

Aspekte der Pathogenese, Therapie und Diagnostik der Leberfibrose

Pathogenetic, Therapeutic and Diagnostic Aspects of Hepatic Fibrosis

A. M. Gressner, E. Yagmur

Zusammenfassung: Parenchymzellschädigungen unterschiedlicher Ätiologien und konsekutive Entzündungsreaktionen initiieren eine reaktive Bindegewebsneusynthese (Fibrogenese), die bei chronischen Lebererkrankungen zur Fibrose führt. Sie ist durch eine 3- bis 10fache Konzentrationszunahme der Komponenten der extrazellulären Matrix, durch deren histologische Umverteilung (perisinusoidale Fibrose) sowie durch Veränderungen der strukturellen Mikroheterogenität und des Matrixprofils gekennzeichnet. An der exzessiven Neusynthese der extrazellulären Matrix sind überwiegend leberspezifische Perizyten, die hepatischen Sternzellen (auch Ito-Zellen genannt), im subendothelialen Disse-Raum, beteiligt, die durch zelluläre Interaktionen, besonders mit Kupffer-Zellen, Thrombozyten und Hepatozyten aktiviert werden und zu Myofibroblasten transdifferenzieren. Myofibroblasten synthetisieren nicht nur ein breites Spektrum von Kollagenen und anderen Matrixproteinen, sondern auch ein umfangreiches Repertoire an inflammatorischen und anti-inflammatorischen Zytokinen, Chemokinen und Wachstumsfaktoren. Unter diesen nimmt TGF- β als profibrogenes Masterzytokin eine dominierende Rolle ein, da es nicht nur die Transdifferenzierung von hepatischen Sternzellen zu Myofibroblasten, sondern auch die Matrixsynthese stimuliert, den Abbau der Matrix vermindert und Apoptose der Hepatozyten bewirkt. Erfolgreiche experimentelle Therapiestrategien sind deshalb auf eine Inaktivierung des TGF- β gerichtet, entweder durch adenoviral vermittelte Überexpression von löslichen TGF- β Rezeptoren als *scavenger*, intrazelluläre Überexpression von die Signaltransduktion inhibierenden Molekülen (Smad7) oder durch Hemmung der Neusynthese von TGF- β mittels Antisense-Strategien. Zur Diagnostik und Verlaufskontrolle der Fibrogenese werden systemische Kenngrößen wie spezifische Prokollagenfragmente, Hyaluronan, Matrix-Metalloproteinasen (MMPs) und

deren Inhibitoren (TIMPs) sowie Kombinationen konventioneller klinisch-chemischer Parameter in Form des „Fibrotestes“ bzw. „Actitestes“ eingesetzt. Die biochemischen Parameter sind jedoch noch nicht valide genug, um die invasive Methode der histologischen Beurteilung von Leberbiopsien ersetzen zu können. Es ist zu erwarten, dass in den nächsten Jahren effektive antifibrotische Therapiestrategien nicht nur für die Leberfibrose, sondern auch für zahlreiche andere Organfibrosen in die Humanmedizin eingeführt werden.

Schlüsselwörter: Leber; Fibrogenese; hepatische Sternzellen; extrazelluläre Matrix; Gentherapie; Labordiagnostik.

Summary: Parenchymal cell injury of various aetiologies and consecutive inflammatory reaction initiate *de novo* synthesis of connective tissue elements (fibrogenesis), which leads to fibrosis in chronic liver diseases. Fibrosis is characterized by a 3- to 10-fold increase of the components of the extracellular matrix, by histological redistribution (perisinusoidal fibrosis) and by changes in the structural microheterogeneity and in the matrix profile. The excessive synthesis of extracellular matrix is mainly managed by liver-specific pericytes, i. e. hepatic stellate cells (Ito cells), which are located in the subendothelial space of Disse and are activated by cellular interactions, in particular with Kupffer cells, platelets and hepatocytes. This leads to their transdifferentiation into myofibroblasts, which synthesize not only a broad array of collagens and other matrix proteins, but also a great spectrum of inflammatory and anti-inflammatory cytokines, chemokines, and growth factors. Among them TGF- β acts as a profibrogenic master cytokine because it stimulates not only the transdifferentiation of hepatic stellate cells into myofibroblasts, but also their matrix synthesis, inhibits matrix degradation and induces apoptosis of hepatocytes. Successful experimental therapeutic strategies are focused on inactivation of TGF- β either by adenoviral-mediated overexpression of soluble TGF- β receptors as scavengers, by intracellular overexpression of mediators inhibiting signal transduction, or by inhibition of the synthesis of TGF- β by use of antisense strategies. For diagnosis and monitoring of fibrogenesis, various systemic parameters are suggested such as specific fragments of procolla-

Institut für Klinische Chemie und Pathobiochemie – Zentrallaboratorium, RWTH-Universitätsklinikum, Aachen, Deutschland.
Korrespondenz: Univ.-Prof. Dr. med., Prof. h. c. (RCH) A. M. Gressner, Institut für Klinische Chemie und Pathobiochemie – Zentrallaboratorium, RWTH-Universitätsklinikum, Pauwelsstraße 30, D-52074 Aachen.
Tel.: +49 241 80 88 679, -80 88 678
Fax: +49 241 80 82 512
E-mail: klinische-chemie@ukaachen.de

gens, hyaluronan, matrix metalloproteinases (MMPs) and their inhibitors (TIMPs) but also combinations of more conventional clinical-chemical parameters known as ‘fibrotest’ and ‘actitest’, respectively. The validity of biochemical parameters, however, is not yet sufficient to replace the invasive method of histological examination of liver biopsy specimens. We expect in the coming years the introduction of effective antifibrotic therapeutic strategies, which cure liver fibrosis and other fibrotic organ diseases.

Keywords: Liver; fibrogenesis; hepatic stellate cells; extracellular matrix; gene therapy; laboratory diagnostics.

