

**Hämodynamische und renale Wirkung
der Angiotensin II Typ1 Rezeptorblockade
bei Ratten mit sekundärer biliärer Zirrhose**

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Hohen Medizinischen Fakultät
der Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität
Bonn

Vorgelegt von
Jonel Trebicka
aus Korça in Albanien

2005

**Hämodynamische und renale Wirkung
der Angiotensin II Typ1 Rezeptorblockade
bei Ratten mit sekundärer biliärer Zirrhose**

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Hohen Medizinischen Fakultät
der Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität
Bonn

Vorgelegt von
Jonel Trebicka
aus Korça in Albanien

2005

Angefertigt mit Genehmigung der
Medizinischen Fakultät der Universität Bonn

1. Gutachter: Prof. Dr. med T. Sauerbruch
2. Gutachter: Prof. Dr. med M. Göthert

Tag der Mündlichen Prüfung: 16.08.2005

Erscheinungsjahr: 2005

aus der Medizinischen Klinik und Poliklinik I, Universitätsklinikum Bonn

Direktor: Prof. Dr. med T. Sauerbruch

INHALTSVERZEICHNIS

1	EINLEITUNG	5
1.1	Pathogenese der Leberzirrhose	5
1.2	Hämodynamische Veränderung und Pfortaderhochdruck	7
1.3	Vasoaktive Substanzen	12
1.3.1	Vasokonstriktoren	13
1.3.2	Stickstoffmonooxid als wichtigster Vasodilatator	14
1.3.3	Weitere vasoaktive Substanzen	17
1.4	Vaskuläre Hypokontraktilität bei der Leberzirrhose	18
1.5	Renale Veränderung bei der Leberzirrhose	20
1.5.1	Natriumretention, Aszites, Hepatorenales Syndrom	20
1.6	Therapie des Pfortaderhochdruckes	26
1.6.1	Manipulation der intrahepatischen Zirkulation	27
1.6.2	Splanchnische Blutflußsenkende Mittel	28
2	FRAGESTELLUNG	30
2.1	Welchen Effekt hat Losartan auf den Pfortaderhochdruck und die Hämodynamik	30
2.2	Welchen Effekt hat Losartan auf die Nierenfunktion	30
2.3	Welchen Effekt hat Losartan auf die Kontraktilität zirrhotischer Gefäße	30
3	METHODEN	31
3.1	Tiermodell der gallengangsligierten Ratte	31
3.2	Behandlung der Ratten mit Losartan	31
3.3	Hämodynamische Messungen	31
3.3.1	Messung von Blut- und Pfortaderdruck	32

3.3.2	Messung der Durchblutung mit kolorierten Mikrosphären	32
3.4	Bestimmung des Noradrenalin-Plasmaspiegel	35
3.5	In vitro-Kontraktilitätsversuche mit isolierten Aorten-Ringen	35
3.6	Bestimmung der renalen Funktion	37
3.7	Statistische Analyse	37
4	ERGEBNISSE	38
4.1	Allgemeines	38
4.2	Die Hämodynamik	38
4.3	Noradrenalin-Plasmaspiegel	46
4.4	In vitro Kontraktionsversuche	47
4.5	Nierenfunktion	51
5	DISKUSSION	54
5.1	Wirkungen der chronischen Losartan-Behandlung auf die Hämodynamik zirrhotischer und nicht-zirrhotischer Ratten	54
5.2	Wirkung von Losartan auf die vaskuläre Kontraktilität	57
5.3	Noradrenalin-Plasmaspiegel	58
5.4	Die renalen Effekte	59
6	ZUSAMMENFASSUNG	61
7	DANKSAGUNG	62
8	BIBLIOGRAPHIE	63
9	LEBENS LAUF	71

1 EINLEITUNG

1.1 Pathogenese der Leberzirrhose

In Deutschland haben etwa 2% der Einwohner eine Leberzirrhose und damit auch oft einen portalen Hypertonus. Häufige Komplikationen sind Ösophagusvarizenblutung, Aszites und Enzephalopathie.

Der Terminus „Zirrhose“ wurde 1819 von Laennec wegen der gelb-grünen Farbe zirrhotischer Lebern in die Literatur eingeführt („kirros“ – zitronengelb). Der Begriff „Zirrhose“ blieb zur Beschreibung der komplexen strukturell-funktionellen Lebererkrankung erhalten, obwohl bald erkannt wurde, dass wesentlich andere Veränderungen für die Erkrankung maßgeblich sind. Die aktuelle Definition beruht auf morphologischen Kriterien. Die Leberzirrhose als Endstadium ursächlich verschiedener chronischer Lebererkrankungen ist durch charakteristische makroskopische und histologische Leberveränderungen morphologisch definiert [1]. Man findet eine deutliche Zunahme der extrazellulären Matrix, der sich unterhalb des sinusoidalen Endothels zu einer sog. Pseudomembran verdichtet und die Fenestrierung der Sinusoiden verschließt. Dieser Prozess wird als Leberfibrinogenese beschrieben [2]. Im Gefolge dieses Prozesses bilden sich portoportale und portozentrale Bindegewebssepten. Die irreversible Veränderung der Architektur der hepatischen Lobuli führt zu einer erheblich verlängerten Transit- bzw. Diffusionsstrecke zwischen Blut und Hepatozyten, verbunden mit Störungen der Clearance v.a. makromolekularer Substanzen [3]. Außerdem erhöht diese Fibrosierung des Parenchyms den Flusswiderstand innerhalb der Leber und trägt insofern zur Entwicklung des portalen Hypertonus bei. Es entwickeln sich hepatozelluläre Regeneratknoten unterschiedlicher Größe. Zirrhotische Umbauvorgänge lassen sich makromorphologisch in kleinknotige und grobknotige Leberzirrhosen untergliedern. Die Portalfelder sind verbreitert und fibrosiert. In unterschiedlichem Ausmaß findet man Gallengangsproliferate, myofibromatöse Gefäßwandproliferate und Lymphangiectasien.

Obwohl weniger als die Hälfte des gesunden Leberparenchyms ausreichend ist, um die Stoffwechsel- und Sekretionsleistung des Organs zu gewährleisten und obwohl

die Leber eine hohe Regenerationsfähigkeit hat (Prometheus-Effekt), stellt die Leberzirrhose das Endstadium vieler Lebererkrankungen dar.

Mögliche Ursachen der Leberzirrhose werden in der Tabelle 1 aufgeführt. In Deutschland sind chronischer Alkoholabusus und chronisch verlaufende Virushepatitiden (B, B und D, C) ursächlich führend. Bei ca. 10% aller Leberzirrhosen lässt sich die Ursache nicht eruieren (kryptogen) [4].

Tabelle 1: Ursachen der Leberzirrhose

1. Toxisch	Alkohol (chronischer Abusus), Medikamente (z.B. INH, Methyldopa, Amiodaron), Chemikalien (z.B. CCl ₄)
2. Erregerbedingt (chronische Infektionen)	Hepatitiden (B, B und D, C), Schistosomiasis
3. Autoimmun	Autoimmunhepatitis, Primär biliäre Zirrhose, Overlap-Syndrom,
4. Biliäre Obstruktionen	Sekundär biliäre Zirrhose, Primär sklerosierende Cholangitis, Zystische Fibrose, Alagille-Syndrom
5. Hereditär	Hämochromatose, Morbus Wilson, Zystische Fibrose (α-1-Antitrypsin-Mangel), Glykogenspeicherkrankheiten Typ III-IV, Galaktosämie, Hereditäre Fruktoseintoleranz, Tyrosinämie Typ I
6. Kardiovaskulär	Chronische Rechtsherzinsuffizienz, Pericarditis constrictiva, Budd-Chiari-Syndrom, „Venoocclusive disease“
7. Sonstiges	Sarkoidose, NASH (nicht alkoholische Steatohepatitis)
8. Kryptogen	Unbekannt

Folgen der Leberzirrhose sind verminderte Syntheseleistungen (z.B. Gerinnungsfaktoren, Cholinesterase, etc.), hepatische Enzephalopathie und portaler Hypertonus mit seinen Folgen (Ösophagusvarizenblutung und Aszites).

1.2 Häodynamische Veränderung und Pfortaderhochdruck

Die Durchblutung der Leber beträgt etwa 25% des Herzzeitvolumens. Von dieser Menge gelangen 2/3 über die Pfortader und 1/3 über die A. hepatica in die Leber. Bei Leberzirrhose werden häodynamische Veränderungen beobachtet, die nicht nur durch die bereits erwähnte Parenchymveränderung in der Leber zu erklären sind.

Die wichtigste hiervon ist der portale Hypertonus. Der portale Hypertonus ist durch einen portalvenösen Druck von mehr als 7 mm Hg und/oder einen transhepatischen Druckgradienten von mehr als 5 mm Hg definiert [5-7]. Unterschieden wird eine prähepatische, intrahepatische und posthepatische Form.

Die prä- und die posthepatische Form des portalen Hypertonus ist von der Leberzirrhose unabhängig. Vor allem in arabischen Ländern ist der portale Hypertonus häufig prähepatisch und durch eine intrahepatisch-präsinusoidale Perfusionsstörung bei chronischer Schistosomiasis-Infektion bedingt [8, 9]. Ein Beispiel einer posthepatischen Form des Pfortaderhochdrucks ist das Budd-Chiari-Syndrom, welches durch einen partiellen oder vollständigen (meist thrombotischen) Verschluss der Lebervenen gekennzeichnet ist.

Wie in Abschnitt 1.1 bereits angedeutet, ist die Genese der portalen Hypertonus bei 60-70% der Patienten in Westeuropa und Nordamerika intrahepatisch durch eine äthyltoxische Leberzirrhose bedingt.

Die Höhe des Pfortaderdruckes (P) wird durch Blutfluss und Gefäßwiderstand bestimmt und entspricht nach dem Ohmschen Gesetz dem Produkt aus Blutfluss Q und Strömungswiderstand R im Gefäßbett der Leber ($P=Q \cdot R$). Dabei wird der Strömungswiderstand R in Anlehnung an das Hagen-Poiseuilleschen Gesetz ($R=8 \cdot \mu L / r^4$) definiert [10], wobei r der Innenradius des Gefäßes, L die Länge des Gefäßes und μ die Viskosität der Flüssigkeit ist. Entsprechend dem Ohmschen Gesetz kann ein portaler Hypertonus sowohl Folge einer Zunahme des Blutflusses (hyperdynamische Zirkulation, „Forward-Flow-Theory“) als auch einer Widerstandserhöhung des intrahepatischen Flussbettes („Backward-Flow-Theory“) sein.

Gemäß einem Modell von Groszmann [9] wird der gesamte portosystemische Gefäßwiderstand von der Aorta bis zum rechten Vorhof in 5 regionale Widerstandsgebiete aufgeteilt:

- R1: Arteriolen der A. hepatica,
- R2: Arteriolen der Splanchnikusregion,
- R3: portale Venolen,
- R4: sinusoidale und postsinusoidale Strombahn und
- R5: portosystemische Kollateralgefäße.

Dieses Modell ist sehr hilfreich zur Veranschaulichung der pathophysiologischen Theorien des portalen Hypertonus.

Obwohl die Einzelmechanismen nicht letztlich geklärt sind, kommt einer Widerstandserhöhung in R4 und einer Widerstandserniedrigung in R2 die größte Bedeutung in der Pathogenese des portalen Hypertonus zu. Beide Mechanismen können Pfortaderhochdruck sowohl auslösen als auch unterhalten [6, 9]. Während in der initialen Phase einer Leberzirrhose die intrahepatische Widerstandserhöhung eine durchaus entscheidende Rolle für die Entwicklung des portalen Hypertonus spielt, dürfte im fortgeschrittenen Stadium die Zunahme des splanchnischen Blutflusses im Vordergrund stehen [11].

Bei Menschen und auch im Rattenmodell führt die Leberzirrhose mechanisch und dynamisch zu einem erhöhten Widerstand für den portalvenösen Ausfluss (R4) (siehe Abb.1). Auf der einen Seite führt der Umbau der Leber zu einer mechanischen Einengung der Sinusoidalgefäße, etwa durch Kollagenablagerungen im Dissé-Raum bei der Alkoholschädigung, Regeneratknoten, Fibrosierungen, etc. Zusätzlich befinden sich in den Sinusoiden wie im extrasinusoidalen Raum kontraktile Elemente [12, 13]. Der hepatische Durchblutungs-widerstand wird hierbei durch präsinusoidale portale Venolen aktiv reguliert. Bei der Leberzirrhose kommt es zusätzlich zur Aktivierung und Umwandlung von perisinusoidalen Kupfferschen Sternzellen zu Myofibroblasten, die eine Konstriktion der Sinusoide und folglich eine Widerstandserhöhung hervorrufen können [13-16]. Die gleichzeitige Kontraktion dieser beiden kontraktile Elemente ist der Hauptfaktor der dynamischen Komponente des erhöhten intrahepatischen Widerstands [17]. Hierauf begründet sich auch die „Backward-Flow-Theory“, die von einer primären Erhöhung des intrahepatischen Gefäßwiderstandes ausgeht, dem dann über vasoaktive Substanzen eine Widerstandserniedrigung in der Splanchnikusregion folgt, die schließlich den portalen Hochdruck verstärkt.

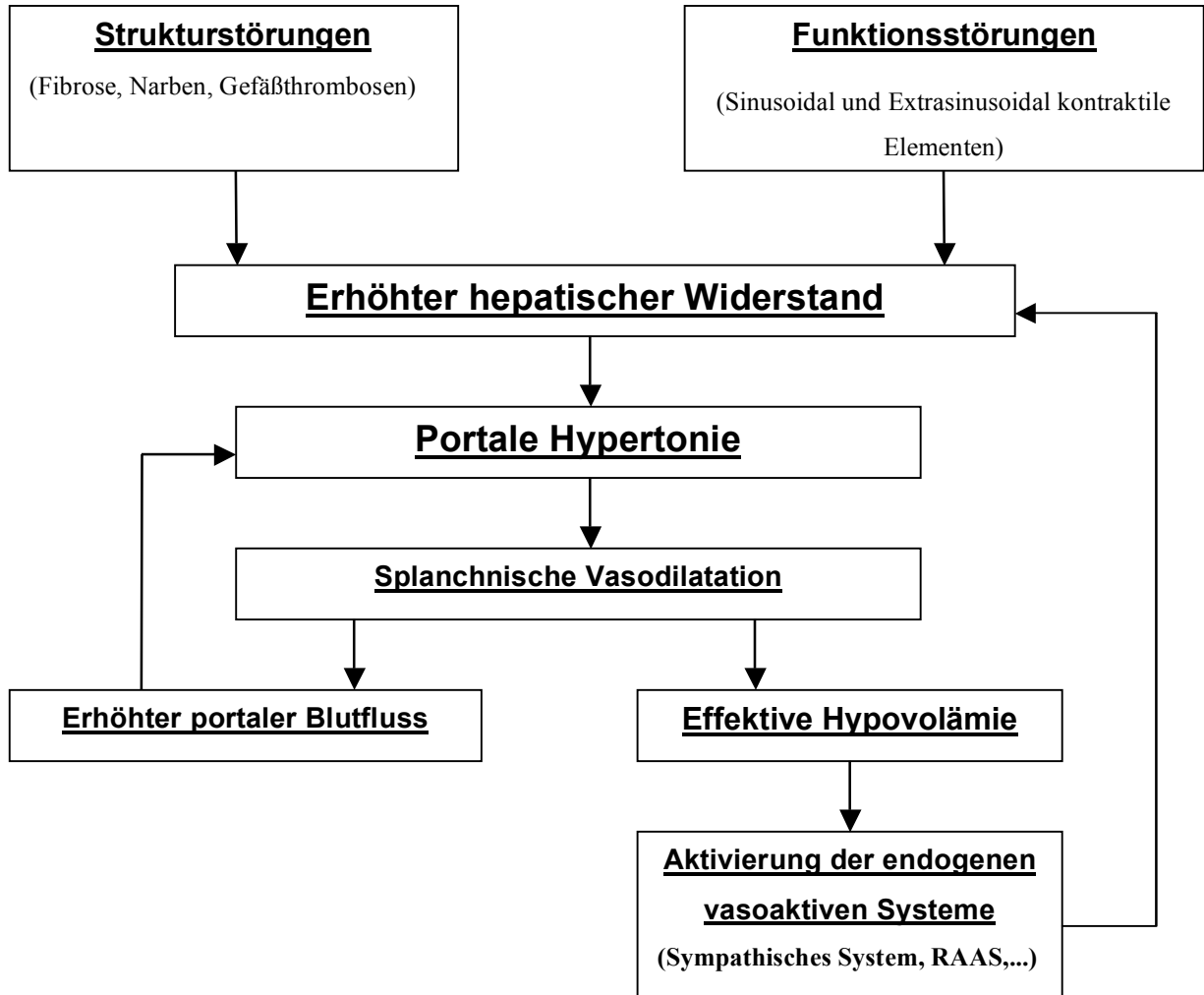


Abbildung 1: Die „Backward-Flow-Theorie“ als Erklärung der Pathophysiologie des portalen Hypertonus [11]

Im Gegensatz dazu wird der portale Hypertonus entsprechend der „Forward Theorie“ durch einen erhöhten portalen Zufluss unterhalten, welcher durch eine splanchnische Vasodilatation verursacht wird.

Diese splanchnische Vasodilatation ist durch eine periphere arterielle Vasodilatation bei erhöhter Herzauswurfleistung bedingt. Diese so genannte hyperdynamische Zirkulationsstörung nimmt mit der Verschlechterung der Leberfunktion zu [18-23]. Der erniedrigte arterielle Gefäßtonus führt über Barorezeptor-Aktivierung zur Aktivierung der gegenregulatorischen Hormonsysteme (RAAS, SNS und ADH) und letztendlich zur renalen Kochsalz- und Wasserretention und zur Entstehung von Aszites [24-27] (siehe Abb.2).

Besondere klinische Relevanz kommt den Umgehungskreisläufen (Kollateralen) über die Ösophagusvenen und der damit verbundene Ausbildung von Ösophagusvarizen zu. Ab einer portosystemischen Druckdifferenz von 12 mm Hg besteht eine erhöhte Blutungsgefahr [11]. Weitere portokavale Kollaterale können in Form von Bauchdeckenvenen (Caput medusae), die rekanalisierte Umbilikalvene, und retroperitoneale Blutgefäße als Umgehungskreisläufe bestehen.

Die splanchnische Vasodilatation persistiert erstaunlicherweise trotz Aktivierung endogener Vasokonstriktoren. So wurden insbesondere eine Aktivierung des Renin-Angiotensin-Aldosteron-Systems [28], sowie erhöhte Plasmakatecholaminspiegel gemessen [29, 30] und gleichzeitig ein vermindertes vaskuläres Ansprechen auf Angiotensin II [31-33] und Katecholamine [32, 34] festgestellt. Ursache dieser persistierender Vasodilatation ist also offensichtlich ein vermindertes Ansprechen der Splanchnikusgefäße auf Vasokonstriktoren, d.h. es besteht eine vaskuläre Hypokontraktilität [31-36].

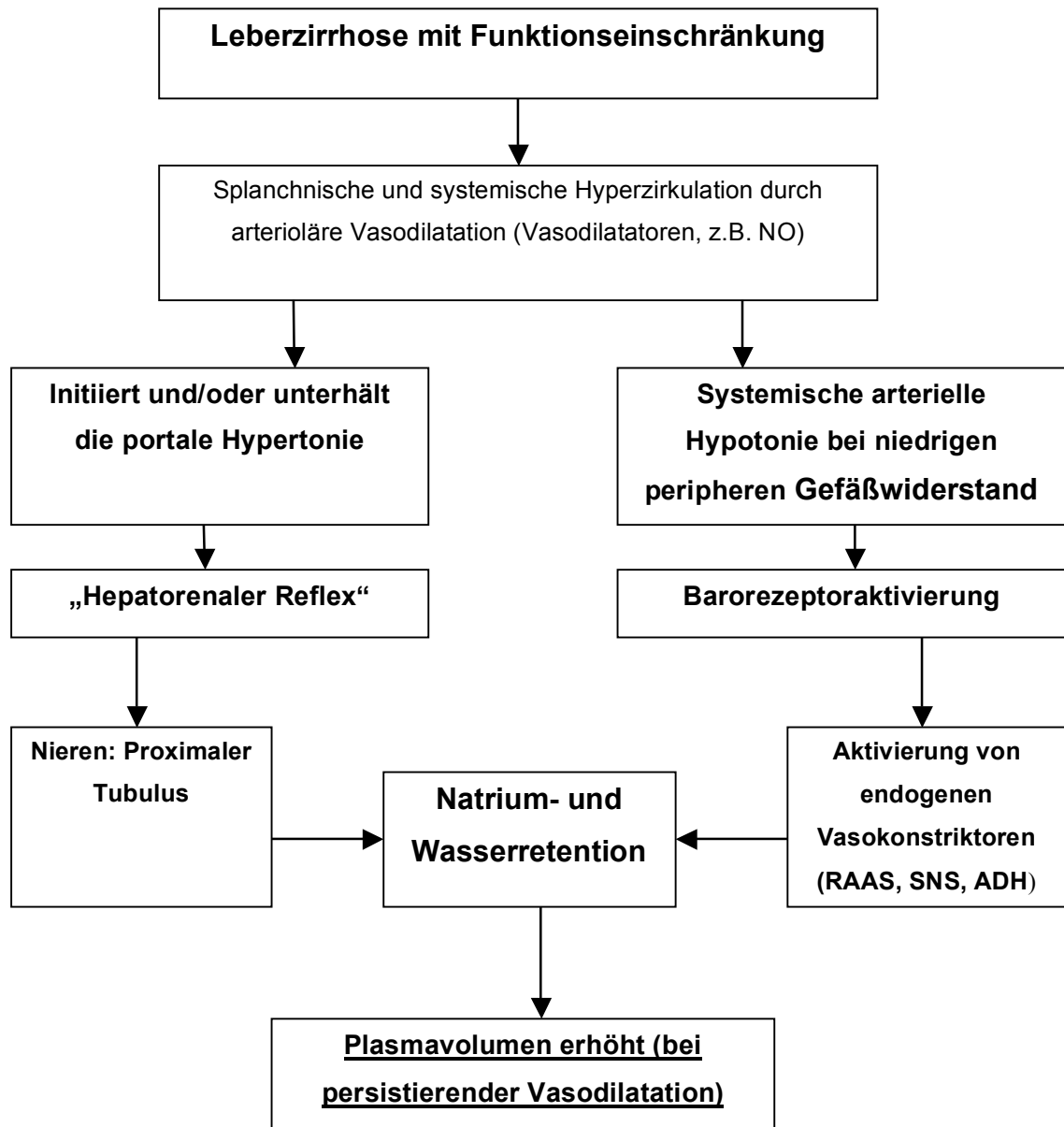


Abbildung 2: Die „Forward Theorie“ als Erklärung der Pathophysiologie des hyperdynamen Kreislaufsyndroms bei Patienten mit Leberzirrhose und portaler Hypertonie [11]

1.3 Vasoaktive Substanzen

Die Regulation des Gefäßtonus erfolgt durch ein komplexes Zusammenspiel von Vasokonstriktoren und –dilatoren. Es handelt sich dabei um endokrine (hormonelle), parakrine oder neuronale Signalketten und Botenstoffe, welche die Aktivierung bestehender Signalketten auslösen bzw. selbst Teil solcher Signalketten sind, und so entweder eine Kontraktion oder Relaxation der glatten Gefäßmuskulatur bewirken [7, 37-40].

Vasokonstriktoren	Vasodilatoren
Angiotensin II	Stickstoffmonoxid (NO)
Endothelin	Endotoxine
Eicosanoide	Glukagon
Adrenalin/ Noradrenalin	Prostazyklin
Adenosin (renalen A1-Rezeptor)	Vasoaktive intestinale Peptide
Reaktive Sauerstoffverbindungen (ROS)	Adenosin (A2-Rezeptor)
	Kohlenmonoxid (CO)

Table 2: Vasoaktive Substanzen

1.3.1 Vasokonstriktoren

Die bedeutendsten Vasokonstriktoren sind die Katecholamine Adrenalin und Noradrenalin, sowie das Peptidhormon Angiotensin II. Im glatten Gefäßmuskel können diese an den entsprechenden, G-Protein gekoppelte Rezeptoren binden und durch eine Aktivierung bestimmter Signalketten eine Kontraktion des Gefäßes auslösen.

Adrenalin und Noradrenalin sind sowohl Hormone des Nebennierenmarks als auch Neurotransmitter des vegetativen Nervensystems, die bei Aktivierung des adrenergen Systems in den Kreislauf abgegeben werden. Aus der Beobachtung heraus, dass Noradrenalin fast ausschließlich vasokonstriktorisch und Adrenalin sowohl vasokonstriktorisch als auch vasodilatatorisch wirkt, wird die Existenz unterschiedlicher Rezeptoren deutlich. Die zwei Haupttypen sind α - und β -Adrenozeptoren, die sich in weitere Subtypen unterteilen lassen. Die Stimulation des α_1 -Adrenozeptors löst eine Konstriktion der glatten Gefäßmuskulatur aus.

Angiotensin II bindet an AT₁ und AT₂ Rezeptoren und übernimmt wichtige Funktionen in der Hämodynamik, der Regulation des Flüssigkeitshaushaltes und der Zellproliferation [41]. Die Aktivierung vaskulärer AT₁ Rezeptoren kann eine Vasokonstriktion auslösen.

