

## Verzögerung der Wundheilung bei chronischer Niereninsuffizienz?

Katsuhisa Shindo\*

2172-1 Shindo, Tondabayashi-Shi, Osaka 584, Japan

### Delayed Wound Healing in Chronic Renal Insufficiency?

**Summary.** Chronic renal insufficiency was induced in rats by a five-sixths nephrectomy, and then incisional wounds were made in the abdominal skin, linea alba, stomach and colon. Morphologically, there was no significant retardation of wound healing in the uremic rats, although a slight delay was evident in the beginning of the healing process and inflammatory cells were more increased in number in uremic rats. Bursting strength of the colon and tensile strength of the skin, aponeurosis and stomach were usually less in the uremia than in the control, but there was no statistical significance except in colonic wounds after 5 days. It was also observed that the amount of hydroxyproline present in the uremic rats was less without statistical significance except in colonic wounds at 5 and 6.5 days. However, no correlation was established between blood urea nitrogen and microscopic findings of the wounds, nor between tissue strength and hydroxyproline.

Nevertheless our investigations indicate the relative significance of the hydroxyproline concentration for processes of wound healing. Transferring these results to man, patients suffering from chronic uremia are thoroughly operable if a more careful choice of surgical technique and avoidance of possible wound infections is observed.

**Key words:** Wound healing – Renal insufficiency – Manometry – Tensometry – Hydroxyproline.

**Zusammenfassung.** An  $5/6$  nephrektomierten Ratten wurden in der Bauchhaut, der Linea alba, der Magenwand und der Wand des Colon Incisionswunden gesetzt, um den Einfluß der chronischen Niereninsuffizienz auf die Wundheilung zu untersuchen. Es konnte keine signifikante Verzögerung der Wundheilung bei Urämie der Ratte festgestellt werden, obgleich zu Beginn des Heilungsvorganges eine geringfügige Verlangsamung gefunden wurde. Auffällig war eine deutliche Vermehrung der Entzündungszellen im Wundgebiet der urämischen Tiere.

\* Die Arbeit wurde am Pathologischen Institut der Universität Heidelberg (Prof. Dr. W. Doerr) durchgeführt. Ich habe Herrn Prof. Doerr für seine förderliche Hilfe vielmals zu danken.

Die Belastungsfähigkeit durch definierten Druck der Colonwand und die Belastbarkeit durch definierten Zug von Haut, Linea alba und Magenwand war im allgemeinen geringer bei urämischen als bei normalen Tieren.

Der Hydroxiprolingehalt der urämischen Gewebe lag unter dem vergleichbarer Kontrollen. Eine Korrelation zwischen Höhe des Blutharnstoffes, den mikroskopischen Befunden der Wunden sowie zwischen Gewebebefestigkeit und Hydroxiprolingehalt hat sich nicht darstellen lassen.

Unsere Untersuchungen machen aber die relative Bedeutung des Hydroxiprolingehaltes für die Vorgänge der Wundheilung bei Urämie wahrscheinlich. Überträgt man die erhobenen Befunde auf Menschen mit chronischer Urämie, so ist auch ein chronischer Urämiker operabel, wobei allerdings auf sorgfältigere Wahl chirurgischen Techniken bzw. auf weitestgehende Vermeidung möglicher Wundinfektionen geachtet werden sollte.

## Einleitung

Seit der Einführung der Dialyseverfahren in die Behandlung der Niereninsuffizienz hat sich die Lebenserwartung der Kranken deutlich gebessert. Es besteht daher in zunehmendem Maße für den Chirurgen Möglichkeit und Notwendigkeit, bei den Dialysepatienten auch Operationsindikationen aus anderer Ursache zu stellen, und solche Dialysepatienten auch einer operativen Therapie zuzuführen. Bislang ungeklärt und von klinischem Interesse ist die Kenntnis des Einflusses der chronischen Urämie auf den Prozeß der Wundheilung. In der vorliegenden Arbeit soll am Tierexperiment durch morphologische, physikalische und chemische Untersuchungen der Einfluß der chronischen Niereninsuffizienz auf einige Vorgänge der Wundheilung untersucht werden.

## Material und Methoden

Der Versuch wurde an 70 männlichen (etwa 240 g schweren) Wistaratten durchgeführt, welche in Makrolon-Käfigen bei künstlicher 12 h Beleuchtung und einer Raumtemperatur von 26° C gehalten waren. Es fand eine bilanzierte Nahrungsaufnahme bei sog. Paarfütterung (1 Paar = 1 urämisches Tier und 1 Kontrolltier) mit Altromin (R 1324) statt.

### *1. Technik der Nephrektomie*

Die Nephrektomie wurde nach der von Morison angegebenen Technik mit geringfügiger Modifikation vorgenommen. Zehn Tage nach der rechtsseitigen Nephrektomie wurde die linke Niere dargestellt, dekapsuliert und nach Bestrahlung mit 600 rad (0,5 mm Cu, 3,5 min)  $\frac{2}{3}$  nephrektomiert. Postoperativ wurde den Tieren für 24 h die Fütterung entzogen. Fünf Wochen nach  $\frac{5}{6}$  Nephrektomie unmittelbar vor der experimentellen Vornahme definierter Verletzungen wurde zur Serumharnstoffbestimmung Blut aus dem Plexus orbitalis entnommen.

### *2. Methode der Schnittwundenverletzungen*

Nach Nembutal-Narkose (Pentobarbital-Natrium, 50 µg/g Körpergewicht) und Desinfektion des Operationsgebietes mit Contrabac wurde die Bauchhaut in der vorderen Mittellinie auf eine Länge von 2 cm in vertikaler Richtung durchtrennt.

**Tabelle 1.** Übersicht über Lokalisation und Zustand der experimentell gesetzten Wunden bei allen (d.h. bei urämischen und Kontroll-)Tieren

Wunde	Klassifikation	Organ	Gewebe
I	Saubere Wunde	Bauchwand	Haut und subkutanes Gewebe, Linea alba und Peritoneum
II	Wenig kontaminierte Wunde	Magen	Magengewebe von Mukosa bis Serosa
III	Kontaminierte Wunde	Colon	Colonwandgewebe von Mukosa bis Serosa

Nachfolgend wurde im Bereich des Pylorus etwa 1,5 cm distal der Grenzfalte eine  $\frac{3}{4}$  Kreisgastrostomie vorgenommen. Nach Absaugen des Mageninhaltes wurde die Gastrotomiewunde durch eine invertierte fortlaufende einschichtige Naht verschlossen. Nach der Rückversenkung des operierten Magens in die Abdominalhöhle wurde das Colon dargestellt und 5 cm distal der Ileocoecalklappe komplett durchtrennt. Nach Säuberung des Wundgebietes von fäkalen Verunreinigungen wurde die Kontinuität des Dickdarmes durch eine End-zu-End-Anastomose mittels fortlaufender einschichtiger Naht wiederhergestellt. Schließlich wurde die Laparotomiewunde sowohl durch die fortlaufende Naht des Peritoneum und der Fascien als auch durch Einzelahtverschluß von Haut und Subkutangewebe adaptiert. Als Nahtmaterial für die Eingeweidewunden fand Dexon (B. Braun, Melsungen) Verwendung. Am Versuchsende wurden die Tiere in sieben Gruppen eingeteilt und nach 24 h, 3,5 Tagen, 5 Tagen, 6,5 Tagen, 10 Tagen, 12 Tagen und 15 Tagen mit einer Überdosis Pentobarbital-Natrium getötet. Einzelheiten der Lokalisation der operativ gesetzten Verletzungen s. Tabelle 1.

