

96
zej.



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO**

FACULTAD DE CIENCIAS

**ALTERACIONES MORFOLOGICAS, HEMODINAMICAS
Y FUNCIONALES EN UN MODELO DE CIRROSIS
EXPERIMENTAL.**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

B I O L O G O

P R E S E N T A

ALMA ESTANES HERNANDEZ



MEXICO, D. F.

1994

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

Este trabajo fue realizado en el
Laboratorio de Hipertensión Portal del
Departamento Gastroenterología, en colaboración con
el Departamento de Nefrología y Metabolismo Mineral y
el Departamento de Bioquímica del
Instituto Nacional de la Nutrición
"Salvador Zubirán".
Y del Laboratorio de Biología Molecular
del Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias.

DIRECTOR DE TESIS
DR. JORGE LUIS POO
INSTITUTO NACIONAL DE LA NUTRICION
SALVADOR ZUBIRAN.

**No nos hace falta valor para
emprender ciertas cosas
porque sean difíciles,
sino que son difíciles porque
nos hace falta valor
para emprenderlas**

Lucio Anneo

**Lo que importa verdaderamente
en la vida no son los objetivos
que nos marcamos,
sino los caminos que
seguimos para lograrlo.**

Peter Bamm

A mis Padres:

Daniel y Ana
Por los principios que me enseñaron,
por la educación que me impartieron,
y por su trabajo y esfuerzo para la realización
de este trabajo

A mis Hermanos:
Reyna, Ella, Elvia, Alejandro, Alberto y Marisol.

A mis sobrinos y familiares....

MI MAS PROFUNDO AGRADECIMIENTO.

**A ti Rodolfo
Por tu apoyo y comprensión
durante todo este tiempo.**

Al Dr. Villalobos, Jefe del
Departamento de Gastroenterología

Al Dr. Misael Uribe, Jefe del Laboratorio
de Gastroenterología.

A las Químicas y a todo el personal
del Laboratorio de Gastroenterología.

Al Dr. José Pedraza-Chaverri, al Dr. Alberto Huberman,
a la Dra. Georgina Gonzalez, por su ayuda para la realización
del presente trabajo.

A la Biol. Leonor Peralta, al Q.F.B. Jose Luis Silencio,
al Dr. René Cárdenas, y al Dr. Jorge Luis Poo
por su valiosa ayuda en la corrección
de este escrito.

A todos mis amigos y compañeros de trabajo:
Noé, Victor, Carmita y Tino.

GRACIAS

ABREVIATURAS

AAT	Aspartato aminotransferasa
APR	Actividad plasmática de renina
CBP	Cirrosis biliar primaria
CBS	Cirrosis biliar secundaria
CCl ₄	Tetracloruro de Carbono
FC	Frecuencia cardiaca
FNT	Factor de necrosis tumoral
GFR	Filtración glomerular
HP	Hipertensión portal
IFF	Índice de filtración glomerular
IL	Interleucina
INNSZ	Instituto Nacional de la Nutrición Salvador Zubiran
LCB	Ligadura del Conducto Biliar
PAM	Presión arterial media
PCO	Presión coloidosmótica
PGs	Prostaglandinas
PP	Presión portal
SHR	Síndrome hepato-renal
SNS	Sistema nervioso simpático
SRA	Sistema renina-angiotensina
Sx	Síndrome
σ Int.	Diametro interno
σ Ext.	Diametro externo

I N D I C E

RESUMEN

CAPITULO I. INTRODUCCION

I. ANATOMIA Y FISIOLOGIA DEL HIGADO

1.1. Anatomía	1
1.2. Histología	3
1.3. Fisiología	4

2. ANATOMIA Y FISIOLOGIA DEL RIÑÓN

2.1. Anatomía	8
2.2. Histología y fisiología.	10

3. CIRROSIS

3.1. Definición y generalidades	13
3.2. Clasificación	13
3.3. Etiología	13
3.4. Cirrosis biliar o cirrosis por colestásis	14
3.4.1. Clasificación	15
3.4.2. Colestásis intrahepática	16
a) Cirrosis biliar primaria	16
3.4.3. Colestásis extrahepática	16
b) Cirrosis biliar secundaria	17
3.5. Efectos de la cirrosis en pacientes	18

3.5.1. Hipertensión portal	18
a) Cambios hemodinámicos en cirrosis	19
b) Varices esofágicas	20
3.5.2. Ascitis	20
a) Patogénesis de la ascitis y falla renal	20
b) Teorías de la formación de ascitis	20
3.5.3. Encefalopatía	21
4. MODELOS EXPERIMENTALES DE CIRROSIS	
4.1. Agentes tóxicos	24
4.1.1. Tetracloruro de carbono (CCl ₄)	24
4.1.2. Dimetil-nitrosamida	28
4.2. Cirrosis biliar	30
5. CIRROSIS Y FUNCION RENAL	
5.1. Metabolismo del sodio en cirrosis	32
5.2. Mecanismos de la reabsorción tubular del sodio	33
5.3. Sistema renina - angiotensina	33
5.3.1. Renina	33
5.3.2. Angiotensina II	35
5.3.3. Aldosterona	36
5.4. Excreción de sodio y su regulación	
por la aldosterona	37
5.5. Síndrome hepato-renal	38
5.6. Fisopatogénesis de la disfunción	
renal en cirrosis	38
a) Sistema renina - angiotensina.....	38
b) Sistema nervioso simpático	39

c)	Prostaglandinas	40
d)	Sistema Kalicreína-cinína	40
e)	Endotoxinas	40
6.	PRESION COLOIDOSMOTICA (PCO), ALBUMINA Y CIRROSIS	
6.1.	Presión coloidosmótica	41
6.2.	Albumina	41
6.3.	Importancia de la PCO en clínica.....	43
CAPITULO II.	JUSTIFICACION	44
CAPITULO III.	OBJETIVOS	45
CAPITULO IV.	MATERIAL Y METODOS	
1.	Material	
1.1.	Reactivos	46
1.2.	Equipo	46
1.3.	Material biológico	47
2.	Métodos	
2.1.	Modelo biológico	48
2.2.	Diseño de estudio	50
2.3.	Variables bioquímicas	
2.3.1.	Colágena	51
2.3.2.	Albumina	52
2.3.3.	Presión coloidosmótica	53
2.3.4.	Proteínas séricas	54

2.4.	Variables de función renal	
2.4.1.	Flujo urinario	55
2.4.2.	Urea	55
2.4.3.	Creatinina sérica	56
2.4.4.	Creatinina urinaria	56
2.4.5.	Depuración de creatinina	56
2.4.6.	Sodio sérico	57
2.4.7.	Sodio urinario	57
2.5.	Aldosterona urinaria	58
2.6.	Actividad plasmática de renina (APR)	58
3.	Variables hemodinámicas	
3.1.	Presión portal	59
3.2.	Presión arterial	59
3.3.	Frecuencia cardíaca	59
4.	Histología	61
5.	Análisis Estadístico	61
CAPITULO V.	RESULTADOS	62
1.	RESUMEN DE RESULTADOS	94
CAPITULO VI.	DISCUSION	95
CAPITULO VII.	CONCLUSIONES	98
CAPITULO VIII.	BIBLIOGRAFIA.	99

RESUMEN

La gran cantidad de enfermos con cirrosis hepática motiva el interés en el estudio de sus perturbaciones morfológicas, funcionales y hemodinámicas. Por ello se han diseñado diversos modelos experimentales para su estudio y conocimiento. La ligadura de conducto biliar (colédoco) ha sido utilizada como un modelo de cirrosis que presenta anomalías similares a las observadas en pacientes cirróticos. El objetivo del presente trabajo fue evaluar las alteraciones bioquímicas, hemodinámicas, renales e histológicas que ocurren durante la historia natural de la cirrosis biliar inducida por ligadura del conducto colédoco.

Se estudiaron ratas macho cepa Wistar con un peso inicial de 160 a 210 g, las cuales fueron sometidas a laparotomía media para inducir cirrosis por medio de una doble ligadura y sección del conducto colédoco. Se estudiaron a diferentes periodos de tiempo (cero, una, dos, tres y cuatro semanas de obstrucción). Al término del tiempo establecido, se les realizó la valoración final de la función renal, hemodinámica, bioquímica e histológica.

La presión portal (PP) mostró un incremento significativo a partir de los 7 días de obstrucción comparada con los valores de ratas normales (11.7 ± 1.5 vs 7.8 ± 1.5 mm Hg respectivamente), mientras que la presión arterial media (PAM) presentó una mínima disminución no significativa a la cuarta semana, después de la obstrucción biliar (96.1 ± 8.6 vs 91.3 ± 6.6 mm Hg). En las pruebas de función renal se observó una disminución significativa en la excreción urinaria de sodio (2.3 ± 0.6 mEq/24 h) a partir de la primera semana de obstrucción y que en el transcurso del tiempo tiende a estabilizarse comparado con el grupo de las ratas normales (1.1 ± 0.5 mEq/24 h). También se observó hiperreninemia (2.4 ± 1.3 vs 4.3 ± 1.1 ng Ang I/ml/h) e hiperaldosteronismo (25 ± 8.8 vs 100 ± 21 ng/24 h), comparado con el grupo a cero semanas. La albúmina presentó una disminución significativa a la cuarta semana de obstrucción (3.7 ± 0.2 vs 2.0 ± 0.9 mg/dl). La evolución de la presión coloidosmótica (PCO) no presentó diferencia significativa en las primeras semanas de obstrucción, siendo significativa únicamente a los 28 días (19.3 ± 2.9 vs 15.2 ± 3.4 mmHg).

El contenido de colágena hepática se incrementó en ratas con obstrucción mostrando diferencia significativa a partir de los 14 días, en comparación con las ratas normales (621.9 ± 186.7 vs 109.9 ± 46.6 mg col/hígado). El hígado y el bazo mostraron un aumento significativo ($p < 0.05$) de peso a partir de la primera y segunda semana respectivamente alcanzando valores de 18.5 ± 7.7 y 1.6 ± 0.5 g., en comparación con las ratas normales (9.4 ± 1.1 y 0.88 ± 0.2 g).

Se observaron correlaciones significativas entre la magnitud del incremento de la presión portal y las siguientes variables: (1) la disminución en la excreción urinaria de sodio a una semana ($r=0.69$, $p < 0.0002$), (2) los niveles de aldosterona ($r= 0.5$, $p < 0.0002$) a partir de la segunda semana de obstrucción y (3) la concentración de colágena ($r = 0.40$, $p < 0.001$).

La magnitud del incremento en el peso del hígado presentó correlación significativa con la concentración de colágena ($r=0.77$, $p < 0.001$) y con el peso del bazo ($r=0.80$, $p < 0.001$). Finalmente los valores de la presión coloidosmótica correlacionaron en forma significativa con los niveles de albúmina ($r= 0.55$, $p < 0.001$) y de proteínas totales ($r=0.67$, $p < 0.001$).

Los cambios histológicos se hicieron aparentes desde la primera semana de obstrucción biliar (inflamación portal y proliferación de conductos); en la segunda semana se observó fibrosis y en la cuarta semana se observó la imagen característica de cirrosis biliar secundaria.

En conclusión, la ligadura del conducto biliar reproduce los cambios bioquímicos, hemodinámicos, renales e histológicos descritos en pacientes con cirrosis hepática. En este trabajo se describe en forma detallada el momento de aparición de cada una de las alteraciones durante el proceso cirrogénico. Este modelo experimental de cirrosis es potencialmente útil para evaluar el efecto de maniobras terapéuticas que tengan como objetivo detener o prevenir el proceso cirrogénico.

CAPITULO I. INTRODUCCION

Las enfermedades hepáticas constituyen un grupo heterogéneo de padecimientos cuya fase final es la cirrosis.

En nuestro país existen 17,000 defunciones por cirrosis cada año (tasa de 19.3/100,000 habitantes) la que constituye la octava causa de mortalidad general. Por lo tanto, es deseable estimular y promover la investigación sobre cirrosis hepática que permita identificar mecanismos de daño o factores de riesgo con el fin de lograr su prevención o su tratamiento efectivo. Los modelos experimentales de cirrosis facilitan el entendimiento de su fisiopatología y permiten la evolución de diversas maniobras farmacológicas (7,86).

I. ANATOMIA Y FISILOGIA DEL HIGADO

El hígado es un órgano único situado en el cuadrante superior de la cavidad abdominal. Es un órgano que muestra una gran capacidad metabólica, puesto que es el primero en recibir los nutrimentos desde el intestino y tiene que ajustar sus actividades metabólicas a la composición variable de la mezcla de nutrimentos (89).

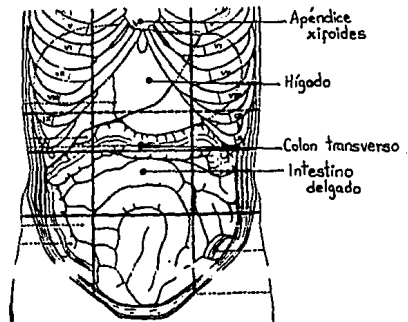


Fig 1. Relación del hígado con la subdivisión de la cavidad abdominal. En Zakim & Boyer. Hepatology: A textbook of liver disease. 2a. ed., vol 1.W.B. Saunders Company 1990 : 3.

1.1. ANATOMIA. El hígado es un órgano sólido localizado en el cuadrante superior de la cavidad abdominal con un peso aproximado de 1,500 g., en el adulto (figura no.1). Su color es rojizo pardo y la mayor parte del hígado esta situada en la mitad derecha del cuerpo con su superficie superior convexa, adaptada a la concavidad de la hemicúpula diafragmática. Está constituido de 2 lóbulos, donde el derecho es el de mayor magnitud y que se encuentra subdividido en 2 pequeños lóbulos en su superficie infero-posterior (lóbulo cuadrado y caudado), en la rata encontramos dividido al hígado en 5 lóbulos. Posee una estructura vascular singular, ya que recibe sangre tanto venosa como arterial. La cápsula de Glisson cubre al hígado y está compuesta de tejido conectivo, caracterizado por la presencia de colágena tipo I y III, fibroblastos y vasos sanguíneos. El conducto biliar mide aproximadamente 7 cm. de largo y 6 mm. de diámetro y es el encargado de transportar la bilis del hígado hacia el duodeno (60,79,82,89).

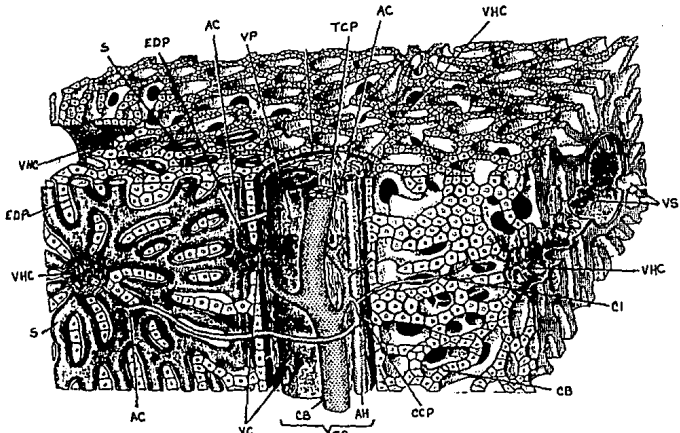


Fig 2. Representación esquemática de la estructura normal del hígado. S = sinusoides, EDP = espacio de Disse Perisinusoidal, AC = arteria capilar, VP = vena porta, TCP = tejido conectivo periportal, VHC = vena hepática central, VL = vesícula limfática, VS = vena sublobulillar, CI = colangio intralobulillar, CB = canalículo biliar, CCP = colangio en canales portales, AH = arteria hepática, VC = venas comunicantes, TP = tracto portal. En Sherlock S. Diseases of the liver and biliary system. Sexta edición. Blackwell Scientific Publications 1981:7.

La unidad estructural del hígado es el lobulillo, de forma pentagonal o hexagonal en un corte transversal. En el centro se encuentra la vena central, vía de salida de la sangre del lobulillo, que desemboca en las venas suprahepáticas; a su vez, estas se abren a la vena cava inferior en la cara posteroinferior del hígado, cerca de la línea media. Desde la vena central, se extienden radialmente cordones o placas de células hepáticas, hasta la periferia del lobulillo, dichas placas están separadas por sinusoides sanguíneos, dispuestos radialmente (fig 2). A nivel de la periferia del lobulillo se encuentran 5 ó 6 espacios portas constituido por la rama de la vena porta, la rama de la arteria hepática y un conducto biliar (60).

1.2. HISTOLOGIA. Histológicamente el hígado consta de diversos tipos celulares, que constituyen el parénquima y que son: los hepatocitos, las células biliares, las células de Kupffer, las células endoteliales, las células Pit y las células de Ito, las cuales se encuentran embebidas en el estroma que se encuentra formado por fibrinógeno. Los hepatocitos tienen una apariencia homogénea, sin embargo histológicamente encontramos diferencias funcionales y estructurales.

En el lobulillo se distinguen por lo menos dos diferentes zonas, las cuales difieren en su equipamiento enzimático y estructuras subcelulares (78,79) estas zonas son:

- a) la zona periportal (o aferente)
- b) Zona perivenosa (centrolobulillar o eferente)

La zona periportal se encuentra localizada adyacente al espacio porta el cual contiene una rama de la vena porta, una arteriola y un conducto biliar. La zona perivenosa se encuentra en la cercanía de la vena centrolobulillar (fig. 3).

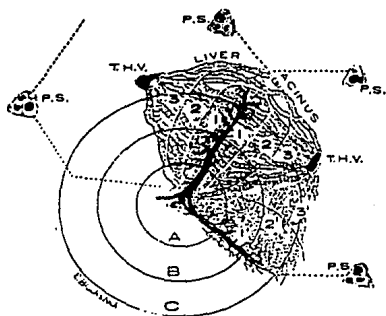


Fig 3. Disposición de las zonas hepáticas. Zona periportal (A), áreas cercana o periféricas (B, C) al espacio porta (PS), y venas centrales (THV). En Zakim & Boyer. Hepatology: A textbook of liver disease. 2a. ed., vol 1. W.B. Saunders Company 1990:9.

2.3. FISIOLÓGIA DEL HIGADO. El hígado desempeña un número importante de funciones metabólicas, de gran importancia. Las múltiples funciones metabólicas del hígado son facilitadas por el hecho de que los hepatocitos son las primeras células parenquimatosas con las cuales se ponen en contacto directo, los diversos nutrimentos que el intestino absorbe y que llevan a la sangre por el sistema porta. El hígado participa en el metabolismo energético, en el almacenamiento de nutrimentos, en la síntesis proteica, en la detoxificación de diversos compuestos y como órgano excretor de diversas sustancias en la bilis (78,79,89).

Las principales funciones del hígado son las siguientes:

1. Participación en el metabolismo energético.

a) Hidratos de carbono. Los hepatocitos se encargan de transformar en glucógeno los monosacáridos absorbidos y los almacenan para evitar que los niveles de glucosa sanguínea alcancen límites excesivos después de ingerir los alimentos; más tarde transforman el glucógeno de nuevo en glucosa y la liberan a la circulación y de esta manera regulan los niveles circulantes de este carbohidrato.

b) Lípidos. Los hepatocitos también controlan el nivel de lípidos en la sangre. Una parte del lípido sanguíneo está en la forma de un complejo lábil de ácidos grasos y albúmina, sin embargo la mayor parte está en la forma de pequeñas partículas combinadas con proteínas que reciben el nombre de lipoproteínas.

El hepatocito lleva a cabo la beta oxidación de los ácidos grasos y participa también en la formación de ácido acetoacético, de lipoproteínas, de colesterol y fosfolípidos así como la conversión de grandes cantidades de hidratos de carbono y proteínas en grasa. Los ácidos grasos en el hígado son esterificados en forma de triglicéridos y son secretados como lipoproteínas de alta densidad, las cuales transportan los ácidos grasos a los adipocitos y otros tejidos (29).

c) Proteínas. Las células hepáticas participan en la desaminación de aminoácidos; en la formación de urea, para suprimir el amoníaco de los líquidos corporales y opera a la vez como un regulador del pH manteniendo el balance ácido-base; en la formación y degradación de proteínas plasmáticas como son la albúmina y transferrina y en la interconversión entre los diferentes aminoácidos y otros compuestos necesarios para los procesos metabólicos. En condiciones normales cataboliza más de la mitad de los aminoácidos exógenos, procedentes de la hidrólisis de las proteínas y de los péptidos alimentarios y los transforma en urea. Otra fracción de aminoácidos exógenos es utilizada por el hígado para sintetizar proteínas que emplea para su propia estructura y función y el resto pasa a la circulación general para difundir rápidamente en el espacio extracelular y facilitar su captación por los diferentes tejidos (42).

2. Función de almacenamiento.

a) Glucógeno. El hígado participa en el almacenamiento de glucógeno. Convierte la galactosa y la fructosa en glucosa, participa también en la gluconeogénesis y en la formación de muchos compuestos químicos, partiendo de los productos intermedios del metabolismo de los carbohidratos. El glucógeno es un polisacárido de reserva que abunda especialmente en el hígado, donde puede llegar a constituir el 10% de su peso húmedo; se deposita habitualmente, en forma de grandes gránulos en el citoplasma celular (89).

b) Vitaminas. El hígado funciona como un almacén de diversas vitaminas; entre ellas encontramos a las Vitaminas A, D y B12. La célula encargada del almacenamiento de vitamina A es la célula de Ito, la cuál esta situada en el espacio de Disse (58).

c) Minerales. Los minerales son utilizados como elementos catalizadores en gran parte de los procesos químicos del organismo (61). Varios minerales son cofactores de diversas enzimas que participan en procesos de síntesis, regeneración, inflamación y cicatrización. El hígado contiene pequeñas cantidades de hierro, zinc y cobre. La mayor parte del hierro es almacenado en forma de ferritina (58).

3. Función de síntesis.

a) Albúmina. El hígado sintetiza toda la albúmina y prácticamente todas las globulinas (a excepción de las inmunoglobulinas) que circulan en la sangre. La albúmina constituye el 55 a 60 por ciento del total de las proteínas plasmáticas.

Dentro del grupo de las globulinas sintetizadas por el hígado se encuentran: la glicoproteína ácida α_1 , la antitripsina α_1 , la fetoproteína α_1 , la macroglobulina α_2 , la antitrombina III, la ceruloplasmina, la proteína C-reactiva, el fibrinógeno, la haptoglobulina, la hemopexina y la transferrina (42).

4. Función de detoxificación. El hígado es un órgano de defensa bioquímica, ya que elimina compuestos xenobióticos (conservadores de alimentos, colorantes, drogas, sustancias adictivas, etc.) y endobióticos por medio de procesos de biotransformación, los cuales se llevan a cabo en el retículo endoplásmico liso y en el cual participan múltiples citocromos. El metabolismo hepático de drogas y toxinas está catalizado por 3 clases de enzimas, las oxidoreductasas, las hidrolasas y las transferasas. También metaboliza bilirrubinas, hormonas, esteroides y alcohol (106).

5. Función excretora.

Producción de bilis. El hígado es también el responsable de la formación de bilis para el proceso digestivo, incluyendo la síntesis de compuestos mayores como son los ácidos biliares. La bilis contiene pigmentos, sales biliares, proteínas y colesterol (14,146). Entre los pigmentos encontramos la bilirrubina que es un producto de desecho. El ácido cólico y el quenodesoxicólico son los ácidos biliares primarios fabricados por el hígado, se conjugan con la glicina y la taurina para formar los ácidos glicocólico, glicokenodesoxicólico, taurocólico y tauroquenodesoxicólico los cuales son segregados al tracto intestinal con la bilis. Se absorben en los intestinos delgado y grueso, siendo esa reabsorción pasiva en el duodeno, yeyuno y colon y activa en el íleon. El exceso de colesterol también se excreta con la bilis hacia el intestino (65).

