

# 1 Einleitung

## 1.1 Leberregeneration

Es ist seit langem bekannt, daß die Leber unter ungestörten Bedingungen ein enormes Regenerationspotential besitzt. Heute weiß man, daß bis zu 80% des Leberparenchyms reseziert werden können, ohne daß dauerhafte Störungen von Stoffwechselfunktionen der Leber auftreten. Ist die Regeneration ungestört, kommt es beim Menschen innerhalb von 6 Monaten durch hypertrophische und hyperplastische Vorgänge zu einer nahezu kompletten Rekonstitution des initialen Lebergewichts [1]. Allerdings tritt auch heute noch bei einem gewissen Prozentsatz von Patienten eine temporäre oder dauerhafte postoperative Leberinsuffizienz auf, wobei häufig eine vorbestehende Lebererkrankung oder eine intra- oder postoperative Störung der Regeneration zugrunde liegt [2,3]. Die Leberinsuffizienz kann zu einer lebensbedrohlichen Komplikation werden und ist mit einer relativ hohen Mortalität assoziiert [2].

### 1.1.1 Mechanismen der Leberregeneration

Die Mechanismen der Leberregeneration sind dank intensiver Forschung in den letzten Jahren zunehmend besser charakterisiert, wenn auch nur teilweise aufgeklärt. Viele dieser Erkenntnisse wurden anhand des Modells der  $\frac{2}{3}$  Leberresektion an der Ratte gewonnen [4,5,6,7], aber auch Zellkultur-Modelle trugen wesentlich zum Wissenszuwachs bei. Dagegen sind zur humanen Leberregeneration in vivo nur relativ wenig Daten verfügbar. Die meisten resultieren dabei aus volumetrischen oder laborchemischen Verlaufsuntersuchungen nach Leberresektion [8].

Normalerweise befinden sich die Hepatozyten im Ruhezustand und nur etwa jede tausendste Leberzelle durchläuft den Zellzyklus [1]. Durch Verlust von funktioneller Lebermasse wird das Leberwachstum stimuliert. Hierbei führen vielfältige Stimuli dazu, daß die Hepatozyten aus dem Ruhezustand ( $G_0$ -Phase) in die  $G_1$ -Phase übertreten und den Zellzyklus stufenweise komplett durchlaufen [9]. Nach annäherndem Erreichen des ursprünglichen funktionellen Lebergewichts sistiert die regeneratorsche Aktivität [1].

Aus den verschiedenen experimentellen Modellen sind mehrere Mechanismen bekannt, die bereits während der ersten Minuten nach Leberresektion aktiviert werden. Die genaue Abfolge der Initiation der Leberregeneration ist bisher jedoch nur teilweise definiert. Einen möglichen Auslösemechanismus auf hämodynamischer Ebene stellt die Erhöhung des Pfortaderdruckes und die daraus resultierende Erhöhung der Scherkräfte auf mikrozirkulatorischer Ebene dar [7,10]. Dies führt zu einer Aktivierung von Endothelzellen mit Freisetzung verschiedener Mediatoren wie Endothelin und Tumornekrosefaktor alpha ( $TNF\alpha$ ) [11,12] sowie zu einer erhöhten Expression von Adhäsionsmolekülen wie z.B. ICAM-1 (intercellular adhesion molecule 1) mit nachfolgender Adhäsion von Leukozyten [13]. Ein weiterer sehr früher Mechanismus, der bereits in den ersten Minuten nach Leberresektion beobachtet wird, ist die Aktivierung von uPA (Urokinase Plasminogen Aktivator), welches unter anderem auch einen Abbau der extrazellulären Matrix bewirkt. In der extrazellulären Matrix sind erhebliche Mengen an Wachstumsfaktoren gebunden (insbesondere HGF), die dadurch freigesetzt werden. Zusätzlich

deuten neuere Erkenntnisse darauf hin, daß aus adhärenenten Thrombozyten freigesetztes Serotonin eine Rolle spielen könnte [14].

Insgesamt handelt es sich bei der Initiation der Leberregeneration um eine modifizierte akute Phase Reaktion, bei der Nicht-Parenchymzellen - vor allem Kupffer-Zellen und Hepatic Stellate Cells (HSC) - eine zentrale Rolle spielen (Abb. 2). Diese werden durch parakrine Sekretion von Zytokinen aus aktivierten Endothelzellen und rekrutierten Leukozyten stimuliert und sezernieren unter anderem Interleukin-6 (IL-6), einen der entscheidenden Faktoren der Leberregeneration [6]. Interleukin-6 bewirkt neben einer Aktivierung von Transkriptionsfaktoren auch das sogenannte „Priming“ der Hepatozyten, das einen Effekt der freigesetzten Mitogene, v.a. HGF [15], EGF (epidermal growth factor) [16] und  $TGF\alpha$  (transforming growth factor alpha) [17] überhaupt erst ermöglicht (Abb. 2). HGF stammt hauptsächlich aus der Degradation der extrazellulären Matrix, wird aber auch in HSC selbst produziert. Die EGF-Freisetzung findet in den Brunner Drüsen des Duodenums sowie in den Speicheldrüsen statt, die  $TGF\alpha$  Produktion erfolgt dagegen autokrin aus aktivierten Hepatozyten. Durch die Wachstumsfaktoren wird die Zellzyklus-Progression der Hepatozyten eingeleitet (Abb. 2). Verschiedene Transkriptionsfaktoren wie STAT3 (signal transducer and activator of transcription 3) und  $NF\kappa B$  (nuclear factor kappa B) werden aktiviert und führen zur Replikation von sogenannten immediate early Genen in den Hepatozyten (c-fos, JunB, Cyclin D1, IGFBP-1) und schließlich zur DNA-Replikation und Zellproliferation [11,12]. Typischerweise beginnt die Zellproliferation periportal, möglicherweise bedingt durch einen höheren portalen Druck und eine höhere Konzentration von Wachstumsfaktoren. Die Zeitspanne zwischen Leberresektion und Initialisierung der DNA-Synthese beträgt im Rattenmodell normalerweise 10 bis 12 Stunden [18]. Gleichzeitig wird die Apoptose der Hepatozyten durch  $NF\kappa B$  und Aktivierung anderer anti-apoptotischer Proteine (z.B. Bc-2, FLIP) gehemmt. Dies antagonisiert u.a. die Erhöhung der Apoptoserate, die sonst durch den deutlichen  $TNF\alpha$ -Anstieg und die Freisetzung von reaktiven Sauerstoffradikalen während der Initialisierungsphase bewirkt würde.

