

# **Akute hämodynamische Effekte des AT<sub>1</sub>-Rezeptorantagonisten Losartan bei Ratten mit portaler Hypertension**

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

vorgelegt von

Jean Thomas Kiyoshi Shiozawa

aus Bonn-Bad Godesberg

2006

Angefertigt mit Genehmigung der  
Medizinischen Fakultät der Universität Bonn

1. Gutachter: Herr Prof. Dr. med. T. Sauerbruch
2. Gutachter: Herr Prof. Dr. med. M. Wolff

Tag der mündlichen Prüfung: 01.06.2006

Diese Dissertation ist auf dem Hochschulschriftenserver der ULB Bonn  
[http://hss.ulb.uni-bonn.de/diss\\_online](http://hss.ulb.uni-bonn.de/diss_online) elektronisch publiziert

Aus der Medizinischen Klinik I, Universitätsklinikum Bonn  
Direktor: Prof. Dr. med. T. Sauerbruch

*Für Dietmar*



# INHALTSVERZEICHNIS

<b>ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS</b> .....	<b>7</b>
<b>1 EINLEITUNG/HINTERGRUND</b> .....	<b>9</b>
1.1 Definition der portalen Hypertension .....	9
1.2 Pathogenese der portalen Hypertension .....	9
1.3 Pathophysiologie der portalen Hypertension .....	11
1.3.1 Erhöhung des intrahepatischen Flusswiderstandes .....	12
1.3.2 Erhöhter splanchnischer Blutfluss .....	16
1.3.3 Vasoaktive Substanzen.....	19
1.4 Komplikationen der portalen Hypertension.....	25
1.4.1 Varizen(-blutung).....	25
1.4.2 Aszites.....	26
1.4.3 Hepatorenales Syndrom .....	28
1.5 Medikamentöse Therapie der portalen Hypertension .....	28
1.5.1 Verminderung der splanchnischen Perfusion .....	30
1.5.2 Senkung des intrahepatischen Flusswiderstandes:.....	32
1.6 Angiotensin und portale Hypertension .....	33
1.7 Angiotensinrezeptoren und hämodynamische Wirkung von Angiotensin II .....	34
1.8 Bisherige Ergebnisse zur Wirkung von AT <sub>1</sub> -Antagonisten bei Pfortaderhochdruck .....	35
1.9 Fragestellung .....	36
<b>2 MATERIAL UND METHODEN</b> .....	<b>37</b>
2.1 Versuchstiere.....	37
2.2 Gruppen.....	37
2.3 Voroperation .....	37
2.4 Versuchsdurchführung.....	38
2.4.1 Vorbereitung.....	38
2.4.2 Platzierung der Katheter .....	39
2.4.3 Hämodynamisches Monitoring.....	40
2.4.4 Messung der Herzauswurfleistung und des regionären Blutflusses durch Farbmikrosphären .....	41
2.4.5 Verarbeitung der Proben.....	42
2.4.6 Absorbtiionsmessung.....	43
2.5 Auswertung.....	43
2.6 Bestimmung der Serum-Transaminasen .....	44

<b>3</b>	<b>ERGEBNISSE</b> .....	<b>45</b>
3.1	Allgemeine Daten .....	45
3.2	Leberenzyme.....	46
3.3	Mittlerer arterieller Druck.....	47
3.4	Pfortaderdruck.....	49
3.5	Systemische Hämodynamik.....	51
3.6	Splanchnische Hämodynamik .....	53
<b>4</b>	<b>DISKUSSION</b> .....	<b>58</b>
	<b>ZUSAMMENFASSUNG</b> .....	<b>64</b>
	<b>DANKSAGUNG</b> .....	<b>65</b>
	<b>LITERATURVERZEICHNIS</b> .....	<b>66</b>

## ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

ACE	angiotensin converting enzyme
ALAT	Alanin-Aminotransferase / Glutamat-Pyruvat-Transaminase (GPT)
AP	alkalische Phosphatase
AT	Angiotensin
ca.	circa
CI	cardiac index
cm	Zentimeter
CO	cardiac outout
CVP	central venous pressure / zentralvenöser Druck
GTP	Guanosintriphosphat
GDP	Guanosindiphosphat
HR	heart rate / Herzfrequenz
HSC	hepatic stellate cell / Hepatische Sternzelle
HVPG	hepato-venous pressure gradient / hepatovenöser Druckgradient
HVR	hepatic vascular resistance / hepatischer Gefäßwiderstand
HZV	Herzeitvolumen
IP3	Inositoltrisphosphat
kg	Kilogramm
KG	Körpergewicht
MAP	mean arterial pressure / mittlerer arterieller Druck
mg	Milligramm
ml	Milliliter
mm	Millimeter
NADPH	(reduziertes) Nicotinamidadenindinukleotidphosphat
NO	nitric oxide / Stickstoffmonoxid
PLC	Phospholipase C
PP	portal pressure / Pfortaderdruck
PSS	porto-systemic shunting
PVI	portal venous inflow / portaler Einstrom

RAAS	Renin-Angiotensin-Aldosteron-System
SPP	splanchnic perfusion pressure / splanchnischer Perfusionsdruck
SST	Somatostatin
SVR	systemic vascular resistance / systemischer Gefäßwiderstand
TGF- $\beta$	transforming growth factor $\beta$
TNF- $\alpha$	tumor necrosis factor $\alpha$
UDCA	Ursodesoxycholsäure



## **1 EINLEITUNG/HINTERGRUND**

Die portale Hypertension ist die hämodynamische Konsequenz der zirrhotischen Lebererkrankung. Die häufigsten, auch letalen Komplikationen der Leberzirrhose sind Folge der portalen Hypertension, Beispiele sind Ösophagusvarizenblutung, hepatische Enzephalopathie, Aszitesbildung, spontane bakterielle Peritonitis und das funktionelle Nierenversagen (hepatorenales Syndrom). Diese Komplikationen entstehen durch zwei charakteristische pathophysiologische Phänomene: die Entwicklung porto-systemischer Kollateralen und die hyperdynamische (1) Zirkulation.

### **1.1 Definition der portalen Hypertension**

Ausgehend von den physiologischen Druckverhältnissen (3-6 mmHg absoluter Druck in der Vena portae und <4 mmHg relativer Druck im Verhältnis zwischen V. portae und V. cava inf.) wird die portale Hypertension als ein anhaltender Anstieg des Portaldruckes auf Werte  $\geq 7$  mmHg und/oder des transhepatischen Druckgradienten auf  $\geq 5$  mmHg definiert (2-4).

Der Pfortaderdruck kann direkt über Kanülierung der Pfortader oder indirekt über den Lebervenenverschlussdruck (Wedge-Druck) gemessen werden (5).

### **1.2 Pathogenese der portalen Hypertension**

Die portale Hypertension ist durch einen Anstieg des hydrostatischen Druckes im portalen Gefäßbett gekennzeichnet. Klinisch äußert sich dies vor allem in der Bildung von Aszites, der Erschließung von Umgehungskreisläufen (porto-cavale Anastomosen) und der damit verbundenen Gefahr gastrointestinaler Blutungen aus den Kollateralgefäßen (6-9).

Bei der portalen Hypertension kann man pathogenetisch drei Formen unterscheiden: eine präsinusoidale, sinusoidale und postsinusoidale Form.

Bei der präsinusoidalen Form liegt eine Perfusionsstörung im Pfortaderbett oder eine Schistosomen-Infektion zugrunde, bei Letzterer entstehen zum Beispiel perivaskuläre Fibrosierungen auf der Basis einer granulomatösen Entzündung durch Schistosomen (10). Auch eine Thrombosierung der Pfortader kann natürlich zu einem 'Stau' und einem damit verbundenen Hochdruck führen.

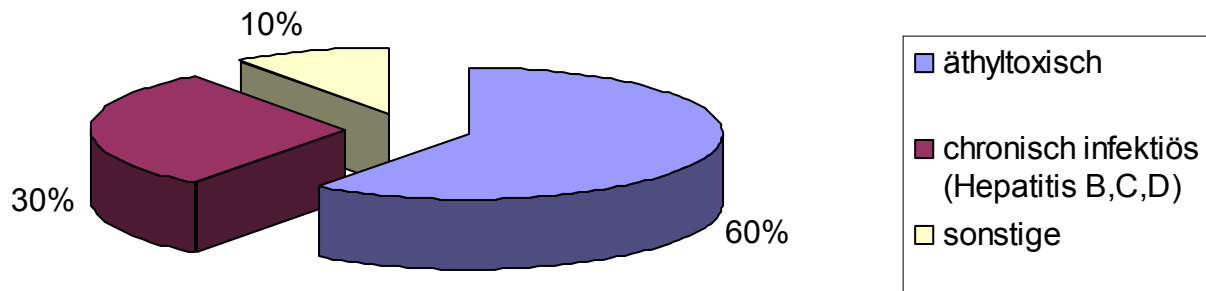
Die sinusoidale Form ist die bei weitem häufigste, sie entsteht auf dem Boden der Leberzirrhose. Hauptursachen der Leberzirrhose in Deutschland sind die

- äthyltoxische (Alkoholabusus) und die
- chronisch infektiöse Genese (chronische Virushepatitis Typ B, B+D, C)

(siehe Abb. 1). Seltener Ursachen der Leberzirrhose sind

- toxisch (Medikamente (INH, Methyldopa, Amiodaron), Chemikalien (CCl<sub>4</sub>)),
- infektiös (Schistosomiasis),
- autoimmun (autoimmune Hepatitis, primär biliäre Zirrhose, Overlap-Syndrom),
- biliär obstruktiv (sekundär biliäre Zirrhose, primär sklerosierende Cholangitis, zystische Fibrose, Alagille-Syndrom),
- hereditär (Hämochromatose, Morbus Wilson, Zystische Fibrose ( $\alpha$ -1-Antitrypsin-Mangel), Glykogenspeicherkrankheiten Typ III-IV, Galaktosämie, hereditäre Fruktoseintoleranz, Tyrosinämie Typ I),
- kardiovaskulär (chronische Rechtsherzinsuffizienz, Pericarditis constrictiva) oder
- sonstig (Sarkoidose, nicht-alkoholische Steatohepatitis (NASH)).

## Ursachen der Leberzirrhose



**Abb. 1:** Ursachen der Leberzirrhose (in westlichen Ländern)

Postsinusoidal kann die portale Hypertension zum Beispiel durch den Verschluss der Portalvenen entstehen (Budd-Chiari-Syndrom (11)). Bei den primär vaskulären Lebererkrankungen entsteht aufgrund des sinusoidalen Hochdrucks die Leberfunktionsstörung, während dies bei den primär parenchymatösen Lebererkrankungen genau umgekehrt ist (12).

Portale Hypertension und Leberdysfunktion bedingen sich also gegenseitig in beide Richtungen.

### 1.3 Pathophysiologie der portalen Hypertension

Ausgehend von einfachsten physikalischen Überlegungen kann man ableiten: Den Pfortaderkreislauf als geschlossenes System betrachtend, ist die Höhe des Pfortaderdruckes (P) abhängig vom Ausflusswiderstand (R) und vom Blutfluss (Q).

$$P = Q \times R$$

Den Durchflusswiderstand (R) kann man in Anlehnung an das Hagen-Poiseuill'sche Gesetz wiederum in die Abhängigkeit von Gefäßlänge (L), Gefäßradius (r) und Viskosität des Blutes ( $\mu$ ) setzen.

$$R = 8 \times \mu L / r^4$$

Eine Druckerhöhung im Portalkreislauf ist nun physikalisch auf zwei Wegen möglich: durch eine Erhöhung des Blutflusses oder durch eine Erhöhung des Widerstandes, wobei letzterer wiederum eine starke Abhängigkeit (in der 4. Potenz) zum Gefäßdurchmesser besitzt (auch ausgehend von der Tatsache, dass sich sowohl Blutviskosität als auch Gefäßlänge nicht signifikant verändern können).

In der realen Pathophysiologie spiegeln sich kausal genau diese beide Mechanismen wider; eine Erhöhung des intrahepatischen Flusswiderstandes durch die Leberzirrhose und ein verstärkter Blutfluss in die Pfortader.

### 1.3.1 Erhöhung des intrahepatischen Flusswiderstandes

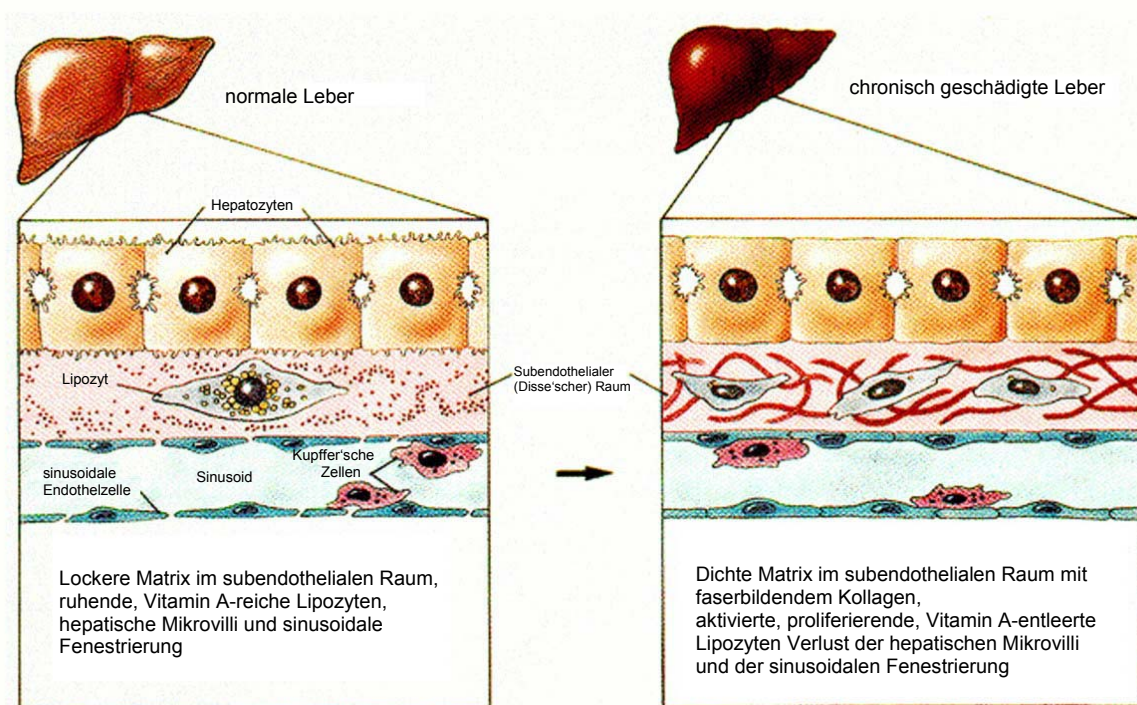
Die Leber bildet den Hauptwiderstand zum portalen Blutfluss. Hierbei kann man sich die normale Leber als großflächiges vaskuläres Netzwerk mit sehr geringem Widerstand vorstellen. Der portosystemischen Widerstand lässt sich in fünf verschiedene Widerstandsgebiete aufteilen (3):

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

Die Regulation des splanchnischen Einstroms wird im physiologischen Zustand in der Hauptsache von den Widerstandsgefäßen auf der splanchnischen Ebene der Arteriolen (R2) übernommen (1). Bei der portalen Hypertension spielt sich die

pathologische Widerstandserhöhung des portalen Gefäßsystems hauptsächlich in den hepatischen Sinusoiden ab (13, 14) (R4).

Hierbei spielt die zirrhotische Fibrogenese die wichtigste Rolle. Diese ist auf zellulärer Ebene repräsentiert durch die hepatischen Sternzellen (HSC) / Lipozyten. Diese werden durch die Einwirkung verschiedener Noxen und Mediatoren in einen aktivierten Zustand transformiert, bilden vermehrt Extrazellulärmatrix-Proteine und inhibieren die Matrixdegradation (15). Dies führt zur pathologischen Bindegewebsneubildungen im Disse'schen Raum (16). Unterhalb des sinusoidalen Epithels bilden sich Pseudomembranen, welche die Fenestrierungen der Sinusoide verschließen (s. Abb. 2).

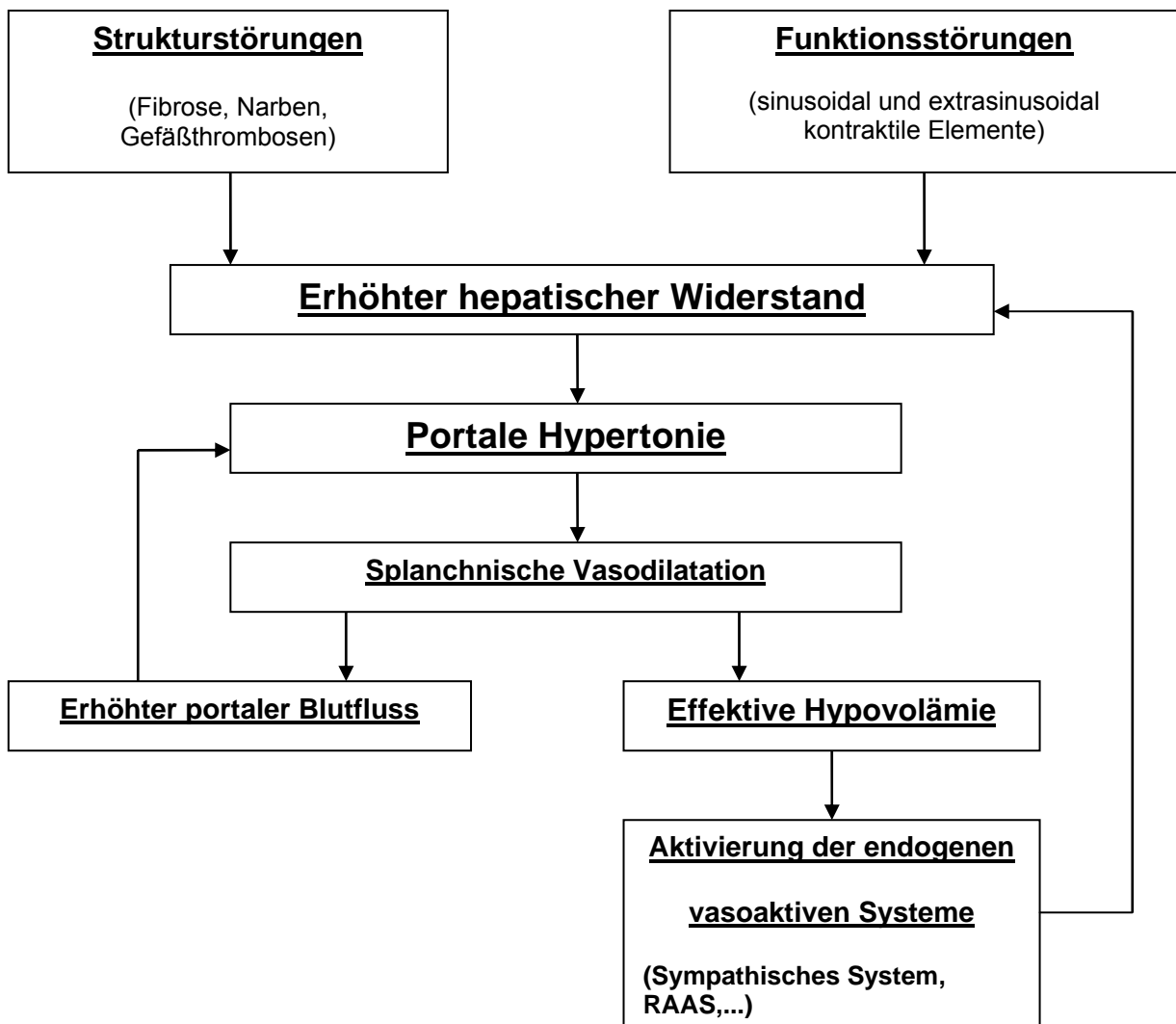


**Abb. 2:** sinusoidale Veränderungen bei zirrhotischer Fibrogenese (17)

In der Folge entstehen portoportale und portozentrale Septen, welche die hepatische Mikroarchitektur irreversibel zerstören (18). Neben der Verlängerung der Diffusionstrecke zwischen Blut und Hepatozyten und der damit verbundenen Einschränkung der Leberclearance (19) stellt die Fibrose auf (mikro-)vaskulärer Ebene natürlich ein rein mechanisches Hindernis dar, welches zur Störung der Durchblutung und damit zum pathologischen Hochdruck führt.

Aber nicht nur die Fibrogenese und die architektonischen Umbauvorgänge in der Leber spielen eine Rolle, es gibt auch eine aktive Komponente in der Widerstandserhöhung. Auch hier spielen die hepatischen Sternzellen die Hauptrolle, welche durch die oben bereits angesprochene Aktivierung eine kontraktile, myofibroblasten-ähnliche Morphologie ausbilden. Diese können nun durch verschiedene humorale Faktoren (z.B. Endothelin-1 (20)) beeinflusst werden. Ihnen wird zugeschrieben, über aktive Kontraktion den Durchflusswiderstand verändern zu können (21, 22).

Mechanische Beeinträchtigung und aktive Kontraktion begründen die Entstehung des portalen Hypertonus gemäß der „backward flow“-Theorie.



**Abb. 3:** Der „backward-flow“-Mechanismus in der Entstehung der portalen Hypertension (23)

### 1.3.2 Erhöhter splanchnischer Blutfluss

Die hämodynamischen Veränderungen bei portaler Hypertension lassen sich nicht allein durch die strukturellen und funktionellen Störungen in der Leber erklären.

Ein Viertel des Herzzeitvolumens erreicht die Leber. Davon werden 1/3 aus der A. hepatica und 2/3 aus der Pfortader und damit dem Splanchnikusgebiet gespeist.

Bei der portalen Hypertension ist der splanchnische Blutfluss deutlich erhöht, was ebenfalls zur Druckerhöhung beiträgt. Aber nicht nur das Splanchnikusgebiet, sondern auch die gesamtkörperliche Hämodynamik ist beeinträchtigt, im Sinne einer hyperdynamen Zirkulation.

Die Beschreibung dieser hyperdynamen Kreislaufsituation bei Patienten mit Leberzirrhose und portaler Hypertension ist schon sehr lange bekannt (24). Sie ist gekennzeichnet durch ein erhöhtes Herzminutenvolumen und einen erniedrigten peripheren Widerstand. Schlagvolumen und Herzfrequenz sind an die erhöhte Herzauswurfmenge angepasst. Diese Befunde finden sich sowohl bei intrahepatischer (25) als auch bei extrahepatischer portaler Hypertension (26). Dieses pathophysiologische Phänomen ist auch im Tiermodell reproduzierbar (27, 28).

