

## **Untersuchungen zur Morphologie und Biochemie der Wundheilung bei Leberschnittverletzungen\***

H. Kampmann, G. Garbe, H. Armbrust und G. Bode

Institut für Rechtsmedizin der Universität Göttingen, Windausweg 2, D-3400 Göttingen,  
Bundesrepublik Deutschland

### **Investigations on the Morphology and Biochemistry of Wound Healing After Injury of the Liver**

**Summary.** The early phase of wound repair after liver incisions was investigated by histological, enzyme-histochemical, and biochemical methods in guinea pigs. There are considerable differences in cellular and histochemical reactions in comparison to incisions of the skin:

1. The rapid leukocytic reaction showed little change during the observation interval (48 h). In short survival times epithelial cells show signs of hypoxidosis and loss of glycogen at the edge of an incision. Proliferation of organ-specific and mesenchymal cells was observed after more than 24 h.
2. Alterations of the investigated enzymes in the traumatic area are important diagnostic parameters in the early stages of wound healing.
3. In the early 12 h after injury distinct increase of histamine was observed, while serotonin was noticed to decrease.
4. Therefore, the determination of wound age in the early wound reactions after injuries of the liver should include enzymehistochemical methods.

**Key words:** Wound healing, after incision of the liver – Liver injuries, their early morphological and biochemical reactions – Histamine, after incision of the liver – Serotonin, after incision of the liver – Vital reactions

**Zusammenfassung.** Es wird über tierexperimentelle Untersuchungen berichtet, die sich unter Einbeziehung histologischer, enzymhistochemischer und biochemischer Methoden mit den frühen Reparationsvorgängen nach Leberschnittverletzungen beschäftigen. Die reaktiven Veränderungen auf zellulärer

\* Auszugsweise vorgetragen auf der 58. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Rechtsmedizin, Münster, September 1979  
Sonderdruckanfragen an: Dr. H. Kampmann (Adresse siehe oben)

und histochemischer Ebene zeigen gegenüber den an Hautverletzungen bekannten Verläufen z. T. erhebliche Unterschiede:

1. Die Gewebsleukozytose war für die Bestimmung des Wundalters weniger geeignet, da die frühzeitig nachweisbare leukozytäre Reaktion sich im weiteren Verlauf nur unwesentlich änderte. Bei den kurzen Überlebenszeiten zeigten die Leberepithelien in der Umgebung der Schnittverletzung Hypoxidosezeichen und Glykogenverlust. Andere histomorphologische Veränderungen traten erst nach 24 h auf, so die Proliferation von organspezifischen und mesenchymalen Zellen.

2. Die mit histochemischen Methoden nachweisbaren Aktivitätsveränderungen der Enzyme im Verletzungsbereich lieferten insbesondere für die frühe Wundphase wichtige diagnostische Parameter.

3. In den ersten 12 h fand sich eine deutliche Zunahme des Histamingehaltes im Wundgebiet, der Serotoninspiegel zeigte ein gegenläufiges Verhalten.

4. Wir empfehlen daher, zur Schätzung des Wundalters bei Leberverletzungen enzymhistochemische Methoden mit einzubeziehen.

**Schlüsselwörter:** Wundheilung, bei Leberschnittverletzung – Leberverletzungen, frühe morphologische und biochemische Reaktionen – Histamin, bei Leberschnittverletzung – Serotonin, bei Leberschnittverletzung – vitale Reaktionen

Bekanntlich führt eine Schädigung der Zellen und des Gewebes zu einer Summe morphologischer und biochemischer Reaktionen, die überwiegend vom Gefäßbindegewebe getragen werden. Nach Lindner (1967) verläuft diese vitale Reaktion unabhängig von der Verletzungs- oder Entzündungsursache. Während der Altersbestimmung von Hautverletzungen und ihrer Beeinflussung durch exogene und endogene Faktoren zahlreiche Arbeiten gewidmet wurden (Raekallio 1964, 1965, 1970, 1974; Berg 1972, 1977, 1978; Bode et al. 1979; Kampmann et al. 1978), sind die Kenntnisse über den zeitlichen Ablauf der Reparationsvorgänge von Verletzungen innerer Organe weniger umfassend; dies gilt besonders für die frühe Wundphase.

Erstmals berichtete v. Podwyssozki (1886) über die große Regenerationsfähigkeit der Leber; ähnliche Befunde konnten auch in neuerer Zeit z. B. nach Teilhepatektomie (Bade 1964; Bartok et al. 1962; Duguay et al. 1975; Koning et al. 1975; Lerman et al. 1977; Rosenkranz et al. 1975), nach lokaler mechanischer bzw. thermischer Schädigung der Leber (Helpap 1973; Helpap et al. 1970, 1972, 1977; Breining et al. 1972; Sandblom et al. 1976) sowie nach experimentellem Gallengangsverschluß (Rüttner u. Rondez 1962) erhoben werden. Beneke (1972), der Punktionsverletzungen untersuchte, wies darauf hin, daß durch Erfassung mehrerer histologischer Kriterien eine annähernde Altersbestimmung von Verletzungen innerer Organe möglich ist; seinen Untersuchungen lagen allein lichtmikroskopische zellmorphologische Parameter zugrunde.

Obwohl sich in den letzten 2 Jahrzehnten eine Vielzahl von Autoren mit dem Verhalten der Leberenzyme bei Vergiftung (Hettwer 1974, 1975; Jonek et al.

1964, 1965; Kunze u. Kemmer 1965; Simon et al. 1964; Walther u. v. Lieven 1971), bei Verbrennung (Herrmann et al. 1965), bei experimenteller Cirrhose (Caulet et al. 1972; Zelder et al. 1975) oder nach Ischaemie (Kupcsulik et al. 1977) im Tierexperiment beschäftigten, sind systematische zeitabhängige enzymhistochemische Studien an Verletzungen innerer Organe selten (Karkola 1972). Griffin et al. (1965) studierten die zeitabhängigen Veränderungen einer ischaemischen Nekrose an der Leber der Maus *in vitro*, wobei der Enzymgehalt quantitativ im Leberhomogenat bestimmt wurde.

Biochemische Untersuchungen sind überwiegend bei der Hautwundheilung (Berg et al. 1968, 1978; Fazekas und Virágos-Kis 1970, 1971) auch nach 2/3-Hepatektomie (Chambon et al. 1977), aber nicht zur systematischen Altersbestimmung von Organverletzungen durchgeführt worden.

