

DISFUNCTIA ENDOTELIALĂ. SURSA MODIFICĂRILOR PATOGENICE ȘI A PROGRESIEI CLINICE ÎN HIPERTENSIUNEA PORTALĂ

Dr. Laura Bozomitu¹, Prof. Dr. Evelina Moraru², Dr. Bogdan Stana²,
Dr. Alice Grudnicki², Dr. Ana-Maria Luchian², Prof. Dr. Dan Moraru¹

¹Clinica III Pediatrie, UMF „Gr. T. Popa“, Iași,

²Spitalul Clinic de Urgență pentru Copii „Sf. Maria“, Iași

REZUMAT

Hipertensiunea portală (HTP) este responsabilă pentru cele mai severe și chiar letale complicații ale bolii hepatice cronice și cirozei. Pe lângă modificările structurale și funcționale hepatice regăsite în HTP, abordările patogenice actuale au demonstrat o implicare inițială a structurilor vasculare hepatice. Disfuncția endotelială are drept consecințe alterarea tonusului vascular, creșterea rezistenței vasculare intrahepatice și dezvoltarea unei circulații hiperdinamice. Oxidul nitric, endotelina, factorii vasoconstrictori derivați din endoteliu sunt substanțele vasoactive secretate de endoteliul vascular ca răspuns la stimuli umorali și biomecanici care afectează atât funcția cât și structura mușchiului neted vascular. Noii agenți farmacologici utilizați în terapia disfuncției endoteliale acționează prin reducerea rezistenței vasculare intrahepatice (prin creșterea biodisponibilității substanțelor vasoactive) și scăderea fluxului sanguin splanhnic.

Cuvinte cheie: disfuncția endotelială, modificări structurale și funcționale hepatice, hipertensiune portală, copil

ABSTRACT

Portal hypertension (PHT) is responsible for the more severe and even lethal complications of chronic liver disease and cirrhosis. Among structural and functional changes of the liver in portal hypertension, recent pathogenic approaches show an initial involvement of the hepatic vascular structures. Endothelial dysfunction results in impaired vascular tone, increased intrahepatic vascular resistance and development of hyperdynamic circulation. Nitric oxide, endothelin, endothelial-derived contracting factors are powerful vasoactive substances released from the endothelium in response to both humoral and mechanical stimuli that can profoundly affect both the function and structure of the underlying vascular smooth muscle. Pharmacotherapy for PHT is aimed at decreasing both intrahepatic vascular resistance (increase bioavailability of vasoactive substances) and reducing elevated splanchnic blood flow.

Keywords: endothelial dysfunction, structural and functional changes of the liver, portal hypertension, child

Hipertensiunea portală reprezintă substratul fiziopatologic al unor complicații severe, uneori chiar letale ale bolii hepatice cronice și ale cirozei hepatice. Scăderea presiunii sanguine portale s-a dovedit a scădea riscul apariției complicațiilor pe termen lung.

Disfuncția endotelială în bolile hepatice și hipertensiunea portală trebuie înțeleasă printr-o relație permanentă cu endoteliul extrahepatic. Există două componente majore ale sistemului vascular, al căror dezechilibru duce la inițierea, instalarea și persistența hipertensiunii portale: sistemul vascular intrahepatic și sistemul vascular extrahepatic, într-o directă relație morfologică și funcțională. Afectarea uneia din componente (cel mai frecvent a componente intrahepatice) prin distrugerea arhitecturii hepatice din bolile cronice, produce o reacție inițial

compensatorie din partea celeilalte componente, cu răsunet clinic moderat inițial, dar ulterior manifestările clinice redau dramatic instalarea dezechilibrului microvascular hepatic.

Rolul considerabil în patogeneza hipertensiunii portale este atribuit disfuncției endoteliale vasculare. La pacienții cu HTP disfuncția endotelială are drept consecințe reducerea activității substanțelor vasodilatatoare, antiagregante și antiadezive (oxid nitric, prostaciclina) și o creștere a producției substanțelor vasoconstrictoare și vasoproliferative (în special endoteline) în circulația intrahepatică. Pe de altă parte, agenții vasodilatatori sunt hipersecretați în circulația splanhnică și sistemică și sunt diminuați puternic în ficat, determinând o creștere a rezistenței vasculare intrahepatice și a fluxului sanguin portal, urmate ulterior de creșterea presiunii sanguine

portale și de dezvoltarea unui sindrom hiperkinetic (circulație hiperdinamică).

ENDOTELIUL VASCULAR ȘI PARTICULARITĂȚILE LA NIVELUL CIRCULAȚIEI HEPATICE

Sinusoidale hepatice pot fi considerate structuri unice, care diferă de alte sisteme vasculare capilare din organism, datorită prezenței fenestrațiilor parietale și absenței laminei bazale subendoteliale. Fenestrațiile endoteliale (porii), descrise inițial de Wisse în 1970, măsoară 150-175 nm în diametru, apar la o frecvență de 9-13 pe mm^3 și ocupă 6-8% din suprafața endotelială, după cum s-a arătat în studii electrono-microscopice (1) (Figura 1). S-a observat o variație a diametrului fenestrațiilor endoteliale și a frecvenței acestora în funcție de localizare: în zona centrolobulară diametrul porilor scade, iar frecvența acestora crește, în timp ce în zona periportală fenestrațiile sunt rare și mari (2). De asemenea, studii ultrastructurale ale celulelor endoteliale au relevat prezența unor vezicule intracitoplasmice și a unor vacuole pseudo-lizozomale, sugerând o intensă activitate endocitotică. Nucleul poate conține un corp rezidual, denumit *sferidium* (3).

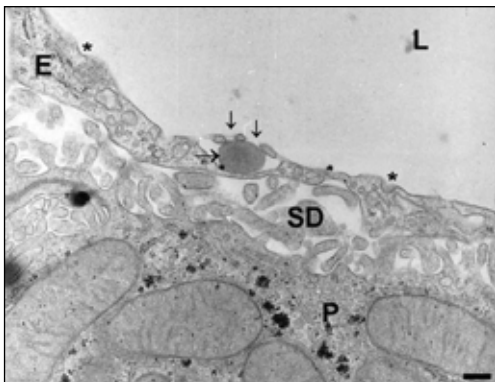


Figura 1
Aspect electrono-microscopic al sinusoidului hepatic (șobolan). Lumenul vascular (L) este limitat de endoteliu (E), ce prezintă numeroase fenestrații (săgeți mici) și invaginări (asterisc). Săgeata mare indică o particulă lipidică ce a trecut bariera endotelială, ilustrând rolul de „sită” al endoteliului. Spațiul Disse (SD) conține numeroase prelungiri ale celulelor parenchimale (P). Scara etalon = 300 nm. [Din Braet F, Wisse E: Structural and functional aspects of liver sinusoidal endothelial cell fenestrae: a review, *Comparative Hepatology*, 2002;1:1, colecția Dr. R. de Zanger] (3).

Endoteliul capilar joacă un rol activ și central în reglarea schimburilor de macromolecule, fluide și electroliți între sânge și parenchimul hepatic. Un alt element particular ultrastructural al sinusoidului hepatic îl reprezintă absența unei membrane bazale subendoteliale, care există la capilarul clasic. Având la bază ultrastructura endoteliului vascular hepatic

și constatările fiziopatologice, s-a stabilit faptul că fenestrațiile endoteliale realizează un „filtru dinamic”, prin care trec fluide, electroliți și particule cu dimensiuni mai mici decât porii, dinspre lumenul endotelial către spațiul Disse. Un al doilea rol important este cel de endocitoză și transcitoză, celulele endoteliale înglobând și transportând constituenți sanguini în ambele sensuri (4, 5).