### 1.1.2 Zellzyklus der Hepatozyten

Auch bei der Leberregeneration stellt der Zellzyklus zunächst der Hepatozyten und später der Nicht-Parenchymzellen den zentralen Punkt dar, auf dessen Ebene sich die meisten Störungen der Leberregeneration manifestieren. Während des Regenerationsprozesses nach 70% Leberresektion durchläuft jeder Hepatozyt den Zellzyklus rechnerisch ca. 1,6 mal. Der normale Zellzyklus von Säugetieren besteht aus mehreren aufeinanderfolgenden Phasen:  $G_1$ -Phase (G=Gap), S-Phase (S=Synthese),  $G_2$ -Phase, und M-Phase (M=Mitose) (Abb. 1). Ruhende Zellen befinden sich in der  $G_0$ -Phase, deren Übertritt in die  $G_1$ -Phase durch Stimulation mit Mitogenen ausgelöst wird (leberspezifische Mechanismen/Mitogene s.o.). Während der  $G_1$ -Phase findet eine Synthese zelleigener Proteine zur Vorbereitung der DNA-Synthese statt, jedoch keine DNA-Neusynthese. Die DNA-Replikation selbst erfolgt dann in der S-Phase. Daran schließt sich eine prämitotische Ruhephase ohne weitere DNA-Synthese an, die  $G_2$ -Phase. Diese dient zur Vorbereitung der anschließenden Zellteilung (M-Phase). Ein Zellzyklus dauert bei Säugtierzellen etwa 22 bis 24 Stunden. Da nicht alle Zellen synchron den Zellzyklus durchlaufen, stellen sich bei der

Zellzyklusanalyse unterschiedlichen Proliferationsphasen dar. Die meisten Zellen befinden sich in der G<sub>1</sub>-Phase, da diese zeitlich am längsten dauert, gefolgt von der etwas kürzeren S-Phase. Relativ weniger Zellen befinden sich in der wesentlich kürzeren G<sub>2</sub>-Phase und nur einige vereinzelte Zellen in der kürzesten Phase, der Mitose-Phase.

Der Übergang zwischen den einzelnen Phasen des Zellzyklus wird durch Cycline und die Passage sogenannter Restriktionspunkte geregelt. Dabei regulieren verschiedene Cykline die Zellzyklusphasen [Übersicht in 19,20,21] (Abb. 1). Die Cykline entfalten ihre Wirkung über die Assoziation mit Cyclin-abhängigen Kinasen (CDK). Cyclin D1 ist das geschwindigkeitslimitierende Cyclin bei der Progression der frühen G<sub>1</sub>-Phase. Es kommt in allen Zellarten mit Ausnahme von lymphozytären und myeloiden Zellen ubiquitär vor. In der späten G<sub>1</sub>-Phase kommt es zum Austritt von Cyclin D1 aus dem Zellkern in das Zytoplasma. Dieser Austritt von Cyclin D1 aus dem Zellkern ist auch Voraussetzung für den späteren Übergang in die S-Phase. Zusätzlich ist Cyclin D1 auch einer der essentiellen Faktoren für die Expression von Cyclin E und Cyclin A.

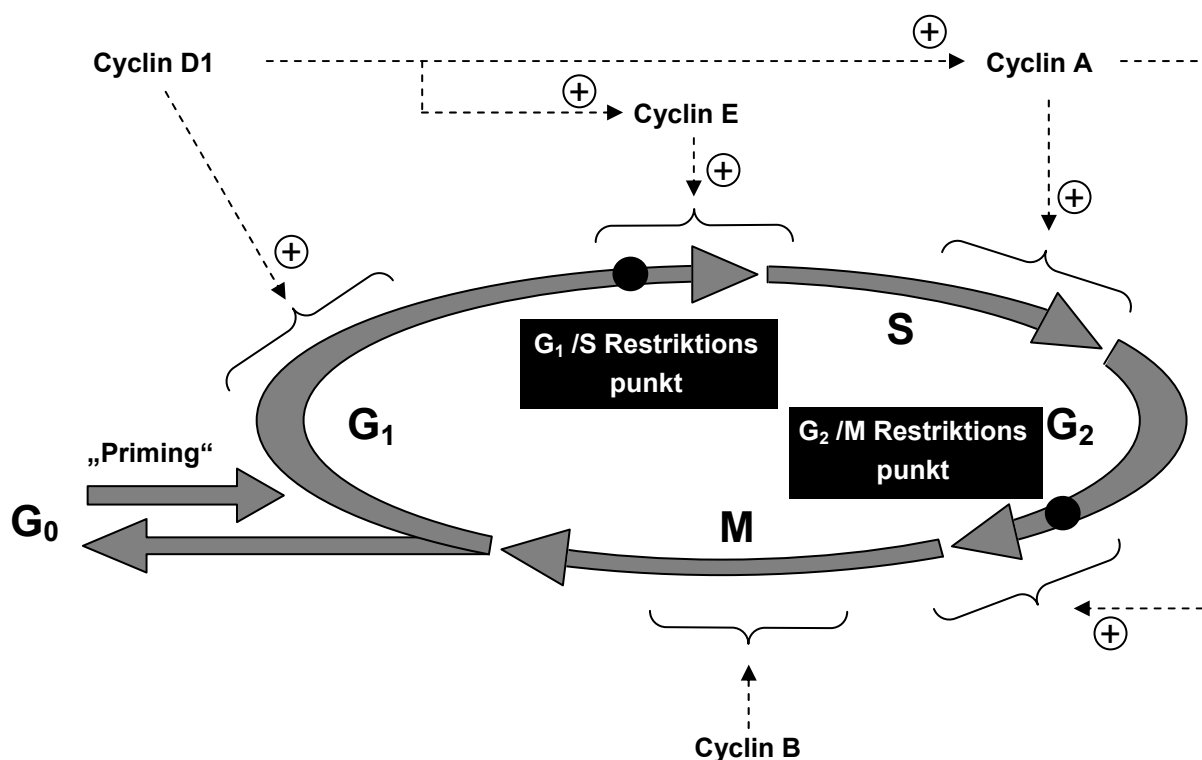


Abb. 1: Schematische Darstellung des Zellzyklus von Hepatozyten mit den verschiedenen Phasen: G<sub>1</sub>-Phase (2n DNA, Protein-, aber keine DNA-Synthese), S-Phase (2-4n DNA, DNA Synthese), G<sub>2</sub>-Phase (4n DNA), M-Phase (Zellteilung). Die Pfeillänge repräsentiert nicht die Dauer der einzelnen Phasen (siehe Text).