Die Synthese des Hormons beginnt mit Angiotensinogen, ein in der Leber gebildetes α_2 -Globulin. Das hauptsächlich in der Macula densa der afferenten Arteriolen vor den Glomeruli der Niere produzierte Renin spaltet aus Angiotensinogen das Dekapeptid Angiotensin I ab. Macula densa besteht aus Epithelzellen, modifizierte glatte Muskelzellen, dort wird Renin, eine saure Protease, in Abhängigkeit mit der Natriumchlorid-Konzentration des Blutes gebildet. Angiotensin I wird durch das Angiotensin-Converting-Enzyme (ACE) in seine biologisch aktive Form Angiotensin II überführt [41].

AT₁-Rezeptoren und α_1 -Adrenozeptoren sind an heterotrimere G-Proteine sowohl der G_{q/11}- als auch G_{12/13}-Familie gekoppelt. Nach Rezeptorstimulation kommt es zum Austausch von GDP gegen GTP an der G α -Untereinheit und zur Dissoziation der GTP-gebundenen aktivierter α -Untereinheit von Rezeptor und $\beta\gamma$ -Dimer [42]. Die GTP-gebundene G α -Untereinheit aktiviert einen Calcium-abhängigen (PLC/IP₃)

sowie einen Calcium-unabhängigen Signalweg (RhoA/Rho-Kinase).

Sowohl die Aktivierung der PLC/IP₃- als auch der RhoA/Rho-Kinase-Kaskade resultiert in einer erhöhten MLC-Phosphorylierung und führt damit zur Kontraktion der glatten Muskulatur.

1.3.2 Stickstoffmonoxid als wichtigster Vasodilatator

Bei der Leberzirrhose besteht eine Vasodilatation trotz Aktivierung von Vasokonstriktoren. Stickstoffmonoxid (NO) spielt hierbei eine wichtige Rolle für die persistierende Vasodilatation. NO führt über die Aktivierung Guanylatzyklase nach Bildung von zyklischen Guanylatmonophosphat (cGMP) zur Vasodilatation [47].

Das Stickstoffmonoxid wird bekanntlich durch die Stickstoffmonoxid-Synthase (NOS) freigesetzt. Es existieren unterschiedlichen Isoformen dieses Enzyms, die NO in unterschiedliche Gewebearten und durch unterschiedliche Reize produzieren. Die konstitutive NOS, befindet sich in den meisten Zellen des menschlichen Körpers. NO wird unter anderem im Endothel, glatten Muskulatur, Makrophagen, polymorphkernigen Blutzellen, Kupfferschen Sternzellen gebildet [7].

Die endotheleigene, konstitutive NOS (eNOS oder NOS-3) spielt in der Pathophysiologie der Leberzirrhose eine entscheidende Rolle. Sie kann unter anderem durch Scherkräfte, Acetylcholin und Angiotensin II stimuliert werden. Es konnte gezeigt werden, dass vaskuläres NO hauptsächlich durch die eNOS gebildet wird. Hier ist die NO-Synthese Calcium und Calmodulin abhängig [43-47].

Die induzierbare NO-Synthase (iNOS oder NOS-2), die als Reaktion auf spezifische Stimuli wie Endotoxine und Zytokine im Endothel und der Gefäßmuskulatur der Zielorgane exprimiert wird, ist eine weitere Isoform, der eine Rolle in der Leberzirrhose nachgesagt wird [48]. Die Nitrit/Nitrat-Spiegel (NO_x als Maß für die endogene NO-Metabolisierung) steigen mit dem Fortschreiten der Leberfunktionsstörung an und zeigt eine positive Korrelation mit den Endotoxinspiegeln und folglich der induzierbaren NOS Aktivität (siehe Abb.3).

Eine vaskuläre Induktion der iNOS konnte bei der Leberzirrhose bislang nicht nachgewiesen werden [46, 49].

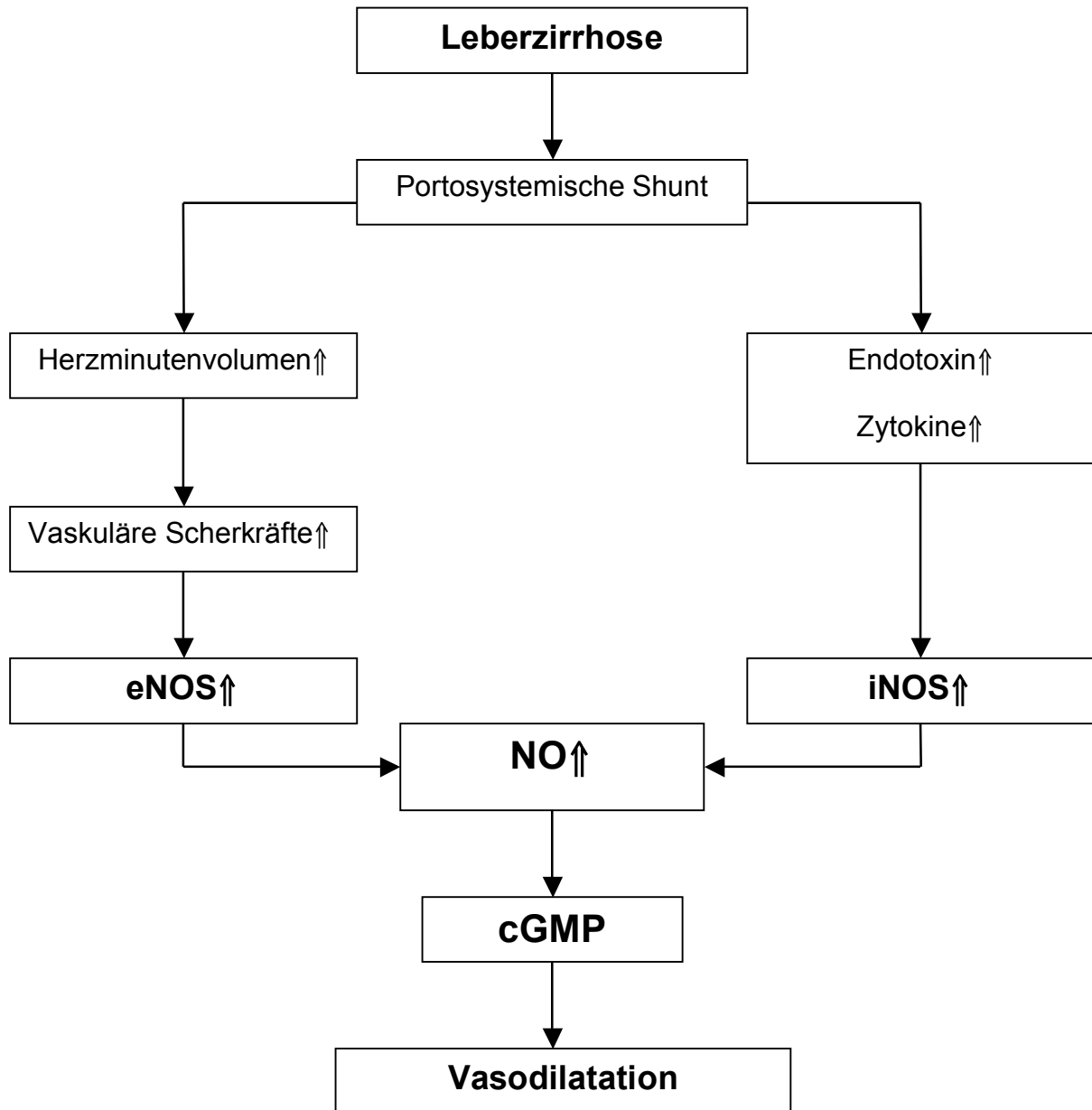


Abbildung 3: Die beiden Hypothesen der gesteigerten NO-Bildung [50]

Die intrahepatische Rolle des NO wurde durch die NO Blockade in isoliert perfundierten Lebern studiert [51]. Es wurde gezeigt, dass NO ein wichtiger Balancemechanismus zu den vasokonstriktorischem Stimuli für den intrahepatischen Widerstand darstellt. Überraschenderweise ist die NO Synthese in den zirrhotischen Lebern erniedrigt [52], trotz normalen eNOS mRNA und Proteinspiegeln [53, 54]. Der Grund für die verminderte Aktivität des hepatischen eNOS wurde dem erhöhten Spiegel von Caveolin, der auch in anderen Zusammenhänge eine verminderte NOS Aktivität verursacht [55]. Diese erniedrigte NO Bildung wird als der Hauptfaktor des modulierbaren erhöhten intrahepatischen Widerstandes angesehen [11].

1.3.3 Weitere vasoaktive Substanzen

Glukagon ist ein humoraler Vasodilatator, der ebenfalls eine Rolle bei der Entstehung der splanchnischen Hyperämie bei portalem Hypertonus spielt [56-58]. Mehrmals wurden erhöhte Glukagonspiegel in Verbindung mit der Leberzirrhose und portalem Hypertonus beschrieben. Diese erhöhte Glukagonspiegel resultieren zum Teil von einem verminderten Abbau in der Leber. Der größte Teil ist jedoch einer erhöhten Sekretion der pankreatischen Alpha-Zellen zuzuschreiben [59, 60]. Trotz kontroverser Diskussion über den Hyperglukagonismus [61] hat sich die Rolle von Glukagon in der splanchnischen Vasodilatation etabliert.

Die Rolle der Gallensäuren wird in der Literatur kontrovers diskutiert [62, 63]. Sie haben zwar vasodilatatorische Eigenschaften und sind bei portalem Hypertonus erhöht, aber ihre Rolle in der Vermittlung der hyperdynamen Zirkulation ist nicht ganz klar. Ebenso ist die Rolle des CGRP (Calcitonin gene related Peptid) nicht gänzlich geklärt [64-66].

Einige Studien befassten sich mit der Rolle von Prostaglandinen bei portalem Hypertonus [67-69]. Bei Patienten wurden erhöhte systemische Prostazyklinspiegel gefunden [69], und die Blockade der Prostazyklinsynthese durch Indometacin führte zu einer Verbesserung der hyperdynamen Zirkulation und des portalen Drucks [70].

Zuletzt wird auch dem Kohlenstoffmonoxid (CO) eine Rolle in der Modulation des splanchnischen Blutflusses in dem Pfortaderhochdruck zugeschrieben. CO ist ein Vasodilatator. CO ist ein Nebenprodukt vom Abbau des Häms durch die Hämoxygenase.

Die Expression der Hämoxygenase 1 (HO1) ist in den splanchnischen Gefäßen von Tieren mit einer partiellen Hypertonus im Vergleich zu Kontrolltieren vermehrt [71].

1.4 Vaskuläre Hypokontraktilität bei der Leberzirrhose

Als mögliche Ursache der vaskulären Hypokontraktilität werden verschiedene Mechanismen diskutiert. Neben der vermehrten Produktion zirkulierender Vasodilatoren wie Glukagon [58] ist anscheinend die Bildung endothelialer Faktoren wie NO [72, 73], Prostazyklin [67] und „Endothelium-Derived Hyperpolarising Factor“ [74] für die Vasodilatation mit verantwortlich.

Wie in der Arbeit von Sogni et al. [36] dargestellt, wurde eine verminderte Ansprechbarkeit mesenterialer Arterien gegenüber Vasokonstriktoren vor allem durch NO vermittelt. In dieser Studie wurden kleine Mesenterialarterien, so genannte Widerstandsgefäße, mit Kaliumchlorid kontrahiert und dabei die NO-Synthase durch N-Nitro-L-Arginin (L-NNA) gehemmt. L-NNA verbesserte deutlich die vaskuläre Kontraktilität bei zirrhotischen Tieren, nicht jedoch bei gesunden Tieren.

Diese Faktoren erklären die vaskuläre Hypokontraktilität bei der Leberzirrhose jedoch nur partiell. So ist die Hypokontraktilität nach α_1 -Adrenozeptorstimulation an isolierten Gefäßen, d.h. unter Ausschluss zirkulierender Vasodilatoren, und auch in endothelfreien Gefäßpräparaten, d.h. unter Ausschluss endothelialer Faktoren zu beobachten [34, 75, 76]. Dies weist auf Defekte in der glatten Gefäßmuskelzelle selbst hin. Es ist sogar gezeigt worden, dass entgegen einer ursprünglichen Hypothese [77] eine vermehrte induzierbaren NO-Synthaseaktivität in Gefäßen zirrhotischer Tiere und Menschen nicht nachweisbar ist [34, 78]. Auch scheint kein Defekt der kontraktilen Elemente in der Gefäßmuskelzelle zirrhotischer Spezies selbst vorzuliegen, wie Untersuchungen an Gefäßen zirrhotischer Ratten mit dem Ca^{2+} -Kanalöffner Bay K 8644 zeigten [79]. Vielmehr scheint eine verminderte Rezeptorfunktion oder ein Defekt in der Postrezeptorkaskade für die Hypokontraktilität verantwortlich zu sein.

Da bei Patienten mit Leberzirrhose bzw. Ratten mit experimentell erzeugter Leberzirrhose erhöhte Plasmaspiegel von Angiotensin II und Noradrenalin gefunden werden, wurde spekuliert, dass die erhöhten Spiegel der Agonisten zu einer Downregulation ihrer Rezeptoren führen könnten. Bei Patienten mit Leberzirrhose konnte jedoch keine Downregulation von thrombozytären α_2 -Adrenozeptoren gezeigt werden [80, 81]. Auch im Tiermodell wurde an glatten Gefäßmuskelzellen

zirrhöser Tiere bislang keine Downregulation von α_1 -Adrenozeptoren beobachtet [82].

Insbesondere auf die Regulation und Funktion vaskulärer α_1 - und AT_1 -Rezeptoren sind Interaktionen zwischen beiden Rezeptoren ein bekanntes, aber noch unzureichend untersuchtes Phänomen. Nach einer einwöchigen, nicht blutdruckwirksamen Noradrenalininfusion kommt es bei Ratten nicht nur zu einer homologen Desensibilisierung aortaler α_1 -Adrenozeptoren, sondern auch zu einer heterologen Desensibilisierung aortaler AT_1 -Rezeptoren [83, 84]. Umgekehrt konnte in transgenen Ratten, bei denen eine genetisch bedingte Aktivierung des Renin-Angiotensin-Systems vorliegt, eine heterologe Desensibilisierung von vaskulären α_1 -Rezeptoren ohne Änderung der α_1 -Rezeptordichte oder G_q -Proteinexpression nachgewiesen werden [85].

Wie oben dargestellt, finden sich bei Tieren mit portalem Hypertonus erhöhte Plasmaspiegel von Noradrenalin und Angiotensin II bzw. Renin sowie eine vaskuläre Hypokontraktilität auf Stimulation von α_1 - und AT_1 -Rezeptoren. Es ist also gut möglich, dass die erhöhten Spiegel eines dieser Rezeptoragonisten zur heterologen Desensibilisierung führen.

Insgesamt ist die vaskuläre Hypokontraktilität in der portalen Hypertonie noch nicht ausreichend ergründet.

1.5 Renale Veränderung bei der Leberzirrhose

Die renalen Veränderungen des Organismus bei der Leberzirrhose sind mitverantwortlich für die Aszitesbildung, die Natriumretention, die pathologische freie Wasserausscheidung und das hepatorenale Syndrom.

1.5.1 Natriumretention, Aszites, Hepatorenales Syndrom

Bei portalem Hypertonus besteht eine Diskrepanz zwischen gesteigertem Blutvolumen (besonders venös und im splanchnischen Gefäßbett) und dem relativ erniedrigten effektiven arteriellen Blutvolumen. Die Reihenfolge der Ereignisse wird kontrovers diskutiert. Auf der einen Seite wird eine primär gesteigerte Na- und Wasserresorption im proximalen Tubulus der Niere diskutiert, die letztendlich zu einem gesteigerten Blutvolumen mit konsekutiv erhöhtem Herzminutenvolumen und einer splanchnischen Hyperperfusion führt. Auf der anderen Seite kommt es durch eine primäre periphere arterielle Vasodilatation, die einen Abfall des mittleren arteriellen Blutdrucks nach sich zieht, zu einer Zunahme des Blutvolumens durch die sekundäre Aktivierung der vasokonstriktischen Feedback-Mechanismen (z.B. Renin-Angiotensin-Aldosteron-System, Sympathikusaktivität, Vasopressin).

Die Bildung von Aszites wird zur Zeit mit der so genannten „overflow“-Theorie erklärt, die zu der neuen „forward“-Theorie [26] abgewandelt wurde. Diese Hypothese geht davon aus, dass die Aszitesbildung eine Folge der arteriellen Vasodilatation im Splanchnikusgebiet ist, die zu zwei unterschiedlichen Ereignissen führen:

Das erste ist ein sekundärer Anstieg des Einstroms der splanchnischen Mikrozirkulation. Diese Mikrozirkulation erhöht wiederum den kapillaren Druck und die kapillare Permeabilität und folglich die Lymphbildung.

Das zweite Ereignis ist mit dem Absinken des arteriellen Blutdrucks verbunden, der eine homöostatische Aktivierung von Renin-Angiotensin-Aldosteron- und sympathischen Systemen sowie des antidiuretischen Hormons (ADH) hervorruft. Dieser Mechanismus wird auch arterielles „underfilling“ genannt und bewirkt letztlich eine Flüssigkeits- und Natriumretention durch die Niere. Das gleichzeitige Auftreten der beiden Ereignissen führt zu einer kontinuierlichen Aszitesbildung (Abb.4) [86].

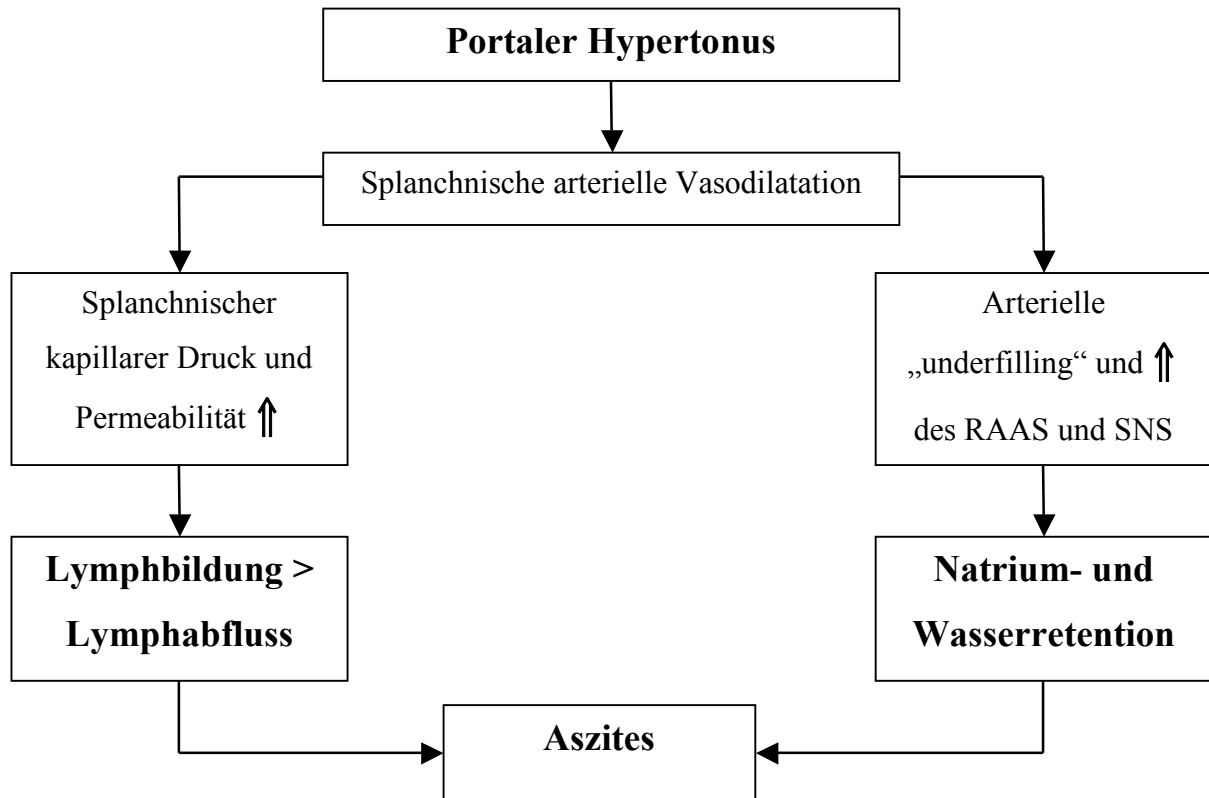


Abbildung 4:Die „Forward“-Theorie der Aszitesbildung [26]

Zirrhose mit Aszites ist die menschliche Erkrankung mit der intensivsten Natriumretention durch die Nieren. Viele Patienten mit Zirrhose und Aszites weisen eine stark erniedrigte Natriumausscheidung (unter 5mval/d), unabhängig von der Einfuhr. Obwohl die glomeruläre Filtrationsrate (GFR) auch erniedrigt ist, besteht der predominate Mechanismus der Natriumretention in einer erhöhten tubulären Natriumrückresorption [87].

Es sind drei neurohumorale Systeme bekannt, die bei der Regulation der Natriumausscheidung teilnehmen.

Zwei davon, nämlich das Renin-Angiotensin-Aldosteron-System (RAAS) und das sympathische Nervensystem (SNS) sind in ihrer Funktion antinatriuretisch. Aldosteron erhöht die Natriumrückresorption in den distalen Tubulus. Das SNS stimuliert die Natriumrückresorption in den proximalen Tubulus, in die Henle Schleife und in die distalen Sammelrohre.

Das dritte System sind natriuretische Peptide, welche die Natriumrückresorption in den distalen Sammelrohren hemmen. Die Substanzen dieser Gruppe, im einzelnen das atriale natriuretische Peptid, das Brain-natriuretische Peptid, C-Typ

natriuretisches Peptid und das Urodilatin, besitzen natriuretische und/oder vasoaktive Fähigkeiten [88].

Zahlreiche Studien haben eine Korrelation zwischen der RAAS-Aktivität und der renalen Funktion bei Patienten mit Leberzirrhose und Aszites belegt. So führt Saralasin, ein spezifischer Antagonist des Angiotensin II-Rezeptors, zu einem signifikanten Blutdruckabfall bei Patienten mit einer Leberzirrhose und aktiviertem RAAS, während dieser Effekt bei den Zirrhotikern ohne die RAAS-Stimulation unbemerkt blieb [89]. In dieser Studie wies die Mehrheit der Patienten mit Zirrhose Aszites, eine Natriumretention, sowie erhöhte Reninaktivitäten und Aldosteronkonzentrationen auf. Außerdem korrelierten die Aldosteron-Plasmakonzentration eng mit der Plasmoreninaktivität und die Reninplasmakonzentration mit der renalen Reninsekretionsrate.

Diese Beobachtungen zeigen, dass der Hyperreninismus und der Hyperaldosteronismus bei Zirrhose-Patienten mit Aszites eine Folge der erhöhten Sekretion und nicht des zirrhosebedingten verminderten Abbaus sind, und weiterhin, dass die Stimulation des RAAS bei diesen Patienten ein kompensatorischer Mechanismus ist, um die hämodynamische Homöostase aufrecht zu erhalten [89].

Bei Patienten mit Zirrhose und Aszites werden erhöhte Katecholamin-Plasmaspiegel gefunden. Noradrenalin wird hauptsächlich an den postsynaptischen sympathischen Endungen als Transmitter abgegeben, und deswegen als Maß für die SNS Aktivität herangezogen. Im Gegensatz zu Gesunden ist die Adrenalin-Plasmakonzentration bei Patienten mit Zirrhose und Aszites in der renalen Vene höher als in der renalen Arterie, was für eine zusätzliche Aktivierung des lokalen renalen Sympathikus spricht. Dies konnte auch durch Messung der sympathischen Aktivität peripherer Nerven unterstützt werden, welche bei Zirrhotikern mit Aszites deutlich erhöht, bei kompensierten Zirrhotikern jedoch normal ist [90].

Die Plasmakonzentrationen des atrialen und brain-natriuretischen Peptids sind bei Patienten mit Zirrhose und Aszites deutlich erhöht, unabhängig von Renin-, Adrenalin- und Aldosteronspiegeln. Die Urodilatinausscheidung im Urin ist aber bei diesen Patienten normal. Aus dieser Überlegung heraus kann die Natriumretention nicht durch einen Synthesemangel der natriuretischen Peptiden erklärt werden [91-93].

Bei der kompensierten Zirrhose besteht nur unter orthostatischer Belastung eine renale Natriumretention, die bei normalen plasmatischen Reninkonzentrationen durch eine vermehrte intrarenale Aktivierung des RAAS erklärt wird [94-96]. Erst mit dem Fortschreiten der Erkrankung, wenn der portale Hypertonus zu einer deutlichen splanchnischen arteriellen Dilatation führt, dem so genannten arteriellen „underfilling“-Phänomen, spielen die systemische Aktivierung des RAAS und SNS eine bedeutende Rolle in der Pathogenese der Natriumretention (siehe Abb.5).