În dezvoltarea ontogenetică fenestrațiile sinusoidale apar precoce și prezintă o structură pseudo-diafragmatică, până în ziua 16 de gestație. Ulterior, încep să apară fenestrații de tip adult, dar distribuția acestora este de trei ori mai mare în zona centrolobulară decât în cea periportală. Această diferență de distribuție dispăre în timp după naștere, fenestrațiile mari fiind înlocuite cu cele de tip adult. Variațiile zonale ale tipului de fenestrare sugerează că încă din perioada fetală există o individualizare a endoteliului microcirculației hepatice. Fenestrațiile mari din zona periportală dispar în perioada fetală ce corespunde cu reducerea activității hematopoietice, iar cele din zona centrolobulară persistă chiar și în perioada de nou-născut, până când activitatea hematopoietică dispăre în totalitate; aceasta este logica fenestrațiilor cu rol în pasajul transendotelial al nou-formatelor elemente figurate sanguine (6, 7). Există studii care au subliniat rolul de barieră filtrantă al endoteliului sinusoidal hepatic pentru diverși componenți metabolici încă din etapa fetală (8).

Fenestrațiile endoteliale sunt structuri dinamice, care variază ca dimensiune și număr în funcție de acțiunea a o serie de stimuli: hormoni, medicamente, toxine, diverse stări patologice (Tabelul 1). Integritatea structurală a endoteliului hepatic este esențială pentru menținerea unui schimb normal de fluide, electroliți, metaboliți între hepatocite și sânge.

Mecanismele care influențează diametrul porilor endoteliali și numărul acestora sunt încă incomplet elucidate. Primele studii privind contracția-relaxarea fenestrațiilor au apărut încă din anii 1980, semnându-se implicarea filamentelor de actină și ulterior a complexului calciu-calmodulină-actomiozină (9). A fost descrisă și o structură în formă de inel (FACR – *fenestrae-associated cytoskeleton ring*), formată din filamente de actină și miozină cuplate la citoscheletul adiacent, răspunzătoare de contracția și relaxarea fenestrațiilor (10, 11). Efectele altor mediatori (serotonină, prostaglandină E1, endotelină) asupra permeabilității endoteliului sinusoidal au fost explicate la nivel molecular prin acțiunea asupra canalelor de calciu și inițierea contracției celulare (12, 13). (Figura 2).

Tabelul 1

Condiții fiziopatologice și stimuli experimentali care influențează diametrul și numărul fenestrațiilor sinusoidale hepatice. Legenda: „+“ = da, „-“ = nu, „?“ = nu există date concludente în literatură. [După Braet F, Wisse E: Structural and functional aspects of liver sinusoidal endothelial cell fenestrae: a review, Comparative Hepatology, 2002;1:1] (3).

Substanțe implicate în statusul fenestrațiilor	Diametru		Număr	
	Creștere	Scădere	Creștere	Scădere
Acetilcolină	+	-	?	?
Adrenalină	-	+	?	?
Betanechol	+	-	?	?
Antagonist calmodulină W-7	+	-	?	?
Tetraclorură de carbon	+	-	-	+
Cocaină combinată cu etanol	?	?	-	+
Colagen IV-V	-	-	+	-
Cytochalasină B	+	+	+	-
Endotelină	-	+	-	+
Endotoxină	+	+	+	+
Etanol, administrare acută	+	-	-	-
Etanol, administrare cronică	+	-	-	+
Steatoză hepatică	?	?	-	+
Hipoxie	+	-	?	?
Hepatectomie	+	-	-	+
Hepatită virală	-	+	-	+
Ionofor A23187	-	+	?	?
Iradie	+	-	?	?
Isoproterenol	+	-	?	?
Neuropeptid Y	-	+	?	?
Noradrenalină	-	+	?	?
Nicotină	-	+	-	+
Pantetină	+	-	?	?
Presiunea de perfuzie	+	-	?	?
Prostaglandina E1	+	-	?	?
Serotonina	-	+	?	?
Swinholide A	-	+	+	-
Temperatura, 4°C	?	?	-	+
Thioacetamida	-	+	-	+
Celulele tumorale	-	+	-	+
Factorul de necroză tumorală α	?	?	-	+
Peptidul vasoactiv intestinal	+	-	?	?

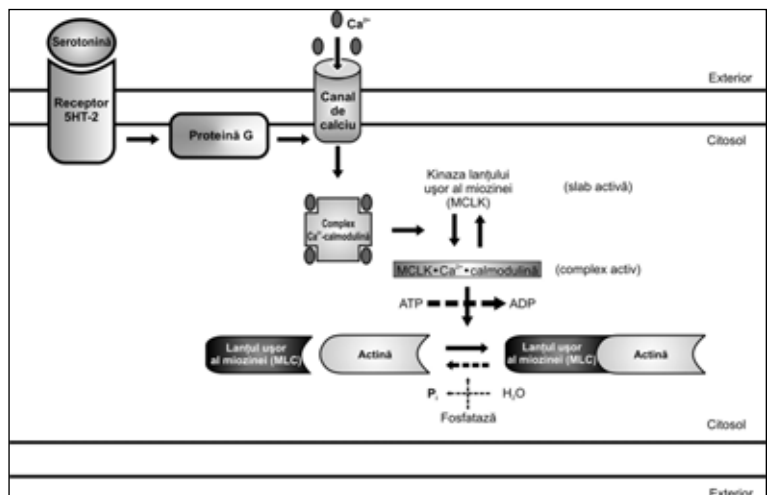


Figura 2

Mecanismul contracției endoteliale prin calea serotoninergică (după Gatmaitan et. al) (14). Serotonina se leagă de un 5HT-2 receptor cuplat cu o proteină G; se deschide un canal de calciu și se realizează un influx de ioni de calciu, care apoi se leagă de calmodulină. Complexul calciu-calmodulină activează kinaza lanțului ușor al miozinei (MLCK), rezultând fosforilarea lanțului ușor al miozinei (MLC) și activitate crescută a miozin-ATP-azei, inițiind contracția.

Mecanismul relaxării fenestrațiilor e mai puțin cunoscut și implică probabil defosforilarea lanțului ușor al miozinei, scăderea calciului citosolic și

disocierea din complexul Ca-calmodulină, inactivarea kinazei lanțului ușor al miozinei, urmată de relaxare.

Pe lângă acțiunea unor factori endogeni sau exogeni de contracție sau relaxare endotelială, s-a observat și faptul că fenestrațiile endoteliale sunt structuri inductibile. Există studii în care anumite substanțe (*cytochalasina B*, *lantruculina A*, *swinholid*, *halichondramide*) realizează o alterare a citoscheletului endotelial, cu realizarea de noi fenestrații (15). Utilizarea acestora ca resursă terapeutică este deocamdată în studiu.

SUBSTANȚE VASOACTIVE IMPLICATE SPECIFIC

Rezistența vasculară intrahepatică este reglată în mare parte de compuși cu rol vasodilatator și vasoconstrictor, cum sunt endotelina și NO.

Endotelinele sunt peptide formate din 21 aminoacizi produse într-o varietate de celule și grupate în 3 mari tipuri: endotelinele 1, 2 și 3. Endotelina 1 (ET-1), singurul tip produs în celulele endoteliale și de asemenea în celulele musculare netede, are rol important în modularea răspunsului vascular la diverși stimuli, prin aceasta fiind un actor-cheie în fiziopatologia bolii vasculare. Stimuli ca hipoxia, ischemia sau stress-ul parietal determinat de fluxul sanguin sunt declanșatori ai transcripției ARN-mesager al ET-1, urmând apoi secreția acesteia în timp de câteva minute.

