

FACULTAD: MEDICINA

DEPARTAMENTO: FARMACOLOGÍA

Autor: VICENTE MUEDRA NAVARRO.

Título completo de la Tesis: " ESTUDIO EXPERIMENTAL
DE LA REACTIVIDAD VASCULAR EN LA
HIPERTENSION PORTAL "

Calificación: APTO " CUM LAUDE "

Fecha de Lectura: 14 MARZO 1996

Tribunal (Nombre y apellidos completos de los componentes):

- DR. JUAN VICENTE ESPLUGUES MOTA.
- DR. MIGUEL MARTÍ CABRERA.
- DR. JOSÉ MANUEL ESTRELA ARIGÜEL.
- DR^a MARIA TERESA TERÁN SOMAZA.
- DR. RAFAEL MONTERO BENZO.

Director/es. de la Tesis:

- DR. JUAN ESPLUGUES REQUENA.
- DR^a MARIA ANGELES MARTÍNEZ CUESTA.
- DR^a MARIA DOLORES BARRACHINA SANCHO.

Dirección particular y teléfono del Autor:

CI ALBOCACER N° 17 PTA 2ª (BAJO)
VALENCIA, 46020
Tf: 3618717

DEPARTAMENTO DE FARMACOLOGIA

FACULTAD DE MEDICINA

UNIVERSITAT DE VALENCIA

916

BID T 4591

**"Estudio experimental
de la reactividad vascular en la
hipertensión portal"**

TESIS DOCTORAL

VICENTE MUEDRA NAVARRO

Valencia, 1996

R-52066

UMI Number: U602945

All rights reserved

INFORMATION TO ALL USERS

The quality of this reproduction is dependent upon the quality of the copy submitted.

In the unlikely event that the author did not send a complete manuscript and there are missing pages, these will be noted. Also, if material had to be removed, a note will indicate the deletion.



UMI U602945

Published by ProQuest LLC 2014. Copyright in the Dissertation held by the Author.
Microform Edition © ProQuest LLC.

All rights reserved. This work is protected against
unauthorized copying under Title 17, United States Code.



ProQuest LLC
789 East Eisenhower Parkway
P.O. Box 1346
Ann Arbor, MI 48106-1346

Dr. JUAN ESPLUGUES REQUENA, Catedrático Emérito de Farmacología de la Universitat de València,

Dra MARIA ANGELES MARTÍNEZ CUESTA, Doctora en Farmacia por la Universitat de València, y


Dra MARIA DOLORES BARRACHINA SANCHO, Doctora en Farmacia por la Universitat de València.

CERTIFICAN QUE: La Tesis Doctoral titulada: "*Estudio experimental de la reactividad vascular en la hipertensión portal*" presentada por el Licenciado en Medicina y Cirugía D. Vicente Muedra Navarro para obtener el grado de Doctor, ha sido realizada bajo nuestra dirección en el Departamento de Farmacología de esta Universitat y autorizamos su lectura y defensa.

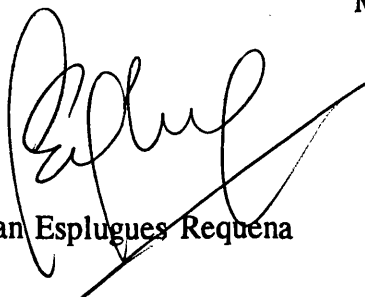
València, doce de Febrero de 1996.



Mª Dolores Barrachina



Mª Angeles Martínez Cuesta



Juan Esplugues Requena

*A mi mujer, Lucrecia, por
derrochar conmigo tanto tiempo, tanto apoyo,
tanto amor...*

*A mis padres, y hermanos, a
los que nunca compensaré todo lo que han hecho
por mí.*

AGRADECIMIENTOS

"El paso del tiempo no te hace ni mejor ni peor, pero te enseña a distinguir con claridad inusual con quién puedes contar, y cuánto le debes de agradecer" (V.M.N).

Deseo en primer lugar, expresar mi más profundo agradecimiento a los directores de esta tesis, D. Juan Esplugues Requena, D^a. María Dolores Barrachina Sancho y muy especialmente a D^a María de los Angeles Martinez-Cuesta, por su inestimable colaboración fundamental para llevar a buen término todo esta labor.

A D. Juan Vicente Esplugues Mota, porque me dió la oportunidad de satisfacer mi inquietud investigadora, y supo inculcarme el rigor por las formas y la precisión del contenido.

Mi más sincera estima a Dora, Amparo y Regina no sólo por su colaboración y sus consejos, sino por brindarme la más inquebrantable de las joyas: su amistad.

A Belén, a Sara, a Lucrecia por ser como sois y haberme soportado durante tanto tiempo.

A todos y a cada uno de los miembros de este Departamento, que forma ya parte de mi vida. Sinceramente de corazón....

Sento.

ABREVIATURAS

Ach	Acetilcolina.
AMP _c	Adenosin monofosfato cíclico.
ANG-II	Angiotensina-II.
AVP	Vasopresina.
CCR	Curva concentración respuesta.
ClK	Cloruro potásico.
DE ₅₀	Dosis eficaz 50.
E _{MAX}	Efecto máximo.
END-1	Endotelina-1.
e.s.m	Error estadístico de la media.
GTP	Guanidin trifosfato.
GMP _c	Guanidin monofostato cíclico.
GVPP	Gradiente venoso de presión portal.
5-HT	5-hidroxitriptamina o serotonina.
HTP	Hipertensión portal.
L-NAME	N ^G -nitro-L-arginina metil ester.
LVP	Ligadura venosa portal.
M	Molar, concentración de 1 mol/L.
mM	Milimolar, 10 ⁻³ .
μM	Micromolar, 10 ⁻⁶ .
nM	Nanomolar, 10 ⁻⁹ .
pM	Picomolar, 10 ⁻¹² .
NA	Noradrenalina.
NADPH	Nucleótido adenin difosfato reducido.

ON	Oxido nítrico.
ΔP	Gradiente de presión.
pD_2	Logaritmo negativo de la DE_{50} .
PGI_2	Prostaciclina.
TXA_2	Tromboxano A_2 .

INTRODUCCION

I.GENERALIDADES SOBRE LA HIPERTENSIÓN PORTAL.

I.1.- Fisiología de la circulación hepática y esplácnica.	1
I.2.- El síndrome de la hipertensión portal.	3
I.2.1.- Definición.	3
I.2.2.- Etiología de la hipertensión portal.	4
I.2.2.1.- Modelo de hipertensión portal animal.	4
I.2.3.- Fisiopatología de la hipertensión portal.	5
I.2.3.1.- Principios hemodinámicos.	5
I.2.3.2.- Papel de las alteraciones de la resistencia vascular en la fisiopatología de la hipertensión portal.	6
a) Resistencia intrahepática.	8
b) Resistencia porto-colateral sistémica.	9

**II. ALTERACIONES DE LA REACTIVIDAD VASCULAR EN LA
HIPERTENSIÓN PORTAL.**

II.1.- Influencia del flujo sanguíneo: vasodilatación esplácnica y aumento del flujo venoso portal. Circulación hiperdinámica.	10
II.2.- Sensibilidad vascular a los vasoconstrictores endógenos.	14
II.3.- Papel de los vasodilatadores endógenos.	15
II.4.- Papel de los factores endoteliales: óxido nítrico.	17
II.4.1.- Implicación del óxido nítrico en la hipertensión portal.	19

III. PERSPECTIVAS TERAPÉUTICAS: Aproximación al tratamiento farmacológico actual de la hipertensión portal.	21
IV. SITUACIÓN ACTUAL DEL PROBLEMA: Hipótesis del trabajo.	27
OBJETIVOS.	
I. ESTUDIO DE LA REACTIVIDAD EN VENA MESENTERICA.	30
II. ESTUDIO DE LA REACTIVIDAD EN ARTERIA MESENTÉRICA Y GÁSTRICA.	31
MATERIAL Y MÉTODOS.	
I. ASPECTOS TÉCNICOS.	
I.1.- Material biológico.	32
I.2.- Inducción de la hipertensión portal: ligadura parcial de la vena porta.	32
I.3.- Medición de la presión portal.	33
I.4.- Aislamiento y preparación de los tejidos.	33
I.5.- Montaje del preparado en el sistema de baño de órganos.	35
I.5.1.- Aspectos generales.	35
I.5.2.- Determinación de la tensión basal óptima.	36

II. PROTOCOLOS EXPERIMENTALES.	
II.1.- Estudio de la reactividad vascular en la vena mesentérica.	38
II.1.1.- Respuesta contráctil al cloruro potásico.	38
II.1.2.- Estudio funcional de la viabilidad del endotelio vascular.	38
II.1.3.- Estudio de la reactividad vascular a los vasoconstrictores endógenos.	38
II.1.4.-Reactividad a los vasoconstrictores en presencia de bloqueantes.	39
II.2.- Estudio de la reactividad vascular en la vena iliaca.	40
II.3.- Estudio de la reactividad arterial.	42
a) Efecto del L-NAME sobre la respuesta a la noradrenalina.	42
b) Efecto de la indometacina sobre la respuesta a la angiotensina.	42
II.4.- Alteraciones estructurales inducidas por la hipertensión portal: Estudios morfológicos.	43
III. FÁRMACOS UTILIZADOS: Procedencia y preparación.	44
IV. EXPRESIÓN DE LOS RESULTADOS Y TRATAMIENTO ESTADÍSTICO DE LOS DATOS.	46

RESULTADOS**I. Protocolo A: Reactividad en venas.**

I.1.- Resultados en el territorio venoso portal: vena mesentérica.	48
I.1.1.- Aspecto preliminares.	48
a) Cambios físico-morfológicos inducidos por la hipertensión portal.	48
b) Comprobación farmacológica de la presencia o ausencia de endotelio.	48
c) Respuesta vascular al cloruro potásico.	51
I.1.2.- Reactividad a la vasopresina.	51
I.1.3.- Respuesta a la serotonina.	52
I.1.4.- Hiperreactividad a la vasopresina y serotonina: estudio de los posibles mediadores.	53
I.1.5.- Reactividad a la noradrenalina.	53
I.1.6.- Respuesta a la endotelina-1.	54
I.1.7.- Estudio de la hiporreactividad de la noradrenalina y endotelina-1.	54
I.1.8.- Respuesta a la angiotensina-II.	55
I.2.- Reactividad vascular en territorio venoso extraportal: vena iliaca.	56

II. Protocolo B: Reactividad en arterias.

II.1.- Estudios preliminares.	68
a) Cambios físico-morfológicos inducidos por la hipertensión portal.	68
b) Respuesta contráctil al cloruro potásico.	68
c) Estudio funcional del endotelio vascular.	70

II.2.- Estudio de la reactividad vascular en arterias del territorio esplácnico:	
gástrica y mesentérica.	72
II.2.1.- Reactividad vascular a la noradrenalina, vasopresina y endotelina-1.	72
II.2.2.- Respuesta vascular a la noradrenalina en presencia de L-NAME.	72
II.2.3.- Reactividad vascular a la angiotensina-II.	73
II.2.4.- Respuesta vascular a la angiotensina-II en presencia de indometacina.	73
II.3.- Estudio de la reactividad vascular fuera de territorio esplácnico: aorta torácica.	74
II.3.1.- Respuesta a la noradrenalina en presencia de L-NAME.	74

DISCUSION.

I. Protocolo en vena mesentérica.	87
II. Protocolo en arteria mesentérica y gástrica.	96

CONCLUSIONES.	102
----------------------	------------

BIBLIOGRAFIA.	104
----------------------	------------

INTRODUCCIÓN

I. GENERALIDADES SOBRE LA HIPERTENSIÓN PORTAL.

I.1.- Fisiología de la circulación hepática y esplácnica.

El hígado recibe el aporte de sangre a través de dos vías, la arteria hepática y la vena porta. En el hombre, el flujo sanguíneo aportado por estos dos vasos es de 800-1200 ml/min, aproximadamente el 25-30% del gasto cardiaco. (Guyton, 1985)

Por la vena porta llega aproximadamente el 75% del flujo sanguíneo hepático. En condiciones normales, la presión en esta vena es de 7 mmHg (valores similares en humanos y en animales de experimentación, incluida la rata). Recoge el flujo sanguíneo venoso procedente del tubo digestivo, bazo y páncreas (flujo esplácnico), los cuales están irrigados por las arterias mesentérica superior e inferior, así como por las ramas del tronco celíaco, del cual forma parte también la arteria hepática. En el hígado se divide en dos ramas principales que van a irrigar los lóbulos hepáticos derecho e izquierdo, en cuyo interior se ramifican dando lugar a pequeñas venas que circulan por los *espacios porta*, y que drenan hacia los sinusoides hepáticos. La sangre eferente de los sinusoides es recogida por las venas hepáticas terminales (venas centro-lobulillares), tributarias de las distintas venas suprahepáticas, a través de las cuales el efluyente venoso del hígado llega a la vena cava inferior, a pocos centímetros de su desembocadura en la aurícula derecha. La sangre portal, además de poseer una saturación de oxígeno (alrededor de 80%) superior a la de otros territorios venosos, aporta al hígado factores tróficos esenciales para una correcta función hepática que regulan un aspecto tan importante como la capacidad de regeneración hepática.

Introducción

La sangre arterial vehiculiza, a través de la arteria hepática, entre el 25% y el 35% del flujo sanguíneo hepático total, y aporta el 50% del oxígeno que consume el hígado, mientras que el resto se transporta por la vena porta. Por otra parte, la capacidad de esta arteria para aumentar el flujo sanguíneo cuando se producen descensos en el suministro de sangre portal, permite que el flujo sanguíneo hepático se mantenga relativamente constante en condiciones normales. El mecanismo de esta respuesta "tampón" de la arteria hepática no es bien conocido, pero se han sugerido efectores intrahepáticos que actuarían por vías neurogénicas o metabólicas. Esta respuesta adquiere relevancia clínica siempre que se altera la cantidad de sangre portal que alcanza el hígado, lo que ocurre con frecuencia cuando existe hipertensión portal (HTP) debido a la presencia de derivaciones porto-sistémicas, ya sean espontáneas o quirúrgicas.

La sangre arterial y venosa se mezcla en los sinusoides hepáticos. La sangre arterial llega a éstos a baja presión, dada la existencia de esfínteres pre-sinusoidales y de un plexo capilar alrededor de los canalículos biliares por los cuales tiene que circular la sangre antes de entrar en los sinusoides. Éstos se hallan recubiertos por finas láminas celulares a modo de endotelio. Entre los hepatocitos, organizados en columnas, y la luz sinusoidal existe un espacio virtual (*espacio de Disse*) comunicado con esta última por la existencia de fenestraciones en el recubrimiento endotelial. Esta estructura peculiar permite un contacto máximo entre los hepatocitos y la sangre que perfunde el hígado (Vallance, 1991).

I.2.- El síndrome de la hipertensión portal.

I.2.1.- Definición.

La HTP es un síndrome clínico frecuente caracterizado por un aumento patológico de la presión hidrostática en el territorio venoso portal, el cual conduce a la formación de una extensa red venosa de colaterales porto-sistémicas que divergen el flujo sanguíneo esplácnico hacia la circulación sistémica soslayando el hígado (Bosch y cols., 1989). En este síndrome, el aumento de la presión hidrostática implica un incremento del gradiente de presiones entre la vena porta y las venas suprahepáticas o la vena cava inferior. Por este motivo, se define el llamado *gradiente venoso de presión portal* (GVPP) que expresa el gradiente entre la vena porta y la vena cava inferior (Bosch y cols., 1989).

Asociado al síndrome que describimos, hallamos alteraciones de naturaleza hemodinámica, metabólica y humoral. Este conjunto de factores están relacionados entre sí y participan de una manera directa en la fisiopatología del proceso.

La importancia de este síndrome viene definida por la frecuencia y gravedad de las complicaciones a las que da lugar: hemorragia digestiva por rotura de varices esofago-gástricas, ascitis, encefalopatía hepática, trastornos en el metabolismo de fármacos y sustancias endógenas depuradas normalmente por el hígado, bacteriemia e hiperesplenismo. De todas ellas, destacamos la hemorragia gastrointestinal masiva como la complicación más severa de la HTP, con frecuencia consecuencia de la rotura de varices esofágicas, que puede llegar a ser letal (Bosch y cols., 1984; 1989).

Introducción

Sin embargo, es preciso reconocer que no todo aumento de la presión portal tiene la misma trascendencia clínica. Así, las complicaciones que se suelen asociar sólo se presentan cuando el gradiente de presión es superior a 12 mmHg (García-Tsao y cols., 1985).

I.2.2.- Etiología de la hipertensión portal.

La HTP puede ser causada por cualquier patología que interfiera con el flujo sanguíneo a cualquier nivel dentro del sistema venoso. De acuerdo con su localización anatómica, las patologías causantes de HTP son agrupadas como *prehepáticas* (alteraciones patológicas que afectan las venas esplácnicas, mesentérica o porta), *intrahepáticas* (hepatopatías agudas o crónicas) o *posthepáticas* (patologías que interfieren en el drenaje venoso procedente del hígado). Las causas más comunes de HTP son las enfermedades crónicas del hígado (cirrosis de cualquier etiología, hepatitis crónica, carcinoma hepatocelular, hepatitis alcohólica), infecciones parasitarias (esquistosomiasis), y la trombosis de la vena porta (Bathal y Groszmann, 1985; Albillos y cols., 1990).

I.2.2.1 Modelo de hipertensión portal animal.

La ligadura parcial de la vena porta (LVP) en la rata induce inicialmente, una elevación de la presión portal y la resistencia, así como una disminución del flujo sanguíneo (Sikuler y cols., 1986). Sin embargo, 8 - 14 días más tarde, se forma un red extensa de colaterales que proporciona un shunt porto-sistémico que desvía aproximadamente el 90% del flujo total del sistema venoso esplácnico (Chojkier y Groszmann, 1981). Posteriormente, se observa una disminución de la resistencia portal a niveles comparables con los grupos

Introducción

control, así como un incremento sustancial del flujo venoso que contribuye a mantener elevada la presión portal (Vorobioff y cols. 1983; Benoit y cols., 1984; Sikuler y cols., 1985; Kravetz y cols., 1986; 1988). El aumento del flujo venoso a este nivel, se ve potenciado por la vasodilatación esplácnica y renal, reflejo de la caída de resistencias vasculares sistémica, esplácnica y renal, con una reducción de la presión arterial sistémica y un incremento del gasto cardiaco (Grozmann y cols., 1982; Sikuler y cols., 1985; Benoit y cols., 1986; Kravetz y cols., 1988).

I.2.3.- Fisiopatología de la hipertensión portal.

I.2.3.1 Principios hemodinámicos.

Para entender los factores implicados en la fisiopatología de la HTP debemos comprender y aplicar los principios que determinan el flujo de fluidos en cualquier sistema hidrodinámico. Estos principios, en líneas generales, son aplicables al estudio de la circulación portal. En cualquier sistema hemodinámico, el gradiente de presión entre los dos extremos de un vaso (ΔP) es directamente proporcional al flujo sanguíneo a través del mismo (Q) y a la resistencia (R) que se opone a este flujo, y viene definido por la ecuación (Ley de Ohm):

$$\Delta P = Q \times R$$

donde ΔP es el gradiente de presión portal, Q es el flujo sanguíneo, y R es la resistencia vascular que representa la suma de las resistencias en serie de la vena porta y el territorio vascular hepático y de la resistencia en paralelo de la derivación porto-sistémica.

Introducción

Como se puede deducir de esta fórmula, la presión en este territorio venoso puede incrementarse como resultado de un aumento del flujo sanguíneo (Q), de la resistencia vascular (R), o de una combinación de ambos.

Los factores que afectan a la resistencia vascular están interrelacionados por la ley de Poiseuille en la ecuación:

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

siendo " μ " el coeficiente de viscosidad de la sangre, "L" es la longitud del vaso y "r" su radio. Por lo tanto, cambios en el radio de los vasos constituyen el principal factor que influye sobre la resistencia vascular y, en consecuencia, el que tiene mayor trascendencia en la fisiopatología de la HTP. Conviene recordar que, en la fisiopatología de este síndrome clínico influye, no sólo el territorio vascular porto-hepático, sino también las colaterales, que pueden transportar hasta un 90% del flujo sanguíneo esplácnico (Chojkier y cols., 1981).

I.2.3.2 Papel de las alteraciones de la resistencia vascular en la fisiopatología de la HTP.

Cualquier causa que incremente la resistencia al flujo venoso portal dará lugar a la HTP. Las causas más usuales que la provocan son enfermedades que aumentan la resistencia vascular en la circulación hepática (cirrosis y otras enfermedades hepáticas) o en la vena porta (trombosis, compresión extrínseca) (Bosch y cols., 1989).

Introducción

En condiciones normales, la resistencia al flujo sanguíneo se ejerce a nivel de la microcirculación hepática. La resistencia vascular en el hígado es baja y puede ser capaz de amortiguar grandes cambios en este flujo sanguíneo produciendo sólo mínimos cambios en la presión (Bruix, 1990). Sin embargo, el hígado no controla el volumen del flujo, que está determinado principalmente por la resistencia vascular de los órganos espláncnicos que drenan el sistema venoso portal.

El tipo de resistencia vascular varía marcadamente en la HTP. En el modelo prehepático (ligadura de la vena porta) la resistencia hepática no varía, pero la resistencia portal está marcadamente aumentada en la vena obstruida; mientras que en la cirrosis, la resistencia venosa es normal pero la resistencia hepática está aumentada considerablemente (probablemente a nivel sinusoidal y post-sinusoidal). Es importante remarcar que cuando la HTP está presente, la circulación colateral participa en la resistencia total que se opone al flujo sanguíneo.

El principal factor que incide sobre la resistencia vascular es el radio de los vasos. Éste puede estar influenciado por cambios pasivos (por ejemplo: la dilatación en respuesta a un incremento en la presión o en el flujo sanguíneo; la contracción en respuesta a un volumen sanguíneo reducido), o activamente por factores que modifican el estado contráctil del músculo liso vascular (estímulo neurogénico, factores humorales, y agentes farmacológicos) (Navasa y cols., 1989). La longitud de los vasos es otro factor que contribuye significativamente a la resistencia colateral, ya que las colaterales son a menudo largas y tortuosas. Finalmente, cambios en la viscosidad de la sangre, debidas a variaciones

en el hematocrito y en la concentración de las proteínas plasmáticas, pueden afectar la resistencia, especialmente cuando siguen a una hemorragia gastrointestinal.

a) Resistencia intrahepática.

Se ha descrito que el aumento de la resistencia vascular hepática en la cirrosis está localizado principalmente en los sinusoides hepáticos (Shibayama y cols., 1985). Hasta hace poco tiempo, se había asumido que la elevada resistencia vascular hepática que aparece en la cirrosis era fija, como consecuencia mecánica de la distorsión de la arquitectura vascular en el hígado causada por la fibrosis y la posterior formación de nódulos. Sin embargo, hoy en día existen evidencias de que la resistencia vascular hepática no tiene un comportamiento estático, sino que hay un componente activo que puede ser modificado por algunos estímulos (Bathal y Groszmann, 1985; Valla y cols., 1987).

La parte modificable podría serlo gracias a la presencia de miofibroblastos, presentes en los septos fibrosos que rodean los nódulos y las vénulas terminales (Bathal y Groszmann, 1985). La contracción sostenida de estos elementos, como resultado de una estimulación neurogénica o humoral, puede contribuir a aumentar la resistencia hepática al flujo portal en la cirrosis. Este hecho se apoya en estudios realizados en preparaciones de hígado perfundido procedente de ratas con cirrosis, en los que se ha podido observar una respuesta mayor que en animales sanos, sugiriéndose que en la cirrosis hay una hiperactividad de algunos de esos factores (Bathal y Groszmann, 1985). Parece ser que *in vivo* esta respuesta es menor. Esos resultados abren una nueva orientación en el tratamiento farmacológico de la HTP.

b) Resistencia porto-colateral sistémica.

El incremento de la presión portal es el principal factor responsable de la formación de colaterales porto-sistémicas (Chojkier y Groszmann, 1985), que se desarrollan por la apertura, dilatación, e hipertrofia de canales vasculares preexistentes. También podría estar involucrado un componente de angiogénesis activa. Esta génesis se establece en función del tiempo, como lo demuestran estudios realizados en músculo longitudinal de ratas con LVP (Bruix, 1990) y en animales sometidos a sección del colédoco (Sikuler y cols., 1985).

En estadios avanzados de HTP, la circulación colateral puede llegar a representar el 90% del flujo sanguíneo portal (Chojkier y Groszmann, 1981; Kravetz y cols., 1989). En estas circunstancias, es obvio que los cambios en la resistencia porto-sistémica pueden modificar la presión portal. Estos vasos colaterales tienen una notable cantidad de tejido muscular liso, y pueden exhibir cambios activos en su diámetro, inducidos por estímulos neurogénicos y/o humorales. Así por ejemplo, se ha demostrado que en la HTP el lecho vascular mesentérico muestra una hipersensibilidad a la serotonina (Cummings y cols., 1986; 1988). Estudios experimentales han verificado que la administración de bloqueadores selectivos de los receptores tipo 2 de la serotonina producen un descenso de la presión portal a través de una disminución de la resistencia porto-colateral (Kaumann y cols., 1988; García-Pagán y cols., 1991).

II. ALTERACIONES DE LA REACTIVIDAD VASCULAR EN LA HIPERTENSIÓN PORTAL.

II.1.- Influencia del flujo sanguíneo: vasodilatación esplácnica y aumento del flujo venoso portal. Circulación hiperdinámica.

Durante mucho tiempo se pensó que la HTP era principalmente debida a un incremento de la resistencia al flujo sanguíneo portal causado por el bloqueo prehepático, intrahepático o posthepático asociado a un flujo esplácnico disminuído (teoría retrógrada) (Bosch y cols., 1989). Sin embargo, la disponibilidad de técnicas que permitieron evaluar este flujo, apoyó la teoría opuesta (anterógrada o de hiperaflujo), anunciada ya por Vorióff y cols. (1984) y en la que el incremento del flujo venoso portal se considera como el factor principal que participa en el desarrollo de este síndrome clínico (Pizcueta y cols., 1989). La existencia de una circulación esplácnica hiperdinámica ha sido comprobada tanto en animales de experimentación como en pacientes.

En estadios avanzados de HTP existe un aumento del flujo sanguíneo por el sistema porto-colateral que juega un papel trascendental en el mantenimiento y agravamiento del síndrome (Vorióff y cols., 1984; Kravetz y cols., 1989; Pizcueta y cols., 1989). Es fácil entender que si el flujo sanguíneo no aumentara, la circulación colateral provocaría un descenso de la presión portal. Este hiperaflujo sanguíneo es el resultado de una marcada vasodilatación arteriolar en los órganos esplácnicos que drenan al sistema venoso portal y en cuyo mecanismo de producción se han implicado, entre otros, sustancias vasodilatadoras endógenas. Se piensa que, en conjunto, estos vasodilatadores humorales podrían explicar

Introducción

hasta un 40% del aumento del flujo sanguíneo portal. Por tanto, su contribución es importante aunque limitada.

Otros de los hechos que acontecen en la HTP es la existencia de una menor sensibilidad vascular a estímulos vasoconstrictores endógenos como la noradrenalina (Kitano y cols., 1982; Bomzon y cols., 1987; Pizcueta y cols., 1990; Joh y cols., 1991), angiotensina-II (Castro y cols., 1993) y vasopresina (Mesh y cols., 1991), lo que también podría contribuir al desarrollo de una vasodilatación esplácnica . Los estudios diseñados *in vivo* no han permitido delimitar claramente la contribución relativa de cada uno de estos factores vasodilatadores (Alon y cols., 1982; Benoit y cols., 1984), ni la hiporrespuesta a los vasopresores endógenos (Kiel y cols., 1985; Murray y Paller, 1985), así como las interacciones que se establecen entre ellos (Kiel y cols., 1985; Mesh y cols., 1991).

Las manifestaciones hemodinámicas que aparecen asociadas en la HTP crónica con shunt porto-sistémico concomitante han sido foco de atención de numerosos estudios en los últimos años. Como resultado de los mismos, se ha visto, tanto en humanos (Schrier y cols., 1988) como en modelos animales (Sikuler y cols., 1985) que la HTP crónica conduce a un estado circulatorio hiperdinámico caracterizado por un incremento del gasto cardiaco, elevación del flujo sanguíneo sistémico y esplácnico, así como una disminución de las resistencias vasculares (Bosch y cols., 1992). El mecanismo responsable de esta circulación hiperdinámica es, probablemente, semejante al de la vasodilatación esplácnica. Estas alteraciones de la hemodinámica sistémica tienen gran importancia, pues desencadenan respuestas neurohumorales (activación del sistema nervioso autónomo simpático, del sistema

Introducción

renina-angiotensina-aldosterona, etc.), dirigidas a mantener la tensión arterial en niveles normales, con profundas consecuencias en la fisiopatología de la ascitis y en los trastornos de la función renal que aparecen en la cirrosis hepática (Bosch y cols., 1980) (Figura 1).

