

11209
69



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE MEDICINA
HOSPITAL GENERAL DE MEXICO SECRETARIA DE SALUD
SERVICIO DE CIRUGIA GENERAL

2 ej.

PAPEL DEL ENDOTELIO EN LAS ALTERACIONES DE LA REACTIVIDAD VASCULAR INDUCIDAS POR LA ICTERICIA DE ORIGEN OBSTRUCTIVO BILIAR EXTRAHEPATICO: UN MODELO EXPERIMENTAL EN RATA.

SECRETARIA DE SALUD
HOSPITAL GENERAL DE MEXICO
ORGANISMO DESCENTRALIZADO



DIRECCION DE ENSEÑANZA

TESIS

PARA OBTENER LA ESPECIALIDAD EN:
CIRUGIA GENERAL

PRESENTA:

DR. CARLOS MANUEL ORTIZ MENDOZA

DIRECTOR DE TESIS:
DR. DIETER MASCHER GRAMLICH



MEXICO, D. F.

268714

1998

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 esta 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.

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE MEDICINA

HOSPITAL GENERAL DE MEXICO S.S.

SERVICIO DE CIRUGIA GENERAL

*PAPEL DEL ENDOTELIO EN LAS ALTERACIONES DE LA REACTIVIDAD VASCULAR
INDUCIDAS POR LA ICTERICIA DE ORIGEN OBSTRUCTIVO BILIAR EXTRAHEPatico:
UN MODELO EXPERIMENTAL EN RATA.*

TESIS QUE PARA OBTENER LA ESPECIALIDAD EN:

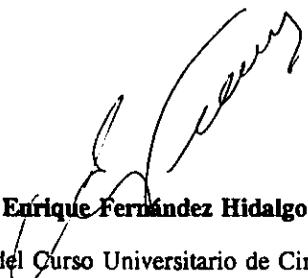
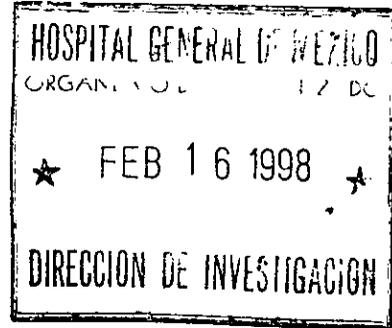
CIRUGIA GENERAL

PRESENTA:

Dr. Carlos Manuel Ortíz Mendoza

Director de Tesis:

Dr. Dieter Mascher Gramlich.



Dr. Enrique Fernández Hidalgo.

Profesor Titular del Curso Universitario de Cirugía General.

Consultor Técnico del Pabellón 305 de Cirugía General.

Hospital General de México S.S.



Dr. Dieter Mascher Gramlich.

Director de Tesis.

Director del Laboratorio de Fisiología Muscular.

Facultad de Medicina, U.N.A.M.



Dra. María Cristina Paredes Carbajal.

Coasesor de Tesis (área experimental).

Investigador en el Laboratorio de Fisiología Muscular.

Facultad de Medicina, U.N.A.M.



Dr. Oscar Chapa Azuela.

Coasesor de Tesis (área clínica).

Subjefe del Pabellón 307 de Cirugía General.

Hospital General de México S.S.

AGRADECIMIENTOS.

A mi madre, profesora Elvia María del Carmen Mendoza Zavalza: Por su cariño, confianza, apoyo incondicional en mi formación académica, y por haberme inculcado el hábito de la lectura.

A mi abuelita Manuelita, profesora Manuela Zavalza del Valle (in memoriam): por enseñarme que el deber es primero que el placer, y a mi tía "China", profesora Leonor Martínez Zavalza (in memoriam): por haberme enseñado que la vida debe disfrutarse en todo momento.

A mi padre, Carlos Miguel Ortíz Salcedo (in memoriam): Por haber sido el motivo para dedicarme a la medicina.

A mis maestros, Dr. Dieter Mascher Gramlich y Dra. María Cristina Paredes Carbajal, por haberme permitido incursionar en la investigación, por ser un modelo a seguir en integridad y rectitud profesional, por su invaluable y desinteresado apoyo para la elaboración de este trabajo, y por su amistad. Al Dr. Manuel Gallo Reynoso que me enseñó, con el ejemplo, que los pacientes no son casos sino personas que requieren además de excelente atención médica, trato cordial. Al Dr. Oscar Chapa Azuela, ejemplar cirujano. Al Dr. Enrique Fernández Hidalgo por la confianza que me depositó para permitirme realizar una rotación por el laboratorio de Fisiología Muscular de la Facultad de Medicina de la U.N.A.M., y por ser ejemplo del equilibrio que debe existir entre la clínica, el desempeño quirúrgico y la enseñanza, un modelo a seguir.

A mis amigos, la Dra. Vanessa D. Alvarez y Pérez, al Dr. Alejandro Rueda Loaiza y a la Dra. Cecilia Cu Zetina por su gran apoyo para obtener insumos necesarios para la realización de este trabajo. Con especial aprecio al Sr. Manuel Sánchez Negrete, técnico en el Laboratorio de Fisiología Muscular, por su amistad y valiosa ayuda para la realización del trabajo experimental. Al Dr. Francisco Uribe Ancira, a la Química Argelia Chávez Orio y al técnico Jorge Camacho García del Departamento de Bioquímica Clínica Especializada del Hospital General de México por su apoyo y diligencia en la realización de las pruebas bioquímicas necesarias para este trabajo. Al Dr. Marco Antonio Juárez Oropeza del Departamento de Bioquímica de la Facultad de Medicina de la U.N.A.M. por su apoyo en el análisis de los resultados de este trabajo.

A nuestros pacientes, motivo de nuestra existencia, pesares, triunfos y razón de este trabajo.

INDICE.

	Página
INDICE	1
RESUMEN	2
INTRODUCCION	4
MATERIAL Y METODOS	7
RESULTADOS	11
DISCUSION	16
CONCLUSIONES	24
REFERENCIAS	25
TEXTOS PARA LAS FIGURAS	34
FIGURAS	38

RESUMEN.

Antecedentes. La pacientes con ictericia secundaria a obstrucción biliar extrahepática pueden desarrollar insuficiencia renal aguda después de procedimientos quirúrgicos destinados a corregir la obstrucción biliar, y esto se origina por alteraciones en la reactividad vascular que predisponen a eventos de hipotensión.

Objetivo. Analizar el papel que desempeñan el óxido nítrico y los metabolitos derivados del ácido araquidónico, producidos por el endotelio, en las alteraciones de la reactividad vascular inducidas por la ictericia secundaria a obstrucción biliar extrahepática, en un modelo experimental de ligadura de colédoco.

Material y Método. Se formaron 3 grupos de ratas de la cepa Wistar: uno con ligadura de colédoco, otro control quirúrgico y finalmente animales sanos. Para estudiar el papel del endotelio en la reactividad vascular en cada experimento se utilizó un par de anillos de la misma aorta, uno con y otro sin endotelio. En los anillos de aorta se analizó la respuesta contráctil a la fenilefrina (10^{-9} - 10^{-5} M) y la vasodilatación inducida por el carbacol (10^{-9} - 10^{-5} M). A su vez, para evaluar el papel individual de los metabolitos del ácido araquidónico y del óxido nítrico producidos por el endotelio, los experimentos se efectuaron, en forma secuencial, en ausencia de indometacina, en presencia de indometacina y finalmente en presencia de indometacina más L-NAME.

Resultados. La vasoconstricción inducida por la fenilefrina fue menor en los anillos aórticos con endotelio provenientes de animales con ligadura de colédoco; esta disminución en la respuesta contráctil revirtió al administrar L-NAME. La vasodilatación dependiente del endotelio fue mayor en los anillos aórticos con endotelio provenientes de animales con ligadura de colédoco. La administración de indometacina a los anillos aórticos con endotelio, de los 3 grupos de animales, disminuyó la respuesta contráctil inducida por fenilefrina.

Conclusiones. Los datos sugieren que en los vasos sanguíneos de animales con obstrucción biliar está incrementada la producción basal de óxido nítrico. Por otro lado, los datos sugieren que en los anillos aórticos con endotelio, de ratas de la cepa Wistar, se libera un metabolito derivado de la vía de la ciclooxigenasa con actividad vasoconstrictora.

INTRODUCCION.

Desde la primera observación en 1910 por Clairmont y von Haberer de la asociación entre ictericia, ocasionada por obstrucción biliar (OB), e insuficiencia renal aguda (IRA) después de procedimientos operatorios destinados a corregir la OB, se han llevado al cabo múltiples estudios clínicos que corroboran la asociación entre estas dos entidades (Dawson 1965, Allison 1979, Pitt 1980, Evans 1982, Cahill 1983, Dixon 1983, Pain 1985, Gubern 1988). La morbimortalidad que acarrea la IRA postoperatoria en los casos de OB es alta; se ha señalado que del 60 a 75% de los pacientes con OB presentan una disminución considerable en su filtrado glomerular, en tanto que un promedio de 70 a 80% de los que desarrollan IRA mueren (Wait 1989, Fogarty 1995, Green 1995); sin embargo, otros han descrito una menor morbimortalidad (Parks 1994).

El mecanismo por el cual la ictericia conduce a la IRA no se ha elucidado. Se han propuesto múltiples teorías que intentan explicar su desarrollo, tales como toxicidad de las sales biliares sobre las células tubulares renales (Panozzo 1995, Krähenbühl 1995), alteraciones en el volumen y composición de los líquidos corporales (Guillet 1971, Zambranski 1984, Levy 1983), así como endotoxemia (Pain 1987, Cahill 1987, Greve 1992), sin que alguna sea completamente satisfactoria. De particular interés es que en el examen anatomopatológico de los riñones de pacientes con OB que desarrollaron insuficiencia renal, se encontraron datos de necrosis tubular aguda indistinguibles de la observada en pacientes con hipotensión y bajo flujo renal por otras causas (Dawson 1968). Estos hallazgos han sugerido que la obstrucción de la vía biliar, con la ictericia subsecuente, causa efectos sistémicos (hipotensión) que disminuyen el flujo sanguíneo renal. A este respecto se ha demostrado, en modelos animales de OB, que existe mayor probabilidad de hipotensión grave en casos de disminución moderada del volumen circulante (Cattel 1967); aunado a lo anterior la función cardiaca (inotropismo y cronotropismo) se ha encontrado deprimida (Binah 1985, Bonzom 1986, Green 1986, Green 1995); además se ha

demostrado que las sales biliares son vasoactivas directamente, provocando vasodilatación esplácnica (Pak 1993). Finalmente, hay que señalar que en modelos experimentales de OB existe disminución en la respuesta a sustancias vasoconstrictoras tales como la angiotensina II y la norepinefrina (Finberger 1981, Bonzom 1978, Bonzom 1985, Bomzon 1986). En lo que respecta a la hiporreactividad a los vasopresores adrenérgicos, esta puede explicarse debido a que la ictericia causada por OB induce un defecto en la expresión funcional de los receptores adrenérgicos vasculares α -1, sin modificación en la actividad de los receptores α -2 (Jacob 1993).

El papel que el endotelio tiene en la regulación del tono en el músculo liso vascular ha sido ampliamente estudiado a partir de que Furchgott y col. lo describieron (Furchgott 1980). Desde entonces, se ha reportado que existen alteraciones en la vasodilatación mediada por el endotelio en diversos padecimientos tales como hipertensión, diabetes mellitus, y particularmente durante el choque hipovolémico o séptico (Panza 1990, Van de Voorde 1988, Oyama 1988, Thiemermann 1993, Wang 1994). Se ha fundamentado claramente que el principal mediador de la vasodilatación dependiente del endotelio es el óxido nítrico (ON) (Palmer 1987, Ignarro 1988). Existen 2 vías por las cuales el ON puede ser sintetizado en el endotelio vascular (Figura 1 y 2); la primera ocurre por las sintetasas del ON constitutiva (SONc), la cual se expresa en forma habitual y produce ON en forma continua; la segunda vía la constituye la sintetasa del ON inducible (SONi), enzima que solo es producida bajo estímulos específicos como la presencia de endotoxinas y citocinas, tales como el factor de necrosis tumoral alfa o TNF- α (Moncada 1993, Bredt 1994, Kuo 1995). Con respecto a esto último, en la OB se ha demostrado que los niveles séricos de endotoxinas se encuentran elevados (Pain 1987, Cahill 1987, Greve 1992) al igual que los del TNF- α (Beierle 1996).

Otras sustancias producidas por el endotelio que modifican el tono del músculo liso vascular son algunos metabolitos del ácido araquidónico (AA), entre los cuales tenemos a la prostaciclina y los tromboxanos (Figura 3), cuyas alteraciones han sido implicadas en diversos padecimientos

(Jacobs 1982, Cain 1997, Lai 1997). La OB se encuentra entre las enfermedades en las cuales existen alteraciones en la síntesis de los metabolitos del AA, ya que se ha demostrado que existe un incremento en la síntesis de prostaciclina, particularmente en riñón, tanto en modelos animales como en humanos con OB (Kahng 1988, Uemura 1989).

Tomando en consideración que el endotelio libera diversas sustancias moduladoras del tono vascular en los padecimientos en los cuales existen niveles aumentados de endotoxinas y citocinas, y debido que hasta el momento no se ha estudiado a fondo el papel que el endotelio juega en las alteraciones de la reactividad vascular inducidas por la ictericia originada por OB, en la que se encuentran aumentados los niveles plasmáticos de endotoxinas y citocinas, se propuso un estudio en ratas, con el modelo de ligadura del conducto colédoco, para estudiar la reactividad vascular mediante el análisis de las respuestas vasodilatadoras y vasoconstrictoras inducidas farmacológicamente, en anillos con y sin endotelio de la aorta torácica.

MATERIAL Y METODO.

Animales. Los estudios fueron efectuados en ratas macho de la cepa Wistar, con peso de 250 a 300 gramos, las cuales fueron alojadas en cajas individuales permitiéndoseles el consumo de alimento y agua *ad libitum*. La razón para excluir del experimento a ratas hembra, es que ha sido demostrado por diferentes grupos que los estrógenos incrementan la liberación basal de ON por el endotelio vascular (Gisclard 1988, Williams 1992, Paredes-Carbajal 1995).