Pathobiochemische Reaktionen der erkrankten Leber

Die Leber unterliegt vielfältigen pathogenen Einflüssen, die zu einem breiten Spektrum akuter und chronischer Lebererkrankungen führen können. Neben den erworbenen und häufigen Erkrankungen wie akute Virushepatitiden (B, C, D), nutritiv-toxische (z. B. alkoholische) Leberschädigungen (Fettleber, Alkoholhepatitis) stellen autoimmunologische, parasitäre, Umwelt-toxische und medikamentöse Einflüsse wichtige Ätiologien für chronische und akute Lebererkrankungen dar. Hereditäre metabolische Störungen (z. B. Hämochromatose, α_1 -Antitrypsindefizienz, Glykogenosen, Morbus Wilson) ergänzen das Spektrum der Lebererkrankungen, die in ihrer terminalen Form zu Leberzirrhose und primärem Leberzellkarzinom führen können. Unabhängig von der jeweiligen Ätiologie zeigt das geschädigte Organ im Wesentlichen vier pathobiochemische Reaktionen, die in ihrem Ausprägungsgrad, in ihrer Relation zueinander und der zeitlichen Abfolge ihrer Manifestation für die einzelnen Lebererkrankungen typisch sind. Sie betreffen die Leberzellnekrose und -apoptose, die Cholestase, die Abnahme der metabolischen Leistungsfähigkeit gemessen an Synthese- und Clearancefunktionen und die Fibrose, histologisch dargestellt an der bindegewebigen „Vernarbung“ des geschädigten Lebergewebes. Die Fibrose stellt ein pathophysiologisch besonders wichtiges, in seinen klinischen Konsequenzen außerordentlich bedeutsames, aber nicht alleiniges Kriterium der Leberzirrhose dar, da die Zirrhose zusätzlich die Merkmale der Hepatozytendestruktion, der konsekutiven Parenchymregeneration und der durch bindegewebige Septen herbeigeführten Pseudolobulusbildung aufweist. Während eine Zirrhose ohne Fibrose nicht vorkommt, kann eine Fibrose jedoch ohne Leberzirrhose, insbesondere in einem Frühstadium, auftreten.

Fibrose, Fibrogenese und Fibrolyse

Fibrose beschreibt die Exzessdeposition von extrazellulärer Matrix (ECM) in dem chronisch geschädigten

Organ, die zustande kommt durch einen Verlust homeostatischer Kontrollmechanismen von ECM-Synthese (Fibrogenese) und ECM-Degradation (Fibrolyse) [1]. Neben einer 3- bis 10fachen Konzentrationserhöhung der ECM kommt es zu einer veränderten molekularen Zusammensetzung, zu Verschiebungen der molekularen Mikroheterogenität der einzelnen ECM-Komponenten und zu einer histologischen Umverteilung der extrazellulären Matrix. Nach dem gegenwärtigen Kenntnisstand ist die extrazelluläre Matrix der Leber außerordentlich komplex zusammengesetzt aus Proteinen (verschiedene Kollagentypen und Elastin), teilweise der Basalmembran zugeordneten Glykokonjugaten (strukturelle Glykoproteine und Proteoglykane) sowie reinen Kohlenhydratkomponenten (Glykosaminoglykane), deren wichtigster Vertreter Hyaluronan ist [2] (Abb. 1). Die Konzentrationszunahme der einzelnen Matrixkomponenten erfolgt in einem sehr unterschiedlichen Ausmaß [3, 4]. Die fibrotische Reaktion ist bereits in einem frühen Stadium im perizentral-venösen Bereich, der Zone 3 im Konzept der metabolischen Zonierung, feststellbar, da in dieser Region Hepatozyten besonders vulnerabel gegenüber hypoxischen, nutritiven und toxischen (z. B. Ethanol) Schädigungen sind. Darüber hinaus ist die Exzessdeposition von Bindegewebe im subendothelialen Disse-Raum (zwischen Endothel der Sinusoide und Hepatozyten) ein typischer histologischer Prädispositionsort für Bindegewebe (perisinusoidale Fibrose). In Verbindung mit einer sich ausbildenden (inkompletten) subendothelialen Basalmembran kommt es zur Behinderung des Stoffaustausches zwischen Hepatozyten und sinusoidalem Blutstrom. Neben dieser Diffusionsbarriere („Kapillarisation der Sinusoide“ nach *Popper* und *Schaffner*) führen sowohl perivenöse als auch perisinusoidale Fibrose zur Lumeneinengung und damit zur erhöhten hämodynamischen Resistenz der Leber. Konsequenzen sind eine Reduktion der systemischen metabolischen Funktionen und die

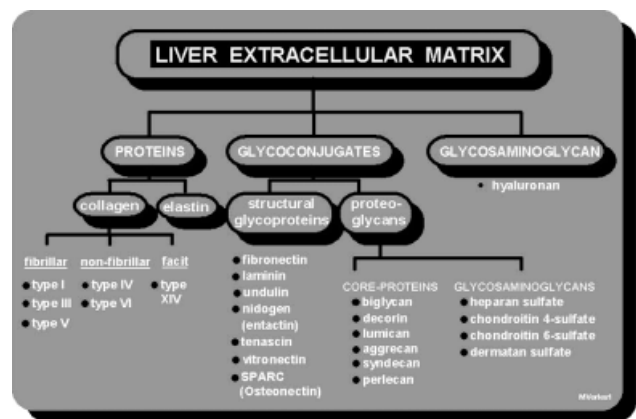


Abbildung 1 Extrazelluläre Matrixkomponenten der Leber. Die Proteoglykane sind sowohl mit ihren klonierten Coreproteinen als auch mit ihren sulfatierten (polyanionischen) Kohlenhydrat-Seitenketten (Glykosaminoglykanen) aufgeführt.

Ausbildung eines Kollateralkreislaufs zwischen Pfortader und oberer Hohlvene, der zu einer weiteren Verschlechterung der Organfunktion (dekompensierte Leberzirrhose: Aszites, hepatogene Enzephalopathie) und zur nicht selten tödlich endenden Ruptur ösophagealer Kollateralfäße (Varizen) führt.