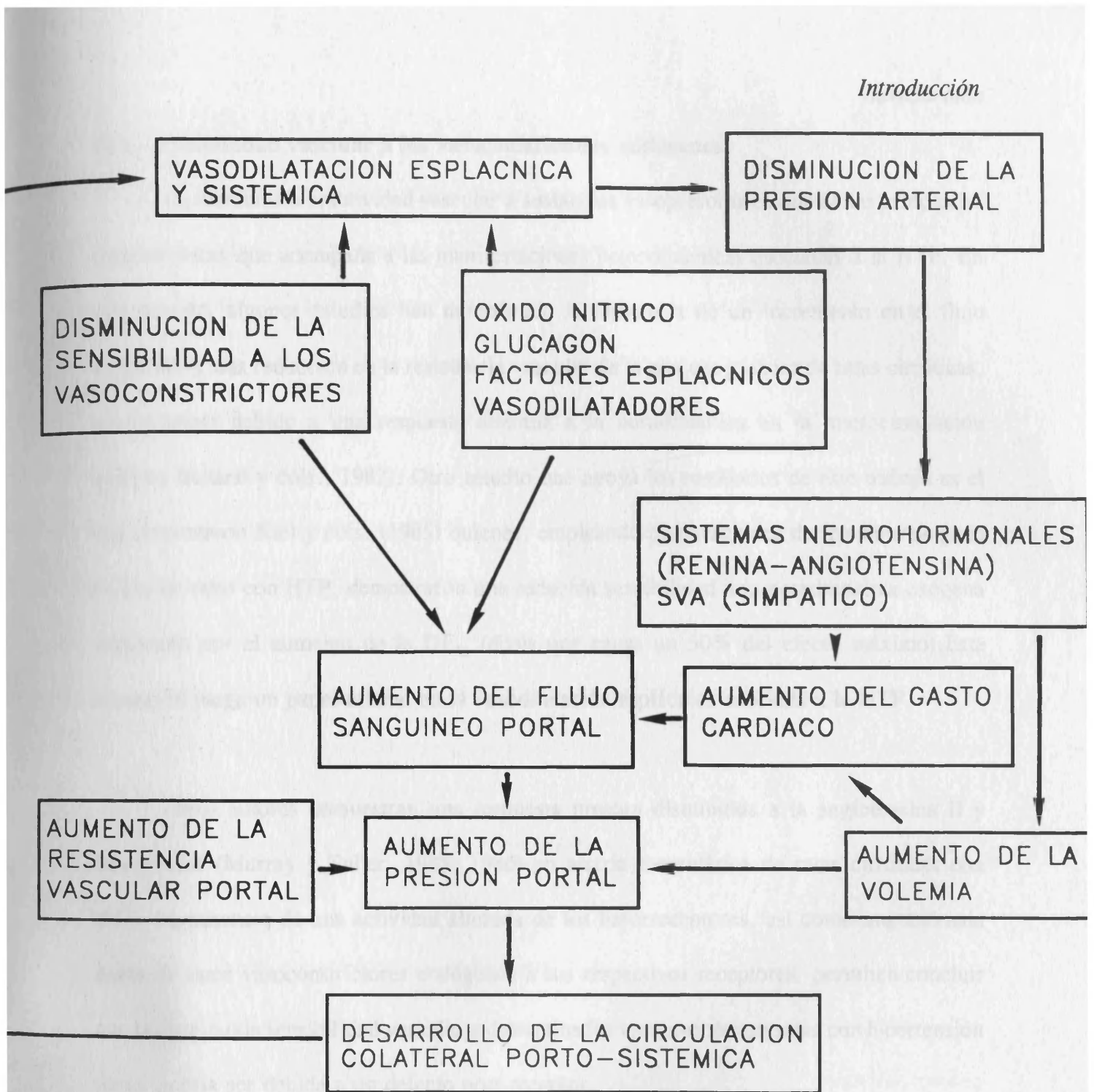


FIGURA 1. Representación esquemática de los principales factores implicados en la fisiopatología de la hipertensión portal.

II.2.- Sensibilidad vascular a los vasoconstrictores endógenos.

La disminuida reactividad vascular a sustancias vasopresoras es una de las principales características que acompaña a las manifestaciones hemodinámicas asociadas a la HTP. En este sentido, algunos estudios han demostrado la existencia de un incremento en el flujo sanguíneo y una reducción en la resistencia vascular de la mucosa gástrica de ratas cirróticas, posiblemente debido a una respuesta alterada a la noradrenalina en la microcirculación gástrica (Kitano y cols., 1982). Otro estudio que apoya los resultados de este trabajo es el que presentaron Kiel y cols. (1985) quienes, empleando preparaciones de intestino delgado *in situ* de ratas con HTP, demostraron una reducida sensibilidad a la noradrenalina exógena verificado por el aumento de la DE_{50} (dosis que causa un 50% del efecto máximo). Esta alteración juega un papel crucial en la vasodilatación esplácnica asociada a la HTP.

Otros autores demuestran una respuesta presora disminuida a la angiotensina II y vasopresina (Murray y Paller, 1985; 1986) en arteria mesentérica de ratas cirróticas con HTP. La ausencia de una actividad alterada de los barorreceptores, así como una anómala unión de estos vasoconstrictores endógenos a sus respectivos receptores, permiten concluir que la disminuida sensibilidad vascular a determinados vasopresores en ratas con hipertensión portal podría ser debida a un defecto post-receptor.

En esta línea se dirigen también los estudios realizados por Sieber y Grozmann (1992), que muestran una significativa hiporreactividad a la noradrenalina y a la vasopresina en animales con HTP, empleando un sistema de perfusión vascular *in vitro*. Los resultados obtenidos no parecen relacionar dicha hiporreactividad vascular con la sensibilidad, puesto

Introducción

que los valores de pD_2 (logaritmo de la concentración eficaz 50 con signo negativo) resultan similares tanto en animales hipertensos como normales. Esta hipótesis es apoyada por el hallazgo de una hiporrespuesta en ratas hipertensas al cloruro potásico, un agente despolarizante que induce vasoconstricción por un mecanismo receptor-independiente.

Por otra parte, estudios realizados en vena mesentérica y porta han demostrado una hipersensibilidad manifiesta a la serotonina, verificándose que la administración de bloqueadores selectivos de los receptores tipo 2 de la serotonina producen un descenso de la presión portal a través de un descenso de la resistencia porto-colateral (Cummings y cols., 1986).

Se ha postulado que la hiporrespuesta a los vasopresores endógenos pudiera estar relacionada con la presencia de un antagonismo vasodilatador (Pizcueta y cols., 1990; Mesh y cols., 1991).

II.3.- Papel de los vasodilatadores endógenos.

Como ya sabemos, el aumento del flujo sanguíneo portal es el resultado de un marcada vasodilatación arteriolar en los órganos esplácnicos que drenan al sistema venoso portal. El mecanismo de producción de esta vasodilatación esplácnica no es bien conocido, si bien se sabe que en su aparición juega un papel muy importante la existencia de cortocircuitos porto-sistémicos y/o a la aparición de shunts intrahepáticos, anatómicos o funcionales. Estos permitirían que a la circulación sistémica llegaran sustancias vasoactivas de origen esplácnico que se metabolizan en el hígado y/o cuya producción está aumentada

Introducción

en la hipertensión portal. Algunos trabajos realizados en ratas con anastomosis portocava, así como en pacientes cirróticos, establecen una íntima relación entre los niveles elevados de glucagón plasmático y la vasodilatación esplácnica y sistémica (Kravetz y cols., 1987). Existen evidencias más recientes que confirman el papel destacado del glucagón sobre este hecho en particular (Pizcueta y cols., 1990; Mesh y cols., 1991).

La observación de que el glucagón actúa antagonizando la acción presora a determinados vasoconstrictores como la vasopresina no es una novedad. Richardson y Withrington (1976) ya demostraron la capacidad de esta hormona para atenuar la acción vasoconstrictora de la vasopresina sobre la arteria hepática a concentraciones farmacológicas ($\mu\text{g/ml}$) e incluso menores (pg/ml) (Pizcueta y cols., 1990). Este mismo estudio demuestra cómo el shunt portosistémico asociado a la hipertensión portal conduce a una disminución del aclaramiento de glucagón y de otros vasodilatadores plasmáticos. El aumento de los niveles plasmáticos de estos vasodilatadores endógenos actuarían por un mecanismo doble: por un lado, directamente sobre las arteriolas esplánicas elevando el flujo sanguíneo esplácnico; por otro, indirectamente interfiriendo con la acción de los vasoconstrictores endógenos: vasopresina, angiotensina II y noradrenalina.

Otros factores humorales sugeridos son la prostaciclina, la adenosina, la colecistoquinina, secretina, péptido intestinal vasoactivo, sustancia P, neurotensina y otros péptidos vasodilatadores de origen esplácnico (Benoit y cols., 1984; 1986; Thomas y cols., 1991).

II.4.- Papel de los factores endoteliales: el óxido nítrico.

El endotelio juega un papel importante en la modulación intrínseca del tono vascular mediante la elaboración de potentes sustancias vasoactivas (Furchgott, 1983; Vanhoutte y cols., 1986). El factor relajante derivado del endotelio, actualmente conocido como óxido nítrico (ON) (Palmer y cols., 1988), es un de los principales vasodilatadores liberados por el endotelio. El ON se origina a partir del nitrógeno guanidino terminal del aminoácido L-arginina mediante la acción de la enzima *ON sintasa* (Palmer y cols., 1989). Actualmente se conocen tres tipos de dicha enzima: la *constitutiva*, la *inducible* y la *neuronal*. La forma *constitutiva* fue la primera que se identificó, originalmente descrita en el citosol de las células endoteliales (Palmer y Moncada, 1989), pero que actualmente ha sido aislada en tejido neuronal (Knowles y cols., 1989; Schmidt y cols., 1989), glándulas adrenales (Palacios y cols., 1989) y plaquetas (Radomski y cols., 1990). Es una enzima soluble que requiere calcio, calmodulina y NADPH para su actividad (Mayer y cols., 1989; Bredt y Snyder, 1990; Busse y Mulsch, 1990), y sintetiza ON en cortos períodos de tiempo en condiciones basales. La enzima *inducible*, al contrario que la *constitutiva*, es calcio independiente y se ha aislado principalmente en macrófagos (Marletta y cols., 1988; Hibbs y cols., 1988), neutrófilos (Rimele y cols., 1988; Wringt y cols., 1989), hepatocitos (Busse y Mulsch, 1990), células tumorales, músculo liso y en el pulmón (Nathan y Stuehr, 1990; Knowles y cols., 1990), aunque recientemente también ha sido aislada en células endoteliales (Radomski y cols., 1990). Su expresión puede ser inducida por citoquinas como la interleucina-1, el interferon gamma, y el factor tumoral (TNF) o por productos bacterianos como la endotoxina. La inducción de esta enzima y la subsecuente generación de ON requiere de 4 a 18 horas de exposición al inmunoestimulador y es dependiente de síntesis

Introducción

proteica. Por otro lado, determinados estudios han demostrado la existencia de la *ON sintasa neuronal* dependiente de calcio en el sistema nervioso central (SNC) (Garthwait y cols., 1988). Estos estudios han conducido actualmente a la definición de un nuevo término lingüístico conocido como "nervios nitrérgicos". No obstante, la *ON sintasa neuronal* no sólo se expresa en el SNC sino también en neuronas periféricas, como las neuronas mientéricas, lo que fue determinado inmunorreactivamente por un aumento de anticuerpos enfrentados contra la *ON sintasa* del cerebelo (Bredt y cols., 1991; Costa y cols., 1991).

El ON sintetizado en condiciones basales por el endotelio vascular es liberado en respuesta a diversos estímulos (acetilcolina, trombina, ADP, bradiquinina, serotonina, adenosina, A23187) (Nathan y Stuehr, 1990) y tiene una corta vida media, descomponiéndose rápidamente a formas mixtas de nitrito y nitrato.

El ON produce la relajación de la fibra muscular lisa al aumentar los niveles intracelulares de GMPc que consigue a través de la estimulación de la guanilato ciclasa soluble (Figura 2).

Uno de los hechos más útiles de la síntesis del ON es que un número importante de análogos de la L-arginina pueden ser reconocidos por las células e inhibir competitivamente la *ON sintasa* (Palmer y cols., 1987; Moncada y cols., 1991). El descubrimiento de dichos inhibidores específicos nos han proporcionado una importante base para el estudio del papel biológico del ON. El primer análogo y también el más extensamente usado fue la N^G-mono metil-L-arginina (L-NMMA) (Gillespie y cols., 1989; Rees y cols., 1989). Entre otros

Introducción

análogos también podríamos citar a la N^G-nitro-L-arginina (L-NA o L-NOARG), N^G-nitro-L-arginina metil ester (L-NAME), N^G-iminoetil-L-ornitina (L-NIO) y N^G-amino-L-arginina (L-NAA). Todos estos inhibidores pueden ser administrados tanto *in vitro* como *in vivo*.

Por su parte, investigaciones recientes han sugerido la implicación directa del ON en la modulación del tono vascular, regulando de este modo el flujo sanguíneo de diversos territorios vasculares (Gardiner y cols., 1986; Piqué y cols., 1989; Tolins y cols., 1991).

II.4.1.- Implicación del ON en la hipertensión portal.

Respecto a la cirrosis, se ha sugerido recientemente que la formación vascular de ON por la enzima *inducible* podría contribuir al estado hiperdinámico que frecuentemente se observa en esta enfermedad (Vallance y Moncada, 1991). En la cirrosis pueden haber un alto nivel de endotoxemia, lo que podría provocar la inducción de la enzima *ON sintasa*, que a su vez ocasionaría un aumento en la síntesis de ON, vasodilatación e hipercinesia circulatoria.

Todas estas evidencias apuntan la posibilidad de que más de un factor humoral está implicado en la génesis de la circulación hiperdinámica asociada a la HTP y que además estarían relacionados con la disminuida sensibilidad a vasoconstrictores endógenos.

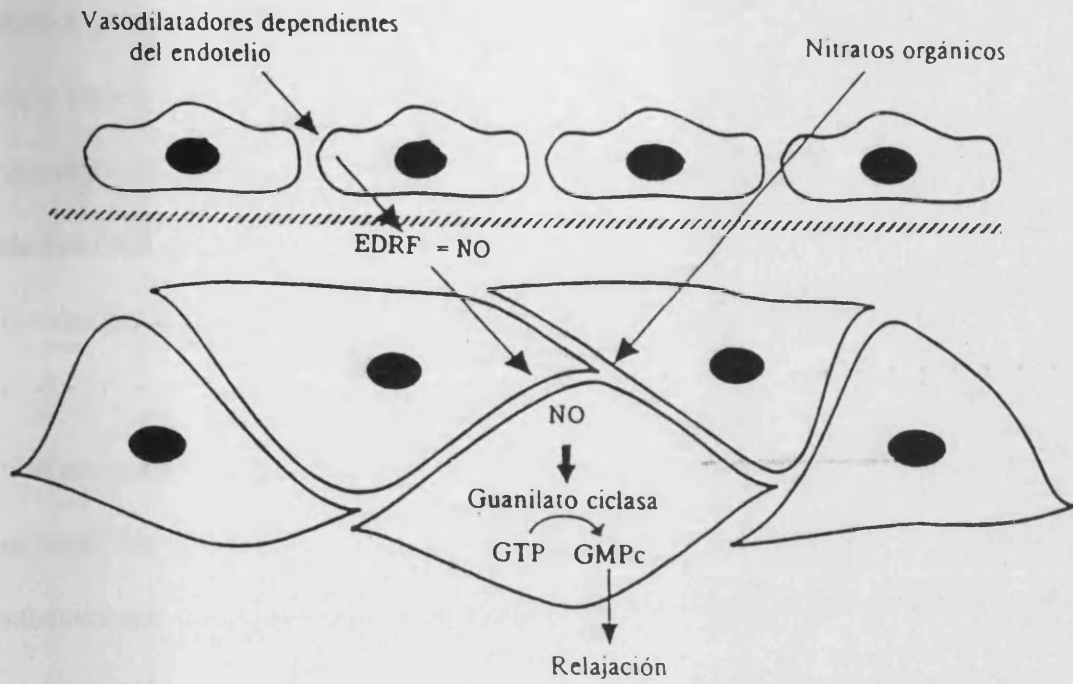


FIGURA 2. Mecanismo de acción de los nitratos orgánicos a nivel celular. Síntesis biológica del óxido nítrico y relajación de la fibra muscular lisa.

III.PERSPECTIVAS TERAPÉUTICAS: aproximación al tratamiento farmacológico de la hipertensión portal.

Estudios prospectivos han demostrado que aproximadamente el 30% de los pacientes con cirrosis y varices esofágicas presentan eventualmente un sangrado activo a este nivel. A pesar, obviamente, de los avances en el manejo de cuidados críticos en este tipo de enfermos, la mortalidad en cada episodio de sangrado activo permanece todavía elevada, aproximándose al 50% en todas las series revisadas (Matloff, 1992).

En la actualidad, el tratamiento farmacológico de la HTP se basa en el supuesto por el cual una reducción de la presión portal disminuye la incidencia de complicaciones. De esta manera, sabemos que para el desarrollo y ruptura de las varices esofágicas, el GVPP, debe superar los 12 mmHg (Violet y cols., 1975; García-Tsao y cols., 1985). Estudios recientes han confirmado que cuando este gradiente se reduce por debajo de un valor umbral, el riesgo de sangrado a nivel de las varices esofágicas no se ve incrementado, disminuyendo progresivamente su tamaño y aumentando la supervivencia de modo significativo (Groszmann y cols., 1990). Este aspecto existe potencialmente, ya que la ruptura de las varices acontece aparentemente cuando la tensión de la pared del vaso, la cual está en relación directa con la presión que soporta, excede un valor crítico (Polio y Groszmann, 1986; Rigau y cols., 1989). En cualquier caso, una disminución marcada en la presión portal (la cual conduce al menos a una disminución similar de la presión a nivel de las varices) (Bosch y cols., 1988; Feu y cols., 1991) atenuará profundamente la tensión varicosa y, con toda probabilidad, su sangrado (Feu y cols., 1991).

Introducción

En el caso de la cirrosis, la presión portal elevada deriva de la combinación de dos factores. Por un lado, el aumento del flujo sanguíneo portal, y por otro el aumento de la resistencia hepática. Este hiperaflujo portal resulta de la situación hiperdinámica que caracteriza -como ya definimos anteriormente- el síndrome de la hipertensión portal, manifestada fundamentalmente por el aumento del gasto cardiaco y del flujo esplácnico. La compresión de los sinusoides hepáticos, principalmente por la fibrosis, conduce al aumento referido de la resistencia hepática. Los agentes farmacológicos han jugado un papel importante en el tratamiento del sangrado agudo de las varices a través de la disminución de la presión portal, así como mediante la reducción del flujo sanguíneo portal o la atenuación de la resistencia hepática. Nos referimos a continuación a las alternativas farmacológicas conocidas hasta la fecha actual:

El propranolol y el nadolol, dos fármacos beta bloqueantes adrenérgicos no selectivos, son en la actualidad perfectamente aceptados como agentes terapéuticos para la prevención del sangrado y resangrado varicoso (Pagliaro y cols., 1989; Conn y cols., 1991). No obstante, casi el 40% de los pacientes tratados con estos fármacos exhibe una deficitaria reducción del GVPP (Bosch y cols., 1984; García-Tsao y cols., 1986). Otras limitaciones de estos fármacos se relacionan con las contraindicaciones y los efectos secundarios asociados a su empleo. Entre las primeras nos referimos a las más frecuentemente observadas tales como la broncopatía obstructiva crónica, el bloqueo cardiaco aurículo-ventricular, arritmias, la psicosis y la diabetes insulino-dependiente (Conn y cols., 1991). Por su parte, los efectos secundarios son relativamente comunes (un 15% de los pacientes); sin embargo, los eventos severos (caso del broncoespasmo) son raros (Conn y cols., 1991). Las complicaciones más

Introducción

frecuentes son la fatiga que suele asociarse con bradicardia y los desórdenes del sueño. Se prefiere el uso del nadolol frente al del propranolol, dada su vida media más prolongada que permite la administración en una sola toma diaria, y su eliminación principalmente renal lo que hace más segura su dosificación (Idéo y cols., 1988; Lebrec y cols., 1988). Además, carece de efectos centrales dado que no atraviesa la barrera hematoencefálica (Idéo y cols., 1988; Lebrec y cols., 1988). Sin embargo, este fármaco no ha sido suficientemente investigado en la cirrosis.

El posible uso de vasodilatadores y otros agentes en el caso que nos ocupa, ha atraído la atención de numerosas investigaciones en los últimos años. Los vasodilatadores reducirían la presión portal mediante la disminución de la resistencia vascular de la porta, reduciendo el flujo sanguíneo a nivel de las colaterales porto-sistémicas y generando un reflejo de vasoconstricción esplácnico como respuesta a la reducción de la presión arterial media y la presión de llenado cardiaco (Navasa y cols., 1989). Otra de las ventajas teóricas de los vasodilatadores sobre los beta-bloqueadores sería la forma de atenuar la presión portal sin perjudicar la perfusión hepática (Navasa y cols., 1989). Sin embargo, una limitación importante a la que debemos hacer alusión es la hipotensión que inducen todos los vasodilatadores; este efecto es escasamente tolerado por los pacientes en un estadio avanzado de cirrosis hepática.

Los nitrovasodilatadores como el dinitrato de isosorbide (Blei y cols., 1987; Mols y cols., 1989) y el mononitrato-5-isosorbide (Hayes y cols., 1988; Navasa y cols., 1989) causan una marcada reducción del GVPP; sin embargo, este efecto es menor en el

Introducción

tratamiento a largo plazo (García-Pagán y cols., 1990). La tolerancia a los nitrovasodilatadores podría conducir a una verdadera tolerancia farmacológica, a la activación del sistema vasoactivo neurohumoral endógeno y a la expansión del volumen plasmático (García-Pagán y cols., 1990). Es poco probable que los nitrovasodilatadores puedan llegar a ser agentes útiles como monoterapia en la hipertensión portal a causa del su efecto mínimo sobre la presión portal. Recientemente, se ha sugerido que la combinación con un diurético podría incrementar los efectos de estos compuestos sobre la GVPP. La molsidomina (Vinel y cols., 1990; Ruiz del Arbol y cols., 1991), que actúa de manera similar al dinitrato de isosorbide, no causa tolerancia; no obstante, no se han realizado estudios comparativos a largo plazo en pacientes con HTP.

La clonidina, un agonista alfa-2 adrenérgico, causa una reducción del influjo adrenérgico y reduce la presión portal disminuyendo la resistencia portal y el flujo sanguíneo esplácnico (Willet y cols., 1986; Albillos y cols., 1992). También reduce de forma marcada la presión arterial sin presentar efectos adversos en la función renal ni sobre el manejo del sodio (Debinski y cols., 1989). Sin embargo, la magnitud de la caída de la presión portal inducida por la clonidina es mayor que la obtenida con el propranolol (Albillos y cols., 1992).

La espironolactona, un antagonista de la aldosterona, se nos presenta como un potente fármaco capaz de disminuir de forma importante el GVPP en pacientes con cirrosis (Okumura y cols., 1991; García-Pagán y cols., 1991). La reducción del volumen plasmático causado por la espironolactona atenúa el incremento del gasto cardiaco observado en la

Introducción

cirrosis y activa mecanismos vasoactivos que disminuyen el flujo sanguíneo esplácnico (García-Pagán y cols., 1991). Es por este motivo que la espironolactona potencia la disminución de la presión portal producida por los nitrovasodilatadores o el propranolol. Efectivamente, el grado de expansión del volumen plasmático es una variable importante que influye sobre la presión portal, y que en el pasado no fue plenamente considerada.

La observación realizada por algunos estudios con vena mesentérica procedente de animales con HTP, en los que se advertía de la hipersensibilidad al efecto venoconstrictor de la serotonina (Cummings y cols., 1986), obligó a plantear el empleo de sustancias bloqueantes de los receptores tipo S_2 de la serotonina. La ritanserina y otros antagonistas de estos receptores (como la ketanserina) han demostrado su capacidad para reducir la presión portal en modelos de HTP y/o pacientes con cirrosis (Vorobioff y cols., 1989; Mastai y cols., 1990). Esta atenuación de la presión portal se debe, en parte, a la disminución de las resistencias vasculares a nivel de la colaterales porto-sistémicas. Es interesante resaltar el hecho de que los antagonistas de los receptores S_2 de la serotonina no causan disminución de la presión arterial (Kaumann y cols., 1988; Mastai y cols., 1990), confirmando a su acción un efecto selectivo de la región esplácnica. El potencial uso de estas sustancias, solas o en combinación con otros agentes farmacológicos, requiere futuras investigaciones.

Revisado todo el abanico de posibilidades farmacológicas destinadas al tratamiento de la HTP y de sus complicaciones clínicas más importantes, resulta improbable que un agente aislado pueda disminuir la presión portal lo suficiente como para eliminar el riesgo de hemorragia digestiva o el resangrado en la mayoría de pacientes con cirrosis. Una reducción

Introducción

importante de la presión portal es, probablemente, más fácil de obtener mediante el empleo combinado de estos agentes actuando por mecanismos de acción diferentes (Hadengue y cols., 1989; García-Pagán y cols., 1990; 1991).

Por otra parte, resulta interesante profundizar en el estudio de la respuesta que las venas y arterias del territorio esplácnico muestran ante la acción de determinados agonistas endógenos (noradrenalina, vasopresina, angiotensina-II, endotelina-1 y la serotonina), así como evaluar las modificaciones que en esta respuesta acontecen si simulamos una situación de HTP. Todo ello quizá contribuya, en un futuro próximo, a establecer nuevos planteamientos terapéuticos destinados al tratamiento de esta patología.

IV. SITUACIÓN ACTUAL DEL PROBLEMA: hipótesis de trabajo.

La HTP crónica se asocia a un estado de hiperdinamia hemodinámica, caracterizado por un incremento del gasto cardiaco y del flujo sanguíneo esplácnico. Además, se ha relacionado con una disminución periférica y esplácnica de las resistencias. La disminución de la resistencia vascular podría ser resultado de una respuesta atenuada a los vasoconstrictores endógenos como la noradrenalina (Kiel y cols., 1985; Bomzon y cols., 1987; 1991; Joh y cols., 1993), la vasopresina (Mesh y cols., 1991) y la angiotensina (Sitzmann y cols., 1990).

El aumento funcional del endotelio vascular liberando óxido nítrico (Vallance y Moncada, 1991; Sieber y Groszmann, 1992; Pizcueta y cols., 1992), prostaciclina (Sitzmann y cols., 1989) y/o el aumento de hormonas vasodilatadoras circulantes como el glucagón (Benoit y cols., 1984; Pizcueta y cols., 1990), han sido implicados en la hiporreactividad vascular a los vasoconstrictores endógenos en el síndrome de la HTP. Esta hipótesis ha sido principalmente investigada en estudios *in vivo*, mientras que los trabajos obtenidos en modelos *in vitro* han aportado hasta la fecha resultados conflictivos. Así, algunos estudios *in vitro* han descrito una hiporrespuesta (Liao y cols., 1994; Wu y cols., 1994), y otros una hiperrespuesta (Jensen y cols., 1987; Cawley y cols., 1995) a la noradrenalina en arteria mesentérica aislada procedente de ratas con HTP. Además, los resultados de los estudios *in vitro* varían en función del territorio sistémico o esplácnico seleccionado, e incluso dentro de un mismo territorio vascular según fueran vasos arteriales o venosos (Bomzon y cols., 1991).

Introducción

No tenemos información acerca de la reactividad de la arteria gástrica, territorio especialmente relevante si consideramos su implicación, directa o indirecta, en las complicaciones hemorrágicas de la HTP. (Bosch y cols., 1994)

Son también conflictivas las hipótesis que, hasta el momento, se han sugerido para explicar la naturaleza de los cambios que acontecen en la reactividad vascular *in vitro*, en caso de HTP, desconociéndose si en los mismos se halla implicada una alteración a nivel de receptores (Villamediana y cols., 1988; Liao y cols., 1994), o bien un defecto intracelular post-receptor que afecta los mecanismos contráctiles de la fibra lisa muscular de los vasos (Murray y Paller, 1985; Chao y cols., 1992).

La respuesta contráctil de las arterias, tanto *in vivo* como *in vitro*, está generalmente disminuida en la HTP (Sieber y cols Groszmann, 1992; Karatapanis y cols., 1994), aspecto éste atribuido a una liberación excesiva de sustancias relajantes endógenas como el glucagón y otro péptidos vasodilatadores (Mesh y cols., 1991; Pizcueta y cols., 1990), óxido nítrico (Sieber y Groszmann, 1992; Pizcueta y cols., 1991) y/o prostaciclina (Sitzman y cols., 1989; Wu y cols., 1993). Sin embargo, estas observaciones contrastan con los resultados en la fibra muscular lisa longitudinal aislada de vena mesentérica que muestra cómo la HTP induce un incremento de la respuesta contráctil a dos vasoconstrictores netamente distintos, como son la vasopresina y la 5-hidroxitriptamina (Cummings y cols., 1986). Estos hallazgos contradictorios podrían sugerirnos la existencia de diferencias en la reactividad de la musculatura lisa arterial y venosa durante la HTP, aspecto importante si consideramos que en el tratamiento farmacológico de las complicaciones clínicas asociadas a la cirrosis se

Introducción

hallan directamente implicados agentes vasoactivos (Matloff, 1992; Bosch y cols., 1993; 1994). Por otra parte, son escasos los trabajos realizados hasta la fecha que consideran los cambios que la HTP induce a nivel del sistema venoso esplácnico, a diferencia de los estudios publicados sobre arterias. Desde este punto de vista, resulta interesante plantearse si las modificaciones sobre la reactividad vascular en el sistema venoso esplácnico se ajustan a un patrón de comportamiento homogéneo o si, por el contrario, la respuesta varía en función del origen anatómico de la muestra venosa considerada (localización proximal o distal respecto del hígado). La relevancia clínica de este hallazgo sería la de inferir, a través de un modelo de experimentación animal, las posibles modificaciones de la reactividad en aquellos territorios venosos más distales y de ese modo, atisbar lo que puede suceder a nivel de las colaterales porto-sistémicas, implicadas en la evolución de este síndrome y especialmente con las complicaciones hemorrágicas asociadas.