Se formaron 3 grupos de animales: el primero fue de ratas con ligadura de colédoco (LC), las cuáles fueron sometidas a una laparotomía media a través de la cual se expuso el ligamento hepatoduodenal, en donde se identificó el conducto colédoco, el que fue ligado doblemente en su tercio distal con seda 4-0, según la técnica de Takikawa (Takikawa 1996). El grupo control quirúrgico (CQ) también fue sometido a laparotomía en la que se identificó y movilizó el conducto colédoco, pero sin ligarlo. Finalmente se utilizó un grupo de animales sanos los cuales no fueron sometidos a ningún procedimiento quirúrgico, grupo control (C). Los animales sometidos a cirugía fueron anestesiados con pentobarbital sódico (28 a 30 mg/kg, i.p.) y les fue aplicada una dosis de penicilina benzatínica como antibiótico profiláctico (100, 000 UI/kg i.m.) según el protocolo utilizado por Pak (Pak 1993). Tres días después del procedimiento quirúrgico los animales fueron utilizados para los experimentos, siguiendo el protocolo de Bonzom (Bonzom 1985, Jacob 1993). En los animales sometidos a cirugía se registró el peso corporal antes del procedimiento operatorio y al tercer día de postoperatorio, justo antes del experimento; además, en el grupo con LC se efectuó la medición del diámetro del colédoco 2 mm por encima de la ligadura proximal, para corroborar la ausencia de permeabilización del conducto; esta medición del diámetro del colédoco también fue efectuada en los grupos CQ y C.

Obtención y preparación de los anillos de aorta. Tres días después de la cirugía los animales

del grupo LC y del grupo CQ fueron sacrificados mediante dislocación cervical, en tanto que los animales del grupo C fueron sacrificados el día de su obtención del bioterio; todos los animales fueron decapitados y exsanguinados *in toto*, recolectando la sangre, para medir los niveles de bilirrubinas y fosfatasa alcalina séricas. Inmediatamente después se extrajo la aorta torácica, que se pasó a una cámara de disección en donde bajo microscopio se limpió de todo el tejido conectivo y adiposo circundante, siendo cortada en anillos transversales de 2 mm de longitud; se tomaron 2 anillos de la aorta, uno de ellos con endotelio y otro en el cual se lesionó el endotelio por fricción suave con un alambre en su cara luminal.

Para cada experimento fue utilizado un par de anillos de la porción central de la misma aorta (uno con y otro sin endotelio). Cada uno de éstos fue suspendido horizontalmente en la misma cámara de órganos (volumen 1 ml) entre dos ganchos de acero inoxidable (Figura 4). Uno de los ganchos estaba fijo a las paredes de la cámara, en tanto que el otro estaba fijo a un transductor isométrico de tensión (modelo Grass FT 03). Los anillos fueron continuamente perfundidos (3 ml/min) con solución de Tyrode (composición en mM: NaCl 137; KCl 2.7; MgCl 0.69; NaHCO₃ 1.9; NaH₂PO₄ 0.4; CaCl₂ 1.8 y glucosa 10; pH 7.4), mantenida 37°C y aerada continuamente (95% O₂ y 5% CO₂). Los anillos se sometieron a una tensión de 2 gramos dejándolos estabilizar por 50 minutos en la solución de Tyrode; durante este periodo la tensión en reposo fue registrada y si era necesario se reajustó a 2 gramos.

Antes de iniciar los experimentos se exploró la respuesta de cada par de anillos a la fenilefrina y al carbacol. Para ello se cambió la perfusión con una solución de Tyrode por una solución de Tyrode más fenilefrina (10⁻⁵ M), y después por otra solución con fenilefrina (10⁻⁵ M) más carbacol (10⁻⁵ M), cada una por 6 minutos. La relajación inducida por el carbacol en presencia de la fenilefrina fue tomada como evidencia de la existencia de endotelio intacto, mientras que la ausencia de dicha relajación confirmó la ausencia de endotelio funcional.

Protocolo experimental. Se realizaron tres series de experimentos para analizar los efectos de la OB sobre las curvas dosis-respuesta a la fenilefrina y carbacol; una serie correspondió al grupo de ratas C, la segunda al de animales del grupo CQ, y la última al de ratas sometidas a LC.

En cada una de las series de experimentos se analizó la respuesta contráctil, en pares de anillos, a concentraciones acumulativas (10^{-9} a 10^{-5} M) del agonista α -adrenérgico fenilefrina (curva dosis respuesta a la fenilefrina). una vez que fue alcanzada la tensión máxima con la concentración mayor de fenilefrina, se suspendió la perfusión con esta solución y se lavaron los anillos con solución de Tyrode por 40 minutos, permitiéndosele retornar de esta manera a la tensión basal, para después reiniciar la perfusión con una solución de fenilefrina (10^{-6} M) más dosis crecientes de carbacol (10^{-9} M a 10^{-5} M), para obtener la curva dosis- respuesta a este fármaco. En cada serie de experimentos se obtuvieron inicialmente las curvas a fenilefrina y a carbacol sin el inhibidor de la ciclooxigenasa indometacina, posteriormente se realizaron curvas subsecuentes en presencia de indometacina (10^{-6} M), para finalmente, concluir con una curva a fenilefrina en presencia de indometacina (10^{-6} M) y del inhibidor competitivo de la sintetasa del ON, el hidrocloreuro del metil ester de la N^o-nitro-L-arginina (L-NAME, 100 μ M). Inmediatamente antes de iniciar las curvas dosis-respuesta a fenilefrina o carbacol, en presencia de indometacina o de indometacina más L-NAME, los anillos de aorta fueron perfundidos con una solución de Tyrodema más indometacina o indometacina más L-NAME por un periodo de 10 minutos.

Análisis bioquímico.

En cada grupo de animales fueron medidos los niveles plasmáticos de bilirrubinas (total, indirecta y directa) con el método modificado de Malloy y Evelyn para el sistema Synchron CX4CE de Beckman. En tanto que los niveles plasmáticos de fosfatasa alcalina fueron determinados con el método modificado de Bese y Lowry para el sistema Synchron CX4CE de Beckman.

Fármacos. Todos los fármacos utilizados fueron obtenidos de la Sigma Chemical Co (St Louis, MO USA). La indometacina fue preparada en una solución de carbonato de sodio al 4%, en tanto que el hidrocloreto de L-fenilefrina, el carbacol (cloruro de carbamoilcolina) y el hidrocloreto del metil ester de la N^o-nitro-L-arginina (L-NAME) fueron disueltos en agua destilada.

Análisis estadístico de los resultados. Las respuestas contráctiles inducidas por la fenilefrina se expresaron como incrementos de tensión, en gramos, por encima de la tensión basal (2 gramos, impuesta al anillo durante todo el experimento). La relajación inducida por el carbacol se expresó como porcentaje de la tensión máxima desarrollada en respuesta a la fenilefrina 10^{-6} M que se tomó como el 100%. Todos los datos son expresados como la media más/menos su desviación estandard, y además se calculó la dosis efectiva media de los fármacos (DE_{50}). El análisis estadístico de los valores medios para datos pareados y no pareados fue realizado mediante la prueba de "t" de student, con un nivel de significancia menor de 0.05.

RESULTADOS.**Análisis bioquímico.**

Los niveles séricos de bilirrubinas y de la fosfatasa alcalina fueron substancialmente mayores en los animales con LC que en los grupos C y CQ (Tabla 1).

TABLA 1
Concentracion sérica de bilirrubinas y fosfatasa alcalina.

	C (n=5)	CQ (n=6)	LC (n=5)
Bilirrubina total (mg/dl)	0.6 ± 0.12	0.53 ± 0.09	10.54 ± 3.14*
Bilirrubina indirecta (mg/dl)	0.46 ± 0.15	0.43 ± 0.08	4 ± 1.08*
Bilirrubina directa (mg/dl)	0.14 ± 0.08	0.11 ± 0.04	6.45 ± 2.12*
Fosfatasa alcalina (UI/L)	230 ± 72	218 ± 49	441 ± 127*

* P < 0.05 con respecto a los valores correspondientes de los grupos C y CQ.

Diámetro del conducto colédoco.

El diámetro del conducto colédoco fue mayor en los animales sometidos a LC (5.2 ± 1.1 mm; n = 5; P < 0.05) que en los grupos C (0.54 ± 0.05 mm; n = 6) y CQ (0.5 ± 0.08 mm; n = 5).

Peso.

Los animales del grupo CQ aumentaron en promedio de 5.98 ± 4.39 % de peso, en tanto que los animales del grupo LC presentaron un decremento en promedio de 8.7 ± 4.8 % en su peso.

Curva dosis-respuesta a fenilefrina.**a.- Anillos con endotelio intacto.**

La tensión máxima desarrollada en respuesta a la fenilefrina por los anillos de aorta obtenidos de animales del grupo LC fue menor que la de los animales de los grupos C y CQ. El análisis estadístico mostró que la diferencia entre los grupos LC y C fue significativa a las dosis de fenilefrina de 10^{-7} , 10^{-6} y 10^{-5} M, y entre los grupos LC y CQ solo a la dosis de 10^{-6} M. La tensión desarrollada por los anillos de los animales del grupo LC a la concentración mayor de fenilefrina (tensión máxima) fue de 2.68 ± 0.61 g, en tanto que en los anillos de los animales del grupo C fue de 3.82 ± 0.41 g, y en los del grupo CQ de 3.44 ± 0.46 g (Tabla 2 y Figura 5).

En presencia de indometacina la tensión desarrollada en respuesta a las dosis crecientes de fenilefrina por los anillos del grupo C fue menor que en ausencia de la indometacina, esta diferencia fue significativa a las dosis de 10^{-7} y 10^{-6} M. La tensión máxima a la concentración de 10^{-5} M fue de 3.51 ± 0.37 g. Al comparar la respuesta de los anillos de los animales del grupo LC y C en presencia de indometacina, las diferencias arriba descritas ya no se observaron a la dosis de 10^{-7} y 10^{-6} M, y solo la tensión máxima del grupo LC fue significativamente menor que la del grupo C. En lo que respecta a los anillos del grupo CQ, en presencia de indometacina la tensión máxima disminuyó en forma significativa de 3.44 ± 0.46 g a 2.42 ± 0.88 g, siendo este valor prácticamente igual al observado en los anillos del grupo LC (Tabla 2 y Figura 6).

En presencia tanto de L-NAME como de indometacina la tensión desarrollada por los anillos de los animales del grupo LC aumentó marcadamente, de forma tal que en presencia de estos dos inhibidores ya no se observaron diferencias significativas en las respuestas a la fenilefrina de los anillos del grupo C y LC (Figura 7). Por otro lado, en presencia de L-NAME e indometacina la curva dosis respuesta a la fenilefrina de los anillos del grupo LC se desvió en forma

significativa a la izquierda con respecto a la curva observada en presencia únicamente de indometacina (ver valores de DE_{50} en la Tabla 2). En los anillos de los animales del grupo C y CQ en presencia de L-NAME e indometacina aumentó en forma notoria la tensión desarrollada en respuesta a la fenilefrina en comparación con la tensión desarrollada en presencia de indometacina, siendo significativo el aumento de tensión desde la dosis de 10^{-7} hasta 10^{-5} M de fenilefrina (Figura 8).

b.- Anillos sin endotelio.

En ausencia de indometacina no se observaron diferencias significativas entre las respuestas a la fenilefrina de los anillos de los grupo C y LC. Sin embargo, la tensión desarrollada por los anillos del grupo CQ en respuesta a las dosis de 10^{-7} hasta 10^{-5} M de fenilefrina fue significativamente mayor que la de los anillos del grupo LC (Tabla 2 y Figura 9).

En presencia de indometacina no se observaron diferencias en la tensión desarrollada en respuesta a las dosis acumulativas de fenilefrina entre los anillos de aorta de los 3 grupos (Figura 10).

En presencia tanto de indometacina como de L-NAME los anillos del grupo LC desarrollaron una tensión máxima menor que los de los grupos C y CQ (Tabla 2); en comparación con este último grupo la respuesta a la concentración de 10^{-6} M fue también menor (Figura 11).

TABLA 2

Efectos de la ictericia secundaria a obstrucción biliar extrahepática en la curva dosis-respuesta a fenilefrina en anillos de aorta torácica de rata.

Grupo	Con Endotelio		Sin Endotelio	
	DE ₅₀ (-log M)	Tensión máx. (g)	DE ₅₀ (-log M)	Tensión máx. (g)
C (n = 5)				
(-) indom	6.99 ± 0.12	3.82 ± 0.41	7.16 ± 0.08	3.31 ± 0.53
(+) indom	6.28 ± 0.04*	3.51 ± 0.37	6.82 ± 0.06	3.13 ± 0.58
L-NAME e				
indom	6.68 ± 0.08	4.14 ± 0.43	7.01 ± 0.08	3.56 ± 0.46
CQ (n = 6)				
(-) indom	6.93 ± 0.18	3.44 ± 0.46	7.30 ± 0.13	4.02 ± 0.67
(+) indom	6.46 ± 0.14	2.42 ± 0.88	6.83 ± 0.13	3.35 ± 0.89
L-NAME e				
indom	6.60 ± 0.04	3.95 ± 0.50	6.87 ± 0.07	3.93 ± 0.50
LC (n = 5)				
(-) indom	6.61 ± 0.15	2.68 ± 0.61	7.53 ± 0.14	2.72 ± 0.40
(+) indom	6.41 ± 0.06	2.46 ± 0.57	7.21 ± 0.11	2.72 ± 0.42
L-NAME e				
indom	7.03 ± 0.08#	3.3 ± 0.77	7.30 ± 0.07	2.78 ± 0.39

* P < 0.05 con respecto a los valores correspondientes al resto de los anillos con endotelio del grupo C; # P < 0.05 con respecto a los valores correspondientes al resto de los anillos con endotelio del grupo LC y a los anillos con endotelio de los grupos C y CQ en presencia de L-NAME e indometacina; -log M, logaritmo negativo de la concentración molar; g, gramos.

Curva dosis-respuesta a carbacol.

Los anillos con endotelio funcional (o intacto) se relajaron en forma dependiente de la dosis en respuesta al carbacol. En ausencia de indometacina, no se observaron diferencias significativas en la respuesta de los anillos de los tres grupos, sin embargo, la relajación de los anillos del grupo LC fue ligeramente mayor (Tabla 3 y Figura 12). En presencia de indometacina la respuesta de los anillos del grupo LC a las dosis de 10^{-9} , 10^{-8} y 10^{-7} M de carbacol fue significativamente mayor que la de los anillos de los otros 2 grupos (Figura 13). En los anillos del grupo LC la relajación inducida por el carbacol, en presencia de indometacina, fue mayor que en ausencia de indometacina, sin embargo, la diferencia solo fue significativa a las dosis de 10^{-9} y 10^{-8} M (Figura 14).

TABLA 3

Efectos de la ictericia secundaria a obstrucción biliar extrahepática en la curva dosis-respuesta a carbacol en anillos de aorta torácica con endotelio funcional de rata.

Grupo	DE ₅₀ (-log M)	Relajación máxima (%)
C (n = 5)		
(-) indom	6.33 ± 0.05	87.6 ± 2.97
(+) indom	6.51 ± 0.09	91.8 ± 4.76
CQ (n = 6)		
(-) indom	6.32 ± 0.11	84.5 ± 5.43
(+) indom	6.38 ± 0.1	89.6 ± 5.47
LC (n = 5)		
(-) indom	6.45 ± 0.04	90.3 ± 6.91
(+) indom	6.48 ± 0.22	95.4 ± 4.77

DISCUSION.