Uns interessierte, ob durch Einbeziehung enzymhistochemischer und biochemischer Kriterien eine genauere Schätzung der Überlebenszeit von Leberverletzungen in der frühen Wundphase möglich ist. Autoptisches Material erschien für Studien zum chronologischen Ablauf der Heilungsvorgänge nicht geeignet. Im folgenden wird daher über tierexperimentelle Untersuchungen berichtet, die sich unter Einbeziehung histologischer, enzymhistochemischer und biochemischer Methoden mit den Reparationsvorgängen nach Leberschnittverletzung beschäftigen.

## Methodik

Als Versuchstiere dienten juvenile Meerschweinchen vom Stamm Pirbright White W 58 mit einem Gewicht zwischen 280 und 400 g (Mittel 330 g). Die Tiere wurden in tiefer Äthernarkose laparotomiert, anschließend erfolgte ein bis zu 2 cm langer Schnitt in den rechten oberen Leberlappen; danach schichtweiser Verschluß der Bauchdecken. Nach der OP erhielten die Meerschweinchen lediglich Wasser „ad libitum“. Der Gewichtsverlust lag bei den Langzeitversuchen zwischen 5 und 50 g, im Mittel bei 25 g. Die Tierkollektive wurden jeweils zur gleichen Tageszeit nach einer Überlebenszeit von 1½, 3, 6, 12, 24 und 48 Stunden durch Genickschlag getötet und das Lebergewebe entlang der Schnittverletzung in 4 Portionen aufgeteilt. Bestimmt wurden der Histamin- und Serotonininhalt im Wundgebiet nach den Methoden von Shore et al. (1959) und Udenfriend et al. (1955) in der Modifikation von Berg et al. (1968); für die Bestimmung der biogenen Amine diente Gewebe aus dem benachbarten lateralen unverletzten Leberlappen als Vergleich. Beim Histamin erfolgt die Angabe als µg Base pro Gramm Gewebe; die Serotoninmengen beziehen sich auf Kreatininphosphat ebenfalls pro Gramm Frischgewicht.

Die histomorphologischen Veränderungen im Verletzungsgebiet wurden mittels HE, Sudan-III, Weigert und Bestscher Karminfärbung verfolgt. Enzymhistochemische Aktivitätsbestimmungen erfolgten an Kryostatschnitten nach folgenden Methoden:

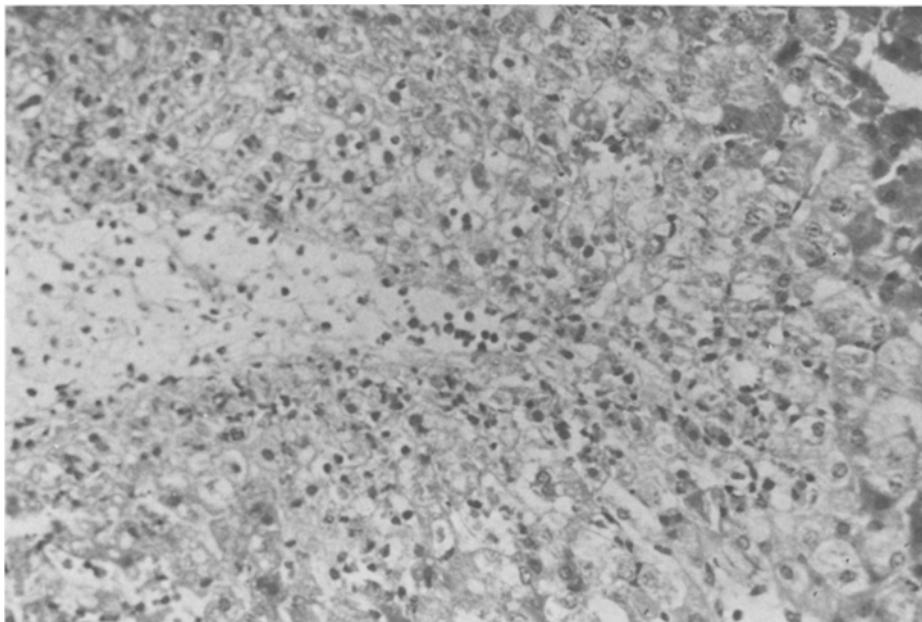
Adenosintriphosphatase: Novikoff et al. (1961); saure Phosphatase: Grogg und Pearse (1952); Glucose-6-Phosphatase: Wachstein und Meisel (1956); unspezifische Esterase: Gomori, modifiziert nach Pearse (1953).

Zur Feststellung möglicher tagesrhythmischer Schwankungen im Leberstoffwechsel wurden unbehandelte Tierkollektive um 8, 12, 16, 20 und 24 Uhr getötet und der Histamin- und Serotonininhalt des Lebergewebes bestimmt.

## Ergebnisse

### *Morphologische Befunde*

*Histomorphologie.* Nach Inzision war die lokale Blutzirkulation gestört und der Verletzungsspalt im gesamten Untersuchungszeitraum mit Blut bzw. Fibrin aus-



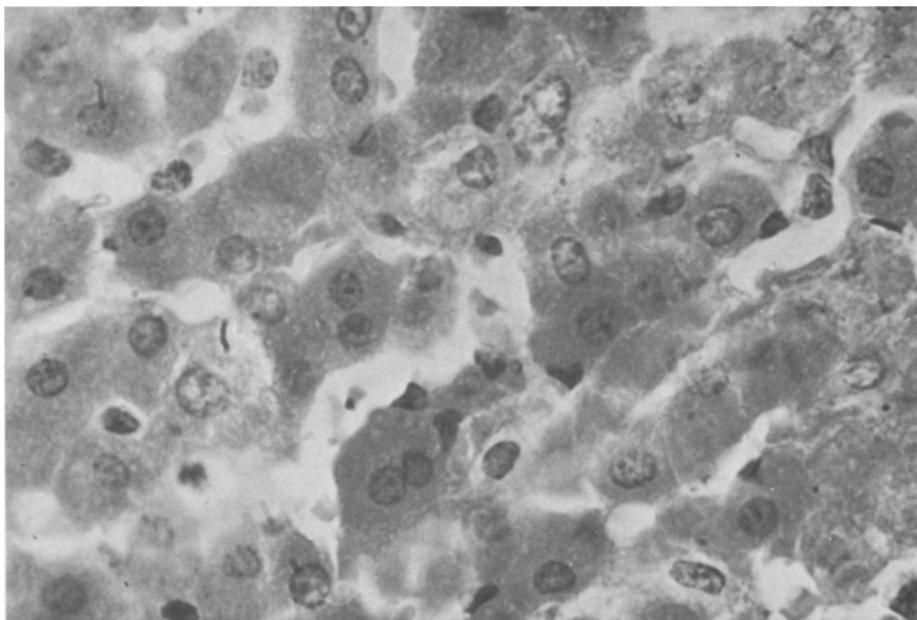
**Abb. 1.** Diffuse Infiltration und Epithelvakuolisierung in der Umgebung einer experimentellen Schnittverletzung der Meerschweinchenleber nach 6 h. HE, Vergrößerung 32fach