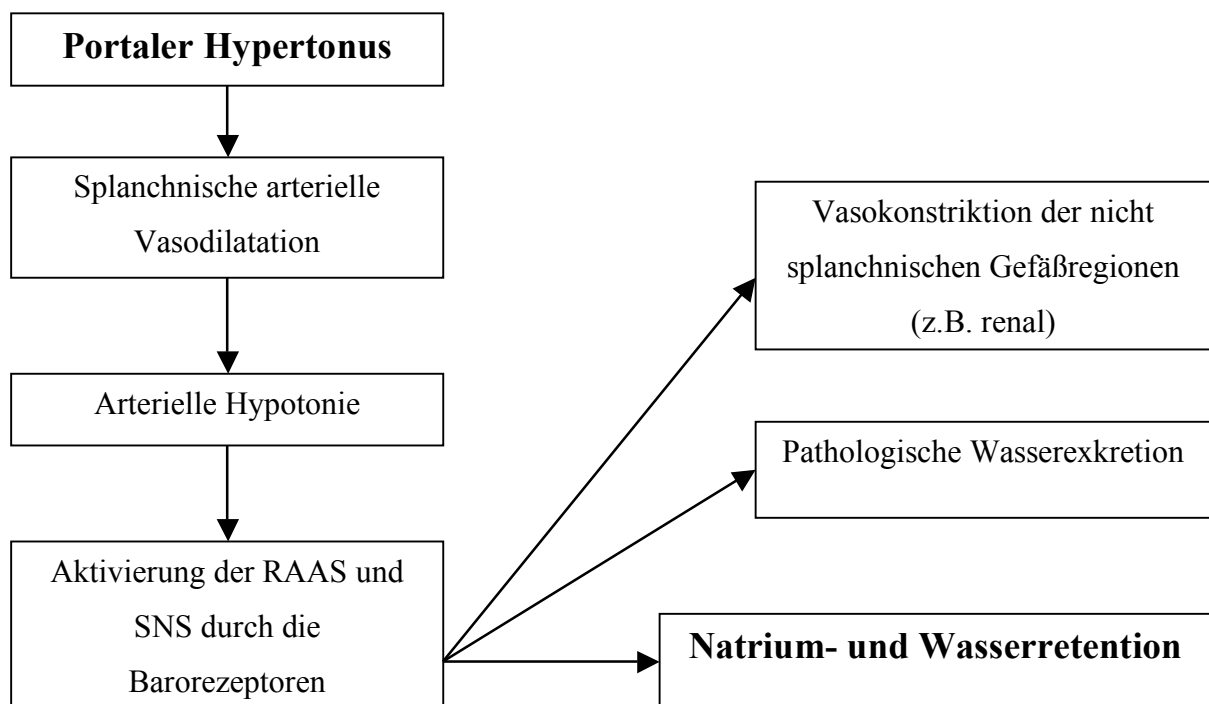


Abbildung 5: Folgen des arteriellen „Underfilling“ in der Leberzirrhose [86]

Der Begriff hepatorenales Syndrom (HRS) bezeichnet das extremste Stadium der systemischen Kreislaufdysfunktion bei der Leberzirrhose. Patienten mit einem HRS Typ 1 haben eine mittlere Lebenserwartung von 14 Tagen [97]. Dieses Stadium ist gekennzeichnet durch arterielle Hypotonie, sehr niedrigen systemischen Gefäßwiderstand, hohe PRA, Adrenalin- und ADH-Spiegel und eine Vasokonstriktion in den nicht splanchnischen arteriellen Gebieten (Nieren, Gehirn, Muskeln, Haut [97]). Wie in Abschnitt 1.2 schon erwähnt, ist im splanchnischen Gefäßgebiet eine deutliche arterielle Vasodilatation vorhanden, die für die homöostatische Aktivierung der endogenen vasokonstriktorisches Systeme und dadurch für die hämodynamische Dysfunktion verantwortlich ist.

Die drei wichtigsten renalen vasodilatatorischen Systeme, die der Vasokonstriktion bei Zirrhose mit Aszites entgegen wirken und somit die renale Perfusion verbessern, sind Prostaglandine, NO und natriuretische Peptide.

Das HRS tritt folglich ein, wenn eine renale Vasokonstriktion durch die o. g. Vasokonstriktoren gegenüber der Vasodilatation überwiegen (Abb.6). Es wird angenommen, dass die Schädigung der renalen Funktion bei Patienten mit HRS Typ 1 (Typ 1 liegt vor bei einer Verdopplung des Serumkreatinins auf über 2,5 mg/dl in weniger als 14 Tagen) durch zusätzliche Faktoren, wie z.B. ein präzipitierender Übergangsfaktor, getriggert wird.

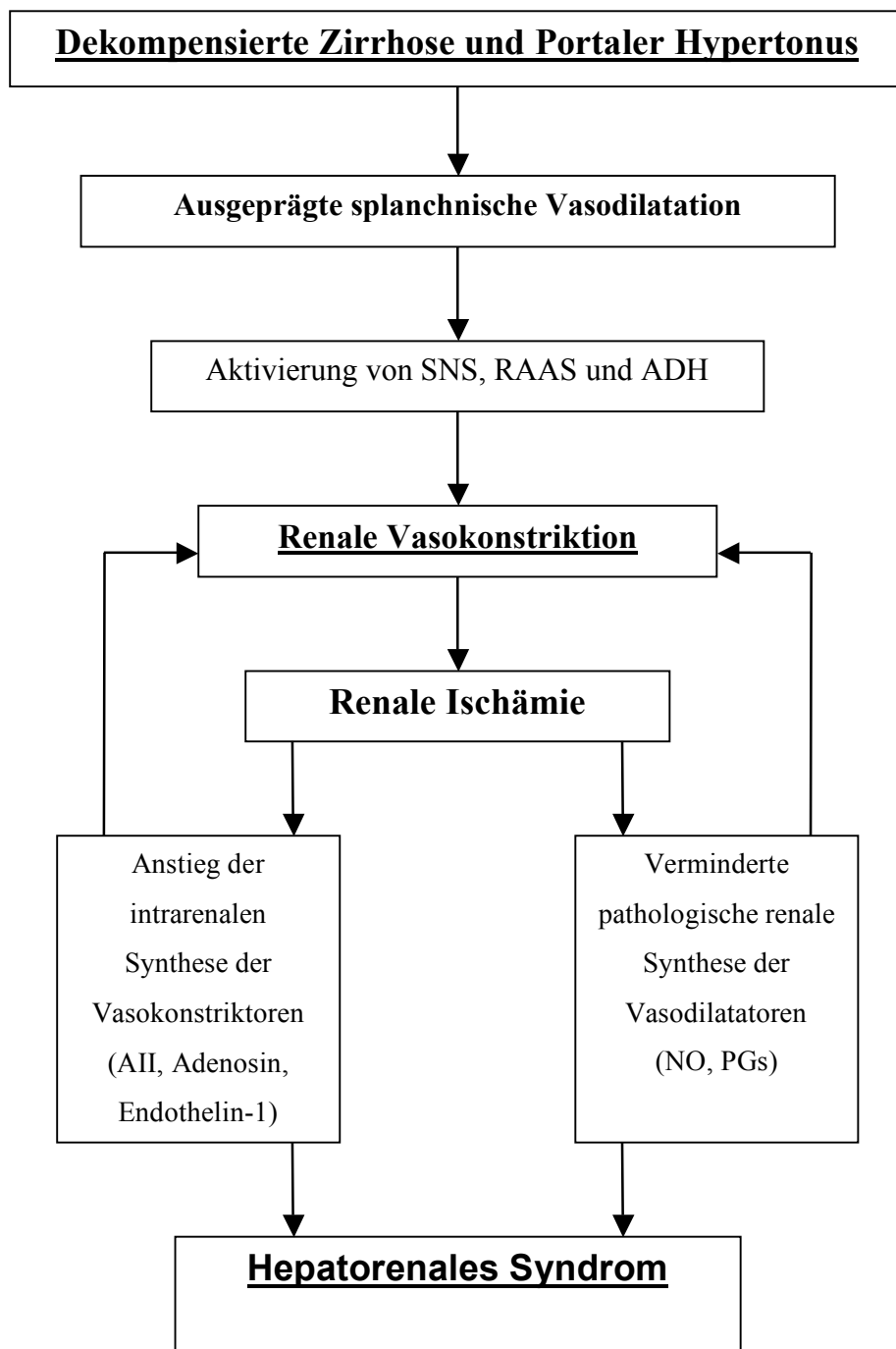


Abbildung 6: Möglicher HRS-Mechanismus bei Leberzirrhose

1.6 Therapie des Pfortaderhochdruckes

Die heute angewandten therapeutischen Strategien zur Behandlung des portalen Hypertonus und ihrer Komplikationen lassen sich jeweils über ihre pathophysiologischen Ansatzpunkte begründen und differenzieren. Diese Strategien beinhalten sowohl die pharmakologischen als auch die operativen bzw. die endoskopischen Methoden.

Die pharmakologischen Methoden sind in der Tabelle 3 aufgeführt.

A	<i>Manipulation der intrahepatischen Zirkulation</i>
	1. Erhöhung der intrahepatischen NO-Produktion: +Nitrovasodilatoren: Nitroglycerin, Isosorbid-5-mononitrat und -dinitrat +bzw. lokale Freisetzung von an Ursodeoxychol Säure gekoppelten NO-Moleküle
	2. Adrenerge Antagonisierung: Prazosin (Adrenozeptor-Antagonist), Clonidin (Zentraler α -2-Agonist), Carvedilol (nicht-selektive Betablocker und α -1-Antagonist)
	3 Blockade des RAAS: Losartan (Angiotensin-II-Typ-I-Antagonist), Spironolacton (Aldosteronantagonist)
B	<i>Splanchnische Blutflußsenkende Mittel</i>
	1. Nicht-selektive Betablocker: Propranolol, Nadolol, Timolol, Carvedilol
	2. Vasopressin und seine Analoga (Terlipressin)
	3. Somatostatin und seine Analoga (Ocreotid)
C	<i>Andere pharmakologische Möglichkeiten:</i>
	1. Medikamente mit tonuserhöhendem Effekt auf dem unteren Ösophagussphinkter: Metoclopramid, Domperidon
	2. Medikamentenkombinationen: Betablocker und Nitrate, Betablocker und Prazosin, Betablocker und Spironolacton

Tabelle 3: Pharmakologische Therapie der portalen Hypertonie

1.6.1 Manipulation der intrahepatischen Zirkulation

Im intrahepatischen vaskulären System existieren ein relatives Defizit an NO und eine überschießende Antwort auf endogene Vasokonstriktoren (Adrenalin, Endothelin, Angiotensin II). Beide Faktoren unterhalten die intrahepatische Widerstandserhöhung.

Eine Therapiemöglichkeit besteht darin, die intrahepatische NO-Produktion zu erhöhen, was durch die NO-Donoren wie Nitroglycerin, Isosorbiddinitrat oder Isosorbid-5-mononitrat (I5Mn) erreicht werden kann. Diese Substanzen und v.a. Isosorbid-5-mononitrat haben die Fähigkeit den intrahepatischen Widerstand und dadurch auch den Pfortaderdruck zu senken ohne den hepatischen Blutfluss zu vermindern [98]. Die Wirkung dieser Vasodilatoren ist pharmakologisch gut abgrenzbar. In den klinischen Studien machen die individuellen Faktoren und auch die häufigen systemischen Wirkungen dieser Medikamente (arterielle Hypotonie, reflektorische splanchnische Vasokonstriktion mit nachfolgend erniedrigtem portalem Blutfluss) die Beurteilung schwieriger. Normalerweise senken solche Vasodilatoren durch ein venöses Pooling den Preload und das Herzzeitvolumen, was wiederum den portalen Blutfluss senkt. Außerdem reduzieren diese Vasodilatoren den Widerstand im portosystemischen Kollateralkreislauf und dadurch auch geringfügig den Pfortaderdruck, was aber mit Komplikationen verbunden ist. Bei Patienten mit fortgeschrittener Leberzirrhose sind diese Medikamente sogar gefährlich, weil sie eine Verstärkung der schon existierenden splanchnischen Vasodilatation, einen arteriellen Blutdruckabfall und Aktivierung der endogenen vasoaktiven Systemen verursachen, und dadurch eine Wasser- und Natriumretention und ein Nierenversagen hervorrufen [99]. Die Kombinationstherapie mit Betablockern soll sicherer sein.

Antagonisten des adrenergen Systems stellen eine weitere Möglichkeit zur Therapie des erhöhten intrahepatischen Widerstandes dar. Prazosin, ein α -1-Rezeptor Antagonist, senkt deutlich den hepatovenösen Druckgradienten (HVDG), der mit einem Anstieg des portalvenösen Blutflusses verbunden ist. Die Nebenwirkungen ähneln denen der NO-Donatoren [100, 101]. Clonidin, ein zentralwirkender α -2-Rezeptor Agonist, führt durch einen Abfall der adrenergen peripheren Aktivität zur Senkung der Herzfrequenz, des kardialen Index, des arteriellen Blutdrucks, des intrahepatischen Widerstandes und des splanchnischen Blutflusses, wobei die

Nierenfunktion nicht beeinträchtigt wird [10, 102-104]. Ein weiterer Antagonist des adrenergen Systems ist Carvedilol, ein nicht selektiver Betablocker und α -1-Rezeptor-Antagonist. Dieser Substanz wird eine deutlich größere Senkung des HVDG bei ähnlicher Senkung des splanchnischen Blutflusses als durch Propranolol zugeschrieben [105].

Die RAAS-Aktivierung ist ein sehr häufiger Befund bei Zirrhosepatienten, v.a. im fortgeschrittenen Stadium, was eine weitere Behandlungsmöglichkeit bietet. Bei Patienten-Studien mit Losartan, einem Angiotensin II Rezeptors Typ1-Antagonist, wurde von einer Gruppe eine dramatische Pfortaderdrucksenkung ohne signifikante Änderungen des arteriellen Blutdrucks beobachtet [106]. Zusätzlich könnte diese Substanzengruppe die Leberfibrosierung inhibieren [107].

1.6.2 Splanchnische Blutflußsenkende Mittel

Die meisten Versuche, den portalen Hypertonus zu behandeln, zielten auf eine Senkung des erhöhten Pfortaderblutflusses durch splanchnische Vasokonstriktion ab. Einige dieser Medikamente, wie z.B. nicht selektive Betablocker, können oral verabreicht werden und sind für eine Langzeitbehandlung geeignet, während andere, wie Vasopressinanaloga, nur für eine kurzzeitige parenterale Behandlung, wie bei der Therapie der akuten Varizenblutung, verwendet werden können.

Die nicht selektiven Betablocker, wie Propranolol, Nadolol und Timolol, senken den portalen Druck durch eine Senkung des portalvenösen Blutflusses als Folge einer Reduzierung des kardialen Auswurfes (Blockade der kardialen β 1-Adrenozeptoren) und der splanchnischen Vasokonstriktion (Blockade der vasodilatierenden splanchnischen β 2-Adrenozeptoren und Überwiegen der α -adrenergen Wirkung) [108, 109].

Ein möglicher klinischer Nutzen von Vasopressin wird kontrovers diskutiert. In therapeutischen Dosen senkt es die Durchblutung aller splanchnischer Organe, dadurch den Pfortaderblutfluss und Pfortaderdruck, sowie Kollateralblutfluss und Varizendruck [110]. Unerwünschte systemische Wirkungen von Vasopressin ist eine systemische Vasokonstriktion mit erhöhtem peripheren Widerstand und erniedrigtem kardialen Ausfluss sowie der Herzfrequenz und des koronaren Blutflusses. Diese Nebenwirkungen können ernste Komplikationen hervorrufen, wie kardiale Ischämie oder Herzinfarkt, Arrhythmien, mesenteriale und zerebrale Ischämien, die in 25% der

Fälle zum Absetzen der Therapie führen [111]. Die Kombinationstherapie mit Nitroglyzerin hat eine positive Entwicklung in Bezug auf diese Nebenwirkungen gebracht [112].

Terlipressin ist ein synthetisches Vasopressin-Analogon, das nach i.v.-Gabe langsam enzymatisch in Vasopressin umgewandelt wird. Im Gegensatz zu Vasopressin fördert es nicht die Fibrinolyse und besitzt eine längere biologische Aktivität, was eine kontinuierliche i.v.-Gabe unnötig macht [113]. Dieses Medikament wird bevorzugt eingesetzt, um einer erneuten Blutung vorzubeugen.

Ein weiterer pharmakologischer Therapieansatz geht von der Überlegung aus, dass die Expansion des Blutvolumens für die Unterhaltung des erhöhten Herzindexes und damit die Verschlechterung des Pfortaderdrucks verantwortlich ist. Dieser Gedankengang begründet sich in der Tatsache, dass die splanchnische Vasodilatation eng mit dem reduzierten arteriellen Druck und Herzindex und dadurch mit der Aktivierung der endogenen Systemen verbunden ist, die zu einer Natriumretention und Plasmenvolumenzunahme führt [114, 115]. Es wurde gezeigt, dass eine natriumarme Diät und Spironolacton eine Pfortaderdrucksenkung bei Zirrhosepatienten bewirken [116, 117]. Es gibt Hinweise auf eine direkte vaskuläre Wirkung von Spironolacton, die nicht mit der Aldosteronantagonisierung einhergeht [118].

Die Therapie des portalen Hypertonus beinhaltet auch die Therapie ihrer Komplikationen. Eine häufige Komplikation ist die Varizenblutung. Viele Studien haben gezeigt, dass um Varizen zu entwickeln der HVDG über 10-12 mm Hg [119] liegen muss. Patienten mit Varizen, bei denen der Druck unter 12 mm Hg durch eine Therapie gesenkt wurde zeigen eine deutliche Größenregredienz der Varizen und auch der Gefahr der akuten Blutung [120].

Die Mortalität der Varizenblutung liegt bei 32% [111]. Aus diesem Grund sollte die Therapie unter intensivmedizinischer Betreuung fortgeführt werden. Bei der akuten Blutung sollte endoskopisch vorgegangen werden, um die Blutungsquelle zu stillen. Gleichzeitig hat die pharmakologische Therapie eine vorbeugende Funktion.

2 FRAGESTELLUNG

2.1 Welchen Effekt hat Losartan auf den Pfortaderhochdruck und die Hämodynamik

Bei der Leberzirrhose persistiert die Vasodilatation in dem splanchnischen und systemischen Gefäßbett trotz Aktivierung endogener Vasokonstriktoren (Angiotensin II, Noradrenalin). Der Angiotensin II-Typ1 Rezeptorantagonist, Losartan, blockiert dosisabhängig die hämodynamische Wirkung von Angiotensin II.

Die hämodynamische Wirkungsweise, sowie die Dosisabhängigkeit der Losartanwirkung auf die splanchnische, hepatische und renale Durchblutung sind bislang nicht bekannt.

Es ist das Ziel der vorliegenden Arbeit, dieses an einem Tiermodell zu untersuchen.

2.2 Welchen Effekt hat Losartan auf die Nierenfunktion

Das Renin-Angiotensin-Aldosteron-System (RAAS) hat einen entscheidenden Einfluss für die Aufrechterhaltung der Nierenfunktion, insbesondere für die Regulation der renalen Perfusion, der glomerulären Filtration und der Regulation der Natriumausscheidung. Bei der Leberzirrhose ist das RAAS aktiviert und die Nierenfunktion auf all den oben angegebenen Ebenen beeinträchtigt. Ziel der Untersuchung ist es somit, den Einfluss des Angiotensin II-Rezeptorantagonisten Losartan auf die renale Funktion der Ratten mit einer Leberzirrhose zu untersuchen.

2.3 Welchen Effekt hat Losartan auf die Kontraktilität zirrhotischer Gefäße

Angiotensin II und α 1-Adrenozeptoragonisten tragen entscheidend zum Gefäßtonus der Leberzirrhose bei.

In Ergänzung zu den Untersuchungen der hämodynamischen und der renalen Effekte des Angiotensin II-Typ-1-Rezeptorantagonisten Losartan, soll hier dosisabhängig die Effekte von Losartan auf die In-Vitro-Kontraktilität isolierter Gefäße bei Ratten mit einer Leberzirrhose im Vergleich zu gesunden Tieren untersucht werden.

Zu diesem Zweck wurden Kontraktionsversuche mit isolierten Aortenringe durchgeführt.

3 METHODEN

3.1 Tiermodell der gallengangligierten Ratte

Für die Versuche wurden insgesamt 107 männliche Sprague-Dawley-Raten (ca. 180-220 g) herangezogen. Bei 75 wurde die unten beschriebene Gallengangsligatur durchgeführt. Die restlichen 32 Raten dienten als Kontrollen. Zur Induktion der sekundär biliären Zirrhose wurde unter Ketamin-Narkose (60 mg/kg KG intramuskulär Ketanest S, 25 mg/ml, Esketamin Hydrochlorid, Parke-Davis GmbH, Pfizer GmbH, Karlsruhe) nach medianer Laparotomie der Ductus choledochus durch eine doppelte Ligatur mit einem resorbierbaren Faden verschlossen und zwischen den beiden Ligaturen reseziert. Muskelschicht und Fell wurden anschließend separat zugenäht (Suturamid Schwarz 3/0, Johnson+Johnson Brüssel, Belgien, Ethicon GmbH Norderstedt, Deutschland). Nach etwa vier Wochen bildet sich eine sekundär biliäre Zirrhose aus. Die Tiere haben dann eine zirrotisch umgebaute Leber mit hyperdynamischer Zirkulation und Aszitesbildung [121]. Als Kontrollen dienten shamoperierte Ratten. Hier wurde, wie oben beschrieben, unter Ketamin-Narkose der Gallengang freipräpariert, jedoch keine Ligaturen gesetzt. Die Tierexperimente wurden von dem lokalen Komitee für Tierstudien der Bezirksregierung Köln genehmigt (23.203.2Bn 22,7/99).

3.2 Behandlung der Ratten mit Losartan

5 Wochen nach der Gallengangsligatur wurden die Ratten für eine Woche lang täglich mit Losartan (L-158086-005HO72, Merck Research Laboratories, Rahway N.J. USA) in verschiedene Dosierungen (10 und 0.5 mg Losartan/kg x d oder Lösungsmittel) behandelt. Die Substanz wurde in 0,4 ml Trinkwasser gelöst und über eine Magensonde verabreicht. Als Kontrollen dienten sham-operierten Ratten, die für ebenfalls eine Woche täglich 0,4 ml Trinkwasser erhielten.

3.3 Hämodynamische Messungen

Die hämodynamischen Studien wurden unter Ketamin-Narkose (60 mg/Kg KG intramuskulär) vorgenommen. In diesem Zustand ähneln die Herzauswurfsleistung

und die regionalen Durchblutungen der Ratte dem Zustand bei vollem Bewusstsein am meisten [122]. Diese Narkosekonstellation wurde oft in Untersuchungen verwendet, in denen pfortaderdrucksenkende Effekte unterschiedlicher Medikamente in Tiermodellen der portalen Hypertonie untersucht wurden [20, 123].

3.3.1 Messung von Blut- und Pfortaderdruck

Nachdem die Ratte narkotisiert und in der Rückenlage fixiert war, wurde das Fell über der linken Leiste durch einen longitudinalen Schnitt aufpräpariert. Die Femoralarterie und Femoralvene wurden aus der Gefäß-Nerven-Scheide freipräpariert und mit einem PE-50 Katheter (PE 0,28x0,61, Everhardts, Meckenheim, Deutschland) kanüliert.

Anschließend wurden eine mediane Laparatomie durchgeführt und die Darmschlingen herausluxiert. Daraufhin wurde ein weiterer PE-50 Katheter in eine kleine ileocoecale Vene hineingelegt. Dieser Katheter wurde anschließend bis in der Vena portae vorgeschoben und dann an seinem Eingang in das mesenteriale Gefäßsystem fixiert. Schließlich wurden die Darmschlingen wieder in der Bauchhöhle platziert und die Bauchwand sowie anschließend auch das Fettgewebe und Fell mit einer fortlaufenden Naht verschlossen (Suturamid Schwarz 3/0, Johnson+Johnson Brüssel, Belgien, Ethicon GmbH Norderstedt, Deutschland). Die Hämodynamik der Ratte stabilisiert sich dann spätestens nach 15 Minuten.

Die Katheter in Femoralarterie und Pfortader wurden über Druckaufnehmer (Isotec-Pressure Transducer, Hugo Sachs Elektronik, March-Hugstetten, Deutschland) an dem Druckmesser (HRM Typ 669 und TAM-D Typ 705/2 im Plugsys-Minicase Typ 609, Pressure Transducer, Hugo Sachs Elektronik, March-Hugstetten, Deutschland) angeschlossen, wobei der Nullpunkt 1 cm oberhalb des Operationstisches geeicht wurde. Die Drücke wurden dann kontinuierlich über einen Zeitraum von 30 min aufgenommen.

3.3.2 Messung der Durchblutung mit kolorierten Mikrosphären

Der Herzindex und die regionale Durchblutung wurde durch die Technik der Farbmikrosphären gemessen [124]. Diese Methode ist durch die häufiger angewandte Technik der radioaktiven Mikrosphären validiert [124]. Der

entscheidende Vorteil hierbei ist, dass kein radioaktives Material mehr zum Einsatz kommt.