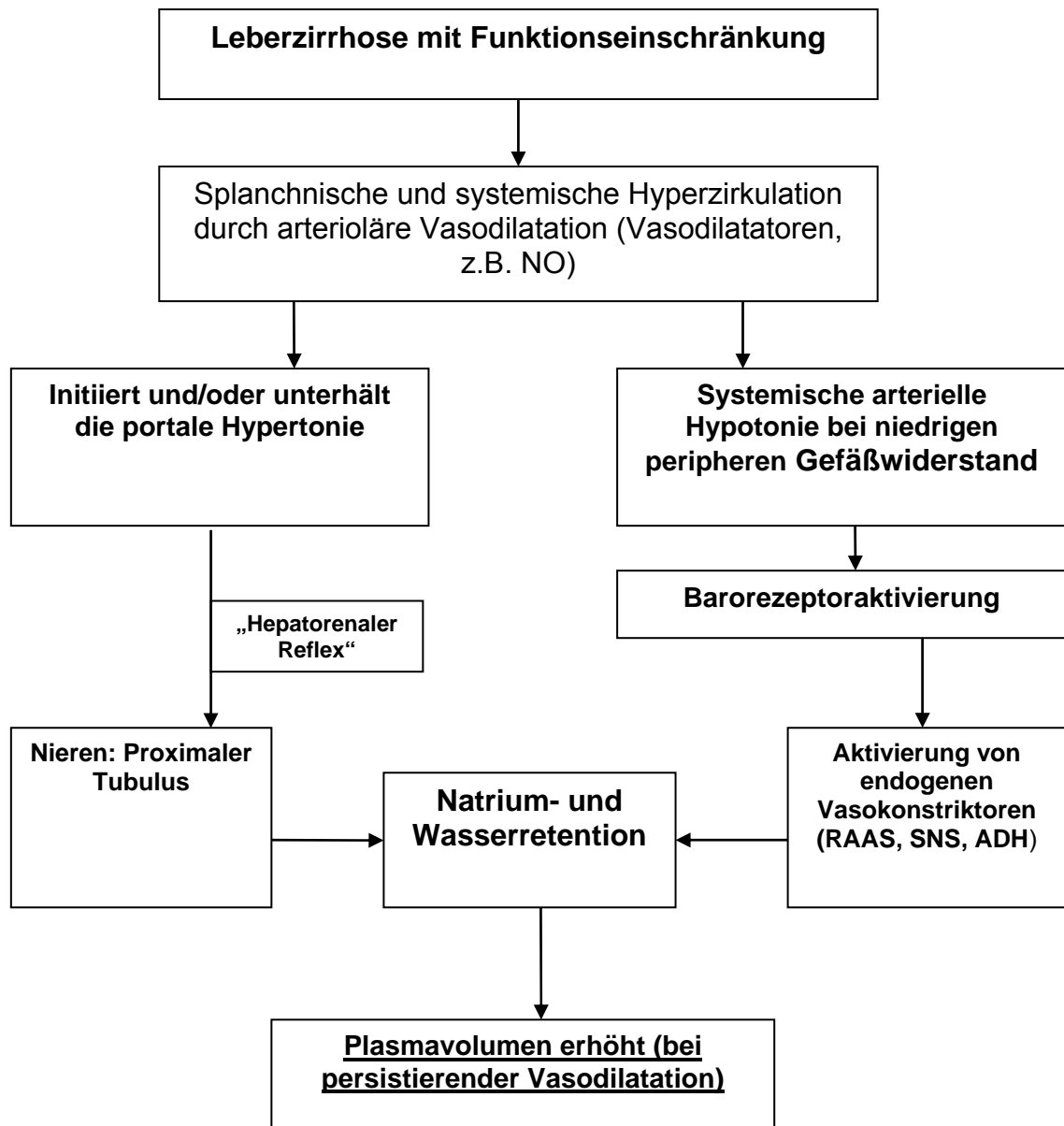
Weiterhin besteht eine Abhängigkeit zwischen Herzzeitvolumen (HZV) und Grad der Leberschädigung bzw. dem Vorhandensein von Aszites. Patienten mit Leberinsuffizienz und Aszites haben ein signifikant größeres HZV als Patienten mit guter Leberfunktion (29) oder ohne Aszites (30).

Die hyperdynamen Zirkulation lässt sich vor allem durch Verschiebungen im neuro-humoralen Bereich erklären, an denen die verschiedensten vasokonstriktiven wie vasodilatativen Substanzen beteiligt sind (31). Trotz Aktivierung kompensatorischer endogener vasokonstriktorischer Mechanismen dominiert die Vasodilatation. Dies wird letzten Endes durch eine vaskuläre Hypokontraktilität erklärt (32-37).



Weiterhin wird die hyperdynamische Zirkulation durch ein gesteigertes intravasales Volumen gefördert, welches durch renale Natrium- und Wasserretention aufrecht erhalten wird (38).

Arteriolen Vasodilatation, erniedrigter systemischer Widerstand und daraus resultierende Natrium- und Wasserretention mit Steigerung der hyperdynamischen Situation durch ein erhöhtes Plasmavolumen begründen die Aufrechterhaltung der portalen Hypertension gemäß der „forward flow“-Theorie.



**Abb. 4:** Der „forward-flow“-Mechanismus in der Entstehung der portalen Hypertension (23)

### 1.3.3 Vasoaktive Substanzen

Eine entscheidende Rolle bei der Entstehung der portalen Hypertension kommt den neuro-humoralen Faktoren der Gefäß- und Durchblutungsregulation zu. Hierzu tragen verschiedene Vasodilatoren und Vasokonstriktoren bei, die endokrinen oder parakrinen Ursprungs sein können:

<b>Vasodilatoren</b>	<b>Vasokonstriktoren</b>
<i>Stickstoffmonoxid (NO)</i>	Angiotensin II
Endotoxine	Endothelin
Glucagon	Eicosanoide
Prostazyklin	Adrenalin / Noradrenalin
Vasoaktives intestinales Peptid (VIP)	Adenosin (renaler A1-Rezeptor)
Adenosin (A2-Rezeptor)	Reaktive Sauerstoffverbindungen (ROS)
Kohlenmonoxid (CO)	

**Tabelle 1:** Vasoaktive Substanzen

#### 1.3.3.1 Vasodilatoren

Die als erstes untersuchte humorale Substanz war Glucagon, dem eine große Rolle als Vasodilatator in der Pathogenese zugesprochen wurde (39). Erhöhte Glucagonspiegel bei Zirrhose sind mehrfach beschrieben und werden mit einem verminderten Abbau in der Leber und einer vermehrten Produktion der alpha-Zellen des Pankreas in Zusammenhang gebracht (40). Trotz kontroverser Diskussion der Ergebnisse (41) ist Glucagon in der Pathogenese der portalen Hypertension etabliert.

Der Einfluss freier Gallensäuren wurde diskutiert (42, 43), ebenso ist ihre vasodilatative Wirkung beschrieben. Bei der Pathogenese jedoch scheinen sie eine vernachlässigbare Rolle zu spielen (44).

Gleichermaßen sind Prostaglandine (maßgeblich Prostacyclin, aber auch Thromboxane (45)) für eine hämodynamische Wirkung bekannt (46) und bei Zirrhose in erhöhten Konzentrationen nachweisbar (47). Eine Blockade der Cyclooxygenase mit Indometacin führt ebenfalls zu einer Verbesserung der hyperdynamen Zirkulation (48) durch die verminderte Bildung von Prostacyclin (49).

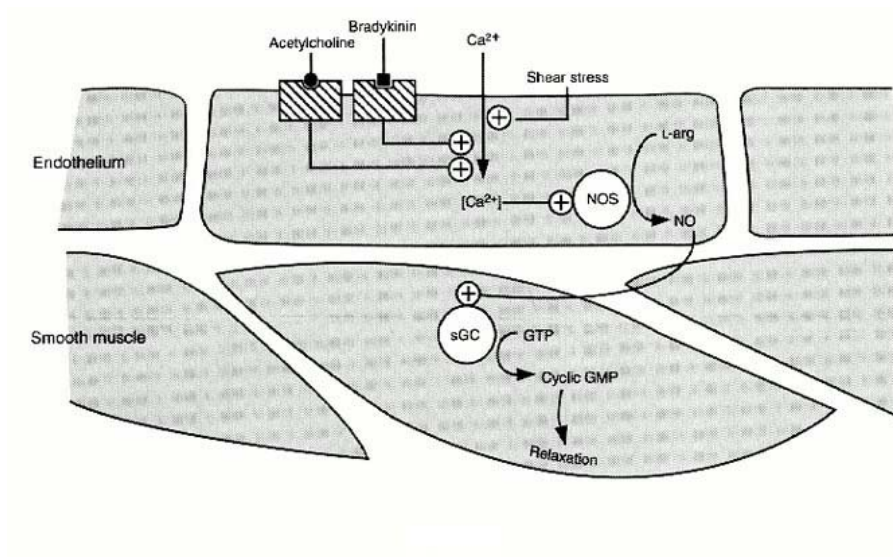
Weiterhin werden freie Endotoxine immer in Zusammenhang mit der systemischen Vasodilatation beschrieben. Vor allem besteht ein Zusammenhang zwischen Endotoxinämie, der Schwere der Lebererkrankung und der Entwicklung von Aszites (50). Endotoxine gelangen bei der Leberzirrhose über eine vermehrte bakterielle Besiedlung mesenterialer Lymphknoten und verminderter Klärfunktion der Leber vermehrt in die systemische Zirkulation (51). Der hämodynamische Effekt selbst lässt sich aber aller Wahrscheinlichkeit nach wiederum auf Stickstoffmonoxid (NO) zurückführen (s.u.) (52).

Zusätzlich ist ein endothel-abhängiger hyperpolarisierender Faktor (endothelium-derived hyperpolarising factor) beschrieben, welcher unabhängig von Cyclooxygenase und NO-Synthase eine glattmuskuläre Relaxation auslösen kann (53). Weitere, weniger untersuchte Faktoren sind in Tabelle 1 aufgeführt.

#### 1.3.3.2 Eine Sonderrolle: Stickstoffmonoxid

Schon 1991 wurde ein Zusammenhang von NO mit der hyperdynamen Zirkulation bei Zirrhose postuliert (54). Wie in den letzten Jahren zunehmend aufgedeckt werden konnte, spielt Stickstoffmonoxid (NO) die womöglich wichtigste Rolle als Vasodilatator in der Aufrechterhaltung des Pfortaderhochdrucks (55).

NO ist als ‚Gas‘ in der Lage, Gefäße zu relaxieren. Aus L-Arginin gebildetes NO aktiviert die Guanylatcyclase, welche wiederum cGMP freisetzt. Dies führt dann zu einer Gefäßrelaxation (s. Abb. 5).

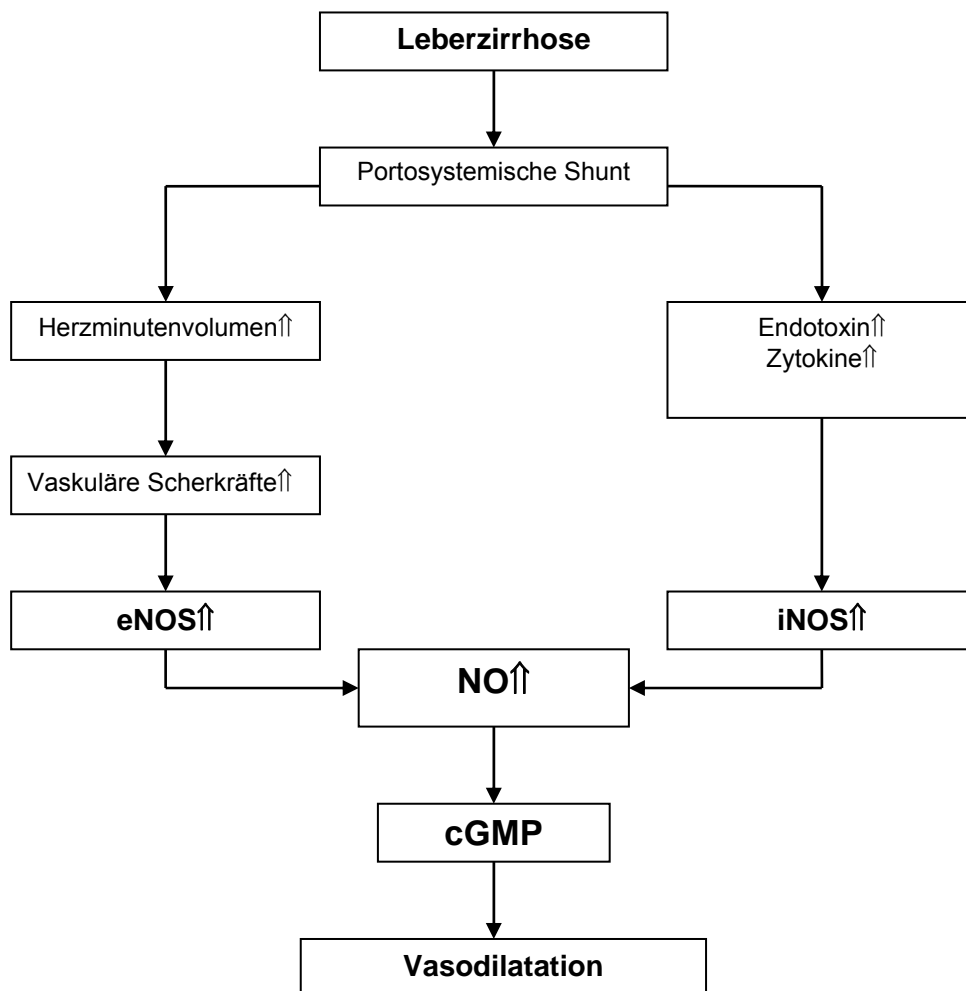


**Abb. 5:** Mechanismus der Gefäßrelaxation durch NO (56)

Lieferant für Stickstoffmonoxid ist die NO-Synthase (NOS), welche in drei Isoformen (endothelial (e), neuronal (n) und induzierbar (i)) im menschlichen Körper vorkommt.

Die für die Pathophysiologie der portalen Hypertension wichtigste ist die endotheliale NO-Synthase (eNOS, NOS-3). Sie kann durch verschiedene Mediatoren (Acetylcholin, Bradykinin, Angiotensin II), aber vor allem durch mechanische Scherkräfte aktiviert werden. In den splanchnischen Gefäßwänden wird NO bei Pfortaderhochdruck hauptsächlich durch die eNOS gebildet (57-59) und ist dabei abhängig von Calcium und Calmodulin (60, 61). Messungen von eNOS mRNA aus Endothelzellen belegen, dass das NO vornehmlich im Splanchnikusgebiet produziert wird, und damit auch die gesamtkörperliche hyperdynamische Situation aufrecht erhält (62).

Recht früh rückte auch die induzierbare NO-Synthase (iNOS, NOS-2) in den Fokus der Untersuchungen, da iNOS durch Endotoxine und Zytokine aktivierbar ist. Diese weisen mit der Schwere der Leberschädigung korrelierende Serumwerte auf, welche über einen Anstieg der Metabolite Nitrat/Nitrit (NO<sub>x</sub>) nachgewiesen werden können (63).



**Abb. 6:** Hypothesen zur vermehrten NO-Bildung bei Leberzirrhose (64)

Trotzdem scheint die Aktivierung der iNOS keinen nennenswerten Einfluss auf die portale Hämodynamik zu haben (65), im Tiermodell wird allein eNOS für die erhöhte NO-Produktion verantwortlich gemacht (58).

Des Weiteren wurde die Rolle von NO für den intrahepatischen Widerstand in der zirrhotischen Leber untersucht. Hierbei stellte sich nicht nur heraus, dass NO den wichtigsten endogenen (endothelialen) Regulator in Balance zu den verschiedenen vasokonstriktiven Mechanismen darstellt (66), sondern auch, dass die NO-Synthese innerhalb der Leber bei Zirrhose in der Tat erniedrigt ist (67). Dabei ist die Translation von eNOS mRNA und Expression der Proteine unverändert (68, 69). Die eNOS-Aktivität wird jedoch durch einen erhöhten Caveolin-Spiegel beeinträchtigt (70). Auch der Versuch, Ratten über einen adenoviralen Vektor mit NO-Synthase (S1179DeNOS) zu transfizieren war zwar erfolgreich (die intrahepatische NO-Synthese konnte bei den Sham-Kontrollen nachweislich verbessert werden), doch bei zirrhotischen Tieren wurde die Aktivität der NO-Synthase wiederum aufgrund der Caveolin-Überexpression supprimiert (71).

Daraus ergibt sich nun ein interessantes Paradoxon über die Verteilung von NO bei portaler Hypertension: Die vaskulären Veränderungen im Leberparenchym, die zur Erhöhung des Durchflusswiderstandes führen, hängen maßgeblich mit einem NO-Mangel am sinusoidalen Endothel zusammen. Auf der anderen Seite ist nachweislich eine deutlich erhöhte Produktion von NO für sowohl für die splanchnische Hyperzirkulation als auch die gesamtkörperliche hyperdynamische Situation verantwortlich (72).

### 1.3.3.3 Vasokonstriktoren und vaskuläre Hypokontraktilität

Der Tonus des splanchnischen Gefäßbetts wird hauptsächlich durch Katecholamine reguliert. Zusätzlich zu Adrenalin und Noradrenalin wirken auch andere Substanzen an den wichtigen Widerstandsgefäßen, z.B. Angiotensin II, Vasopressin oder Endothelin. Die Kontraktion an der glattmuskulären Zelle selbst wird durch G-Protein gekoppelte Rezeptoren vermittelt. Katecholamine können allerdings sowohl vasokonstriktive als auch vasodilatative Wirkung entfalten, was maßgeblich von der Rezeptorverteilung an der Zelloberfläche abhängt. Adrenerge  $\alpha_1$ -Rezeptoren vermitteln eine Vasokonstriktion, die an der Gefäßwand vertretenen  $\beta_2$ -Rezeptoren wirken peripher relaxierend.  $\beta_1$ -Rezeptoren sind vor allem kardial vorhanden,  $\alpha_2$ -Rezeptoren wirken postsynaptisch und im Zentralnervensystem. Die für Angiotensin

II korrelierenden Rezeptoren sind AT<sub>1</sub>- und AT<sub>2</sub>-Rezeptoren. Eine Vasokonstriktion wird über den AT<sub>1</sub>-Rezeptor vermittelt (73).

Die Plasmakatecholamin- (74, 75), Angiotensin- (76), Vasopressin- (77) und Endothelinspiegel (78) sind bei Leberzirrhose erhöht. Auch für einen der potentesten bekannten Vasokonstriktoren, Urotensin II, konnte eine erhöhte Plasmakonzentration bei Zirrhose nachgewiesen werden (79). Trotzdem sind bei der portalen Hypertension die splanchnischen wie peripheren Gefäße dilatiert. Diese persistierende systemische Vasodilatation und der daraus resultierende hyperdynamische Kreislauf lassen also darauf schließen, dass die Vasokonstriktoren nicht in dem Maße gegenregulieren können, wie es zur Aufrechterhaltung einer normalen Zirkulation notwendig wäre.

Versuche an isolierten Gefäßen zeigen ein vermindertes Ansprechen auf Norepinephrin (80), das in der Endstrombahn der Arteriolen lokalisiert ist (81). Auch das Vorliegen porto-systemischer Kollateralen trägt angeblich zur Norepinephrin-Insensitivität bei (82). Weiterhin liegt eine vaskuläre Hyporeaktivität gegenüber Angiotensin II (83) und Vasopressin (84) vor.

Daraufhin wurde Hypothese der vaskulären Hypokontraktilität formuliert (32), da ein vermindertes Ansprechen der Gefäße auf diese vasoaktiven Substanzen vorliegt (85). Ein Großteil der Hypokontraktilität ist wieder auf NO zurückzuführen (86, 37), nur lässt sich die hämodynamische Situation dadurch nicht vollständig erklären, da sich die Hypokontraktilität auch ex vivo in endothelfreien Gefäßen nachweisen lässt, die mit einem Hemmstoff der NO-Synthese (L-Nitro-Arginin-Methylester, L-NAME) inkubiert wurden. Dieser Effekt ließ sich nicht nur im Tiermodell (87), sondern auch für die V. portae sowie für die A. hepatica beim Menschen nachweisen (36). Ein Defekt der kontraktilen Proteine in der glatten Muskulatur konnte nicht nachgewiesen werden (88), was nun einen Defekt auf Rezeptor- oder post-Rezeptor-Ebene vermuten lässt.

Auch wurde postuliert, dass das Vorliegen der dauerhaft erhöhten Plasmaspiegel von Angiotensin II und Noradrenalin zu einer Downregulation der Rezeptoren führen könnte. Bislang wurde im Tiermodell jedoch keine Downregulation beobachtet (89), auch bei Patienten konnte keine Verringerung der vaskulären Dichte von  $\alpha_1$ -, AT<sub>1</sub>-



oder Vasopressin-Rezeptoren gezeigt werden. Diese waren im Gegenteil dazu auf mRNA-Ebene sogar hochreguliert (90).

Insgesamt lässt sich das verminderte Ansprechen der Gefäße auf Vasokonstriktoren bei portaler Hypertension noch nicht hinreichend erklären.

## **1.4 Komplikationen der portalen Hypertension**

Die hämodynamischen Veränderungen des Pfortaderhochdrucks ziehen eine Reihe von verschiedenen, zum Teil letalen Komplikationen nach sich. Die wichtigsten seien hier kurz angesprochen:

### **1.4.1 Varizen(-blutung)**

Die gefährlichste Komplikation der portalen Hypertension stellt immer noch die Ösophagusvarizenblutung dar.

Die Druckerhöhung im portalen Gefäßbett eröffnet ab einer bestimmten Höhe Umgehungskreisläufe. Inzwischen ist bekannt, dass aktive Faktoren der Angiogenese, wie zum Beispiel der vascular endothelial growth factor (VEGF), hierbei eine Rolle spielen (91). Diese Anastomosen sind in der Lage, größere portale Blutvolumina an der Leber vorbei zur Vena cava zu leiten. Trotzdem reicht die Kollateralisierung nicht aus, um den Pfortaderdruck effektiv zu senken. Wenn die portosystemische Druckdifferenz über 12 mmHg steigt, besteht eine deutlich erhöhte Blutungsgefahr (23). Die Inzidenz von Ösophagusvarizen korreliert mit dem Grad der Leberschädigung nach Child/Pugh (92). Während im Stadium Child A noch bei 40% der Patienten Varizen nachweisbar sind, so sind es im Stadium Child C schon 85% (93). Das Risiko einer Varizenblutung liegt bei 25-35% im ersten Jahr nach Diagnosestellung (94). Die recht hohe Mortalität bei Erstmanifestation von 30-50% (95, 96) konnte in den letzten Jahren durch neue Interventionsverfahren auf unter 20% gesenkt werden (97, 98). Die Chance, nach Überleben der Erstblutung eine Rezidivblutung in den folgenden zwei Jahren zu erleiden, beträgt 70% (99).

In einzelnen Fällen sind Kollateralen zwischen Milz und Niere beschrieben, sogenannte splenorenale Shunts, welche durch eine hepatische Enzephalopathie auch symptomatisch werden können (100, 101).

Weitere, klinisch nicht annähernd wichtige porto-cavale Anastomosen eröffnen sich durch Rekanalisierung der fetal angelegten Vena umbilicalis zu den Paraumbilikalvenen der Bauchwand („caput medusae“), und im Bereich der Venenplexus des Rektums als „innere Hämorrhoiden“ zwischen der V. rectalis media und der V. rectalis inferior.

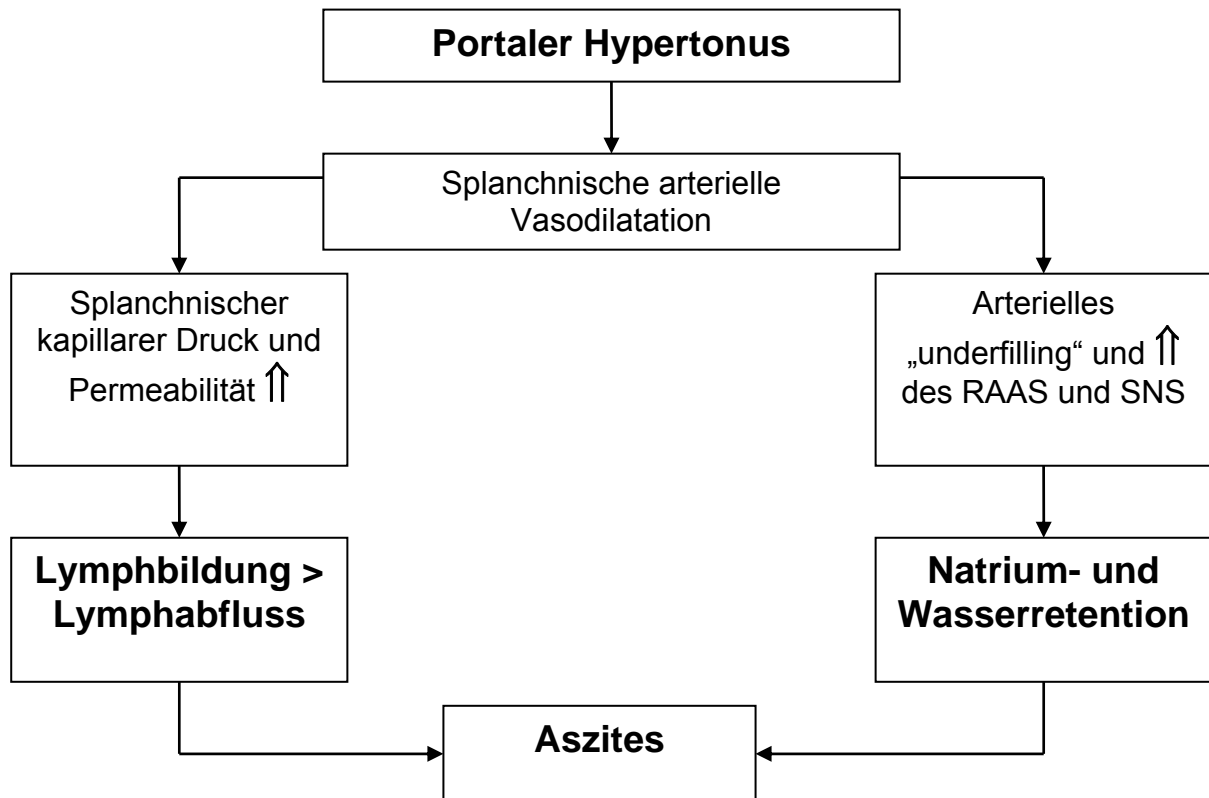
Die klinischen Fakten legen nahe, dass hier eine Vertiefung der grundlagenwissenschaftlichen Zusammenhänge für therapeutische Interventionen, gerade auch im (primär-)prophylaktischen Bereich, sehr sinnvoll ist.