Die Ablagerung der fibrotischen Matrix ist ein aktiver Prozess (Fibrogenese) und beruht nicht, wie früher angenommen, auf einer Kondensation präexistierender Matrix durch nekrotischen Parenchymkollaps [5, 6]. Die Neosynthese von ECM-Molekülen wird ergänzt durch eine gleichzeitige Hemmung ihrer Degradation (Fibolyse) durch Abnahme der Aktivitäten von Matrix-Metalloproteinasen (MMPs) und Proteoglykanasen (Stromolysine), bedingt durch deren verminderte Expression oder erhöhte Synthese spezifischer Inhibitoren der MMPs (TIMP-1, TIMP-2) [7].

Zelluläre Pathobiologie der Fibrogenese

Das Parenchym der Leber setzt sich außer aus Hepatozyten (74 Vol. %) auch aus etwa 6 Vol. % Nicht-Parenchymzellen von heterogener Komposition zusammen. Letztere beinhalten neben Gallengangsepithelzellen und (portalen und kapsulären) Fibroblasten vorwiegend Kupffer-Zellen, sinusoidale Endothelzellen und eine kleine Fraktion lebereigener *large granular lymphocytes* [NK-Zellen] [8] sowie hepatische Sternzellen (*hepatic stellate cells*, HSC), die lebertypische Perizyten darstel-

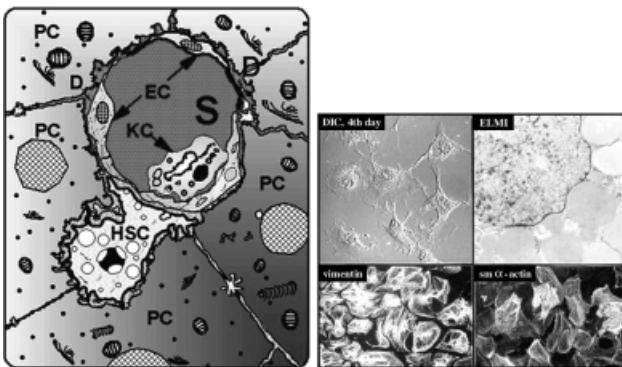


Abbildung 2 (A) Schematische Darstellung der histologischen Lokalisation der hepatischen Sternzellen (*hepatic stellate cells*, HSC), Vitamin A-Speicherzellen, Ito-Zellen im subendothelialen, Disse-Raum (D) des Leberparenchyms. Ihre topographischen Beziehungen zu Parenchymzellen (PC), sinusoidalen Endothelzellen (EC), Kupferzellen (KC) und dem blutführenden Sinusoid (S) sind dargestellt. Das vakuolierte Zytoplasma der HSC symbolisiert ihre physiologische Funktion als Retinoid-Speicherzelle. (B) Lichtmikroskopische Darstellung 4 Tage alter Primärkulturen von hepatischen Sternzellen mit der Nomarsky-differenziellen Interferenzkontrastmikroskopie (DIC, links oben), elektronenmikroskopische Darstellung der Retinoid-beladenen Fettvakuolen, die zu Eindellungen des Kerns der hepatischen Sternzellen führen (ELMI, oben rechts) sowie Immunfärbungen charakteristischer Zytoskelettfilamente wie Vimentin und Smooth-Muscle-(sm)- α -Aktin.

len und früher auch als Vitamin A-, Fettspeicher- und Ito-Zellen bezeichnet wurden [5, 9]. Sie sind im subendothelialen Disse-Raum, in Rezessus benachbarter Hepatozyten lokalisiert, umfassen mit ihren sternförmigen Ausläufern den sinusoidalen Endothelzellschlauch (Abb. 2) und weisen intralobuläre Heterogenität auf [10]. Sie repräsentieren etwa 10% der Nicht-Parenchymzellen und dienen der Retinoid-Speicherung in großen, triglyceridreichen Vakuolen, die es erlauben, die Zellen aufgrund ihrer intensiven Vitamin-A-Fluoreszenz zu identifizieren. Ihre eminent wichtige pathophysiologische Bedeutung ist der Fähigkeit zuzuschreiben, in dem geschädigten Gewebe, gleichermaßen bei In-vitro-Kultivierung auf Plastikoberflächen, phänotypisch zu Myofibroblasten (MFB) zu transdifferenzieren und zu proliferieren [11–14]. Während dieses Transdifferenzierungsvorganges nehmen die Volumendichte der Fettvakuolen und der Retinoidgehalt stark ab, wohingegen ein prominentes glattes Muskel- α -Aktin-Zytoskelett und ein ausgeprägtes rauhes endoplasmatisches Retikulum aufgebaut werden. Pathogenetisch entscheidend ist die Zunahme der Expression und Sekretion nahezu aller in Abb. 1 zusammengefassten, in der fibrotischen ECM vorkommenden Matrixmoleküle wie Typ I und Typ III Kollagen, Fibronektin, Laminin, Proteoglykane und Hyaluronan (Abb. 3). Desweiteren werden die entzündlich aktivierten hepatischen Sternzellen mitogen stimuliert und erwerben kontraktile Eigenschaften, die u. a. von Endothelin-1 und NO reguliert werden [15]. Letztere ermöglichen diesen Zellen einen wichtigen Einfluss auf die Lumenregulation der Sinusoide und damit auf die intrahepatische Hämodynamik. Für viele autokrine und parakrine Mechanismen ist die Expression pro- und anti-inflammatorischer Zytokine, einer Reihe von Chemokinen [16] und Wachstumsfaktoren durch HSC von besonderer Relevanz, da sie einerseits zur Perpetuation des entzündlichen und fibrotischen Prozesses und andererseits zur Parenchymzellschädigung durch Nekrose und Apoptose beitragen [17] (Abb. 3).