Dazu wurde ein weiterer Katheter im linken Ventrikel platziert. Um das zu erreichen, wurde zunächst das Fell durch einen longitudinalen Schnitt am rechten lateralen Halsdreieck geöffnet. Die Schilddrüse wurde nach medial oben geschlagen und der M. sternocleidomastoideus nach lateral und der mediale Bauch des M. Omohyoideus nach medial verschoben. Die rechte A. Carotis communis wurde in der Vagina carotica freigelegt und von den Nachbarstrukturen getrennt. In die A. Carotis communis wurde ein weiterer PE-50 Katheter gelegt und unter Monitorkontrolle bis zum linken Ventrikel vorgeschoben. Die intraventrikuläre Lage des Katheters wurde im Versuch an der Pulskurve bestätigt und stets post mortem geprüft.

Die von jedem Tier benötigte Referenzblutprobe, wurde aus der A. Femoralis entnommen (0,65 ml/min über eine Minute). Dies geschah mit Hilfe einer speziellen Pumpe (Model '22', Syringe Pump, Harvard Apparatus, Hugo Sachs Elektronik, March-Hugstetten, Germany).

Zehn Sekunden nach Beginn der Entnahme der Referenzblutprobe wurden über einen Zeitraum von zwanzig Sekunden 300.000 rote Mikrosphären (15µm Durchmesser, Triton Technology, San Diego, USA; suspendiert in 300µl physiologische Kochsalzlösung mit 0,05% Tween 80) über den Katheter in den linken Ventrikel injiziert. Die Verteilung dieser roten Mikrosphären entspricht der Durchblutung der einzelnen Organe.

Danach wurden 150.000 blaue Mikrosphären (15 µm Durchmesser in 300µl physiologischer Kochsalzlösung mit 0,05% Tween 80) durch den Mesenterialvenenkatheter in die Pfortader innerhalb von 30 Sekunden injiziert. Diese Mikrosphären wurden verwendet, um den porto-systemischen Shunt zu bestimmen.

Nach Injektion der Mikrosphären wurde das Tier getötet und Lungen, Leber, Nieren, Milz, Verdauungstrakt und Pankreas entnommen. Die Organe wurden gewogen und in einer Konzentration von 14 ml/g Gewebe in 4 M KOH (Sigma Saint Louis, Missouri, USA) mit 2% Tween 80 (Polyoxyethylene-sorbitan-mono-oleate, Sigma Saint Louis, Missouri, USA) eingelegt. Die Referenzblutprobe wurde in 3,8 ml 5,3 M KOH und 0,5 ml Tween80 gelöst. Sämtliche Proben wurden 1 Stunde bei 60°C inkubiert. Die mazerierten Proben wurden gevortext und durch spezielle Filter (Nucleopore Polycarbonate, Whatman International Limited, Madison, UK) filtriert.

Restliche Gewebeteilchen wurden durch Nachspülen mit 2% Tween 80 Lösung entfernt.

Die Filter mit den Mikrosphären wurden dann in jeweils 200µl Dimethylformamid (N,N-Dimethylformamid, Merck KG.A, Darmstadt, Deutschland) überführt und gevortext, wobei sich die Farbe aus den Mikrosphärenkapseln in Dimethylformamid löst. Die Proben wurden anschließend 5 Minuten bei 3000 g zentrifugiert. Von den Überständen wurden Absorptionsspektren (300-800 nm, Photometer HP 8453 X UV-Visible System) aufgenommen. Aus diesen Daten wurde durch das Softwareprogramm Triton 5 von Triton Technology (Föhr Medical Instruments, Seeheim, Deutschland) die Anzahl der entsprechenden Mikrosphären in den jeweiligen Organen, die Organdurchblutung, der kardiale Output und der portosystemische Shunt errechnet. Der kardiale Output wird pro 100g Körpergewicht ausgedrückt.

Der portosystemische Shunt (PSS) wird wie folgt errechnet: $(\text{Anzahl der Mikrosphären in der Lunge}) \times 100 / (\text{Anzahl der Mikrosphären in Lunge und Leber})$.

Der portalvenöse Einstrom (PVI) ist die Summe der Durchblutungen in Magen, Milz, Darm, Pankreas und Mesenterien. Der kollaterale Blutfluss (KBF) wird in (ml/min x 100g) ausgedrückt und an Hand der Formel $\text{PVI} \times \text{PSS}/100$ errechnet.

Der Gefäßwiderstand wird als Quotient aus Perfusionsdruck und Blutfluss der entsprechenden Gefäßregion angegeben. Der systemische Gefäßwiderstand wird als Quotient aus mittlerem arteriellem Druck und kardialem Index, der portalvenöse Widerstand als Quotient aus Pfortaderdruck und portalvenösem Einfluss errechnet.

3.4 Bestimmung des Noradrenalin-Plasmaspiegel

Der Noradrenalin-Plasmaspiegel wurde wie durch Weicker et al [125] beschrieben mittels eines Hochleistungsflüssigchromatographen bestimmt.

3.5 In vitro-Kontraktilitätsversuche mit isolierten Aorten-Ringen

In diesen Experimenten wurde der Einfluss einer chronischen Losartan-Behandlung zirrhotischer Ratten auf die adrenerge und Angiotensin-II-induzierte Kontraktion isolierter Aortenringe untersucht. Dazu wurde im Organbad myographisch die isometrische Kontraktion endothelfreier Aorten-Ringe auf kumulative Dosen des α 1-Agonisten Methoxamin bzw. auf Angiotensin-II hin gemessen und daraus dann entsprechende Konzentrations-Wirkungskurven erstellt.

Die Tiere werden 12 Stunden nach der letzten Gabe getötet. Unmittelbar danach wurde die thorakale Aorta entnommen und in einer Petrischale mit gekühlter (4°C) oxygenierter Krebs-Henseleit-Lösung (in mM: NaCl 118,3; KCl 4,7; CaCl_2 2,5; MgSO_4 1,17; KH_2PO_2 1,18; NaHCO_3 25,0; EDTA 0,026; Glukose 11,1; Sigma Saint Louis, Missouri, USA) von der Adventitia befreit und in jeweils 2 mm breite Ringe geschnitten.

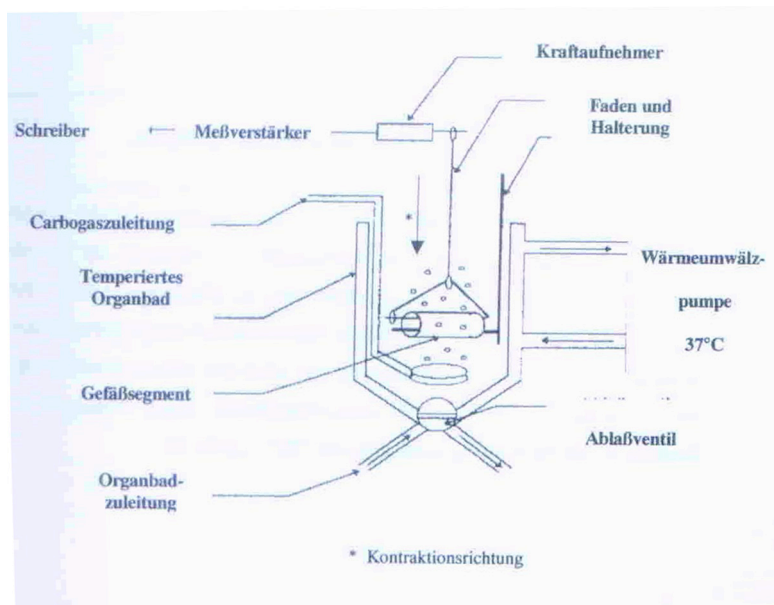


Abbildung 7: Das Organbad

Durch sanftes Reiben des Inneren des Gefäßsegmentes gegen einen Draht/ Pinzette wurde das Endothel mechanisch zerstört. Anschließend wurden die Ringe im Organbad aufgehängt.

Dabei wurden die Ringe über jeweils zwei parallel stehende Drähte in der Krebs-Henseleit-Lösung gefüllten, mit Carbogen (95% Sauerstoff, 5% Kohlenstoffdioxid) begasten und bei 37°C gehaltenen Organbad-Kammern (Schuler Organbad, Hugo Sachs Elektronik, March, Deutschland) aufgespannt (Abb.11). Einer dieser Drähte ist fixiert, der andere mit einem Kraftaufnehmer und einem Schraubmechanismus versehen, mit dem der Abstand der beiden Drähte voneinander geändert werden kann. Dieser Abstand wurde dann vergrößert, bis die aufgezogenen Aorten-Ringe begannen, eine passive Spannung anzunehmen und so eine Kraft auf die Drähte auszuüben. Diese Kraft wurde vom Kraftaufnehmer aufgenommen und durch einen daran angeschlossenen Verstärker (TBM4, World Precision Instruments, Berlin, Deutschland) in ein elektrisches Signal umgewandelt, welches dann wiederum kontinuierlich von einem Polygraph (Multichannel Polygraph, Rikandenki R10, Tokyo, Japan) als Kontraktionszustand gegen die Zeit aufgezeichnet wurde. Das System wurde vor dem Aufspannen der Ringe durch Anhängen entsprechender Gewichte an den Kraftaufnahmearm geeicht.

Dem Aufhängen folgte eine 30-minütige Stabilisierungsphase, in der die Gefäße auf eine passive Vorspannung von 4 Gramm gebracht wurden. Anschließend wurde der Erfolg der Endothel-Entfernung an den im Myographen montierten Ringe überprüft, in dem mit Methoxamin (1 μ M) eine Kontraktion ausgelöst und danach der Effekt von Acetylcholin beobachtet wurde. Bei intaktem Endothel würde nach der Acetylcholin-Gabe eine Relaxation erfolgen, die bei zerstörtem Endothel jedoch ausbleibt. Aorten-Ringe mit intaktem Endothel wurden verworfen.

Die Gefäß-Segmente wurden danach mehrmals mit Krebs-Henseleit-Lösung gewaschen bis die anfangs eingestellte, passive Vorspannung wieder erreicht war.

Anschließend folgte der eigentliche Versuch, wobei die Kontraktion nach kumulativen Dosen von Methoxamin (10^{-9} bis 10^{-3} M) bzw. Angiotensin II (10^{-10} bis 10^{-6} M) gemessen wurde.

Wenn die Kontraktion nach der jeweils höchsten Konzentration des kontraktiven Agonisten eine Plateau Phase erreicht hatte, wurde der Versuch beendet.

Zur Analyse der Kontraktions-Experimente wurden angepasste Konzentrations-Wirkungs-Kurven, auf der Basis der mittleren Kontraktionswerte durch nicht-lineare Regressionen erstellt. Hierfür wurde das Computerprogramm Prism® (Graph Pad Software Inc., San Diego, USA) verwendet. Die Emax- (maximale Kontraktion) und pEC50-Werte (der negative Logarithmus der Konzentration, die den halbmaximalen Effekt hervorruft) wurden aus diesen angepassten Kurven errechnet.

3.6 Bestimmung der renalen Funktion

Die renale Funktion wurde mit Hilfe spezieller individueller metabolischer Käfige (Tecniplast, Buguggiate, Italien) bestimmt. 28 Tage nach der Operation wurden die Ratten für eine Woche bei Zugang zum Standardfutter und Wasser ad libitum in diesen Käfigen gehalten.

Über die 7 Tage wurde genau die Einfuhr und Ausfuhr der Tiere protokolliert. Jeden Tag wurde eine Urinprobe genommen. Am zweiten und am letzten Tag wurden die Urinproben auf Natrium-, Kalium- und Kreatininausscheidung untersucht.

Am letzten Tag wurden die Tiere getötet und jeweils Serum und Plasma abgenommen. Im Serum wurde die Konzentration von Kreatinin ermittelt und die Kreatininclearance errechnet.

Das Serum bzw. Plasma wurde intrakardial abgenommen und sofort auf Eis gelagert. Die Proben wurden bei 3500 g für 15 min bei 4°C zentrifugiert, die Überstände dann bei -80°C gelagert. Die Plasmenproben wurden für die Bestimmung der Noradrenalin-Plasmaspiegel verwendet.

3.7 Statistische Analyse

Die Ergebnisse sind als Mittelwerte \pm Standardabweichung dargestellt. Zum Gruppenvergleich wurden die nicht-parametrischen Kruskal-Wallis- oder Mann-Whitney-Tests herangezogen. Ein $p < 0,05$ wurde dabei als signifikant betrachtet.

4 ERGEBNISSE

4.1 Allgemeines

Zwischen den unterschiedlichen Gruppen gab es keine signifikanten Unterschiede im Körpergewicht. Die Gewichte für Milz und Leber waren bei zirrhotischen Ratten im Vergleich zu den Kontrollen signifikant erhöht. Signifikante Unterschiede zwischen den einzelnen Zirrhosegruppen mit oder ohne Losartanbehandlung wurden nicht beobachtet (Tabelle 5).

Tabelle 5: Allgemeine Charakteristika

	Sham		Zirrhose	
	Wasser	Wasser	Losartan 10 mg/kg*d	Losartan 0,5 mg/kg*d
Körpergewicht (g)	379 ± 14	371 ± 17	351 ± 15	360 ± 13
Lebergewicht (g)	13,7 ± 1,6	24,4 ± 3,0 *	21,0 ± 0,7 *	22,3 ± 1,4 *
Milzgewicht (g)	0,8 ± 0,1	1,8 ± 0,3 *	1,3 ± 0,2 *	1,5 ± 0,2 *

* $P < 0,05$ vs. Sham und Lösungsmittel

4.2 Die Hämodynamik

Vier Wochen nach der Operation wiesen gallengangsligierte Ratten (BDL) im Vergleich zu den Kontrollen einen signifikant höheren Pfortaderdruck auf. Der arterielle Druck war bei den zirrhotischen Ratten niedriger als bei shamoperierten Ratten (Abb.12 a). Die siebentägige Behandlung zirrhotischer Ratten sowohl mit 0,5 als auch mit 10 mg/kg KG bewirkte in beiden Gruppen eine signifikante Senkung des Pfortaderdruckes (Abb.12 b). Die siebentägige Verabreichung von 10 mg/kg*d Losartan bewirkte bei den zirrhotischen Ratten eine signifikante Senkung des mittleren arteriellen Druckes (MAD). Dies wurde bei einer Dosis von 0,5 mg/kg*d jedoch nicht beobachtet (Abb. 12 a und b).

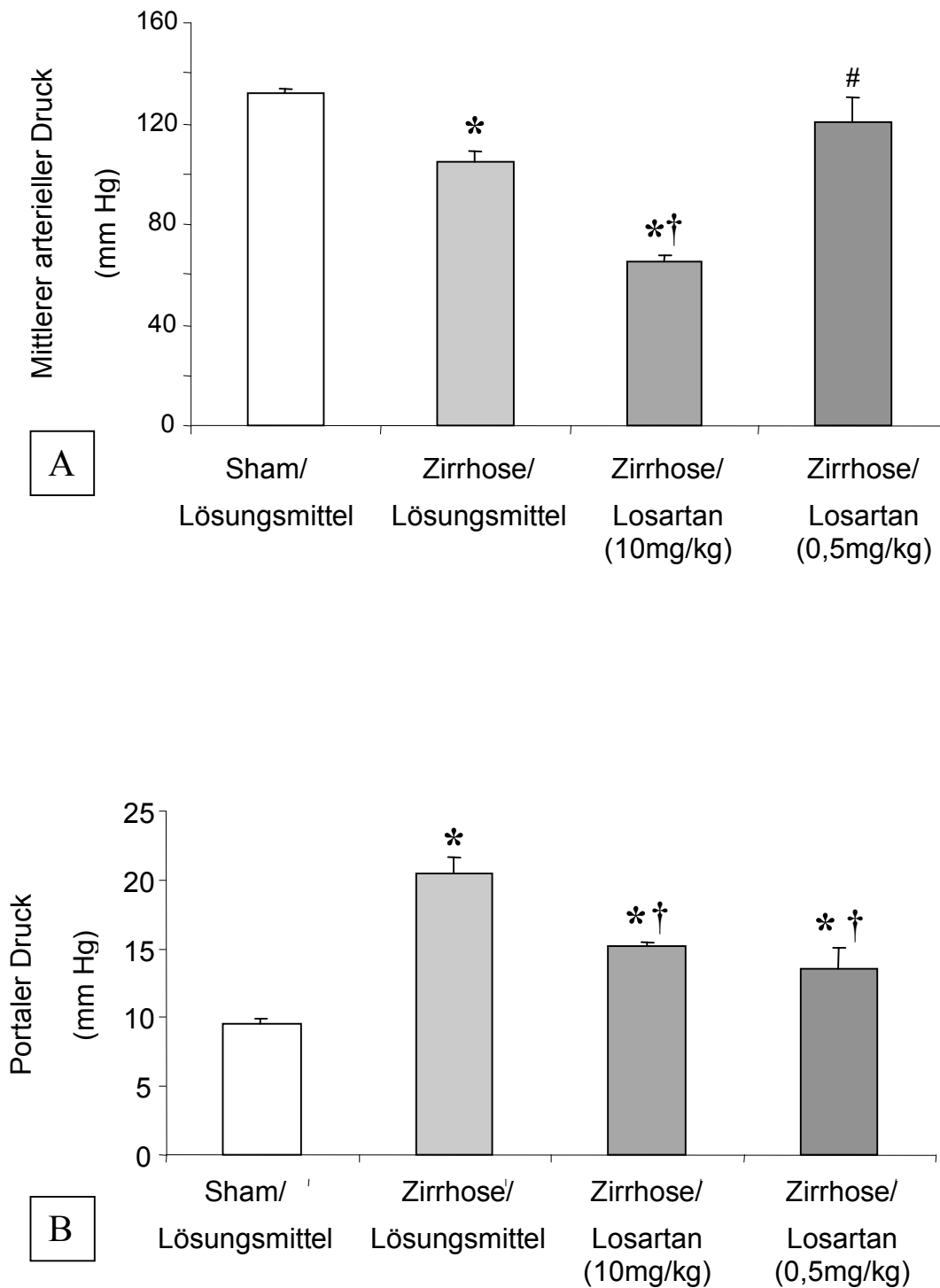


Abbildung 12: MAD und Pfortaderdruck bei Sham-operierten, zirrhotischen und zirrhotischen Losartan-behandelten Ratten. Vergleiche zwischen allen Gruppen wurden anhand Kruskal-Wallis Test durchgeführt und waren signifikant ($p < 0,05$) für A und B. Vergleiche zwischen zwei Gruppen wurden mit Mann-Whitney Tests durchgeführt.

* $P < 0,05$ vs. Sham und Lösungsmittel

† $P < 0,05$ vs. BDL und Lösungsmittel

$P < 0,05$ vs. BDL und (Losartan 10 mg/kg*d).

Der kardiale Index war bei zirrhatischen Ratten im Vergleich zu Sham-operierten erhöht, der systemische Gefäßwiderstand niedriger (Abb.13). Die Behandlung zirrhatischer Ratten mit 0,5 mg/kg*d Losartan blieb ohne signifikanten Effekt auf den kardialen Index und den systemischen Gefäßwiderstand (Abb. 13).

Der splanchnische Blutfluss war bei zirrhatischen Tieren im Vergleich zu den Kontrolltieren signifikant erhöht, der splanchnische Gefäßwiderstand dagegen signifikant niedriger als bei Sham-operierten Tieren. Die siebentägige Behandlung zirrhatischer Ratten mit 0,5mg/kg*d bewirkte eine signifikante Senkung des splanchnischen Blutflusses und eine Erhöhung des splanchnischen Gefäßwiderstandes. Im Gegensatz dazu wiesen zirrhatische Ratten, die sieben Tage mit 10 mg/kg*d Losartan behandelt wurden, einen höheren splanchnischen Blutfluss und niedrigeren splanchnischen Gefäßwiderstand als unbehandelte zirrhatische Tiere auf (Abb. 14).

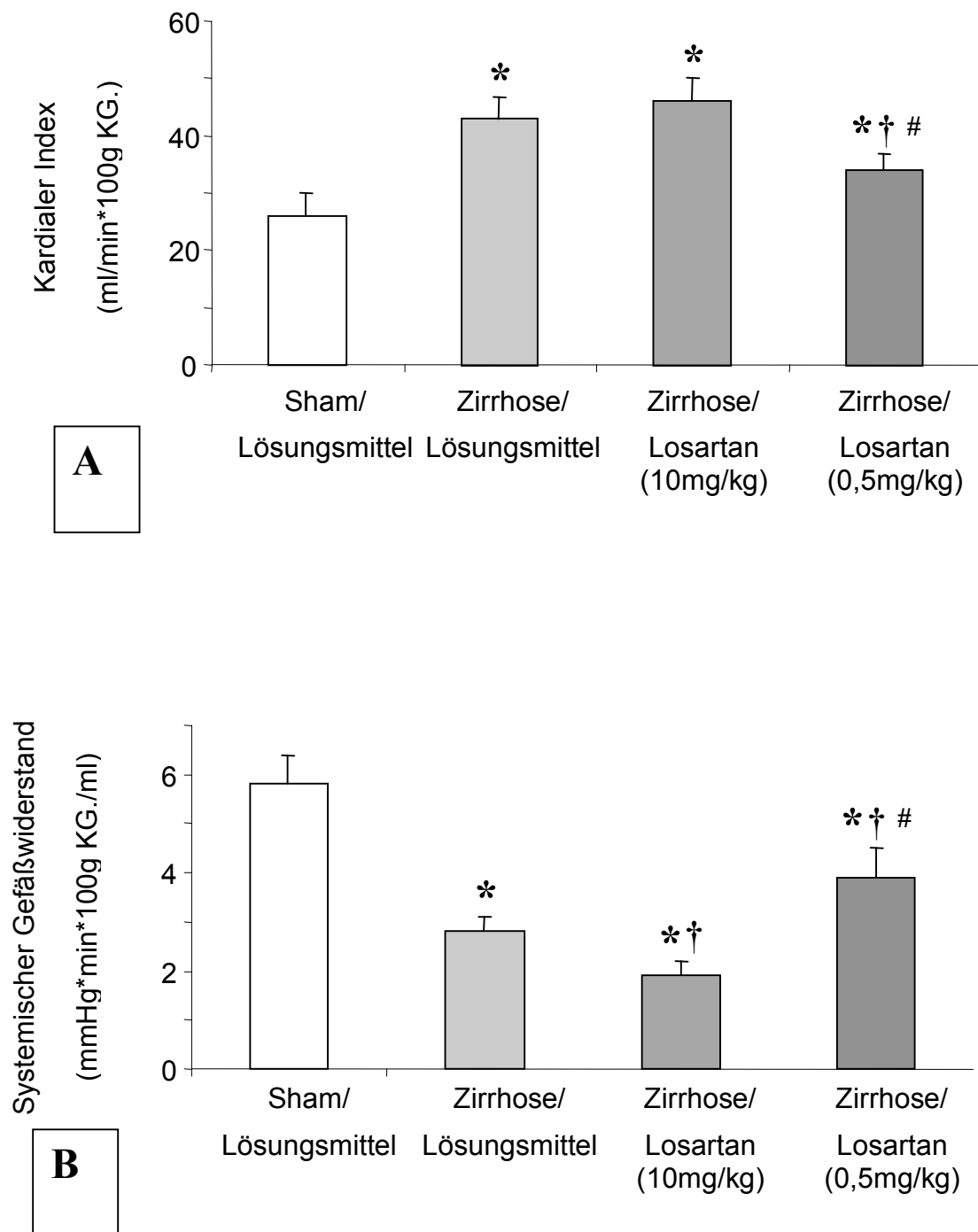


Abbildung 13: Kardialer Index (A) und Systemischer Gefäßwiderstand (B) bei Sham-operierten, zirrhötischen und zirrhötischen Losartan-behandelten Ratten. Vergleiche zwischen allen Gruppen wurden anhand Kruskal-Wallis Test durchgeführt und waren nicht signifikant ($p > 0,05$) für A und B. Vergleiche zwischen zwei Gruppen wurden mit Mann-Whitney Tests durchgeführt.

* $P < 0,05$ vs. Sham und Lösungsmittel

† $P < 0,05$ vs. BDL und Lösungsmittel

$P < 0,05$ vs. BDL und (Losartan 10 mg/kg*d).