OBJETIVOS

Objetivos

Basándonos en que la HTP crónica se asocia a una disminución de las resistencias periféricas y un aumento del flujo esplácnico, en el presente trabajo evaluamos la implicación que sobre estos fenómenos tienen una serie de agonistas vasoconstrictores endógenos "*per se*", en ausencia de factores vasodilatadores circulantes, y esclarecer los conflictivos resultados que hasta la fecha se han presentado al respecto. Nuestros objetivos son:

I. Estudio de la reactividad vascular en vena mesentérica.

1. Evaluar la reactividad "*in vitro*" de la vena mesentérica, a los principales vasoconstrictores endógenos (NA, AVP, 5-HT, ANG-1, END-II).
2. Investigar los cambios que sobre dicha reactividad vascular provoca la HTP inducida a través de la ligadura parcial de la vena porta.
3. Valorar la influencia que sobre la respuesta vascular esplácnica supone la localización anatómica del segmento venoso que consideremos, configurando un territorio proximal (cercano a la vena porta) y otro distal (alejado de la vena porta), e inferir los posibles cambios que puedan acontecer en las colaterales porto-sistémicas.
4. Sugerir los factores y/o mediadores que pudieran estar implicados en las posibles alteraciones de la reactividad vascular en la HTP.

Objetivos

5. Demostrar la especificidad de los cambios observados exclusivamente a nivel del territorio esplácnico.

II. Estudio de la reactividad vascular en arteria mesentérica y gástrica.

1. Evaluar las alteraciones que induce la HTP sobre la reactividad vascular "in vitro" a los principales vasoconstrictores endógenos a nivel del territorio arterial.

2. Considerar en la respuesta vascular a dichos vasoconstrictores la participación de vasodilatadores endógenos (óxido nítrico y/o prostaglandinas).

MATERIAL Y MÉTODOS

I. ASPECTOS TÉCNICOS.

I.1.- Material biológico.

En el presente trabajo se han utilizado segmentos vasculares de:

- venas: mesentérica e iliaca
- arterias: gástrica, mesentérica y aorta torácica.

Los vasos procedían de ratas macho, raza Sprague-Dawley (200-250 g). Los animales fueron agrupados en:

- 1) Ratas con hipertensión portal: sometidas a ligadura parcial de la vena porta (LVP).
- 2) Ratas control: sometidas a una intervención quirúrgica ficticia.

I.2.- Inducción de la hipertensión portal: Ligadura parcial de la vena porta (LVP).

Siguiendo la técnica descrita por Chojkier y Groszmann (1981), la HTP fue inducida experimentalmente a nivel pre-hepático mediante la LVP. Para ello, ratas de 200-250 g fueron anestesiadas con Ketamina (Ketolar, 100mg/Kg, i.m) y tras laparotomía, se accedió a la vena porta que fue aislada cuidadosamente de los tejidos y vasos adyacentes. Una sutura de seda 3-0 anudó conjuntamente la vena y una aguja de calibre 20 G en un punto de máxima proximidad al hígado y con especial cuidado de no incluir la arteria hepática. Esta operación se realizaba con rapidez para evitar la trombosis de la vena, y permitir una vez retirada la aguja, la expansión pasiva de la vena. De este modo, obteníamos una estenosis calibrada de la misma. Finalmente, la incisión quirúrgica abdominal era cerrada.

Material y métodos

Se consideró un período de 14 días para inducir la HTP, tras los cuales los niveles de presión estaban significativamente aumentados y se hacía visible a simple vista, la circulación colateral porto-sistémica. En las ratas consideradas control, la vena porta fue igualmente aislada, pero se obvió la ligadura de la misma.

I.3.- Medición de la presión portal.

Transcurridas dos semanas de la cirugía, los animales eran anestesiados con éter y tras laparotomía, se procedía a la medición de la presión portal a nivel de la unión ileocólica-mesentérica inferior. La vena mesentérica inferior era canalizada con una fina aguja 23 G conectada a un transductor (Grass P23XL) y a un polígrafo (Grass 7F).

Los animales con LVP que no alcanzaban niveles de presión portal superior a 12 mmHg no fueron incluidos en los protocolos, a menos que demostraran macroscópicamente manifestaciones marcadas de circulación colateral. Los animales control que presentaron presiones superiores a 10 mmHg fueron de igual modo descartados.

I.4.- Aislamiento y preparación de los tejidos.

Las ratas eran sacrificadas mediante decapitación y posteriormente exanguinadas. Se aislaron las venas mesentérica e iliaca, y las arterias gástrica, mesentérica y aorta torácica. Los diversos vasos fueron cuidadosamente aislados y extraídos, conservándose sobre una placa de Petri con solución modificada de Krebs (cuya composición en mM: ClNa 118, ClK

Material y métodos

4.8, ClCa_2 2.5, $\text{ClMg}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 1.1, NaHCO_3 24, K_2EDTA 0.02 y glucosa 5). Bajo visión microscópica de 20 aumentos (lupa binocular Zeiss), se disecó la vena y liberó del tejido conectivo adherido. Distinguimos:

* Anillos de vena mesentérica: La vena fue arbitrariamente diferenciada en dos segmentos:

a) *Cefálico o proximal*: Cercano a la ligadura de la vena porta de aproximadamente 1 cm de longitud. Los primeros 0.5 cm de vena mesentérica fueron sistemáticamente rechazados dada la posibilidad de atricción mecánica del tejido por efecto directo de la ligadura.

b) *Caudal o distal*: Alejada de la anterior, y al menos distanciada 1.5 cm de la ligadura.

De cada uno de estos segmentos se obtuvieron dos anillos vasculares de 4 mm de longitud y diámetros externos variables en función del grupo (animales control o hipertensos) y del segmento (*cefálico o caudal*). Así, los anillos procedentes de animales con HTP presentaron diámetros externos de aproximadamente 2 mm para los anillos proximales y 1 mm para los distales. En las ratas control se obtuvieron anillos vasculares de idénticas localizaciones y su diámetro fue de 1 mm y 0.5, respectivamente.

Material y métodos

* Anillos arteriales: Procedentes de arteria gástrica, mesentérica y aorta torácica, de 4 mm de longitud y diámetros de 300 μm , 800 μm y 1500 μm , respectivamente.

No se observó, utilizando lupa binocular de 20 aumentos, cambios en el diámetro de los vasos arteriales en las ratas hipertensas.

Se evitó en lo posible la existencia de ramificaciones vasculares, ya que la contractilidad en sus alrededores puede verse alterada por la disposición irregular de las fibras musculares en dichas zonas.

I.5.- Montaje del preparado en el sistema de baño de órganos.

I.5.1.- Aspectos generales.

Se utilizó un sistema de baño de órganos formado por 16 elementos. Cada elemento estaba formado por un sistema de doble copa de vidrio con una cámara interna de 5 ml de capacidad con la solución de Krebs modificada donde se montaban los anillos vasculares, y por otra externa, solidaria a un circuito cerrado hídrico encargado de mantener un temperatura constante de 37° C. Para mantener la temperatura y asegurar la circulación del agua destilada se utilizó una bomba calefactora *Thermocirculator* (Harvard Co.). En el fondo de esta cámara interna existía un filtro poroso para la entrada de carbógeno (95 % de oxígeno y 5 % de dióxido de carbono) que aseguró la oxigenación de los tejidos durante la experiencia.

Material y métodos

El montaje se realizó bajo lupa binocular introduciendo dos alambres finos y rígidos de 120 μm de diámetro cada uno a través de la luz del cilindro vascular. Cada anillo vascular, con los alambres en el interior de su luz, se introdujo en el baño de órganos conteniendo 5 ml de solución modificada de Krebs a 37° C y manteniendo un burbujeo continuo de carbógeno. Uno de los alambres se fijó a la pared interna del baño y el otro, móvil con desplazamiento paralelo al anterior controlado mediante un tornillo micrométrico, se conectó a un *transductor isométrico* (Grass FT-03) acoplado a un *polígrafo* (Grass 7F), que permitiría el registro continuado de las contracciones isométricas de cada una de las muestras (Figura 3).

I.5.2.- Determinación de la tensión basal óptima.

La tensión basal óptima se determinó aplicando tensiones pasivas crecientes a los anillos vasculares y observando la respuesta de la mismas al cloruro potásico 60 mM. La funcionalidad óptima del músculo liso, medida como la respuesta contráctil máxima, se obtuvo a la tensión basal de 0.5 g para los anillos venosos y arteriales gástricos, de 1 g para los arteriales mesentérico, y de 1.5 g para los anillos aórticos, por lo que estas tensiones fueron elegidas para todas las experiencias.

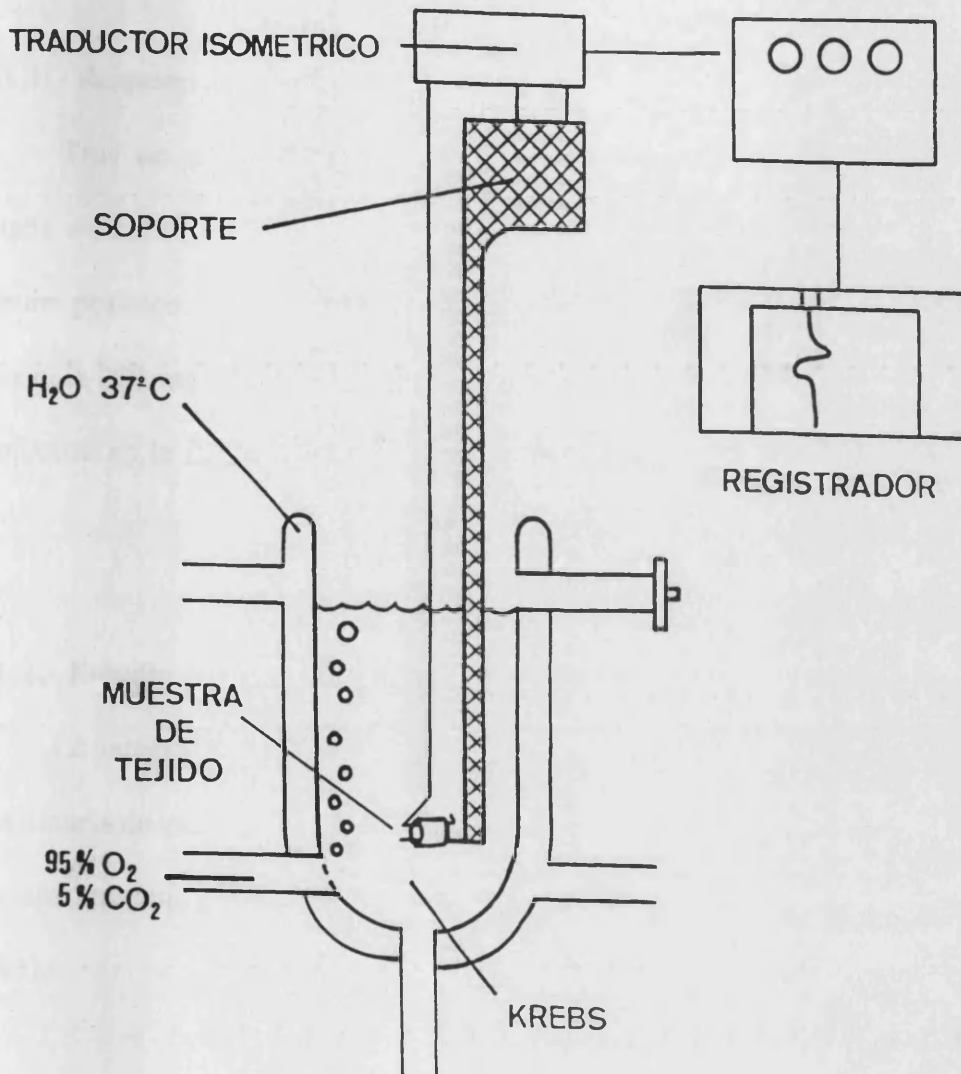


FIGURA 3. Esquema del baño de órganos para registro de la tensión isométrica de segmentos vasculares.

II. PROTOCOLOS EXPERIMENTALES.

II.1.- Estudio de la reactividad vascular en vena mesentérica.

II.1.1.- Respuesta contráctil al cloruro potásico.

Tras un período de estabilización de 60 min., la funcionalidad de los tejidos era testada mediante la contracción inducida por una concentración submaximal (60 mM) de cloruro potásico. Se descartaron preparaciones cuya respuesta al cloruro potásico fuera inferior a 250 mg de fuerza, generalmente coincidentes con una manipulación excesiva de la muestra en la fase del montaje en el baño.

II.1.2.- Estudio funcional de la viabilidad del endotelio vascular.

La integridad funcional del endotelio vascular era testada en cada muestra mediante la existencia de una relajación-dependiente inducida por la sustancia P (10^{-10} - 10^{-8} M), habiendo previamente contraído con endotelina-1 (10^{-9} M), según técnica descrita por Stones y cols. (1995).

Estos estudios farmacológicos eran posteriormente corroborados mediante métodos histológicos a los que posteriormente nos referiremos.

II.1.3.- Estudio de la reactividad a los vasoconstrictores endógenos.

Una vez valorada la respuesta al cloruro potásico y testada la funcionalidad del

Material y métodos

endotelio en cada anillo, las muestras eran sometidas a sucesivos lavados durante 20 a 30 minutos, tras los cuales se realizaba una curva concentración-respuesta (CCR) a un agonista mediante la adición de concentraciones acumulativas del mismo (excepto para la angiotensina-II). Los agonistas empleados, así como sus concentraciones, fueron las que a continuación se detallan:

- 1) Vasopresina (AVP, 10^{-9} - 3×10^{-8} M).
- 2) 5-Hidroxitriptamina (5-HT, 10^{-7} - 10^{-6} M).
- 3) Noradrenalina (NA, 10^{-8} - 10^{-5} M).
- 4) Endotelina-1 (END-1, 10^{-11} - 4×10^{-9} M).
- 5) Angiotensina-II (ANG-II, 10^{-9} - 10^{-7} M).

Se realizó una única CCR en cada anillo mesentérico. Estudios experimentales preliminares mostraron taquifilaxia para la ANG-II por lo que las CCR de este agonista se realizaron de manera no-acumulativa, empleándose una única concentración para cada anillo.

II.1.4.- Reactividad a los vasoconstrictores en presencia de diferentes bloqueantes.

La obtención y manipulación de los anillos vasculares fueron realizados de manera similar a la descrita previamente, empleando anillos proximales y distales de vena mesentérica de ratas hipertensas y controles.

Material y métodos

Diseñamos CCR adicionales para la AVP y el 5-HT en presencia de atropina a una concentración de 10^{-6} M, fentolamina 10^{-6} M, propranolol 10^{-6} M e indometacina 5×10^{-5} M. De este modo, valorábamos la posible participación de receptores colinérgicos, adrenérgicos (alfa y beta) o de prostaglandinas, respectivamente, en las alteraciones sobre la reactividad vascular a los diferentes vasoconstrictores endógenos. Los antagonistas eran añadidos al baño de órganos entre 20-30 min. antes de los vasoconstrictores.

En las últimas series de experiencias, los anillos venosos fueron incubados durante 20 minutos con el inhibidor específico de la síntesis del óxido nítrico, el L-NAME (N^G -nitro-L-arginina metil ester) a una concentración 10^{-4} M, y se realizaron las CCR a la NA (10^{-8} - 3×10^{-5} M) y a la END-1 (10^{-11} - 4×10^{-9} M) en presencia de dicho inhibidor.

II.2.- Estudio de la reactividad vascular en vena iliaca.

Con el objeto de comprobar si las posibles alteraciones de la reactividad vascular quedaban localizadas específicamente a nivel del territorio portal, se obtuvieron anillos de vena iliaca procedentes de animales controles e hipertensos. La obtención y manipulación de los anillos procedentes de estas muestras, así como el protocolo experimental empleado, se realizó de modo similar al descrito previamente.

II.3.- Estudio de la reactividad arterial.

Se obtuvieron muestras procedentes de arteria mesentérica y gástrica, ambas representativas del territorio vascular esplácnico. De igual forma, empleamos muestras procedentes de aorta torácica como control sistémico de la especificidad de los resultados obtenidos a nivel esplácnico. De cada muestra se obtuvo uno o dos anillos vasculares.

Tras un período de estabilización de 60 minutos, la capacidad contráctil de cada anillo arterial era testada induciendo una contracción con una dosis submaximal de cloruro potásico (60 mM), sometiendo posteriormente al tejido a un lavado con solución modificada de Krebs durante 30 minutos. La funcionalidad del endotelio era valorada mediante la relajación inducida por acetilcolina (10^{-6} M), previa contracción de la muestra con fenilefrina (10^{-5} M).

Estudios preliminares nos confirmaron como óptimas las concentraciones empleadas. Las muestras que no relajaron al menos un 90% fueron automáticamente excluidas del protocolo experimental.

Posteriormente, y tras realizar sucesivos lavados durante 30 min., se iniciaron las distintas CCR, empleando para ello los siguientes agonistas:

- a) NA (10^{-8} - 3×10^{-5} M).
- b) AVP (10^{-10} - 3×10^{-8} M).
- c) END-1 (10^{-10} - 10^{-8} M).
- d) ANG-II (10^{-9} - 10^{-6} M).

Material y métodos

Se determinó una única curva para cada agonista y territorio arterial determinado (mesentérico, gástrico y aórtico). Estudios preliminares mostraron taquifilaxia para la ANG-II por lo que la curva de este agonista se realizó de forma no-acumulativa empleando una concentración determinada para cada anillo.

Las experiencias se ejecutaron en paralelo, tanto con anillos arteriales de ratas hipertensas como controles.

a) Efecto del L-NAME sobre la respuesta a la noradrenalina.

Para valorar la participación del ON en la respuesta vascular a nivel arterial, se realizaron CCR de NA (10^{-8} - 3×10^{-5} M) previa incubación con el inhibidor del óxido nítrico ON, N^o-nitro-L-arginina metil ester (L-NAME, 10^{-4} M), 30 minutos antes en el baño de órganos. El diseño de esta experiencia se extendió al territorio de las arterias mesentérica y aorta torácica.

b) Efecto de la indometacina sobre la respuesta a la angiotensina-II.

Para evaluar el posible papel de las prostaglandinas en el efecto de la ANG-II sobre la arteria mesentérica, incubamos las muestras con indometacina (10^{-5} M), 20 minutos antes de la adición de una concentración única de ANG-II (10^{-7} M).

II.3.- Alteraciones estructurales inducidas por la hipertensión portal: estudios morfológicos.

Las alteraciones estructurales de los anillos vasculares inducidas por la HTP fueron observadas mediante técnicas histológicas.

Para comprobar la presencia o ausencia de endotelio tras los experimentos, se procedió a su tinción utilizando una modificación del método descrito por Caplan y Schwartz (1973).

Al finalizar la experiencia, se extrajo cuidadosamente los cilindros vasculares del baño. En un medio con solución modificada de Krebs, y bajo lupa de disección, se seccionaron longitudinalmente con unas tijeras de microdisección de Castroviejo (Harvard 52-2375), procurando no dañar la capa íntima del vaso. A continuación se extendió sobre un soporte blando y liso de forma que la capa adventicia contactara con él, quedando expuesta su superficie interna. Los extremos del segmento vascular se fijaron al soporte mediante cuatro alfileres finos de entomología. Se lavaron dos veces en solución de glucosa al 5%, cubriéndose posteriormente con nitrato de plata al 0.4% durante 40 segundos, y se lavó de nuevo en dos ocasiones más. El revelado se realizó mediante exposición a luz ultravioleta (Osram, Ultravitalux, 300 w) durante 10 minutos y a una distancia de la muestra a la lámpara de 30 cm. Previamente se cubrió la muestra con una gota de glicerina para evitar su desecación excesiva.

Material y métodos

Tras el revelado, la preparación se fijó durante 5 min. en una solución cuya composición es:

- Formalina 10 ml.
- Alcohol 80% 90 ml.
- Acético glacial 5 ml.

Para finalizar el proceso se procedió al montaje de la preparación "en face" sobre un portaobjetos para su observación y cuantificación al microscopio óptico (Nikon, Biohot). Las microfotografías se obtuvieron en película Ektar 25 de Kodak.

III. FÁRMACOS UTILIZADOS: Procedencia y preparación.

Los productos farmacológicos empleados durante las experiencias así como, su procedencia comercial, se detallan a continuación:

- * Acetil colina clorada (Sigma Chemical Co.)
- * Acido-L-ascórbico (Panreac).
- * Angiotensina-II, sal de acetato (Sigma Chemical Co.)
- * Atropina, sal sulfatada (Sigma Chemical Co.)
- * Bicarbonato sódico (Panreac).
- * Cloruro cálcico hidratado (Sigma Chemical Co.)
- * Cloruro de magnesio hexahidratado (Merck).

Material y métodos

- * Cloruro potásico (Sigma Chemical Co.)
- * Cloruro sódico (Sigma Chemical Co.)
- * D(+)-glucosa anhidra (Panreac).
- * EDTA K₂ (Panreac).
- * Endotelina-1 (Sigma Chemical Co.)
- * Eter dietílico (Panreac).
- * Fentolamina hidrociorada (Sigma Chemical Co.)
- * Indometacina (Sigma Chemical Co.)
- * Ketamina hidrociorada (Sigma Chemical Co.)
- * L-fenilefrina hidrociorada (Sigma Chemical Co.)
- * L-NAME o N^G nitro-L-arginina metil ester hidrociorado (Sigma Chemical Co.)
- * MOPS o (3-[N-Morpholino] propane-sulfonic acid) (Sigma Chemical Co.)
- * Norepinefrina hidrociorada (Sigma Chemical Co.)
- * Propanolol hidrociorado (Sigma Chemical Co.)
- * Sustancia P (Sigma Chemical Co.)
- * Serotonina (5-Hidroxitriptamina) (Sigma Chemical Co.)
- * Vasopresina, sal de acetato (Sigma Chemical Co.)

Los fármacos se disolvieron en agua destilada, excepto la indometacina que fue disuelta en una solución Na₂CO₃ al 5% y la serotonina, noradrenalina y fenilefrina en ácido ascórbico (0.01%). Las soluciones "madres" concentradas fueron preparadas y congeladas en alicuotas, disolviéndolas diariamente para obtener las diferentes concentraciones, excepto para fármacos muy inestables como la fenilefrina o noradrenalina, cuya preparación era

diaria. De todas las concentraciones se añadieron al baño 50 μ L mediante una micropipeta de precisión *Pipetman* (Glisson).

IV. EXPRESIÓN DE LOS RESULTADOS Y TRATAMIENTO ESTADÍSTICO DE LOS DATOS.

Las respuestas de los agentes vasoconstrictores se expresó como porcentaje del incremento de tono respecto al inducido por el cloruro potásico (% de ClK, 60 mM). De igual forma, la relajación se expresó como porcentaje de la disminución del tono inducido por los vasoconstrictores empleados. En ambos casos, los resultados se representaron como la media \pm error estándar de la media (e.s.m) del número de animales indicados (*n*). La comparación entre grupos y la evaluación de las diferencias estadísticas significativas se realizó mediante la *t-test de Student* para datos pareados o no pareados según procediera, considerando valores con una *p* menor o igual de 0.05 como estadísticamente significativos (* *p* < 0.05, ** *p* < 0.01, *** *p* < 0.001). Cada punto experimental (*n*) representa el número de ratas usadas. La pD_2 equivale al logaritmo negativo en base 10 de la concentración molar de agonista requerida para obtener el 50% de la respuesta máxima. La CCR se calculó mediante un programa informático, el cual ajustaba cada punto de la curva a una ecuación logística:

$$y = A + (B - A) / 1 + [10^c / 10^x]^D$$

donde, *y* equivale al efecto logrado con una concentración dada del agonista; **A**, el efecto mínimo; **B**, el efecto máximo; **c** = $-pD_2$; *x* representa el logaritmo base 10 de la

Material y métodos

concentración molar del agonista, con signo positivo; **D**, la pendiente de la curva en una regresión no-lineal.

RESULTADOS

I.- Protocolo A: Reactividad en venas.

I.1.- Resultados en territorio venoso portal: Vena mesentérica.

I.1.1.- Aspectos preliminares.

a) Cambios físico-morfológicos inducidos por la hipertensión portal.

La presión venosa portal fue significativamente mayor ($p < 0.001$) en el grupo de ratas hipertensas ($n=33$) con valores de 14 ± 0.4 mmHg de presión, frente al grupo control ($n=29$) con valores de 8 ± 0.3 mmHg.

El diámetro de los anillos vasculares procedentes de ratas hipertensas (animales con ligadura venosa portal, LVP) fue claramente mayor (aproximadamente 2 mm en anillos proximales y 1 mm para los distales), que en los controles (aproximadamente 1 y 0.5 mm, respectivamente). Igualmente, observamos diferencias microscópicas en el grosor de la pared de las anillos, con un incremento en el rango de 100 a 200 μm en las muestras procedentes de animales hipertensos.

b) Comprobación farmacológica e histológica de la presencia o ausencia de endotelio.

Ha sido descrita la relajación endotelio-dependiente en venas a agonistas como la sustancia P (Stones y cols., 1995). En nuestras experiencias, la sustancia P (10^{-10} - 10^{-8} M) causó menos de un 10 % de relajación en los anillos venosos mesentéricos, previamente contraídos con Endotelina-1 (10^{-9} M). Además, esta insuficiente relajación venosa a la

Resultados

sustancia P se observó tanto en preparaciones control como en las procedentes de animales con LVP. Por tanto, todos los anillos venosos utilizados en el estudio carecieron de endotelio desde un punto de vista funcional.

De igual modo, los estudios histológicos realizados con las muestras mediante la tinción utilizando una modificación del método descrito por Caplan y Schwartz (1973), permitió comprobar la escasa presencia de células endoteliales en la vena mesentérica, tanto en el grupo de animales hipertensos como controles, aspecto éste en consonancia con la débil relajación endotelio-dependiente demostrada en los estudios farmacológicos (Figura 4).

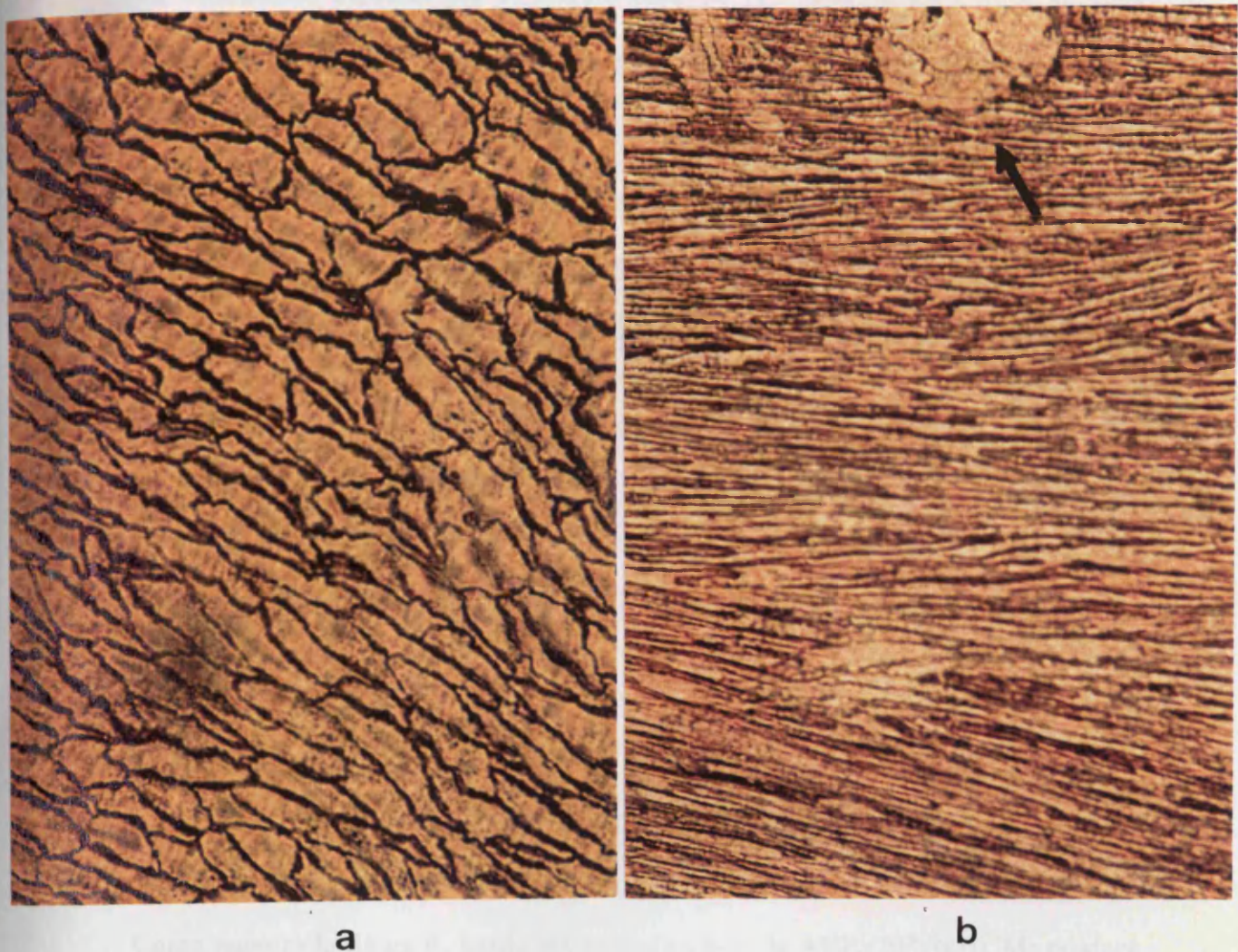


FIGURA 4. Tinción del endotelio en arteria (a) y en vena mesentérica de rata (b), según la técnica descrita por Caplan y Schwartz. Aparece la presencia de células endoteliales en arteria, y la práctica ausencia de las mismas en vena, dejando visible la capa muscular lisa. Señalado mediante una flecha un pequeño fragmento residual de endotelio en vena.

c) Respuesta vascular al cloruro potásico.