Molekulare Pathobiologie der Fibrogenese

Die oben beschriebene Aktivierung ruhender hepatischer Sternzellen ist das Ergebnis Zytokin-vermittelter parakriner Interaktionen mit sessilen Leberzellen (Parenchymzellen, Kupfer-Zellen, Endothelzellen) und entzündlich infiltrierenden Zelltypen (Monozyten, polymorphkernige Granulozyten, Thrombozyten) [18] (Abb. 4). Die genannten Zellen exprimieren unter Aktivierungsbedingungen (z. B. Kupfer-Zellen, Monozyten, Endothelzellen) oder setzen schädigungsbedingt (z. B. Hepatozyten, Thrombozyten) eine Vielzahl von Mediatoren frei, die die Aktivierung (Proliferation, Transdifferenzierung, ECM-Expression) der hepatischen Sternzellen/Myofibroblasten stimulieren. Unter den parakrin wirkenden Faktoren kommt *transforming growth factor* (TGF)- β , *connective tissue growth factor*

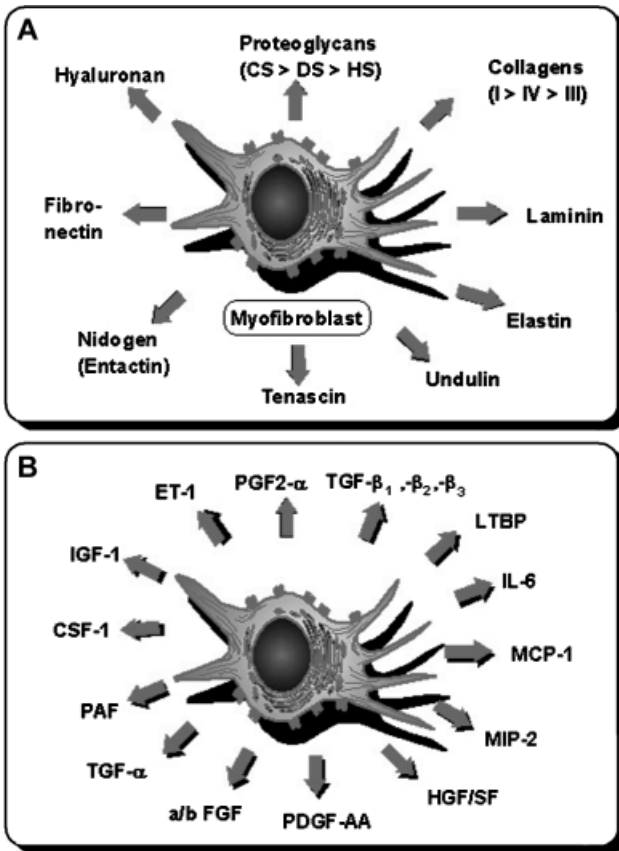


Abbildung 3 Synoptische Darstellung der von transdifferenzierten hepatischen Sternzellen (Myofibroblasten) exprimierten und sezernierten Komponenten der extrazellulären Matrix (A) und der von diesen Zellen sezernierten Zytokine, Chemokine, Wachstumsfaktoren und Nicht-Peptidmediatoren (B). TGF-β, transforming growth factor β; LTBP, latent TGF-β-binding protein; IL, Interleukin; MCP, monocyte chemotactic peptide; MIP, macrophage inflammatory protein; HGF/SF, hepatocyte growth factor/scatter factor; PDGF, platelet-derived growth factor; a/b-FGF, acidic/basic fibroblast growth factor; PAF, platelet-activating factor; CSF, colony-stimulating factor; IGF, insulin-like growth factor; ET, Endothelin; PGF2, Prostaglandin F2.

(CTGF), platelet-derived growth factor (PDGF), Tumornekrosefaktor-α (TNF-α), endothelin-1 (ET-1), fibroblast growth factor (FGF), epidermal growth factor (EGF), insulin-like growth factor (IGF), vascular endothelial growth factor (VEGF), IL-6, offenbar auch Leptin u. a. wichtige pathogenetische Bedeutung zu [19]. In der Hierarchie fibrogener Zytokine spielen TGF-β und PDGF vermutlich eine entscheidende Rolle, da sie die mitogene Aktivierung, die Migration und die Transdifferenzierung der hepatischen Sternzellen unmittelbar beeinflussen und durch eigene Expression para- und autokrin regulieren [20]. TGF-β wird in Form eines latenten, zur Rezeptorbindung und Signalauslösung nicht fähigen, hochmolekularen Komplexes von Kupffer-Zellen, Myofibroblasten und Endothelzellen sezerniert [21] und von geschädigten, permeabilisierten Hepatozy-

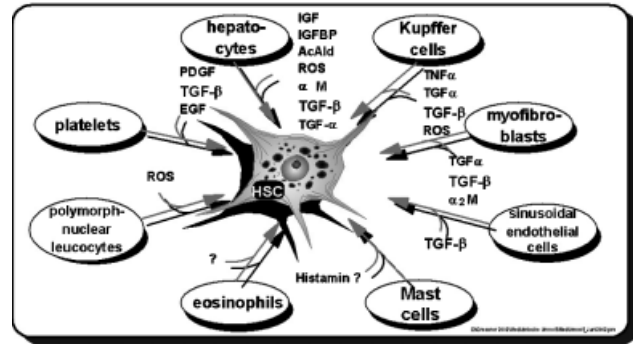


Abbildung 4 Synopsis zellulärer Interaktionen von hepatischen Sternzellen (HSC) mit sessilen Leberzellen und involvierten inflammatorischen Zellen. Abkürzungen der Zytokine siehe Legende von Abb. 3. ROS, reaktive Sauerstoffspezies; EGF, epidermal growth factor; α₂M, α₂ Makroglobulin; AcAld, Acetaldehyd; TNF, Tumornekrosefaktor.

ten freigesetzt [22, 23]. Extrazellulär erfolgt eine proteolytische (Plasmin, Trypsin, Chymase) oder nicht-proteolytische (Thrombospondin-I) Aktivierung, die den entscheidenden Regulationsmechanismus der Bioaktivität dieses pluripotenten Zytokins darstellt. Neben Zytokinen spielen bei der Aktivierung und Matrixgenexpression auch Proteasen (z. B. Thrombin, Trypsin) und reaktive Sauerstoffspezies (ROS) eine pathogenetisch wichtige Rolle [24, 25], da sowohl bei alkoholischen wie nicht-alkoholischen entzündlichen Lebererkrankungen permanent H₂O₂, Hydroxylradikale, Superoxidanionen, Peroxynitrite u. a. entstehen [26]. Obwohl die hepatischen Sternzellen und die Leber über ein effektives Potenzial antioxidativer Protektionsmechanismen verfügen, kommt diesen hochreaktiven, extrem kurzlebigen Mediatoren eine bedeutsame pathogenetische Rolle zu [27].