La IRA postoperatoria que ocurre en los pacientes sometidos a corrección de la OB es un padecimiento que ha despertado considerable interés desde su descripción inicial. Las revisiones que sobre el tema existen coinciden, en general, en afirmar que la incidencia promedio del padecimiento varía de 6 a 8%, con una mortalidad promedio del 70 a 80% (Wait 1989, Fogarty 1995, Green 1995); sin embargo, como ya se había esbozado en la introducción, existen discrepancias con respecto a los datos de morbilidad y mortalidad señalados. A este respecto es necesario señalar la serie de Parks y col. (1994), en donde la incidencia de IRA fue de 0%, en tanto que la disminución del filtrado glomerular solo ocurrió en 22% de los pacientes estudiados. Pitt y col. (1981) por su lado señalaron una frecuencia de IRA postoperatoria del 38%, con 0% de mortalidad por esta causa. Los trabajos señalados son demostrativos de la dificultad existente para dilucidar la fisiopatología de la IRA postoperatoria en estudios clínicos, a lo cual podemos añadir consideraciones éticas que impiden la realización de algunos procedimientos. Por lo anterior, para analizar con mayor exactitud los factores involucrados en la génesis de este padecimiento, se han desarrollado investigaciones en modelos animales, tanto *in vivo* como *in vitro*, las cuales a pesar de su reproducibilidad y de la posibilidad de controlar las variables de estudio en forma estricta, también se encuentran asociadas a sesgos, tales como el uso de anestésicos en los modelos *in vivo* (Green 1995), y la variabilidad biológica en los estudios *in vitro*, de los cuales los ejemplos más representativos son los experimentos del grupo de Wait, que utilizando el mismo modelo de LC y sección, pero en especies distintas, reportaron hallazgos opuestos (Cioffi 1986, Kahng 1988). Sin embargo, a pesar de las dificultades existentes en la realización e interpretación de los experimentos en animales, éstos son los modelos de estudio más adecuados para intentar analizar las variables responsables de que ocurra la IRA postoperatoria asociada a OB.

Como era de esperarse en nuestro experimento los animales con LC mostraron niveles séricos de bilirrubinas y fosfatasa alcalina mayores a los de los animales C y CQ. Este modelo ha sido extensamente estudiado por Bomzon y col. (1985), quienes han demostrado que a los 3 días de la LC la hiperbilirrubinemia es máxima, sin que existan todavía cambios en la presión portal, los cuales ocurren a las 2 semanas de la LC (Bomzon 1985, Jacob 1993, Franco 1979). Otra ventaja de este modelo de LC de 3 días, es que a pesar de que los animales desarrollan hiperbilirrubinemia y transaminasemia máximas, no muestran datos de cirrosis, padecimiento en el cual se han descrito alteraciones en la reactividad vascular mediada por el endotelio (Clària 1994). Se ha demostrado que el modelo de LC lleva a una lesión hepática de curso moderado y menos grave que el de LC y sección (Trams 1957), lo cual también ha sido corroborado por otros investigadores en estudios efectuados en el perro (Green 1995). Otros autores han señalado, a diferencia de Bomzon y col., que la hiperbilirrubinemia máxima se observa entre el segundo y quinto día posterior a la LC (Green 1995).

El diámetro del colédoco en los animales sometidos a LC fue considerablemente mayor que el de los grupos control, lo cual demuestra la ausencia de permeabilidad del conducto biliar común en sentido distal a la ligadura con el consiguiente aumento de la presión dentro del árbol biliar; esto ya ha sido previamente demostrado en la rata, en donde se observó que en casos de ligadura y sección del colédoco el conducto biliar común continúa su dilatación progresivamente, en tanto que en el modelo de ligadura simple del colédoco, después de 14 a 28 días, existe la posibilidad de re-permeabilización del conducto (Trams 1957). En humanos con colédocolitiasis se sabe que entre el quinto y séptimo día después de haber iniciado la obstrucción existe dilatación considerable del colédoco, generalmente hasta una dimensión del doble de la del conducto sano (Scheske 1980, Rege 1991). Nuestros resultados muestran que en los animales con LC a los 3 días se incrementó el diámetro del conducto biliar aproximadamente 10 veces en comparación con animales de los grupos C y CQ, lo cual contrasta con lo descrito en humanos, en donde a

los 7 días de la OB solo existe un incremento del doble. Esta discrepancia parece deberse a la presencia de la vesícula biliar en el humano, la cual descomprime la vía biliar originando que los cambios en el diámetro del colédoco sean menos pronunciados (Kahng 1997). En tanto que en la rata, la ausencia de vesícula biliar posiblemente permite cambios más rápidos y pronunciados en el diámetro del conducto biliar común, ocasionados por incrementos más acelerados en la presión dentro de la vía biliar.

La pérdida de peso en ratas sometidas a LC es frecuente (Green 1995, Bomzon 1987, Jacob 1993), y ha sido observada también en otras especies sometidas a OB extrahepática experimental como el conejo (Cioffi 1986), el gato (Schafer 1993) y el perro (Bomzon 1986). Esto puede deberse a que en la OB se ha demostrado que los niveles séricos de endotoxinas (Ingoldby 1984, Pain 1987, Cahill 1987, Greve 1992, Grinko 1995) al igual que los del TNF- α (Beierle 1996), se encuentran elevados; esto, a su vez, posiblemente sea consecuencia de la ausencia de sales biliares en el tracto gastrointestinal, que altera su función de barrera, permitiendo que ocurra translocación bacteriana (Gouma 1987, Deitch 1990, Parks 1996, Reynolds 1996). A su vez, la translocación bacteriana en casos de OB puede incrementarse por que la colestasis provoca disfunción del sistema inmune, tanto en humanos como en modelos animales (Pain 1987, Greve 1990, Clements 1993, Ding 1994, Kennedy 1994, Scott-Conner 1994, Kimmings 1995, Reynolds 1995), lo cual en conjunto con la disfunción de la barrera intestinal, puede incrementar aún más los niveles de endotoxinas y TNF- α , con sus consecuentes alteraciones metabólicas, tales como la pérdida de peso (Tracey 1994). En relación a este punto es conveniente mencionar algunos aspectos controvertidos sobre la disfunción del sistema inmune en los sujetos con OB e ictericia. En general, los investigadores en esta área están de acuerdo en que existe disminución en la actividad del sistema inmune en sujetos con OB, sin embargo, Levy y col. (1993) demostraron, en ratas, que la actividad de los leucocitos polimorfonucleares (PMNs) se encuentra incrementada durante los primeros 15 días posteriores a la LC. Estas discrepancias al parecer dependen del

tiempo que dura la colestasis, pues obstrucciones biliares de más de 2 semanas disminuyen la capacidad de fagocitosis de los PMNs y monocitos (Clements 1993, Kimmings 1995). En la mayoría de los estudios que reportaron una disminución en la actividad de las células fagocitarias la colestasis inducida duró más de 15 días (Pain 1987, Greve 1990, Clements 1993, Ding 1994, Kennedy 1994, Scott-Conner 1994, Kimmings 1995, Reynolds 1995).

En nuestros experimentos la respuesta contráctil a la fenilefrina de los anillos de aorta con endotelio de los animales con LC fue significativamente menor que la observada en los anillos correspondientes de los animales del grupo C. Por otro lado el desarrollo de tensión inducida por la fenilefrina en los anillos con endotelio de los animales del grupo LC aumentó significativamente al administrar L-NAME, desviando significativamente a la izquierda la curva dosis respuesta a la fenilefrina. Estos datos sugieren una mayor liberación basal de ON a partir del endotelio en los anillos de los animales con OB. Estos hallazgos concuerdan con los resultados obtenidos por Utkan y col. (1996) que, en un modelo canino de LC durante 7 días, demostraron que en los anillos de arteria femoral con endotelio la respuesta contráctil originada por noradrenalina o serotonina fue menor comparada con la tensión desarrollada por los anillos con endotelio de animales CQ. En dicho estudio la disminución en el desarrollo de tensión no se observó en anillos sin endotelio, por lo que los autores concluyeron que la disminución podía atribuirse a un incremento en la liberación basal del factor de relajación derivado del endotelio u ON. Sin embargo, en dicha investigación no se sometió a prueba dicha hipótesis realizando curvas dosis respuesta a los vasoconstrictores en presencia de algún inhibidor de la síntesis de ON. En nuestros experimentos se utilizó con este propósito L-NAME, y, bajo esta condición, la tensión inducida por la fenilefrina en los anillos con endotelio de los 3 grupos de animales fue muy similar.

En presencia de indometacina los anillos con endotelio del grupo CQ desarrollaron una tensión menor en respuesta a la fenilefrina en comparación con el grupo C, en tanto que en presencia

de indometacina más L-NAME la respuesta aumentó significativamente. Estos resultados sugieren que en este grupo también hay un aumento en la producción de ON, pero en cantidades menores que en el grupo LC. Ha sido demostrado que las intervenciones quirúrgicas pueden modificar la función del sistema inmune, disminuyendo su actividad en forma transitoria (Redmond 1992), a su vez, puede existir translocación bacteriana en forma directamente proporcional a la intensidad del trauma quirúrgico (Reynolds 1996), de forma tal que estos fenómenos en conjunto permitan la activación de la SONi. Otra posibilidad radica en que la cirugía en nuestros animales se efectuó en condiciones limpias pero no estériles, y que ésto permitiera cierto grado de contaminación bacteriana del área quirúrgica, sin embargo, en contra de esta posibilidad se encuentra el hecho de que no se evidenciaron datos objetivos de infección en ningún animal.

La curva dosis respuesta a la fenilefrina de los anillos con endotelio de los grupos C y CQ se desvió a la derecha al administrar indometacina. Estos resultados sugieren que el endotelio produce un metabolito derivado de la vía de la ciclooxigenasa (COX) con actividad vasoconstrictora. Esta interpretación concuerda con lo reportado previamente por nuestro grupo (Paredes-Carbajal y col. 1995), y está de acuerdo con otros reportes en la literatura. Tesfamariam y col. (1990) en anillos aórticos con endotelio de conejo, reportaron el desarrollo de vasoconstricción inducida por acetilcolina (ACh) después de haber expuesto a los anillos a niveles elevados de glucosa durante 6 horas; dicha vasoconstricción fue abolida, y substituida por la habitual vasodilatación inducida por ACh, después de exponer a los tejidos a indometacina o a bloqueadores del receptor de la prostlandina H_2 (PGH_2) y del tromboxano A_2 (TXA_2) o PGH_2/TXA_2 . Parker y col. (1993) reportaron que el desarrollo de vasoconstricción mediada por el endotelio e inducida por ADP en anillos aórticos de cobayo después de exponerlos a L-NAME, desaparece al exponerlos a indometacina o a inhibidores de la síntesis de TXA_2 o a bloqueadores del receptor de la PGH_2/TXA_2 . Finalmente Noll y col. (1997), reportaron el desarrollo de vasoconstricción inducida por ACh en anillos con endotelio de ramas de la arteria

mesentérica provenientes de ratas hipertensas; dicha vasoconstricción fue exacerbada por la administración de L-NAME y abolida por la administración del bloqueador del receptor para PGH_2/TXA_2 , pero no por inhibidores de la síntesis de TXA_2 . Por lo antes expuesto es posible que en nuestro modelo experimental el metabolito vasoconstrictor proveniente de la vía de la COX y derivado del endotelio sea el TXA_2 o la PGH_2 , sin embargo, se requieren estudios adicionales para corroborar esta última hipótesis.

En los anillos de aorta con endotelio de los animales del grupo LC la administración de indometacina disminuyó ligeramente la vasoconstricción inducida por la fenilefrina sin que esta diferencia fuera significativa en alguna dosis, lo cual contrasta con los anillos provenientes de animales de los grupos C y CQ. Actualmente sabemos que de la misma manera que las endotoxinas pueden activar a la SONi pueden estimular la expresión de la forma inducible de la COX (COX-2), y que el ON y los metabolitos derivados de la COX pueden interactuar para modificar su producción (Harbretch 1995, Sautebin 1995, Ziyat 1996). Se ha demostrado que el ON puede incrementar la síntesis de prostaciclina (Sautebin 1995), en tanto que inhibe la liberación TXA_2 y PGH_2 (Ziyat 1996). Con base en estos datos y en los resultados de nuestro modelo experimental se puede especular que al existir un aumento en la síntesis de ON, la producción del metabolito vasoconstrictor dependiente de la COX y derivado del endotelio, se encuentra disminuida.

La vasodilatación inducida por el carbacol en los anillos de aorta con endotelio del grupo LC, en presencia de indometacina, fue mayor a la observada en los anillos correspondientes de los grupos C y CQ. Este resultado sugieren dos eventos: primero, es posible que exista una liberación aumentada del metabolito con actividad vasoconstrictora derivado de la COX inducida por la activación del receptor muscarínico, segundo, que la producción de ON en los anillos con endotelio funcional de los animales con OB es mayor que en los anillos de los animales del los grupos C y CQ. En lo que respecta al posible incremento en la producción de ON, nuestros

resultados concuerdan con el trabajo de Utkan y col. (1996), los cuales encontraron una mayor vasodilatación inducida por ACh en anillos con endotelio funcional de animales con OB de 7 días de evolución. En contraposición a lo señalado anteriormente, Inan y col. (1997), en ratas con LC de 3 semanas de duración, encontraron que la vasodilatación inducida por ACh o nitroglicerina, en riñones aislados y perfundidos de animales con OB, fue menor que en riñones de los animales control. La explicación fue que: "al existir altas concentraciones de ON tanto en el endotelio como en el músculo liso esto puede originar una sobreproducción de GMPc lo cual puede causar una desensibilización a los nitratos endógenos o exógenos que producen vasodilatación a través del GMPc". Otra posible explicación de las observaciones de Inan y col. (1997) podría ser la siguiente: se ha demostrado en modelos animales con OB de más de 10 días de evolución que en el riñón, y en otros tejidos tales como el hígado, hay una gran producción de radicales libres de oxígeno (Krähenbül 1995, Panozzo 1995), los cuales interfieren con la vasodilatación mediada por el endotelio (Stewart 1988). Por otra parte, se ha comprobado que la endotoxemia *per se* puede originar una disminución substancial en la vasodilatación inducida por la ACh (Wylam 1990, Parker 1993), y en los experimentos de Inan y col. se comprobó endotoxemia significativa en el 77% de sus animales. Esta última posibilidad puede parecer contradictoria, puesto que para explicar la disminución de la reactividad vascular en la OB se parte de la hipótesis de que la endotoxemia, originada por las alteraciones de la barrera intestinal (Deitch 1990, Parks 1996, Reynolds 1996), estimula a la SONi. Sin embargo, las respuestas a las endotoxinas son dependientes de las concentraciones plasmáticas y del tiempo de exposición a éstas (Tracey 1994, Wang 1994). En dosis bajas las endotoxinas y citocinas, pueden originar efectos favorables como estimular la actividad de los macrófagos, y aún posiblemente la regeneración hepática (Shinozuka 1996); sin embargo a dosis altas y en tiempos de exposición prolongados desencadenan reacciones deletéreas (Tracey 1994).