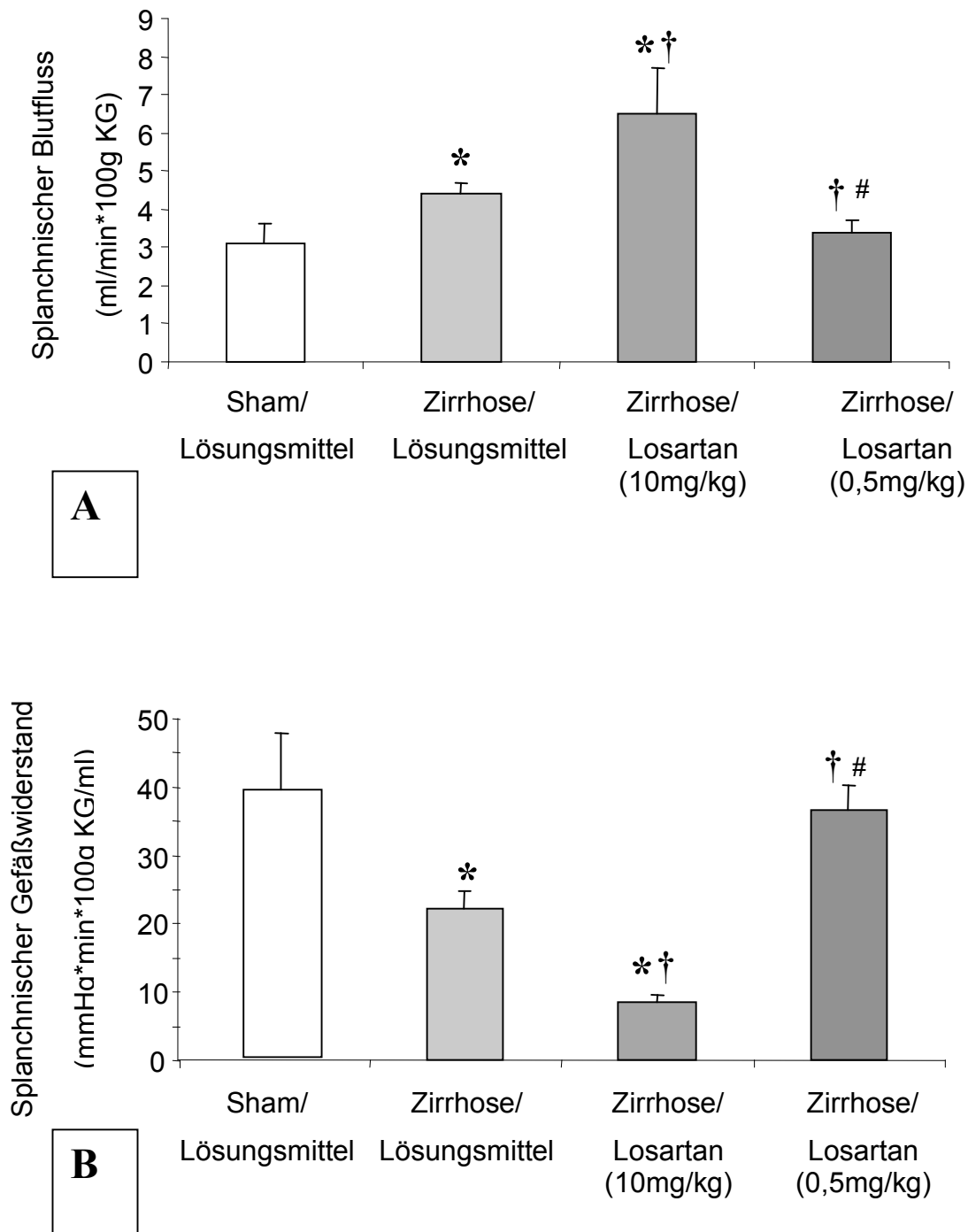


Abbildung 14: Splanchnischer Blutfluss (A) und Gefäßwiderstand (B) bei Sham-operierten, zirrhotischen und zirrhotischen Losartan-behandelten Ratten. Vergleiche zwischen allen Gruppen wurden anhand Kruskal-Wallis Test durchgeführt und waren nicht signifikant ($p > 0,05$) für A und B. Vergleiche zwischen zwei Gruppen wurden mit Mann-Whitney Tests durchgeführt.

* $P < 0,05$ vs. Sham und Lösungsmittel

† $P < 0,05$ vs. BDL und Lösungsmittel

$P < 0,05$ vs. BDL und (Losartan 10 mg/kg*d).

Der portale Blutfluss (pro 100g Körpergewicht) war bei zirrhotischen Ratten signifikant höher als in der Kontrollgruppe. 0,5mg/kg*d Losartan führte zu einer signifikanten Verminderung des portalen Blutflusses herbeigeführt (Abb.15). Die Losartanbehandlung mit 10 mg/kg*d resultierte in einer signifikanten Erhöhung des portalen Blutflusses (Abbildung 15).

Der arterielle hepatische Blutfluss war bei zirrhotischen im Vergleich zu Sham-operierten Ratten signifikant erhöht. Die Behandlung zirrhotischer Ratten mit 10 mg/kg*d Losartan ergab keine signifikante Senkung des bei Zirrhose erhöhten arteriellen hepatischen Blutflusses, jedoch wiesen die nur mit 0,5 mg/kg*d behandelten zirrhotischen Ratten nach einer Woche einen deutlichen gesunkenen arteriellen hepatischen Blutfluss auf (Abb.15).

Der portale sinusoidale Widerstand war bei zirrhotischen im Vergleich zu Sham-operierten Ratten signifikant erhöht. Die Behandlung zirrhotischer Ratten mit 10 mg/kg*d Losartan ergab eine signifikante Senkung des bei Zirrhose erhöhten portalen sinusoidalen Widerstand, jedoch wiesen die nur mit 0,5 mg/kg*d behandelten zirrhotischen Ratten nach einer Woche keinen Unterschied des portalen sinusoidalen Widerstands auf (Abb.16 A).

Während bei Sham-operierten Ratten kein portosystemischer Shunt messbar war, wiesen zirrhotischen Tiere ein beträchtliches Shuntvolumen auf. Die einwöchige Losartangabe von 10 und 0,5 mg/kg*d führte zu keinem Unterschied dieses Flusses (Abb. 16 B).

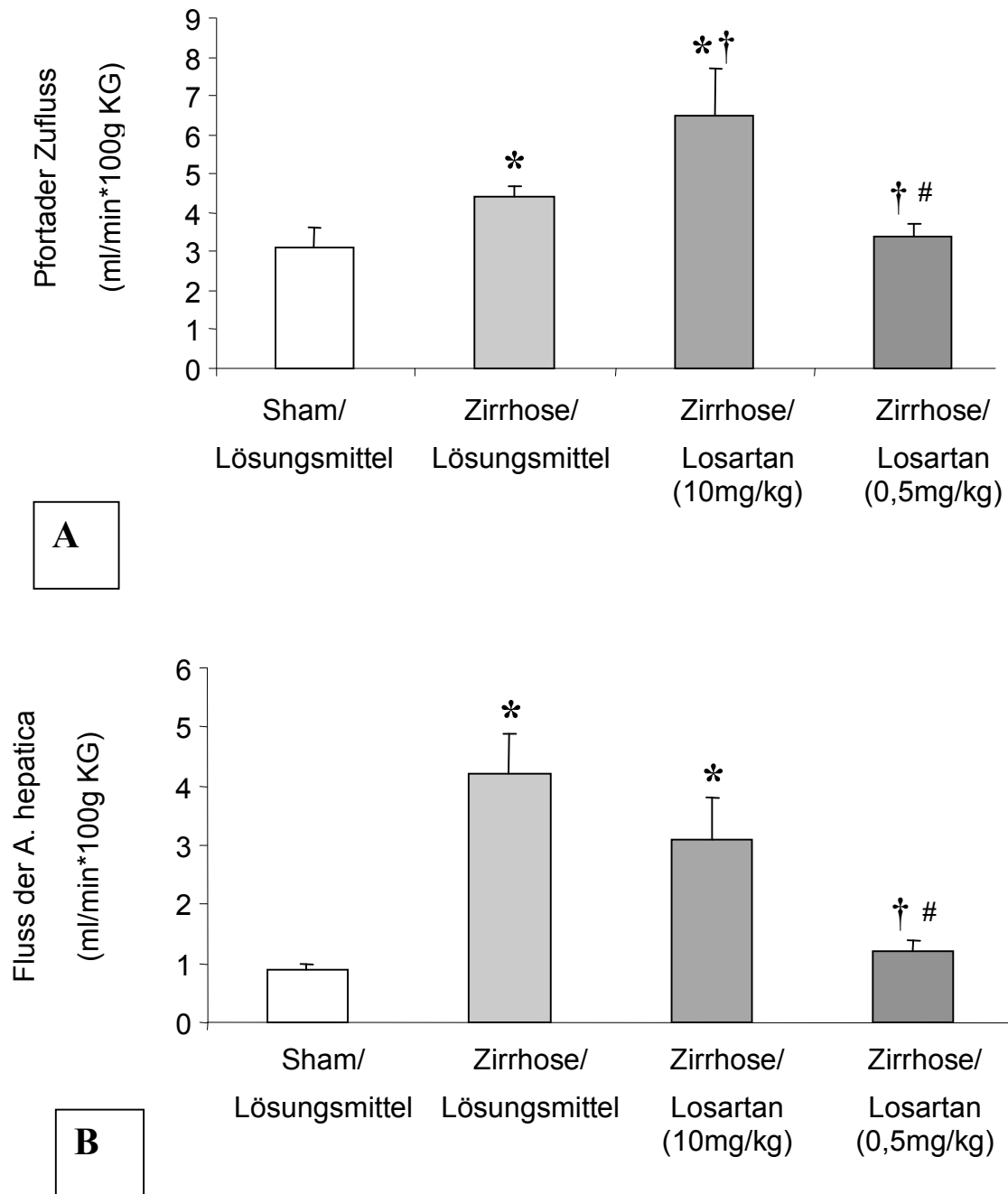
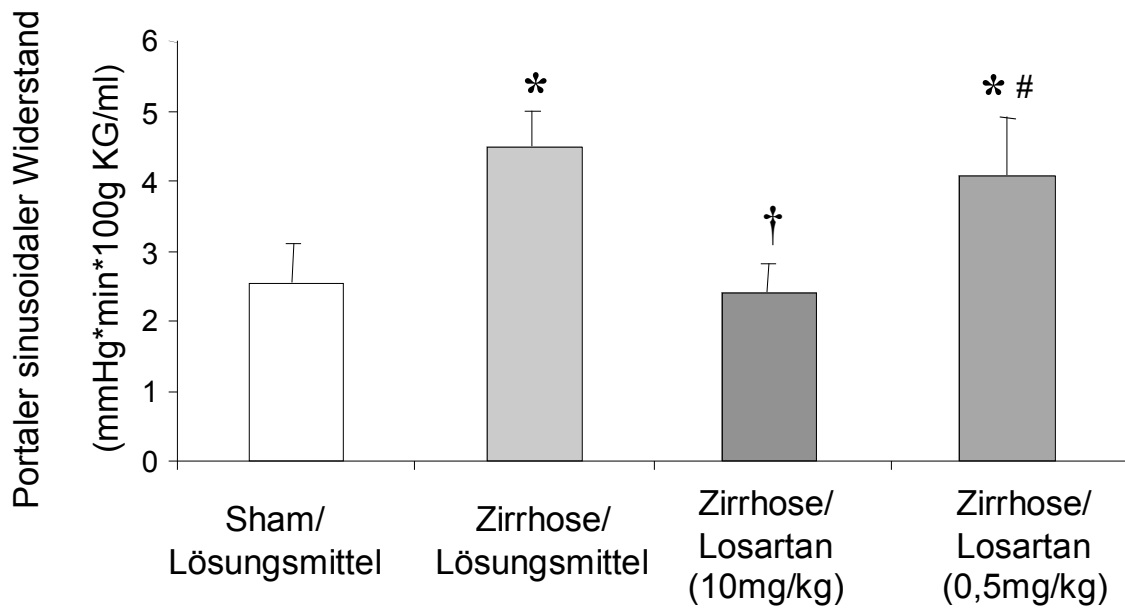


Abbildung 15: Portaler Zufluss (A) und arterieller hepatischer Blutfluss (B) bei Sham-operierten, zirrhotischen und zirrhotischen Losartan-behandelten Ratten. Vergleiche zwischen allen Gruppen wurden anhand Kruskal-Wallis Test durchgeführt und waren nicht signifikant ($p > 0,05$) für A und B. Vergleiche zwischen zwei Gruppen wurden mit Mann-Whitney Tests durchgeführt.

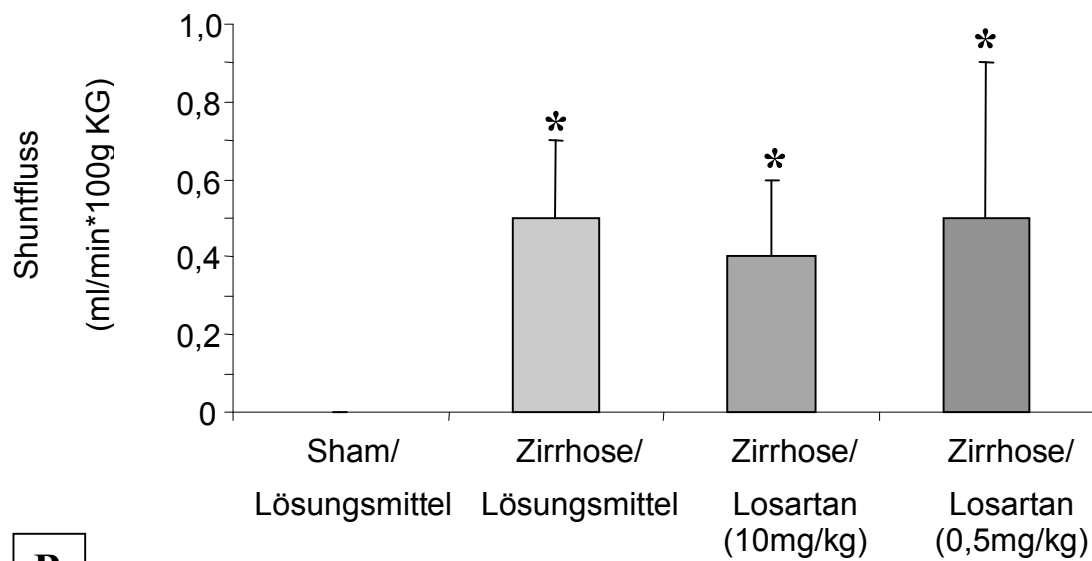
* $P < 0,05$ vs. Sham und Lösungsmittel

† $P < 0,05$ vs. BDL und Lösungsmittel

$P < 0,05$ vs. BDL und (Losartan 10 mg/kg*d).



A



B

Abbildung 16: Portale sinusoidale Widerstand (A) und Shuntvolumen (B) bei Sham-operierten, zirrhötischen und zirrhötischen Losartan-behandelten Ratten. Vergleiche zwischen allen Gruppen wurden anhand Kruskal-Wallis Test durchgeführt und waren nicht signifikant ($p > 0,05$) für A und B. Vergleiche zwischen zwei Gruppen wurden mit Mann-Whitney Tests durchgeführt.

* $P < 0,05$ vs. Sham und Lösungsmittel

† $P < 0,05$ vs. BDL und Lösungsmittel

$P < 0,05$ vs. BDL und (Losartan 10 mg/kg*d).

4.3 Noradrenalin-Plasmaspiegel

Der Noradrenalin-Plasmaspiegel war bei zirrhotischen Ratten deutlich höher als bei Sham-operierten (Tab. 6). Die einwöchige Behandlung mit 0,5mg/kg KG Losartan bewirkte eine signifikante Senkung des Noradrenalin-Plasmaspiegels (Tab.6). Im Gegensatz dazu wiesen Tiere, die für eine Woche 10 mg/kg*d Losartan erhielten, nach der Behandlung nochmals gestiegene Noradrenalin-Plasmaspiegel auf (Tab.6).

Table 6: Noradrenalin Konzentration

	Sham		Zirrhose	
	Lösungsmittel	Lösungsmittel	Losartan 10mg/kg	Losartan 0,5 mg/kg
[Noradrenalin] in pg/l	779 ± 113	1388 ± 192 *	1814 ± 175 *†	1005 ± 92 *†#

* $P < 0,05$ vs. Sham und Lösungsmittel

† $P < 0,05$ vs. BDL und Lösungsmittel

$P < 0,05$ vs. BDL und (Losartan 10 mg/kg*d)

4.4 In vitro Kontraktionsversuche (Spannungsentwicklungsmessung)

In diesen Experimenten wurden an isolierten, endothelfreien Aorten-Ringen Konzentrations-Wirkungs-Kurven für die Spannungsentwicklung mit Angiotensin II und den α 1-Agonisten Methoxamin ermittelt.

Die maximale Angiotensin II-induzierte Spannungsentwicklung von endothelfreien Aorten-Ringen war bei zirrhatischen Ratten im Vergleich zu Sham-operierten signifikant herabgesetzt (Abb.17). Die einwöchige Losartan-Behandlung zirrhatischer Ratten führte dosis-abhängig zu einer weiteren, starken Verringerung der Spannungsentwicklung gegenüber Angiotensin II. Der EC_{50} für die Angiotensin II-induzierte Spannungsentwicklung der endothelfreien Aorten-Ringe war jedoch zwischen Sham-operierten und BDL Ratten, sowie zwischen allen Gruppen nicht signifikant unterschiedlich (Tab.7).

Die maximale Spannungsentwicklung endothelfreier Aorten-Ringe durch den α 1-Agonisten Methoxamin war bei zirrhatischen Ratten im Vergleich zu Sham-operierten ebenfalls signifikant reduziert (Abb.18). Die einwöchige Losartan-Behandlung zirrhatischer Ratten bewirkt dosis-abhängig eine signifikante, teilweise Aufhebung dieser Hypokontraktilität gegenüber Methoxamin, verstärkte also wieder die Kontraktilität solcher Aorten-Ringe. Der EC_{50} für die Methoxamin-induzierte Kontraktion endothelfreier Aorten-Ringe war jedoch zwischen Sham-operierten und BDL Ratten signifikant unterschiedlich, aber zwischen den Gruppen der behandelten und unbehandelten zirrhatischen Tieren nicht signifikant unterschiedlich (Tab.7).

	Sham	Zirrhose		
	Lösungsmittel (n=16)	Lösungsmittel (n=16)	Losartan (10 mg/kg*d) (n=16)	Losartan (0,5 mg/kg*d) (n=15)
Emax [in g] (Angiotensin II)	1,29 ± 0,03	0,98 ± 0,02*	0,01 ± 0,02*†	0,43 ± 0,01*†#
pEC50 (Angiotensin II)	8,05 ± 0,08	8,19 ± 0,02	-	7,7 ± 0,05*†
Emax [in g] (Methoxamin)	2,23 ± 0,10	1,29 ± 0,02*	1,89 ± 0,08*†	1,64 ± 0,05*†
pEC50 (Methoxamin)	5,18 ± 0,12	5,8 ± 0,05*	5,66 ± 0,13*	5,61 ± 0,09*

Tabelle 7. Emax und $-\log EC_{50}$ (pEC50) Werte von isolierten endothelfreien Aorten-Ringe stimuliert kumulativ mit Angiotensin II oder Methoxamin bei unbehandelten und mit Losartan behandelten Ratten. Vergleiche zwischen allen Gruppen wurden anhand Kruskal-Wallis Test durchgeführt und waren nicht signifikant ($p > 0,05$) für A und B. Vergleiche zwischen zwei Gruppen wurden mit Mann-Whitney Tests durchgeführt.

* $P < 0,05$ vs. Sham und Lösungsmittel

† $P < 0,05$ vs. BDL und Lösungsmittel

$P < 0,05$ vs. BDL und (Losartan 10 mg/kg*d).

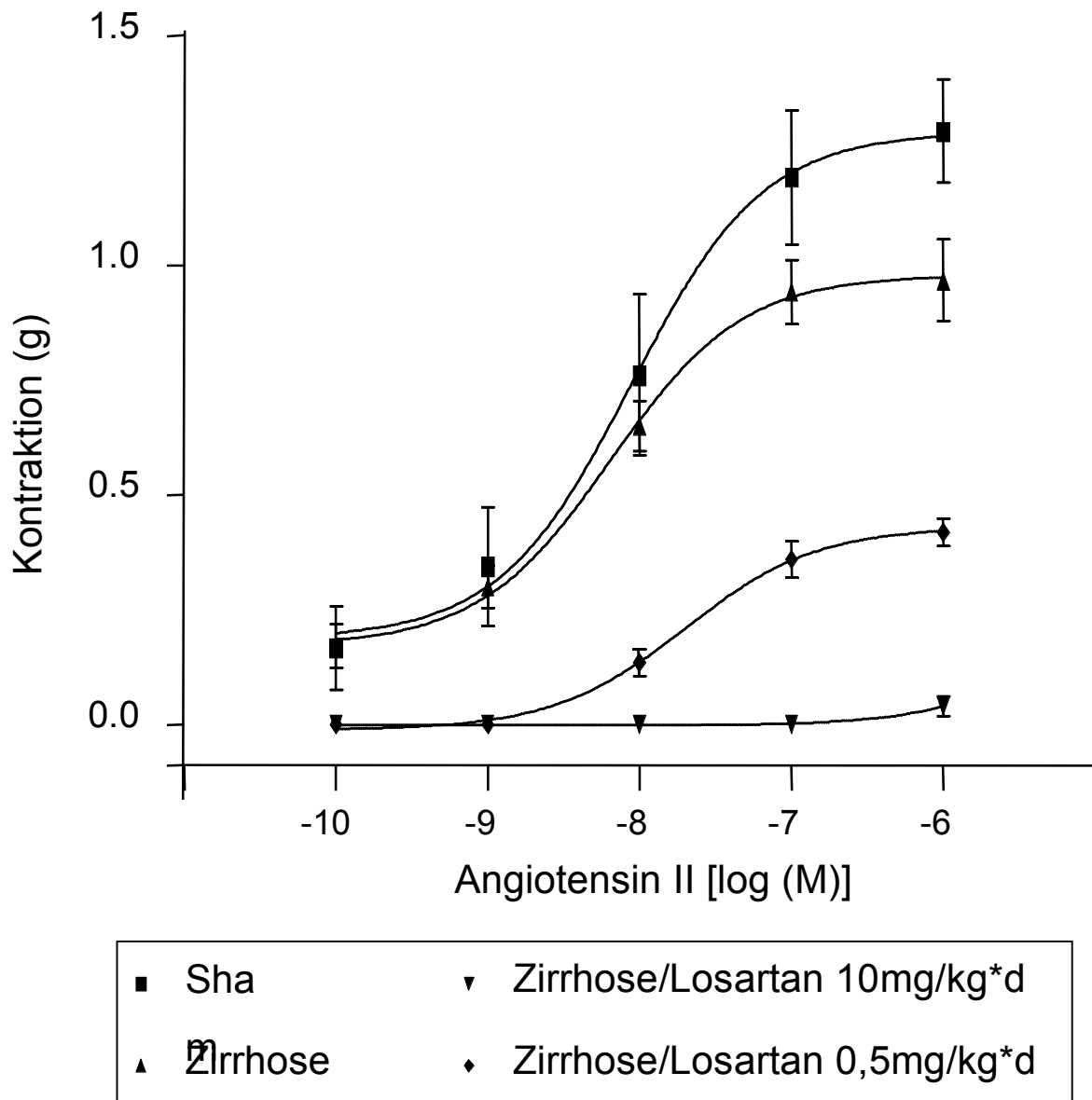


Abbildung 17a: Kontraktion isolierter, endothelfreier Aorten-Ringe mit kumulativer Angiotensin II Dosis (10^{-10} – 10^{-6} mol/l) bei Sham-operierten (n=8), zirrhotischen und mit 10 mg/kg*d (n=8) oder 0,5 mg/kg*d (n=8) Losartan-behandelten Ratten. Jeder Punkt repräsentiert Mittelwert \pm Standardabweichung. ($P < 0,01$; ANOVA). Für Emax- und EC50-Werte siehe Tabelle 5.

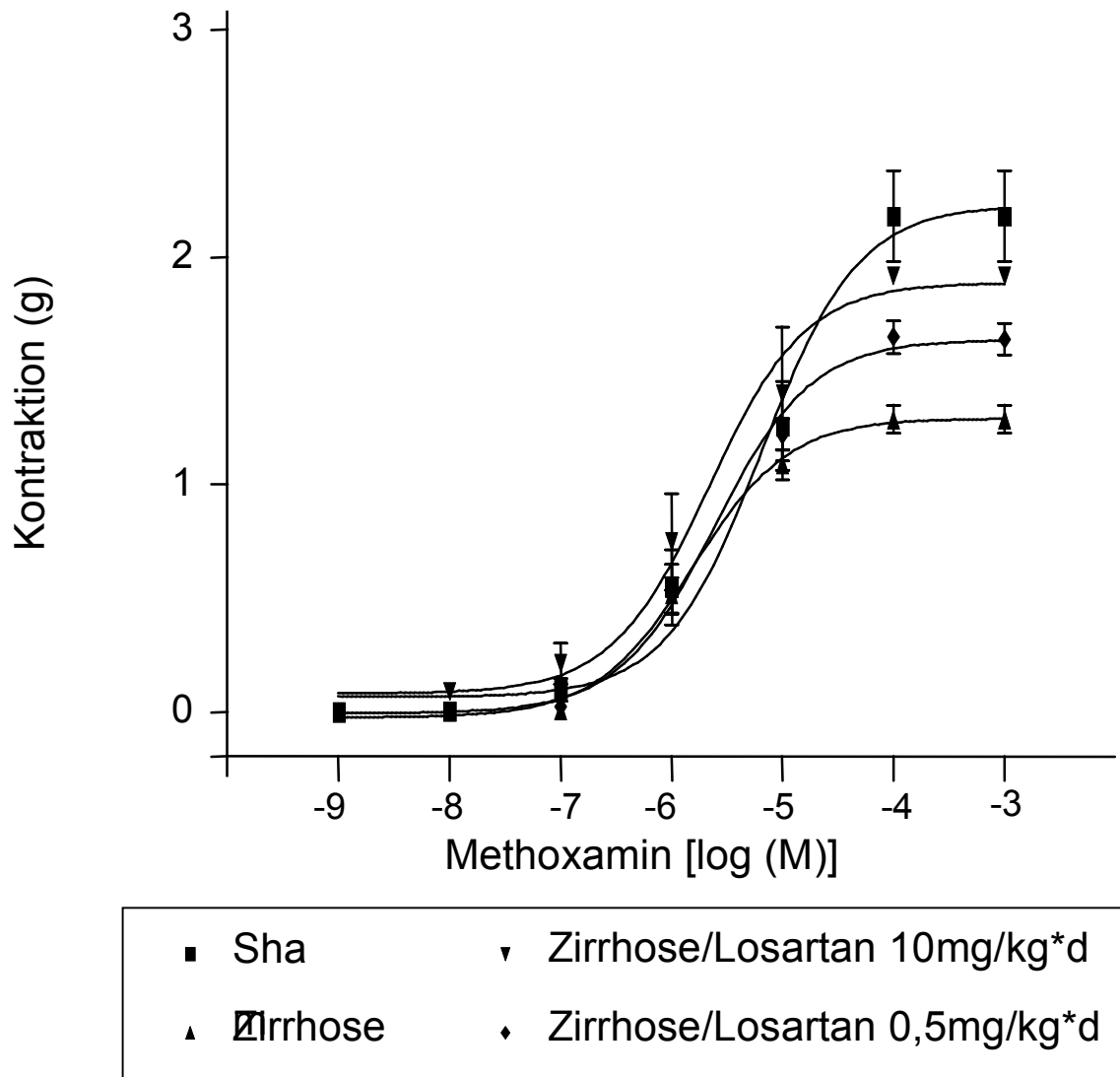


Abbildung 17b: Kontraktion isolierter, endothelfreier Aorten-Ringe mit kumulative Methoxamin Dosis (10^{-10} – 10^{-6} mol/l) bei Sham-operierten (n=8), zirrhosischen und mit 10 mg/kg*d (n=8) oder 0.5 mg/kg*d (n=8) Losartan-behandelten Ratten. Jeder Punkt repräsentiert Mittelwert \pm Standardabweichung. ($P < 0.01$; ANOVA). Für Emax- und EC50-Werte siehe Tabelle 5.