gefüllt; die Umgebung des Schnitts zeigte eine ausgeprägte Hyperämie mit erweiterten Sinusoiden und Blutfülle der Gefäße. Schon  $1\frac{1}{2}$  h nach der Schnittverletzung fanden wir eine mäßige bis deutliche leukozytäre Reaktion im Wundgrund. Im weiteren Verlauf verstärkte sich die zelluläre Reaktion, sie änderte sich bei den längeren Überlebenszeiten dann nur noch unwesentlich. Nach 24 h ließen sich vom Verletzungsspalt ausgehend folgende Zonen abgrenzen: nekrotisches Lebergewebe, nekrobiotisches Gewebe und eine Zone vakuoliger Leberzelldegenerationen.

Interessanterweise fanden sich insbesondere bei den kurzen Überlebenszeiten ( $1\frac{1}{2}$ –6 h) unterschiedlich große, z. T. scharf abgegrenzte Vakuolen innerhalb der Leberepithelien, die an eine Hypoxidose erinnerten; überwiegend war in der Nähe des Verletzungsspalts aber eine mehr diffuse Epithelvakuolisierung zu beobachten (Abb. 1). In der Sudan-III-Färbung erwiesen sich die optisch leeren Hohlräume als fettfrei. Natürlich ging die Leberzelldegeneration mit einem Glykogenschwund einher, der erst nach 24–48 h wieder ausgeglichen wurde.

Degenerative Leberzellveränderungen waren in der Umgebung des Verletzungsspalts auch in Form einer kleintropfigen Verfettung nachzuweisen, die bei den längeren Überlebenszeiten mit Anstieg des Glykogengehaltes in den Leberepithelien allerdings wieder zurückging.

Erst bei längeren Überlebenszeiten kam es auch zu einer Proliferation der Leberzellen. Die Zellerneuerung ließ sich in der Umgebung des Schnitts an der Vergrößerung der Zellkerne erkennen, dabei enthielten die Kerne vielfach mehrere Nukleolen. Beim Meerschweinchen war eine ausgeprägte Zunahme der



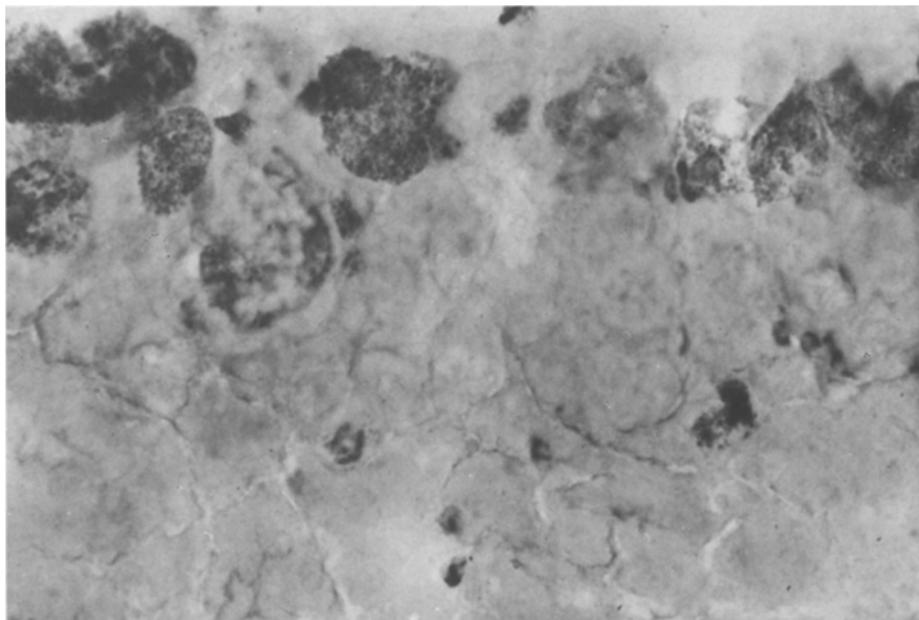
**Abb. 2.** Proliferative Zellveränderungen in der Umgebung einer experimentellen Schnittverletzung der Meerschweinchenleber nach 24 h. HE, Vergrößerung 82fach

Mitoserate schon nach 24 h zu beobachten; nach 48 h fanden sich gehäuft Mitosen sowie erste Gallengangswucherungen. Außerdem war zu diesem Zeitpunkt eine deutliche Schwellung und Vermehrung der v. Kupfferschen Sternzellen festzustellen; erste Mitosen von Sternzellen traten nach 24, vermehrt nach 48 h auf (Abb. 2).

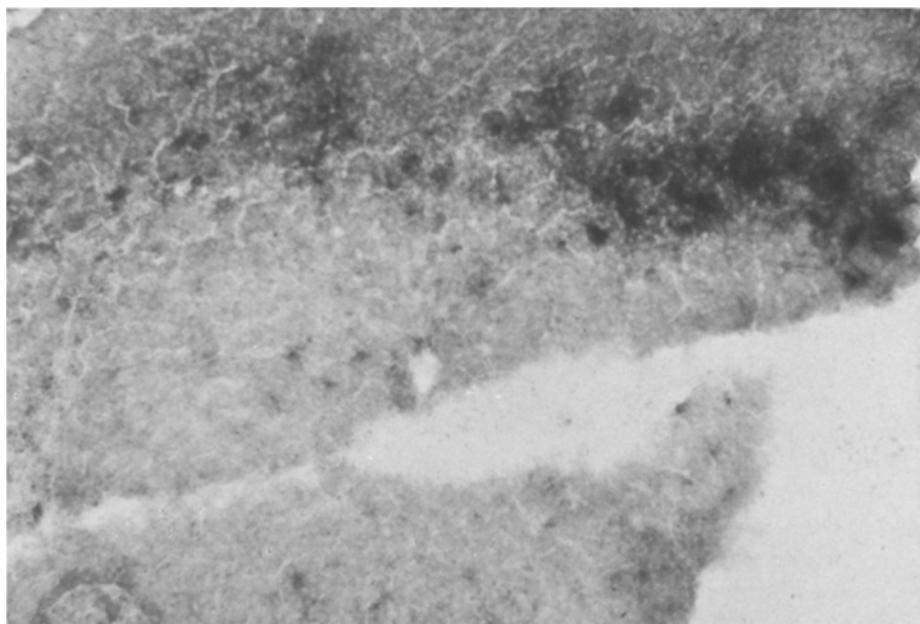
#### *Aktivitätsveränderungen der Enzyme im Verletzungsgebiet*

Die Aktivität der *Adenosintriphosphatase* ist in unverletzten Arealen annähernd gleichmäßig über das Leberläppchen verteilt. Bereits  $1\frac{1}{2}$  h nach Schnittverletzung war eine beginnende Aktivitätszunahme festzustellen, wobei im Wundspalt enzymbeladene Leukozyten auftreten. Charakteristische Parenchymveränderungen fanden sich erstmals nach 12 h, hierbei zeigen die Leberepithelien am Schnittrand ausgeprägte ATP-ase-aktive Zytoplasmagranulationen (Abb. 3).