6. Función Inmune. En el hígado existen numerosas células mononucleares con capacidad fagocítica (células de Kupffer). Además, como resultado de la interacción con células endoteliales, hepatocitos y células mononucleares se sintetizan interferón y diversas citocinas (IL-1, IL-2, IL-6 y FNT) que participan en la destrucción de diversos microorganismos ya sean virus, bacterias, hongos, rickettsias o parásitos (78,79).

2. ANATOMIA Y FISIOLOGIA DEL RIÑÓN

2.1. ANATOMIA.

El riñón se encuentra dividido en unidades funcionales llamadas nefronas (60, 148). Ambos riñones tienen aproximadamente 2 millones de nefronas y cada una es capaz de formar orina por separado. La nefrona se encuentra compuesta básicamente de: un glómulo a través del cual se filtra el líquido desde la sangre y el sistema tubular, en el que el líquido filtrado se convierte en orina, en su camino hacia la pelvis renal. La anatomía de la nefrona permite que la sangre entre en el glómulo a través de la arteriola aferente y salga a través de la arteriola eferente (fig 4).

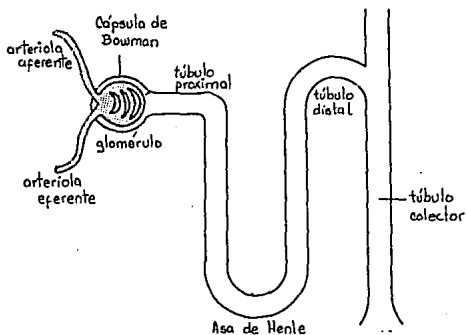


Fig. 4. Representación esquemática de la nefrona.

El glomérulo es una red de hasta 50 capilares paralelos, que se ramifican y se anastomosan, recubiertos por células epiteliales y encerrados en la cápsula de Bowman. El glomérulo se forma cuando la arteriola glomerular aferente se divide en 4 a 8 asas capilares, formando un penacho que invagina el epitelio de la cápsula de Bowman (60,149).

La barrera a través de la que se realiza la filtración se conoce como barrera de filtración y consta de tres capas principales:

1. La capa endotelial del propio capilar
2. La membrana basal
3. Una capa de células epiteliales situadas en la superficie exterior de los capilares glomerulares, las cuales están perforadas por miles de pequeños agujeros.

El plasma que entra en las asas capilares debe pasar primero por la capa de células endoteliales con sus grandes espacios o aberturas intercelulares, las cuales retienen las células pero permiten el paso de grandes macromoléculas.

La membrana basal se encuentra compuesta principalmente por un entramado de fibras de colágena y proteoglicanos que deja grandes espacios en su interior por donde el líquido puede pasar fácilmente.

La última capa de la membrana glomerular es la de células epiteliales que se sitúa en la parte más externa del capilar glomerular. Estas células tienen múltiples proyecciones dígitoformes que revisten la membrana basal y dejan entre sí unas hendiduras conocidas como poros, por donde pasa el líquido filtrado (60).

El filtrado glomerular que entra en los túbulos, pasa a través de las siguientes estructuras:

1. Túbulo proximal
2. Asa de Henle
3. Túbulo distal
4. Túbulo colector medular.

En todo este trayecto el epitelio tubular reabsorbe y secreta de forma selectiva las distintas sustancias de forma que el líquido que resulta de este proceso entra en la pelvis renal como orina. Aunque las cantidades de líquido filtradas en el riñón son enormes, del orden de 180 litros diarios, solamente se forman de 1 a 1.5 litros de orina, lo que implica que la cantidad de líquido reabsorbido desde los túbulos hacia los espacios intersticiales renales y posteriormente hacia los capilares peritubulares es del 99%. El agua restante y las sustancias disueltas en ella constituyen la orina (60).

2.2. HISTOLOGIA Y FISILOGIA DEL RIÑÓN

Los riñones tienen a su cargo el mantenimiento del volumen y la composición de los líquidos corporales dentro de los límites fisiológicos; actúan también en la regulación de la presión arterial y en la conservación del volumen globular y son determinantes clave de la farmacocinética de numerosas drogas así como el sitio blanco primario de fármacos tales como los diuréticos (149). Las dos funciones fundamentales que realiza el riñón son:

- 1.- Eliminar gran parte de los productos metabólicos terminales del organismo.
- 2.- Controlar las concentraciones de la mayor parte de los componentes de los líquidos corporales.

La función básica de la nefrona es limpiar o "aclarar" el plasma sanguíneo de sustancias de desecho a medida que pasan por los riñones. Dentro de las sustancias que deben ser eliminadas se encuentran determinados productos terminales del metabolismo, como urea, creatinina, ácido úrico y de otras sustancias como los iones sodio, potasio, cloruro e hidrógeno que tienden a acumularse en el organismo en cantidades excesivas. La urea es una sustancia que sufre reabsorción y uno de los objetivos de los riñones no es reabsorber urea, sino permitir que este producto de degradación se elimine en la orina. A medida que el agua va siendo reabsorbida en la luz tubular, casi la mitad de la urea presente en el filtrado glomerular se reabsorbe pasivamente por difusión junto con ella, mientras que el resto se elimina por la orina. Otro producto de degradación es la creatinina, la cuál no es reabsorbida sino que casi toda la creatinina es filtrada a nivel glomerular, pasando al sistema tubular y siendo excretada en la orina (131,149).

Los principales mecanismos mediante los cuales la nefrona depura el plasma de sustancias de desecho son los siguientes:

1. La filtración de una gran proporción de plasma a partir de la sangre que fluye por los glomérulos.
2. A medida que el filtrado fluye a través de los túbulos las sustancias de desecho permanecen en la luz tubular mientras que el resto, especialmente el agua y muchos electrólitos, son reabsorbidos de nuevo hacia el plasma a nivel de los capilares peritubulares.

Otro mecanismo mediante el cuál la nefrona depura el plasma de otros productos es la secreción tubular la cuál consiste en que determinadas sustancias son secretadas desde el plasma hacia el espacio tubular, directamente a través de las células epiteliales tubulares (131).

El sistema venoso en el riñón sigue el mismo modelo arterial pero en sentido inverso, formando finalmente venas renales que desembocan en la vena cava inferior. El sistema vascular del riñón permite la llegada de un gran volumen de sangre, y está organizado, para permitir una efectiva ultrafiltración del plasma a través de los glomérulos, así como una secreción máxima de solutos a través del epitelio tubular hacia su luz y la reabsorción máxima de solutos y de agua de la luz tubular en la sangre. La organización vascular junto con la estructura tubular permite mantener una médula hipertónica para la dilución y la concentración de la orina (149). El flujo sanguíneo que llega al riñón se mantiene constante con una amplia escala de presiones sistémicas (80 a 180 mm Hg) por autorregulación, dada por la resistencia del flujo de sangre a través del riñón, en proporción directa con la presión arterial. La autorregulación del flujo sanguíneo renal y su distribución intrarrenal del flujo sanguíneo son procesos complejos que dependen al menos de los siguientes factores fisiológicos y hormonales (60,131,149):

- 1) **Las respuestas arteriolas mlogénicas**, donde la respuesta se produce en los vasos sanguíneos aislados y tiene lugar en ausencia de angiotensina y se anula por relajantes del músculo liso.

2) La Angiotensina II. Que ejerce su efecto a nivel de la arteriola glomerular eferente, desempeñando un papel en la hemodinámia renal y en la filtración glomerular (62,71).

3) La estimulación por catecolaminas. La catecolaminas, así como los barorreceptores y quimiorreceptores renales, parecen actuar a través de la liberación de renina mediada por el AMP cíclico, y por lo tanto, a través de un mecanismo relacionado con la angiotensina II. Las catecolaminas ejercen un efecto vasoconstrictor directo sobre las arteriolas aferentes y eferentes.

4) Prostaglandinas. Generan vasodilatación y desempeñan un papel en la protección de la circulación renal durante estados de hipovolemia y producción elevada de renina (115,116,150).

3. CIRROSIS

3.1. DEFINICION Y GENERALIDADES.

La cirrosis se define como una enfermedad crónica degenerativa caracterizada por fibrosis difusa asociada con la formación de nódulos de regeneración. Su diagnóstico se basa en 3 criterios fundamentales (86,131,149):

1. Existencia de daño inflamatorio de las células hepáticas (mostrando desde cambios degenerativos hasta necrosis).
2. Fibrosis hepática, que puede ser más intensa de un lóbulo a otro, resultado del colapso parcial del parénquima y que puede variar desde bandas finas hasta cicatrices grandes y masivas.
3. Regeneración nodular, donde las células hepáticas en reproducción son encapsuladas por tejido fibroso, produciendo nódulos de tamaños variables.

3.2. CLASIFICACION.

La cirrosis puede clasificarse tomando en cuenta la etiología o bien los hallazgos histológicos y morfológicos.

De acuerdo a la morfología, la cirrosis se clasifica en:

- a) **Micronodular**, cuando existen nódulos de 3 mm o menos en su diámetro y
- b) **Macronodular**, cuando los nódulos son mayores a los 3 mm de diámetro.

Otros hallazgos relevantes desde el punto de vista histológico se mencionan en el cuadro no. 1.

3.3. ETIOLOGIA.

El diagnóstico etiológico de la cirrosis requiere del análisis de la combinación de datos epidemiológicos, clínicos, bioquímicos, inmunológicos e histológicos. Las causas asociadas a la cirrosis se observan en el cuadro 2 (137).

Cuadro no. 1. Daños encontrados en biopsia hepática de pacientes cirróticos.

- | |
|---|
| <ol style="list-style-type: none">1. Fragmentación del tejido.2. Fibrosis alrededor de los nodulos de regeneración.3. Evidencias de regeneración.4. Desorganización del parénquima con pérdida de la relación entre espacios porta y venas centrolobulillares.5. Escaso pigmento de lipofuscina en hepatocitos alrededor de las venas eferentes |
|---|

Cuadro no. 2. Causas de la cirrosis.

1. Virus de las hepatitis (B,C y D)
2. Alcoholismo
3. Enfermedades metabólicas
 - a) Hemocromatosis
 - b) Enfermedad de Wilson.
 - c) Deficiencia de alfa 1- antitripsina
 - d) Enfermedad Glicogénica tipo III y IV
 - e) Fibrosis quística
 - f) Galactosemia
 - g) Intolerancia a fructosa
 - h) Aminoacidurias
 - i) Dislipoproteinemia
4. Enfermedad biliar
 - a) Cirrosis biliar primaria (CBP)
 - b) Cirrosis biliar secundaria (CBS)
 - c) Colangitis esclerosante
5. Obstrucción veno-oclusiva
 - a) Budd - Chiari
 - b) Enfermedad veno - oclusiva
6. Drogas
7. Corto-circuito intestinal por obesidad
8. Otras
 - a) Sarcoidosis
 - b) Hemorragia telangiectásica hereditaria.

3.4. CIRROSIS BILIAR O CIRROSIS POR COLESTASIS.

Este tipo de cirrosis o ictericia obstructiva se debe usualmente a alteraciones en los mecanismos de secreción biliar normal, acompañados por la acumulación en la sangre de sustancias normalmente secretadas en la bilis (35). La cirrosis biliar es una consecuencia de las alteraciones producidas por la obstrucción prolongada, ya sea intra o extrahepática (147).

Clinica y bioquímicamente, la colestásis se refiere a un grupo de síntomas, incluyendo ictericia y prurito así como elevación de los niveles séricos de bilirrubinas, fosfatasa alcalina, 5 - nucleotidasa, colesterol y ácidos biliares (23).

Funcionalmente se define como una disminución en el flujo biliar canalicular, lo cual conduce a una disminución en la secreción hepática de agua y/o aniones orgánicos (bilirrubina - ácidos biliares).

Fisiopatológicamente, se encuentra representada por una falla generalizada del hepatocito para excretar bilis (23,147). La fisiopatología de la colestásis incluye:

1. Disminución en el gradiente lobular de producción de bilis, la cual altera la membrana plasmática, los sistemas de transporte y la polaridad de las membranas sinusoidal y canalicular.
2. Disturbios de la función de los organelos intracelulares, incluyendo la función microsomal.
3. Defectos en la función del citoesqueleto.
4. Alteración en la permeabilidad de membrana
5. Alteración en la fluidez de membrana
6. Daño en células biliares.

3.4.1. CLASIFICACION. La colestásis es causada por una variedad de trastornos que pueden ser:

- a) **Intrahepáticos:** cuando se debe a defectos de las células hepáticas o de los conductos biliares intrahepáticos.
- b) **Extrahepáticos:** cuando se debe a obstrucción mecánica de los conductos biliares.

Algunas de las diferentes causas extra e intrahepáticas de colestásis se enumeran en el cuadro no. 3 (23).

Cuadro no. 3. Causas extra- hepáticas e intra- hepáticas de Cirrosis Biliar.

Extra-hepáticas	Intra- hepáticas
1. Litiasis en conductos biliares	1. Daño en células parenquimatosas, secundaria a virus, drogas o hepatitis alcohólica.
2. Carcinoma de conductos biliares o pancreatitis	2. Hepatitis neonatal e hipoplasia biliar
3. Pancreatitis o Carcinoma del conducto biliar	3. Colestasis canalicular por esteroides, 17 alfa-alcilantes, andrógenos y etinil estradiol.
4. Atresia biliar	4. Cirrosis biliar primaria
5. Quiste de colédoco	5. Protoporfiria
6. Colangitis esclerosante	
7. Introgénia en conductos biliares	

3.4.2. COLESTASIS INTRAHEPÁTICA.

La colestásis intra- hepática puede deberse a daño hepatocelular que incluye diversos mecanismos como son la hepatitis viral, la hepatitis alcohólica, y las drogas.

Su histología se caracteriza por el depósito de pigmentos biliares en las zonas centrolobulillares (109). Dentro de la colestásis intrahepática encontramos como ejemplo a la cirrosis biliar primaria (CBP).

a) CIRROSIS BILIAR PRIMARIA (CBP). La cirrosis biliar primaria se caracteriza por inflamación crónica y obliteración fibrosa de los conductillos biliares intrahepáticos. La causa se desconoce, si bien diversas observaciones sugieren que podría intervenir una respuesta inmunitaria alterada. La cirrosis biliar primaria suele clasificarse en 4 fases:

Fase I. Colangitis destructiva no supurativa crónica, la cual consiste en un proceso inflamatorio necrosante de las triadas portales, caracterizada por destrucción de los conductillos biliares de mediano y pequeño calibre, por un denso infiltrado celular agudo y crónico, ligera fibrosis y ocasionalmente por estasis biliar.

Fase II. El infiltrado inflamatorio se hace menos prominente, el número de conductos biliares disminuye y proliferan los conductillos biliares de menor calibre.

Fase III. Reducción de los conductos interlobulillares, pérdida de hepatocitos y extensión de fibrosis periportal que da lugar a una red cicatrizal de tejido conectivo.

Fase IV. Aparición de cirrosis micro o macronodular (109, 147).

3.4.3. COLESTASIS EXTRAHEPÁTICA.

La colestásis extra-hepática implica mecanismos de obstrucción a lo largo de los conductos biliares. Existe además ensanchamiento de espacios porta, necrosis focal, nódulos de regeneración, proliferación de los conductos biliares y dilatación de conductos interlobular y septal con evidencias de colangitis e inflamación portal (147). La necrosis puede deberse a la formación de infartos biliares, conteniendo fibrina y todo biliar en lugar de células parenquimatosas y estroma (109). La cirrosis biliar secundaria es un ejemplo de la colestásis extra-hepática.

b) CIRROSIS BILIAR SECUNDARIA (CBS). La cirrosis biliar secundaria, aparece como consecuencia de la obstrucción prolongada parcial o total, del conducto biliar común o de sus ramas principales. Patológicamente cuando no se elimina la obstrucción de la vía biliar extrahepática se produce:

1. Estasis biliar y áreas focales de necrosis centrolobulillar y necrosis periportal.
2. Proliferación y dilatación de los conductos y conductillos biliares de los espacios porta.
3. Colangitis estéril o infecciosa, con infiltración polimorfonuclear, alrededor de los conductillos biliares.
4. Ensanchamiento progresivo de los espacios porta por edema y fibrosis.

El tiempo necesario para la aparición de cirrosis en niños es de 3 a 12 meses de obstrucción biliar (118). La cirrosis biliar secundaria (CBS) es relativamente poco común, ya que representan el 6 - 8 % de cirrosis estudiados por Gibson y Robertson. En el Instituto Nacional de la Nutrición en un estudio retrolectivo en pacientes con hipertensión portal se encontró que la cirrosis biliar secundaria era responsable de tan sólo un 2% de los casos (121).

La patogénesis es controversial con respecto a la importancia de la obstrucción *per se* y el común acompañante de colangitis que ocasionalmente acompaña a esta enfermedad. En el modelo experimental de ligadura del conducto colédoco, la obstrucción es la causa de la cirrosis ya que si el procedimiento es realizado en forma adecuada no existe colangitis asociada. En humanos las causas más frecuentes son las estenosis post-operatorias o los cálculos, la pancreatitis crónica, la colangitis esclerosante idiopática, los quistes del colédoco y los carcinomas de la vía biliar, del duodeno y del páncreas. Puede ocurrir también en niños con atresia congénita del conducto biliar extrahepático, así como en la fibrosis quística. En humanos parece ser igual de importante la obstrucción como la colangitis asociada.

El hígado de ratas con obstrucción biliar muestra alteración del parénquima lobular con extensa fibrosis y nódulos regenerativos; el tracto portal muestra proliferación de conductos biliares e incremento del tejido conectivo. Puede existir además, necrosis multifocal lobular y un mínimo infiltrado polimorfonuclear periportal (45,157).

Entre los **síntomas** principales de la obstrucción biliar observados en pacientes encontramos:

1. La ictericia que se debe a altos niveles de bilirrubinas en la sangre y que se manifiesta como un color amarillo en la piel, mucosas y conjuntiva. La pigmentación de la esclerótica se atribuye a la riqueza de elastina que posee una especial afinidad por la bilirrubina. En humanos las concentraciones normales de bilirrubina sérica oscila entre los 5 y 17 mmol/L (0.3 a 1.0 mg/dL).
2. El prurito, el cual se debe a la acumulación de ácidos biliares en la piel, observándose en ocasiones escoriaciones dermoepidérmicas (84).
3. Los trastornos de la coagulación que se deben a la incapacidad de las células hepáticas para producir una cantidad adecuada de las proteínas involucradas en la coagulación.
4. La endotoxemia, que es el resultado de la disminución de la depuración hepática de toxinas, las cuales han sido involucradas en muchas de las manifestaciones clínicas de cirrosis, incluyendo insuficiencia renal (38,155,160).

3.5. EFECTOS DE LA CIRROSIS EN PACIENTES.

Los principales complicaciones de la cirrosis son:

1. La hipertensión portal (H°)
2. La ascitis
3. La encefalopatía.
4. Las infecciones
5. El carcinoma hepatocelular

3.5.1. HIPERTENSION PORTAL. El principal factor es un aumento en la resistencia al flujo de la sangre portal a nivel de los sinusoides, debido al depósito perisinusoidal de colágena en los espacios de Disse y el estrechamiento de los sinusoides. La presión en el sistema venoso portal aumenta cuando hay obstáculo para el flujo sanguíneo, lo que puede ocurrir en cualquier punto del sistema o bien a la salida del flujo hepático hacia la circulación sistémica por la vía de las venas suprahepáticas y la vena cava inferior (131).

La etiología de la hipertensión portal es multifactorial (cuadro no. 4). En humanos la presión portal en la vena porta es de 10 a 15 cm de H₂O o bien de 7 a 10 mm de Hg, porque la resistencia vascular de los sinusoides es mínima. El incremento de la resistencia puede producirse a tres diferentes niveles en relación con los sinusoides hepáticos (cuadro 4): 1) Presinusoidal donde la obstrucción se encuentra antes del sinusoide generalmente en la vena porta; 2) Postsinusoidal que puede localizarse fuera del hígado en las venas suprahepáticas, la vena cava inferior y 3) Sinusoidal donde el daño es a nivel del lobulillo hepático (120).

Cuadro no. 4. Etiología de la Hipertensión Portal en la Cirrosis.

- | | |
|--|--|
| I. Secundario a un aumento en la resistencia al flujo sanguíneo. | |
| a) Prehepático (presinusoidal). Trombosis de vena porta | |
| b) Hepático | |
| 1. Presinusoidal | |
| i) Fibrosis hepática congénita | |
| ii) Esquistosomiasis | |
| iii) Enfermedad mieloproliferativa | |
| 2. Sinusoidal | |
| Cirrosis hepática | |
| i) Alcohólica | |
| ii) Viral | |
| iii) Hemocromatosis | |
| iv) Biliar | |
| v) Hepatitis crónica | |
| c) Poshepático (postsinusoidal) | |
| 1. Obstrucción de venas hepáticas (Sx Budd-Chiari) | |
| 2. Pericarditis constrictiva | |
| 3. Insuficiencia cardíaca congestiva | |
| II. Secundario a un aumento en el flujo de la vena porta | |
| a) Fístula arteriovenosa | |

a) Cambios hemodinámicos en cirrosis. La cirrosis está asociada con un espectro de cambios circulatorios: la resistencia vascular periférica se encuentra considerablemente disminuída, al igual que la presión sanguínea arterial, y la frecuencia cardíaca se encuentra generalmente incrementada (94,128). Las alteraciones renales funcionales en cirrosis pueden estar asociados con disturbios hemodinámicos sistémicos (17,50,90-93,138).

b) Varices esofágicas. La formación de varices esofágicas se debe al incremento de la presión, produciendo dilatación en el sistema venoso portal, provocando que la sangre busque o abra otras vías colaterales de retorno venoso hacia el corazón. La sangre busca vías de salida por diferentes caminos, entre los cuales destaca el paso de grandes volúmenes de sangre a venas del esófago, ubicados por debajo de la mucosa. Estas varices hacen prominencia en la luz esofágica lo que provoca que sangren y que se desencadene la muerte al enfermo (118).

3.5.2. ASCITIS. La ascitis es una acumulación intraperitoneal de líquido acuoso que se debe a la combinación de la hipertensión portal y a la disminución en la presión oncótica del plasma, como resultado de la disminución en la síntesis de albúmina por las células hepáticas las cuales favorecen la extravasación de líquido desde el plasma hacia la cavidad peritoneal (3). Su génesis es compleja.

a) Patogénesis de la ascitis y falla renal. Los factores primordiales que afectan la transferencia de líquido entre los compartimentos intravascular y extravascular son:

- i) La presión coloidosmótica efectiva ejercida por la albúmina en suero, la cual se encuentra reducida debido a que la albúmina sérica está disminuída y también a menudo por el efecto opuesto de la albúmina presente en el líquido de ascitis (67-69).
- ii) La presión porta efectiva la cual se encuentra aumentada.
- iii) El bloqueo del flujo hepático que conduce a la pérdida de linfa en el interior de la cavidad peritoneal.

b) Teorías de la formación de ascitis. Para explicar la patogénesis de la formación de ascitis se han propuesto tres teorías: (1) la que postula que la retención de sodio se debe a un fenómeno secundario, (2) la que postula que es a un fenómeno primario y (3) la que postula que el trastorno inicial es una vasodilatación sistémica.

La primera teoría del "llenado insuficiente" sugiere que la alteración inicial es el secuestro de líquido en el lecho vascular esplácnico, debido a la hipertensión portal (HP) y a la disminución del volumen sanguíneo circulante. De acuerdo con esta teoría un descenso aparente del volumen intravascular es detectado por el riñón, el cual responde reteniendo sal y agua. En pacientes cirróticos el volumen plasmático no se encuentra disminuido. En cirrosis experimental, se ha demostrado que la retención de sodio ocurre antes de la formación de ascitis (154) (fig 4).