#### 1.4.2 Aszites

Der erhöhte Pfortaderdruck und die daraus resultierende hyperdynamische Zirkulation ziehen auch pathologische Veränderungen auf renaler Ebene nach sich. Hierzu gehört die exzessive Retention von Natrium und Wasser, welche dann in die Bildung von Aszites nach sich zieht.

Die hyperdynamische Zirkulation wird durch ein stark erhöhtes Blutvolumen unterhalten, welches aber effektiv sehr ungleich verteilt ist: Im splanchnischen und im venösen Gefäßbett ist das Blutvolumen gepoolt, während aber das effektive arterielle Blutvolumen (EABV) deutlich verringert ist. Die primär arterielle Vasodilatation mit Abfall des mittleren arteriellen Drucks führt über Abnahme des effektiven Blutvolumens durch die Aktivierung von Barorezeptoren zur Aktivierung vasokonstriktorischer Feedback-Mechanismen (Renin-Angiotensin-Aldosteron-System (RAAS), Sympathikus, Vasopressin) und zur renalen Natrium- und Wasserresorption (102, 103). Durch die splanchnische Vasodilatation ist das gesamte Blutvolumen vermehrt, das effektive arterielle Blutvolumen jedoch weiterhin erniedrigt. Die Aktivierung des Renin-Angiotensin-Aldosteron-Systems, des Sympathikus und des adiuretischen Hormons (ADH) (104) führt letztendlich zur Natrium- und

Wasserretention und zur Bildung von Aszites. Daneben trägt auch der erhöhte Kapillardruck über eine vermehrte Lymphbildung zur Aszitesbildung bei (s. Abb. 7).



**Abb. 7:** Die Aszitesbildung bei portaler Hypertension (38)

Eine wichtige, mit der Aszitesbildung verbundene Komplikation ist die spontane bakterielle Peritonitis (SBP) (105, 106). Die Infektion ist keineswegs exogen oder iatrogen, sondern endogen durch bakterielle Translokation bedingt (107). Hochgradig gefährlich kann die sich daraus entwickelnde Sepsis für den Patienten werden, 30-50% der Gesamtmortalität bei Leberzirrhose ist auf Infektionen zurückzuführen (108).

Auch hieraus ergibt sich die Notwendigkeit für ein besseres pathophysiologisches Verständnis als Grundlage zur Erschließung (primär-)prophylaktischer Maßnahmen in der Behandlung der portalen Hypertension.

### 1.4.3 Hepatorenales Syndrom

Das hepatorenale Syndrom (HRS) bildet die Endstufe in der zirrhotisch bedingten systemischen Kreislaufdysfunktion. Hierbei liegt, unter Ausschluss anderer Ursachen (Schock, Infektion, Sepsis, nephrotoxische Medikamente), ein funktionelles Nierenversagen vor, mit einer stark erniedrigten glomerulären Filtrationsrate (Kreatinin  $>1,5$  mg/dL, Kreatininclearance über 24h  $<40$  mL/min.), Oligurie (Urinvolumen  $<500$  mL/d und Urinosmolarität  $>$  Plasmaosmolarität) und massiver Natriumretention (Natrium i.U.  $<10$  meq/L) (109). Klinisch werden zwei Subtypen unterschieden, das rapid-progressive HRS Typ 1 mit sehr schlechter Prognose (Lebenserwartung: 14 Tage (110)) und das HRS Typ 2, bei welchem sich das funktionelle Nierenversagen nicht so schnell entwickelt (102).

Im sich immer weiter perpetuierenden Circulus vitiosus der hyperdynamen Entgleisung führt die effektive arterielle Hypovolämie und die daraus resultierende Aktivierung der gegenläufigen Systeme (RAAS, SNS, ADH) auf renaler Ebene so weit, dass die Vasokonstriktion nicht mehr kompensiert werden kann. Lokal überwiegen die endogen gebildeten Vasokonstriktoren (Angiotensin II, Adenosin, Norepinephrin, Thromboxan A<sub>2</sub>, Endothelin-1) gegenüber den endogen gebildeten Vasodilatoren (NO, Prostaglandine, natriuretische Peptide) und leiten damit das Nierenversagen ein (109).

### 1.5 **Medikamentöse Therapie der portalen Hypertension**

Die therapeutische Beeinflussbarkeit der portalen Hypertension ist durch das Wissen um die pathophysiologischen Zusammenhänge gut begründet und differenzierbar. Die verschiedenen Strategien umfassen pharmakologische, endoskopische, radiologisch-interventionelle sowie operative Verfahren.

Das primäre Ziel ist die Senkung des Pfortaderdrucks bzw. des hepato-venösen Druckgradienten (HVPG), weil damit das Risiko der Entwicklung *aller* Komplikationen, und damit auch der Mortalität, gesenkt werden kann (111, 112).

Als häufigste und gefährlichste Komplikation gilt der Fokus der Ösophagusvarizenblutung, bei welcher die akute Behandlung von einer Primär- und einer Rezidivprophylaxe unterschieden werden kann. Der Unterschied in der vorbeugenden Strategie liegt vor allem im deutlich erhöhten Blutungsrisiko, wenn eine erste Blutung bereits überlebt wurde.

Bei der Therapie der portalen Hypertension sind verschiedene Medikamente im Einsatz, zum Teil als Mono-, aber auch als Kombinationstherapie. Hauptangriffspunkte sind die Verminderung der splanchnischen Perfusion und die Senkung des intrahepatischen Flusswiderstandes (siehe Tab. 2).

<b>1. Verminderung der splanchnischen Perfusion</b>
- nicht-selektive $\beta$ -Blocker <ul style="list-style-type: none"> <li>o Propanolol, Timolol, Nadolol</li> </ul>
- Vasopressin und Analoga (Terlipressin)
- Somatostatin und Analoga (Octreotid)
<b>2. Senkung des intrahepatischen Flusswiderstandes</b>
- Erhöhung der intrahepatischen NO-Produktion: <ul style="list-style-type: none"> <li>o NO-Donatoren: Nitroglycerin, Isosorbit-5-mononitrat und -dinitrat</li> <li>o lokale Freisetzung von an Ursodeoxycholsäure gekoppelten NO-Donatoren</li> </ul>
- adrenerge Antagonisierung: <ul style="list-style-type: none"> <li>o Prazosin (<math>\alpha_1</math>-Rezeptor-Antagonist), Clonidin (zentraler <math>\alpha_2</math>-Rezeptor-Agonist), Carvedilol (unselektiver <math>\beta</math>-Blocker und <math>\alpha_1</math>-Antagonist)</li> </ul>
- Blockade des Renin-Angiotension-Aldosteron-Systems: <ul style="list-style-type: none"> <li>o Losartan (<math>AT_1</math>-Rezeptor-Antagonist)</li> <li>o Spironolacton (Aldosteron-Antagonist)</li> </ul>
<b>3. Andere pharmakologische Möglichkeiten</b>
- Medikamente mit tonuserhöhendem Effekt auf den unteren Ösophagussphinkter <ul style="list-style-type: none"> <li>o Metoclopramid, Domperidon</li> </ul>
<b>4. Medikamentöse Kombinationstherapie</b>

**Tabelle 2:** Übersicht über medikamentöse Therapiemöglichkeiten der portalen Hypertension

### 1.5.1 Verminderung der splanchnischen Perfusion

Der Goldstandard bei der medikamentösen Sekundärprophylaxe sind nach wie vor unselektive  $\beta$ -Adrenorezeptorantagonisten. Diese senken über Blockade der kardialen  $\beta_1$ -Rezeptoren die Herzauswurfleistung und führen über die Hemmung von splanchnischen  $\beta_2$ -Rezeptoren zu einer ( $\alpha_1$ -Rezeptor vermittelten) splanchnischen

Vasokonstriktion. Beide Effekte zusammen senken den portalen Blutfluss (113, 114). Dies konnte auch im zu unserer Studie analogen Tiermodell gezeigt werden (115). In größeren Studien musste jedoch festgestellt werden, dass es non-responder in der  $\beta$ -Adrenorezeptorantagonisten-Therapie gibt. Etwa ein Drittel aller behandelten Patienten zeigt keine Senkung des portosystemischen Druckgradienten (116-119). Dabei ist leider die Ansprechrate für jeden einzelnen Patienten nicht voraussagbar (120). Der Einsatz von Propanolol wird zusätzlich durch häufig vorhandene Kontraindikationen (z.B. Bronchialasthma) eingeschränkt.

Als Therapeutikum bei der akuten Varizenblutung bieten sich Vasopressin bzw. Vasopressinanaloga wie Terlipressin zur Drucksenkung an. Vasopressin senkt den Pfortaderdruck durch eine allgemeine Senkung der Durchblutung der splanchnischen Organe (121). Problem ist die systemische (Neben-) Wirkung, welche über die generelle Vasokonstriktion und Senkung der Herzfrequenz, des Herzminutenvolumen und der Koronardurchblutung Ischämien induzieren können, die bei bis zu 25% der Patienten zu einem Abbruch der Therapie führen (122). Bei der Verwendung von Terlipressin treten solche Nebenwirkungen seltener auf, auch eine Kombination mit NO-Donatoren hat hier einen positiven Einfluss (123).

Auch Somatostatin (SST) wird schon seit längerer Zeit zur Therapie der Ösophagusvarizenblutung eingesetzt (124), hauptsächlich unter der Annahme, dass SST den Pfortaderdruck durch eine Hemmung der Ausschüttung von Glucagon senkt (125). Problem in der Anwendung ist, dass der Druck zwar im Bolus (250 $\mu$ g) signifikant gesenkt wird (-52% PP), die Dauerinfusion aber nur milde Einflüsse hat (-6% HVPG) (126) und außerdem die Halbwertszeit mit ca. 1-3 Minuten sehr gering ist (127). Die Einsatzmöglichkeiten sind damit auf die Therapie der akuten Blutung beschränkt. Später sind stabile Analoga wie Octreotide, Lanreotide und Vapreotide mit günstigeren Halbwertszeiten und Applikationsmöglichkeiten entwickelt worden (128). Octreotide hat sich zur Zeit in der Therapie der akuten Varizenblutung durchgesetzt, wobei hier einige Studien schlechte Ergebnisse aufwiesen (125).

### 1.5.2 Senkung des intrahepatischen Flusswiderstandes:

Der seit neuestem auch bewiesene relative NO-Mangel im Gefäßbett der Leber (72) rechtfertigt den schon seit langem durchgeführten Einsatz von Nitraten und anderen NO-Donatoren.

Diese Vasodilatoren wirken über eine Reihe von unterschiedlichen Mechanismen: Sie senken den intrahepatischen und den kollateralen Widerstand, verringern den den splanchnischen Einstrom und führen zu einer Barorezeptor vermittelten, reflektorischen, arteriellen, splanchnischen Vasokonstriktion (129, 130). Auch für die Langzeitbehandlung können Nitrate sinnvoll eingesetzt werden (131), allerdings sind sie nicht in der Lage, die Überlebensrate zu verbessern (132).

Bei Patienten mit schwerwiegenden Leberschäden kann eine höhere Dosierung an systemischen Vasodilatoren die Entwicklung eines Hepatorenalen Syndroms fördern (s. Abschnitt 1.4.3.) (133).

Weiterhin empfiehlt sich eine Kombinationstherapie mit unselektiven  $\beta$ -Adrenorezeptorantagonisten, um eine effektivere Senkung des hepatisch-venösen Druckgradienten zu erreichen (134).

Eine neuere, durchaus kontrovers diskutierte Methode (135) ist die gezielte hepatische Applikation von NO über an die Kopplung an Ursodesoxycholsäure (UDCA) (136, 42). Diese hat sich klinisch bislang nicht durchgesetzt.

Auch über einen Eingriff in das adrenerge System kann der intrahepatische Flusswiderstand gesenkt werden. Hierbei sind sowohl periphere (Prazosin) als auch zentrale (Clonidin)  $\alpha$ -Rezeptorantagonisten im Einsatz.

Trotz eines gesteigerten hepatischen Blutflusses senkt Prazosin den hepatisch-venösen Druckgradienten (HVPG), was auf eine Verringerung des intrahepatischen Widerstandes zurückgeführt werden kann (137). Das Nebenwirkungsprofil ähnelt dem der Nitrate. Zusätzlich wird jedoch die Natrium- und Wasserretention gefördert (138), was zur Bildung von Aszites führen kann.

Schon früh wurde ein Zusammenhang zwischen der zentral adrenergen Kontrolle und der portalen Hypertension festgestellt (139). Eine  $\alpha_2$ -Adrenorezeptor-Blockade mit Clonidin kann den Pfortaderdruck senken (140), wobei hier ein Vorteil bezüglich



der renalen Verträglichkeit besteht (141). Diese Therapie hat sich allerdings wegen möglicher hypotensiver Nebenwirkungen nicht durchgesetzt.

Eine interessante therapeutische Alternative bietet noch Carvedilol, welches über seine unselektiv  $\beta$ -Adrenorezeptor blockierende und zusätzlich  $\alpha_1$ -Adrenorezeptor blockierende Wirkung bessere Effekte in der Senkung des hepatischen Flusswiderstandes erzielen kann (142).

Jede Therapie hat ihre Grenzen, so auch die medikamentöse Prophylaxe der portalen Hypertension. Es bleibt das Problem, dass die hohen Nebenwirkungsraten im Rahmen einer prophylaktischen Langzeitanwendung gerade bei medikamentösen Kombinations-, oder hochdosierten Monotherapien erhebliche Complianceprobleme verursachen.

Diese Umstände bedingen, dass auf dem Gebiet der portalen Hypertension noch dringender Bedarf an neuen, verbesserten Therapien besteht.

## **1.6 Angiotensin und portale Hypertension**

Erste Versuche ließen einen Zusammenhang zwischen Angiotensin und der veränderten hämodynamischen Situation bei Leberzirrhose vermuten, denn eine direkte Infusion von Angiotensin II erhöht den Pfortaderdruck (143). Weiterhin ist der Plasmaspiegel von Angiotensin II bei portaler Hypertension erhöht (76), wie auch der von fast allen anderen vasoaktiven Substanzen. Angiotensin II erhöht den intrahepatischen Widerstand direkt über Kontraktion der hepatischen Sternzellen (144). Die Kontraktilität des splanchnischen Gefäßbettes auf Angiotensin II ist bei Leberzirrhose dagegen deutlich vermindert (145). Die Ursache der vaskulären Hypokontraktilität nach Stimulation mit Angiotensin II ist, wie oben beschrieben, nicht letztendlich geklärt. Neben einer vermehrten endothelialen NO-Produktion und der Produktion weiterer Vasodilatoren wird ein Defekt der post-Rezeptor Signalkaskade nach Stimulation des Angiotensinrezeptors vermutet (146, 35).

## 1.7 Angiotensinrezeptoren und hämodynamische Wirkung von Angiotensin II

Angiotensin wirkt physiologisch als Teil des hormonalen Renin-Angiotensin-Aldosteron Systems (RAAS). Die in der Leber gebildete Vorstufe Angiotensinogen wird durch das Nierenhormon Renin in das Dekapeptid Angiotensin I überführt. Das endotheliale angiotensin-converting-enzyme (ACE) wandelt Angiotensin I durch Abspaltung zweier Aminosäuren in die potentere Wirkform Angiotensin II um. Zum systemischen RAAS gibt es in vielen Organen zusätzlich ein lokales Renin-Angiotensin-System, welches alle notwendigen Komponenten zur Synthese von Angiotensin II enthält (73).

Angiotensin II wirkt hämodynamisch direkt an der glatten Muskulatur der Gefäßwände, sowie indirekt an den adrenergen Varikositäten der terminalen sympathischen Nervenfasern und auch im Zentralnervensystem. Der Effekt ist eine starke Vasokonstriktion, Angriffspunkt an der Gefäßmuskulatur sind  $AT_1$ - und  $AT_2$ -Rezeptoren.

Die Signaltransduktionskaskade am  $AT_1$ -Rezeptor läuft über Kopplung an die heterotrimeren Proteine der  $G_{q/11}$ - oder  $G_{12/13}$ -Familie, welche GDP gegen GTP an der  $G_\alpha$ -Untereinheit des G-Proteins austauschen (147). Die GTP-gebundene aktivierte  $\alpha$ -Untereinheit und das  $\beta\gamma$ -Dimer dissoziieren vom Rezeptor, die  $\alpha$ -Untereinheit setzt einen Calcium-abhängigen (Phospholipase C (PLC)/ Inositoltriphosphat ( $IP_3$ )) und einen Calcium-unabhängigen (RhoA/Rho-Kinase) Signalweg in Gang. Sowohl die PLC/ $IP_3$  als auch die RhoA/Rho-Kinase-Kaskade führen zu einer erhöhten Myosin-light-chain(MLC)-Phosphorylierung, welche dann die glattmuskuläre Kontraktion einleitet (148).

Am  $AT_2$ -Rezeptor wirkt Angiotensin II vasodilatatorisch (149). An der glatten Muskulatur der Gefäße ist allerdings mehr  $AT_1$ -Rezeptor exprimiert (150, 151).

Neben der renalen und vaskulären Expression sind  $AT_1$ -Rezeptoren auch in hepatischen Sternzellen exprimiert (152). Hier kann Angiotensin II durch Kontraktion zu einer Erhöhung des hepatischen Durchflusswiderstandes führen (153) und über bislang nicht geklärte Mechanismen auch antifibrotisch wirken (154).

Weiterhin gibt es Interaktionen zwischen Angiotensin II und der vaskulären NO-Produktion (155). So können AT<sub>1</sub>-Rezeptorantagonisten in vitro über eine Blockade der endothelialen AT<sub>1</sub>-Rezeptoren zur Hemmung der endothelialen eNOS führen (156).

### **1.8 Bisherige Ergebnisse zur Wirkung von AT<sub>1</sub>-Antagonisten bei Pfortaderhochdruck**

Erste Therapieversuche der portalen Hypertension durch die Blockade von Angiotensin II reichen zurück bis in die 70er Jahre, ohne dass damals die Entitäten der verschiedenen Rezeptoren bekannt gewesen sein konnten. Schroeder et al. infundierten erstmals 1-Sar-8-ala angiotensin II (Saralasin) an fünf Patienten mit Leberzirrhose und Aszites (157) und dokumentierten einen Abfall des Blutdrucks und der Plasmaaldosteronkonzentration, und einen Anstieg der Plasmareninaktivität und der Plasmareninkonzentration. Durch diese Untersuchung wurde die wichtige Rolle von Angiotensin II für die Aufrechterhaltung des arteriellen Blutdrucks bei Patienten mit Leberzirrhose postuliert. Arroyo et al. postulierten aufgrund weiterer Untersuchungen mit Saralasin eine Senkung des postsinusoidalen hepatischen Widerstandes durch die Blockade von Angiotensin II (158).

1991 wurde die Substanz DuP 753 als Angiotensin II Rezeptorantagonist erstmals beim Menschen als blutdrucksenkendes Medikament beschrieben (159). Daraufhin hielten die AT<sub>1</sub>-Rezeptor-Antagonisten Einzug in die antihypertensive Therapie (160). Nach der Entdeckung der pathophysiologischen Zusammenhänge zwischen Angiotensin II und dem Pfortaderhochdruck (siehe oben) lag auch eine Indikation für Losartan als Therapeutikum für die portale Hypertension nahe.

Die ersten Ergebnisse waren vielversprechend: Schneider et al. beschreiben nach einwöchiger Therapie mit 25 mg Losartan pro Tag eine Senkung des hepatischen venösen Druckgradienten (HVPG) um 45% bei einer Ansprechrate von 98% (161). Diese Studie wurde wegen ihres offenen Designs und anderer Aspekte kritisiert

(162). Auch mussten mehrere klinische Studien (Schipke et al. (163), Gonzales-Abraldes et al. (164), Debernardi-Venon et al. (165), De et al. (166), Castano et al. (167)) die anfängliche Euphorie recht schnell dämpfen, da Sartane nicht in allen Studien eine signifikante Verbesserung in Beziehung auf Senkung des hepatischen Druckgradienten zeigen konnten. Vielmehr kam es in einigen Studien zu Nebenwirkungen im Sinne einer symptomatischen arteriellen Hypotonie und konsekutivem prärenalem Nierenversagen. Im Tiermodell sind weiterhin noch interessante Ergebnisse bezüglich der antifibrotischen Wirkung durch die AT<sub>1</sub>-Rezeptorblockade beschrieben (168).

Offen bleibt trotzdem eine genaue Klärung des Wirkungs- (oder Nicht-Wirkungs-) Mechanismus für die Drucksenkung bei portaler Hypertension. Es ist möglich, dass Sartane über eine Senkung des arteriellen Blutdrucks, über eine Senkung des intrahepatischen Widerstandes oder über eine Steigerung des splanchnischen Durchblutungswiderstandes zur Senkung des Pfortaderdrucks führen.

## **1.9 Fragestellung**

Aus dem oben dargestellten ergeben sich folgende Fragestellungen für diese Studie zur Erörterung im Tiermodell:

1. Senkt Losartan den Pfortaderdruck der Ratte?
2. Wenn ja, senkt Losartan den Pfortaderdruck über die Senkung des intrahepatischen Widerstandes oder über die Reduktion der splanchnischen Perfusion?
3. Welche systemischen hämodynamischen Nebenwirkungen treten auf?
4. Gibt es dosisabhängige Effekte?

## **2 MATERIAL UND METHODEN**

### **2.1 Versuchstiere**

Fünfundvierzig männliche Sprague-Dawley Ratten wurden für die Versuche verwendet. Die Tierexperimente wurden von dem lokalen Komitee für Tierstudien der Bezirksregierung Köln genehmigt (23.203.2Bn 22,7/99).

Bei fünfunddreißig Tieren wurde unter Narkose eine Gallengangsligatur und -dissektion durchgeführt. Hierbei entwickelt sich nach fünf Wochen eine sekundär-biliäre Zirrhose (169). Das Tiermodell der Gallengangsligatur ist gut etabliert in pharmakologischen und hämodynamischen Untersuchung der Zirrhose und der portalen Hypertension (27, 170, 171), auch für die Wirkung des AT<sub>1</sub>-Rezeptorantagonisten Losartan (172, 173). Schein- (Sham-) operierte Tiere dienten als Kontrollen.

### **2.2 Gruppen**

Zur Untersuchung der Dosisabhängigkeit werden neben der Sham- und der Zirrhose-Kontrolle drei Untergruppen mit verschiedenen Dosen Losartan (L-158086-005HO72, Merck Research Laboratories, Rahway N.J. USA) behandelt. Die applizierten Boli enthalten 3mg, 10mg und 30mg Losartan pro kg Körpergewicht (KG). Somit entstehen fünf Untergruppen. Die Dosis von 10 mg bzw. 30 mg entsprechen den Literaturangaben zum Einsatz von Losartan mit dem Ziel der Blutdrucksenkung bei Ratten mit arteriellem Hypertonus (174, 175). Die niedrigere Dosis wurde mit dem Ziel der Testung der dosisabhängigen Wirkung von Losartan bei portaler Hypertension gewählt.

### **2.3 Voroperation**

Die Versuchstiere wurden mit 60 mg/kg Körpergewicht Ketamin (Ketanest®, S-Ketamin Hydrochlorid 25mg/ml, Parke-Davis GmbH, Pfizer GmbH, Karlsruhe)

intramuskulär anästhesiert. Eine lokale Betäubung der Haut erfolgte mit Lidocain (Xylocain® 2%, Lidocainhydrochlorid 1 H<sub>2</sub>O, AstraZeneca GmbH, Wedel). Das Abdomen wurde durch eine mediane Laparotomie eröffnet und der Ductus choledochus präpariert. Der Ductus wurde möglichst weit proximal doppelt ligiert und zwischen den Ligaturen durchtrennt. Nach der Dissektion wurde das Abdomen mit resorbierbaren Acryl-Fäden (Suturamid® Schwarz 3/0 oder Vicryl® 3/0, Johnson+Johnson Brüssel, Belgien; Ethicon GmbH Norderstedt, Deutschland) mit zwei Nähten, einer Muskel- und einer Hautnaht, wieder verschlossen.

Nach Gallengangligatur entwickelten die Tiere nicht nur eine Cholestase, sondern auch eine Zirrhose. Es ist nachgewiesen, dass die Cholestase kaum (43) oder keine Effekte (44) auf die Hämodynamik hat. Die Versuchstiere wurden anhand äußerer Merkmale auf eine Zirrhose untersucht, Pigmenteinlagerungen in der Haut der Ohrmuschel und den Skleren und Aszites konnten beobachtet werden.

