al. (1999). "Vascular endothelial growth factor (VEGF)-mediated angiogenesis is associated with enhanced endothelial cell survival and induction of Bcl-2 expression." Am J Pathol **154**(2): 375–84.
- Novello, A. C. und F. K. Port (1986). "Sclerosing encapsulating peritonitis." Int J Artif Organs **9**(6): 393–6.
- Oemar, B. S. und T. F. Lüscher (1997). "Connective tissue growth factor. Friend or foe?" Arterioscler Thromb Vasc Biol **17**(8): 1483–9.
- Oemar, B. S., A. Werner, et al. (1997). "Human connective tissue growth factor is expressed in advanced atherosclerotic lesions." Circulation **95**(4): 831–9.
- Olofsson, B., K. Pajusola, et al. (1996). "Vascular endothelial growth factor B, a novel growth factor for endothelial cells." Proc Natl Acad Sci U S A **93**(6): 2576–81.
- Oreopoulos, D., A. Tranaeus, et al. (2005). "A contemporary overview of encapsulating peritoneal sclerosis in Japan." Perit Dial Int **25 Suppl 4**: S3–6.
- Oules, R., S. Challah, et al. (1988). "Case-control study to determine the cause of sclerosing peritoneal disease." Nephrol Dial Transplant **3**(1): 66–9.
- Powers, C. J., S. W. McLeskey, et al. (2000). "Fibroblast growth factors, their receptors and signaling." Endocr Relat Cancer **7**(3): 165–97.
- Pusateri, R., R. Ross, et al. (1986). "Sclerosing encapsulating peritonitis: report of a case with small bowel obstruction managed by long-term home parenteral hyperalimentation, and a review of the literature." Am J Kidney Dis **8**(1): 56–60.
- Reynolds, L. P. und D. A. Redmer (1998). "Expression of the angiogenic factors, basic fibroblast growth factor and vascular endothelial growth factor, in the ovary." J Anim Sci **76**(6): 1671–81.
- Rigby, R. J. und C. M. Hawley (1998). "Sclerosing peritonitis: the experience in Australia." Nephrol Dial Transplant **13**(1): 154–9.

- Rodrigues, A., A. Cabrita, et al. (2002). "Peritoneal rest may successfully recover ultrafiltration in patients who develop peritoneal hyperpermeability with time on continuous ambulatory peritoneal dialysis." Adv Perit Dial **18**: 78–80.
- Rubin, J., G. A. Herrera, et al. (1991). "An autopsy study of the peritoneal cavity from patients on continuous ambulatory peritoneal dialysis." Am J Kidney Dis **18**(1): 97–102.
- Sawada, T., Y. Ishii, et al. (2002). "The ACE inhibitor, quinapril, ameliorates peritoneal fibrosis in an encapsulating peritoneal sclerosis model in mice." Pharmacol Res **46**(6): 505–10.
- Schneble, F., K. E. Bonzel, et al. (1992). "Peritoneal morphology in children treated by continuous ambulatory peritoneal dialysis." Pediatr Nephrol **6**(6): 542–6.
- Senger, D. R., S. J. Galli, et al. (1983). "Tumor cells secrete a vascular permeability factor that promotes accumulation of ascites fluid." Science **219**(4587): 983–5.
- Serafimidis, C., I. Katsarolis, et al. (2006). "Idiopathic sclerosing encapsulating peritonitis (or abdominal cocoon)." BMC Surg **6**: 3.
- Shintani, S., C. Li, et al. (2004). "Expression of vascular endothelial growth factor A, B, C, and D in oral squamous cell carcinoma." Oral Oncol **40**(1): 13–20.
- Slingeneyer, A. (1987). "Preliminary report on a cooperative international study on sclerosing encapsulating peritonitis." Contrib Nephrol **57**: 239–47.
- Smith, L., J. F. Collins, et al. (1997). "Sclerosing encapsulating peritonitis associated with continuous ambulatory peritoneal dialysis: surgical management." Am J Kidney Dis **29**(3): 456–60.
- Struijk, D. G., H. J. van der Reijden, et al. (1989). "Effect of phosphatidylcholine on peritoneal transport and lymphatic absorption in a CAPD patient with sclerosing peritonitis." Nephron **51**(4): 577–8.
- Tauer, A., T. Knerr, et al. (2001). "In vitro formation of N(epsilon)-(carboxymethyl)lysine and imidazolones under conditions similar to

continuous ambulatory peritoneal dialysis." Biochem Biophys Res Commun **280**(5): 1408–14.

