

5 Diskussion:

In der vorliegenden Studie konnte gezeigt werden, daß bakterielle Infektionen, aber auch eine abakterielle Entzündungsreaktion, die Leberregeneration nach Leberteilresektion erheblich verzögern können. Während Veränderungen der Leberfunktion als Folge einer bakteriellen Sepsis für die nicht-resezierte Leber gut untersucht sind, gibt es bisher sowohl klinisch als auch experimentell wenige Daten zur Interaktion von bakteriellen Infektionen und Leberregeneration nach Resektion.

Aus retrospektiven Analysen gibt es jedoch Hinweise, daß schwere postoperative Infektionen die Inzidenz eines Leberversagens und die postoperative Mortalität signifikant erhöhen [26,91]. Ob allerdings auch eine Störung der Leberregeneration in dieser Situation eine Rolle spielt, läßt sich aus den klinischen Daten nicht ableiten.

5.1 Experimentelle Modelle

Viele wichtige Erkenntnisse zur Leberregeneration stammen aus Zellkultur Modellen. Während sich basale Mechanismen in diesen Modellen sehr gut simulieren lassen, können komplexe Interaktionen zwischen verschiedenen Zellarten und Organsystemen nicht abgebildet werden. Gerade die komplexen Zusammenhänge zwischen Leberfunktion, Leberregeneration und Infektabwehr bzw. Inflammationsreaktion, die bei der vorliegenden Fragestellung von Bedeutung sind, lassen sich nur in vivo suffizient untersuchen. Vor allem der in der klinischen Situation limitierende Faktor der Leberfunktion spielt in vitro nur eine untergeordnete Rolle. Eine systematische Untersuchung des Einflusses enterogener Infektionen verschiedener Schweregrade auf die Leberregeneration nach Resektion existiert bisher nicht.

5.1.1 Endotoxin (LPS) - Applikation

Die Applikation von Endotoxin (LPS) bzw. die coekale Ligatur und Punktion (CLP) stellen die beiden am häufigsten verwendeten Kleintiermodelle zur Simulation bzw. Induktion einer Sepsis dar.

Die Wand gramnegativer Bakterien enthält Lipopolysaccharid (LPS), ein Glycolipid, das als wichtiger Mediator des gramnegativen Schocks beim Menschen gilt [92]. Somit wurden zur Simulation einer Sepsis eine Vielzahl von Tierversuchen mit verschiedenen Modifikationen der LPS Applikation durchgeführt. Bei den sogenannten Bolusmodellen wird einmalig eine bestimmte Menge LPS intravenös oder intraperitoneal injiziert. Dabei können durch die Variation der Dosierung klinische Symptome einer Sepsis oder eines schweren septischen Schocks hervorgerufen werden. Hierbei werden auch einige beim Menschen typische hämodynamische Veränderungen beobachtet. Zwar ist die Art der Inflammationsreaktion nach LPS-Gabe mit der klinischen Situation vergleichbar, nicht jedoch die Gesamtkinetik des Entzündungsprozesses, da in fast allen Studien Endotoxin nur als einmaliger Bolus appliziert wird, und es deshalb lediglich zu einer transienten Freisetzung von pro-

inflammatorischen Zytokinen kommt. So bleibt beispielsweise der TNF- α Spiegel nur bis 3 h nach Endotoxin Applikation erhöht [93], dagegen nach CLP aufgrund der persistierenden Infektion langfristiger. Letzteres bewirkt eine deutlich bessere Simulation der klinischen Situation einer enterogenen Sepsis [99]. Um dieser klinischen Situation einer Sepsis mit andauernder Freisetzung von Bakterien näher zu kommen, wurden Modelle mit kontinuierlicher LPS Applikation intravenös oder über osmotische Minipumpen entwickelt. Messungen verschiedener Parameter, wie Blutdruck oder Laktat, ergaben Parallelen zum Bild der kompensierten humanen Sepsis [94]. Während die Vorteile der LPS-Applikation in der technischen Einfachheit bei der Durchführung (zumindest bei den Bolusmodellen) und der besseren Quantifizierbarkeit liegen, ist jedoch seit langem bekannt, daß gravierende pathophysiologische Unterschiede zwischen der experimentellen Endotoxinämie und der gramnegativen Sepsis beim Menschen bestehen [95]. So können insbesondere bestimmte Eigenschaften lebender Bakterien, vor allem die Fähigkeit zur lokalen Expansion unter geeigneten Bedingungen, durch die Injektion von LPS nicht imitiert werden. Somit fehlen den LPS Modellen wichtige Aspekte hinsichtlich der Übertragbarkeit gewonnener Erkenntnisse auf die humane Sepsis.

5.1.2 Modelle mit lebenden Mikroorganismen

Aus diesen Gründen werden vor allem für chirurgische Fragestellungen zu abdominellen Infektionen vorwiegend Modelle mit lebenden Mikroorganismen verwendet. Bei intraperitonealer Injektion einer Bakteriensuspension verschwinden die Mikroorganismen sofort wieder, ohne daß Phagozyten erscheinen oder eine systemische Infektion/Inflammation entsteht. Die Bakterien werden rasch über Lymphwege abtransportiert und lassen sich nach sechs Minuten im Mediastinum und nach zwölf Minuten im peripheren Blut nachweisen [96]. Dieses Modell ist für die vorliegende Fragestellung daher nicht geeignet. Eine etwas bessere Induktion einer Inflammationsreaktion kann durch Implantation eines mit Agar und einer bestimmten Menge Bakterien gefüllten Pellet in das Peritoneum erreicht werden [97]. Aus chirurgischer Sicht am besten geeignet sind jedoch Modelle, bei denen die Bauchhöhle und das Intestinum operativ manipuliert werden, da man mit der Simulation im Tiermodell der Realität möglichst nahe kommen will. Bei der CLP wird durch eine operative Ligatur des Zökums ein septischer Fokus mit endogenen Enterobakterien geschaffen. Durch ein- oder mehrmalige Punktion kommt es zu einem andauernden Austritt von Bakterien in die Bauchhöhle mit konsekutiver Peritonitis. Erstmals beschrieben wurde dieses Modell bei Hunden 1968 von Clowes et al. [98] und seither unzählige Male in verschiedenen Tierarten angewandt. Insbesondere bei Ratten und Mäusen stellt es das am häufigsten verwendete Sepsismodell dar. Zahlreiche Studien konnten zeigen, daß das Modell der CLP in vielen Charakteristika einer klinischen Peritonitis z.B. bei Darmperforation sehr nahe kommt. Somit gilt es bei vielen Arbeitsgruppen als Goldstandard für chirurgische Fragestellungen zur Sepsis oder Peritonitis [99,100]

Als Nachteil bei Fragestellungen zur diffusen Peritonitis oder zum schweren septischen Schock gilt, daß es nach CLP vorwiegend zu einer lokalisierten Peritonitis mit Abszeßbildung kommt. Daher wurde in letzter Zeit zunehmend auch das Modell der Colon ascendens Stent Peritonitis (CASP) verwendet [101], welches eine diffuse Peritonitis mit noch stärker ausgeprägter systemischer Inflammationsreaktion induziert. Für die vorliegende Fragestellung wäre das CASP- Modell jedoch

nicht geeignet gewesen, da aufgrund der starken Entzündungsreaktion eine sehr hohe und frühe Letalität zu erwarten wäre.

Während sich mehrere Studien mit dem Effekt der Endotoxin-Applikation auf die Leberregeneration beschäftigen, gibt es bisher keine Untersuchungen zur Auswirkung einer schweren enterogenen Infektion, wie sie bei der CLP auftritt, auf die Leberregeneration. Bei der Kombination einer 70 % Leberresektion mit einer CLP, wie sie im vorliegenden Modell verwendet wurde, stellte sich eine einmalige Punktion mit einer 22 G Kanüle als maximales entzündliches Trauma heraus. Bei Verwendung größerer Kanülen wurde kein ausreichendes Überleben zur Beurteilung der Leberregeneration erreicht, zumindest nicht im Tiermodell, in dem die Möglichkeiten intensivmedizinischer Maßnahmen fehlen. Bei Verwendung relativ kleiner Punktionskanülen verklebt die Punktionsstelle relativ schnell durch kulissenartiges Verschieben der Darmwand und fibrinöse Verklebung. Dies hat eine relativ leichte Peritonitis zur Folge, die sich in Histologie, Bakteriologie und Zytokinmessungen niederschlägt. Somit kommt das CLP-Modell in der hier verwendeten Modifikation eher einem lokalisierten Abszeß mit einhergehender milder Sepsis nahe [77] als einer fulminanten Sepsis. Dagegen kommt es bei mehrmaliger Punktion oder Punktion mit größeren Kanülen zu einer schweren oder sogar fulminanten Sepsis [77], die bereits als alleinige Intervention mit einer hohen Mortalität verbunden ist und im kombinierten Modell zu einer 100 % Mortalität führte. Es konnte in einer anderen Studie im Rattenmodell gezeigt werden, daß nur bei schwerer, nicht aber bei milder Sepsis die IL-6 vermittelte Aktivierung von STAT-3 nahezu blockiert wird. Dies zeigt, daß bei einer schweren Sepsis auch keine relevante Regeneration stattfindet [34]. Obwohl die Blockade der STAT-3 Aktivierung in der vorliegenden Studie nicht untersucht wurde, wäre dies eine mögliche Erklärung für die frühe und hohe Mortalität in der Gruppe, bei der eine Leberresektion und simultane CLP mit einer 16 G Kanüle durchgeführt wurde.