### 3. Makroskopische Beurteilung

Nach Eröffnung der Bauchhöhle wurden bestimmt und registriert

1. die Menge des Ascites,
2. der Grad der Anastomosendehiszenz,
3. Art und Grad der Peritonitis,
4. Anzahl, Lokalisation und Beschaffenheit etwaiger Abszesse sowie
5. Vorhandensein (+), Fehlen (-) oder geringe Ausbildung ( $\pm$ ) von Adhäsionen, Blutungen, Hyperämie und Ödem (Tabellen 1 und 2).

### 4. Histologische Untersuchung

Nach üblicher Formalinfixierung und Einbettung der Gewebsstücke wurden histologische Präparate angefertigt. Anhand der HE-Präparate wurden die Ausdehnung der Entzündung, Typ der Entzündungszellen, Zellzahl sowie die Ausprägung des Wundenödems bestimmt und entsprechend dem Vorgehen in Tabelle 2 aufgeschlüsselt. Zur Beurteilung des Bindegewebes, des Fibrins sowie der elastischen Faser wurden Masson-Goldner-Färbung und El.-van Gieson-Technik (G. Berg) verwendet.

**Tabelle 2.** Versuch der Quantifizierung der „ausgewerteten“ Vorgänge der Wundheilung

Grad	Anzahl der Zellen	Grad	Ödem	Grad	Kollagenfasern
0,5	vereinzelte	0	kein	0	keine
1	wenige	1	geringes	0,5	einzelne
2	viele	2	mittelstarkes	1	weitmaschige Anordnung
3	sehr viele	3	starkes	2	mittlere Reichlichkeit
4	dichte Zellulation (ohne Zwischenraum)	4	durch maximale Anschwellung stark komprimierend wirksam	4	ausschließlich kollagene Fasern

### 5. Prüfung der Druckspannung

Verwendung fanden zwei je 4 cm lange von Mesenterium und Adhäsionen befreite Colonstücke, wobei einmal Gewebe aus dem Anastomosenstück (2 cm proximal bis 2 cm distal der Anastomose) und zum anderen unversehrtes Colon (direkt distal der vorangegangenen Entnahmestelle) zu Kontrollmessungen entnommen wurde. Nach sorgfältiger Entfernung des Darminhaltes aus den Colonsegmenten wurde der 4 cm lange Colonzyylinder am proximalen Ende genau 1,5 cm von der Anastomose entfernt, mit einem Baumwollfaden verschlossen und an einem Gewicht befestigt. Am aboralen Ende wurde ein Plastikhohlzylinder von 4 mm Durchmesser eingeführt und später ebenfalls 1,5 cm von der Anastomose entfernt, durch einen Baumwollfaden mit dem Colonzyylinder luftdicht verschlossen. Das Plastikrohr seinerseits war über einen Dreifußadaptor mit einem Sphygmomanometer (Erka 300) und einem Gummiblaubalg verbunden, mit welchem fortlaufend ein Druck von 2 Kilopascal pro 10 s im Colonhohlzylinder erzeugt wurde. Das Darmsegment wurde in einen 100 ml fassenden Glasbehälter, angefüllt mit physiologischer Kochsalzlösung (37° C) eingebracht. Der Druck, bei dem erstmals Luftblasen das Darmsegment verließen, wurde als Berstdruck interpretiert.

### 6. Bestimmung der Zugspannung

Nach totaler Gastrektomie wurden aus dem an der großen Kurvatur aufgeschnittenen Magen mehrere je 0,5 cm breite, 3 cm lange Gewebestreifen mit und ohne medianes Anastomosengebiet präpariert. Die 3 cm langen Gewebestreifen wurden an beiden Enden jeweils 1 cm von der Anastomose bzw. der Mittellinie entfernt mit einem Druck von 100 Kilopascal durch Klammern befestigt. In eine Maschine eingespannt, wurden dann die Magenstreifen einer konstant zunehmenden und automatisch gesteuerten Dehnung von 5 mm/min ausgesetzt. Die dabei gewonnenen Dehnungsbelaustungskurven wurden durch das Tensiometer (Fa. Zwick, Typus 1454; 7074, 32) aufgezeichnet. Ebenso wurden streifenförmige Gewebestücke von Haut und Muskelfascien der Bauchwand entnommen, um hier in gleicher Weise die Zugfestigkeit zu bestimmen. Dabei wurden im Falle der Haut die Nähte entfernt, während sie an den anderen Geweben belassen blieben.

### 7. Hydroxyprolinbestimmung, modifiziert nach Stegemann

Verwendet wurden je 2 bis 3 mm breite gefriergetrocknete Gewebestücke aus dem Anastomosengebiet des oben beschriebenen Untersuchungsgutes. Die gefriergetrockneten Präparate wurden gewogen und etwa 12 h bei 118° C in 6-n Salzsäure (1 ml/10 mg Gewebege wicht) — 50 mg Zink-II-Chlorid ZnCl<sub>2</sub> katalysiert die Hydrolyse und verhindert die Bildung von braunschwarzen Häminstoffen, welche die colorimetrische Bestimmung erheblich stören — der Hydrolyse unterworfen. Das Hydrolysat wurde mit 6-n Natronlauge sowie gesättigter Natriumbicarbonat-Lösung neutralisiert, in destilliertem Wasser gelöst und zum Zwecke der Sedimentation für 12 h in Meßkolben im Kühlschrank aufbewahrt. Als bald wurde die fremdstofffreie, hydroxyprolinreiche Oberschicht abgehoben und mit 1 ml Chloramin-T-Lösung (p-Toluolsulfonchloramid-Natrium, Aqua-dest., Methyl-Glykol, Acetat-Citrat-Puffer) versetzt, kurz geschüttelt und 20 min bei Raumtemperatur stehengelassen. Danach wurden zunächst 2 ml verdünnte Perchlorsäure, nach 5 min 1 ml p-Dimethylaminobenzaldehyd (Ehrlichs-Reagenz) hinzugefügt, und die Röhrchen wurden für einige Sekunden in Eiswasser gekühlt. Schließlich wurde die Gewebeprobe in 2 cm-Küvetten eingebracht und im Photometer (Modell Eppendorf) bei einem Filter für 546 nm die Farbintensität bestimmt.

Der Hydroxyprolingehalt der zu analysierenden Lösungen wurde anhand einer Eichkurve der Extinktionswerte von Testlösungen (Firma E. Merck, Darmstadt) mit 1, 2, 3, 4, 5, 7, 5, 10, 12, 5, 15, 20 und 25 µg Hydroxyprolin/ml ermittelt.

8. Für die statistischen Ermittlungen verwendeten wir den student-t-test, die Fisher-Verteilung und die correlation function zwischen den Daten unserer Untersuchungen.

