

**Aus dem Institut für Pathologie der Universität Tübingen
Abteilung Allgemeine Pathologie und Pathologische Anatomie
Direktor: Professor Dr. F. Fend**

**Hernienchirurgie mit konventioneller Naht und
Polypropylen-Netzimplantaten**

Eine in situ-Analyse von Indikatoren fremdkörperinduzierter
Malignisierung und der Dynamik
entzündlicher/bindegewebiger Organisation

**Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin**

**der Medizinischen Fakultät
der Eberhard-Karls-Universität
zu Tübingen**

**vorgelegt von
Michaela Rockenstiehl**

**aus
Reutlingen**

2010

Dekan: Professor Dr. I. B. Autenrieth

1. Berichterstatter: Professor Dr. M. Wehrmann

2. Berichterstatter: Professor Dr. K.-H. Manncke

Abkürzungen:

Abb. Abbildung

CD Cell Differentiation Antigen (Zell-Differenzierungs Antigen)

HPF High power field

Inc Incorporated; eine im US-amerikanischen Handelsregister eingetragene Corporation

M. Musculus

PAS Perjod-Schiff-Reagenz

Tab. Tabelle

Vergr. Vergrößerung

z. B. zum Beispiel

Inhaltsverzeichnis

1.0. Einleitung.....	1
1.1. Hernienchirurgie mit Kunststoffnetzimplantation.....	3
1.1.1. Geschichte.....	3
1.1.2. Anatomie und Pathomorphogenese.....	4
1.1.3. Operationsverfahren.....	5
1.1.4. Kunststoffnetz-Materialien.....	7
1.2. Fragestellung.....	9
2.0. Patienten, Material und Methodik.....	10
2.1. Patienten.....	10
2.2. Histologische Verfahren.....	10
2.2.1. Einbettungs- und Schneiderverfahren.....	10
2.2.2. Färbemethode.....	11
2.3.0. Immunhistologie.....	11
2.3.1. T-Lymphozyten.....	12
2.3.2. B-Lymphozyten.....	12
2.3.3. Myofibroblasten und Endothelien.....	13
2.3.4. Makrophagen.....	13
2.3.5. Fremdkörperriesenzellen.....	14
2.3.6. Mastzellen.....	14
2.3.7. Proliferationsantikörper.....	15
2.3.8. Tumorsuppressorantigen p53.....	15
2.3.9. c-kit / CD117.....	16
2.3.10. Protoonkogen c-erb B2 (Her2/neu).....	16
2.3.11. Cyclin D1.....	17
2.3.12. bcl-2-Onkoprotein.....	17
2.3.13. Tabelle der verwendeten Antikörper.....	18
2.4. Morphometrische Methode.....	20
2.4.1. Lichtmikroskopische Morphometrie.....	20
2.5. Statistische Auswertung.....	20
3.0. Ergebnisse.....	21
3.1. Auswertung der erhobenen Daten.....	21
3.1.1. Bindegewebe proliferation / Faserbildung.....	21
3.1.2. Myofibroblasten.....	24
3.1.3. Gefäßproliferation.....	27
3.1.4. Makrophagen.....	28
3.1.5. Fremdkörperriesenzellen.....	31
3.1.6. Mastzellen.....	33
3.1.7. T-Lymphozyten.....	35
3.1.8. B-Lymphozyten.....	36
3.1.9. Proliferationsassoziierte Antigene.....	39
3.1.10. p53; c-kit / CD117; c-erbB2.....	43
3.2. Zusammenfassung der Ergebnisse.....	49
4.0. Diskussion.....	51
4.1. Faserbildung.....	52
4.2. Myofibroblasten – und Gefäßproliferation.....	54
4.3. Fremdkörperreaktion.....	55

4.4. Makrophagen	56
4.5. Mastzellen.....	57
4.6. T- und B-Lymphozyten.....	58
4.7. Proliferation.....	59
4.8. Cyclin D1, bcl2.....	61
4.9. p53, CD117, c-erbB2	61
4.10. Malignisierungsrisiko.....	62
4.11. Kunststoffnetzoptimierung	63
5. Zusammenfassung	67
6. Literaturverzeichnis	70

1.0. Einleitung

Alloplastische Netzimplantate stellen weltweit in der Leisten- und Narbenhernienchirurgie die am häufigsten genutzten Prothesen dar. In den 1960iger Jahren wurde die Implantation von Kunststoffnetzen noch als unkonventionelles Vorgehen in der Hernienreparation angesehen, während sich heute die Hernienchirurgie weitgehend auf ihre Verwendung stützt. Gleichzeitig wurden spezielle laparoskopische Operationsverfahren erst durch die stabilisierenden Eigenschaften der Kunststoffnetze möglich. Im Gegensatz zu konventionellen Nahtmethoden mit einer hohen Rezidivrate von über 50% (Langer S. et al., 1985; Schumpelick et al., 1996; Paul et al., 1998), zeigten Kunststoffnetzkonstruktionen in der Hernienreparation mehrheitlich klinisch zufrieden stellende Ergebnisse. Rezidive treten bei Hernienkorrekturen mit Kunststoffnetzen bei weniger als 10% der Patienten auf (Lichtenstein et al., 1993; Amid et al., 1996; Leber et al., 1998; Chevrel und Rath, 1999; Schumpelick et al., 1999; Langer, C. et al., 2001). In neueren Publikationen werden die Rezidivraten zwischen 0 und 32% angegeben (Debodinance et al., 2002 u. 2006; Burger et al., 2004; Kayaoglu et al., 2005; van Veen et al., 2007; Elsebae et al., 2008; Huffaker et al., 2008; Lauscher et al., 2008; Smietanski, 2008; Smietanski et al., 2009). Bei großen und rezidivierenden Narbenhernien sind Kunststoffnetzimplantate für den mechanischen Verschluss der Bruchlücke besonders erfolgreich, da Entzündungsreaktionen eine Narbenhülle mit der Prothese als zentralem stabilisierendem Element induzieren und so eine effektive Hernienreparation ermöglichen.

Inzwischen finden sich auch zahlreiche Berichte über kunststoffnetzassoziierte Komplikationen, wie z.B. Sensibilitätsstörungen, chronische Schmerzen (Rosch et al., 2003), Samenstranggranulome (Silich et al., 1996), Bildung von Fisteln (Leber et al., 1998; Gray et al., 1994) und Seromata (Amid et al., 1994), Steifigkeitsgefühl bis hin zu Bewegungseinschränkungen (Klinge et al., 1997), Infektionen, Adhäsionen, Dislokationen, viszerale Erosionen und Perforationen (Klosterhalfen et al., 2000).

Die histopathologischen und molekularbiologischen Analysen der Gewebereaktionen in der Umgebung von chirurgischen Kunststoffnetzen nach Langzeitimplantation im Menschen (Klosterhalfen et al., 2000) ergaben, dass alle hier untersuchten Netze zu einer erhöhten, chronisch-persistierenden Proliferations-, und Apoptoserate in Verbindung mit DNA-Schädigung führten. Auch die fremdkörperinduzierte Karzinogenese bildet ein Risiko, da chronisch-persistierende Entzündungsabläufe und erhöhte Proliferations- und Apoptosezahlen als Induktoren bzw. Promotoren in der Kanzerogenese anerkannt sind (Brandt G u. I, 1980).

1.1. Hernienchirurgie mit Kunststoffnetzimplantation

1.1.1. Geschichte

Kunststoffnetzimplantate werden seit 1959 in der Hernienchirurgie erfolgreich verwendet (Usher et al., 1959). Zu Beginn der 1990er Jahre fanden sie durch neue laparoskopische Operationstechniken eine zunehmende Verbreitung und inzwischen werden zumeist synthetische Netze aus alloplastischem Material bei Hernienoperationen implantiert.

Schon vor über 170 Jahren wurden Bruchlücken mit körperfremdem Material, wie z. B. Schwimmblasen von Fischen, verschlossen (Belmas, 1831). Bereits 1886 verstärkte Macewen den Verschluss des inneren Leistenrings, indem er den ganzen Bruchsack raffte und an die Innenseite des inneren Leistenrings schob. Trendelenburg (1887) verwandte einen 4 cm langen, 4 cm breiten und 3 mm dicken Periostlappen von der Symphyse, während Rehn einen Fascia-lata-Streifen benutzte. Danach wurden Silberdrahtnetze (1889, Witzel), Gold (1901, Busse), Gummischwämme (1931, Fieschi) und Stoffnetze (1940, Ogilvie) bei kontaminierten Kriegsverletzungen verwendet (historische Publikationen zitiert nach Schumpelick et al., 1999).

Nach dem Zweiten Weltkrieg wurden in der operativen Therapie von Hernien mehr und mehr polymere Kunststoffe benutzt. Für den medizinischen Gebrauch setzten Aquaviva und Bourret 1948 erstmals Nylon ein, welches bereits 1952 in der Hernienchirurgie Verwendung fand. Seit 1954 kamen Polyester (z. B.: Mersilene®, Parietex®) und seit 1959 Polypropylen (z. B.: Marlex®, Prolene®) in Gebrauch. Auch die Operationstechniken ließen sich verfeinern. So entwickelten Lichtenstein und Amid 1986 die transinguinale präperitoneale Prothese (TIPP) und laparoskopische Verfahren wie TAPP (transabdominelle präperitoneale Prothese) und TEP (transabdominale extraperitoneale Hernioplastie) wurden eingeführt (Schultz 1990; Ferzli 1992 zitiert nach Schumpelick et al., 1999).

1.1.2. Anatomie und Pathomorphogenese

Verlauf und Umgebung des Leistenkanals:

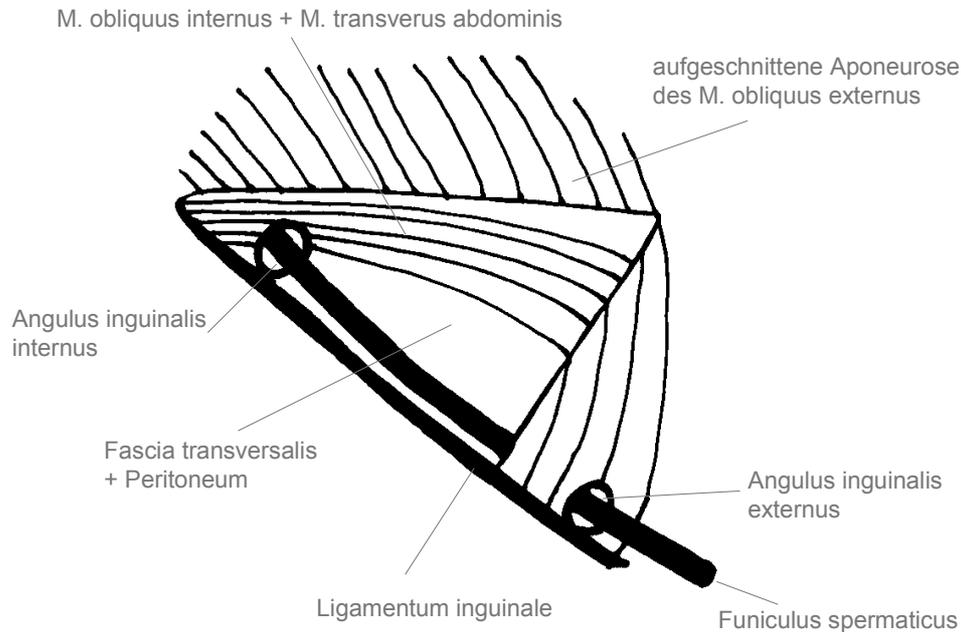


Abb. 1: Schematische Skizze des Leistenkanals und der umgebenden Strukturen.

In die Bauchwand ist ein Fasziengerüst integriert, das durch verschiedene Muskelgruppen unter Spannung gehalten wird und das bei jeder größeren Bewegung wichtige Funktionen erfüllt. Die Bauchwandmuskulatur ist als Gegenspieler der autochtonen Rückenmuskulatur für die Stabilisierung der Wirbelsäule mitverantwortlich. Sie stabilisiert den Rumpf beim aufrechten Gang, bei Extension, Flexion und Torsion. Ferner unterstützt sie die Atmung, reguliert den intraabdominellen Druck und ist über die Bauchpresse bei der Defäkation beteiligt. Die physiologisch tonisierte Bauchwand schützt auf natürliche Weise die Abdominalhöhle. Dabei sind der Tonus der Transversusmuskulatur und der Bauchinnendruck bei Beugung und Streckung konstant, während die Aktivitäten der anderen Muskelverbände bei der Streckung ansteigen und bei der Beugung absinken (Klinge et al., 1996).

1.1.3. Operationsverfahren

Onlay-Technik

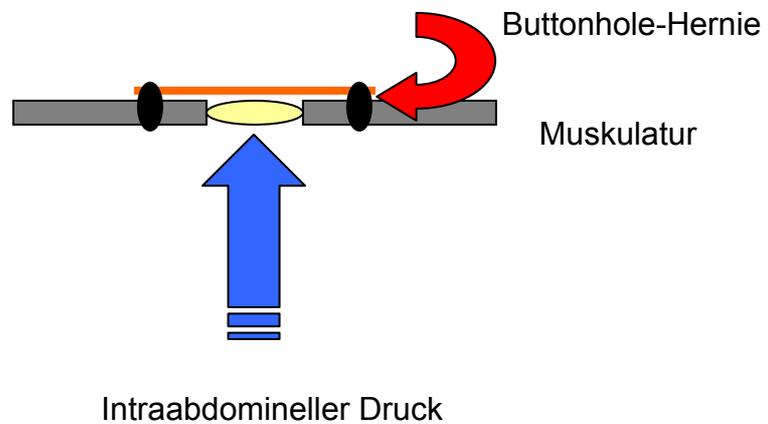


Abb. 2: Schematische Skizze der Kunststoffnetzposition (orange) mit umgebender Bauchdecke bei Onlay-Technik (nach Schumpelick et al., 1999).

Bei dieser Technik wird zumeist ein Kunststoffnetzimplantat großflächig auf der Fasziennaht positioniert. Zuvor wird epifaszial eine entsprechende Fläche frei präpariert. Das Netz dient dann vornehmlich zur statischen Sicherung des Bruchbezirks und es deckt in der Regel die gesamte vordere Bauchdecke ab.

In Zusammenhang mit dieser Technik treten oft Hernienrezidive zwischen Netz und Faszie auf, da die zumeist in zwei Reihen angelegten Fixierungsnähte häufig ausreißen. Dadurch entstehen die sogenannte „buttonhole hernia“ (Knopflochhernien).

Inlay-Technik

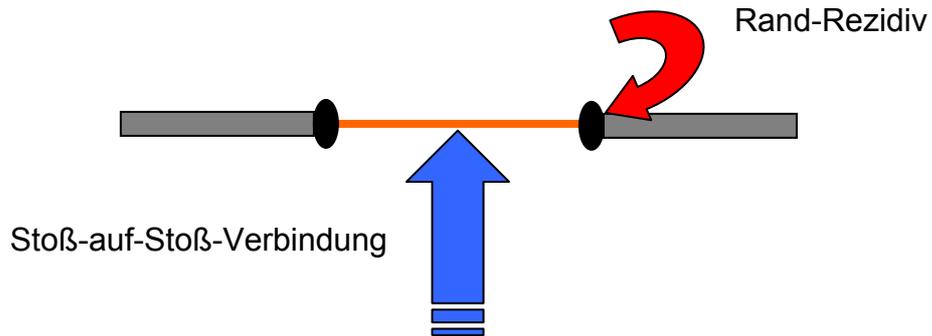


Abb. 3: Schematische Skizze der Netzposition (orange) mit umgebender Bauchdecke bei Inlay-Technik (nach Schumpelick et al., 1999).

Hier handelt es sich um eine Stoß-auf-Stoß-Verbindung ohne Netzüberlappung. Dadurch stellt der Verbindungsabschnitt eine anhaltende Schwachstelle dar, und entsprechend liegt die Rezidivrate dieser Methode bei 46%.

Sublay- oder Underlay-Technik

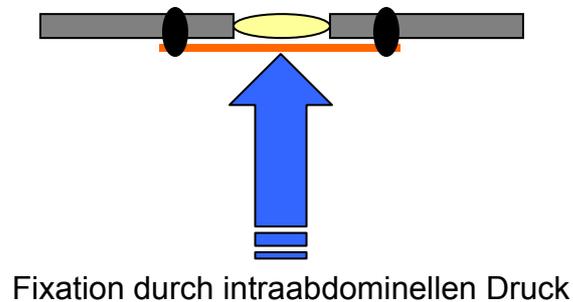


Abb. 4: Schematische Skizze der Netzposition (orange) mit umgebender Bauchdecke bei Sublay- oder Underlay-Technik (nach Schumpelick et al., 1999).

Die Sublay- oder Underlay-Technik platziert ein den Bauchwanddefekt deutlich überlappendes Netzimplantat zwischen Muskulatur und Peritoneum. Das Implantat wird durch den abdominalen Druck auf der Bruchlücke adaptiert. Für diese Operationsmethode ist eine aufwendige präperitoneale Präparation erforderlich. Ein nicht intaktes Peritoneum und folglich der direkte Kontakt

zwischen Polypropylen- oder Polyesternetz und Interstitium kann zu starken Adhäsionen und Fistelbildung führen.

Die Adhäsion kann vermieden werden, indem der Darm mit dem Omentum majus bedeckt oder indem zwischen nichtresorbierbarem Kunststoffnetz und dem Darm ein resorbierbares Kunststoffnetz eingelegt wird.

Im Gegensatz zu der Stoß-auf-Stoß-Technik bedarf es bei der Sublay-Technik keiner Reißfestigkeit von maximal 16 N/cm. Hier stellt der zweidimensionale Berstdruck nach Durchwachsung des Implantats mit Narbengewebe die zu messende Haltekraft dar. Durch ausreichende Überlappung wird das Material mittels abdominellem Drucks in seiner Position fixiert und von einer Narbenplatte umhüllt, die eine erneute Hernierung verhindert. Somit kann das Netz eine geringere Reißfestigkeit aufweisen als bei der Inlay-Technik, sodass ein Netz mit reduziertem Kunststoffanteil benutzt werden kann. Dadurch sollten sich nach Einschätzung älterer Publikationen die Steifigkeit der Bauchwand und sonstige nicht erwünschte Nebenwirkungen verringern (Klinge et al., 1996), und die Rezidivrate nach dieser Positionierung am niedrigsten liegen (Schumpelick et al., 1999).

1.1.4. Kunststoffnetz-Materialien

Polytetrafluorethylen (PTFE = GoreTEX®)

Die **Polytetrafluorethylen**-Folie besitzt eine geringe Porengröße von 1-6 µm, welche die Ansiedelung und Persistenz von Bakterien und somit eine fortdauernde inflammatorische Reaktion fördert. Die glatte Wand der Folie induziert keine oder nur eine geringe Adhäsion. Daraus resultiert eine geringe Integration des PTFE-Netzes, die Vernarbung erfolgt vorwiegend um das Implantat herum, und Narbengewebswickel bilden sich selten, die durch die Netzporen mit Gewebe auf der Netzgegenseite verwachsen (Klinge et al., 1997).

Polyethylenterephthalat = Polyester (Dracon® = Mersilene®)

In den ersten Jahren nach Implantation besitzen Polyesternetze eine hohe mechanische Stabilität, sie zerfallen jedoch obligat im Laufe der Zeit zunehmend und verlieren nach ca. 10 Jahren ihre Stabilität völlig. Adhäsionen werden selten ausgebildet, das Material zeigt eine hohe proinflammatorische Potenz und Serome bilden sich häufig aus.

Polypropylen (Prolene®, Marlex®, Atrium®)

Polypropylen erreicht die Festigkeit von Stahl, obgleich der eine achtfache Dichte besitzt. Eine langfristige Degradation wie bei Polyester ist für Polypropylene nicht bekannt, es soll nur eine geringe Begleitentzündung auslösen und die hohe mechanische Stabilität bleibt erhalten. Häufig bilden die Implantate Wellungen bzw. Falten, die steifen und scharfkantigen Kunststoffnetze verursachen häufiger Serome und die Rezidivrate wird zwischen 0 und 32% angegeben (Schumpelick et al., 1999; Debodinance et al., 2002 u. 2006; Burger et al., 2004; Kayaoglu et al., 2005; van Veen et al., 2007; Elsebae et al., 2008; Huffaker et al., 2008; Lauscher et al., 2008; Smietanski, 2008; Smietanski et al., 2009).

1.2. Fragestellung

In der vorliegenden Arbeit sollte die lokale in situ Entzündungsreaktion des Organismus auf Kunststoffnetzimplantate und auf Nahtmaterial nach konventioneller Leistenhernienoperation analysiert werden. In Korrelation mit der Verweildauer der unterschiedlichen Fremdmaterialien wurden die Entwicklung der Fasermenge, die Zusammensetzung der beteiligten Zellpopulationen und ihre proliferative Aktivität konventionell-morphologischen und immunhistologischen ermittelt. Im Einzelnen wurden neben der Fasermenge bestimmt: die Myofibroblasten- und Gefäßdichte, die Menge der Gewebsmakrophagen, der Fremdkörperriesenzellen, der Mastzellen, der B- und T-Lymphozyten sowie die proliferative Aktivität visualisiert mit den Antikörpern MiB1 und PCNA. Gleichzeitig erfolgte nur am kunststoffnetzassoziierten Gewebe eine entsprechende immunhistologische Analyse der Expressionsmuster von den Onkoproteinen bcl2, c-erbB2, Cyclin D1, des Tumorsuppressorproteins p53 sowie des Tyrosinkinase-Rezeptorproteins c-kit (CD117).

Auf der Grundlage dieser Untersuchung wurde gefragt:

1. Ergeben sich aus den Ergebnissen der immunhistochemischen Analyse Hinweise auf ein erhöhtes Malignisierungsrisiko nach Kunststoffnetzimplantation?
2. Welche der geprüften Parameter sind biologisch ursächlich für die deutlich verringerte Rezidivneigung nach Verwendung von Kunststoffnetzimplantaten?
3. Zeichnen sich daraus biologische Parameter ab, durch deren Modifikation sich die Rezidiv- und Komplikationsrate weiter reduzieren und die Verträglichkeit verbessern lassen?

2.0. Patienten, Material und Methodik

2.1. Patienten

Untersucht wurden aus Polypropylen (Prolene®) bestehende Kunststoffnetzimplantate (n = 67), die im Zeitraum zwischen 1999 und 2001 nach Rezidiven oder Komplikationen entnommen wurden. Verglichen wurde mit Weichgewebsresektaten von einer Patientengruppe, die mit konventioneller Nahttechnik (n=16) ohne Kunststoffnetzimplantat versorgt worden war. Die erhobenen Daten wurden kontinuierlich nach steigender Implantationsdauer in Monaten sortiert. Die Kunststoffnetzexplantate stammten zu 17,9% (12) von weiblichen und zu 76,1% (51) von männlichen Patienten. Bei 4 Patienten ließ sich das Geschlecht nicht ermitteln (6,0%). Die Resektate der Nahtgruppe stammten zu 68,8% (11) von weiblichen und zu 31,3% (5) von männlichen Patienten. Zum Operationszeitpunkt betrug das Durchschnittsalter der Patienten mit Kunststoffnetzimplantat 63,8 Jahre, die Spannweite lag zwischen 21 und 89 Jahren. In der Nahtgruppe lag das Durchschnittsalter bei 66,5 Jahren, das Alter des jüngsten Patienten betrug 32 und das des ältesten 94 Jahre. Bei der Re-Operation belief sich das Alter der Patienten mit Kunstnetzimplantation im Durchschnitt auf 63,8 und das der Nahtgruppe auf 62,8 Jahre. Die Spannweite lag bei Patienten mit Kunststoffnetzimplantation zwischen 22 und 92 Jahren, bei konventionell Versorgten zwischen 36 und 94 Jahren. Die durchschnittliche Implantationszeit der Kunststoffnetze betrug 33,7 Monate (Median: 29,7 Monate), der Nahtgruppe 78,6 Monate (Median: 30,6 Monate).

2. 2. Histologische Verfahren

2.2.1. Einbettungs- und Schneideverfahren

Das resezierte Gewebe wurde nach Entnahme in gepuffertem 4%igem Formalin (pH 7,5) maximal 24 Stunden fixiert und danach in ca. 3 mm breite

Gewebsstreifen lamelliert. Nach Dehydrierung in einer aufsteigenden Alkoholreihe (zunehmende Konzentration von Äthanol bis zum absoluten Alkohol) wurden die Gewebestücke durch Xylol als Intermedium geführt und dann mit erwärmtem verflüssigtem Paraffin durchtränkt. Anschließend wurde das Gewebe in Paraffinblöcke eingegossen. Nach Erkaltung wurden am Mikrotom Schnitte von Dicke 2-6 μm hergestellt und im warmen Wasserbad auf Objektträger aufgezogen.

2.2.2. Färbemethode

Die Schnittpräparate wurden vor der Färbung in Xylol entparaffiniert, über eine absteigende Alkoholreihe in Wasser überführt und mit Hämatoxylin-Eosin (HE) gefärbt.

Zur besseren Beurteilung des Fasergehalts wurden von allen Schnittpräparaten Masson-Trichrom-Färbungen hergestellt. Kollagenfasern werden dadurch kräftig tiefblau gefärbt, sodass die semiquantitative Auswertung des Bindegewebsgehalts im Gewebe erleichtert wurde. Die Zellkerne erscheinen leuchtend rot und das Zytoplasma stellt sich blassrosa bis schwach bläulich dar, glatte Muskelzellen werden rot und elastische Faser graublau gefärbt

2.3.0. Immunhistologie

An dem formalinfixierten Gewebe wurden die immunhistochemischen Reaktionen mit der Avidin-Biotin-Komplex (ABC)-Methode (Hsu et al., 1981) durchgeführt. Humane zelluläre Antigene wurden immunhistochemisch mit entsprechenden Antikörpern von der Maus oder Kaninchen (monoklonal) bzw. vom Kaninchen (polyklonal) markiert. Hierbei fand der ABC-Elite-Kit von Vector (Firma Linaris) Verwendung.