La segunda teoría del "rebosamiento" sugiere que la anomalía inicial consiste en una retención inadecuada de sal y agua por el riñón en ausencia de la depleción del volumen es decir que la retención del volumen se encuentra generado por un mecanismo puramente renal. De acuerdo a estudios realizados con humanos y en modelos experimentales de cirrosis se ha propuesto que en los primeros estadios del daño hepático la primera alteración extrarrenal significativa está en el incremento de la presión intrahepática, la cual es extensamente transmitida a los sinusoides. De acuerdo a esta teoría, la abundante inervación presinusoidal constituye una área muy apropiada para un barorreceptor esplácnico que favorezca la retención de agua y sodio debido a un reflejo hepatorenal simpático (90,92,93,94). Más recientemente se ha propuesto una teoría que explica que la retención de sodio ocurre por una disminución de la resistencia vascular sistémica (138,151).

3.5.3. ENCEFALOPATIA. La encefalopatía hepática es un complejo síndrome neuropsiquiátrico caracterizado por alteraciones de la conducta y conciencia, trastornos de la personalidad, signos neurológicos fluctuantes, asterixis o temblor aleateante y alteraciones electroencefalográficas, que se desarrolla como consecuencia de la insuficiencia hepática y de la derivación porto-sistémica de la circulación. La encefalopatía hepática se presenta fundamentalmente en la cirrosis hepática o en cuadros clínicos asociados, tales como cirugía derivativa portosistémica, hepatitis alcohólica y/o neoplasias del hígado (39-41,118,155).

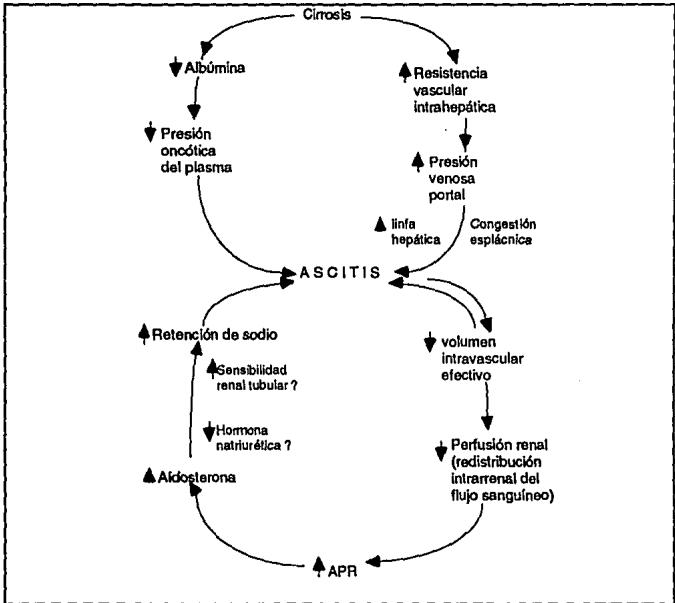


Fig.5. Factores implicados en el desarrollo de la ascitis.

Los factores patogénicos más importantes son la disfunción hepatocelular intensa y el cortocircuito intra o extrahepático de sangre venosa portal hacia la circulación sistémica (54). Como consecuencia de estos trastornos, diversas sustancias tóxicas absorbidas en el intestino no son detoxificadas por el hígado y originan alteraciones metabólicas del sistema nervioso central.

El amoníaco es la sustancia involucrada con mayor frecuencia en la patogenia de la encefalopatía. Otros compuestos y metabolitos que pueden colaborar al desarrollo de la encefalopatía son los mercaptanos, los ácidos grasos de cadena corta, el fenol y el ácido gamma-aminobutírico (39-41) (cuadro no 5).

Cuadro no. 5. Factores desencadenantes de encefalopatía hepática.

- | |
|--|
| 1- Aumento de la sobrecarga de nitrógeno |
| a) Hemorragia gastrointestinal |
| b) Exceso de proteínas en la alimentación |
| c) Insuficiencia renal |
| d) Estreñimiento |
| 2- Desequilibrio electrolítico |
| a) Hipokalemia |
| b) Alcalosis |
| c) Hipoxia |
| d) Hipovolemia |
| 3- Medicamentos |
| a) Opiáceos, tranquilizantes, sedantes |
| b) Diuréticos |
| 4- Diversos |
| a) Infección |
| b) Intervenciones quirúrgicas |
| c) Enfermedades hepáticas agudas |
| d) Enfermedades hepáticas progresivas. |
| e) Obstrucción extrahepática de las vías biliares |

4. MODELOS EXPERIMENTALES DE CIRROSIS

Debido a la alta morbimortalidad en cirrosis, se han diseñado diversos modelos experimentales para el estudio y conocimiento de los trastornos fisiológicos, hemodinámicos e histopatológicos que ocurren en la cirrosis hepática. Existen diversos modelos que han sido propuestos para inducir cirrosis experimental de los cuales solo dos han sido utilizados ampliamente: el modelo de cirrosis micronodular por medio de la exposición crónica al tetracloruro de carbono y el modelo de cirrosis biliar por ligadura del conducto biliar (colédoco) (107,124,125).

4.1. CIRROSIS INDUCIDA POR AGENTES TOXICOS.

Diversos agentes tóxicos producen necrosis hepatocelular, e inducen una cirrosis si estos son administrados en dosis repetidas y prolongadas (34). La respuesta al agente tóxico es variable en cada animal, por lo que se debe ajustar la dosis individualmente. Los mecanismos de hepatotoxicidad y los factores predisponentes aún no están claros. La hepatotoxicidad puede estar relacionada a la droga misma o bien a los metabolitos derivados de su transformación dentro de la reacción química. La transformación de estas drogas liposolubles a metabolitos reactivos se lleva a cabo en el citocromo P-450 (87).

4.1.1. Tetracloruro de Carbono (CCl₄)

Este modelo de cirrosis micronodular consiste en la administración de múltiples dosis de CCl₄ por vía subcutánea, intramuscular, inhalada, intraperitoneal y más recientemente a través de tubo gástrico (124,125). El efecto tóxico del agente depende de la dosis administrada; en la rata adulta la dosis mínima eficaz es de 0.02 ml/kg y la administración del pentobarbital sirve como agente inductor. La dosis administrada intraperitonealmente es de 0.1 ml 2 veces por semana (117), con la administración concomitante de pentobarbital dentro del agua de beber (0.5 g/L). Por último la administración por vía intragástrica usando una cánula, se realiza en dosis progresivas una vez por semana (de 0.04 ml a 0.2 ml por 8 semanas) (124,125).

El mecanismo para la inducción hepática de necrosis se debe al daño de la membrana plasmática, las membranas del retículo endoplásmico y otros organelos por el CCl_4 no metabolizado, así como por radicales libres (CCl_3) generados por el citocromo P-450 y por radicales libres secundarios. Durante el proceso se forman lipoperóxidos en las membranas, trayendo como resultado una pérdida de potasio, enzimas y coenzimas, y una ganancia celular de sodio y calcio, causando así la necrosis (163) (Figs. 6 y 7).

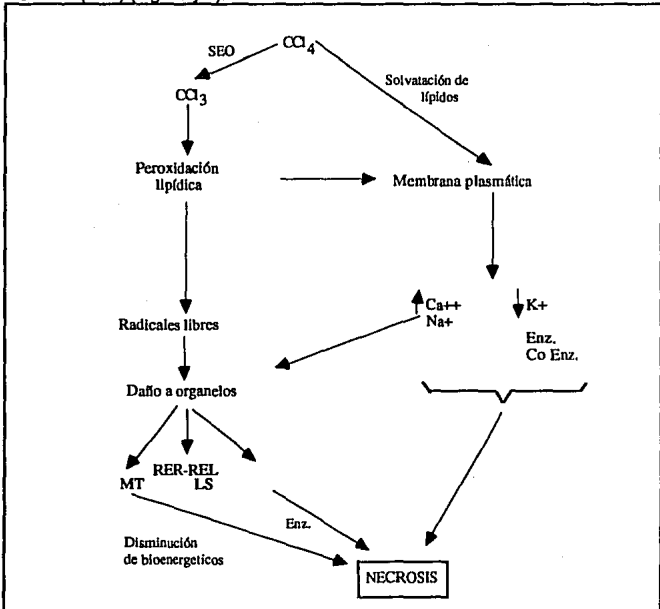


Figura No. 6. Mecanismo de inducción de necrosis por Tetracloruro de Carbono. CCl_4 = tetracloruro de carbono; RER = retículo endoplásmico rugoso; REL = retículo endoplásmico liso; MT = mitocondrias; LS = lisosomas; SEO = sistema enzimático de oxidación.

Fuente: Zimmerman H.J. Hepatotoxicity. New York, Appleton-Century-Crofts, 1978:205

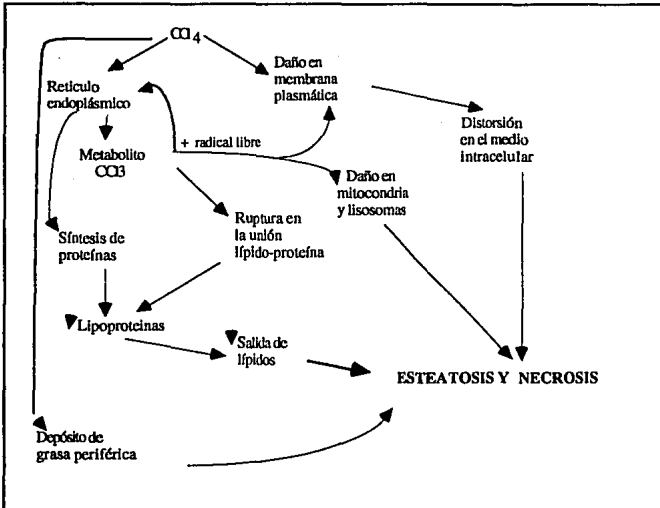


Fig. 7. Probables mecanismos de daño hepático por CCl₄.

Fuente: Zimmerman H.J. Hepatotoxicity, New York, Appleton-Century-Crofts, 1978:208

Entre las alteraciones macroscópicas se observa esplenomegalia importante (de 2 a 5 veces del volumen normal) y la formación de líquido de ascitis (117). Desde el punto de vista histológico existe fibrosis, formación de nódulos de regeneración y proliferación ductular.

Las alteraciones bioquímicas características son: un incremento de aminotransferasas y fosfatasa alcalina (157), así como la formación excesiva de colágena tipo I secretada por los hepatocitos y los fibroblastos y la colágena tipo III secretada por los fibroblastos. Además, existen datos que indican que a partir de la 4a. a la 6a. semana hay síntesis de colágena tipo IV.

En 1969 Alberto Huberman (68,69) propuso dos fases para el desarrollo de fibrosis en ratas cirróticas por tetracloruro de carbono (CCl₄):

- 1) La condensación o colapso del estroma hepático pre-existente y
- 2) La inducción de proliferación de fibroblastos y depósito de colágena.

Las alteraciones hemodinámicas que se observan son las siguientes: una disminución en la presión arterial media y un incremento en la presión portal entre 12 y 16 mm Hg, existiendo una hipercinecia circulatoria, caracterizada por un incremento en el ritmo cardíaco y una disminución de la resistencia vascular periférica. La formación de líquido de ascitis es variable, entre 10 y 100 ml (36,52,95,117).

El desarrollo de la cirrosis está acompañada de una disminución en la excreción urinaria de sodio, la cual precede a la aparición de ascitis (96).

Limitaciones del método con CCl₄

Las limitaciones del método de cirrosis por CCl₄ son las siguientes:

- 1) Participación de la susceptibilidad individual de cada uno de los animales al CCl₄, lo cual puede desarrollar en algunos animales cirrosis intensa y en otros solo puede mostrar cambios mínimos en tejidos.
- 2) La mortalidad elevada, llegando a alcanzar del 50 a 75% entre las 10 a 12 semanas de la intoxicación (117).

Sumado a esto tenemos que éste método toma un largo tiempo para el desarrollo de cirrosis. Algunos autores han observado desarrollo de fibrosis cuando la inhalación es por 10 semanas (148), y otros han observado que el desarrollo de cirrosis puede presentarse 13 semanas después de la inhalación de CCl₄ (10,101). Fischer-Nielsen y colaboradores (52) han observado que las ratas tratadas con CCl₄ muestran una cirrosis hepática micronodular después de 12 semanas de tratamiento.

4.1.2. Dimetil-nitrosamida

La dimetil-nitrosamida es un agente alquilante carcinogénico recientemente utilizado para inducir cirrosis experimental. Se ha observado que bajas dosis de dimetil-nitrosamida (1% = 10 μ l / Kg 3 días por semana durante 3 semanas) inducen una rápida formación de cirrosis micronodular (75,76,77). Kawasaki S y colaboradores (80) reportaron que la administración a dosis de 0.2 a 0.3 ml / 24 h dos veces consecutivas por semana provoca una cirrosis en 6 a 8 semanas. Este modelo se caracteriza por alteraciones bioquímicas como la elevación de bilirrubina, fosfatasa alcalina, gama-glutamilttransferasa y alanina-amino transferasa y la disminución de las protefna totales, la albúmina y las globulinas (74,80).

Se han observado alteraciones hemodinámicas como un incremento en la presión portal hasta de 22.6 mm Hg (74). Existe también hipercinesia circulatoria caracterizada por una elevación del ritmo cardiaco, una disminución de la presión arterial media y de la resistencia vascular periférica. La formación de ascitis aparece alrededor de la 10a a 12a semana de intoxicación.

La retención de sodio aparece alrededor de las segunda semana después del desarrollo de la cirrosis la cuál precede a la formación de ascitis (90,92).

La cirrosis inducida por dosis bajas de dimetil-nitrosamida en ratas es de tipo micronodular por lo que es un modelo reproducible mostrando similitudes con lo observado en la cirrosis alcoholica en humanos (76), por lo que podría ser apropiado para el estudio de eventos asociados con el desarrollo de fibrosis. En cuanto a los cambios observados en la hemodinamia hepática a largo tiempo de tratamiento, sugiere un origen sinusoidal de la hipertensión portal, similar a los de enfermedades hepáticas relacionadas con alcohol (75,76,77).

Limitaciones del método con dimetilnitrosamina.

Este modelo tiene los siguientes inconvenientes:

- 1.- Las células dañadas pueden recuperarse si el tiempo de intervalo entre dosis y dosis es prolongada, por el efecto no acumulativo de la toxina.
- 2.- La respuesta individual del animal para los componentes hepatotóxicos es variable, ya que algunos animales exhiben fibrosis mínima y otros pueden desarrollar cirrosis rápidamente.
- 3.- La alta mortalidad puede ser mayor a un 60%
- 4.- La carcinogenicidad de la dimetil-nitrosamida obliga a ser muy cuidadoso con el manejo del compuesto.

4.2. CIRROSIS POR LIGADURA DEL CONDUCTO BILIAR (COLEDOCO).

La cirrosis puede desarrollarse después de una colestásis prolongada secundaria a una obstrucción de los canalículos biliares. La técnica habitualmente utilizada consiste en la ligadura y sección del conducto biliar (coledoco). Los primeros estudios aparecieron aproximadamente hace 14 años (82). La técnica para la obstrucción del conducto colédoco fué descrita por Acatino en 1979 (1,2) en sus estudios de colerésis postcolestática (obstrucción por dos o más semanas), la que permite que el flujo biliar sea restablecido subsecuentemente.

El tiempo para el desarrollo de cirrosis después de la ligadura aún no ha sido bien establecido. Algunos autores han encontrado que la cirrosis se desarrolla después de 3 a 5 semanas (24) y otros muestran evidencias de cirrosis a partir de los 14 a 40 días de obstrucción total (53,64,82,98,121) en ratas. El peso corporal en ratas disminuye progresivamente alrededor del 20 a 25 %.

Los cambios morfológicos encontrados en cirrosis experimental en animales de laboratorio, principalmente en perros y ratas son infiltrado neutrofilo, proliferación marginal de conductillos, edema y fibrosis, los cuales son similares a los observados en humanos con cirrosis biliar extrahepática (30,64,113,122,157). De las diversas proteínas que constituyen la fibrosis, la colágena es la más importante y se considera el mayor componente de la matriz intersticial (57,146).

En estudios experimentales en ratas con ligadura del conducto biliar se ha evidenciado un incremento progresivo de colágena tipo I principalmente y colágena tipo III, así como la presencia de mucopolisacáridos del tejido conectivo (61). En ratas con daño hepático producido por sustancias tóxicas se ha observado también un incremento de 2 a 6 veces en el contenido de colágena en el hígado (27, 68,142,146,153). El tejido fibroso comprime estructuras vasculares y se extiende hacia el lobulillo formando nódulos de regeneración que en conjunto dan al hígado una consistencia dura y nodular. La fibrosis ocasiona disminución del espacio sinusoidal lo cual aumenta la resistencia vascular intrahepática, uno de los factores condicionantes de la hipertensión portal.

Se ha encontrado elevación de bilirrubinas durante las primeras semanas, después tiende a estabilizarse a valores comprendidos entre 40 a 70 mg / L. Se ha observado también elevación de amonio, aspartato aminotransferasa (AAT) y fosfatasa alcalina, comparada con ratas normales (157). Junto con la ascitis generalmente se ha encontrado hipoalbuminemia.

La presión portal se eleva progresivamente a valores entre los 12 y 18 mm Hg en perros y de 13 a 15 mm Hg en ratas (22,53). En general existe una importante circulación colateral visible, en perros se ha observado la presencia de varices esofágicas (22,145). Franco, en 1979, encontró que después de un mes las ratas presentan cirrosis asociada a hipertensión portal y alteraciones hemodinámicas. Se ha observado también una hipercinesia circulatoria caracterizada por una elevación del ritmo cardíaco y una disminución de la resistencia vascular periférica. La resistencia vascular esplácnica se encuentra disminuída y el flujo sanguíneo esplácnico aumentado. La presión arterial media no se modifica (22,53).

En relación a la función renal, en perros se ha observado que existe una retención de sodio y un aumento del volumen plasmático habitualmente de 10 a 14 horas después del desarrollo de la ascitis. Existe también una elevación significativa de la aldosterona (154,157,158).

Las técnicas para este modelo son fáciles de realizar permitiendo su reproducción en cualquier laboratorio, además de que es un modelo que ayuda al estudio de la hipertensión portal (11,125), secreción de bilis durante diferentes estadios de la cirrosis biliar secundaria (82), evaluación de fármacos (30,83,113,122) y estudio de la fisiopatología de la hipertensión portal (19,73,122,123).

5.. CIRROSIS Y FUNCION RENAL

La retención de sodio y agua son de las anomalías más frecuentes de la función renal en cirrosis (99,104,105,129,139). La formación de ascitis depende de las alteraciones hemodinámicas, tanto la hipertensión portal como la vasodilatación arteriolar, la hipotensión arterial y la elevación del ritmo cardíaco (3,6,7,119,140).

Los factores renales también desempeñan un papel importante en la perpetuación de la ascitis. Se ha observado que los pacientes con ascitis son incapaces de excretar una sobrecarga hídrica con normalidad, existiendo un aumento de la reabsorción renal de sodio, tanto en el túbulo proximal como en el distal donde, en este último, la causa primordial es el hiperaldosteronismo secundario y el aumento de la actividad plasmática de renina. También puede contribuir a la retención de sodio la vasoconstricción renal, que podría deberse a un aumento de las concentraciones plasmáticas de prostaglandinas o bien de las catecolaminas (151).

5.1. Metabolismo del sodio en la cirrosis. En condiciones normales únicamente una pequeña fracción del sodio filtrado por el glomérulo aparece en la orina (0.5% aproximadamente) (16).

El balance del sodio se encuentra determinado por los cambios en la perfusión renal o por diversos factores hormonales y neuronales. Los pacientes con cirrosis muestran una disminución en la filtración glomerular (GFR), debido a la reducción en el flujo sanguíneo, la cual se atribuye a una hipovolemia efectiva relacionada con el incremento en la presión oncótica y a la disminución en presión hidrostática.

Wilkinson y colaboradores en 1979 (160) demostraron que en pacientes cirróticos con balance positivo de sodio y perfusión renal intacta, el sitio para la absorción anormal de sodio es la nefrona distal.

5.2. Mecanismos de la reabsorción tubular del sodio. El sodio se filtra libremente en el glomérulo. Se sabe que de un 60 a un 70% del sodio filtrado es reabsorbido en el túbulo proximal (7,138). El sodio ingresa a la célula del túbulo proximal por medio de transportadores de la membrana luminal (Na-H, cotransporte de sodio y glucosa o cotransporte de sodio y aminoácidos) y por difusión simple. Dentro de la regulación de la excreción renal de sodio se encuentran involucrados: la aldosterona, los agonistas beta-adrenergicos y la renina. Una disminución de la aldosterona reduce la reabsorción de sodio a nivel de la nefrona distal, lo que se refleja en una mayor excreción de sodio (104,139,140). En el paciente cirrótico el incremento en el tono simpático induce vasoconstricción y la hipoperfusión renal secundaria estimula la secreción de renina que a su vez aumenta la reabsorción de sodio, a través de la aldosterona (fig 8) (7,8).

5.3. Sistema renina-angiotensina-aldosterona. La renina, la angiotensina y la aldosterona constituyen un sistema en cascada que juegan un papel primordial en la homeostásis de la presión sanguínea y en la regulación del volumen sanguíneo circulante (32,150). La actividad del sistema renina-angiotensina (SRA) se encuentra controlada principalmente por la renina (103) y por el angiotensinógeno los cuales son secretados por el riñon e hígado, respectivamente y que interactúan en plasma para formar la angiotensina I, la cual es hidrolizada por la enzima convertidora de angiotensina I para formar el péptido biológicamente activo del sistema, angiotensina II (62,71,150).

5.3.1. Renina. La renina es una carboxiproteasa muy específica que rompe la unión Leucina-Leucina en la posición 10-11 del angiotensinógeno (49). Es una enzima estable con un peso molecular entre 37,000 y 43,000 y una vida media de 20 minutos. Su síntesis, almacenamiento y secreción se lleva a cabo en las células yuxtglomerulares del riñon, en las células mioepiteliales diferenciadas, localizadas en el extremo distal de la arteriola aferente en contacto con la porción inicial del túbulo distal (mácula densa) en humanos (28). Es sintetizado también por células endoteliales vasculares de bovino, perro y por la arteria mesentérica de rata (32).

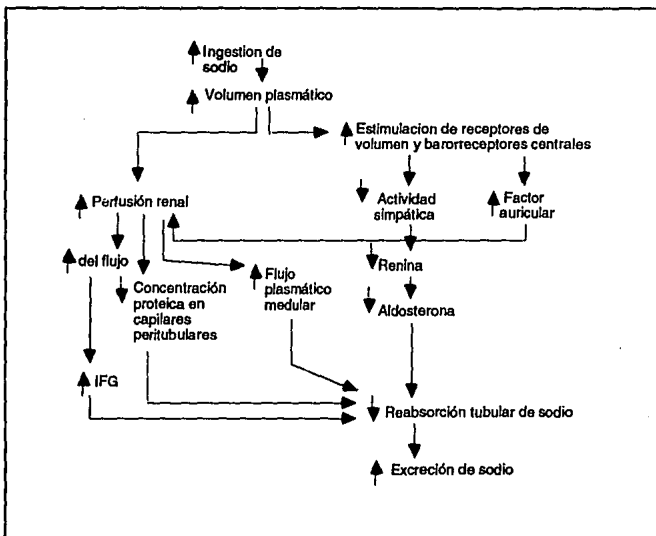


Fig. 6. Regulación de la excreción renal de sodio en condiciones normales (IFG= índice de filtración glomerular)

La renina es liberada a la sangre por diferentes mecanismos:

1. Mecanismos renales que incluyen receptores vasculares renales y aquellos localizados en la mácula densa.
2. Mecanismos simpáticos que incluyen nervios renales y catecolaminas
3. Mecanismos humorales, donde incluimos prostaglandinas, vasopresina, angiotensina II y electrolitos.

