Aktualne strategie terapeutyczne w marskości wątroby w odniesieniu do zaburzonych funkcji śródbłonna naczyniowego

Ewa Grzebyk¹, Joanna Górka-Dynysiewicz¹, Jolanta Zuwała-Jagiello¹

¹ Katedra i Zakład Biochemii Farmaceutycznej, Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Analityki Medycznej, Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu

Adres do korespondencji: Ewa Grzebyk, Katedra i Zakład Biochemii Farmaceutycznej, Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Analityki Medycznej, Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu, ul. Borowska 211A, 50-556 Wrocław, e-mail: ewa.grzebyk@umed.wroc.pl

Wstęp

Śródbłonek naczyniowy obejmuje ponad 10^{13} komórek zdolnych do syntezy czynników wazodylatacyjnych (rozszerzających naczynia krwionośne, takich jak tlenek azotu, śródbłonkowy czynnik hiperpolaryzujący, prostacyklina) i wazokonstrykcyjnych (zwężających naczynia krwionośne, do których należą endotelina-1, norepinefryna, leukotrieny, tromboksan A2 i angiotensyna II) oraz jest niezbędny dla utrzymania homeostazy naczyń krwionośnych wątroby. Śródbłonek pełni rolę bariery oddzielającej krew od tkanek, a tym samym utrzymuje homeostazę w ścianie naczyniowej w stanie fizjologicznym. Do najistotniejszych fizjologicznych funkcji śródbłonna należą: regulacja przepuszczalności i zmniejszenie napięcia naczyń, redukcja adhezji i agregacji płytek, zapobieganie zakrzepicy, hamowanie proliferacji komórek mięśni gładkich oraz reakcji zapalnej i ograniczenie adhezji leukocytów. W istocie wiele z tych funkcji zależy od biodostępności śródbłonkowiezależnego tlenu azotu [1].

Pojęcie uszkodzenie śródbłonna oznacza zaburzenie lub utratę funkcji komórek śródbłonna i charakteryzuje się głównie osłabieniem produkcji oraz uwalniania czynników rozszerzających naczynia krwionośne pochodzenia śródbłonkowego, w tym tlenu azotu. Łożysko naczyniowe marskiej wątroby wykazuje zaburzone funkcje śródbłonna i obecnie uważa się, że odgrywa kluczową rolę w rozwoju procesu przebudowy marskiej wątroby [2].

Uszkodzenie śródbłonna naczyń zatokowych wątroby jest zjawiskiem występującym wcześniej w patogenezie marskości wątroby z nadciśnieniem

Current therapeutic strategies in liver cirrhosis in relation to impaired vascular endothelial function

Vascular endothelium is responsible for the synthesis of vasodilating and vasoconstriction factors. Its damage means disorder or loss, among others ability to synthesize and release vasodilators, including nitric oxide (NO).

In liver cirrhosis, there is a loss of fenestration, increased vasoconstriction and reduced bioavailability of NO (endothelial damage indicator), which can lead to increased intrahepatic resistance and the development of portal hypertension.

Asymmetric dimethylarginine (ADMA) – an inhibitor of endothelial nitric oxide synthase (eNOS) is responsible for reduced NO production. Mediators of the inflammatory reaction: tumor necrosis factor- α , κ B nuclear transcription factor, Toll-like receptors, angiotensin II, endothelin-1, protease-activated receptors or adiponectin inhibit eNOS by increasing ADMA concentration. Overproduction of ROS contributes to the weakening of eNOS activity and NO uptake.

Therapy with antioxidants, statins, nuclear receptors, β -blockers, ammonia lowering agents and angiotensin receptor antagonists allows the restoration of normal endothelial function and prevents the development of portal hypertension in cirrhosis.

Keywords: vascular endothelium, liver cirrhosis, therapy strategies.