Zehn sham-operierte Tiere wurden zur Kontrolle herangezogen. Die Sham-Operation erfolgt nach demselben Prinzip, nach der Präparation des Ductus choledochus unterblieben die Ligatur und die Dissektion.

## **2.4 Versuchsdurchführung**

Die hämodynamischen Messungen erfolgten in zwei Schritten: Die in vivo Messung von Herzfrequenz und Blutdruck und die ex post Bestimmung der regionären Durchblutung und des Shuntvolumens über die Farbmikrosphären-Methode (176). Herzauswurfleistung, systemischer Widerstand, regionäre Organdurchblutung und Widerstände konnten daraufhin berechnet werden.

### **2.4.1 Vorbereitung**

Die Durchführung des Versuches erfolgte 28 (±2) Tage nach der Voroperation. Diese Zeit ist notwendig zum Entstehen einer Zirrhose. Auch die hämodynamischen Untersuchungen wurden unter Ketamin-Narkose (Ketanest®) durchgeführt. Es konnte gezeigt werden, dass diese Bedingungen dem wachen Zustand in puncto Herzauswurfleistung und regionären Blutfluß am nächsten ist (177). Dieser

Versuchsaufbau wurde bereits mehrfach für hämodynamische Studien zur medikamentösen Behandlung der portalen Hypertension verwendet (178, 171). Die Messung des Herzminutenvolumens und der regionären Durchblutung erfolgte mit Farbmikrosphären (176). Diese Methode ist durch die häufiger angewandte Methode mit radioaktiven Mikrosphären validiert (177) und bietet den Vorteil, ohne radioaktives Material auszukommen. Die Messung des Shuntvolumens wurde durch die portale Injektion von Farbmikrosphären bestimmt (179, 180).

Die Vorbereitung schloß die Eichung aller Geräte ein, der Druckmessungsvorrichtung, des Schreibers und des Oszilloskops zur pulskurvengesteuerten Herzkatheteranlage. Der Nullpunkt für die Druckmessungen wurde auf 1 cm über dem Operationstisch festgesetzt. Zuletzt wurde das Versuchstier gewogen.

Eine generelle Antikoagulation wurde bei den zirrhotischen Tieren vermieden, da dies die Blutungsgefahr stark erhöhen würde. Lediglich die Katheterlumina werden vor Anlage mit Heparin (Liquemin® N 25000, Heparin-Natrium, Hoffmann-La Roche AG, Grenzach-Wyhlen) benetzt.

#### 2.4.2 Platzierung der Katheter

Zur Messung des arteriellen, des zentralvenösen und des portalen Blutdrucks, zur Applikation des Medikamentes bzw. des medikamentösen Lösungsmittels (isotone NaCl-Lösung) wurden drei PE-50-Katheter (Polyethylen 0,28x0,61, Everhardts, Meckenheim, Deutschland) in der Aorta, der Vena cava inferior und der Vena portae platziert. Ein vierter Katheter, der über die rechte Arteria carotis interna in den linken Ventrikel des Herzens vorgeschoben wurde, war notwendig für die Injektion der Farbmikrosphären.

Nach Anästhesie mit 60mg/kg Körpergewicht Ketamin (Ketanest®) wurde in Fixation das Abdomen eröffnet. Die Lokalanästhesie erfolgt mit Lidocain (Xylocain® 2%). Der median-sagittale Schnitt wurde unter Schonung der in vielen Fällen sichtbar erweiterten venösen Kollateralgefäße an der inneren Bauchwand geführt. Eine

Schlinge des distalen Ileums, ca. 2 cm präcaecal, wurde herausgenommen und für die Insertion des ersten Katheters zur Druckmessung vorbereitet.

In eine Gefäßgabelung der ileocaecalen venösen Arkaden wurde der schräg angeschnittene PE-50-Katheter eingeführt und unter Sicht bis in die Vena portae vorgeschoben. Die Fixation des Katheters erfolgte mit zwei Baumwollfäden. Der Darmabschnitt wurde vorsichtig reponiert und das Abdomen mit zwei Nähten (Vicryl 3/0®) geschlossen.

Die Anlage der beiden Femoralis-Katheter erfolgte nach subinguinaler Öffnung in der Leiste. Der arterielle Katheter wurde retrograd in die Aorta positioniert, der venöse in die Vena cava inferior. Die Fixierung erfolgte auch hier mit je zwei Baumwollfäden.

Für den Herzkatheter wurde ein paramedian-sagittaler Schnitt am Hals geführt, von welchem aus in die Tiefe zur Arteria carotis communis präpariert wurde. Der Katheter wurde retrograd bis in den linken Ventrikel vorgeführt, die Lagekontrolle erfolgte über die Darstellung der Pulskurve mit einem Oszilloskop (CM 112 Oszilloskop, Phillips).

#### 2.4.3 Hämodynamisches Monitoring

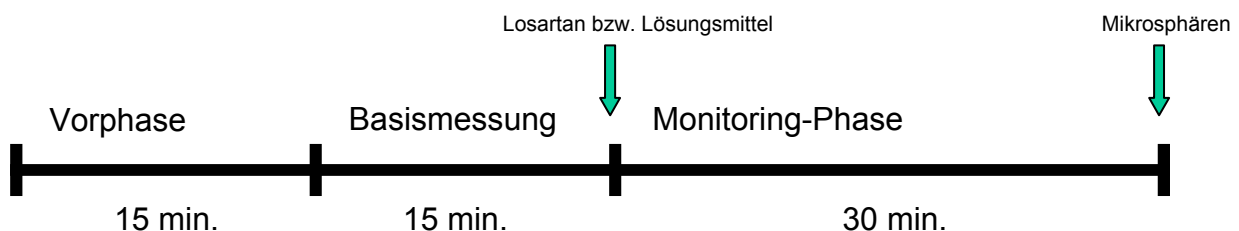
Nach Schließung der Wunde durch eine Naht wurden die Femoralis-Katheter und der Pfortader-Katheter an die Druckmessung (ISOTEC Pressure Transducer, Hugo Sachs Electronics, March-Hugstetten, Deutschland) angeschlossen. Zum Ablesen der hämodynamischen Daten wurden die Druckmessungsmodule an einen Verstärker mit digitaler Anzeige angeschlossen (PLUGSYS Transducer Amplifier Module TAM-D Typ 705/2 Digital, Hugo Sachs Electronics, March-Hugstetten, Deutschland).

Die Messung der Herzfrequenz erfolgte über EKG-Ableitung und über den Druckmessungskatheter (PLUGSYS Heart Rate Module HRM Typ 669, Hugo Sachs Electronics, March-Hugstetten, Deutschland). Der Signalverstärker war an einen Schreiber (Multi-Pen-Recorder R61, Rikadenki Electronics GmbH, Freiburg, Deutschland) angeschlossen, welcher die kontinuierliche Dokumentation von Herzfrequenz (HR), mittlerem arteriellen Druck (MAP), zentralvenösem Druck (CVP) und Pfortaderdruck (PP) ermöglichte.



Die dem Versuch entsprechende Dosis Losartan (3mg/kg KG; 10mg/kg KG; 30mg/kg KG) wurde in 0,5ml 0,9%iger NaCl-Lösung aufgelöst. Als Kontrolle diente ein äquivalentes Volumen (0,5 ml) an Lösungsmittel.

Nach 15-minütiger Erholungsphase zur hämodynamischen Stabilisierung erfolgte eine Monitoring-Phase von weiteren 15 Minuten. Danach wurde der Wirkstoff bzw. das Placebo injiziert und die Veränderungen am Kreislauf über 30 Minuten lang aufgezeichnet.



**Abb. 8:** Zeitlicher Versuchsablauf

#### 2.4.4 Messung der Herzauswurfleistung und des regionären Blutflusses durch Farbmikrosphären

Zur Bestimmung der regionären bzw. organbezogenen Durchblutung erfolgte die intrakardiale und intraportale Injektion der Farb-Mikrosphären (Dye-Trak®, 15 µm Durchmesser, Triton Technology, San Diego CA, USA). Eine Anzahl von jeweils ca. 300.000 Mikrosphären in zwei verschiedenen Farben (gelb, blau) wurde in je einem Volumen von 1ml 2%iger Tween-Lösung bereitgestellt.

Nach Ende der Monitoring-Phase wurde in einem Zeitfenster von 60 Sekunden ein definiertes Blutvolumen (0,65 ml) aus der A. femoralis mit Hilfe einer Pumpe (Pump 22, Hugo Sachs Electronics, March-Hugstetten, Deutschland) entnommen. Diese Probe diente als Referenz für die Berechnung der Organdurchblutungen, da bei dieser Probe die „Durchblutung“ bekannt ist (0,65ml/min.). Die erste Farbe Mikrosphären wurde über 20 Sekunden von Sekunde 10 bis 30 innerhalb des

einminütigen Zeitfensters in den linken Ventrikel injiziert. Abschließend wurde die zweite Farbe Mikrosphären über 20 Sekunden injiziert. Dies dient der Bestimmung des portosystemischen Shuntvolumens.

Nach jedem Versuch wurde die Konzentration der Mikrosphären kontrolliert, in dem aus dem Behälter 0,05ml entnommen wurden. Dieses Volumen sollte durch die Messung der Absorbtion ca. 150.000 Mikrosphären zählen.

Nach Injektion der Mikrosphären wurde der Exitus herbeigeführt. Leber, Lungen, Magen, Darm, Nieren und Milz wurden entnommen, Magen und Darm von seinem Inhalt gereinigt. Alle Organe wurden auf einer Feinwaage (Kern 770 Analysenwaage, Kern & Sohn GmbH, Balingen-Frommern, Deutschland) gewogen.

#### 2.4.5 Verarbeitung der Proben

Um die Mikrosphären aus den Organen zu lösen, wurde eine Lösung aus 4-molarer Kaliumlauge (KOH) (Sigma Saint Louis, Missouri, USA) mit 2% Tween 80 (Polyoxyethylene-sorbitan-mono-oleate, Sigma Saint Louis, Missouri, USA) angesetzt. Um eine komplette Auflösung zu garantieren hat sich eine Konzentration von 14 ml/g Organgewicht als vernünftig erwiesen. Von den Organen wurden 0,5 g-Proben in 7,5 ml-Glasröhrchen abgefüllt und mit KOH aufgefüllt. Der Darm und die Leber wurden in Erlenmeyer-Kolben in toto verdaut, die Lösungsmenge errechnet sich wie oben (14 ml Lösung/g Organgewicht). Vier Stunden im Wasserbad bei 72°C bringen die Organe zur vollständigen Auflösung.

Die Blutprobe wird mit einer höher konzentrierten Lösung aus 3,8 ml 5,26molarer KOH und 0,5 ml 20%iger Tween80-Lösung verdaut.

Die in Lösung befindlichen Mikrosphären wurden zur Weiterverarbeitung getrennt, in dem sie auf einen Mikrofilter (Whatman Nucleopore filters, Whatman International Limited, Madison, UK) übertragen wurden. Nach Trocknung wurde mit Hilfe des Lösungsmittels Dimethylformamid (N,N-Dimethylformamid, Merck KG.A, Darmstadt, Deutschland) die Kunststoffhülle der Mikrosphären aufgelöst und der Farbstoff freigesetzt. Nach fünfminütiger Zentrifugation bei 3000 G hatten sich die Kunststoffhüllen abgesetzt und der in Lösung befindliche Farbstoff konnte gemessen

werden. Da eine Mikrosphäre eine geeichte Menge an Farbstoff enthält, ist die Anzahl der Mikrosphären direkt proportional zur Menge (und Absorbtion) des Farbstoffs.

#### 2.4.6 Absorbtionsmessung

Die Absorbtion des Farbstoffs ist direkt linear abhängig von der in Lösung befindlichen Farbstoffmenge. Die Absorbtion wird mit Hilfe eines Photometers (Photometer HP 8453 X UV-Visible System) computergestützt gemessen. Die Absorbtionsspektren sind spezifisch für die fünf bestellbaren Farben (Dye-Trak®, Triton Technology, San Diego CA, USA). Die für die jeweilige Charge spezifischen Absorbtionsprofile wurden von der Firma gestellt.

### 2.5 **Auswertung**

Die von Triton Technology mitgelieferte Software berechnet anhand der Absorbtionsspektren die Anzahl der Mikrosphären pro Organ, die Organdurchblutung pro Minute und die Herauswurfleistung in ml/min. Der Herzindex wird auf 100g KG bezogen.

Das Shuntvolumen (PSS) berechnet sich aus der folgenden Gleichung:  $PSS = \text{Anzahl der Mikrosphären in der Lunge} \times 100 / (\text{Anzahl der Mikrosphären in Lunge} + \text{Leber})$ .

Der portalvenöse Einstrom (PVI) wird aus der Summe der Durchblutungen aus Magen, Milz, Darm und Pankreas errechnet.

Der Blutfluss durch die Kollateralen wird nach der Formel  $PVI \times PSS / 100$  berechnet.

Die organbezogenen Gefäßwiderstände werden als Quotient aus Perfusionsdruck und Blutfluss der entsprechenden Gefäßregion angegeben.

Der systemische Gefäßwiderstand (SR, systemic resistance) wird als Quotient aus mittlerem arteriellen Druck und Herzindex (CO, cardiac output) ( $MAP / CO = SR$ ), der portalvenöse Widerstand (PVIR, portal venous inflow resistance) als Quotient aus Pfortaderdruck und portalvenösem Einfluss ( $PP / PVI = PVIR$ ) errechnet.

Der splanchnische Perfusionsdruck (SPP, splanchnic perfusion pressure) ergibt sich aus dem mittleren arteriellen Druck abzüglich des Pfortaderdrucks ( $MAP - PP = SPP$ ).

Die statistische Analyse gibt die Messdaten als Mittelwerte mit Standardfehler des Mittelwerts (SEM) aus. Vergleiche zwischen allen Gruppen wurde mit nicht-parametrischen Kruskal-Wallis Tests, Vergleiche zwischen zwei Gruppen mit Mann-Whitney Tests vorgenommen. Ein p-Wert kleiner 0.05 wird als Signifikanzniveau gesetzt.

## **2.6 Bestimmung der Serum-Transaminasen**

Zur Bestimmung der Leberenzyme sind Blutproben der Versuchstiere an das Zentrallabor geschickt worden. Die Enzymaktivität wurde nach Standardmethoden bestimmt.

### 3 ERGEBNISSE

#### 3.1 Allgemeine Daten

	Sham (Placebo) (n = 10)	Zirrhose (Placebo) (n = 9)	Zirrhose (Losartan 3 mg/kg) (n = 8)	Zirrhose (Losartan 10 mg/kg) (n = 9)	Zirrhose (Losartan 30 mg/kg) (n = 9)	<i>p</i> (Kruskal Wallis)
Körpergewicht (g)	369 ± 21	358 ± 9	376 ± 8	373 ± 20	372 ± 17	n.s.
Lebergewicht (g)	14.2 ± 0.9	24.1 ± 1.8 <sup>a</sup>	26.7 ± 1.1 <sup>a</sup>	29.5 ± 2.3 <sup>a</sup>	25.4 ± 1.7 <sup>a</sup>	< 0.01
Milzgewicht (g)	0.9 ± 0.1	2.1 ± 0.2 <sup>a</sup>	2.2 ± 0.2 <sup>a</sup>	2.6 ± 0.2 <sup>a</sup>	2.4 ± 0.2 <sup>a</sup>	< 0.01

**Tabelle 3:** Körpergewicht, Organgewicht von Leber und Milz. <sup>a</sup>  $p < 0.05$  vs. Sham. Vergleiche zwischen allen Gruppen wurden anhand Kruskal-Wallis Tests durchgeführt. Vergleiche zwischen zwei Gruppen wurden mit Mann-Whitney Tests durchgeführt.

Das Körpergewicht war in allen Gruppen nicht signifikant unterschiedlich. Erwartungsgemäß war das Gewicht von Leber und Milz bei Tieren mit sekundär biliärer Zirrhose signifikant höher als bei sham-operierten Tieren (s. Tab. 3).

Unterschiede zwischen den einzelnen Zirrhose-Gruppen wurden nicht beobachtet.

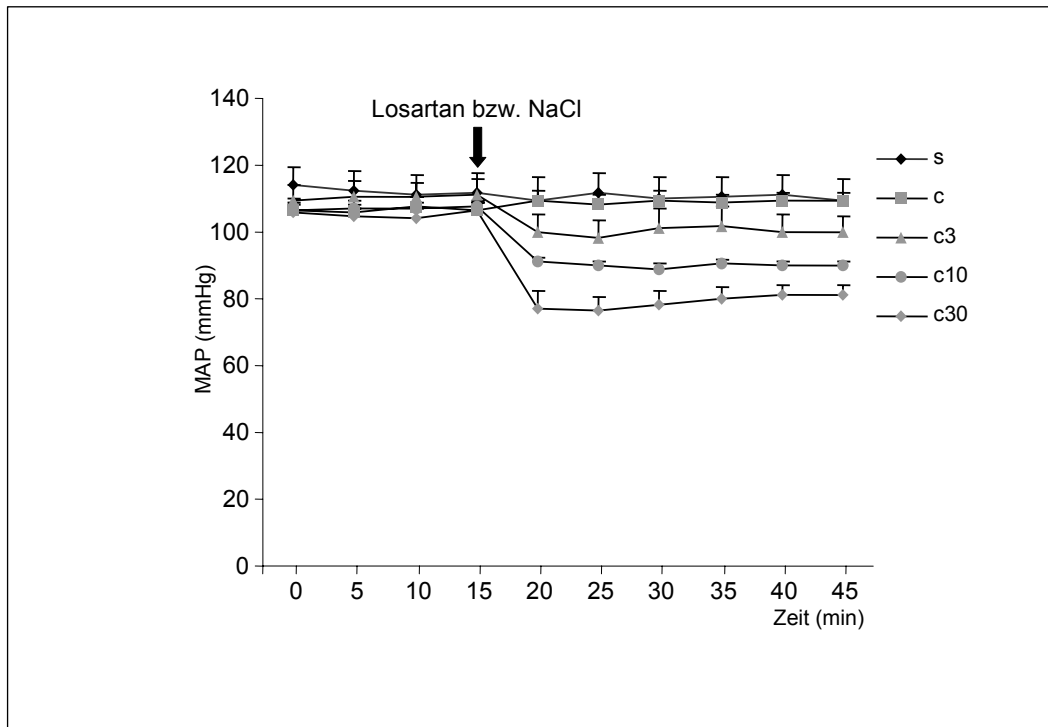
### 3.2 Leberenzyme

	ALAT (U/l)	AP (U/l)	Bilirubin ( $\mu\text{mol/l}$ )
Sham (n = 10)	55 $\pm$ 4	131 $\pm$ 11	1.16 $\pm$ 0.3
Zirrhose (n = 9)	174 $\pm$ 23	326 $\pm$ 15	142.6 $\pm$ 28.4
p	$p < 0.01$	$p < 0.01$	$p < 0.01$

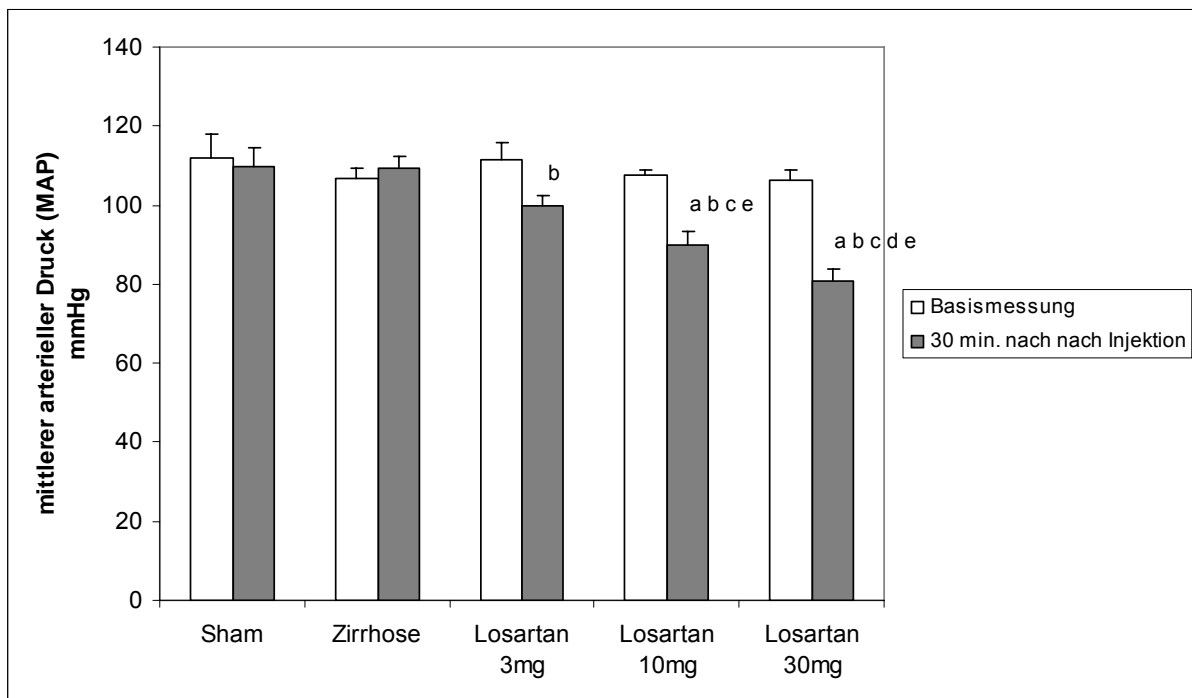
**Tabelle 4:** Leberenzyme zum Nachweis der sekundär biliären Zirrhose. Vergleiche zwischen zwei Gruppen wurden mit Mann-Whitney Tests durchgeführt.

Zum Nachweis der sekundär biliären Zirrhose wurden die spezifischen Leber- bzw. Gallengangsenzyme (Alaninaminotransferase, ALAT und Alkalische Phosphatase, AP) und Bilirubin bei den Versuchstieren bestimmt. Serumtransaminasen und Bilirubin sind erwartungsgemäß bei Leberzirrhose signifikant erhöht (s. Tab. 4).

### 3.3 Mittlerer arterieller Druck



**Abb. 9:** mittlerer arterieller Druck (MAP) – Monitoring. s = sham-operierte Versuchstiere (n = 10) vor und nach NaCl. c = zirrhotische Versuchstiere (n = 9) vor und nach NaCl. c3 = zirrhotische Versuchstiere (n = 8) vor und nach 3 mg Losartan/kg KG. c10 = zirrhotische Versuchstiere (n = 9) vor und nach 10 mg Losartan/kg KG. c30 = zirrhotische Versuchstiere (n = 9) vor und nach 30 mg Losartan/kg KG.



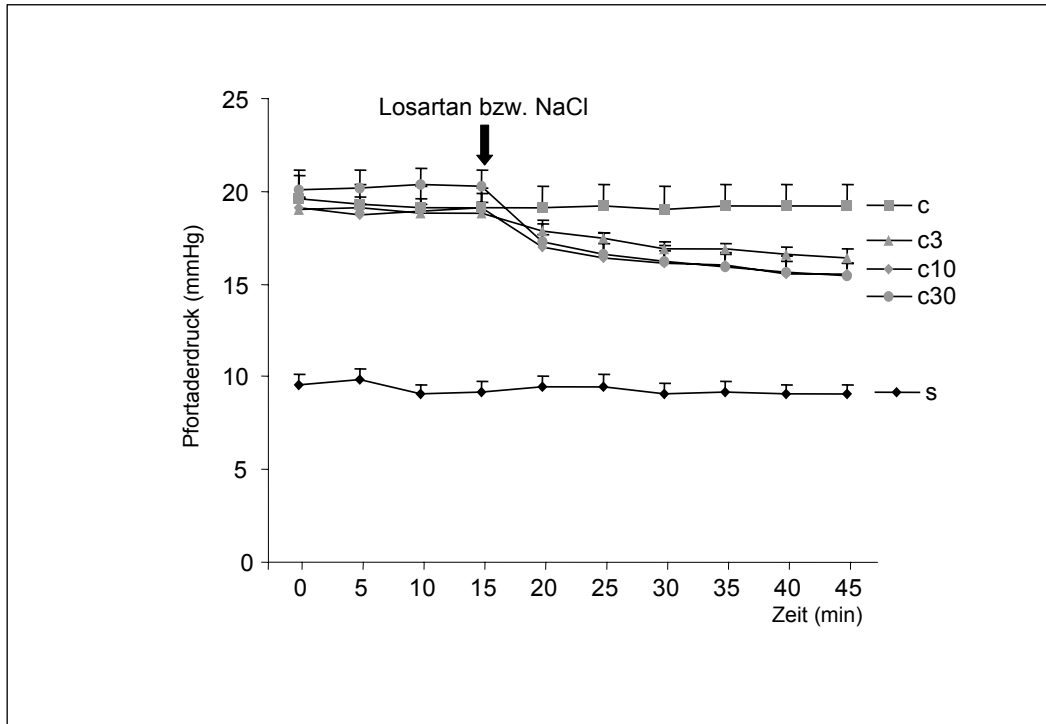
**Abb. 10:** Mittlerer arterieller Druck (MAP). <sup>a</sup>  $p < 0.05$  vs. Sham. <sup>b</sup>  $p < 0.05$  vs. Zirrhose (NaCl). <sup>c</sup>  $p < 0.05$  vs. Zirrhose (Losartan 3 mg/kg KG). <sup>d</sup>  $p < 0.05$  vs. Zirrhose (Losartan 10 mg/kg). <sup>e</sup>  $p < 0.05$  vs. Baseline. Sham-operierte Versuchstiere:  $n=10$ , zirrhotische Versuchstiere:  $n=9$ , zirrhotische Versuchstiere vor und nach 3 mg Losartan/kg KG:  $n=8$ , zirrhotische Versuchstiere vor und nach 10 mg Losartan/kg KG:  $n=9$ , zirrhotische Versuchstiere vor und nach 30 mg Losartan/kg KG:  $n=9$ . Vergleiche zwischen allen Gruppen wurden anhand Kruskal-Wallis Tests durchgeführt. Vergleiche zwischen zwei Gruppen wurden mit Mann-Whitney Tests durchgeführt.