El riñón es la fuente principal de la renina, aunque se ha encontrado en otros tejidos como cerebro, músculo liso y uterino, placenta y en algunos tumores. También se ha encontrado en tejido coriónico humano, glándula submandibular, testículo, adrenales y en cerebro de ratón (32).

La interrelación entre la renina y la aldosterona ha sido caracterizada en un gran número de estudios en animales y en humanos, en condiciones normales y patológicas haciendo evidente que dicho sistema sirve para mantener normal la presión arterial y el equilibrio electrolítico. El mecanismo de operación del sistema renina-aldosterona se muestra en la fig 9. El riñón secreta renina en respuesta a diferentes estímulos, la renina en plasma es envuelta en una cadena de reacciones llegando a la formación de angiotensina II, la cual eleva rápidamente la tensión arterial al producir vasoconstricción arteriolar.

Al mismo tiempo la angiotensina II estimula la liberación de la aldosterona por la corteza suprarrenal, promoviendo la retención de sodio y esto a su vez aumenta el efecto presor de la angiotensina II. El aumento de la retención de sodio junto con el incremento del volumen extracelular cortan la señal inicial para la liberación de la renina.

5.3.2. Angiotensina II. Es la principal hormona efectora del sistema y es un potente vasoconstrictor renal que produce una disminución del flujo sanguíneo renal, de la filtración glomerular y de la excreción de sodio y agua y su acción es a nivel del músculo liso arteriolar. Tanto su efecto sobre la aldosterona como sobre la hormona antidiurética y por su acción dipsogénica, llevan a la retención de agua y sal. La angiotensina II también tiene un efecto inhibitorio sobre la secreción de la renina, modulando así su propia concentración (49).

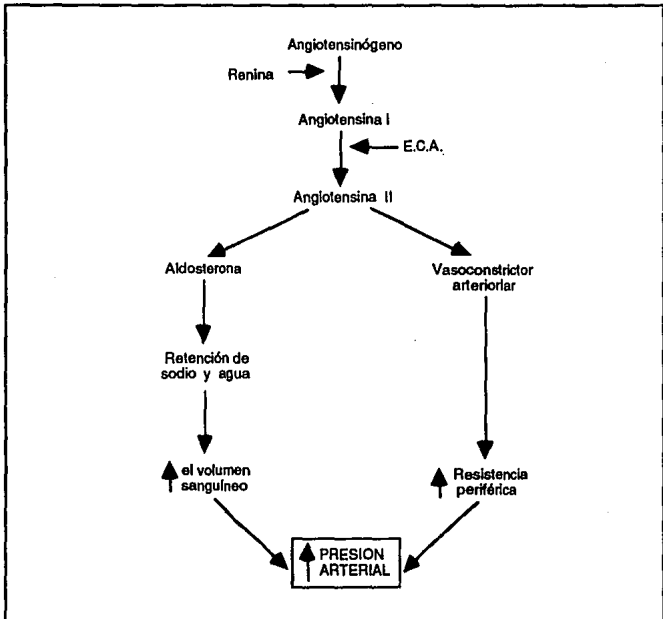


Fig. 9. Mecanismo de operación del sistema renina-angiotensina-aldosterona.

5.3.3. Aldosterona. La aldosterona es un potente mineralocorticoide que participa en el equilibrio hidroelectrolítico, ya que estimula la retención de sodio y agua y la excreción de potasio e hidrógeno. Su acción es a nivel del túbulo contorneado distal, aumentando la reabsorción de sodio, con la pérdida de potasio e hidrógeno (49).

En relación a su papel en la cirrosis hepática, en 1969 Coppage (29) documentó por primera vez un incremento en los niveles urinarios de aldosterona en presencia de ascitis y en 1986 (15) Bernardi observó una correlación inversa, estadísticamente significativa entre la concentración de aldosterona plasmática y la excreción urinaria de sodio en humanos.

El papel que juega la aldosterona en la mediación de la retención de sodio en cirrosis es importante, un marcado hiperaldosteronismo induce o puede inducir a una disminución significativa en la excreción renal de sodio. Una evidencia del papel de la aldosterona en la retención de sodio en la cirrosis es la eficacia natriurética de la espironolactona la cual permite obtener un balance negativo de sodio (113).

El sistema renina-angiotensina-aldosterona ha sido reconocido como un potente regulador del sistema hemodinámico y homeostático sobre las condiciones fisiológicas y patológicas (160). En cirrosis avanzada existe una estimulación paralela del renina-angiotensina, sistema simpático y del sistema arginina vasopresina (9,16,19,64). El hiperaldosteronismo es de mayor importancia en la retención de sodio y en la formación de ascitis en cirrosis. En ratas con inducción de cirrosis por CCl_4 se ha observado que existe un relación directamente proporcional entre el hiperaldosteronismo y la retención de sodio (18,48).

5.4. Excreción del sodio y su regulación por la aldosterona. El filtrado glomerular generado en 24 horas contiene aproximadamente 26000 mEq de sodio, a pesar de lo cual, la ingesta media diaria de este catión es sólo de 150 mEq. La principal función de los túbulos renales en la homeostasis del sodio es la reabsorción y no la secreción. Cuando el líquido tubular alcanza el túbulo distal se ha reabsorbido ya un 92% del sodio. Aproximadamente un 65% se reabsorbe en el túbulo proximal, en la porción ascendente gruesa del asa de Henle se reabsorbe aproximadamente otro 27% de sodio, dejando tan solo un 8% de este catión sin reabsorber en el momento de su entrada a los túbulos distales. Cuando éste entra en los túbulos distales la concentración de sodio es de 30 a 40 mEq/L.

Los túbulos proximales y las asas de Henle son los principales responsables de recuperar el sodio que llega al sistema tubular tras ser filtrado en los glomerulos, conservando de esta forma el sodio en el organismo (60).

La reabsorción de sodio en la parte final de los túbulos distales y en los túbulos colectores corticales es muy variable. Está controlada principalmente por la concentración sanguínea de aldosterona, la cuál se sintetiza en la llamada zona glomerular de la corteza externa de las glándulas suprarrenales (60). En presencia de grandes cantidades de aldosterona, prácticamente todo el sodio presente en el líquido tubular se reabsorbe, de forma que su concentración en la orina es muy baja. En ausencia de aldosterona, casi todo el sodio que entra en los túbulos distales (es decir unos 80 mEq/día), queda sin reabsorber y se elimina; cuando el volumen extracelular disminuye el efecto resultante es un descenso en la presión arterial y un incremento de la actividad del sistema nervioso simpático. Ambos mecanismos disminuyen el flujo renal, estimulando la liberación de renina, la cuál induce a la formación de angiotensina I que se convierte en angiotensina II, y que tiene un efecto directo sobre las células de la zona glomerulosa, aumentando la secreción de aldosterona (141,150). Se conocen tres factores diferentes que estimulan su secreción :

1. El aumento de la concentración circulante de angiotensina II
2. El aumento de la concentración de potasio en el líquido extracelular y
3. La disminución de la concentración de sodio en el líquido extracelular.

5.5. Síndrome Hepatorrenal (SHR). El síndrome hepatorrenal es una complicación de la hepatopatía avanzada en la que se produce una insuficiencia renal en ausencia de pruebas clínicas, de laboratorio o anatómicas de otras causas de disfunción renal. La insuficiencia renal suele asociarse con oliguria, un sedimento urinario inactivo y bajas concentraciones de sodio urinario (menos de 10 mmol/L). El síndrome hepatorrenal es propio de pacientes cirróticos con ascitis, su causa exacta se desconoce pero parece que interviene una alteración de la hemodinámica renal (129). Histológicamente y macroscópicamente los riñones presentan una estructura normal (128,129).

5.6. Fisiopatogénesis de la disfunción renal en cirrosis. La disminución progresiva del volumen urinario (oliguria) en fallas renales, solo se observa en el curso de enfermedades hepáticas avanzadas. Se han propuesto varias hipótesis para explicar esta disfunción (150):

- 1.- Alteraciones del sistema renina-angiotensina
- 2.- Incremento de la actividad del sistema nervioso simpático
- 3.- Alteraciones en prostaglandinas (PGs)
- 4.- Cambios en el sistema Calicreína-cinina
- 5.- Endotoxinas.

a) Sistema renina-angiotensina. Los pacientes con cirrosis manifiestan frecuentemente marcadas elevaciones de los niveles de renina en el plasma. Esta elevación se atribuye en parte a la disminución de la inactivación hepática de la renina. Los mecanismos de activación del sistema renina-angiotensina se encuentran implicados en la vasoconstricción renal y en la disminución de la filtración glomerular (GFR) que se observa en pacientes con cirrosis (4,70). En relación a su participación dentro de la disfunción renal, se ha observado que existe una relación entre la concentración plasmática de sodio y potasio y los niveles de renina, y que las prostaglandinas estimulan la secreción de la renina (49).

b) Sistema nervioso simpático. Existen evidencias de que el sistema nervioso simpático juega un papel vital en la hemodinamia renal y en la retención de agua y sodio en la cirrosis avanzada (127,128). Un incremento en la actividad del sistema nervioso simpático (ASNS) puede contribuir a la disfunción renal en cirrosis, ya que tiende a producir vasoconstricción renal y a una disminución en la filtración glomerular. Las alteraciones en el sistema nervioso simpático (SNS) no han sido aún conclusivas (37,47). El sistema nervioso simpático puede modular la excreción de sodio a través de diversos mecanismos de vasoconstricción intrarenal, de receptores alfa, mediadores de la absorción tubular proximal de sodio y de los receptores beta, mediadores de la secreción de renina. Diversos autores han reportado incremento en los niveles plasmáticos de norepinefrina en cirrosis con ascitis (64). De hecho existe una correlación negativa entre la concentración plasmática de norepinefrina y la excreción urinaria de sodio en pacientes con cirrosis avanzada (19).

c) **Prostaglandinas.** Existen datos que sugieren la posible participación de un desequilibrio entre diferentes metabolitos del ácido araquidónico (prostaglandinas y tromboxanos) (128,129,150). Diversos investigadores han demostrado que la administración de inhibidores de la síntesis de prostaglandinas (PG) induce decrementos significativos en filtración glomerular y en la excreción urinaria de sodio (55,126,136). La disminución en la excreción urinaria de prostaglandinas vasodilatadoras en el síndrome hepatorenal (SHR) puede ser el resultado de la disminución en la función renal (8,51,115,138).

d) **Sistema kallireína-cinina.** Existe la posibilidad de que este sistema pueda contribuir claramente a la mediación de la falla renal en enfermedades hepáticas y del curso de la endotoxemia (114,115,116,138,161)

e) **Endotoxinas.** La endotoxemia sistémica puede participar en la patogénesis de la falla renal de la cirrosis (59,156,159). Las endotoxinas son potentes vasoconstrictores renales, liberadas dentro de la circulación sistémica de forma natural o quirúrgicamente, creando derivaciones portosistémicas (159,59). En pacientes con obstrucción biliar se ha reportado en un 25 a 75% la incidencia de endotoxemia (59). Aunque el papel de las endotoxinas en la contribución con el desarrollo de falla renal es aún incierta (38,59).

6. PRESION COLOIDSMOTICA (PCO), ALBUMINA Y CIRROSIS.

6.1. Presión coloidsmótica (PCO). La presión oncótica al igual que la presión de vapor, el punto de ebullición, el punto de congelación, y la tensión superficial son las propiedades coligativas de las sustancias, las cuales dependen del número de moléculas (concentración) y no de las características de las mismas (67,102). La presión coloidsmótica es la que ejercen los coloides a través de una membrana que permite el paso libre de los cristaloides, e impide el paso de los coloides y que va a estar dada por la cantidad de macromoléculas circulantes (134).

La presión oncótica depende principalmente de la concentración de proteínas plasmáticas; también depende de la presión de hidratación de las proteínas, de su grado de disociación electrolítica, de la proporción entre globulinas y albúmina (donde esta ejerce mucho más poder oncótico) y del pH del medio (151). También influyen en la determinación de la presión coloidsmótica la hemólisis, la centrifugación, la temperatura, el pH del plasma, y del sitio de extracción de la muestra, posición y ejercicio muscular, edad y sexo (20,44,85).

6.2. Albúmina. La albúmina es el coloide de mayor poder oncótico, ya que aunque constituye sólo el 50 - 60% del total de las proteínas plasmáticas contribuye con el 80% de la presión coloidsmótica (67); su peso molecular es de 66 000 - 69 000 y está constituida por 575 aa, con una vida media en el hombre de 20 días. Las globulinas, por su concentración en el plasma circulante, ocupan el segundo lugar en importancia en el mantenimiento de la presión coloidsmótica (25,44,67,102,152). La determinación de la concentración de albúmina sérica es útil en el diagnóstico de varios desórdenes clínicos. Como se sabe, los niveles de albúmina sérica se encuentran disminuidos en ciertos casos de ascitis, estadios avanzados de enfermedades crónicas hepáticas y diabetes mellitus, entre otras.

La concentración de la albúmina es el resultado de tres procesos:

1. **Síntesis**, que está influenciado por el tipo de nutrición, aminoácidos específicos, hormonas y la presión oncótica. Se sintetiza en el retículo endoplásmico rugoso del citoplasma del hepatocito.
2. **Distribución**. Es transportada del retículo endoplásmico al aparato de Golgi y de allí al plasma a través del sinusolde en condiciones normales.
3. **Degradación** que se produce en 3 sitios
 - a) tracto gastrointestinal
 - b) riñones
 - c) espacio intercelular, especialmente en hígado.

Los niveles de albúmina han sido consideradas como índice de la capacidad de síntesis del hígado. En las afecciones agudas de hígado la concentración de albúmina es normal al inicio, disminuye moderadamente en la etapa crónica y desciende marcadamente en los pacientes graves. En 1946 Bjørnboe (21) fue el primero en observar una disminución recíproca en el contenido de albúmina del plasma ante una elevación de las globulinas séricas en pacientes con hepatitis, lo que sugirió que los niveles bajos de la albúmina no se debían a una incapacidad de la síntesis, sino a una respuesta apropiada al cambio en el contenido coloidal del plasma. En la cirrosis hepática natural o experimental, existe una disminución de la albúmina circulante y una elevación de las globulinas, aún en presencia de una síntesis normal o alta de albúmina (67,69).

Experimentalmente, se ha demostrado que la síntesis de albúmina disminuye si aumenta el contenido coloidal del plasma por hipergamaglobulinemia producida por hiperinmunización o por la infusión de moléculas como gamaglobulina, dextran o sacarosa que son moléculas con actividad osmótica (67,68). En la cirrosis, la presión coloidosmótica se encuentra reducida, debido a que la albúmina sérica se encuentra baja (86).

Los factores que se han involucrado como causantes de la disminución de la producción de albúmina son:

1. El decremento en el aporte hepático de nitrógeno.
2. La poca disponibilidad de aminoácidos indispensables para el hígado.

3. Los bajos niveles de tiroxina y esteroides en el plasma.
4. Un mecanismo de retroalimentación negativa con la presión oncótica del intersticio hepático (102), es decir a mayor PCO, menor síntesis de albúmina.

6.3. Importancia de la presión coloidosmótica (PCO) en la clínica. La importancia que tiene la medición de la presión coloidosmótica es para conocer y comprender situaciones clínicas y para instaurar terapéuticas en diversos pacientes (132). En enfermos en estado crítico hay numerosas condiciones que alteran la presión coloidosmótica, la cuál es importante para el intercambio de líquido a nivel de los capilares de todo organismo. A estas alteraciones sobrevienen la posible acumulación de agua en el intersticio y un mal funcionamiento de los órganos.

La presión coloidosmótica es una medida predictiva efectiva empleada en pacientes con enfermedades pulmonares, en pacientes nefróticos, cardíacos, cirróticos y en pacientes con retención de agua (5,135). También ha sido empleada en procedimientos quirúrgicos, ya que una disminución significativa en la presión coloidosmótica es importante para la restitución del volumen intravascular (66). En enfermos con hipoalbuminemia aguda, el empleo de concentrados de albúmina o de plasma, para aumentar la presión coloidosmótica intercapilar, evita la formación de edema intersticial, lo cual es importante a nivel pulmonar, ya que el acúmulo de líquidos en el intersticio de este órgano provoca un bloqueo alveolo-capilar, con el consecuente deterioro en el intercambio gaseoso y en la ventilación (26,100).

En enfermos con sepsis se ha observado que la mortalidad está relacionada con la disminución de la presión coloidosmótica. Existe en estos una salida de proteínas séricas por el peritoneo inflamado y una reducción en la síntesis de albúmina, lo que causa la disminución de la presión coloidosmótica aguda intravascular (26).

Por último se ha observado que la medición de la presión coloidosmótica en pacientes con cirrosis, durante cateterismo, es un buen predictor de riesgo y desarrollo de ascitis (63).

CAPITULO II. JUSTIFICACION

La gran cantidad de enfermos con cirrosis hepática justifica el interés en el estudio de sus perturbaciones morfológicas, funcionales y hemodinámicas.

Se calcula una prevalencia de 100,000 a 200, 000 enfermos cirróticos en la República Mexicana. Del número total de pacientes atendidos en el INNSZ de 1947 a 1975 un 2.85%, correspondía a la cirrosis, encontrándose de este valor hasta en un 26.2% en series de autopsias. En el Hospital General de la SSA se encontrarán un 12.9% casos de cirrosis de un total de 9,412 autopsias. De este gran número de pacientes con cirrosis el 55.7% fué secundario a la ingesta de alcohol y el 36.6% fué secundaria a infección viral, siendo el 62% en personas con una edad de 41 a 60 años (155). En nuestro medio la causa más frecuente de cirrosis es la alcohólica (42%), siguiéndole en frecuencia la de origen viral (33%), encontrando la cirrosis biliar secundaria dentro de las cinco causas más frecuentes con un 2% (121). Este gran número de pacientes cirróticos ocasiona diversas incapacidades médicas que repercuten en grandes pérdidas económicas para el país, por lo que es deseable profundizar en el estudio y prevención de esta enfermedad. En este trabajo se hará especial incapié en la cirrosis biliar extra-hepática (CBS)

CAPITULO III. OBJETIVOS

Generales:

- Contribuir al estudio morfológico, funcional y hemodinámico de un modelo de cirrosis experimental en ratas.
- Evaluar la función renal durante el proceso cirrogénico inducido por la ligadura del conducto colédoco en ratas macho cepa Wistar a diferentes intervalos de tiempo (de una a cuatro semanas de obstrucción biliar)
- Estudiar las relaciones existentes entre hemodinamia sistémica (PAM, FC), esplácnica (PP) y función renal con las alteraciones histológicas y bioquímicas inducidas por ligadura del conducto colédoco.

Particulares:

- Observar si el inicio de la retención de sodio se encuentra relacionado cronológicamente con la disminución en la presión arterial o con el incremento en la presión portal.
- Determinar si el hiperaldosteronismo se encuentra relacionado con el incremento en la presión portal o bien con la disminución en la presión arterial.
- Conocer la evolución de la PCO y de los niveles séricos de proteínas durante el proceso cirrogénico.
- Establecer si existe correlación entre los valores de la PCO y de las proteínas séricas en ratas con obstrucción biliar.
- Investigar si las alteraciones hemodinámicas determinan cambios en la PCO en ratas con obstrucción biliar experimental.
- Conocer la relación entre el depósito de colágena y la magnitud del incremento en la presión portal.
- Determinar la variabilidad en las concentraciones de colágena en los diferentes lóbulos hepáticos en un modelo de ratas con cirrosis experimental.

CAPITULO IV. MATERIAL Y METODOS

El trabajo fué realizado en el Instituto Nacional de la Nutrición Salvador Zubirán, en el Laboratorio de Hemodinámia Experimental del Departamento de Gastroenterología en colaboración con el Departamento de Nefrología y Metabolismo Mineral, Departamento de Bioquímica, Departamento de Patología y el Laboratorio de Biología Molecular del Instituto de Enfermedades Respiratorias.

Las ratas fueron adquiridas del Bioterio del Instituto Nacional de la Nutrición Salvador Zubirán.

1. MATERIALES:

1.1. Reactivos

Los reactivos adquiridos por Sigma Chemical Co. fueron los siguientes: 8-hidroxiquinoleína., 2,3 dimecaptopropanol (dimercaprol)., albúmina sérica de bovino y benzoato de bencilo; etilen glicol monometil eter (Celosolve) y 4-dimetil-amino-benzaldehido.

De J.T. Baker de México se adquirieron: EDTA, Sulfato de cobre, Cloruro de Sodio, Hidróxido de Sodio, Alcohol absoluto, Tartrato de Sodio y Potasio y Acido Clorhídrico.

De Internacional Cis (Francia) el estuche para determinar aldosterona urinaria por radioinmunoanálisis (RIA).

1.2. Equipo:

El equipo utilizado para la determinación de las pruebas fué el siguiente: Agitador magnético Coming PC-353, balanza analítica Mettler tipo H-15, baño de agua a 37 °C Precision GSA Corporation, centrifuga refrigerada IEC PR-6000, contador de radiaciones gama Gamacord II (Ames), congelador REVCO de -70 °C, potenciómetro Orion Research 201 Vortex de Scientific Products S 8 220,

flamómetro IL-343, espectrofotómetro Carl Zeiss modelo PMQ II, decapitador de animales pequeños de Harvard Apparatus Co., micropipetas Gilson (Rainin Instruments Co.) P 5000(5 ml), P 1000 (1 ml), P 200 (0.2 ml) y P 20 (0.02 ml), papel filtro Whatman no. 42, jeringas desechables de 10 ml con agujas de 21 y 18 mm, jeringas desechables para insulina 100 U con aguja de 27 x 13 mm, celdillas de cuarzo 100 QS de 1 cm de paso de luz (558503), celdillas de vidrio 104QS de 1 cm de paso de luz (558121) de Carl Zeiss, coloidosmómetro Wescor 4100 (INC USA) y monitor de presiones PPG RM 3000, de Electronics for Medicine.

Se utilizaron jaulas metabólicas de fabricación nacional para recolectar la orina de las ratas de 24 h., las cuales constan de una malla metálica que permite el paso de la orina y retiene las heces y de un cono colector para que fluya la orina a un recipiente; consta también de un comedero y un bebedero que se encuentran fuera del cuerpo de la jaula para evitar la contaminación de la orina recolectada. Las ratas se mantuvieron con agua y alimento tipo Purina para roedores.

El material de microcirugía utilizado incluyó pinzas Addson, tijeras Metzenbaum, tijeras tenotomía, pinzas iris rectas, pinzas iris curvas, pinzas de joyero, pinzas de mosquito, pinzas de Satinsky y portagujas Castroviejo.

1.3 Material Biológico.

Se utilizaron ratas macho de la cepa Wistar con un peso de 170 a 210 g. Se estudiaron 2 grupos experimentales:

- 1) Ratas con ligadura del conducto colédoco
- 2) Ratas normales

Las ratas con ligadura de conducto biliar, fueron integradas en grupos de animales para estudios a una, dos, tres y cuatro semanas de obstrucción, tanto para función renal como para hemodinamia.

2. METODOS

2.1. Modelo Biológico

Se estudiaron 157 ratas macho de la cepa Wistar, de las cuales a 127 ratas se les realizó ligadura de conducto biliar, y 30 ratas fueron utilizadas como controles. Las ratas con ligadura de conducto biliar fueron divididas en 2 grupos:

- A) Un grupo de ratas para evaluación de función renal (64 ratas) y
- B) Otro grupo para valoración hemodinámica (63 ratas).

Del grupo de ratas para valoración hemodinámica, a 33 ratas se les midió además la presión coloidosmótica y en 52 animales también se determinaron los niveles de colágena en el tejido hepático.

