

Modelos animales en el estudio de la hipertensión portal

Palabras clave: cirrosis, rata, ratón.

RESUMEN

La utilización de modelos animales permite el estudio detallado de las alteraciones hemodinámicas del síndrome de hipertensión portal y de los mecanismos moleculares implicados en las alteraciones de la circulación esplácnica y sistémica asociadas a este síndrome. Los modelos de hipertensión portal prehepática permiten el estudio de las alteraciones en la circulación esplácnica y de la fisiopatología de la circulación hiperdinámica. Los modelos de cirrosis permiten, además, el estudio de las alteraciones en la microcirculación intrahepática que conducen al aumento de resistencia al flujo portal. Esta revisión resume los modelos animales de hipertensión portal actualmente disponibles, su utilidad relativa para el estudio de los diferentes trastornos asociados a la hipertensión portal y los criterios en los que se basa la elección de un determinado modelo, atendiendo a los objetivos específicos del estudio.

ANIMAL MODELS FOR THE STUDY OF PORTAL HYPERTENSION

Animal models allow detailed study of the hemodynamic alterations in portal hypertension syndrome and of the molecular mechanisms involved in the abnormalities in splenic and systemic circulation associated with this syndrome. Models of prehepatic portal hypertension can be used to study alterations in the splenic circulation and the physiopathology of hyperdynamic circulation. Moreover, models of cirrhosis allow the alterations in intrahepatic microcirculation that lead to increased resistance to portal flow to be studied. The present review summarizes currently available animal models of portal hypertension and analyzes their relative utility in investigating the distinct disorders associated with this

entity. The criteria for the choice of a particular model, depending on the specific objectives of the study, are also discussed.

INTRODUCCIÓN

La utilización de modelos animales de hipertensión portal es de enorme utilidad en el estudio de la fisiopatología de la hipertensión portal. Estos modelos permiten, por una parte, el estudio detallado de cuestiones surgidas de la práctica clínica habitual, y a las que es difícil dar respuesta mediante estudios en humanos. Por ejemplo, el concepto de que la hipertensión portal no sólo es consecuencia de un aumento de resistencia al flujo portal, sino que también existe un hiperaflujo portal que contribuye a mantener y agravar la hipertensión portal no pudo ser demostrado definitivamente hasta que se desarrolló la metodología adecuada para realizar estudios hemodinámicos detallados en animales de experimentación^{1,2}. Por otra parte, los modelos animales permiten estudiar en detalle los mecanismos moleculares implicados en las alteraciones de la circulación esplácnica y sistémica asociadas a este síndrome³. Esto permite el desarrollo y la validación de dianas terapéuticas que, posteriormente, pueden ser ensayadas en pacientes con hipertensión portal. Este trabajo pretende resumir los modelos disponibles para el estudio de la hipertensión portal y su utilidad relativa para el abordaje desde diferentes enfoques.

A la hora de elegir un modelo animal para el estudio de la hipertensión portal se deben tener en cuenta diferentes factores. Unos son de índole general, aplicables a cualquier modelo animal, y se resumen en la tabla I⁴. Otros dependerán del trastorno específico de la fisiopatología de la hipertensión portal que se quiera estudiar, ya que no todos los modelos de hipertensión portal expresan, de forma completa, todas las alteraciones características del síndrome de hipertensión portal. El primer paso es la elección de la especie animal. Las especies más utilizadas han sido la rata y el conejo. Más recientemente, y a pesar de las dificultades para la instrumentación que entraña su

Fondo de Investigación Sanitaria (CM04/00031 a JGA y IP-02/0739, 02/0692) y RNIHG (C03/02).

Correspondencia: Dr. J.C. García-Pagán.
Servicio de Hepatología. Hospital Clínic.
Villarroel, 170. 08036 Barcelona. España.
Correo electrónico: jcgarcia@clinic.ub.es

Recibido el 8-3-2005; aceptado para su publicación el 8-3-2005.

TABLA I. Factores que deben tenerse en cuenta en la elección de un modelo animal*

Reproducibilidad: porcentaje de animales que alcanzan el estado deseado
Especificidad: el modelo debería tener la anomalía deseada, sin presentar otras complicaciones
Coste: se ha de tener en cuenta no sólo el coste directo del animal, sino también los costes de estabulación (y por tanto del tiempo de inducción de la enfermedad). Un modelo caro, pero fiable, puede ser a la larga más barato que uno barato y poco fiable
Seguridad: el animal y el método de inducción de la enfermedad no deben suponer un riesgo para el personal
Tamaño: se debe tener en cuenta a la hora de minimizar los costes de los fármacos a utilizar (preferible animales más pequeños) pero también la facilidad de manipulación, por ejemplo a la hora de conseguir un buen acceso vascular (preferible animales más grandes)
Aspectos éticos: diferentes comités de investigación animal pueden tener diferentes visiones sobre la aceptabilidad de un modelo
Factibilidad: evaluar si el laboratorio tiene la posibilidad material (personal, instalaciones, etc.) de generar y manejar el modelo