In Zusammenfassung der zellulären und molekularen Pathogenese der Fibrose kann ein Kaskadenmodell der Aktivierung hepatischer Sternzellen formuliert werden, indem geschädigte Hepatozyten, aktivierte Kupffer-Zellen und desintegrierte Thrombozyten sowie Myofibroblasten zur Aktivierung und Perpetuierung des fibrogenen Mechanismus beitragen [5] (Abb. 5). In der präinflammatorischen Phase (Abb. 5A) folgt die initiale Aktivierung der hepatischen Sternzellen unmittelbar der Parenchymzellschädigung durch Freisetzung eines im einzelnen noch nicht genau charakterisierten Mitogens („Wundhormon“), von latentem TGF-β, Azetaldehyd (AcAld) aus dem Ethanol-Stoffwechsel (EtOH) und Peroxidationsproduktion (POX) [22, 23]. Der Wegfall eines hepatozellulären Membraninhibitors (Arginase?) wird diskutiert.

In der darauf folgenden inflammatorischen Phase (Abb. 5B) kommt es zur phagozytotischen Aktivierung der Kupffer-Zellen und zur Invasion von Blut-Monozyten, die parakrin über TGF-α und TGF-β, TNF-α und weitere Zytokine die Proliferation und Transdifferenzierung ruhender hepatischer Sternzellen in Myofibrobla-

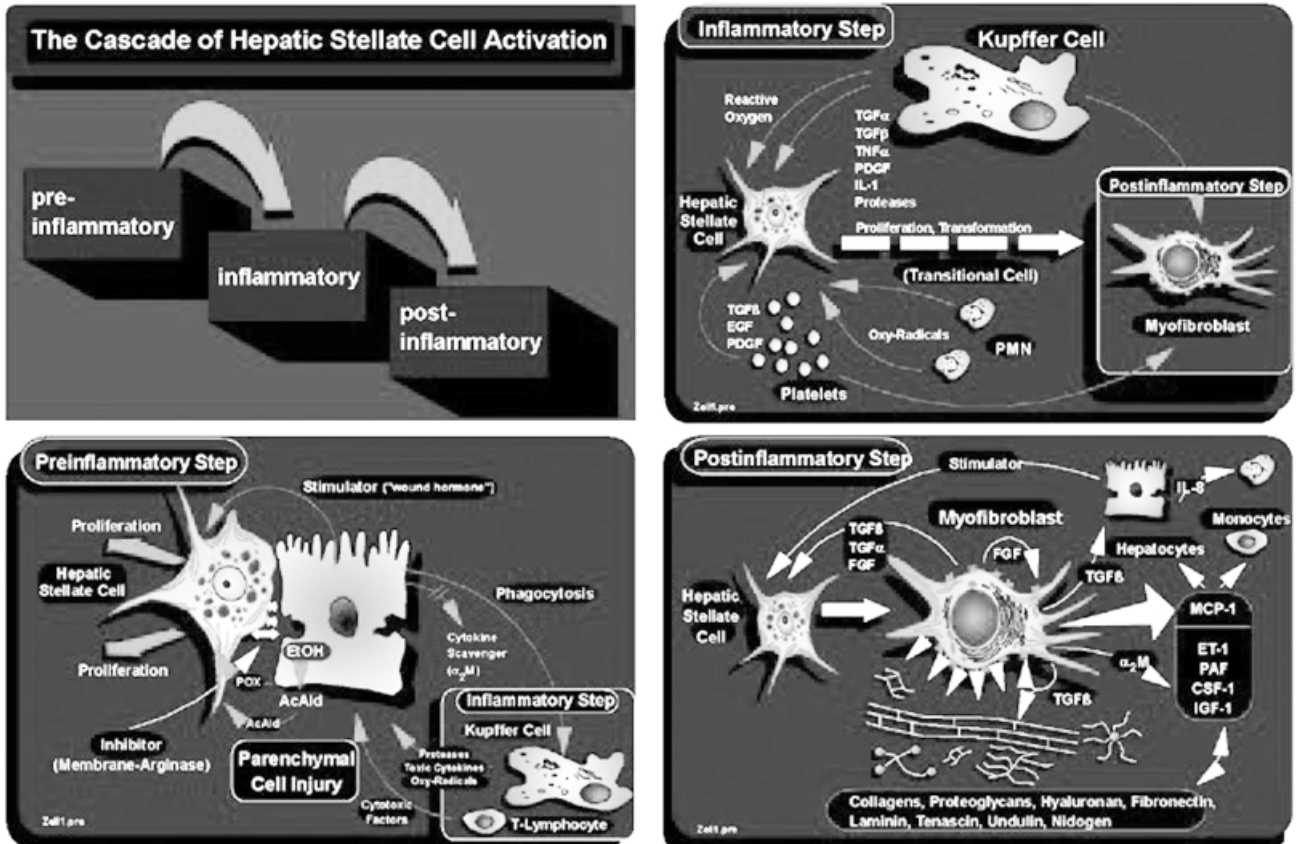


Abbildung 5 (A–C) Kaskadenmodell der Aktivierung von hepatischen Sternzellen zu Myofibroblasten im Rahmen einer schädigungsbedingten Entzündung. Sowohl parakrine Effekte von geschädigten Hepatozyten, aktivierten Kupfferzellen und zerfallenden Thrombozyten wie auch autokrine Mechanismen tragen zur Aktivierung und Perpetuierung des fibrogenen Mechanismus bei. Einige der relevanten Zytokine sind angegeben. Siehe Text für Erläuterungen. Abkürzungen: s. Legende zu Abb. 3.