Nachdem die Schnitte in Xylol entparaffiniert, in einer absteigenden Alkoholreihe rehydriert und in Citrat-Puffer (pH 6,0) einer Hitze-Druck-

Behandlung unterzogen worden waren, erfolgte eine Andauung mit Protease. Nach der Vorbehandlung wurden die Schnitte in TRIS/NaCl-Puffer gewaschen. Nun erfolgte nach einem Bad im Wasch-Puffer und in Normalserum die Inkubation mit dem Primärantikörper (z. B., Anti-CD3) in einer Verdünnung mit TRIS/NaCl-Puffer. Nach Inkubation mit dem Brückenantikörpermischung, das an den Fc-Teilen biotinyliert ist, wurde der Peroxidase-konjugierte ABC-Komplex hinzugefügt, der wiederum mit den biotinylierten Enden des Brückenantikörpers reagierte. Danach wurde die Peroxydase mit dem DAB-Substratkit (Zytomed) sichtbar gemacht und eine Kerngegenfärbung mit Hämatoxylin nach Harris (Merck) durchgeführt. Dann wurden die Schnittpräparate nach aufsteigender Alkoholreihe und Xylol mit Eukitt eingedeckt.

2.3.1. T-Lymphozyten

Der monoklonale Antikörper gegen CD3 gilt als Pan-T-Zell-Marker. Das CD3-Molekül besteht aus fünf verschiedenen Polypeptid-Ketten. Dieser CD3-Komplex ist eng mit dem T-Zell-Antigen-Rezeptor auf der Zelloberfläche assoziiert. Es wird angenommen, dass der CD3-Komplex die Signal-Transduktion im T-Zell-Inneren beeinflusst. Der Antikörper ist für die Verwendung an formalinfixiertem und paraffineingebettetem Gewebe geeignet. Die Färbereaktion erfolgt an der Membran (Chetty und Gatter, 1994).

2.3.2. B-Lymphozyten

Der monoklonale Antikörper gegen CD20 (Klon L26) markiert lymphatische Zellen der B-Zelllinie. Bei CD20 handelt es sich um ein transmembranisches, nicht glykolysiertes Protein, welches auf B-Zellen-Vorläufern und auf reifen B-Zellen exprimiert wird, jedoch nach der Differenzierung zu Plasmazellen verloren geht. Es wird angenommen, dass CD20 eine direkte Rolle bei der Regulation des transmembranischen konduktiven Ca-Ionen-Flusses der B-Zellen spielt, was auf eine mögliche Funktion des CD20 als Regulator der

Proliferation und Differenzierung hinweist. Der Antikörper ist für die Verwendung an formalinfixiertem Gewebe geeignet. Die Expression erfolgt an der Zellmembran (Matthias und Rolink, 2005).

2.3.3. Myofibroblasten und Endothelien

Der Antikörper gegen „smooth muscle actin“ (SM-Aktin / DAKO Monoclonal Mouse Anti-Human, Klon 1A4, identisch mit Klon anti-alpha sm-1 aus Skalli et al., 1986), reagiert spezifisch mit Aktin glatter Muskelzellen, Myofibroblasten und myoepithelialer Zellen. So lassen sich die glatten Muskelzellen in Blutgefäßen oder auch in der Speicheldrüse sicher darstellen. Der Antikörper markiert Myofibroblasten und myoepitheliale Zellen in den Acini und Ductus der Brust. Epithelien, Lymphozyten, Herz- und Skelettmuskelzellen, endotheliale Zellen, Fettzellen, Schwann'sche Zellen und Fibrozyten zeigen keine Reaktion. Ferner handelt es sich um einen Antikörper, der zur Identifizierung von Leiomyomen und Leiomyosarkomen genutzt wird (Roholl et al. 1990; Rizeq et al. 1994).

2.3.4. Makrophagen

Der monoklonale Anti-CD68-Antikörper PG-M1 reagiert mit inflammatorischen und Gewebsmakrophagen in verschiedenen Organen und Geweben, einschließlich der Kupfferzellen in der Leber und den Makrophagen in Milz, Darm, Lunge und Knochenmark. Ausschließlich Antigen-präsentierende Zellen, wie Langerhanszellen und interdigitierende Zellen enthalten dieses Antigen nicht mehr. Myeloische Vorläuferzellen und periphere Granulozyten exprimieren dieses Antigen ebenfalls nicht. Der Antikörper reagiert mit einer Zellpopulation, die man heute plasmazytoide Monozyten nennt, die früher als plasmazytoide T-Lymphozyten bezeichnet wurden (Koo et al., 1990) und die in vielen reaktiv veränderten Lymphknoten anzutreffen sind. Ferner markiert der Antikörper PG-M1 akute myelomonozytäre (M4) und monozytäre (M5) Leukämien, nicht aber

solche mit ausschließlich myeloischer Differenzierung (M1, M2, M3, M6, M7). Darüber hinaus lassen sich Fälle von echten histiozytären Sarkomen und mesenchymale Neoplasien mit lysosomalen Strukturen nachweisen. Der Antikörper erkennt also an formalinfixiertem und paraffineingebettetem Gewebe lysosomale Antigene. Speziell der Anti-CD68-Antikörper PG-M1 zeigt nur eine schwache Reaktivität an Gefrierschnitten und Zellausstrichpräparaten (Falini et al., 1993, Holness und Simmons 1993; Charbord et al., 1996).

2.3.5. Fremdkörperriesenzellen

Der Nachweis der Fremdkörperriesenzellen erfolgt am HE-Schnitt konventionell-morphologisch sowie durch die immunhistochemische Expression von CD68.

Riesenzellen sind große mehr- oder vielkernige Zellen, die zumeist durch Zellfusion von Makrophagen als Reaktion auf Fremdkörper oder auf Infektionen durch spezifische Erreger (Bakterien, Viren, Pilze) oder auch bei Stoffwechselstörungen entstehen. Durch Fusion von Makrophagen in Gegenwart von nicht degradierbarem Fremdmaterial entstehen Riesenzellen vom Fremdkörper- bzw. ungeordneten Typ (Wahl, 1989).

2.3.6. Mastzellen

Der Antikörper Monoclonal Mouse anti-Human Mast Cell Tryptase (MCT) markiert Mastzellen und dient auch zur Erkennung atypischer oder unausgereifter Mastzellen sowie winziger fokaler Mastzellinfiltrate. Mastzellen werden durch eine Reihe von Stimuli aktiviert, beispielsweise durch Superoxide, Komplement-Proteine, Neuropeptide und Lipoproteine, die zu einer Aktivierung und Mastzelldegranulation führen. Die Degranulation der Mastzellen und die folgende Freisetzung von Mastzelltryptase sowie Histaminen, Leukotrienen und Zytokinen in das umgebende Gewebe stellt ein zentrales Ereignis einer entzündlichen Reaktion dar und scheint eine wichtige Rolle bei der Protektion

des Organismus gegen Pathogene zu spielen (Horny, Valent, 2001; Krishnaswamy et al., 2001).

2.3.7. Proliferationsantikörper

2.3.7.1. MiB1

Der als MiB1 bezeichnete monoklonale Antikörper dient der Darstellung des Ki-67 Antigens in formalinfixiertem und paraffineingebettetem Gewebe (Cattoretti et al. 1992; Gerdes et al., 1992; Key et al., 1992). Das Ki-67 Antigen stellt ein nukleäres Protein dar, das in den aktiven Phasen des Zellzyklus (G1, S1, G2 und M-Phase) exprimiert wird, während es in ruhenden Zellen (G0-Phase) nicht gezeigt wird. Die Expression und damit die immunhistochemische Reaktion erfolgt im Zellkern. Die proliferative Aktivität gibt auch Aufschluss über die Wachstumstendenz einer Neoplasie (Gatter et al., 1986).

2.3.7.2. PCNA

Bei PCNA (proliferating cell nuclear antigen) handelt es sich um einen Cofaktor der DNA-Polymerase δ in der S-Phase des Zellzyklus und bei der DNA-Synthese im Rahmen einer DNA-Reparatur. Der Antikörper reagiert mit allen proliferierenden Zellen und wird er nach einem speziell adaptierten Methanol-fixationsverfahren eingesetzt, markiert er spezifisch die S-Phase des Zellzyklus (Waseem und Lane, 1990; Lee und Hurwitz, 1990).

2.3.8. Tumorsuppressorantigen p53

Der Klon DO-7 reagiert mit dem Wild- und mutierten Typ des p53-Proteins (Epitop am N-Terminus des humanen p53-Proteins, Aminosäuren 19-26; Lane and Benchimol, 1990). Der Antikörper eignet sich zum Nachweis einer p53-Akkumulation, die in Tumoren zahlreicher Zellreihen anzutreffen und die auch als Prognosefaktor vieler menschlicher Neoplasien anzusehen ist.

Das Tumorsuppressorantigen p53 reguliert als Transkriptionsfaktor nach DNA-Schädigung die Expression von Genen, die an der Kontrolle des Zellzyklus, an der Induktion der Apoptose oder an der DNA-Reparatur beteiligt sind. Nach einer Punktmutation im p53-Gen, wird die Funktion des Genprodukts eingeschränkt, es reichert sich im Kern an und kann immunhistochemisch nachgewiesen werden (Böcker et al., 2004).

2.3.9. c-kit / CD117

Der polyklonale Antikörper markiert den transmembranösen Tyrosinkinase-Rezeptor CD117/ c-kit. Der Antikörper gegen das c-kit-Genprodukt, ein Typ III-Tyrosinkinase-Rezeptorprotein, eignet sich exzellent zum Nachweis des c-kit-Proteins am Paraffinschnitt. Neben CD34 charakterisiert es gastrointestinale Stromatumore (GIST), ferner wird es in hämatopoetischen Vorläuferzellen, Melanozyten, Mastzellen, Gliazellen, duktalem Epithelzellen der Brustdrüse (Myoepithelzellen sind c-kit-negativ), Zellen des Nebennierenmarks, von Lungenkarzinomen - insbesondere kleinzellige (SCLC) – und in Zellen der akuten myeloischen Leukämie (AML) exprimiert. Wahrscheinlich ist c-kit beteiligt am Prozeß der malignen Transformation bei GIST-Tumoren und kleinzelligen Lungenkarzinomen (CD117-Überexpression) sowie bei Mammakarzinom (Verlust der CD117-Expression). In der Auswertung werden hier nur Zellen berücksichtigt, die morphologisch und nach dem Reaktionsmuster nicht Mastzellen entsprechen (Galli et al., 1994; Nagata, et al., 1995).

2.3.10. Protoonkogen c-erb B2 (Her2/neu)

Das c-erb B2-Protoonkogen gehört zu den Tyrosinkinase-spezifischen Onkogenen (Klapper et al., 2000). Es handelt sich hierbei um einen Wachstumsfaktor-Rezeptor, der aus transmembranösen Molekülen mit einer extrazellulären Ligandenbindungsdomäne und einer intrazellulären katalytischen Domäne besteht. Die Überexpression dieser Rezeptoren oder die Expression von mutierten Wachstumsfaktor-Rezeptoren spielen durch ihre

mitogene Stimulation eine wesentliche Rolle bei der Entstehung von Neoplasien. Das c-erbB2-Protoonkogen findet sich unter anderem in Karzinomen der Mamma, des Ovars, des Magens, der Speicheldrüse sowie der Lunge (Böcker et al., 2004).

2.3.11. Cyclin D1

Das Cyclin D1 Protoonkogen reguliert den Übergang der G1- in die S-Phase und stellt einen wichtigen Cofaktor für einige Transkriptionsfaktoren in zahlreichen Zelltypen dar. Cyclin D1-Alterationen (z.B. Genamplifikation/Überexpression) sind von vielen Tumorerkrankungen bekannt. Beobachtet werden unter anderem Überexpressionen von Cyclin D1 in Harnblasenkarzinomen, kolorektalen Karzinomen und Plattenepithelkarzinomen im Kopf-Hals-Bereich. Ferner findet sich eine Überexpression in Mantelzelllymphomen, während Marginalzonenlymphome und die meisten anderen B-Zell Lymphome dieses Antigen nicht exprimieren (Cheuk et al., 2004).

2.3.12. bcl-2-Onkoprotein

Bcl-2-Onkoproteine spielen bei der Hemmung der Apoptose eine wichtige Rolle. Ein erhöhter Spiegel des Proteins kann eine korrekte Einleitung der Apoptose stören und zur unkontrollierten Proliferation des Gewebes führen. Eine Expression von bcl-2-Onkoprotein findet sich unter anderem in malignen Lymphomen der B- und T-Zelllinie. Das Bcl-2-Onkoprotein liegt auf der zytoplasmatischen Seite der äußeren Mitochondrienmembran sowie auf dem endoplasmatischen Retikulum und der Kernhülle (Adams und Cory, 1998; Yang und Korsmeyer, 1996).

2.3.13. Tabelle der verwendeten Antikörper

Tabelle 1/1					
AK	Klon	Spezifität	Verdünnung	Herkunft	Literatur
CD3	Monoclonal mouse antihuman, PS1	T-Zelllinie, assoziiert mit dem T-Zell-Antigen-Rezeptor (TCR)	K 1:100	Novocastra Laboratories Ltd, Newcastle, UK	Chetty und Gatter, 1994
CD20	mouse monoclonal antihuman, L26	B-Zell-Vorläufer, reife B-Zellen, keine Expression nach der Differenzierung zur Plasmazelle	MW 1:1500	DAKO Hamburg	Matthias u. Rolink, 2005
SM-Aktin	Monoclonal mouse anti-human smooth-muscle aktin, 1A4	Aktin der Myofibroblasten, myoepithelialen Zellen und glatten Muskelzellen	1:50-1:100	DAKO Hamburg	Roholl et al., 1990; Rizeq et al., 1994
PG-M1 (CD68)	Monoclonal mouse anti-human, PG-M1	Makrophagen, Monozyten, Neutrophile, Basophile und NK-Zellen, B-Zellen des peripheren Bluts (40%), B-ALL-Zellen (50%)	1:50-1:100	DAKO Hamburg	Koo et al., 1990; Falini et al., 1993
Mast Cell Tryptase (MCT)	Monoclonal mouse anti-human, AA1	Mastzellen, basophile Granulozyten und selten in Einzelzellen der CML	Pronase 1:1000	DAKO Hamburg	Horny, Valent, 2001; Krishnaswamy et al., 2001
MiB1	Monoclonal, Ki-67	Nukleäres Protein, exprimiert während aller aktiven Phasen des Zellzyklus (G1, S1, G2, M-Phase)	1:75-1:150	DAKO Hamburg	Cattoretti et al., 1992

Tabelle 1/2

AK	Klon	Spezifität	Verdünnung	Herkunft	Literatur
Proliferating Cell Nuclear Antigen (PCNA)	Monoclonal mouse, PC10	Marker für die S-Phase des Zellzyklus proliferierender Zellen und DNA-Synthese	1:50-1:100	DAKO Hamburg	Waseem, Lane, 1990; Lee, Hurwitz, 1990
p53	mouse monoclonal antibody, DO-7	Nachweis einer p53-Akkumulation; Anreicherung des defekten Tumorsuppressorgens nach DNA-Schädigung	MW 1:100	Novocastra Laboratories Ltd, Newcastle, UK	Lane and Benchimol, 1990
CD117 / c-kit	Polyclonal Rabbit Anti-Human	c-kit-Genprodukt. Typ III-Tyrosinkinasezeptorprotein	1:400-1:600	DAKO Hamburg	Galli et al., 1994; Nagata, et al., 1995
c-erbB2 / Her2/neu	Polyclonal Rabbit Anti-Human	Tyrosinkinase-spezifisches Protoonkogen	1:1000	DAKO Hamburg	Klapper et al., 2000
Cyclin D1	Monoclonal Rabbit Antibody, SP4	Protoonkogen, Regulator des Übergangs der G1- in die S-Phase; Cofaktor für einige Transkriptionsfaktoren Onkoprotein, Hemmung der Zellapoptose	1:40	DCS-Innovative Diagnostik-Systeme,	Cheuk et al., 2004
bcl2	Monoclonal mouse anti-human, 124	Onkoprotein, Hemmung der Zellapoptose Protoonkogen, Regulator des Übergangs der G1- in die S-Phase; Cofaktor für einige Transkriptionsfaktoren	1:50-1:100	DAKO Hamburg	Pezzella et al., 1990

2.4. Morphometrische Methode

2.4.1. Lichtmikroskopische Morphometrie

Die morphometrisch-planimetrische Auswertung der lichtmikroskopischen Präparate erfolgte an je 10 Gesichtsfeldern (0,106 mm²) bei 400-facher Vergrößerung, dem so genannten HPF („high power field“), in unmittelbarer Nähe zum Netziimplantat bzw. zum Nahtmaterial. Bestimmt wurden die einzelnen Zelltypen in absoluten Zahlen pro Gesichtsfeld.

2.5. Statistische Auswertung

In einer logistischen Regressionsanalyse wurde der Einfluss der Implantationsdauer auf verschiedene zelluläre und gewebliche Veränderungen, sowie auf Zellproliferation und Expression von Tumorsuppressorgenen untersucht. Dabei wurden eine Gruppe mit Netziimplantat und eine Gruppe mit konventionellem Nahtmaterial unterschieden. Die Messwerte wurden für jeden einzelnen Antikörper graphisch dargestellt und deskriptiv bewertet. Zur Ermittlung der statistischen Aussage der Ergebnisse wurde ein p-Wert <0,05 als signifikant angesehen. Die statistische Analyse wurde mit Hilfe der statistischen Software JMP, Version 5.1 (SAS Institut Inc.), durchgeführt. Für die Überprüfung von Stichproben auf Unabhängigkeit oder Homogenität wurde der Chi-Quadrat-Test verwendet. Darüber hinaus wurde für die Auswertung der mit dem monoklonalen Antikörper MiB1 bestimmten proliferativen Aktivität das Maximum-Likelihood-Modell angewandt.

3.0. Ergebnisse

3.1. Auswertung der erhobenen Daten (Abb. 7, 8, 11-14)

Dem Bindegewebeproliferationsgrad und damit der Fasermenge, der Myofibroblastendichte und der Gefäßproliferation wurden ordinal 4 Stufen zugeordnet. Proben ohne Bindegewebereaktion, Myofibroblastenneubildung oder Gefäßproliferation wurden dem Grad 0 zugeordnet, mit geringer Proliferation dem Grad 1, mäßige Proliferation entspricht dem Grad 2 und Untersuchungsstücke mit starker Proliferation wurden in dem Grad 3 zusammengefasst. Die Ergebnisse wurden in Mosaik-Blöcken (Abb. 7, 8, 11-14) dargestellt und entsprechend ihrer Implantationsdauer und somit der Verweildauer des Fremdmaterials im Patienten gruppiert. In dem ersten Block finden sich alle Daten der Patienten, die im Zeitraum zwischen 0 und 19 Monaten nach Implantation explantiert bzw. reoperiert wurden. Dasselbe galt für den Zeitraum zwischen dem 20. und 39. Monat sowie zwischen dem 40. und 60. Monat nach Implantation bzw. Operation. In der Netzgruppe gab es einen weiteren Block, der dem Zeitraum zwischen dem 60. und 80. Monat nach Implantation entsprach. Die Flächen zeigen jeweils die rechts durch einen Balken dargestellten Proliferationskategorien an und sie sind dabei proportional zur Anzahl der Patienten dargestellt.

3.1.1. Bindegewebeproliferation / Faserbildung

Bei den Netzexplantaten (Abb.7) aufgrund eines Rezidivs bzw. einer Komplikation zeigte sich nach längerer Implantationsdauer (≥ 60 Monate) bei 3 Fällen eine mäßig starke, ansonsten eine starke Bindegewebereaktion ($n=8$). Nach sehr kurzer Implantationsdauer (<20 Monaten) fanden sich bei 4 Netzexplantaten eine nur leichte bzw. gar keine Bindegewebereaktion. Der Anteil der mäßiggradigen Bindegewebereaktion war über den gesamten Beobachtungszeitraum gleich bleibend. Die starke Faservermehrung fiel bis zum 59. postoperativen Monat ab und stieg dann wieder an. Nach

konventioneller Operation (Abb.8) fand sich zumeist eine starke Bindegewebereaktion unabhängig von der Implantationsdauer und nur bei 4 Fällen eine mäßig starke Bindegewebsneubildung. Es zeigte sich kein Fall ohne bzw. mit leichter Bindegewebereaktion. Immer kam es hier zu einer mindestens mäßigen Reaktion.

Es trat somit entweder eine mäßige mit Grad 2 bezeichnet oder eine starke mit Grad 3 bezeichnet Bindegewebeproliferation auf. In einer logistischen Regression konnte kein signifikanter Einfluss der Implantationsdauer auf die Faserbildung insgesamt festgestellt werden. Die Fälle starker Faserbildung nahmen bis zum 39. postoperativen Monat zu, zwischen dem 20. und 39. Monat zeigten alle Fälle eine starke Faserbildung und ab dem 40. Monat fiel die Zahl der Fälle mit starker Faserbildung wieder ab.



Abb.5: Gewebeprobe nach Kunststoffnetzimplantation mit hochgradiger Faservermehrung in der Umgebung des Kunststoffnetzes. Bindegewebe in der Masson-Trichrom-Färbung blau-grau, Vergr. 100-fach. Implantationsdauer: 74 M.= 6 Jahre, 2 Monate. Die Netzreste werden von zum Teil hyalinisierten Fasern umgeben.

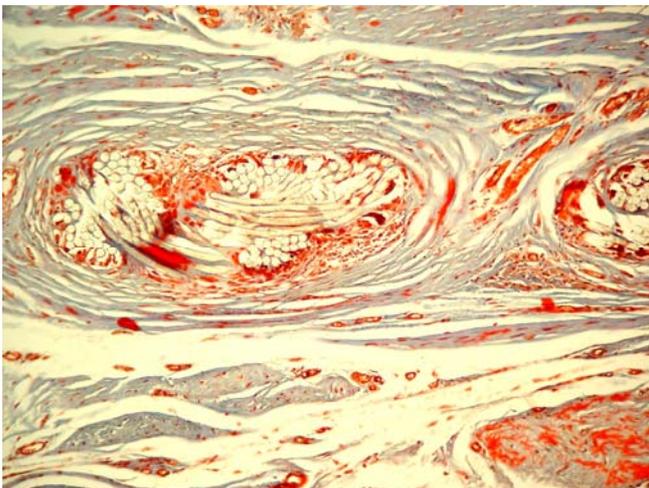


Abb.6: Gewebeprobe nach konventioneller Naht mit mäßiggradiger Faservermehrung in direkter Umgebung des Fadensmaterials. Bindegewebe in der Masson-Trichrom-Färbung blau-grau, Vergr. 100-fach. Verweildauer: 53,6 Monate= 4 Jahre, 6 Monate

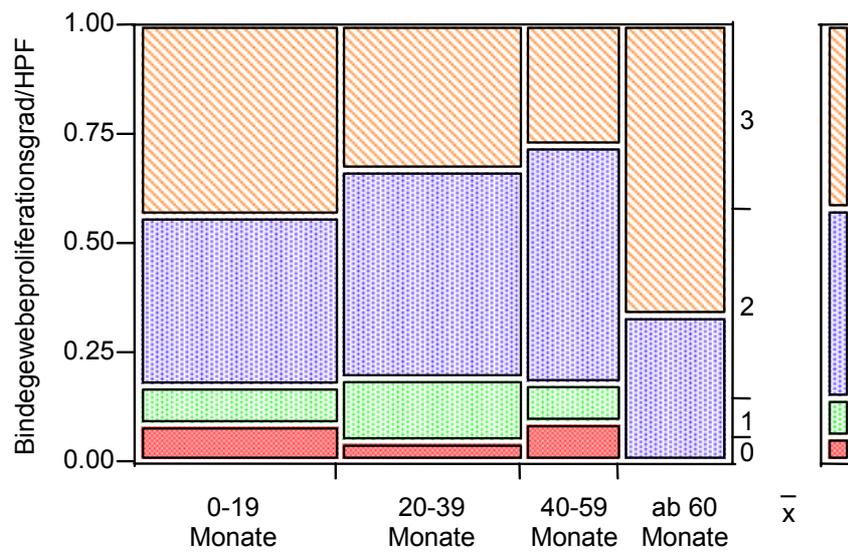


Abb.7: Häufigkeitsverteilung der Bindegewebeproliferation in ordinalen Graden nach Implantationszeit bei insgesamt 67 Netzexplantaten. Tendenziell ergab sich bis zum 59. Monat eine abnehmende starke Faserbildung (Grad 3), während nach dem 59. Monat die starke Faserbildung wieder deutlich zunahm.

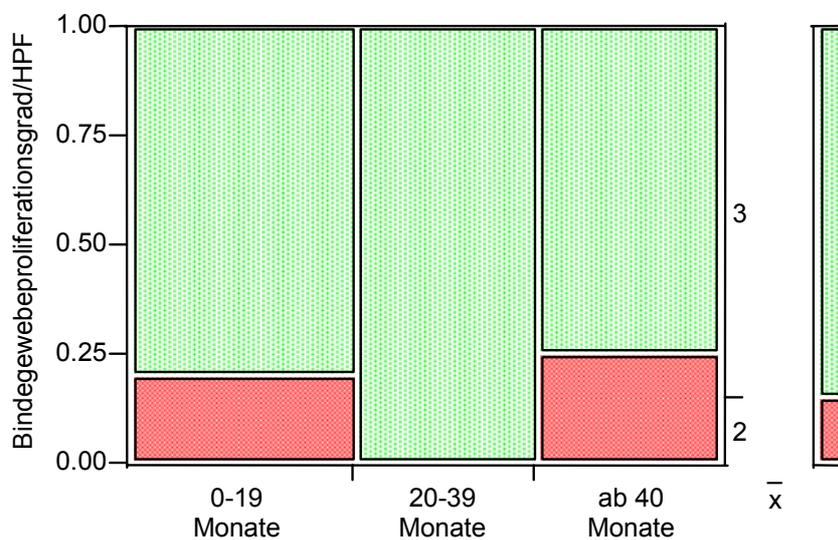


Abb.8: Häufigkeitsverteilung der Bindegewebeproliferation in ordinalen Graden nach konventioneller Nahtmethode bei insgesamt 16 Gewebentnahmen der Kontrollgruppe. Auch hier zeigte sich eine diskontinuierlich starke Faserbildung, die allerdings bis zum 39. Monat zunahm, um dann ab dem 40. Monat wieder abzunehmen.