Tavassoli, M., J. Soltaninia, et al. (2002). "Tamoxifen inhibits the growth of head and neck cancer cells and sensitizes these cells to cisplatin induced-apoptosis: role of TGF-beta1." Carcinogenesis **23**(10): 1569–75.

Tilton, R. G., T. Kawamura, et al. (1997). "Vascular dysfunction induced by elevated glucose levels in rats is mediated by vascular endothelial growth factor." J Clin Invest **99**(9): 2192–202.

Toi, M., S. Kondo, et al. (1996). "Quantitative analysis of vascular endothelial growth factor in primary breast cancer." Cancer **77**(6): 1101–6.

Tsunoda, T., N. Mochinaga, et al. (1993). "Sclerosing encapsulating peritonitis combined with peritoneal encapsulation." Arch Surg **128**(3): 353–5.

Twardowski, Z. J. (1990). "PET--a simpler approach for determining prescriptions for adequate dialysis therapy." Adv Perit Dial **6**: 186–91.

Ueberham, U., E. Ueberham, et al. (2003). "Connective tissue growth factor in Alzheimer's disease." Neuroscience **116**(1): 1–6.

USRDS (2006). "USRDS 2006 Annual Data Report: Atlas of End-Stage Renal Disease in the United States, National Institutes of Health, National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases." U.S. Renal Data System(18): 296.

Van Biesen, W., R. C. Vanholder, et al. (2000). "An evaluation of an integrative care approach for end-stage renal disease patients." J Am Soc Nephrol **11**(1): 116–25.

Walsh, D. A., M. Wade, et al. (1998). "Focally regulated endothelial proliferation and cell death in human synovium." Am J Pathol **152**(3): 691–702.

Williams, J. D., K. J. Craig, et al. (2002). "Morphologic changes in the peritoneal membrane of patients with renal disease." J Am Soc Nephrol **13**(2): 470–9.

- Wolfson, M. und M. R. Jones (1999). "Nutrition impact of peritoneal dialysis solutions." Miner Electrolyte Metab **25**(4-6): 333–6.
- Wu, D. Q., M. K. Kan, et al. (1991). "Characterization and molecular cloning of a putative binding protein for heparin-binding growth factors." J Biol Chem **266**(25): 16778–85.
- Yamamoto, H., M. Nakayama, et al. (2002). "Fifteen cases of encapsulating peritoneal sclerosis related to peritoneal dialysis: a single-center experience in Japan." Adv Perit Dial **18**: 135–8.
- Yanez-Mo, M., E. Lara-Pezzi, et al. (2003). "Peritoneal dialysis and epithelial-to-mesenchymal transition of mesothelial cells." N Engl J Med **348**(5): 403–13.
- Yoshio, Y., M. Miyazaki, et al. (2004). "TNP-470, an angiogenesis inhibitor, suppresses the progression of peritoneal fibrosis in mouse experimental model." Kidney Int **66**(4): 1677–85.
- Zarrinkalam, K. H., J. M. Stanley, et al. (2003). "Connective tissue growth factor and its regulation in the peritoneal cavity of peritoneal dialysis patients." Kidney Int **64**(1): 331–8.

6. Publikation

New facts about encapsulating peritoneal sclerosis as a sequel of long-term peritoneal dialysis - what can we do?

Alscher DM., Reimold F.; Minerva Urol Nefrol. 2007 Sep;59(3):269-79.

Review.

7. Danksagung

Zuallererst möchte ich meinem Doktorvater PD Dr. Dominik Alscher danken, der mir das Thema für diese Arbeit überlassen hat, mir immer kompetent, aber auch freundschaftlich Hilfe gab und zur Entstehung und Konzeption dieser Arbeit maßgeblich beigetragen hat.