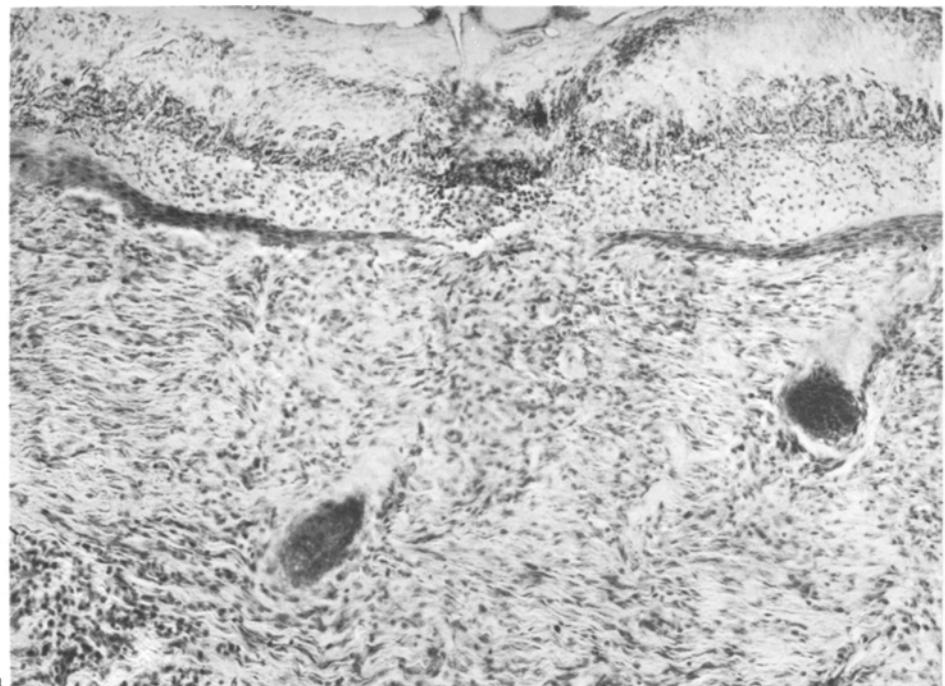
## Ergebnisse

- Der Blutharnstoff der  $\frac{5}{6}$  nephrektomierten Ratten zeigte Werte zwischen 98 mg und 325 mg/100 ml, der der Kontrolltiere Werte zwischen 20 mg und 72 mg/100 ml. Die mittlere Standardabweichung ist Tabelle 3 zu entnehmen. Statistisch zeigten sich keine signifikanten Unterschiede zwischen den urämischen Versuchstiergruppen der verschiedenen postoperativen Tötungstage.
- 51 Tiere der insgesamt zu Versuchsbeginn vorhandenen 70 Tiere überlebten. Todesursache während des Versuches waren Niereninsuffizienz, Narkose und Ileus.
- Makroskopisch fand sich bei den überlebenden urämischen Ratten eine geringfügige visköse Exsudation im Peritonealraum. Die Serosa erschien matt-glänzend und von einem feinen, hauchdünnen Film von Faserstoff bedeckt. Das Peritoneum zeigte eine deutlich vermehrte Injektion der Blutkapillaren, und es fanden sich örtlich begrenzte, leicht lösbare Adhäsionen. Bei den Kontrolltieren beschränkten sich die Adhäsionen auf das Wundgebiet. Ascites oder eine signifikante Hyperämie des parietalen Peritoneum waren nicht nachweisbar. Wunddehiszenzen konnten makroskopisch nicht festgestellt werden.
- Mikroskopisch konnten neben den Zeichen der Urämie (u.a. Hyperämie, Blutungen) folgende Befunde ermittelt werden:

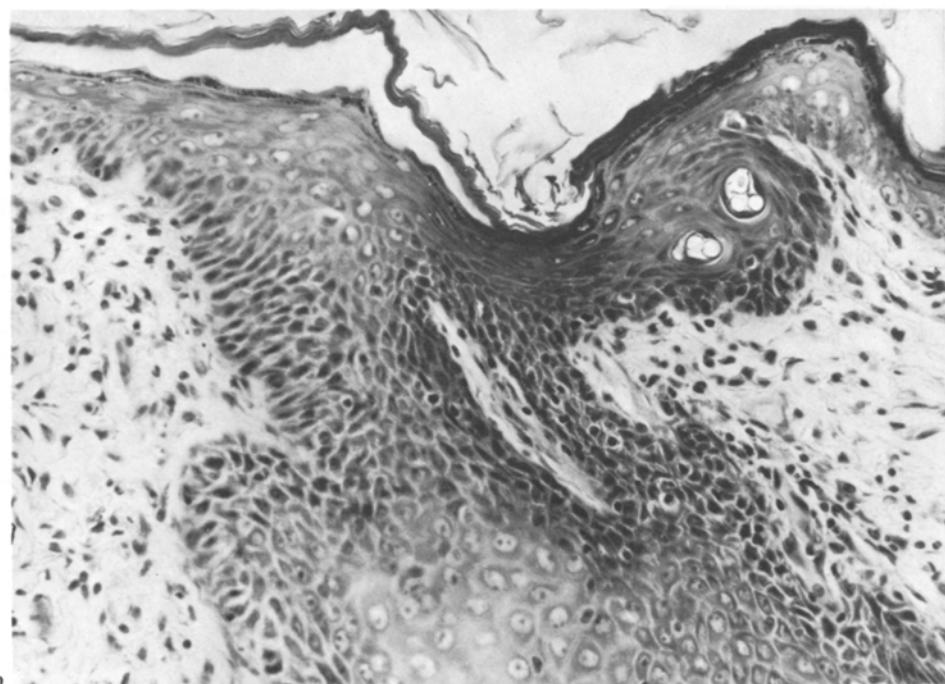
a) *Haut.* Am 1. und 3,5. postoperativen Tage bildete sich bei urämischen Ratten ebenso wie bei den Kontrolltieren ein geringfügiges Exsudat. Ein reifes Granulationsgewebe konnte nicht nachgewiesen werden. In beiden Versuchstiergruppen zeigte sich eine akutentzündliche Reaktion mit einer auf mehreren Zell-Lagen verbreiterten Epidermis. Zwischen den Wundrändern entstanden Substanzdefekte und ein BlutgerinnSEL. Am 5. postoperativen Tage scheint der Substanzdefekt tieferegrifend. Er ist dann größtenteils verschorft. Das Granulationsgewebe beginnt, deutlich in Erscheinung zu treten. Die Differenzierung von kollagenen Fäserchen wird am 6,5. postoperativen Tage in beiden Versuchstiergruppen sichtbar. Der subkutane Wundspalt wird durch dieses feinfibrilläre Gewebe nahezu gänzlich verschlossen. Es scheint, daß sich bei urämischen Tieren die Epidermisadaptation durch Schorfbildung vollzieht, während eine solche bei den Kontrolltieren weniger deutlich ist. Das Prinzip „Heilung unter dem Schorf“

**Tabelle 3.** Blutharnstoffwerte (mg/100 ml)

Postoperative Tage	1	3,5	5	6,5	10	12	15	
Urämie	Wertebereich	108 – 179	165 – 237	152 – 325	193 – 203	188 – 275	164 – 221	98 – 173
	Mittelwert	134,3	201,3	233,8	204,0	222,8	192,5	129,8
Kontrolle	Wertebereich	38 – 51	38 – 59	34 – 71	20 – 72	39 – 71	43 – 58	42 – 58
	Mittelwert	44,5	46,3	57,7	44,5	53,8	50,5	47,6



a



b

**Abb. 1a und b.** Hautwunde nach 15 Tagen. **a** Bildmitte oben Schorf bei Urämie; einige Epithelverwerfungen, lockeres Bindegewebe, unten links mäßig zahlreiche Entzündungszellen. **b** Wiederhergestellte Epidermis bei der Kontrolle. Regelrechte Verhältnisse. Paraffin, HE, Photogramm; (a) Vergrößerung 1:120, (b) Vergrößerung 1:360