Endotelina 1 (ET-1) este un peptid vasoactiv derivat din endotelium ce joacă un rol principal în modularea tonusului vascular la indivizii sănătoși, având și alte multiple efecte în situații patologice, incluzând stimularea creșterii și proliferării celulare și implicarea în fibrogenză. În ultima decadă s-a acordat o atenție deosebită posibilului rol al ET-1 în patogenia cirozei, contribuției sale la hipertensiunea portală și posibilităților terapeutice prin folosirea antagoniștilor de endotelină în ciroză și în complicațiile sale (16, 17). Nivelurile plasmatice de endotelină sunt crescute în ciroză, corelându-se cu severitatea bolii hepatice și hipertensiunii portale (18, 19). Circulația hepatosplahnică pare a fi sursa principală a producției crescute de endotelină (20, 21, 22, 23). În timp ce în condiții normale principala sursă de ET-1 este reprezentată de endotelium vascular normal, în ficatul cirotic sursele de endotelină par a fi celulele stelate activate sau colangiocitele – în boala colestatică. (24, 25). S-a avansat ipoteza că nivelurile crescute de endotelină contribuie la hipertensiunea portală atât prin contracția celulelor hepatice stelate, cât și prin creșterea tonusului sinusoidal hepatic. Într-adevăr, s-a demonstrat interacțiunea ET-1 cu celulele hepatice stelate: mitogenicitate, activarea protein kinazei mitogen activate și o rapidă creștere a calciului liber intracelular

cuplat cu contracția celulară (26). Toate aceste efecte par a fi mediate de receptori de tip ET_A, dar multe studii au arătat creșterea expresiei ambelor populații de receptori (ET_A și ET_B) în ciroză (16).

NO este un gaz hidrofob care difuzează liber prin membranele celulare și poate avea efecte autochrine și paracrine la distanțe de până la 100 mm. Are un timp de înjumătățire de 3-5 s și e rapid absorbit de proteinele ce conțin hem din circulație (27) NO este generat de enzima sintetaza oxidului nitric (NOS), fiind cunoscute 3 izoforme ale acesteia (28). Fiecare din cele 3 izoforme generează NO ca produs secundar al conversiei argininei la citrulină (29). Izoforma nNOS, exprimată în neuroni și izoforma eNOS – din celulele endoteliale răspund la stimuli fizici și biochimici, producând NO care duce la creșterea concentrației intracelulare de calciu. iNOS, a cărei expresie este indusă de citokine în macrofage sau alte tipuri celulare, nu influențează concentrația intracitoplasmatică de calciu, considerându-se a avea o activitate mai degrabă enzimatică, în comparație cu celelalte două izoforme.

Tabelul 2
Izoformele NOS și rolurile acestora la nivel hepatic
(după Shah V., 2004) (28).

Sediu	Nivel de reglare	Sediu și funcții hepatice
NOS neuronală (nNOS, NOS1)	Transcripțională Splicing alternativ Post-tranlațională	Neuronii tractului portal
NOS inductibilă (iNOS, NOS2)	Transcripțională	În orice celulă Apoptoză / leziune Apărare imună Funcție vasculară
NOS endotelială (eNOS, NOS3)	Transcripțională Post-transcripțională Post-tranlațională	Celulele endoteliale Perfuzia sinusoidală Funcțiile leucocitelor și trombocitelor

La nivelul patului vascular, oxidul nitric produs de eNOS în celulele endoteliale este un determinant principal al tonusului vascular de repaus. Există un nivel bazal de producere a NO, iar producția crescută sau scăzută e declanșată de diverse condiții patologice. Sintetizat din L-arginină, NO difuzează din celulele endoteliale în celulele musculare netede, unde declanșează relaxare prin intermediul guanilat-ciclazei. Pe lângă efectul vasodilatator, NO mai are și efecte antiagregante și activatoare plachetare și antitrombotice. În sepsis, inhibiția NOS duce la tromboză și la migrarea leucocitelor, prin creșterea permeabilității microvasculare. Aceste efecte par a fi influențate de anionul superoxid, care fiind prezent în situsurile inflamatorii – inactivează oxidul nitric facilitând răspunsul inflamator (30).

În ficatul normal, forma predominantă este eNOS, exprimată de celulele endoteliale sinusoidale și implicată în menținerea fluxului sanguin și a tonusului capilar sinusoidal. NO generat din celulele sinusoidale endoteliale acționează și asupra celulelor hepatice stelate, prin activarea semnalizării guanilat-ciclazei solubile, ducând la relaxarea celulei hepatice stelate.

Reducerea producției NO apare independent de reducerea ARNm al eNOS în hepatocit; defecte au fost semnalizate la nivelul de reglare post-translațională a eNOS. Alți factori ce duc la scăderea producției de NO sunt caveolina-1 – proteina inhibitorie a eNOS sau reducerea fosforilării eNOS – mediată de Akt (28). În ficatul cirotic, deși nivelurile eNOS par a nu fi scăzute, celulele endoteliale exprimă niveluri crescute de caveolină-1, concomitent cu scăderea calmodulinei (cu rol în contracție). Totodată, șoarecii transduși cu un adenovirus conținând o formă activă de Akt au prezentat creșterea activității eNOS și reducerea presiunii portale (31).

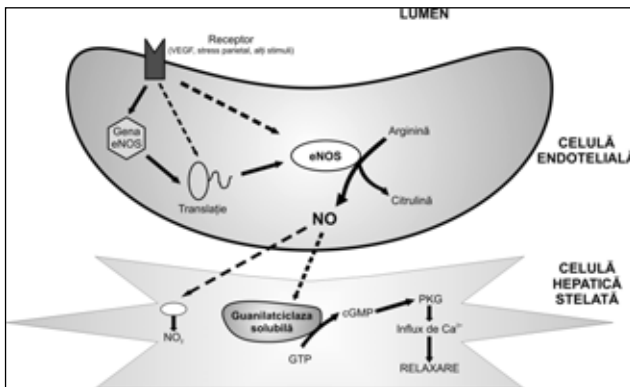


Figura 3

Secreția NO la nivelul sinusoidului hepatic (după Langer DA, Shah VH, 2004) (32).

SUPOZIȚII PATOGENICE ACTUALE

În urmă cu peste un deceniu, Vallance și Moncada au avansat ipoteza că șuntul portosistemic și endo-

toxinemia ar duce la creșterea concentrației iNOS și apoi la apariția sindromului de circulație hiperdinamică (33) (Figura 4).

Această ipoteză experimentală a fost ulterior susținută de nivelurile crescute de iNOS în macrofagele peritoneale ale pacienților cu ciroză, în special după un episod de peritonită bacteriană spontană (34). Într-un alt studiu, Vallance și Moncada avansează ipoteza că și TNFα ar juca un rol important în sindromul de circulație hiperdinamică, deoarece este unul din primele semnale care mediază efectele endotoxinei. Într-adevăr, TNFα este crescut la animalele de experiență cu vena portă parțial ligaturată, iar thalidomida, un antagonist de TNFα, ameliorează circulația hiperdinamică la aceste animale.

Multe din complicațiile bolilor hepatice cronice sunt rezultatul perturbărilor hemodinamice care implică atât circulația generală, cât și paturile vasculare regionale (circulația splanhnică) (Figura 5). În general, pacienții cu ciroză avansată și hipertensiune portală au o circulație hiperdinamică, într-un pat vascular de capacitate crescută, caracteristic fiind debitul cardiac crescut și presiunea sanguină scăzută. Aceste evenimente fiziopatologice duc la activarea mecanismelor compensatorii, care includ fenomene simpatice și implicarea sistemului renină-angiotensină-aldosteron. Acest lucru se datorează vasodilatației patului vascular mezenteric care la rândul său contribuie la HTP prin creșterea influxului portal. În timp ce rezistența în vasele mezenterice este redusă, un alt factor major ce contribuie la dezvoltarea HTP e reprezentat de tonusul vascular crescut în ficat, prin implicarea celulelor hepatice stelate. Tonusul vascular local alterat e răspunzător și de alte complicații importante ale cirozei: vasoconstricția intrarenală poate progresa spre sindrom hepatorenal, în timp ce în pulmon vasodilatația patologică poate da naștere sindromului hepatopulmonar.