El desarrollo de tensión inducido por la fenilefrina a concentraciones altas (10^{-5} M) en presencia

de L-NAME e indometacina en los anillos de aorta sin endotelio del grupo LC fue menor que la desarrollada por los anillos correspondientes de los animales de los grupos C y CQ. Existen datos de la literatura que podrían explicar este resultado. Primero, como lo comprobó Bomzon y col. (1985), en tiras helicoidales de aorta de rata con OB de 3 días de evolución, la respuesta a los agonistas vasoconstrictores α -adrenérgicos se encuentra disminuida, posiblemente debido a una alteración funcional del receptor (disminución en la afinidad o un menor número de sitios receptores) que provoca una respuesta menor a estos fármacos; en el modelo de tiras helicoidales la existencia de endotelio (y de ON) es mínima, ya que el método de obtención de las tiras helicoidales lesiona el endotelio. Por otro lado, en modelos animales de endotoxemia (Bigaud 1990) se ha descrito que en anillos aórticos sin endotelio existe una alteración en los mecanismos de transducción intracelular de la señal originada por los agonistas α -adrenérgicos en las células musculares. Por lo tanto, la menor respuesta a la fenilefrina (agonista α -1) observada en los anillos aórticos sin endotelio en nuestros experimentos puede ser secundaria a una alteración en la función de los receptores α -adrenérgicos. Otro resultado importante de los experimentos aquí reportados fue que la administración de L-NAME no tuvo efectos significativos sobre el desarrollo de tensión en los anillos aórticos sin endotelio del grupo LC, lo cual indica que, en este modelo experimental de LC de 3 días de duración, la producción de ON a partir de la SONi de las células musculares lisas no juega un papel importante en la disminución de la respuesta a los agonistas α -adrenérgicos.

CONCLUSIONES.

- 1.- En ratas con OB extrahepática la vasoconstricción inducida por la fenilefrina en anillos aórticos con endotelio funcional es menor que en animales control.
- 2.- La vasodilatación inducida por el carbacol en anillos aórticos con endotelio intacto de ratas sometidas a OB extrahepática, en presencia de indometacina, es mayor que en los anillos de los animales control.
- 3.- Nuestros datos sugieren que en anillos aórticos con endotelio provenientes de animales con OB tanto la menor vasoconstricción inducida por la fenilefrina, como la mayor vasodilatación inducida por el carbacol, son originados por un aumento en la producción basal de ON.
- 4.- Nuestros datos sugieren que en los anillos aórticos con endotelio, en ratas de la cepa Wistar, se libera un metabolito vasoconstrictor derivado de la vía de la ciclooxigenasa.

REFERENCIAS.

- Allison MEM, Prentice CRM, Kennedy AC, Blumgart LH. Renal function and other factors in obstructive jaundice. *Br J Surg* 1979; 66: 392- 7.
- Beierle EA, Vauthey JN, Moldawer LL, Copeland EM. Hepatic tumor necrosis factor- α production and distant organ dysfunction in a murine model of obstructive jaundice. *Am J Surg* 1996; 171: 202- 6.
- Bigaud M, Julou-Schaeffer G, Parrat JR, Stoclet JC. Endotoxin-induced impairment of vascular smooth muscle contractions elicited by different mechanisms. *Eur J Pharmacol* 1990; 190: 185- 92.
- Binah OS, Bomzon A, Blendis LM, Mordohovich D, Better OS. Obstructive jaundice blunts myocardial contractile response to isoprenaline in the dog: a clue to the susceptibility of jaundiced patient to shock. *Clin Sci* 1985; 69: 647- 53.
- Bomzon L, Wilten PB, McCalden TA. Impaired skeletal muscle vasomotor response to infused noradrenaline in baboons with obstructive jaundice. *Clin Sci* 1978; 55: 109- 12.
- Bomzon A, Gali D, Better OS, y col. Reversible suppression of the vascular contractile response in rats with obstructive jaundice. *J Lab Clin Med* 1985; 105: 568- 72.
- Bomzon A, Rosenberg M, Gali D, y col. Systemic hypotension and decreased pressor response in dogs with chronic bile duct ligation. *Hepatology* 1986; 6: 595- 600.
- Bredt DS, Snyder SH. Nitric oxide: a physiologic messenger molecule. *Annu Rev Biochem* 1994; 63: 175- 95.
- Cahill CJ. Prevention of postoperative renal failure in patients with obstructive jaundice: the role of bile salts. *Br J Surg* 1983; 70: 590- 5.
- Cahill CJ, Pain JA, Bailey ME. Bile salts, endotoxin and renal function in obstructive jaundice. *Surg Gynecol Obstet* 1987; 165: 519- 22.

- Cain BS, Meldrum DR, Selzman CH, y col. Surgical implications of vascular endothelial physiology. *Surgery* 1997; 122: 516- 26.
- Cattel WR, Birnstingl MA. Blood-volume and hypotension in obstructive jaundice. *Br J Surg* 1967; 54: 272- 8.
- Cioffi WG, DeMeules JE, Kahng KU, Wait RB. Renal vascular reactivity in jaundice. *Surgery* 1986; 100: 356- 62.
- Clària J, Jiménez W, Ros J, y col. Increased nitric oxide-dependent vasorelaxation in aortic rings of cirrhotic rats with ascites. *Hepatology* 1994; 20: 1615- 21.
- Clemets WDB, Halliday MI, McCaigue MD, Barclay RG, Rowlands BJ. Effects of extrahepatic obstructive jaundice on kupffer cell clearance capacity. *Arch Surg* 1993; 128: 200- 205.
- Dawson JL. The incidence of postoperative renal failure in obstructive jaundice. *Br J Surg* 1965; 52: 663- 5.
- Dawson JL. Acute post-operative renal failure in obstructive jaundice. *Ann R Coll Surg Engl* 1968; 42: 163- 81.
- Deitch EA, Sitting K, Li M, Berg R, Specian RD. Obstructive jaundice promotes bacterial translocation from the gut. *Am J Surg* 1990; 159: 79- 84.
- Ding JW, Nassberger L, Anderson R, Bengmark S. Macrophage phagocytic dysfunction and reduced metabolic response in experimental obstructive jaundice. *Eur J Surg* 1994; 160: 437- 42.
- Dixon JM, Armstrong CP, Duffy SW, Davis GC. Factors affecting morbidity and mortality after surgery for obstructive jaundice. *Gut* 1983; 24: 845- 52.
- Evans HJR, Torrealba V, Hudd C, Knight M. The effect of preoperative bile salt administration on postoperative renal function in patients with obstructive jaundice. *Br J Surg* 1982; 69:706- 8.
- Finberger JPM, Syrop HA, Better OS. Blunted pressor response to angiotensin and

- sympathomimetic amines in bile-duct ligated dogs. *Clin Sci* 1981; 61: 535- 9.
- Fogarty BJ, Parks RW, Rowlands BJ, Diamond T. Renal dysfunction in obstructive jaundice. *Br J Surg* 1995; 82: 877- 84.
- Franco D, Gigou M, SzekelyAM, Bismuth H. Portal hypertension after bile duct obstruction. *Arch Surg* 1979; 114: 1064- 7.
- Furchgott RF, Zawadski JV. The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. *Nature* 1980, 288: 373-6.
- Gisclard V, Miller VM, Vanhoutte PM. Effect of 17 β -estradiol on endothelium-dependent responses in the rabbit. *J Pharmacol Exp Ther* 1988; 244: 19- 22.
- Gouma DJ, Coelho JCU, Sclegel JF, Li YF, Moody FG. The effects of preoperative internal and external biliary drainage on mortality of jaundice rats. *Arch Surg* 1987; 122: 731- 4.
- Green J, Beyar R, Sideman S, Mordechovitz D, Better OS. The "jaundiced heart" a possible explanation for postoperative shock in obstructive jaundice. *Surgery* 1986; 100: 14- 9.
- Green J, Better OS. Systemic hypotension and renal failure in obstructive jaundice-mechanistic and therapeutic aspects. *J Am Soc Nephrol* 1995; 5: 1853- 71.
- Greve JW, Gouma DJ, Soeters PB, Buurman WA. Suppression of cellular immunity in obstructive jaundice is caused by endotoxins: a study with germ-free rats. *Gastroenterology* 1990; 98: 478- 85.
- Greve JW, Gouman DJ, Buurman WA. Complications in obstructive jaundice: role of endotoxins. *Scand J Gastroenterol* 1992; 27 (suppl 194): 8- 12.
- Grinko I, Geerts A, Wisse E. Experimental biliary fibrosis correlates with increased numbers of fat-storing and kupffer cells and portal endotoxemia. *J Hepatol* 1995; 23: 449- 58.
- Guillett DJ. The effect of obstructive jaundice on the blood volume in rats. *J Surg Res* 1971; 11: 447-9.
- Gubern JM, Sancho JJ, Simo J, Sitges-Serra A. A randomized trial on the effect of mannitol on

- postoperative renal function in patients with obstructive jaundice. *Surgery* 1988; 103: 39-44.
- Harbrecht BG, McClure EA, Simmons RL, Billiar TR. Prostanoids inhibit kupffer cell nitric oxide synthesis. *J Surg Res* 1995; 58: 625- 9.
- Inan M, Sayek I, Tel BC, Sahin-Erdemli I. Role of endotoxin and nitric oxide in the pathogenesis of renal failure in obstructive jaundice. *Br J Surg* 1997; 84: 943- 7.
- Ignarro LJ, Byrns RE, Buga GM, Wood KS, Chaundhuri G. Pharmacological evidence that endothelium-derived relaxing factor is nitric oxide: use of pyrogallol and superoxide dismutase to study vascular smooth muscle relaxation. *J Pharmacol Exp Ther* 1988; 224: 181- 9.
- Ingoldby CJ, McPherson GA, Blumgart LH. Endotoxemia in human obstructive jaundice: effect of polymyxin B. *Am J Surg* 1984; 147: 766- 71.
- Jacob G, Said O, Finberg J, Bomzon A. Peripheral vascular neuroeffector mechanism in experimental cholestasis. *Am J Physiol* 1993; 265: G579- 86.
- Jacobs ER, Soulsby ME, Bone RC, Wilson FJ, Hiller FC. Ibuprofen in canine endotoxin shock. *J Clin Invest* 1982; 70: 536- 41.
- Kahng KU, Monaco DO, Schnabel FR, Wait RB. Renal vascular reactivity in bile duct-ligated rat. *Surgery* 1988; 104: 250- 6.
- Kahng KU, Roslyn JJ. Jaundice. En: Zinner MJ, Schwartz SI, Ellis HE, Ashley S, McFadden DW, eds. *Maingot's abdominal operations*. Appleton & Lange, Satamford, 1997: 315- 336.
- Krähenbül S, Talos C, Lauterburg BH, Reichen J. Reduced antioxidative capacity in liver mitochondria from bile duct ligated rats. *Hepatology* 1995; 22: 607- 12.
- Kennedy JA, Kirk SJ, McCrory DC, Halliday MI, Barclay GR, Rowlands BJ. Modulation of immune function and weight loss by L-arginine in obstructive jaundice in the rat. *Br J*

- Surg 1994; 81: 1199- 201.
- Kimmings AN, van Deventer SJH, Obertop H, Raws EA, Gouma DJ. Inflammatory and immunologic effects of obstructive jaundice: pathogenesis and treatment. *J Am Coll Surg* 1995; 181: 567- 81.
- Kuo PC, Schroeder RA. The emerging multifaceted roles of nitric oxide. *Ann Surg* 1995; 221: 220- 35.
- Lai PL, Zou AP, Campbell WB. Regulation of potassium channels in coronary arterial smooth muscle by endothelium-derived vasodilators. *Hypertension* 1997; 29(part 2): 262- 7.
- Levy M, Wexler MJ, Fecher C. Renal perfusion in dogs with experimental hepatic cirrhosis: role of prostaglandins. *Am J Physiol.* 1983; 245: F521- 9.a
- Levy M, Finestone H. Renal response to four hours of biliary obstruction in the dog. *Am J Physiol* 1983; 244: F516- 25.b
- Levy R, Schlaeffer F, Keynan A, Nagauker O, Yaari A, Sikuler E. Increased neutrophil function induced by bile duct ligation in a rat model. *Hepatology* 1993; 17: 908- 14.
- Moncada S, Higgs A. The L-arginine nitric oxide pathway. *N Eng J Med* 1993; 329: 2002- 12.
- Noll G, Lang MG, Tschud MR, Ganten D, Lüscher TF. Endothelial vasoconstrictor prostanoids modulate contractions to acetylcholine and ANG II in ren-2 rats. *Am J Physiol* 1997; 272: H493- H500.
- Oyama Y, Kawasaki H, Hattori Y, Kanno M. Attenuation of endothelium-dependent relaxation in aorta from diabetic rats. *Eur J Pharmacol* 1988; 132: 75- 8.
- Pain JA, Cahill GJ, Bailey ME. Perioperative complications in obstructive jaundice: therapeutic considerations. *Br J Surg* 1985; 72: 942- 5.
- Pain JA, Bailey ME. Measurement of operative plasma endotoxin levels in jaundiced and non-jaundiced patients. *Eur Surg Res* 1987; 19: 207- 16.