La ligadura del conducto biliar se realizó por el modelo modificado de Lee S.S (87). Las ratas se anestesiaron con eter anhidro, realizando una laparotomía media por debajo del apéndice xifoides; el conducto biliar fué expuesto y ocluido por una doble ligadura con sutura no reabsorbible (hilo seda). La primera ligadura fue realizada por debajo de la unión de los ductos hepáticos (distal) y la segunda por encima de la entrada del conducto pancreático (proximal). El conducto biliar fue seccionado entre las dos ligaduras y la incisión abdominal fue suturada con sutura quirúrgica absorbible (catgut crómico 00).

Para la evaluación renal se recolectó orina de 24 horas. Las variables de interés para este grupo fueron: volumen urinario, flujo urinario, Na y creatinina, depuración de creatinina, urea, aldosterona y la actividad plasmática de renina (APR).

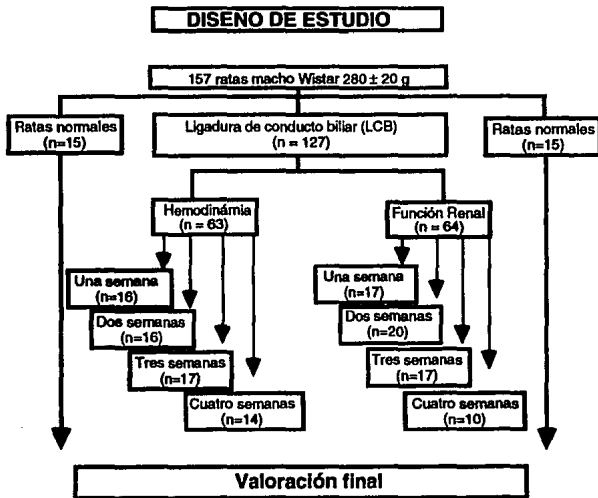
El peso y la ingesta alimenticia fueron medidas diariamente hasta el término de los periodos establecidos. Al término de éstos, las ratas se sacrificaron por decapitación y su sangre se recolectó en dos recipientes, uno para obtención de suero y el otro para plasma el cuál contenía una mezcla de inhibidores de la ECA y de las angiotensinasas (0.1 mol de EDTA 250 mM y 0.05 ml de 8 hidroxiquinolofina 6.6% y 0.05 ml de dimercaprol 1.7% en aceite de cacahuete).

Las variables bioquímicas fueron: proteínas, albúmina y presión coloidosmótica (PCO)

Para la evaluación hemodinámica esplácnica y sistémica, las ratas se anestesiaron con éter durante la inserción de los catéteres (catéter de polietileno \varnothing int 0.58 mm, \varnothing ext 0.96 mm. Biotrol, Paris) en la arteria femoral y en la vena porta, los cuales se fijaron a la piel mediante seda quirúrgica. Los cateteres se permeabilizaron con solución glucosada al 5% y heparina (15 UI/ml). Las mediciones se registraron cuando los valores presentaron estabilidad hemodinámica. Al final del estudio hemodinámico se tomaron muestras de sangre arterial para la medición de la presión coloidosmótica (PCO).

En todos los animales utilizados para estudio hemodinámico se tomó biopsias de parénquima hepático para evaluar daño histológico y en 52 ratas para la cuantificación de colágena (biopsia de los 5 lóbulos)

2.2. Diseño experimental en ratas con cirrosis biliar experimental (ligadura de conducto biliar)



2.3. Variables bioquímicas:**2.3.1. Colágena**

La colágena fué determinada por el método descrito por Woessner en 1961 (161) y modificado por Rojkind y Gonzalez en 1974 (133), basado en la combinación del método para hidroxiprolina y en la extracción de tolueno, el cuál es usado para la determinación de prolina e hidroxiprolina.

Las soluciones utilizadas para la elaboración de esta técnica fueron:

a) Buffer de acetato de sodio (1000 ml, pH = 6)

Acetato de sodio	120 g
Acido cítrico	50 g
Hidroxido de sodio	34 g
Ac. acético glacial	15 ml.

b) Solución de cloramina T

Cloramina T	0.1141 g
Agua destilada	2 ml
Metil Celosolve	3 ml
Buffer	5 ml

c) P-Dimetil-amino-benzaldehído

Dimetil	0.5 g
Alcohol absoluto	9 ml
HCl 12 N	1 ml

La técnica consiste en:

1. Hidrólisis aguda del tejido por medio de HCl 6N,
2. Neutralización con NaOH 25 N
3. Oxidación con cloramina T (p-toluensulfoncloramida sodio)
4. Adición de ácido perclórico 2.5 M y con 4-dimetil-amino-benzaldehído para detener la reacción.
5. Medición a 560 nm, 30 minutos después de la adición del 4-dimetil-amino-benzaldehído.

2.3.2. Albúmina

La determinación de albúmina sérica se realizó por medio de un kit comercial (Sigma), que utiliza el verde de bromocresol y su procedimiento es una modificación del método de Doumas B (31,43), en el cual a un pH controlado se forma el complejo verde de bromocresol / albúmina. La intensidad del color verde-azulado, es directamente proporcional a la concentración de albúmina en la muestra. La absorbancia máxima a 628 nm es leída por medio de un espectrofotómetro.

El procedimiento a seguir fue el siguiente:

1. Pipetear 1.0 mL de reactivo de albúmina en cada tubo
2. Añadir 0.01 mL (10 μ L) de verde de bromocresol, tanto a la proteína estándar, como a las muestras control y experimentales.
3. Mezclar suavemente por inmersión
4. Leer la absorbancia a temperatura ambiente (18-26 $^{\circ}$ C) a intervalos de un minuto o menos.
5. Determinar la concentración de albúmina (g/dL) en las muestras por medio de la siguiente fórmula:

$$[\text{Albúmina}] \text{ g/dL} = \frac{A_{\text{muestra}} - A_{\text{blanco}}}{A_{\text{estandar}} - A_{\text{blanco}}} \times \text{Concentración del estándar}$$

Donde A muestra = Valor de absorbancia de la muestra

A blanco = Valor de absorbancia del blanco

2.3.3. Presión coloidosmótica

La presión coloidosmótica se determinó en un coloidosmómetro Wescor modelo 4100 el cuál mide la presión oncótica de solutos de la sangre de alto peso molecular que no son difusibles a través de la membrana vascular. Su operación está basada en el movimiento de moléculas de agua y de las partículas de solutos difusibles a través de una membrana sintética semi-permeable que separa la solución del espécimen, de la solución de referencia (fenómeno conocido como transudación). El espécimen puede ser sangre heparinizada, plasma heparinizado o suero. El fluido se mueve hacia la cámara de referencia dentro de la cámara de muestra, hasta la obtención de un equilibrio en la presión hidrostática. Esta presión es medida por un transductor de detección eléctrica de presión y un circuito electrónico asociado. Los resultados se presentan digitalmente en mm Hg (fig 7).

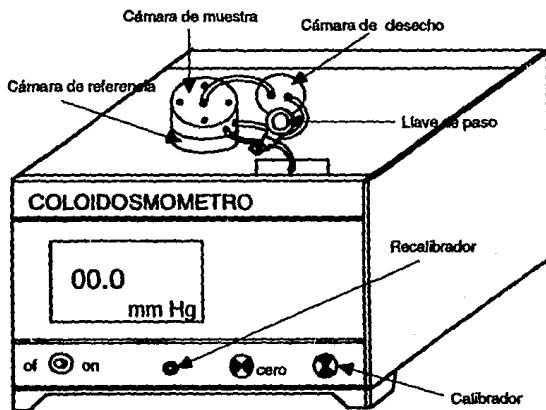


Fig. 7. Esquema de un coloidosmómetro, mostrando las tres cámaras principales.

2.3.4. Proteínas séricas

Para la determinación de las proteínas séricas se empleó el método de Lowry y colaboradores (97), utilizando como patrón albúmina sérica de bovino (5 a 50 mg/0.2 ml). Esta reacción forma un complejo proteína - cobre en solución alcalina, y en una segunda fase el complejo se reduce a un reactivo fosfomolibdico-fosfotúngstico (reactivo de Fenol folin y Cocalteu) para producir un intenso color azul (figura 8).

Las soluciones empleadas fueron:

Sol A: Carbonato de Na y K 0.02%

Sol B: Sulfato de cobre al 0.5%

Sol C: 50 ml de sol A + 1 ml de sol B, la cuál se prepara al momento de realizar las determinaciones.

Sol D: Reactivo de Folín 1N, sol diluida a partir de una concentración 2N con agua destilada.

Sol E: Solución patrón de albúmina sérica de bovino, 50 mg/100 ml, la cual se usa para construir la curva patrón.

El procedimiento es el siguiente:

1. Preparar 0.1 ml de una dilución 1:100 de suero.
2. Agregar 0.1 ml de agua para tener el valor de 0.2 ml.
3. Añadir 1 ml de la solución C.
4. Dejar reposar durante 10 minutos.
5. Adicionar 0.1 ml de la solución D.
6. Agitar inmediatamente en un vortex.
7. Dejar reposar durante 30 min.
8. Leer la DO a 660 nm contra el blanco, expresando los resultados en g/100 ml.

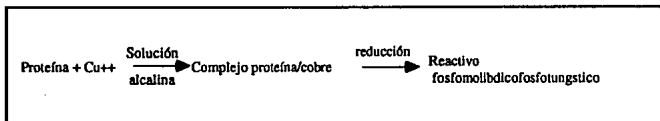


Fig 8. Secuencia de la reacción

2.4. Variables para estimar la función renal

2.4.1. Flujo urinario

El flujo urinario (ml/ min) se calculó por medio de la siguiente fórmula:

$$\text{Flujo urinario} = \frac{\text{volumen urinario (ml)}}{1440}$$

Donde:

volumen urinario = 24 h de recolección de orina.

1440 = constante (min/día)

2.4.2. Urea

La determinación de urea se realizó por un método enzimático, que midió la velocidad de cambio de la conductividad en la reacción, que es proporcional a la cantidad de nitrógeno ureico presente en la muestra. Los resultados se expresan en mg/ dl. La reacción llevada a cabo es la siguiente (fig 9):

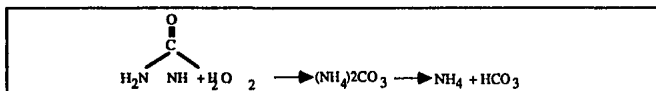


Fig 9. Secuencia de la reacción.

Donde el resultado de esta reacción es la conversión de la especie no-iónica (urea) en un iónica (carbonato de amoníaco).

2.4.3. Creatinina sérica

La creatinina se determinó por un método colorimétrico utilizando el reactivo de Jaffé (13,72), el cuál se basa en el aumento de absorción debido a la formación de un complejo alcalino de picrato de creatinina, siendo la velocidad de formación de color del complejo directamente proporcional a la concentración de creatinina en la muestra (figura 10). El complejo es formado por la combinación de la creatinina de la muestra y el picrato en presencia de iones OH⁻ en el reactivo produciendo un complejo de color rojo. La velocidad de formación del complejo se midió a 520 nm.

Creatinina + Picrato \longrightarrow coloración roja-complejo picrato.
--

Figura 10. Secuencia de la reacción.

2.4.4. Creatinina urinaria

La determinación de creatinina urinaria se realizó según el método descrito por Jaffé al igual que la creatinina sérica (72). Las determinaciones de creatinina tienen una ventaja sobre las de la urea por el hecho de no afectarse por una dieta rica en proteínas como es el caso para los niveles de urea. La creatinina se determina en una dilución de la orina de 24 horas.

2.4.5. Depuración de creatinina.

La depuración de creatinina fue calculada por la siguiente ecuación (33):

$$\text{Depuración de creatinina (24 h)} = \frac{\text{Crt. Ur. (20)} \times \text{flujo}}{\text{Crt. Ser}}$$

Donde:

Dep Crt 24 h : ml / min

Crt. Uri. = Concentración de creatinina en orina: mg / dL.

(20) = dilución realizada.

Crt. Ser = Concentración de creatinina en suero (mg / dL).

2.4.6. Sodio sérico

El sodio sérico se cuantificó por medio de un flamómetro digital. Este método se basa en la exposición de la sustancia a temperatura suficientemente alta, forzando al estado de excitación interna continuo., cuando estos átomos excitados vuelven al estado basal disipan energía absorbida por varias vías, una de las cuales es la emisión de luz. La intensidad de luz emitida es directamente proporcional al número de átomos sometidos a la transición.

Los cambios casuales en la intensidad de la temperatura pueden causar fluctuaciones en la emisión volviendola regularmente inestable, por lo cuál, para compensar la inestabilidad en el rendimiento se adiciona Litio en la muestra y en la solución patrón; el flamómetro compara entonces electrónicamente la señal de la concentración de la constante de Litio, reportando la relación de estas cantidades en unidades de concentración de sodio.

2.4.7. Sodio urinario

El sodio urinario se cuantifico por flamómetro digital al igual que el sodio sérico, utilizando un patrón de Litio 1500 mM y patron de Sodio/potasio 100/100 mEq/L. El método a seguir fué el siguiente (112):

1. Agregar 1 ml de agua desionizada (dilución1:5), a 0.25 ml de la orina de 24hrs .
2. Aspirar por el flamómetro que muestra digitalmente la concentración de sodio.
3. Esta concentración de sodio se multiplica por el factor de dilución (factor = 5) y por el volumen urinario para expresar el valor en mEq/24 h.

2.5. Aldosterona urinaria

La aldosterona urinaria se midió por radioinmunoanálisis directo (RIA) después de una hidrólisis de 24 horas. El RIA esta basado en la competencia entre la aldosterona marcada con ^{125}I y la aldosterona con el patrón o la muestra por un número fijo y limitado de sitios activos de anticuerpo, el cual viene adherido al tubo del estuche comercial (32,65).

La técnica a seguir fue la siguiente:

1. Adicionar 1 ml de HCl 0.1 N, a 0.1 ml de orina de 24 horas.
2. Mezclar e incubar de 15 a 20 h a 30 °C.
3. La aldosterona se midió en 0.01 ml del hidrolizado, a los cuales se les adicionaron 0.2 ml del patrón cero (solución de proteínas sin aldosterona) y 0.5 ml de aldosterona radiactiva.
4. Incubar de 18 a 22 h de 18 a 25 °C.

La mezcla incubada de cada tubo es aspirada para contar la radiactividad que se encuentra unida al anticuerpo. La radiactividad se cuenta en un contador de radiaciones gama acoplado a una computadora, la cual transforma los datos de los estandares para contruir una curva logit-log y calcula la concentración de las muestras.

2.6. Actividad Plasmática de Renina (APR)

La APR se midió por RIA de Ang I al igual que la CPR, pero sin exceso de sustrato, sino en presencia del sustrato endógeno, para que se lleve a cabo la producción de Ang I. La cantidad de Ang I se mide a 4°C, y la APR se define como la diferencia de Ang I a 37 °C y a 4 °C (110,111).

3. VARIABLES HEMODINAMICAS.

3.0.1. Presión Portal (PP)

La PP se evaluó a diferentes períodos de tiempo ya establecidos después de la ligadura del conducto colédoco (LCB). Se anestesió el animal y mediante una laparatomía abdominal, la vena porta se cateterizó (catéter de polietileno 0.58 DI y 0.96 DE, Biotrol Francia.) a través de un vena ilocólica para medir presión venosa portal (figura 11). El abdomen se cerró y después de un período de estabilidad las mediciones se leyeron por medio de un monitor de presiones modelo PPG RM 300 .

3.0.2. Presión Arterial Media (PAM)

La PAM se evaluó de igual manera que la PP. Bajo anestesia con eter se practicó una pequeña incisión inguinal para localizar la arteria femoral (figura 11) y cateterizarla. La incisión se cerró y después de un período de estabilidad (56,120) se hicieron 3 lecturas estables.

3.0.2. FRECUENCIA CARDIACA (FR)

La frecuencia cardiaca se calculó por el número de pulsaciones por minuto registradas en la pantalla del monitor de presiones.

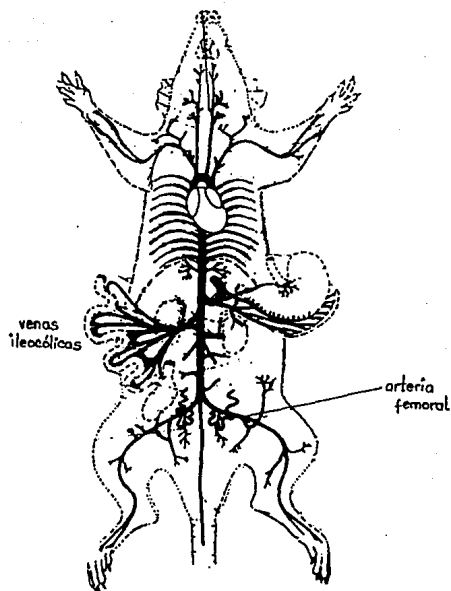


Fig. 11. Representación esquemática del sistema vascular en la rata.
Fuente: Henry J Baker. The laboratory rat. 1979; 1: 86.

4. HISTOLOGIA

Las biopsias hepáticas obtenidas de los animales, se fijaron en formol y se incluyeron posteriormente en parafina. Se realizaron laminillas con tinciones de Hematoxilina y Eosina y tricrómico de Masson, para la evaluación de los siguientes parámetros:

- 1) Arquitectura hepática
 - a) normal
 - b) alterada
- 2) Fibrosis
 - a) nula
 - b) leve
 - c) moderada
 - d) intensa
- 3) Proliferación de conductos
 - a) nula
 - b) leve
 - c) moderada
 - d) intensa
- 4) Inflamación
 - a) ausente
 - b) leve
 - c) moderada

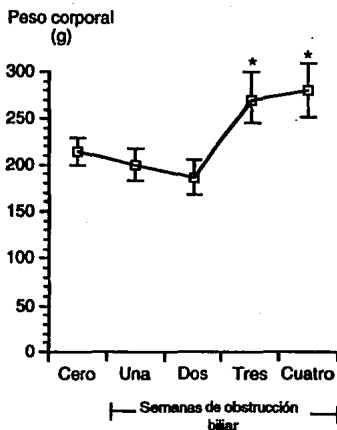
Los cuales fueron evaluados por un patólogo en forma ciega.

5. ANALISIS ESTADISTICO

Los resultados se analizaron en una Computadora Macintosh Classic utilizando un programa Stat View. Se utilizaron pruebas de análisis de varianza (ANOVA), e índice de correlación de Spearman. Los valores se expresarán en promedio \pm DE tomando un valor de $p < 0.05$ como significativo.

CAPITULO V. RESULTADOS

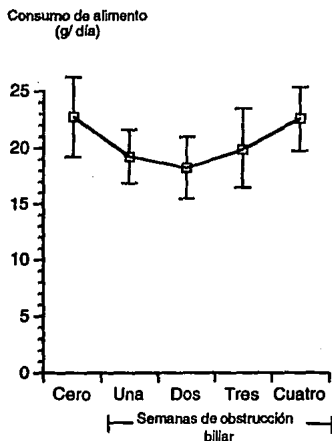
1. **Somatometría.** El peso corporal en ratas con obstrucción biliar presentó una ligera disminución no significativa en comparación con los valores basales (cero semanas) en las dos primeras semanas, tendiendo a incrementarse de manera significativa a la tercera y cuarta semana de obstrucción (gráfica 1).



Gráfica 1. Evolución del peso corporal (final) en ratas con obstrucción biliar experimental.

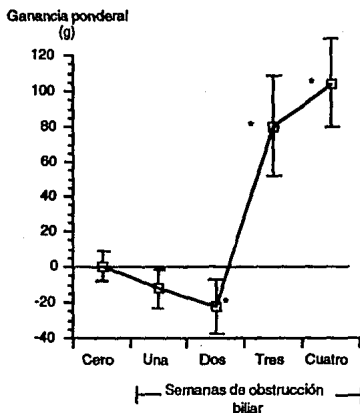
* $p < 0.05$ en comparación con cero semanas.

2. **Consumo de alimento.** La ingesta de alimento final no mostró diferencia significativa a través del tiempo de evolución. Como se observa existe una disminución no significativa a la primera y segunda semana de obstrucción biliar, mostrando una tendencia a recuperarse a la tercera y cuarta semana (gráfica 2).



Gráfica 2. Evolución del consumo de alimento en ratas con obstrucción biliar experimental

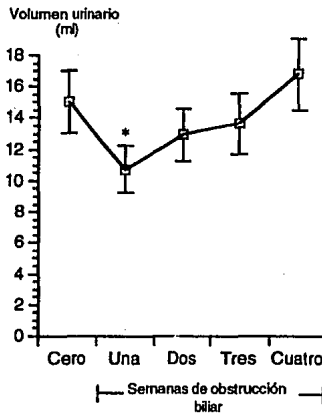
3. Pérdida y ganancia ponderal. En la gráfica 3 se observa que existe una pérdida ponderal significativa, en las primeras semanas de obstrucción biliar (primera y segunda semana), tendiendo a aumentar de manera significativa en los últimos estadios de la obstrucción (tercera y cuarta semana) en comparación con los valores basales (cero semanas).



Gráfica 3. Evolución de la ganancia ponderal en ratas con obstrucción biliar experimental.

* $p < 0.05$ en comparación con cero semanas.

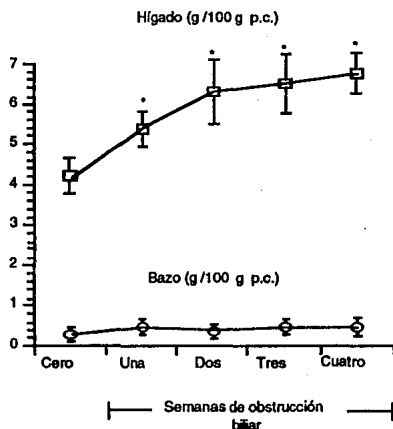
4. Volumen urinario. El volumen urinario disminuyó de manera significativa a la primera semana de obstrucción en comparación con los valores basales (cero semanas), tendiendo a incrementarse a través del tiempo de evolución (gráfica 4).



Gráfica 4. Evolución del volumen urinario en ratas con obstrucción biliar experimental.

* $p < 0.05$ en comparación con el grupo a cero semanas.

5. Peso del Hígado y bazo. La relación peso de hígado / peso corporal mostró un incremento significativo a partir de la primera semana de obstrucción biliar y éste incremento tiende a mantenerse a través del tiempo (gráfica 5). La relación peso bazo/peso corporal, aumentó de manera no significativa, manteniéndose así a través del tiempo (gráfica 5).



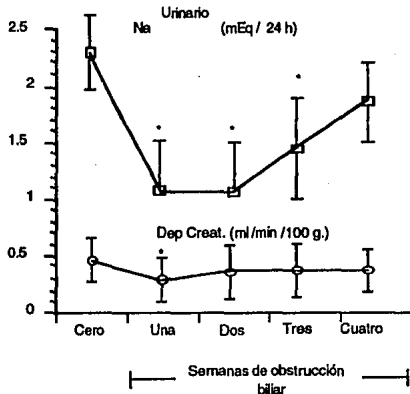
Gráfica 5. Evolución del peso del hígado y bazo en ratas con obstrucción biliar experimental (g p.c. = gramos de peso corporal).

* p < 0.05 en comparación con cero semanas.

6. Función renal.

a) **Excreción urinaria de sodio.** La excreción urinaria de sodio disminuyó significativamente, desde la primera semana, se mantuvo baja a la segunda y tercera semana de obstrucción y a la cuarta semana de obstrucción todavía existe una disminución pero esta no es significativa, lo que sugiere que existe una tendencia a un estado de balance (gráfica 6).

b) **Depuración de creatinina.** La depuración de creatinina presenta una ligera disminución significativa a la primera semana de la obstrucción, pero que tiende a recuperarse a través del tiempo, dentro de los valores normales (gráfica 6). Estos datos indican que la retención de sodio ocurre con una depuración de creatinina normal.