La contracción inducida por el cloruro potásico (60 mM) en los anillos de vena mesentérica de ratas control, fue significativamente ($p < 0.001$) mayor en los segmentos proximales ($n=29$) que en los distales ($n=24$) con un efecto máximo de 1482 ± 65 mg. frente a 801 ± 61 mg, respectivamente. Esta variación anatómica fue sustancialmente reducida ($p < 0.05$) en los anillos procedentes de ratas hipertensas, presentando un efecto máximo en los segmentos proximales de 1583 ± 76 mg ($n=33$) y 1336 ± 90 mg ($n=31$), en los distales (Figura 5).

En anillos de vena mesentérica distales, la respuesta al cloruro potásico (60 mM) fue significativamente ($p < 0.001$) mayor en el grupo con LVP que en el grupo control (Figura 5).

I.1.2.- Reactividad a la vasopresina.

Como muestra la figura 6, la adición acumulativa de la AVP (10^{-9} - 3×10^{-8} M) produce una respuesta contráctil dependiente de la concentración, tanto a nivel de los anillos mesentéricos proximales como distales.

En las ratas control observamos una respuesta marcadamente superior en los anillos distales que en los proximales, con diferencias significativas en el efecto máximo pero no en el valor de pD_2 de las curvas concentración-efecto (Tabla 1).

Resultados

La hipertensión portal indujo un incremento significativo del efecto de la AVP tanto en anillos proximales como distales, obteniendo a partir de la concentración de 10^{-8} M diferencias significativas ($p < 0.001$) respecto al grupo control. El incremento en la respuesta a la vasopresina, inducido por la hipertensión portal, fue mayor en los segmentos distales que en los proximales con un grado de significatividad del orden de $p < 0.01$ (Tabla 1).

I.1.3.- Respuesta a la serotonina.

En la figura 7, se observa que la adición acumulativa de 5-HT (10^{-7} - 10^{-6} M) induce una respuesta contráctil concentración-dependiente en anillos de vena mesentérica proximal y distal.

En el grupo control, los anillos distales mostraron una mayor respuesta a la 5-HT respecto a los proximales, con un rango de significatividad de $p < 0.01$ que se mantuvo a lo largo de toda la curva desde concentraciones iniciales de 5-HT (10^{-7} M) (Figura 7). Esta mayor respuesta se reflejó en valores de E_{MAX} pero no en los de pD_2 (Tabla 1).

La LVP causó, al igual que para la vasopresina, un aumento de la reactividad a la 5-HT de los anillos tanto proximales como distales, siendo dicha hiperreactividad mucho más marcada a nivel de estos últimos ($p < 0.001$). El efecto máximo obtenido en el segmento distal fue de 76 ± 9 % CIK ($n=18$) mostrando una clara diferencia significativa ($p < 0.001$) respecto a su homólogo control. El efecto máximo en el segmento proximal fue de 18 ± 3 % CIK ($n=16$) sin que ello supusiera diferencia significativa respecto al control. No

encontramos cambios importantes, en los valores de pD_2 (Tabla 1).

I.1.4.- Hiperreactividad a la vasopresina y serotonina: estudio de los posibles mediadores.

Estudiamos la posible influencia de estímulos adrenérgicos o colinérgicos, y/o la posible participación de las prostaglandinas en la hiperreactividad a la AVP y al 5-HT observada en las ratas hipertensas.

Los resultados obtenidos tras incubar las preparaciones venosas con fentolamina ($10^{-6}M$), propranolol ($10^{-6}M$), atropina ($10^{-6} M$) e indometacina ($5 \times 10^{-5}M$) no reflejaron cambios significativos sobre dicha hiperreactividad. En la tabla 2 se muestra que los valores de efecto máximo y pD_2 de las curvas concentración-efecto a la vasopresina fueron similares en presencia y ausencia de dichos bloqueantes. De igual forma, la hiperreactividad a la 5-HT en preparaciones incubadas con dichos bloqueantes se mantuvo presente en las preparaciones de ratas hipertensas (Tabla 2). No obstante, observamos una atenuación significativa ($p < 0.05$) de la respuesta contráctil a la 5-HT, en el grupo incubado con antagonistas, tanto controles como hipertensos, respecto a sus homólogos sin antagonistas (Tabla 2).

I.1.5.- Reactividad a la noradrenalina.

Los anillos proximales de la vena mesentérica mostraron una respuesta a la NA (10^{-8} - $10^{-5}M$) significativamente ($p < 0.001$) superior que los distales, tanto en preparaciones

Resultados

procedentes de animales control como hipertensas. Como refleja la Figura 8, la HTP atenúo la respuesta contráctil con una significatividad mayor ($p < 0.01$) en los segmentos proximales. Sin embargo, el valor de la pD_2 no se modificó (Tabla 1).

I.1.6.- Respuesta a la endotelina-1.

El efecto contráctil de la END-1 (10^{-11} - 10^{-8} M) fue homogéneo a lo largo de la vena mesentérica procedente de ratas control, como muestran las CCR de los anillos proximales y distales (Figura 9). La respuesta a la END-1 en los anillos distales del grupo de animales hipertensos fue similar al observado en los anillos del grupo control. Los anillos proximales de las ratas con LVP mostraron una respuesta atenuada a la END-1, con una desviación significativa ($p < 0.05$) hacia la derecha de la CCR y una disminución de la pD_2 (Tabla 1).

I.1.7.- Estudio de la hiporreactividad de la noradrenalina y endotelina-1.

La naturaleza de la hiporreactividad a los agonistas citados -principalmente de los segmentos vasculares proximales- observada en las muestras procedentes de ratas hipertensas, fue evaluada mediante la incubación de los anillos de vena mesentérica con el inhibidor del óxido nítrico (L-NAME, 10^{-4} M). El L-NAME incrementó significativamente ($p < 0.05$) la respuesta a la NA tanto en el grupo de ratas con LVP como en el control. Aunque los efectos del L-NAME fueron equivalentes en ambos grupos de muestras, la respuesta máxima de los anillos proximales hipertensos (52 ± 13 % CIK, $n=5$) fue significativamente ($p < 0.05$) menor que en el grupo control (82 ± 11 % CIK, $n=5$) tras la incubación con L-NAME. De

Resultados

la misma manera, los valores de la pD_2 para la NA no se vieron modificados por la presencia de L-NAME en el baño de órganos (5.331 ± 0.181 para las hipertensas y 5.209 ± 0.121 para los controles) (Figura 10).

Por su parte, la incubación con L-NAME ($10^{-4}M$) aumentó significativamente ($p < 0.05$) la respuesta a la END-1 en los anillos proximales de vena mesentérica procedentes de ratas con LVP como controles. Sin embargo, los efectos del L-NAME fueron equivalentes y la respuesta máxima de los anillos del grupo de ratas hipertensas (150 ± 16 % CIK, $n=6$) y control (151 ± 11 % CIK, $n=6$) no fueron sustancialmente diferentes. Además, la incubación con L-NAME no modificó la diferencia significativa ($p < 0.05$) de la pD_2 para la END-1 entre los anillos proximales de vena mesentérica de ratas con LVP (9.213 ± 0.142) y animales control (9.559 ± 0.068), ya constatada en estudios previos (Figura 11).

I.1.8.- Respuesta a angiotensina-II.

En contraste con los demás agonistas evaluados, no encontramos diferencias significativas entre las ratas hipertensas y control, ni entre los anillos distales y proximales de las muestras analizadas. Además, como muestra la figura 12, la reactividad a la ANG-II fue similar a lo largo de toda la vena mesentérica tanto en ratas hipertensas como controles. No observamos cambios significativos en el efecto máximo (116 ± 6 % CIK), ni en la pD_2 (Figura 12).

I.2.- Reactividad vascular en territorio venoso extraportal: vena iliaca.

Anillos de vena iliaca fueron empleados como controles para evaluar la influencia de la hipertensión portal inducida sobre la reactividad a varios agonistas fuera del territorio esplácnico. A diferencia de los anillos obtenidos de la vena mesentérica, aquellos procedentes de vena iliaca no contrajeron en presencia de ninguna de las concentraciones empleadas de AVP (10^{-9} - 3×10^{-8} M) y 5-HT (10^{-7} - 10^{-6} M) (Tabla 3).

Como podrá observarse en la Tabla 3, la LVP no modificó ninguno de los parámetros (efecto máximo y pD_2) de la CCR a la NA, END-1 y ANG-II.

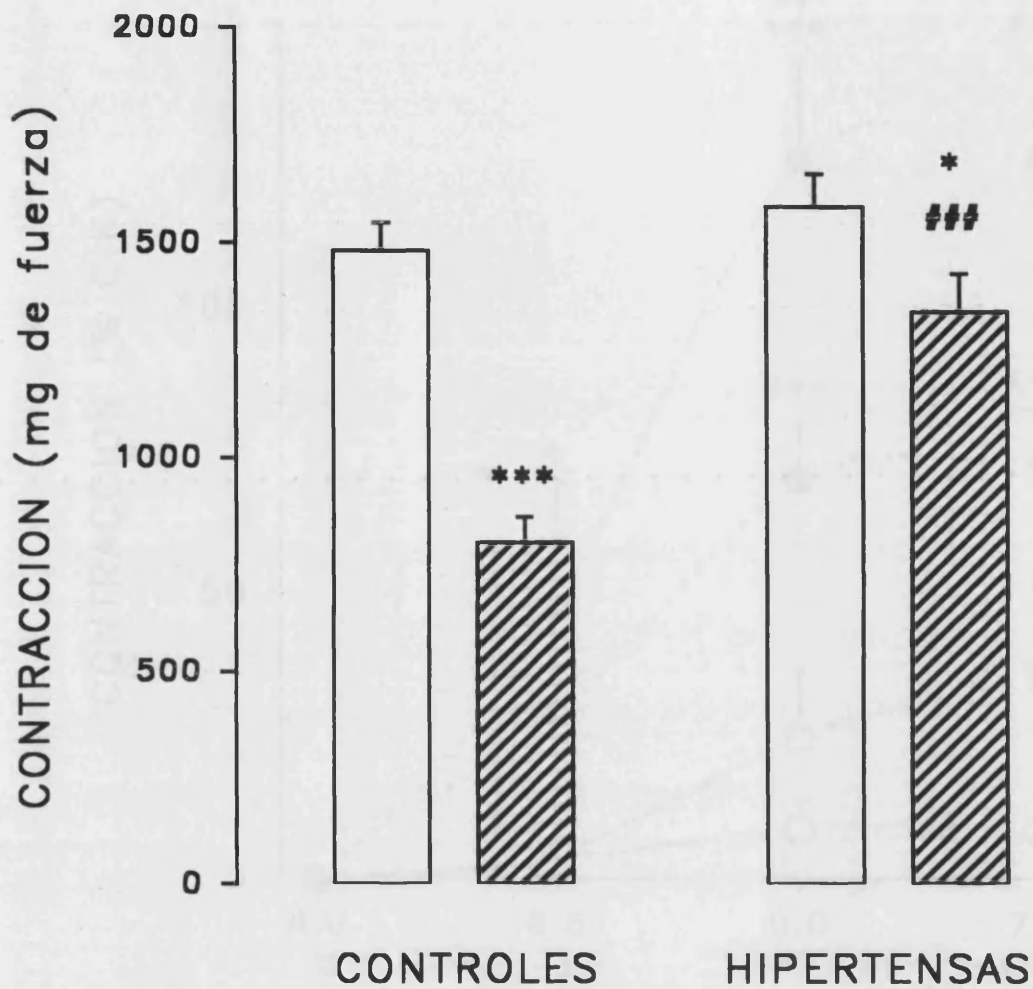


FIGURA 5. Contracción inducida por ClK (60 mM), expresada en miligramos de fuerza, en anillos proximales (blanco) y distales (rayado) de la vena mesentérica en ratas control e hipertensas. Las columnas representan la media \pm e.s.m de al menos 24 muestras. El nivel de significatividad estadística respecto al homólogo del grupo control viene representado por### $p < 0.001$ y respecto al anillo proximal como * $p < 0.05$, *** $p < 0.001$.

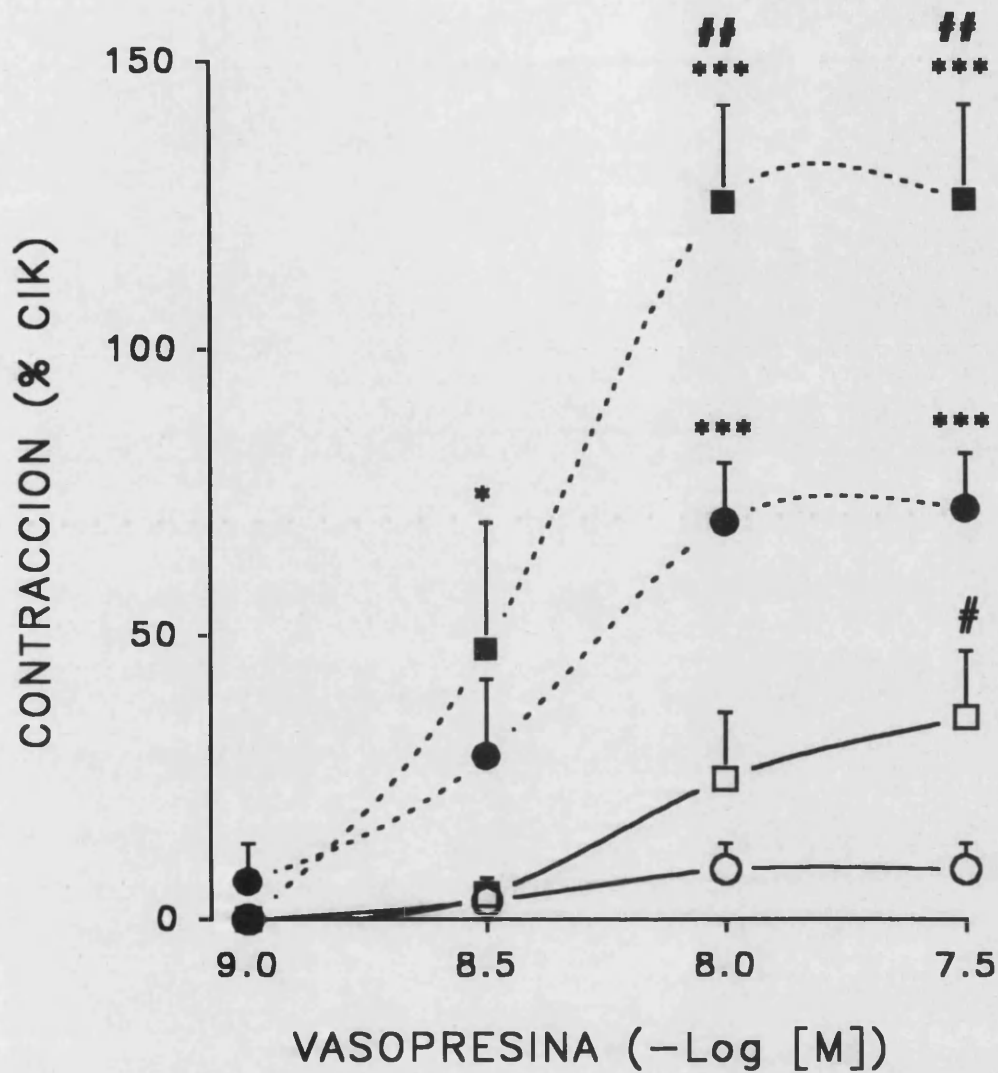


FIGURA 6. Curva concentración-respuesta con dosis acumulativas de vasopresina (10^{-9} - 3×10^{-8} M) en anillos proximales (círculos) y distales (cuadrados) de vena mesentérica procedentes de ratas control (blancos) y ratas hipertensas (negros). La respuesta contráctil a la AVP se expresa como el % de la contracción inducida por una concentración submaximal de CIK (60 mM). Cada punto representa la media \pm e.s.m de al menos 10 animales para cada curva. Las diferencias significativas respecto al grupo control se representan como * $p < 0.05$, *** $p < 0.001$; y respecto a los respectivos anillos proximales como # $p < 0.05$ y ## $p < 0.01$.

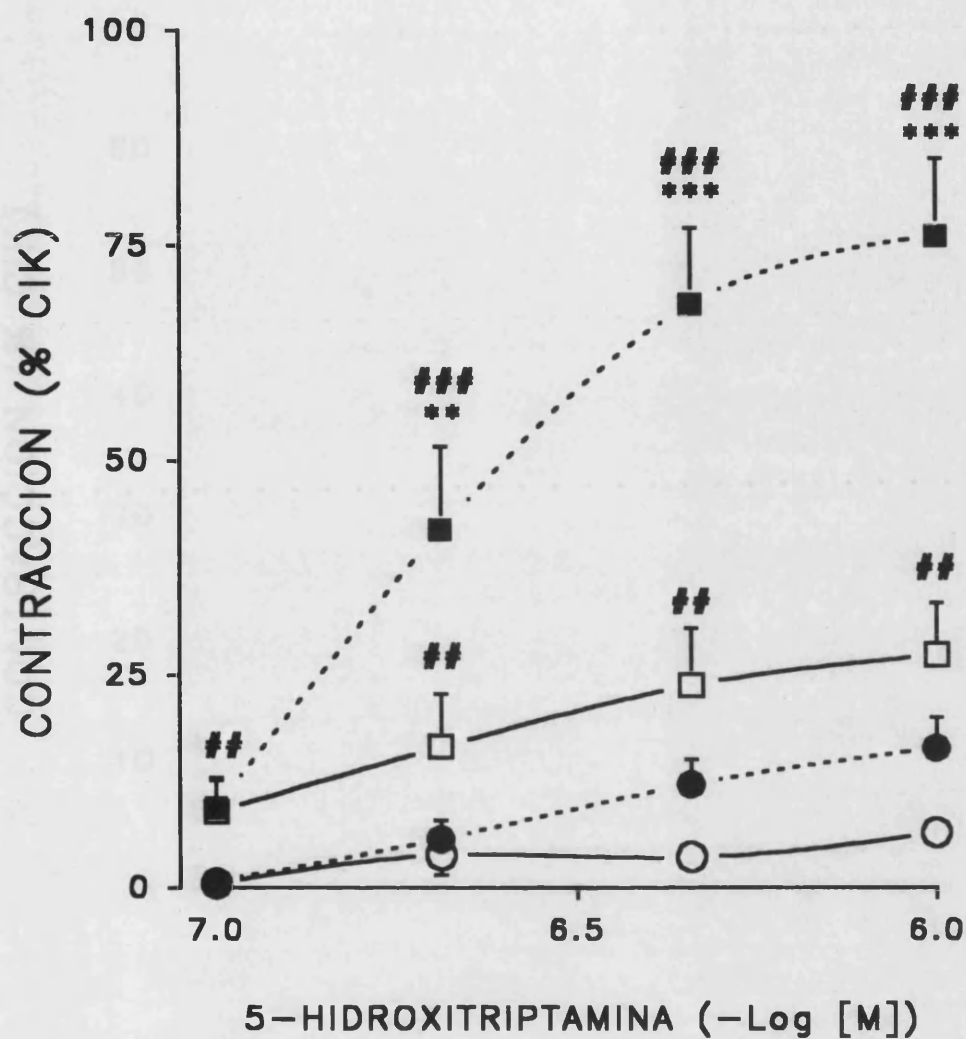


FIGURA 7. Curva acumulativa concentración-respuesta a la 5-HT (10^{-7} - 10^{-6} M) de anillos proximales (círculos) y distales (cuadrados) en la vena mesentérica procedente de ratas control (blancos) e hipertensas (negros). La respuesta contráctil a la 5-HT se expresa como % de la contracción inducida por una concentración submaximal de CIK (60mM). Cada punto representa la media \pm e.s.m de al menos 7 animales para cada curva. Las diferencias significativas respecto al grupo control se representan como ** $p < 0.01$ y *** $p < 0.001$; y respecto a los anillos proximales como ## $p < 0.01$ y ### $p < 0.001$.

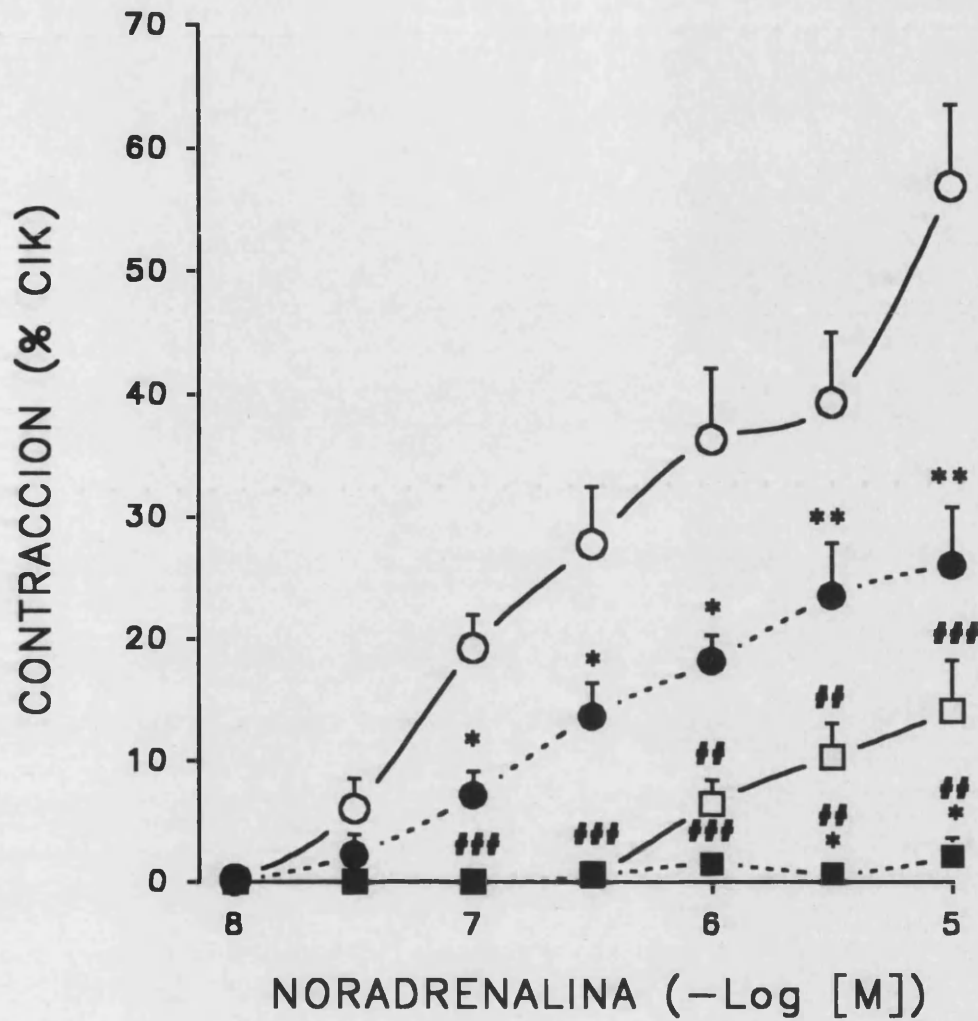


FIGURA 8. Curva acumulativa concentración-respuesta a la NA (10^8 - 10^5 M) en anillos proximales (círculos) y distales (cuadrados) de vena mesentérica procedente de ratas control (blancos) e hipertensas (negros). La respuesta contráctil a la NA se expresa como % de la contracción inducida por una concentración submaximal de CIK (60mM). Cada punto representa la media \pm e.s.m de al menos 9 animales para cada curva. Las diferencias significativas respecto al grupo control se representan como * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ y *** $p < 0.001$; respecto a los anillos proximales como ** $p < 0.01$ y *** $p < 0.001$.

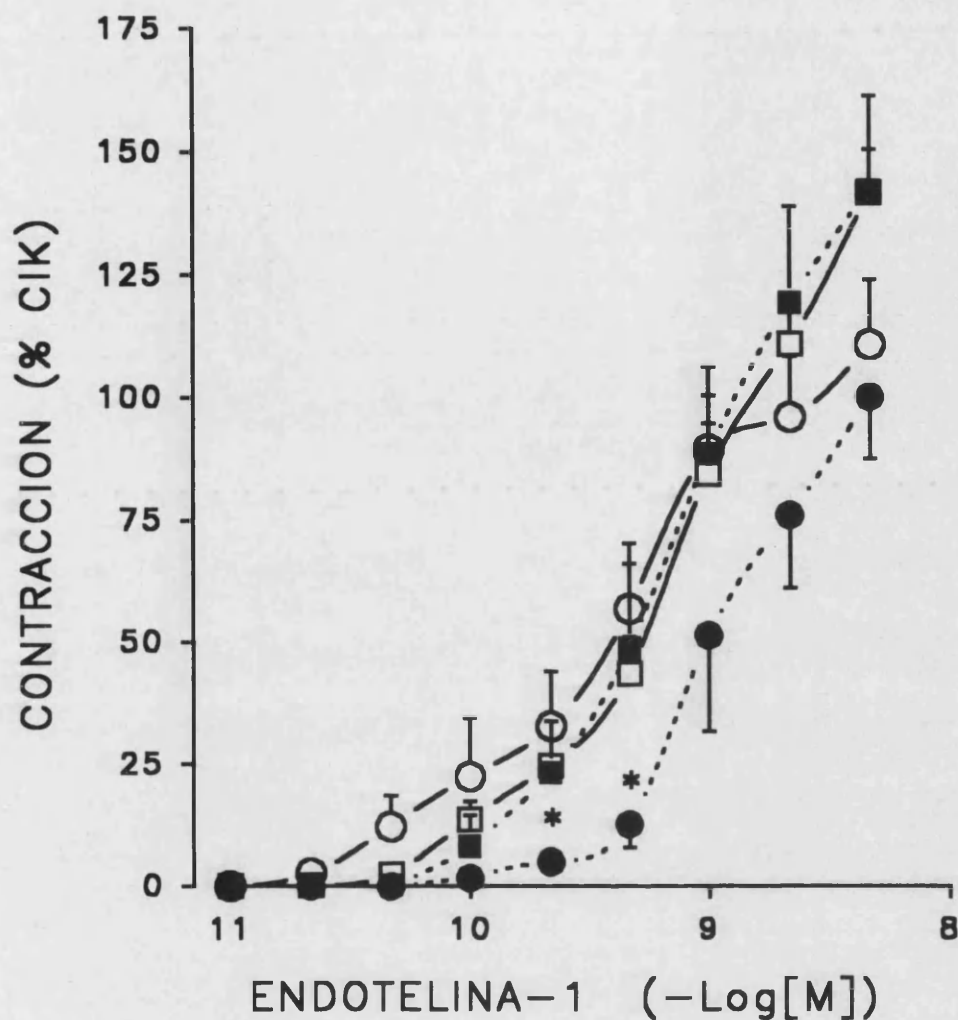


FIGURA 9. Curva acumulativa concentración-respuesta a la END-1 (10^{-11} - 10^{-8} M) en anillos proximales (círculos) y distales (cuadrados) de vena mesentérica procedente de ratas control (blancos) e hipertensas (negros). La respuesta contráctil a la END-1 se expresa como % de la contracción inducida por una concentración submaximal de CIK (60 mM). Cada punto Representa la media \pm e.s.m de al menos 6 animales para cada curva. Las diferencias significativas respecto al grupo control se representan como $*p < 0.01$.