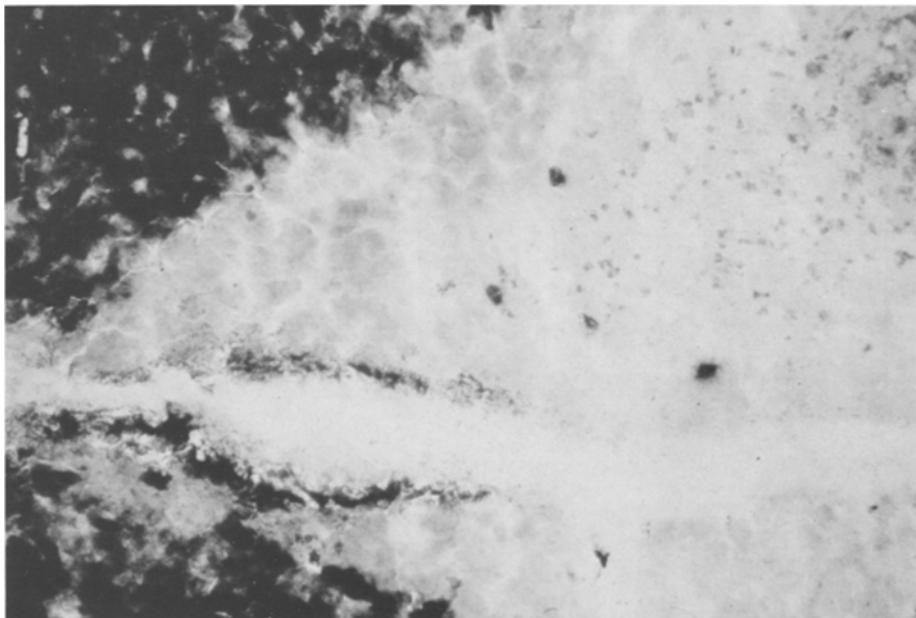
Die *saure Phosphatase* ist in unverletztem Gewebe im Zytoplasma der Leberzellen in Form von Granula oder auch diffus abgelagert; teilweise sind Granula entlang der Gallekapillaren verteilt.  $1\frac{1}{2}$  h nach Schnittverletzung kam es zu einer beginnenden Aktivitätszunahme der sauren Phosphatase in der inneren Wundzone (Schnittrand). Bei den längeren Überlebenszeiten nach 24 und 48 h beobachteten wir eine sehr starke Reaktion des Enzyms in der äußeren Wundzone, wobei die saure Phosphatase überwiegend in granulärer Form dicht lokalisiert war (Abb. 4). Die Granula erscheinen darüber hinaus grobkörniger, plumper und sind unregelmäßiger verteilt. Eine deutliche Nekrosezone mit weitgehendem Aktivitätsverlust stellte sich nach 24 h dar.



**Abb. 3.** ATP-ase-aktive Zytoplasmagranulationen der Leberepithelien am Schnittrand (oben im Bild) einer 12 h alten Leberverletzung. Färbung nach Novikoff et al. (1961); Vergrößerung 102fach



**Abb. 4.** Deutliche Aktivitätszunahme der sauren Phosphatase in der äußeren Wundzone einer 24 h alten Leberschnittverletzung. Färbung nach Grogg u. Pearse (1952); Vergrößerung 32fach



**Abb. 5.** Rest-Reaktion der Glucose-6-Phosphatase am Schnittrand und kompletter Ausfall innerhalb einer breiten Nekrosezone nach 24 h. Färbung nach Wachstein u. Meisel (1956); Vergrößerung 64fach

Bei der *Glucose-6-Phosphatase* variiert bekanntlich die Intensität der Reaktion nicht nur in den einzelnen Leberläppchen desselben Individuums, sondern auch bei den Versuchstieren. Nach Incision registrierten wir in den ersten  $1\frac{1}{2}$  bis 6 h eine Aktivitätszunahme in der inneren Wundzone. Nach 12 h fanden sich erstmals fleckförmig enzymhaltige Granula am Schnittrand; einen stark granulären Reaktionsausfall beobachteten wir nach 24 und 48 h, umgeben von einer breiten Zone mit völligem Aktivitätsverlust; vereinzelt waren Enzymaktivitäten im Nekrosebereich nur noch inselförmig erhalten (Abb. 5).

Die *unspezifische Esterase* zeigt im unverletzten Lebergewebe eine annähernd gleichmäßige Verteilung; ein besonders auffälliger Enzymgehalt ist bekanntlich in den Gallengängen nachzuweisen. Erst 6 h nach Incision kam es zu einer eindeutigen Aktivitätszunahme am Wundrand, nach 12 h wiederum zu einer Abschwächung. Bemerkenswert ist in diesem Zeitraum das Auftreten von Zellen mit sehr hoher Enzymaktivität, häufig ließen sich enzymhaltige Plaques erkennen.