sten (über *transitional cells*) stimulieren. Reaktive Sauerstoffprodukte, TGF- β und TNF- α , die von aktivierten Kupffer-Zellen sezerniert werden, können sich toxisch und apoptotisch auf Hepatozyten auswirken und somit Phase A unterhalten. Zusätzlich sind Zytokine der T-Lymphozyten bei der Aktivierung von Kupffer-Zellen und bei der Parenchymzellschädigung wirksam. Im Entzündungsgebiet angereicherte, zerfallene Thrombozyten setzen TGF- α , TGF- β , PDGF und EGF frei, die hepatische Sternzellen und Myofibroblasten aktivieren. Der ausgebildete Myofibroblast ist durch Expression von TGF- α , ET-1, PDGF, Leptin und MCP-1 sowie der dazugehörigen Rezeptoren zu einer autokrinen Aktivierung fähig [28, 29]. Darüber hinaus können die genannten Zytokine der Myofibroblasten parakrin noch nicht transdifferenzierte hepatische Sternzellen aktivieren (postinflammatorische Phase, Abb. 5C). In dieser Phase ist eine Perpetuation des fibrogenen Prozesses auch nach Wegfall der ursprünglich auslösenden Noxe vorstellbar. Myofibroblasten synthetisieren ein breites Spektrum der für die Fibrogenese relevanten Matrixproteine, die wiederum über Integrinrezeptoren und *focal adhesion kinases* (FAK) Rückwirkungen auf die Diffe-

renzung, Proliferation und Genexpression dieser Zellen haben.

Molekulare Therapieansätze

Aus der vertieften Einsicht in die pathogenetische Sequenz der Fibroseentwicklung ergeben sich molekulartherapeutische Möglichkeiten, die auf der Neutralisation fibrogenen Masterzytokine (z. B. TGF- β , PDGF), auf Antioxidantien (z. B. Flavonoide, Tocopherol), auf der Inhibition der proteolytischen Aktivierung von latenten Zytokinen (z. B. TGF- β) sowie auf der Elimination der hepatischen Sternzellen bzw. der transdifferenzierten Myofibroblasten (z. B. durch gezielte Apoptose) beruhen (Tab. 1). Neueste, vorwiegend noch experimentelle Therapieansätze konzentrieren sich auf die Unterbrechung intrazellulärer Signaltransduktionswege (z. B. der Smad-Kaskade für TGF- β , des MAP-Kinaseweges oder der Jak/STAT-Kaskade). Nahezu alle diese Maßnahmen verlangen eine Zell- und, wenn möglich, Krankheits-spezifische Eingriffsmöglichkeit, da die genannten Zytokine und Signaltransduktionswege weder

Tabelle 1 Therapeutischer Antagonismus der TGF- β Funktion in der Leberfibrogenese

Faktor	Berichtete Wirkung	Allgemeiner Mechanismus
Bindungsproteine		
α 2-Makroglobulin	Scavenger von TGF- β	Bindung von TGF- β
Decorin	Scavenger von TGF- β	Bindung von TGF- β
Pharmaka		
Camostat Mesilat	Suppression der Plasminaktivität	Serinproteaseinhibitor
Perindopril	Suppression der TGF- β 1-Expression	ACE-Inhibitor
Candesartan	Suppression der TGF- β 1-Expression	AT ₁ -Rezeptorblocker
Antioxidanzien		
Glutathion	Glutathion antagonisiert TGF- β und Wirkung als Antioxidanz	Antioxidanz
α -Tocopherol	Suppression der Fibrose	Antioxidanz
Resveratrol	Suppression der Fibrose	Antioxidanz
Quercetin	Suppression der Fibrose	Antioxidanz
N-Acetylcystein	Suppression der Fibrose	Antioxidanz, Rezeptorinhibierung
Pflanzliche Substanzen		
Sho-Saiko-To	Reduktion experimentell induzierter Fibrosen	Antioxidanzien Baicalin, Baicalein
<i>Salvia miltiorrhiza</i>	Reduktion experimentell induzierter Fibrosen	Suppression der TGF- β 1-Expression
Lösliche Rezeptoren		
Dominant negativer Typ II TGF- β -Rezeptor	Blockade der experimentell induzierten Fibrose	Bindung von aktivem TGF- β
Löslicher TGF- β -Rezeptor	Blockade der experimentell induzierten Fibrose	Bindung von aktivem TGF- β
TGF-β-Syntheseblocker		
Hepatozytenwachstumsfaktor	Suppression der TGF- β -Synthese	Blockade der TGF- β 1-Expression
Antisense mRNA	Suppression der TGF- β -Synthese	Blockade der TGF- β 1-Expression
Smad7-Überexpression	Inhibition der TGF- β Rezeptor-Smad2/3-Phosphorylierung	Hemmung des intrazellulären TGF- β Signalweges und der TGF- β -Wirkung

Leber- noch Sternzell-spezifisch sind. Dieses *targeting* inhibitorischer Maßnahmen kann konzeptionell auf dem Wege der Genterapie erreicht werden, wenn hepatotrope Vektoren (z. B. adenovirale Vektoren) in Verbindung mit Zell-spezifischen Promotoren zum Einsatz kommen. Durch genterapeutische Überexpression von TGF- β -Scavenger-Proteinen (z. B. trunkierte, die extrazelluläre Domäne der Typ II und III TGF- β -Rezeptoren enthaltende Fusionsproteine mit der Fc-Domäne des IgG) wurden im Tierversuch vielversprechende antifibrotische Effekte erreicht [30, 31]. Adenovirale Transfektion des Smad7-Gens, welches zur Überexpression von Smad7 als wichtigstem Inhibitor der intrazellulären TGF- β -Signalkaskade führt, könnte einen weiteren, sehr hoffnungsvollen Ansatz zur antifibrotischen Molekulartherapie darstellen [32]. Unabhängig von diesen

aufwendigen und daher kostenintensiveren Therapieformen besteht weiterhin die durchaus realistische Möglichkeit, auch mit relativ einfachen, wenige Nebeneffekte habenden Medikamenten die entzündlich-fibrotische Destruktion des Organs zu beschränken, was z. B. durch Einsatz antioxidativ wirksamer Pharmaka, von N-Acetyl-L-Cystein, Pentoxifyllin, HMG-CoA-Reduktase-Inhibitoren (Statine) u. a. möglich sein kann.

Die Therapie der chronischen Hepatitis C mit pegyliertem Interferon α 2 und Ribavirin hat gezeigt, dass eine fortgeschrittene Fibrose und sogar Zirrhose reversibel sein kann.

Eine Genterapie mit MMPs führt zum Abbau der Matrix bei vollentwickelter Fibrose.