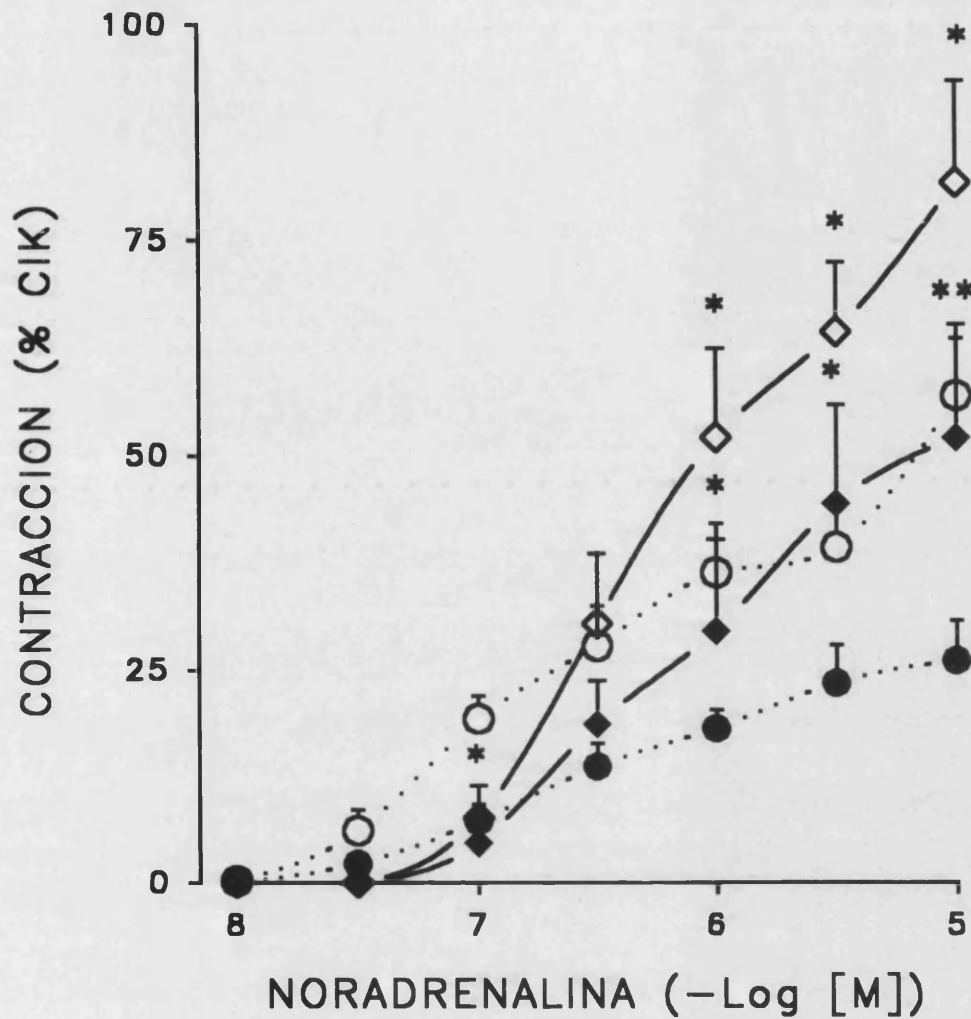


FIGURA 10. Efecto del L-NAME (10^{-4}M) sobre las curvas concentración-respuesta a la NA (10^{-8} - 10^{-5}M) en anillos proximales de vena mesentérica de ratas control (rombo blanco) e hipertensas (rombo negro). La respuesta contráctil a la NA se expresa como % de la contracción inducida por una concentración submaximal de CIK (60mM). Cada punto representa la media \pm e.s.m de al menos 9 animales para cada curva. Las diferencias significativas respecto a los segmentos homólogos del grupo sin L-NAME se representan como $*p < 0.05$ y $**p < 0.01$.

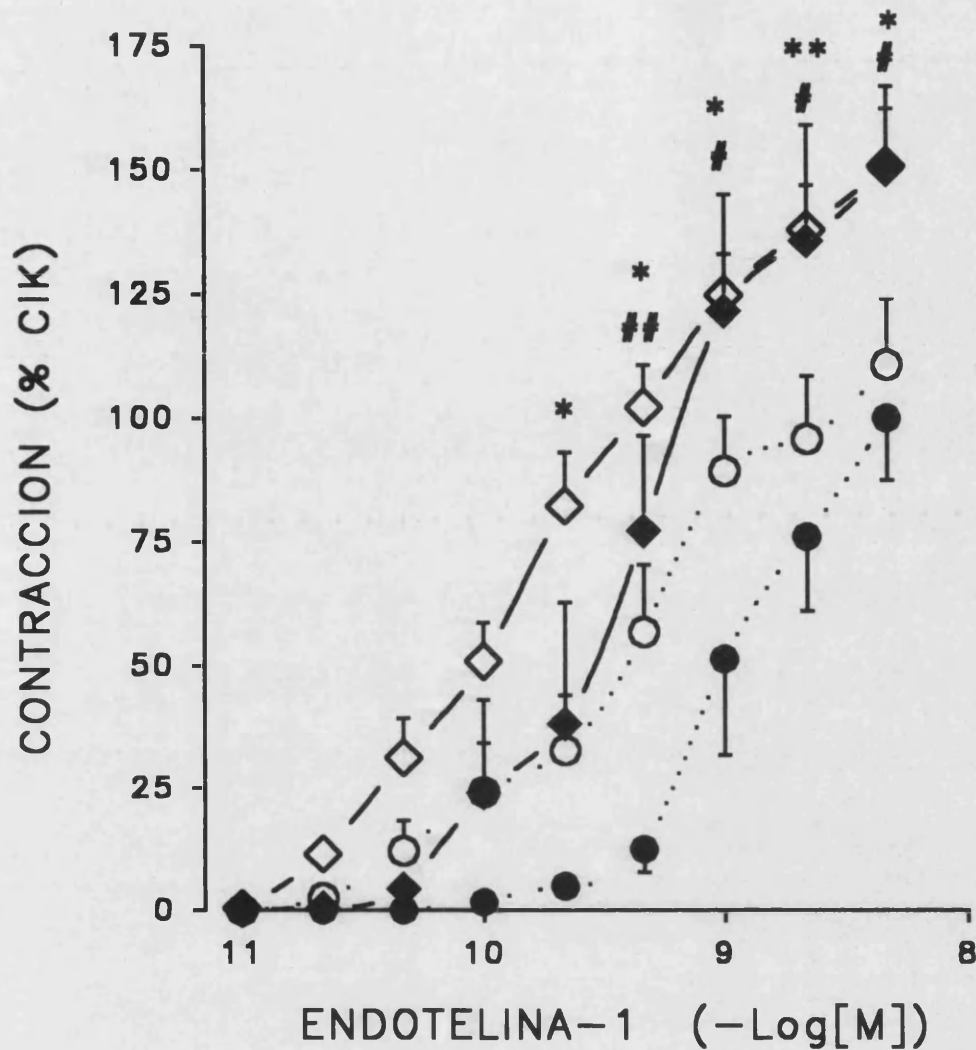


FIGURA 11. Curva acumulativa concentración-respuesta a la END-1 (10^{-11} - 10^{-8} M) en anillos proximales de vena mesentérica procedentes de rata control (diamante vacío) e hipertensas (diamante negro), habiéndose incubado las muestras previamente con L-NAME (10^{-4} M). La respuesta contráctil a la END-1 se expresa como % de la contracción inducida por una concentración submaximal de la CIK (60mM). Cada punto representa la media \pm e.s.m de al menos 6 animales para cada curva. Las diferencias significativas respecto al grupo sin L-NAME control, se representan como * $p < 0.05$ y ** $p < 0.01$. Respecto al grupo L-NAME hipertensas, # $p < 0.05$ y ## $p < 0.01$.

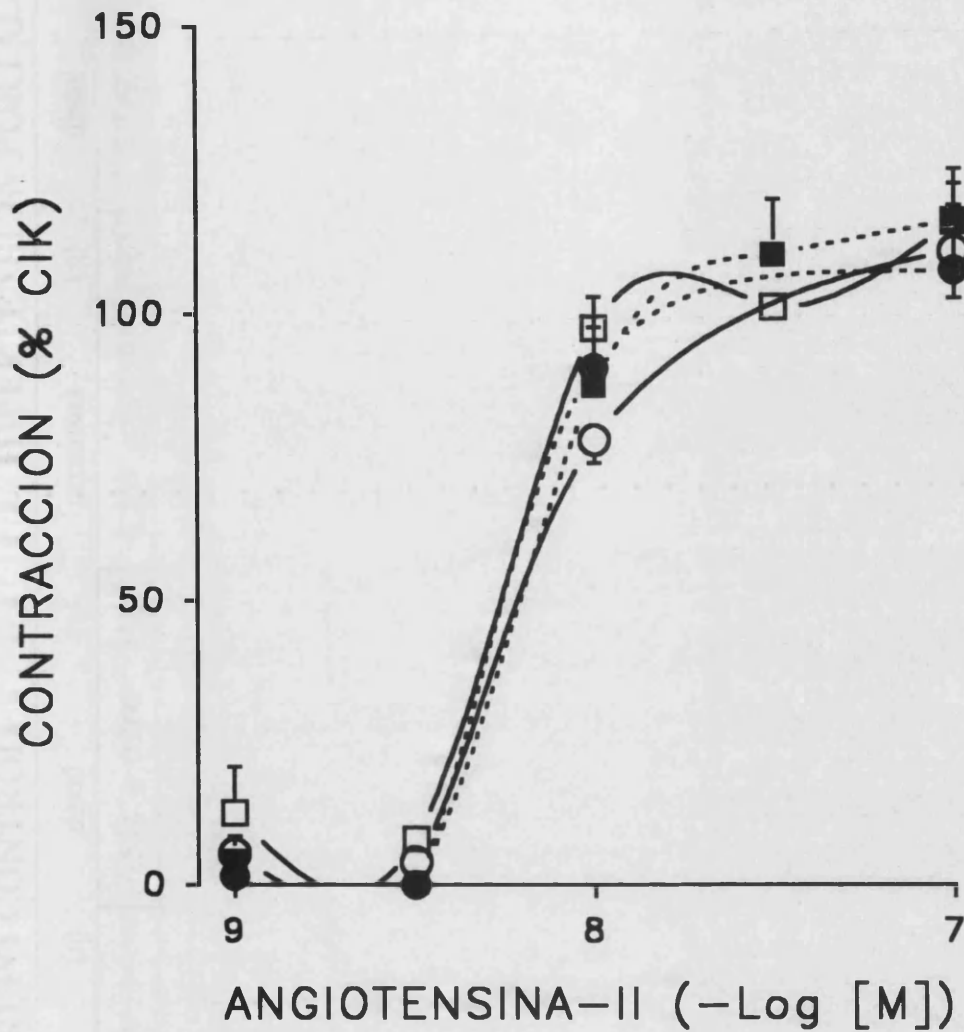


FIGURA 12. Curva no-acumulativa concentración-respuesta a la ANG-II (10^{-9} - 10^{-7} M) en anillos proximales (círculos) y distales (cuadrados) de vena mesentérica procedente de ratas control (blancos) e hipertensas (negros). La respuesta contráctil a la ANG-II se probó para cada dosis del citado agonista en anillos diferentes ya que se demostró taquifilaxia. La respuesta contráctil se expresa como % de la contracción inducida por una concentración submaximal de CIK (60 mM). Cada punto representa la media \pm e.s.m de al menos 6 animales para cada curva.

VASOCONSTRICTORES	GRUPO CONTROL				HIPERTENSION PORTAL			
	proximal	(n)	distal	(n)	proximal	(n)	distal	(n)
5-HIDROXITRIPTAMINA	pD ₂ E _{MAX}	---	6.524 ± 0.092 27 ± 6	(10)	6.358 ± 0.079 18 ± 3 ^{###}	(16)	6.544 ± 0.050 76 ± 9 ^{***}	(18)
VASOPRESINA	pD ₂ E _{MAX}	---	7.665 ± 0.130 35 ± 12	(13)	8.386 ± 0.082 73 ± 8 ^{##}	(6)	8.063 ± 0.291 126 ± 16 ^{***}	(6)
NORADRENALINA	pD ₂ E _{MAX}	5.155 ± 0.271 56 ± 14 ^{###}	4.883 ± 0.135 14 ± 4	(10))	5.515 ± 0.130 25 ± 5 ^{** ##}	(9)	---	
ENDOTELINA-1	pD ₂ E _{MAX}	9.418 ± 0.130 110 ± 14	9.039 ± 0.085 142 ± 9	(6)	8.826 ± 0.121* 99 ± 13	(6)	9.076 ± 0.146 142 ± 19	(9)
ANGIOTENSINA-II	pD ₂ E _{MAX}	9.712 ± 0.141 111 ± 8	9.671 ± 0.171 116 ± 9	(9)	9.803 ± 0.212 107 ± 11	(12)	9.771 ± 0.101 116 ± 6	(8)

TABLA 1. Valores de la pD₂ y la respuesta máxima (E_{MAX}) de la curva concentración-respuesta a los agonistas vasoconstrictores en anillos proximales y distales procedentes de ratas control e hipertensas. La respuesta máxima se expresa como % de la de contracción inducida por una concentración submaximal de ClK (60mM). Los valores se expresan como la media ± e.s.m. (n) indica el número de animales. Las diferencias significativas respecto al grupo control se muestran como *p < 0.05, **p < 0.01, ***p < 0.001; y respecto a los anillos distales, como #p < 0.05, ##p < 0.01 y ###p < 0.001.

		SIN ANTAGONISTAS		CON ANTAGONISTAS	
		CONTROL	HP	CONTROL	HP
VASOPRESINA	pD ₂	7.665 ± 0.130	8.063 ± 0.291	7.45 ± 0.08	8.24 ± 0.12
	E _{max}	35 ± 12	126 ± 16 ^{***}	41 ± 17	133 ± 9 ^{***}
5-HIDROXITRIPTAMINA	pD ₂	6.524 ± 0.092	6.54 ± 0.05	6.21 ± 0.11	6.0944 ± 0.048
	E _{max}	27 ± 6	76 ± 9 ^{***}	11 ± 1.04 [#]	59 ± 10 ^{**#}

TABLA 2. Estudio de la hiperreactividad vascular en vena mesentérica distal a los agonistas, AVP (10^{-9} - 3×10^{-8} M) y 5-HT (10^{-7} - 10^{-6} M) en muestras de rata hipertensas y controles cuando se emplean antagonistas [atropina (10^{-6} M), fentolamina (10^{-6} M), propanolol (10^{-6} M) e indometacina (5×10^{-5} M)] en el líquido de Krebs. Las diferencias significativas respecto al grupo control las expresamos como * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$; respecto al homólogo del grupo sin antagonista como # $p < 0.05$. Cada media fue obtenida de al menos 4 animales.

HIPERTENSION PORTAL

CONTROL

ANGIOTENSINA-II	E_{MAX}	103.76 ± 12.5	n=5	98.58 ± 8.75	n=5
	pD_2	7.986 ± 0.130		8.243 ± 0.165	
ENDOTELINA-1	E_{MAX}	196.59 ± 34.76	n=8	220.53 ± 36.1	n=8
	pD_2	9.421 ± 0.027		9.547 ± 0.019	
NORADRENALINA	E_{MAX}	128.88 ± 7.7	n=9	107.85 ± 8.39	n=10
	pD_2	6.425 ± 0.032		6.537 ± 0.075	

TABLA 3. Valores de la pD_2 y la respuesta máxima (E_{MAX}) de la curva concentración-respuesta a los agonistas vasoconstrictores NA, END-1 y ANG-II en anillos de vena iliaca procedentes de ratas control e hipertensas. La respuesta máxima se expresa como % de la de contracción inducida por una concentración submaximal de ClK (60mM). Los valores se expresan como la media \pm e.s.m.

II. Protocolo B: Reactividad en arterias.

II.1.- Estudios preliminares.

a) Cambios físico-morfológicos inducidos por la hipertensión portal.

Como pudimos observar a través de la microscopia óptica, no hallamos diferencias sustanciales en el diámetro ni grosor de las arterias procedentes de animales con LVP respecto a las muestras procedentes de animales control.

b) Respuesta vascular al cloruro potásico.

En el grupo control, la contracción inducida por el ClK (60mM) fue superior en los segmentos aórticos, lógicamente en relación con la mayor masa muscular de estos anillos vasculares; la arteria gástrica y mesentérica presentaron una respuesta contráctil similar sin que pudiera objetivarse diferencias significativas entre ambas (Figura 13). La hipertensión portal no modificó la contracción inducida por el ClK (60mM) en ninguno de los segmentos arteriales seleccionados. En ambos grupos, la respuesta al ClK en aorta fue mayor, presentando diferencias significativas ($p < 0.001$) respecto al efecto observado tanto en arteria gástrica como mesentérica (Figura 13).

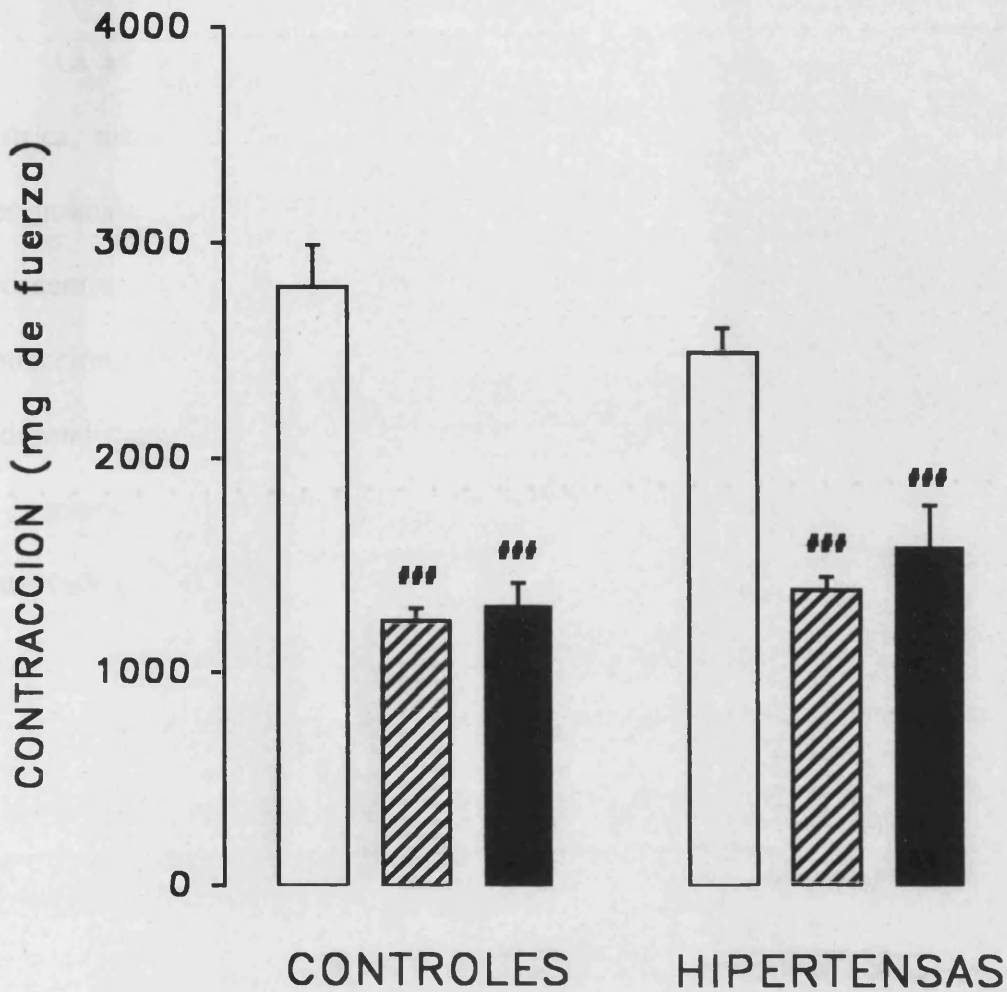


FIGURA 13. Respuesta contráctil al CIK (60mM) en anillos arteriales, de aorta (blanco), mesentérica (rayado) y arteria gástrica (negro). Distinguimos un grupo de animales control y otro grupo de animales con hipertensión portal. Cada columna representa la media \pm e.s.m, expresada en miligramos de fuerza, de al menos 9 animales. El nivel de significatividad estadística respecto al efecto máximo obtenido en aorta se expresa como ### $p < 0.001$.

c) Estudio funcional de la viabilidad del endotelio vascular.

La adición de concentraciones crecientes de Ach (10^{-11} - 10^{-6} M) en anillos arteriales (gástrica, mesentérica y aorta) precontraídos con fenilefrina (10^{-5} M) causó una relajación concentración-dependiente (Figura 14). A la concentración 10^{-6} M todos los anillos arteriales procedentes de animales control como hipertensos, relajaron más del 90% respecto a la contracción inducida. Como ya se ha descrito (Furchgott, 1980), dicha relajación a la Ach es dependiente del endotelio y muestra la integridad funcional del mismo. Por tanto, todas las preparaciones arteriales de nuestro estudio presentaron una funcionalidad endotelial conservada (Figura 14).

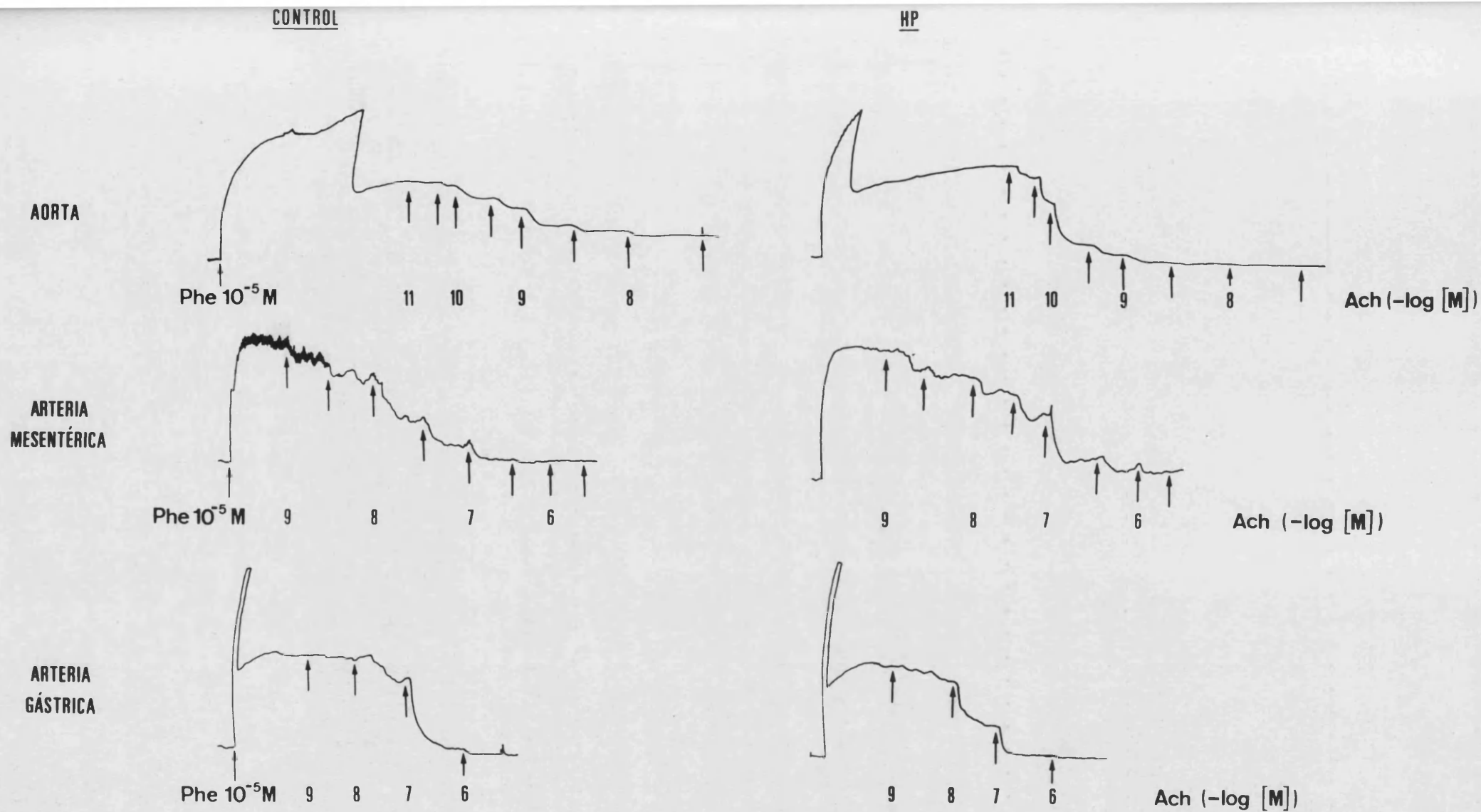


FIGURA 14. Registros gráficos donde se demuestra la relajación endotelio-dependiente a la Ach (10^{-11} - 10^{-6} M) de aorta, arteria mesentérica y arteria gástrica, previamente contraídas con fenilefrina (10^{-5} M), en muestras control e hipertensas.

II.2.- Estudio de la reactividad vascular en arterias del territorio esplácnico: gástrica y mesentérica.

II.2.1.- Reactividad vascular a la noradrenalina, vasopresina y endotelina-1.

La adición acumulativa de NA (10^{-8} - 3×10^{-5} M), AVP (10^{-10} - 3×10^{-8} M) o END-1 (10^{-10} - 10^{-8} M) indujo una contracción concentración-dependiente en arterias gástricas y mesentéricas. La HTP inducida no afectó significativamente las curvas concentración-respuesta en ninguno de los agonistas citados.

La HTP no modificó la CCR de la NA en arteria mesentérica ni gástrica, por lo que no observamos cambios significativos en el efecto máximo y el valor de pD_2 respecto a sus homólogos controles. La respuesta contráctil fue mayor en arteria mesentérica que en la gástrica, tanto en un grupo como en el otro (Figura 15 y Tabla 4).

Como muestra la tabla 4, tampoco hallamos alteraciones en la CCR de AVP inducidas por la hipertensión portal. Sin embargo, y a diferencia de lo observada para la NA, la AVP presentó una respuesta contráctil superior en arteria gástrica que en mesentérica (Figura 16).

La END-1 causó una contracción de magnitud similar en ambas arterias, sin encontrar diferencias significativas entre los grupos de animales control e hipertensos (Figura 17 y Tabla 4).

II.2.2.- Respuesta vascular a la noradrenalina en presencia de L-NAME.

Estudiamos específicamente la reactividad de la arteria mesentérica a la NA en

Resultados

presencia del inhibidor específico del óxido nítrico, L-NAME (10^{-4}M). Como muestra la Tabla 5, el L-NAME incrementó significativamente tanto el efecto máximo ($p < 0.01$) como el valor de pD_2 ($p < 0.05$) a la NA. Sin embargo, estos aumentos inducidos por el L-NAME fueron equivalentes en ambos grupos de estudio (Tabla 5).

II.2.3.- Reactividad vascular a la angiotensina-II.

La ANG-II es uno de los agonistas evaluados que mostraron una respuesta contráctil incrementada tanto en anillos de arterias gástrica como mesentérica del grupo de animales con LVP. En ambas, la HTP inducida causó un aumento significativo ($p < 0.05$) en la respuesta máxima de la ANG-II (10^{-7}M). El E_{MAX} obtenido en arteria gástrica control fue de 45.5 ± 7.8 % CIK ($n > 8$) comparado con 70.4 ± 80.3 % CIK ($n > 6$) en el grupo LVP. En arteria mesentérica, el E_{MAX} fue de 24.2 ± 4.2 % CIK ($n > 11$) en preparaciones control respecto a 39.6 ± 6.4 % CIK ($n > 5$) en las muestras procedentes de animales con LVP (Figura 18).

II.2.4.- Respuesta vascular a la angiotensina-II en presencia de indometacina.

La incubación con indometacina (10^{-5}M) de anillos de arteria mesentérica procedentes del grupo control, bloqueó significativamente ($p < 0.05$) el efecto contráctil de la ANG-II (10^{-7}M) a 4.5 ± 2.2 % CIK ($n=4$) frente a la respuesta obtenida en ausencia del inhibidor, 18.5 ± 2.3 % CIK ($n=17$).

Resultados

Asimismo, en la arteria mesentérica procedente de ratas con LVP, la indometacina inhibió significativamente ($p < 0.001$) el efecto de la ANG-II ($10^{-7}M$) a 6.6 ± 2.2 % CIK ($n=5$) comparado con el efecto obtenido en ausencia del inhibidor, 39.6 ± 6.4 % CLK ($n=19$). El efecto de la indometacina fue mayor en el grupo de ratas LVP, dando una respuesta a la ANG-II no significativamente diferente del grupo control (Figura 19).

II.3.- Estudio de la reactividad vascular fuera de territorio esplácnico: aorta torácica.

II.3.1.- Respuesta a la noradrenalina y angiotensina-II.

Empleamos anillos vasculares de aorta como controles para evaluar la influencia que la HTP pudiera inducir sobre la reactividad vascular a determinados vasoconstrictores fuera del territorio esplácnico.

Como se observa en la figura 20, la respuesta a la NA (10^{-8} - $10^{-5}M$) fue similar en anillos procedentes de animales control ($E_{MAX} = 110 \pm 3.9$ % CIK, $n=13$) e hipertensos ($E_{MAX} = 104.4 \pm 5.7$ % CIK, $n=10$). El efecto de la ANG-II (10^{-9} - $10^{-6}M$) también fue semejante en ambos grupos, control ($E_{MAX} = 54.5 \pm 7.1$ % CIK, $n > 7$) y con LVP ($E_{MAX} = 50.4 \pm 9.3$ % CIK, $n > 7$).