Ein weiteres Modell zur Induktion einer Bakteriämie im Pfortaderstromgebiet stellt die definierte Kolonstenose dar [102]. Es kommt dabei zur bakteriellen Translokation von Darmbakterien mit resultierender relativ geringer Bakteriämie, wie sie zum Beispiel im Rahmen eines postoperativen Subileus nach großen abdominalchirurgischen Operationen häufig zu finden ist [103]. Während diese relativ milde Infektion bereits in der Frühphase die Leberregeneration deutlich verzögerte, erwies sich die CLP für die vorliegende Fragestellung jedoch als geeigneter. Vor allem im Langzeitverlauf führte die Kolonstenose zu einer zunehmenden Volumenverschiebung mit beginnender Dehydratation der Tiere. Diese zusätzlichen Einflußfaktoren waren bei der vorliegenden Fragestellung nicht erwünscht. Aus diesen Gründen und auch wegen der ausgeprägteren inflammatorischen Antwort (z.B. gemessen an der IL-1 β Freisetzung) wurde die CLP als Infektionsmodell ausgewählt. Weiterhin ist die CLP, allerdings ohne simultane Leberresektion, ein häufig verwendetes Sepsis Modell, so daß ein Vergleich mit einer Vielzahl von Ergebnissen aus der Literatur möglich ist und die Interpretation der Ergebnisse erleichtert. Ein direkter Vergleich mit anderen Studien ist prinzipiell nur begrenzt möglich, da viele Parameter abhängig von Rattenstamm, Ernährung, Alter und Geschlecht sind [18]. Da in den meisten experimentellen Studien zu bakteriellen Infektionen ebenfalls Sprague Dawley Ratten mit einem

ähnlichen Alter und Körpergewicht verwendet wurden, kann hier jedoch eine ausreichende Vergleichbarkeit zugrunde gelegt werden.

5.1.3 Abakterielle Entzündungen

Auch zur abakteriellen Peritonitis existieren mehrere experimentelle Modelle. Eines der am häufigsten verwendeten ist die Injektion von Terpentin, welches eine starke abakterielle Entzündungsreaktion hervorruft. Da dieses Modell klinisch natürlich nicht relevant ist, wurde ein Modell mit einem segmentalen Galleleck etabliert, das der klinischen Situation eines postoperativen Gallelecks relativ nahe kommt. Während die Terpentin-Injektion eine Entzündungsreaktion auslöst, die vor allem über IL-1 β und IL-6 vermittelt wird [104], konnte im vorliegenden Modell des Gallelecks eine etwas andere Zytokinantwort mit überwiegender Freisetzung von TNF- α und IL-6 nachgewiesen werden.

Von einer direkten Übertragbarkeit der Ergebnisse auf die humane Situation bei postoperativem Galleleck oder postoperativer Sepsis kann natürlich nicht ausgegangen werden. So ist die Leberregeneration beim Menschen, trotz vieler Gemeinsamkeiten, ein deutlich langsamerer Prozeß als im Kleintiermodell. Während bei Ratten nach einer 70 % Leberresektion eine Woche postoperativ das Ausgangs-Lebergewicht bereits wieder erreicht ist, benötigt der gleiche Prozeß beim Menschen nach einer vergleichbaren Leberresektion mehrere Monate [105]. In Ermangelung einer ausreichenden Untersuchungsmöglichkeit in der humanen Situation, abgesehen von Zellkulturen, stammen viele wichtige Erkenntnisse über die Leberregeneration jedoch aus Kleintiermodellen, und diese stellen weiterhin den ersten Schritt bei der Untersuchung physiologischer Mechanismen und therapeutischer Interventionen dar.

5.2 Leberregeneration und Infektionen / Entzündungen

Wie bereits dargelegt, sind zwischen Infektionen und Leberregeneration nach Resektion mannigfaltige wechselseitige Interaktionen denkbar. So beeinflusst eine schlechte Leberfunktion das Auftreten von Infektionen, umgekehrt, wie in der vorliegenden Studie gezeigt, aber auch eine schwere Infektion die Geschwindigkeit der Leberregeneration. Die aufgezeigte Inhibition der Regeneration weist Ähnlichkeiten mit anderen Ursachen einer gestörten Leberregeneration auf, die im folgenden daher in die Betrachtungen miteinbezogen werden.

Viele klinische Probleme sind durch Störungen der normalen Regeneration wie z.B. durch Ischämie-Reperfusionsschaden, Steatosis Hepatis oder postoperative Infektionen bedingt. Während der Ischämie-Reperfusionsschaden in der Transplantationsmedizin noch eine wichtige Rolle spielt [106], stellt er in der modernen Leberchirurgie nur ein untergeordnetes Problem dar. Dank moderner Dissektionstechniken kommt das früher häufig angewendete „Pringle-Maneuver“ heute seltener zur Anwendung [107] und wird bei gesunden Lebern und nicht überlanger Dauer der Resektion auch gut toleriert [108]. Dagegen beeinträchtigen extra- und intraabdominelle Infektionen und postoperative

Galleleckagen den postoperativen Verlauf nach Lebertransplantation und Leberresektion nachhaltig [26,109,110,111].

So konnte gezeigt werden, daß postoperative Infektionen mit einer erhöhten Mortalität nach großen Leberresektionen assoziiert sind [109]. Takeda et al. postulierten eine Einteilung des Leberversagens nach erweiterten Leberresektionen in zwei Formen: die cholestatische Form mit alleiniger Proliferation von Hepatozyten und perisinusoidaler Fibrose und den „nicht-regenerierenden“ Typ, charakterisiert durch Apoptose von Hepatozyten [3]. Die cholestatische Form wird v.a. durch postoperative Infektionen verursacht. Insgesamt sind für die erhöhte Mortalität zwei Erklärungen denkbar. Zum einen geht die verminderte Leberfunktion nach Resektion mit einer geschwächten Infektabwehr und konsekutiver Ausbreitung von Infektionen einher [112]. Zum anderen sind aber auch umgekehrte Interaktionen denkbar, d.h. Infektionen könnten zu einer Störung der Leberregeneration und damit zu einem Circulus vitiosus führen. Bisher gibt es jedoch kaum klinische oder experimentelle Daten zu dieser Fragestellung.

5.2.1 Störungen der Regenerationskinetik

Die 70% Leberresektion stellt im Rattenmodell einen maximalen regenerativen Reiz dar. So kommt es bei ungestörter Regeneration zu einer geordneten Abfolge von Regenerationsschritten (s.u.). Diese führen über eine synchrone Progression eines großen Anteils der Leberzellen durch den Zellzyklus zur Wiederherstellung des ursprünglichen Lebervolumens innerhalb weniger Tage [11]. Dies konnte auch in der vorliegenden Studie in der Gruppe mit alleiniger Leberresektion gezeigt werden. Hier kam es zu einem raschen Durchlaufen des Zellzyklus mit einer sehr hohen, maximalen regenerativen Aktivität nach 24 h. Zu diesem Zeitpunkt befanden sich 25 % der Hepatozyten im Zellzyklus und 4 % in der Mitose. Gleichzeitig erhöhte sich das Lebergewicht innerhalb der ersten 24 h um mehr als 50%. Es ist bekannt, daß die regenerative Aktivität parallel zum Ausmaß der Resektion bis zu einem bestimmten Punkt ansteigt und darüber hinaus wieder abfällt. Im Rattenmodell wird die maximale Regeneration nach 70% Leberresektion beobachtet. Dagegen kommt es zum Beispiel nach 30 % - und 90 % Leberresektion zu einer deutlich verzögerten und geringer ausgeprägten regenerativen Antwort mit signifikant niedrigerer DNA Synthese und Mitoserate [18,113]. Die Verringerung der Regenerationsaktivität hat in beiden Fällen wahrscheinlich verschiedene Ursachen: nach 30 % Resektion fehlt der maximale Stimulus für eine synchronisierte Regeneration. So war in der vorliegenden Studie 48 h postoperativ nach Erreichen eines Lebergewichtes, das der Restleber nach 30% Resektion entspricht, ein deutlicher Rückgang der Regenerationsaktivität zu beobachten. Im Gegensatz dazu ist nach 90% Leberresektion möglicherweise die fehlende Funktionsreserve für die Verzögerung der Regeneration verantwortlich [114]. Folglich scheint es sich bei der ungestörten Leberregeneration nach 70% Resektion im Rattenmodell um einen optimierten, maximalen Regenerationsprozeß zu handeln. Dementsprechend gibt es auch keine in vivo Studien, die eine weitere Erhöhung der Regenerationsaktivität bei ungestörter Regeneration erreichen konnten und eine weitere „Verbesserung“ bei ungestörter Regeneration erscheint weder nötig noch möglich [115].

Die Gesamt Sequenz der Leberregeneration nach Resektion wird durch ein komplexes Netzwerk von Zytokinen, Wachstumsfaktoren und Zellzyklus abhängigen Kinasen reguliert (siehe 1.1 und [4,11,115]). Dabei entscheiden bei jedem Schritt Interaktionen zwischen proliferativen und antiproliferativen Signalen über den Fortgang des Prozesses, so daß die Gesamtkinetik letztlich von der relativen Aktivität bzw. der Differenz der jeweiligen konträren Signale abhängt.

Bereits wenige Stunden nach Verlust von funktionellem Lebergewebe beginnen die ersten metabolischen Veränderungen, die zu einer Hypertrophie der Hepatozyten, das heißt zu einer Vergrößerung des Hepatozytenvolumens und damit der Lebermasse führen. Hierbei kommt es zunächst zu einer Akkumulation von Aminosäuren und Triglyzeriden in den Hepatozyten, die mit einer gewissen histologischen Verfettung einhergeht [116], wie sie auch im vorliegenden Modell beobachtet wurde. Gleichzeitig findet ein Abbau von intrazellulärem Glykogen statt, sowie eine Hochregulation von Enzymen, die für die Zellproliferation benötigt werden. Im Gegenzug werden andere Enzyme, die für die Leberfunktion verantwortlich sind, wie Enzyme für die Albumin-Synthese und den Bilirubin-Metabolismus, herabreguliert.