3.1.2. Myofibroblasten (Abb. 10-12)

Mit dem Antikörper anti-„smooth muscle actin“ (SM-Aktin) reagieren Myofibroblasten und sind dadurch quantitativ erfassbar. Während des gesamten Beobachtungszeitraums der Untersuchung zeigte ungefähr ein Drittel der Netzexplantate keine Myofibroblastenproliferation (n=23) mit annähernd gleicher Verteilung in allen Gruppen der Zeitachse. In den ersten 19 Monaten überwog Grad 3 (hohe Myofibroblastendichte). Im Zeitintervall zwischen 20 und 59 Monaten fand sich in den meisten Exsdaten eine geringe bis mäßige Proliferationsrate, während die Netzexplantate, die nach 60 Monaten Implantationszeit und später operiert wurden, eine schwache oder keine Reaktion zeigten. Die Zahl der Fälle mit hoher Myofibroblastendichte sank bis zum 59. postoperativen Monat stark ab und stieg ab dem 60. Monat wieder an. Die Nahtgruppe zeigte in den ersten 19 Monaten im Vergleich zur Netzgruppe deutlich mehr Patienten ohne Myofibroblastenproliferation (>50%). Analoge Ergebnisse fanden sich nach 40 Monaten Implantationsdauer. Hier lag der Anteil der Patienten ohne Myofibroblastenproliferation gering unter 50%. Zwischen dem 20. und 39. postoperativen Monat fanden sich ausschließlich Fälle mit hoher (75%) und geringer Myofibroblastendichte (25%). Dies bedeutet, dass die Myofibroblastendichte bis zum 39. postoperativen Monat anstieg, um dann ab dem 40. Monat wieder abzufallen.



Abb.9: Gewebeprobe nach Kunststoffnetzimplantation. Zwischen Fasern liegen von stark SM-Aktin-positiver Muskulatur umgeben Gefäße (→) sowie schwächer positive Myofibroblasten (↑). SM-Aktin, Vergr. 400-fach.
Implantationsdauer: 74 Monate= 6 Jahre, 2 Monate

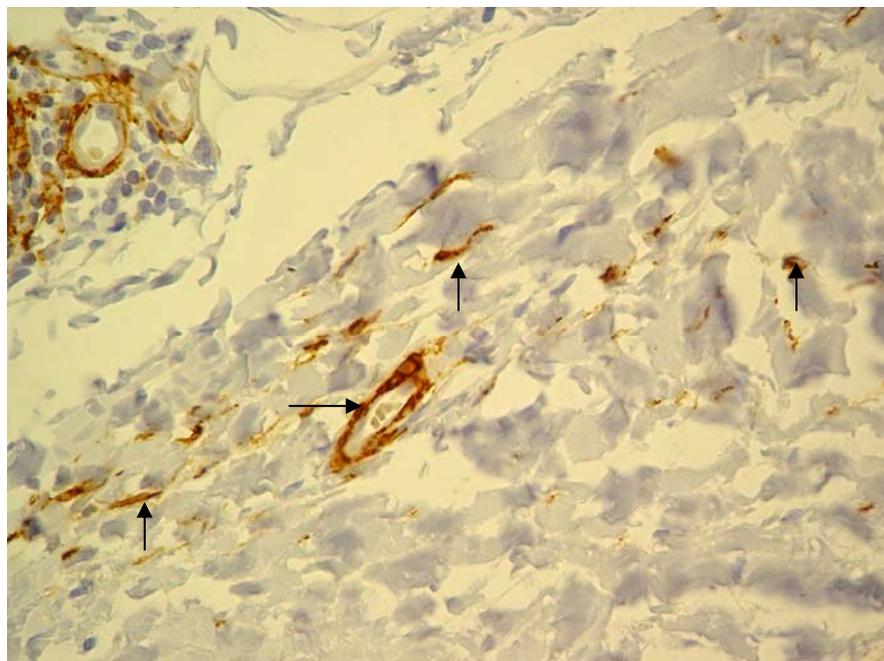


Abb.10: Gewebeprobe nach konventioneller Naht. Zwischen Fasern liegen von stark SM-Aktin-positiver Muskulatur umgeben Gefäße (→) sowie schwächer positive Myofibroblasten (↑). SM-Aktin, Vergr. 400-fach.
Implantationsdauer: 53,6 Monate= 4 Jahre, 6 Monate

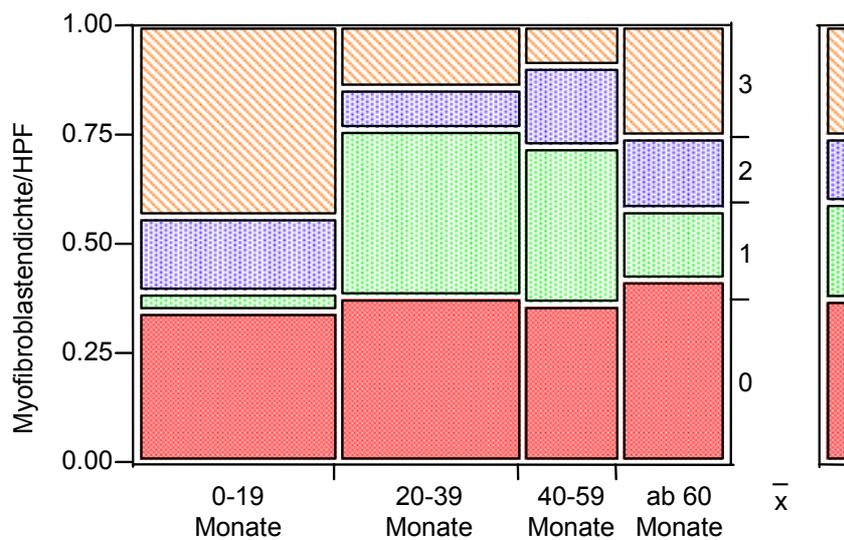


Abb.11: Häufigkeitsverteilung der Myofibroblastendichte in ordinalen Graden nach Implantationszeit bei insgesamt 67 Netzexplantaten. Die Häufigkeit hoher Myofibroblastendichte nahm bis zum 59. Monat ab, um sich nach dem 60. Monat wieder zu erhöhen (vergl. Abb.7).

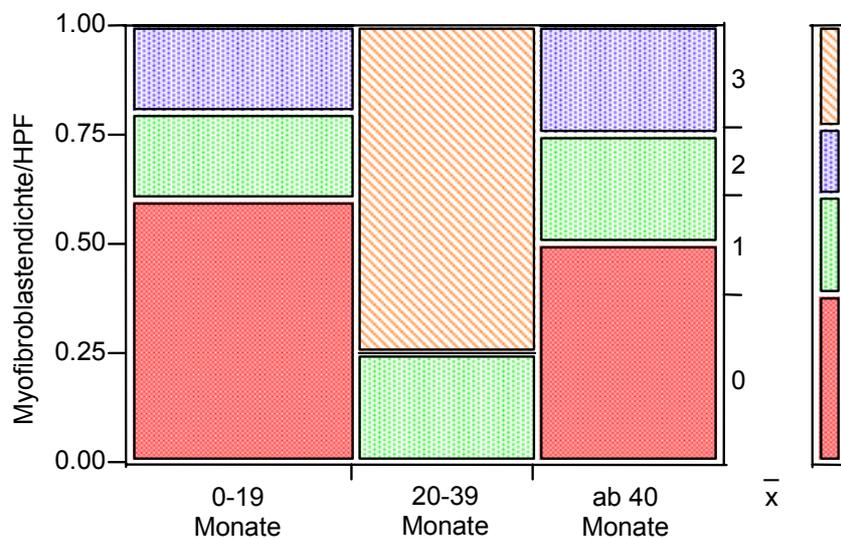


Abb.12: Häufigkeitsverteilung der Myofibroblastendichte in ordinalen Graden nach Implantationszeit bei insgesamt 16 Gewebentnahmen nach konventioneller Operation. Es zeigte sich bis zum 39. Monat eine Erhöhung der Fälle mit hoher Myofibroblastenzahl auf 75%. Nach dem 40. Monat fanden sich keine Fälle mit hoher Myofibroblastendichte (vergl. Abb. 8).

3.1.3. Gefäßproliferation (Abb.13 und 14)

Der Antikörper gegen glatte Muskulatur (smooth muscle actin / SMA) erleichtert auch die quantitative Bestimmung der Gefäße. Die Gefäßproliferation zeigte ein ähnliches Verhalten wie die Myofibroblastenproliferation sowohl in der Netzgruppe als auch in der Nahtgruppe. Etwa 75% der Explantate zeigten in der ersten 19. Implantationsmonaten eine starke Gefäßproliferation. Bis zum 39. postoperativen Monat nahm die Zahl der Fälle mit hoher Gefäßdichte ab, um dann bis zum 59. Monat gering und ab dem 60. Monat deutlich anzusteigen. In der Nahtgruppe dominierten nur in dem Zeitintervall zwischen dem 20. und dem 39. postoperativen Monat Fälle mit starker Gefäßproliferation, dass heißt, die Zahl der Fälle mit hoher Gefäßdichte stieg bis zum 39. postoperativen Monat an, um sich dann deutlich zu verringern.

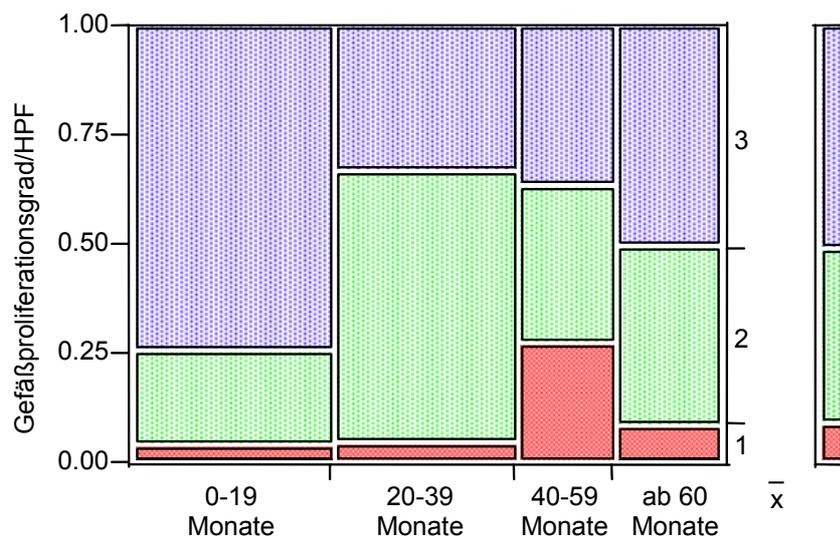


Abb.13: Häufigkeitsverteilung des Gefäßproliferationsgrades in ordinalen Graden nach Implantationszeit bei insgesamt 67 Netzexplantaten. Die Fälle mit hoher Gefäßdichte nahmen bis zum 39. Monat ab um dann ab dem 40. Monat wieder zuzunehmen.

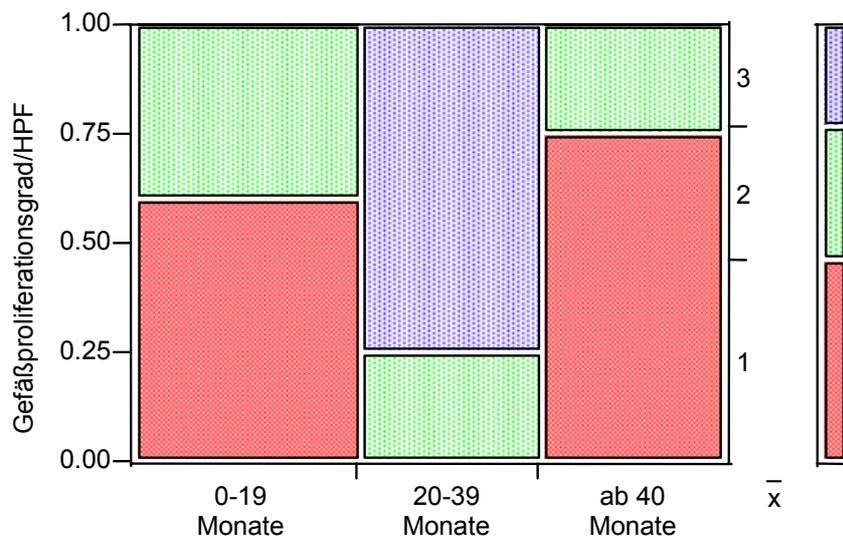


Abb.14: Häufigkeitsverteilung des Gefäßproliferationsgrades in ordinalen Graden mit zunehmender Verweildauer bei insgesamt 16 Gewebentnahmen nach Nahtversorgung. Bis zum 39. Monat zeigte sich eine Erhöhung der Fälle mit mäßig starker und starker Gefäßproliferation. Ab dem 40. Monat fanden sich keine gefäßreichen Fälle (Grad 3) mehr.

3.1.4. Makrophagen

Der Makrophagengehalt reduzierte sich in beiden Untersuchungsgruppen im Verlauf der Implantationszeit, dabei fielen die Werte der Gruppe mit Netzimplantat deutlich höher aus als in der Nahtgruppe. Ferner zeigten sie eine steilere Gerade mit geringerer Konfidenzbande. Die Reduktion der Makrophagendichte beider Gruppen erlangte mit einem p-Wert < 0.0001 statistisch jeweils hohe Signifikanz (siehe Abb. 15-18).

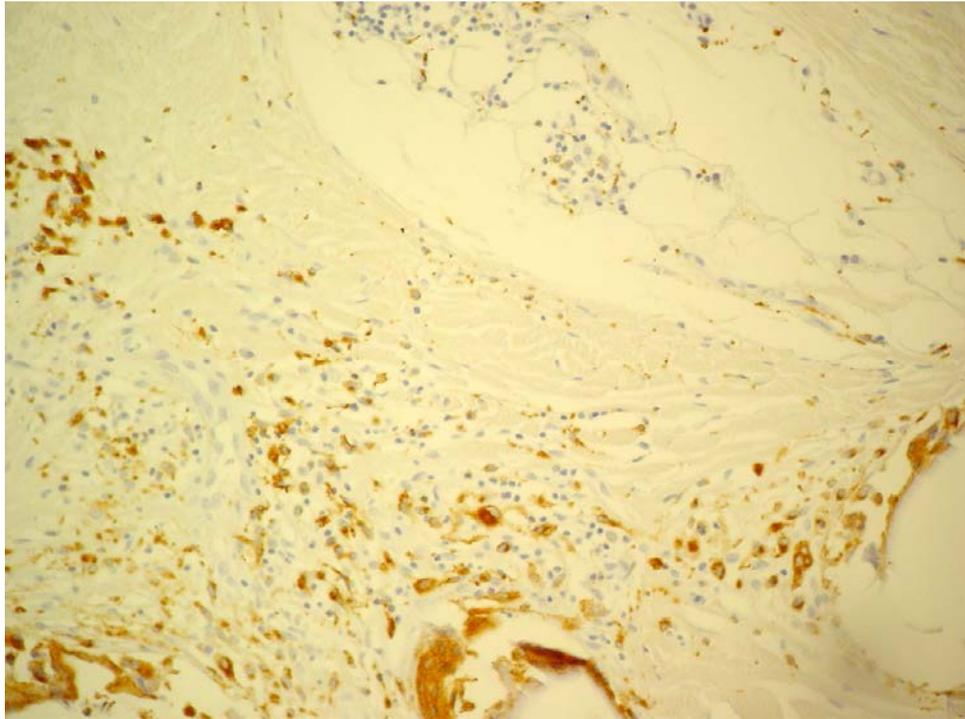


Abb.15: Gewebeprobe nach Netzimplantation. CD68 positive Makrophagen liegen disseminiert im faserreichen Gewebe in der Umgebung des Kunstnetzimplantates, Vergr. 200-fach.

Implantationsdauer: 74 Monate= 6 Jahre, 2 Monate

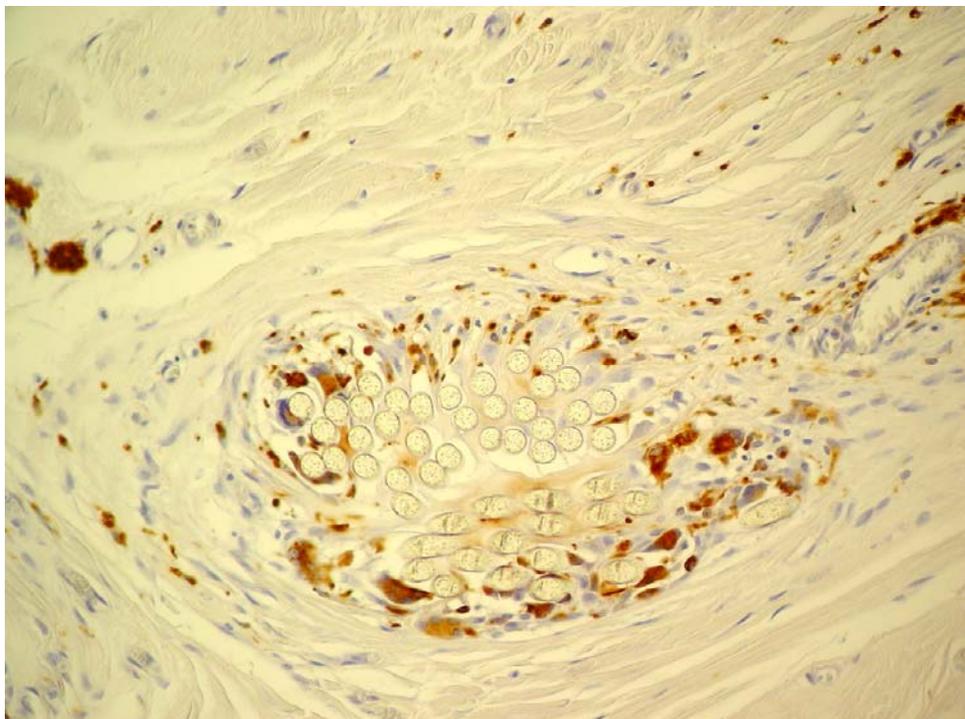


Abb.16: Gewebeprobe nach konventioneller Nahtmethode. CD68 positive Makrophageninfiltrate finden sich betont fadennah. Vergr. 200-fach.

Implantationsdauer: 53,6 Monate= 4 Jahre, 6 Monate

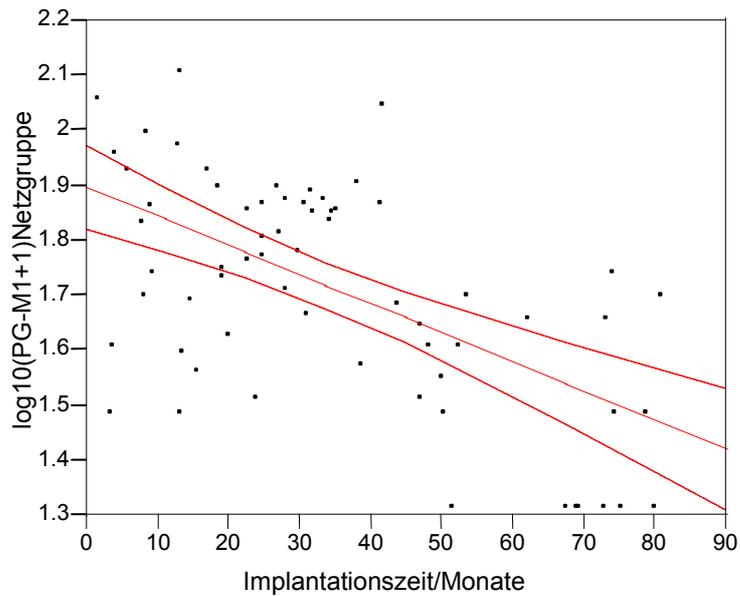


Abb.17: Einfluss der Implantationszeit in Monaten auf den \log_{10} der Anzahl der Makrophagen pro 10 HPF+1 in Gewebeproben mit Prolene®-Netzimplantat. Der mittlere Verlauf ist von einer Konfidenzbande umgeben. Die Anzahl der CD68-positiven Makrophagen sank mit zunehmender Implantationsdauer statistisch signifikant ab. Patienten Nr. 5+7 wurden wegen 0-Werten aus der statistischen Auswertung genommen, da sie den Verlauf der Geraden deutlich verändert hätten und somit eine zu hohe Wertigkeit erlangt hätten ($p < 0.0001$).

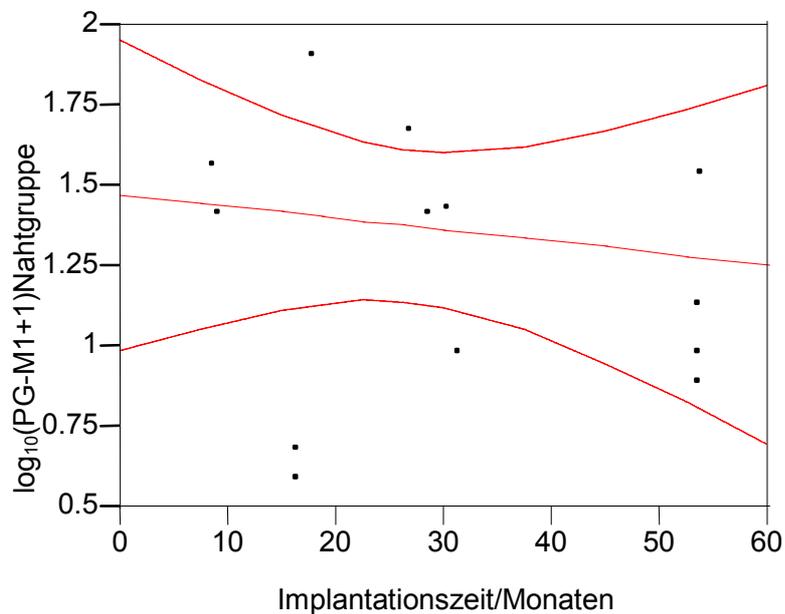


Abb.18: Einfluss der Verweildauer des Nahtmaterials in Monaten auf den \log_{10} der Anzahl der Makrophagen pro 10 HPF+1 in Gewebeproben der Nahtgruppe. Der mittlere Verlauf ist von einer Konfidenzbande umgeben. Auch hier sank die Anzahl der CD68 positiven Makrophagen mit zunehmender Verweildauer des Fadenmaterials statistisch signifikant ab ($p < 0.0001$).

3.1.5. Fremdkörperriesenzellen

Im Verlauf der Implantations- bzw. Expositionszeit zeigte die Riesenzellbildung in beiden Untersuchungsgruppen minimal gegenläufige Tendenzen. Für die Anzahl der Fremdkörperriesenzellen in den Implantaten fand sich eine statistisch hoch signifikante minimal abfallende Häufigkeit ($p < 0,0001$). Nach konventioneller Operation ließ sich statistisch signifikant kein Einfluss der Expositionszeit auf die Fremdkörperriesenzellzahl erkennen. Numerisch bestand eine gering ansteigende Tendenz ($p = 0,21$). Gleichzeitig ergab sich in der Nahtgruppe eine geringere Riesenzellichte (siehe Abb.19-22).

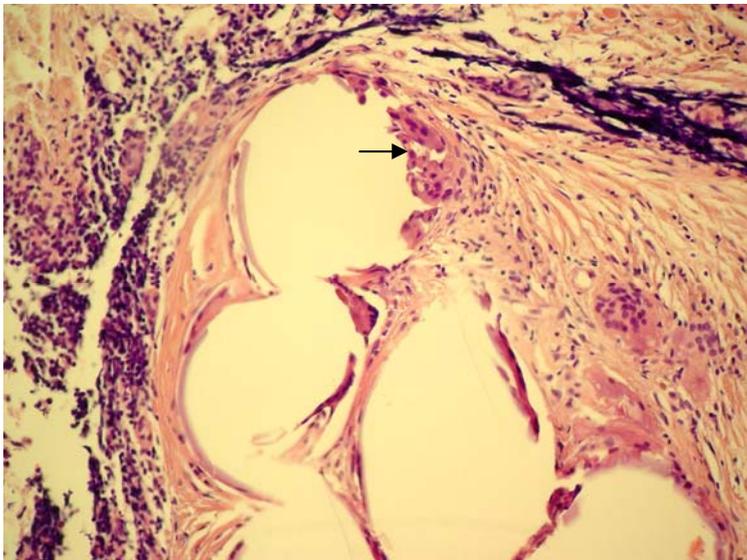


Abb.19: Gewebeprobe nach Netzimplantation. Riesenzellen in der Umgebung von Kunstnetzanteilen (→) HE-Färbung, Vergr. 200-fach. Implantationsdauer: 74 Monate = 6 Jahre, 2 Monate

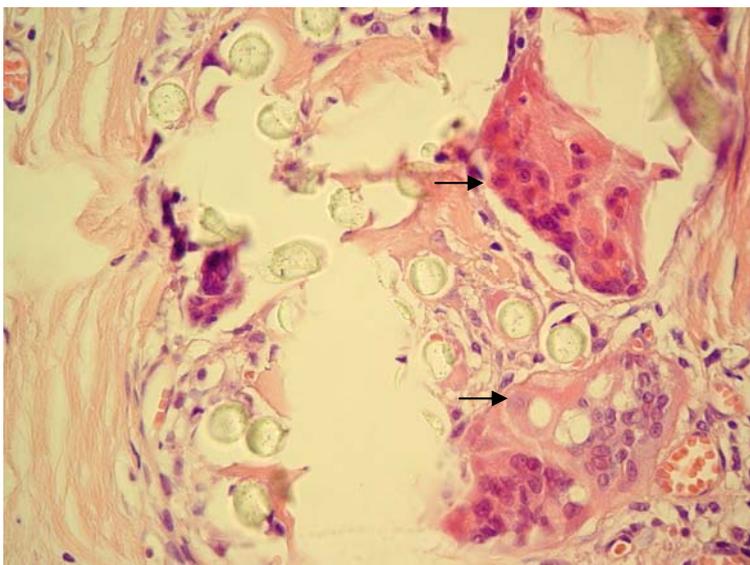


Abb.20: Gewebeprobe nach konventioneller Nahtmethode. Ungeordnete Riesenzellen teils in der Umgebung von Fadenmaterial, teils nach Phagozytose des Fremdmaterials (→). HE-Färbung, Vergr. 100-fach. Implantationsdauer: 53,6 Monate = 4 Jahre, 6 Monate

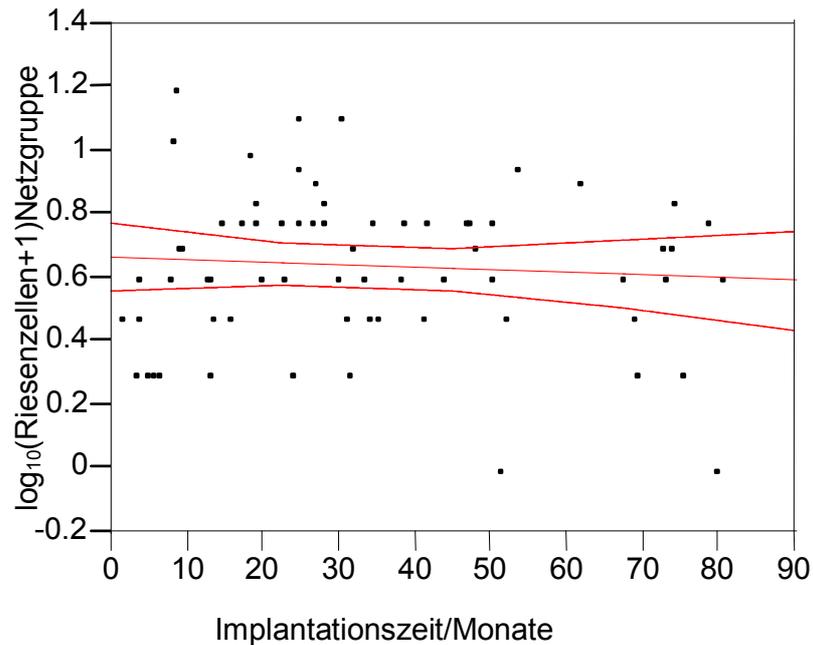


Abb.21: Einfluss der Implantationszeit in Monaten auf den \log_{10} der Anzahl der Riesenzellen pro 10 HPF+1 in Gewebeproben mit Prolene®-Netzimplantat. Der mittlere Verlauf ist von einer Konfidenzbande umgeben. Im Verlauf der Implantationsdauer zeigte die Anzahl der Fremdkörperriesenzellen eine geringgradige abfallende Tendenz bei statistisch signifikantem Einfluss ($p < 0,0001$).