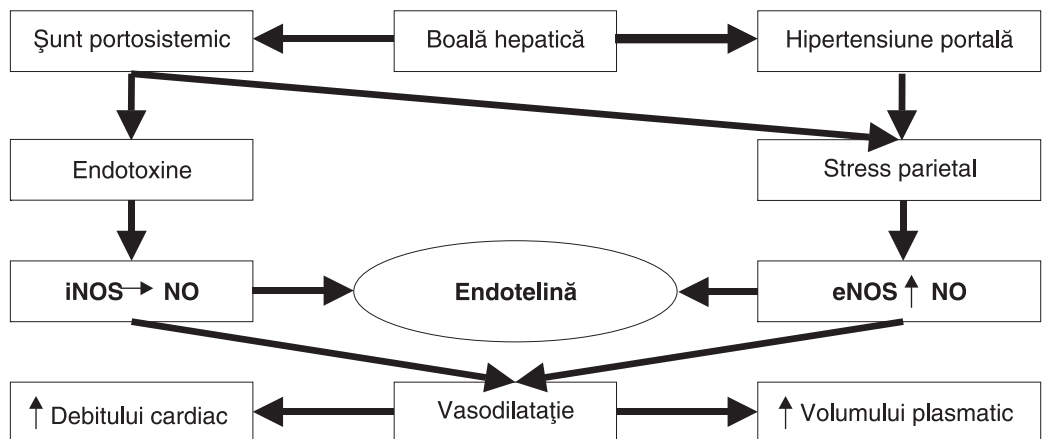
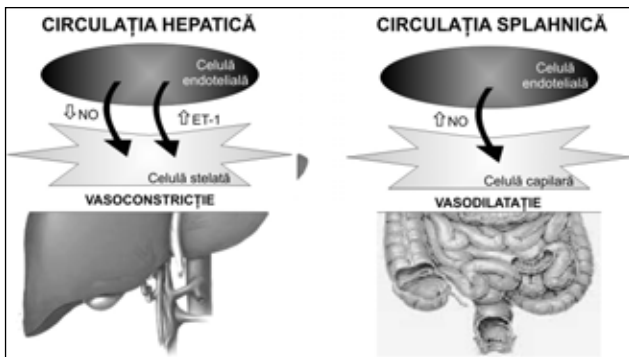


Figura 4

Implicarea mediatorilor endoteliali în circulația hiperdinamică (după Reichen J, 2001) (35).

**Figura 5**

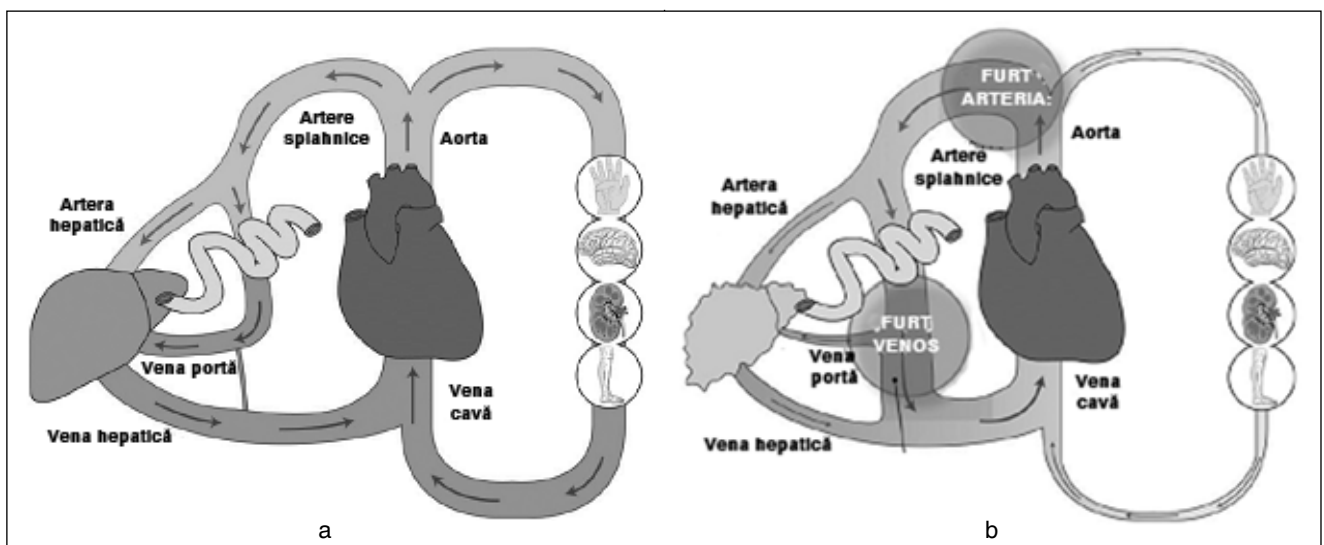
Consecințele disfuncției endoteliale în hipertensiunea portală.

A. Scăderea generării NO hepatice determină vasoconstricție intrahepatică, creșterea rezistenței vasculare și hipertensiune portală. B. Generarea în exces a NO în circulația splahnică duce la vasodilatație, creșterea influxului portal și dezvoltarea hipertensiunii portale (după Shah V, 2004) (28).

Clinic, circulația hiperdinamică e oglindită de roșeața extremităților, puls săltător și pulsații capilare în ciroză, tahicardie și hipotensiune sistemică cu debit cardiac crescut și rezistență vasculară sistemică diminuată, documentate paraclinic. În 1988, Schrier et al. au propus ipoteza dilatației arteriale periferice, ca explicație pentru circulația hiperdinamică, concomitent cu inițierea retenției de apă și sodiu în cadrul cirozei. Teorii ulterioare au încercat să explice mecanismul vasodilatației arteriale periferice. Cele mai multe sugerează producția sau imposibilitatea metabolizării unei substanțe circulante vasodilatatoare care realizează un tonus vascular scăzut, deschiderea anastomozelor arteriovenoase și hipotensiune sistemică. Mai multe substanțe vasodilatatoare au fost incriminate, incluzând NO, eico-

sanoizii, sărurile biliare, adenozina și tahikininele, ca substanța P și peptidul înrudit cu gena calcitoninei (CGRP). Acest factor vasodilatator neidentificat a fost considerat responsabil pentru retenția de apă și sodiu asociată cu ascita, datorită activării subsecvente a sistemului nervos simpatic, sistemului renină-angiotensină-aldosteron și vasopresinei. NO a reținut cel mai mult atenția, deși există puține dovezi în legătură cu eliberarea NO și creșterea nivelurilor bazale ale acestuia în circulația periferică a pacienților cu ciroză incipientă sau avansată (36).

Recent, o altă ipoteză fiziopatologică a fost emisă cu privire la apariția sindromului circulației hiperdinamice. Newby și Hayes explică apariția hipertensiunii portale printr-un fenomen de „furt splahnice”, având la bază fibroza hepatică ce alterează fluxul sanguin în ficat. Vasodilatația splahnice apare ulterior ca mecanism ce încearcă să compenseze reducerea perfuziei hepatice prin creșterea fluxului sanguin și presiunii portale. Totuși, hiperemia și hipertensiunea rezultate deschid șunturile porto-sistemice și vasele colaterale anastomotice. Șuntul colateral progresiv exacerbează astfel reducerea fluxului portal către ficat, realizând „furtul splahnice” (Figura 6). La acest proces participă atât sistemul arterial, cât și cel venos: „furtul” arterial se realizează din circulația sistemică arterială către sistemul arterial splahnice, iar cel venos transferă sângele portal în anastomozele porto-sistemice. Acest ultim circuit se amplifică în boala hepatică avansată, realizându-se chiar o inversare a fluxului. Prin urmare, consecințele cardiovasculare ale cirozei hepatice apar ca rezultat al dilatației vasculare splahnice (36).