- Pain JA 1987. Reticulo-endothelial function in obstructive jaundice. *Br J Surg* 1987; 74: 1091- 4.
- Pak JM, Lee SS. Vasoactive effects of bile salts in cirrhotic rats: in vivo and in vitro studies. *Hepatology* 1993; 18: 1175- 81.
- Palmer RMJ, Ferrige AG, Moncada S. Nitric oxide release accounts for the biological activity of endothelium-derived relaxing factor. *Nature* 1987; 327: 524- 6.
- Panozzo MP, Basso D, Balint L, Zaninotto M, Bonvicini P, Plebani M. Renal functional alterations in extrahepatic cholestasis: can oxidative stress be involved?. *Eur Surg Res* 1995; 27: 332- 9.
- Panza JA, Quyumi AA, Brush JE, Epstein SE. Abnormal endothelium-dependent vascular relaxation in patients with essential hypertension. *N Eng J Med* 1990; 323: 22-7.
- Paredes-Carbajal MC, Juárez-Oropeza MA, Ortíz-Mendoza CM, Mascher D. Effects of acute and chronic estrogenic treatment on vasomotor responses of aortic rings from ovariectomized rats. *Life Sci* 1995; 57: 473- 86.
- Parker JL, Adams HR. Selective inhibition of endothelium-dependent vasodilator capacity by escherichia coli endotoxemia. *Circ Res* 1993; 72: 539- 51.
- Parks RW, Diamond T, McCrory DC, Johnston GW, Rowlands BJ. Prospective study of postoperative renal function in obstructive jaundice and the effect of perioperative dopamine. *Br J Surg* 1994; 81: 437- 9.
- Parks RW, Clemets WDB, Smye MG, Pope C, Rowlands BJ, Diamond T. Intestinal barrier dysfunction in clinical and experimental obstructive jaundice and its reversal by internal drainage. *Br J Surg* 1996; 83: 1345- 49.
- Pitt HA, Cameron JL, Postier RG, Gadacz TR. Factors affecting mortality in biliary tract surgery. *Am J Surg* 1981; 141: 66- 72.
- Redmond HP, Hofmann K, Shou J, Leon P, Kelly CJ, Daly JM. Effects of laparotomy on

- systemic macrophage function. *Surgery* 1992; 111: 647- 55.
- Rege RV, Nahrwold DL. Colangitis, colédocolitis y estenosis de las vías biliares. En: Zudeima GD, Turcotte JG, eds. *Shackelford: cirugía del aparato digestivo*. Editorial Médica Panamericana, Buenos Aires, 1993: 241- 53.
- Reynolds JV, Murchan P, Redmond HP, y col. Failure of macrophage activation in experimental obstructive jaundice: association with bacterial translocation. *Br J Surg* 1995; 82: 534- 8.
- Reynolds JV, Murchan P, Leonard N, Clarke P, Keane FB, Tanner WA. Gut barrier failure in experimental obstructive jaundice. *J Surg Res* 1996; 62: 11- 6.
- Sautebin L, Ialenti A, Ianaro A, DiRosa M. Modulation by nitric oxide of prostaglandin biosynthesis in the rat. *Br J Pharmacol* 1995; 114: 323- 8.
- Schafer J, D'almeida MS, Weisman H, Lantt WW. Hepatic blood volume responses and compliance in cats with long-term bile duct ligation. *Hepatology* 1993; 18: 969- 77.
- Scheske GA, Cooperberg PL, Cohen MM, Burhenne J. Dynamic changes in the caliber of the major bile ducts, related to obstruction. *Radiology* 1980; 135: 215- 6.
- Scott-Conner CE, Grogan JB. The pathophysiology of biliary obstruction and its effect on phagocytic and immune function. *J Surg Res* 1994; 57: 316- 36.
- Shinozuka H, Ohmura T, Katyal S, Zedda A, Ledda-Columbano G, Columbano A. Possible roles of nonparenchymal cells in hepatocyte proliferation induced by lead nitrate and by tumor necrosis factor α . *Hepatology* 1996; 23: 1572- 7.
- Stewart DJ, Pohl U, Bassenge E. Free radicals inhibit endothelium-dependent dilation in the coronary resistance bed. *Am J Physiol* 1988; 255: H765- 9.
- Takikawa H, Wako Y, Sano N, Yamanaka M. Changes in biliary excretory mechanisms in bile duct-ligated rat. *Dig Dis Sci* 1996; 41: 256- 62.
- Tesfamariam B, Brown ML, Deykin D, Cohen RA. Elevated glucose promotes generation of

- endothelium-derived vasoconstrictor prostanoids in rabbit aorta. *J Clin Invest* 1990; 85: 929- 32.
- Thiemermann C, Szabo C, Mitchell JA, Vane JR. Vascular hyporeactivity to vasoconstrictor agents and hemodynamic decompensation in hemorrhagic shock is mediated by nitric oxide. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993; 90: 167- 71.
- Thompson RLE, Hoper M, Diamond T, Rowlands BJ. Development and reversibility of T lymphocyte dysfunction in experimental obstructive jaundice. *Br J Surg* 1990; 77: 1229- 32.
- Tracey KJ, Cerami A. Tumor necrosis factor: a pleiotropic cytokine and therapeutic target. *Annu Rev Med* 1994; 45: 491- 503.
- Trams EG, Symeonidis A. Morphologic and functional changes in the livers of rats after ligation or excision of the common bile duct. *Am J Pathol* 1957; 33: 13- 25.
- Uemura M, Tsujii T, Fukui H, y col. Urinary prostaglandins and renal function in obstructive jaundice. *Scand J Gastroenterol* 1989; 24: 705- 15.
- Utkan T, Sarioglu Y, Ytkan NZ, Gönüllü NN, Yildirim MK. Vascular smooth muscle reactivity and endothelium derived relaxing factor in experimental obstructive jaundice. *Arch Physiol Biochem* 1996; 104: 30-35.
- Van de Voorde J, Vanheel B, Leusen I. Depressed endothelium- dependent relaxation in hypertension: relation to increased blood pressure and reversibility. *Plügers Arch* 1988; 411: 500- 4.
- Wait RB, Kahng KU. Renal failure complicating obstructive jaundice. *Am J Surg* 1989; 157: 256- 63.
- Wang P, Ba ZF, Chaudry IH. Nitric oxide: to block or enhance its production during sepsis?. *Arch Surg* 1994; 129: 1137-43.
- Williams JK, Amams MR, Herrington DM, Clarkson TB. Short-term administration of estrogen

and vascular responses of atherosclerotic coronary arteries. *J Am Coll Cardiol* 1992; 20: 452- 7.

Wylam ME, Samsel RW, Umans JG, Mitchell RW, Leff AR, Schumacker PT. Endotoxin in vivo impairs endothelium-dependent relaxation of canine arteries in vitro. *Am Rev Respir Dis.* 1990; 142: 1263- 7.

Zambraski EJ, Dunn MJ. Importance of renal prostaglandins in control of renal function after chronic ligation of common bile duct in dogs. *J Lab Clin Med* 1984; 103: 549-59.

Ziyyat A, Zhang BL, Benzoni D. Interactions between nitric oxide and prostanoids in isolated perfused kidney of the rat. *Br J Pharmacol* 1996; 119: 388- 92.

TEXTOS PARA LAS FIGURAS

Figura 1

La síntesis y liberación de ON puede ser inducida por estímulos diversos; éstos provocan un incremento en el calcio intracelular (Ca^{2+}) que activa a la sintetasa del óxido nítrico (SON), la cual actúa sobre la L-arginina (L-Arg) produciendo ON y L-citrulina. A su vez el ON incrementa los niveles intracelulares de guanosin monofosfato cíclico (GMPc) al activar a la enzima guanilato ciclasa, y los incrementos en los niveles intracelulares de GMPc promueven la fosforilación de algunas proteínas por enzimas protein-quinasas dependientes de GMPc, lo que puede originar múltiples efectos que dependen de la célula estimulada. Abreviaciones utilizadas: ACh, acetil colina; ADP, adenosín difosfato; PKG, enzima protein-quinasa G.

Figura 2

La producción de ON a partir de las células endoteliales origina en las células musculares lisas (CML) subyacentes vasodilatación, además, impide la proliferación de las CML y disminuye la adherencia plaquetaria a las células endoteliales. La SON inducible (SONi) es una enzima citoplasmática capaz de producir grandes cantidades de ON en forma continua, en niveles por encima de la capacidad de la SON constitutiva (SONc), la cual está localizada en la membrana celular.

Figura 3

La membrana celular es origen de múltiples metabolitos derivados de sus lípidos. Entre éstos tenemos al factor activador de plaquetas, la prostaciclina (PGI_2) y los tromboxanos, como el tromboxano A_2 (TXA_2), los tres comparten un origen común al requerir la activación de la enzima fosfolipasa A_2 (PLA_2) que libera ácidos grasos a partir de los triglicéridos de la

membrana celular. La PLA_2 puede ser inhibida por los corticoesteroides, en tanto que la enzima ciclooxigenasa (COX), que produce PGI_2 (y que causa inhibición de la adherencia plaquetaria y vasodilatación) puede ser bloqueada por sustancias tipo aspirina. En las plaquetas el AA producido es utilizado por la enzima lipooxigenasa para producir TXA_2 , el cual promueve la adherencia plaquetaria y la vasoconstricción. A su vez, tanto la célula endotelial como las plaquetas son capaces de producir factor activador de plaquetas que provoca vasoconstricción.

Figura 4

El sistema de perfusión que se utilizó para los experimentos consta de frascos para almacenar las soluciones, las cuales fueron continuamente aireadas con carbógeno. Las soluciones llegaban por gravedad, circulando por un sistema de calentamiento que las mantuvo a 37°C hasta su arribo a la cámara de órganos, en donde se encontraban los tejidos a estudiar, los cuales se sostuvieron entre ganchos de acero, uno fijo a la cámara y otro conectado a un transductor isométrico de tensión, el cual a su vez se encontraba conectado a un polígrafo.

Figura 5

Curva dosis respuesta a la fenilefrina en anillos aórticos con endotelio en ausencia de indometacina. Anillos del grupo LC (ECESI). Anillos del grupo C (CCESI). Anillos del grupo CQ (SCESI). En esta figura y hasta la figura 11 la ordenada expresa la tensión en gramos, y la abscisa el logaritmo negativo de la concentración molar ($-\log M$) de fenilefrina.

Figura 6

Curva dosis respuesta a la fenilefrina en anillos aórticos con endotelio en presencia de indometacina. Anillos del grupo LC (ECECI). Anillos del grupo C (CCECI). Anillos del grupo CQ (SCECI).

Figura 7

Curva dosis respuesta a la fenilefrina en anillos aórticos con endotelio en presencia de indometacina y L-NAME. Anillos con endotelio del grupo LC (ECENCI). Anillos con endotelio del grupo C (CCENCI). Anillos con endotelio del grupo CQ (SCENCI).

Figura 8

Curva dosis respuesta a la fenilefrina en anillos aórticos sin endotelio de los grupos C y CQ en presencia de indometacina e indometacina más L-NAME. Anillos del grupo C en presencia de indometacina (CCECI). Anillos del grupo CQ en presencia de indometacina (SCECI). Anillos del grupo C en presencia de indometacina más L-NAME (CCENCI). Anillos del grupo CQ en presencia de indometacina más L-NAME (SCENCI).

Figura 9

Curva dosis respuesta a la fenilefrina en anillos aórticos sin endotelio en ausencia de indometacina. Anillos del grupo C (CSESI). Anillos del grupo CQ (SSESI). Anillos del grupo LC (ESENSI).

Figura 10

Curva dosis respuesta a la fenilefrina en anillos aórticos sin endotelio en presencia de indometacina. Anillos del grupo C (CSECI). Anillos del grupo CQ (SSECI). Anillos del grupo LC (ESECI).

Figura 11

Curva dosis respuesta a la fenilefrina en anillos aórticos sin endotelio en presencia de indometacina más L-NAME. Anillos del grupo C (CSENCI). Anillos del grupo CQ (SSENCI).

Anillos del grupo LC (ESENCI).

Figura 12

Curva dosis respuesta al carbacol en anillos aórticos con endotelio en ausencia de indometacina. Anillos del grupo LC (ECESI). Anillos del grupo C (CCESI). Anillos del grupo CQ (SCESI). En esta figura y hasta la figura 14 la ordenada corresponde al porcentaje (%) de tensión, relativo a la tensión máxima en respuesta a la fenilefrina, y la abscisa corresponde al logaritmo negativo de la concentración molar ($-\log M$) de carbacol.

Figura 13

Curva dosis respuesta a carbacol en anillos aórticos con endotelio en presencia de indometacina. Anillos del grupo LC (ECECI). Anillos del grupo C (CCECI). Anillos del grupo CQ (SCECI).

Figura 14

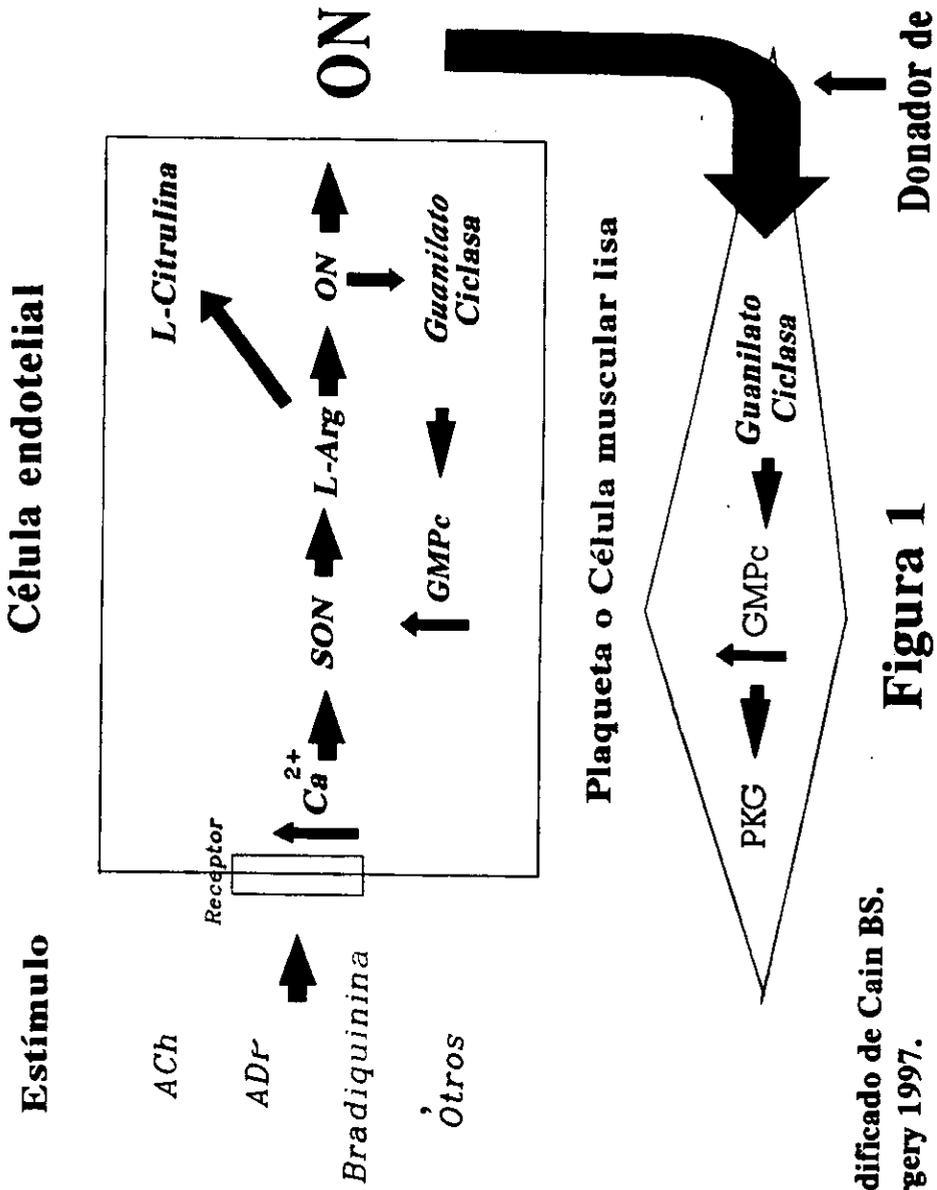
Curva dosis respuesta a carbacol en anillos aórticos con endotelio de animales con LC. Anillos en ausencia de indometacina (ECESI). Anillos en presencia de indometacina (ECECI).