En ninguno de los casos se observaron diferencias significativas a los valores de pD_2 , tanto en las ratas con LVP como en las control.

II.3.2.- Respuesta a la noradrenalina en presencia de L-NAME.

Al igual que en la arteria mesentérica, L-NAME ($10^{-4}M$) indujo un aumento significativo ($p < 0.05$) de la respuesta máxima y de la pD_2 para la NA. Sin embargo, el efecto obtenido fue equivalente en ambos grupos de estudio, LVP y control (Tabla 5).

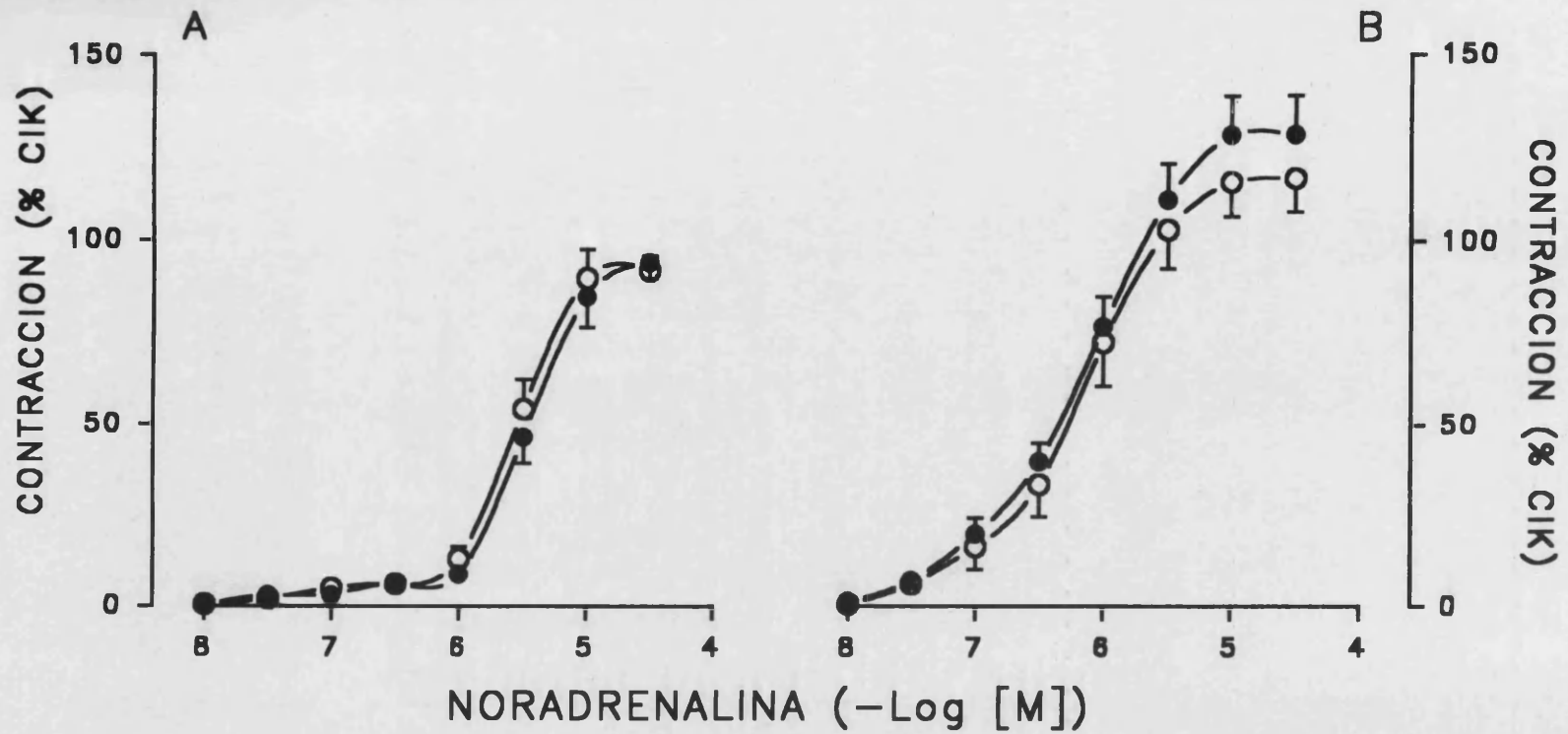


FIGURA 15. Curva concentración-respuesta a la NA (10^{-8} - 3×10^{-5} M) en anillos de arteria gástrica (A, $n > 8$) y mesentérica (B, $n > 11$) procedentes de animales control (círculos blancos) y de ratas con hipertensión portal (círculos negros). La respuesta contráctil a la NA se expresa como % del incremento de tono inducido por el CIK (60 mM) y cada punto representa la media \pm e.s.m.

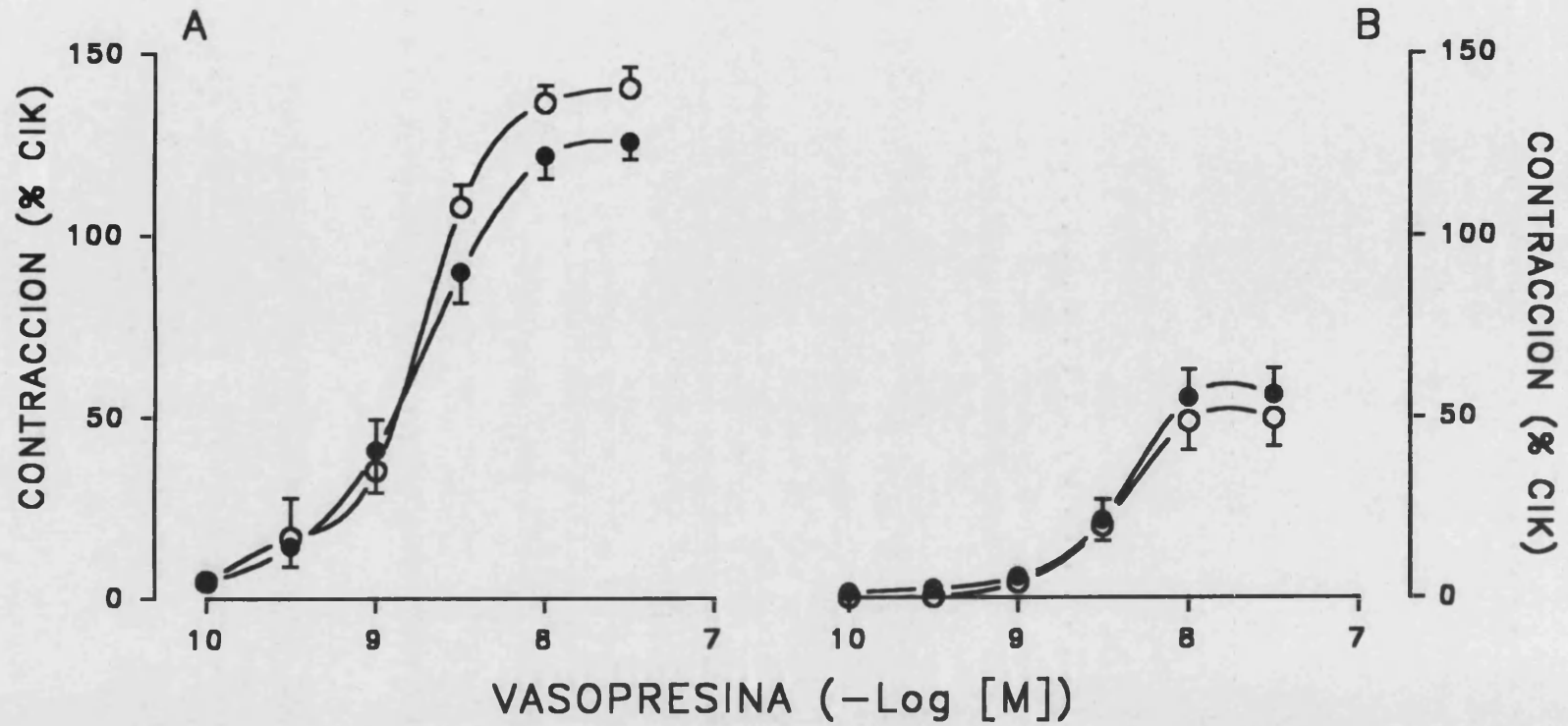


FIGURA 16. Curva concentración-respuesta a la AVP (10^{-10} - 3×10^{-8} M) en anillos de arteria gástrica (A, $n > 9$) y mesentérica (B, $n > 7$) procedentes de animales control (círculos blancos) y ratas con hipertensión portal (círculos negros). La respuesta contráctil a la AVP se expresa como % del incremento de tono inducido por el CIK (60 mM) y cada punto representa la media \pm e.s.m.

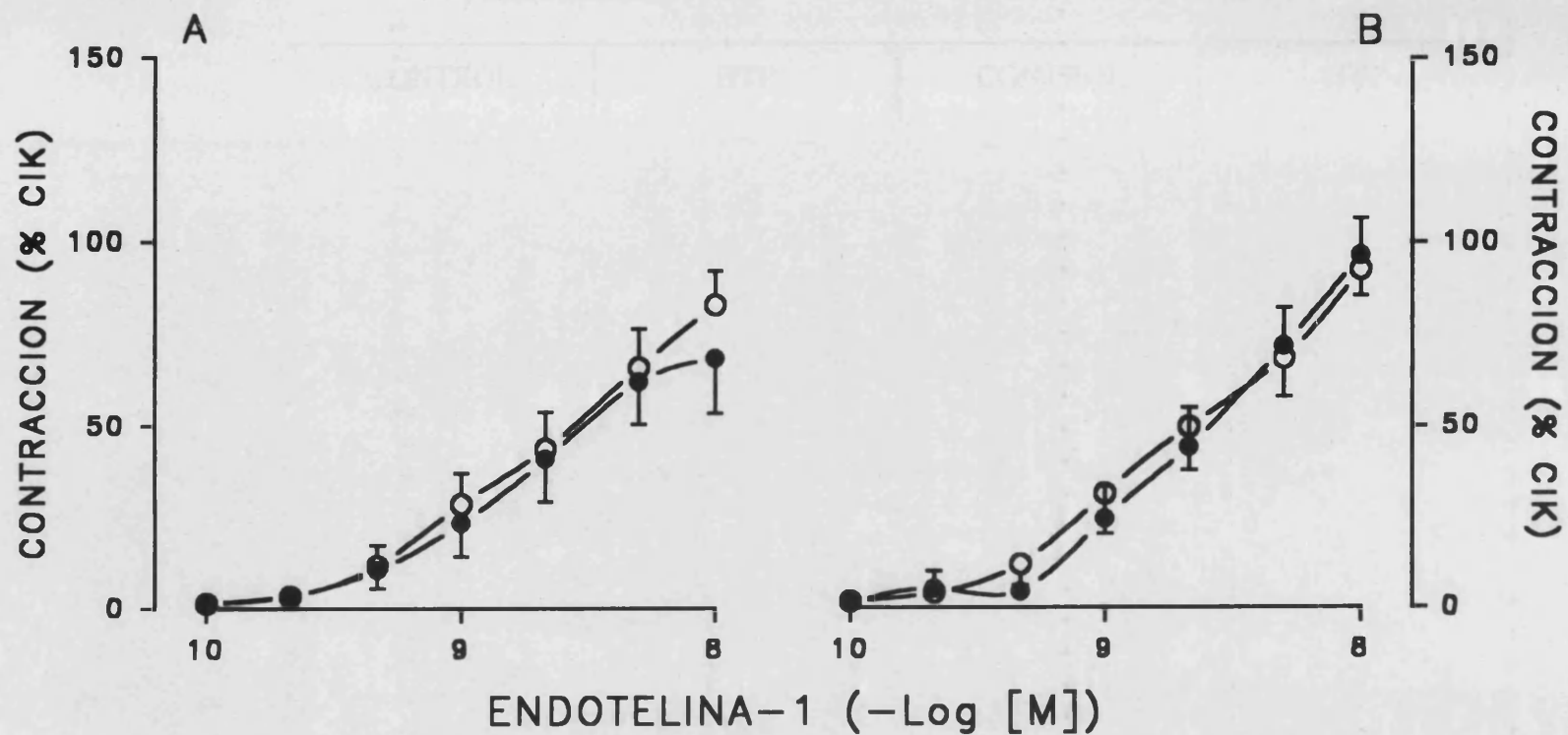


FIGURA 17. Curva concentración-respuesta a la END-1 (10^{-10} - 10^{-8} M) en anillos de arteria gástrica (A, $n > 7$) y mesentérica (B, $n > 8$) procedentes de animales control (círculos blancos) y ratas con hipertensión portal (círculos negros). La respuesta contráctil a la END-1 se expresa como % del incremento de tono inducido por el CIK (60 mM) y cada punto representa la media \pm e.s.m.

ARTERIA MESENTERICA

ARTERIA GÁSTRICA

		CONTROL	HTP	CONTROL	HTP
NORADRENALINA	E_{MAX} (n)	117 ± 9 (11)	129 ± 10 (12)	91.1 ± 3.9 (8)	93.9 ± 4.2
	pD_2	6.105 ± 0.026	6.106 ± 0.03	5.631 ± 0.057	5.526 ± 0.031
VASOPRESINA	E_{MAX} (n)	49.7 ± 7.8 (7)	56.7 ± 7.4 (9)	140.2 ± 5.9 (10)	125.4 ± 4.6 (6)
	pD_2	8.361 ± 0.135	8.372 ± 0.039	8.741 ± 0.021	8.757 ± 0.076
ENDOTELINA-1	E_{MAX} (n)	95.6 ± 7.2 (9)	96.4 ± 10.1 (8)	82.9 ± 9.2 (8)	68.4 ± 14.8 (7)
	pD_2	8.710 ± 0.026	8.605 ± 0.063	8.645 ± 0.073	8.768 ± 0.042

TABLA 4. Respuesta máxima (E_{MAX}) y valores de la pD_2 de la curva concentración-respuesta a la NA (10^{-8} - $10^{-5}M$), AVP (10^{-10} - $10^{-7}M$) y END-1 (10^{-10} - $10^{-8}M$) en muestras aisladas de arteria mesentérica y gástrica procedentes de ratas control y con HTP. E_{MAX} se expresa como % de la contracción inducida por el CIK (60 mM). (n) representa el número de animales utilizados para cada experimento.

ARTERIA MESENTERICA

AORTA

		CONTROL	HP	CONTROL	HP
NORADRENALINA	E_{max} (n)	117 ± 9 (11)	129 ± 10 (12)	110 ± 4 (14)	105 ± 5 (12)
	pD_2	6.105 ± 0.026	6.106 ± 0.003	7.32 ± 0.13	7.07 ± 0.16
+ L-NAME	E_{max} (n)	151 ± 7** (11)	162 ± 5** (10)	128 ± 6* (9)	127 ± 9* (6)
	pD_2	6.36 ± 0.12*	6.58 ± 0.16*	7.11 ± 0.06*	7.72 ± 0.1*

TABLA 5. Respuesta máxima (E_{MAX}) y valores de la pD_2 de la curva concentración-respuesta a la NA (10^{-8} - 10^{-5} M) en ausencia y presencia de L-NAME (10^{-4} M) en muestras aisladas de arteria mesentérica y aorta procedentes de ratas control e hipertensas. E_{MAX} se expresa como % de la contracción inducida por el CIK (60 mM). Detallamos las diferencias significativas respecto al grupo sin L-NAME, como * $p < 0.05$ y ** $p < 0.01$. Entre paréntesis el número de animales (n).

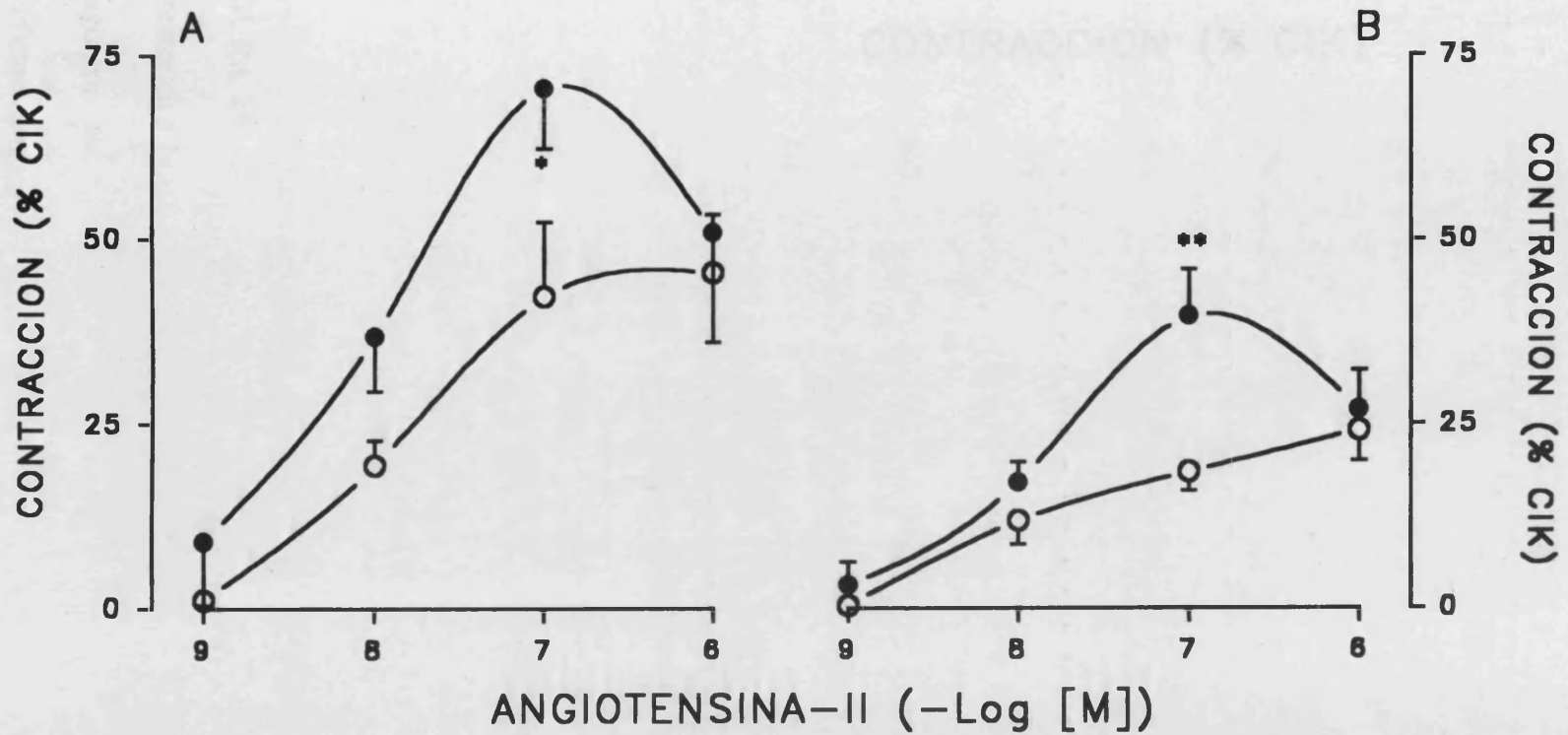


FIGURA 18. Curva concentración-respuesta a la ANG-II (10^{-9} - 10^{-6} M) en anillos de arteria gástrica (A, $n > 8$) y mesentérica (B, $n > 11$) procedentes de animales control (círculos blancos) e hipertensos (círculos negros). La respuesta contráctil a la ANG-II se expresa como % del incremento de tono inducido por el CIK (60 mM) y cada punto representa la media \pm e.s.m. Las diferencias significativas en la respuesta máxima (E_{MAX}) respecto al grupo control se representan como * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$.

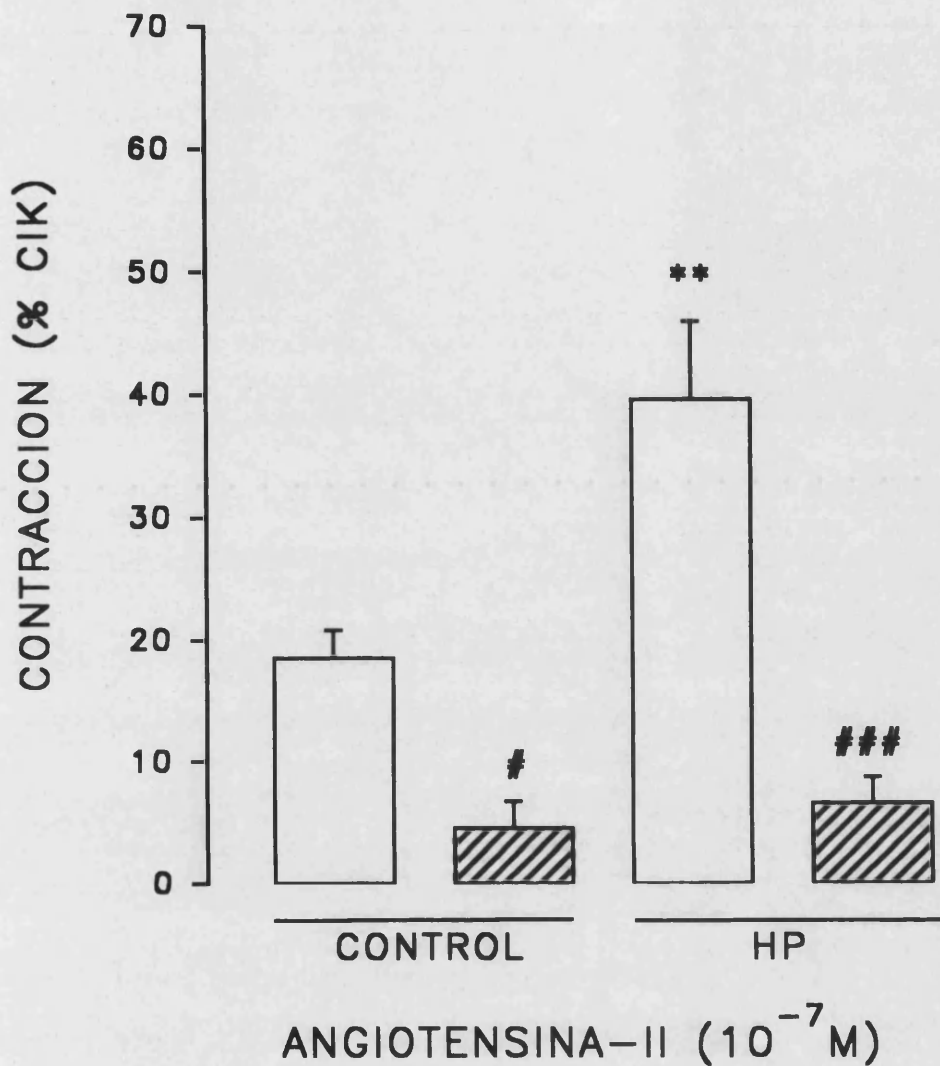


FIGURA 19. Efecto de la indometacina (10^{-5}M) sobre la respuesta contráctil de la arteria mesentérica a la ANG-II (10^{-7}M) en ratas control e hipertensas. Representamos el grupo sin antagonista en barras blancas y con antagonista en barras rayadas. Las diferencias significativas respecto al grupo sin indometacina se expresan como $\#p < 0.05$ y $\###p < 0.001$; respecto al homólogo del grupo control como $**p < 0.01$.

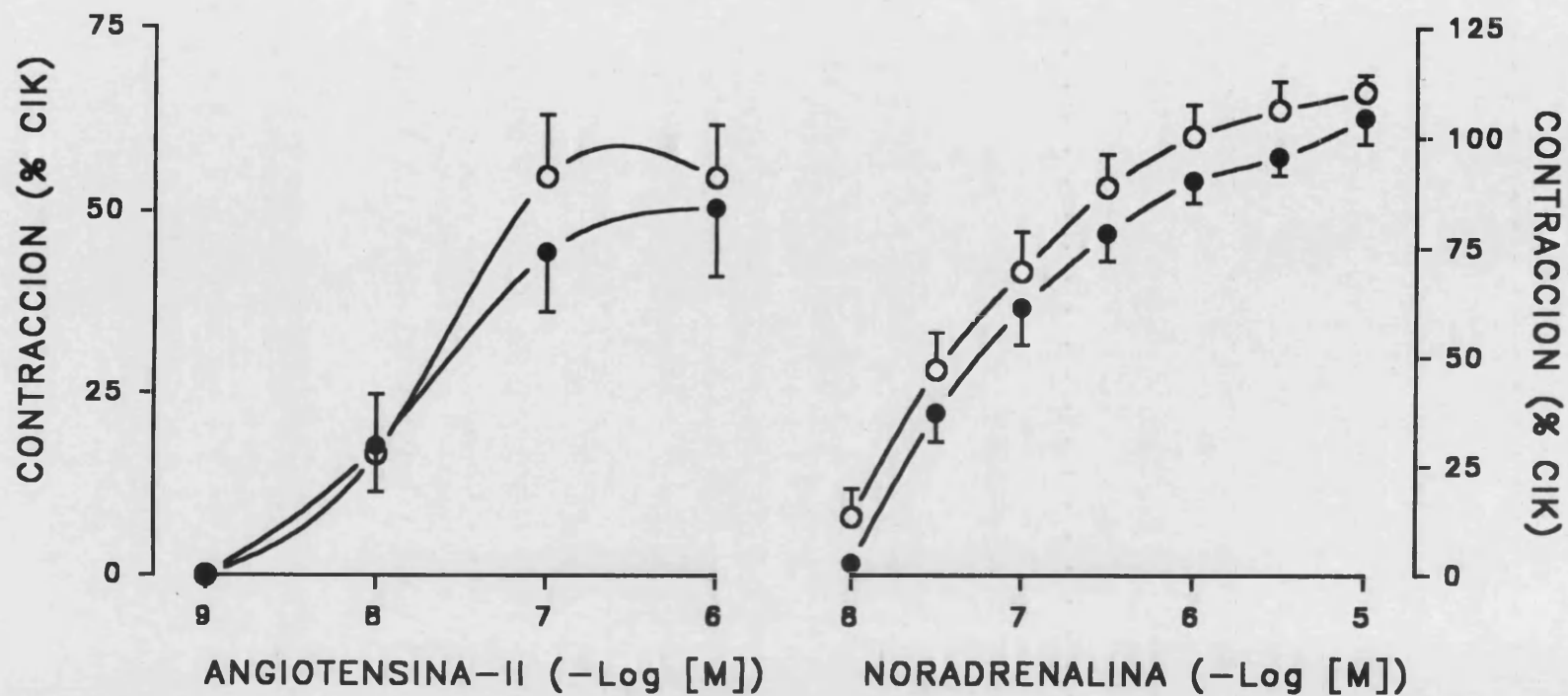


FIGURA 20. Curva concentración-respuesta a la ANG-II (10^{-9} - 10^{-6} M, $n > 6$) y a la NA (10^{-8} - 10^{-5} M, $n > 12$) en anillos aórticos procedentes de ratas control (círculo blanco) y con LVP (círculo negro). La respuesta contráctil a los agonistas se expresan como % del incremento en el tono inducido por el CIK (60 mM). Cada punto representa la media \pm e.s.m.

DISCUSIÓN

Discusión

Las alteraciones hemodinámicas que acompañan a la HTP crónica han sido ya bien documentadas. Asociado a la situación hiperdinámica que caracteriza el estado circulatorio sistémico de este síndrome, se observan cambios importantes a nivel esplácnico que se traducen en una elevación de la presión venosa portal, el establecimiento de un shunt porto-sistémico, y el aumento del flujo sanguíneo esplácnico como resultado de una marcada vasodilatación en los órganos que drenan a la vena porta (Vorioff y cols., 1984).

Estudios recientes, refieren sobre la génesis y el mantenimiento de este estado circulatorio hiperdinámico, la implicación de factores múltiples entre los que se incluyen factores vasodilatadores circulantes (Benoit y cols., 1984; 1986; Thomas y cols., 1991), un tono vasoconstrictor reducido (Kitano y cols., 1982; Kiel y cols., 1985; Bomzon y cols., 1987; Pizcueta y cols., 1990; Mesh y cols., 1991; Joh y cols., 1991; 1993) y la expansión de volumen (Genecin y cols., 1990). Con el empleo del modelo de HTP en ratas, Benoit y cols. (1984) propuso el papel clave del shunt porto-sistémico como evento inicial que conduce al desorden circulatorio de la HTP. De acuerdo con esta hipótesis el shunt porto-sistémico, asociado a la hipertensión portal crónica, facilitaría la acumulación de sustancias vasodilatadoras en el plasma evitando así su metabolización hepática. Estas sustancias vasodilatadoras podrían aumentar el flujo sanguíneo esplácnico mediante un efecto directo vasorelajante.