Anschließend beginnt die Hyperplasie der Hepatozyten, d.h. eine Zunahme der Zellzahl durch Zellteilung. Nach G_0/G_1 -Transition der Hepatozyten (sogenanntes „Priming“) findet dann der Übertritt in den Zellzyklus statt. Während des Durchlaufens des Zellzyklus ist die Passage mehrerer Restriktionspunkte erforderlich. Diese liegen jeweils vor den energieaufwendigen Vorgängen der DNA-Synthese (S-Phase) bzw. Mitose. Die Passage des G_1/S Restriktionspunktes ist abhängig von Wachstumsfaktoren (v.a. HGF und EGF). Danach beginnt die DNA-Neusynthese, die bei Ratten in Übereinstimmung mit den vorliegenden Daten ab 12 -14 h nach Leberresektion beobachtet wird. Die Regulation des zweiten, sogenannten G_2/M Restriktionspunktes, ist bisher weniger gut charakterisiert als die des G_1/S -Restriktionspunktes [117]. Nach seinem Durchlaufen tritt die Zelle unwiderruflich in die Mitose über. Nach 70% Leberresektion muß jeder Hepatozyt ca. 1,7 mal die Mitose durchlaufen [4]. Wie auch in der vorliegenden Studie in der Gruppe mit alleiniger Leberresektion zu beobachten, treten etwa 24 h nach den Hepatozyten auch die Nicht-Parenchymzellen in den Zellzyklus ein. Insgesamt beginnt die Regeneration periportal und breitet sich im Verlauf perizentral aus. Als Folge der initialen isolierten Hepatozytenproliferation (Abb. 45) entstehen zunächst Hepatozyten-Cluster. Die Reorganisation der Läppchenstruktur erfolgt durch anschließendes Einwandern von Nicht-Parenchymzellen (Sternzellen, Endothelzellen). Abschließend kommt es noch zu einer Reorganisation der extrazellulären Matrix [118].

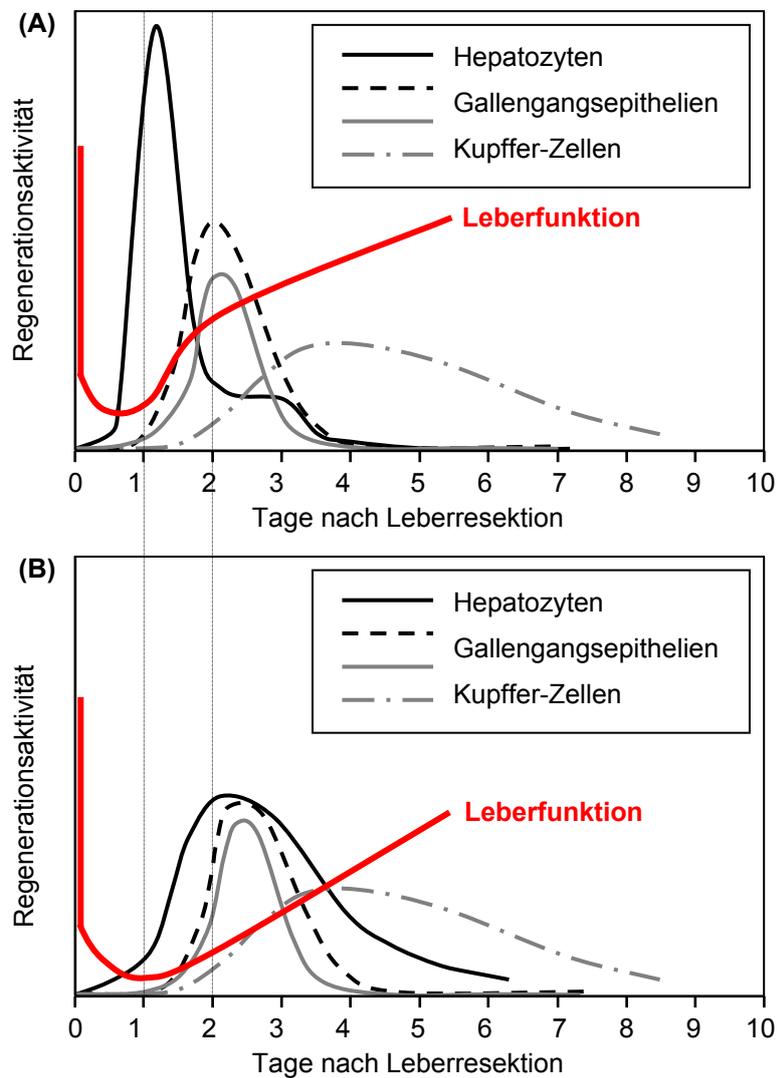


Abb. 45: **(A)** Modelle zur Kinetik der normalen Leberregeneration und Leberfunktion nach 70% Leberresektion im Rattenmodell (modifiziert nach [4]) und **(B)** entsprechende Verzögerung der Regenerationskinetik durch eine simultane Infektion (CLP) im vorliegenden Modell.

5.2.2 Kompensation von Regenerationsstörungen

Solange einzelne Schritte der Regeneration nicht komplett blockiert werden, ist diese Gesamt-Abfolge grundsätzlich auch bei Störungen der Regeneration zu beobachten. Aufgrund der vitalen Bedeutung der Leber findet sogar bei kompletter Blockade einzelner Schritte eine „Adaptation“ der Leber nach Resektion statt. Wird beispielsweise die Mitose durch hochdosiertes Dexamethason oder durch 5-Fluorouracil blockiert, kommt es im Rattenmodell ohne DNA-Synthese und Zellteilung zu einem vergleichbaren Anstieg des Lebergewichts wie bei ungestörter Regeneration. Die Gewichtszunahme wird dabei allein durch Hypertrophie der Hepatozyten bewirkt. Interessanterweise verursacht die

Aufhebung der Blockade eine Leberregeneration via Zellteilung/ Hyperplasie [119]. Insgesamt stellt die schrittweise Abfolge der Leberregeneration einen Schutzmechanismus dar. Falls Störungen auftreten, wird der Regenerationsprozess unterbrochen, verlangsamt, oder es greift ein anderer Mechanismus zur Stabilisierung der Leberfunktion. Dagegen ist eine unkontrollierte oder ungebremste Regeneration, insbesondere bei Erreichen einer kritischen Funktionsreserve der Leber, nicht sinnvoll, da sie zu einem Verbrauch von Ressourcen der Leberfunktion bzw. von Energiereserven der Leber führen würde [114]. Somit kann eine verminderte oder submaximale regeneratorsche Aktivität einen vitalen Schutzmechanismus darstellen, um die metabolische Funktion der Leber und damit die Homöostase des Gesamtorganismus aufrecht zu erhalten (Abb. 45). Daher könnte möglicherweise eine alleinige Stimulation der Regeneration in dieser Situation bestenfalls erfolglos und schlimmstenfalls deletär sein.

5.2.3 Beeinflussung der Leberregeneration durch LPS

Es existieren mehrere experimentelle Studien zur Wirkung von LPS auf die Leberregeneration. Allerdings handelt es sich bei LPS nur um einen von vielen Faktoren einer bakteriellen Infektion und in der Regel auch nur um eine einmalige Applikation (siehe auch 5.1). Abhängig von Dosierung und Applikationszeitpunkt relativ zur Leberresektion wurden unterschiedliche Effekte beschrieben.

In einer in vivo Untersuchung im Rattenmodell ohne Leberresektion stieg nach Applikation von HGF plus LPS die Anzahl der BrdU positiven Hepatozyten verglichen mit alleiniger HGF-Gabe um das 4,5-fache an [31,32]. Als mögliche Mechanismen wurden eine erhöhte AP-1 Aktivität sowie eine Induktion von NF κ B und STAT-3 gefunden.

Cornell et al. konnten zeigen, daß eine LPS induzierte Inflammation 24 h vor einer 70 % Leberresektion die Leberregeneration bei Mäusen in Abhängigkeit von der applizierten Dosis beeinflusst. Während die Applikation von 100 ng/g Körpergewicht die DNA-Synthese stimulierte, verzögerte eine höhere Dosis (500 ng/g KG) die Regeneration [120]. Interessanterweise konnte in der gleichen Studie auch gezeigt werden, daß eine Darmsterilisation, d.h. der komplette Wegfall der portalen LPS Belastung, ebenfalls die Regeneration verzögert. Im Einklang mit dieser Studie bewirkte eine LPS Vorbehandlung 12 h vor 70 % Leberresektion eine erhöhte HGF Expression in Hepatozyten; ähnliche Ergebnisse konnten auch durch TNF- α Vorbehandlung erreicht werden [32]. Insgesamt simuliert die einmalige präoperative LPS Applikation in diesen Studien aber keinesfalls eine perioperative Infektion / Sepsis, sondern funktioniert eher im Sinne einer „Präkonditionierung“ (siehe auch 5.5).

In einigen anderen Untersuchungen wurde LPS 48 h nach 70 % Leberresektion gegeben, also zu einem Zeitpunkt, an dem die Initiation des Regenerationsprozesses im Rattenmodell bereits stattgefunden hat. Als Resultat fand sich eine relativ hohe Mortalität von 88% innerhalb von 24 h nach LPS Applikation aufgrund von Lebernekrosen. Die Mortalität konnte durch Kupffer-Zell Blockade mit Gadolinium-Chlorid auf 20 % gesenkt werden. Histologisch fanden sich in den Lebern nach alleiniger LPS-Applikation fokale Nekrosen mit Infiltration von Granulozyten, welche durch die Gadolinium-Chlorid Vorbehandlung verhindert werden konnten, ebenso wie der sehr hohe TNF- α Peak eine Stunde nach LPS-Applikation [121].

Ein TNF- α vermittelter Mechanismus wird auch in einer weiteren Studie an Mäusen postuliert, in der eine relativ hochdosierte LPS-Vorbehandlung 24 h vor 70% Leberresektion zu einer deutlichen Verzögerung der Regeneration führte. Die Veränderung der Regenerationskinetik mit einer 40% Reduktion des maximalen Anteils PCNA positiver Zellen ähnelt dabei der Verzögerung der Regeneration im vorliegenden Modell. Die Hemmung der Regeneration wird teilweise über erhöhte TNF- α Freisetzung aus Kupffer-Zellen vermittelt. Das freigesetzte TNF- α aktiviert Plasma-Kallikrein und dieses wiederum latentes TGF- β , welches inhibitorisch auf die Leberregeneration wirkt [29]. Der beobachtete Effekt war sowohl durch anti-TNF- α Antikörper als auch durch Hemmung des Plasma-Kallikrein Systems zu verhindern. Der Nachteil dieser Studie liegt ebenfalls in der einmaligen präoperativen Gabe von LPS (s.o.).