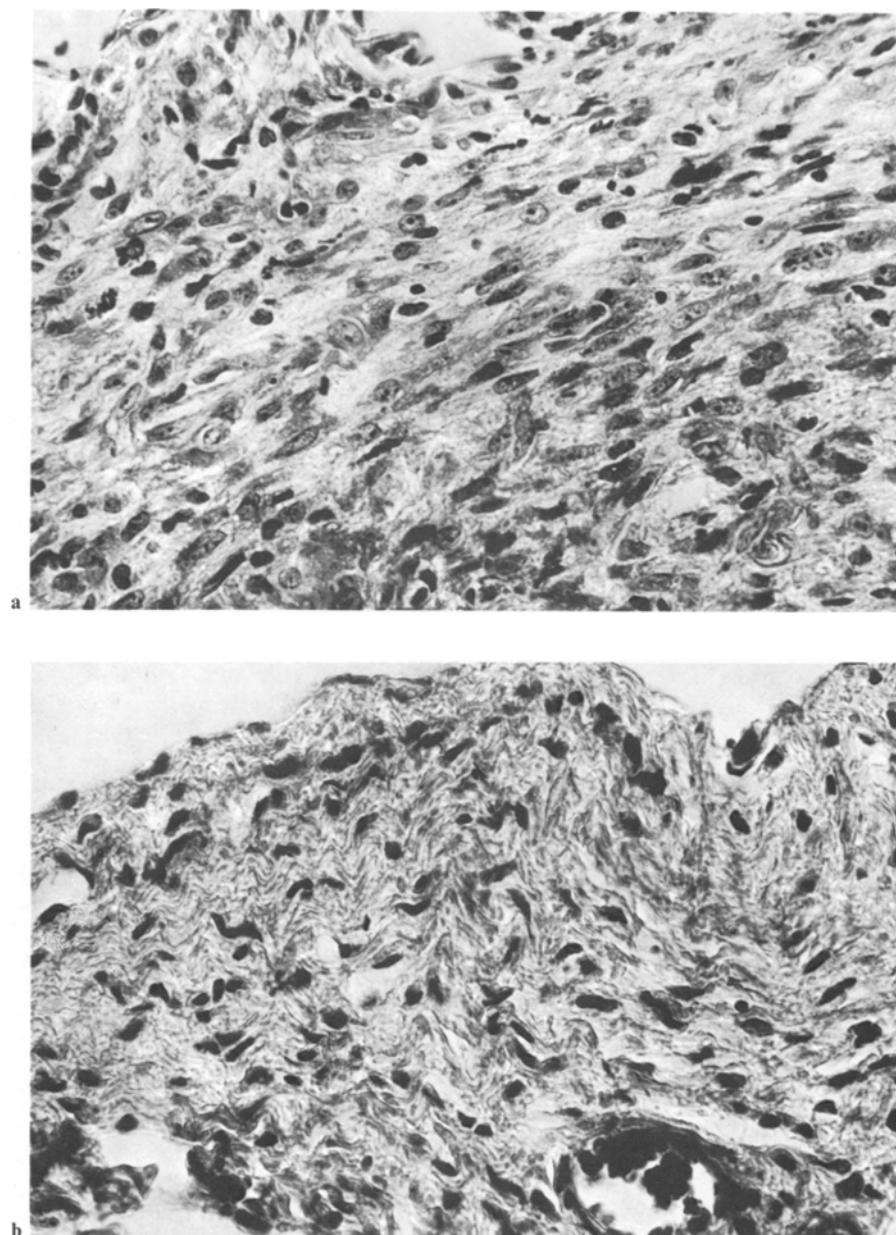
ist bei urämischen Tieren besser und deutlicher erkennbar als bei nicht-urämischen.

In beiden Versuchstiergruppen zeigte sich am 10. und 12. postoperativen Tage eine Abflachung der Epidermis.

Bei einigen Ratten war am 15. postoperativen Tage der Wunddefekt durch Fibrinschorf völlig ausgefüllt, bei anderen hingegen durch ein flaches (membranöses) Häutchen aus fibrillärem Granulationsgewebe „verschlossen“. Bei wieder anderen zeigte sich eine Schorfbildung auf der Epidermis, vergesellschaftet mit einer „Kontraktion“ des unmittelbar subepidermal etablierten fibrösen Gewebes. Es waren keine signifikanten Unterschiede zwischen urämischen Tieren und Kontrolltieren, ein einziges Versuchstierpaar ausgenommen, bemerkbar (Abb. 1).

*b) Linea alba und Peritoneum.* Am 1. postoperativen Tage war ein Ödem deutlich sichtbar. Die Kontrolltiere zeigten eine stärkere Mesothelproliferation als die urämischen Ratten. Nach  $3\frac{1}{2}$  Tagen fiel bei den Kontrolltieren eine deutliche Zunahme der Anzahl der Fibroblasten und eine Verdickung des Peritoneum auf. Am 5. postoperativen Tage unterschieden sich die Kontrollen von den urämischen Tieren durch eine Verstärkung des Granulationsgewebes und eine vermehrte Ausbildung netzförmig angeordneter kollagener Fäserchen (Abb. 2). Noch nach 6,5 Tagen fand sich bei den urämischen Tieren eine Vielzahl jugendlicher Fibroblasten, welche in den Kontrollen größtenteils eine Spindel- oder Fibrillenform zeigten. Die Entwicklung der Mesothelzellen scheint verzögert. Zwischen dem 10. und 12. postoperativen Tage erreicht die Bildung von Granulationsgewebe ihren Höhepunkt in beiden Gruppen. Dabei ist die Lymphocyteninlagerung bei den urämischen Ratten deutlich vermehrt. Am 15. postoperativen Tage war die Schrumpfung der Fibrocyten und die Verschmälerung des Granulationsgewebes in beiden Gruppen sicher erkennbar.

*c) Magen.* Die Mucosa reichte bis zur Incisionsstelle und schon am 1. postoperativen Tage war eine Kontraktion der Muscularis propria festzustellen. Granulationsgewebe konnte in beiden Gruppen noch nicht nachgewiesen werden. Nach  $3\frac{1}{2}$  Tagen fand sich eine Verdickung der Muscularis mucosae. Das Deckepithel der korrespondierenden Schnittstellen ordnete sich in dos-à-dos-Stellung. Das vorhandene Granulationsgewebe zeigte eine Vielzahl von Serosafibroblasten, besonders bei den urämischen Tieren. Nach  $6\frac{1}{2}$  Tagen war das Granulationsgewebe mit einer Vielzahl von Fibrocyten gut entwickelt. Eine Wundrandadhäsion der Muscularis mucosae konnte zu diesem Zeitpunkte noch nicht sicher nachgewiesen werden. Am 10. postoperativen Tage fiel eine deutliche Proliferation der kollagenen Fasern auf, während sich die Reaktionszone in den Kontrolltieren bis hin zum 12. Tage noch verbreiterte (Tabelle 4; Abb. 3). Am 15. postoperativen Tage waren die subserösen und muskulären Schichten komplett fibrosiert, die Schleimhautränder einander stark angenähert, — möglicherweise infolge einer Kontraktion (beginnenden Schrumpfung) des frischen Narbengewebes. Mitosen fanden sich in großer Zahl in den Epithelien der angrenzenden Schleimhautdrüsen. Das Granulationsgewebe schien in beiden Versuchsgruppen gänzlich von Epithel überkleidet.