Der mittlere arterielle Druck (mean arterial pressure, MAP) wurde 15 Minuten vor und 30 Minuten nach der intravenösen Applikation von Losartan bzw. NaCl aufgezeichnet.

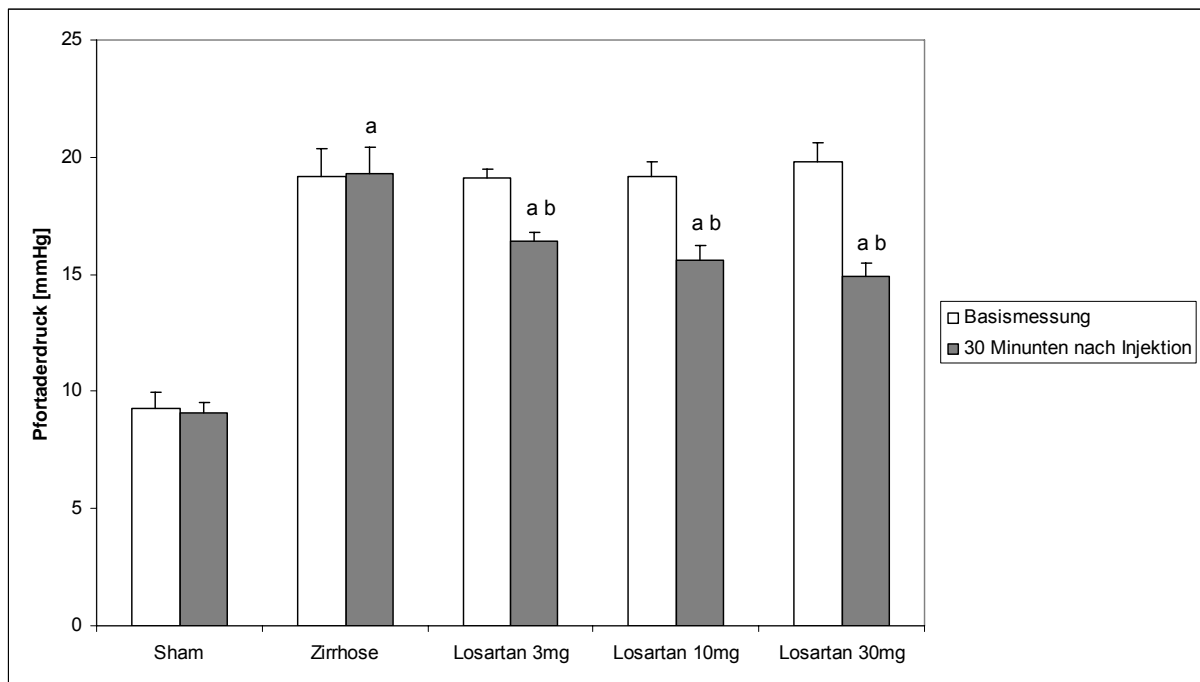
Zu Beginn der Monitoring-Phase war der mittlere arterielle Druck der einzelnen Gruppen nicht signifikant unterschiedlich. 30 Minuten nach Applikation jeglicher Losartan-Dosierung sank der MAP auf signifikant ( $p > 0.05$ ) niedrigere Werte als zu Beginn des Versuchs, zusätzlich bewirkte eine Dosis von 10 bzw. 30 mg/kg KG einen signifikant ( $p > 0.05$ ) größeren Abfall als eine Dosis von 3 mg/kg KG Losartan (s. Abb. 10).



### 3.4 Pfortaderdruck



**Abb. 11:** Pfortaderdruck (PP) – Monitoring. s = sham-operierte Versuchstiere (n = 10) vor und nach NaCl. c = zirrhatische Versuchstiere (n = 9) vor und nach NaCl. c3 = zirrhatische Versuchstiere (n = 8) vor und nach 3 mg Losartan/kg KG. c10 = zirrhatische Versuchstiere (n = 9) vor und nach 10 mg Losartan/kg KG. c30 = zirrhatische Versuchstiere (n = 9) vor und nach 30 mg Losartan/kg KG.

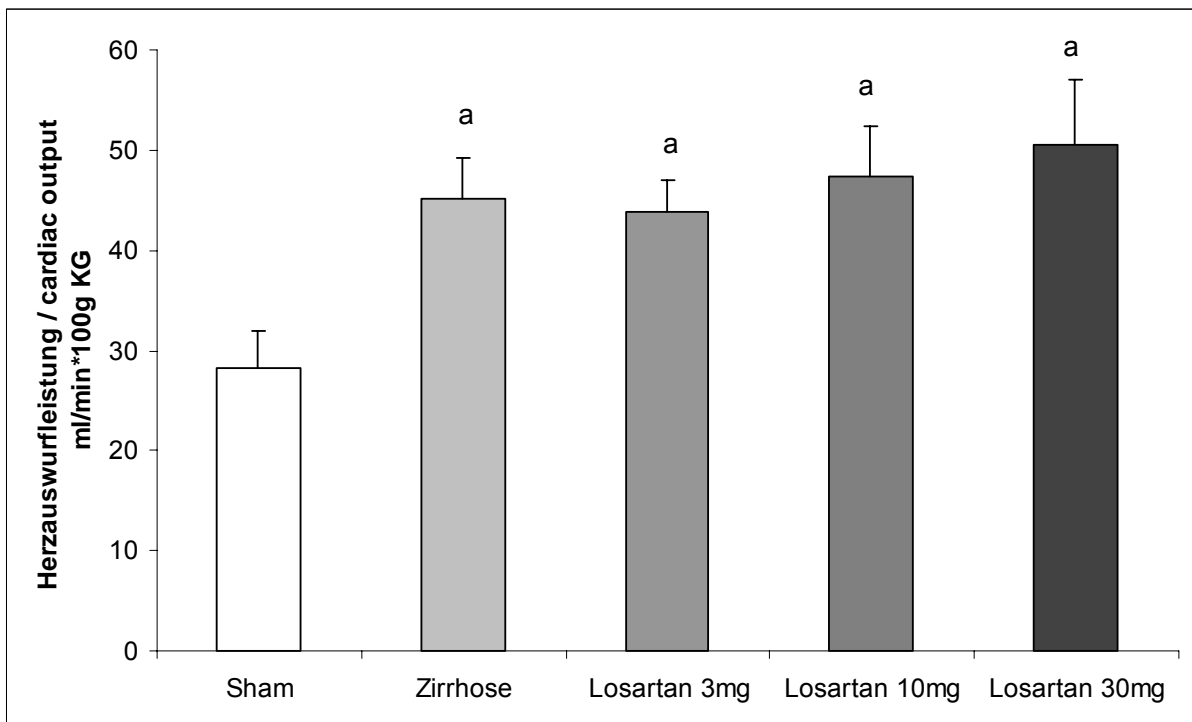


**Abb. 12:** Pfortaderdruck (PP). <sup>a</sup>  $p < 0.05$  vs. Sham. <sup>b</sup>  $p < 0.05$  vs. Zirrhose (NaCl). Sham-operierte Versuchstiere:  $n=10$ , zirrhotische Versuchstiere:  $n=9$ , zirrhotische Versuchstiere vor und nach 3 mg Losartan/kg KG:  $n=8$ , zirrhotische Versuchstiere vor und nach 10 mg Losartan/kg KG:  $n=9$ , zirrhotische Versuchstiere vor und nach 30 mg Losartan/kg KG:  $n=9$ . Vergleiche zwischen allen Gruppen wurden anhand Kruskal-Wallis Tests durchgeführt. Vergleiche zwischen zwei Gruppen wurden mit Mann-Whitney Tests durchgeführt.

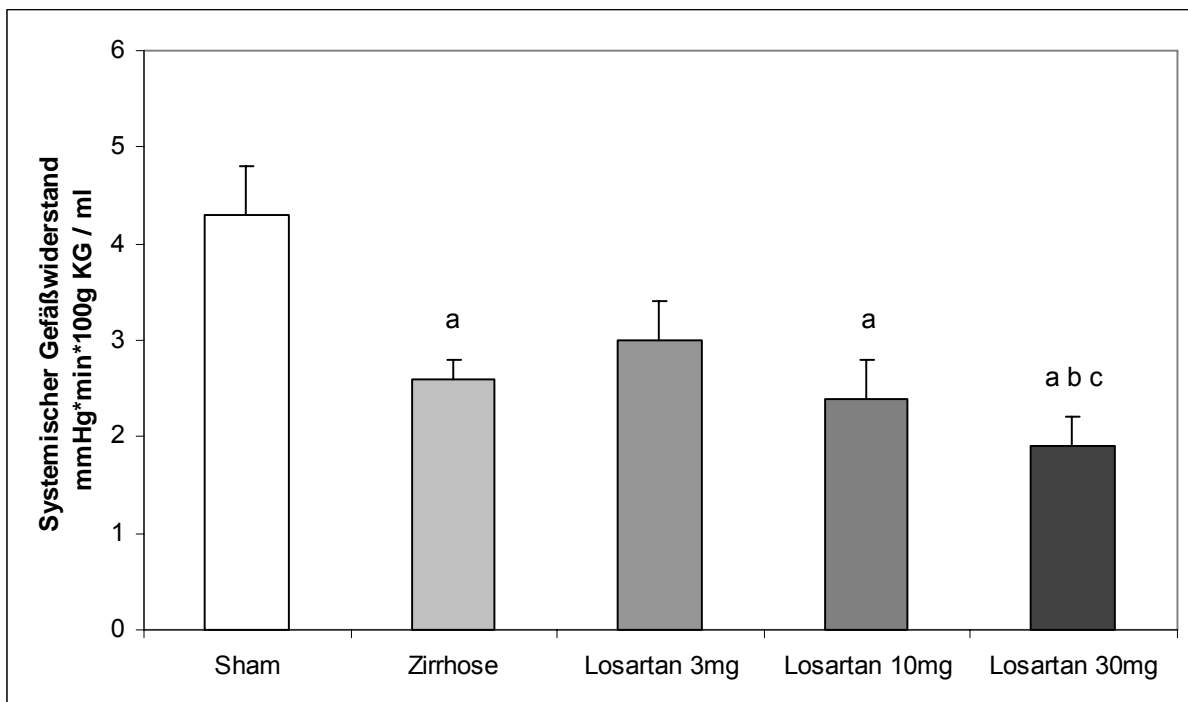
Auch der Pfortaderdruck (PP) wurde 15 Minuten vor und 30 Minuten nach der intravenösen Applikation von Losartan bzw. Lösungsmittel aufgezeichnet.

Zu Beginn der Monitoring-Phase war der Pfortaderdruck bei zirrhotischen Tieren erwartungsgemäß signifikant ( $p > 0.05$ ) höher als bei sham-operierten Tieren in der Kontrollgruppe. 30 Minuten nach Applikation jeglicher Dosis Losartan sank der Pfortaderdruck auf signifikant niedrigere Werte als zu Beginn des Versuches (s. Abb. 12), blieb allerdings erhöht im Vergleich zur Kontrollgruppe. Dabei gab es keine signifikanten Unterschiede zwischen den Losartan-Dosierungen in der Verringerung des Pfortaderdrucks (s. Abb. 12).

### 3.5 Systemische Hämodynamik



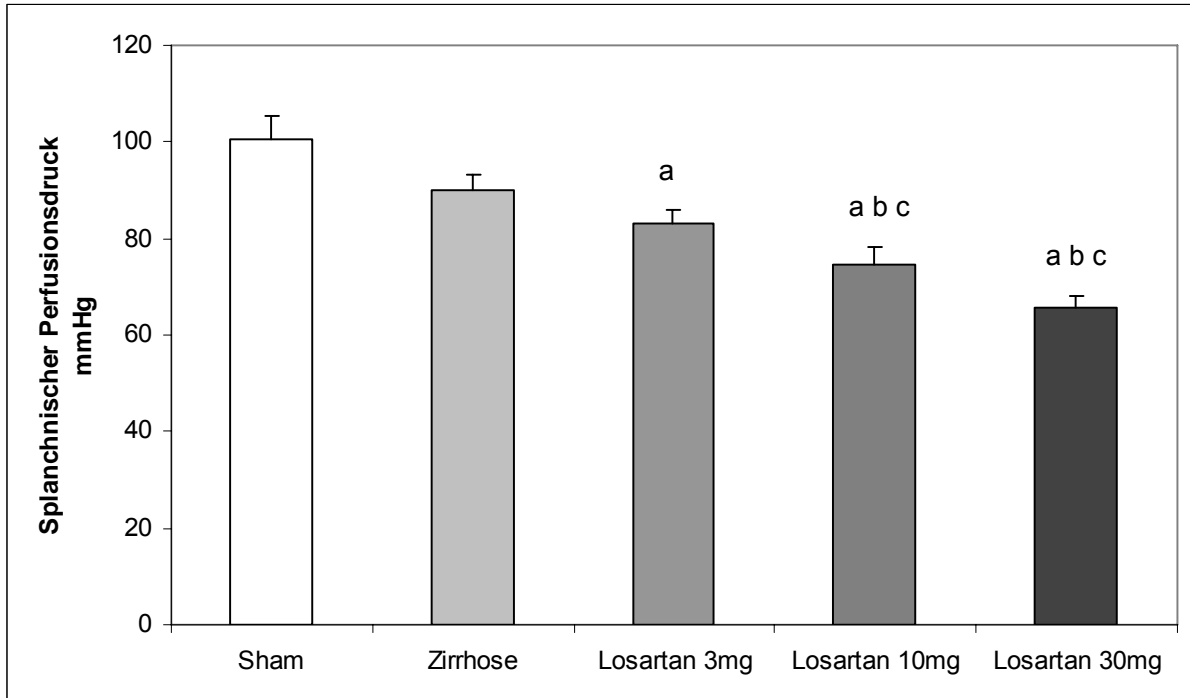
**Abb. 13:** Herzauswurfleistung. <sup>a</sup>  $p < 0.05$  vs. Sham. Sham-operierte Versuchstiere:  $n=10$ , zirrhotische Versuchstiere:  $n=9$ , zirrhotische Versuchstiere nach 3 mg Losartan/kg KG:  $n=8$ , zirrhotische Versuchstiere nach 10 mg Losartan/kg KG:  $n=9$ , zirrhotische Versuchstiere nach 30 mg Losartan/kg KG:  $n=9$ . Der Messzeitpunkt lag 30 min. nach der Injektion von Wirkstoff oder Lösungsmittel, nach Abschluß der Monitoring-Phase (s. Abb. 8). Vergleiche zwischen allen Gruppen wurden anhand Kruskal-Wallis Tests durchgeführt. Vergleiche zwischen zwei Gruppen wurden mit Mann-Whitney Tests durchgeführt.



**Abb. 14:** Systemischer Gefäßwiderstand. <sup>a</sup>  $p < 0.05$  vs. Sham. <sup>b</sup>  $p < 0.05$  vs. Zirrhose (NaCl). <sup>c</sup>  $p < 0.05$  vs. Zirrhose (Losartan 3 mg/kg KG). Sham-operierte Versuchstiere:  $n=10$ , zirrhatische Versuchstiere:  $n=9$ , zirrhatische Versuchstiere nach 3 mg Losartan/kg KG:  $n=8$ , zirrhatische Versuchstiere nach 10 mg Losartan/kg KG:  $n=9$ , zirrhatische Versuchstiere nach 30 mg Losartan/kg KG:  $n=9$ . Der Messzeitpunkt lag 30 min. nach der Injektion von Wirkstoff oder Lösungsmittel, nach Abschluß der Monitoring-Phase (s. Abb. 8). Vergleiche zwischen allen Gruppen wurden anhand Kruskal-Wallis Tests durchgeführt. Vergleiche zwischen zwei Gruppen wurden mit Mann-Whitney Tests durchgeführt.

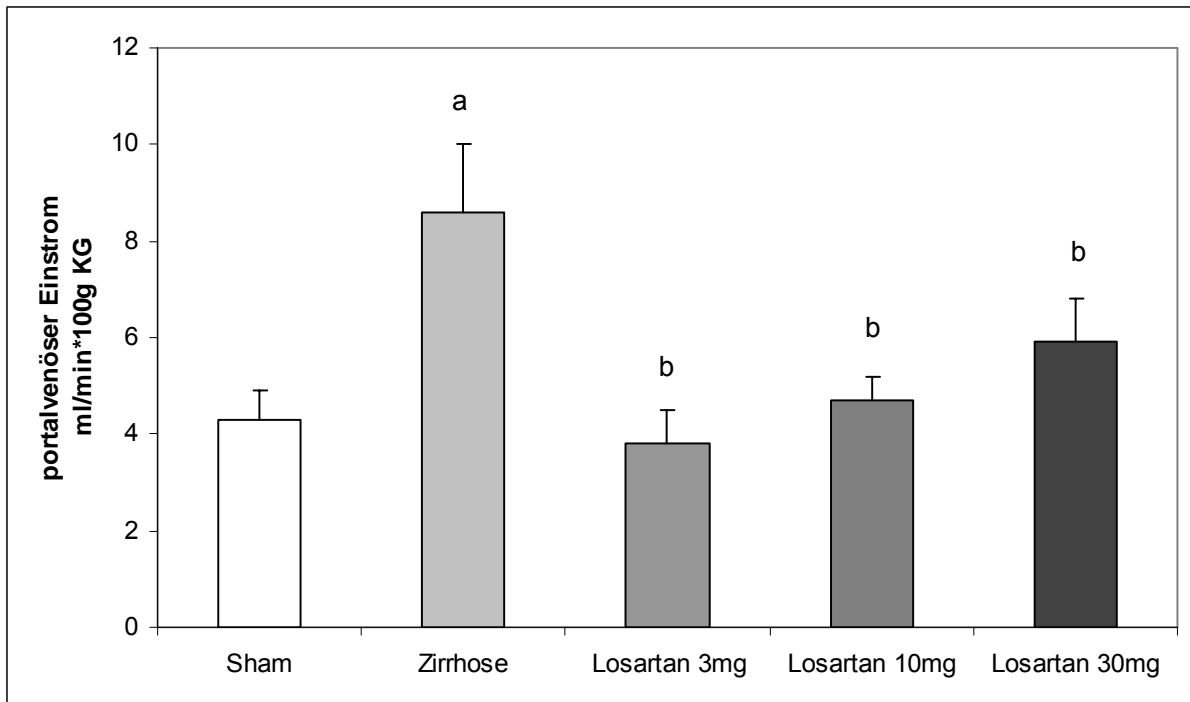
Die Herzauswurfleistung war bei zirrhatischen Tieren signifikant höher als bei sham-operierten Tieren ( $p > 0.05$ , s. Abb. 13), was aufgrund der hyperdynamen Kreislauflage erwartet werden konnte. Dies zeigt sich entsprechend in einem gegenläufigen Verhalten des systemischen Gefäßwiderstandes (SVR) (s. Abb. 14). Bei Applikation von 30mg/kg KG Losartan stieg die Herzauswurfleistung noch weiter (mit korrelierendem Abfall des systemischen Gefäßwiderstandes), Dosen von 3 und 10mg/kg KG Losartan veränderten den systemischen Gefäßwiderstand allerdings nicht im Vergleich zu den zirrhatischen Versuchstieren im Kontroll-Arm (s. Abb. 14).

### 3.6 Splanchnische Hämodynamik



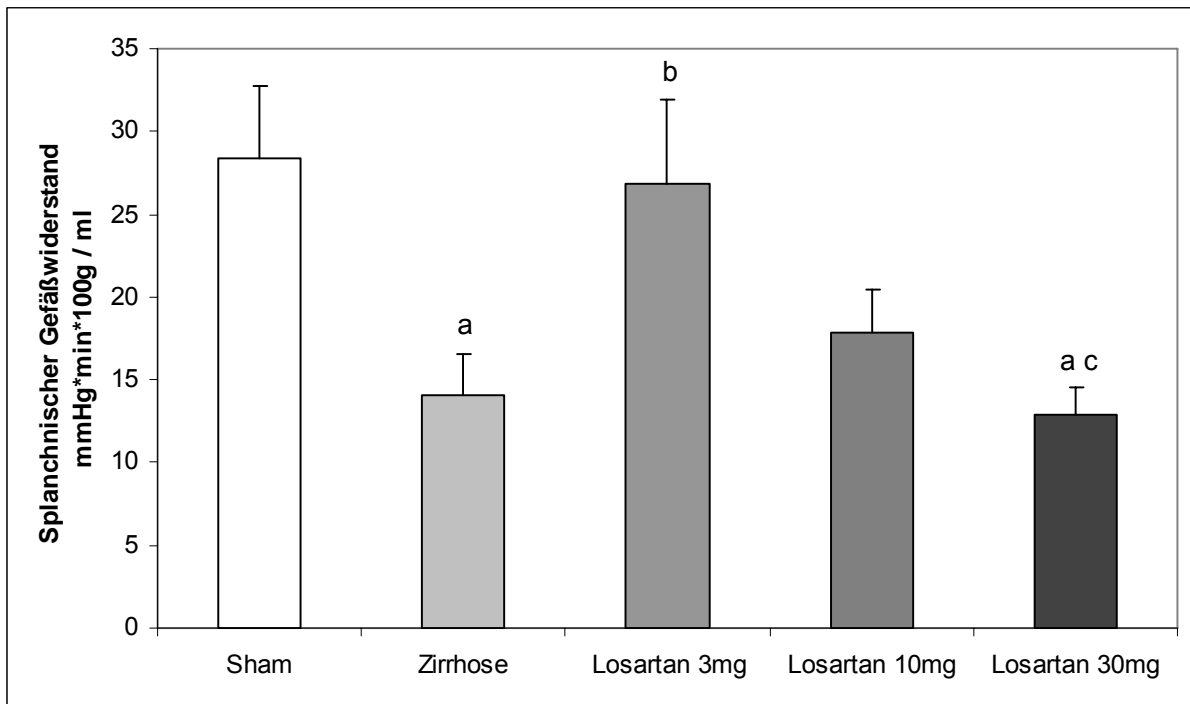
**Abb. 15:** Splanchnischer Perfusionsdruck. <sup>a</sup>  $p < 0.05$  vs. Sham. <sup>b</sup>  $p < 0.05$  vs. Zirrhose (NaCl). <sup>c</sup>  $p < 0.05$  vs. Zirrhose (Losartan 3 mg/kg). Sham-operierte Versuchstiere: n=10, zirrhotische Versuchstiere: n=9, zirrhotische Versuchstiere nach 3 mg Losartan/kg KG: n=8, zirrhotische Versuchstiere nach 10 mg Losartan/kg KG: n=9, zirrhotische Versuchstiere nach 30 mg Losartan/kg KG: n=9. Der Messzeitpunkt lag 30 min. nach der Injektion von Wirkstoff oder Lösungsmittel, nach Abschluß der Monitoring-Phase (s. Abb. 8). Vergleiche zwischen allen Gruppen wurden anhand Kruskal-Wallis Tests durchgeführt. Vergleiche zwischen zwei Gruppen wurden mit Mann-Whitney Tests durchgeführt.