© Farm Pol, 2019, 75(6): 329–333

wrotnym i może być odwracalne. Zwiększenie biodostępności tlenu azotu w krążeniu wątrobowym poprzez poprawę aktywności śródbłonkowej syntazy tlenu azotu (ang. *endothelial nitric oxide synthases*, eNOS) i obniżenie poziomu asymetrycznej dimetyloargininy (ang. *asymmetric dimethylarginine*, ADMA) pozwala na usprawnienie zaburzonych funkcji śródbłonna. Jest to możliwe dzięki zastosowaniu zarówno klasycznych strategii

terapeutycznych, jak i będących w ciągłym rozwoju nowatorskich terapii. Antyoksydanty, statyny, receptory jądrowe, β -blokery, środki obniżające stężenie amoniaku oraz antagoniści receptora angiotensyny są obecnie stosowane u pacjentów z nadciśnieniem wrotnym w przebiegu marskości wątroby (tabela 1). Powyższe makrocząsteczki są wykorzystywane również w wielu innych schorzeniach, gdzie wykazują skuteczność w leczeniu dysfunkcji śródbłonka, ze względu na wielokierunkowy mechanizm działania. Poprawa i normalizacja funkcji śródbłonka wydaje się być istotnym celem terapeutycznym zarówno w marskości o różnej etiologii, jak i alkoholowej chorobie wątroby, zespole wątrobowo-nerkowym, encefalopatii wątrobowej i sepsie.

Artykuł przedstawia krótki przegląd postępów w badaniach nad zastosowaniem m.in. wybranych antyoksydantów, receptorów jądrowych, statyn, antagonistów receptora angiotensyny, pozwalających na poprawę i normalizację funkcji śródbłonka

naczyń zatokowych w odniesieniu do terapii w marskości wątroby.

Strategia leczenia antyoksydantami (witaminy i flawonoidy)

Kwas askorbinowy (witamina C) poprawia wazodylatację zależną od tlenu azotu w łóżkach naczyń pacjentów z marskością ze znacznym uszkodzeniem śródbłonka [3]. Witamina E (α - tokoferol) wpływa na poprawę zaburzonych funkcji śródbłonka przez zahamowanie aktywności wątrobowej ADMA i stresu oksydacyjnego oraz zwiększone uwalniania tlenu azotu u szczurów z marskością wątroby [4]. Kwas foliowy (witamina B₉) określany mianem „zmiatacza nad-tlenków” i jego aktywny metabolit 5-metylotetrahydrofolian mogą normalizować zaburzone funkcje śródbłonka u pacjentów z chorobami sercowo-naczyniowymi [5]. Kwas foliowy (zaangażowany głównie w zmniejszenie ekspresji eNOS dostarczającej nad-tlenków i eNOS rozprężonej) usprawnia regenerację tetrahydrobiopteryny z dihydrobiopteryny poprzez zapobieganie oksydacji tetrahydrobiopteryny, co prowadzi do zwiększenia poziomu tlenu azotu. Korzystne działanie 5-metylotetrahydrofolianu wykazano ostatnio u pacjentów z wyrównaną marskością wątroby. Transfer genu dysmutazy ponadtlenkowej (ang. *superoxide dismutase*, SOD) powoduje obniżenie ciśnienia wrotnego w przebiegu nadciśnienia wrotnego, poprzez redukcję stresu oksydacyjnego i zwiększoną biodostępność tlenu azotu [5]. Tempol, mimetyk SOD, redukuje ponadtlenki, zwiększa poziom tlenu azotu i obniża ciśnienie wrotne w komórkach śródbłonka naczyń zatokowych marskiej wątroby [6].

Flawonoidy wywierają ochronne działanie wobec czynności śródbłonka naczyniowego u ludzi, które jest przypisywane głównie ich antyoksydacyjnemu i wazodylatacyjnemu działaniu [7]. Polifenole występujące w zielonej herbacie zmniejszają ciężkość przetok wrotnych i angiogenezy naczyń kręgowych u szczurów z marskością wątroby. De Gottardi i wsp. [8] zaobserwowali u pacjentów z marskością i nadciśnieniem wrotnym, że gorzka czekolada osłabia poposilkowy wzrost gradientu ciśnienia wątrobowo-żylnego poprzez poprawę śródbłonkowo-zależnej wazorelaksacji, zależnej od przepływu naczyniowego wątroby, oraz podwyższa niedociśnienie systemowe. Suplementacja kwercetyną związana jest z osłabieniem szlaku sygnalizacji NF- κ B i TGF- β /białko Smad, prawdopodobnie poprzez interferencję z sygnalizacją receptorów TLR. Resweratrol, naturalny flawonoid polifenolowy, obniża ciśnienie wrotne przez osłabienie uszkodzenia śródbłonka, a suplementacja resweratrolem,

Tabela 1. Klasyczne i nowe strategie terapeutyczne zaburzonych funkcji śródbłonka naczyniowego w marskości wątroby.