**Abb. 2a und b.** Wundbereich des parietalen Peritoneum, nach 5 Tagen. **a** Urämietier. Reichlich lockeres Bindegewebe, reichlich Fibroblasten und Histiocyten, am oberen Bildrand nur wenig Mesothelien; geringe Fibrillenbildung. Masson-Goldner, Vergrößerung 1:120. **b** Kontrolltier; weitaus stärkere Kollagenisierung. Gleiche Technik



a



b

**Abb. 3a und b.** Magenwand nach 12 Tagen. **a** Urämie. Noch nicht perfekte Schleimhautheilung; Hyperchromasie der an den Defekt angrenzenden Schleimhautepithelien. Paraffin, HE, Photogramm, Vergrößerung 1:120. **b** Kontrolle. Auch hier ist die Wundheilung noch „auf dem Marsche“. Im Bild unten Muscularis mucosae, keine Regeneration. Technik wie in 3a. Urämische und normale Situation unterscheiden sich kaum voneinander

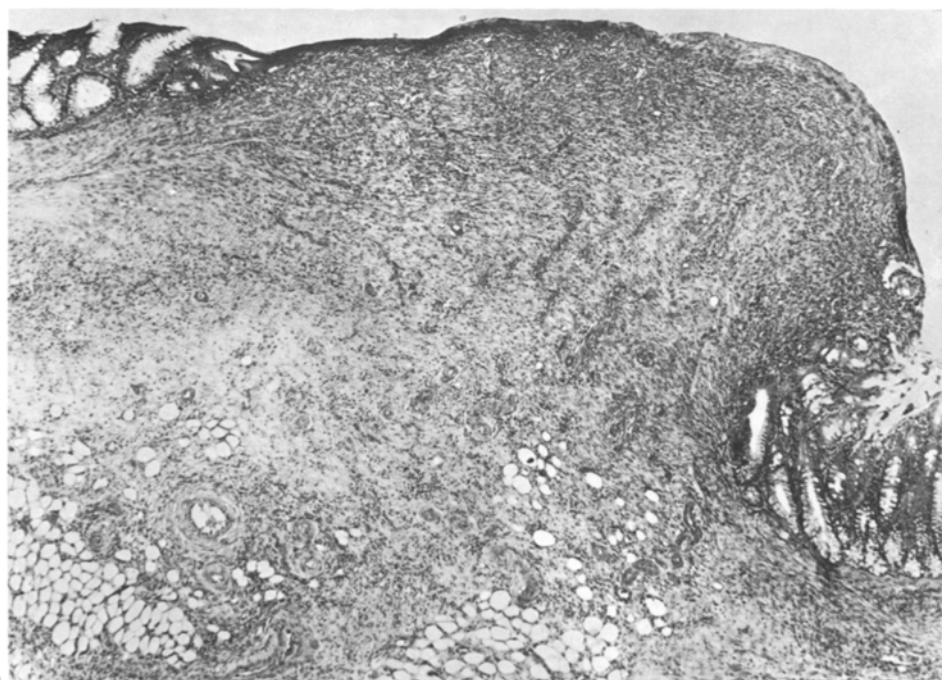
**Tabelle 4.** Semiquantitative Erfassung der Vorgänge bei Wundheilung (Mittelwerte) bei Urämie und Kontrollen (-/-)

Postoperative Tage		1	3,5	5	6,5	10	12	15
Gesamt-anzahl der entzündungszellen	Haut Linea alba Magen Colon	0,75/0,50 0,75/0,50 0,75/0,50 1,25/0,75	1,25/2,00 1,50/2,00 2,50/2,00 2,30/1,30	2,00/1,00 2,00/2,00 3,00/2,00 3,00/2,00	1,38/0,83 1,50/1,13 2,00/1,50 1,75/1,75	1,00/1,25 1,17/0,83 2,30/1,00 2,30/1,00	1,00/1,00 2,50/1,00 2,00/1,00 1,50/0,50	1,80/0,70 1,40/1,20 1,80/1,40 2,00/1,30
Breite der Reaktionszone	Haut Linea alba Magen Colon	0/0,25 0/0,25 0,50/0,25 2,75/5,00	1,25/0,75 1,50/2,75 2,25/2,90 4,25/2,50	3,75/3,75 2,00/2,50 4,50/1,25 4,00/1,50	1,75/1,75 1,88/2,33 3,25/3,25 3,25/2,90	2,50/2,50 3,08/1,58 3,08/2,08 2,68/2,18	4,75/2,50 2,75/2,50 4,75/2,50 2,75/0,75	3,75/2,03 1,82/2,15 4,65/3,95 3,75/0,60
Menge der Ödeman-sammlung	Haut Linea alba Magen Colon	0,25/1,00 0,25/0,50 1,00/1,00 0,75/0,75	0,25/0 0,25/0 0,16/0,33 0,16/0,33	0,50/0,50 0,50/0,50 0,50/0 0,50/0	0,63/0,17 0,25/0,13 0,38/0,38 0,25/0,62	0/0,75 0,30/0,30 0,17/0,17 0,50/0,17	0,50/0 1,00/0 1,50/0 1,00/0	0,50/0,20 0,10/0,10 0,50/0,30 0,20/0,10
Kollagenes Bindegewebe	Haut Linea alba Magen Colon	0,75/1,50 1,00/1,00 1,00/1,25 1,00/1,25	3,50/1,00 1,75/1,00 1,16/1,50 1,00/1,50	1,00/3,00 2,00/3,00 2,30/3,00 0,50/1,50	2,50/3,00 2,25/2,75 1,70/1,70 2,00/2,90	2,00/2,50 2,00/2,00 2,50/4,00 1,30/1,50	3,00/4,00 3,50/4,00 2,00/4,00 1,75/2,00	2,20/2,60 2,00/2,00 2,00/2,30 2,20/2,00

d) *Colon.* Am 1. postoperativen Tage war eine Verdickung der Muscularis mucosae festzustellen. Die Schleimhaut bedeckte den Anastomosenspalt. In den subepithelialen Schichten der urämischen Ratten fand sich ein deutlich akzentuiertes Ödem. Nach  $3\frac{1}{2}$  Tagen erschien ein Granulationsgewebe im Bereich der subserösen und submukösen Schichten, während im muskulären Schnittbereich vermehrt schmal-spindelige Fibrocyten auftraten. Im Vergleich zu den urämischen Tieren zeigte sich bei den Kontrollen eine stärkere Vermehrung des Bindegewebes im Anastomosenbereich. In beiden Gruppen entwickelte sich nach  $6\frac{1}{2}$  Tagen so viel Granulationsgewebe, daß es die Schleimhautränder wulstig überwucherte. Am 10. postoperativen Tage ließen sich bei urämischen Ratten und Kontrolltieren Fibrocyten und kollagene Fasern nachweisen (Abb. 4), am 12. postoperativen Tage waren die Schleimhautränder durch eine neugebildete hauchdünne Mucosa verbunden. Die Drüsenendstücke der angrenzenden Schleimhaut waren kleincystisch umgewandelt. Am 15. Tage p.o. war der Serosaspalt durch fibrilläres Bindegewebe komplett verschlossen, und die mäßig verdickte Mucosa wölbte sich buckelförmig in die Darmlichtung vor. In einigen Präparaten schien die Spitzengegend der Proliferate abgerissen. Bei anderen war die jeweilige Proliferatoberfläche durch eine Deckzellschicht überkleidet. Dabei konnten keine signifikanten Unterschiede zwischen den urämischen und den Kontrolltieren festgestellt werden. Im allgemeinen läßt sich also sagen, daß sich bei den urämischen Tieren eine vergleichsweise stärkere Anzahl an Entzündungszellen darstellen läßt. Die Ergebnisse der Messungen der Gesamtzellanzahl, der Breite der Reaktionszone, des Ödemes, der Zahl und Mächtigkeit der kollagenen Fibrillen sind in Tabelle 4 festgehalten. Im Bereich der elastischen



a



b

**Abb. 4 a und b.** Colonwand nach 10 Tagen. **a** Urämie. Granulationsgewebepilz, noch keine Epithelialisierung, fein-fibrilläres Gewebe, in Bildmitte unten links Entzündungszellen. Paraffin, Masson-Goldner, Photogramm, Vergrößerung 1:60. **b** Kontrolle. Grundsätzlich gleichartige Verhältnisse, etwas stärkere Kollagenisierung. Gleiche Technik wie in 4a

schnen Fasern der Haut, des Peritoneum und der Darmwand konnten regeneratorische Prozesse mit unserer Untersuchungsmethode nicht nachgewiesen werden.