Por otra parte, la HTP se asocia con alteraciones marcadas a nivel de la reactividad vascular (Groszmann y Atterbury, 1982; Cornel y cols., 1992; Bosch y cols., 1994). La mayoría de los estudios realizados hasta la fecha han centrado su interés en valorar la

Discusión

respuesta contráctil a nivel del territorio arterial, tanto en modelos de perfusión *in vitro* (Cornel y cols., 1992; Lin y cols., 1994; Karatapanis y cols., 1994; Claria y cols., 1994), como *in vivo* (Sitzmann y cols., 1990; Cornel y cols., 1992; Takashi y cols., 1993), sugiriendo la existencia de una hiporrespuesta generalizada a los vasoconstrictor endógenos en la HTP. De este modo, el incremento del flujo sanguíneo intestinal puede verse potenciado por la pérdida de la reactividad arteriolar esplácica a estímulos vasoconstrictores como la norepinefrina (Kitano y cols., 1982; Kiel y cols., 1985; Bomzon y cols., 1987; Pizcueta y cols., 1990; Joh y cols., 1993), vasopresina (Lee y Fisher, 1961), y la angiotensina II (Finger y cols., 1981; Thomas y cols., 1991). La naturaleza de la hiporreactividad vascular no está todavía aclarada en la actualidad. Existen evidencias por las que un antagonismo funcional, obtenido a través de sustancias vasodilatadoras circulantes y/o un defecto en el aparato contráctil de la fibra muscular lisa vascular, podría estar implicado en la hiporreactividad en la HTP.

Algunos estudios consideran la implicación de un mecanismo receptor-dependiente cuya mediación explicaría las alteraciones observadas en la reactividad de estos vasos (Villamediana y cols., 1988). En este sentido, es probable, que la elevación de la concentración plasmática de NA, que suele documentarse en pacientes con cirrosis descompensada por incremento de la actividad simpática (Bichet y cols., 1982; Arroyo y cols., 1983; Tage-Jensen y cols., 1988), pueda intervenir sobre el número y/o afinidad de los receptores, resultando de ésta una atenuación de la respuesta contráctil de los vasos a la NA. Sin embargo, y en contra de los resultados aludidos, Liao y cols. (1994) proporcionan evidencias que sugieren la actuación de un mecanismo post-receptor en la hiporreactividad

Discusión

vascular a la NA. También en este sentido, se dirigen los trabajos realizados en ratas cirróticas por Murray y Paller (1985), en los que se demuestra una disminución de la respuesta presora a la ANG-II.

Recientemente, se ha estudiado el supuesto papel del endotelio en la regulación del tono vascular (Furchgott., 1983), habiéndose revelado que el ON (Vallance y Moncada, 1991; Pizcueta y cols., 1992; Lee y cols., 1993) y la endotelina (Yu y col., 1992), podrían ser responsables de la hiporreactividad vascular a los vasopresores endógenos en la HTP. El empleo del inhibidor de la *ON sintasa*, L-NAME, ha confirmado esta hipótesis (Claria y cols., 1992; Lee y cols., 1992; Pizcueta y cols., 1992). Para Liao y col. (1992), la "sobreproducción" de ON actuaría antagonizando funcionalmente la respuesta presora de los vasoconstrictores en la HTP. A su vez, esta hiperproducción de ON podría explicar los elevados niveles de AMP_c y GMP_c que hallamos en los vasos de ratas con LVP, y que conduciría a un supuesto defecto en los mecanismos post-receptor que controlan el tono vascular.

Otro autores, como Benoit y cols. (1984) y Pizcueta y cols. (1990), demuestran en ratas con HTP, niveles plasmáticos elevados de glucagón capaz de incrementar el flujo sanguíneo intestinal a través de sus propiedades vasorelajantes.

En resumen, vemos en la actualidad, dos hipótesis que intentan explicar la atenuación de la respuesta vascular a los vasoconstrictores endógenos en la HTP. Por un lado, se postula un mecanismo directo que induciría un defecto en la fibra muscular lisa de estos vasos. Y

por otro, una depresión indirecta de la respuesta vascular constrictora mediada por sustancias vasodilatadoras circulantes. Desconocemos si estos mecanismos actuarían de forma independiente, o si por el contrario, existe entre ellos una relación directa que los implica. Nuestra investigación realizada *in vitro*, intenta esclarecer la respuesta "per se" -en ausencia de factores circulantes- de los vasos de animales con HTP, haciendo hincapié en la reactividad a nivel del sistema venoso portal, territorio vascular en el que acontecen los cambios morfológicos más pronunciados y el que, adicionalmente, se ve implicado de modo más directo en las complicaciones más severas asociadas al síndrome como son las hemorragias por rotura de varices gastro-esofágicas (Goff, 1993).

I. Protocolo A: vena mesentérica.

Nuestros resultados muestran que la hipertensión portal producida por la ligadura parcial de la vena porta de rata, induce profundas variaciones en la reactividad de la fibra muscular lisa circular de la vena mesentérica a distintos agonistas vasoconstrictores. Observamos también, que la naturaleza de estos cambios no es homogénea y que varían según el agonista empleado.

Hemos tratado inicialmente de caracterizar la reactividad de la vena mesentérica procedente de animales control para a continuación, evaluar los posibles cambios inducidos por la HTP. De hecho, nuestras experiencias demuestran que los cambios en la reactividad de la vena mesentérica se relacionan con la procedencia anatómica de la muestra; cambios que ya están presentes en ausencia de HTP. De este modo, hemos podido comprobar como los segmentos vasculares de localización proximal (es decir, los más cercanos al hígado),

Discusión

procedentes de animales control respondieron más que los anillos distales (alejados del hígado) a la acción vasoconstrictora del cloruro potásico, agente que como sabemos actúa de forma inespecífica a través de la despolarización de la membrana celular. Estos datos sugieren, como era de prever, que la capacidad contráctil de los anillos proximales es mayor en función de su masa muscular, aspecto éste parcialmente corroborado por las dimensiones (diámetro y grosor) de los anillos.

Posteriormente, evaluamos la reactividad de la vena mesentérica a agentes vasoconstrictores específicos como la NA, AVP, 5-HT, ANG-II y finalmente, la END-1. La NA ejerció un mayor efecto en los anillos proximales. La AVP y la 5-HT tuvieron un comportamiento diferente en tanto en cuanto, indujeron una mayor respuesta contráctil en los anillos distales. Por su parte, la ANG-II y la END-1 generaron una respuesta en vena mesentérica similar, tanto en anillos proximales como distales, con un comportamiento homogéneo a lo largo de la vena.

Excepto para la ANG-II y la END-1, estos resultados podrían indicar la existencia de una distribución anatómica y diferenciada de receptores a lo largo de la vena mesentérica ya en condiciones control. De este modo, queda patente en nuestro estudio la necesidad de referir la respuesta contráctil de la vena mesentérica a un determinado agonista en función del origen anatómico de la muestra, lo que podrá evitar en un futuro resultados contradictorios.

Discusión

La LVP causó cambios importantes en la reactividad de la vena mesentérica, tanto a un agente inespecífico como el cloruro potásico, como a la mayoría de vasopresores. La respuesta contráctil inducida por el cloruro potásico, fue similar en todos los anillos vasculares, independientemente de su localización anatómica, a diferencia de lo observado en las muestras control en las que la mayor respuesta al CIK la obteníamos en los anillos proximales. Esta variación de la reactividad vascular podría implicar que la HTP genera un incremento en la masa muscular de la fibra lisa en los segmentos distales de la vena mesentérica, un concepto reforzado por nuestros hallazgos en los que observamos un aumento del diámetro y del grosor de la pared de la vena, particularmente en los segmentos distales. Una asociación similar entre la hipertrófia de la pared vascular y el aumento de la capacidad contráctil como respuesta al cloruro potásico queda ya patente en los trabajos realizados por Thomas y cols. (1991) en conejos a los que se le indujo una HTP. Los cambios que observamos en la reactividad contráctil de la vena mesentérica, generados por la LVP fueron:

- a) un aumento de la respuesta contráctil de los anillos vasculares distales a la AVP y 5-HT. Y en menor proporción, de los proximales.
- b) una significativa atenuación de la reactividad vascular en anillos proximales a la NA y END-1.
- c) ausencia de cambios tanto a nivel de los anillos proximales como distales para la ANG-II.

Discusión

Las respuestas a los agonistas fueron referidas a la contracción obtenida con el cloruro potásico (60 mM), sin haber encontrado diferencias significativas entre los anillos proximales procedentes de animales con LVP y control, por lo que las alteraciones de la reactividad vascular en la HTP resultan específicas para cada agonista.

Por otro lado, es importante reseñar que los cambios en la reactividad vascular en ratas con LVP fueron específicos del territorio mesentérico, ya que la respuesta a estos mismos agonistas no se vió modificada en la vena iliaca de ratas hipertensas.

Paralelamente a los estudios realizados sobre reactividad vascular, hemos tratado de comprobar tanto farmacológica como morfológicamente la integridad funcional del endotelio de los vasos examinados al considerar que buena parte del ON liberado localmente procede del mismo, y por tanto, participa de un modo importante en la regulación del tono vascular. No obstante, los resultados obtenidos mediante técnicas farmacológicas e histológicas muestran una pérdida funcional del endotelio en la vena mesentérica. Este hecho, podemos atribuirlo a las dificultades en la manipulación de las venas mesentéricas de rata con un diámetro menor de 400 μm , así como la escasa consistencia de sus paredes. De cualquier modo, todas las muestras tanto las procedentes de animales control como con LVP estuvieron libres de endotelio sin que esta ausencia modificara las conclusiones fundamentales de nuestra investigación.

De igual modo, es interesante señalar aquí, las observaciones apuntadas por Ts'ao y cols. (1970) que permiten distinguir 2 tipos diferenciados de fibras musculares en la vena

Discusión

mesentérica de rata: una externa de disposición longitudinal, y la otra interna circular. Esta apreciación resulta importante dado que en función del tipo de fibra considerada diferentes autores obtienen respuestas variables. Otro de los aspectos a considerar, es la actividad espontánea mostrada con tiras longitudinales de vena mesentérica (Mc Connell y Roddie, 1970), y que nosotros pudimos constatar en los estudios preliminares.

Así pues, las alteraciones referidas en el presente estudio podrían no ser específicas de la fibra muscular lisa circular y, aunque la distinción ya ha sido hecha, estudios previos con fibra longitudinal de vena mesentérica procedente de ratas HTP han mostrado una respuesta disminuida a los vasoconstrictores adrenérgicos y una hiperractividad a la AVP y 5-HT (Cummings y cols., 1986). Igualmente, algunos trabajos realizados con fibra muscular lisa circular de vena porta han demostrado una respuesta contráctil disminuida a la NA (Lin y cols., 1994). Mathison, por su parte, comprobó que la fibra muscular circular de vena mesentérica en ratas HTP mostraba una menor sensibilidad (aumento de la ED₅₀) a la Ach, 5-HT y ANG-II que las fibras longitudinales de ratas en similar situación (Mathison, 1983).

Nuestro estudio es el primero en demostrar que la HTP, *in vitro*, induce una hiporreactividad de la vena mesentérica a la END-1 y una ausencia de cambios en la respuesta contráctil a la ANG-II. Contrariamente a los cambios inducidos por la LVP sobre la respuesta a la mayoría de agonistas, la cual afectó sólo a la respuesta máxima, la hiporreactividad a la END-1 estuvo acompañada por la desviación hacia la derecha de la CCR, evidenciado por una disminución significativa del valor de pD₂, expresando una menor afinidad del agonista en cuestión por su receptor, y por tanto, una atenuación de su potencia.

Discusión

En líneas generales, los resultados hallados en vena mesentérica procedente de animales con LVP exhibieron un incremento, una atenuación o una respuesta normal a diferentes agonistas, sugiriendo firmemente que el/los mecanismo/s implicado/s en la reactividad alterada de la vena mesentérica es específica para cada agonista vasoconstrictor y no un factor común para todos ellos. La hipótesis más reciente que ha sido propuesta para explicar la sensibilidad vascular disminuida en el lecho arterial mesentérico en animales hipertensos y en anillos aórticos de ratas cirróticas, atribuye estos hallazgos a una hiperproducción de factores vasodilatadores tales como el óxido nítrico (Cornel y cols., 1992; Pizcueta y cols., 1992; Claria y cols., 1994; Karatapanis y cols., 1994), prostaciclina (Sitzmann y cols., 1989) y glucagón (Benoit y cols., 1986; Pizcueta y cols., 1990). Investigamos específicamente la hiporreactividad observada a la NA y a la END-1 y su hipotética relación con un incremento en la liberación o síntesis de ON. Aunque la incubación de los anillos de vena mesentérica con el inhibidor del ON (L-NAME) aumentó la respuesta contráctil a ambos agonistas, demostrando *in vitro* la liberación del ON, la hiporreactividad observada en muestras de ratas con LVP no fue corregido por el L-NAME.

Sieber y Groszmann (1992), en un estudio realizado con un sistema de perfusión *in vitro* en arteria mesentérica superior de ratas con HTP, obtiene una atenuación marcada de la respuesta a la NA, en cuyo mecanismo de producción se haya involucrada la producción, y posterior liberación, de ON por parte de células endoteliales. Por otro lado, los trabajos *in vivo* realizados por Hartleb y cols. (1994), en ratas cirróticas demuestran la implicación del ON en la atenuación de la respuesta presora a la END-1 cuando se emplea a dosis elevadas (3,6 y 10 $\mu\text{g}/\text{Kg}$) y no a dosis inferiores. Todos estos hallazgos enfatizan

Discusión

observaciones previas realizadas por los mismos autores en las que la hiporreactividad a estos vasopresores parece ser ocasionada por mecanismos independientes de receptor.

Por tanto, considerando los trabajos referidos, y sin poder excluir el diferente comportamiento en otros territorios vasculares ni tampoco el comportamiento *in vivo* o en sistemas de perfusión *in vitro*, nuestros resultados sugieren que la HTP, inducida por la LVP de la vena porta de ratas, no causa un incremento en la producción de ON en la vena mesentérica aislada por la que podamos justificar la hiporrespuesta a dichos agonistas, si bien queda perfectamente establecido la liberación de dicho mediador.

Por su parte, la implicación de la 5-HT en la patogénesis de la HTP ha sido aludida en numerosos trabajos. Sabemos que es un poderoso venoconstrictor capaz de incrementar la resistencia portal en perros sanos (Richardson y Withrington, 1977). Otros autores, han demostrado *in vitro* que la vena mesentérica aislada procedente de ratas con HTP es hipersensible a este agonista; además, esta respuesta está competitivamente antagonizada por la ketanserina (antagonista de los receptores 5-HT₂) (Cummings y cols., 1986). Se ha demostrado que la infusión de este antagonista disminuye de manera marcada la presión portal sin causar cambios sistémicos hemodinámicos. Este efecto es debido probablemente a la disminución de la resistencia porto-colateral (Neuens y cols., 1991). Las experiencias realizadas por Cummings y cols. (1986) con vena mesentérica superior en ratas hipertensas, exhiben un incremento de la respuesta máxima a la 5-HT y AVP tres veces superior respecto a los controles; sin embargo, el incremento de la contracción causada con CIK no es comparativamente similar. El propio autor destaca en su trabajo la discrepancia entre la

Discusión

hipertrofia de la fibra muscular lisa de la pared de la vena mesentérica y la respuesta obtenida con los agonistas citados. Nuestros resultados corroboran estos mismos datos.

Considerados estos aspectos, pretendimos relacionar la hiperrespuesta de la vena mesentérica a la 5-HT y AVP con la mediación de factores adrenérgicos y/o colinérgicos y/o prostaglandinas. Como pudimos comprobar, la hiperreactividad de la vena a los agonistas citados, no está relacionada con dichos factores, puesto que los cambios inducidos por la HTP no fueron modificados en presencia en el baño de órganos de atropina, fentolamina, propranolol e indometacina, sustancias como sabemos capaces de bloquear la respuesta a estímulos colinérgicos, alfa-adrenérgicos, beta-adrenérgicos y prostaglandinas, respectivamente. No obstante, debemos señalar que la respuesta a la 5-HT en presencia de antagonistas, fue significativamente atenuada ($p < 0.05$), tanto en las muestras HTP como control, respecto a sus homólogos del grupo sin antagonistas. Esta diferencia la atribuimos a la presencia en el baño de órganos de un bloqueante adrenérgico (α_1 y α_2) como la fentolamina, sustancia que actúa como antagonista de receptores serotoninérgicos (García-Sevilla y Barturen, 1992).

La ausencia de cambios en la reactividad de la vena iliaca de animales con LVP es otra de las razones que contradicen la hipótesis de la participación de factores sistémicos vasodilatadores en la reactividad alterada de la vena mesentérica a los vasoconstrictores observada en la HTP. Las experiencias realizadas sobre la reactividad de la vena iliaca en los agonistas que respondieron (NA, ANG-II y END-1), muestran como la HTP no produce modificaciones en la respuesta contráctil, lo que apoya la especificidad de los cambios

Discusión

observados en la reactividad vascular a nivel esplácnico, y que son inducidos por la LVP.

Una valoración general de los cambios observados en la vena mesentérica de animales con LVP sugiere que esta anómala respuesta afecta especialmente la acción de aquellos vasoconstrictores cuyos efectos muestran una gran influencia del origen anatómico de los vasos, como es el caso de la NA, AVP y la 5-HT. El resultado es una disminución en la respuesta contráctil obtenida por aquellos agonistas con una acción marcada sobre los anillos vasculares proximales (por ejemplo, la NA), y un aumento de dicha respuesta en aquellos agonistas con una acción preferentemente distal (AVP y 5-HT). Estos cambios pueden estar reflejando el papel de aquellos mediadores implicados en la adaptación de la pared de la vena mesentérica a la nueva situación generada por la HTP, aspecto éste que requerirá futuras investigaciones. Otro de los aspectos interesantes, que se brinda a esclarecer en nuevas experiencias, es valorar si este modelo de respuesta vascular se reproduce o no, en áreas más distales a la vena mesentérica estudiada, territorio en el que acontecen la mayoría de las complicaciones hemorrágicas asociadas a la HTP.

Además, la existencia de efectos contráctiles diferenciados sugiere firmemente que las respuestas alteradas de la vena mesentérica procedente de ratas con LVP resulta de defectos específicos a nivel de receptor o post-receptor, activados por alteraciones morfológicas de estos vasos y que estarían inducidos por la propia HTP. En este sentido, investigaciones recientes, sugieren que la alteración del mecanismo vasopresor demostrada en la hipertensión crónica portal, se originaría por un defecto intracelular relacionado con proteínas que intervienen en el proceso de la contracción de la fibra muscular lisa, como son

las *proteínas reguladores de la guanina nucleótido (G proteínas)* y *protein Kinasa C activada*, responsables en último término de la movilización del calcio extra e intracelular (Wu y Benoit, 1994). Estas observaciones pueden llegar a ser relevantes cuando consideramos el tratamiento farmacológico del síndrome que abordamos, el cual se basa en el empleo de sustancias vasoactivas (Matloff, 1992; Bosch y cols., 1993). La reactividad aumentada o disminuida observada en el sistema venoso portal podría influir sobre la respuesta de la presión portal a la terapia farmacológica con este tipo de sustancias.

II. Protocolo B: arteria mesentérica y gástrica.

Por otra parte, es bien sabido, que la HTP induce hiporreactividad a la mayoría de vasoconstrictores endógenos en arterias del territorio esplácnico. Sin embargo, resultan contradictorios los estudios realizados con arteria aislada que soportan esta hipótesis. Prueba de ello, es la existencia de trabajos en los que se describe un aumento (Chao y cols., 1992; Cawley y cols., 1995), disminución (Cornel y cols., 1992) o una respuesta contráctil normal al CIK en arterias aisladas procedentes de ratas hipertensas. Nuestro estudio demuestra la ausencia de alteraciones significativas en la respuesta al CIK en territorio arterial esplácnico (gástrica y mesentérica) y sistémico (aorta torácica). Por ello, podemos sugerir que la HTP no afecta la fibra muscular lisa de los vasos arteriales, puesto que el CIK actúa como sabemos, produciendo una despolarización inespecífica de membrana. Aunque la hipertrofia y el engrosamiento de la pared ha sido demostrado en la vena mesentérica de animales con LVP (Thomas y cols., 1991), otros autores como Cawley y cols. (1995) no han encontrado alteración alguna en el grosor de la arteria mesentérica.

Discusión

Nuestros estudios en arterias con LVP, demuestran una ausencia de alteración en el funcionalismo del endotelio vascular, tanto en el territorio esplácnico como sistémico, como así lo asegura la ausencia de cambios significativos en la relajación inducida por la Ach. No obstante, no podemos descartar el posible papel que el endotelio *in vivo* ejerce modulando los cambios vasculares inducidos en la HTP. Nuestros datos apoyan los estudios de Cawley y cols., (1995), y a su vez, contrastan con los de Kataparnis y cols., (1994) en los que se describe como la hipertensión portal altera la relajación dependiente de endotelio en la aorta aislada de rata. Sin embargo, un déficit en el funcionalismo del endotelio es poco probable una vez demostrado el indiscutible papel del endotelio en la regulación del tono vascular mediante la liberación de ON, al cual se le responsabiliza de la vasodilatación generalizada en los estados de HTP (Sieber y Groszmann, 1992; Claria y cols., 1994; Karatapanis y cols., 1994).

El presente estudio es el primero en evaluar la reactividad de la arteria gástrica, territorio relevante si consideramos su implicación, directa o indirecta, en una de las complicaciones más frecuentes de la HTP como es el sangrado de las varices gastroesofágicas. De igual modo, es el primero en investigar la respuesta a la AVP, END-1 y a la ANG-II en arterias gástrica y mesentérica procedentes de ratas con hipertensión portal inducida. Si bien, se ha observado que 10 o 21 días de duración de la HTP podrían modificar la reactividad de la aorta a la NA induciendo un aumento (Bomzon y cols., 1987) o una atenuación (Bomzon y cols., 1991) del efecto contráctil, respectivamente, este aspecto no puede explicar los diferentes resultados obtenidos por Cawley y cols. (1995), y Lialo y cols. (1994). Además, nuestros datos evidencian firmemente que la LVP (14 días de duración) no

Discusión

induce cambios en la reactividad *in vitro* de la arteria gástrica, mesentérica y aorta a la NA, AVP y END-1.

Las diferencias que observamos dependieron del territorio arterial y del agonista estudiado, y no así de la existencia o ausencia de HTP. De este modo, pudimos comprobar que la respuesta contráctil -ya en condiciones basales o control- de la arteria gástrica a la AVP fue tres veces superior a la obtenida con el mismo agonista en arteria mesentérica. Por su parte, la NA respondió en menor cuantía en arteria gástrica que en mesentérica. La ANG-II duplicó la respuesta contráctil en arteria gástrica frente a la mesentérica. Finalmente, la END-1 tuvo un comportamiento similar en ambos tipos de arterias. En cualquier caso, la LVP no indujo cambio alguno de los resultados referidos.

Existe una clara evidencia por la que la hiperproducción de ON podría contribuir al estado hiperdinámico en la cirrosis (Vallance y Moncada, 1991; Pizcueta y cols., 1992; Lee y cols., 1993), aspecto éste que ha sido relacionado *in vivo* con la hiporrespuesta a la NA (Kiel y cols., 1985; Pizcueta y cols., 1990), AVP (Murray y Paller, 1986) y END-1 (Yu y cols., 1992). Otros autores, han relacionado la disminución de la respuesta vascular a determinados vasoconstrictores endógenos como la NA (Pizcueta y cols., 1990) y la AVP (Mesh y cols., 1991) con el aumento de los niveles plasmático de glucagón en la HTP, y que participaría de un modo fundamental en la mencionada hiporrespuesta vascular, aspectos todos ellos que ya citamos cuando abordamos el estudio en el sistema venoso. Aunque nuestros hallazgos no mostraron un hiporrespuesta de las arterias aisladas en condiciones basales, investigamos específicamente el efecto del inhibidor del óxido nítrico (L-NAME)

Discusión

sobre la reactividad de la arteria mesentérica, gástrica y aorta. El L-NAME, efectivamente, aumentó la respuesta contráctil a la NA, demostrando *in vitro* la liberación de ON en los tejidos; sin embargo, el L-NAME no demostró ninguna diferencia significativa en la arteria mesentérica y aorta de ratas con LVP respecto a las controles. Además, no tenemos evidencia de un incremento de la función *in vitro* del endotelio, al menos en términos de relajación con Ach, aspecto éste que confirma los resultados aportados por Cawley y cols. (1995), y que contradicen a su vez los datos sugeridos por Sieber y Groszmann (1992). Además, apoyan estos resultados, investigaciones paralelas realizadas en nuestro laboratorio y que han sido ya comentadas anteriormente, en las que se demuestra que el ON no está implicado en la respuesta atenuada de la vena mesentérica a la NA en ratas con LVP. Así, la sobreproducción de ON *in vivo* podría ser consecuencia del propio estímulo generado por el flujo sanguíneo o por factores vasodilatadores circulantes, ausentes obviamente en el tejido aislado. Estos vasodilatadores actuarían como antagonistas fisiológicos de la respuesta vasoconstrictora observada en arteria mesentérica *in vivo* originando un cambio adaptativo que modificaría la reactividad a los vasoconstrictores (Cawley y cols., 1995).

Un hallazgo relevante de nuestro estudio fue mostrar una hiperrespuesta de las arterias mesentérica y gástrica a la ANG-II. Dicho hallazgo parece ser específico para la ANG-II puesto que no fue observada con otros agonistas ni con agentes cuyo efecto contráctil se efectúa a través de un mecanismo inespecífico sobre la fibra muscular lisa, como es el caso del CIK. Por lo demás, es importante destacar que dicha hiperreactividad es específica del territorio esplácnico, ya que la respuesta de la aorta a la ANG-II no se vió afectada por la HTP. Estos resultados en aorta confirmaron observaciones previas realizadas por Leehey y

Discusión

cols. (1993). Como sabemos, la ANG-II juega un importante papel en la regulación de la presión arterial y en el balance de fluidos. En animales sanos, la respuesta hemodinámica al shock hemorrágico está mediada, en su mayor parte, por la ANG-II, una potente hormona vasoconstrictora (Bulkeley y cols., 1986). Varios modelos experimentales realizados en ratas con hipertensión espontánea (RHE), han demostrado un aumento en la reactividad a este agonista en el tejido vascular (Lais y cols., 1974; Colins y cols., 1975; Berecek y cols., 1980). Uno de los mecanismos por los que la sensibilidad celular a la ANG-II puede verse incrementada es por un aumento del número de receptores específicos en la superficie de las células de la musculatura lisa vascular, aspecto éste, apuntado ya por Schiffrin y cols. en 1984.

Los datos que disponemos en la actualidad concernientes a los niveles basales de prostaglandinas en la génesis de hipertensión son conflictivos disponiendo de estudios en los que se aseguran resultados netamente opuestos: una liberación de prostaglandinas aumentada (Pace-Asciak y cols., 1978), disminuida (Ishimitsu y cols., 1989) o similar (Dunn, 1976) respecto a ratas control. Por ello, quizá sea importante destacar aquí el estudio realizado por Uehara y cols., (1991) en el que se demuestra una síntesis biológica de PGI_2 aumentada exclusivamente en ratas en una fase de hipertensión bien establecida, y no en fases iniciales en las que esta síntesis estaría reducida.

Nuestros resultados, en los que observamos una hiperrespuesta en arteria gástrica y mesentérica a la ANG-II, contradicen los datos aportados por Wu y cols. (1991) en ratas con hipertensión portal, y en las que puede comprobar una atenuación de la respuesta de la arteria

Discusión

mesentérica que relaciona con la presencia circulante de PGI₂. La incubación de nuestras muestras con indometacina bloqueó la respuesta a la ANG-II de modo significativo ($p < 0.001$), en anillos procedentes de animales HTP, sugiriendo una liberación *in vitro* de prostaglandinas vasoconstrictoras en lugar de vasodilatadoras (PGE₂, PGI₂). Más relevante es el hecho de que la indometacina corrigiera la hiperrespuesta a la ANG-II en la arteria mesentérica aislada de ratas con LVP. No obstante, futuras investigaciones deben ser dirigidas para resolver este hallazgo.

Estos datos sugieren que, en contraste con los estudios *in vivo*, no hay hiporrespuesta a los vasoconstrictores en arterias esplánicas aisladas ni tampoco en la aorta de ratas con LVP. Además, hallamos una hiperrespuesta a la ANG-II en las arterias mesentérica y gástrica, aspecto de notable interés para entender mejor la fisiopatología de los cambios que acompañan la HTP y poder atisbar en un futuro próximo nuevas perspectivas en el tratamiento clínico de las varices gastro-esofágicas sangrantes.

CONCLUSIONES

Conclusiones

1.- En condiciones fisiológicas, la vena mesentérica presenta una reactividad diferenciada en función, tanto del segmento vascular evaluado como del vasoconstrictor endógeno considerado.

2.- Las diferencias existentes en la capacidad contráctil al CIK entre anillos proximales y distales procedentes de animales control, se atenúan en condiciones de hipertensión portal, posiblemente consecuencia de alteraciones morfológicas en la pared de estos vasos.

3.- La hipertensión portal induce cambios en la reactividad vascular específicos para cada vasoconstrictor estudiado y exclusivos del territorio esplácnico, determinándose de este modo, una hiporrespuesta a la NA y END-1, y una hiperrespuesta a la 5-HT y AVP, probablemente resultado de variaciones individuales a nivel de receptor o post-receptor.

4.- Hemos demostrado la liberación *in vitro* de ON en la vena mesentérica, sin embargo, este factor vasodilatador no explica la hiporreactividad a la NA y END-1 observada en la hipertensión portal.