Cyclin E wird in der G<sub>1</sub>-Phase später als Cyclin D1 exprimiert. Neben teilweise mit Cyclin D1 überlappender Funktion ist Cyclin E vor allem auch für den Übertritt in die S-Phase notwendig. Der Restriktionspunkt hierfür befindet sich in der späten G<sub>1</sub>-Phase. Nach Durchlaufen dieses Restriktionspunktes findet unwiderruflich eine Duplikation der gesamten nukleären DNA statt. Durch Heterodimerisation mit den entsprechenden Cyclin-abhängigen Kinasen aktivieren die beiden Cyclin/CDK-Komplexe das Retinoblastom Tumor Suppressor Protein durch sukzessive Phosphorylierung. Dadurch kommt es zu einer Freisetzung von Transkriptionsfaktoren (z.B. E2F) und zur Zellzyklus-Progression in die S-Phase.

In der S-Phase spielt vor allem Cyclin A eine wichtige Rolle, da es für die DNA-Replikation essentiell ist. Ein zweiter Restriktionspunkt findet sich dann in der späten G<sub>2</sub>-Phase. Dieser regelt den Übertritt in die M-Phase, die nach Durchschreiten des G<sub>2</sub>-Restriktionspunktes nicht mehr aufzuhalten ist. Die Passage dieses Restriktionspunktes wird ebenfalls durch Cyclin A vermittelt. Während der Mitose ist vor allem Cyclin B wichtig, da es für den Eintritt in die Mitose benötigt wird, wohingegen seine Degradation wiederum Voraussetzung für die Progression nach der Anaphase ist.

### 1.1.3 Beendigung der Leberregeneration

Die Mechanismen, die zur Beendigung der Leberregeneration beitragen, sind weniger gut untersucht als die Signale der Initiation. Bisher wurden verschiedene Signale identifiziert, die möglicherweise bei der Regulierung der exakten Lebergröße bzw. der Limitierung der Regeneration - unter anderem auch in Abhängigkeit vom Bedarf des Gesamtorganismus - beteiligt sind. So hat zum Beispiel die Deletion von p27, einem Cyclinkinase-Inhibitor, eine Erhöhung des relativen Lebergewichts zur Folge und in Analogie dazu die Deletion von Cyclin D1 eine vermindertes relatives Lebergewicht [22].

Weitere Faktoren, die bei der Limitierung der Regeneration wichtig sein könnten, stellen Supressoren der Zytokinwirkung (SOCS = suppressor of cytokine signalling) dar. So wird durch IL-6 unter anderem auch die Bildung und Freisetzung von SOCS3 hochreguliert. Diese Hochregulation kann im Sinne eines negativen Feedbacks wiederum das IL-6 Signal terminieren [23]. Gleichzeitig werden durch SOCS3 auch andere Zytokinwirkungen blockiert und somit möglicherweise auch die Leberregeneration.

Der am besten untersuchte antiproliferative Faktor ist TGF- $\beta$ , welches vornehmlich in HSC produziert wird. TGF- $\beta$  hemmt *in vitro* die Hepatozytenproliferation [24], dagegen weisen Hepatozyten *in vivo* während der Frühphase der Leberregeneration eine TGF- $\beta$  Resistenz auf und proliferieren trotz erhöhter TGF- $\beta$  Konzentrationen [25]. Zusätzlich aktiviert TGF- $\beta$  auch Smad-Proteine, die beim Übertritt in die Nicht-Proliferationsphase eine Rolle zu spielen scheinen. Insgesamt ist die Rolle von TGF- $\beta$  bei der Beendigung der Leberregeneration jedoch bisher nicht vollständig geklärt, ebenso wie die exakten Mechanismen, die zum Wachstumsstillstand beitragen.