### 5. Druckspannungsmessungen (Bursting Strength)

Bei allen Colonabschnitten ohne Anastomose lag die aufgewendete Kraft über dem Meßberich des Sphygmomanometers (max. 40 kPa). Eine Zusammenfassung der Ergebnisse der Messungen an Colonstücken mit Anastomose in Abbildung 5 dargestellt.

Der Unterschied zwischen urämischen und Kontroll-Wunden jeder Gruppe beträgt 0,1 oder weniger nach 3,5 Tagen und erhöht sich stufenweise auf 0,8 bis 0,9 am 15. Tage. Dies bedeutet, daß der aufzuwendende Druck bei urämischen Wunden anfangs geringer ist, sich jedoch bis zum 15. postoperativen Tage dem der Kontrolltiere nähert. Der aufzuwendende Druck erreicht in beiden Gruppen am 10. Tage p.o. das Maximum.

### 6. Zugspannungsbestimmungen (Tensile Strength)

Die Ergebnisse der Zugspannungsbestimmungen sind in Abbildung 6 wiedergegeben. Der vorliegende Versuch zeigt, daß sich die absoluten Werte der Zugspannung selbst in jedem einzelnen Präparat des gleichen Versuchstieres deutlich

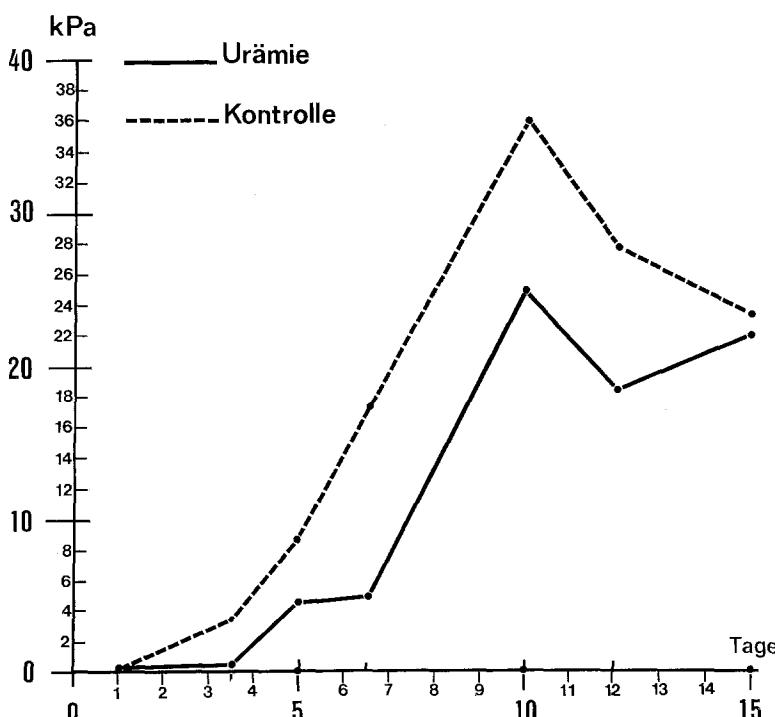


Abb. 5. Messung der Druckspannungen im Bereich der Colonwandabschnitte mit Anastomosen. Maximale Druckbelastbarkeit (kPa) im Verhältnis zur postoperativen Zeit (Tag)

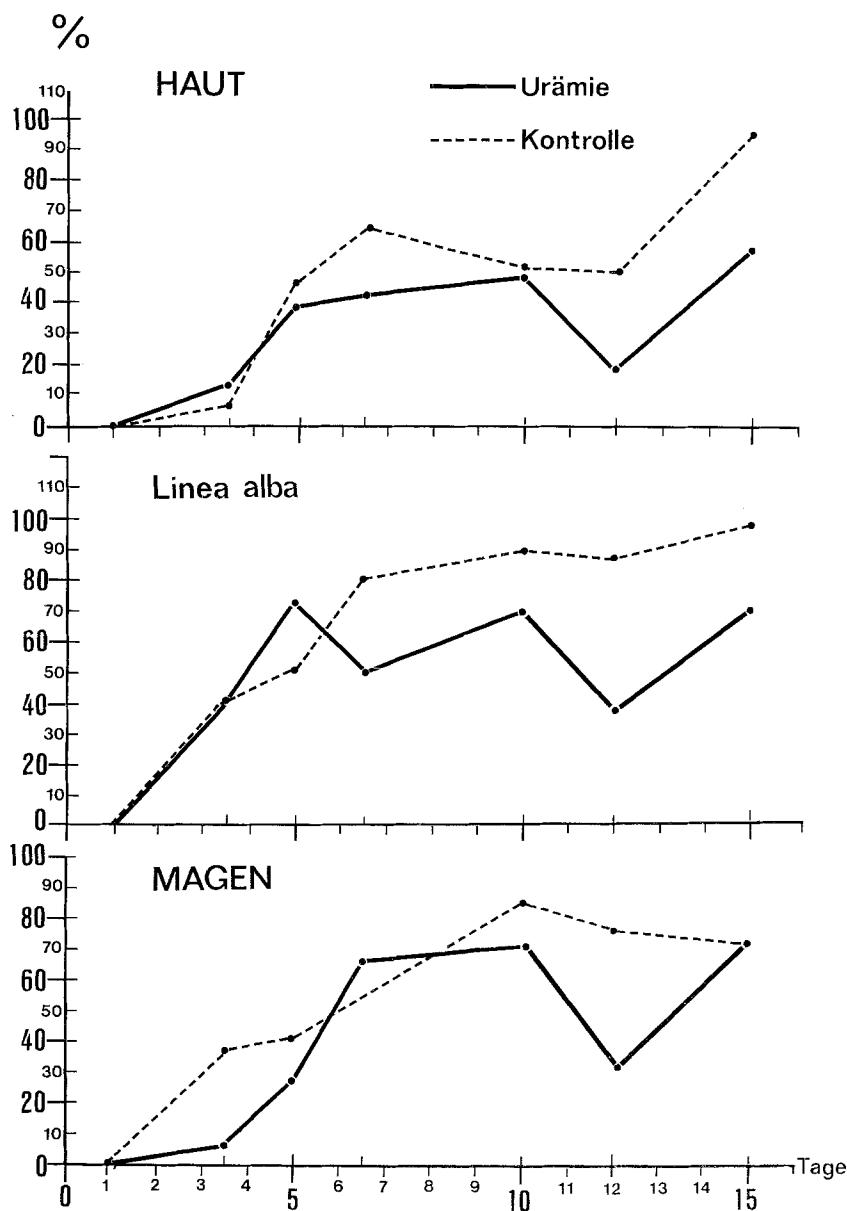


Abb. 6. Reißfestigkeit im Wundbereich der Haut, der Aponeurose und des Magens im Verhältnis zur postoperativen Zeit (Tag)

voneinander unterscheiden. Dies erklärt sich möglicherweise durch eine Reihe von Faktoren: Zeitunterschiede zwischen Entnahme und Untersuchung des Ge webestückes, Feuchtigkeit, Dehydratation und unterschiedliche Dicke des Versuchsmateriales. Diese Bedingungen sind nur sehr schwierig oder gar nicht konstant zu halten. Deshalb wurden zum Vergleich der Meßwerte zwischen urämischen und Kontroll-Tieren sog. Vergleichszahlen (strength retention) zugrundegelegt. Im Sinne einer Zwischenzusammenfassung läßt sich sagen (Abb. 6), daß die „strength retention“ in den verschiedenen Geweben unterschiedliche Tendenzen zeigt. Dabei fand sich bei sog. urämischen Wunden im Vergleich zu Kontrollwunden nach  $6\frac{1}{2}$  Tagen am Magen, am 5. Tage p.o. an der Linea alba und nach  $3\frac{1}{2}$  Tagen an der Haut eine verstärkte Zunahme der „strength retention“. Statistisch signifikante Unterschiede zwischen den Meßwerten der einzelnen Versuchstiergruppen konnten nicht herausgearbeitet werden. Am 12. Tage p.o. kam es praktisch an allen Geweben zu einer signifikanten Abnahme der „strength retention“. Dabei muß freilich darauf hingewiesen werden, daß zur Bestimmung der letzten Werte nur (noch) zwei Versuchstierpaare zur Verfügung standen. Nach 15 Tagen glichen sich die relativen Spannungswerte an den Magenwandstücken an; im Vergleich zu den Kontrollen zeigte sich hinsichtlich der „strength retention“ bei urämischen Tieren in der Haut eine 64%ige, in der Linea alba eine 72%ige Annäherung der Werte.