Nichtinvasive Diagnostik und Verlaufskontrolle der Fibrose

Die konventionelle Methode zur Diagnostik und Kontrolle des fibrotischen Gewebeumbaus mit Entwicklung einer Zirrhose ist die histologische, gegebenenfalls Computer-assistierte Evaluierung der Leberbiopsie, die Aussagen zum Ausmaß der bindegewebigen Veränderungen und zur Krankheitsaktivität gestattet. Die Nachteile dieses Verfahrens sind jedoch offensichtlich: Invasives Vorgehen mit potentieller Morbidität und Mortalität, *sampling error*, das heißt ca. 20 mg Feuchtgewicht können (nicht immer) repräsentativ für ein Organ von etwa 1,5 kg sein, subjektive Evaluation durch Untersucher mit etwa 20%iger Streuung der Ergebnisse hinsichtlich Einordnung in verschiedene Fibrose-Scores (Metavir, Knodell, Ishak) und Begrenzung auf statische Aussagen, die eine dynamische Beurteilung im Allgemeinen nicht zulässt. Aus diesen Gründen ist die Entwicklung von Serumkenngrößen der Fibrogenese zwingend, die idealerweise leber- und krankheitsspezifisch, frei von extrahepatischen Einflussgrößen, kostengünstig und leicht mechanisierbar sein sollten. Gegenwärtig stehen Parameter, die diesen Kriterien genügen, noch nicht zur Verfügung [1]. Die eingesetzten Kenngrößen rekrutieren sich aus Metaboliten des extrazellulären Processings (z. B. N- oder C-terminale Propeptide des Typ I, III und IV Kollagens) und des Katabolismus extrazellulärer Matrixkomponenten (z. B. Hyaluronan = Hyaluronsäure, Laminin, Undulin, Tenascin), aus biosynthetischen Enzymen der extrazellulären Matrix (z. B. Lysyloxidase, Prolyl- und Lysylhydroxylase) und einigen Enzymen und deren Inhibitoren des Abbaus der extrazellulären Matrix (z. B. TIMP-1, MMP-2). Multicenter-Evaluationen sind darauf gerichtet, Profile dieser Kenngrößen zu erstellen, die typisch sind für die aktive Neusynthese der extrazellulären Matrix (Fibrogenese) und des Abbaus bereits abgelagerter Bindegewebskomponenten (Fibrolyse). Seit kurzem ist ein als Fibrotest beschriebener Kombinationsansatz kommerziell erhältlich, der auf der quantitativen Bestimmung von α 2-Makroglobulin, Haptoglobin, Apolipoprotein A1, Gesamtbilirubin und γ -Glutamyl Transpeptidase (γ -GT) beruht und mit dem Fibrose-Score nach Metavir hervorragend korrelieren soll [33]. Der Vorteil dieses Kombinationsmarkers, der gegebenenfalls noch mit der ALT-Aktivität kombiniert werden kann (dann als „Actitest“ bezeichnet), benutzt ausschließlich gängige klinisch-chemische Kenngrößen, die kostengünstig und hochmechanisiert abgearbeitet werden können. Wie in anderen Bereichen der Klinischen Chemie wird sich vermutlich auch bei der nichtinvasiven Fibrosediagnostik das biochemische *profiling* durchsetzen, welches anhand einer Vielzahl von, z. B. massenspektrometrisch bestimmten Einzelproteinen Fibrosestadium und -aktivität aus dem Serum zu messen gestattet.

Eine pathobiochemische und analytische Herausforderung der Zukunft besteht darin, genetische Faktoren

zu identifizieren, die das breite interindividuelle fibrotische Reaktionsspektrum auf gleiche Ätiologien chronischer Lebererkrankungen begründen. Die unterschiedlichen Progressionsraten der Fibrose bei chronischer Hepatitis C (*slow fibrosers vs. rapid fibrosers*) argumentieren unter anderem für genetische Suszeptibilitäten, die im Polymorphismus immunregulatorischer Proteine (z. B. CD14, HLA II-Haplotypen), pro- und antiinflammatorischer Zytokine (z. B. IL-1 β , IL-1 Rezeptor, TNF- α , IL-10), fibrogener Wachstumsfaktoren (z. B. TGF- β 1, Leptin), Chemokinen (Interferon- γ) und der Enzyme des pro- und antioxidativen Stoffwechsels (Cytochrom P450 2E1, Superoxiddismutase) beruhen [34]. So konnten kürzlich TGF- β 1 Promotorpolymorphismen eindeutig mit fibrotischen Progressionsraten bei chronischer Hepatitis C statistisch in Verbindung gebracht werden [35].

Literatur

- Gressner AM, Schuppan D. Cellular and molecular pathobiology, pharmacological intervention, and biochemical assessment of liver fibrosis. In: Bircher J, Benhamou JP, McIntyre N, Rizzetto M, Rodés J (eds). Oxford textbook of clinical hepatology. Oxford, Oxford Medical Publications, 1999, pp 607–627.
- Schuppan D, Gressner AM. Function and metabolism of collagens and other extracellular matrix proteins. In: Bircher J, Benhamou JP, McIntyre N, Rizzetto M, Rodés J (eds). Oxford textbook of clinical hepatology. Oxford, Oxford Medical Publications, 1999, pp 381–407.
- Gressner AM. Hepatic fibrogenesis: the puzzle of interacting cells, fibrogenic cytokines, regulatory loops, and extracellular matrix molecules. Z Gastroenterol 1992;30(Suppl 1):5–16.
- Gressner AM. Perspectives in liver fibrosis: from bench to bedside. Alpe-Adria J Med 1996;1:29–37.
- Gressner AM, Bachem MG. Molecular mechanisms of liver fibrogenesis – a homage to the role of activated fat-storing cells. Digestion 1995;56:335–346.
- Friedman SL. Molecular regulation of hepatic fibrosis, an integrated cellular response to tissue injury. J Biol Chem 2000;275:2247–2250.
- Yoshiji H, Kuriyama S, Miyamoto Y, Thorgerirsson UP, Gomez DE, Kawata M, Yoshii J, Ikenaka Y, Noguchi R, Tsujinoue H, Nakatani T, Thorgerirsson SS, Fukui H. Tissue inhibitor of metalloproteinases-1 promotes liver fibrosis development in a transgenic mouse model. Hepatology 2000;32:1248–1254.
- Bouwens L, Wisse E. Pit cells in the liver. Liver 1992;12:3–9.
- Pinzani M. Novel insights into the biology and physiology of the Ito cell. Pharmacol Ther 1995;66:387–412.
- Zou ZZ, Ekataksin W, Wake K. Zonal and regional differences identified from precision mapping of vitamin A-storing lipid droplets of the hepatic stellate cells in pig liver: a novel concept of addressing the intralobular area of heterogeneity. Hepatology 1998;27(4):1098–1108.
- Geerts A, Lazou JM, De Bleser P, Wisse E. Tissue distribution, quantitation and proliferation kinetics of fat storing cells in carbon tetrachloride-injured rat liver. Hepatology 1991;13:1193–1202.
- Gressner AM. Perisinusoidal lipocytes and fibrogenesis. Gut 1994;35:1331–1333.
- Gressner AM. Transdifferentiation of hepatic stellate cells (Ito cells) to myofibroblasts: a key event in hepatic fibrogenesis. Kidney Int 1996;49:S39–S45.
- Reeves HL, Friedman SL. Activation of hepatic stellate cells – a key issue in liver fibrosis. Front Biosci 2002;7:D808–D826.