Table 1. Classic and new therapeutic strategies of impaired vascular endothelial function in liver cirrhosis.

Środek leczniczy	Funkcja śródbłonka
Witaminy	<ul style="list-style-type: none"> • Poprawa aktywności eNOS • Zwiększenie biodostępności NO • Zmniejszenie ROS • Działanie antyoksydacyjne
Flawonoidy	<ul style="list-style-type: none"> • Zwiększenie biodostępności NO • Zapobieganie stresowi oksydacyjnemu • Poprawa działania enzymów antyoksydacyjnych
Statyny	<ul style="list-style-type: none"> • Obniżenie stężenia cholesterolu całkowitego • Zwiększenie fosforylacji eNOS zależnej od Akt • Pobudzanie biosyntezy NO • Redukcja Ox-LDL • Obniżenie wskaźników reakcji zapalnej
Receptory jądrowe	<ul style="list-style-type: none"> • Zwiększenie biodostępności NO • Zwiększenie aktywności DDAH • Obniżenie poziomu ADMA • Przywrócenie prawidłowego napięcia naczyń
Środki obniżające poziom amoniaku	<ul style="list-style-type: none"> • Detoksykacja amoniaku • Zwiększenie biodostępności NO • Obniżenie poziomu ADMA • Zwiększenie ekspresji DDAH
β -blokery	<ul style="list-style-type: none"> • Złagodzenie stresu oksydacyjnego • Osłabienie reakcji zapalnej • Przywrócenie aktywności enzymów antyoksydacyjnych
Antagoniści receptora angiotensyny	<ul style="list-style-type: none"> • Zwiększenie poziomu NO • Osłabienie reakcji zapalnej z udziałem Ang-II • Zmniejszenie włóknienia z udziałem TIMP-1, MMP-2
Pioglitazon	<ul style="list-style-type: none"> • Zwiększenie wrażliwości na insulinę • Osłabienie reakcji zapalnej • Zwiększenie produkcji NO • Obniżenie poziomu wolnych kwasów tłuszczowych

Legenda: NO – tlenek azotu; ADMA – asymetryczna dimetyloarginina; eNOS – śródbłonkowa syntaza tlenu azotu; ROS – reaktywne formy tlenu; DDAH – dimetyloaminohipokretyna dimetyloargininy; Ox-LDL – utlenione lipoproteiny o niskiej gęstości; TIMP-1 – tkankowy inhibitor metaloproteinaz; MMP-2 – metaloproteinazy macierzy zewnątrzkomórkowej.

Rycina 1. Mechanizmy pośredniczące w obniżaniu oporu wątrobowego przez statyny.

Legenda: eNOS – śródbłonkowa syntaza tlenu azotu; HSC – komórki gwiazdiste wątroby; BH₄ – tetrahydrobiopteryna;

Hsp90 – białko szoku cieplnego; Akt – serynowo-treoninowa kinaza białkowa.

Figure 1. Mediators in the reduction of hepatic resistance by statins.

powoduje redukcję stresu oksydacyjnego i zwiększoną ekspresję eNOS, bez wpływu na hemodynamikę w zwierzęcym modelu marskości [2].

Statyny

Statyny zyskały zainteresowanie w biologii ze względu na stymulację eNOS i aktywację produkcji śródbłonkowego tlenu azotu (**rycina 1**) [9]. Statyny selektywnie wpływają na komórki śródbłonka naczyń zatok wątrobowych poprzez stymulację ekspresji czynnika transkrypcji (ang. *kruppel-like factor-2*, KLF2). KLF2 ulega silnej ekspresji w komórkach śródbłonka naczyń i chroni śródbłonek przez zwiększoną ekspresję genów wazo-protেকcyjnych, w tym eNOS [10]. Nadekspresja KLF2 na komórkach śródbłonka naczyń zatok wątrobowych prowadzi do zahamowania aktywacji komórek gwiazdzystych w modelu hodowli komórkowej, co potwierdza antyfibrogenne działanie statyn [9]. Statyny wykazują także antyfibrogenne działanie poprzez bezpośrednią aktywację komórek gwiazdzystych. W badaniu z użyciem szczurzego modelu włóknienia wątroby wykazano, że wczesna ekspozycja na Atorwastatynę powoduje zahamowanie aktywacji komórek gwiazdzystych i starzenie wątrobowych miofibroblastów [11]. W procesie przebudowy marskiej wątroby kinaza Rho przyczynia się do zwiększonego oporu wewnątrz-wątrobowego poprzez pośredniczenie w skurczu aktywowanych komórek gwiazdzystych. W modelu doświadczalnym marskości wątroby potwierdzono,

że Atorwastatyna zmniejsza opór wewnątrz-wątrobowy i obniża ciśnienie wrotne poprzez zahamowanie kinazy Rho i aktywację eNOS [11].