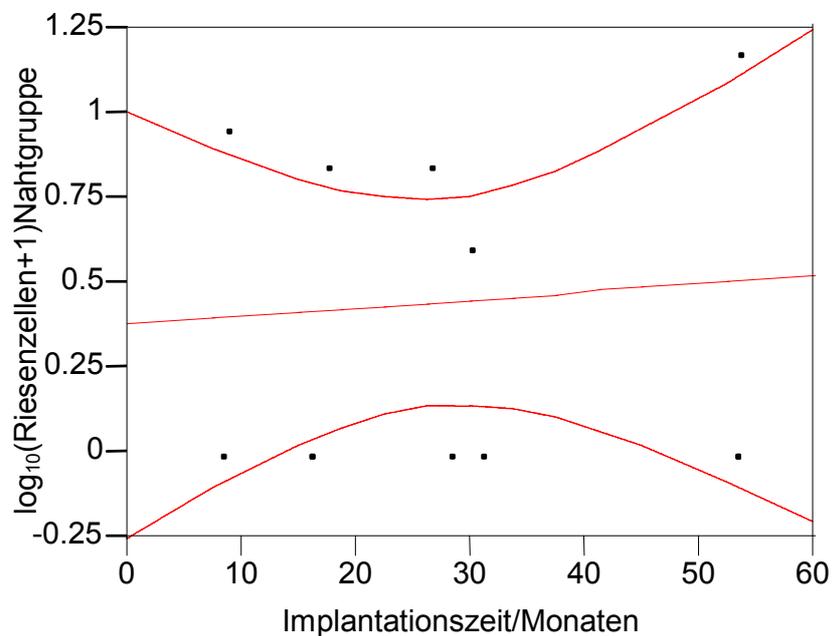


Abb.22: Einfluss der Expositionszeit in Monaten auf den \log_{10} der Anzahl der Riesenzellen pro 10 HPF+1 in Gewebeproben nach konventioneller Nahtmethode. Der mittlere Verlauf ist von einer Konfidenzbande umgeben und zeigte einen numerisch minimal ansteigenden Verlauf ($p = 0,21$).

3.1.6. Mastzellen

Nach Netzüplantation stieg der Mastzellengehalt der Exzisate mit wachsender Implantationszeit nur gering an, lag aber bei kurzer Implantationsdauer deutlich über den Werten ohne Netzümplantat. Verwendete man konventionelles Nahtmaterial, so zeigte die Mastzellendichte eine breitere Konfidenzbande und eine deutliche Zunahme. Nach langer Implantationsdauer (> 45 Monate) fand sich ein höherer Mastzellgehalt als bei den Netzümplantaten. Die Raten des Anstiegs sind in beiden Gruppen mit $p < 0.0001$ statistisch hoch signifikant von 0 verschieden (siehe Abb.23-26).

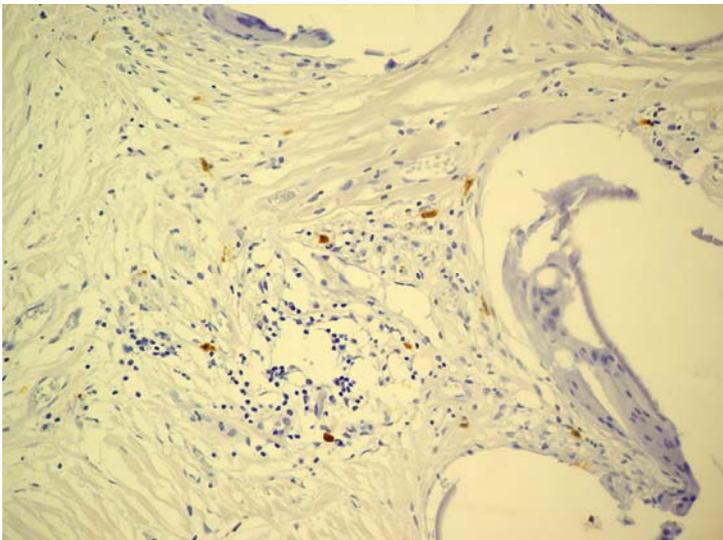


Abb.23: Gewebeprobe nach Netzüplantation. Disseminiert liegende MCT (mast cell tryptase)-positive Mastzellen netznah im faserreichen Gewebe. MCT, Vergr. 200-fach.

Implantationsdauer: 74 Monate = 6 Jahre, 2 Monate

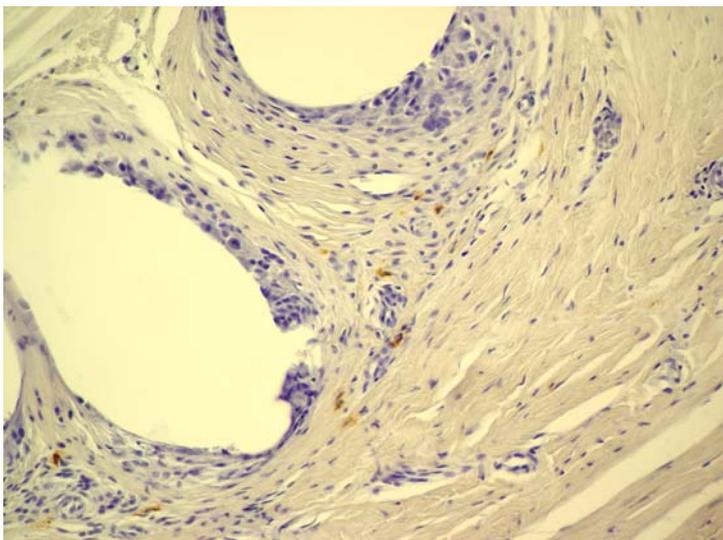


Abb.24: Gewebeprobe nach konventioneller Naht. Disseminiert liegende MCT (mast cell tryptase)-positive Mastzellen fadennah im faserreichen Gewebe. MCT, Vergr. 200-fach.

Implantationsdauer: 53,6 Monate = 4 Jahre, 6 Monate

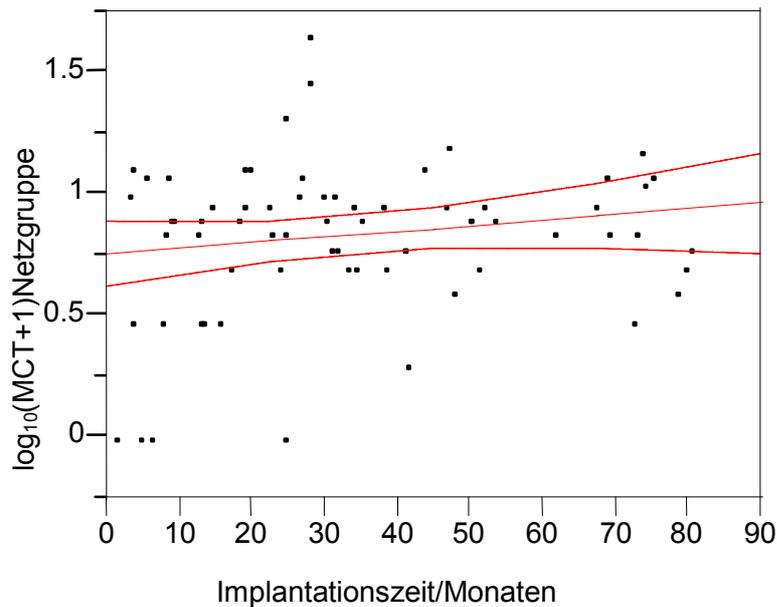


Abb.25: Einfluss der Implantationszeit in Monaten auf den \log_{10} der Anzahl der Mastzellen pro 10 HPF+1 in Gewebeproben mit Prolene®-Netzimplantat. Der mittlere Verlauf ist von einer Konfidenzbande umgeben. Die Anzahl der Mastzellen stieg mit der Implantationsdauer statistisch hoch signifikant gering an ($p < 0,0001$). Die 3 letzten Werte wurden ausgeschlossen, da sie den Neigungswinkel der Gerade stark verfälschen und ihnen eine zu starke Aussagekraft zukommen würde.

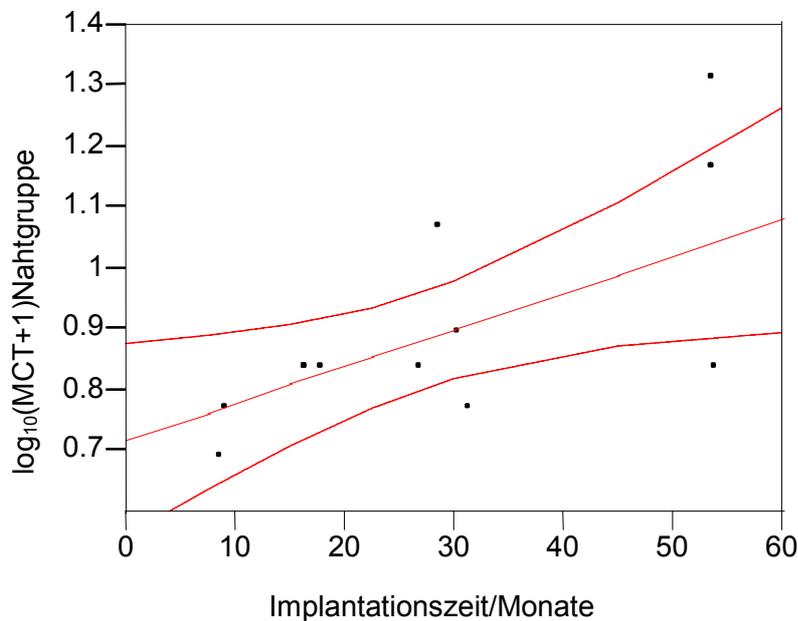


Abb.26: Einfluss der Implantationszeit in Monaten auf den \log_{10} der Anzahl der Mastzellen pro 10 HPF+1 in Gewebeproben der Nahtgruppe. Der mittlere Verlauf ist von einer Konfidenzbande umgeben. Auch hier stieg die Anzahl der Mastzellen mit der Verweildauer des Nahtmaterials statistisch signifikant an ($p < 0,0001$).

3.1.7. T-Lymphozyten

Der dekadische Logarithmus der CD3-positiven T-Lymphozyten fiel in der Netzgruppe statistische signifikant mit wachsender Implantationsdauer ab (siehe Abb.29; $p < 0,0001$). Somit waren T-Lymphozyten bei Netzimplantaten nach längerer Implantationsdauer seltener zu finden. Bei der konventionellen Hernienversorgung zeigte sich keine sichere Tendenz (siehe Abb.27-29).

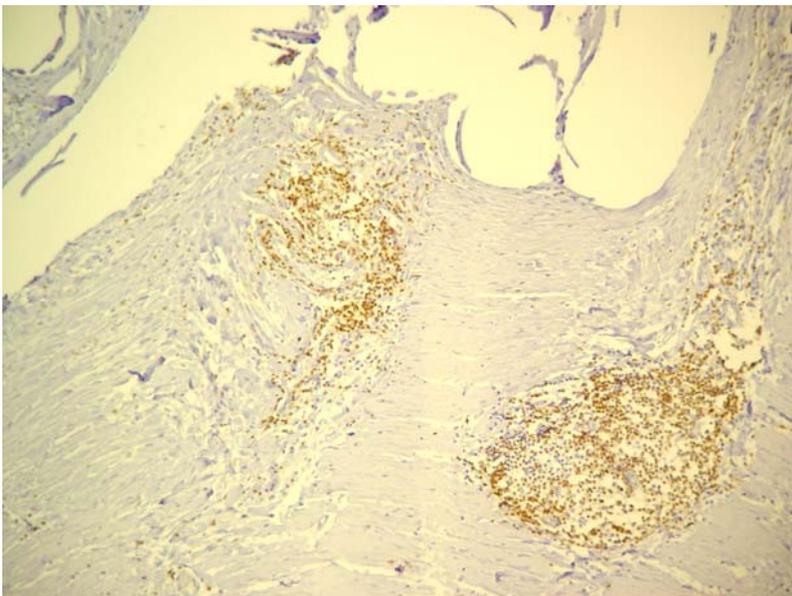


Abb.27: Gewebeprobe nach Kunststoffnetzimplantation. Aggregate von CD3-positiven T-Lymphozyten in den implantat-assoziierten Fasern. CD3, Vergr. 100-fach.

Implantationsdauer: 74 Monate = 6 Jahre, 2 Monate

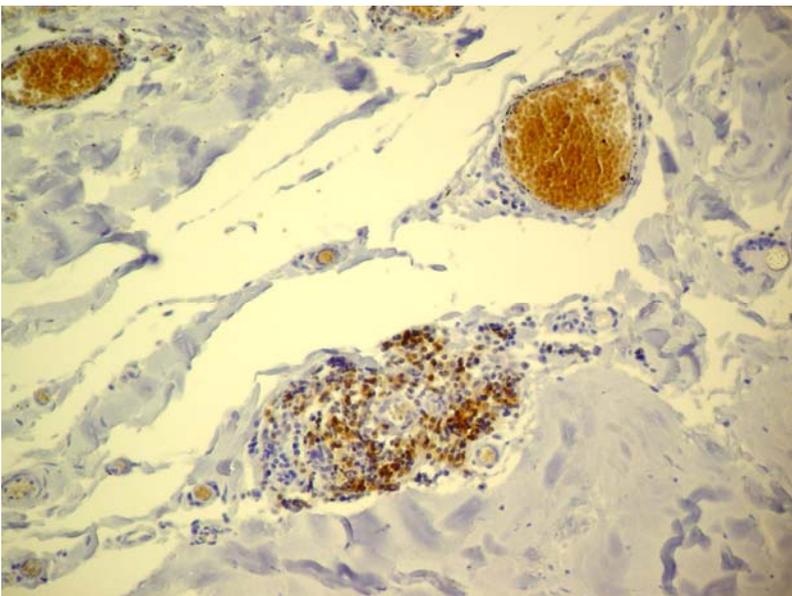


Abb.28: Gewebeprobe nach konventioneller Nahtmethode. Herdförmig Aggregate von CD3-positiven T-Lymphozyten in den nahtmaterialassoziierten Fasern. CD3, Vergr. 200-fach.

Implantationsdauer: 53,6 Monate = 4 Jahre, 6 Monate

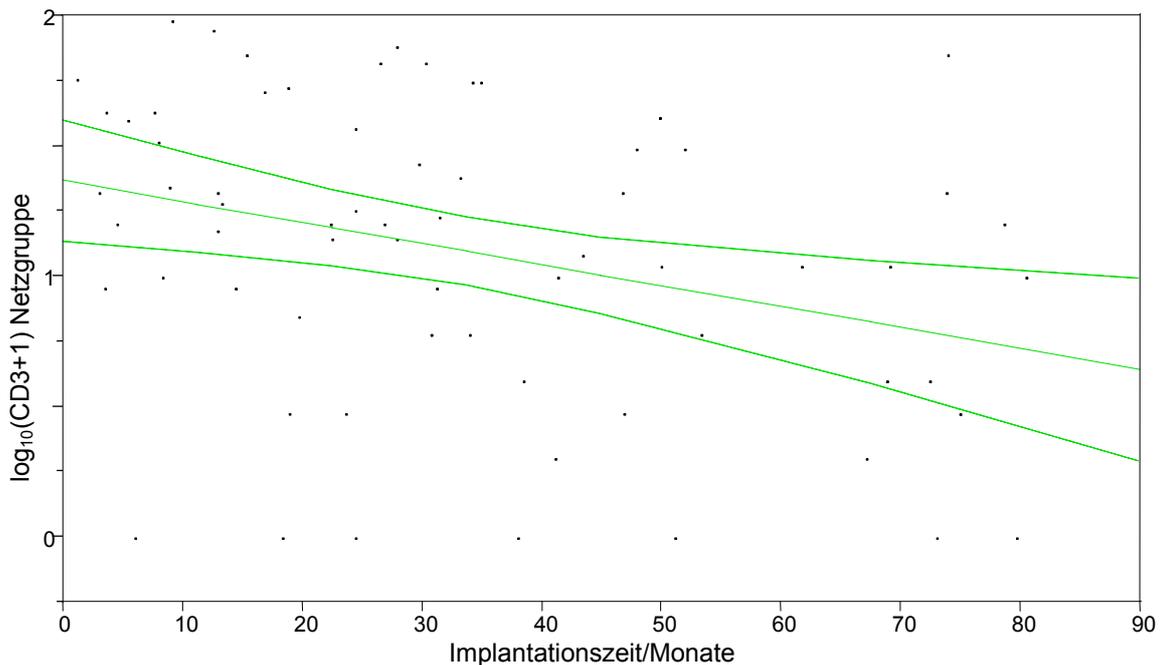


Abb.29: Einfluss der Implantationszeit in Monaten auf den \log_{10} der Anzahl der T-Lymphozyten pro 10 HPF+1 in Gewebeproben mit Prolene®-Netzimplantat. Der mittlere Verlauf ist von einer Konfidenzbande umgeben. Mit zunehmender Implantationsdauer sank die T-Zelldichte statistisch hoch signifikant ab ($p < 0,0001$).

3.1.8. B-Lymphozyten

Die B-Lymphozyten zeigten im umgebenden Gewebe der Netzimplantate bei zunehmender Implantationsdauer einen geringen allerdings statistisch signifikanten Anstieg ($< 0,0001$). Bei der Betrachtung der Nahtmethode ergab sich im Gegensatz dazu ein gering abnehmender B-Lymphozytengehalt mit wachsender Implantationszeit, der dekadische Logarithmus wies ebenfalls statistische Signifikanz ($p = 0,007$) auf (siehe Abb.30-33).

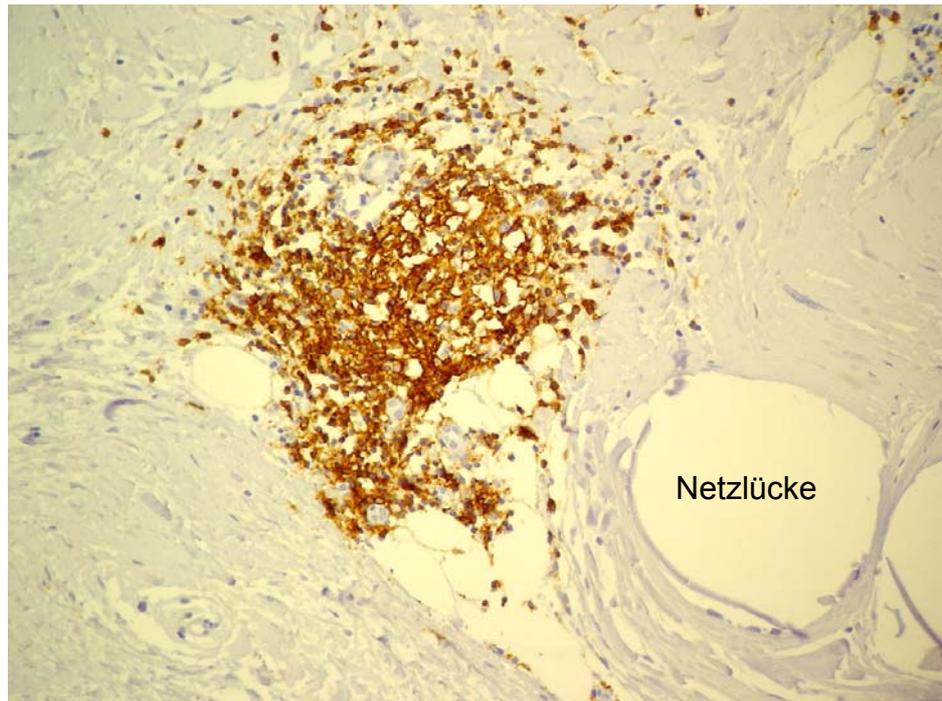


Abb.30: Gewebeprobe nach Kunststoffnetzimplantation. Aggregate von CD20-positiven B-Lymphozyten in den implantatassoziierten Fasern. CD20, Vergr. 200-fach.

Implantationsdauer: 74 Monate= 6 Jahre, 2 Monate

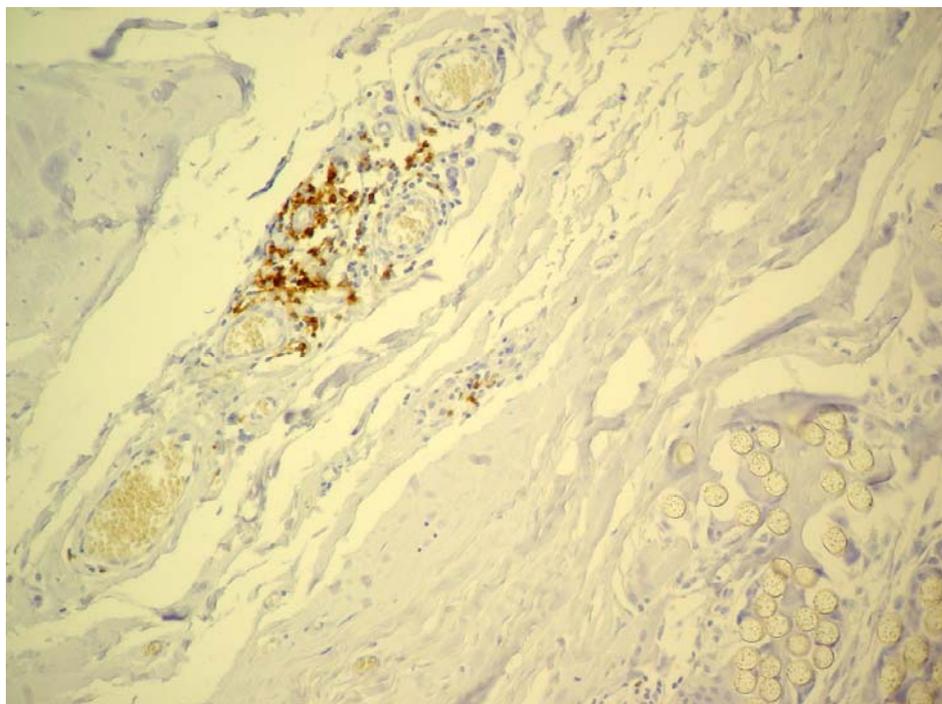


Abb.31: Gewebeprobe nach konventioneller Nahtmethode. Herdförmig Aggregate von CD20-positiven B-Lymphozyten in den nahtmaterialassoziierten Fasern perivaskulär betont. CD20, Vergr. 200-fach.

Implantationsdauer: 53,6 Monate= 4 Jahre, 6 Monate.

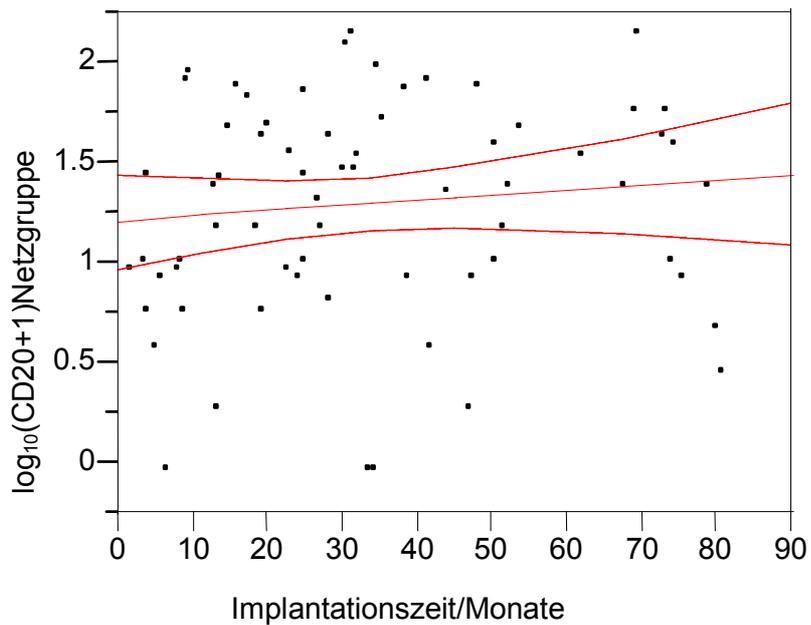


Abb.32: Einfluss der Implantationszeit in Monaten auf den \log_{10} der Anzahl der B-Lymphozyten pro 10 HPF+1 in Gewebeproben mit Prolene®-Netzimplantat. Der mittlere Verlauf ist von einer Konfidenzbande umgeben. Die B-Zell-dichte nahm bei statistisch hochsignifikantem Einfluss ($p < 0,0001$) mit steigender Implantationsdauer gering zu.