Der splanchnische Perfusionsdruck änderte sich nicht signifikant bei einer Dosis von 3mg/kg KG Losartan. Nach Injektion von 10 und 30mg kg/KG kam es zu einem signifikanten Abfall (s. Abb. 15).



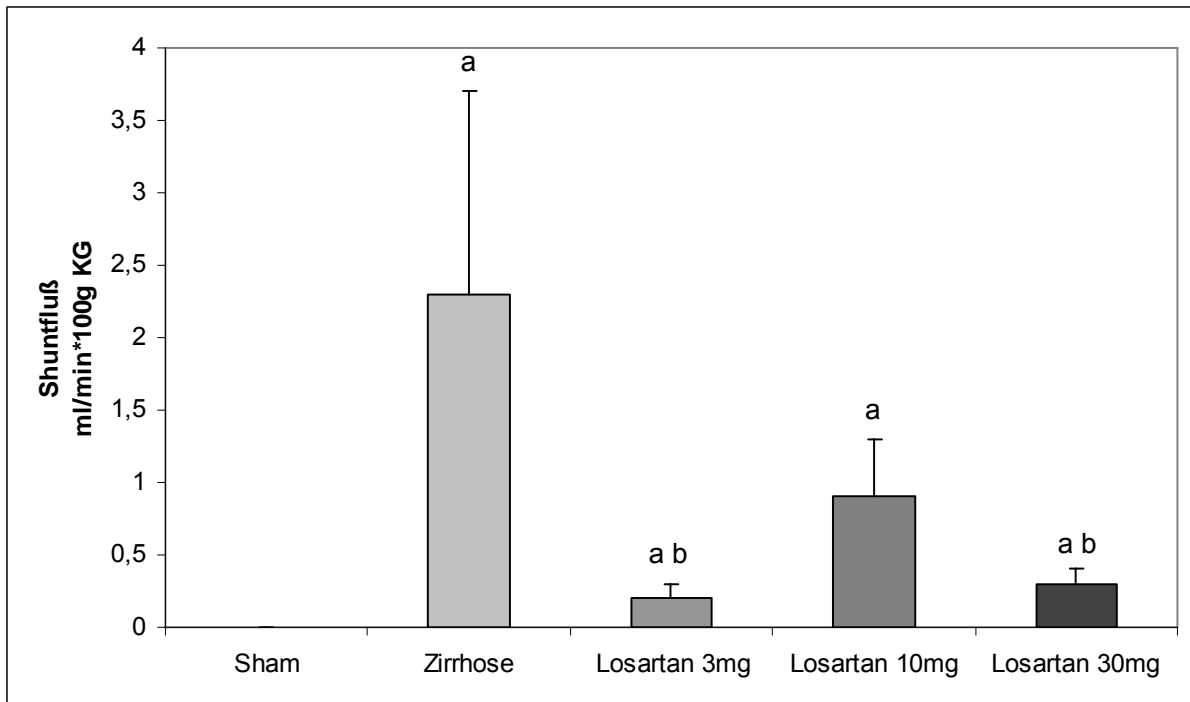
**Abb. 16:** Splanchnischer Blutfluß / portalvenöser Einstrom. <sup>a</sup>  $p < 0.05$  vs. Sham. <sup>b</sup>  $p < 0.05$  vs. Zirrhose (NaCl). Sham-operierte Versuchstiere:  $n=10$ , zirrhotische Versuchstiere:  $n=9$ , zirrhotische Versuchstiere nach 3 mg Losartan/kg KG:  $n=8$ , zirrhotische Versuchstiere nach 10 mg Losartan/kg KG:  $n=9$ , zirrhotische Versuchstiere nach 30 mg Losartan/kg KG:  $n=9$ . Der Messzeitpunkt lag 30 min. nach der Injektion von Wirkstoff oder Lösungsmittel, nach Abschluß der Monitoring-Phase (s. Abb. 8). Vergleiche zwischen allen Gruppen wurden anhand Kruskal-Wallis Tests durchgeführt. Vergleiche zwischen zwei Gruppen wurden mit Mann-Whitney Tests durchgeführt.

Der splanchnische Blutfluss (portalvenöser Einstrom) ist bei zirrhotischen Tieren der hyperdynamen Zirkulation entsprechend gesteigert, sinkt aber nach Injektion von 3 und 10mg/kg KG Losartan (s. Abb. 16).



**Abb. 17:** Splanchnischer Gefäßwiderstand. <sup>a</sup>  $p < 0.05$  vs. Sham. <sup>b</sup>  $p < 0.05$  vs. Zirrhose (NaCl). <sup>c</sup>  $p < 0.05$  vs. Zirrhose (Losartan 3 mg/kg). Sham-operierte Versuchstiere: n=10, zirrhotische Versuchstiere: n=9, zirrhotische Versuchstiere nach 3 mg Losartan/kg KG: n=8, zirrhotische Versuchstiere nach 10 mg Losartan/kg KG: n=9, zirrhotische Versuchstiere nach 30 mg Losartan/kg KG: n=9. Der Messzeitpunkt lag 30 min. nach der Injektion von Wirkstoff oder Lösungsmittel, nach Abschluß der Monitoring-Phase (s. Abb. 8). Vergleiche zwischen allen Gruppen wurden anhand Kruskal-Wallis Tests durchgeführt. Vergleiche zwischen zwei Gruppen wurden mit Mann-Whitney Tests durchgeführt.

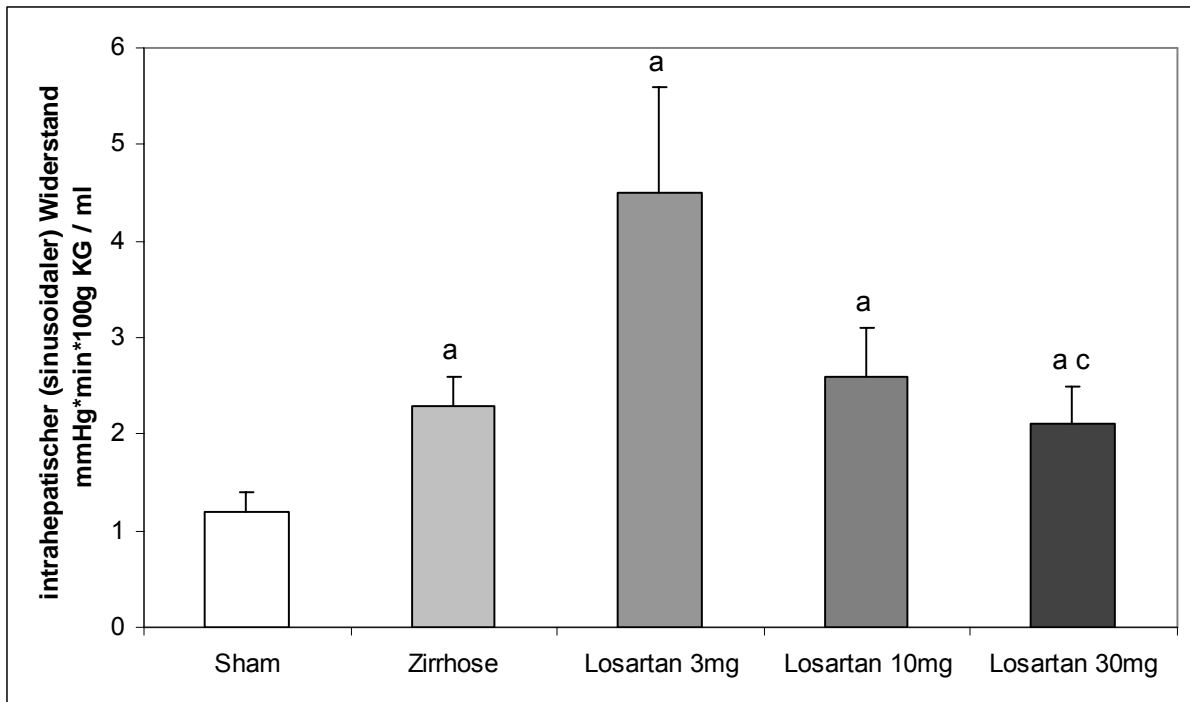
Der splanchnische Gefäßwiderstand ist im Vergleich zu sham-operierten Tieren erniedrigt. Nach Applikation von 3 mg/kg KG Losartan steigt dieser wieder, fällt aber bei höheren Dosen bis 30mg/kg KG wieder bis auf einen Ausgangswert vergleichbar mit Lösungsmittel behandelten, zirrhotischen Tieren ab (s. Abb. 17).



**Abb. 18:** Shuntfluß. <sup>a</sup>  $p < 0.05$  vs. Sham. <sup>b</sup>  $p < 0.05$  vs. Zirrhose (NaCl). Sham-operierte Versuchstiere: n=10, zirrhotische Versuchstiere: n=9, zirrhotische Versuchstiere nach 3 mg Losartan/kg KG: n=8, zirrhotische Versuchstiere nach 10 mg Losartan/kg KG: n=9, zirrhotische Versuchstiere nach 30 mg Losartan/kg KG: n=9. Der Messzeitpunkt lag 30 min. nach der Injektion von Wirkstoff oder Lösungsmittel, nach Abschluß der Monitoring-Phase (s. Abb. 8). Vergleiche zwischen allen Gruppen wurden anhand Kruskal-Wallis Tests durchgeführt. Vergleiche zwischen zwei Gruppen wurden mit Mann-Whitney Tests durchgeführt.

Bei sham-operierten Versuchstieren konnte kein kollateraler Blutfluss nachgewiesen werden, ganz im Gegenteil natürlich zu zirrhotischen Tieren. Auch der kollaterale Blutfluss sinkt in signifikantem Maße durch Behandlung mit Losartan (s. Abb. 18).





**Abb. 19:** intrahepatischer (sinusoidaler) Widerstand. <sup>a</sup>  $p < 0.05$  vs. Sham. <sup>c</sup>  $p < 0.05$  vs. Zirrhose (Losartan 3 mg/kg). Sham-operierte Versuchstiere: n=10, zirrhotische Versuchstiere: n=9, zirrhotische Versuchstiere nach 3 mg Losartan/kg KG: n=8, zirrhotische Versuchstiere nach 10 mg Losartan/kg KG: n=9, zirrhotische Versuchstiere nach 30 mg Losartan/kg KG: n=9. Der Messzeitpunkt lag 30 min. nach der Injektion von Wirkstoff oder Lösungsmittel, nach Abschluß der Monitoring-Phase (s. Abb. 8). Vergleiche zwischen allen Gruppen wurden anhand Kruskal-Wallis Tests durchgeführt. Vergleiche zwischen zwei Gruppen wurden mit Mann-Whitney Tests durchgeführt.

Der intrahepatische (sinusoidale) Widerstand ist bei Zirrhose im Vergleich zu sham-operierten Tieren signifikant erhöht. Nach Injektion von 3 mg/kg KG Losartan nimmt er weiter zu, bei höheren Dosen bis zu 30 mg/kg KG fällt er allerdings wieder ab auf ein Niveau vergleichbar den Kontroll-Zirrhose-Tieren (s. Abb. 19).

## 4 DISKUSSION

Diese Studie untersuchte die akuten hämodynamischen Effekte des AT<sub>1</sub>-Rezeptorantagonisten Losartan an einem in-vivo Tiermodell der sekundär biliären Zirrhose. Losartan reduziert den Pfortaderdruck. Bei niedriger Dosierung (3 mg/kg KG) sank der Pfortaderdruck aufgrund eines reduzierten portalvenösen Einstroms trotz eines leichten Anstiegs des intrahepatischen Widerstandes. Bei höherer Dosis (10 mg/kg KG bzw. 30mg/kg KG) allerdings verminderte Losartan den Pfortaderdruck durch eine Reduktion des splanchnischen Perfusionsdrucks über eine Reduktion des systemischen Gefäßwiderstandes und des mittleren arteriellen Drucks.

Die portale Hypertension ist die Voraussetzung für die häufigsten schweren Komplikationen bei Patienten mit einer Leberzirrhose. Sie wird bedingt durch die splanchnische Vasodilatation mit gesteigertem portalvenösem Zustrom und den erhöhten intrahepatischen Widerstand gegen diesen gesteigerten Einstrom.

Vor fast 25 Jahren ist die Behandlung der Portalen Hypertension mit unselektiven  $\beta$ -Blockern etabliert worden (113). Es konnte bewiesen werden, dass Propanolol den Pfortaderdruck senkt und das damit verbundene Risiko einer Ösophagusvarizenblutung verringert (6, 181). Trotzdem erreicht die nominelle Senkung lediglich 15-20% (6, 9), und es verbleibt eine nicht unsignifikante Anzahl von Non-Respondern (118) und Patienten mit Kontraindikationen. Aus diesem Grund sind neue Medikamente zur Prophylaxe der Ösophagusvarizenblutung in der Erprobung. In ersten klinischen Studien wurde eine mögliche Wirksamkeit von AT<sub>1</sub>-Rezeptorantagonisten (z.B. Losartan oder Irbesartan) getestet. Die ersten Ergebnisse waren sehr vielversprechend. Sie verzeichneten eine Reduktion des portal-venösen Druckgradienten von 45% (161). Nachfolgende Studien konnten dies allerdings nicht bestätigen, sondern verzeichneten keinen (164) oder kaum Effekte (163) auf den Pfortaderdruck. Bei einigen Patienten kam es auch zu symptomatischen arteriellen Hypotonien.

Es wurde bestätigt, dass Losartan den Pfortaderdruck bei Ratten mit sekundär biliärer Zirrhose senkt (173). Bis dato ist der genaue Mechanismus der Reduktion des Pfortaderdrucks allerdings noch nicht aufgeklärt.

Angiotensin II ist in der Lage, hepatische Sternzellen (Lipozyten) zu kontrahieren (153). Dieser Effekt könnte auch durch den AT<sub>1</sub>-Rezeptorblocker Losartan antagonisiert werden, was einen Abfall des Pfortaderdrucks durch eine Reduktion des intrahepatischen Widerstandes zur Folge hätte. Im Gegenteil hierzu legen tierexperimentelle Daten nahe, daß Losartan die Senkung des Pfortaderdruck durch Erhöhung des splanchnischen Gefäßwiderstandes und Senkung des portalen Blutflusses erreicht (173). Da Endothelzellen über Angiotensinrezeptoren verfügen und eine Aktivierung endothelialer AT<sub>1</sub>-Rezeptoren zur Aktivierung der endothelialen NO-Synthese führt, wurde postuliert, dass Losartan zu einer Hemmung der eNOS führt. Tatsächlich konnte in einer Studie gezeigt werden, dass eine einwöchige Behandlung mit Losartan bei Ratten mit sekundär biliärer Zirrhose eine Hemmung der eNOS-Expression in der Aorta bewirkt (173). Hierbei wurde allerdings nicht zwischen Endothel oder glatter Muskulatur der Aorta unterschieden.

Bei Patienten mit dekompensierter Leberzirrhose wird der Abfall des Pfortaderdrucks durch Losartan hauptsächlich als Folge der Induktion einer generalisierten arteriellen Hypotension gesehen (163). Möglicherweise liegen hier dosisabhängige Effekte vor. Auch die Dosisabhängigkeit von Losartan bei portaler Hypertension wurde bislang nicht untersucht. Ziel dieser Arbeit war es daher, am Tiermodell des sekundär biliären Zirrhose dosisabhängig die hämodynamischen Effekte von Losartan zu untersuchen.

Unsere Ergebnisse zeigen eine weitgehend dosisunabhängige Reduktion des Pfortaderdrucks bei anästhesierten Ratten (s. Abb. 11 und 12). Entgegen der Hypothese von Schneider et al. (161) geschah dies nicht durch eine Reduktion des intrahepatischen Widerstandes, da keine Dosierung von Losartan in der Lage war, den sinusoidalen Widerstand zu senken (s. Abb. 19). Trotzdem gab es signifikante, dosisabhängige Effekte von Losartan, sowohl auf die splanchnische als auch die systemische Hämodynamik: Bei einer Dosierung von 3 mg/kg KG erhöht Losartan den splanchnischen Perfusionswiderstand und senkt damit den portalvenösen

Einstrom (s. Abb. 16 und 17). Dies wurde von einem äußerst geringen Abfall des mittleren arteriellen Drucks begleitet, ohne den peripheren Gefäßwiderstand zu beeinflussen.

Die Ursache der splanchnischen Widerstandserhöhung ist nicht geklärt. Eine Möglichkeit wäre, wie oben diskutiert, eine Reduktion der Aktivität der endothelialen NO-Synthase und ein sich daraus ergebender Anstieg des splanchnischen Gefäßwiderstandes (173).

Ein anderer diskutierbarer Mechanismus ist eine Barorezeptor-vermittelte Kontraktion der splanchnischen Gefäße. Dieser Mechanismus wird auch zur Erklärung anderer vasodilatatorisch wirkender Medikamente zur Portaldrucksenkung wie Nitroglycerin verwendet (130). Allerdings ist diese Theorie nicht hinreichend für die Erklärung der Effekte bei der niedrigen Losartan Dosierung (3mg/kg KG), da der periphere Widerstand nicht beeinträchtigt wurde (s. Abb. 14) und die Reduktion des mittleren arteriellen Drucks nur sehr gering ausfiel (s. Abb. 9 und 10).

Bei Applikation von 10 und 30 mg/kg KG Losartan – Dosierungen welche normalerweise auch im Tiermodell zur Senkung des arteriellen Hochdrucks verwendet werden (182-184) – sank der Pfortaderdruck im selben Ausmaß wie bei einer Dosis von 3 mg/kg KG. Bei Dosierungen von 10 bzw. 30 mg/kg KG gab es keine Auswirkungen auf den sinusoidalen Widerstand, sie senkten aber den portalen Einstrom. Im Gegenteil zur Dosis von 3 mg/kg KG stieg dabei der splanchnische Gefäßwiderstand nicht, sondern der Abfall des splanchnischen Perfusionsdrucks ist auf einen Abfall des mittleren arteriellen Drucks und des systemischen Gefäßwiderstandes zurückzuführen. Diese hypotensiven Effekte stimmen mit den Beobachtungen am Menschen überein (158, 163) und begründen auch die zunehmende Zurückhaltung in der Anwendung von AT<sub>1</sub>-Rezeptor-Antagonisten zur Therapie der portalen Hypertension (162). Unser Tiermodell zeigt allerdings deutlich, dass die positiven Effekte auf den Pfortaderdruck schon bei niedrigeren Dosen eintreten, und damit eine systemische Hypotension vermieden werden kann. Die 10 mg bzw. 30 mg/kg KG Dosis ist diejenige, die im Tiermodell zur experimentellen Senkung des arteriellen Blutdrucks verwendet wird. Bei einer niedrigeren Dosis von 3

mg/kg KG ist bei nicht-zirrhatischen Tieren bislang kein signifikanter Effekt auf den arteriellen Blutdruck beschrieben worden.

Unsere Daten lassen noch eine andere Erklärung für die splanchnische Widerstandserhöhung zu: Eine niedrig-dosierte Langzeittherapie mit Losartan verbessert die Kontraktilität gegenüber  $\alpha_1$ -Adrenorezeptor-Stimulation an der glatten Muskulatur (185, 186). Dies würde bedeuten, dass Losartan durch die Blockade des  $AT_1$ -Rezeptors die vaskuläre Hypokontraktilität positiv beeinflussen könnte. Eine Interaktion dieser Rezeptoren ist auch in anderen Tiermodellen beschrieben worden (187, 188) und könnte durch eine mögliche gemeinsam verlaufende Endstrecke in der intrazellulären Signalübertragung erklärt werden. Dieser Rezeptor-“cross talk“ vollzieht sich wahrscheinlich innerhalb glatter Muskelzellen, da er endothel- und damit NO-unabhängig ist (185), aber diese Zusammenhänge sind auch noch nicht hinreichend beschrieben. Weiterhin senkt eine niedrige Dosierung von Losartan auch den Noradrenalin Spiegel, was mit einer Deaktivierung der Barorezeptoren erklärt werden könnte (185).

Ferner ist erwiesen, dass eine niedrige Dosierung von Losartan bei Patienten mit kompensierter Leberzirrhose günstige Effekte auf die Nierenfunktion durch die Steigerung der Natriuresis hat (189, 190). Auch dies konnte in weiterführenden Versuchen reproduziert werden (185).

Die Akkumulation von Losartan durch die eingeschränkte Leberfunktion (191) stellte kein Problem bei dieser Fragestellung dar, da wir hier nur die akuten hämodynamischen Effekte untersucht haben. In der Tat ist bei Langzeittherapie sogar eine deutlich geringere Dosierungen (0,5 mg/kg KG Losartan) zur Erzielung optimaler Ergebnisse erforderlich (185), was dementsprechend vielleicht auch auf die Akkumulation zurückzuführen sein könnte.

Eine weitere wichtige Rolle spielen Angiotensin II und der  $AT_1$ -Rezeptor in der Fibrogenese. Es wurde bewiesen, dass Angiotensin II hepatische Sternzellen (HSCs) aktiviert und proinflammatorische Effekte vermitteln kann (192), dass diese über den  $AT_1$ -Rezeptor vermittelt werden (193) und die NADPH-Oxidase in der Signaltransduktionskaskade den wichtigsten Schritt für Induktion der DNA-Synthese,

Zellmigration und Sekretion von inflammatorischen Zytokinen darstellt (194). Folgerichtig konnte daraufhin im Tiermodell für Losartan auch eine Inhibition der Fibrogenese und damit der Entstehung von Zirrhose und portalen Hypertension nachgewiesen werden (168, 195). Weitere antifibrotische Wirkung von Losartan ist für die renale Fibrose beschrieben, da es auch hier einen direkten Einfluß auf die Überexpression des Fibrose-Faktors TGF- $\beta$  hat (196). TGF- $\beta$  ist auch maßgeblich an der Aktivierung der hepatischen Sternzellen und damit der Entstehung der hepatischen Fibrose beteiligt (197). Auch hier konnte im Tiermodell eine antifibrotische Wirkung durch direkten Einfluß auf TNF- $\alpha$  und TGF- $\beta$  nachgewiesen werden (198).

Gerade diese Ergebnisse aus der Fibrogeneseforschung legen nun auch den Versuch eines frühen prophylaktischen Einsatzes von AT<sub>1</sub>-Rezeptorantagonisten in der Therapie der Leberzirrhose nahe.

Langfristige Beachtung muss auch genetischen Faktoren geschenkt werden, da inzwischen auch Rezeptor-Genpolymorphismen identifiziert worden sind, welche die hämodynamische Reagibilität gegenüber Losartan bedingen (199).

Die Indikation für Losartan und andere Angiotensinantagonisten in der Therapie der portalen Hypertension ist anfänglich zu Recht kritisch beleuchtet worden (162). Die Rolle von Angiotensin II und die des AT<sub>1</sub>-Rezeptors bei Leberzirrhose und portaler Hypertension ist allerdings wahrscheinlich deutlich komplexer als angenommen. Neuere Forschungsergebnisse decken zunehmend neue Anwendungsmöglichkeiten auf; nicht nur in der Prophylaxe der portalen Hypertension, sondern auch in der Antifibrogenese. Eine längerfristige Behandlung bei niedrigerer Dosierung könnte hier ein interessanter, zu evaluierender, therapeutischer Ansatz sein.

Die Fragestellung lässt sich somit wie folgt beantworten:

1. Die Gabe des AT<sub>1</sub>-Rezeptorantagonisten Losartan führt bei Ratten mit sekundär biliärer Leberzirrhose zu einer (dosisunabhängigen) Reduktion des Pfortaderdrucks.
2. Die Senkung des Pfortaderdrucks erfolgt über die Reduktion der splanchnischen Perfusion und nicht über eine Senkung des intrahepatischen Widerstandes.
3. Vor allem bei höheren Dosierungen treten vermehrt hämodynamische Nebenwirkungen im Sinne einer Hypotension auf.
4. Der Mechanismus der Reduktion des Pfortaderdrucks ist dosisabhängig: Bei hoher Dosierung (10 und 30 mg/kg KG) senkt Losartan den Pfortaderdruck hauptsächlich durch die systemische Wirkung auf den mittleren arteriellen Druck und den Gefäßwiderstand. Bei niedriger Dosierung (3 mg/kg KG) ist die Wirkung auf die Reduktion des splanchnischen Einstroms durch eine Steigerung des splanchnischen Gefäßwiderstandes zurückzuführen.