In diesem Kontext existiert nur eine experimentelle Studie, bei der nach 90% Leberresektion innerhalb der ersten sechs postoperativen Tage täglich LPS appliziert wurde [122]. Dabei wurde eine deutliche Hemmung der Leberregeneration und erhöhte Mortalität durch LPS-Applikation beobachtet. Zusätzlich entwickelten die Tiere eine verstärkte Fibrose. Durch Vorbehandlung mit anti-TGF- β 1 Antikörpern konnten Mortalität und Fibrose vermindert und die Leberregeneration verbessert werden. Somit scheint die Regenerationshemmung in den LPS-Modellen - zumindest teilweise - TGF- β vermittelt zu sein. Auch im vorliegenden Modell fand sich nach Leberresektion plus CLP eine deutlich höhere Expression und Serum-Konzentration von TNF- α und zu den früheren Untersuchungszeitpunkten 24 und 48 h postoperativ auch eine deutlich erhöhte TGF- β Expression. Daher könnte dieser Signalweg auch im vorliegenden Modell eine Rolle spielen. Gegen eine alleinige Vermittlung des Effekts durch diese beiden Mediatoren spricht, daß weder die Expression von TNF- α noch von TGF- β in den Therapiegruppen signifikant verändert ist, obwohl sich die Regenerationskinetik deutlich verbessert. Zusätzlich ist der TNF- α Peak nach CLP nicht so stark ausgeprägt wie nach LPS Applikation. Weitere Klarheit könnte durch eine spezifische Blockierung des Signalweges geschaffen werden. Dies ist aber aufgrund einer erhöhte Mortalität nach Applikation von anti-TNF- α Antikörpern bei Sepsismodellen problematisch [123].

5.2.4 Zytokine als Inhibitoren der Leberregeneration

Auch andere Zytokine könnten bei der Regenerationsverzögerung eine Rolle spielen. Dies gilt insbesondere für IL-1 β , welches bei septischen Zuständen stark erhöht ist und eine signifikante Inhibition der Hepatozytenproliferation bewirkt [38]. Erwartungsgemäß waren nach alleiniger CLP und nach Leberresektion mit simultaner CLP auch in der vorliegenden Studie die IL-1 β Konzentrationen im Serum und im Lebergewebe bereits 6 h postoperativ sehr stark erhöht, aber auch nach Sham Operation und alleiniger Leberresektion fanden sich etwas erhöhte Werte. Als Hinweis für eine wichtige Rolle der IL-1 β Konzentrationen ergab sich eine hochsignifikante Korrelation zwischen den IL-1 β Werten im Lebergewebe und dem Mitoseindex 24 h nach Leberresektion mit oder ohne CLP. Allerdings läßt sich anhand der bisher vorliegenden Daten nicht sicher sagen, ob das IL-1 β direkt für den Effekt verantwortlich ist oder nur Ausdruck der Schwere der Entzündungsreaktion. Für eine direkte Wirkung spricht, daß die Korrelation auch in der Gruppe mit alleiniger Leberresektion besteht.

Interleukin-6 (IL-6) ist ein weiteres Zytokin, das eine zentrale Rolle sowohl bei Infektionen als auch bei der Leberregeneration spielt. Bereits 6 h, aber auch 24 h nach Leberresektion mit simultaner CLP wurde eine hohe IL-6 Expression gemessen. Dagegen wurde nach alleiniger Leberresektion 6 h postoperativ noch keine IL-6 mRNA exprimiert und 24 h postoperativ deutlich weniger als nach LR+CLP. IL-6 gilt zwar als essentiell für die Leberregeneration [124]; trotzdem war die Regeneration nach LR + CLP im vorliegenden Modell deutlich verzögert. In Übereinstimmung hiermit konnte auch in anderen Studien nachgewiesen werden, daß eine exzessive IL-6 Freisetzung unter Umständen auch zu einer Verzögerung der Regeneration führt [125]. Obwohl oft eine „Beschleunigung“ der Leberregeneration durch IL-6 Applikation beschrieben wird, konnte letztlich nur gezeigt werden, daß IL-6 notwendig für die Regeneration ist und z.B. bei IL-6 Knockout Mäusen eine IL-6 Applikation die normale Regeneration wiederherstellt [124]. Auch nach Ischämie-Reperfusion konnte die verzögerte Regeneration nach Leberresektion durch IL-6 Gabe verbessert werden [126]. Dagegen konnte bisher nicht gezeigt werden, daß eine IL-6 Applikation die normale Regeneration beschleunigt.

Im Gegensatz zur Zytokinwirkung scheint eine direkte Invasion oder Translokation von Bakterien in der vorliegenden Untersuchung bestenfalls eine untergeordnete Rolle zu spielen, da die bakterielle Konzentration an den frühen postoperativen Zeitpunkten 6 h und 24 h nach Leberresektion sehr gering ist. Die mikrobiologischen Untersuchungen ergaben Bakterienkonzentrationen, die nur etwas höher waren als nach alleiniger Leberresektion. Insbesondere zu den späteren Zeitpunkten (z.B. 72 h postoperativ) fand sich eine vielfach höhere bakterielle Konzentration in der LR-Gruppe, aber noch mehr in der LR+CLP-Gruppe, und trotzdem stieg die Regenerationsaktivität nach LR+CLP stark an. Außerdem war die Regenerationskapazität durch „Präkonditionierung“ mit CLP 24 h vor der Leberresektion zu verbessern. Obwohl in dieser Gruppe mit sequentieller CLP und Leberresektion keine mikrobiologischen Untersuchungen durchgeführt wurden, kann angenommen werden, daß die Bakterienkonzentration nach CLP-Präkonditionierung bei Leberresektion und in den ersten 24 h sicherlich deutlich höher lag als bei simultaner LR+CLP.

In diesem Kontext ist auch die signifikante Zunahme der BrdU positiven Nicht-Parenchymzellen in der sequentiellen Gruppe mit CLP sehr interessant. Diese wurde 24 h postoperativ nach Leberresektion in den sequentiellen Gruppen nur bei Vorbehandlung mit CLP, nicht aber bei Sham-Vorbehandlung beobachtet. Zum 24 h Zeitpunkt übertraf die Proliferation der Nicht-Parenchymzellen sogar die nach alleiniger LR 24 h postoperativ. Eine Rolle könnte hier ein Priming der Nicht-Parenchymzellen, v.a. der Kupffer-Zellen, durch die Infektion spielen. Ein denkbarer Mechanismus wäre die Induktion einer erhöhten CD 14 Expression auf den Kupffer-Zellen. CD 14 ist ein LPS Rezeptor, der von aktivierten Kupffer-Zellen vermehrt exprimiert wird und sie sensibel gegenüber weiterer Stimulation macht [127].

Unter Berücksichtigung der Daten aus der Literatur sowie der Ergebnisse der vorliegenden Studie, sind als Ursache für die verzögerte Regeneration nach LR+CLP Veränderungen in der Zytokinantwort anzusehen. Insbesondere die frühe und verstärkte Sekretion von pro-inflammatorischen Zytokinen, vor allem von IL-1 β und von IL-6, aber auch eine erhöhte TNF- α und TGF- β Sekretion könnten alleine oder in Summe zur Regenerationsverzögerung beitragen, wobei die Wertigkeit der Einzelmechanismen noch zu klären bleibt.

5.2.5 Andere Konditionen mit gestörter Leberregeneration

Eine weiterer klinisch relevanter Risikofaktor, der mit einer erhöhten Komplikationsrate nach Leberresektion und Transplantation einhergeht [128] und potentiell mit Störungen der Leberregeneration assoziiert ist, ist die Steatosis hepatis. Im Rattenmodell ist die Regeneration nach Resektion von Fettlebern deutlich verzögert und die postoperative Mortalität erhöht, wobei der Mechanismus der Regenerationsstörung nicht ausreichend geklärt ist [129]. Eine signifikante apoptotische Aktivität konnte, wie auch im vorliegenden Modell, nicht gefunden werden. Dagegen wurde die Regeneration durch Behandlung mit IL-6 etwas verbessert. Die Mortalität wurde nicht gesenkt, sondern war nach IL-6 Vorbehandlung sogar tendenziell erhöht. In dieser Studie wurden keine Leberfunktionsparameter bestimmt, so daß nicht zu klären ist, ob die Steigerung der Regeneration möglicherweise auf Kosten eines kritischen Abfalls der Leberfunktion erreicht wurde [129]. Wie bei der galligen Peritonitis (siehe 5.4), wird auch bei der Regeneration von Fettlebern ein erhöhter oxidativer Streß als potentieller Mechanismus diskutiert [130]. Beide Noxen führen zu einer ähnlichen Regenerationsverzögerung nach Leberresektion wie auch im vorliegenden Modell nach LR+CLP beobachtet.

Es zeigt sich also, daß unterschiedliche Noxen wie bakterielle Infektionen, LPS-Applikation, gallige Peritonitis, Steatosis hepatis oder Ischämie-Reperfusion die Leberregeneration verzögern, wobei die Regenerationskinetik bei den unterschiedlichen Noxen ähnliche Veränderungen aufweist. Somit verzögern die unterschiedlichen Signalwege, die bei den verschiedenen Noxen auftreten, die Regeneration möglicherweise auf einer gemeinsame Endstrecke, nämlich auf der Ebene der Zellzyklus-Progression.

5.2.6 Inhibition der Zellzyklus-Progression

Wie in vielen Modellen mit einer gestörten Leberregeneration, war auch im vorliegenden Modell eine verzögerte Zellzyklus-Progression und zusätzlich eine „entsynchronisierte“ Regeneration zu beobachten. Der Übertritt von ruhenden Hepatozyten in den Zellzyklus fand nach Leberresektion mit und ohne CLP etwa nach dem gleichen Intervall statt. So wurden nach 18 h in beiden Gruppen bereits Ki-67 und BrdU pos. Zellen nachgewiesen, 12 h postoperativ dagegen noch nicht. Allerdings waren nach 18 h schon mehr BrdU positive Zellen in der Gruppe mit alleiniger Leberresektion zu finden, d.h. daß bereits zu diesem Zeitpunkt ein kleinerer Anteil der Hepatozyten in den Zellzyklus übertritt und es nicht zu einer „synchronisierten“ Regeneration wie nach alleiniger LR kommt. So war früh nach simultaner LR+CLP die Gesamt-Wachstumsfraktion signifikant erniedrigt und auch die Zellzyklus-Progression verzögert, insbesondere die Progression zur Mitose. Nach 24 h fanden sich bei den meisten Tieren noch keine Zellen in der M-Phase. Auch der mitotische Peak war deutlich abgeschwächt, dafür aber die Regenerationsmarker zu den späteren Untersuchungszeitpunkten höher als in der Gruppe mit alleiniger Leberresektion. Insgesamt scheinen somit Verzögerungen an beiden Restriktionspunkten (G_1/S und vor allem auch G_2/M) in den ersten 24 h eine Rolle zu spielen.