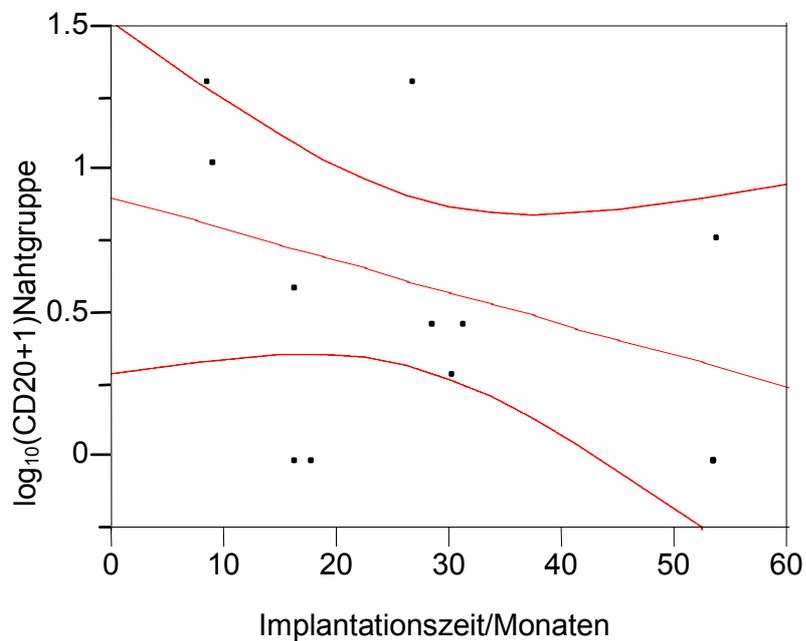


Abb.33: Einfluss der Implantationszeit in Monaten auf den \log_{10} der Anzahl der B-Lymphozyten pro 10 HPF+1 in Gewebeproben nach konventioneller Nahtmethode. Der mittlere Verlauf ist von einer Konfidenzbande umgeben. Die Anzahl der CD20-positiven B-Lymphozyten sank statistisch signifikant mit steigender Beobachtungsdauer ab ($p = 0,007$).

3.1.9. Proliferationsassoziierte Antigene

3.1.9.1. MiB1 / Ki67

Zur Vorhersage der MiB1-Werte in Abhängigkeit von der Implantationsdauer wurde ein Maximum-Likelihood-Modell entwickelt. Dabei wurde angenommen, dass die MiB1-Werte aus einer Poisson-Verteilung stammen, deren Mittelwert durch $m \cdot e^{-\alpha D}$ gegeben ist. Die Größe m stellte den maximale Erwartungswert von MiB1 dar, der bei Implantationsdauer $D=0$ erreicht wurde und α die Rate, mit der dieser Erwartungswert pro Monat Implantationsdauer abfiel. Für Gruppe a (Netzgruppe) und b (Nahtgruppe) wurden separate Kurven bestimmt. Für die Beurteilung der Signifikanz von Parametern wurden (basierend auf der Profile-Likelihood) 95% Konfidenzintervalle berechnet (siehe Tab.2).

	Schätzwert a	Schätzwert b	Differenz (b-a)
m	6,66 Z/G (95% KI: 5,34 bis 8,24)	5,51 Z/G (95% KI: 3,51 bis 8,37)	-1,15 Z/G (95% KI: -3,73 bis +1,99)
α	0,027 / Monat (95% KI: 0,020 bis 0,035)	-0,0104 / Monat (95% KI: -0,022 bis +0,011)	-0,0376 / Monat (95% KI: -0,0514 bis -0,0238)

Tab.2: Konfidenzintervalle basierend auf der Profile-Likelihood (a entspricht der Netzgruppe, b entspricht der Nahtgruppe).

Hierbei ergab sich für m eine nicht signifikante Differenz (b-a). Diese ist jedoch für α signifikant im 5%-Niveau. Der Schätzwert a fiel signifikant. Die Steigung des Schätzwertes b ist nicht signifikant von Null verschieden. Die Proliferationsrate der Gruppe a fiel signifikant schneller (siehe Abb.34-37).

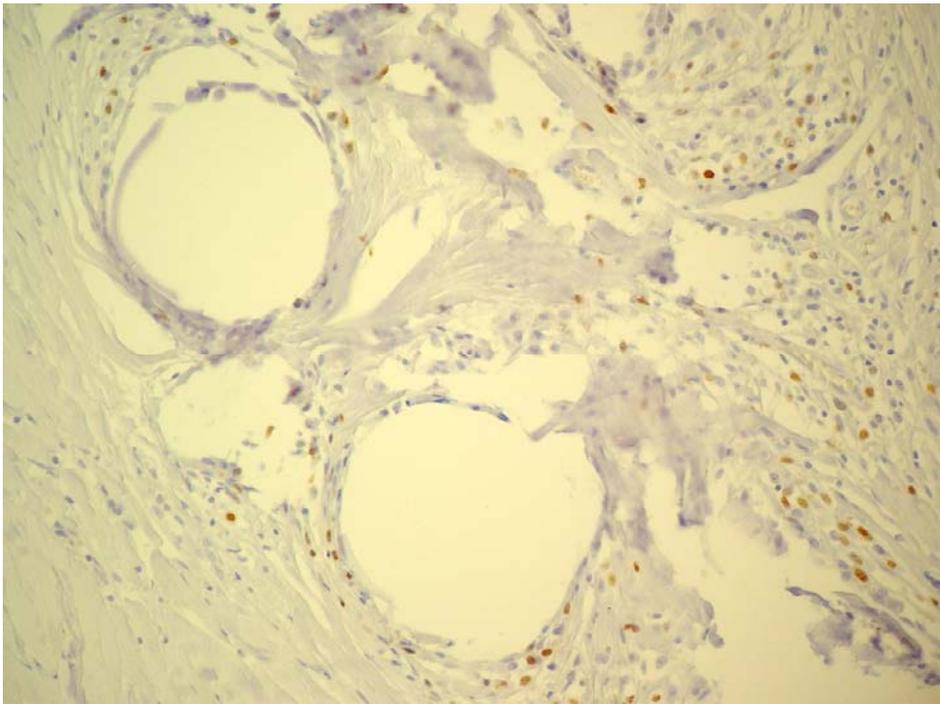


Abb.34: Gewebeprobe nach Netzimplantation. Immunhistochemische Expression von Ki67 in proliferierenden Zellen in den aktiven Phasen des Zellzyklus, Vergr. 200-fach. Implantationsdauer: 74 Monate= 6 Jahre, 2 Monate

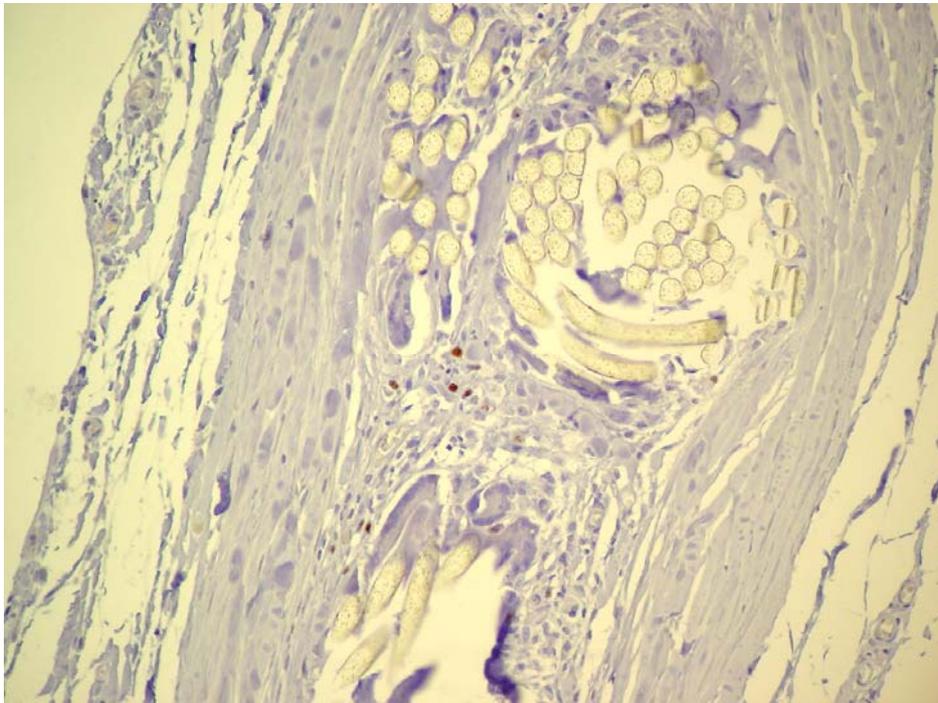


Abb.35: Gewebeprobe nach konventioneller Naht. Immunhistochemische Expression von Ki67 in proliferierenden Zellen in den aktiven Phasen des Zellzyklus, Vergr. 200-fach. Implantationsdauer: 53,6 Monate= 4 Jahre, 6 Monate

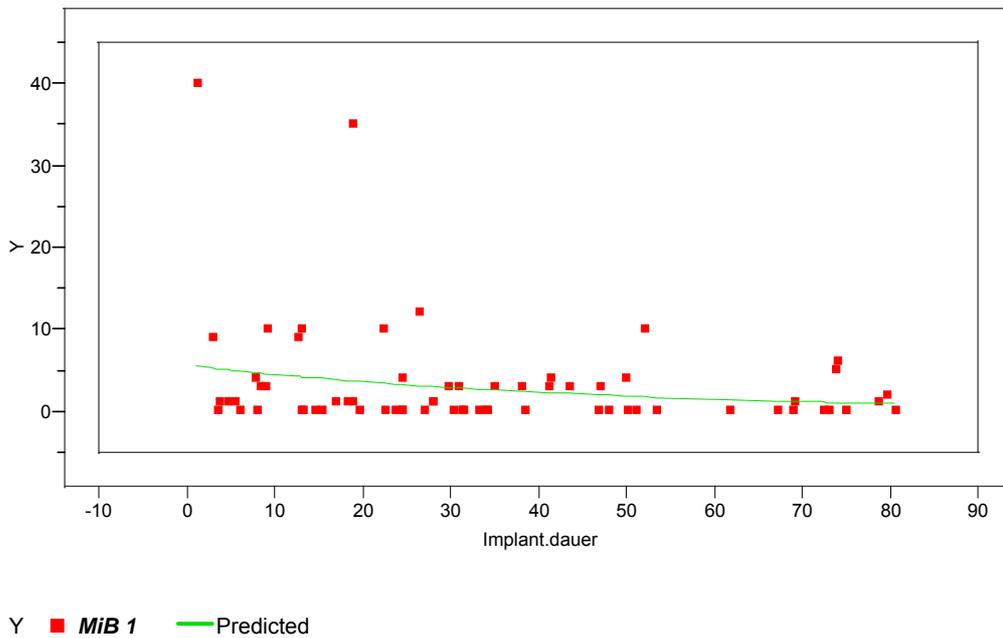


Abb.36: Einfluss der Implantationszeit in Monaten auf die proliferative Aktivität (MiB1/ Ki67 positive Zellen) in Gewebeproben mit Prolene®-Netzimplantat. Der Schätzwert fiel statistisch signifikant ab ($p < 0,05$).

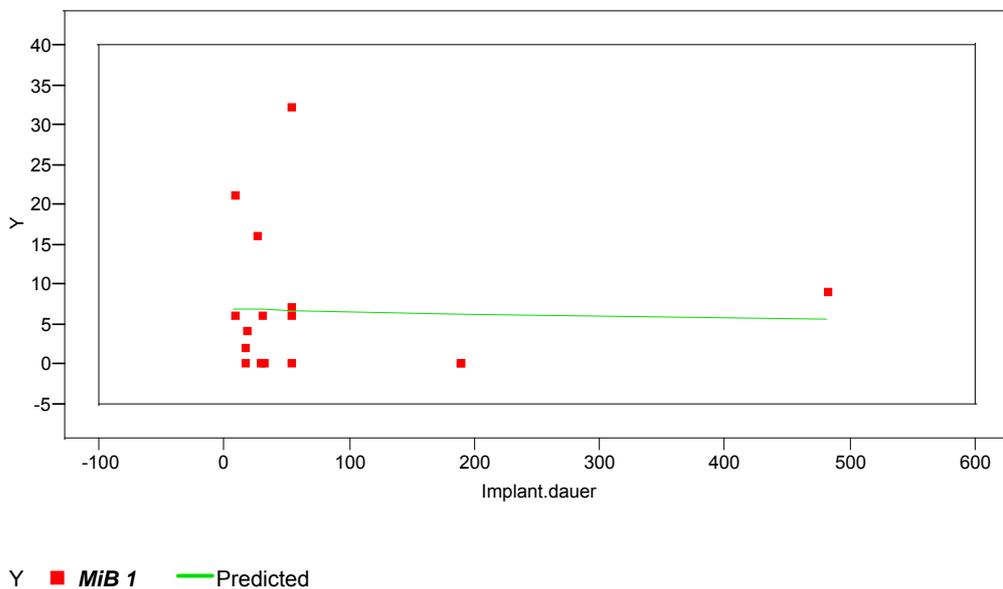


Abb.37: Einfluss der Implantationszeit in Monaten auf die mit dem Antikörper MiB1 ermittelte proliferative Aktivität in Gewebeproben der Nahtgruppe. Der Schätzwert unterscheidet sich nicht statistisch signifikant von Null, tendenziell ergab sich ebenfalls eine Reduktion der proliferativen Aktivität ($p \geq 0,05$).

3.1.9.2. PCNA

Der Logarithmus der Anzahl der proliferierenden Zellen mit Expression von PCNA (Proliferating Cell Nuclear Antigen), ebenfalls ein proliferationsassoziiertes nukleäres Protein, stieg statistisch hoch signifikant ($p < 0.0001$) mit wachsender Implantationsdauer. Es fand sich eine schmale Konfidenzbande (siehe Abb.38 und 39).

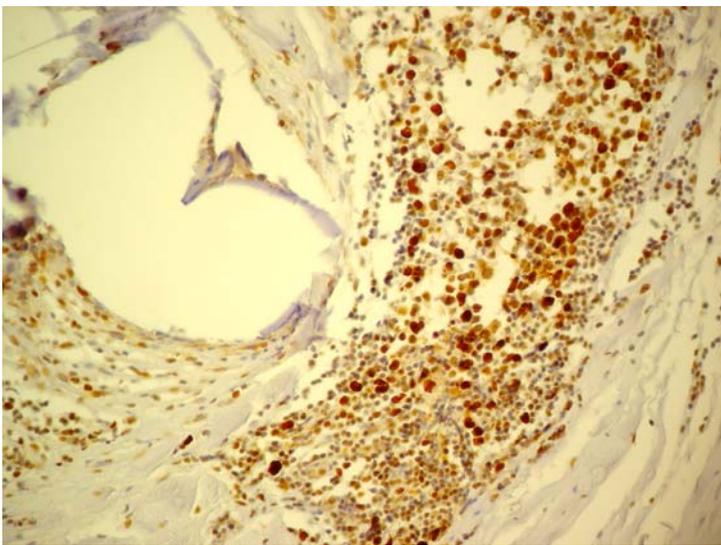


Abb.38: Gewebeprobe nach Netzimplantation. PCNA-positive proliferierende Zellen nahe dem Kunstnetzimplantat, Vergr. 200-fach. Implantationsdauer: 74 Monate= 6 Jahre, 2 Monate

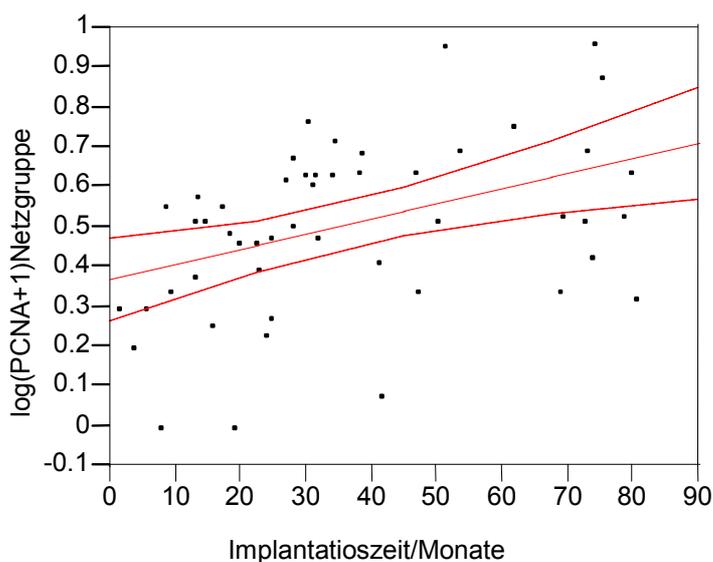


Abb.39: Einfluss der Implantationszeit in Monaten auf den log der Anzahl PCNA positiver proliferierender Zellen pro 10 HPF+1 in Gewebeproben mit Prolene®-Netzimplantat. Der mittlere Verlauf ist von einer Konfidenzbande umgeben. Die Anzahl der PCNA positiven Zellen stieg mit zunehmender Implantationszeit statistisch hochsignifikant an ($p < 0,0001$).

3.1.10. p53; c-kit / CD117; c-erbB2

Die Menge der p53, c-erbB2, c-kit/CD117 und Cyclin D1 positiven Zellen ergab stark divergierende Ergebnisse. Aus diesem Grunde wurden sie bei der statistischen Auswertung auf eine „Ja/Nein“-Information reduziert. Entsprechend zeigt das untere Feld in den Graphiken (Abb. 37, 39, 41-43) die Wahrscheinlichkeit für ein Auftreten der Tumorsuppressorantigene oder Onkoproteine an. Im oberen Feld findet sich die Wahrscheinlichkeit für das Auftreten negativer Proben. Die Darstellungen präsentieren eine logistische Regression.

3.1.10.1. Tumorsuppressorantigen p53

Bei den p53-positiven Untersuchungsproben zeigten sich stark divergente Werte, die – wie oben erwähnt - eine sinnvolle Verlaufskurve unmöglich machten, sodass sie auf eine „Ja/Nein“ - Information reduziert werden mussten. Es wurde also lediglich differenziert, ob p53-Tumorsuppressorgene vorhanden sind oder nicht, die Verteilung der Punkte ist zufällig. Hierbei fand sich eine statistisch signifikante Abnahme von p53-positiven Untersuchungsproben im Verlauf der Implantationszeit ($p=0,02$; siehe Abb.40 und 41).

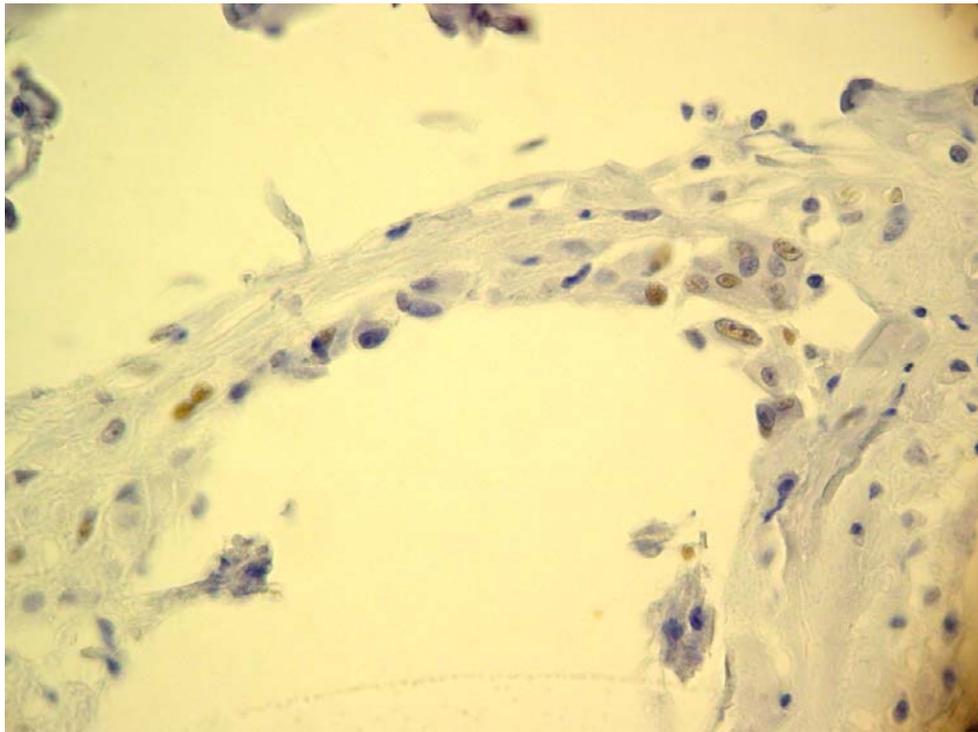


Abb.40: Gewebeprobe nach Kunststoffnetzimplantation. Überexpression des p53-Tumorsuppressorgens in implantatnahen Zellen, Vergr. 400-fach. Implantationsdauer: 74 Monate= 6 Jahre, 2 Monat

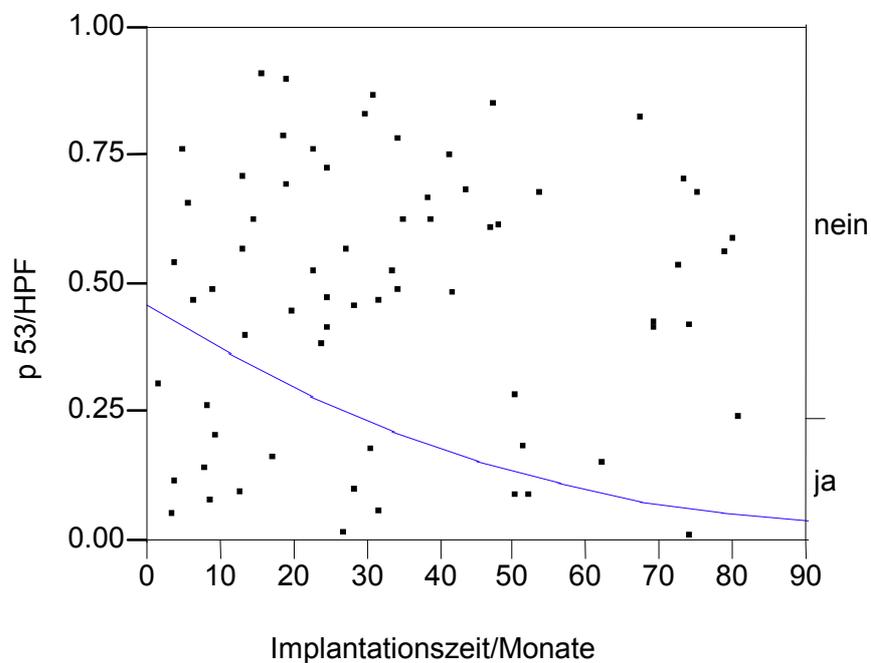


Abb.41: p53-Nachweis im Bezug auf die Implantationsdauer des Kunststoffnetzes. Zwischen der Implantationsdauer und der Expression des p53-Genprodukts fand sich eine statistisch signifikante logistische Regression ($p=0,02$), das heißt mit zunehmender Implantationsdauer treten mehr p-53-negative Fälle auf.

3.1.10.2. CD 117 / c-kit (Abb.42 und 43)

Insgesamt trat c-kit (CD117) bei weniger als 25 % der Untersuchungsproben auf. Auch hier mussten die Werte auf eine „Ja/Nein“ - Information reduziert werden. Ein statistischer Einfluss der Implantationsdauer auf die Anzahl der CD117-positiven Zellen war bei fallender Tendenz nicht nachweisbar ($p=0,51$).

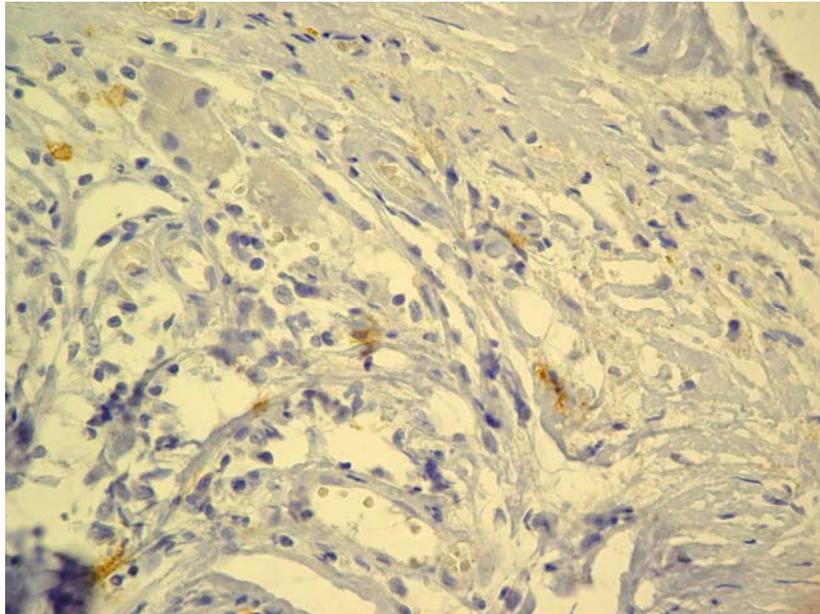


Abb.42: Gewebeprobe nach Netzzimplantation. c-kit-Onkoprotein exprimierende Zellen netznah, Vergr. 200-fach. Implantationsdauer: 74 Monate= 6 Jahre, 2 Monate

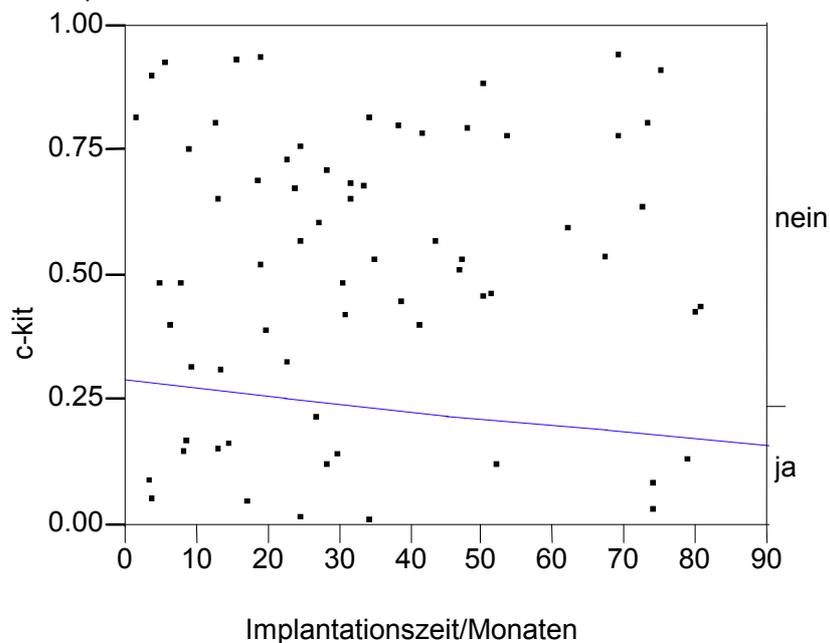


Abb.43 c-kit-Protein-Nachweis im Bezug auf die Implantationsdauer des Kunststoffnetzes. Die Zahl CD117-positiver Zellen sank mit steigender Implantationsdauer ab, eine statistisch signifikante logistische Regression wurde nicht erreicht ($p=0,51$).