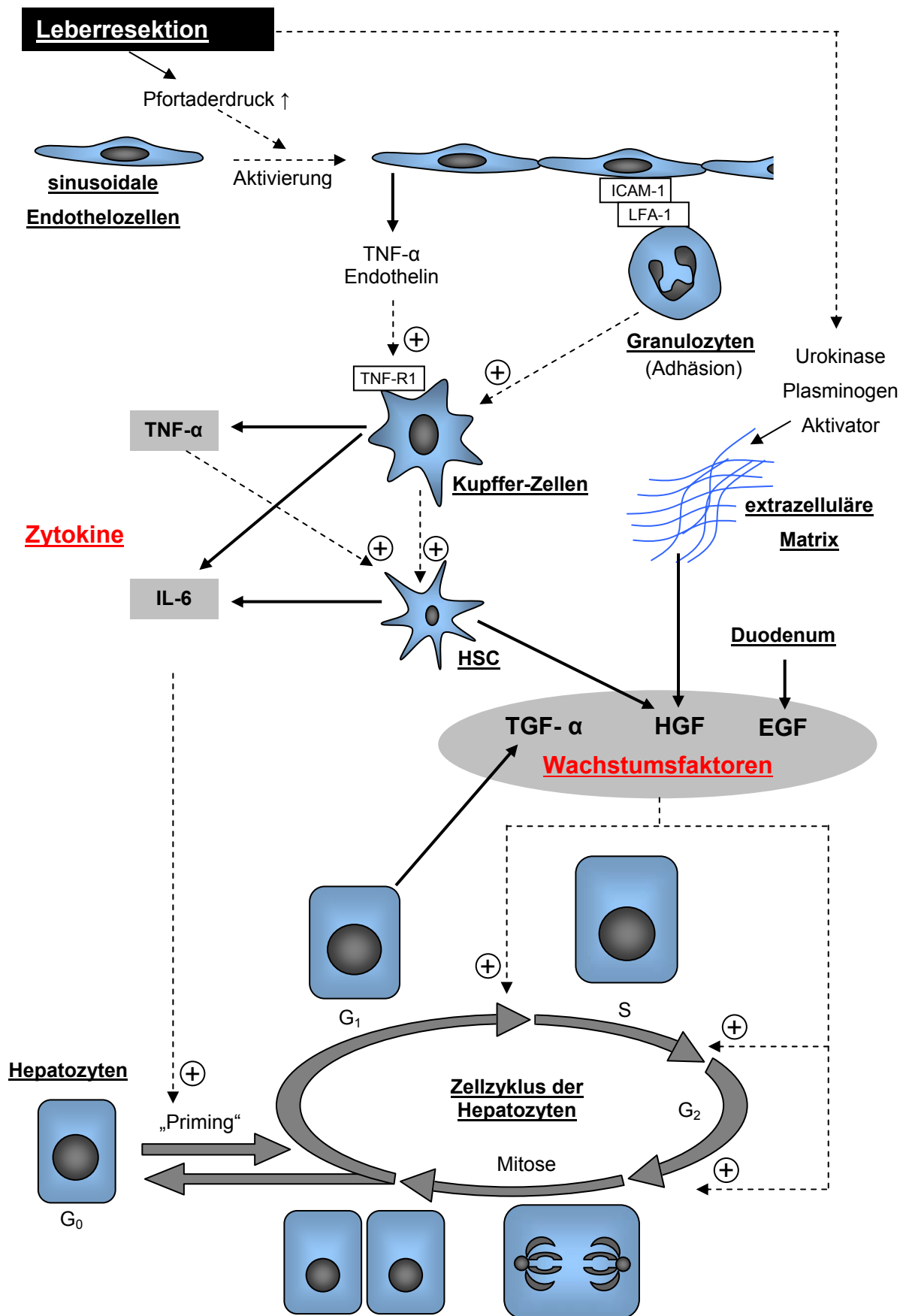


Abb. 2: Vereinfachte schematische Darstellung der Leberregeneration nach 70 prozentiger Leberresektion im Rattenmodell (-----> Aktivierung; —> Freisetzung).

## 1.2 Störungen der Leberregeneration

In der klinischen Situation stellen bakterielle Infektionen eine häufige und prognostisch bedeutsame Komplikation nach großen viszeralchirurgischen Eingriffen dar. So tritt bei etwa 30% der Patienten nach größeren Leberresektionen eine bakterielle Infektion und bei 10% eine abdominelle Sepsis auf, meist verursacht durch enterogene Bakterien [26,27]. Bei Auftreten einer Septikämie/ Bakteriämie steigt das Risiko eines Leberversagens auf bis über 50% und die Mortalität auf über 40% [27]. Obwohl aufgrund dieser und mehrerer weiterer Einzelbeobachtungen ein enger Zusammenhang zwischen postoperativen Infektionen und einer Leberregeneration nach Resektion vermutet wird, gibt es hierzu bisher keine systematischen klinischen oder experimentellen Untersuchungen. Dagegen existieren viele Studien zur Störung der Leberfunktion durch bakterielle Infektionen.

Die wichtigsten endogenen Inhibitoren der Leberregeneration sind TGF- $\beta$  (transforming growth factor beta) [12] und IL-1 $\beta$  (Interleukin-1 $\beta$ ) [28]. Beide werden bei entzündlichen Reaktionen vermehrt freigesetzt. Auch exogene Faktoren können den Regenerationsprozeß negativ beeinflussen. Hierzu gehören u.a. bakterielle Infektionen bzw. Bakterienprodukte, insbesondere Lipopolysaccharide (LPS) [29,30]. Allerdings wird der Einfluß von LPS auf die Leberregeneration kontrovers diskutiert, da in einigen Untersuchungen durch LPS-Vorbehandlung auch eine Verstärkung der Leberregeneration, u.a. über Verstärkung des HGF Effektes bzw. vermehrte HGF Expression, gefunden wurde [31,32].

Auch ohne Leberresektion führt das experimentelle Sepsismodell der Coekalligator und Panktion bei Ratten zu einer hepatozellulären Dysfunktion [33] und zu verminderter Regenerationsfähigkeit [34]. In den ersten 48 Stunden nach Leberresektion kommt es im Rattenmodell zu einer moderaten Translokation von Darmbakterien in mesenteriale Lymphknoten, Leber, Milz und Blut [27], jedoch nicht zu einer apparenten Infektion. Experimentelle Studien konnten einen Zusammenhang zwischen Darmmanipulation und Leberregeneration nachweisen. So führt eine simultane Darmresektion zu einer verminderten Regeneration nach 70% Leberresektion verglichen mit alleiniger Leberresektion [35]. Außerdem treten beim Simultaneingriff vermehrt Anastomoseninsuffizienzen und höhere portale und systemische Endotoxinwerte auf [36]. Insbesondere nach Erschöpfung der Phagozytosekapazität der Kupffer-Zellen kann LPS auch einen direkten toxischen Effekt auf die Hepatozyten haben. Dafür spricht, daß Applikation von Endotoxin neutralisierendem bakterizidem Protein zu einer verbesserten Leberdurchblutung und zu einer Steigerung der Leberregeneration und -proliferation führt [37]. Eine weitere Störung der Leberregeneration wird möglicherweise durch vermehrte Ausschüttung der pro-inflammatorischen Zytokine TNF $\alpha$  und IL-6 [33] und verminderte Expression von Transkriptionsfaktoren, z.B. NF- $\kappa$ B [34] verursacht. Zusätzlich könnte IL-1 $\beta$  eine wichtige Rolle spielen, da es bei septischen Zuständen meist stark erhöht ist und eine signifikante Inhibition der Hepatozytenproliferation bewirkt [38].