4.5 Nierenfunktion

Der renale Blutfluss war bei zirrhотischen Ratten im Vergleich zu Sham-operierten signifikant erhöht (Abb.18). Die einwöchige Behandlung zirrhотischer Ratten mit 0,5 mg/kg*d Losartan erhöhte den renalen Blutfluss. 10 mg/kg*d Losartan führte allerdings zu einer signifikanten Erhöhung des renalen Blutflusses (Abb.18).

Der renale Gefäßwiderstand war bei zirrhотischen Ratten im Vergleich zu Sham-operierten signifikant erniedrigt (Abb.18). Die einwöchige Behandlung zirrhотischer Ratten mit 0,5 mg/kg*d Losartan beeinflusste den renalen Gefäßwiderstand nicht, allerdings führte 10 mg/kg*d Losartan zu einer signifikanten Verminderung des renalen Gefäßwiderstandes (Abb.18).

Die Kreatininclearance war zwischen den zirrhотischen und Sham-operierten Ratten nicht signifikant unterschiedlich (Abb.19). Auch die einwöchige Gabe von Losartan in einer Dosis von 0,5 mg/kg*d blieb ohne Wirkung auf die Kreatininclearance. Die 10 mg/kg*d Gabe hatte bei den zirrhотischen Ratten jedoch eine signifikante Verschlechterung der Kreatininclearance zur Folge.

Die Natriumausscheidung war bei zirrhотischen Ratten niedriger als bei Sham-operierten (Abb.19). Bei zirrhотischen Tieren führte die einwöchige Losartangabe in einer Dosis von 0,5 mg/kg*d zu einer signifikanten Erhöhung der Natriumausscheidung, 10 mg/kg*d Losartan jedoch senkte die Natriumausscheidung der zirrhотischen Ratten.

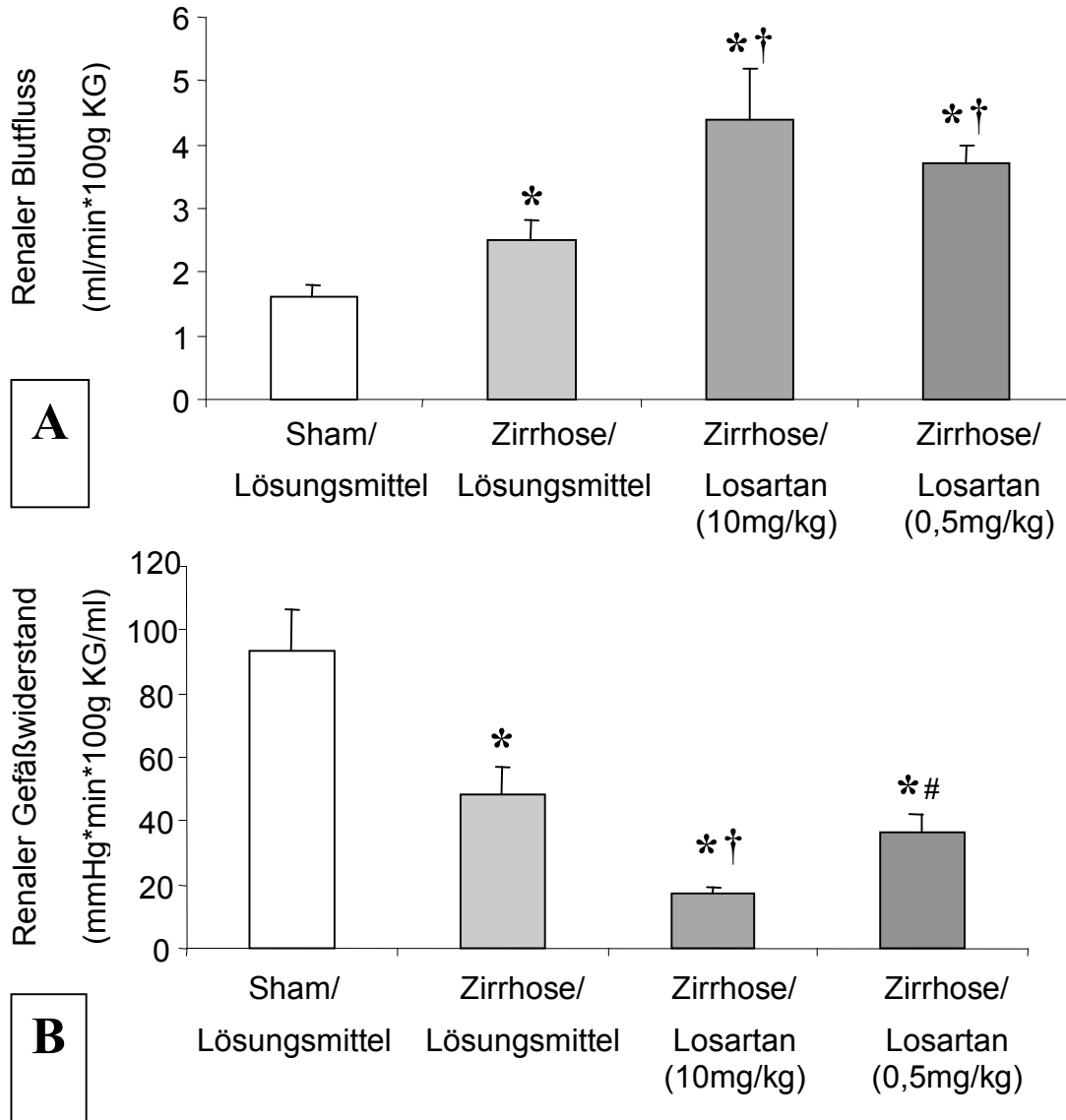


Abbildung 18: Der renale Blutfluss (A) und der Nierengefäßwiderstand (B). bei Sham-operierten (n=8), zirrhotischen und mit 10 mg/kg*d (n=8) oder 0,5 mg/kg*d (n=8) Losartan-behandelten Ratten. Vergleiche zwischen allen Gruppen wurden anhand Kruskal-Wallis Test durchgeführt und waren signifikant ($p > 0,05$) für A und B. Vergleiche zwischen zwei Gruppen wurden mit Mann-Whitney Tests durchgeführt.

* $P < 0,05$ vs. Sham und Lösungsmittel

† $P < 0,05$ vs. BDL und Lösungsmittel

$P < 0,05$ vs. BDL und (Losartan 10 mg/kg*d).

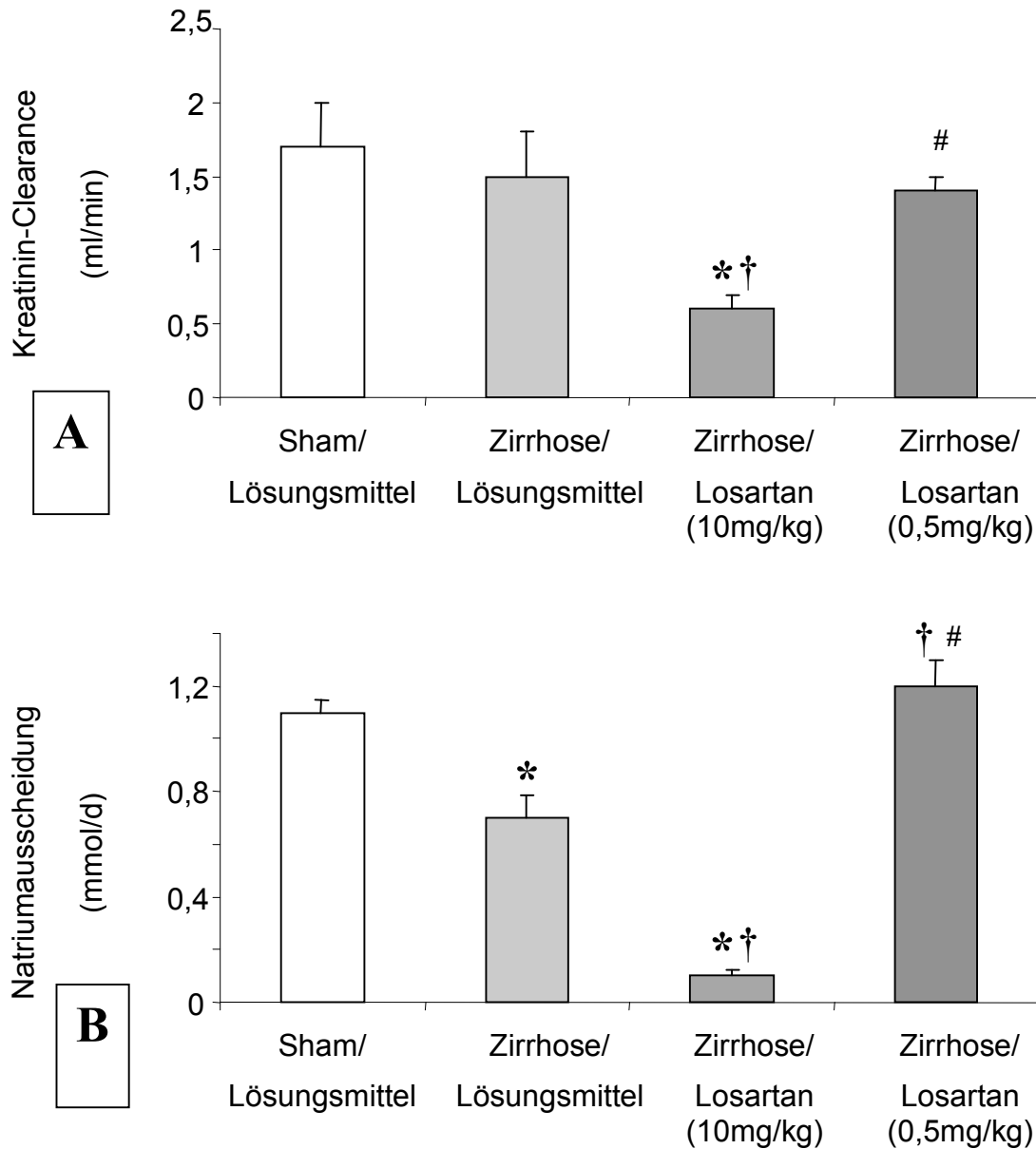


Abbildung 19: Die Kreatininclearance (A) und die Natriumausscheidung (B) bei Sham-operierten (n=8), zirrhosischen und mit 10 mg/kg*d (n=8) oder 0,5 mg/kg*d (n=8) Losartan-behandelten Ratten. Vergleiche zwischen allen Gruppen wurden anhand Kruskal-Wallis Test durchgeführt und waren signifikant ($p < 0,05$) für A und B. Vergleiche zwischen zwei Gruppen wurden mit Mann-Whitney Tests durchgeführt.

* $P < 0,05$ vs. Sham und Lösungsmittel

† $P < 0,05$ vs. BDL und Lösungsmittel

$P < 0,05$ vs. BDL und (Losartan 10 mg/kg*d).

5 DISKUSSION

5.1 Wirkungen der chronischen Losartan-Behandlung auf die Hämodynamik zirrhotischer und nicht-zirrhotischer Ratten

Wie bereits in der Einleitung dargestellt, wird der portale Hypertonus bei der Leberzirrhose durch einen erhöhten portalen Blutfluss unterhalten. Dieser erhöhte portale Fluss ist die Folge von einer systemischen und splanchnischen Vasodilatation [11]. Die Vasodilatation wird durch eine reduzierte Antwort der Gefäße auf Vasokonstriktoren verursacht [36]. Die wichtigsten pharmakologischen Therapien zur Behandlung des portalen Hypertonus (siehe 1.6) wirken durch die Induktion einer splanchnischen Vasokonstriktion. Die β -Blocker (z.B. Propranolol) führen zu einer verbesserten vasokonstriktorischen Antwort der α -Adrenozeptoren durch Blockade vasodilatatorischer β 2-Adrenozeptoren. Die Grenzen dieser Therapie ergeben sich aus der Hyporesponsivität von α 1-Adrenozeptoren der glatten Muskelzellen von Zirrhotikern bei portalem Hypertonus.

Die Angiotensin II Plasmaspiegel sind bei Patienten mit einer dekompensierten Leberzirrhose erhöht. Angiotensin II ist ein zentraler Mediator der zur Induktion und Aufrechterhaltung des portalen Hypertonus und der Komplikationen beiträgt. Angiotensin II führt über die Aktivierung der hepatischen Fibrogenese und durch die Kontraktion der Kupfferschen Sternzellen zum erhöhten intrahepatischen Widerstand. Weiterhin führt Angiotensin II zur renalen Natriumrückresorption und damit zur Ausbildung von Aszites.

In den letzten Jahren wurde eine mögliche Behandlung des portalen Hochdruckes mit AT1-Rezeptorantagonisten diskutiert. In einer Studie [106] wurde durch Losartan eine Senkung des Lebervenenverschlußdruckgradienten zirrhotischer Patienten um 45% gezeigt. In anderen Studien werden gegensätzliche Ergebnisse präsentiert. Bei der ersten [126] wurde kein und bei der anderen [127] ein moderater Effekt auf den hepatischen Druckgradienten gezeigt. Bei einigen Zirrhosepatienten hat die AT1-Rezeptorblockade eine schwere arterielle Hypotonie und eine Nierenfunktionsschädigung verursacht [126, 127]. Im Gegensatz dazu induzierte Losartan in einer niedriger Dosierung bei präaszitischen Patienten mit Leberzirrhose eine deutliche Natriuresis [128]. Der portale Druck wurde in dieser Studie nicht gemessen.

In dieser Untersuchung wurde die Wirkung einer chronischen Losartan-Behandlung auf die hyperdynamische Kreislaufzirkulations-Störung, die vaskuläre Hypokontraktilität, die Nierenfunktion und die Sympathikus-Aktivität von Ratten mit sekundär biliärer Leberzirrhose untersucht.

Dieses Tiermodell der gallengangsligierten Ratte wird häufig für hämodynamische Messungen und zur Untersuchung renaler Funktionen bei Leberzirrhose herangezogen, so dass es vergleichbare Daten gibt [123, 129-131]. Der einzige Unterschied zwischen diesem Zirrhosemodell und der menschlichen Zirrhose ist, dass die Senkung des arteriellen Widerstandes auch das Nierengefäßbett einbezieht [130, 131].

In einer vorangegangenen Studie unserer Arbeitsgruppe [132] wurde bereits gezeigt, dass die akute, niedrig dosierte Gabe des AT1-Rezeptorantagonisten Losartan den portalen Druck senkt, ohne dabei den systemischen Blutdruck zu beeinflussen. Über hämodynamische Messungen wurde weiterhin gezeigt, dass hierfür eine Erhöhung des splanchnischen Widerstandes verantwortlich ist. Bislang ist jedoch weder die genaue Dosierung des AT1-Antagonisten für eine chronische Gabe, noch der Mechanismus, der zur Senkung des Pfortaderdruckes führt, erforscht worden.

In den oben genannten klinischen und tierexperimentellen Studien, wurde deutlich, dass die Standarddosis Losartan (Dosis zur Therapie der arteriellen Hypertonie) bei Patienten und Tieren mit Zirrhose einen starken Abfall des Blutdrucks verursacht. Vor diesem Hintergrund wurde versucht, eine Dosis zu ermitteln, durch die nicht alle AT1-Rezeptoren blockiert werden, so dass eine gewisse Gefäßkontraktilität noch gegeben ist. Zusätzlich bewirkte Losartan in der niedrigen Dosierung bei zirrhosischen Ratten (etwa 5-10% der Standarddosis, die in Tierexperimenten zur arteriellen Hypertonie verwendet wird [133-135]) eine Verbesserung der vaskulären Kontraktilität nach α 1-Adrenozeptor Stimulation. Diese niedrige Dosis bewirkte ohne Mortalitätssteigerung weiterhin eine Erhöhung des peripheren und splanchnischen Gefäßwiderstandes und eine Senkung des portalen Drucks (siehe Abb. 12B und 14B). Dies geht mit einer Erhöhung der renalen Natriumausscheidung einher, ohne die systemische Hämodynamik zu beeinflussen. In hohen Dosierungen konnte die durch Losartan hervorgerufene Vasodilatation offensichtlich nicht mehr durch die Verbesserung der vaskulären Antwort auf die adrenerge Stimulation entgegengesteuert werden (siehe Abb.17b).

Hochdosiertes Losartan (10mg/kg KG) bewirkte somit eine starke Senkung des arteriellen Blutdrucks. Weiterhin wurden die glomeruläre Filtrationsrate und die Natriumausscheidung reduziert (Abb.19). Diese Ergebnisse verdeutlichen die Rolle des AT1-Rezeptors in der Erhaltung des arteriellen Blutdrucks und der renalen Funktion.

Vorausgehende Untersuchungen haben spekuliert, dass Losartan den Pfortaderdruck durch eine Reduzierung des sinusoidalen Widerstands senkt [107, 126]. Ferner wurde gezeigt, dass eine Hemmung der hepatischen Fibrogenese durch Losartan ebenfalls zur Senkung des Pfortaderdrucks beiträgt [107]. In der vorliegenden Arbeit wurden keine Fibrogenesemarker gemessen. Losartan in der niedrigen Dosierung hatte weder den sinusoidalen Widerstand noch das Lebergewicht verändert (siehe Abb. 16 B, Tabelle 5), so dass der Rückgang der hepatischen Fibrogenese unwahrscheinlich ist. Im Gegensatz zu der oben genannte Studie, in der Losartan schon ab dem Zeitpunkt der Gallengangsligatur verabreicht wurde, war in unserer Studie zum Beginn der Verabreichung (etwa vier Wochen nach der Gallengangsligatur) die Leberzirrhose bereits manifest. Die Gabe hoher Dosen Losartan an unreifen Ratten mit der Zielsetzung der Fibrosehemmung war mit einer hohen Mortalität verknüpft [107]. Im Vergleich dazu war die Mortalität in unserer Studie durch die Losartangabe nicht erhöht. Aus diesen Überlegungen heraus erscheint es nahe liegend, dass die niedrige Losartandosis den portalen Druck ausschließlich durch die Senkung des portalen Blutflusses senkt, und nicht durch Vorbeugung der hepatischen Fibrose oder Senkung des intrahepatischen Widerstands.

Im Gegensatz zu den Effekten von niedrig dosiertem Losartan bewirkte Losartan in hohen Dosen tatsächlich eine Senkung des portalen sinusoidalen Widerstands und bewirkte dadurch eine Senkung des Pfortaderdruckes (siehe Abbildung 12 B). Letzteres ist auf die Reduzierung der intrahepatischen Vasokonstriktion und wahrscheinlich nicht auf einen Rückgang der Leberfibrose zurückzuführen, da sich das Lebergewicht nicht verändert hat (siehe Tabelle 5). Diese Wirkung von hochdosiertem Losartan auf den intrahepatischen Widerstand war allerdings von einer bereits erwähnten deutlichen arteriellen Hypotonie begleitet.

5.2 Wirkung von Losartan auf die vaskuläre Kontraktilität

Losartan in einer Dosis von 10mg/kg*d blockiert In-Vitro vollkommen die Vasokonstriktion endothelfreier Aortenringe nach Angiotensin II-Stimulation. Diese Dosis entspricht einer Dosis der Studien des arteriellen Hypertonus bei Tieren [133-135]. Im Gegensatz zur hohen Dosis bewirkte die niedrige Dosis von 0,5 mg/kg KG*d nur eine partielle Blockade der AT1-Rezeptoren, sodass nach Stimulation mit Angiotensin II eine reduzierte, jedoch noch vorhandene Antwort erfolgte (siehe Abb.17a). Die Ergebnisse der in-vitro Kontraktilitätsexperimente liefern eine mögliche Erklärung für die Verbesserung der hämodynamischen Situation der zirrhatischen Ratten. Wie in der Einleitung beschrieben besteht bei Aorten zirrhatischer Ratten eine Hyposensitivität [76] gegenüber α 1-Adrenozeptorstimulation. Nach der niedrig-dosierten Losartan-Behandlung wurde eine verbesserte kontraktile Antwort der isolierten Aorten-Ringe nach Stimulation mit dem α 1-Adrenozeptor-Agonisten Methoxamin beobachtet. Auf Grund dessen ist zu vermuten, dass der hypotone Effekt der AT1-Rezeptorblockade bei niedriger Dosierung durch eine verbesserte Antwort auf die α 1-Adrenozeptorstimulation hin überspielt wird. Über den Mechanismus dieser Aufhebung der Hypokontraktilität können auf der Basis der hier durchgeführten Experimente jedoch keine Aussagen gemacht werden. Es gibt Hinweise auf eine mögliche Aktivierbarkeit der endothelialen NO-Synthase durch den AT1-Rezeptor [136-138], so dass Losartan über eine NO-Synthaseblockade eine Vasokonstriktion auslösen könnte [139]. In unserer Studie wurden jedoch Aortenringe ohne Endothel verwendet, so dass die obige Hypothese als mögliche Erklärung ausgeschlossen werden kann. Andere Überlegungen gehen dahin, dass Losartan die Verbesserung der Kontraktilität der glatten Muskelzelle auf dem Rezeptor- oder Postrezeptorniveau bewirkt. Als eine plausible Erklärung stehen mögliche Interaktion der α 1-Adrenozeptoren und der AT1-Rezeptoren der glatten Muskelzelle im Raum. Ähnliche Interaktionen sind in unterschiedlichen Kontexten mehrfach beschrieben worden. In zwei Studien wurde über die Effekte einer intravenösen einwöchigen Administration von Noradrenalin bei normalen Ratten berichtet [83, 84]. Diese Dauerstimulation führte zu einer homologen Desensibilisierung von α 1-Adrenozeptoren sowie zu einer heterologen Desensibilisierung von AT1-Rezeptoren. Andererseits wurden bei transgenen, das Renin/Angiotensin-Gen überexprimierenden, Ratten gefunden, dass diese eine heterologe Desensibilisierung der α 1-Adrenozeptoren und eine homologe

Desensibilisierung der AT1-Rezeptoren aufweisen [85]. Diese heterologe Desensibilisierung von α 1-Adrenozeptoren war weder auf eine Veränderung in der Rezeptordichte noch auf eine herabgesetzte Expression des Gq-Proteins zurückzuführen. Folglich könnte auch in der hier dargestellten Interaktion zwischen α 1-Adrenozeptoren und AT1-Rezeptoren der Grund der verbesserten Antwort zirrhotischer Gefäße gegenüber einer Stimulation mit Methoxamin sein.

5.3 Noradrenalin-Plasmaspiegel

Die Verbesserung der Hämodynamik durch die niedrig-dosierte einwöchige Gabe von Losartan spiegelt sich auch in Änderungen der Noradrenalin-Plasmaspiegel wieder (Tabelle 6). Unbehandelte zirrhotische Ratten wiesen verglichen mit dem von Sham-operierten Kontrolltieren erhöhte Noradrenalin-Plasmaspiegel auf. Diese erhöhte Aktivität der sympathischen Nervensystems wurde bereits beschrieben und auf die Gegenregulation der arteriellen Hypotonie durch Barorezeptoren zurückgeführt [29]. Erstaunlicherweise bewirkte die niedrig-dosierte Losartangabe eine signifikante Senkung der Noradrenalin-Plasmaspiegel. Es wird angenommen, dass Losartan die zentrale und periphere sympathische Aktivität hemmt [140]. Die hier dargestellten Ergebnisse stützen diese These jedoch nicht. Die hoch-dosierte Losartangabe senkte den Noradrenalin-Plasmaspiegel nicht, sondern erhöhte ihn eher. Es scheint eher wahrscheinlich, dass die Verbesserung der Hämodynamik und der Gefäßkontraktilität durch die Gabe von Losartan in niedrigen Dosen die Barorezeptoren deaktiviert und damit die Noradrenalinausschüttung bei zirrhotischen Ratten senkt.