### 7. *Hydroxyprolinbestimmung*

Die Eichkurve der Extinktionswerte (ermittelt von Testlösungen der Firma E. Merck, Darmstadt) zeigte im Bereich von 2 bis 20  $\mu\text{g}$  einen geraden ansteigenden, später dann einen stufenweise abgeflachten Verlauf. Die Trockenpräparate, welche zur Hydroxyprolinbestimmung verwendet wurden, wogen für die Haut 12 bis 33 mg (23,2 mg), für die Linea alba 15 bis 31 mg (24,1 mg), für die Magenwand 11 bis 26 mg (17,2 mg) und für die des Colon 8 bis 16,5 mg (11,4 mg).

Die Mittelwerte und der Bereich des Hydroxyprolingehaltes der verschiedenen Gewebe sind aus Tabelle 7 zu ersehen. Für den Vergleich der Kollagenkonzentrationen zwischen urämischen Geweben und Kontrollpräparationen wurde der Gehalt an Hydroxyprolin pro 10 mg Trockensubstanz (%) berechnet und in Abbildung 7 dargestellt.

8. Eine Beziehung zwischen Ausmaß und Hemmung der *Wundheilung* und der Höhe des *Blutharnstoffwertes* konnte nicht festgestellt werden. Ebensowenig ließ sich die Zunahme der Kraftaufwendung mit den Blutharnstoffwerten, dem Hydroxyprolingehalt und den mikroskopischen Befunden korrelieren. Signifikante Unterschiede ( $p=0,05$ ) zwischen Urämie und Kontrolle fanden sich bei der Druckspannungsmessung der Colonwunden des 5. postoperativen Tages und im Hydroxyprolingehalt desselben Gewebes nach 5 und  $6\frac{1}{2}$  Tagen (Tabelle 5).

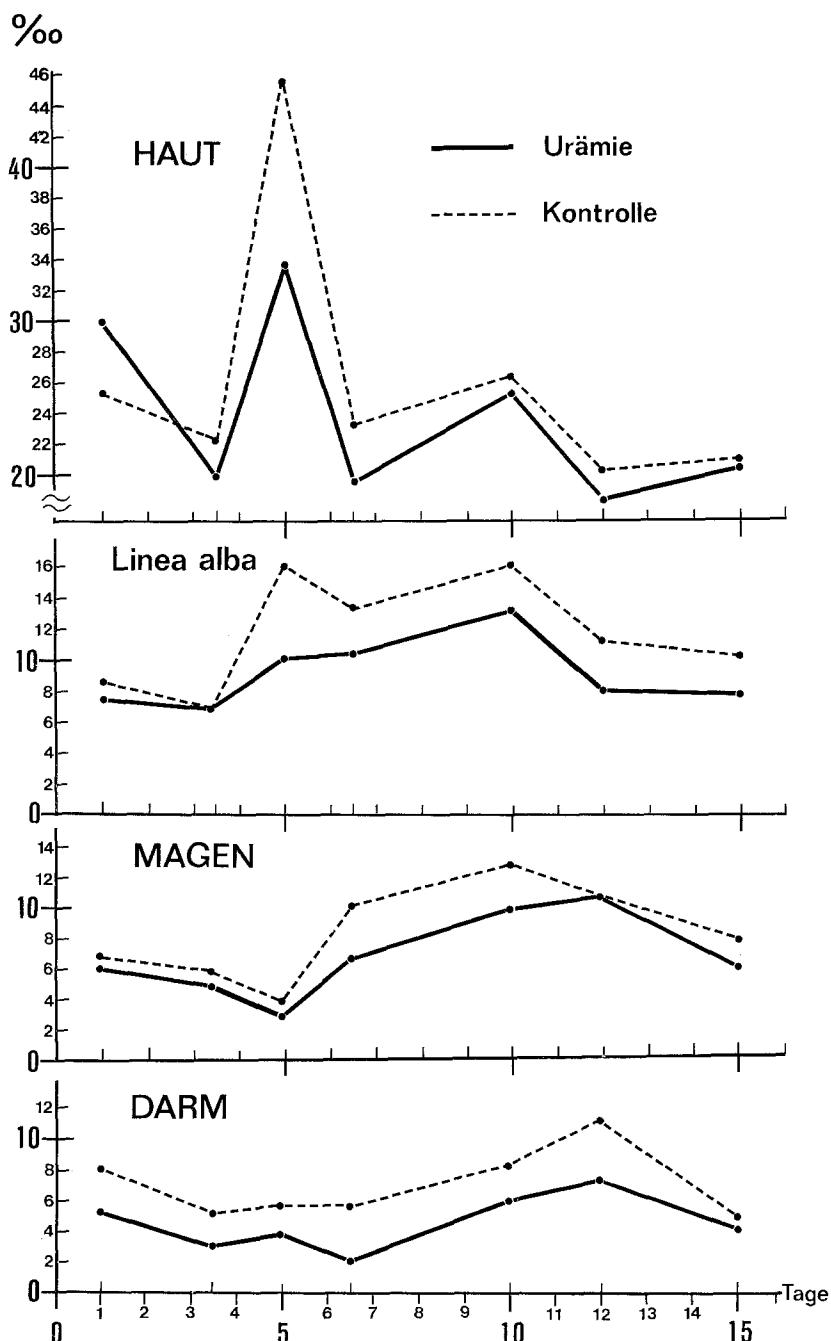


Abb. 7. Hydroxyprolingehalt der Gewebe im Bereich der Wundheilung bei Urämie und bei den Kontrollen. Hydroxyprolinwerte in  $\mu\text{g}$ -Prozent, postoperative Zeit in Tagen

Die entsprechenden Tabellen zu Abbildungen 5 – 7 wurden aus Gründen der Platzersparnis herausgenommen. Sie stehen auf Anforderung den Interessenten zur Verfügung.

Tabelle 5. Signifikanz (T-Prüfwert,  $p=0,05$ ); x = unsignifikant; o = signifikant

Postop. Tage	Belastbarkeit			Hydroxiprolin			Gesamtzahl der Zellen		
	1-3,5	5-6,5	10-15	1-3,5	5-6,5	10-15	1-3,5	5-6,5	10-15
Haut	x	x	x	x	x	x	x	x	x
Linea alba	x	x	x	x	x	x	x	x	x
Magen	x	x	x	x	x	x	x	x	o
Colon	x	o	o	x	o	x	x	x	o

## Diskussion

Die Beurteilung der Wundheilung wirft unter den gewählten Bedingungen folgende grundlegende Fragen auf:

Ist die verwendete Operationsmethode geeignet und widersteht das angewandte Nahtmaterial den Kräften von Druck und Zug am untersuchten Gewebe?