Weiterhin danke ich Dagmar Biegger, ohne deren Hilfe und Geduld, vor allem bei der Immunhistochemie und bei der Auswertung, diese Arbeit kaum möglich gewesen wäre, Prof Dr. Kuhlmann, Chefarzt der Abteilung für allgemeine Innere Medizin und Nephrologie am Robert-Bosch-Krankenhaus, der es mir ermöglicht hat, diese Arbeit auf dem Kongress der „American Society of Nephrology“ im November 2005 in Philadelphia, PA, USA vorzustellen, Dr. Fritz, Chefarzt für Pathologie am Robert-Bosch-Krankenhaus für die Hilfe bei der Konzeption, Auswertung und Interpretation der Ergebnisse, Dr. Elisabeth Schillinger-Pokorny aus Offenburg für die Überlassung von Gewebeproben und klinischen Daten von EPS-Patienten und Dr. Moritz Butscheid für die Hilfe bei der Auswertung.

Ich danke meinen Eltern für ihre Geduld und finanzielle, aber auch seelische Unterstützung, mit der es nur möglich wurde dieses Studium zu durchlaufen und diese Arbeit zu schreiben und nicht zuletzt für das Korrekturlesen dieser Arbeit.

Ich danke meiner Schwester, die mich immer und in jeder Hinsicht unterstützt hat.

Ich danke Nadine Elsässer und Simon Stecher für das Korrekturlesen dieser Arbeit.

Ich danke Isabel und Rebecca, die mir immer genug Zeit gelassen haben, um diese Arbeit zu schreiben.

8. Lebenslauf

Persönliche Daten

Name: Fabian Raoul Reimold

Geburtsdatum: 01.09.1980

Geburtsort: Nördlingen (Kreis Donau-Ries)

Staatsangehörigkeit: deutsch

Familienstand: ledig

Schulbildung September 1987-Juni 2000

September 1987–Juli 1991	Eichberg-Grundschule, Leinfelden-Echterdingen
September 1991–Oktober 1997	Immanuel-Kant-Gymnasium, Leinfelden-Echterdingen
Oktober 1997–November 1997	Kennard-Dale Highschool, Fawn Grove, PA, USA
November 1997–Juni 2000	Immanuel-Kant-Gymnasium, Leinfelden-Echterdingen
Juni 2000	Allgemeines Abitur

Zivildienst Oktober 2000–August 2001

Oktober 2000–August 2001	Johanniter-Unfall-Hilfe, Ortsverein Esslingen am Neckar
--------------------------	--

Studium der Humanmedizin Oktober 2001–Juli 2007

Seit Oktober 2001	Studium der Humanmedizin an der Eberhard-Karls-Universität Tübingen
11. September 2003	Ärztliche Vorprüfung
August 2004–September 2004	Famulatur: Pädiatrie im Olgahospital Stuttgart
Februar 2005–April 2005	Famulatur: Innere Medizin und Pädiatrie am Porter Memorial Hospital in Valparaiso, IN, USA
Juli 2005–August 2005	Famulatur: Innere Medizin im Robert-Bosch-Krankenhaus Stuttgart
Februar 2006–April 2006	Praxisfamulatur: Chirurgische Gemeinschaftspraxis Dres. Eberhard und Olivieri in Pforzheim
August 2006–Dezember 2006	1. Tertial des Praktischen Jahres: Chirurgie an der University of Louisville in Louisville, KY, USA
Dezember 2006–April 2007	2. Tertial des Praktischen Jahres: Innere Medizin im Robert-Bosch-Krankenhaus Stuttgart
April 2007–Juli 2007	3. Tertial des Praktischen Jahres: Pädiatrie in der Kinderklinik der Eberhard-Karls-Universität Tübingen
30. Oktober 2007	Zweiter Teil der ärztlichen Prüfung in Reutlingen und Stuttgart

Doktorarbeit seit März 2004

Seit März 2004	Doktorarbeit in der Abteilung für Allgemeine Innere Medizin und Nephrologie am Robert-Bosch-Krankenhaus Stuttgart
----------------	---