#### *Biogene Amine*

*Histamin.* Tageszeitliche Schwankungen der Histaminkonzentration des Lebergewebes unbehandelter Meerschweinchen waren nicht festzustellen. Der Histamingehalt im unverletzten und verletzten Lebergewebe zeigte wechselnde Differenzen: Nach  $1\frac{1}{2}$  h fand sich ein Histamindefizit im Verletzungsgebiet gegenüber

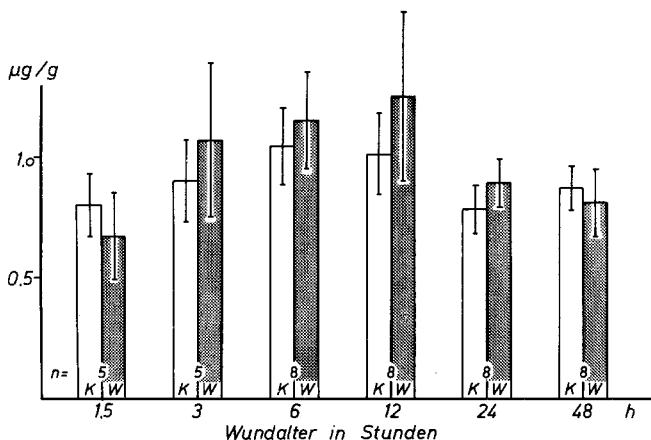


Abb. 6. Zeitliche Schwankungen der Histaminkonzentration in unverletztem (K) und verletztem Lebergewebe (W);  $\bar{x} \pm s\bar{x}$

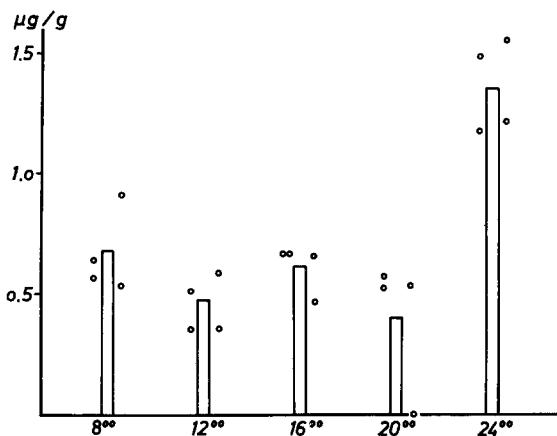


Abb. 7. Tageszeitliche Schwankungen der Serotonin-Konzentration des Lebergewebes unbehandelter Meerschweinchen; ○ - Einzelwerte, □ - der aus den Einzelwerten errechnete Mittelwert

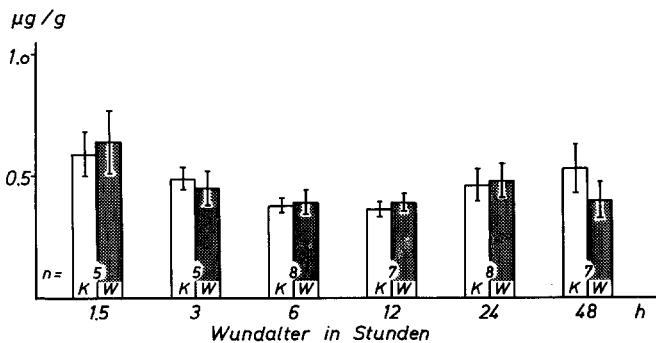


Abb. 8. Zeitliche Schwankungen der Serotonin-Konzentration in unverletztem (K) und verletztem Lebergewebe (W);  $\bar{x} \pm s\bar{x}$

unverletztem Leberparenchym; nach 3, 6 und 12 h beobachteten wir eine stetige Histaminzunahme im Wundgebiet (Abb. 6).

*Serotonin.* Bei der Bestimmung des Serotonininhaltes unbehandelter Meerschweinchen beobachteten wir eine erhebliche tagesrhythmische Schwankung insofern, als die festgestellte 5 HT-Konzentration gegen 24.00 h etwa doppelt so hoch war wie tagsüber, wo die Werte keine Unterschiede aufwiesen (Abb. 7). Der Verlauf der Serotonininkurve nach Schnittverletzung wurde während dieser Zeit verfolgt. Es zeigte sich in den ersten 12 h eine Abschwächung des 5 HT-Gehaltes sowohl im Wundgebiet wie auch im unverletzten Leberparenchym (Abb. 8).

## Diskussion

Die reaktiven Veränderungen auf zellulärer und histochemischer Ebene zeigen nach Leberincision gegenüber den an Hautverletzungen bekannten Abläufen z. T. erhebliche Unterschiede. Bekanntlich hängt auch an der Leber (Helpap und Cremer 1972) das frühe Stadium der Wundheilung im wesentlichen von dem Einstrom hämatogener transformierter Entzündungszellen ab. Während die Gewebsleukozytose bei Verletzungen der Haut als zuverlässigster Parameter für die Abschätzung des Wundalters gilt, scheint das Ausmaß der entzündlichen Reaktion bei Leberschnittverletzungen zur Bestimmung der Überlebenszeit weniger geeignet, da sich die frühzeitig nachweisbare leukozytäre Reaktion gegenüber längeren Wundzeiten nur noch unwesentlich verändert. Darüber hinaus ist die Entzündungsreaktion von Art und Umfang der mechanischen Schädigung abhängig; so werden Störungen des Wundheilungsablaufes mit abszeßartiger Ansammlung von polymorphkernigen Leukozyten nach Implantation von Catgut in das Lebergewebe beschrieben (Helpap 1973). Auch nach Thermonekrose der Leber kommt es im Gegensatz zu anderen physikalischen Schädigungen — insbesondere aber im Vergleich zur Cryonekrose — zu Verzögerungen der Wundheilung (Helpap et al. 1977).

Einige histomorphologische Parameter treten erst in der späteren Wundphase in Erscheinung, so die Proliferation von Leberzellen in der Umgebung der Schnittverletzung. Eine deutliche Zunahme der Mitosen von Epithel- und Sternzellen beobachteten wir bei Meerschweinchen erst nach 24 bzw. 48 h. Diese Proliferationszone war schmal und auf die unmittelbare Umgebung des Wundgebietes beschränkt; im unverletzten Leberparenchym war zu diesem Zeitpunkt keine vermehrte Proliferation von Zellen festzustellen. Unsere Ergebnisse stehen in Einklang mit den Beobachtungen von v. Podwyssozki (1886), Beneke (1972) und Helpap (1970, 1973, 1977). Erst bei größeren Parenchymdefekten, insbesondere aber nach einer sog. 2/3-Hepatektomie kommt es im Tierexperiment zu einer ausgesprochenen Epithelproliferation auch im Restorgan (Bartok et al. 1962; Bade 1964; Dugay et al. 1975; Rosenkranz et al. 1975). Sakai et al. (1975) konnten darüber hinaus zeigen, daß ein im Serum 2/3-hepatektomierter Ratten vorkommender humoraler Faktor (mitogenetic factor) das Wachstum von Hepatozyten in Zellkulturen stimuliert.