## ZUSAMMENFASSUNG

Die portale Hypertension ist Grundlage für schwere Komplikationen bei der Leberzirrhose. Eine Verbesserung der medikamentösen Therapie ist deshalb erstrebenswert, hierzu ist ein besseres Verständnis der pathophysiologischen Zusammenhänge wegweisend. Der AT<sub>1</sub>-Rezeptorantagonist Losartan reduziert den Pfortaderdruck bei anästhesierten Ratten mit sekundär biliärer Zirrhose, dieser Effekt ist dosisunabhängig. Bei Standard-Dosierungen beeinflusst Losartan vor allem den mittleren arteriellen Druck, wodurch dann, in Zusammenhang mit der Wirkung auf den peripheren Widerstand, auch der Pfortaderdruck sekundär gesenkt wird. Dies kann allerdings auch zu hämodynamischen Nebenwirkungen im Sinne einer Hypotension führen. Eine Senkung des intrahepatischen Widerstandes ist nicht zu beobachten. Bei niedrigerer Dosierung senkt Losartan den Pfortaderdruck durch eine Steigerung des splanchnischen Gefäßwiderstandes und damit einer Reduktion des portalvenösen Einstroms. Dies geschieht ohne hypotensive Nebeneffekte auf den mittleren arteriellen Druck, was neue Möglichkeiten in der Therapie der portalen Hypertension eröffnen könnte.

Die Ergebnisse dieser Arbeit sind im November 2003 im European Journal of Clinical Investigation publiziert worden (172).



## DANKSAGUNG

PD Dr. med. Jörg Heller danke ich für seine exzellente Betreuung, seine freundschaftliche Unterstützung und für das hervorragende Arbeitsklima. Die vielen, anfänglich recht mühevollen Stunden bei der Etablierung des Tiermodells haben durch seine gewissenhafte, aber auch humorvolle Art nicht nur gute Ergebnisse aus unserem fensterlosen Labor ans Tageslicht befördert, sondern auch viel Spaß gemacht.

Meinem Kollegen Jonel Trebicka danke ich für seine fachliche Unterstützung und den großartigen, immerwährenden wissenschaftlichen Austausch, den wir pflegen konnten.

Carmen Goffin und Dagmar Bammer danke ich für ihre unverzichtbare organisatorische Hilfe und die technische Unterstützung im Labor.

Philipp Scharrenberg danke für den germanistischen Sachverstand und die sprachliche Korrektur der Arbeit.

Mein besonderer Dank gilt Prof. Dr. med. Tilman Sauerbruch. Ohne seine Motivation und sein Vorbild hätte ich wohlmöglich gar nicht Medizin studiert, nicht zuletzt durch die vielen, lehrreichen Einblicke und die vielfältigen Möglichkeiten in Forschung und Wissenschaft, die er mir geboten hat, bin ich dort angekommen, wo ich jetzt stehe.

Nicht zuletzt danke ich meinen Eltern und meiner Großmutter für das Ermöglichen meines Studiums und die viele Geduld, und dass sie meinen Weg bis hierher begleitet haben.

## LITERATURVERZEICHNIS

1. Groszmann RJ, Abraldes JG. Portal hypertension: from bedside to bench. *J Clin Gastroenterol.* 2005 Apr;39(4 Suppl 2):S125-130.
2. de Franchis R, Pascal JP, Ancona E, Burroughs AK, Henderson M, Fleig W, 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 May;15(1-2):256-261.
3. Groszmann RJ, Blei AT, Atterbury CE. Portal Hypertension. In: Arias IM, Jacoby WB, Popper H, Schachter D, Shafritz DA, editors. *The liver: Biology und Pathophysiology.* New York: Raven Press; 1988. p. 1147-1159.
4. Paumgartner G, Sauerbruch T. Pathophysiologie und Diagnostik bei portaler Hypertonie. In: Siewert JR, Harder F, Allgöwer M, Blum AL, Creutzfeldt W, Holländer LF, et al., editors. *Chirurgische Gastroenterologie.* Berlin: Springer; 1990. p. 1511-1519.
5. Boyer TD, Triger DR, Horisawa M, Redeker AG, Reynolds TB. Direct transhepatic measurement of portal vein pressure using a thin needle. Comparison with wedged hepatic vein pressure. *Gastroenterology.* 1977 Apr;72(4 Pt 1):584-589.
6. Feu F, Garcia-Pagan JC, Bosch J, Luca A, Teres J, Escorsell A, et al. Relation between portal pressure response to pharmacotherapy and risk of recurrent variceal haemorrhage in patients with cirrhosis. *Lancet.* 1995 Oct 21;346(8982):1056-1059.
7. Garcia-Tsao G. Portal hypertension. *Curr Opin Gastroenterol.* 2005 May;21(3):313-322.
8. Garcia-Tsao G, Groszmann RJ, Fisher RL, Conn HO, Atterbury CE, Glickman M. Portal pressure, presence of gastroesophageal varices and variceal bleeding. *Hepatology.* 1985 May-Jun;5(3):419-424.
9. Groszmann RJ, Bosch J, Grace ND, Conn HO, Garcia-Tsao G, Navasa M, et al. Hemodynamic events in a prospective randomized trial of propranolol versus placebo in the prevention of a first variceal hemorrhage. *Gastroenterology.* 1990 Nov;99(5):1401-1407.
10. Klotz F. [Portal hypertension and schistosomiasis: "an originally killing entity"]. *Bull Soc Pathol Exot.* 2003 Aug;96(3):191-195.
11. Tilanus HW. Budd-Chiari syndrome. *Br J Surg.* 1995 Aug;82(8):1023-1030.
12. DeLeve LD. Vascular liver diseases. *Curr Gastroenterol Rep.* 2003 Feb;5(1):63-70.
13. Bosch J, Navasa M, Garcia-Pagan JC, DeLacy AM, Rodes J. Portal hypertension. *Med Clin North Am.* 1989 Jul;73(4):931-953.
14. Shibayama Y, Nakata K. Localization of increased hepatic vascular resistance in liver cirrhosis. *Hepatology.* 1985 Jul-Aug;5(4):643-648.
15. Friedman SL. Seminars in medicine of the Beth Israel Hospital, Boston. The cellular basis of hepatic fibrosis. Mechanisms and treatment strategies. *N Engl J Med.* 1993 Jun 24;328(25):1828-1835.
16. Orrego H, Medline A, Blendis LM, Rankin JG, Kreaden DA. Collagenisation of the Disse space in alcoholic liver disease. *Gut.* 1979 Aug;20(8):673-679.

17. Bissell DM. Cell-matrix interaction and hepatic fibrosis. *Prog Liver Dis.* 1990;9:143-155.
18. Knittel T, Saile B, Ramadori G. [Fibrogenesis. Pathophysiology and therapeutic approaches]. *Internist (Berl).* 1998 Mar;39(3):238-246.
19. Popper H, Kent G. Fibrosis in chronic liver disease. *Clin Gastroenterol.* 1975 May;4(2):315-332.
20. Housset C, Rockey DC, Bissell DM. Endothelin receptors in rat liver: lipocytes as a contractile target for endothelin 1. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1993 Oct 15;90(20):9266-9270.
21. Rockey D. The cellular pathogenesis of portal hypertension: stellate cell contractility, endothelin, and nitric oxide. *Hepatology.* 1997 Jan;25(1):2-5.
22. Rockey DC, Housset CN, Friedman SL. Activation-dependent contractility of rat hepatic lipocytes in culture and in vivo. *J Clin Invest.* 1993 Oct;92(4):1795-1804.
23. Bosch J, Garcia-Pagan JC. Complications of cirrhosis. I. Portal hypertension. *J Hepatol.* 2000;32(1 Suppl):141-156.
24. Murray JF, Dawson AM, Sherlock S. Circulatory changes in chronic liver disease. *Am J Med.* 1958 Mar;24(3):358-367.
25. Bayley TJ, Segel N, Bishop JM. The Circulatory Changes in Patients with Cirrhosis of the Liver at Rest and During Exercise. *Clin Sci.* 1964 Apr;26:227-235.
26. Lebrec D, Bataille C, Bercoff E, Valla D. Hemodynamic changes in patients with portal venous obstruction. *Hepatology.* 1983 Jul-Aug;3(4):550-553.
27. Lebrec D. Animal models of portal hypertension. In: Okuda K, Benhamou JP, editors. *Portal Hypertension Clinical and Physiological aspects.* Tokyo: Springer; 1991. p. 101-113.
28. Pateron D, Oberti F, Lefilliatre P, Veal N, Tazi KA, Sogni P, et al. Relationship between vascular reactivity in vitro and blood flows in rats with cirrhosis. *Clin Sci (Lond).* 1999 Sep;97(3):313-318.
29. Fernandez-Seara J, Prieto J, Quiroga J, Zozaya JM, Cobos MA, Rodriguez-Eire JL, et al. Systemic and regional hemodynamics in patients with liver cirrhosis and ascites with and without functional renal failure. *Gastroenterology.* 1989 Nov;97(5):1304-1312.
30. Braillon A, Cales P, Valla D, Gaudy D, Geoffroy P, Lebrec D. Influence of the degree of liver failure on systemic and splanchnic haemodynamics and on response to propranolol in patients with cirrhosis. *Gut.* 1986 Oct;27(10):1204-1209.
31. Benoit JN, Barrowman JA, Harper SL, Kviety PR, Granger DN. Role of humoral factors in the intestinal hyperemia associated with chronic portal hypertension. *Am J Physiol.* 1984 Nov;247(5 Pt 1):G486-493.
32. Hadoke PW, Hayes PC. In vitro evidence for vascular hyporesponsiveness in clinical and experimental cirrhosis. *Pharmacol Ther.* 1997;75(1):51-68.
33. Heller J, Schepke M, Gehnen N, Molderings GJ, Muller A, Erhard J, et al. Altered adrenergic responsiveness of endothelium-denuded hepatic arteries and portal veins in patients with cirrhosis. *Gastroenterology.* 1999 Feb;116(2):387-393.
34. Lunzer MR, Newman SP, Bernard AG, Manghani KK, Sherlock SP, Ginsburg J. Impaired cardiovascular responsiveness in liver disease. *Lancet.* 1975 Aug 30;2(7931):382-385.

35. Murray BM, Paller MS. Decreased pressor reactivity to angiotensin II in cirrhotic rats. Evidence for a post-receptor defect in angiotensin action. *Circ Res*. 1985 Sep;57(3):424-431.
36. Schepke M, Heller J, Paschke S, Thomas J, Wolff M, Neef M, et al. Contractile hyporesponsiveness of hepatic arteries in humans with cirrhosis: evidence for a receptor-specific mechanism. *Hepatology*. 2001 Nov;34(5):884-888.
37. Sogni P, Sabry S, Moreau R, Gadano A, Lebrec D, Dinh-Xuan AT. Hyporeactivity of mesenteric resistance arteries in portal hypertensive rats. *J Hepatol*. 1996 Apr;24(4):487-490.
38. Schrier RW, Arroyo V, Bernardi M, Epstein M, Henriksen JH, Rodes J. Peripheral arterial vasodilation hypothesis: a proposal for the initiation of renal sodium and water retention in cirrhosis. *Hepatology*. 1988 Sep-Oct;8(5):1151-1157.
39. Benoit JN, Zimmerman B, Premen AJ, Go VL, Granger DN. Role of glucagon in splanchnic hyperemia of chronic portal hypertension. *Am J Physiol*. 1986 Nov;251(5 Pt 1):G674-677.
40. Silva G, Navasa M, Bosch J, Chesta J, Pilar Pizcueta M, Casamitjana R, et al. Hemodynamic effects of glucagon in portal hypertension. *Hepatology*. 1990 Apr;11(4):668-673.
41. Sikuler E, Groszmann RJ. Hemodynamic studies in long- and short-term portal hypertensive rats: the relation to systemic glucagon levels. *Hepatology*. 1986 May-Jun;6(3):414-418.
42. Schiedermaier P, Hansen S, Asdonk D, Brensing K, Sauerbruch T. Effects of ursodeoxycholic acid on splanchnic and systemic hemodynamics. A double-blind, cross-over, placebo-controlled study in healthy volunteers. *Digestion*. 2000;61(2):107-112.
43. Thomas SH, Joh T, Benoit JN. Role of bile acids in splanchnic hemodynamic response to chronic portal hypertension. *Dig Dis Sci*. 1991 Sep;36(9):1243-1248.
44. Genecin P, Polio J, Colombato LA, Ferraioli G, Reuben A, Groszmann RJ. Bile acids do not mediate the hyperdynamic circulation in portal hypertensive rats. *Am J Physiol*. 1990 Jul;259(1 Pt 1):G21-25.
45. Ouwendijk RJ, Zijlstra FJ, Wilson JH, Bonta IL, Vincent JE. Raised plasma thromboxane B2 levels in alcoholic liver disease. *Prostaglandins Leukot Med*. 1983 Feb;10(2):115-122.
46. Sitzmann JV, Bulkley GB, Mitchell MC, Campbell K. Role of prostacyclin in the splanchnic hyperemia contributing to portal hypertension. *Ann Surg*. 1989 Mar;209(3):322-327.
47. Guarner F, Guarner C, Prieto J, Colina I, Quiroga J, Casas J, et al. Increased synthesis of systemic prostacyclin in cirrhotic patients. *Gastroenterology*. 1986 Mar;90(3):687-694.
48. Bruix J, Bosch J, Kravetz D, Mastai R, Rodes J. Effects of prostaglandin inhibition on systemic and hepatic hemodynamics in patients with cirrhosis of the liver. *Gastroenterology*. 1985 Feb;88(2):430-435.
49. Graupera M, Garcia-Pagan JC, Pares M, Abraldes JG, Rosello J, Bosch J, et al. Cyclooxygenase-1 inhibition corrects endothelial dysfunction in cirrhotic rat livers. *J Hepatol*. 2003 Oct;39(4):515-521.
50. Lee FY, Wang SS, Yang MC, Tsai YT, Wu SL, Lu RH, et al. Role of endotoxaemia in hyperdynamic circulation in rats with extrahepatic or intrahepatic portal hypertension. *J Gastroenterol Hepatol*. 1996 Feb;11(2):152-158.
51. Guarner C, Soriano G. Bacterial translocation and its consequences in patients with cirrhosis. *Eur J Gastroenterol Hepatol*. 2005 Jan;17(1):27-31.

52. Chu CJ, Lee FY, Wang SS, Lu RH, Tsai YT, Lin HC, et al. Hyperdynamic circulation of cirrhotic rats with ascites: role of endotoxin, tumour necrosis factor-alpha and nitric oxide. *Clin Sci (Lond)*. 1997 Sep;93(3):219-225.
53. Barriere E, Tazi KA, Rona JP, Pessione F, Heller J, Lebrec D, et al. Evidence for an endothelium-derived hyperpolarizing factor in the superior mesenteric artery from rats with cirrhosis. *Hepatology*. 2000 Nov;32(5):935-941.
54. Vallance P, Moncada S. Hyperdynamic circulation in cirrhosis: a role for nitric oxide? *Lancet*. 1991 Mar 30;337(8744):776-778.
55. Wiest R, Groszmann RJ. Nitric oxide and portal hypertension: its role in the regulation of intrahepatic and splanchnic vascular resistance. *Semin Liver Dis*. 1999;19(4):411-426.
56. Moncada S, Higgs A. The L-arginine-nitric oxide pathway. *N Engl J Med*. 1993 Dec 30;329(27):2002-2012.
57. Fernandez M, Garcia-Pagan JC, Casadevall M, Bernadich C, Piera C, Whittle BJ, et al. Evidence against a role for inducible nitric oxide synthase in the hyperdynamic circulation of portal-hypertensive rats. *Gastroenterology*. 1995 May;108(5):1487-1495.
58. Stumm MM, D'Orazio D, Sumanovski LT, Martin PY, Reichen J, Sieber CC. Endothelial, but not the inducible, nitric oxide synthase is detectable in normal and portal hypertensive rats. *Liver*. 2002 Dec;22(6):441-450.
59. Weigert AL, Martin PY, Niederberger M, Higa EM, McMurtry IF, Gines P, et al. Endothelium-dependent vascular hyporesponsiveness without detection of nitric oxide synthase induction in aortas of cirrhotic rats. *Hepatology*. 1995 Dec;22(6):1856-1862.
60. Gadano AC, Sogni P, Yang S, Cailmail S, Moreau R, Nepveux P, et al. Endothelial calcium-calmodulin dependent nitric oxide synthase in the in vitro vascular hyporeactivity of portal hypertensive rats. *J Hepatol*. 1997 Mar;26(3):678-686.
61. Stuehr DJ. Mammalian nitric oxide synthases. *Biochim Biophys Acta*. 1999 May 5;1411(2-3):217-230.
62. Hartleb M, Michielsen PP, Dziurkowska-Marek A. The role of nitric oxide in portal hypertensive systemic and portal vascular pathology. *Acta Gastroenterol Belg*. 1997 Jul-Sep;60(3):222-232.
63. Guarner C, Soriano G, Tomas A, Bulbena O, Novella MT, Balanzo J, et al. Increased serum nitrite and nitrate levels in patients with cirrhosis: relationship to endotoxemia. *Hepatology*. 1993 Nov;18(5):1139-1143.
64. Sogni P, Moreau R, Gadano A, Lebrec D. The role of nitric oxide in the hyperdynamic circulatory syndrome associated with portal hypertension. *J Hepatol*. 1995 Aug;23(2):218-224.
65. Sogni P, Smith AP, Gadano A, Lebrec D, Higenbottam TW. Induction of nitric oxide synthase II does not account for excess vascular nitric oxide production in experimental cirrhosis. *J Hepatol*. 1997 May;26(5):1120-1127.
66. Mittal MK, Gupta TK, Lee FY, Sieber CC, Groszmann RJ. Nitric oxide modulates hepatic vascular tone in normal rat liver. *Am J Physiol*. 1994 Sep;267(3 Pt 1):G416-422.
67. Gupta TK, Toruner M, Chung MK, Groszmann RJ. Endothelial dysfunction and decreased production of nitric oxide in the intrahepatic microcirculation of cirrhotic rats. *Hepatology*. 1998 Oct;28(4):926-931.

68. Rockey DC, Chung JJ. Reduced nitric oxide production by endothelial cells in cirrhotic rat liver: endothelial dysfunction in portal hypertension. *Gastroenterology*. 1998 Feb;114(2):344-351.
69. Shah V, Haddad FG, Garcia-Cardena G, Frangos JA, Mennone A, Groszmann RJ, et al. Liver sinusoidal endothelial cells are responsible for nitric oxide modulation of resistance in the hepatic sinusoids. *J Clin Invest*. 1997 Dec 1;100(11):2923-2930.
70. Garcia-Cardena G, Martasek P, Masters BS, Skidd PM, Couet J, Li S, et al. Dissecting the interaction between nitric oxide synthase (NOS) and caveolin. Functional significance of the nos caveolin binding domain in vivo. *J Biol Chem*. 1997 Oct 10;272(41):25437-25440.
71. Hendrickson H, Chatterjee S, Cao S, Morales Ruiz M, Sessa WC, Shah V. Influence of caveolin on constitutively activated recombinant eNOS: insights into eNOS dysfunction in BDL rat liver. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 2003 Sep;285(3):G652-660.
72. Wiest R, Groszmann RJ. The paradox of nitric oxide in cirrhosis and portal hypertension: too much, not enough. *Hepatology*. 2002 Feb;35(2):478-491.
73. Busse R. Gefäßsystem und Kreislaufregulation. In: Schmidt RF, Thews G, editors. *Physiologie des Menschen*. 27 ed. Berlin: Springer; 1997. p. 528 ff.
74. Garcia-Pagan JC, Navasa M, Rivera F, Bosch J, Rodes J. Lymphocyte beta 2-adrenoceptors and plasma catecholamines in patients with cirrhosis. *Gastroenterology*. 1992 Jun;102(6):2015-2023.
75. Nicholls KM, Shapiro MD, Van Putten VJ, Kluge R, Chung HM, Bichet DG, et al. 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 Mar;56(3):457-461.
76. Garcia-Pagan JC, Bosch J, Rodes J. The role of vasoactive mediators in portal hypertension. *Semin Gastrointest Dis*. 1995 Jul;6(3):140-147.
77. Lee J, Kerr DN. The Concentration of Vasopressin in the Blood and the Rate of Urinary Excretion of the Hormone by Patients with Cirrhosis of the Liver. *Clin Sci*. 1963 Dec;25:375-384.
78. Uchihara M, Izumi N, Sato C, Marumo F. Clinical significance of elevated plasma endothelin concentration in patients with cirrhosis. *Hepatology*. 1992 Jul;16(1):95-99.
79. Heller J, Schepke M, Neef M, Woitas R, Rabe C, Sauerbruch T. Increased urotensin II plasma levels in patients with cirrhosis and portal hypertension. *J Hepatol*. 2002 Dec;37(6):767-772.
80. Kiel JW, Pitts V, Benoit JN, Granger DN, Shepherd AP. Reduced vascular sensitivity to norepinephrine in portal-hypertensive rats. *Am J Physiol*. 1985 Feb;248(2 Pt 1):G192-195.
81. Joh T, Granger DN, Benoit JN. Intestinal microvascular responsiveness to norepinephrine in chronic portal hypertension. *Am J Physiol*. 1991 Apr;260(4 Pt 2):H1135-1143.
82. Wu ZY, Benoit JN. Vascular NE responsiveness in portal hypertension: role of portal pressure and portosystemic shunting. *Am J Physiol*. 1994 Mar;266(3 Pt 2):H1162-1168.
83. Sitzmann JV, Li SS, Wu YP, Groszmann R, Bulkley GB. Decreased mesenteric vascular response to angiotensin II in portal hypertension. *J Surg Res*. 1990 Apr;48(4):341-344.
84. Mesh CL, Joh T, Korthuis RJ, Granger DN, Benoit JN. Intestinal vascular sensitivity to vasopressin in portal hypertensive rats. *Gastroenterology*. 1991 Apr;100(4):916-921.

85. Joh T, Granger DN, Benoit JN. Endogenous vasoconstrictor tone in intestine of normal and portal hypertensive rats. *Am J Physiol*. 1993 Jan;264(1 Pt 2):H171-177.
86. Sieber CC, Groszmann RJ. Nitric oxide mediates hyporeactivity to vasopressors in mesenteric vessels of portal hypertensive rats. *Gastroenterology*. 1992 Jul;103(1):235-239.
87. Michielsen PP, Boeckxstaens GE, Sys SU, Herman AG, Pelckmans PA. The role of increased nitric oxide in the vascular hyporeactivity to noradrenaline in long-term portal vein ligated rats. *J Hepatol*. 1995 Sep;23(3):341-347.
88. Hartleb M, Moreau R, Gaudin C, Lebrec D. Lack of vascular hyporesponsiveness to the L-type calcium channel activator, Bay K 8644, in rats with cirrhosis. *J Hepatol*. 1995 Feb;22(2):202-207.
89. Gaudin C, Launay J, Moreau R, Cailmail S, Lebrec D. Discrepant regulation among alpha and beta adrenoceptors in vascular walls of cirrhotic rats. *J Hepatol*. 1994;21(Supplement 1):S43.
90. Neef M, Biecker E, Heller J, Schepke M, Nischalke HD, Wolff M, et al. Portal hypertension is associated with increased mRNA levels of vasopressor G-protein-coupled receptors in human hepatic arteries. *Eur J Clin Invest*. 2003 Mar;33(3):249-255.
91. Moreau R. VEGF-induced angiogenesis drives collateral circulation in portal hypertension. *J Hepatol*. 2005 Jul;43(1):6-8.
92. Pugh RN, Murray-Lyon IM, Dawson JL, Pietroni MC, Williams R. Transection of the oesophagus for bleeding oesophageal varices. *Br J Surg*. 1973 Aug;60(8):646-649.
93. Pagliaro L, D'Amico G, Pasta L, Politi F, Vizzini G, Traina M, et al. Portal hypertension in cirrhosis: natural history. In: Bosch J, Groszmann RJ, editors. *Portal hypertension Pathophysiology and treatment*. Oxford: Blackwell Scientific; 1994. p. 72-92.
94. Prediction of the first variceal hemorrhage in patients with cirrhosis of the liver and esophageal varices. A prospective multicenter study. The North Italian Endoscopic Club for the Study and Treatment of Esophageal Varices. *N Engl J Med*. 1988 Oct 13;319(15):983-989.
95. Kleber G, Sauerbruch T, Ansari H, Paumgartner G. Prediction of variceal hemorrhage in cirrhosis: a prospective follow-up study. *Gastroenterology*. 1991 May;100(5 Pt 1):1332-1337.
96. Ready JB, Rector WG. Morbidity and mortality of portal hypertension. *Drugs*. 1989;37 Suppl 2:13-24; discussion 47.
97. Abraldes JG, Dell'Era A, Bosch J. Medical management of variceal bleeding in patients with cirrhosis. *Can J Gastroenterol*. 2004 Feb;18(2):109-113.
98. Bosch J, Abraldes JG. Management of gastrointestinal bleeding in patients with cirrhosis of the liver. *Semin Hematol*. 2004 Jan;41(1 Suppl 1):8-12.
99. Graham DY, Smith JL. The course of patients after variceal hemorrhage. *Gastroenterology*. 1981 Apr;80(4):800-809.
100. Carrion JA, Bellot P, Colmenero J, Garcia Pagan JC. Large spontaneous splenorenal shunt as a cause of chronic hepatic encephalopathy. *J Hepatol*. 2004 May;40(5):868.
101. Ohnishi K, Sato S, Saito M, Terabayashi H, Nakayama T, Saito M, et al. Clinical and portal hemodynamic features in cirrhotic patients having a large spontaneous splenorenal and/or gastrorenal shunt. *Am J Gastroenterol*. 1986 Jun;81(6):450-455.