### 1.3 Bakterielle Infektionen, Sepsis, SIRS

Trotz großer Fortschritte in der Intensivmedizin, der Antibiotikatherapie und der chirurgischen Technik stellen bakterielle Infektionen ein signifikantes klinisches Problem dar. Vor allem auf Intensivstationen ist die Inzidenz nosokomialer bakterieller Infektionen mit 15-45% relativ hoch und steigt bei einem Intensivaufenthalt von mehr als fünf Tagen sogar auf bis zu 80% an [39,40,41]. Bakterielle Infektionen haben eine erhöhte Morbidität und Mortalität zur Folge, und der septische Schock mit Multiorganversagen ist auch heute noch die Haupttodesursache auf operativen Intensivstationen [42]. Als prädisponierende Faktoren für bakterielle Infektionen gelten ein eingeschränkter allgemeiner Gesundheitszustand, ein hohes Lebensalter, Begleiterkrankungen wie Malignome, kardiovaskuläre Erkrankungen, Diabetes mellitus, Leber- und Nierenerkrankungen und postoperative Komplikationen von Operationen [43,44]. Die häufigste Infektion [43] auf der Intensivstation ist die Pneumonie, gefolgt von Harnwegsinfektionen und Sepsis (Tab. 1). Besonders gefährdet sind Patienten nach großen viszeralchirurgischen Eingriffen, da sie meist mehrere Risikofaktoren aufweisen und zusätzlich dem operativen Stress ausgesetzt sind. So treten im chirurgischen Patientengut insgesamt bei etwa 30% der Patienten postoperativ Infektionen auf [45] und ca. 10% der Patienten entwickeln nach großen abdominalchirurgischen Eingriffen eine abdominelle Sepsis. Entsprechend wurde in einer neuen amerikanischen Studie nach ausgedehnten Leberresektionen bei jedem dritten Patienten eine bakterielle Infektion beobachtet [46].

Tab. 1: Definition von Sepsis und SIRS nach den Kriterien der Society of Critical Care Medicine und des American College of Chest Physicians [47]:

<b>SIRS</b>	zwei oder mehr der folgenden klinischen Kriterien müssen nachweisbar sein:
	- Körpertemperatur > 38°C oder < 36°C
	- Herzfrequenz > 90/min
	- Atemfrequenz > 20/min oder Pa CO <sub>2</sub> < 32 mmHg
	- Leukozyten > 12000/μl oder < 4000/μl, oder > 10% Linksverschiebung
<b>Sepsis</b>	gleiche Kriterien wie SIRS, aber als Reaktion auf eine bakterielle Infektion

Die bakterielle Peritonitis nach abdominalchirurgischen Eingriffen ist eine Komplikation, die oft schwer zu therapieren ist. Häufig kommt es in ihrer Folge zu einer systemischen Infektion bzw. Inflammationsreaktion mit septischem Schock und Multiorganversagen. Insgesamt ist die abdominelle Sepsis mit einer Letalität von 20 bis 30% behaftet [48]. Hauptursache dieser schweren Komplikation ist in über der Hälfte der Fälle eine Anastomoseninsuffizienz [48]. Dabei kommt es durch Austritt von Intestinalsekret zu einer diffusen Infektion der Bauchhöhle (Peritonitis). Im Gegensatz hierzu münden

Abszesse oder Fistelungen, welche lokal kontrollierte Infektionen darstellen, nur selten in einer fulminanten abdominalen Sepsis, sehr wohl aber in mildereren septischen Verläufen [48,49].

Nach viszeralchirurgischen Eingriffen werden zumeist enterogene Bakterien isoliert, am häufigsten *Escherichia coli* und Enterokokken [50]. In einer Analyse von subphrenischen Abszessen wurden in 13% Aerobier, in 21% Anaerobier und in 65% eine Mischflora nachgewiesen, wobei vorwiegend *Escherichia coli*, Enterokokken, *Staphylococcus aureus* und *Bacteroides fragilis* isoliert wurden [51]. Abstriche bei postoperativer Peritonitis von 355 Patienten ergaben zu 51% *Escherichia coli*, zu 30% Enterokokken und zu 25% *Bacteroides fragilis* [45]. Insgesamt erfordern Sepsis und Sepsis assoziierte Organdysfunktion oft einen langen Intensivaufenthalt und eine sehr aufwendige medizinische Versorgung, wodurch ein großer Teil der intensivmedizinischen Ressourcen verbraucht wird [52].

Pathophysiologisch handelt es sich bei der Sepsis grundsätzlich um eine Reaktion des Immunsystems auf Antigene von Mikroorganismen. Nach Eindringen von Pathogenen in den Organismus, reagiert der Körper initial unspezifisch mit einer Entzündung in dem betroffenen Gebiet. Im Rahmen des entzündlichen Prozesses kommt es zu Vasodilatation, erhöhter Gefäßpermeabilität, Zellaktivierung und Aktivierung der Gerinnung [53]. Durch überschießende Mediatorfreisetzung können fatale Folgen für den Organismus selbst entstehen [54,55]. Eine Sequenz von systemischer Inflammation mit überschießender Zytokinantwort kann dann zum Multiorganversagen und Tod führen [56].

Im Falle der Peritonitis erfolgt nach Kontamination der Peritonealhöhle eine Disseminierung der Bakterien, wodurch der Entzündungsprozeß aktiviert wird. Danach beginnt eine komplexe Reaktion, die idealerweise in einer kompletten Abtötung der eindringenden Bakterien endet. Dabei basiert die Fähigkeit des Organismus, sich zu verteidigen auf drei Elementen: mechanische Barrieren, unspezifische Abwehr und antigenspezifische Immunantwort [57]. Zum einen kommt es zu einer mechanischen Entfernung von Bakterien über lymphatische Wege der mesenterialen Lymphknoten und des Zwerchfells. Zusätzlich werden freie oder adhärente Bakterien durch phagozytierende Zellen aufgenommen und zerstört. Gelingt eine direkte Elimination nicht, kommt es zu einer Sequestrierung und Abschottung von Bakterien, welche dann verzögert durch Phagozyten entsorgt werden [58].