Bemerkenswert ist in unseren Untersuchungen das Auftreten von fettfreien Vakuolen in der Umgebung der Schnittverletzung, allerdings waren diese Hyp-

oxidosezeichen nur in den ersten 6 h ausgeprägt. Diese vacuolige Degeneration der Leberzellen geht mit einem lokalen Glykogenschwund einher, der erst nach 24 bzw. 48 h wieder ausgeglichen wird. Bade (1964) beobachtete bei Mäusen nach Teilhepatektomie ein ähnliches phasenhaftes Verhalten des Leberzellglycogens. Nach Keele und Neil (1962) ist der Abbau des Glycogens auf Ischaemie oder Anoxie zurückzuführen; von anderen Autoren (Janssen 1977) wird ein Anstieg des Kohlendioxidgehaltes für die diffuse Bildung von Leberzellvakuolen verantwortlich gemacht.

Auch die sich parallel entwickelnde kleintropfige Verfettung ist wohl auf eine Ischaemie bzw. Hypoxämie zurückzuführen. Durch kurzfristige Hungerzustände kann diese lokale Verfettung nicht erklärt werden, da dann der Fettgehalt nicht nur im Wundgebiet, sondern in allen Leberepithelien — insbesondere in den centrolobulären Anteilen — zunehmen müßte, was nicht zu beobachten war. Auch ist diese Verfettung der Parenchymzellen offensichtlich nicht durch einen gestörten enzymatischen Abbau bedingt. So konnte Hettwer (1974, 1975) selbst nach Vergiftung mit Organophosphaten intakte fettsäureabspaltende Enzyme wie Lipasen und unspezifische Esterasen nachweisen.

An der Haut erweisen sich bei lokalen Wundreaktionen (Frühphase) die Fermentsysteme gegenüber exogenen Störungen anfälliger als die zellulären Reaktionen (Kampmann et al. 1978). Demgegenüber liefern die Aktivitätsveränderungen der Leberenzyme nach lokaler mechanischer Verletzung wichtige diagnostische Kriterien für die Bestimmung der Überlebenszeit in der frühen Wundphase. Im Verlauf der Heilungsvorgänge an der Leber zeigen die Enzyme allerdings ein unterschiedliches Verhalten hinsichtlich ihrer Aktivität und des Verteilungsmusters im Wundgebiet.

Bei der sauren Phosphatase ist schon nach  $1\frac{1}{2}$  h eine deutliche Aktivitätszunahme in der inneren Wundzone festzustellen, die später wieder zurückgeht. Nach 24 und 48 h hat sich eine Nekrosezone mit fast völligem Aktivitätsverlust demarkiert. Jonek und Mitarb. (1964, 1965) führen das vermehrte Auftreten saure-phosphatase-aktiver Zytoplasmagranulationen auf Degenerationsvorgänge zurück, wobei es durch Schädigung der Lysosomen zur Freisetzung des Enzyms kommt. Kupcsulik und Mitarb. (1977) machen ebenfalls eine lysosomale Läsion infolge der ischaemischen Nekrose für die frühe Aktivitätszunahme verantwortlich. Nach Kapp (1978) spielen lysosomale Enzyme neben anderen Faktoren für die Pathogenese der Entzündung eine wichtige Rolle.

Obwohl man bei dem katabolen Effekt der Ischaemie eine allgemeine Verminderung der Enzymaktivität erwarten möchte, zeigt auch die Glucose-6-Phosphatase schon in den ersten Stunden eine Aktivitätszunahme am Wundrand; in der Literatur wird eine Enzyminduktion diskutiert (Kupcsulik et al. 1977). Erstmals nach 12 h, ausgeprägt aber nach 24 und 48 h, fanden sich breite Nekrosezonen mit nur noch inselartig erhaltenen Enzymaktivität; ähnliche Beobachtungen machte auch Karkola (1972).

Die unspezifische Esterase, ein mikrosomales Enzym, zeigt erst nach 6 h eindeutige Aktivitätszunahmen am Schnittrand bzw. im späteren Nekrosebereich in Form von enzymhaltigen Plaques; nach 12 h kommt es wiederum zu einer Abschwächung der nachweisbaren Enzymaktivitäten. Von forensischer Bedeutung für die Altersabschätzung scheint in der Leber vor allem auch die Adenosintrit-

phosphatase, die schon  $1\frac{1}{2}$  h nach Schnittverletzung Aktivitätszunahmen in den Gallenkapillaren und Zellmembranen, insbesondere aber eine deutliche Einwanderung enzymbeladener Leukozyten erkennen läßt. Charakteristische Veränderungen der Leberepithelien am Schnittrand traten erstmals nach 12 h in Form adenosintriphosphatase-aktiver Zytoplasmagranulationen auf. Möglicherweise sind subzelluläre Membranschäden hierfür verantwortlich zu machen; zu denken wäre auch an eine Stimulierung des ATP-Metabolismus mit vermehrter oxydativer Phosphorylierung, die von Yamamoto und Mitarb. (1977) im regenerierenden Lebergewebe beschrieben wurden.

Der forensische Beweiswert einer Freisetzung von Histamin und Serotonin im Wundgebiet scheint dagegen auch bei Leberverletzungen begrenzt. Ebenso wie bei Säure- und Laugenwirkung an der Haut (Kampmann et al. 1978) fand sich auch hier ein gegenläufiges Verhalten der beiden Gewebshormone; allerdings ein Anstieg der Histamin- und eine Abnahme der Serotonin-Konzentration in den ersten 12 h nach Verletzung. Eine ausgeprägte Zunahme der Histaminkonzentration in der Leber und im Blut beschrieben Chambon und Mitarb. (1977) in den ersten 12 h nach 2/3-Hepatektomie; sie vermuten, daß dieser Anstieg auf eine vermehrte Aktivität der Histidin-Decarboxylase zurückzuführen sei. An Hautverletzungen haben Berg et al. (1971) eine Wechselwirkung zwischen Histamingehalt und Aktivität der Histidin-Decarboxylase nachweisen können. — Darüber hinaus ist die Leber sowohl fähig (Stopik et al. 1974, 1978), Histamin aus ihren Speichern an das Blut abzugeben, als auch Histamin aus dem Kreislauf zu binden. So könnte aus dem Mastzellspeicher der Lunge freigesetztes Histamin (Berg et al. 1974) in der Leber erscheinen. Tauber und Mitarb. (1972, 1975) konnten andererseits zeigen, daß in der Leber freigesetztes Histamin sehr schnell inaktiviert und an Erythrozyten gebunden wird. Welche Rolle die Thrombozyten auf die Freisetzung von Histamin und Serotonin haben, läßt sich nur schwer abschätzen.

Eine signifikante Erhöhung des Leberserotoningehaltes ist nach akuter Ischaemie beschrieben worden (Reichle u. Mitarb. 1975). Wir beobachteten dagegen eine Verringerung des 5 HT-Gehaltes im Wundgebiet, was in der Tat nur schwer zu erklären ist. Denkbar wäre, daß es infolge der Ischaemie zu einer raschen Freisetzung von Serotonin mit anschließendem Abtransport kommt. Ein solcher Mechanismus wird von Braide (1975) für die Serotonin-Speicher nach Perfusion der Leber mit Chelatbildnern diskutiert.