Gráfica no. 6. Evolución del sodio urinario y de la depuración de creatinina en ratas con obstrucción biliar experimental.

* p < 0.05 en comparación con cero semanas.

c) **La creatinina sérica y la urea** no presentaron cambio alguno en el transcurso del tiempo. El sodio sérico presentó una ligera disminución significativa a la segunda y tercera semana de obstrucción. Por último, el flujo urinario disminuyó significativamente a la primera semana de obstrucción, mostrando una tendencia al igual que las otras variables al equilibrio (tabla 1).

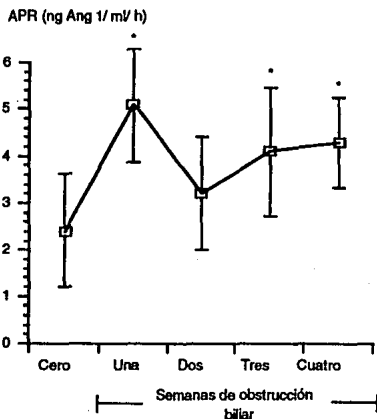
Tabla 1. Cambios de la función renal en ratas con obstrucción biliar experimental

	Semanas de obstrucción biliar				
	Cero (n = 10)	Una (n = 17)	Dos (n = 20)	Tres (n = 17)	Cuatro (n = 10)
Sodio sérico (mEq / Lto)	143.9 ± 2.0	143.9 ± 3.1	137.4 ± 3.9 *	139.5 ± 5.2 *	146 ± 2.1
Flujo urinario (μl / min)	11.1 ± 2.2	6.7 ± 2.4 *	9.2 ± 3.2	9.9 ± 2.5	11.6 ± 4.4
Creatinina urinaria (mg / dl)	7.2 ± 1.3	2.8 ± 0.9 *	3.4 ± 1.6 *	4.8 ± 1.5 *	6.9 ± 1.8
Creatinina sérica (mg / dl)	0.5 ± 0.1	0.5 ± 0.1	0.4 ± 0.1	0.5 ± 0.1	0.5 ± 0.1
Urea (mg / 100 ml)	21.2 ± 4.4	20.6 ± 4.3	24.3 ± 3.9	24.7 ± 4.3	21.8 ± 3.1

Valores expresados en media ± Desviación estandar

* p < 0.05 en comparación con cero semanas.

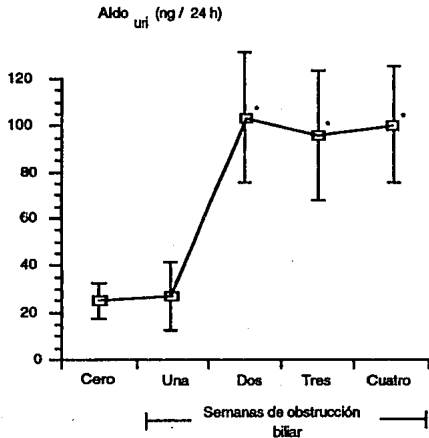
d) **Actividad plasmática de renina (APR).** La actividad plasmática de renina se incrementó significativamente desde la primera semana, manteniéndose elevada a través del tiempo de obstrucción. En la segunda semana de la obstrucción se presentó una ligera disminución sin llegar a los valores observados a cero semanas y que tiende a incrementarse significativamente en la tercera y cuarta semana de la obstrucción biliar (gráfica 7).



Gráfica 7. Evolución de la actividad plasmática de renina en ratas con obstrucción biliar experimental.

* $p < 0.05$ en comparación con cero semanas.

e) **Aldosterona.** La aldosterona urinaria al igual que la actividad plasmática de renina mostró un incremento significativo a partir de la segunda semana de obstrucción y que se mantiene elevada en el transcurso del tiempo (gráfica 8).

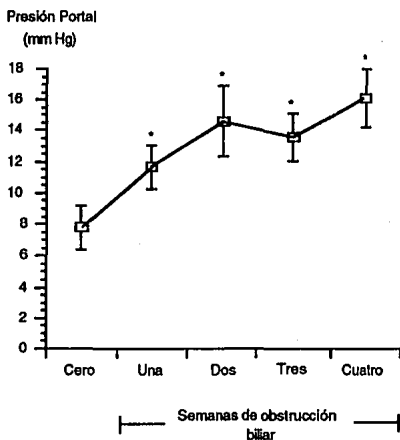


Gráfica 8. Evolución de la aldosterona urinaria en ratas con obstrucción biliar experimental.

* $p < 0.05$ en comparación con cero semanas.

7. Hallazgos Hemodinámicos.

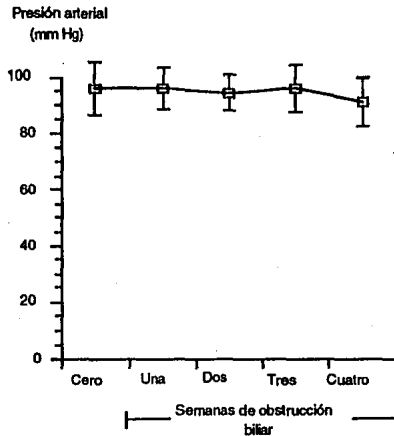
a) Presión portal (PP). La presión portal aumentó significativamente desde la primera semana (7.81 ± 1.54 vs 11.7 ± 1.54 mm Hg), manteniéndose elevada a través del tiempo hasta alcanzar valores de 16.9 ± 2.26 mm Hg en la cuarta semana (gráfica 9).



Gráfica 9. Evolución de la presión portal (PP) en ratas con obstrucción biliar experimental.

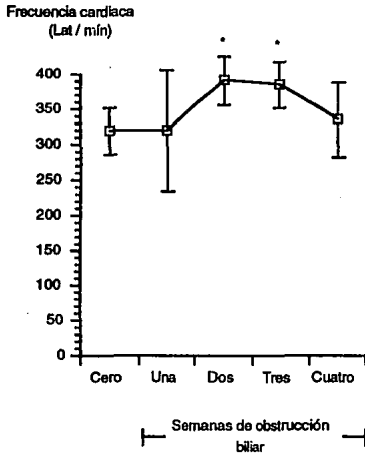
* $p < 0.05$ en comparación con cero semanas.

b) **Presión arterial media (PAM).** La presión arterial media se mantuvo estable a través del tiempo de obstrucción. Solo presentó una ligera disminución a la cuarta semana (91.3 ± 6.6 vs 96.1 ± 8.56 mm Hg) pero que no llegó a ser significativa (gráfica 10).



Gráfica 10 . Evolución de la presión arterial media (PAM) en ratas con obstrucción biliar experimental.

c) **Frecuencia cardíaca.** La frecuencia cardíaca se incrementó significativamente a la segunda y tercera semana de obstrucción (391.7 ± 25.8 y 385.7 ± 24.4), regresando a valores normales en la cuarta semana (336.1 ± 53.2 vs 320 ± 38.7) (gráfica 11).



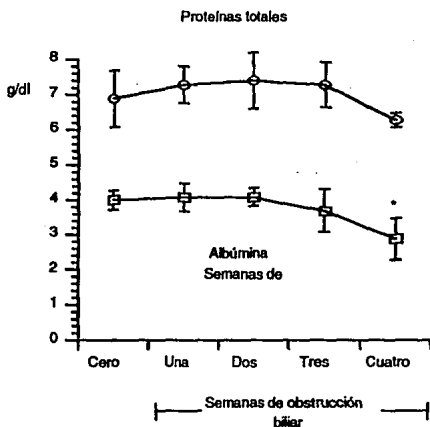
Gráfica no. 11. Evolución de la frecuencia cardíaca (FC) en ratas con obstrucción biliar experimental.

* $p < 0.05$ en comparación con cero semanas.

8. Hallazgos Bioquímicos.

a) **Albúmina.** La albúmina se mantuvo constante durante las tres primeras semanas, mostrando una disminución significativa a la cuarta semana de obstrucción, comparada con los valores basales (2.8 ± 0.6 vs 4.0 ± 0.3 mg/dl respectivamente).

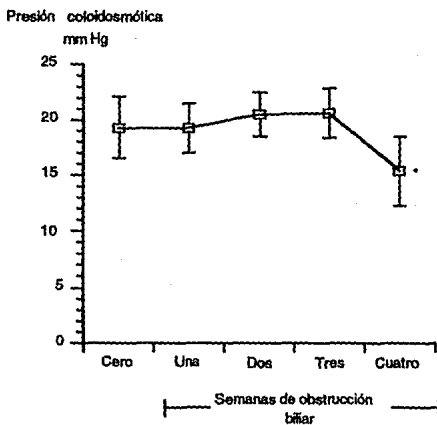
b) **Proteínas totales.** Al igual que la albúmina, las proteínas totales presentaron una disminución a la cuarta semana (6.12 ± 1.1 vs 6.9 ± 0.7 mg / dl), pero sin llegar a ser significativa en comparación con los valores basales (gráfica 12).



Gráfica 12. Evolución de la albúmina y proteínas totales en ratas con obstrucción biliar experimental.

* $p < 0.05$ en comparación con cero semanas.

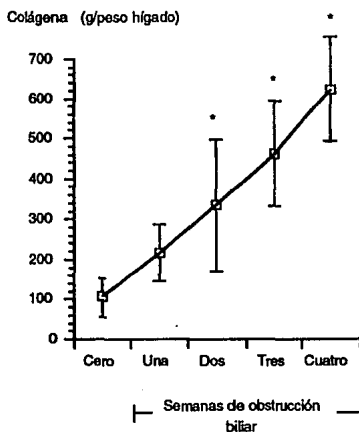
c) **Presión coloidosmótica (PCO).** La presión coloidosmótica al igual que las proteínas totales y la albúmina, presentó una disminución significativa a la cuarta semana de la obstrucción (15.2 ± 3.4 vs 19.3 ± 2.9 mm Hg), comparada con el grupo a cero semanas (gráfica 13).



Gráfica 13. Evolución de la presión coloidosmótica (PCO) en ratas con obstrucción biliar experimental.

* $p < 0.05$ en comparación con cero semanas.

d) **Colágena.** El contenido de colágena expresada en mg / g de peso seco de hígado, aumentó significativamente a partir de la tercera y cuarta semana de la obstrucción, alcanzando un valor tres veces mayor (34.4 ± 10.9 mg/g) comparado con el grupo control (11.6 ± 4.6 mg/g). Por otro lado la colágena expresada en gramos por el peso del hígado mostró un incremento significativo a partir de la segunda semana y alcanzando un valor hasta seis veces mayor que el observado en el grupo de ratas a cero semanas (gráfica 14).



Gráfica no. 14. Evolución de los niveles de colágena en ratas con obstrucción biliar experimental.

* $p < 0.05$ en comparación con cero semanas.

La comparación de los niveles de colágena en los diferentes lóbulos hepáticos se muestra en la tabla 2. En ratas normales los valores de colágena de un lóbulo a otro son relativamente estables (CV de 6.7%). Sin embargo, en ratas cirróticas existe una gran heterogeneidad en cada uno de los lóbulos muestreados, lo cual sugiere que siempre debe tomarse una muestra de los cinco lóbulos, para la determinación de los niveles de colágena por el método de determinación de hidroxiprolina, con el fin de disminuir el riesgo de sesgo por muestreo inadecuado.

Tabla no. 2. Determinación de los niveles de colágena en los diferentes lóbulos hepáticos en ratas con obstrucción biliar experimental.

	Lóbulos hepáticos					CV (%)
	1	2	3	4	5	
Normales	10.38	10.81	10.38	10.62	9.07	6.7
Obstrucción	26.13	42.63	57.47	31.61	40.30	30.2

* (mg / gramo tejido seco)

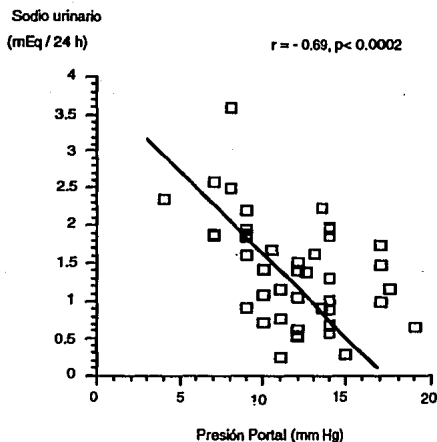
CV = Coeficiente de variación

Método de Hidroxiprolina. Rojkind y González.

Anal Biochem 1974;57:1-7.

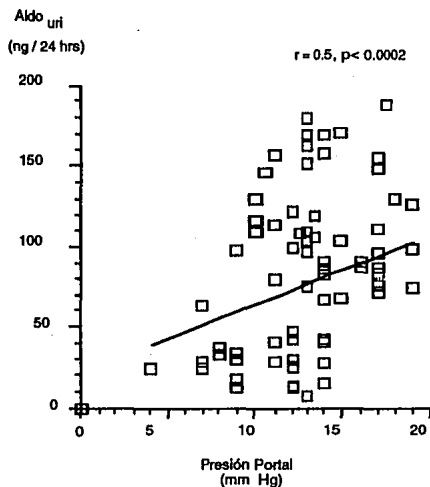
9. Correlaciones.

a) **Sodio urinario y presión portal (PP).** El sodio urinario (mEq / 24 hrs) presentó correlación negativa con la presión portal ($r = 0.69$, $p < 0.0002$). Esto indica que al aumentar la presión portal, disminuye la excreción del sodio urinario (gráfica 15).



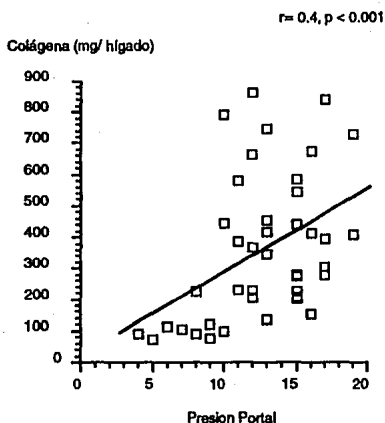
Gráfica 15. Correlación del sodio urinario (mEq / 24h) y la presión portal en ratas con obstrucción biliar experimental

b) **Aldosterona y presión portal (PP).** La aldosterona urinaria (ng/24 h) presentó correlación positiva con la presión portal ($r=0.5$, $p<0.0002$), indicando que a una mayor presión portal (PP), existe una mayor excreción de aldosterona urinaria (gráfica 16).



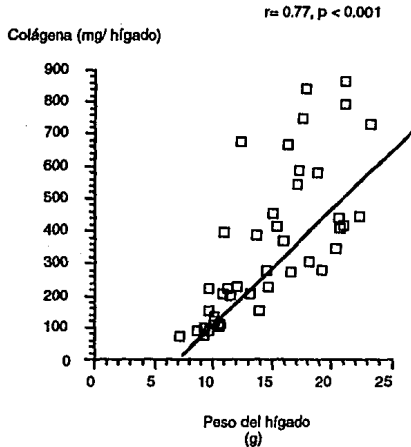
Gráfica 16. Correlación de la aldosterona urinaria (ng / 24h) y la presión portal (mm Hg) en ratas con obstrucción biliar experimental

c) **Colágena y presión portal (PP).** Se observó una correlación positiva entre la colágena expresada en mg / peso del hígado y la presión portal ($r = 0.4, p < 0.001$). Lo que indica que a una mayor incremento en colágena, existe un mayor incremento en la presión portal (gráfica 17).



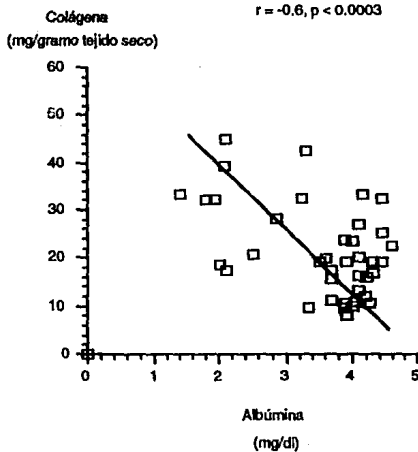
Gráfica 17. Correlación de los niveles de colágena y la presión portal (mm Hg) en ratas con obstrucción biliar experimental

d) **Colágena y peso hepático.** En la gráfica 18 se observa como el peso del hígado (gramos) correlación positivamente con los niveles de colágena (mg/peso hígado) con una $r = 0.77$ y una $p < 0.001$, es decir que el mayor peso de hígado se explica en parte por un incremento en la concentración de colágena.



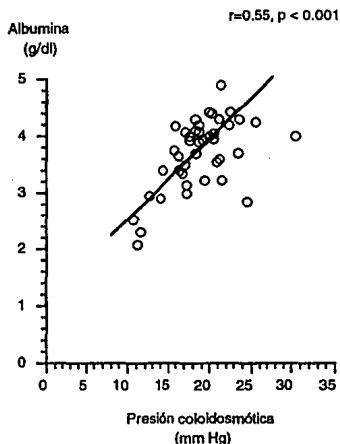
Gráfica 18. Correlación de los niveles de colágena y peso del hígado en ratas con obstrucción biliar experimental

d) **Colágena y albúmina.** En la gráfica 19 se observa la correlación negativa de la colágena con la albúmina, es decir que a una mayor concentración de colágena se encuentran menores niveles de albúmina sérica.



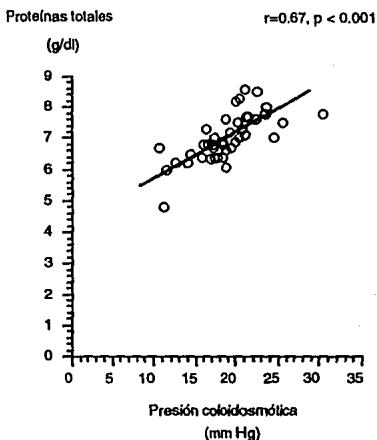
Gráfica 19. Correlación de los niveles de colágena y la albúmina (mg/dl) en ratas con obstrucción biliar experimental

e) **Albúmina y presión coloidosmótica (PCO).** Al hacer una correlación entre la albúmina y la presión coloidosmótica (PCO), se observó una $r = 0.55$ y una $p < 0.001$, mostrando así que a menor concentración de albúmina sérica existe una disminución de la presión coloidosmótica, lo cuál indica la existencia de una estrecha relación entre estos dos componentes (21).



Gráfica 20. Correlación de la concentración de albúmina y la presión coloidosmótica (mm Hg) en ratas con obstrucción biliar experimental

f) **Proteínas totales y presión coloidosmótica (PCO).** Por último al correlacionar las proteínas totales con la presión coloidosmótica se encontró también una $r = 0.67$ y una $p = < 0.001$ mostrando así que los valores de las proteínas totales al igual que la albúmina están en relación con los valores de la presión coloidosmótica (gráfica 21).

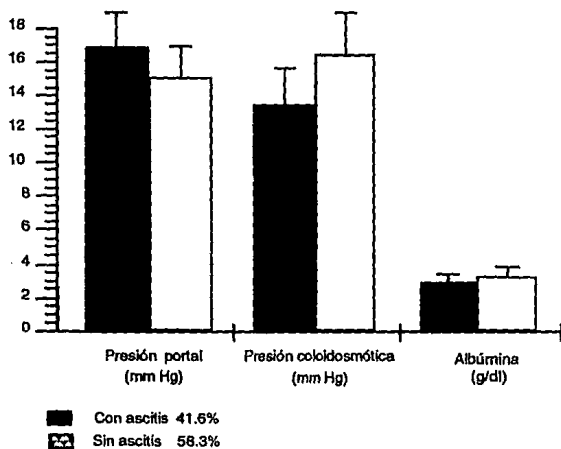


Gráfica 21. Correlación de la concentración de proteínas totales y la presión coloidosmótica (mm Hg) en ratas con obstrucción biliar experimental

10. Formación de ascitis.

La formación de ascitis se presentó en un 41.6% del total del número de ratas estudiadas a la cuarta semana de obstrucción biliar.

Dentro de los cambios encontrados en las ratas con ascitis, se observó que la presión portal es mayor y los valores de presión coloidosmótica y albúmina son menores que en ratas sin ascitis.



11. Histología. Los cambios histológicos se hicieron aparentes desde la primera semana de obstrucción biliar mostrando una leve inflamación portal y proliferación de conductos. A la segunda y tercera semana también se observó fibrosis y a la cuarta semana la imagen característica de la cirrosis biliar secundaria (figuras 11-14).

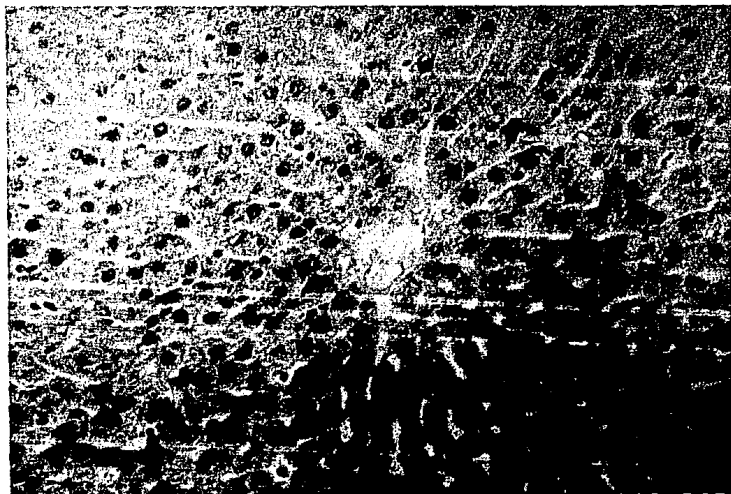
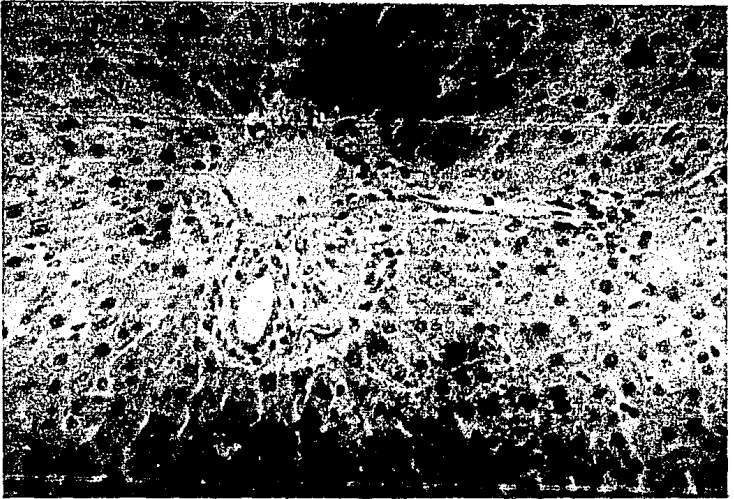


Fig. 11. Histología normal del hígado, incluyendo un espacio porta, una vena centrolobulillar y el lobulillo hepático (a,b).



(b) histología normal del hígado, incluyendo un espacio porta, una vena centrolobulillar y el lobulillo hepático.