**Figura 6**

Reprezentarea schematică a circulației hepatice și sistemice, în condiții normale și în HTP. A. În condiții normale; B. fenomenul de „furt” arterial și venos în hipertensiunea portală (După Newby, Hayes 2002) (36).

CORELAȚII MORFO-PATOGENICE MODERNE

Modificări ale arhitecturii hepatice

Acestea se pot întâlni în diferite circumstanțe cum ar fi:

- scleroza hepato-portală
- hiperplazia nodulară regenerativă
- ciroza septală incompletă

Modificările arhitecturii hepatice constau în:

- arterializarea ficatului
- necroza extensivă
- fibroza

Identificarea histologică necesită colorații speciale (colorație argentică a benzilor de reticulină).

Ciroza reprezintă un proces difuz caracterizat prin prezența septurilor fibroase ce divid parenchimul în noduli hepatocelulari, iar fibroza este definită ca fiind o acumulare de colagen și molecule înrudite.

Septurile fibroase nu sunt structuri ireversibile, ele sunt rezultatul unui proces complex de pierdere focală de țesut normal numit „extincție parenchimală”. Leziunile de extincție parenchimală conțin resturi de țesut distrus, șunturi arterio-venoase și elemente de reparație (regenerare), incluzând dominant fibroză și neovascularizație.

Leziunile de extincție nu sunt difuze sau uniform distribuite, dar sunt concentrate în subunități mai mici. Aceasta oferă un aspect de „granularitate” în dezvoltarea cirozei, iar ciroza este în final efectul acumulării numeroaselor leziuni de extincție.

Scleroza hepato-portală – se caracterizează prin retracția fibroasă intimală a venelor porte și a ramurilor lor, asociată cu formarea de septuri fibroase. Este adesea asociată cu hiperplazia nodulară regenerativă și cu fibroza perisinusoidală (descrisă în microscopia electronică).

Hiperplazia nodulară regenerativă – se caracterizează prin transformare nodulară a parenchimului hepatic, în absența fibrozei perinodulare. Obstrucția venulelor porte a fost descrisă în 89% din cazuri, complicându-se cu atrofia travelelor hepatocitare ale lobulilor ischemiați. Nodulii au diametrul de 1 mm. Dacă sunt mai mari, se vorbește despre transformare macronodulară a ficatului, denumită în trecut transformare nodulară parțială a ficatului.

Ciroza septală incompletă – este o ciroză macronodulară ai cărei noduli sunt separați prin septuri fibroase incomplete. Diagnosticul este dificil numai pe baza puncției biopsie hepatice. Ea ar putea reprezenta o formă evoluată a sclerozei hepato-portale (37).

Deși există multiple cauze și variate morfologii ale cirozei hepatice, toate formele de ciroză sunt

caracterizate ultramicroscopic printr-un endoteliu sinusoidal defenestrat și prezența unei membrane bazale subendoteliale (capilarizarea sinusoidului). Funcțional se constată dispariția barierei normale de filtrare, cu un schimb bidirecțional alterat între sângele sinusoidal și celulele parenchimotoase (3). Consecința este defenestrarea și capilarizarea sinusoidelor endoteliale, care contribuie decisiv la instalarea insuficienței hepatice din ciroză.

Date obținute de pe modele animale utilizate pentru a studia efectele vasoactive ale agenților cirogeni sugerează faptul că defenestrarea precede fibroza hepatică (37). Mai mult, înainte de instalarea fibrozei, defenestrarea pare să fie reversibilă la eliminarea factorilor declanșatori. Procesul de defenestrare sinusoidală devine ireversibil doar după formarea membranei bazale subendoteliale (3). Sintetizând aceste ipoteze se poate afirma că defenestrarea e un proces precoce în patogeneza cirozei, precedând inițierea fibrozei. Un rol cheie în inițierea defenestrării și capilarizării este atribuit metabolismului retinolului, care în condiții patologice nu mai este înglobat în fragmentele lipidice care apoi sunt depozitate în hepatocite. Este de notorietate faptul că deficiența de retinol transformă hepatocitele lipidice în miofibroblaste, care au capacitate mare de producere a matricei extracelulare, cauză de fibroză perisinusoidală și deci determinantă a cirozei (38).

Modificări vasculare

Acestea se clasifică în: leziuni ale sinusoidelor, ale venulelor hepatice, venulelor porte și ale marilor vase (vena portă și vena hepatică).

Leziunile sinusoidelor

Fibroza perisinusoidală – se produce prin acumularea de colagen în spațiul Disse; este proprie fibrozei hepatice congenitale (fibroză portală și ectazie de ducte biliare), asociată cu boala renală polichistică, cu progresie rară spre ciroză francă. Simptomele de hipertensiune portală apar precoce; microscopic se constată o paucitate a venulelor portale și un număr mare de arteriole hepatice (mecanism necunoscut).

În producerea fibrozei este incriminată în primul rând celula stelată activată de citokine; aceasta devine celulă miofibroblast-like, migrează în aria portală, proliferază și modifică structura matricei extracelulare formată din colagen și proteoglicani, suprimându-se acțiunea colagenazelor și apărând astfel fibroza progresivă.

O altă cale de inducere a fibrozei este producerea crescută de proteine *fibrogenice*, tot prin intermediul celulei stelate, numite *transforming growth factor-β1* (TGF-β1) și *thrombospondin-1* (TSP-1).

TGF- β_1 este un dimer care influențează creșterea, diferențierea și morfogeneza prin mecanisme autocrine și paracrine; acționează asupra pericitelor unor organe determinând sinteza și depunerea de componente ale matricii extracelulare și stimulând fibrogeneza. Efectele depind de convertirea sa în forma activă pe care puține celule o secretă, uneori acționând chiar prin TSP-1. Astfel, terapia țintită preconizată are la bază identificările moleculelor ce activează TGF- β_1 .

TSP-1 este un activator al TGF- β_1 *in vitro* și *in vivo*. S-a demonstrat asocierea TSP-1 cu existența carcinomului hepatic, având de asemenea rol în fibroza nonneoplazică. S-au realizat studii utilizând testele *Western blot* și de hibridizare *in situ* pentru a demonstra nivelele crescute ale celor două proteine fibrogenice precum și studii de imunocalizare a acestora în țesutul hepatic.

Există o „bucă” autocrin-paracrină care stă la baza fibrozei noninflamatorii; mecanismul de activare a celulei stelate este diferit în această situație față de cel din fibroza progresivă; există o cale alternativă de activare a celulei stelate care duce la stabilizarea fibrozei hepatice congenitale și de aici raritatea progresiei spre ciroză francă.

Pelioza – este reprezentată de cavități sinusoidale variabile ca diametru (de la 1 mm la câțiva centimetri), umplute cu sânge și mărginite de hepatocite. Mecanismele care stau la baza apariției peliozei sunt: obstrucția joncțiunilor dintre sinusoidale și venulele porte, necroza hepatocitară și leziunile celulelor endoteliale, efectul toxic direct al citokinelor pe celulele endoteliale.

Infiltrarea cu celule tumorale sau amiloid, în cadrul bolilor maligne sau de stocaj, degenerază arhitectura hepatică, cu răsunet secundar asupra hemodinamicii locale și sistemice.