Unsere Ergebnisse lassen sich dahingehend zusammenfassen, daß nach lokaler mechanischer Schädigung der Leber den enzymhistochemischen Parametern für die frühe Wundaltersbestimmung eine größere Rolle zukommt, während die zellulären Reaktionen zum Teil erst die spätere Wundphase charakterisieren. Unter Einbeziehung enzymhistochemischer Methoden scheint eine Schätzung der Überlebenszeit auch in der frühen Wundphase nach Leberverletzungen möglich.

## Literatur

- Bade EG (1964) Beitrag über die Frühstadien der Regeneration der Leber nach Teilhepatektomie und die Ursache des kompensatorischen Wachstums. *Virchows Arch Pathol Anat* 337: 503–514

- Bartok I, Hornath E, Domjan G, Korpasy B (1962) Histochemical studies of regenerating rat liver in experimental cirrhosis after partial hepatectomy. *Pathol Microbiol* 25:809–820
- Beneke G (1972) Altersbestimmung von Verletzungen innerer Organe. *Z Rechtsmed* 71:1–16
- Berg S (1972) Die Altersbestimmung von Hautverletzungen. *Z Rechtsmed* 70:121–135
- Berg S, Bode G, Garbe G, Sillius U (1977) Der Einfluß von Blutverlust und Alkohol auf die frühen Wundreaktionen. *Z Rechtsmed* 80:39–49
- Berg S, Ditt J, Friedrich D, Bonte W (1968) Möglichkeiten der biochemischen Wundaltersbestimmung. *Dtsch Z Ges Gerichtl Med* 63:183–198
- Berg S, Ditt J, Kunze P, Garbe G (1971) Beziehungen zwischen Histamingehalt und Aktivität der Histidin-decarboxylase im Bereich von Hautverletzungen. *Z Rechtsmed* 69:26–40
- Berg S, Friedberg KD, Garbe G (1974) Histaminspiegel und Lungenmastzellen bei Tod durch Verblutung. *Z Rechtsmed* 74:245–251
- Berg S, Garbe G, Luerssen B (1978) Die Bedeutung topischer Differenzen und kadaveröser Veränderungen der Histamin- und Serotoninwerte für die Wundaltersbestimmung im Tierversuch. *Z Rechtsmed* 82:165–174
- Bode G, Garbe G, Stöckigt W, Förstner B (1979) Der Einfluß von Schlafmitteln auf die Entwicklung der morphologischen und biochemischen Wundreaktionen. *Z Rechtsmed* 82:337–347
- Braide VB (1975) Total serotonin (5-hydroxytryptamine) concentrations in rat tissues after intravenous infusions of calcium EDTA. *Gen Pharmacol* 6:59–61
- Breining H, Helpap B, Lymberopoulos S (1972) Die lokale Gewebsvereisung und ihre Abheilung an Leber und Niere. *Dtsch Med Wochenschr* 97:1519–1520
- Caulet T, Petit J, Arnet JJ, Diebold J (1972) Étude histoenzymologique de la cirrhose du rat provoquée par le tétrachlorure de carbone. *Ann d'Anat Pathol* 17:125–142
- Chambon Y, Moulinoux JPh, Fontaine N (1977) Importante augmentation des taux hépatique et sanguin de l'histamine après hépatectomie partielle chez le rat. *Soc Biol de Rennes*, pp 644–648
- Duguay LR, Charters AC, Lee S, Sviokla SC, Orloff MJ (1975) Time course of liver regeneration after splanchnic organ ablation. *Surg Forum* 26:408–410
- Fazekas IGY, Virágos-Kis E (1970) Der Gehalt von Wunden an freiem Histamin als vitale Reaktion in Tierversuchen. *Zacchia* 45:536–547
- Fazekas IGY, Virágos-Kis E (1971) Der Gehalt verschiedener Verletzungen an freiem Histamin als Vitalreaktion. *Z Rechtsmed* 68:86–94
- Griffin CC, Waravdekar VS, Trump BF, Goldblatt PJ, Stowell RE (1965) Studies on necrosis of mouse liver in vitro. *Am J Pathol* 47:833–850
- Grogg E, Pearse AGE (1952) A critical study of the histochemical techniques for acid phosphatase, with a description of an azo-dye method. *J Pathol Bacteriol* 64:627–636
- Helpap B (1973) Pathologisch-anatomische Folgen der Leberkeilexzision. *Dtsch Med Wochenschr* 98:81–85
- Helpap B, Cremer H (1970) Proliferationsvorgänge in der traumatisch geschädigten Leber. *Virchows Archiv (Cell Pathol)* 6:365–366
- Helpap B, Cremer H (1972) Zellkinetische Untersuchungen zur Wundheilung der Mäuseleber. *Virchows Archiv (Cell Pathol)* 10:134–144
- Helpap B, Grouls V, Johaentges F (1977) The wound healing of the liver after thermonecrosis. Autoradiographical investigations with  $3\text{H}$ -Thymidine on rats. *Res Exp Med* 171:1–12
- Herrmann M, Goslar HG, Fetzer S (1965) Histochemische Untersuchungen an der Leber nach Verbrennung. *Histochemie* 4:541–552
- Hettwer H (1974) Histochemische und elektronenmikroskopische Untersuchungen an Leber und Niere von Maus und Ratte nach PE-Vergiftung, nach  $O_2$ -Mangel und nach Hungerdiät. *Forschber Wehrtechn* 10:1–47
- Hettwer H (1975) Histochemische Untersuchungen an Leber und Niere der Ratte nach Phosphorsäureestervergiftung. *Acta Histochem* 52:239–252
- Janssen W (1977) Forensische Histologie. Schmidt-Römhild, Lübeck
- Jonek J, Jonderko G, Krauze M (1965) Histochemische Untersuchungen über die Lokalisation und Aktivität der 5-Nucleotidase, Adenosintriphosphatase, sauren Phosphatase, sauren Desoxyribonuclease, alkalischen Phosphatase und der unspezifischen Esterasen in der Leber bei experimenteller Manganvergiftung. *Int Arch Gewerbepathol Gewerbehyg* 21:241–251