Die lokalisierte Infektion induziert dabei eine generalisierte septische Antwort, wobei die folgenden Abläufe die Sepsis triggern [59]. Den ersten Schritt zu einer systemischen, septischen Antwort stellt die Aktivierung von Toll-like receptors (TLR) des angeborenen Immunsystems dar. Diese Rezeptoren erkennen eine Reihe von bakteriellen Antigenen, die nicht im Wirtsorganismus exprimiert werden. Dazu gehören viele Antigene von grampositiven und gramnegativen Bakterien wie LPS, bakterielle DNA, Peptidoglykan, Lipoteichinsäure und Flagellin. Das zuerst entdeckte und bekannteste Mitglied dieser Rezeptorfamilie ist der TLR4, der unter anderem an LPS bindet. LPS selbst wird dabei im Blut durch das LPS-bindende Protein (LBP), ein hepatisches akute Phase Protein, abgefangen. Vermittelt durch den TLR-4 und eine komplexe intrazelluläre Kaskade kommt es dann zur Aktivierung und nukleären Translokation von NFκB und somit zur Induktion von NFκB abhängigen Effektorgenen wie pro-inflammatorischen Zytokinen (TNF-α, IL-1-β, IL-6). TNF-α ist das klassische pro-inflammatorische



Zytokin, das auf einen bakteriellen Reiz hin hauptsächlich von Monozyten und Makrophagen freigesetzt wird. Es löst Fieber aus, rekrutiert immunkompetente Zellen und verstärkt die Immunantwort. IL-1 $\beta$  ist ebenfalls ein primär freigesetztes Zytokin, das die Entzündungsreaktion in synergistischer Wirkung mit TNF- $\alpha$  verstärkt [60].

Bei der Initiierung der Immunantwort spielen vor allem die Zellen des Monozyten / Makrophagen Systems eine entscheidende Rolle (Abb. 3). Durch Freisetzung der oben genannten Mediatoren aktivieren sie wiederum eine Reihe anderer Zellarten, insbesondere auch Endothelzellen, die bei der Progression der Entzündungsreaktion eine wichtige Rolle spielen. In den verschiedenen Zelltypen werden neben Zytokinen auch andere Entzündungsmediatoren induziert, wie zum Beispiel Stickstoffmonoxid (NO), Adhäsionsmoleküle, Prostaglandine, Leukotriene und Thromboxan. Diese sekundären Entzündungsmediatoren regulieren nicht nur die zelluläre Immunantwort, sondern auch die Endothelfunktion, verschiedene Komponenten des Komplementsystems, des Bradykininsystems und des Gerinnungssystems. Durch die Chemokine angelockt, gelangen weitere Leukozyten in das betroffene Gebiet, die ihrerseits wiederum vermehrt Zyto- und Chemokine freisetzen. Durch den lokal erhöhten Stoffwechsel steigt gleichzeitig der Sauerstoffverbrauch der Zellen an, und der PH-Wert sinkt- daraus resultiert ein bakterizides Mikromilieu. Bei einer hohen bakteriellen Belastung setzt eine systemische Entzündungsreaktion ein, und viele der genannten Faktoren können neben einer effektiven Bekämpfung von eindringenden Mikroorganismen auch zu systemischen Nebenwirkungen bis hin zur Organdysfunktion während der Sepsis führen [61].

So sinkt durch eine generalisierte Vasodilatation der periphere Gefäßwiderstand ab und es kommt zu einer systemischen Hypotension. Gleichzeitig ist die Permeabilität der Gefäßwände stark erhöht und es kommt zu einem massiven Volumenverlust ins Interstitium. Eine wichtige Rolle bei der Sepsis spielt auch das Gerinnungssystem. Eigentlich soll die Aktivierung des Gerinnungssystems nach chirurgischem Trauma eine Blutstillung einleiten und die Folgen des Traumas begrenzen, aber sie soll auch die bakterielle Invasion verhindern und den septischen Fokus vom Restorganismus isolieren (Abszessbildung) [62]. Aus der Aktivierung von Endothelzellen resultiert ein prokoagulatorisches Milieu, unter anderem durch Freisetzung von Gewebefaktor. Auf der anderen Seite führt die Gerinnungsaktivierung wiederum zu einer Aktivierung inflammatorischer Kaskaden und somit auch von Endothelzellen bis hin zum mikrozirkulatorischen Versagen [63]. Dies wird begünstigt durch den gleichzeitigen Mangel an physiologischen Inhibitoren der Gerinnung (AT III, Protein C, Gewebefaktorinhibitor). Somit kann es während der Sepsis im Extremfall zur disseminierten intravaskulären Gerinnung mit vaskulärer Thrombosierung der Endstrombahn durch Fibrinthromben kommen [64].