Ortíz MCM

**ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA**

FIGURAS

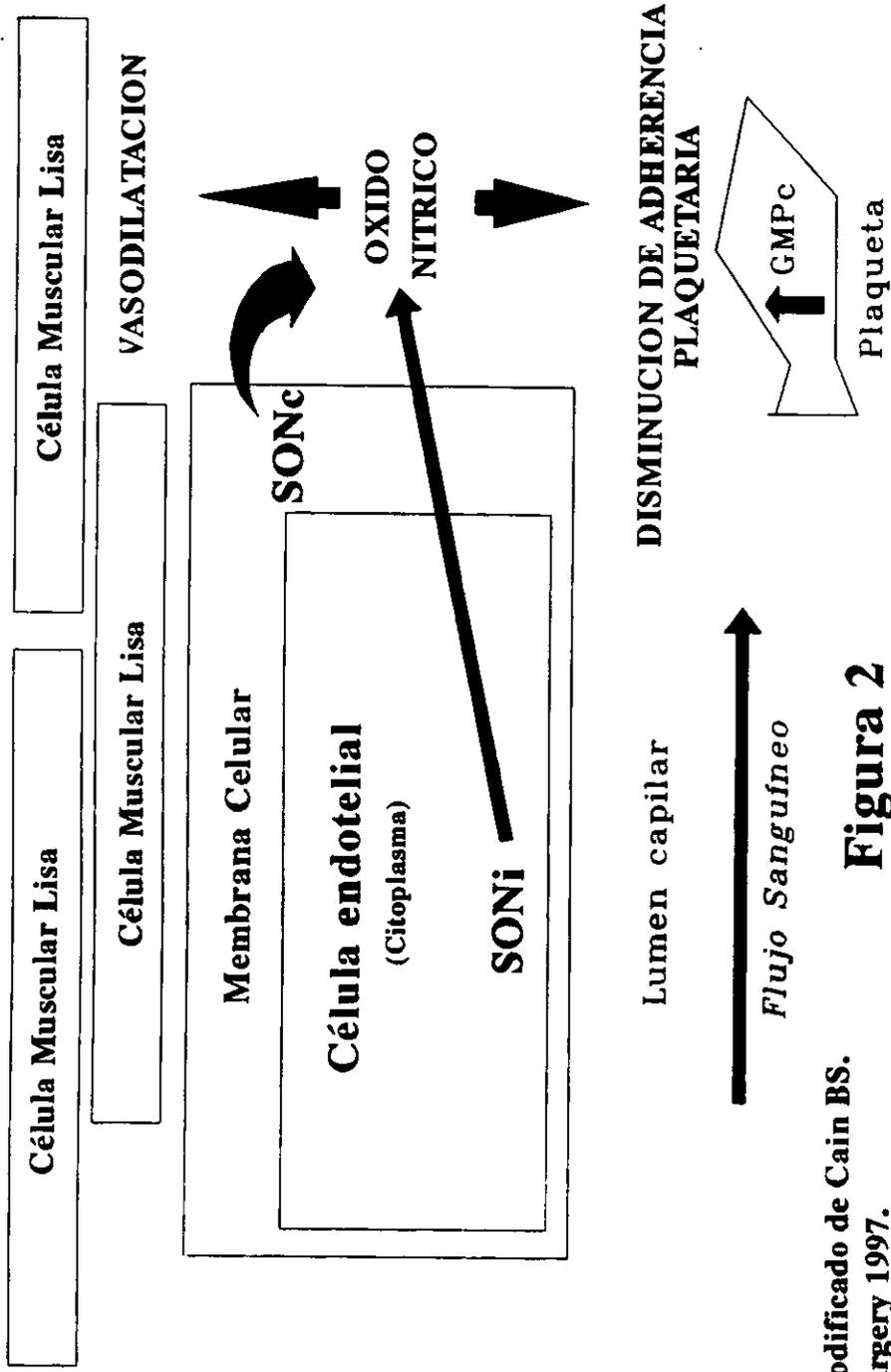
METABOLISMO DEL OXIDO NITRICO (ON)



Modificado de Cain BS. Surgery 1997.

Figura 1

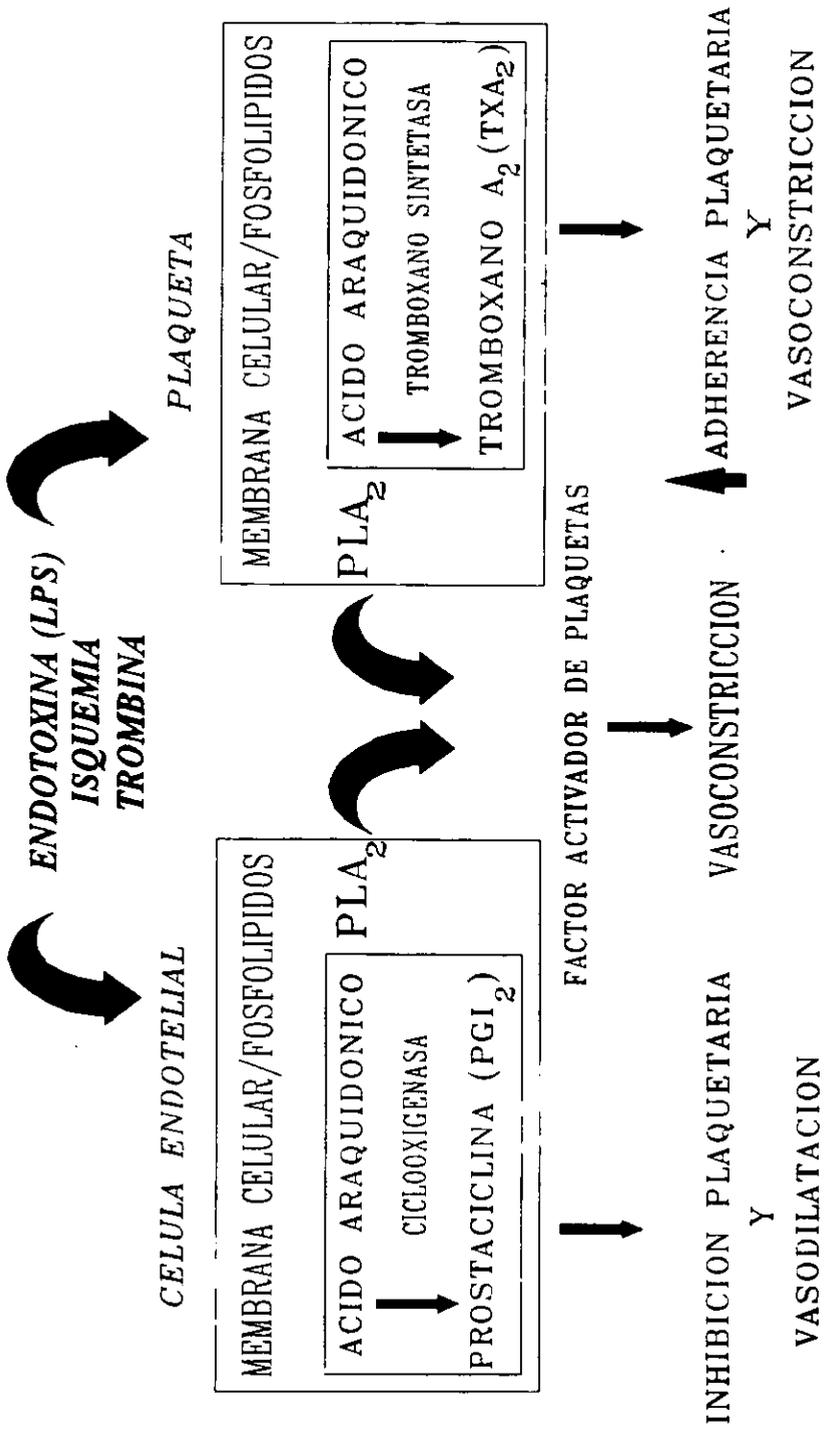
ACCIONES DEL OXIDO NITRICO



Modificado de Cain BS.
Surgery 1997.

Figura 2

VASOCONSTRICCIÓN / VASODILATACIÓN MEDIADA POR CÉLULAS ENDOTELIALES



Modificado de Cain
BS. Surgery 1997.