W badaniach klinicznych wykazano, że statyny mogą obniżać ciśnienie wrotne u pacjentów z marskością wątroby. Simwastatyna normalizuje wątrobową syntezę tlenu azotu i funkcję śródbłonka, a także obniża ciśnienie wrotne u pacjentów z marskością. Natomiast Atorwastatyna zapobiega rozwojowi reakcji zapalnej i aktywacji komórek gwiazdzystych indukowanej przez infuzję Ang-II [11]. Pioglitazon, zwiększający wrażliwość na insulinę, zmniejsza tworzenie przetok wrotnych przez modulację reakcji zapalnej i angiogenezy w szczurzym modelu z nadciśnieniem wrotnym, w obecności lub braku marskości. Sorafenib, inhibitor kinazy tyrozynowej, dopuszczony do leczenia raka wątrobowokomórkowego, działa w zakresie redukcji ciśnienia wrotnego w marskości. Inne wielokierunkowe inhibitory receptora kinazy tyrozynowej, jak Sunitinib i Imatinib również znalazły zastosowanie w leczeniu nadciśnienia wrotnego poprzez udział w regulacji tlenu azotu w odniesieniu do uszkodzenia śródbłonka [11]. Jednakże strategie leczenia z udziałem statyn w odniesieniu do zaburzeń funkcji śródbłonka w rozwoju marskości wątroby, wymagają dalszych badań klinicznych.

Receptory jądrowe

Kwas obeticholowy, syntetyczny ligand receptora farnesoidu X (ang. *farnesoid X receptor*, FXR)

należącego do nadrodziny receptorów jądrowych czynników transkrypcyjnych, odgrywa istotną rolę w metabolizmie kwasu żółciowego i lipidów. Agoniści FXR posiadają liczne geny docelowe, w tym dla dimetyloaminohydrolazy dimetyloargininy 1 (ang. *dimethylarginine diaminohydrolase 1*, DDAH1) [12]. Wykazano, że kwas obeticholowy znacząco zwiększa aktywność wątrobowej DDAH1 i eNOS oraz biodostępność tlenu azotu u szczurów z marskością, prowadząc do poprawy w czynności śródbłonka i, towarzyszącego temu, spadku ciśnienia wrotnego. W wieloośrodkowych badaniach klinicznych fazy 2a z użyciem kwasu obeticholowego u pacjentów z niewyrównaną marskością, wykazano tendencję spadkową ciśnienia wrotnego [13]. Obiecujące wyniki uzyskano przy zastosowaniu transfekcji diaminohydrolazy dimetyloargininy 1 do marskiej wątroby, uzyskując przywrócenie funkcji śródbłonka i zmniejszenie nadciśnienia wrotnego [14]. Inny członek nadrodziny receptorów jądrowych, receptor aktywowany przez proliferatory peroksisomów α (ang. *peroxisome proliferator-activated receptor alpha*, PPAR- α) wykazuje podobne działanie w odniesieniu do zaburzonej funkcji śródbłonka i ciśnienia wrotnego w marskości wątroby [15].

Środki obniżające poziom amoniaku

AST-120, doustne mikrosfery węgla adsorpcyjnego i środek obniżający poziom amoniaku wykazują redukcję uszkodzenia śródbłonka u szczurów z mocznicą wywołaną adeniną. Wykazano, że leczenie AST-120 zapobiega progresji encefalopatii wątrobowej u szczurów z marskością i przewlekłej chorobie nerek w warunkach klinicznych, co może być użyteczne w leczeniu zaburzenia funkcji śródbłonka w marskości. Potrzebne są dalsze badania, by określić potencjalną rolę AST-120 w zależnym od tlenu azotu uszkodzeniu śródbłonka w marskości. Opracowano nową, obiecującą terapię, jaką jest OCR-002 (Fenyllooctan ornityny) w leczeniu encefalopatii wątrobowej. W badaniach na zaawansowanym etapie klinicznym nad OCR-002 wykazano redukcję nadciśnienia wrotnego poprzez zahamowanie reakcji zapalnej z udziałem amoniaku i zwiększenie biodostępności tlenu azotu [16]. Powyższe badania wskazują na nowe podejście terapeutyczne w leczeniu uszkodzenia śródbłonka i związanego z nim nadciśnienia wrotnego u pacjentów z marskością wątroby.