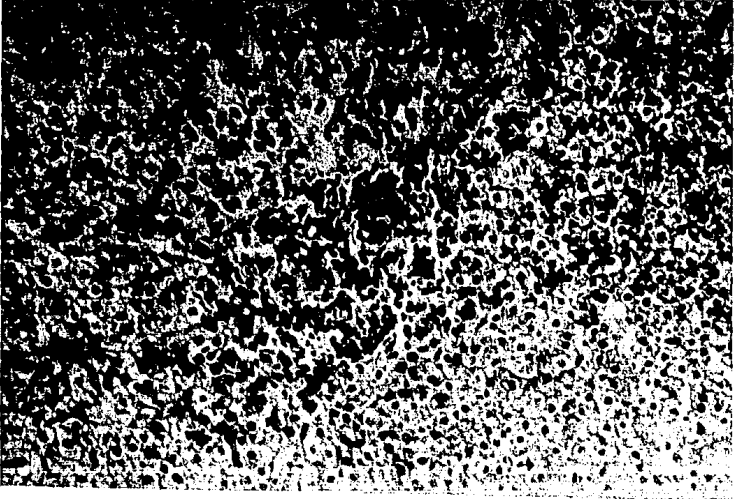
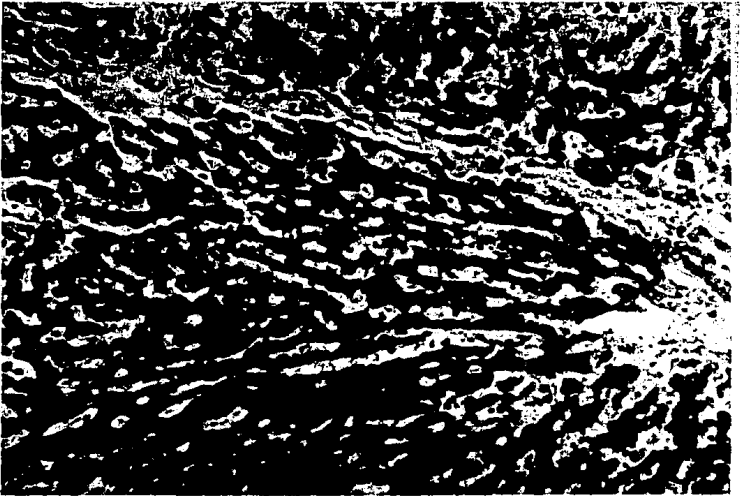


Fig. 12. Cambios histológicos secundarios a la obstrucción biliar.
(a) se observa ensanchamiento del espacio porta por
leve infiltrado inflamatorio.



(b) Cambios histológicos secundarios a la obstrucción biliar, proliferación de los conductos biliares.

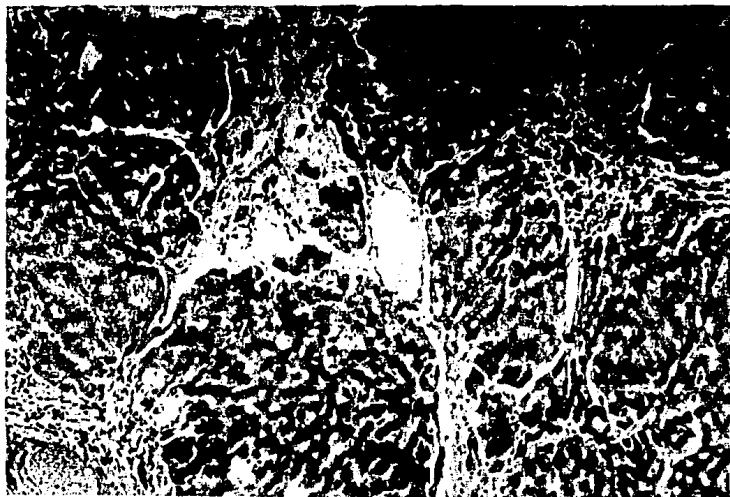


Fig. 13. (a) Fibrosis portal irregular a las tres semanas de obstrucción biliar.

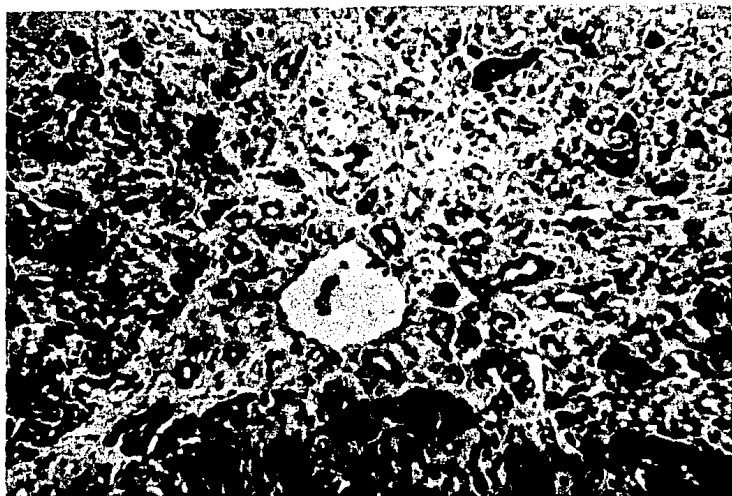


Fig. 13. (b) Aumento de la fibrosis portal y de la proliferación de conductos biliares a tres semanas de obstrucción biliar.

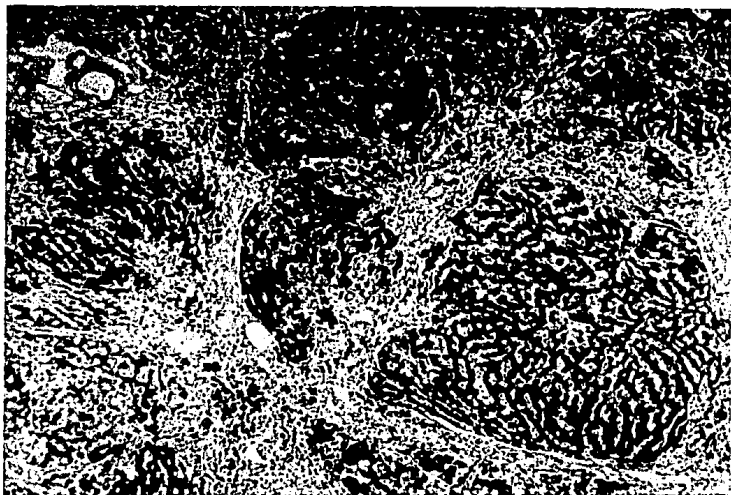
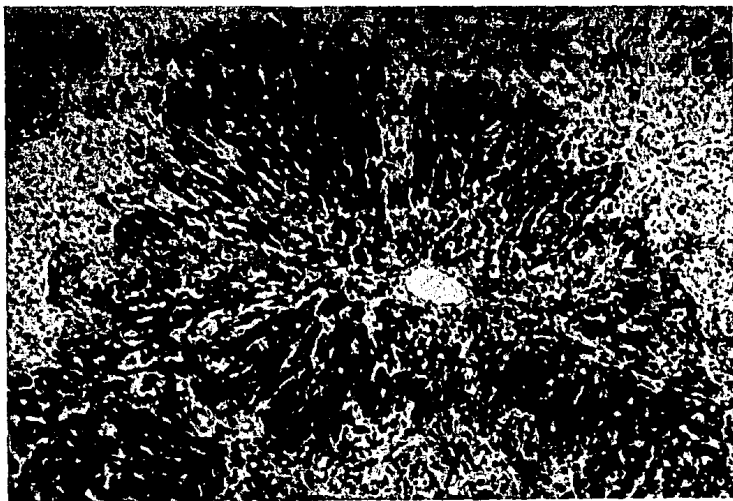


Fig. 14. (a) Imagen histológica de cirrosis biliar a cuatro semanas de obstrucción biliar.



(b) Nódulo de hepatocitos rodeado de gran proliferación de conductos biliares y fibrosis.

1. RESUMEN DE RESULTADOS:

La colestásis experimental en ratas induce:

- a) Hepatomegalia y esplenomegalia
- b) Disminución en la excreción urinaria de sodio (retención de sodio)
- c) Incremento de la renina (APR) y aldosterona
- d) Incremento en la presión portal
- e) Incremento en la frecuencia cardíaca
- f) Hipoalbuminemia
- g) Disminución en la presión coloidosmótica
- g) Incremento de los niveles de colágena
- h) Acumulación de fluido en la cavidad abdominal (ascitis)
- i) Distorsión de la arquitectura hepática (fibrosis, proliferación de conductos)

Todos estos hallazgos son similares a los observados en pacientes con cirrosis y pueden ser inducidos en tan sólo cuatro semanas

CAPITULO VI. DISCUSION.

Los resultados de este trabajo permiten conocer la historia natural de la cirrosis biliar inducida por ligadura del conducto colédoco, en ratas. Tal y como ocurre en pacientes con cirrosis hepática, en este modelo experimental pudimos observar cambios ponderales, cambios bioquímicos, hemodinámicos, de función renal y cambios morfológicos en la histología del hígado.

En cuanto a los cambios ponderales observados en este modelo (gráfica 3), se observa que existe una pérdida ponderal significativa, en las primeras semanas de obstrucción biliar (primera y segunda semana), tendiendo a aumentar de manera significativa en los últimos estadios de la obstrucción (tercera y cuarta semana). La disminución en el peso corporal puede atribuirse a la cirugía realizada para la inducción de la cirrosis, así como a la propia colestasis la cual favorece hipoxemia y disminución en ingesta alimentaria (gráfica 2). También, el volumen urinario excretado en 24 horas (gráfica 4) disminuyó de manera significativa a la primera semana de la obstrucción tal como ha sido descrito por Sharma y cols. (53, 144).

Desde el punto de vista clínico, todas las ratas con cirrosis desarrollaron ictericia, coluria, disminución de reflejos, hepatomegalia, esplenomegalia y, en 41.6% se observó ascitis. El hígado mostraba una textura granular, amarillenta y consistencia aumentada. Estos cambios reproducen perfectamente lo observado en pacientes con cirrosis hepática. La hepatomegalia puede explicarse por el aumento significativo de la colágena y por la notable proliferación de conductos biliares. La esplenomegalia y la ascitis son la consecuencia de la hipertensión portal y la disminución de la presión oncótica.

En ratas con LCB se observó una disminución de la excreción urinaria de sodio, desde la primera semana de obstrucción (gráfica 6) como lo reportado en los trabajos de Levy (53) y Unikowsky (154) en perros con seis semanas de obstrucción biliar. Por otro lado la depuración de creatinina presenta una ligera disminución significativa a la primera semana de la obstrucción, pero que tiende a recuperarse a través del tiempo hasta llegar a valores normales. Esto nos estaría indicando que la retención de sodio ocurre aún en presencia de una depuración de creatinina normal.

Como ya se ha mencionado el sistema renina-angiotensina es de gran importancia clínica en la cirrosis, en particular en la investigación de la patogénesis de la ascitis y de las anomalías de la función renal. En nuestro estudio la actividad plasmática de renina se incrementó significativamente desde la primera semana (gráfica no. 7), manteniéndose elevada a través del tiempo de obstrucción, similar a lo observado en ratas con tetracloruro de carbono, donde su activación esta contribuida por el incremento de la aldosterona y el incremento de la retención de sodio (94,150).

La aldosterona urinaria al igual que la actividad plasmática de renina mostraron un incremento significativo a partir de la segunda semana de obstrucción (gráfica no. 8). En el modelo experimental de cirrosis por tetracloruro de carbono (95,150,158), éstos cambios se empiezan a observar entre las 5 y 10 semanas de la inducción de cirrosis, mientras que en la cirrosis de tipo billar que aquí describimos, los cambios empiezan a observarse a partir de la primera y segunda semana de obstrucción biliar.

Se ha descrito, en diferentes especies de animales, que la obstrucción del conducto biliar causa cambios en la circulación sistémica y esplécnica. El presente estudio ha demostrado que ratas con LCB presentan un incremento en la PP y FC, así como también una tendencia a la disminución de la PAM, las cuales son similares a las observadas por Franco (53) y Poo (122) en ratas con LCB y con lo reportado por Bosch (22), Levy (90,92,93) y Shasha (145) en perros con LCB. Así pues los incrementos podrían indicar que un incremento en la resistencia al flujo sanguíneo venoso portal estaría localizado en el sitio sinusoidal, que podría estar asociado con el aumento en la concentración de colágena.

Dentro de los cambios bioquímicos en éste modelo, la albúmina se mantuvo constante durante las tres primeras semanas, mostrando una disminución significativa a la cuarta semana de obstrucción. De igual manera se ha observado hipoalbuminemia en trabajos realizados en ratas y perros con ligadura de conducto biliar (87,145). La presión coloidosmótica al igual que las proteínas totales y la albúmina, presentó una disminución significativa sólo hasta la cuarta semana de la obstrucción (gráfica no. 13) que es cuando puede aparecer la ascitis.

El contenido de colágena expresada en mg /peso seco de hígado, aumentó significativamente alcanzando un valor tres veces mayor (34.4 ± 10.9 mg/g) comparado con el grupo control (11.6 ± 4.6 mg/g). En cambio, en 1989 Schuppan (142) reportó un incremento de colágena 4 veces mayor al observado en las ratas normales. Un hallazgo de gran relevancia de este trabajo es la demostración de una heterogeneidad en la cantidad de colágena tisular en los diferentes lóbulos hepáticos (tabla no. 4). Estos resultados sugieren que siempre debe tomarse una muestra de los cinco lóbulos hepáticos, cuando se pretende determinar los niveles de colágena intrahepática en el modelo de cirrosis biliar experimental, con el fin de disminuir la posibilidad de un sesgo derivado de muestreo insuficiente.

Algunas correlaciones de importancia detectadas en este trabajo se relacionan con la magnitud de la hipertensión portal y de la disminución en la excreción urinaria de sodio. Por ejemplo, el sodio urinario (mEq / 24 hrs) presentó correlación negativa con la presión portal ($r = -0.69$, $p < 0.0002$), indicando que al aumentar la presión portal, disminuye la excreción del sodio urinario (gráfica 15). La aldosterona urinaria (ng/24 h) y los niveles de colágena expresada en mg / peso del hígado presentaron una correlación positiva con la presión portal ($r = 0.5$, $p < 0.0002$) y ($r = 0.4$, $p < 0.001$) respectivamente, indicando que a una mayor presión portal (PP), existe una mayor excreción de aldosterona urinaria (gráfica 16) y que a un mayor incremento en colágena, existe un mayor incremento en la presión portal (gráfica 17). En la gráfica no. 18 se observa como el peso del hígado (gramos) correlaciona positivamente con los niveles de colágena (mg/peso hígado) con una $r = 0.77$ y una $p < 0.001$. También podemos decir que a mayor concentración de colágena se encuentran menores niveles de albúmina sérica (gráfica 19). Al hacer una correlación entre la albúmina y la presión coloidosmótica (PCO), se observó una $r = 0.55$ y una $p < 0.001$, mostrando así que a menor concentración de albúmina sérica existe una disminución de la presión coloidosmótica, lo cual confirma la existencia de una estrecha relación entre estos dos componentes (20). Por último al correlacionar las proteínas totales con la presión coloidosmótica se encontró también una $r = 0.67$ y una $p < 0.001$ mostrando así que los valores de las proteínas totales al igual que la albúmina están en relación con los valores de la presión coloidosmótica (gráfica no. 21).

Por último, los cambios histológicos se hicieron aparentes desde la primera semana de obstrucción biliar en la cual existe una leve inflamación portal y proliferación de conductos biliares. Posteriormente se agrega fibrosis que evoluciona hasta la formación de la imagen característica de la cirrosis biliar secundaria (figuras 11-14). Estos hallazgos histológicos son similares a los observados por otros autores (121, 157).

En base a estos resultados podemos decir que en ratas con LCB existen cambios similares a los observados en pacientes cirróticos, y que los resultados obtenidos son de gran ayuda para el estudio de la fisiopatogénesis de las alteraciones observadas en esta enfermedad.

CAPITULO VII. CONCLUSIONES

Por los resultados obtenidos y con respecto a los objetivos planeados en el presente trabajo, podemos concluir:

- 1.- El inicio de la retención urinaria de sodio está relacionada cronológicamente con el inicio del incremento en la presión portal.
- 2.- La hiperreninemia y el hiperaldosteronismo se encuentran relacionados con el incremento de la presión portal y no con la disminución de la presión arterial.
- 3.- La presión coloidosmótica (PCO) sólo se modifica en las etapas tardías de la cirrosis, y guarda una estrecha relación con la disminución en las concentraciones de albúmina y proteínas totales.
- 4.- Las alteraciones hemodinámicas (presión portal, presión arterial y frecuencia cardíaca) no determinan cambios en la presión coloidosmótica.
- 5.- Existen incrementos progresivos en las concentraciones de colágena y en la presión portal, después de la ligadura del conducto biliar.
- 6.- La distribución lobar de la colágena es heterogénea en cirrosis biliar experimental, por lo que se sugiere un muestreo de los cinco lóbulos para su cuantificación.
- 7.- La formación de ascitis ocurre en forma tardía (4 semanas) y es precedida por una disminución en la excreción urinaria de sodio.

Este modelo de cirrosis biliar, inducida por ligadura del conducto colédoco en ratas, reproduce la gran mayoría de las alteraciones observadas en pacientes cirróticos y puede ser usado en diversos estudios fisiopatológicos y farmacológicos de hipertensión portal y de fibrosis.

CAPITULO VIII. BIBLIOGRAFIA.

1. Acatino L, Contreras A, Berdicheusky E, Quintana C. The effect of complete obstruction on bile secretion. Studies on the mechanisms of postcholestatic choleresis in the rat. *J Lab Clín Med* 1981; 97: 525-534.
2. Acatino L, Contreras A, Fernández S, Quintana C. The effect of completa biliary obstruction on bile flow and bile acid excretion: postcholestatic choleresis in the rat. *J Lab Clín Med* 1979; 93: 706-717.
- 3 Allison MEM. Renal function and other factors in obstructive jaundice. *Br J Surg* 1979;66:392-397.
4. Arévalo EA, Ibarra-Rubio ME, Cruz C, Peña C, Pedraza-Chaverri J. Angiotensin I Converting enzyme activity in puromycin aminonucleoside-nephrotic syndrome. *Clin Chim Acta* 1990; 191: 175-184.
5. Armstrong HS, Kark MR, Schoenberger AJ, Shatkin J, Singhts R. Colloidosmotic pressures of serum proteins in nephrosis and cirrhosis; relations to electrophoretic distributions and average molecular weights. *J Clin Invest* 1954; 3: 297-310.
6. Arroyo V, Rodés J. A rational approach to the treatment of ascites. *Post Med J* 1975; 51:558-562.
7. Arroyo V, Bernardi M, Epstein M, Henriksen JH, Schrier RW, Rodés J. Pathophysiology of ascites and functional renal failure in cirrhosis. *J Hepatol* 1988; 6: 239-257.
8. Arroyo V, Ginés P. Prostaglandins and the treatment of hepatorenal syndrome in cirrhosis. *J Hepatol* 1990;11:142-14
9. Arroyo V. Renin aldosterone and renal hemodynamics in cirrhosis with ascites. *Eu J Clin Invest* 1979;9:69-73.

10. Aurri S, Monden K, Hai S, Sasaoki T, Aldachi Y, Funaki N, Higashitsuji H, Tobe JT. Depressed function of kupffer cells in rats with CCl₄-induced liver cirrhosis. *Res Exp Med* 1990;190:173-182.
11. Bacq C, Roulot D, Brailon A, Lebrec D. Hemodynamic effects of dopamine in conscious rats with secondary biliary cirrhosis. *J Hepatol* 1990;11:257-262.
12. Baker JH. The laboratory rat 1979;1:86.
13. Bartels H. Método Jaffé sin desproteinización. *Clin Chim Acta* 1971; 32: 81.
14. Beergstrom S, Danielsson H. On the regulation of bile acid formation in the rat liver. *Acta Physiol Scand* 1958;43:1-5.
15. Bernardi M, Gasbarromo G. The renin - angiotensin - aldosterone system in human hepatic cirrhosis. *J Clin Sci* 1986;22:70-77.
16. Bernardi M, Trevisani F, Santini C. Plasma norepinephrine, weak neurotransmitters, and renin activity during active tilting in liver cirrhosis; relationship with cardiovascular homeostasis and renal function. *Hepatology* 1983;3:56-64.
17. Better OS, Schrier RW. Disturbed volume homeostasis in patients with cirrhosis of the liver. *Kidney Int* 1983;33:1545-1554.
18. Bichet DG, Groves BG, Schrier RW. Mechanisms of improvement of water and sodium excretion by immersion in decompensated cirrhotic patients. *Kidney Int* 1983;24:788-794.
19. Bichet DG, Van Putten VJ, Schrier RW. Potential role of increased sympathetic activity in impaired sodium and water excretion in cirrhosis. *N Engl J Med* 1982;307:1552-1557.
20. Bisera J, Harry WM, Michaels AB, Stein B. An oncometer for clinical measurement of colloid osmotic pressure of plasma. *Clin Chem* 1978;24:1586-1589.

21. Bjørneboe M. Studies on the serum protein in hepatitis I. The relation between serum albumin and serum globulin. *Acta Med Scand* 1946;123:393.
22. Bosch J, Enriquez R, Groszmann JR, Storer HE. Chronic bile duct ligation in the dog: hemodynamic characterization of a portal hypertensive model. *Hepatology* 1983;3:1002-1007.
23. Boyer LJ. What causes cholestasis?. The American Association for the study of liver diseases. Postgraduate course. Chicago Illinois 1989:266-285.
24. Cameron GR, Hasan SM. Disturbances of structure and function in the liver as the result of biliary obstruction. *J Path Bact* 1958;75:333-349.
25. Carrillo HF, Castorena AG, Ramírez AJ. Peritonitis generalizada. Morbilidad y mortalidad con respecto al desarrollo de la presión oncótica en el postoperatorio temprano. *Prensa Med Mex* 1978;5-6:162-165.
26. Castorena G, Molina FL, Ramírez Acosta J. Albúmina o plasma para aumentar la PCO en el paciente con sepsis grave. *Rev Invest Clin* 1977;29: 209-214.
27. Cerbón-Ambriz J, Cerbón SJ, Rojkind M. Regulation of collagen production in freshly isolated cell populations from normal and cirrhotic rat liver: Effect of lactate. *Hepatology* 1991;13:551-556.
28. Churchill PC. Second messengers in renin secretion. *Am J Physiol* 1985; 249:F175-F184.
29. Cooper DA. Hepatic Lipoprotein and Cholesterol Metabolism. In Zakim D, Boyer DT. *Hepatology: A Textbook of Liver Disease*. W.B. Saunders Company, 1990: 96-126.

30. Coppage WS, Island DP, Coover A, Liddle GW. The metabolism of aldosterone in normal subjects and in patients with hepatic cirrhosis. *J Clin Invest* 1962;41:1672-1680.
31. Corcoran R, Duran S. Albumin determination by a modified bromocresol green method. *Clin Chem* 1977;23:7655-766.
32. Cruz Rivera C. Efecto del Captopril (SQ 14,225) sobre el desarrollo del Síndrome Nefrótico Experimental en Ratas. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias, UNAM. 1988.
33. De la Concha F. Fórmulas matemáticas útiles en la práctica médica. En Uribe M. Tratado de Medicina Interna. Medica Panamericana 1990, cap 28:1394.
34. Del-Val A. Glibenclamide-induced cholestasis. *J Hepatol* 1991;13:375-383.
35. Desmet JV. Cholestasis; extrahepatic obstruction and secondary biliary cirrhosis. In Macsween NM R, Scheuer JP. Pathology of the liver. Churchill Livingstone Edinburg London NY, 1979:272-303.
36. Desmorat H, J Vinel JP, Laholou O, Pipy B, Badia P, Cales P, Combis JM, Souqual MC, Pascal JP. Systemic and splanchnic hemodynamic effects of molsidomine in rats with carbon tetrachloride-induced cirrhosis. *Hepatology* 1991; 13:1181-1184.
37. Di Bona GF. Renal neural activity in hepatorenal syndrome. *Kidney Int* 1984; 25:841-853.
38. Diamond T. Development and reversal of endotoxemia and endotoxin-related death in obstructive jaundice. *Surgery* 1990;108:370-375.
39. Díaz-Muñoz M. Encefalopatía hepática. Un enfoque moderno a un antiguo problema de salud. *Ciencia* 1988;39:179-189.