Leziunile venulelor hepatice

Sunt caracterizate de fibroză și tromboză. Cea mai caracteristică este boala veno-ocluzivă (BVO); aceasta se caracterizează prin obstrucție concentrică netrombotică a venulelor. Se pot asocia: edemul endotelial (faza precoce) și fibroza concentrică (faza tardivă).

Circumstanțele de apariție a bolii venoocluzive (iradiere, chimioterapie, consumul de ceai jamaican) sunt diverse și au în comun depleția de glutatone celular.

Leziunile venulelor porte

Sunt de asemenea caracterizate prin fibroză și tromboză. Inflamația spațiilor porte, fie ea descrisă în cursul cirozei biliare primitive, al hepatitei cronice autoimune, al bilharziozei, este frecvent asociată cu fibroză perivenulară portală.

Aceste leziuni au mai fost descrise în cadrul sindroamelor de hipervâscozitate, bolilor trombozante sau după consumul de arsenic, policlorură de vinil, steroizi anabolizanți, chimioterapie anti-tumorală.

Leziuni ale marilor vase (vena portă, vena hepatică)

Tromboza venei porte (TVP) – este descoperită tardiv și fortuit, prin manifestări ale hipertensiunii portale, dureri abdominale și febră. Diagnosticul se pune prin ecografie Doppler, iar scanner-ul abdominal permite datarea trombozei venei porte, apreciind densitatea trombusului. Aspectul hiperdens sugerează o tromboză recentă care justifică tratamentul anticoagulant.

Prognosticul depinde de extensia la vasele mezenterice și de ischemia intestinală pe care o antrenează; funcția hepatică este normală; asocierea cu un sindrom de colestază impune căutarea unui bloc intrahepatic. Tromboza venei porte este declanșată frecvent de afecțiuni trombogene.

Tromboza venelor hepatice (TVH) – se complică mereu cu hipertensiune portală. În acest caz, durerile abdominale se asociază cu ascita care apare rapid, dar și cu icterul și hepatomegalia; uneori, manifestările acute lipsesc. Diagnosticul se pune tot prin ecografie Doppler.

Manifestările clinice depind de ischemia hepatică antrenată de tromboză. Deoarece tromboza se instalează succesiv în venele hepatice, apare circulația colaterală de supleere iar vascularizația hepatică rămâne intactă.

Se va căuta și aici o cauză locală (chist hidatic, abces, tumoră) sau generală (trombogenă). Factorii locali sunt mai rar implicați aici față de tromboza venei porte. Căutarea unei afecțiuni trombogene trebuie făcută exhaustiv (Tabelul 3).

Tabelul 3
Afecțiuni trombogene de căutat în caz de tromboză a vaselor hepatice (bloc non-cirotic).

Cauze	Examen diagnostic
Sindroame mieloproliferative	<ul style="list-style-type: none"> biopsie medulară cultură de precursori eritroblastici
Deficit de antitrombină, proteină S, proteină C	<ul style="list-style-type: none"> dozaj seric
Factor V Leiden	<ul style="list-style-type: none"> amplificare genică (căutarea mutației)
Sindromul antifosfolipidic	<ul style="list-style-type: none"> dozaj seric
Hemoglobinuria paroxistică nocturnă	<ul style="list-style-type: none"> citometrie de flux (CD55, CD59) pe celulele circulante

DIRECȚII TERAPEUTICE – ACTUALITĂȚI ȘI PERSPECTIVE

Corectarea insuficienței producției a NO la nivelul circulației hepatice în hipertensiunea portală reprezintă un obiectiv provocator aflat deja în focus. Experimente pe modele animale au arătat că activarea eNOS hepatice poate ameliora hemodinamica portală la șobolanii cirofici. Transducția adenovirală cu o formă constitutivă de Akt a dus la creșterea fosforilării eNOS, niveluri crescute de cGMP și reducerea concomitentă a presiunii portale (31). Alte studii au evaluat generarea NO de către statine (simvastatină), prin mecanismul disocierii eNOS de caveolină și prin promovarea fosforilării eNOS, determinând reducerea presiunii portale prin creșterea concentrației NO (39). Pacienții care au primit simvastatină au prezentat o creștere a producerii NO intrahepatice și o scădere a rezistenței vasculare, fără efecte sistemice importante. De asemenea, statinele au un efect inhibitor direct asupra contracției celulei hepatice stelate, probabil prin descreșterea stressului oxidativ și a scăderii producției de isoprenoizi (40).

Trialuri clinice și consensuri promovează utilizarea nitraților, în combinație cu beta-blocantele, în special pentru reducerea riscului hemoragiei variceale (41, 42). Totuși, nitrații singuri ar avea efect limitat, prin exacerbarea circulației hiperdinamice și prin toleranța scăzută (43). Direcțiile actuale evaluează beneficiile unor donori de NO specific hepatici, cum ar fi NCX-1000 și V-PYRRO-NO. NCX-1000 este un derivat de acid urso-deoxicolic și eliberează NO la nivel hepatic, cu scăderea rezistenței vasculare, creșterea nivelurilor de cGMP și descreșterea răspunsurilor vasoconstrictoare, fără influențarea hemodinamicii sistemice (44). V-PYRRO-NO acționează de asemenea ca un donator de NO specific hepatic și în plus are efecte vasoprotectoare endoteliale la animale de experiență cu sindrom obstructiv sinusoidal (45).

S-a observat și rolul acidului ascorbic în ameliorarea disfuncției endoteliale, prin intermediul creșterii biodisponibilității NO, datorită neutralizării anionilor superoxid. Astfel, administrarea a 3 g acid ascorbic i.v. postprandial a dus la scăderea presiunii venoase portale (46).

Inhibiția producției de NO la nivel sistemic, în vederea combaterii vasodilatației și a circulației hiperdinamice, reprezintă o altă latură de abordare terapeutică a disfuncției endoteliale. Betablocanții și terlipresina acționează prin scăderea activării eNOS și reducerea dezvoltării circulației colaterale. Efecte antihipertensive sistemice au fost obținute

recent și cu antagoniștii receptorilor de endocanabinoizi (SR141716A), deși legătura între producția de canabinoizi endogeni și vasodilatație nu este încă complet elucidată (47).

Antagoniștii de receptori de ET_A reprezintă o alternativă terapeutică seducătoare. Utilizarea orală a LU135252 la modelul animal a arătat o scădere importantă a acumulării de colagen intrahepatice și, prin urmare, o scădere a ratei progresiei fibrozei (48).

Studii *in vitro* au demonstrat rolul VEGF asupra creșterii porozității endoteliului vascular, probabil prin creșterea numărului fenestrațiilor sinusoidale și implicit a porozității endoteliale (49). Totodată, blocarea specifică a receptorului-2 al VEGF prin SU5416 a demonstrat diminuarea circulației hiperdinamice și a formării colateralelor, prin inhibiția angiogenezei (50).

Anticorpii monoclonali se utilizează deja pentru inhibarea angiogenezei patologice, de asemenea prin acțiune asupra VEGF. În acest sens, în Statele Unite și Europa a fost aprobată utilizarea produsului Lucentis (Ranibizumab) în degenerescența maculară la vârstnici. Ranibizumab este un fragment de anticorp monoclonal uman de tip Fab care neutralizează formele active ale factorului de creștere a endoteliului vascular de tip A (VEGF-A) (51).