Zu den wichtigsten endogenen Inhibitoren gehören die Cyclin-Kinase Inhibitoren. Die CDK bzw. Cyclin-CDK Komplexe der G₁-Phase werden durch zwei Familien von Cyclin-Kinase Inhibitoren (cyclin dependent kinase inhibitors: CKI) inhibiert. Hierzu gehört die sogenannte INK4 Familie (p15, p16 p18, p19) und die Cip/Kip Familie (p21, p27, p57). Diese CKI werden durch verschiedene interne und externe Signale reguliert. So wird z.B. die p21 Transkription durch p53 kontrolliert. Zusätzlich existieren auch p53 unabhängige Mechanismen der p21 Aktivierung. Hierzu zählen v.a. die Aktivierung durch TGF- β , IL-1 β und oxidativen Stress. Andererseits wird p21 auch bei der normalen Leberregeneration phasenweise exprimiert [131] und trägt wahrscheinlich in der Spätphase zur Beendigung der Leberregeneration bei.

Es gibt unterschiedliche Mechanismen, die zu einer Verzögerung der Zellzyklus Progression beitragen können. Einen wichtigen Faktor stellt oxidativer Streß dar. Es wurden zwar im vorliegenden Modell keine direkten Parameter dafür gemessen, aus zahlreichen Untersuchungen ist jedoch bekannt, daß es nach CLP zu einem erheblichen oxidativen Streß mit Anstieg von MDA (Malondialdehyd) und Thiobarbitursäure kommt [132,133]. Als indirekter Parameter für erhöhten oxidativen Streß konnte in der vorliegenden Arbeit eine erhöhte MPO-Aktivität 6 h nach LR+CLP nachgewiesen werden.

Redox sensible Proteine wie p38 Mitogen aktivierte Proteinkinase (mitogen activated protein kinase: MAPK) und p21 schützen Zellen vor oxidativem Stress, aber sie inhibieren die Zellzyklus Progression. So wurden für verschiedene Formen von oxidativem Stress eine p21 vermittelte Hemmung des Zellzyklus in der späten G₁-Phase nachgewiesen [134]. Zusätzlich gibt es Anhaltspunkte für eine p21 vermittelte Inhibition auf Ebene des G₂/M Restriktionspunktes. Auch bei der verzögerten Leberregeneration nach Resektion von Fettlebern spielen p21 vermittelte Mechanismen möglicherweise eine wichtige Rolle [135]. Chronischer Alkoholkonsum inhibiert bei Mäusen ebenfalls über p21 und p38-MAPK vermittelte Mechanismen die Leberregeneration nach partieller Resektion [136]. Eine vermehrte Expression konnte außerdem in humanen Leberbiopsien mit alkoholischer Hepatitis oder chronischer Hepatitis C nachgewiesen werden [137]. Dagegen findet sich bei p21 Knockout-Mäusen ein früherer Beginn der DNA-Synthese und der Expression von S-Phase Genen nach Leberresektion [138], und transgene Mäuse mit hepatischer Überexpression von p21 weisen eine verzögerte Hepatozytenproliferation nach Leberresektion auf [139]. Somit könnte die p21 vermittelte Hemmung der Zellzyklus-Progression eine gemeinsame Endstrecke verschiedener Störungen der Leberregeneration darstellen. Eine p21 Induktion tritt zum einen bei erhöhtem oxidativem Streß auf, zum anderen wird sie auch durch TGF- β und IL-1 β vermittelt - alle drei Mechanismen könnten in der vorliegenden Studie nach LR und CLP eine Rolle spielen. Ob dieser Mechanismus auch bei simultanen Infektionen relevant ist, müssen weitere Studien zeigen. Allerdings fanden sich bereits 24 h postoperativ relativ viele Zellen in der S-Phase, so daß eine alleinige Verzögerung am G₁/S Restriktionspunkt unwahrscheinlich ist und eher eine Hemmung auf mehreren Ebenen zu vermuten ist. Es gibt andererseits auch Modelle mit Störungen der Leberregeneration, bei denen eine p21- und p27- unabhängige Verzögerung der Zellzyklus-Progression nachgewiesen wurde. Dies gilt z.B. für Regenerationsstörungen auf dem Boden einer vorbestehenden Leberfibrose oder Leberzirrhose [140]. In dieser Studie wurde keine hepatische Überexpression von p21 und p27

nachgewiesen, aber eine verminderte Expression von Cyclin D1. Der Mechanismus der verminderten Expression ist noch unklar.

Als weitere Manifestation von Zellzyklus-Störungen mit erhöhter Expression von Inhibitoren der Zellzyklus-Progression kann es zu einer Erhöhung der Apoptoserate kommen. Auch klinisch sind Fälle von postoperativem Leberversagen beschrieben, bei denen eine stark erhöhte Apoptoserate nachzuweisen ist [3]. Im verwendeten Modell der infektriggetriggerten Störung der Leberregeneration scheint die Apoptose aber keine relevante Rolle zu spielen. Auch in anderen experimentellen Studien fand sich nur eine relativ geringe apoptotische Aktivität nach CLP, allerdings ohne simultane Leberresektion [34]. Eine signifikante Nekrose von Leberzellen wurde in den meisten experimentellen Modellen nur bei fulminanter Sepsis oder hochdosierter LPS-Applikation beobachtet, nicht aber im vorliegenden Modell einer relativ milden Sepsis. In den vorliegenden Untersuchungen wurde nur orientierend eine TUNEL Färbung durchgeführt. Diese ist zwar nicht hochspezifisch für Apoptose, aber aufgrund des geringen Anteils von TUNEL positiven Zellen wurde auf weitere spezifische Färbungen verzichtet.

Insgesamt könnte die Verzögerung der Zellzyklus-Progression und damit der Regeneration einen Schutzmechanismus bei verschiedenen Noxen mit erhöhter metabolischer Belastung oder Einschränkung der Leberfunktion darstellen. Durch den erniedrigten Anteil an Zellen im Zellzyklus in Kombination mit einer längeren Dauer des Zellzyklus werden die Funktions- und Energiereserven der Restleber geringer belastet. Dabei scheint im vorliegenden Modell eine Hemmung auf mehreren Stufen stattzufinden, wobei die einzelnen Mechanismen noch weiter analysiert werden müssen.

5.3 Bakterielle Infektionen und hepatozelluläre Dysfunktion

Die Leber spielt eine zentrale Rolle bei der Bekämpfung von Mikroorganismen, die über das portalvenöse Blut eindringen. Hier sind vor allem die Kupffer-Zellen / Nicht-Parenchymzellen an der inflammatorischen Antwort auf Infektionen, aber auch auf andere Noxen beteiligt. Die inflammatorische Antwort beginnt, wie auch in anderen Organen, mit der Aktivierung von Monozyten/Makrophagen (in diesem Falle Kupffer-Zellen), die schließlich pro-inflammatorische Zytokine freisetzen (siehe 1.3). Da die Leberfunktion in keiner der experimentellen Arbeiten zur LPS-Applikation vor oder nach Leberresektion untersucht wurde [29,32,120,121], erfolgte in der vorliegenden Studie auch eine Charakterisierung der Interaktionen von Leberfunktion und Leberregeneration.

Durch die akute Phase Reaktion kommt es zu einer Reduktion der Funktionsreserve der Leber, wie in der vorliegenden Studie in der CLP-Gruppe 24h postoperativ nachgewiesen. Eine besondere metabolische Anforderung stellt sich für die Leber, wenn es zusätzlich zu einer Infektion zu einem Verlust von funktionellem Lebergewebe, wie z.B. bei Leberresektion, kommt. Dann kann die Leberfunktion einen limitierenden Faktor für die Geschwindigkeit der Regeneration darstellen. So ergab sich 24 h nach Leberresektion mit simultaner CLP bei der ICG-Clearance Messung nur noch ein

Sechstel der Ausgangsleberfunktion. Dahingegen lag die Leberfunktion unmittelbar postoperativ noch bei etwa einem Drittel der Ausgangsfunktion und 24 h nach alleiniger Leberresektion ebenfalls wieder bei einem Drittel der Ausgangsfunktion. Noch deutlicher unterschieden sich die Funktionswerte nach 48 h, zu dem Zeitpunkt, an dem die Regenerationsaktivität nach Leberresektion mit CLP anstieg. In der Gruppe mit simultaner LR+CLP war das unmittelbar postoperative Niveau der ICG Werte erst nach über 48h wieder erreicht. Dies korrelierte auch gut mit den vereinzelt Todesfällen (10%), die nach kombinierter LR + CLP meist in diesem kritischen Intervall zwischen 20 und 48 h postoperativ auftraten.

Dieser etwas protrahierte Funktionsverlust der Leber passt auch zu klinischen Beobachtungen, denn typischerweise tritt das Leberversagen nicht unmittelbar postoperativ nach Leberresektion auf, sondern erst nach 4 bis 7 Tagen [141]. Möglicherweise besteht also auch hier eine funktionelle Überlastung, die während des Regenerationsprozesses manifest wird.