3.1.10.3. c-erbB2

Nur in einer Probe wurden c-erbB2-Proteine exprimiert. Das Netz wurde nach 8,9 Monaten explantiert (siehe Abb.44).

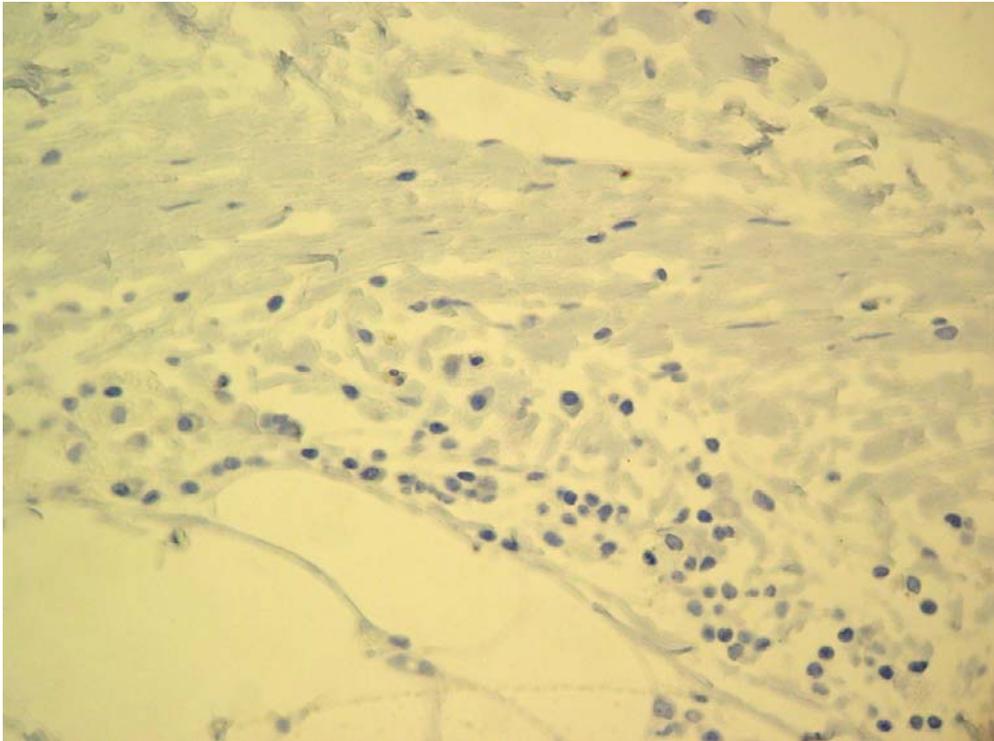


Abb.44: Gewebeprobe nach Netzümplantation. Schwache Expression des c-erbB2-Protoonkogen in einzelnen Zellen, Vergr. 200-fach. Implantationsdauer: 8,9 Monate

3.1.10.4. bcl2

Die stark divergierenden Werte der positiven Untersuchungsproben machten eine Darstellung mittels einer Verlaufskurve wiederum unmöglich. Entsprechend wurde erneut eine Reduktion auf die „Ja/Nein“ – Information vorgenommen. Damit zeigt die Grafik lediglich, ob bcl2-Onkoproteine vorhanden sind oder nicht. Es fand sich eine tendenzielle Häufung, jedoch keine statistisch signifikante von 0 verschiedene Zunahme von bcl2-Onkogen-positiven Untersuchungsproben mit wachsender Implantationszeit ($p=0,39$; siehe Abb.45).

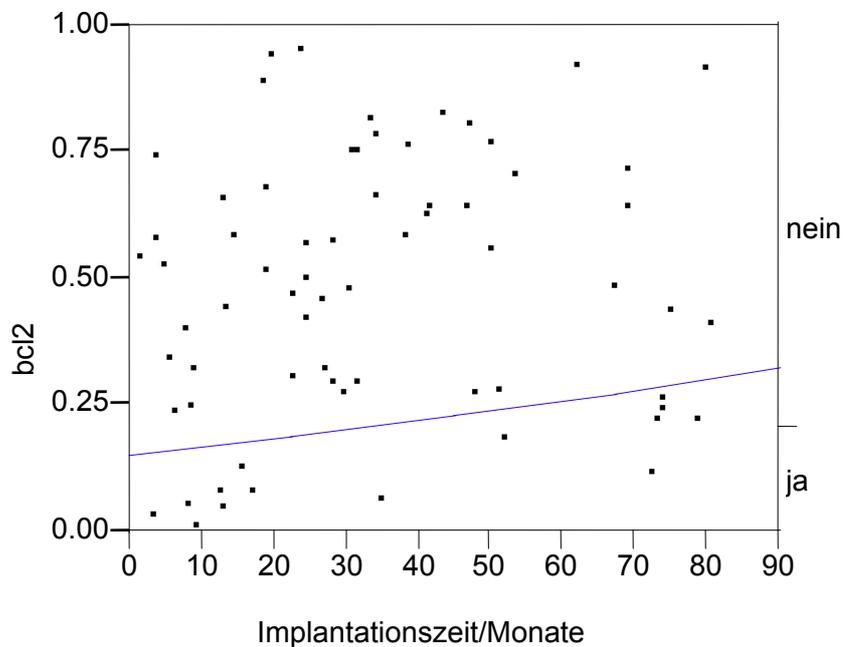


Abb.45: bcl2-Onkoprotein-Nachweis in Bezug auf die Implantationsdauer. Eine positive Beziehung deutete sich zwischen der Implantationsdauer und dem Auftreten des bcl2-Onkoprotein an, eine statistisch signifikante logistische Regression wurde nicht erreicht ($p=0,39$).

3.1.10.5. Cyclin D1

Das Cyclin D1-Gen, das auch als bcl1 oder PRAD1 bezeichnet wird, zeigte eine statistisch signifikante Zunahme von 0 mit wachsender Implantationsdauer ($p=0,009$). Dabei mussten die stark divergierenden Werte erneut auf eine „Ja/Nein“ – Information reduziert werden (siehe Abb.46).

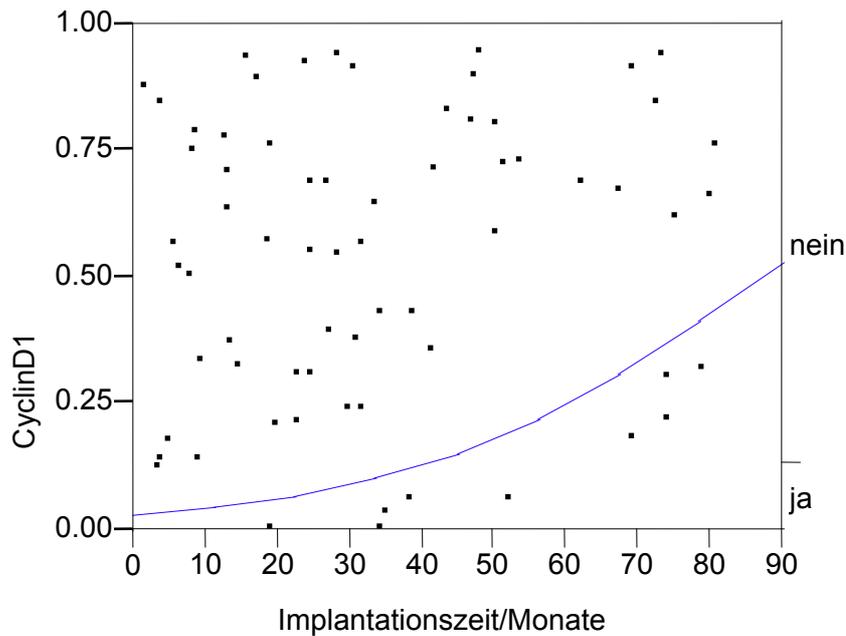


Abb.46: CyclinD1-Gen-Nachweis in Bezug auf die Implantationsdauer. Zwischen der Implantationsdauer und der Wahrscheinlichkeit des Auftretens Cyclin D1-positiven Zellen fand sich eine statistisch signifikante logistische Regression ($p=0,009$).

3.2. Zusammenfassung der Ergebnisse

1. Die Faserbildung an/ in den Kunststoffnetzen nahm bis zum 59. Monat nach Implantation ab und stieg dann wieder an. Bei der konventionellen Nahtmethode nahm die Faserbildung bis zum 40. postoperativen Monat zu, um dann wieder abzunehmen.
2. Die Häufigkeit hoher Myofibroblastendichte nahm bis zum 59. postoperativen Monat in den Implantaten ab, und nahm dann wieder zu. Bei der konventionellen Nahtmethode stieg die Anzahl myofibroblastenreicher Fälle bis zum 40. Monat an und sank dann in Folge wieder ab.
3. Die Häufigkeit der Fälle mit hoher Gefäßdichte nahm in der Implantatgruppe bis zum 39. Monat ab und stieg nach dem 40. Monat wieder an. Nach konventioneller Operation fanden sich bis zum 39. postoperativen Monat vermehrt Fälle mit starker Gefäßentwicklung, nach dem 40. Monat zeigten sich keine Fälle mit hoher Gefäßdichte mehr.
4. Die Anzahl CD68 positiver Makrophagen sank sowohl nach Kunststoffnetzimplantation als auch nach konventioneller Nahtversorgung statistisch signifikant ab.
5. Für die Anzahl der Fremdkörperriesenzellen in den Implantaten fand sich eine statistisch signifikante minimal abfallende Häufigkeit. Nach konventioneller Operation ließ sich statistisch signifikant kein Einfluss der Expositionszeit auf die Fremdkörperriesenzellzahl erkennen. Numerisch bestand eine gering ansteigende Tendenz.
6. Die Zahl der Mastzellen stieg im Gewebe in der Implantat- und der konventionell versorgten Gruppe statistisch signifikant an.
7. Mit zunehmender Implantationsdauer nahm die Zahl der CD3 positiver T-Lymphozyten im Gewebe statistisch signifikant ab. Bei der konventionellen Operationsmethode fand sich keine Tendenz.
8. Die Anzahl CD20 positiven B-Lymphozyten stieg in der Implantatgruppe im Beobachtungszeitraum statistisch signifikant geringfügig an, während sie nach konventioneller Operation ebenfalls statistisch signifikant eine gering abfallende Tendenz zeigte.

9. Im Gewebe der Implantatgruppe fiel der Schätzwert für die proliferative Aktivität bestimmt mit dem Antikörper MiB1 im Beobachtungszeitraum statistisch signifikant ab, in der konventionell behandelten Gruppe zeigte sich eine vergleichbare Tendenz, die allerdings die statistische Signifikanz nicht erreichte. Die Kunststoffnetzgruppe wurde zusätzlich mit dem Proliferations-/ DNA-Syntheseindikator PCNA untersucht. Hier ergab sich eine statistisch hoch signifikante positive Beziehung zwischen der PCNA-Aktivität und der Implantationsdauer.

10. Die Zahl der Fälle mit p53-Expression nahm im Beobachtungszeitraum statistisch signifikant ab. Gleiches galt allerdings nur tendenziell für die Zahl der Fälle mit CD117/c-kit-Positivität.

Zwischen der Implantationsdauer und der Wahrscheinlichkeit des Auftretens Cyclin D1/bcl1 bzw. bcl2 positiver Zellen fand sich jeweils eine positive Korrelation. Statistische Signifikanz wurde allerdings nur für Cyclin D1 erreicht. C-erbB2 positive Zellen ließen sich nur in einem Fall nachweisen.

4.0. Diskussion

In der vorliegenden Untersuchung wurden Gewebeproben analysiert, die im Zusammenhang mit Rezidiven oder Komplikationen nach Hernienoperationen entnommen wurden. Eine Patientengruppe war mit der Implantation von Kunststoffnetzen und die zweite mit der konventionellen Nahtmethode therapiert worden. Das Gewebe wurde konventionell morphologisch mit Standard- und Spezialfärbungen sowie immunhistochemisch mit 10 unterschiedlichen monoklonalen und 2 polyklonalen Antikörpern untersucht. Die verwendeten Netzimplantate bestanden ausschließlich aus Polypropylen (Prolene®, Fa. Ethicon, Norderstedt), einem nicht resorbierbaren Polymer mit der Strukturformel $(C_3H_6)_n$, das über hohe mechanische Stabilität und Bioverträglichkeit verfügt (Schumpelick et al., 1999). Unter Berücksichtigung der Implantationsdauer in Monaten wurden folgende Parameter quantifiziert und analysiert:

- Ordinale Bestimmung der Bindegewebsreaktion/ Faserbildung, Myofibroblasten- und Gefäßproliferation bei Netzimplantaten und bei konventionellen Operationsverfahren der Hernienchirurgie.
- Bestimmung der Anzahl der Fremdkörperriesenzellen, CD68/PG-M1 positiven Makrophagen, CD3 positiven T-Lymphozyten, CD20 positiven B-Lymphozyten, MCT (Mastzelltryptase) positiven Mastzellen sowie des Proliferationsantigens MiB1 bei Netzimplantaten und bei konventionellen Operationsverfahren der Hernienchirurgie.
- Analyse der immunhistochemischen Expressionsmuster des proliferationsassoziierten Antigen MiB1/Ki67, des Indikators für die S-Phase des Zellzyklus und der DNA-Synthese PCNA (proliferating cell nuclear antigen), des Tumorsuppressorgens p53, des Tyrosinkinase-rezeptor-proteins CD117/ c-kit und des Protoonkogens c-erbB2 als möglichen Hinweis auf ein erhöhtes Entartungsrisiko durch Kunststoffnetzimplantate.

Die genannten Parameter wurden einzeln sowie in Gruppen zusammengefasst diskutiert und dann miteinander in Beziehung gesetzt.

4.1. Faserbildung

In einer Studie von Junge et al. (2003) wurde eine erhöhte Aktivität von Kollagenasen und ihren Inhibitoren festgestellt. Dabei fand sich an der Grenzfläche zum Fremdmaterial ein Bindegewebe mit erhöhtem Anteil an Kollagen Typ III. Diese Form des Kollagens bildet dünne Bündel, wodurch eine abnehmende Zugfestigkeit verursacht wird. Gewöhnlich wird das ursprünglich angelegte Kollagen Typ III von dem stabileren Kollagen Typ I nach einiger Zeit ersetzt. In einer Studie von Schumpelick et al., 1999, zeigte sich jedoch in Narben von Patienten mit manifester Narbenhernie im Vergleich zu Patienten ohne Hernienbildung eine statistisch signifikante Verminderung des Quotienten aus Kollagen Typ I / Typ III mit einem vermehrten Anteil des unreifen, weniger vernetzten Kollagens Typ III.

Im Hinblick auf die Steifigkeit des Implantates und der Mobilitätserhaltung der Bauchwand sowie der Schrumpfungstendenz der Netze durch umgebende Fibrosierung soll die Menge des Fremdmaterials, die Porengröße der Implantatnetze und das damit verbundene Ausmaß der induzierten Entzündungsreaktion mit konsekutiver Narbenbildung eine entscheidende Rolle spielen (Cobb et al., 2005; Klinge et al., 2002). Zu ähnlichen Ergebnissen kamen auch schon Klosterhalfen et al., 1998, die die Materialeigenschaften und morphologischen Daten von verschiedenen Polypropylenetzproben mit zum Teil reduziertem Polypropylengehalt verglichen. Sie beobachteten, dass die Entzündungsaktivität und folglich auch die Bindegewebsformationen eng korreliert ist mit der Menge des implantierten Materials, dem Fadentyp und der Größe der Netzlücken, welche die Oberfläche bzw. Kontaktfläche mit dem Fremdmaterial und Empfängergewebe definiert. Großporige, materialreduzierte Prothesen zeigten bei entsprechender überlappender Operationstechnik die

besten Ergebnisse bezüglich der folgenden Parameter: sonographische Seromrate und –menge, Ausmaß subjektiver Mißempfindungen, Behinderung körperlicher Aktivität, der durch 3D-Stereographie ermittelten Bauchwandmotorik, dem Ausmaß der Entzündungsreaktion und der Vernarbung, das heißt einer Gewebsintegration des alloplastischen Materials (Schumpelick et al., 1999 u. 2002).

In der vorliegenden Studie zeigte sich im Verlauf der Implantationszeit der Prolene®-Netze bei Reoperation und Entnahme der Prothesen eine deutliche Abnahme der Fälle mit starker Faserbildung bis hin zum 59. Monat nach Implantation, ab dem 60. Monat stieg diese dann wieder an. Bei der Revision der Hernienrezidive nach Nahtmethode fand sich ein Anstieg faserreicher Fälle bis zum 39. postoperativen Monat, danach ergab sich eine Reduktion dieser Fälle. Hierbei zeigte sich ein deutlicher Vorteil für die Patienten, die mit einem Kunstnetzimplantat behandelt wurden. Beobachtet wurde eine länger anhaltende progressive Faserverminderung, aus der eine Verbesserung der Bauchwandmotilität und damit eine Reduktion der subjektiven Mißempfindungen bei körperlicher Aktivität resultieren dürfte. Gleichzeitig bedingt der späte Wiederanstieg der Fasermenge erst nach dem 60. postoperativen Monat, dass der damit verbundene erhöhte Syntheseanteil von Kollagen Typ III ebenfalls spät auftrat. Die nahtversorgten Hernien hingegen enthielten bis zum 39. postoperativen Monat im Rahmen zunehmender Faserbildung dementsprechend in Analogie zu den geschilderten Ergebnissen von Junge et al. (2003) permanent vermehrt Kollagen Typ III. Insgesamt erfolgte die implantatassoziierte Instabilisierung der Bruchlücke gegenüber der konventionellen Therapie somit erst spät, sodass hier ein Grund für die sich deutlich seltener entwickelnden Rezidive erkennbar wurde.

4.2. Myofibroblasten – und Gefäßproliferation

In der Implantatgruppe nahm die Zahl der Fälle mit hoher Myofibroblastendichte bis hin zum 59. postoperativen Monat ab, während in der Nahtmethodengruppe die Zahl dieser Fälle bis zum 39. postoperativen Monat anstieg, um dann erst abzufallen. Für die Gefäßdichte ließ sich eine ähnliche Entwicklung erkennen. In der Implantatgruppe nahm die Zahl der Fälle mit hoher Gefäßdichte bis zum 39. postoperativen Monat ab, um dann wieder anzusteigen. In der konventionell mit Naht versorgten Gruppe zeigte sich dagegen bis zum 39. postoperativen Monat ein Anstieg der Fälle mit starker Vaskularisierung und danach trat eine Reduktion der Gefäßdichte auf.

Myofibroblasten und Gefäß- bzw. Kapillarsprossen stellen typische Bestandteile der chronischen Entzündungsreaktion dar. Ferner findet sich eine fibröse Gewebeveränderungen bei verschiedenen malignen Erkrankungen als präneoplastischer Begleitumstand (Brand, G. u. I.; 1980). Die Anzahl der Fibroblasten korreliert direkt mit der Quantität inflammatorischer Zellen wie Makrophagen und neutrophilen Granulozyten (Klinge et al., 1999). Werden leichtgewichtiger Netze verwendet, reduziert sich nach älteren Untersuchungen die Fasermenge, die Anzahl der Myo-/Fibroblasten und die Menge inflammatorischer Zellen. Apoptosen und proliferierende Zellen (MiB1-positiv) nehmen ebenfalls deutlich ab (Schumpelick et al., 1999). In der vorliegenden Untersuchung zeigte sich sowohl bezüglich der Myofibroblasten- als auch der Gefäßdichte eine gegenläufige Entwicklung. Während im Implantat die Gefäßdichte und verzögert die Myofibroblastenzahl absanken, stieg die Gefäßdichte und die Myofibroblastenzahl nach Nahtversorgung an und sank dann gleichzeitig ab. Aus diesen zeitversetzten gegenläufigen Tendenzen resultiert offenbar ein biologischer Stabilitätsgewinn für die Implantatgruppe und ein entsprechender Stabilitätsverlust für die Gruppe mit konventioneller Nahtversorgung. Wie schon für die Faserbildung geschildert zeichnete sich auch nach den Ergebnissen von Junge et al. (2003) ab, dass der Anteil von Typ III Kollagen im Kunststoffnetzimplantat bis zum 59. postoperativen Monat

abnahm, da die Myofibroblasten vor allem diese Kollagengruppe synthetisieren (Schurch et al., 2006). Nach konventioneller Operation dürfte demnach der Kollagentyp III-Anteil entsprechend der Myofibroblastendichte bis zum 39. postoperativen Monat zunehmen, sodass über diesen Mechanismus nach Kunststoffnetzimplantation ab dem 60. und nach konventioneller Versorgung bis zum 39. postoperativen Monat mit vermehrt Rezidiven zu rechnen ist.

4.3. Fremdkörperreaktion

Um die inflammatorische Reaktion in der Umgebung des Fremdmaterials zu quantifizieren, wurde die Anzahl der Fremdkörperriesenzellen an Hämatoxylin-Eosin (HE)-gefärbten Schnitten und immunhistochemisch mit dem CD68-Antikörper ermittelt. Es ergab sich für die Anzahl der Fremdkörperriesenzellen in der Implantatgruppe keine prinzipielle Änderung im Bezug auf die Implantationsdauer, dass heißt die Zahl der Fremdkörperriesenzellen fiel im Beobachtungszeitraum geringfügig aber dennoch statistisch signifikant ab. In der Nahtgruppe zeigte sich keine einheitliche Tendenz, dass heißt die Anzahl der Fremdkörperriesenzellen variierte unvorhersehbar von Fall zu Fall. Allerdings zeigte die logistische Regression eine tendenziell numerisch minimal ansteigende Riesenzellanzahl. Nach der Implantation verursacht das Fremdmaterial eine chronische unspezifische Entzündungsreaktion ähnlich wie bei der Wundheilung, jedoch bildet sich die Entzündung nicht zurück, sondern persistiert für viele Jahre oder für die gesamte Verweildauer des Implantats (Hagerty et al., 2000). Zu diesem Ergebnis kommt auch eine Studie, die den Riesenzellengehalt in der Umgebung von Netzimplantaten bei Ratten über eine Dauer von 90 Tagen untersucht hatte (Junge et al., 2003). Aus den Ergebnisse der vorgelegten Studie, ergab sich zusätzlich, dass sich der Riesenzellengehalt im Gewebe sowohl der Implantatgruppe als auch der Gruppe mit konventioneller Nahtmethode nur minimal und nicht prinzipiell unterscheidet, sodass Verlauf und Rezidivgefahr in beiden Gruppen durch die Anzahl der Riesenzellen im Gewebe nicht beeinflusst werden dürfte.

4.4. Makrophagen

Die Makrophagen wurde in der vorgelegten Studie mit dem anti-CD68-Antikörper PG-M1 immunhistochemisch dargestellt. Die Fremdkörperriesenzellen wurden bei dieser Auswertung nicht mehr berücksichtigt. Die Anzahl der Makrophagen in Netznähe nahm mit steigender Implantationsdauer statistisch signifikant deutlich ab, der Makrophagengehalt in der Umgebung des Nahtmaterials war von Anfang an geringer und nahm entsprechend geringer allerdings auch statistisch signifikant ab. Es fanden sich auch noch nach über 5 Jahren Makrophagen in der Nähe des Fremdmaterials beider Untersuchungsgruppen. Der Aktivierungsgrad der Makrophagen ließ sich mit den in dieser Untersuchung verwendeten Methoden nicht erkennen. Es wird angenommen, dass der Aktivierungsgrad eher verantwortlich ist für die Ablagerung von kollagenen Fasern als die absolute Zahl der Makrophagen (Klosterhalfen et al., 1998). Auch Studien von Leibovich et al. zeigten schon 1975, dass in einer Serie von sechs linearen Einschnitten in der Rückenhaut von Meerschweinchen Makrophagen den hauptverantwortlichen Zelltyp für die Wundheilung im Heilungsprozess stellen. Sie phagozytieren Zelltrümmer, stimulieren die Einwanderung der Fibroblasten sowie die Fibroblastenproliferation. Die Persistenz von Makrophagen perpetuiert eine chronisch proliferierende und fibrosierende Reaktion. Ferner bestätigten histologische Analysen die Persistenz von anhaltenden entzündlichen Veränderungen in der Kontaktzone zu Netzimplantaten. Widerlegt wurde inzwischen die Annahme, dass die Netzprothesen vollständig inert inkorporiert werden. In diesem Zusammenhang wurde beobachtet, dass leichtgewichtige Polypropylen-Netze eine deutlich verminderte inflammatorische Gewebsreaktion zeigen verglichen mit schwergewichtigen Netzen aus gleichem Material (Schumpelick et al., 1999). Wie oben dargelegt, kam es sowohl in der Netzgruppe als auch in der konventionellen Nahtgruppe im Verlauf zu einer statistisch signifikanten Reduktion des Makrophagengehaltes, sodass durch ihn die unterschiedlichen Verläufe wenig oder nicht bedingt sein dürften.

4.5. Mastzellen

Mastzellen und ihre Zellgranula spielen eine zentrale Rolle bei der Rekrutierung von Entzündungszellen in der Umgebung des Implantates (Tang et al., 1998; Christenson et al., 1991). Die Abgabe der Granula der Mastzellen führt zur Freisetzung verschiedener Entzündungsmediatoren wie Histamin, Tumornekrosefaktor (TNF)- α und Enzymen (Mastzellchymase, Tryptase und Serinesterase). Ferner aktivieren Mastzellen die Synthese und Freisetzung von Chemokinen, Lipidmediatoren wie z. B. Leukotriene und platelet-activating factor (PAF) und zusätzlich Zytokine wie IL-4 und IL-13. Jeder dieser Mediatoren trägt zur akuten und chronischen Entzündungsreaktion bei (Janeway et al., 2001). Die Ausschüttung von Histamin verursacht einen Anstieg der lokalen Durchblutung, die Transmigration von Phagozyten durch die Endothelbarriere sowie eine Vermehrung von Phagozyten-Adhäsionsmolekülen. Ferner stimulieren die Mastzellprodukte Histamin und Serotonin die Proliferation der Fibroblasten, die wiederum die Kollagenproduktion induzieren. Tang et al., 1998, fand eine extensive Ausschüttung von Histamin durch die Mastzellen. In derselben Studie wurde festgestellt, dass Histaminblocker oder ein kongenitales Mastzell-Defizit zu einer Reduzierung der Entzündungszellen auf der Oberfläche des Implantates führen. Mastzellprodukte steigern somit den Gehalt der Entzündungszellen auf der Oberfläche des Implantates und die Aktivität von Makrophagen (Christenson et al., 1991).