Es braucht nicht darauf hingewiesen zu werden, daß selbst unter Beachtung aller Grundvoraussetzungen eine Wunddehiszenz entsteht, wenn die Wunde einer entsprechenden Kraft ausgesetzt ist oder das heilende Gewebe in seiner Integrität allzu sehr beeinträchtigt wird. In diesem Versuche wurde der letztere Faktor behandelt. Aus diesem Grunde wurden die Gewebestücke auf „pathologische“ Wundverhältnisse mit Gewebeblutungen, Ischämie, Ödem, Nekrosen und Abszessen sowohl makroskopisch als auch licht- sowie elektronenmikroskopisch untersucht. Auch wurden die Wunden mit physikalischen und chemischen Methoden examiniert.

Efron (1965), Mott und Ellis (1967), Peacock und v. Winkle (1970), Hata et al. (1973) sind der Meinung, daß die Urämie einen der Gründe für eine verzögerte Wundheilung darstellt. Dies scheint mit den Erfahrungen der Chirurgen bei der Behandlung urämischer Patienten überinzustimmen. Im Gegensatz hierzu fanden wir in unserer post mortem-Untersuchung (Shindo et al., 1976) außer einer gehäuften Infektionsanfälligkeit „urämischer Wunden“ keine signifikanten Unterschiede zwischen 39 urämischen und 63 nicht-urämischen Wunden.

Im vorliegenden Tierexperiment zeigten sich einige mikroskopische Unterschiede. Bei den physikalischen und chemischen Befunden ließen sich statistische Signifikanzen ermitteln. Solche Unterschiede fanden sich am 5. postoperativen Tage bei den Wunde der Colonwand. Die Frage ist nun, ob sich eine Korrelation zwischen dieser statistischen Signifikanz und Fällen kompletter abdomineller Zerreißungen bzw. Anastomosendehiszenzen in der täglichen humanmedizinischen Praxis herstellen läßt.

Wenn die Wundheilung gegenüber dem Basisphänomen einer Urämie klinisch im Vordergrund steht und das eigentlich ärztliche Problem darstellt, dann sind die relativen Werte der Zugmessung (strength retention) von größerer Aussagekraft als die absoluten. Dies zeigt sich unter vergleichbaren Bedingungen am Heilungsgrad der Wunden selbst. Der relative Meßwert der urämischen

Wunden überragt den der Kontrollen, wie in Abbildung 6 gezeigt, vorübergehend an der Haut nach  $3\frac{1}{2}$  Tagen, an der Linea alba am 5. Tage und an der Magenwand nach 6,5 Tagen. Der Grund hierfür ist unbekannt. Eine sogenannte statistische Signifikanz ließ sich in diesem Zusammenhang nicht ermitteln.

Der Mittelwert des Hydroxiprolingehaltes sogenannter urämischer Wunden lag praktisch immer unterhalb des Wertes des Kontrollgewebes; Ausnahmen zeigte lediglich das Gewebe der Haut am 1. postoperativen Tage. Nicht ausgeschlossen konnte werden eine Verfälschung der Bestimmungen durch Verunreinigung der Proben etwa durch Haare und Schorfreste, welche naturgemäß reich an Hydroxiprolin sind.

McDermott et al. (1968) zeigten durch autoradiographische Untersuchungen bei der Ratte mit akuter Niereninsuffizienz den engen Zusammenhang zwischen Proliferationshemmung der Fibroblasten und der Kapillarendothelien des Granulationsgewebes und dem Grade einer Urämie. Bei chronischer Niereninsuffizienz, dies zeigten unsere eigenen Experimente, war die Beeinträchtigung der Granulationsgewebebildung jedoch nicht deutlich nachweisbar!

Der Hydroxiprolingehalt des Gewebes der Wundbereiche, nachgewiesen an den sog. Kollagenmengen, zeigte bei der mikroskopischen Untersuchung keine Parallele zum sonst vorhandenen Bindegewebe der Nachbarschaft. Auch ergaben unsere Studien in Übereinstimmung mit Sandberg (1964) keine Relation zwischen der Zugspannung und dem Hydroxiprolinspiegel. Ein Beweis, der eine Erklärung dieser Befunde rechtfertigen könnte, wurde bisher nicht gefunden.

In der vorliegenden Arbeit wurde allein das Hydroxiprolin bestimmt. Andere Faktoren, wie z.B. Glucosetoleranz und Proteinmangel, Art und Grad einer Anämie, die zweifellos ebenfalls die Wundheilung beeinflussen können und mit der Urämie kausal in Zusammenhang stehen, wurden nicht besonders erarbeitet.

Praktisch alle urämischen Patienten, Nierentransplantatträger und Hämodialysierte, erhalten klinisch eine fein abgestimmte Behandlung mit Immunsuppressiva, Antikoagulantien und sonstigen Medikamenten, welche ebensowenig ohne Einfluß auf Vorgänge der Wundheilung bleiben können wie die eine renale Insuffizienz begleitenden Infektionen oder Intoxikationen. Es liegt also ein sehr komplexes, vielschichtiges Bezugssystem zugrunde.

Ich glaube, daß vom Standpunkt der Betrachtung der Vorgänge der Wundheilung eine chirurgische Intervention bei chronischer, latenter Urämie nicht kontraindiziert ist, würde aber, wie Hata et al. (1973) und Naymann (1966) empfehlen, ohne Antikoagulantientherapie routinemäßig prä- und postoperativ zunächst die Dialyse fortzusetzen. Um Infektionen zu begegnen, ist eine korrekte aseptische Technik und die Verwendung von hautfreundlichem Nahtmaterial dringend angezeigt.

Ich danke Prof. Dr. Dr. G. Quadbeck für die Erlaubnis zur Benutzung der Einrichtungen des Institutes für Pathochemie sowie den Herren Prof. Dr. Krempien, Dr. Geiger, Dr. Mangold, Dr. Tschahargane und Dr. Weinhardt für mannigfache Hilfe.

## Literatur

- Boyer, J.L., Scheig, R.L.: Inhibition of postheparin lypolytic activity in uremia and its relationship to hypertriglyceridemia. Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.) **134**, 603–605 (1970)  
Hata, M., Remmers, A.R., Jr., Lindley, J.D.: Surgical management of the dialysis patient. Ann. Surg. **178**, 134–137 (1973)

- McDermott, F.T., Naymann, J., DeBoer, W.G.R.M., Path, M.C.: The effect of acute renal failure upon wound healing. *Ann. Surg.* **168**, 142–146 (1968)
- Morrison, A.B.: Experimentally induced chronic renal insufficiency in the rat. *Lab. Invest.* **11**, 321–332 (1962)
- Naymann, J.: Effect of renal failure on wound healing in dogs: Response to hemodialysis following uremia induced by uranium nitrate. *Ann. Surg.* **164**, 227–235 (1966)
- Peacock, E.E., Winkle, W., Jr. van: *Surgery and biology of wound repair*, p. 427. Philadelphia and London: Saunders 1970
- Sandberg, N.: Granulation tissue hydroxyproline in the rat after inhibition of histamine formation. *Acta chir. scand.* **127**, 22–34 (1964)
- Shear, L.: Internal redistribution of tissue protein synthesis in uremia. *J. clin. Invest.* **48**, 1252–1257 (1969)
- Shindo, K., Henningsen, B., Melde, W.: Unpublished data (1976)
- Stegemann, H., Stalder, K.: Determination of Hydroxyproline. *Clin. chim. Acta* **18**, 267–273 (1967)

*Eingegangen am 31. Juli 1976*