Wie oben dargelegt, reagiert die Leber auf metabolische Überlastungen während der Regeneration mit Veränderungen der Regenerationskinetik. Diese stellen aufgrund der vitalen Bedeutung einer ausreichenden Leberfunktion einen Schutzmechanismus dar. So kommt es zum Beispiel im Rattenmodell nach 90% Leberresektion selbst bei ungestörter Regeneration zu einer niedrigeren Proliferationsaktivität als nach 70% Leberresektion [142]

Bei der Sepsis handelt es sich um eine generalisierte inflammatorische Antwort auf einen bakteriellen Fokus, an der die Leber entscheidend mitbeteiligt ist. Eine Störung der Leberfunktion wird im Rahmen von septischen Erkrankungen schon relativ früh beobachtet. Sie ist in der Frühphase oder bei milder Sepsis allerdings nur mit relativ sensitiven diagnostischen Methoden, wie zum Beispiel der ICG-Clearance zu erfassen [143]. Dagegen treten klinisch manifeste Leberfunktionsstörungen mit Erhöhung von Bilirubin und Transaminasen oft erst einige Tage nach Beginn der Sepsis auf. In Übereinstimmung damit fand sich auch in der vorliegenden Studie 24 h nach CLP eine signifikante Reduktion der ICG-Clearance, jedoch kein Anstieg des Bilirubins und der Transaminasen im Sinne einer klinisch inapparenten temporär eingeschränkten Funktionsreserve der Leber.

Ein klinisch bekanntes Phänomen bei septischen Zuständen ist die typische cholestatische Antwort. Sie beruht auf einer zytokinvermittelten Exkretionsstörung von Bilirubin [144] und betrifft unter anderem auch ICG. Dabei wird der Gesamt-Gallefluß nicht beeinträchtigt [145]. Entsprechend war auch in der vorliegenden Arbeit der Gallefluß in der Frühphase nach alleiniger CLP oder Leberresektion mit CLP nicht reduziert, wohl aber 48 h nach kombinierter Leberresektion mit CLP. Auch in anderen experimentellen Studien konnte gezeigt werden, daß eine Coekalligatur und Punktion mit konsekutiver enterogener Sepsis im Rattenmodell zu einer hepatozellulären Dysfunktion führt [33]. Die Funktionseinschränkung der Leber wird durch erhöhte Freisetzung von pro-inflammatorischen Zytokinen aus Granulozyten und vor allem auch aus Kupffer-Zellen vermittelt [146]. Dabei stimuliert IL-1 die TNF- α und die IL-6 Freisetzung aus Kupffer-Zellen [147]. Daneben scheinen auch noch weitere Mediatoren, die aus dem portalvenösen Stromgebiet bei enterogenen Infektionen eingeschwenkt werden, eine Rolle zu spielen. Insbesondere enterogenes Noradrenalin fördert die zusätzliche Freisetzung von pro-inflammatorischen Zytokinen aus Kupffer-Zellen und peritonealen Makrophagen

[33]. Eine erhöhte Kupffer-Zell Aktivität hilft bei der Bekämpfung von Bakterien, kann aber bei exzessiver Erhöhung auch zytotoxisch für die Leber sein. Eine experimentelle Kupffer-Zell Blockade konnte die Letalität bei Endotoxinämie senken [148]. Auch die Leberfunktion wird durch Modulation dieser Zytokinantwort beeinflusst. So bewirkt z.B. die experimentelle Applikation von TNF- α eine hepatozelluläre Dysfunktion mit reduzierter ICG-Clearance und erhöhten IL-6 Werten [150]. Der TNF- α Effekt wird teilweise über die Stimulation der Freisetzung von Superoxid Anionen aus Kupffer-Zellen vermittelt, die zu erhöhtem oxidativen Streß und hepatozellulärer Dysfunktion führen [149]. Die Zytokinantwort in der Sepsis ist relativ gut charakterisiert und umfasst die Sekretion von verschiedenen pro-inflammatorische Zytokinen (IL-1, IL-6, TNF- α , Prostaglandin E2) [150]. Eine erhöhte Expression bzw. Sekretion dieser Zytokine konnte auch im vorliegenden Modell nachgewiesen werden. Dabei bestanden keine relevanten Unterschiede in der Zytokinantwort zwischen alleiniger CLP und Leberresektion mit simultaner CLP.

Ein weiteres typisches Phänomen septischer Zustände stellt die Hypalbuminämie dar. Albumin ist ein „negatives“ Akute Phase Protein. Es wird während der akute Phase Reaktion vermindert produziert zugunsten einer erhöhten Sekretion von akute Phase Proteinen [71,151]. Dabei wird die Albumin Synthese in den Hepatozyten wahrscheinlich durch eine TNF- α vermittelte [152] erhöhte Expression von NF- κ B supprimiert [153]. Auch im vorliegenden Modell war eine ausgeprägte Hypalbuminämie nach Leberresektion mit simultaner CLP zu beobachten. Dies könnte durch einen Funktionsabfall der Leber in Kombination mit der gleichzeitigen akute Phase Reaktion erklärt werden. Zusätzlich könnte ein insgesamt erhöhter Albuminverlust durch erhöhte Gefäßpermeabilität während septischer Reaktionen die Hypalbuminämie verstärkt haben [154].

Bei der hepatozellulären Dysfunktion sind auch Störungen des Energiehaushaltes beteiligt. So kommt es in den Leberzellen bei Sepsis zu einer reversiblen mitochondrialen Dysfunktion mit einer Schwellung der Mitochondrien und einer Störung des mitochondrialen Sauerstoffverbrauchs [155]. Mitochondriale Dysfunktionen werden auch im Skelettmuskel beobachtet. Als mögliche Ursache wurde eine erhöhte NO-Freisetzung postuliert, die wiederum PARP aktiviert und damit eine massive Depletion von NAD⁺/NADH bewirkt. Ein verminderter ATP Gehalt könnte auch im vorliegenden Modell eine Rolle spielen. Dies ist allerdings als alleinige Ursache der Dysfunktion unwahrscheinlich, da der Abfall des ATP-Gehalts in anderen Studien nicht in der Frühphase der Sepsis nach CLP beschrieben wird, sondern erst in der Spätphase 16 bis 24 h nach CLP und damit nach Beginn der Dysfunktion [156].

Die Leberfunktionsstörung war in der vorliegenden Studie vor allem 48 h nach Leberresektion + CLP besonders stark ausgeprägt. Zu diesem Zeitpunkt war das relative Lebergewicht aber schon tendenziell höher als in der Gruppe mit alleiniger Leberresektion. Auch nach Applikation von *Escherichia coli* Endotoxin konnte im Rattenmodell eine Zunahme des Lebergewichts um 23 % gezeigt werden [157]. Ursächlich war dafür vor allem eine Zunahme des Hepatozytenvolumens, hauptsächlich durch Zunahme des Leber-Feuchtgewichts, d.h. des Wassergehalts bedingt. Zu einem geringeren Teil war jedoch auch eine Zunahme des Protein-, Lipid-, und Glykogengehalts nachzuweisen. Dieser LPS-Effekt konnte durch polyklonale anti-TNF- α Antikörper verhindert werden.

In Korrelation dazu führte eine TNF- α Applikation zu einer ebensolchen Zunahme des Lebergewichts [158].

Auch im vorliegenden Modell war das relative Lebergewicht in den späteren Gruppen, sowohl nach alleiniger CLP, als auch in der Gruppe mit simultaner Leberresektion und CLP, deutlich erhöht. Da dies nicht mit einer verbesserten Leberfunktion einherging, ist ebenfalls von einer vornehmlichen Zunahme des Feuchtgewichts auszugehen [157]. Obwohl in der vorliegenden Studie der Zusammenhang nicht direkt untersucht wurde, ist ein TNF- α vermittelter Mechanismus im obigen Sinne naheliegend. In den 96 h Gruppen kam es nach alleiniger CLP allerdings bei weiterer Zunahme des Lebergewichts von $3,78 \pm 0,12$ % nach 24 h auf $4,02 \pm 0,12$ % wieder zu einer Funktionsverbesserung der Leber, d.h. zu diesem Zeitpunkt ist eine vorwiegende Wassereinlagerung unwahrscheinlich.

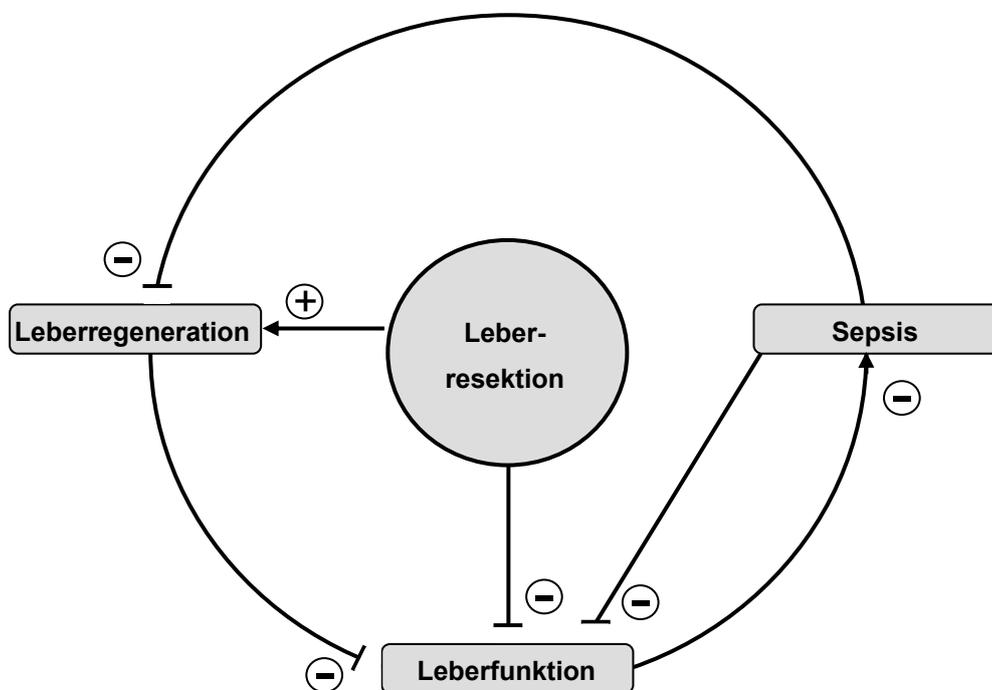


Abb. 46: Circulus vitiosus der Interaktionen zwischen Leberregeneration und schweren Infektionen

Die Leberdysfunktion spielt auch klinisch eine zentrale Rolle bei der Sepsis. So war in Studien die Schwere der Leberfunktionsstörung von entscheidender prognostischer Bedeutung bei Patienten mit schwerer Sepsis und Multiorganversagen [159]. Auch bei ARDS-Patienten konnte eine Korrelation der Mortalität mit der Schwere der Leberfunktionsstörung, nicht aber mit der Schwere der Lungen- oder Nierenfunktionsstörung, nachgewiesen werden [160]. Diese Befunde unterstreichen die zentrale Rolle der Leber bei systemischen Entzündungen. Im chirurgischen Krankengut ist dies höchst relevant, da beispielsweise im speziellen Fall nach ausgedehnten Leberresektionen relativ häufig Infektionen

auftreten und dann auf eine durch reduzierte Lebermasse deutlich eingeschränkte Funktionsreserve der Leber treffen. Somit sind die Voraussetzungen extrem ungünstig, da die Leberfunktion durch reduzierte Lebermasse, einsetzende Regeneration und septische Dysfunktion gleichzeitig kompromittiert wird (Abb. 46). Daher ist eine schwere Sepsis nach Leberresektionen immer noch mit einer hohen Mortalität behaftet [27]. Bisher stehen keine spezifischen therapeutischen Interventionen in dieser Situation zur Verfügung, insbesondere nicht zur Stabilisierung der Leberfunktion bzw. der Leberregeneration.