S-a încercat corelația dintre nivelurile crescute de angiotensină II detectate în boala hepatică cronică și activitatea mitogenică, contractilă și de transformare fenotipică a celulei hepatice stelate. Prin intermediul receptorilor angiotensinici de tip AT1 nivelurile circulante de Ang II au dus la creșterea concentrației calciului intracelular, stimularea sintezei ADN și proliferării celulare, în cadrul celulei hepatice stelate activate. Ang II nu a acționat asupra celulelor stelate în stare latentă. Losartan, un antagonist specific al receptorilor AT1 a blocat complet contractia și proliferarea celulei stelate și a dus la o scădere importantă a HTP la pacienții cirofici (52). Pe termen lung, însă, administrarea losartanului nu a redus semnificativ gradientul de presiune în vena hepatică la pacienții cirofici. Mai mult, a produs hipotensiune și reducerea ratei filtrării glomerulare la acești pacienți. Prin urmare, un alt punct de interes terapeutic îl reprezintă celulele hepatice stelate, prin efectul benefic al blocării receptorilor de angiotensină II (53).

Tiazolidindionele, utilizate actualmente ca medicamente antidiabetice orale, sunt liganzi pentru peroxisome proliferator-activated receptor gamma (PPAR γ). S-a arătat că tiazolidindionele, ca și alți liganzi pentru PPAR γ , cum ar fi 15-JPGJ2, inhibă proliferarea și expresia α -actinei musculare netede

în culturile de celule stelate (54). De asemenea, s-a subliniat și eventuala utilitate a tiazolidindionelor în tratamentul fibrozei hepatice, prin reducerea depunerilor de matrice extracelulară și diminuarea activării celulelor stelate, în două modele animale de fibroză hepatică (toxică și colestatică) (55, 56).

CONCLUZII

Endoteliul vascular hepatic reprezintă o structură unică în organism, adaptată schimburilor bidirecționale ce se realizează la acest nivel. Rolul endoteliului hepatic este particular la copil, având importanță fiziologică deosebită încă din viața intrauterină.

Structurile endoteliale prezintă implicații funcționale complexe, în relație cu procesele metabolice de la nivel hepatic. Înțelegerea modificărilor patologice primare ce au loc în hipertensiunea portală, corelată cu detectarea leziunilor histopatologice permit un diagnostic precoce și o conduită terapeutică adecvată.

Intervențiile cele mai noi discutate asupra disfuncției endoteliale sunt la nivelul biomediatorilor implicați în mecanismele patogenice moleculare la nivelul circulației hepatice. Perspectivele terapeutice au în vedere agenți farmacologici cu acțiune țintită, ce acționează local, dar și substanțe cu efect favorabil prin acțiune sistemică.

BIBLIOGRAFIE

1. Wisse E, De Zanger RB, Charels K, Van Der Smissen P, McCuskey RS – The liver sieve: Considerations concerning the structure and function of endothelial fenestrae, the sinusoidal wall and the space of Disse. *Hepatology*, 1985, 5:683-692.
2. Wisse E, De Zanger RB, Jacobs R, McCuskey RS – Scanning electron microscope observations on the structure of portal veins, sinusoids and central veins in rat liver. *Scan Electron Microsc*, 1983, 3:1441-1452.
3. Braet F, Wisse E – Structural and functional aspects of liver sinusoidal endothelial cell fenestrae: a review, *Comparative Hepatology*, 2002;1:1.
4. Smedsrid B, De Bleser PJ, Braet F, Loviseti P, Vanderkerken K, Wisse E, Geerts A – Cell biology of liver endothelial and Kupffer cells. *Gut*, 1994, 35:1509-1516.
5. De Leeuw AM, Brouwer A, Knook DL – Sinusoidal endothelial cells of the liver: fine structure and function in relation to age. *J Electron Microscop*, 1990, 14:218-236.
6. Bankston PW, Pino RM – The development of the sinusoids of fetal rat liver: morphology of endothelial cells, Kupffer cells, and the transmural migration of blood cells into the sinusoids. *Am J Anat*, 1980, 159:1-15.
7. Barberá-Guillem E, Vidal-Vanaclocha F – Sinusoidal structure of the liver. In: Liver sinusoids II (Edited by: Barberá-Guillem E) Bilbao, *Cell Biology Reviews*, 1988, 1-68.
8. Naito M, Wisse E – Filtration effect of endothelial fenestrations on chylomicron transport in neonatal rat liver sinusoids. *Cell Tiss Res*, 1978, 190:371-382.
9. Oda M, Kazemoto S, Kaneko H, Yokomori H, Ishii K, Tsukada N, Watanabe N, Suematsu M, Tsuchiya M – Involvement of Ca⁺⁺-calmodulin-actomyosin system in the contractility of hepatic sinusoidal endothelial fenestrae. In: *Cells of the Hepatic Sinusoid 4* (Edited by: Knook DL, Wisse E) Leiden, *Kupffer Cell Foundation*, 1993, 174-178.
10. Braet F, De Zanger R, Kalle WHJ, Raap AK, Tanke HJ, Wisse E – Comparative scanning, transmission and atomic force microscopy of the microtubular cytoskeleton in fenestrated endothelial cells. *Scanning Microscopy*, 1996, 10:225-236.
11. Braet F, De Zanger R, Baekeland M, Crabbé E, Van Der Smissen P, Wisse E – Structure and dynamics of the fenestrae-associated cytoskeleton of rat liver sinusoidal endothelial cells. *Hepatology*, 1995, 21:180-189.
12. Yokomori H, Oda M, Kamegaya Y, Ogi M, Yokono H, Han JY, Akiba Y, Nakamura M, Tsukada N, Ishii H – Functional significance of plasma membrane Ca⁺⁺-ATPase of hepatic sinusoidal endothelium in the control of sinusoidal blood flow – dynamic, electron cytochemical and microfluometric analysis. *Hepatology*, 1996, 24:130.
13. Brauneis U, Gatmaitan Z, Arias IM – Serotonin stimulates a Ca²⁺-permeant nonspecific cation channel in hepatic endothelial cells. *Biochem Biophys Res Commun*, 1992, 186:1560-1566.
14. Gatmaitan Z, Varticovski L, Ling L, Mikkelsen R, Steffan AM, Arias IM – Studies on fenestral contraction in rat liver endothelial cells in culture. *Am J Pathol*, 1996, 148:2027-2041.
15. Braet F, Spector I, Shochet NR, Crews P, Higa T, Menu E, De Zanger R, Wisse E – The new anti-actin agent dihydrohalichondramide reveals fenestrae-forming centers in hepatic endothelial cells. *BMC Cell Biology*, 2002, 3:7.
16. Moore K – Endothelin and vascular function in liver disease. *Gut*, 2004; 53:159-61.
17. Helmy A, Jalan R, Newby DE, et al – Altered peripheral vascular responses to exogenous and endogenous endothelin-1 in patients with well compensated cirrhosis. *Hepatology*, 2001; 33:826-31.
18. Moller S, Gulberg V, Henriksen JH, et al – Endothelin-1 and endothelin-3 in cirrhosis: relations to systemic and splanchnic haemodynamics. *J Hepatol*, 1995; 23:135-44.
19. Moore K, Wendon J, Frazer M, et al – Plasma endothelin immunoreactivity in liver disease and the hepatorenal syndrome. *N Engl J Med*, 1992; 327:1774-8.
20. Nagasue N, Dhar DK, Yamanoi A, et al – Production and release of endothelin-1 from the gut and spleen in portal hypertension due to cirrhosis. *Hepatology*, 2000; 31:1107-14.
21. Pinzani M, Milani S, De Franco R, et al – Endothelin 1 is overexpressed in human cirrhotic liver and exerts multiple effects on activated hepatic stellate cells. *Gastroenterology*, 1996; 110:534-48.
22. Rockey DC, Fouassier L, Chung JJ, et al – Cellular localization of endothelin-1 and increased production in liver injury in the rat: potential for autocrine and paracrine effects on stellate cells. *Hepatology*, 1998; 27:472-80.
23. Gerbes AL, Moller S, Gulberg V, et al – Endothelin-1 and -3 plasma concentrations in patients with cirrhosis: role of splanchnic and renal passage and liver function. *Hepatology*, 1995; 21:735-9.
24. Luo B, Tang L, Wang Z, et al – Cholangiocyte endothelin 1 and transforming growth factor beta1 production in rat experimental hepatopulmonary syndrome. *Gastroenterology*, 2005; 129:682-95.
25. Angus P – Role of endothelin in systemic and portal resistance in cirrhosis. *Gut*, 2006; 55:1230-1232.
26. Pinzani M, Gentilini P – Biology of hepatic stellate cells and their possible relevance in the pathogenesis of portal hypertension in cirrhosis. *Semin Liver Dis*, 1999; 19:397-410.
27. Ignarro LJ – Endothelium-derived nitric oxide: actions and properties. *Fed Am Soc Exp Biol J*, 1989; 3:31-36.
28. Shah V – Molecular mechanisms in the pathogenesis of cirrhotic portal hypertension: focus on nitric oxide *Journal of Gastroenterology and Hepatology*, 19, S145-149, 2004.
29. Bredt DS, Snyder SH – Isolation of nitric oxide synthetase, a calmodulin-requiring enzyme. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1990; 87:682-685.