Figura 3

SISTEMA DE PERFUSION

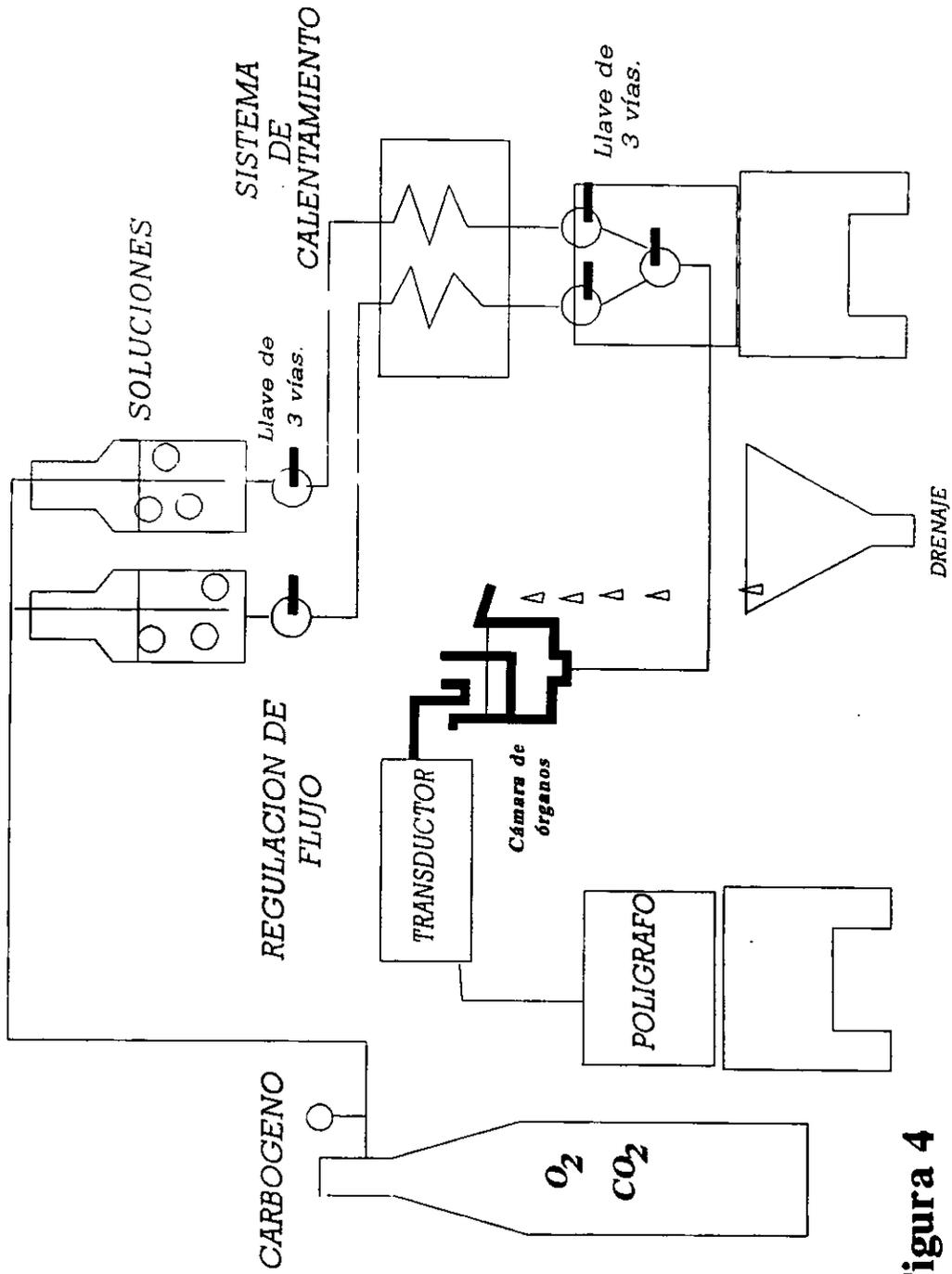


Figura 4

ICTERICIA Y REACTIVIDAD VASCULAR CURVA A FENILEFRINA

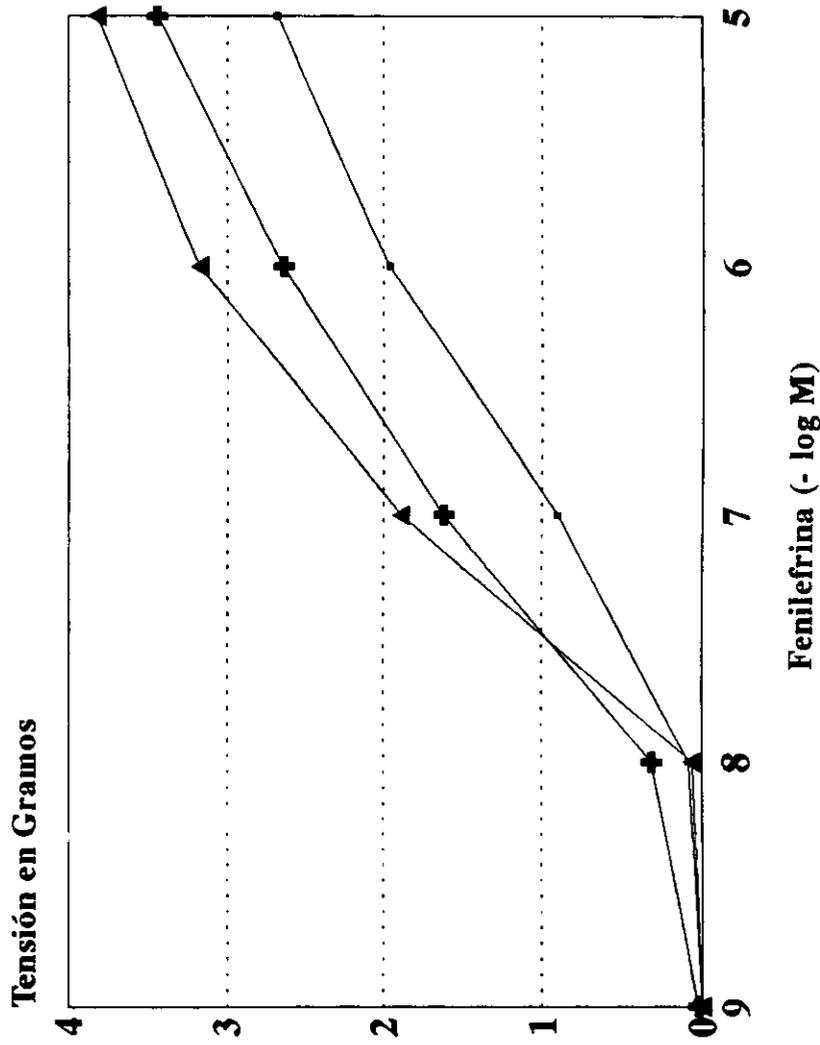


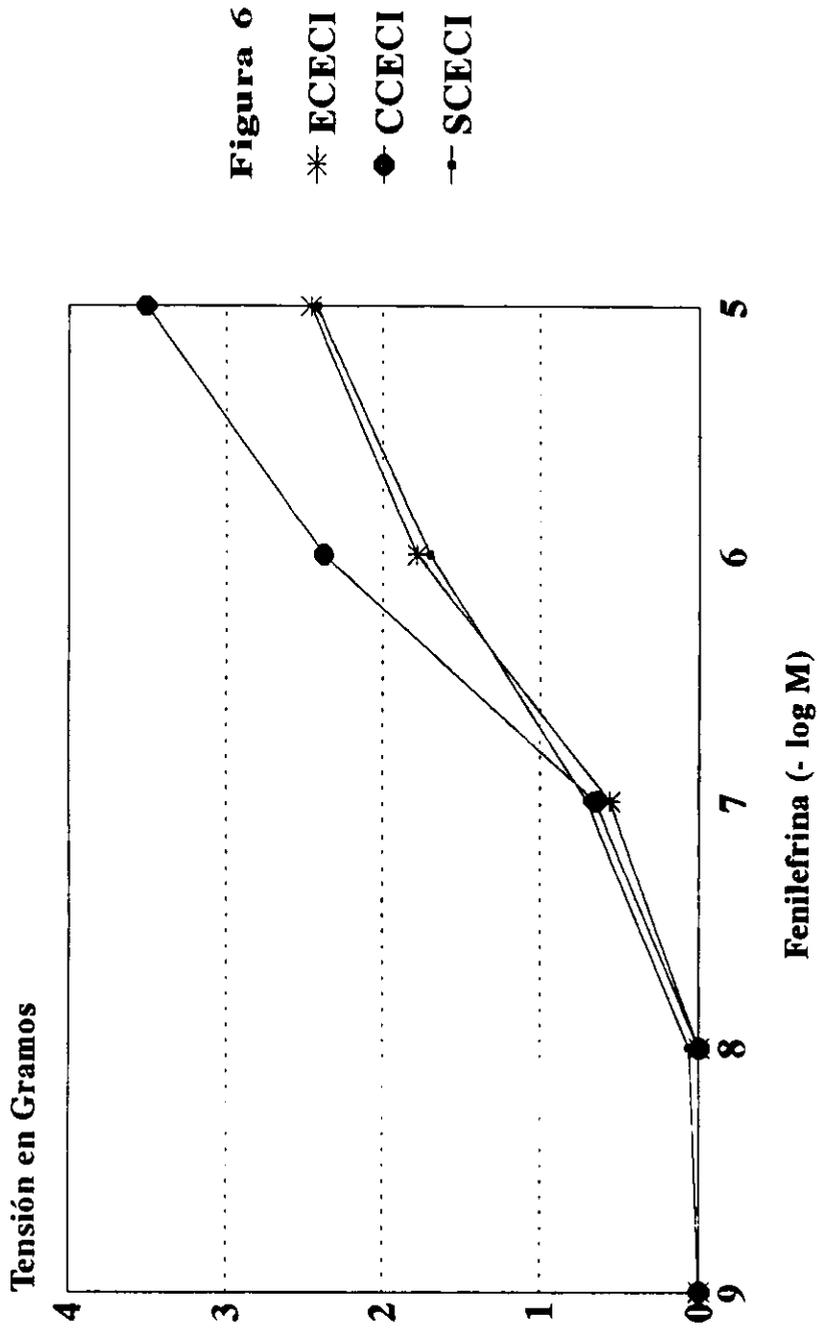
Figura 5

—▲— ECESI

—■— CCESI

—+— SCESI

ICTERICIA Y REACTIVIDAD VASCULAR CURVA A FENILEFRINA



ICTERICIA Y REACTIVIDAD VASCULAR CURVA A FENILEFRINA

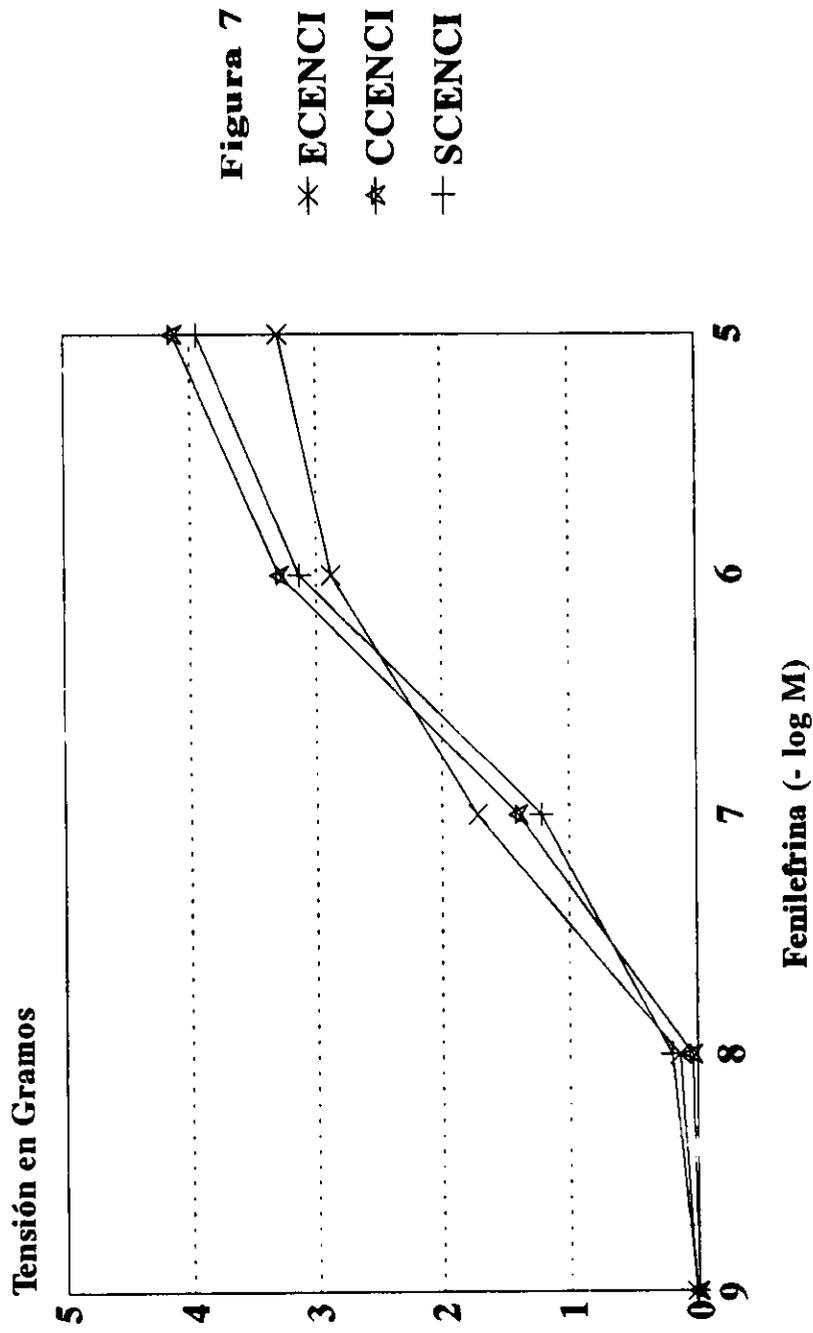


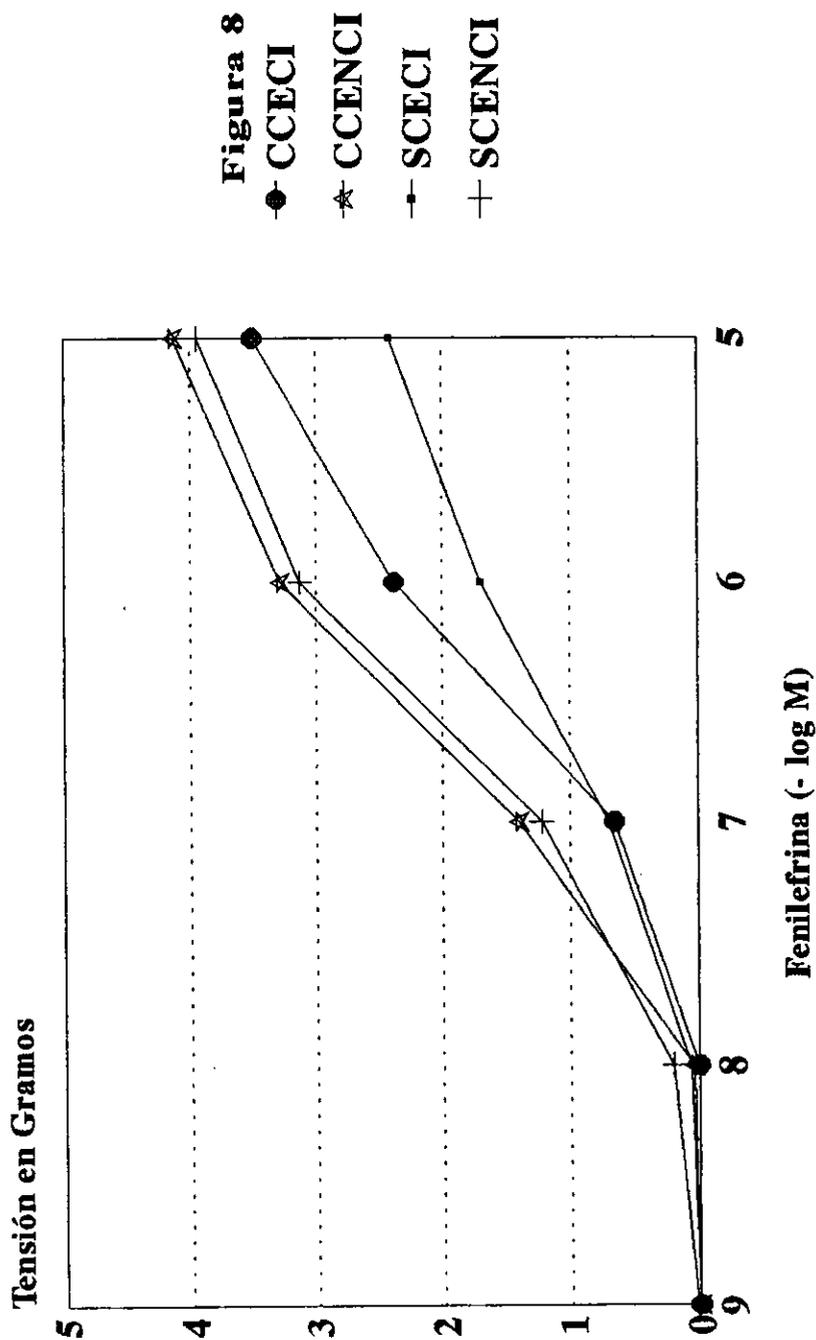
Figura 7

* ECENCI

✱ CCENCI

+ SCENCI

ICTERICIA Y REACTIVIDAD VASCULAR CURVA A FENILEFRINA



ICTERICIA Y REACTIVIDAD VASCULAR CURVA A FENILEFRINA

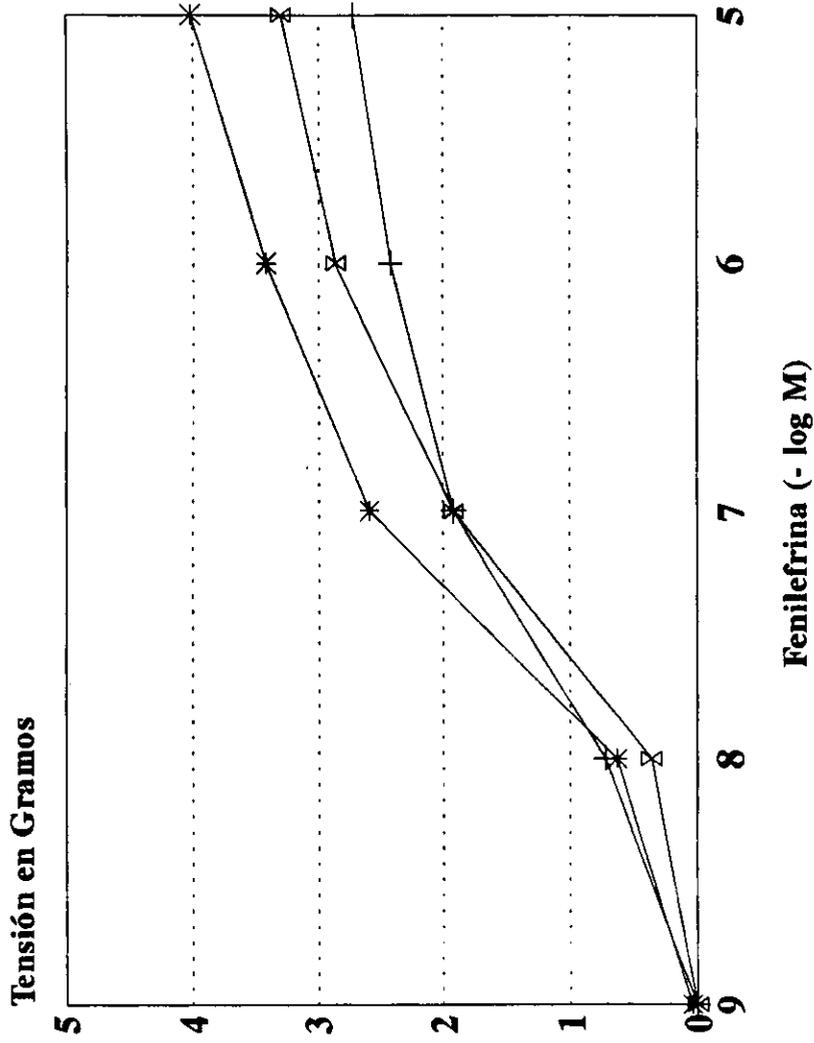


Figura 9

+ ESESI

x CSESI