40. Diaz-Muñoz M, Tapia R. Glutamate decarboxylase inhibition and vitamin B6 metabolism in brain of cirrhotic rats chronically treated with carbon tetrachloride. *J Neurosci Res* 1988;20:376-382.
41. Diaz M, Tapia R. Regional Brain GABA metabolism and release during hepatic coma produced in rats chronically treated with carbon tetrachloride. *Neuroch Res* 1988;13:37-44.
42. Donohue MT, Jennett BR, Tuma JD, Sorrell FM. Synthesis and secretion of plasma proteins by the liver. En Zakim D, Boyer DT. *Hepatology: A Textbook of Liver Disease*. W.B. Saunders Company, 1990:124-137.
43. Doumas B, Watson W, Biggs H. Albumin standards and the measurement of serum albumin with bromocresol green. *Clin Chim Acta* 1971;311:87-96.
44. Du Cailar J, Becker H, Griffe O, Mathieu-Daudé J, Kienien J. Pression colloïde osmotique: Mesure et importance clinique. *Ann Anesth Franc* XIX,1978;9.
45. Elsafi ME, Holmberg JT, Hulthberg B, Hagers Trand I, Isakson A, Joelsson B, Melen K. Alkaline phosphatase in cholestatic and cirrhotic rats. A biochemical and histochemical study. *Enzyme* 1989;42:145-151.
46. Epstein M. The hepatorenal syndrome. *Hosp Pract* 1989;15:65-75.
47. Epstein M. Renal effects of head - out water immersion in man. Implications for and understanding of volume homeostasis. *Physiol Rev* 1978;58:529-581.
48. Epstein M, Lifschitz M, Hoffman DS. Relationship between renal prostaglandin E and renal sodium handling during water immersion in normal man. *Circ Res* 1979;45:71-80.
49. Fernández LM. Factores de riesgo cardiovascular. sistema renina angiotensina-aldosterona. *Rev Invest Clin* 1992;3:22-29.

50. Fernández Cruz A, Marco J, Cuadrado LM. Plasma levels of atrial natriuretic peptide in cirrhotic patients. *Lancet* 1985;ii:1439-1144.
51. Fevery J, Van Cutsem E, Novens F, Van Steenberghe W, Verberckmoes R, De Groote J. Reversal of hepatorenal syndrome in four patients by peroral misoprostol (prostaglandin E₁ analogue) and albumin administration. *J Hepatol* 1990;11:153-158.
52. Fischer-Nielsen A, Poulson EH, Hansen BA, Hage E, Keiding S. CCl₄ cirrhosis in rats Irreversible histological changes and differentiated functional impairment. *J Hepatol* 1991;12:110-117.
53. Franco D, Gigou M, Szekely MA, Bismuth H. Portal hypertension after bile duct obstruction. *Arch Surg* 1979;114:1064-1067.
54. Garcia-Compean D, Valadez CR, Barragan FR. Conceptos actuales sobre la fisiopatogenia de la encefalopatia hepática. *Rev Invest Clín* 1990;42:113-119.
55. Garin EH., Sausuille PM., Richard GA. Plasma prostaglandin E₂ concentration in nephrotic syndrome. *J. Pediatric* 1983;103:253-256.
56. Gaudin , Brailion A, Poo JL, Kleber G, Moreau R, Lebrec D. Plasma catecholamines in patients with presinusoidal portal hypertension: comparison with cirrhotic patients and nonportal hypertensive subjects. *Hepatology* 1991;13:913-916.
57. Gonzalez-Avila G. Experimental diffuse interstitial renal fibrosis a biochemical approach. *Lab Invest* 1988;59:245-252.
58. Goodman De WS. Overview of current knowledge of metabolism of vitamin A and carotenoids. *J. Natl Cancer Inst* 1984;73:1375.
59. Greve JW, Maessen GJ, Tiebosch T, Burman AW, Gouma JD. Prevention of postoperative complications in jaundiced rats. Internal Biliary drainage versus oral lactulose. *Ann Surg* 1990;212: 221-227.

60. Guyton AG (1987). Tratado de Fisiología Médica. 6a. ed. Interamericana. México. Cap 77. Hormonas corticoadrenales. 1159 pp.
61. Hahn EG, Schuppan D, Hahn V. Expression of new collagen types by portal fibroblasts in obstructive bile duct disease (OBDD). *Hepatology* 1983;3: 861.
62. Healy KJ, Elliott JA. Multiple changes in distal stop-flow electrolyte patterns and reduction of acid excretion induced in rabbits by angiotensin. *Clin Sci Mol Med* 1976;50:990-101.
63. Henriksen HJ. Variability of hydrostatic hepatic vein and ascitic fluid pressure, and of plasma and ascitic fluid colloid osmotic pressure in patients with liver cirrhosis. *Scand J Clin Lab Invest* 1980;40:515-522.
64. Henriksen JH, Ring-Larsen H, Christensen NJ. Sympathetic nervous activity in cirrhosis: A survey of plasma catecholamine studies. *J Hepatol* 1984;1:55-65.
65. Heuman DM, Vlahcevic Zr, Bailey MML. Regulation of bile acid synthesis: II Effect of bile acid feeding on enzymes regulating hepatic cholesterol and bile acid synthesis in the rat. *Hepatology* 1988;8:892 (abstrac).
66. Howlad SW, Schweizer O, Ragasa J, Jascott D. Colloido oncotic pressure and levels of albumin and total protein during major surgical procedures. *Surg Gyn Obst* 1976;143:592-596.
67. Huberman A. The in vitro effect of colloid osmotic pressure on albumin biosynthesis in normal rat liver. *Rev Invest Clin* 1973;25:321-329.
68. Huberman A, Recio A, Rojkind M. Collagen biosynthesis in normal and cirrhotic rat liver slices. *Proc Soc Exp Biol Med* 1969;131:200-203.
69. Huberman A, Soberon G. Albumin synthesis in liver slices of cirrhotic rats. *Clin Chim Acta* 1970;29:121-127.

70. Ibarra-Rubio ME, Cruz C, Tapia E, Peña JC, Pedraza-Chaverri J. Serum angiotensin converting enzyme activity and plasma renin activity in experimental models of rats. *Clin Exp Pharm Physiol* 1990;17:391-399.
71. Ibarra- Rubio ME, Pedraza-Chaverri J. El concepto actual del sistema renina-angiotensina. *Rev Invest Clin* 1993;45:165-177.
72. Jaffé LJA, Wenk RF. Simple rapid kinetic method for serum creatinine measurement. *Clin Chem* 1972;18:1419-1422.
73. James WFO. Ursodeoxycholic acid treatment for chronic cholestatic liver disease. *J Hepatol* 1990;11:5-8.
74. Jenkins AS., Grandison A., Baxter NJ., Day WD., Taylor I., Shields R. A dimethylnitrosamine-induced model of cirrhosis and portal hypertension in the rat. *J Hepatol* 1985;1:489-499.
75. Jézéquel MA, Modulation of extracellular matrix components during dimethylnitrosamine-induced cirrhosis. *J Hepatol*.1990;11:206-214.
76. Jézéquel MA., Mancini R., Rinaldesi LM, Ballardini G., Fallani M., Bianchi F., Orlandi F. Dimethylnitrosamine-induced cirrhosis. Evidence for an immunological mechanism. *J Hepatol* 1989;8:42-52.
77. Jézéquel MA., Nancini R., Tinaldesi LM., Macarri G., Venturini C., Orlandi F. A morphological study of the early stages of hepatic fibrosis induced by low doses of dimethylnitrosamine in the rat. *J Hepatol* 1987;5:174-181.
78. Jungermann K. Dynamic zonal hepatocyte heterogeneity perinatal development and adaptive alterations during regeneration after partial hepatectomy, starvation and diabetes. *Acta Histochem* 1986:89-98.
79. Jungermann K. Functional heterogeneity of periportal and perivenous hepatocytes. *Enzyme* 1986;35:161-180.

80. Kawasaki S., Umekita N., Beppu T. Hepatic excretion of chenodeoxycholic acid in dogs chronically intoxicated with dimethylnitrosamine. *Biochem Pharmacol* 1984;33:3219-3224.
81. Koshy A. Effects of haemorrhage and volume expansion on portal-systemic collateral vascular resistance in conscious portal hypertensive rats. *Clin Sci* 1990;78:193-197.
82. Kountouras J, Billing HB, Schever JP. Prolonged bile duct obstruction: a new experimental model for cirrhosis in the rat. *Br J Exp Path* 1984;65:305-311.
83. Krol. Tauroursodeoxycholate (TUDC) reduces ductular proliferation and portal inflammation in bile-duct-ligated hamsters. *Hepatology* 1983;3:881(abstrac).
84. Kurt -Isselbacher J. Ictericia y Hepatomegalla. En Harrison. Principios de Medicina Interna. Interamericana. Mac Graw-Hill. México. Cap 47;1991:2762.
85. Ladegaard Pederisen JH. Measurement of the colloid osmotic pressure in patients. *J Clin Lab Invest* 1967;20:79 -87.
86. Langman SMJ. Lo esencial de la gastroenterología. Ed. El Manual Moderno S.A. México, 1976:218
87. Larrey D., Tinel M., Amouyal G., Freneaux E., Berson A., Fouin-Fortunet H., Babany G., Letteron P., Igllicki F., Slama LJ., Habersetzer F., Pessayre D., Benhamou JP. Genetically determined oxidation polymorphism and drug hepatotoxicity. Study of 51 patients. *J Hepatol* 1989;8:158-164.
88. Lee SS, Girod C, Braillon A, Hadengue A, Lebrec D. Hemodynamic characterization of chronic bile duct-ligated ratas: effect of pentobarbital sodium. *Am J Physiol* 1986; 251: G176 - G180.
89. Lenhinger AL. *Bloquímica 2a*. Ed. Omega S.A. Barcelona 1982. 842-844.

90. Levy M. Sodium retention and ascites formation in dogs with experimental portal cirrhosis. *Am J Physiol* 1977;233:F572-F585
91. Levy M. Hepatorenal syndrome. En *The Kidney: Physiology and Pathophysiology*, edited by D.W. Seldin G. Gleibisch. Vol 2. Raven Press. New York 1985:1945-1960.
92. Levy M. Sodium retention in dogs with cirrhosis and ascites: efferent mechanisms. *Am J. Physiol* 1977;233:F 586- F 592.
93. Levy M, Allotery JBK. Temporal relationship between urinary salt retention and altered systemic hemodynamics in dogs with experimental cirrhosis. *J Lab Clin Med* 1978;92:560-569.
94. Lieberman FL, Denison EK, Reynolds TB. The relationship of plasma volume, portal hypertension, ascites and renal sodium retention in cirrhosis. The overflow theory of ascites formation. *Ann NY Acad Sci* 1970;170:202-212.
95. López C, Jiménez W, Arroyo V, Claría J, La JVilla G, Asbert M, Gaya J, Rivera F, Rodés J. Temporal relationship between the decrease in arterial pressure and sodium retention in conscious spontaneously hypertensive rats with carbon tetrachloride-induced cirrhosis. *Hepatology* 1991;13:585-589.
96. Lopez-Novoa JM. A micropuncture study of salt and water retention in chronic experimental cirrhosis. *Am J Physiol* 1977;234:F315- F318.
97. Lowry DH, Rosebrough NJ, Rarr A, Randall RJ. Protein measurement with the Follin phenol reagents. *J Biol Chem* 1951;193:265-275.
98. Mac Donald RA, Pechet G. Liver cell regeneration due to biliary obstruction. *Arch Path* 1961;72:133-141.
99. Maddox AD. Effects of surgery on plasma volume and salt and water excretion in rats. *Am J Physiol* 1977;233:F600-F606.

100. Malone AR, Mc Leavey AC, Arens FJ. Plasma osmotic changes during major abdominal surgery. *South Med J* 1977;70:1442-1446.
101. Mlura S, Asakura M, Munakata Y, Kobayashi K, Yoshioka M, Morishita T, Tsuchiya M. Lymphatic role in the pathogenesis of fat malabsorption in liver cirrhosis in rats. *Gastroenterology* 1972;62:93-100.
102. Molina FL, Ramírez J. Presión coloidosmótica. *Arch Inst Card (Mex)*, 1977;47:95-100.
103. Morris BJ. New possibilities for intracellular renin and inactive renin now that the structure of the human renin gene has been elucidated. *Clin Sci* 1986;71: 345-355.
104. Murray E. The sodium retention of cirrhosis: A reappraisal. *Hepatology* 1986;6:312-315.
105. Murray E. Derangements of renal water handling in liver disease. *Gastroenterology* 1985;89:1415-1425.
106. Nessey AD. Metabolism of drugs and toxins by human liver. En Zakim D, Boyer DT. *Hepatology: A Textbook of Liver Disease*. W.B. Saunders Company, 1990:196-234.
107. Ohara N, Schaffner T, Reichen J. Structure-function relationship in secondary biliary cirrhosis in the rat. Stereologic and hemodynamic characterization of a model. *J Hepatol* 1993;17:155-162
108. Oliver W., Owings CL. Sodium excretion in the nephrotic syndrome. *Am J Dis Child* 1967;113:352-362.
109. Patrick, Gree JD. Cholestatic jaundice and biliary obstruction. En Patrick Gree JD. *Biopsy Pathology of the Liver*. London Chapman and Hall. Great Britain 1980: 335.

110. Pedraza-Chaverri J. Urinary excretion of renin and angiotensinogen in Nephrotic ratas. *Nephron* 1991;57:106-108.
111. Pedraza-Chaverri J, Herrero B, Ibarra Rubio ME, Cruz C, Tapia E, Peña JC. Lack of correlation between human serum angiotensin converting enzyme activity and the renin-angiotensin converting enzyme activity and the renin-angiotensin-aldosterone system. *Clin Chim Acta* 1990;190:105-106.
112. Pedraza-Chaverri J, Tapia E, Bobadilla N. Ischemia-reperfusion induced acute renal failure in the rat is ameliorated by the spin-trapping agente α -phenyl-N-tert-butyl-nitrono (PBN). *Ren Fail* 1992;14:467-471.
113. Pérez-Ayuso RM, Arroyo V, Planas R. Randomized comparative study of efficacy of furosemide versus spironolactone in no azotemic cirrhosis with ascitis. *Gastroenterology* 1983;84:961-968.
114. Pérez-Ayuso RM, Arroyo V, Camps J. Renal kallikrein excretion in cirrhotics with ascites: relationship to renal hemodynamics. *Hepatology* 1984;4:247-252.
115. Pérez-Ayuso RM, Arroyo V, Camps J. Evidences that renal prostaglandins are involved in renal water metabolism in cirrhosis. *Kidney Int* 1984;26:72-80.
116. Pérez-Ayuso RM, Arroyo V, Camps J. Effect of demeclocycline on renal function and urinary prostaglandin E2 and kallikrein in hyponatremic cirrhosis. *Nephron* 1984;36:30-37.
117. Perez-Tamayo R.. Is cirrhosis of the liver experimentally produced by CCl4, an adequate model of human cirrhosis?. *Hepatology* 1983;83:112-120.
118. Podolsky DD, Isselbacher JK. Cirrosis Hepática. En Harrison. Principios de Medicina Interna. Interamericana. Mac Graw-Hill. México. Cap 254 (2); 1991:2762.

119. Polio J, Groszmann RJ, Reuben A, Sterzel RB, Better OS. Portal hypertension ameliorates arterial hypertension in spontaneously hypertensive rats. *J Hepatol* 1989;8:294-301.
120. Poo JL. Etiología de la hipertensión portal. *Rev. Gastroenterol* 1991; 56:97-108.
121. Poo JL, Feldmann G, Erlinger S, Brallion A, Gaudin C, Dumont M, Liebrech D. Ursodeoxycholic acid limits liver histologic alterations and portal hypertension induced by bile duct ligation in the rat. *Gastroenterology* 1992;102:1752-1759.
122. Poo JL, Cruz C, Zenteno E, Luna J, Panduro A, Uribe M. Etiology and prognosis of portal hypertension (PH) in a cohort of 1000 patients from Mexico City. *Hepatology* 1992;16:245A.
123. Poupon ER, Eschwege E, Poupon R, and the UDCA-PBC Study Group. Ursodeoxycholic acid for the treatment of primary biliary cirrhosis. *J Hepatol* 1990; 11:16-21.
124. Proctor E, Chatamra K. Controlled induction of cirrhosis in the rat. *Br J Exp Path* 1983;64:320-330.
125. Proctor E, Chatamra K. High yield micronodular cirrhosis in the rat. *Gastroenterology* 1982;83:1183-1190.
126. Rimola A, Ginés P, Arroyo V. Urinary excretion of 6-keto-prostaglandin thromboxane B2 and prostaglandin E2 in cirrhosis with ascites. Relationship to functional renal failure (hepatorenal syndrome). *J Hepatol* 1986;3:111-117.
127. Ring-Larsen H, Hesse B, Henriksen JH. Sympathetic nervous activity and renal and systemic hemodynamics in cirrhosis: Plasma norepinephrine concentration, hepatic extraction and renal release. *Hepatology* 1982;2:304-310.
128. Ring-Larsen. Hepatic nephropathy, related to hemodynamics. *Liver* 1983;3:265-289.

129. Ring-Larsen. Pathogenesis of ascites formation and hepatorenal syndrome: Humoral and hemodynamic factors. *Sem Liver Dis* 1986;6:341-352.
130. Rivera A, Peña JC, Barcena C, Rangel S, Dias F. Renal excretion of water, sodium and potassium in cirrhosis of the liver. *Metabolism Clin Exp* 1961;10:1-17.
131. Robbins S, Kumar V. *Patología Humana. Interamericana.* 4a ed. México 1990:575-623.
132. Rodríguez PM, Rodríguez TF, Vivancos EJA, Aznar RA. Presión oncótica del plasma: Técnica de determinación y valores normales obtenidos en una población sana. *Rev Clin Esp* 1979;154:209-211.
133. Rojkind M, Gonzales E. An improved method for determining specific radioactivities of proline ¹⁴C and hydroxyproline ¹⁴C in collagen and in noncollagenous proteins. *Anal Biochem* 1974;57:1-7.
134. Rowe MI, Lankau C, Newmark S. Clinical evaluation of methods to monitor colloid oncotic pressure in the surgical treatment of children. *Sur Gynecol Obst* 1974;139:889-893.
135. Rozich KJ, Paul VR. Acute renal failure precipitated by elevated colloid osmotic pressure. *Am J Med* 1989;87:358-360.
136. Rullope L, Millet V. G., Alcázar J.M., Priteo C., Tresguerras JSG., Garcia-Robles R., Sancho J., Rodecio JL. Participation of renal prostaglandins in the nephrotic syndrome. *Proc EDTA* 1982;19:738-743.
137. Scheuer JP. Cirrhosis. En Macsween NM R, Scheuer JP. *Pathology of the liver.* Churchill Livingstone Edinburg, London and NY, 1979:258-271.
138. Schrier WR, Arroyo V, Bernardi M, Epstein M, Henriksen HJ, Rodes J. Peripheral arterial vasodilation hypothesis: A proposal for the initiation of renal sodium and water retention in cirrhosis. *Hepatology* 1988;8:1151-1157.

139. Schrier WR. Mechanisms of disturbed renal water excretion in cirrhosis. *Gastroenterology* 1983;84:870-872.
140. Schrier WR. Body fluid volume regulation in health and disease: A unifying hypothesis. *Ann Int Med* 1990;113:155-159.
141. Schroeder ET, Anderson GM, Goldman SM. Effect of blockade of angiotensin II on blood pressure, renin and aldosterone in cirrhosis. *Kidney Int* 1976;9:511- 519.
142. Schuppan D, Kim KY, Riecken EO. Antifibrogenic effect of ursodeoxycholic acid, Cyclosporin A, Penicillamin, Prednisolone and Colchicine in a rat model of secondary biliary fibrosis. AASLD (The American Association for the Study of Liver Diseases) Postgraduate Course 1989. Chicago Illinois.
143. Shapiro MD, Nicholls KM, Groves BM. Interrelationship between cardiac output and vascular resistance as determinants of effective arterial blood volume in cirrhotic patients. *Kidney Int* 1985;28:206-211.
144. Sharma A., Yagil Y., Vakit N. Renal function in the bile duct ligated. *Digestive Disease Week*. New Orleans Louisiana 1991;19-22.
145. Shasha MS, Better SO, Chaimovitz C, Doman J, Kishon Y. Haemodynamic studies in dogs with chronic bile-duc ligation. *Clin Sci Mol Med* 1976;50:533-537.
146. Sheffer CG, Hauser S., Bekersky I. Biochemical site of regulation of bile acids synthesis in the rat. *J Lipid Res* 1970;11:404-409.
147. Sherlock SD. Cholestasis. En Sherlock SD. *Diseases of the liver and biliary system*. Blackwell Scientific Publications. Oxford London Edinburgh Boston Melbourne 1981:537.
148. Shiraf M, Yoshimura a, Nishioka M, Siga J, Mori W, Fukuda I, Kanegasakis S. Organ distribution of 3H-endotoxin in rats with liver fibrosis and rats with liver cirrhosis. *Hepatogastroenterology* 1989;36:172-174.

149. Smith HL. *Fisopatología (Principios biológicos de la enfermedad. El riñón.* Ed. Médica Panamericana 2a. ed. Argentina 1989:602-688.
150. Sola J, Camps J, Arroyo V, Guarner F, Gaya J, Rivera F, Ródes J. Longitudinal study of renal prostaglandin excretion in cirrhotic rats: relationship with the renin-aldosterone system. *Clin Sci* 1988;75:263-269.
151. Stuart L. Role of vasopressin in impaired water excretion in conscious rats with experimental cirrhosis. *Kidney Int.* 1981;20:173-180.
152. Trujillo RF, Rodríguez Portillo M, Aznar RA. Presión oncótica del plasma: proteína total. Cociente albúmino/globulina. *Rev Clin Esp* 1979;155:89-91.
153. Tseng S, Smuckler AE, Stern R. Types of collagen synthesized by normal rat liver hepatocytes in primary culture. *Hepatology* 1983;3:955-963.
154. Unikowsky B, Wexler MJ, Levy M. Dogs with experimental cirrhosis of the liver but without intrahepatic hypertension do not retain sodium or form ascites. *J Clin Invest* 1983;72:1594-1604.
155. Uribe M. *Encefalopatía y coma hepático.* Salvat Mexicana de ediciones S.A. México, 1985:272.
156. Van Bossuyt H. The role of bile acids in the development of endotoxemia during obstructive jaundice in the rat. *J Hepatol* 1990;10:274-279.
157. Welsdorf AS, Freese DK, Rodmer WJ, Pehner LP, Cerra FB. Plasma amino acids in long term models for obstructive versus toxic liver injury in developing rats. *J Pediatric Gastroenterol Nutr* 1990;10:371-379.
158. Wensing G, Sabra R, Branch AR. The onset of sodium retention in experimental cirrhosis in rats is related to a critical threshold of liver function. *Hepatology* 1990;11:779-786.

159. Wilkinson SP. Endotoxaemia and renal failure in cirrhosis and obstructive jaundice. *Br Med J* 1976;2:1415-1418.
160. Wilkinson SP, Jowen TP, Slater JDH. Renal sodium retention in cirrhosis relation to aldosterone an nephosite. *Clin Sci* 1979;56:169-177.
161. Wilkinson SP., Willlams R. Renin-angiotensin-aldosterone system in cirrhosis. *Gut* 1980;21:545-554.
162. Woessner FJ. The determination of hydroxyproline in tissue and protein samples containing small proportions of imino acid. *Arch Biochem Biophys* 1961;93:440-447.
163. Zimmerman H. Direct (Toxicopathic) hepatotoxins: Haloalkanes and elemental phosphorus. En Zimmerman H. Hepatotoxicity. The adverse effects of drugs and other chemicals on the liver. Appleton -Century-Crofts. New York. Cap. 9; 1978: 205.
164. Zuñiga-Estrada A. Produccion de reactivos para la determinacion de angiotensina I por RIA. Tesis de Licenciatura. Facultad de Química, UNAM. 1986