30. **Loscalzo J** – Nitric Oxide and Vascular Disease, *N Engl J Med*, 333:251-253, 1995.
31. **Morales-Ruiz M, Cejudo-Martin P et al** – Transduction of the liver with activated Akt normalizes portal pressure in cirrhotic rats, *Gastroenterology*, 2003; 125:533-531.
32. **Langer DA, Shah VH** – Nitric oxide and portal hypertension: Interface of vasoreactivity and angiogenesis, *Journal of Hepatology*, 44(2006):209-216.
33. **Vallance P, Moncada S** – Hyperdynamic circulation in cirrhosis: A role for nitric oxide? *Lancet*, 1991; 337:776-8.
34. **Jiménez W, Ros J, Morales-Ruiz M, Navasa M, Solé M, Colmenero J, Sort P, Rivera F, Arroyo V, Rodés J** – Nitric oxide production and inducible nitric oxide synthase expression in peritoneal macrophages of cirrhotic patients. *Hepatology*, 1999; 30:670-6.
35. **Reichen J** – *Molecular Pathogenesis of Portal Hypertension*, published online
36. **Newby DE, Hayes PC** – Hyperdynamic circulation in liver cirrhosis: not peripheral vasodilatation but 'splanchnic steal', *Q J Med*, 2002; 95:827-830.
37. **Tamba-Lebbie B, Rogers GWT, Dobbs BR, Fraser R** – Defenestration of the hepatic sinusoidal endothelium in the dimethylnitrosamine fed rat: is this process reversible? In: *Cells of the Hepatic Sinusoid 4* (Edited by: Knook DL, Wisse E) Leiden, Kupffer Cell Foundation, 1993, 179-181.
38. **Rogers GWT, Dobbs BR, Fraser R** – Decreased hepatic uptake of cholesterol and retinol in the dimethylnitrosamine rat model of cirrhosis. *Liver*, 1992, 12:326-329.
39. **Zafra C, Abrales J, Turnes J et al** – Simvastatin enhances hepatic nitric oxide production and decreases the hepatic vascular tone in patients with cirrhosis. *Gastroenterology* 2004; 126: 949–55
40. **Laleman W, Van Landeghem L, Wilmer A, Fevery J, Nevens F** **Portal Hypertension** – From Pathophysiology to Clinical Practice, *Liver Int*, 2005; 25(6):1079-1090.
41. **Groszmann RJ, Garcia-Tsao G** – Endoscopic variceal banding vs. pharmacological therapy for the prevention of recurrent variceal hemorrhage: what makes the difference? *Gastroenterology*, 2002; 123:1388-1391.
42. **Merkel C** – Nonselective betablockers plus nitrates in portal hypertension: an open question. *Hepatology*, 2003; 37:1254-1256.
43. **Angelico M, Lionetti R** – Long-acting nitrates in portal hypertension: to be or not to be? *Dig Liver Dis*, 2001; 33:205-211.
44. **Fiorucci S, Antonelli E, Morelli O 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 USA*, 2001; 98:8897-8902.
45. **DeLeve LD, Wang X, Kanel GC et al** – Decreased hepatic nitric oxide production contributes to the development of rat sinusoidal obstruction syndrome, *Hepatology*, 2003; 38:900-908.
46. **Hernandez-Guerra M, Garcia-Pagan JC, Turnes J, Bellot P, Deulofeu R, Abrales JG, Bosch J** – Ascorbic acid improves the intrahepatic endothelial dysfunction of patients with cirrhosis and portal hypertension, *Hepatology*, 2006 Mar; 43(3):485-91.
47. **Batkai S, Jarai Z, Wagner JA, Goparaju SK et al** – Endocannabinoids acting at vascular CB1 receptors mediate the vasodilated state in advanced liver cirrhosis, *Nat Med*, 2001; 7:827-832.
48. **Cho JJ, Hocher B, Herbst H, Jia JD, Ruehl M, Hahn EG, Riecken EO, Schuppan D** – An oral endothelin-A receptor antagonist blocks collagen synthesis and deposition in advanced rat liver fibrosis., *Gastroenterology*, 2000 Jun; 118(6):1261-5.
49. **Junji Funyu, Satoshi Mochida, Mie Inao, Atsushi Matsui and Kenji Fujiwara** – VEGF Can Act as Vascular Permeability Factor in the Hepatic Sinusoids through Upregulation of Porosity of Endothelial Cells. *Pharmacol Ther*, 2001 Mar; 89(3):273-293.
50. **Fernandez M, Mejias M, Angermayr B, Garcia-Pagan JC, Rodes J, Bosch J** – Inhibition of VEGF receptor-2 decreases the development of hyperdynamic splanchnic circulation and portal-systemic collateral vessels in portal hypertensive rats., *J Hepatol*, 2005 Jul; 43(1):98-103. *Epub*, 2005 Apr 25.
51. **Rosenfeld PJ, Brown DM et al** – Ranibizumab for Neovascular Age-Related Macular Degeneration, *N Engl J Med*, 355:1419-1431, 2006.
52. **Schneider AW, Kalk JF, Klein CP** – Effect of losartan, an angiotensin II receptor antagonist, on portal pressure in cirrhosis. *Hepatology*, 1999; 29:334-339.
53. **Bataller R, Gines P, Nicolas JM, Gorbig MN, Garcia-Ramallo E, Gasull X, Bosch J, Arroyo V, Rodes J** – Angiotensin II induces contraction and proliferation of human hepatic stellate cells *Gastroenterology*, 2000 Jun; 118(6):1149-456.
54. **Li L, Tao J, Davaille J, Feral C, Mallat A, Rieussset J, Vidal H, Lotersztajn S** – 15-deoxy-Delta 12,14-prostaglandin J2 induces apoptosis of human hepatic myofibroblasts. A pathway involving oxidative stress independently of peroxisome-proliferator-activated receptors. *J Biol Chem*, 2001, 276:38152-38158.
55. **Galli A, Crabb DW, Ceni E, Salzano R, Mello T, G Svegliati-Baroni, Ridolfi F, Trozzi L, Surrenti C, Casini A** – Antidiabetic thiazolidinediones inhibit collagen synthesis and hepatic stellate cell activation in vivo and in vitro. *Gastroenterology*, 2002, 122:1924-1940.
56. **Kawada N** – Molecular mechanism of stellate cell activation and therapeutic strategy for liver fibrosis, *Comparative Hepatology*, 2004, 3(Suppl 1):S3.