In der Umgebung der Netzexplantate aus Polypropylene (Prolene®) zeigte sich in dieser Untersuchung eine geringe, aber dennoch statistisch signifikante Zunahme der Mastzellzahl im Narbengewebe nach längerer Verweildauer sowohl der Implantate als auch der konventionell versorgten Patientengruppe. Dabei fanden sich kunstnetzassoziiert deutlich mehr Mastzellen als in dem Narbengewebe, das die konventionelle Naht umgibt. Auffällig gering war anfangs die Anzahl der Mastzellen an dem Fadenmaterial nach konventioneller Operation. Die Mastzellzahl stieg dann aber bei größerer Streubreite steiler an und erreichte höhere Werte als nach Netzimplantation. Der Anstieg des

Mastzellgehalt beider Gruppen im Verlauf der Beobachtung erreichte, wie erwähnt, statistische Signifikanz. Aus den proinflammatorischen Aktivitäten der Mastzellen ergibt sich für beide Gruppen ein gleichartiger eher ungünstiger Verlauf. In einer Studie von Rosch et al. (2003) wurde dagegen bei verschiedenen Netzarten zeitabhängig eine Abnahme des Mastzellgehalts festgestellt. Dieser Unterschied lässt sich möglicherweise aus einem unterschiedlichen methodischen Vorgehen erklären.

4.6. T- und B-Lymphozyten

Die immunhistochemische Charakterisierung der T-Lymphozyten erfolgte in dieser Studie mit einem monoklonalen Anti-CD3 Antikörper größter Sensitivität (95%) und Spezifität (100%) für T-Lymphozyten (Chadburn und Knowles, 1994; Anderson et al., 1991). Anti-CD3 kann in der histopathologischen Routinediagnostik eingesetzt werden (Mason et al., 1989), da das CD3-Antigen nach Formalinfixation und Paraffineinbettung erhalten bleibt.

In der vorliegenden Studie ließ sich in einer logistischen Regression ein statistisch signifikanter Einfluss der Implantationsdauer auf die abnehmende T-Lymphozytenanzahl in der Umgebung des Netzümplantates feststellen, das heißt mit zunehmender Dauer nahm die Zahl der CD3-positiven implantatassoziierten T-Lymphozyten ab. Bei konventioneller Operationstechnik fanden sich nur in einem Fall T-Lymphozyten, während sich in allen anderen Biopsien unabhängig von der Implantationsdauer keine T-Lymphozyten nachweisen ließen.

Rosch et al. beschrieben 2003 ebenfalls bei Polypropylen-Netzen einen Abfall der T-Lymphozytenzahl mit zunehmender Implantationsdauer. In ihrer Studie wurden allerdings keine Fälle von konventionell versorgten Patienten untersucht. In einer weiteren Studie beschrieben Rosch et al., 2003 eine persistierende T-Lymphozyteninfiltration (CD3-positiv) in allen Untersuchungsgruppen ohne statistisch signifikante Reduktion. Außer den Makrophagen zeigen auch T-Zellen eine Wechselwirkung nicht nur mit der spezifischen

Immunabwehr, sondern auch mit der unspezifischen Entzündungsreaktion gegen synthetische Biomaterialien. T-Zellen sind an der Rekrutierung von Makrophagen sowie an der Riesenzellbildung beteiligt und haben Einfluss auf die Phagozytoseaktivität der Makrophagen und Riesenzellen bei der Gewebereaktion auf synthetische Biomaterialien (van Luyn et al., 1998).

Die morphologisch ermittelte Gesamtzahl der B-Lymphozyten, die mit dem monoklonalen Antikörper CD20 immunhistochemisch reagieren, stieg in der Untersuchungsgruppe mit Netzimplantat im Verlauf der Implantationsdauer statistisch signifikant gering an. In der Umgebung von Nahtmaterial ohne Netz fiel die Anzahl der B-Lymphozyten bei längerer Implantationsdauer statistisch signifikant gering leicht ab. In einer früheren Analyse des Einflusses des Implantationsintervalls auf die Verträglichkeit von Polypropylnetzen fand sich eine signifikante Abnahme der Entzündungszellen insgesamt (Klosterhalfen et al., 2002).

Wie oben geschildert ergaben sich bezüglich der T- und B-Lymphozytenzahl in der Implantatgruppe geringfügige gegenläufige Tendenzen, das heißt die Anzahl der Lymphozyten sank oder stieg quantitativ nur unwesentlich. Da die Zahl der Lymphozyten in dem nahtassoziierten Gewebe nach konventioneller Operation primär äußerst gering war, dürften sowohl B- als auch T-Lymphozyten die Verläufe nach beiden Operationsmethoden nicht nennenswert beeinflussen.

4.7. Proliferation

Die immunhistochemische Verwendung von PCNA (proliferating cell nuclear antigen) stellt eine etablierte Möglichkeit dar die zelluläre Proliferation zu beurteilen (Westerband et al., 1997). PCNA fungiert als Cofaktor für die DNA-Polymerase δ in der S-Phase des Zellzyklus und auch bei der DNA-Synthese im Rahmen einer DNA-Reparatur. Gordon et al., 1990, verglich die Sensitivität und Spezifität von PCNA-Bestimmungen in paraffineingebettetem Material mit

in vivo-Markierung in Rattengewebe. In den Dünndarmkrypten waren weitgehend alle thymidinpositiven Zellen auch PCNA-positiv. Thymidin als Bestandteil des DNA-Doppelstrangs wurde in markierter Form in proliferierende Zellen integriert.

PCNA positive Zellen wurden in der vorgelegten Untersuchung nur in der Umgebung der Netzimplantate gewertet. In einer logistischen Regression zeigte sich bezüglich der Implantationsdauer ein statistisch hochsignifikanter Anstieg proliferativer Aktivität ($p < 0,0001$). Wie bereits beschrieben, fand sich in den Kunstnetzimplantaten nach vorherigem Abfall ab dem 59. postoperativen Monat ein erneuter Anstieg der Fälle mit hoher Myofibroblastendichte. Eine identische Entwicklung ließ sich für Fälle hoher Gefäßdichte bereits ab dem 40. postoperativen Monat beobachten. Damit reflektiert die über den gesamten Beobachtungszeitraum registrierte Steigerung der durch PCNA gekennzeichneten proliferativen Aktivität langfristig gesehen den Wiederanstieg der Myofibroblasten- und Gefäßdichte.

Bei der Vorhersage der durch den Antikörper MiB1 bestimmten proliferativen Aktivität mit dem Maximum-Likelihood-Modell fand sich dagegen mit steigender Implantationsdauer ein geringer allerdings auf dem 95%-Niveau statistisch signifikanter Abfall des Schätzwertes für die proliferierenden Zellen. Dieser Widerspruch lässt sich möglicherweise dadurch erklären, dass die kunststoffimplantatassoziierte oder gegebenenfalls auch induzierte proliferative Aktivität über die Analyse mit PCNA besser erfasst wird. Darüber hinaus wird PCNA auch im Zusammenhang mit DNA-Reparatur in nicht zyklierenden Zellen als Zeichen erhöhter DNA-Synthese exprimiert (Westerband et al., 1997), sodass sich auch daraus der Unterschied zwischen PCNA- und MiB1-positiven Zellen erklärt. Unterstützt wird diese Einschätzung dadurch, dass ein Abfall der mit MiB1-bestimmten implantatassoziierten bereits beschrieben wurde (Klosterhalfen et al., 2002). Der in der vorliegenden Studie beobachtete mit PCNA ermittelte Anstieg proliferativer Aktivität und DNA-Reparaturtätigkeit wurde bislang in der Literatur nicht berichtet.

In diesem Zusammenhang ist zu erwähnen, dass sich in einer Analyse von Sarkomen, die durch synthetisches Biomaterial induziert wurden, eine stark

positive Expression von PCNA in atypischen Zellpopulationen fand (Kirkpatrick et al., 2000). Die atypischen Zellkerne färbten sich intensiv mit PCNA an. Ferner zeigte sich eine Positivität der Zellkerne in der näheren Umgebung des synthetischen Biomaterials, während Zellkerne der Fibroblasten, die weiter entfernt von diesem Material lagen, komplett negativ reagierten. Kirkpatrick et al. stellten in ihrer Studie fest, dass die PCNA-Expression eine exzellente Methode zur Lokalisation von präneoplastischen Läsionen, proliferativen und fraglich neoplastischen Veränderungen sei. Ferner konnten in ihrem experimentellen Modell in Fischerratten, die nur sehr selten Weichteiltumore entwickeln, sehr häufig maligne mesenchymale Tumore in der Umgebung von subkutan implantiertem synthetischem Biomaterial gefunden werden. Nach 2 Jahren fanden sich in 25,8% der untersuchten Tiere makroskopisch erkennbare Tumore. Die häufigsten Neoplasien stellten dabei maligne fibröse Histiozytome bzw. pleomorphe Sarkome.

4.8. Cyclin D1, bcl2

In Analogie zur Häufigkeit PCNA-positiver Zellen fand sich zwischen der Implantationsdauer und der Anzahl CyclinD1 sowie bcl2 exprimierender Zellen eine positive Beziehung, die allerdings nur für Cyclin D1 in Übereinstimmung mit den Ergebnissen von PCNA statistische Signifikanz erreichte.

4.9. p53, CD 117, c-erbB2

Im Gegensatz zu den Ergebnissen mit PCNA, Cyclin D1 und bcl2 nahm nach Kunststoffnetzimplantation die Zahl mit p53-positiven Zellen im Beobachtungszeitraum statistisch signifikant ab.

Das Tumorsuppressorgen p53 gibt gewisse Hinweise auf die Malignisierungstendenz des Gewebes. Das akkumulierte mutierte Protein wird in zahlreichen Neoplasien nachweisbar. So fanden sich in Verbrennungsnarben

Weichgewebssarkome mit nachweisbarer p53-Mutation (Nakanishi et al., 1999). In einer Studie von Sakatani et al. (1998) wurde nachgewiesen, dass trotz negativer Immunoreaktivität eine Mutation des p53-Gens vorliegen kann.

Die gleiche Tendenz wie p53 zeigte c-kit/CD117. Nur 25% der Proben mit Kunststoffnetz enthielten c-kit-positive Zellen. Im Verlauf der Implantationszeit nahm die Anzahl dieser Zellen ab, statistische Signifikanz wurde allerdings nicht erreicht. Ferner fand sich in der Untersuchungsgruppe mit Prolene®-Netzimplantaten nur eine c-erbB2-positive Probe, sodass sich auch hier kein Hinweis auf einen proneoplastischen Effekt durch längerfristiges Verbleiben des synthetischen Biomaterials im Körper ergab.

4.10. Malignisierungsrisiko

Eine chronisch entzündliche Irritation des Empfängergewebes im Implantatlager bei unterschiedlichen Netzprothesen wurde auch von Klosterhalfen et al. (2000) beschrieben. In ihrer Studie zeigten sogar alle Parameter zur Untersuchung von Zellschäden eine erhöhte, chronisch-persistierende Proliferations-, DNA-Schädigungs- und Apoptoserate, wohingegen in der vorliegenden Untersuchung nur ein Teil dieser Parameter erhöht und persistierend beobachtet wurde. Ferner betonte die genannte Untersuchung, dass Zellen unter Stressbedingungen ihr Proliferationsverhalten veränderten, intrazytoplasmatisch adaptive Stressproteine exprimierten und eine erhöhte Rate an Zellschäden entwickelten, sodass eine erhöhte Rate von absterbenden Zellen resultierte. Diese Ergebnisse wurden allerdings bei Implantatversagern, also einem Kollektiv mit Negativselektion, gewonnen (Klosterhalfen et al., 2000). Auch die Tatsache, dass die meisten Studien von menschlichem Gewebe retrospektiv analysiert wurden, macht die Interpretation sowie den Vergleich der Ergebnisse schwierig und die Schlussfolgerungen können zum Teil irreführend sein (Paul et al., 1998). In der bereits erwähnten von Klosterhalfen et al. (2002) publizierten Studie, fanden sich im Verlauf der

Implantationszeit ein Abfall der Ki67/MiB1-positiven proliferierenden und der mit der TUNEL-Methode ermittelten apoptotischen Zellen.

In der vorgelegten Untersuchung wurden Phänomene beobachtet, die im Zusammenhang mit Malignisierungsprozessen auftreten. Dazu gehören die mit PCNA ermittelte Steigerung der proliferativen Aktivität und der DNA-Synthese sowie die sich mit der Implantationsdauer steigernde Anzahl bcl2 und Cyclin D1 positiver Zellen. Gleichzeitig fanden sich Ergebnisse, die gegen eine Malignisierungstendenz sprachen. Dazu gehören die mit steigender Implantationsdauer sinkende p53-, Cyclin D1- und CD117-Expression sowie die mit dem Antikörper MiB1 ermittelte fallende proliferative Aktivität. Biologisch überwiegen offenbar nicht die Faktoren, welche Neoplasien induzieren, denn bisher wurde kein Fall beschrieben, in dem benigne oder maligne Tumore in der Umgebung eines Netzümplantates aufgetreten sind (Literaturrecherche Mai 2009; 402 Publikationen ohne Hinweis auf Malignisierung).

4.11. Kunststoffnetzoptimierung

Erwogen wurde, dass die persistierende chronische Fremdkörperreaktion mit konsekutiver Ausbildung einer steifen Narbenplatte durch eine Verminderung der Fremdkörpermenge, dass heißt durch den Einsatz leichtgewichtiger Kunststoffnetze weiter reduziert werden könnte (Klinge et al., 1996). Entsprechend wurde bislang angenommen, dass sich ganz überwiegend durch eine geringere Induktion der Fremdkörperreaktion eine verbesserte Beweglichkeit der Bauchwand, weniger Kontraktion und Schrumpfung sowie eine bessere Gewebsinkorporation ergeben (Cobb et al., 2005).

Die in der jetzt vorgelegten Studie ausschließlich verwendeten Prolene®-Netzümplantate bewirkten bereits, dass im gesamten untersuchten Verlauf der Gehalt an Fremdkörperriesenzellen im Implantat bei schmaler Konfidenzbande statistisch signifikant geringfügig abfiel. Somit sprechen die Ergebnisse der vorliegenden Untersuchung eher dafür, dass besser adaptierte Implantate vornehmlich die Dynamik der Faserbildung, der Gefäßproliferation und der

Myofibroblastenaktivierung bzw. -deaktivierung weiter optimieren müssen. Die Fremdkörperreaktion als nicht immunologische granulomatöse Entzündung tritt immer dann auf, wenn die Fremdmaterialien nur langsam in Lösung gehen, und/oder durch die Makrophagen nur langsam degradierbar sind (Wahl 1989). Im Gegensatz dazu erfolgt die Narben- bzw. Faserbildung im Zusammenhang mit der chronischen, abakteriellen, reparativen entzündlichen Reaktion, die sich an der Grenzfläche zwischen Fremdmaterial und Gewebe abspielt. Diese Organisation muss also von zu konzipierenden Kunststoffnetzimplantaten auf einem Niveau unterhalten werden, auf dem sich ein optimiertes Verhältnis von Gefäß- und Myofibroblastenbildung bzw. -rückbildung sowie von Faserbildung und Faserabbau ergibt, sodass ein Optimum an biologischer Stabilität und Mobilität resultiert. Inzwischen wurde klar, dass sich bezüglich der Rezidivneigung kein statistisch signifikanter Unterschied ergibt, wenn schwere und leichte Polypropylenetze in der Hernienchirurgie verwendet werden (Lausch et al., 2008; Smietanski, 2008). Aus diesem Grund müssen Implantate mit Eigenschaften entwickelt werden, welche vor allem das Verhalten der Myofibroblasten beeinflussen. Allgemein anerkannt ist heute, dass diese Zellen eine Schlüsselstellung in allen reparativen und fibrosierenden Prozessen einnehmen (Gabbiani, 2003; Desmouliere et al., 2005; Phan, 2008). Nach Stimulation beispielsweise durch mechanische Spannung und parakrin durch aktivierten „transforming growth factor“ (TGF β 1) wandeln sich Fibroblasten in Myofibroblasten um (Desmouliere et al., 2005; Ng et al., 2005; Wipff et al., 2007), die als charakteristisches Protein „smooth muscle actin“ (α -SMA) neoexprimieren (Tomasek et al., 2002; Desmouliere et al., 1993; Hinz, 2007; Wipff et al., 2007). Dieser Phänotypwandel stellt die Voraussetzung für die in der Wundheilung notwendige Steigerung der Kollagensynthese dar (Petrov et al., 2002). In Fibrosearealen bewahren Myofibroblasten ihren Phänotyp durch autokrine TGF β 1-Sekretion. Dieser Vorgang wird seinerseits vermittelt durch eine Erhöhung von Hyaluronan in der extrazellulären Matrix (Webber et al., 2009). Die „tissue transglutaminase“ (TG2) modifiziert dabei die Stabilität der extrazellulären Matrixproteine, in dem sie sie vor Degradation schützt und gleichzeitig TGF β 1 aktiviert (Shweke et al., 2008). Unter physiologischen

Bedingungen der Wundheilung erlischt die kontraktile Aktivität der Myofibroblasten, wenn der Wundheilungsvorgang abgeschlossen ist. Die α -SMA-Expression wird reduziert und die Myofibroblasten verschwinden aus dem Gewebe über den Weg der Apoptose (Desmouliere et al., 1995). Das Ziel aller reparativer Vorgänge im Gewebe besteht also letztlich darin, die Myofibroblasten aus dem Gewebe vollständig zu eliminieren, um überschießende Vernarbungen sowie die Ausbildung von Kontrakturen und progressiven Fibrosen zu verhindern (Hinz, 2007; Wipff et al., 2007). Als Signale, welche die Apoptose der Myofibroblasten auslösen, werden diskutiert die Aufhebung der mechanischen Spannung und die Formation spezieller Zell-zu-Zell-Kontakte (Petridou et al., 2000; Jamora and Fuchs, 2002; Stupack and Cheresch, 2002; Carlson et al., 2003; Grinnell, 2003; Yap and Kovacs, 2003; Hinz et al., 2004; Reddig and Juliano, 2005; Hinz, 2007). Eine Blockade der Faktoren, welche die Myofibroblasten aktivieren und die Induktion der Mechanismen, welche die Myofibroblasten deaktivieren, stellen Möglichkeiten dar, in pathologische Fibrosierungsprozesse einzugreifen.

Wie geschildert belegten die Ergebnisse der vorgelegten Studie implantatassoziiert einen 5 Jahre andauernden Abfall der Myofibroblastenzahl, während nach konventioneller Naht über 3 Jahre ein entsprechender Anstieg zu verzeichnen war. Deutlich wurde, dass nach Hernienkorrektur mit Polypropylen-Netzimplantation ein Fibrosierungsprozeß initiiert wurde, welcher der primären Wundheilung 5 Jahre ähnelt. Im Gegensatz dazu zeigten sich nach konventioneller Naht über 3 Jahre Verhältnisse, die an eine hypertrophe Vernarbung oder auch an die Ausbildung von Kontrakturen erinnern.

Zunächst begründet die Physiologie der Wundheilung die Notwendigkeit, im Kunststoffnetzimplantat möglichst spannungsarme Verhältnisse herzustellen, um die Myofibroblastenaktivierung durch mechanischen Stress zu minimieren. Da sich, wie erwähnt, aus der Verwendung leichter Kunststoffnetze letztlich kein entscheidender Vorteil ergab (Lauscher et al., 2008; Smietanski, 2008) müssten ihre Eigenschaften auf andere Weise modifiziert werden. So könnten die Implantate zeitlich verzögert und dann kontinuierlich oder auch zeitlich gestaffelt Inhibitoren der Myofibroblastenaktivierung freisetzen. Zu denken wäre

an anti- TGF β 1-Antikörper (Webber et al., 2009), anti-Tissue-Transglutaminase (Shweke et al., 2008), anti-Hyaluronan (Webber et al., 2009), AMP aktivierte Protein-Kinase (Mishra et al., 2008), Lovastatin (Meyer-Ter-Vehn et al., 2008) oder die N-terminale Sequenz AcEEED von α -SMA (Hinz et al., 2002, Desmouliere et al., 2005). Die Inhibition der pleiotropen TGF β 1-Aktivitäten wäre in sofern unbedenklich, als die Blockade nur auf lokalem Niveau in unmittelbarer Umgebung des Implantats auftreten würde, ohne die systemisch essentiellen Funktionen von TGF β 1 zu behindern. Eine andere Möglichkeit bestünde in der Beeinflussung spezifischer Zell-Matrix- und Zell-Zell-Kontakte, um die Apoptose von Myofibroblasten zu induzieren. Hier wäre der Vorteil gegeben, dass die extrazellulär gelegenen Strukturen durch Medikamente leicht zu erreichen wären (Hinz, 2007). Die Myofibroblastenzahl und –aktivität wären so einzustellen, dass Kollagen in der Menge und Zusammensetzung gebildet wird, dass ein Optimum an biologischer Stabilität, mechanischer Belastbarkeit und Beweglichkeit resultiert. Die Komplikations- und Rezidivrate ließen sich zusätzlich senken und die Verträglichkeit der Implantate deutlich verbessern.

5. Zusammenfassung

Wegen hoher Rezidivraten wurde in der Hernienchirurgie in den letzten Jahrzehnten die konventionelle Nahtmethode zunehmend durch die Verwendung von Kunststoffnetzimplantaten ersetzt. In der vorgelegten Untersuchung wurden die lokalen Entzündungsreaktionen in Abhängigkeit von der in situ-Verweildauer des Nahtmaterials und der Polypropylenetzimplantate verglichen. Konventionell morphologisch und immunhistochemisch analysiert wurde Gewebe von insgesamt 83 Patienten, das im Rahmen der Revision von Hernienrezidiven oder anderer Komplikationen entnommen wurde. Von diesen Patienten waren 67 primär mit Kunststoffnetzimplantaten und 16 mit einer konventionellen Nahtmethode behandelt worden. Im Einzelnen wurden bestimmt die Fasermenge, die Myofibroblasten- und Gefäßdichte, die Menge der Makrophagen, der Fremdkörperriesenzellen, der B- und T-Lymphozyten sowie die proliferative Aktivität markiert mit dem monoklonalen Antikörper MiB1. Nur in dem Gewebe mit Kunststoffnetzimplantaten wurde zusätzlich bestimmt die proliferative Aktivität mit PCNA, die Expression der Onkoproteine bcl2, c-erbB-2, Cyclin D1, des Tumorsuppressorproteins p53 und des Tyrosinkinaseproteins CD117/c-kit.

Gefragt wurde, ob sich aus den Ergebnissen der Analyse Hinweise auf ein erhöhtes Malignisierungsrisiko im Zusammenhang mit Kunststoffnetzimplantaten ergeben. Ferner wurde gefragt, welche der geprüften Parameter für die deutlich reduzierte Rezidivneigung nach Hernienoperation mit Kunststoffnetzimplantat biologisch ursächlich sein könnten. Diskutiert wurde dann, ob sich daraus Parameter ableiten lassen, die neu entwickelte Kunststoffnetzimplantate verändern müssten, um bei zumindest gleich bleibender oder noch weiter reduzierter Komplikations- und Rezidivneigung, die Verträglichkeit der Implantate zu verbessern.

Wie im Zusammenhang mit Malignisierungsprozessen beschrieben, zeigte sich mit zunehmender Verweildauer implantatassoziiert ein statistisch hochsignifikanter Anstieg PCNA-positiver proliferierender Zellen, bzw. Zellen mit gesteigerter DNA-Synthese. Ferner fand sich ein Anstieg der Cyclin D1/

bcl1- und bcl2-positiver Zellen. Gleichzeitig ergab sich eine gegen Malignisierungstendenzen sprechende Verringerung p53- und c-kit / CD117-positiver Zellen. Die mit dem Antikörper MiB1 bestimmte Proliferationsrate sank ebenfalls und c-erbB2-positive Zellen wurden überhaupt nur in einem Fall beobachtet.

Implantatassoziiert traten Phänomene auf, die sowohl für als auch gegen eine potenzielle fremdkörperinduzierte Malignisierung sprechen. Insgesamt werden proneoplastische Effekte offenbar nicht wirksam, da Neoplasien im Zusammenhang mit Kunststoffnetzimplantationen bei Hernienoperationen trotz millionenfacher Anwendung bisher nicht berichtet wurden.

Die Analyse der Entzündungszellen und die mit dem Antikörper MiB1 bestimmte proliferative Aktivität ergaben im Kunststoffnetzimplantat und nach konventioneller Operation keine prinzipiell unterschiedlichen Ergebnisse und Tendenzen, sodass sich hier keine Hinweise auf Ursachen für die sehr viel niedrigere Rezidivrate bei Verwendung von Kunststoffnetzimplantaten abzeichneten. Bislang wurde postuliert, dass eine Reduktion der Fremdkörperreaktion gegen neu zu konzipierende Implantate die Rezidiv- und Komplikationsrate weiter reduzieren würde. Die Ergebnisse der gegenwärtigen Untersuchung belegten hingegen, dass die über die Anzahl der implantatassoziierten Fremdkörperriesenzellen bestimmte Intensität der Fremdkörperreaktion im gesamten Beobachtungszeitraum statistisch signifikant bereits geringfügig absank, sodass sich hier keine unmittelbaren Ursachen für Komplikationen oder Rezidive ableiten ließen.