* SSESI

ICTERICIA Y REACTIVIDAD VASCULAR CURVA A FENILEFRINA

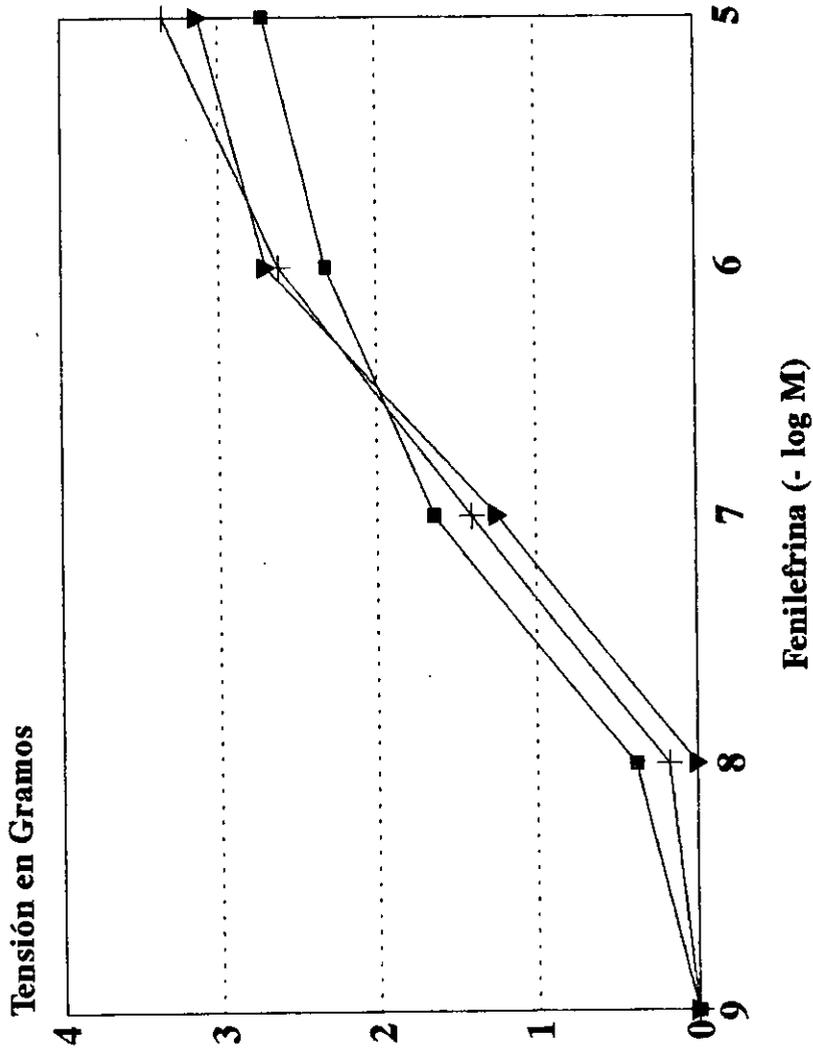


Figura 10

- ESECI
- ▼ CSECI
- + SSECI

ICTERICIA Y REACTIVIDAD VASCULAR CURVA A FENILEFRINA

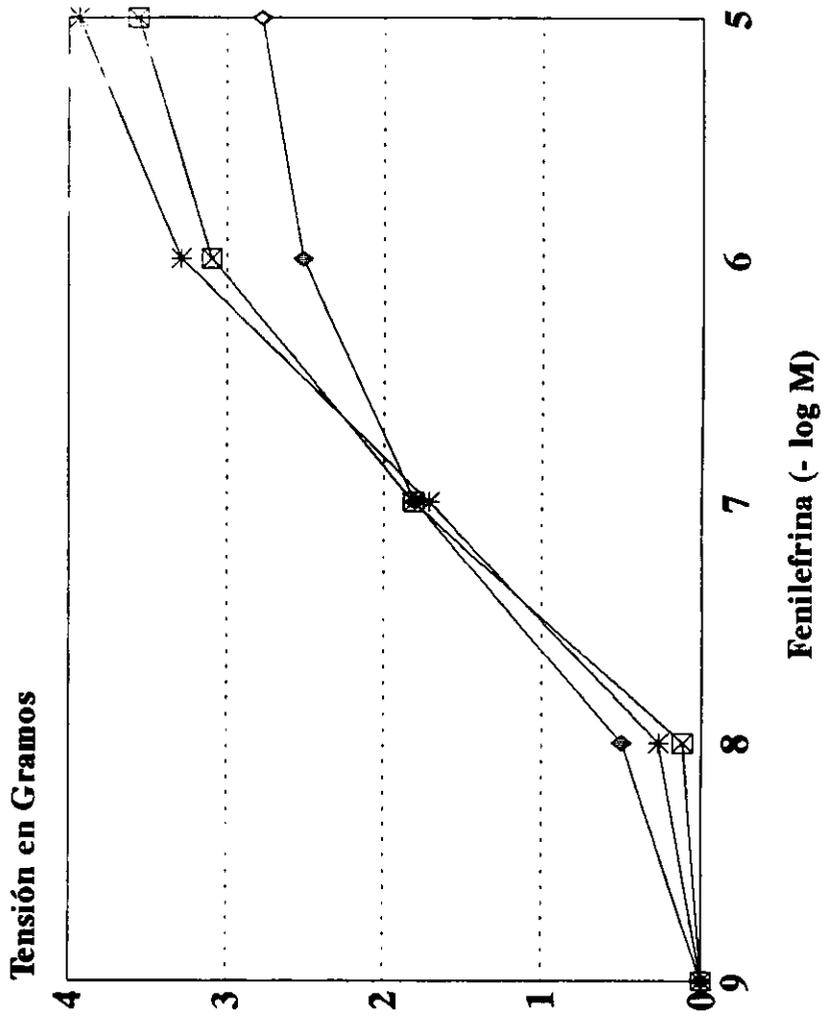


Figura 11

◇ ESENCI

□ CSENCI

* SSENCI

ICTERICIA Y REACTIVIDAD VASCULAR

CURVA A CARBACOL

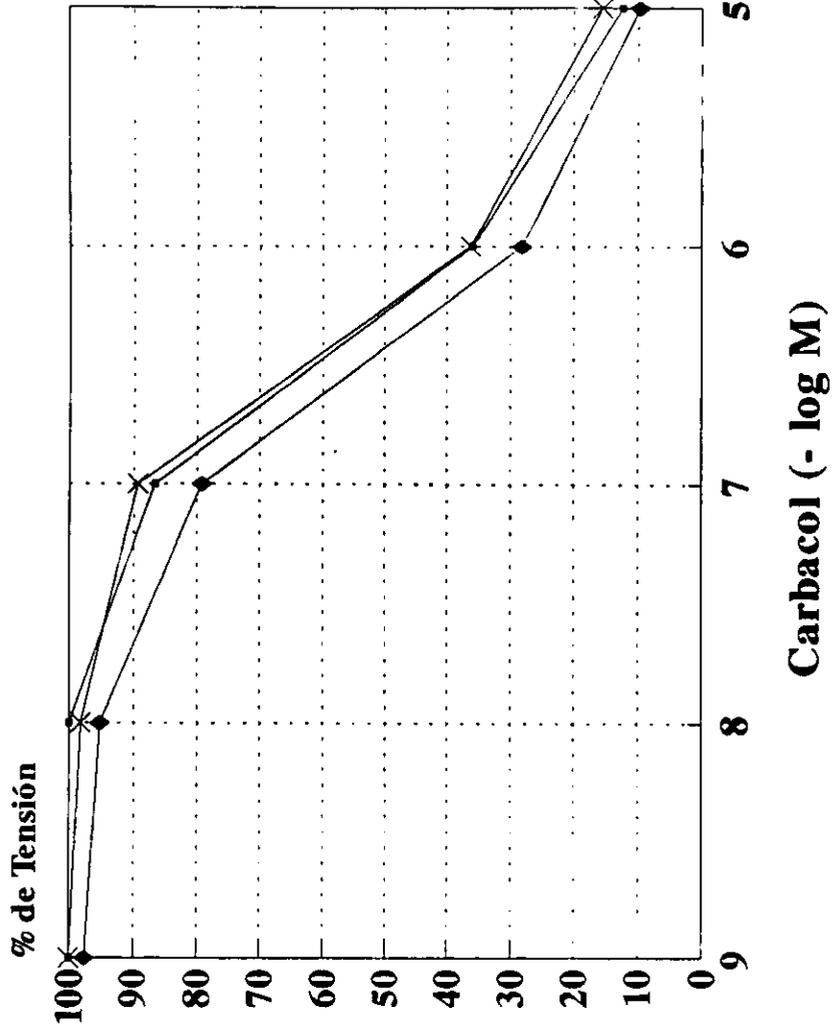


Figura 12

---○--- CCESI

---*--- SCESI

---◆--- ECESI

ICTERICIA Y REACTIVIDAD VASCULAR

CURVA A CARBACOL

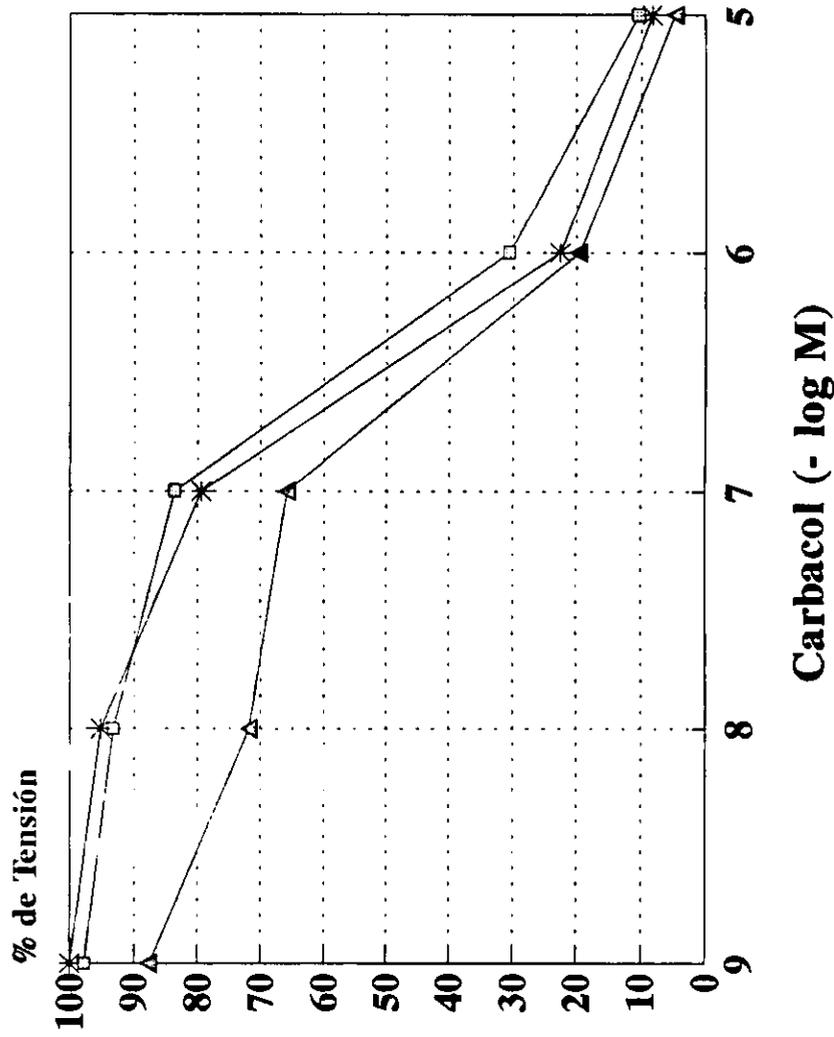


Figura 13

* CCECI

□ SCECI

▲ ECECI

ICTERICIA Y REACTIVIDAD VASCULAR

CURVA A CARBACOL

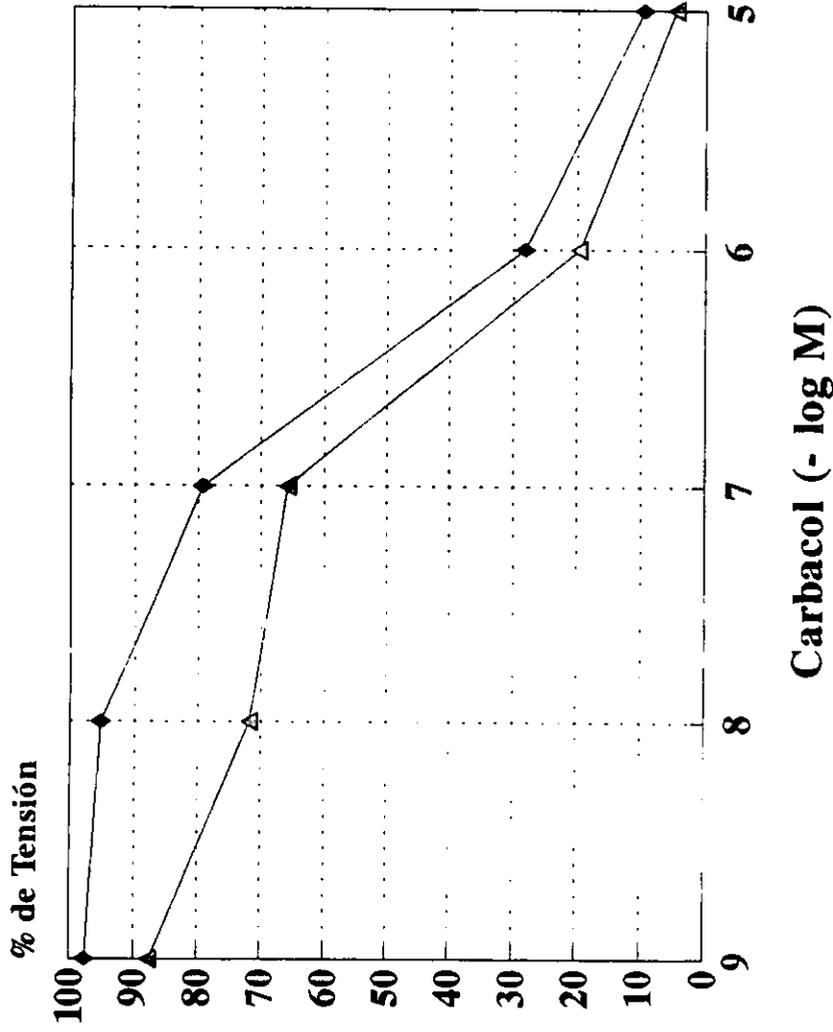


Figura 14

◆ ECESI

△ ECECI