Nieselektywne β -bloker

Karwedilol jest nieselektywnym β -blokerem, wykazującym właściwości wazodylatacyjne poprzez blokowanie receptorów alfa 1-adrenergicznych,

obniża stres oksydacyjny i przywraca aktywność enzymów antyoksydacyjnych, a także osłabia indukcję reakcji zapalnej z udziałem czynnika NF- κ B w przewlekłej chorobie wątroby [17]. Nebivolol, β -bloker trzeciej generacji, zwiększa trzewny przepływ krwi i ciśnienie wrotne przez sygnalizację zależną od tlenu azotu. W zawale mięśnia sercowego celowanie Nebivololem zmniejsza dysfunkcję rozkurczową, przez redukcję stresu oksydacyjnego, zwiększając aktywność kinazy białkowej aktywowanej przez AMP (ang. *5'AMP-activated protein kinase*, AMPK) i serynowo-treoninowej kinazy białkowej (Akt) w biosyntezie tlenu azotu. Otrzymane w badaniach naukowych niejednoznaczne wyniki dotyczące użycia β -blokerów u chorych z niewyrównaną marskością wątroby uzasadniają prowadzenie dalszych badań klinicznych [18].

Antagoniści receptora angiotensyny

Cyleksetyl kandesartanu, selektywny antagonistą receptora typu I angiotensyny II (ang. *angiotensin II type I*, AT1) jest szeroko stosowany w praktyce klinicznej jako lek przeciwnadciśnieniowy. Podawanie Cyleksetylu kandesartanu pacjentom z wyrównaną marskością wątroby jest bezpieczne i dobrze przez nich tolerowane, a prowadzone leczenie nie powoduje niewydolności nerek i dekomensacji wątroby. Cyleksetyl kandesartanu zwiększa biodostępność tlenu azotu poprzez blokadę receptorów AT1, poprawiając zaburzone funkcje śródbłonka w przebiegu procesu przebudowy marskiej wątroby [19].

Otrzymano: 2019.06.17 · Zaakceptowano: 2019.06.26

Piśmiennictwo

1. Wallez Y., Huber P.: Endothelial adherens and tight junctions in vascular homeostasis, inflammation and angiogenesis. *Biochim Biophys Acta* 2008 Mar, 1778(3): 794–809.
2. Gracia-Sancho J., Maeso-Díaz R., Fernández-Iglesias A., Navarro-Zornoza M., Bosch J.: New cellular and molecular targets for the treatment of portal hypertension. *Hepatol Int.* 2015 Apr, 9(2): 183–191.
3. Nair H., Berzigotti A., Bosch J.: Emerging therapies for portal hypertension in cirrhosis. *Expert Opin Emerg Drugs* 2016 Jun, 21(2): 167–181.
4. Yang Y.Y., Lee T.Y., Huang Y.T., Chan C.C., Yeh Y.C., Lee F.Y., Lee S.D., Lin H.C.: Asymmetric dimethylarginine (ADMA) determines the improvement of hepatic endothelial dysfunction by vitamin E in cirrhotic rats. *Liver Int.* 2012, 32: 48–57.
5. Kietadisorn R., Juni R.P., Moens A.L.: Tackling endothelial dysfunction by modulating NOS uncoupling: new insights into its pathogenesis and therapeutic possibilities. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2012, 302: E481–495.
6. Dornas W.C., Silva M., Tavares R., de Lima W.G., dos Santos R.C., Pedrosa M.L., Silva M.E.: Efficacy of the superoxide dismutase mimetic tempol in animal hypertension models: a meta-analysis. *J Hypertens.* 2015 Jan, 33(1): 14–23.
7. Fernandes I., Pérez-Gregorio R., Soares S., Mateus N., de Freitas V.: Wine Flavonoids in Health and Disease Prevention. *Molecules* 2017 Feb, 22(2): 292. doi: 10.3390/molecules22020292.
8. De Gottardi A., Berzigotti A., Seijo S., D'Amico M., Thormann W., Abalde J. G., García-Pagán J. C., Bosch J.: Postprandial effects of dark chocolate on portal hypertension in patients with cirrhosis:

- results of a phase 2, double-blind, randomized controlled trial. *Am J Clin Nutr.* 2012, 96: 584–590.
9. Vargas J.I., Arrese M., Shah V.H., Arab J.P.: Use of Statins in Patients with Chronic Liver Disease and Cirrhosis: Current Views and Prospects. *Curr Gastroenterol Rep.* 2017 Sep, 19(9): 43. doi: 10.1007/s11894-017-0584-7.
 10. Villarreal G.Jr, Zhang Y., Larman H.B., Gracia-Sancho J., Koo A., García-Cardena G.: Defining the regulation of KLF4 expression and its downstream transcriptional targets in vascular endothelial cells. *Biochem Biophys Res Commun.* 2010 Jan, 391(1): 984–989.
 11. Trebicka J., Hennenberg M., Laleman W., Shelest N., Biecker E., Schepke M., Nevens F., Sauerbruch T., Heller J.: Atorvastatin lowers portal pressure in cirrhotic rats by inhibition of RhoA/Rho-kinase and activation of endothelial nitric oxide synthase. *Hepatology* 2007, 46: 242–253.
 12. Hu T., Chouinard M., Cox A.L., Sipes P., Marcelo M., Ficorilli J., Li S., Gao H., Ryan T.P., Michael M.D., Michael L.F.: Farnesoid X receptor agonist reduces serum asymmetric dimethylarginine levels through hepatic dimethylarginine dimethylaminohydrolase-1 gene regulation. *J Biol Chem.* 2006, 281: 39831–39838.
 13. Mookerjee R., Rosselli M., Pieri G., Beecher-Jones T., Hooshmand-Rad R., Chouhan M., Mehta G., Jalan R., Shapiro D.: Effect of the FXR Agonist Obeticholic acid on portal pressure in alcoholic cirrhosis, a proof of concept Phase 2a study. *Hepatology* 2012, 56: 1529–1530.
 14. Mehta G., Sharma V., Habtesion A., Balasubramanian V., Davies N., Jalan R., Budhrum-Mahadeo V., Mookerjee R.P.: Gene transfer of dimethylarginine dimethylaminohydrolase-1 reduces portal pressure in a rodent model of cirrhosis. *Gut.* 2012, 61: A123. <http://dx.doi.org/10.1136/gutjnl-2012-302514b.123>.
 15. Rodríguez-Vilarrupla A., Laviña B., García-Calderó H., Russo L., Rosado E., Roglans N., Bosch J., García-Pagán J.C.: PPAR α activation improves endothelial dysfunction and reduces fibrosis and portal pressure in cirrhotic rats. *J Hepatol.* 2012, 56(5): 1033–1039.
 16. Six I., Gross P., Rémond M.C., Chillon J.M., Poirot S., Druke T.B., Massy Z.A.: Deleterious vascular effects of indoxyl sulfate and reversal by oral adsorbent AST-120. *Atherosclerosis* 2015 Nov, 243(1): 248–256.
 17. El-Demerdash E., Abdel-Sattar S.A., El-Bakly W.M., Mohamed E.A.: Antifibrotic Effects of Carvedilol and Impact of Liver Fibrosis on Carvedilol Pharmacokinetics in a Rat model. *Eur J Drug Metab Pharmacokinet.* 2017 Oct, 42(5): 767–779.
 18. Rockey D.C.: The Molecular Basis of Portal Hypertension. *Trans Am Clin Climatol Assoc.* 2017, 128: 330–345.
 19. Takahara M., Shiraiwa T., Shindo M., Arai A., Kusuda Y., Katakami N., Kaneto H., Matsuoka T.A., Shimomura I.: Efficacy and safety of 10-mg azilsartan compared with 8-mg candesartan cilexetil in Japanese patients with hypertension: a randomized crossover non-inferiority trial. *Hypertens Res.* 2014 Sep, 37(9): 852–857.