Aus dem Vergleich der Patientengruppen mit Kunststoffnetzimplantaten und der mit konventioneller Hernienoperation ergab sich, dass vor allem der stark zeitverschobene Faserab- und -aufbau sowie die gänzlich gegensätzlichen Myofibroblastenproliferation bzw. -Rückbildung den biologischen Stabilisierungsgewinn bei der Verwendung von Kunststoffnetzimplantaten bedingen. In den ersten postoperativen Jahren zeigte sich nach der konventionellen Nahtmethode ein Anstieg der Myofibroblastenzahl, der an die Entwicklung einer hypertrophen Narbe oder einer Kontraktur erinnert. Im Gegensatz dazu ähnelte

die implantatassoziierte postoperativ 6 Jahre andauernde Reduktion der Myofibroblastenzahl den Verhältnissen, die bei primärer Wundheilung zu beobachten sind. Neu zu konzipierende Implantate müssten zeitversetzt kontinuierlich oder diskontinuierlich beispielsweise TGF β 1-Inhibitoren lokal freisetzen, um die Myofibroblastenzahl auf möglichst niedrigem Niveau einzustellen. Den Verhältnissen primärer Wundheilung könnte sich so noch stärker genähert und bei einem Minimum an Kollagensynthese ein Maximum an biologischer Stabilität und Beweglichkeit erreicht werden. Die Komplikations- und Rezidivrate ließen sich zusätzlich senken und die Verträglichkeit der Implantate deutlich verbessern.

6. Literaturverzeichnis

Adams, J.M., Cory, S.: The bcl-2 protein family: Arbiters of cell survival.
Science 1998; 281: 1322-1326

Amid, P.K., Lichtenstein, I.L.: Retromuskuläre Alloplastik großer Narbenbrüche:
Eine einfache Heftklammertechnik.
Chirurg 1996; 67: 648-652

Amid, P.K., Shulman, A.G., Lichtenstein, I.L., Hakakha, M.: Biomaterials for
abdominal wall hernia surgery and principles of their applications.
Langenbecks Arch Chir 1994; 379: 168-171

Anderson, C., Rezuke, W.N., Kosciol, C.M., Pastuszak, W.T., Cartun, R.W.:
Identification of T-cell lymphomas in paraffin-embedded tissues using polyclonal
anti-CD3 antibody: Comparison with frozen sections immunophenotyping and
genotypic analysis.
Mod Pathol 1991; 13: 149-160

Brand, G., Brand, I.: Untersuchungen und Literatur-Studien zum Krebsproblem;
I. Mitteilung: Krebs durch Asbest, Schistosomiasis und Narben.
Zbl Bakt Hyg, I. Abt. Orig. B 1980; 171: 1-17

Burger, J.W.A., Luijendijk; R.W., Hop, W.C.J., Halm, J.A., Verdaasdonk, E.G.
G., Jeekel, J.: Long-term follow-up of a randomized controlled trial of suture
versus mesh repair of incisional hernia.
Ann Surg 2004; 240: 578-585

Chadburn, A., Knowles, D.M.: Paraffin-resistant antigens detectable by
antibodies L26 and polyclonal CD3 predict the B- or T-cell lineage of 95% of
diffuse aggressive non-Hodgkin´s lymphomas.
Am J Clin Path 1994; 102: 284-291

Charbord, P., Tavian, M., Humeau, L., Péault, B.: Early ontogeny of the human
marrow from long bones: an immunohistochemical study of hematopoiesis and its
microenvironment.
Blood 1996; 87: 4109-4119

Carlson, M.A., Longaker, M.T., Thompson, J.S.: Wound splinting regulates
granulation tissue survival.
J Surg Res 2003; 110: 304-309

Cattoretto, G., Becker, M.H., Key, G., Duchrow, M., Schlüter, C., Galle, J.,
Gerdes, J.: Monoclonal antibodies against recombinant parts of the Ki-67
antigen (MIB 1 and MIB 3) detect proliferating cells in microwave-processed
formalin-fixed paraffin sections.
J Pathol 1992; 168: 357-363

Chetty, R., Gatter, K.: CD3: structure, function, and role of immunostaining in clinical practice.

J Pathol 1994; 173: 303-307

Cheuk, W., Wong, K.O.Y., Wong, C.S.C: et al.: Consistent immunostaining for cyclin D1 can be achieved on a routine basis using a newly available rabbit monoclonal antibody.

Am J Surg Pathol 2004; 28: 801-807

Chevrel, J. P., Rath, A. M.: Polyester mesh for incisional hernia repair.

In: Schumpelick, V., Kingsnorth A. N. (eds) Incisional hernia. 1999; Springer, Berlin Heidelberg New York, p 327

Christenson, L., Wahlberg, L., Aebischer, P.: Mast cells and tissue reaction to intraperitoneally implanted polymer capsules.

J Biomed Mater Res 1991; 25: 1119-1131

Cobb, W.S., Kercher, K.W., Heniford, B.T.: The argument for lightweight polypropylene mesh in hernia repair.

Surg Innov 2005; 12: 63-69

Debodinance, P., Delporte, P., Engrand, J.-B., Boulogne, M.: Évolution des matériaux prothétiques vers une meilleure tolérance : application en chirurgie gynécologique.

J Gynecol Obstet Biol Reprod 2002; 31: 527-540

Debodinance, P., Cosson, M., Collinet, P., Boukerrou, M., Lucot, J.-P., Madi, N.: Les prothèses synthétiques dans la cure de prolapsus génitaux par la voie vaginale : bilan en 2005.

J Gynecol Obstet Biol Reprod 2006; 35: 429-454

Desmouliere, A., Geinoz, A., Gabbiani, F., Gabbiani, G.: Transforming growth factor-beta 1 induces alpha-smooth muscle actin expression in granulation tissue myofibroblasts and in quiescent and growing cultured fibroblasts.

J Cell Biol 1993; 122: 103-111

Desmouliere, A., Redard, M., Darby, I., Gabbiani, G.: Apoptosis mediates the decrease in cellularity during the transition between granulation tissue and scar.

Am J Path 1995; 146: 56-66

Desmouliere, A., Chaponnier, C., Gabbiani, G.: Tissue repair, contraction, and the myofibroblast.

Wound Repair Regen 2005; 13: 7-12

Elsebae, M.M., Nasr, M., Said, M.: Tension-free repair versus Bassini technique for strangulated inguinal hernia: A controlled randomized study.

Int J Surg 2008; 6: 302-305

Falini, B., Flenghi, L., Pileri, S., Gambacorta, M., Bigerna, B., Durkop, H. et al.: PG-M1: a new monoclonal antibody directed against a fixative-resistant epitope on the macrophage-restricted form of the CD68 molecule.
Am J Pathol 1993; 142: 1359-1372

Gabbiani, G.: The myofibroblast in wound healing and fibrocontractive diseases.
J Pathol 2003; 200: 500-503

Galli, S.J., Zsebo, K.M., Geissler, E.N.: The kit ligand, stem cell factor.
Adv Immunol 1994; 55: 1-96

Gatter, K.C., Dunnill, M.S., Gerdes, J., Stein, H., Mason, D.Y.: New approach to assessing lung tumours in man.
J Clin Pathol 1986; 39: 590-593

Gerdes, J., Becker, M.H., Key, G., Cattoretti, G.: Immunohistological detection of tumour growth fraction (Ki-67 antigen) in formalin-fixed and routinely processed tissues.
J Pathol 1992; 168: 85-86

Gordon, D., Reidy, M.A., Benditt, E.P., Schwartz, S.M.: Cell proliferation in human coronary arteries.
Proc Natl Acad Sci USA 1990; 87: 4600-4604

Gray, M.R., Curtis, J.M., Elkington, J.S.: Colovesical fistula after laparoscopic inguinal hernia repair.
Br J Surg 1994; 27: 459-461

Grinnell, F.: Fibroblast biology in three-dimensional collagen matrices.
Trends Cell Biol 2003; 13: 264-269

Hagerty, R.D., Salzman, D.L., Kleinert, L.B., Williams, S.K.: Cellular proliferation and macrophage populations associated with implanted expanded polytetrafluoroethylene and polyethyleneterephthalate.
J Biomed Mater Res 2000; 49: 489-497

Hinz, B., Gabbiani, G., Chaponnier, C.: The NH₂-terminal peptide of alpha-smooth muscle actin inhibits force generation by the myofibroblast in vitro and in vivo.
J Cell Biol 2002; 157: 657-663

Hinz, B., Pittet, P., Smith-Clerc, J., Chaponnier, C., Meister, J.J.: Myofibroblast development is characterized by specific cell-cell adherens junctions.
Mol Biol Cell 2004; 15: 4310-4320

Hinz, B.: Formation and function of the myofibroblast during tissue repair.
J Invest Dermatol 2007; 127: 526-537

Holness, C.L., Simmons, D.L.: Molecular cloning of CD68, a human macrophage marker related to lysosomal glycoproteins. *Blood* 1993; 81: 1607-1613

Horny, H.-P., Valent, P.: Diagnosis of mastocytosis: general histopathological aspects, morphological criteria, and immunohistochemical findings. *Leuk Res* 2001; 25: 543-551

Hsu, S., Raine, L., Fanger, H.: Use of the avidin-biotin-peroxidase complex (ABC) in immunoperoxidase techniques: a comparison between ABC and unlabeled antibody (PAP) procedures. *J Histochem Cytochem* 1981; 29: 577-580

Huffaker, R.K., Muir, T.W., Baumann, S.S., Kuehl, T.J., Pierce, L.M.: Histologic response of porcine collagen-coated and uncoated polypropylene grafts in a rabbit vagina model. *Am J Obstet Gynecol* 2008; 198: 582.e1-7

Jamora, C., Fuchs, E.: Intercellular adhesion, signalling and the cytoskeleton. *Nat Cell Biol* 2002; 4: E101-108

Janeway C.A., Travers, P., Walport, M., Sholmchik, M.: The immun system in health and disease; in Janeway CA, Travers P, Walport M, Sholmchik M (eds): *Immunobiology*. New York, Garland Publishing, 2001

Junge, K., Rosch, R., Bialasinski, L., Klinge, U., Klosterhalfen, B., Schumpelick, V.: Persistent extracellular matrix remodelling at the interface to polymers used for hernia repair. *Eur Surg Res* 2003; 35: 497-504

Kayaoglu, H.A., Ozkan, N., Hazinedaroglu, S.M., Ersoy, O.F., Erkek, A.B., Koseoglu, R.D.: Comparison of adhesive properties of five different prosthetic materials used in hernioplasty. *J Invest Surg* 2005; 18: 89-95

Key, G., Meggetto, F., Becker, M.H., al Saati, T., Schlüter, C., Duchrow, M., Delsol, G., Gerdes, J.: Immunobiochemical characterisation of the antigen detected by monoclonal antibody IND.64. Evidence that IND.64 reacts with the cll proliferation associated nuclear antigen previously defined by Ki-67. *Virchows Arch B Cell Pathol Incl Mol Pathol* 1992; 62: 259-262

Kirkpatrick, C.J., Alves, A., Köhler, H., Kriegsmann, J., Bittinger, F., Otto, M., Williams, D.F., Eloy, R.: Animal model; Biomaterial-induced sarcoma: a novel model to study preneoplastic change. *Am J Pathol* 2000; 156: 1455-1467

Klapper, L.N., Kirschbaum, M.H., Sela, M., Yarden, Y.: Biochemical and clinical implications of the ErbB/HER signaling network of growth factor receptors.

Adv Cancer Res 2000; 77: 25-79

Klinge, U., Conze, J., Limberg, W., Brücker, Ch., Öttinger, A.P., Schumpelick, V.: Pathophysiologie der Bauchdecke.
Chirurg 1996; 67: 229-233

Klinge, U., Klosterhalfen, B., Birkenhauer, V., Junge, K., Conze, J., Schumpelick, V.: Impact of polymer pore size on the interface scar formation in a rat model.
J Surg Res 2002; 103: 208-214

Klinge, U., Klosterhalfen, B., Conze, J., Limberg, W., Obolenski, B., Öttinger, A. P., Schumpelick, V.: Modified mesh for hernia repair that is adapted to the physiology of the abdominal wall.
Eur J Surg 1998; 164: 951-960

Klinge, U., Klosterhalfen, B., Müller, M., Schumpelick, V.: Foreign body reaction to meshes used for the repair of abdominal wall hernias.
Eur J Surg 1999; 165: 665-673

Klinge, U., Prescher, A., Klosterhalfen, B., Schumpelick, V.: Entstehung und Pathophysiologie der Bauchwanddefekte.
Chirurg 1997; 68: 293-303

Klosterhalfen, B., Junge, K., Hermanns, B., Klinge, U.: Influence of implantation interval on the long-term biocompatibility of surgical mesh.
Br J Surg 2002; 89: 1043-1048

Klosterhalfen, B., Klinge, u., Hermanns, B., Schumpelick, V.: Pathology of traditional surgical nets for hernia repair after long-term implantation in humans.
Chirurg 2000; 71: 43-51

Klosterhalfen, B., Klinge, U., Schumpelick, V.: Functional and morphological evaluation of different polypropylene-mesh modifications for abdominal wall repair.
Biomaterials 1998; 19: 2235-2246

Koo, C.H., Mason, D.Y., Miller, R., Ben-Ezra, J., Sheibani, K., Rappaport, H.: Additional evidence that "plasmacytoid T-cell lymphoma" associated with chronic myeloproliferative disorders is of macrophage / monocyte origin.
Am J Clin Pathol 1990; 93: 822-827

Krishnaswamy, G., Kelley, J., Johnson, D., Youngberg, D., Stone, W., Huang, S.-K. et al.: The human mast cell: functions in physiology and disease.
Front Biosci 2001; 6:d1109-1127

Langer, C., Neufang, T., Kley, C. et al.: Standardisierte Polypropylenetzplastik der Narbenhernie in Sublay-Technik.

Chirurg 2001; 72: 953-957

Langer, S., Christiansen, J.: Long-term results after incisional hernia repair.
Acta Chir Scand 1985; 151: 217-219

Lauscher J.C., Yafaei, K., Buhr, H.J., Ritz, J.P.: Total extraperitoneal hernioplasty: does the long-term clinical course depend on the type of mesh?
J Laparoendosc Adv Surg Tech A 2008; 18: 803-808

Leber, G E., Garb, G.L., Alexander, A.I., Reed, W.P.: Long-term complications associated with prosthetic repair of incisional hernias.
Arch Surg 1998; 133: 378-382

Lee, S.H., Hurwitz, J.: Mechanism of elongation of primed DNA by DNA polymerase delta, proliferating cell nuclear antigen, and activator1.
Proc Natl Acad Sci (USA) 1990; 87: 5 672-676

Leibovich, S.J., Russ, R.: The role of the makrophage in wound repair.
Am J Pathol 1975; 78: 71-100

Lichtenstein, I.L., Shulman, A.G., Amid, P.K.: The cause, prevention, and treatment of recurrent groin hernia.
Surg Clin North Am 1993; 73: 529-544

Mason, D.Y., Cordell, J., Brown, M., Pallerson, G., Ralfkiaer, E., Rothbard, J., Crumpton, M., Gatter, K.C.: Detection of T-cell in paraffin wax embedded tissue using antibodies against a peptide sequence from the CD3 antigen.
J Clin Path 1989; 42: 1194-1200

Matthias, P., Rolink, A. G.: Transcriptional networks in developing and mature B-cells.
Nat Rev Immunol 2005; 5: 497-508

Meyer-Ter-Vehn, T., Katzenberger, B., Han, H., Grehn, F., Schlunck, G.: Lovastatin inhibits TGF-beta-induced myofibroblast transdifferentiation in human tenon fibroblasts.
Invest Ophthalmol Vis Sci 2008; 49: 3955-3960

Mishra, R., Cool, B.L., Laderoute, K.R., Foretz, M., Viollet, B., Simonson, M.S.: AMP-activated protein kinase inhibits transforming growth factor- β -induced Smad3-dependent transcription and myofibroblast transdifferentiation.
J Biol Chem 2008; 283: 10461-10469

Nagata, H., Worobec, A.S., Oh, C.K., et al.: Identification of a point mutation in the catalytic domain of the protooncogene c-kit in peripheral blood mononuclear cells of patients who have mastocytosis with an associated hematologic disorder.
Proc Natl Acad Sci USA 1995; 92: 10560-10564

Nakanishi, H., Tomita, Y., Yoshikawa, H., Sato, N., Ochi, T., Aozasa, K.: Frequent p53 gene mutations in soft tissue sarcomas arising in burn scar. *Jpn J Cancer Res* 1999; 90: 276-279

Ng, C.P., Hinz, P., Swartz, M.A.: Interstitial fluid flow induces myofibroblast differentiation and collagen alignment in vitro. *J Cell Sci* 2005; 118: 4731-4739

O'Connell, Th.X., Fee, H.J., Golding, A.: Sarcoma associated with Dracon prosthetic material. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1976; 72: 94-96

Paul, A., Korenkov, M., Peters, S., Köhler, L., Troidl, H.: Unacceptable results of the Mayo procedure for repair of abdominal incisional hernias. *Eur J Surg* 1998; 164: 361-367

Petridou, S., Maltseva, O., Spanakis, S., Masur, S.K.: TGF-beta receptor expression and smad2 localization are cell density dependent in fibroblasts. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2000; 41: 89-95

Petrov, V.V., Fagard, R.H., Lijnen, P.J.: Stimulation of collagen production by transforming growth factor-beta1 during differentiation of cardiac fibroblasts to myofibroblasts. *Hypertension* 2002; 39: 258-263

Pezzella, F., Tse, A.G.D., Cordell, J.L., Pulford, K.A.F., Gatter, K.C., Mason, D.Y.: Expression of the bcl-2 oncogene protein is not specific for the 14;18 chromosomal translocation. *Am J Pathol* 1990; 137: 225-232

Phan, S.H.: Biology of fibroblasts and myofibroblasts. *Proc Am Thorac Soc* 2008; 5: 334-337

Reddig, P.J., Juliano, R.L.: Clinging to life: cell to matrix adhesion and cell survival. *Cancer Metastasis Rev* 2005; 24: 425-439

Rizeq, M.N., van de Rijn, M., Hendrickson, M.R., Rouse, R.V.: A comparative immunohistochemical study of uterine smooth muscle neoplasms with emphasis on epithelioid variant. *Hum Pathol* 1994; 25: 671-677

Roholl, P.J.M., Elbers, H.R.J., Prinsen, I., Claessens, J.A.J., van Unnik, J.A.M.: Distribution of actin isoforms in sarcomas: an immunohistochemical study. *Hum Pathol* 1990; 21: 1269-1274

Rosch, R., Junge, K., Quester, R., Klinge, U., Klosterhalfen, B., Schumpelick, V.: Vypro II® mesh in hernia repair: impact of polyglactin on long term incorporation in rats.

Eur Surg Res 2003; 35: 445-450

Rosch, R., Junge, K., Schachtrupp, A., Klinge, U., Klosterhalfen, B., Schumpelick, V.: Mesh Implants in Hernia Repair.

Eur Surg Res 2003; 35: 161-166

Sakatani, S., Kusakabe, H., Kiyokane, K., Suzuki, K.: p53 gene mutations in squamous cell carcinoma occurring in scars: comparison with p53 protein immunoreactivity.

Am J Dermatopathol 1998; 20: 463-467

Schumpelick, V., Conze, J., Klinge, U.: Die präperitoneale Netzplastik in der Reparation der Narbenhernie. Eine vergleichende retrospektive Studie an 272 nachoperierten Narbenhernien.

Chirurg 1996; 67: 1028-1035

Schumpelick, V., Klinge, U., Welty, G., Klosterhalfen, B.: Meshes in der Bauchwand.

Chirurg 1999; 70: 876-887

Schumpelick, V., Klosterhalfen, B., Müller, M., Klinge, U.: Minimierte Polypropylen-Netze zur Präperitonealen Netzplastik (PNP) der Narbenhernie.

Chirurg 1999; 70: 422-430

Schurch, W., Seemayer, T.A., Hinz, B., Gabbiani, G.: The Myofibroblast. In: Histology for pathologists (Mills SE, ed), Philadelphia, USA: Lippincott-Williams & Wilkins Pub. (2006)

Shweke, N., Boulos, N., Jouanneau, Ch., Vandermeersch, S., Melino, G., Dussaule, J.C., Chatziantoniou, Ch., Ronco, P., Boffa, J.J.: Tissue transglutaminase contributes to interstitial renal fibrosis by favoring accumulation of fibrillar collagen through TGF- β activation and cell infiltration.

Am J Pathol 2008; 173: 631-642

Silich, R.C., McSherry, C.K.: Spermatic granuloma: An uncommon complication of the tension-free hernia repair.

Surg Endosc 1996; 10: 537-539

Skalli, O., Ropraz, P., Trzeciak, A., Benzonana, G., Gillessen, D., Gabbiani, G.: A monoclonal antibody against alpha-smooth muscle actin: a new probe for smooth muscle differentiation.

J Cell Biol 1986; 103: 2787-2796

Smietanski, M., Bigda, J., Zaborowski, K., Worek, M., Sledzinski, Z.: Three-Year follow-up of modified Lichtenstein inguinal hernioplasty using lightweight poliglecaprone / polypropylene mesh.
Hernia 2009 Jan 20. (Epub ahead of print)

Smietanski, M.: Randomized clinical trial comparing a polypropylene with a poliglecaprone and polypropylene composite mesh for inguinal hernioplasty.
Br J Surg 2008; 95: 1462-1468

Stupack, D.G., Cheresh, D.A.: Get a ligand, get a life: integrins, signalling and cell survival.
J Cell Sci 2002; 115: 3729-3738

Tang, L., Jennings, T.A., Eaton, J.W.: Mast cells mediate acute inflammatory responses to implanted biomaterials.
Proc Natl Acad Sci USA 1998; 95: 8841-8846

Tomasek. J.J., Gabbiani, G., Hinz, B., Chaponnier, C., Brown, R.A.: Myofibroblasts and mechano-regulation of connective tissue remodelling.
Nat Rev Mol Cell Biol 2002; 3: 349-363

Usher, F.C., Hill, J.R., Ochsner, J.L.: Hernia repair with Marlex mesh. A comparison of techniques.
Surgery 1959; 46: 718-724

van Luyn, M.J., Khouw, I.M., van Wachem, P.B., et al.: Modulation of the tissue reaction to biomaterials. II. The function of T cells in the inflammatory reaction to crosslinked collagen implanted in T-cell-deficient rats.
J Biomed Mater Res 1998; 39: 398-406

van Veen, R.N., Wijsmuller, A.R., Vrijland, W.W., Hop, W.C., Lange, J.F., Jeekel, J.: Long-term follow-up of a randomized clinical trial of non-mesh versus mesh repair of primary inguinal hernia.
Br J Surg 2007; 94: 506-510

Wahl, S.M.: Monocytes and granulomatous inflammatory responses in Sorg, C. (ed): Macrophage-derived cell regulatory factors. Cytokines. Basel, Karger, 1989; 1: 173-192

Waseem, N.H., Lane, D.P.: Monoclonal antibody analysis of the proliferating cell nuclear antigen (PCNA). Structural conservation and the detection of a nucleolar form.
J Cell Sci 1990; 96: 121-129

Webber, J., Meran, S., Steadman, R., Phillips, A.: Hyaluronan orchestrates transforming growth factor- β 1-dependent maintenance of myofibroblast phenotype.
J Biol Chem 2009; 284: 9083-9092

Weinberg, D.S., Maini, B.S.: Primary sarcoma of the aorta associated with a vascular prosthesis: A Case Report.
Cancer 1980; 46: 398-402

Weiss, W.M., Riles, T.S., Gouge, T.H., Mizrachi, H.H.: Angiosarcoma at the site of Dracon vascular prosthesis: A case report and literature review.
J Vasc Surg 1991; 14: 87-91

Westerband, A., Mills, J.L., Marek, J.M., Heimark, R.L., Hunter, G.C., Williams, S.K.: Immunohistochemical determination of cell type and proliferation rate in human vein graft stenoses.
J Vasc Surg 1997; 25: 64-73

Wipf, P.J., Rifkin, D.B., Meister, J.J., Hinz, B.: Myofibroblast contraction activates latent TGF- β 1 from the extracellular matrix.
J Cell Biol 2007; 179: 1311-1323

Yang, E., Korsmeyer, S.J.: Molecular thanatopsis: A discourse on the BCL2 family and cell death.
Blood 1996; 88: 386-401

Yap, A.S., Kovacs, E.M.: Direct cadherin-activated cell signaling: a view from the plasma membrane.
J Cell Biol 2003; 160: 11-16

Danksagung

Herrn Prof. Dr. med. B. Bültmann, ehemaliger Geschäftsführender Direktor am Institut für Pathologie der Universitätsklinik Tübingen, und seinem Nachfolger Herrn Prof. Dr. med. F. Fend danke ich für die freundliche Überlassung meines Arbeitsplatzes.

Mein Dank gilt Prof. Dr. med. M. Wehrmann, ehemaliger geschäftsführender Oberarzt der Abteilung Allg. Pathologie und Pathologische Anatomie und jetzt niedergelassener Pathologe in einer Gemeinschaftspraxis für Histologie und Cytologie in Nürtingen, für die Überlassung des Themas.

Herzlich möchte ich Herrn Prof. Dr. med. H. Müller, stellvertretender ärztlicher Direktor der Abteilung Allg. Pathologie und Pathologische Anatomie, danken für die Betreuung meiner Arbeit und die entscheidende Förderung und Anregung in zahlreichen Gesprächen. Nicht zuletzt gehört ihm mein Dank für die kritische Durchsicht des Manuskriptes, für viele wertvolle Hinweise und Vorschläge sowie seine ständige Hilfsbereitschaft.

Auch Herrn Prof. Dr. M. Eichner, kommissarischer Leiter des Instituts für Medizinische Biometrie, danke ich für die statistische Auswertung meiner Untersuchungsergebnisse, für die Erstellung der Graphiken und für die freundliche Unterstützung.

Den medizinisch-technischen Assistentinnen des Instituts für Pathologie der Eberhard Karls Universität Tübingen Frau B. Rehmann, Frau A. Adam und, in der Endphase meiner Arbeit, Frau F. Müller sei ganz besonders für ihre labortechnische Arbeit gedankt. An dieser Stelle möchte ich auch Frau B. Matzke für die Hilfe bei der Formatierung der Texte und allen nicht namentlich genannten Mitarbeiterinnen und Mitarbeitern des Institutes danken, die durch Informationen die Arbeit unterstützten.

Mein aufrichtiger Dank gilt aber vor allem meinem Mann Johannes Steinert, meinen beiden Kindern Carmen und Felix sowie meiner Mutter. Sie haben mich durch ihre Geduld, ihr Verständnis und ihre unentwegte Unterstützung über alle Tiefen dieser Arbeit gerettet.