15. Rockey D. The cellular pathogenesis of portal hypertension: stellate cell contractility, endothelin, and nitric oxide. *Hepatology* 1997;25:2–5.
16. Sprenger H, Kaufmann A, Garn H, Lahme B, Gemsa D, Gressner AM. Induction of neutrophil attracting chemokines in transforming hepatic stellate cells. *Gastroenterology* 1997;113:277–285.
17. Gressner AM, Polzar B, Lahme B, Mannherz HG. Induction of rat liver parenchymal cell apoptosis by hepatic myofibroblasts via transforming growth factor-beta. *Hepatology* 1996;23:571–581.
18. Gressner AM, Bachem MG. Cellular communications and cell-matrix interactions in the pathogenesis of fibroproliferative disease: liver fibrosis as a paradigm. *Ann Biol Clin* 1994;52:205–226.
19. Gressner AM. Mediators of hepatic fibrogenesis. *Hepatogastroenterology* 1996;43:92–103.
20. Gressner AM, Weiskirchen R, Breitkopf K, Dooley S. Roles of TGF- β in hepatic fibrosis. *Front Biosci* 2002;7:D793–D807.
21. Mangasser-Stephan K, Gressner AM. Molecular and functional aspects of latent transforming growth factor-beta binding protein: just a masking protein? *Cell Tissue Res* 1999;297:363–370.
22. Roth S, Schurek J, Gressner AM. Expression and release of the latent TGF- β binding protein (LTBP) by hepatocytes from rat liver. *Hepatology* 1997;25(6):1398–1405.
23. Roth S, Michel K, Gressner AM. (Latent) transforming growth factor-beta in liver parenchymal cells, its injury-dependent release and paracrine effects on hepatic stellate cells. *Hepatology* 1998;27:1003–1012.
24. Greenwel P, Dominguez-Rosales JA, Mavi G, Rivasestilla AM, Rojkind M. Hydrogen peroxide: a link between acetaldehyde-elicited alpha 1(I) collagen gene up-regulation and oxidative stress in mouse hepatic stellate cells. *Hepatology* 2000;31(1):109–116.
25. Nieto N, Friedman SL, Cederbaum AI. Cytochrome P450 2E1-derived reactive oxygen species mediate paracrine stimulation of collagen I protein synthesis by hepatic stellate cells. *J Biol Chem* 2002;277:9853–9864.
26. Jain SK, Pemberton PW, Smith A, McMahon RFT, Burrows PC, Aboutwerat A, Warnes TW. Oxidative stress in chronic hepatitis C: not just a feature of late stage disease. *J Hepatol* 2002;36:805–811.
27. Parola M, Robino G. Oxidative stress-related molecules and liver fibrosis. *J Hepatol* 2001;35:297–306.
28. Saxena NK, Ikeda K, Rockey DC, Friedman SL, Anania FA. Leptin in hepatic fibrosis: evidence for increased collagen production in stellate cells and lean littermates of *ob/ob* mice. *Hepatology* 2002;35:762–771.
29. Win KM, Charlotte F, Mallat A, Cherqui D, Martin N, Mavier P, Preaux AM, Dhumeaux D, Rosenbaum J. Mitogenic effects of transforming growth factor-beta1 on human Ito cells in culture: evidence for mediation by endogenous platelet-derived growth factor. *Hepatology* 1993;18:137–145.
30. Ueno H, Sakamoto T, Nakamura T, Qi Z, Astuchi N, Takeshita A, Shimizu K, Ohashi H. A soluble transforming growth factor beta receptor expressed in muscle prevents liver fibrogenesis and dysfunction in rats. *Hum Gene Ther* 2000;11:33–42.
31. Yata Y, Gotwals P, Kotliansky V, Rockey DC. Dose-dependent inhibition of hepatic fibrosis in mice by a TGF- β soluble receptor: implications for antifibrotic therapy. *Hepatology* 2002;35:1022–1030.
32. Dooley S, Hamzavi J, Breitkopf K, Wiercinska E, Said HM, Lorenzen J, ten Dijke P, Gressner AM. Smad7 prevents activation of hepatic stellate cells and liver fibrosis. *Gastroenterology* 2003;25:178–191.
33. Imbert-Bismut F, Ratziu V, Pieroni L, Charlotte F, Benhamou Y, Poynard T. Biochemical markers of liver fibrosis in patients with hepatitis C virus infection: a prospective study. *Lancet* 2001;357:1069–1075.
34. Bataller R, North KE, Brenner DA. Genetic polymorphisms and the progression of liver fibrosis: a critical appraisal. *Hepatology* 2003;37:493–503.
35. Gewaltig J, Mangasser-Stephan K, Gartung C, Biesterfeld S, Gressner AM. Association of polymorphisms of the transforming growth factor- β 1 gene with the rate of progression of HCV-induced liver fibrosis. *Clin Chim Acta* 2002;316:83–94.