5.4 Galleleck

Nicht nur bakterielle Infektionen, sondern auch andere systemische Inflammationsreaktionen wie z.B. nach Trauma, Verbrennungen oder Pankreatitis können zu einer Störung der Leberfunktion führen. Interaktionen einer galligen Peritonitis mit der Leberregeneration sind bisher nur wenig untersucht. In der internationalen Literatur existiert nur eine Veröffentlichung, in der eine Leberresektion mit gleichzeitiger Induktion eines Gallecks im Rattenmodell beschrieben wird [161]. Fukuhara et al. fanden bei gleichzeitigem Galleck eine deutliche Verzögerung der Leberregeneration. Allerdings wies die Gruppe mit dem Galleck eine 100%ige Mortalität innerhalb von 7 Tagen auf. Dies ist wohl am ehesten darauf zurückzuführen, daß hier eine komplette Ligatur des Ductus hepaticus communis mit proximal davon gelegener Inzision des Gallenganges durchgeführt wurde. Somit drainierte die gesamte Galle in die freie Bauchhöhle, eine biliäre Exkretion von Stoffwechselprodukten war nicht mehr möglich. Im vorliegenden Versuchsaufbau wurde lediglich der rechte Segmentgallengang ligiert. Dies kommt der klinischen Situation eines Gallecks näher und ist mit einem 100%igen Überleben verbunden.

Als Hauptmechanismus der Regenerationshemmung konnte von Fukuhara et al. ein erhöhter oxidativer Streß mit erhöhter Lipidperoxidation nachgewiesen werden [161]. Durch subkutane Applikation von Katalase und rekombinanter Superoxid-Dismutase konnte die Mortalität von 100% auf 40% gesenkt und die Leberregeneration verbessert werden. Gleichzeitig wurde durch die Therapie die erhöhte Lipidperoxidation deutlich reduziert. Dies bestätigt zwar die Hypothese, daß durch antioxidative Therapie die Leberregeneration bei inflammatorischen Reaktionen möglicherweise verbessert werden kann, die durchgeführte Therapie ist jedoch klinisch nicht anwendbar.

Im vorliegenden Modell wurde nach Galleck eine stark ausgeprägte inflammatorische Antwort beobachtet, die sich im Zytokinprofil etwas von der Zytokinantwort nach CLP unterschied. Es fanden sich bei galliger Peritonitis keine erhöhten IL-1 β Konzentrationen im Lebergewebe, dafür stand vor allem eine frühe und starke Expression von TNF- α im Vordergrund. Diese war sogar stärker ausgeprägt als nach CLP. In Kombination mit einer erhöhten MPO-Aktivität im Lebergewebe ist auch im vorliegenden Modell von deutlich erhöhtem oxidativem Streß auszugehen. Eine vermehrte inflammatorische Aktivität des Peritoneums mit Akkumulation von Granulozyten wurde auch in anderen experimentellen Studien nach intraperitonealer Applikation von Galle nachgewiesen [162].

In klinischen Studien fand sich bei Biliom nach großen Leberresektionen eine erhöhte Inzidenz von postoperativem Leberversagen, allerdings meist bei Superinfektion eines Bilioms [91]. Eine bakterielle Superinfektion spielte im vorliegenden Modell wie auch bei Fukuhara et al. [161] keine relevante Rolle

bei der Regenerationsstörung, da die Bakterienkonzentrationen in den Organkulturen nicht erhöht waren. Die gallige Peritonitis begünstigt grundsätzlich eine bakterielle Superinfektion durch Hemmung der Phagozytoseaktivität von peritonealen Makrophagen [163]. Ob bei bakterieller Superinfektion ein additiver Effekt der Hemmung der Leberregeneration entsteht, ist bisher nicht untersucht.

In der Gruppe mit Leberresektion und Galleleck entstand postoperativ eine Leberfunktionsstörung, die noch deutlicher ausgeprägt war als nach CLP. Initial fand sich bei deutlich reduziertem Gallefluß ein stark erhöhtes Serum-Bilirubin. Ursächlich hierfür könnte neben der hepatozellulären Dysfunktion vor allem auch eine Rückresorption von Galle über das Peritoneum sein, da der Galleabfluß des rechten Leberlappens in die freie Bauchhöhle erfolgte. Dies könnte zumindest teilweise auch die erniedrigte ICG-Clearance erklären.

Insgesamt handelt es sich hier um ein klinisch relevantes Modell, das aufgrund der fehlenden Mortalität deutliche Vorteile gegenüber dem vorbeschriebenen Modell mit kompletter Gallengangsligatur [161] bei ähnlicher Verzögerung der Leberregeneration aufweist. Auch im Vergleich mit CLP als bakterieller Infektion war die Regenerationsverzögerung trotz einer etwas veränderten Zytokinantwort ähnlich stark ausgeprägt.

5.5 Präkonditionierung

Als Präkonditionierung wird eine endogene Protektion vor einer Schädigung bezeichnet, die durch eine vorangegangene Schädigung induziert wurde. Erstmals wurde dieses Phänomen bei der ischämischen Schädigung von Herzmuskelzellen beschrieben, die nach einem vorangegangenen ischämischen Ereignis eine gewisse Protektion für eine weitere ischämische Schädigung aufwiesen [164]. Seither wurden zahlreiche Untersuchungen zur sogenannten ischämischen Präkonditionierung an verschiedenen Organen durchgeführt [165] und die beteiligten Mechanismen teilweise aufgedeckt. Neben der ischämischen Präkonditionierung gibt es auch einige andere Ansätze. So haben auch Verbrennungen bzw. die exogene Erhöhung der Körpertemperatur („heat shock preconditioning“) [166], ein generelles operatives Trauma („stress preconditioning“) [166] und Infektionen [167], LPS [168] oder Inflammationsreaktionen [169] eine gewisse protektive Wirkung auf mannigfaltige nachfolgende Schädigungen.

Da die protektiven Mechanismen der Präkonditionierung trotz zahlreicher Ansätze bisher nicht geklärt sind, bleiben die pathophysiologischen Mechanismen weiterhin Gegenstand der andauernden Forschung. Für unterschiedliche Mechanismen konnte bisher eine Beteiligung am Effekt der Präkonditionierung nachgewiesen werden; diese betreffen die Aktivierung von zellulären Rezeptoren, Ionenkanälen und die Induktion von protektiven Proteinen.

Generell muß man frühe Effekte, wie sie zum Beispiel bei der ischämischen Präkonditionierung der Leber bereits 30 Minuten nach einer kurzen Ischämieperiode zu beobachten sind [170], von verzögerten Mechanismen abgrenzen, welche erst nach mehreren Stunden wirksam werden. Während bei den frühen Mechanismen vor allem die Aktivierung verschiedener Rezeptoren und Ionenkanäle zugrunde liegt, gehen die verzögerten Mechanismen auch mit einer Induktion von protektiven Enzymen einher [173].

Im folgenden sind die bisherigen Erkenntnisse zum Mechanismus der Protektion kurz zusammengefasst. Aufgrund des 24 stündigen Intervalls zwischen den beiden Interventionen dürften im vorliegenden Modell dabei vor allem die verzögerten Mechanismen relevant sein.

Vor allem aus Untersuchungen zur ischämischen Präkonditionierung am Herzen ist bekannt, daß Effekte der Präkonditionierung teilweise über die Stimulation von α_1 -Adrenozeptoren vermittelt werden. So konnte gezeigt werden, daß z.B. am Herzen die ischämische Präkonditionierung durch α_1 -Blockade verhindert werden kann. Durch α_1 -Stimulation kommt es zur intrazellulären Aktivierung von Protein Kinase C und zur intrazellulären Erhöhung der Calcium-Konzentration. Die Erhöhung der zytosolischen Calcium-Konzentration scheint ebenfalls wichtig, da der Effekt der Präkonditionierung auch durch Calciumkanal Blockade (Verapamil) vermindert wird [171]. Auch die Aktivierung von mitochondrialen ATP-abhängigen Kaliumkanälen scheint involviert zu sein [172], obwohl die genauen Mechanismen unklar bleiben. Nach Präkonditionierung erfolgt über die Protein Kinase C und andere Kinasen auch eine Aktivierung der Mitogen aktivierten Proteinkinasen (MAPK), und diese wiederum aktivieren Heat Shock Proteine, die ebenfalls eine zentrale Rolle bei der Präkonditionierung zu spielen scheinen [173]. Auch die über reaktive Sauerstoffradikale vermittelte Stimulation der NO-Bildung und Aktivierung von NF κ B gehören zu den vermuteten Mechanismen.