- Jonek J, Pacholek A, Jeż W (1964) Histochemische Untersuchungen über das Verhalten der Adenosintriphosphatase, 5-Nucleotidase, sauren Phosphatase, sauren Desoxyribonuclease II und der unspezifischen Esterasen in der Leber bei experimenteller Vergiftung mit Quecksilberdämpfen. *Int Arch Gewerbepathol Gewerbehyg* 20: 562–571
- Kampmann H, Garbe G, Ropp D v d, Berg S, Bode G (1978) Der Einfluß von Säure- und Laugenwirkung auf die Entwicklung der morphologischen und biochemischen Wundreaktionen. *Z Rechtsmed* 82: 71–88
- Kapp JF (1978) Phagozytose — ein zentraler Mechanismus der Entzündungsreaktion. *Klin Wochenschr* 56: 1039–1047
- Karkola K (1972) Enzyme histochemical studies on wound healing in rat liver. *Acta Pathol Microbiol A [Suppl]* 228: 1–56
- Keele CA, Neil E (1962) Samson Wright's applied physiology. Oxford University Press, London
- Koning J, Otter G den, Blok P, Visser JJ (1975) Behandlung von Leberwunden mit Isobutyl-2-Cyanoacrylat unter Blutleere. *Langenbecks Arch Chir Suppl Chir Forum*, pp 1–5
- Kunze KD, Kemmer Chr (1965) Lichtmikroskopische, histochemische und elektronenmikroskopische Untersuchungen an Albinoratten bei oraler Belastung mit 2,4-Dinitrophenol. *Frankf Z Pathol* 74: 670–683
- Kupcsulik P, Stekker K, Németh M (1977) Effect of ischaemia on the enzyme activity of the hepatic tissue. *Res Exp Med* 170: 259–270
- Lermann MI, Abakumova OY, Kucenko NG, Kobrina EM, Schechter AB, Mamedov LA, Nikolaev AV (1977) Stimulation of growth of connective tissue low-molecular weight constituents from rapidly growing tissues. *Lancet* 1: 1225–1228
- Lindner I (1967) Vitale Reaktionen. *Dtsch Z Ges Gerichtl Med* 60: 312–344
- Novikoff AB, Drucker J, Shin WY, Goldfischer S (1961) Further studies of the apparent adenosine triphosphatase of all membranes in formolcalcium fixed tissues. *J Histochem Cytochem* 9: 434–451
- Pearse AGE (1953) The intracellular localisation of esterase. *J Pathol Bacteriol* 66: 331
- Podwysszki W v (1886) Experimentelle Untersuchungen über die Regeneration der Drüsengewebe. *Beitr. Pathol Anat* 1: 259–360
- Raekallio J (1965) Die Altersbestimmung mechanisch bedingter Hautwunden mit enzymhistochemicalen Methoden. In: *Arbeitsmethoden der medizinischen und naturwissenschaftlichen Kriminalistik*, Bd 3. Schmidt-Römhild, Lübeck
- Raekallio J, Lindfors R, Elfving G, Hästbacka J, Puitinen J (1964) Histochemical observations on wound healing in denervated and healthy rat skin. *Acta Pathol Microbiol Scand* 62: 53–58
- Raekallio J, Mäkinen PL (1970) Serotonin and histamine contents as vital reactions. II, autopsy studies. *Zacchia* 45: 403–414
- Raekallio J, Mäkinen PL (1974) The effect of ageing on enzyme histochemical vital reactions. *Z Rechtsmed* 75: 105–111
- Reichle RM, Reichle FA (1975) Effect of portacaval shunt and acute hepatic ischaemia on brain and liver serotonin and catecholamines. *Surg Forum* 26: 413–414
- Rosenkranz E, Charters AC, Orloff MJ (1975) Regeneration in rat liver injured by carbon tetrachloride. *Surg Forum* 26: 411–412
- Rüttner JR, Rondez R (1962) Über die sog. „Gallengangswucherungen“ bei experimenteller Leberschädigung. *Pathol Microbiol* 25: 348–353
- Sakai A, Pfeffermann R, Mashimo S, Goldson H, Kontz SL (1975) Hepatic regeneration and lymphocyte activity. *Surg Forum* 26: 406–414
- Sandblom P, Mirkovitsch V, Gardiol D (1976) The healing of liver wounds. *Ann Surg* 183: 679–684
- Shore PA, Burkhalter A, Cohn VH Jr (1959) A method for the fluorometric assay of histamine in tissues. *J Pharmacol Exp Ther* 127: 182–186
- Simon H, Kemmer Chr, Müller M (1964) Über die Wirkung hoher Chlorochin- und Prednisongaben auf Fermente und Strukturen der Leberepithelzellen weißer Ratten. *Frankf Z Pathol* 74: 109–120
- Stopik D, Beger HG, Bittner R (1974) Über den Einfluß der Leber auf die prä- und posthepatischen Konzentrationen des Plasmahistamins beim Menschen. *Klin Wochenschr* 52: 696–698

- Stopik D, Beger HG, Hampel KE (1978) Untersuchungen über die prä- und posthepatischen Plasmahistaminkonzentrationen und ihre möglichen pathophysiologischen Auswirkungen bei Leberzirrhose. *Klin Wochenschr* 56:241-246
- Tauber R, Maroske D, Schult H, Dormann P, Schmal A, Häfner G, Lorenz W (1975) Speicherung von Histamin im Blut nach Freisetzung aus Leber und Antrum durch Trypsin: protektiver Mechanismus oder Faktor in der Genese des pankreogenen Schocks. *Langenbecks Arch Chir Suppl Chir Forum*, S 213-216
- Tauber R, Uhlig R, Mann G, Schmal A, Lorenz W (1972) Histamine release from the liver by trypsin. *Br J Surg* 59:913
- Udenfriend S, Weissbach H, Clark CT (1955) The estimation of 5-hydroxytryptamine (Serotonin) in biological tissues. *J Biol Chem* 215:337-344
- Wachstein M, Meisel E (1956) On the histochemical demonstration of glucose-6-phosphatase. *J Histochem Cytochem* 4:592
- Walther G, Lieven Th v (1971) Histochemische Organveränderungen in Leber und Herzmuskel der Ratte nach Sauerstoff-Intoxikation. *Beitr Gerichtl Med* 28:50-58
- Yamamoto M, Yamada T, Ida T, Ozawa K (1977) Inhibitory effects of jaundice on regenerating liver. *Res Exp Med* 171:121-128
- Zelder O, Dorn R, Bürklein HH, Bode Chr, Bode JCh, Jerusalem CR (1975) Enzymausstattung und morphologisches Bild der normalen und cirrhotischen Rattenleber nach Pfortaderligatur und Subcutantransposition der Milz. *Langenbecks Arch Chir Suppl Chir Forum*, S 7-11

Eingegangen am 29. Oktober 1979