102. Arroyo V, Gines P, Gerbes AL, Dudley FJ, Gentilini P, Laffi G, et al. Definition and diagnostic criteria of refractory ascites and hepatorenal syndrome in cirrhosis. *International Ascites Club. Hepatology*. 1996 Jan;23(1):164-176.
103. Henriksen JH. Cirrhosis: ascites and hepatorenal syndrome. Recent advances in pathogenesis. *J Hepatol*. 1995;23 Suppl 1:25-30.
104. Arroyo V, Jimenez W. Complications of cirrhosis. II. Renal and circulatory dysfunction. Lights and shadows in an important clinical problem. *J Hepatol*. 2000;32(1 Suppl):157-170.
105. Conn HO. Spontaneous Peritonitis and Bacteremia in Laennec's Cirrhosis Caused by Enteric Organisms. A Relatively Common but Rarely Recognized Syndrome. *Ann Intern Med*. 1964 Apr;60:568-580.
106. Kerr DN, Pearson DT, Read AE. Infection of Ascitic Fluid in Patients with Hepatic Cirrhosis. *Gut*. 1963 Dec;41:394-398.
107. Runyon BA, Squier S, Borzio M. Translocation of gut bacteria in rats with cirrhosis to mesenteric lymph nodes partially explains the pathogenesis of spontaneous bacterial peritonitis. *J Hepatol*. 1994 Nov;21(5):792-796.
108. Wong F, Bernardi M, Balk R, Christman B, Moreau R, Garcia-Tsao G, et al. Sepsis in cirrhosis: report on the 7th meeting of the International Ascites Club. *Gut*. 2005 May;54(5):718-725.
109. Cardenas A. Hepatorenal syndrome: a dreaded complication of end-stage liver disease. *Am J Gastroenterol*. 2005 Feb;100(2):460-467.
110. Gines P, Arroyo V. Hepatorenal syndrome. *J Am Soc Nephrol*. 1999 Aug;10(8):1833-1839.
111. Abraldes JG, Tarantino I, Turnes J, Garcia-Pagan JC, Rodes J, Bosch J. Hemodynamic response to pharmacological treatment of portal hypertension and long-term prognosis of cirrhosis. *Hepatology*. 2003 Apr;37(4):902-908.
112. Villanueva C, Lopez-Balaguer JM, Aracil C, Kolle L, Gonzalez B, Minana J, et al. Maintenance of hemodynamic response to treatment for portal hypertension and influence on complications of cirrhosis. *J Hepatol*. 2004 May;40(5):757-765.
113. Lebrec D, Nouel O, Bernuau J, Bouygues M, Rueff B, Benhamou JP. Propranolol in prevention of recurrent gastrointestinal bleeding in cirrhotic patients. *Lancet*. 1981 Apr 25;1(8226):920-921.
114. Lebrec D, Poynard T, Hillon P, Benhamou JP. Propranolol for prevention of recurrent gastrointestinal bleeding in patients with cirrhosis: a controlled study. *N Engl J Med*. 1981 Dec 3;305(23):1371-1374.
115. Oberti F, Rifflet H, Maiga MY, Pilette C, Gallois Y, Douay O, et al. Prevention of portal hypertension by propranolol and spironolactone in rats with bile duct ligation. *J Hepatol*. 1997 Jan;26(1):167-173.
116. Bosch J, Masti R, Kravetz D, Bruix J, Gaya J, Rigau J, et al. Effects of propranolol on azygos venous blood flow and hepatic and systemic hemodynamics in cirrhosis. *Hepatology*. 1984 Nov-Dec;4(6):1200-1205.
117. Cales P, Braillon A, Jiron MI, Lebrec D. Superior portosystemic collateral circulation estimated by azygos blood flow in patients with cirrhosis. Lack of correlation with oesophageal varices and gastrointestinal bleeding. Effect of propranolol. *J Hepatol*. 1985;1(1):37-46.



118. Garcia-Tsao G, Grace ND, Groszmann RJ, Conn HO, Bermann MM, Patrick MJ, et al. Short-term effects of propranolol on portal venous pressure. *Hepatology*. 1986 Jan-Feb;6(1):101-106.
119. Vorobioff J, Picabea E, Villavicencio R, Puccini V, Rossi O, Bordato J, et al. Acute and chronic hemodynamic effects of propranolol in unselected cirrhotic patients. *Hepatology*. 1987 Jul-Aug;7(4):648-653.
120. Pereira O, Garcia-Pagan JC, Feu F, Cirera I, Luca A, Rodes J. Factors influencing the portal pressure response of propranolol administration in patients with cirrhosis. *Hepatology*. 1991;14:133A.
121. Bosch J, Bordas JM, Mastai R, Kravetz D, Navasa M, Chesta J, et al. Effects of vasopressin on the intravariceal pressure in patients with cirrhosis: comparison with the effects on portal pressure. *Hepatology*. 1988 Jul-Aug;8(4):861-865.
122. D'Amico G, Pagliaro L, Bosch J. The treatment of portal hypertension: a meta-analytic review. *Hepatology*. 1995 Jul;22(1):332-354.
123. Groszmann RJ, Kravetz D, Bosch J, Glickman M, Bruix J, Bredfeldt J, et al. Nitroglycerin improves the hemodynamic response to vasopressin in portal hypertension. *Hepatology*. 1982 Nov-Dec;2(6):757-762.
124. Tyden G, Sammegard H, Thulin L, Friman L, Efendic S. Treatment of bleeding esophageal varices with somatostatin. *N Engl J Med*. 1978 Dec 28;299(26):1466-1467.
125. Bosch J, Kravetz D, Mastai R, Navasa M, Silva G, Chesta J, et al. Effects of somatostatin in patients with portal hypertension. *Horm Res*. 1988;29(2-3):99-102.
126. Cirera I, Feu F, Luca A, Garcia-Pagan JC, Fernandez M, Escorsell A, et al. Effects of bolus injections and continuous infusions of somatostatin and placebo in patients with cirrhosis: a double-blind hemodynamic investigation. *Hepatology*. 1995 Jul;22(1):106-111.
127. Sheppard M, Shapiro B, Pimstone B, Kronheim S, Berelowitz M, Gregory M. Metabolic clearance and plasma half-disappearance time of exogenous somatostatin in man. *J Clin Endocrinol Metab*. 1979 Jan;48(1):50-53.
128. Bosch J, Lebec D, Jenkins SA. Development of analogues: successes and failures. *Scand J Gastroenterol Suppl*. 1998;226:3-13.
129. Hayes PC, Westaby D, Williams R. Effect and mechanism of action of isosorbide-5-mononitrate. *Gut*. 1988 Jun;29(6):752-755.
130. Kroeger RJ, Groszmann RJ. The effect of the combination of nitroglycerin and propranolol on splanchnic and systemic hemodynamics in a portal hypertensive rat model. *Hepatology*. 1985 May-Jun;5(3):425-430.
131. Garcia-Pagan JC, Feu F, Navasa M, Bru C, Ruiz del Arbol L, Bosch J, et al. Long-term haemodynamic effects of isosorbide 5-mononitrate in patients with cirrhosis and portal hypertension. *J Hepatol*. 1990 Sep;11(2):189-195.
132. Angelico M, Carli L, Piat C, Gentile S, Capocaccia L. Effects of isosorbide-5-mononitrate compared with propranolol on first bleeding and long-term survival in cirrhosis. *Gastroenterology*. 1997 Nov;113(5):1632-1639.
133. Salmeron JM, Ruiz del Arbol L, Gines A, Garcia-Pagan JC, Gines P, Feu F, et al. Renal effects of acute isosorbide-5-mononitrate administration in cirrhosis. *Hepatology*. 1993 May;17(5):800-806.

134. Garcia-Pagan JC, Feu F, Bosch J, Rodes J. Propranolol compared with propranolol plus isosorbide-5-mononitrate for portal hypertension in cirrhosis. A randomized controlled study. *Ann Intern Med.* 1991 May 15;114(10):869-873.
135. Bosch J. Decreasing hepatic vascular tone by liver-specific NO donors: wishful thinking or a promising reality? *J Hepatol.* 2003 Dec;39(6):1072-1075.
136. Fiorucci S, Antonelli E, Morelli O, Mencarelli A, Casini A, Mello T, et al. NCX-1000, a NO-releasing derivative of ursodeoxycholic acid, selectively delivers NO to the liver and protects against development of portal hypertension. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2001 Jul 17;98(15):8897-8902.
137. Albillos A, Lledo JL, Banares R, Rossi I, Iborra J, Calleja JL, et al. Hemodynamic effects of alpha-adrenergic blockade with prazosin in cirrhotic patients with portal hypertension. *Hepatology.* 1994 Sep;20(3):611-617.
138. Albillos A, Lledo JL, Rossi I, Perez-Paramo M, Tabuenca MJ, Banares R, et al. Continuous prazosin administration in cirrhotic patients: effects on portal hemodynamics and on liver and renal function. *Gastroenterology.* 1995 Oct;109(4):1257-1265.
139. Willett IR, Esler M, Jennings G, Dudley FJ. Sympathetic tone modulates portal venous pressure in alcoholic cirrhosis. *Lancet.* 1986 Oct 25;2(8513):939-943.
140. Moreau R, Lee SS, Hadengue A, Braillon A, Lebrec D. Hemodynamic effects of a clonidine-induced decrease in sympathetic tone in patients with cirrhosis. *Hepatology.* 1987 Jan-Feb;7(1):149-154.
141. Roulot D, Moreau R, Gaudin C, Bacq Y, Braillon A, Hadengue A, et al. Long-term sympathetic and hemodynamic responses to clonidine in patients with cirrhosis and ascites. *Gastroenterology.* 1992 Apr;102(4 Pt 1):1309-1318.
142. Banares R, Moitinho E, Piqueras B, Casado M, Garcia-Pagan JC, de Diego A, et al. 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 Jul;30(1):79-83.
143. Ballet F, Chretien Y, Rey C, Poupon R. Differential response of normal and cirrhotic liver to vasoactive agents. A study in the isolated perfused rat liver. *J Pharmacol Exp Ther.* 1988 Jan;244(1):283-289.
144. Pinzani M, Failli P, Ruocco C, Casini A, Milani S, Baldi E, et al. Fat-storing cells as liver-specific pericytes. Spatial dynamics of agonist-stimulated intracellular calcium transients. *J Clin Invest.* 1992 Aug;90(2):642-646.
145. Braillon A, Cailmail S, Gaudin C, Lebrec D. Reduced splanchnic vasoconstriction to angiotensin II in conscious rats with biliary cirrhosis. *J Hepatol.* 1993 Jan;17(1):86-90.
146. Helmy A, Newby DE, Jalan R, Johnston NR, Hayes PC, Webb DJ. Nitric oxide mediates the reduced vasoconstrictor response to angiotensin II in patients with preascitic cirrhosis. *J Hepatol.* 2003 Jan;38(1):44-50.
147. Lefkowitz RJ. G protein-coupled receptors. III. New roles for receptor kinases and beta-arrestins in receptor signaling and desensitization. *J Biol Chem.* 1998 Jul 24;273(30):18677-18680.
148. Unger T, Chung O, Csikos T, Culman J, Gallinat S, Gohlke P, et al. Angiotensin receptors. *J Hypertens Suppl.* 1996 Dec;14(5):S95-103.

149. Carey RM. Update on the role of the AT2 receptor. *Curr Opin Nephrol Hypertens*. 2005 Jan;14(1):67-71.
150. Carey RM, Wang ZQ, Siragy HM. Update: role of the angiotensin type-2 (AT(2)) receptor in blood pressure regulation. *Curr Hypertens Rep*. 2000 Apr;2(2):198-201.
151. Widdop RE, Jones ES, Hannan RE, Gaspari TA. Angiotensin AT2 receptors: cardiovascular hope or hype? *Br J Pharmacol*. 2003 Nov;140(5):809-824.
152. Wei H, Lu H, Li D, Zhan Y, Wang Z, Huang X. The expression of AT1 receptor on hepatic stellate cells in rat fibrosis induced by CCl4. *Chin Med J (Engl)*. 2001 Jun;114(6):583-587.
153. Bataller R, Gines P, Nicolas JM, Gorbig MN, Garcia-Ramallo E, Gasull X, et al. Angiotensin II induces contraction and proliferation of human hepatic stellate cells. *Gastroenterology*. 2000 Jun;118(6):1149-1156.
154. Ikura Y, Ohsawa M, Shirai N, Sugama Y, Fukushima H, Suekane T, et al. Expression of angiotensin II type 1 receptor in human cirrhotic livers: Its relation to fibrosis and portal hypertension. *Hepatol Res*. 2005 May 16.
155. Saito S, Hirata Y, Emori T, Imai T, Marumo F. Angiotensin II activates endothelial constitutive nitric oxide synthase via AT1 receptors. *Hypertens Res*. 1996 Sep;19(3):201-206.
156. Marrero MB, Venema VJ, Ju H, He H, Liang H, Caldwell RB, et al. Endothelial nitric oxide synthase interactions with G-protein-coupled receptors. *Biochem J*. 1999 Oct 15;343 Pt 2:335-340.
157. Schroeder ET, Anderson GH, Goldman SH, Streeten DH. Effect of blockade of angiotensin II on blood pressure, renin and aldosterone in cirrhosis. *Kidney Int*. 1976 Jun;9(6):511-519.
158. Arroyo V, Bosch J, Mauri M, Ribera F, Navarro-Lopez F, Rodes J. Effect of angiotensin-II blockade on systemic and hepatic haemodynamics and on the renin-angiotensin-aldosterone system in cirrhosis with ascites. *Eur J Clin Invest*. 1981 Jun;11(3):221-229.
159. Christen Y, Waeber B, Nussberger J, Porchet M, Borland RM, Lee RJ, et al. Oral administration of DuP 753, a specific angiotensin II receptor antagonist, to normal male volunteers. Inhibition of pressor response to exogenous angiotensin I and II. *Circulation*. 1991 Apr;83(4):1333-1342.
160. Tsunoda K, Abe K, Hagino T, Omata K, Misawa S, Imai Y, et al. Hypotensive effect of losartan, a nonpeptide angiotensin II receptor antagonist, in essential hypertension. *Am J Hypertens*. 1993 Jan;6(1):28-32.
161. Schneider AW, Kalk JF, Klein CP. Effect of losartan, an angiotensin II receptor antagonist, on portal pressure in cirrhosis. *Hepatology*. 1999 Feb;29(2):334-339.
162. Garcia-Tsao G. Angiotensin II receptor antagonists in the pharmacological therapy of portal hypertension: a caution. *Gastroenterology*. 1999 Sep;117(3):740-742.
163. Schepke M, Werner E, Biecker E, Schiedermaier P, Heller J, Neef M, et al. Hemodynamic effects of the angiotensin II receptor antagonist irbesartan in patients with cirrhosis and portal hypertension. *Gastroenterology*. 2001 Aug;121(2):389-395.
164. Gonzalez-Abraldes J, Albillos A, Banares R, Del Arbol LR, Moitinho E, Rodriguez C, et al. Randomized comparison of long-term losartan versus propranolol in lowering portal pressure in cirrhosis. *Gastroenterology*. 2001 Aug;121(2):382-388.

165. Debernardi-Venon W, Barletti C, Alessandria C, Marzano A, Baronio M, Todros L, et al. Efficacy of irbesartan, a receptor selective antagonist of angiotensin II, in reducing portal hypertension. *Dig Dis Sci*. 2002 Feb;47(2):401-404.
166. De BK, Bandyopadhyay K, Das TK, Das D, Biswas PK, Majumdar D, et al. Portal pressure response to losartan compared with propranolol in patients with cirrhosis. *Am J Gastroenterol*. 2003 Jun;98(6):1371-1376.
167. Castano G, Viudez P, Riccitelli M, Sookoian S. A randomized study of losartan vs propranolol: Effects on hepatic and systemic hemodynamics in cirrhotic patients. *Ann Hepatol*. 2003 Jan-Mar;2(1):36-40.
168. Croquet V, Moal F, Veal N, Wang J, Oberti F, Roux J, et al. Hemodynamic and antifibrotic effects of losartan in rats with liver fibrosis and/or portal hypertension. *J Hepatol*. 2002 Dec;37(6):773-780.
169. Kountouras J, Billing BH, Scheuer PJ. Prolonged bile duct obstruction: a new experimental model for cirrhosis in the rat. *Br J Exp Pathol*. 1984 Jun;65(3):305-311.
170. Lee SS, Girod C, Brailon A, Hadengue A, Lebrec D. Hemodynamic characterization of chronic bile duct-ligated rats: effect of pentobarbital sodium. *Am J Physiol*. 1986 Aug;251(2 Pt 1):G176-180.
171. Van de Casteele M, Sagesser H, Zimmermann H, Reichen J. Characterisation of portal hypertension models by microspheres in anaesthetised rats: a comparison of liver flow. *Pharmacol Ther*. 2001 Apr;90(1):35-43.
172. Heller J, Shiozawa T, Trebicka J, Hennenberg M, Schepke M, Neef M, et al. Acute haemodynamic effects of losartan in anaesthetized cirrhotic rats. *Eur J Clin Invest*. 2003 Nov;33(11):1006-1012.
173. Yang YY, Lin HC, Huang YT, Lee TY, Hou MC, Lee FY, et al. Effect of 1-week losartan administration on bile duct-ligated cirrhotic rats with portal hypertension. *J Hepatol*. 2002 May;36(5):600-606.
174. Bunkenburg B, Schnell C, Baum HP, Cumin F, Wood JM. Prolonged angiotensin II antagonism in spontaneously hypertensive rats. Hemodynamic and biochemical consequences. *Hypertension*. 1991 Sep;18(3):278-288.
175. Fenoy FJ, Milicic I, Smith RD, Wong PC, Timmermans PB, Roman R. Effects of DuP 753 on renal function of normotensive and spontaneously hypertensive rats. *Am J Hypertens*. 1991 Apr;4(4 Pt 2):321S-326S.
176. Hakkinen JP, Miller MW, Smith AH, Knight DR. Measurement of organ blood flow with coloured microspheres in the rat. *Cardiovasc Res*. 1995 Jan;29(1):74-79.
177. Seyde WC, Longnecker DE. Anesthetic influences on regional hemodynamics in normal and hemorrhaged rats. *Anesthesiology*. 1984 Dec;61(6):686-698.
178. Kojima H, Yamao J, Tsujimoto T, Uemura M, Takaya A, Fukui H. Mixed endothelin receptor antagonist, SB209670, decreases portal pressure in biliary cirrhotic rats in vivo by reducing portal venous system resistance. *J Hepatol*. 2000 Jan;32(1):43-50.
179. D'Almeida MS, Cailmail S, Lebrec D. Validation of transit-time ultrasound flow probes to directly measure portal blood flow in conscious rats. *Am J Physiol*. 1996 Dec;271(6 Pt 2):H2701-2709.
180. Geraghty JG, Angerson WJ, Carter DC. Portal venous pressure and portasystemic shunting in experimental portal hypertension. *Am J Physiol*. 1989 Jul;257(1 Pt 1):G52-57.

181. Poynard T, Cales P, Pasta L, Ideo G, Pascal JP, Pagliaro L, et al. Beta-adrenergic-antagonist drugs in the prevention of gastrointestinal bleeding in patients with cirrhosis and esophageal varices. An analysis of data and prognostic factors in 589 patients from four randomized clinical trials. Franco-Italian Multicenter Study Group. *N Engl J Med*. 1991 May 30;324(22):1532-1538.
182. Diep QN, El Mabrouk M, Yue P, Schiffrin EL. Effect of AT(1) receptor blockade on cardiac apoptosis in angiotensin II-induced hypertension. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2002 May;282(5):H1635-1641.
183. Vaziri ND, Wang XQ, Ni ZN, Kivlighn S, Shahinfar S. Effects of aging and AT-1 receptor blockade on NO synthase expression and renal function in SHR. *Biochim Biophys Acta*. 2002 Oct 21;1592(2):153-161.
184. Zhou XJ, Vaziri ND, Zhang J, Wang HW, Wang XQ. Association of renal injury with nitric oxide deficiency in aged SHR: prevention by hypertension control with AT1 blockade. *Kidney Int*. 2002 Sep;62(3):914-921.
185. Heller J, Trebicka J, Shiozawa T, Schepke M, Neef M, Hennenberg M, et al. Vascular, hemodynamic and renal effects of low-dose losartan in rats with secondary biliary cirrhosis. *Liver Int*. 2005 Jun;25(3):657-666.
186. Heller J, Trebicka J, Shiozawa T, Schepke M, Neef M, Sauerbruch T. Low dose losartan reduces portal pressure, improves kidney function and vascular contractility in cirrhotic rats without affecting arterial pressure. *J Hepatol*. 2002;36:A53.
187. Crespo MJ. Interaction between AT1 and alpha1-adrenergic receptors in cardiomyopathic hamsters. *J Card Fail*. 2000 Sep;6(3):257-263.
188. Jerez S, Peral de Bruno M, Coviello A. Cross talk between angiotensin II and alpha 1 adrenergic receptors in rabbit aorta: role of endothelium. *J Cardiovasc Pharmacol*. 2004 Mar;43(3):402-409.
189. Girgrah N, Liu P, Collier J, Blendis L, Wong F. Haemodynamic, renal sodium handling, and neurohormonal effects of acute administration of low dose losartan, an angiotensin II receptor antagonist, in preascitic cirrhosis. *Gut*. 2000 Jan;46(1):114-120.
190. Wong F, Liu P, Blendis L. The mechanism of improved sodium homeostasis of low-dose losartan in preascitic cirrhosis. *Hepatology*. 2002 Jun;35(6):1449-1458.
191. McIntyre M, Caffè SE, Michalak RA, Reid JL. Losartan, an orally active angiotensin (AT1) receptor antagonist: a review of its efficacy and safety in essential hypertension. *Pharmacol Ther*. 1997;74(2):181-194.
192. Bataller R, Gabele E, Schoonhoven R, Morris T, Lehnert M, Yang L, et al. Prolonged infusion of angiotensin II into normal rats induces stellate cell activation and proinflammatory events in liver. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 2003 Sep;285(3):G642-651.
193. Yang L, Bataller R, Dulyx J, Coffman TM, Gines P, Rippe RA, et al. Attenuated hepatic inflammation and fibrosis in angiotensin type 1a receptor deficient mice. *J Hepatol*. 2005 Aug;43(2):317-323.
194. Bataller R, Schwabe RF, Choi YH, Yang L, Paik YH, Lindquist J, et al. NADPH oxidase signal transduces angiotensin II in hepatic stellate cells and is critical in hepatic fibrosis. *J Clin Invest*. 2003 Nov;112(9):1383-1394.

195. Ramalho LN, Ramalho FS, Zucoloto S, Castro-e-Silva Junior O, Correa FM, Elias Junior J, et al. Effect of losartan, an angiotensin II antagonist, on secondary biliary cirrhosis. *Hepatogastroenterology*. 2002 Nov-Dec;49(48):1499-1502.
196. Peters H, Border WA, Noble NA. Targeting TGF-beta overexpression in renal disease: maximizing the antifibrotic action of angiotensin II blockade. *Kidney Int*. 1998 Nov;54(5):1570-1580.
197. Matsuoka M, Tsukamoto H. Stimulation of hepatic lipocyte collagen production by Kupffer cell-derived transforming growth factor beta: implication for a pathogenetic role in alcoholic liver fibrogenesis. *Hepatology*. 1990 Apr;11(4):599-605.
198. Wei YH, Jun L, Qiang CJ. Effect of losartan, an angiotensin II antagonist, on hepatic fibrosis induced by CCl4 in rats. *Dig Dis Sci*. 2004 Oct;49(10):1589-1594.
199. Sookoian S, Castano G, Garcia SI, Viudez P, Gonzalez C, Pirola CJ. A1166C angiotensin II type 1 receptor gene polymorphism may predict hemodynamic response to losartan in patients with cirrhosis and portal hypertension. *Am J Gastroenterol*. 2005 Mar;100(3):636-642.