Bei der verzögerten Präkonditionierung, deren Effekt erst nach 24 bis 72 h auftritt, ist eine Protein-Neusynthese erforderlich. Dabei kommt es zur Induktion von verschiedenen Proteinen wie Protoonkogenen, Streß-Proteinen und anti-oxidativen Enzymen, z.B. der induzierbaren NO-Synthetase und von Heat Shock Proteinen (HSP 32 = Hämoxygenase-1 und HSP 70) [173], die eine entscheidende Rolle beim Zellschutz spielen [174]. Als ein ähnliches Phänomen kann auch die sogenannte „Endotoxin-Toleranz“ bezeichnet werden. Dabei wird eine im nativen Versuchstier letale LPS-Dosis von Tieren, die eine vorherige niedrig dosierte LPS-Applikation erhalten haben, toleriert. Dieses Phänomen ist schon seit vielen Jahren bekannt, die genauen Mechanismen sind jedoch nicht völlig aufgeklärt. Eine zentrale Rolle scheint auch hier das Monozyten/Makrophagen System, insbesondere in der Leber zu spielen. Durch die vorangehende LPS-Applikation werden Makrophagen aktiviert und eine nachfolgende Zytokinfreisetzung (TNF- α , IL-1, IL-6) induziert. Dadurch kommt es zu einer Modifikation der pro-inflammatorischen Immunantwort [Übersicht in 175]. Auch hier können nicht nur eine LPS-Vorbehandlung, sondern unterschiedliche unspezifische Faktoren zu einer Endotoxin Toleranz führen, unter anderem auch unspezifischer operativer Streß wie z.B. bei einer Sham Operation.

Die Verzögerung der Leberregeneration bei simultaner Leberresektion und CLP konnte durch vorangehende CLP oder Sham Operation 24 h vorher teilweise verhindert werden. Nach vorheriger CLP erreichten die Regenerationsparameter bis auf den Mitoseindex fast das Niveau einer alleinigen Leberresektion. Durch beide verwendeten Arten der Präkonditionierung wurde die S-Phase Fraktion signifikant erhöht, jedoch nicht der Mitoseindex. Vor allem nach Sham-Präkonditionierung waren fast keine Mitosen 24 h nach der Leberresektion nachzuweisen. Diese Befunde legen bei beiden Formen eine Verzögerung auf Höhe des G₂/M Restriktionspunktes nahe, wobei die G₁/S Verzögerung, die bei simultaner Leberresektion mit CLP noch zusätzlich zu beobachten war, offenbar überwunden wurde.

Parallel dazu konnte bereits in mehreren Studien gezeigt werden, daß eine Sham-Operation 6 h vor einer alleinigen Leberresektion die regeneratorsche Antwort beschleunigen kann, wenngleich die maximale regeneratorsche Aktivität nicht beeinflusst wird [176,177,178]. Möglicherweise beruht dies darauf, daß die Hepatozyten als unspezifische Antwort auf den chirurgischen Streß bereits „geprimt“ sind, einhergehend mit einer erhöhten Expression verschiedener Gene / Transkriptionsfaktoren, so daß die einleitenden Mechanismen der Leberregeneration verkürzt sind [179]. Auch im vorliegenden Modell mit simultaner Leberresektion und CLP war die Regeneration nach vorangegangener Sham Operation etwas beschleunigt verglichen mit alleiniger LR+CLP, aber deutlich langsamer als bei ungestörter Regeneration (alleinige LR). Somit hat die vorangegangene Sham Operation einen gewissen präkonditionierenden Effekt. In der vorliegenden Arbeit wurden keine spezifischen Parameter der Präkonditionierung wie z.B. die Induktion von Heat Shock Proteinen bestimmt, aufgrund der Parallelen zu anderen experimentellen Modellen sind die generellen Mechanismen der Präkonditionierung auch hier wahrscheinlich.

Durch eine vorangehende CLP konnte ein präkonditionierender Effekt auf die Leberregeneration erzielt werden, der über den Effekt einer vorangegangenen Sham Operation hinausging. Somit scheinen in diesem Modell weitere Mechanismen, z.B. im Sinne einer zusätzlichen Endotoxin-Toleranz, beteiligt zu sein. Die Regenerationsrate der Leber konnte etwas verbessert werden, lag aber immer noch deutlich unter dem Niveau der normalen Leberregeneration. Zusätzlich war während der „beschleunigten“ Leberregeneration ein deutlicher Abfall der Leberfunktion, insbesondere ein starker Anstiegs der Bilirubinwerte, zu verzeichnen. Zusätzlich starb kein Tier der „präkonditionierten“ Gruppen, was im Gesamtüberleben zwar nicht statistisch signifikant war, aber einen deutlichen Trend anzeigt.

Es zeigte sich nach pr-CLP 24h nach Leberresektion eine deutlich erhöhte Proliferation von Nicht-Parenchymzellen. Diese war auch 48 h nach alleiniger CLP ohne spätere Leberresektion zu beobachten, so daß der Effekt vornehmlich durch die CLP zu erklären ist. Inwieweit dieses Phänomen bei der Beschleunigung der Leberregeneration eine Rolle spielt, bleibt unklar.

Insgesamt fand sich nach CLP-Präkonditionierung ein signifikant erhöhtes Lebergewicht 24 h nach Leberresektion. Dafür gibt es zwei Erklärungsmöglichkeiten, die wahrscheinlich beide relevant sind: zum einen die erhöhten Regenerationsparameter und zum anderen die Erhöhung des relativen Lebergewichts während septischer Konditionen, vornehmlich durch Erhöhung des Feuchtgewichts, aber auch durch eine Zunahme des Protein-, Lipid-, und Glykogengehalts (siehe auch 5.3).

Besonders auffällig waren die niedrigen MPO-Werte im Lebergewebe nach CLP-Präkonditionierung, die für eine erniedrigte entzündliche Infiltration mit Granulozyten sprechen und möglicherweise auch für erniedrigten oxidativen Streß. Auch in Versuchen zu Endotoxin Toleranz konnte eine erniedrigte inflammatorische Reaktion von neutrophilen Granulozyten nach LPS Vorbehandlung nachgewiesen werden [180]. Dagegen war die Aktivität des pro-inflammatorischen Zytokins IL-1 β im Lebergewebe nicht erniedrigt, sondern tendenziell leicht erhöht. Dies korreliert ebenfalls mit Beobachtungen bei Endotoxin Toleranz [175].

In der Gruppe mit CLP Präkonditionierung ging die erhöhte Regenerationsrate und insbesondere die deutlich erhöhte mitotische Aktivität mit einer stärkeren Einschränkung der Leberfunktion einher als sie bei simultaner Leberresektion und CLP zu verzeichnen war. Dies unterstreicht die Hypothese, daß bei

geringer Funktionsreserve wie im vorliegenden kombinierten (LR+CLP) Modell eine erhöhte regeneratorsche Aktivität die Leberfunktion weiter kompromittiert. Unter Miteinbeziehung der Daten aus der Sham präkonditionierten Gruppe schient vor allem die Mitose als sehr energieaufwändiger Prozeß die Leberfunktion stark zu beeinträchtigen.

Somit stellten die beiden verwendeten Formen der Präkonditionierung zwar Konzepte zur Verbesserung der Leberregeneration dar, teilweise jedoch in Verbindung mit einer Verschlechterung der Leberfunktion während des Regenerationsprozesses. Diese Umverteilung der Prioritäten könnte in gewissen Grenzen zwar hilfreich sein, birgt aber auch Gefahren. Zusätzlich sind beide Arten der Präkonditionierungen klinisch nicht einsetzbar. Möglicherweise könnten aus ihnen aber Ansätze zur Beschleunigung der Leberregeneration durch Aufklärung zugrundeliegender Mechanismen abgeleitet werden.

5.6 Ausblick

Eine Verzögerung der Leberregeneration durch bakterielle Infektionen bzw. eine Galleleck konnte im Kleintiermodell nachgewiesen werden, jedoch steht der Nachweis eines vergleichbaren Effekts beim Menschen, wo sich eine stark veränderte Regenerationskinetik findet, aus. Klinische Beobachtungen bzw. Einzelfallbeschreibungen sprechen aber auch beim Menschen für eine signifikante Interaktion dieser beiden Prozesse. Neben der Aufklärung der zugrundeliegenden Mechanismen, zunächst im Kleintiermodell und gegebenenfalls später in der humanen Situation, wäre natürlich vor allem eine therapeutische Modulation der verzögerten Regeneration interessant. Durch gezielte Interventionen könnten dabei auch beteiligte Mechanismen der Regenerationsverzögerung weiter aufgeklärt werden. Diese Modulation ist theoretisch auf verschiedenen Ebenen des Regenerationsprozesses denkbar. Dabei konzentrieren sich die meisten Therapieansätze zur Verbesserung der Leberregeneration auf eine der zwei Hauptebenen des Regenerationsprozesses: zum einen auf eine Modulation der Zytokinantwort und zum anderen auf eine Applikation von Wachstumsfaktoren (siehe Abb. 1). Diese beiden Substanzklassen sind zusammen für den Eintritt in und die Zellzyklus-Progression der Hepatozyten verantwortlich. Auch eine Kombination der beiden genannten Ansätze wäre vorstellbar [181]. So wären anti-inflammatorische Substanzen, die zu einer Modulation der Zytokinantwort führen denkbar [182], daneben auch antioxidative Substanzen, um den erhöhten oxidativen Stress zu reduzieren. Hier könnte zum Beispiel Curcumin, das sowohl anti-oxidative und hepatoprotektive, als auch anti-inflammatorische Eigenschaften besitzt, positive Effekte sowohl bei der Modulation der Infektionsreaktion als auch der Leberfunktion /-regeneration erwarten lassen [183]. Daneben konnte auch die Applikation von spezifischen Wachstumsfaktoren, wie zum Beispiel HGF, in anderen Modellen eine verzögerte Leberregeneration vermindern [32,181,184]. Auch für die Stimulation der Zellzyklus-Progression mit unspezifischen Wachstumsfaktoren wie Erythropoetin oder G-CSF konnten gewisse Effekte bei der Regeneration nach Leberresektion nachgewiesen werden [185,186]. Die Wertigkeit der genannten verschiedenen therapeutischen Interventionen muß in weiteren Studien untersucht werden.