5.- En el territorio arterial, no hemos encontrado hiporreactividad *in vitro* a los vasoconstrictores endógenos, aspecto éste genéricamente relacionado con una liberación incrementada de ON por el endotelio. No obstante, no podemos descartar el posible papel que el endotelio *in vivo* ejerce modulando los cambios vasculares inducidos en la hipertensión portal.

Conclusiones

6.- En la hipertensión portal existe una hiperrespuesta *in vitro* a la ANG-II en arteria gástrica y mesentérica, probablemente en relación con alteraciones a nivel de receptor o post-receptor implicándose de modo evidente las prostaglandinas.

BIBLIOGRAFIA

Bibliografía

ALBILLOS A., BAÑARES R., BARRIOS C. "Oral administration of clonidine in patients with alcoholic cirrhosis: hemodynamic and liver function effects". *Gastroenterology* 1992;102:248-54.

ALON U., BERANT M., MORDECHOVITZ D., HASHMONAI M., BETTER O. "Effect of isolated cholaemia on systemic hemodynamics and kidney function in conscious dogs". *Clin Sci* 1982;63:59-64.

ARCHER S.L., TOLINS J.P., y RAIJ L.: "Hypoxic pulmonary vasoconstriction is enhanced by inhibition of the synthesis of an endothelium derived relaxing factor". *Biochem Biophys Res Commun* 1989;164:1198.

BATHAL P.S., y GROSZMANN H.J.: "Reduction of the increased portal vascular resistance of the isolated perfused cirrhotic rat liver by vasodilators". *J Hepatol.* 1985;1:325.

BENOIT J.N., BARROWMAN J.A., HARPER S.L., KVIETYS P.R., y GRANGER D.N. "Role of humoral factors in the intestinal hyperaemia associated with chronic portal hypertension". *Am J Physiol.* 147 (*Gastrointest. Liver Physiol.* 10). 1984;G486-G493.

BENOIT J.N., ZIMMERMAN B., y PREMEN A.J. "Role of glucagon in splanchnic hyperaemia of chronic portal hypertension". *Am J Physiol.* 1986;251:G674-G677.

Bibliografía

BERECEK K.H., SCHWERTSCHLAG U., y GROOS F. "Alteration in renal vascular resistance and reactivity in spontaneous hypertension of rats". *Am. J. Physiol.*

1980;238:H287-H297.

BLEI A.T., GARCIA-TSAO G., y GROSZMANN R.J. "Hemodynamic evaluation of isosorbide dinitrate in alcoholic cirrhosis. Pharmacokinetic-hemodynamic interactions".

Gastroenterology. 1987;93:576-83.

BOMZON A., y BLENDIS L.M. "Vascular reactivity in experimental portal hypertension".

Am. J. Physiol. 252 (*Gastrointest. Liver Physiol.* 15) 1987:G158-G162.

BOMZON A., JACOB G., LEE S.S. y MEDDINGS J. "In vitro vascular responsiveness to norepinephrine in experimental portal hypertension". *Clin. N. Am.* 1991;14:63-71.

BOSCH J., ARROYO V., y BETRIU A. "Hepatic hemodynamics and the renin-angiotensin aldosterone system in cirrhosis". *Gastroenterology* 1980;78:92-99.

BOSCH J., GOMIS R., y KAVETZ D. "Role of spontaneous portal-systemic shunting in hyperinsulinism of cirrhosis". *Am J Physiol* 247 (*Gastrointest Liver Physiol* 10): 1984;G206.

BOSCH J., MASTAI R., y KRAVETZ D. "Effects of propranolol on azygous venous blood flow and hepatic and systemic hemodynamics in cirrhosis". *Hepatology* 1984;4:1200-5.

Bibliografía

- BOSCH J., BORDAS J.M., y MATAI R. "Effects of vasopressin on the intravariceal pressure in patients with cirrhosis: comparison with the effects on portal pressure". *Hepatology*. 1988;8:861-5.
- BOSCH J., NAVASA M., GARCIA-PAGAN J.C., DELACY A.M., y RODÉS J. "Portal hypertension. *Med Clin North Am*. 1989;73:931-953.
- BOSCH J., PIZCUETA P., FEU F., FERNANDEZ M., y GARCIA-PAGAN J.C. "Pathophysiology of portal hypertension". *Gastroenterology Clin North Am*. 1992;21:1-14.
- BOSCH J., GARCIA-PAGAN J.C., FEU F., LUCA A., FERNANDEZ M., PIZCUETA P., y RODÉS J. "New approaches in the pharmacologic treatment of portal hypertension". *J Hepatol*. 1993;17:S41-S45.
- BOSCH J., GARCIA-PAGAN J.C., FEU F., y RODÉS J. "Portal Hypertension". In: *The Liver: Biology and Pathobiology* editado por Arias I.M., Boyer J.L., Fausto N., Jakoby W.B., Schachter D.A., Shafritz A. New York: Raven Press Ltd. 1994 p.1343-1355.
- BRUIX J. "Fisiopatología de la hipertensión portal: Estudio hemodinámico en ratas con hipertensión portal por ligadura parcial de la vena porta y en ratas con cirrosis hepática". MD Thesis, University of Barcelona, 1990.

Bibliografía

BULKELEY G.B., OSHIMA A., y BAILEY R.W. "Pathophysiology of hepatic ischemia in cardiogenic shock" *Am. J. Surg.* 1986;151:87.

CASTRO A., JIMENEZ W., CLARIA J., ROS J., MARTINEZ JM., BOSCH M., ARROYO V., PIULATS J., RIVERA F., y RODÉS J. "Impaired vascular responsiveness to angiotensin II in experimental cirrhosis; role of nitric oxide". *Hepatology*, 1993;18:367-372.

CAWLEY T., GERAGHTY J., OSBORNE H., y DOCHERTY J.R. "Effects of portal hypertension on responsiveness of rat mesenteric artery and aorta". *Br J Pharmacol.* 1995;114:791-796.

CHAO T.W., YU P.C., KUO J.S., PANG P.K.T y YANG M.C.M. "Responsiveness to synthetic parathyroid hormone in the portal vein of hypertensive rats". *J Hepatol.* 1992;16:326-331.

CHATZIATONIOU C., y ARENDSHORST W.J. "Angiotensin and thromboxane in genetically hypertensive rats: Renal blood flow and receptor studies". *Am J Physiol.* 1991;261:F238-F247.

CHOJKIER M., y GROSZMANN R.J. "Measurement of portal-systemic shunting in the rat by using labelled microspheres". *Am J Physiol.* 240 (*Gastrointest Liver Physiol* 3):1981;G371.

Bibliografía

CLARIA J., JIMENEZ W., ROS J., RIGOL M., ANGELI P., ARROYO V., RIVERA F. y RODÉS J. "Increased nitric oxide-depend vasorelaxation in aortic ring of cirrhotic rats with ascites". *Hepatology*. 1994;20:1615-162.

COLLIS M.G., y ALPS B.J. "Vascular reactivity to noradrenaline, potassium and angiotensin II in the rat perfused mesenteric vascular preparation during the development of hypertensive". *Cardiovasc Res*. 1975;9:118-126.

CONN H.O., GRACE N.D., y BOSCH J. "Propranolol in the prevention of the first haemorrhage from esophagogastric varices: a multicenter, randomized clinical trial". *Hepatology* 1991;13:902-12.

CUMMINGS S.A., GROSZMANN R.J., y KAUMANN A.J. "Hypersensitivity of mesenteric veins to 5-hydroxytryptamine and ketanserin-induced reduction of portal pressure in portal hypertensive rats". *Br J Pharmacol*. 1986;89:501.

CUMMINGS S.A., KAUMANN A.J., y GROSZMANN R.J. "Comparison of the hemodynamic responses to ketanserin and prazosin in portal hypertensive rats". *Hepatology* 1988;8:1112.

DEBINSKI H, COLMAN J, y WOOD M. "The acute effects of inhibition of SNS activity on renal function in cirrhosis". *Hepatology*. 1989;10:588A.

Bibliografía

DUNN M.J. "Renal prostaglandins synthesis in the spontaneously hypertensive rats. *J Clin Invest.* 1976;58:862-870.

FEU F., BORDAS J.M., GARCIA-PAGAN J.C., BOSCH J., y RODÉS J. "Double-blind investigation of the effects of propranolol and placebo on the pressure of esophageal varices in patients with portal hypertension". *Hepatology.* 1991;13:917-22.

FURCHGOTT R.F. "Role of endothelium in responses of vascular smooth muscle". *Circ Res* 1983;53:557-573.

GARDINER S.M., COMPTON A.M., y BENNETT T. "Control of regional blood flow by endothelium-derived nitric oxide". *Hypertension.* 1986;15:486.

GARCIA-PAGAN J.C., FEU F., y NAVASA M. "Long-term haemodynamic effects of isosorbide-5-mononitrate in patients with cirrhosis and portal hypertension". *J Hepatol* 1990;11:189-95.

GARCIA-TSAO G., GRACE N.D., y GROSZMANN R.J. "Short-term effects of propranolol on portal venous pressure". *Hepatology.* 1986;6:101-6.

GARCIA-TSAO G., GROSZMANN R.J., FISHER R.L., CONN H.O., ATTERBURY C.E., y GLICKMAN M. "Portal pressure, presence of gastroesophageal varices and variceal bleeding". *Hepatology.* 1985;5:419-424.

Bibliografía

GARCIA-PAGAN J.C., NAVASA M., BOSCH J., BRU C., PIZCUETA P., y RODÉS J.

"Enhancement of portal pressure reduction by the association of isosorbide-5-mononitrate to propranolol administration in patients with cirrhosis". *Hepatology*. 1990;11:230-8.

GARCIA-PAGAN J.C., SALMERON J.M., y FEU F. "Spironolactone (Sp) decreases portal pressure in patients with compensated cirrhosis". *J Hepatol*. 1991;13 (Supl.2): S30 (Abstr).

GARCIA-SEVILLA J.A. y BARTUREN F. "Fármacos que modifican la actividad simpática". En: FLOREZ J. "Farmacología humana". Editorial Masson-Salvat. 1992.

229-243.

GENECIN P., POLIO J. y GROSZMANN. "Sodium restriction blunts expansion of plasma volume and ameliorates hyperdynamic circulation in portal hypertension". *Am J Physiol*. 259 (Gastrointest. Liver Physiol. 22): 1990;G498-G503.

GOFF J.S. "Gastroesophageal varices: Pathogenesis and therapy of acute bleeding". *Gastroenterol Clin North Amer*. 1993;22:779-799.

GROSZMANN R.J., y ATTERBURY C.E. "The pathophysiology of portal hypertension. A basis for classification". *Sem Liver Dis*. 1982;2:177-186.

Bibliografía

GROSZMANN R.J., BOSCH J., y GRACE N.D. "Hemodynamic events in a prospective randomized trial of propranolol versus placebo in the prevention of a first variceal haemorrhage". *Gastroenterology*. 1990;99:1401-7.

GUYTON A.C. "Hígado y sistema biliar". En: Tratado de Fisiología Humana. Interamericana. 6ª Edición. 1985 p 1027-1036.

HADENGUE A., MOREAU R., CERINI R., KOSHY A., LEE S.S., y LEBREC D. "Combination of ketanserin and verapamil or propranolol in patients with alcoholic cirrhosis: search for an additive effect". *Hepatology*. 1989;9:83-7.

HARTLEB M., MOREAU R., CAILMAIL S., GAUDIN C., y LEBREC D. "Vascular hyporesponsive to endothelin-1 in rats with cirrhosis". *Gastroenterology*. 1994;107:1085-1093.

HAYES P.C., WESTABY D., y WILLIAMS R. "Effect and mechanism of action of isosorbide-5-mononitrate". *Gut*. 1988;29:752-5.

IDÉO G., BELLATI G., FESCE E., y GRIMOLDI D. "Nadolol can prevent the first gastrointestinal bleeding in cirrhotics: a prospective, randomized study". *Hepatology*. 1988;8:6-9.

Bibliografía

ISHIMITSU T., UEHARA Y., ISHII M., IKEDA T., MATSUOKA H., y SUGIMOTO T.

"Alterations of the cardiovascular and renal prostaglandins and thromboxane systems in prehypertensive spontaneously hypertensive rats". *Jpn Circ J.* 1989;53:307-312.

JAIWAL N., JAIWAL R.K., TALLANT E.A., DIZ D.I., y FERRARIO C.M.

"Alterations in prostaglandins production in spontaneously hypertensive rat smooth muscle cells". *Hypertension.* 1993;21:900-905.

JENSEN L.S., JUHL C.O y MULVANY M.J. "Mechanical, morphological and pharmacological properties of esophageal varices and small mesenteric veins in portal hypertensive rabbits". *Acta Physiol Scand* 1987;130:649-656.

JOH T., GRANGER D.N. y BENOIT J.N. "Intestinal microvascular responsiveness to norepinephrine in chronic portal hypertension". *Am J Physiol.* 260 (*Heart Circ Physiol* 29):1991;H1135-H1143.

JOH T., GRANGER D.N., y BENOIT J.N. "Endogenous vasoconstrictor tone in intestine of normal and portal hypertensive rats". *Am J Physiol.* 264 (*Heart Circ Physiol.* 33): 1993;H171-H177.

KARATAPANIS S., MCCORMICK P.A., KADAD S., JASON K.T., ISLAM M., JEREMY J., HARRY D., MCINTYRE N., BURRUGHS A., y JACOBS M. "Alteration in

Bibliografía

vascular reactivity in isolated aortic rings from portal vein-constricted rats". *Hepatology*. 1994;20:1516-1521.

KAUMANN A.J., MORGAN J.S., y GROSZMANN R.J. "ICI 169,369 selectively blocks 5-hydroxytryptamina receptors and lowers portal pressure in portal hypertensive rats". *Gastroenterology*. 1988;95:1601-6.

KIEL J.W., PITTS V., BENOIT J.N., GRANGER D.N., y SHEPHERD A.P. "Reduced vascular sensitivity to norepinephrine in portal hypertensive rats". *Am J Physiol*. 248 (*Gastrointest. Liver Physiol*. 11):1985;G192-G195.

KITANO S., KOYANAGI N., SUGIMACHI K., y INOKUCHI K. "Mucosal blood flow and modified vascular responses to norepinephrine in the stomach of rats with liver cirrhosis". *Surg Res*. 1982;14:221-230.

KNOWLES R.G., MERRETT M., y SALTER. "Differential induction of brain, Lung and liver nitric oxide synthase by endotoxin in the rat". *Biochem J*. 1990;270:833.

KRAVETZ D., ARDERIU M., y BOSCH J. "Hyperglucagonemia and hyperkinetic circulation after portocaval shunt in the rat". *Am J Physiol* 252 (*Gastrointest Liver Physiol* 15): 1987;G257.

Bibliografía

KRAVETZ D., BOSCH J., y ARDERIU M.T. "Effects of somatostatin on splanchnic hemodynamics and plasma glucagon in portal hypertensive rats". *Am J Physiol* 254 (*Gastrointest Liver Physiol* 17): 1988;G322.

KRAVETZ D., BOSCH J., y ARDERIU M.T. "Hemodynamic effects of blood volume restitution following a haemorrhage in rats with portal hypertension due to cirrhosis of the liver: Influence of the extent of portal systemic shunting". *Hepatology* 1989;9:808.

LAIS L.T., SHAFFER R.A., y BRODY M.J. "Neurogenic and humoral factors controlling vascular resistance in the spontaneously hypertensive rats. *Circ. Res.* 1974;35:764-774.

LEBREC D., POYNARD T., y CAPRON J.P. "Nadolol for prophylaxis of gastrointestinal bleeding in patients with cirrhosis: a randomized trial". *J Hepatol.* 1988;7: 118-25.

LEE F.Y., COLOMBATO L.A., ALBILLOS A., y GROSZMANN R.J. "N^w-Nitro-L-arginine administration corrects peripheral vasodilation and systemic capillary hypotension and ameliorates plasma volume expansion and sodium retention in portal hypertensive rats". *Hepatology.* 1993;7:84-90.

LEE S.H y FISHER B. "Portacaval shunt in the rat". *Surgery* 1961;50:668-672.

Bibliografia

LIAO J.F., YU P.C., LIN H.C., LEE F.Y., KUO J.S., y YANG M.C.M. "Study on the vascular reactivity and alfa-1 adrenoceptors of portal hypertensive rats". *Br J Pharmacol.* 1994;111:439-444.

MASTAI R., GIROUX L., y SEMRET M. "Ritanserin decreases portal pressure in conscious and unrestrained cirrhotic rats". *Gastroenterology* 1990;98:141.

MATLOFF D.S. "Treatment of acute variceal bleeding". *Gastroenterology Clinics of North America.* 1992;21:103-118.

MATHISON R. "Action of neurotransmitters and peptides on longitudinal and circular muscle of the rat portal vein". *J. Pharm. Pharmacol.*, 1983;35:34-37.

Mc CONELL J.G. y RODDIE I.C. "A comparison of the behaviour of longitudinal and circular smooth muscle in bovine mesenteric vein". *J. Physiol.* 1970;207:82p-83p.

MESH C.L., JOH T., KORTHUIS R.J., GRANGER D.N., y BENOIT J.N. "Intestinal vascular sensitivity to vasopressin in portal hypertensive rats". *Gastroenterology* 1991;100:916-921.

MOLS P., HALLEMANS R., MELOT C., LEJEUNE P., y NAÏJE R. "Systemic and regional hemodynamic effects of isosorbide dinitrate in patients with liver cirrhosis and portal hypertension". *J Hepatol* 1989;8:316-24.

Bibliografía

MURRAY B.M. AND PALLER M.S. "Decreased pressor reactivity to angiotensin II in cirrhotic rats: evidence for a post-receptor defect in angiotensin action". *Circ Res* 1985;57:424-431.

MURRAY B.M., PALLER M.S. "Pressor resistance to vasopressin in sodium depletion, potassium depletion, and cirrhosis". *Am J Physiol.* 1986;251:R525-R530.

NATHAN C.F., STUEHR D.J. "Does endothelium-driven nitric oxide have a role in cytokine-induced hypotension?". *J Natl Cancer Inst* 1990;82:726.

NAVASA M., BOSCH J., CHESTA J., y RODES J. "Isosorbide 5-Mononitrate reduces hepatic vascular resistance and portal pressure in patients with cirrhosis. Effects on splanchnic and systemic hemodynamics and liver function". *Gastroenterology* 1989;96:1110-1118.

NEVENS F., PIZCUETA M.P., FERNÁNDEZ M., BOSCH J. y RODÉS J. "Effects of ritanserin, a selective and specific S₂-serotonergic antagonist, on portal pressure and splanchnic hemodynamics in portal hypertensive rats". *Hepatology* 1991;14:1174-1178.

OKUMURA H., ARAMAKI T., y KATSUTA Y. "Reduction in hepatic venous pressure gradient as a consequence of volume contraction due to chronic administration of spironolactone in patients with cirrhosis and no ascites". *Am J Gastroenterol* 1991;86:46-52.

Bibliografía

PACE-ASCIAC C.R., CARRARA M.C., RANGARAJ G., NICOLAOU K.C. "Enhanced formation of PGI₂, a potent hypotensive substance by aortic rings and homogenates of the spontaneously hypertensive rats. *Prostaglandins* 1978;15:1005-1012.

PAGLIARO L., BURROUGHS A.K., y SORENSEN T. "Therapeutic controversies and randomised controlled trials (RCTs): prevention of bleeding and rebleeding in cirrhosis". *Gastroenterol Int* 1989;2:71-84.

PALMER R.M.J., ASHTON D.S., y MONCADA S. "Vascular endothelial cells synthesize nitric oxide from L-arginine". *Nature* 1988;333:664.

PALMER R.M.J., REES D.D., y ASHTON D.S. "L-arginine is the physiologic precursor for the formation of nitric oxide in endothelium-dependent relaxation". *Biochem Biophys Res Commun* 1989;158:348.

PIZCUETA M.P., CASAMITJANA R., BOSCH J., y RODÉS J. "Decreased systemic vascular sensitivity to norepinephrine in portal hypertensive rats. Role of hyperglucagonism". *Am J Physiol* 1990;258:G191-G195.

PIZCUETA M.P., PIQUÉ J.M., BOSCH J., WHITTLE B.J.R., MONCADA S., y RODÉS J. "Hemodynamic effects of endogenous nitric oxide ignition in cirrhotic rats". *Hepatology* 1991;14:301.

Bibliografía

PIZCUETA P., PIQUE J.M., BOSCH J., WHITTLE B.J.R., y MONCADA S. "Effects of endogenous nitric oxide inhibition on the hemodynamic changes of portal hypertensive rats (abstr)". *Gastroenterology* 1991;100:785A.

PIZCUETA M.P, PIQUÉ J.M., BOSCH J., WHITTLE B.J.R, y MONCADA S. "Effects of inhibiting nitric oxide biosynthesis on the systemic and splanchnic circulation of rats with portal hypertension". *Br J Pharmacol* 1992;105:184-190.

PIQUÉ J.M., WHITTLE B.J.R., y ESPLUGUES J.V. "The vasodilator role of endogenous nitric oxide in the rat gastric microcirculation". *Eur J Pharmacol* 1989;174:293.

POLIO J., y GROSZMANN R.J. "Hemodynamic factors involved in the development and rupture of esophageal varices: a pathophysiologic approach to treatment". *Semin Liver Dis* 1986;6:318-31.

RAMDOMSKI M.W., PALMER R.M.J., y MONCADA S. "Glucocorticoids inhibit the expression of an inducible, but not the constitutive, nitric oxide synthase in vascular endothelial cells". *Proc Natl Acad Sci USA* 1990;87:10043.

RICHARDSON P.D.I. y WITHRINGTON P.G. "The inhibition by glucagon of the vasoconstrictor actions of noradrenaline, angiotensin and vasopressin on the hepatic arterial vascular bed of the dog". *Br J Pharmacol* 1976;57:93-102.

Bibliografía

RICHARDSON P.D.I. AND WITHRINGTON P.G. "A comparison of the effects of bradykinin, 5-hydroxytryptamine and histamine on the hepatic arterial and portal venousvascular beds of the dog: histamine H₁ and H₂ receptor populations". *Br J Pharmac* 1977;60:123-133.

RIGAU J., BOSCH J., y BORDAS J.M. "Endoscopic measurement of variceal pressure in cirrhosis: correlation with portal pressure and variceal haemorrhage". *Gastroenterology* 1989;96:873-80.

RUIZ DEL ARBOL L., GARCÍA-PAGÁN J.C., FEU F., PIZCUETA M.P., BOSCH J., y RODÉS J. "Effects of molsidomine, a long acting venous dilator, on portal hypertension. A hemodynamic study in patients with cirrhosis". *J Hepatol* 1991;13:179-86.

SCHIFFRIN E.L., THOME F.S., y GENEST J. "Vascular angiotensin II receptors in spontaneously hypertensive rats". *Hypertension* 1984;6:682-688.

SCHRIER R.W., ARROYO V., BENARDI M., EPSTEIN M., HENRIKSEN J.H., y RODÉS J. "Peripheral arterial vasodilation hypothesis: a proposal for initiation of sodium retention and water retention in cirrhosis". *Hepatology* 1988;8:1151-1157.

SHIBAYAMA Y. y NAKATA K. "Localitation of increased hepatic vascular resistance in liver cirrhosis". *Hepatology* 1985;5:643.

Bibliografía

SIEBER C.C. y GROSZMANN R.J. "In vitro hyporeactivity to methoxamine in portal hypertensive rats: reversal by nitric oxide blockade". *Am J Physiol*. 262 (*Gastrointest. Liver Physiol*. 25):1992;G996-G1001.

SIEBER C.C. y GROSZMANN R.J. "Nitric oxide mediates hyporeactivity to vasopressors in mesenteric vessels of portal hypertensive rats". *Gastroenterology* 1992;103:235-239.

SIEBER C.C., y GROSZMANN R.J. "In vitro hiporeactivity to methoxamine in portal hypertensive rats: reversal by nitric oxide blockade". *Am J Physiol* 1992;262:G996-G1001.

SIKULER E., KRAVETZ D., GROSZMANN R.J. "Evolution of portal hypertension and mechanisms involved in its maintenance in a rat model". *Am J Physiol* 248 (*Gastrointest Liver Physiol* 11):1985;G618.

SIKULER E., y GROSZMANN R.J. "Interaction of flow and resistance in maintenance of portal hypertension in a rat model". *Am J Physiol* 1986;250:G205-G212.

SITZMANN J.V., LI S.S., y LIN P.W. "Prostacyclin mediates splanchnic vascular response to norepinephrine in portal hypertension". *J Surg Res* 1989;47:208-211.

SITZMANN J.V., LI S., WU Y.P., GROSZMANN R., y BULKEY G. "Decreased mesenteric vascular response to angiotensin-II in portal hypertension". *J Surg Res* 1990;48:341-344.

Bibliografia

STONES R.W., LOESCH A., BEARD R.W. y BURNSTOCK G. "Substance P: endothelial localization and pharmacology in the human ovarian vein". *Obstet Gynecol.* 85:273-278.

TAKASHI J., GRANGER D.N., y BENOIT J.N. "Endogenous vasoconstrictor tone in intestine of normal and portal hypertensive rats". *Am J Physiol* 264 (*Heart Circ Physiol* 33):1993;H171-H177.

TARE M., PARKINGTON H.C., y COLEMAN H.A. "Hemodynamic effects of glucagon in portal hypertension". *Hepatology* 1990;11:668.

THOMAS S.H., JOH T., y BENOIT J.N. "Role of bile acids in splanchnic hemodynamic response to chronic portal hypertension". *Dig Dis Sci* 1991;36:1243-1248.

TOLINS J.P., SHULTZ P.J., y RAIJ L. "Role of endothelium-derived relaxing factor in regulation of vascular tone and remodelling". *Hypertension* 1991;17:909.

TS'AO C.H., GLASGOV S., y KELSEY B.F. "Special structural features of the rat portal vein". *Anat Rec.* 1970;166:529-539.

UEHARA Y., NUMABE A., TAKADA S., HIRAWA N., NAGATA T., ISHIMITSU T., SUGIMOTO T., YAGI S. "Possible role of prostacyclin synthetase in altered prostacyclin generation in DOCA-salt hypertensive rats. *Am J Hypertens* 1991;4:667-673.

Bibliografía

VALLA D., GAUDIN C., y GEOFFROY P. "Reversal of adrenaline-induced increase in azygous blood flow in patients with cirrhosis receiving propranolol". *J Hepatol* 1987;4:86.

VALLANCE P., y MONCADA S. "Hyperdynamic circulation in cirrhosis: A role for nitric oxide?". *Lancet* 1991;1:776.

VANHOUTTE P.M., RUBANYI G.M., MILLER V.M., y HOUSTON D.S. "Modulation of vascular smooth muscle contraction by the endothelium". *Ann Rev Physiol* 1986;48:307-320.

VIALLET A., MARLEAU D., y HUET M. "Hemodynamic evaluation of patients with intrahepatic portal hypertension: relationship between bleeding varices and the portohepatic gradient". *Gastroenterology* 1975;69:1297-1300.

VILLAMEDIANA L.M., DIEGUEZ G., SANTOS J.C., GARCIA-VILLALON A.L., CARAMELO C. y LOPEZ-NOVOA, J.M. "Vascular reactivity to norepinephrine in rats with cirrhosis of the liver". *Can J Pharmacol* 1988;66:567-572.

VINEL J.P., MONNIN J.L., COMBIS J.M., CALÉS P., DESMORAT H., PASCAL J.P. "Hemodynamic evaluation of molsidomine: a vasodilator with antianginal properties in patients with alcoholic cirrhosis". *Hepatology* 1990;11:239-42.

Bibliografía

VOROBIOFF J., BREDFELDT J., GROSZMANN R.J. "Hyperdynamic circulation in a portal hypertensive rat model: A primary factor for maintenance of chronic portal hypertension". *Am J Physiol* 244 (*Gastrointest Liver Physiol* 17):1983;G52.

VOROBIOFF J., BREDFELDT J., y GROSZMANN R.J. "Increased blood flow through the portal system in cirrhotic rats". *Gastroenterology* 87:1120, 1984.

VOROBIOFF J., GARCIA-TSAO G., y GROSZMANN R.J. "Long-term hemodynamic effects of ketanserin, a 5-hydroxytryptamine blocker, in portal hypertensive patients". *Hepatology* 1989;9:88-91.

WILLETT I.R., JENNINGS G., ESLER M., y DUDLEY F.J. "Sympathetic tone modulates portal venous pressure in alcoholic cirrhosis". *Lancet* 1986;2:939-42.

WU Y., LI S.S., CAMPELL K.A., SITZMANN J.V. "Modulation of splanchnic vascular sensitivity to angiotensin II". *Surgery* 1991;110:162-8.

WU Y.P., BURNS R.C., y SITZMANN J.V. "Effects of nitric oxide and cyclooxygenase inhibition on splanchnic hemodynamics in portal hypertension". *Hepatology* 1993;18:1416-1421.

WU Z.Y. y BENOIT J.N. "Non receptor-mediated intestinal vasoconstriction in portal hypertensive rats". *Am J Physiol.* 1994;267:H370-H375.

Bibliografía

YU P.C., KUO J.S., LIN H.C. y YANG M.C.M. "Effects of endothelium in portal hypertensive rats". *Clin Sci* 1992;83:165-170.