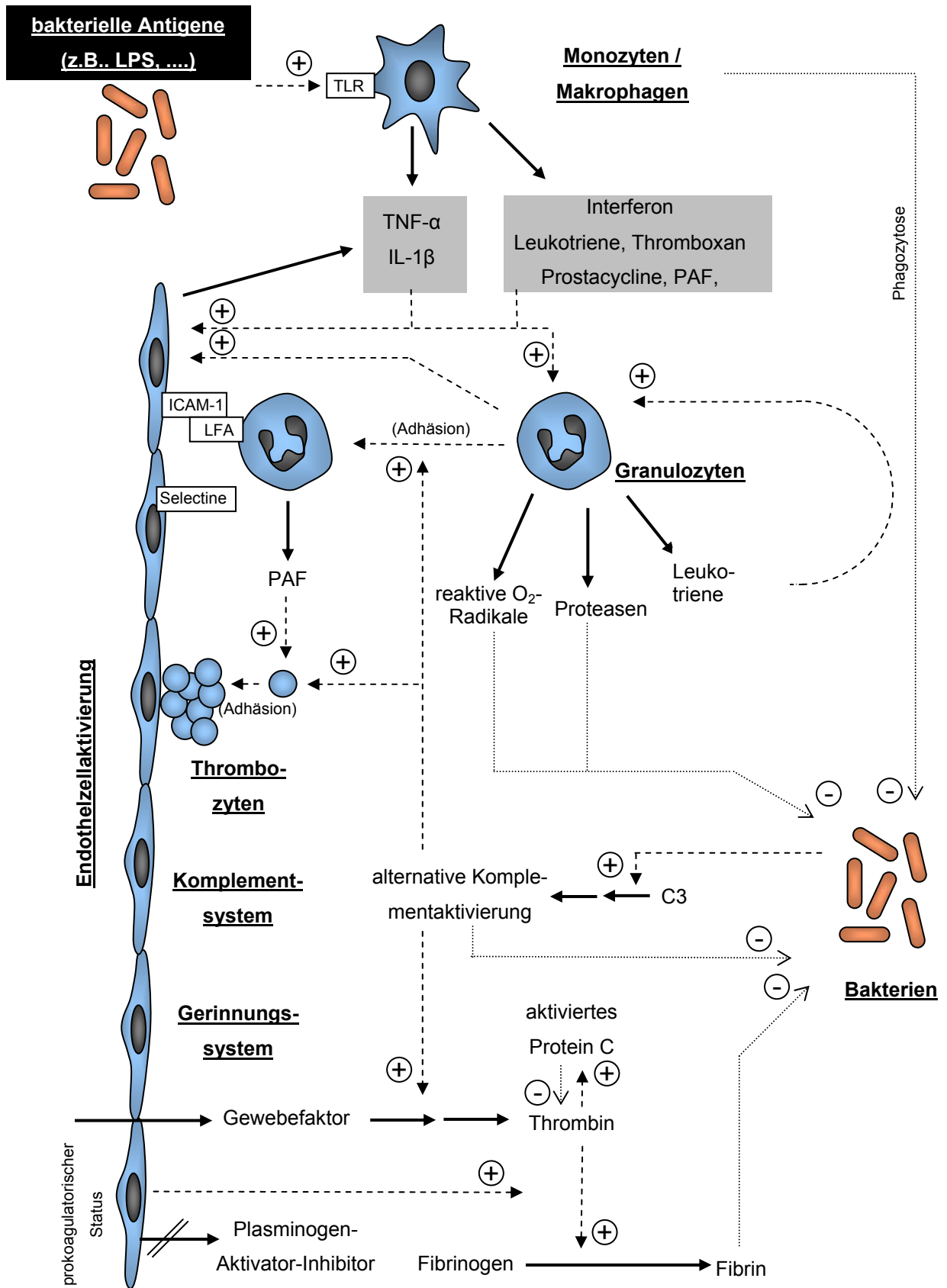


Abb. 3: Vereinfachte schematische Darstellung der initierenden Mechanismen bei bakteriellen Infektionen bzw. Sepsis (- - - - -> Aktivierung; —> Freisetzung; ..... > Inhibition, TLR: Toll like Receptor).

### 1.3.1 Bedeutung der Leber bei systemischen Entzündungsreaktionen

Die Leber spielt eine zentrale Rolle bei der Bekämpfung von systemischen bakteriellen Infekten. Neben der Synthese von Akute Phase Proteinen (s.u.) werden auch die meisten Mikroorganismen, die die Blutbahn erreicht haben, in der Leber eliminiert. Dabei spielen Kupffer-Zellen, die 80 bis 90% aller gewebeständigen Makrophagen im Körper darstellen [65], wie auch bei der Leberregeneration (s.o.), eine zentrale Rolle. Es erfolgt allerdings meist keine direkte Phagozytose der Bakterien durch Kupffer-Zellen. Die Elimination von Bakterien erfordert vielmehr komplexe Interaktionen zwischen Kupffer-Zellen und neutrophilen Granulozyten, die als Antwort auf Infektionen rasch ins Lebergewebe einwandern [66]. Neutrophile Granulozyten stellen die erste Verteidigungslinie gegen die meisten pathogenen Mikroorganismen dar. Durch Phagozytose, Produktion von toxischen Metaboliten und Freisetzung von proteolytischen Enzymen tragen sie zu deren Elimination bei [67]. Diese Mechanismen können jedoch neben der Bakterienbekämpfung auch zu einem erheblichen Gewebeschaden führen [67,68]. So scheint die überschießende Aktivierung von Granulozyten zur Organdysfunktion während der Sepsis beizutragen.

Die wichtige Funktion der Kupffer-Zellen beruht nicht auf ihrer Phagozytoseaktivität, sondern auf ihrer Fähigkeit, pro-inflammatorische Antworten und die Aktivität von anderen Zellen des Immunsystems zu regulieren. Kupffer Zellen, die vor allem periportal lokalisiert sind, stellen bei abdominalen Infektionen die erste Makrophagenpopulation dar, die in Kontakt mit Bakterien, Endotoxinen und anderen Substanzen aus dem Gastrointestinaltrakt im portalvenösen Blut kommt [69]. Dabei ist eine gewisse Endotoxinkonzentration im portalvenösen Blut mit einer Spannweite zwischen 10 bis 1000 pg/ml durchaus normal [70]. Kupffer Zellen sind also kontinuierlich pro-inflammatorischen Faktoren ausgesetzt.

Zusätzlich zur lokalen Bekämpfung von Mikroorganismen spielt die Leber auch eine zentrale Rolle bei der systemischen Entzündungsantwort. Der Organismus reagiert auf Störungen der Homöostase wie Gewebeschaden oder Infektion mit einer koordinierten Abfolge systemischer und metabolischer Veränderungen, der sogenannten akute Phase Reaktion. Diese hat zum Ziel, die Homöostase wiederherzustellen. Systemische Charakteristika der akute Phase Reaktion sind unter anderem Fieber, Leukozytose, erhöhte Glukoneogenese, Veränderungen des Lipidstoffwechsels, erhöhter muskulärer Protein-Katabolismus, Transfer von Aminosäuren in die Leber und vor allem Induktion von akute Phase Proteinen in der Leber [71]. Vermittelt durch Zytokine führt eine systemische Inflammationsreaktion in den Parenchymzellen der Leber zur Bildung von akute Phase Proteinen, wobei die Antwort während entzündlicher Zustände viele Überschneidungen mit der akute Phase Reaktion nach Leberresektion aufweist. Insgesamt kommt es im Rahmen dieser Reaktion zu einer Umorientierung der Proteinsynthese der Hepatozyten. Dabei wird die Produktion von Fibrinogen und anderen Gerinnungsfaktoren,  $\beta$ 2-Makroglobulin, Haptoglobin, Haemopexin und anderen Proteinen, die für Transportsysteme, das Gerinnungssystem und die Gewebereparatur wichtig sind, gesteigert und gleichzeitig die Synthese von Albumin, Proteinen des p450 Systems und anderen Proteinen gehemmt. Auslöser für die Produktion von akute Phase Proteine sind pro-inflammatorische Zytokine. Aufgrund der Induzierbarkeit durch verschiedene Zytokine unterscheidet man zwei Familien von akute