5.4 Die renalen Effekte

Neben seinen vaskulären und hämodynamischen hat Losartan auch renale Effekte. Wie erwartet, ergaben die Untersuchungen bei den zirrhotischen Ratten eine deutliche Natriumretention. Im Unterschied zu zirrhotischen Patienten, bei denen die Natriumretention mit einem erniedrigten renalen Blutfluss und einer gesenkten glomerulären Filtrationsrate einhergeht, wurde bei den zirrhotischen Ratten eine Natriumretention mit einem erhöhten renalen Blutfluss ohne Änderung der Kreatininclearance beobachtet. Diese Diskrepanz zwischen den renalen Effekten bei der Zirrhose des Menschen und der Ratten ist in der Literatur bereits beschrieben [130, 131]. Trotz dieser Unterschiede sind jedoch Natriumretention und Aszites gemeinsame Merkmale der menschlichen Zirrhose und der sekundär biliären Zirrhose gallengangsligierter Ratten.

Die hohe Dosis von 10 mg/kg*d Losartan hat ein Nierenversagen der zirrhotischen Raten verursacht, dokumentiert durch einen Kreatinin-Anstieg im Serum, eine Abnahme der Kreatininclearance und einen Abfall in der Natriumausscheidung. Dies wurde von einer erhöhten renalen Perfusion begleitet. Der Abfall der Kreatininclearance, kombiniert mit dem Anstieg des renalen Blutflusses kann durch die totale Blockade des kontraktiven Gefäßtonus in den efferenten und afferenten Arteriolen und den dramatischen Abfall des mittleren arteriellen Blutdrucks erklärt werden. Angiotensin-II wird eine große Rolle bei der Regulation des Gefäßtonus der efferenten Arteriolen [141] zugeschrieben.

Die Senkung des glomerulären arteriolären Tonus durch hochdosiertes Losartan bewirkte eine Erhöhung der glomerulären Perfusion. Im Gegensatz dazu senkte der Abfall im mittleren Blutdruck den glomerulären Filtrationsdruck und dadurch auch die Filtrationsrate.

Die mit niedrigen Losartan Dosen (0,5 mg/kg*d) behandelten zirrhotischen Ratten wiesen im Vergleich zu nicht behandelten zirrhotischen Tieren eine signifikante Erhöhung der Natriumausscheidung auf. Der Anstieg im peripheren systemischen Gefäßwiderstand wirkt offensichtlich dem möglichen glomerulären Filtrationsdruckabfall, induziert durch eine arterioläre Vasodilatation, entgegen. Die

renale Perfusion bei dieser Dosis ist mit einer Erhöhung der renalen Natriumausscheidung verknüpft.

Es wurde gezeigt, dass die Natriumretention bei Zirrhosen durch eine erhöhte Natriumresorption im proximalen Tubulus hervorgerufen wird [94]. Letztere ist wiederum auf die erhöhte Aktivität des intrarenalen sympathischen Nervensystems oder auf eine erhöhte renale Angiotensin-II-Produktion zurückzuführen [94].

Wie in Kapitel 1.5.1 bereits ausführlich beschrieben, geht die Zirrhose mit Aszites mit einer intensiven renalen Natriumretention einher. Während die glomeruläre Filtrationsrate (GFR) absinkt, nimmt die tubuläre Natriumrückresorption deutlich zu [87]. Hier sind das Renin-Angiotensin-Aldosteron-System (RAAS) und das sympathische Nervensystem (SNS) involviert. Das aktivierte RAAS erhöht die Natriumrückresorption im distalen Tubulus. Das SNS stimuliert die Natriumrückresorption in den proximalen Tubulus, in der Henleschen Schleife und in den distalen Sammelrohre.

Losartan führt durch drei mögliche Mechanismen zur Natriurese: Zum einen blockiert Losartan die intrarenale Wirkung von Angiotensin-II auf die ATI-Rezeptoren. Zweitens senkt Losartan die Noradrenalin-Plasmaspiegel durch Senkung der Aktivität des sympathischen Nervensystems. Drittens konnte in dieser Studie beobachtet werden, dass wahrscheinlich die Senkung des Pfortaderdruckes für die erhöhte renale Natriumausscheidung verantwortlich ist. Dies zeigt, dass die Besserung des portalen Hypertonus eine erhöhte Natriumausscheidung bei Zirrhose hervorrufen kann [94].

6 ZUSAMMENFASSUNG

Trotz Aktivierung des Renin-Angiotensin-Aldosteron-Systems und des sympathischen Nervensystems besteht bei der Leberzirrhose eine vaskuläre Hypokontraktilität für Stimuli mit Angiotensin II und α 1-Adrenozeptoragonisten. Dies ist ein Faktor, der die systemische und splanchnische Vasodilatation unterhält. Weiterhin ist bei Leberzirrhose die Nierenfunktion beeinträchtigt. Das äussert sich in einer Natriumretention, einer abfallenden glomerulären Filtration und einem veränderten renalen Blutfluss.

Die hier dargestellten Ergebnisse zeigen, dass chronisch verabreichtes Losartan in sehr niedriger Dosis (etwa 5-10% der Standarddosis, die in Tierexperimenten zur Behandlung der arteriellen Hypertonie verwendet wird) den systemischen und splanchnischen Gefäßwiderstand von Ratten mit sekundär biliärer Leberzirrhose erhöht. Dies führt zur Senkung des Pfortaderdruckes ohne Beeinflussung der systemischen Hämodynamik.

Wir postulieren, daß für diesen Effekt die von uns gefundene Verbesserung der vaskulären Kontraktilität nach α 1-Adrenozeptor Stimulation verantwortlich ist.

Niedrig dosiertes Losartan senkte auch den Noradrenalin-Plasmaspiegel als Hinweis auf eine Verminderung der Aktivierung der Barorezeptoren.

In bezug auf die Nierenfunktion erhöhte die niedrige Dosis Losartan (0,5 mg/kg KG*d) die Natriumausscheidung und den renalen Blutfluss ohne Änderung der glomerulären Filtration. Losartan in der Standarddosis führte dagegen zu einer ausgeprägten arteriellen Hypotonie, die zu einem Nierenversagen führten.

Unsere Daten legen nahe, Losartan in sehr niedriger Dosis auch beim Patienten mit Leberzirrhose zu erproben, um hierdurch die hyperdynamie Zirkulationsstörung abzumildern.

7 DANKSAGUNG

Ich möchte allen Mitarbeiter der Arbeitsgemeinschaft Portale Hämodynamik der Universität Bonn für ihre umfangreiche Hilfe danke. Durch sie wurde ich andauernd motiviert und somit meine Arbeit zu Ende geführt. Durch sie habe ich die Begeisterung für diesen Bereich erlangt und es ist ihr Verdienst, das ich in dieser Arbeitsgruppe weiterhin aktiv forsche.

Ganz besonderen Dank gebührt meinem Betreuer PD. Dr. Jörg Heller für die ausgezeichnete Betreuung, Anleitung und Motivation. Er konnte in mir die Begeisterung für die Forschung und speziell für dieses Gebiet erwecken. Außerdem diente er als ein Beispiel für meinem weiteren Werdegang. Durch ihn blickte ich in dieses Gebiet hinein und entdeckte meine Leidenschaft dafür. Seine Anleitung und Führung genieße ich weiterhin und das ist für mich eine sehr große Ehre.

Außerdem danke ich meinen Kollegen Martin Hennenberg und Thomas Shiozawa für ihre Unterstützung und Kollegialität. Durch sie habe ich viel gelernt, sowohl fachlich als auch menschlich.

Eine außerordentliche organisatorische Hilfe leistet unsere Mitarbeiterin der Arbeitsgruppe Frau Dagmar Bammer, der ich herzlich danken möchte. Sie half mir und den anderen Doktoranden sehr viel und trug dadurch zu dem Erfolg der Arbeitsgruppe bei.

Zuletzt möchte ich mich herzlichst bei meinem Doktorvater Prof. Dr. T. Sauerbruch für seine umfangreiche Hilfe bedanken. Ihm verdanke ich die Chance, diese Arbeit machen zu dürfen. Seine Erfahrung, Weitblick und tiefgreifende Kenntnisse hat nicht nur mich in der Forschung viel weiter gebracht. Seine geduldige, weise und äußerst menschliche Art haben mich fasziniert. Außerdem bedanke ich mich bei ihm für die vielen Möglichkeiten, die mir geboten wurden. Hier sind zu nennen die Forschungsreisen ins Ausland, die Kongressbesuche und nicht zuletzt die Möglichkeit in der Arbeitsgruppe portale Hämodynamik meine Facharztausbildung anzutreten. Für mich ist es eine große Ehre sein Doktorand sein zu dürfen.

Herzlichen Dank

Bonn 2005

8 BIBLIOGRAPHIE

1. Millward-Sadler, G., *Liver cirrhosis*, in *Pathology of the liver*, M. RNM, A. PP, S. PJ, B. AD, and P. BC, Editors. 1994, Churchill Livingstone: Philadelphia.
2. Knittel, T., B. Saile, and G. Ramadori, [*Fibrogenesis. Pathophysiology and therapeutic approaches*]. *Internist (Berl)*, 1998. **39**(3): p. 238-46.
3. Popper, H. and G. Kent, *Fibrosis in chronic liver disease*. *Clin Gastroenterol*, 1975. **4**(2): p. 315-32.
4. Zimmerman, H. and K. Ishak, *Hepatic Injury due to drugs and toxins*, in *Pathology of the liver*, Macsween, Anthony, Scheuer, Burt, and Portmann, Editors. 1994, Churchill Livingstone: Philadelphia.
5. Boyer, T.D., D.R. Triger, M. Horisawa, A.G. Redeker, and T.B. Reynolds, *Direct transhepatic measurement of portal vein pressure using a thin needle. Comparison with wedged hepatic vein pressure*. *Gastroenterology*, 1977. **72**(4 Pt 1): p. 584-9.
6. de Franchis, R., J.P. Pascal, E. Ancona, A.K. Burroughs, M. Henderson, W. Fleig, R. Groszmann, J. Bosch, T. Sauerbruch, C. Soederlund, and et al., *Definitions, methodology and therapeutic strategies in portal hypertension. A Consensus Development Workshop, Baveno, Lake Maggiore, Italy, April 5 and 6, 1990*. *J Hepatol*, 1992. **15**(1-2): p. 256-61.
7. Moncada, S. and E.A. Higgs, *Endogenous nitric oxide: physiology, pathology and clinical relevance*. *Eur J Clin Invest*, 1991. **21**(4): p. 361-74.
8. Burroughs, A.K., *The natural history of varices*. *J Hepatol*, 1993. **17**(Suppl 2): p. S10-3.
9. Groszmann, R., A.T. Blei, C.E. Atterbury, *Portal hypertension*. *The liver: Biology and pathobiology*, ed. W.B.J. Arias I.M., H. Popper, D. Schachter, D. Schafritz. 1988, New York: Raven Press. 1147-1159.
10. Albillos, A., R. Banares, C. Barrios, G. Clemente, I. Rossi, P. Escartin, and J. Bosch, *Oral administration of clonidine in patients with alcoholic cirrhosis. Hemodynamic and liver function effects*. *Gastroenterology*, 1992. **102**(1): p. 248-54.
11. Bosch, J. and J.C. Garcia-Pagan, *Complications of cirrhosis. I. Portal hypertension*. *J Hepatol*, 2000. **32**(Suppl 1): p. 141-56.
12. Shibayama, Y. and K. Nakata, *Localization of increased hepatic vascular resistance in liver cirrhosis*. *Hepatology*, 1985. **5**(4): p. 643-8.
13. Bauer, M., J.X. Zhang, I. Bauer, and M.G. Clemens, *ET-1 induced alterations of hepatic microcirculation: sinusoidal and extrasinusoidal sites of action*. *Am J Physiol*, 1994. **267**(1 Pt 1): p. G143-9.
14. Housset, C., D.C. Rockey, and D.M. Bissell, *Endothelin receptors in rat liver: lipocytes as a contractile target for endothelin 1*. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1993. **90**(20): p. 9266-70.
15. Kawada, N., T.A. Tran-Thi, H. Klein, and K. Decker, *The contraction of hepatic stellate (Ito) cells stimulated with vasoactive substances. Possible involvement of endothelin 1 and nitric oxide in the regulation of the sinusoidal tonus*. *Eur J Biochem*, 1993. **213**(2): p. 815-23.
16. Angeli, P., W. Jimenez, V. Arroyo, H.S. Mackenzie, P.L. Zhang, J. Claria, F. Rivera, B.M. Brenner, and J. Rodes, *Renal effects of natriuretic peptide receptor blockade in cirrhotic rats with ascites*. *Hepatology*, 1994. **20**(4 Pt 1): p. 948-54.
17. Kaneda, K., W. Ekataksin, M. Sogawa, A. Matsumura, A. Cho, and N. Kawada, *Endothelin-1-induced vasoconstriction causes a significant increase in portal pressure of rat liver: localized constrictive effect on the distal segment of*

- preterminal portal venules as revealed by light and electron microscopy and serial reconstruction.* Hepatology, 1998. **27**(3): p. 735-47.
18. Ekataksin, W. and K. Kaneda, *Liver microvascular architecture: an insight into the pathophysiology of portal hypertension.* Semin Liver Dis, 1999. **19**(4): p. 359-82.
 19. Blendis, L.M., H. Orrego, I.R. Crossley, J.E. Blake, A. Medline, and Y. Isreal, *The role of hepatocyte enlargement in hepatic pressure in cirrhotic and noncirrhotic alcoholic liver disease.* Hepatology, 1982. **2**(5): p. 539-46.
 20. Van de Casteele, M., H. Sagesser, H. Zimmermann, and J. Reichen, *Characterisation of portal hypertension models by microspheres in anaesthetised rats: a comparison of liver flow.* Pharmacol Ther, 2001. **90**(1): p. 35-43.
 21. Murray, J., A. Dawson, and S. Sherlock, *Circulatory changes in chronic liver.* American Journal of Medicine, 1958. **24**: p. 358-367.
 22. Lebrec, D., *Hamodynamics*, in *Portal Hypertension*, H.E. Holstege A., Schölmerich J, Editor. 1995, Kluwer Academic Publishers: Lancaster. p. 121-132.
 23. Brensing, K.A. and T. Sauerbruch, *Pathophysiologie der portalen Hypertonie und des hyperdynamen Kreislaufsyndroms.* Verdauungskrankheiten, 1999. **3**: p. 98-105.
 24. Arroyo, V., P. Gines, A.L. Gerbes, F.J. Dudley, P. Gentilini, G. Laffi, T.B. Reynolds, H. Ring-Larsen, and J. Scholmerich, *Definition and diagnostic criteria of refractory ascites and hepatorenal syndrome in cirrhosis.* International Ascites Club. Hepatology, 1996. **23**(1): p. 164-76.
 25. Henriksen, J.H., *Cirrhosis: ascites and hepatorenal syndrome. Recent advances in pathogenesis.* J Hepatol, 1995. **23**(Suppl 1): p. 25-30.
 26. Schrier, R.W., V. Arroyo, M. Bernardi, M. Epstein, J.H. Henriksen, and J. Rodes, *Peripheral arterial vasodilation hypothesis: a proposal for the initiation of renal sodium and water retention in cirrhosis.* Hepatology, 1988. **8**(5): p. 1151-7.
 27. Wong, F., P. Liu, S. Tobe, G. Morali, and L. Blendis, *Central blood volume in cirrhosis: measurement with radionuclide angiography.* Hepatology, 1994. **19**(2): p. 312-21.
 28. Brensing, K.A., J. Textor, J. Perz, P. Schiedermaier, P. Raab, H. Strunk, H.U. Klehr, H.J. Kramer, U. Spengler, H. Schild, and T. Sauerbruch, *Long term outcome after transjugular intrahepatic portosystemic stent-shunt in non-transplant cirrhotics with hepatorenal syndrome: a phase II study.* Gut, 2000. **47**(2): p. 288-95.
 29. Nicholls, K.M., M.D. Shapiro, V.J. Van Putten, R. Kluge, H.M. Chung, D.G. Bichet, and R.W. Schrier, *Elevated plasma norepinephrine concentrations in decompensated cirrhosis. Association with increased secretion rates, normal clearance rates, and suppressibility by central blood volume expansion.* Circ Res, 1985. **56**(3): p. 457-61.
 30. Garcia-Pagan, J.C., M. Navasa, F. Rivera, J. Bosch, and J. Rodes, *Lymphocyte beta 2-adrenoceptors and plasma catecholamines in patients with cirrhosis.* Gastroenterology, 1992. **102**(6): p. 2015-23.
 31. Murray, B.M. and M.S. Paller, *Decreased pressor reactivity to angiotensin II in cirrhotic rats. Evidence for a post-receptor defect in angiotensin action.* Circ Res, 1985. **57**(3): p. 424-31.
 32. Hadoke, P.W. and P.C. Hayes, *In vitro evidence for vascular hyporesponsiveness in clinical and experimental cirrhosis.* Pharmacol Ther, 1997. **75**(1): p. 51-68.
 33. Schepke, M., J. Heller, S. Paschke, J. Thomas, M. Wolff, M. Neef, M. Malago, G.J. Molderings, U. Spengler, and T. Sauerbruch, *Contractile hyporesponsiveness of hepatic arteries in humans with cirrhosis: evidence for a receptor-specific mechanism.* Hepatology, 2001. **34**(5): p. 884-8.
 34. Heller, J., M. Schepke, N. Gehnen, G.J. Molderings, A. Muller, J. Erhard, U. Spengler, and T. Sauerbruch, *Altered adrenergic responsiveness of endothelium-denuded hepatic arteries and portal veins in patients with cirrhosis.* Gastroenterology, 1999. **116**(2): p. 387-93.

35. Lunzer, M.R., S.P. Newman, A.G. Bernard, K.K. Manghani, S.P. Sherlock, and J. Ginsburg, *Impaired cardiovascular responsiveness in liver disease*. Lancet, 1975. **2**(7931): p. 382-5.
36. Sogni, P., S. Sabry, R. Moreau, A. Gadano, D. Lebrec, and A.T. Dinh-Xuan, *Hyporeactivity of mesenteric resistance arteries in portal hypertensive rats*. J Hepatol, 1996. **24**(4): p. 487-90.
37. Castro, A., W. Jimenez, J. Claria, J. Ros, J.M. Martinez, M. Bosch, V. Arroyo, J. Piulats, F. Rivera, and J. Rodes, *Impaired responsiveness to angiotensin II in experimental cirrhosis: role of nitric oxide*. Hepatology, 1993. **18**(2): p. 367-72.
38. Hartleb, M., R. Moreau, S. Cailmail, C. Gaudin, and D. Lebrec, *Vascular hyporesponsiveness to endothelin 1 in rats with cirrhosis*. Gastroenterology, 1994. **107**(4): p. 1085-93.
39. Pinzani, M., P. Failli, C. Ruocco, A. Casini, S. Milani, E. Baldi, A. Giotti, and P. Gentilini, *Fat-storing cells as liver-specific pericytes. Spatial dynamics of agonist-stimulated intracellular calcium transients*. J Clin Invest, 1992. **90**(2): p. 642-6.
40. Rieder, H., G. Ramadori, K.H. Allmann, and K.H. Meyer zum Buschenfelde, *Prostanoid release of cultured liver sinusoidal endothelial cells in response to endotoxin and tumor necrosis factor. Comparison with umbilical vein endothelial cells*. J Hepatol, 1990. **11**(3): p. 359-66.
41. Busse, *Gefäßsystem und Kreislaufregulation*, in *Physiologie des Menschen*, R.Schmidt and G.Thews, Editors. 1997, Springer-Verlag: Berlin. p. 528-533 u. 770f.
42. Lefkowitz, R.J., *G protein-coupled receptors*. Journal of Biol Chem, 1998. **273**: p. 18677-18680.
43. Weigert, A.L., P.Y. Martin, M. Niederberger, E.M. Higa, I.F. McMurtry, P. Gines, and R.W. Schrier, *Endothelium-dependent vascular hyporesponsiveness without detection of nitric oxide synthase induction in aortas of cirrhotic rats*. Hepatology, 1995. **22**(6): p. 1856-62.
44. Fernandez, M., J.C. Garcia-Pagan, M. Casadevall, C. Bernadich, C. Piera, B.J. Whittle, J.M. Pique, J. Bosch, and J. Rodes, *Evidence against a role for inducible nitric oxide synthase in the hyperdynamic circulation of portal-hypertensive rats*. Gastroenterology, 1995. **108**(5): p. 1487-95.
45. Rockey, D.C. and J.J. Chung, *Regulation of inducible nitric oxide synthase and nitric oxide during hepatic injury and fibrogenesis*. Am J Physiol, 1997. **273**(1 Pt 1): p. G124-30.
46. Sogni, P., A.P. Smith, A. Gadano, D. Lebrec, and T.W. Higenbottam, *Induction of nitric oxide synthase II does not account for excess vascular nitric oxide production in experimental cirrhosis*. J Hepatol, 1997. **26**(5): p. 1120-7.
47. Niederberger, M., P. Gines, P.Y. Martin, P. Tsai, K. Morris, I. McMurtry, and R.W. Schrier, *Comparison of vascular nitric oxide production and systemic hemodynamics in cirrhosis versus prehepatic portal hypertension in rats*. Hepatology, 1996. **24**(4): p. 947-51.
48. Guarner, C., G. Soriano, A. Tomas, O. Bulbena, M.T. Novella, J. Balanzo, F. Vilardell, M. Mourelle, and S. Moncada, *Increased serum nitrite and nitrate levels in patients with cirrhosis: relationship to endotoxemia*. Hepatology, 1993. **18**(5): p. 1139-43.
49. Heller, J., *Untersuchungen zum Stickstoffmonoxidstoffwechsel bei Leberzirrhose und portaler Hypertension*, in *Allgemeine Innere Medizin der Medizinischen Fakultät*. 2003, Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universitaet: Bonn.
50. Sogni, P., R. Moreau, A. Gadano, and D. Lebrec, *The role of nitric oxide in the hyperdynamic circulatory syndrome associated with portal hypertension*. J Hepatol, 1995. **23**(2): p. 218-24.
51. Mittal, M.K., T.K. Gupta, F.Y. Lee, C.C. Sieber, and R.J. Groszmann, *Nitric oxide modulates hepatic vascular tone in normal rat liver*. Am J Physiol, 1994. **267**(3 Pt 1): p. G416-22.
52. Gupta, T.K., M. Toruner, M.K. Chung, and R.J. Groszmann, *Endothelial dysfunction and decreased production of nitric oxide in the intrahepatic microcirculation of cirrhotic rats*. Hepatology, 1998. **28**(4): p. 926-31.

53. Shah, V., F.G. Haddad, G. Garcia-Cardena, J.A. Frangos, A. Mennone, R.J. Groszmann, and W.C. Sessa, *Liver sinusoidal endothelial cells are responsible for nitric oxide modulation of resistance in the hepatic sinusoids*. J Clin Invest, 1997. **100**(11): p. 2923-30.
54. Rockey, D.C. and J.J. Chung, *Reduced nitric oxide production by endothelial cells in cirrhotic rat liver: endothelial dysfunction in portal hypertension*. Gastroenterology, 1998. **114**(2): p. 344-51.
55. Garcia-Cardena, G., P. Martasek, B.S. Masters, P.M. Skidd, J. Couet, S. Li, M.P. Lisanti, and W.C. Sessa, *Dissecting the interaction between nitric oxide synthase (NOS) and caveolin. Functional significance of the nos caveolin binding domain in vivo*. J Biol Chem, 1997. **272**(41): p. 25437-40.
56. Benoit, J.N., J.A. Barrowman, S.L. Harper, P.R. Kvietys, and D.N. Granger, *Role of humoral factors in the intestinal hyperemia associated with chronic portal hypertension*. Am J Physiol, 1984. **247**(5 Pt 1): p. G486-93.
57. Kravetz, D., J. Bosch, M.T. Arderiu, M.P. Pizcueta, R. Casamitjana, F. Rivera, and J. Rodes, *Effects of somatostatin on splanchnic hemodynamics and plasma glucagon in portal hypertensive rats*. Am J Physiol, 1988. **254**(3 Pt 1): p. G322-8.
58. Benoit, J., B. Zimmermann, and A. Premen, *Role of glucagon in splanchnic hyperaemia of mesenteric resistance arteries in portal hypertension*. American Journal of Physiology, 1986. **251**(G): p. 674-677.
59. Gomis, R., J. Fernandez-Alvarez, P. Pizcueta, M. Fernandez, R. Casamitjana, J. Bosch, and J. Rodes, *Impaired function of pancreatic islets from rats with portal hypertension resulting from cirrhosis and partial portal vein ligation*. Hepatology, 1994. **19**(5): p. 1257-61.
60. Silva, G., M. Navasa, J. Bosch, J. Chesta, M. Pilar Pizcueta, R. Casamitjana, F. Rivera, and J. Rodes, *Hemodynamic effects of glucagon in portal hypertension*. Hepatology, 1990. **11**(4): p. 668-73.
61. Sikuler, E. and R.J. Groszmann, *Hemodynamic studies in long- and short-term portal hypertensive rats: the relation to systemic glucagon levels*. Hepatology, 1986. **6**(3): p. 414-8.
62. Genecin, P., J. Polio, L.A. Colombato, G. Ferraioli, A. Reuben, and R.J. Groszmann, *Bile acids do not mediate the hyperdynamic circulation in portal hypertensive rats*. Am J Physiol, 1990. **259**(1 Pt 1): p. G21-5.
63. Thomas, S.H., T. Joh, and J.N. Benoit, *Role of bile acids in splanchnic hemodynamic response to chronic portal hypertension*. Dig Dis Sci, 1991. **36**(9): p. 1243-8.
64. Fernandez, M., M. Casadevall, R. Schuligoi, P. Pizcueta, J. Panes, M.D. Barrachina, J. Donnerer, J.M. Pique, J.V. Esplugues, J. Bosch, and et al., *Neonatal capsaicin treatment does not prevent splanchnic vasodilatation in portal hypertensive rats*. Hepatology, 1994. **20**(6): p. 1609-14.
65. Lee, S.S. and K.A. Sharkey, *Capsaicin treatment blocks development of hyperkinetic circulation in portal hypertensive and cirrhotic rats*. Am J Physiol, 1993. **264**(5 Pt 1): p. G868-73.
66. Hori, N., T. Okanoue, Y. Sawa, and K. Kashima, *Role of calcitonin gene-related peptide in the vascular system on the development of the hyperdynamic circulation in conscious cirrhotic rats*. J Hepatol, 1997. **26**(5): p. 1111-9.
67. Sitzmann, J.V., G.B. Bulkley, M.C. Mitchell, and K. Campbell, *Role of prostacyclin in the splanchnic hyperemia contributing to portal hypertension*. Ann Surg, 1989. **209**(3): p. 322-7.
68. Hamilton, G., R.C. Phing, R.A. Hutton, P. Dandona, and K.E. Hobbs, *The relationship between prostacyclin activity and pressure in the portal vein*. Hepatology, 1982. **2**(2): p. 236-42.
69. Guarner, C., G. Soriano, J. Such, M. Teixido, I. Ramis, O. Bulbena, J. Rosello, F. Guarner, E. Gelpi, J. Balanzo, and et al., *Systemic prostacyclin in cirrhotic patients. Relationship with portal hypertension and changes after intestinal decontamination*. Gastroenterology, 1992. **102**(1): p. 303-9.
70. Bruix, J., J. Bosch, D. Kravetz, R. Mastai, and J. Rodes, *Effects of prostaglandin inhibition on systemic and hepatic hemodynamics in patients with cirrhosis of the liver*. Gastroenterology, 1985. **88**(2): p. 430-5.