Phase Proteinen. Zu den Typ I akute Phase Proteinen gehören unter anderem Serum Amyloid A, CRP, Komplement C3 und Haptoglobin. Sie werden durch Zytokine der IL-1 Familie (IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$ , TNF- $\beta$ ) induziert. Dabei erfolgt die Signaltransduktion über Membranrezeptoren und die Aktivierung und nukleäre Translokation von NF $\kappa$ B und AP-1. Zusätzlich können die Rezeptoren der IL-Familie auch MAPK (Mitogen aktivierte Proteinkinase) aktivieren und diese letztlich C/EBP $\beta$ . Viele Gene der akute Phase Proteine vom Typ I haben folglich NF $\kappa$ B, C/EBP $\beta$  oder AP-1 responsive Elemente in ihren Promotorregionen.

Die akute Phase Proteine vom Typ II beinhalten Fibrinogen,  $\alpha$ 1-Antichymotrypsin,  $\alpha$ 1-Antitrypsin,  $\alpha$ 1-Makroglobulin und viele andere Proteine und werden durch Zytokine der IL-6-Familie induziert. Dazu gehören IL-6, Leukaemia Inhibitory factor (LIF), IL-11, Oncostatin M und Cardiotrophin-1 [71]. Die Rezeptoren der IL-6-artigen Zytokine aktivieren JAK (Januskinasen). Als Resultat kommt es zu einer Phosphorylierung von STAT3 mit nachfolgender Translokation in den Zellkern und Bindung an entsprechende responsive Elemente. Zusätzlich wird auch die MAPK durch Rezeptoren der IL-6 Familie aktiviert, was die beiden Zytokinfamilien verknüpft, d.h. IL-6 Zytokine aktivieren auch akute Phase Proteine vom Typ I. Insgesamt induzieren also Zytokine der IL-6 und der IL-1 Familie synergistisch die akute Phase Proteine vom Typ I, aber IL-1 Zytokine haben keinen Effekt oder inhibieren sogar die Produktion der Typ II Proteine [72].

### **1.3.2 Bedeutung des Gastrointestinaltrakts bei septischen Zuständen**

Der Gastrointestinaltrakt spielt eine entscheidende Rolle, nicht nur als Ursache, sondern auch bei der Unterhaltung der Sepsis („Motor“ der Sepsis). Die Hypoperfusion des Splanchnikusgebietes ist eine häufige Folge septischer Kreislaufreaktionen und führt zu einer Barrierestörung des Darmepithels mit resultierender bakterieller Translokation [73]. Zusätzlich werden durch die relative Ischämie bzw. Reperfusion pro-inflammatorische Zytokine aus dem Darm in die portale Strombahn freigesetzt und verstärken so die systemische Entzündungsreaktion.

Neben der Freisetzung von Entzündungsmediatoren und vasoaktiven Substanzen (z.B. Noradrenalin) [74] aus dem Intestinaltrakt, kommt es auch bei jeglicher Form der Darmparalyse zu einer Stase mit Erhöhung der intestinalen Bakteriendichte und Überwucherung der physiologischen Darmflora [75]. Da es sich vorwiegend um gramnegative Enterobakterien handelt, findet folglich auch eine erhöhte Endotoxinfreisetzung statt, die die inflammatorische Reaktion weiter verstärkt.

### **1.3.3 Limitierung der Entzündungsreaktion**

Etwas verzögert zur pro-inflammatorischen Reaktion wird eine anti-inflammatorische Antwort ausgelöst, das sogenannte compensatory anti-inflammatory response syndrome (CARS). Hierdurch sollen die vitalen pro-inflammatorischen Reaktionen, die zur Infektbekämpfung nötig sind, limitiert werden. So konnte gezeigt werden, daß durch TNF- $\alpha$  und IL-1 $\beta$  auch die Produktion anti-inflammatorischer Zytokine, insbesondere IL-10, IL-13 und TGF- $\beta$  in Leukozyten gesteigert wird. Dadurch wird eine Limitierung bzw. Feinmodulation der inflammatorischen Prozesse erreicht. So supprimieren die anti-inflammatorischen Zytokine die Antigen- Präsentation in den Monozyten,

hemmen die weitere Bildung von TNF- $\alpha$  und IL-1 $\beta$  und induzieren die Sekretion von löslichen Zytokinrezeptoren und Rezeptor-Antagonisten in die Zirkulation und schwächen so den Effekt der pro-inflammatorischen Zytokine weiter ab. Das Gleichgewicht zwischen diesen pro- und anti-inflammatorischen Mediatoren ändert sich während septischer Reaktionen ständig und entscheidet über den weiteren Fortgang der Entzündungsreaktion. Daraus können verschiedene Zustände resultieren. Bei Überwiegen der pro-inflammatorischen Mediatoren resultiert eine überschießende Entzündungsreaktion, bei ausgeglichener Antwort kommt es zu einer adäquaten Limitierung der Entzündungsreaktion und bei überschießender anti-inflammatorischer Reaktion kann es sogar zu einer Immunparalyse kommen [76], wie sie sich klinisch häufig im Spätstadium der Sepsis findet und dann unter Umständen vital bedrohlich für den Patienten ist. Sie stellt eine häufige späte Todesursache bei erneutem interkurrenten Infekt dar.