71. Fernandez, M. and H.L. Bonkovsky, *Increased heme oxygenase-1 gene expression in liver cells and splanchnic organs from portal hypertensive rats*. Hepatology, 1999. **29**(6): p. 1672-9.
72. Pateron, D., K.A. Tazi, P. Sogni, J. Heller, C. Chagneau, O. Poirel, M. Philippe, R. Moreau, and D. Lebrec, *Role of aortic nitric oxide synthase 3 (eNOS) in the systemic vasodilation of portal hypertension*. Gastroenterology, 2000. **119**(1): p. 196-200.
73. Wiest, R. and R.J. Groszmann, *Nitric oxide and portal hypertension: its role in the regulation of intrahepatic and splanchnic vascular resistance*. Semin Liver Dis, 1999. **19**(4): p. 411-26.
74. Barriere, E., K.A. Tazi, J.P. Rona, F. Pessione, J. Heller, D. Lebrec, and R. Moreau, *Evidence for an endothelium-derived hyperpolarizing factor in the superior mesenteric artery from rats with cirrhosis*. Hepatology, 2000. **32**(5): p. 935-41.
75. Islam, M.Z., B.C. Williams, K.K. Madhavan, P.C. Hayes, and P.W. Hadoke, *Selective alteration of agonist-mediated contraction in hepatic arteries isolated from patients with cirrhosis*. Gastroenterology, 2000. **118**(4): p. 765-71.
76. Michielsen, P.P., G.E. Boeckstaens, S.U. Sys, A.G. Herman, and P.A. Pelckmans, *The role of increased nitric oxide in the vascular hyporeactivity to noradrenaline in long-term portal vein ligated rats*. J Hepatol, 1995. **23**(3): p. 341-7.
77. Vallance, P. and S. Moncada, *Hyperdynamic circulation in cirrhosis: a role for nitric oxide?* Lancet, 1991. **337**(8744): p. 776-8.
78. Heller, J., P. Sogni, K.A. Tazi, C. Chagneau, O. Poirel, R. Moreau, and D. Lebrec, *Abnormal regulation of aortic NOS2 and NOS3 activity and expression from portal vein-stenosed rats after lipopolysaccharide administration*. Hepatology, 1999. **30**(3): p. 698-704.
79. Hartleb, M., R. Moreau, C. Gaudin, and D. Lebrec, *Lack of vascular hyporesponsiveness to the L-type calcium channel activator, Bay K 8644, in rats with cirrhosis*. J Hepatol, 1995. **22**(2): p. 202-7.
80. Neef, M., E. Biecker, J. Heller, M. Schepke, H.D. Nischalke, M. Wolff, U. Spengler, J. Reichen, and T. Sauerbruch, *Portal hypertension is associated with increased mRNA levels of vasopressor G-protein-coupled receptors in human hepatic arteries*. Eur J Clin Invest, 2003. **33**(3): p. 249-55.
81. Mac Gilchrist, A., N. Deighton, C. Hamilton, and J. Reid, *Binding studies of platelet α_2 - and lymphocyt β_2 -adrenoceptors in patients with cirrhosis*. Br J Pharmacol, 1990. **30**: p. 644-647.
82. Gaudin, C., J. Launay, R. Moreau, S. Cailmail, and D. Lebrec, *Discrepant regulation among alpha and beta adrenoceptors in vascular walls of cirrhotic rats*. J Hepatol, 1994. **21**(A): p. 43.
83. Seasholtz, T.M., H. Gurdal, H.Y. Wang, M.D. Johnson, and E. Friedman, *Desensitization of norepinephrine receptor function is associated with G protein uncoupling in the rat aorta*. Am J Physiol, 1997. **273**(1 Pt 2): p. H279-85.
84. Johnson, M.D., H.Y. Wang, D. Ciechanowski, and E. Friedman, *Reduced G protein function in desensitized rat aorta*. J Pharmacol Exp Ther, 1991. **259**(1): p. 255-9.
85. Schnabel, P., T. Nohr, G. Nickenig, M. Paul, and M. Bohm, *Alpha-adrenergic signal transduction in renin transgenic rats*. Hypertension, 1997. **30**(6): p. 1356-61.
86. Arroyo, V. and W. Jimenez, *Complications of cirrhosis. II. Renal and circulatory dysfunction. Lights and shadows in an important clinical problem*. J Hepatol, 2000. **32**(1 Suppl): p. 157-70.
87. Jimenez, W. and V. Arroyo, *Pathogenesis of sodium retention in cirrhosis*. J Hepatol, 1993. **18**(2): p. 147-50.
88. Zhang, J.X., W. Pegoli, Jr., and M.G. Clemens, *Endothelin-1 induces direct constriction of hepatic sinusoids*. Am J Physiol, 1994. **266**(4 Pt 1): p. G624-32.
89. Arroyo, V., P. Gines, W. Jimenez, and J. Rodes, *Renal Dysfunction in cirrhosis*, in *Oxford Textbook of Clinical Hepatology*, B. J., B. JP., M. N., R. M., and J. Rodes, Editors. 1999, Oxford Medical Publications: Oxford. p. 733-61.

90. Esler, M., F. Dudley, G. Jennings, H. Debinski, G. Lambert, P. Jones, B. Crotty, J. Colman, and I. Willett, *Increased sympathetic nervous activity and the effects of its inhibition with clonidine in alcoholic cirrhosis*. *Ann Intern Med*, 1992. **116**(6): p. 446-55.
91. Gines, P., W. Jimenez, V. Arroyo, M. Navasa, C. Lopez, L. Tito, A. Serra, J. Bosch, G. Sanz, and F. Rivera, *Atrial natriuretic factor in cirrhosis with ascites: plasma levels, cardiac release and splanchnic extraction*. *Hepatology*, 1988. **8**(3): p. 636-42.
92. La Villa, G., R.G. Romanelli, V. Casini Raggi, C. Tosti-Guerra, M.L. De Feo, F. Marra, G. Laffi, and P. Gentilini, *Plasma levels of brain natriuretic peptide in patients with cirrhosis*. *Hepatology*, 1992. **16**(1): p. 156-61.
93. Salo, J., W. Jimenez, M. Kuhn, A. Gines, P. Gines, G. Fernandez-Esparrach, P. Angeli, J. Claria, R. Bataller, V. Arroyo, W.G. Forssmann, and J. Rodes, *Urinary excretion of urodilatin in patients with cirrhosis*. *Hepatology*, 1996. **24**(6): p. 1428-32.
94. Girgrah, N., P. Liu, J. Collier, L. Blendis, and F. Wong, *Haemodynamic, renal sodium handling, and neurohormonal effects of acute administration of low dose losartan, an angiotensin II receptor antagonist, in preascitic cirrhosis*. *Gut*, 2000. **46**(1): p. 114-20.
95. Wong, F., P. Liu, and L. Blendis, *The mechanism of improved sodium homeostasis of low-dose losartan in preascitic cirrhosis*. *Hepatology*, 2002. **35**(6): p. 1449-58.
96. Blendis, L.M. and F. Wong, *Does losartan work after all?* *Am J Gastroenterol*, 2003. **98**(6): p. 1222-4.
97. Gines, P. and V. Arroyo, *Hepatorenal syndrome*. *J Am Soc Nephrol*, 1999. **10**(8): p. 1833-9.
98. Garcia-Pagan, J.C., F. Feu, M. Navasa, C. Bru, L. Ruiz del Arbol, J. Bosch, and J. Rodes, *Long-term haemodynamic effects of isosorbide 5-mononitrate in patients with cirrhosis and portal hypertension*. *J Hepatol*, 1990. **11**(2): p. 189-95.
99. Salmeron, J.M., L. Ruiz del Arbol, A. Gines, J.C. Garcia-Pagan, P. Gines, F. Feu, J. Claria, F. Rivera, J. Bosch, V. Arroyo, and et al., *Renal effects of acute isosorbide-5-mononitrate administration in cirrhosis*. *Hepatology*, 1993. **17**(5): p. 800-6.
100. Albillos, A., J.L. Lledo, I. Rossi, M. Perez-Paramo, M.J. Tabuenca, R. Banares, J. Iborra, A. Garrido, P. Escartin, and J. Bosch, *Continuous prazosin administration in cirrhotic patients: effects on portal hemodynamics and on liver and renal function*. *Gastroenterology*, 1995. **109**(4): p. 1257-65.
101. Albillos, A., J.L. Lledo, R. Banares, I. Rossi, J. Iborra, J.L. Calleja, A. Garrido, P. Escartin, and J. Bosch, *Hemodynamic effects of alpha-adrenergic blockade with prazosin in cirrhotic patients with portal hypertension*. *Hepatology*, 1994. **20**(3): p. 611-7.
102. Willett, I.R., M. Esler, G. Jennings, and F.J. Dudley, *Sympathetic tone modulates portal venous pressure in alcoholic cirrhosis*. *Lancet*, 1986. **2**(8513): p. 939-43.
103. Moreau, R., S.S. Lee, A. Hadengue, A. Braillon, and D. Lebrec, *Hemodynamic effects of a clonidine-induced decrease in sympathetic tone in patients with cirrhosis*. *Hepatology*, 1987. **7**(1): p. 149-54.
104. Roulot, D., R. Moreau, C. Gaudin, Y. Bacq, A. Braillon, A. Hadengue, P. Frohly, and D. Lebrec, *Long-term sympathetic and hemodynamic responses to clonidine in patients with cirrhosis and ascites*. *Gastroenterology*, 1992. **102**(4 Pt 1): p. 1309-18.
105. Banares, R., E. Moitinho, B. Piqueras, M. Casado, J.C. Garcia-Pagan, A. de Diego, and J. Bosch, *Carvedilol, a new nonselective beta-blocker with intrinsic anti-Alpha1-adrenergic activity, has a greater portal hypotensive effect than propranolol in patients with cirrhosis*. *Hepatology*, 1999. **30**(1): p. 79-83.
106. Schneider, A.W., J.F. Kalk, and C.P. Klein, *Effect of losartan, an angiotensin II receptor antagonist, on portal pressure in cirrhosis*. *Hepatology*, 1999. **29**(2): p. 334-9.

107. Croquet, V., F. Moal, N. Veal, J. Wang, F. Oberti, J. Roux, E. Vuillemin, Y. Gallois, O. Douay, D. Chappard, and P. Cales, *Hemodynamic and antifibrotic effects of losartan in rats with liver fibrosis and/or portal hypertension*. *J Hepatol*, 2002. **37**(6): p. 773-80.
108. Mastai, R., J. Bosch, M. Navasa, D. Kravetz, J. Bruix, C. Viola, and J. Rodes, *Effects of alpha-adrenergic stimulation and beta-adrenergic blockade on azygos blood flow and splanchnic haemodynamics in patients with cirrhosis*. *J Hepatol*, 1987. **4**(1): p. 71-9.
109. Escorsell, A., L. Ferayorni, J. Bosch, J.C. Garcia-Pagan, G. Garcia-Tsao, N.D. Grace, J. Rodes, and R.J. Groszmann, *The portal pressure response to beta-blockade is greater in cirrhotic patients without varices than in those with varices*. *Gastroenterology*, 1997. **112**(6): p. 2012-6.
110. Bosch, J., J.M. Bordas, R. Mastai, D. Kravetz, M. Navasa, J. Chesta, M.P. Pizcueta, J.C. Garcia-Pagan, and J. Rodes, *Effects of vasopressin on the intravariceal pressure in patients with cirrhosis: comparison with the effects on portal pressure*. *Hepatology*, 1988. **8**(4): p. 861-5.
111. D'Amico, G., L. Pagliaro, and J. Bosch, *The treatment of portal hypertension: a meta-analytic review*. *Hepatology*, 1995. **22**(1): p. 332-54.
112. Groszmann, R.J., D. Kravetz, J. Bosch, M. Glickman, J. Bruix, J. Bredfeldt, H.O. Conn, J. Rodes, and E.H. Storer, *Nitroglycerin improves the hemodynamic response to vasopressin in portal hypertension*. *Hepatology*, 1982. **2**(6): p. 757-62.
113. Blei, A.T., *Vasopressin analogs in portal hypertension: different molecules but similar questions*. *Hepatology*, 1986. **6**(1): p. 146-7.
114. Bosch, J., P. Pizcueta, F. Feu, M. Fernandez, and J.C. Garcia-Pagan, *Pathophysiology of portal hypertension*. *Gastroenterol Clin North Am*, 1992. **21**(1): p. 1-14.
115. Zimmon, D.S. and R.E. Kessler, *The portal pressure-blood volume relationship in cirrhosis*. *Gut*, 1974. **15**(2): p. 99-101.
116. Okumura, H., T. Aramaki, Y. Katsuta, K. Satomura, M. Akaike, T. Sekiyama, H. Terada, M. Ohsuga, H. Komeichi, and H. Tsutsui, *Reduction in hepatic venous pressure gradient as a consequence of volume contraction due to chronic administration of spironolactone in patients with cirrhosis and no ascites*. *Am J Gastroenterol*, 1991. **86**(1): p. 46-52.
117. Garcia-Pagan, J.C., J.M. Salmeron, F. Feu, A. Luca, P. Gines, P. Pizcueta, J. Claria, C. Piera, V. Arroyo, J. Bosch, and et al., *Effects of low-sodium diet and spironolactone on portal pressure in patients with compensated cirrhosis*. *Hepatology*, 1994. **19**(5): p. 1095-9.
118. Dacquet, C., G. Loirand, C. Mironneau, J. Mironneau, and P. Pacaud, *Spironolactone inhibition of contraction and calcium channels in rat portal vein*. *Br J Pharmacol*, 1987. **92**(3): p. 535-44.
119. Garcia-Tsao, G., R.J. Groszmann, R.L. Fisher, H.O. Conn, C.E. Atterbury, and M. Glickman, *Portal pressure, presence of gastroesophageal varices and variceal bleeding*. *Hepatology*, 1985. **5**(3): p. 419-24.
120. Casado, M., J. Bosch, J.C. Garcia-Pagan, C. Bru, R. Banares, J.C. Bandi, A. Escorsell, J.M. Rodriguez-Laiz, R. Gilibert, F. Feu, C. Schorlemer, A. Echenagusia, and J. Rodes, *Clinical events after transjugular intrahepatic portosystemic shunt: correlation with hemodynamic findings*. *Gastroenterology*, 1998. **114**(6): p. 1296-303.
121. Kountouras, J., B.H. Billing, and P.J. Scheuer, *Prolonged bile duct obstruction: a new experimental model for cirrhosis in the rat*. *Br J Exp Pathol*, 1984. **65**(3): p. 305-11.
122. Seyde, W.C. and D.E. Longnecker, *Anesthetic influences on regional hemodynamics in normal and hemorrhaged rats*. *Anesthesiology*, 1984. **61**(6): p. 686-98.
123. Kojima, H., J. Yamao, T. Tsujimoto, M. Uemura, A. Takaya, and H. Fukui, *Mixed endothelin receptor antagonist, SB209670, decreases portal pressure in biliary cirrhotic rats in vivo by reducing portal venous system resistance*. *J Hepatol*, 2000. **32**(1): p. 43-50.

124. Hakkinen, J.P., M.W. Miller, A.H. Smith, and D.R. Knight, *Measurement of organ blood flow with coloured microspheres in the rat*. Cardiovasc Res, 1995. **29**(1): p. 74-9.
125. Weicker, H., M. Feraudi, H. Hagele, and R. Pluto, *Electrochemical detection of catecholamines in urine and plasma after separation with HPLC*. Clin Chim Acta, 1984. **141**(1): p. 17-25.
126. Gonzalez-Abraldes, J., A. Albillos, R. Banares, L.R. Del Arbol, E. Moitinho, C. Rodriguez, M. Gonzalez, A. Escorsell, J.C. Garcia-Pagan, and J. Bosch, *Randomized comparison of long-term losartan versus propranolol in lowering portal pressure in cirrhosis*. Gastroenterology, 2001. **121**(2): p. 382-8.
127. Schepke, M., E. Werner, E. Biecker, P. Schiedermaier, J. Heller, M. Neef, B. Stoffel-Wagner, U. Hofer, W.H. Caselmann, and T. Sauerbruch, *Hemodynamic effects of the angiotensin II receptor antagonist irbesartan in patients with cirrhosis and portal hypertension*. Gastroenterology, 2001. **121**(2): p. 389-95.
128. Geraghty, J.G., W.J. Angerson, and D.C. Carter, *Portal venous pressure and portasystemic shunting in experimental portal hypertension*. Am J Physiol, 1989. **257**(1 Pt 1): p. G52-7.
129. Lee, S.S., C. Girod, A. Braillon, A. Hadengue, and D. Lebrec, *Hemodynamic characterization of chronic bile duct-ligated rats: effect of pentobarbital sodium*. Am J Physiol, 1986. **251**(2 Pt 1): p. G176-80.
130. Jonassen, T.E., S. Christensen, A.M. Sorensen, N. Marcussen, A. Flyvbjerg, F. Andreasen, and J.S. Petersen, *Effects of chronic octreotide treatment on renal changes during cirrhosis in rats*. Hepatology, 1999. **29**(5): p. 1387-95.
131. Li, Y., D. Song, Y. Zhang, and S.S. Lee, *Effect of neonatal capsaicin treatment on haemodynamics and renal function in cirrhotic rats*. Gut, 2003. **52**(2): p. 293-9.
132. Heller, J., T. Shiozawa, J. Trebicka, M. Hennenberg, M. Schepke, M. Neef, and T. Sauerbruch, *Acute haemodynamic effects of losartan in anaesthetized cirrhotic rats*. Eur J Clin Invest, 2003. **33**(11): p. 1006-12.
133. Strawn, W.B., P.E. Gallagher, E.A. Tallant, D. Ganten, and C.M. Ferrario, *Angiotensin II AT1-receptor blockade inhibits monocyte activation and adherence in transgenic (mRen2)27 rats*. J Cardiovasc Pharmacol, 1999. **33**(3): p. 341-51.
134. Bayorh, M.A., A.A. Ganafa, R.R. Socci, D. Eatman, N. Silvestrov, and I.K. Abukhalaf, *Effect of losartan on oxidative stress-induced hypertension in Sprague-Dawley rats*. Am J Hypertens, 2003. **16**(5 Pt 1): p. 387-92.
135. Bautista, R., R. Manning, F. Martinez, C. Avila-Casado Mdel, V. Soto, A. Medina, and B. Escalante, *Angiotensin II-dependent increased expression of Na⁺-glucose cotransporter in hypertension*. Am J Physiol Renal Physiol, 2004. **286**(1): p. F127-33. Epub 2003 Sep 23.
136. Hennington, B.S., H. Zhang, M.T. Miller, J.P. Granger, and J.F. Reckelhoff, *Angiotensin II stimulates synthesis of endothelial nitric oxide synthase*. Hypertension, 1998. **31**(1 Pt 2): p. 283-8.
137. Pueyo, M.E., J.F. Arnal, J. Rami, and J.B. Michel, *Angiotensin II stimulates the production of NO and peroxynitrite in endothelial cells*. Am J Physiol, 1998. **274**(1 Pt 1): p. C214-20.
138. Thorup, C., M. Kornfeld, M.S. Goligorsky, and L.C. Moore, *AT1 receptor inhibition blunts angiotensin II-stimulated nitric oxide release in renal arteries*. J Am Soc Nephrol, 1999. **10**(Suppl 11): p. S220-4.
139. Yang, Y.Y., H.C. Lin, Y.T. Huang, T.Y. Lee, M.C. Hou, F.Y. Lee, R.S. Liu, F.Y. Chang, and S.D. Lee, *Effect of 1-week losartan administration on bile duct-ligated cirrhotic rats with portal hypertension*. J Hepatol, 2002. **36**(5): p. 600-6.
140. Ye, S., H. Zhong, V.N. Duong, and V.M. Campese, *Losartan reduces central and peripheral sympathetic nerve activity in a rat model of neurogenic hypertension*. Hypertension, 2002. **39**(6): p. 1101-6.
141. Treeck, B., A.B. Roald, O. Tenstad, and K. Aukland, *Effect of exogenous and endogenous angiotensin II on intrarenal distribution of glomerular filtration rate in rats*. J Physiol, 2002. **541**(Pt 3): p. 1049-57.

9.7 Publikationen:

9.7.1 Originalarbeiten:

Heller J*, Trebicka J*, Shiozawa T, Schepke M, Neef M, Hennenberg M, Sauerbruch T: „Beneficial vascular, hemodynamic and renal effects of low dose losartan in rats with secondary biliary cirrhosis“ Zur Veröffentlichung angenommen für Liver International 2005

Heller J, Shiozawa T, Trebicka J, Hennenberg M, Schepke M, Neef M, Sauerbruch T: „Acute hemodynamic effects of losartan in anaesthetized cirrhotic rats“ in Eur J Clin Invest. 2003 Nov; 33(11): 1006-12

Kribben B, Heller J, Trebicka J, Sauerbruch T, Göthert M, Molderings GJ: „Agmatine (decarboxylated arginine), a modulator of liver cell proliferation“ in Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol. 2004 Feb;369(2):160-5.

Klaus Tiemann, Marc Fata, Alexander Ghanem, Jörg Heller, Jonel Trebicka, Klaus B. Fink, Mark Stroick, Michael Hennerici, Berndt Lüderitz, Stephen Meairs : „Monitoring regional cerebral blood flow with quantitative perfusion sonography in an experimental stroke model“ Zur Veröffentlichung eingereicht 2005

9.7.2 Poster- und Kongressbeiträge:

Heller J, Trebicka J, Shiozawa T, Schepke M, Neef M, Sauerbruch T: „Verbesserung der aortalen Kontraktilität für die α 1-Adrenozeptorstimulation nach Angiotensin II Rezeptorblockade bei zirrhotischen Ratten“ GASL 2002

Heller J, Trebicka J, Shiozawa T, Schepke M, Neef M, Leifeld L, Sauerbruch T: „Niedrig dosiertes Losartan senkt den Pfortaderdruck und verbessert die Nierenfunktion ohne Einfluss auf den arteriellen Blutdruck bei Ratten mit einer sekundär biliären Leberzirrhose“ DGVS 2002

Heller J, Trebicka J, Shiozawa T, Schepke M, Neef M, Leifeld L, Sauerbruch T: „Low dose Losartan reduces portal pressure, improves renal function and vascular contractility to adrenoceptor stimulation without affecting arterial pressure in cirrhotic rats“ EASL 2003

Heller J., Jochem K., Trebicka J., Fischer N., Schepke M., T. Sauerbruch: „Bedeutung des Rho-Kinasesignalwegs für den portalen Hypertonus, arteriellen Blutdruck und die vaskuläre Kontraktilität bei Ratten mit sekundär biliärer Zirrhose“ DGVS 2003

Tiemann K, Fatar M, Ghanem A, Trebicka J, Heller J, Fink K, Meairs S: „Hirnpfusionsmessungen mittels Power Pulse Inversion Imaging im Rattenmodell – Validisierung mittels Farbstoffmikrosphären“ DGK-Tagung 2003