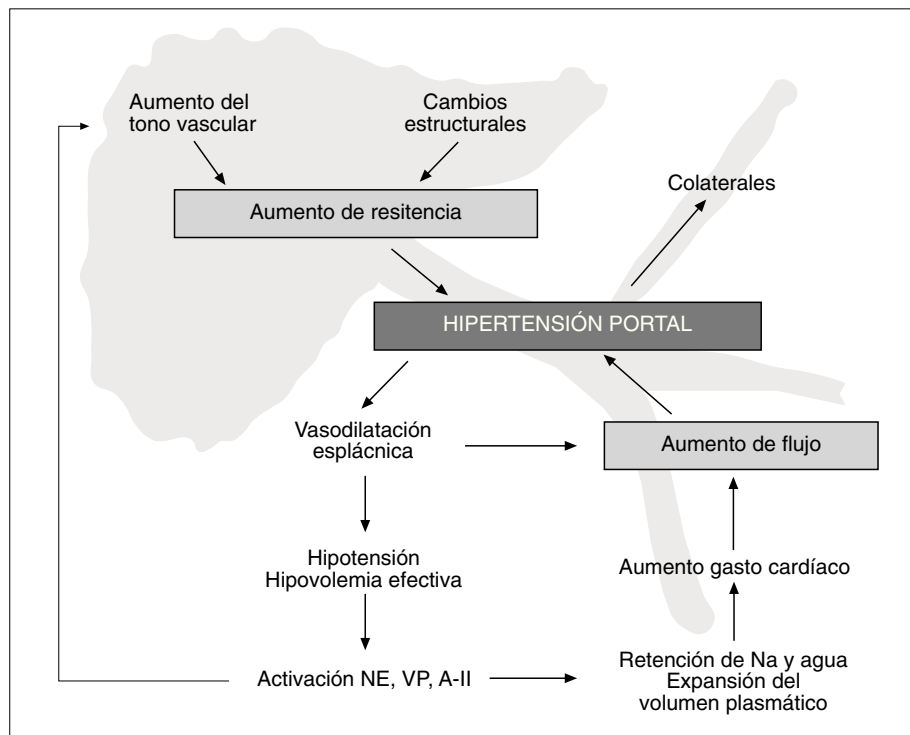
*Adaptado de Mullen y McCullough⁴.

Fig. 1. Resumen de la fisiopatología de la hipertensión portal. Véase texto para detalles.

pequeño tamaño, la metodología utilizada en los estudios hemodinámicos en rata y conejo ha podido ser adaptada al ratón⁵⁻⁷. Esto ha aumentado enormemente las posibilidades de investigación en este campo por la disponibilidad de ratones *knock out* y transgénicos. El uso de animales de gran tamaño, como el perro o el cerdo, ofrece la ventaja del mayor tamaño y, por lo tanto, mayor facilidad para la instrumentación y para la disección de estructuras vasculares. Aunque existen estudios antiguos en los que se han utilizado estas especies⁸, en la práctica su uso se ha abandonado principalmente por su alto coste. La presente revisión se centrará en los modelos de hipertensión portal más utilizados en la actualidad.

MODELOS DE HIPERTENSIÓN PORTAL

Como en cualquier sistema hidrodinámico, la presión portal se determina por la interrelación entre el flujo

sanguíneo portal y la resistencia que se opone a éste. De acuerdo con la ley de Ohm, el gradiente de presión entre 2 puntos ($P_1 - P_2$) en un vaso sanguíneo queda definido por la ecuación:

$$(P_1 - P_2) = Q \cdot R$$

en la que, aplicada al sistema portal, $P_1 - P_2$ sería el gradiente de perfusión hepática o gradiente de presión portal (la diferencia entre la presión portal y la presión de la vena cava inferior), Q el flujo sanguíneo portal y R la resistencia vascular del sistema venoso portal. De esto se desprende que los 2 mecanismos básicos por los que puede aumentar la presión portal son el aumento del flujo sanguíneo y el aumento de las resistencias vasculares hepáticas⁹.

El factor inicial necesario para que aumente la presión portal es un aumento en la resistencia al flujo portal¹⁰⁻¹². Este aumento puede estar localizado en el

ámbito prehepático (como en la trombosis portal), intrahepático (cirrosis hepática) o posthepático (síndrome de Budd-Chiari). Independientemente de la causa de hipertensión portal, ésta se asocia a una serie de alteraciones en la hemodinámica esplácnica y sistémica, caracterizadas por vasodilatación, hipotensión, activación de los sistemas vasoactivos, expansión del volumen plasmático y aumento del gasto cardíaco¹³. Es lo que se conoce como el síndrome de circulación hiperdinámica, y conduce a un aumento del flujo sanguíneo portal que contribuye a mantener y agravar la hipertensión portal a pesar del desarrollo de colaterales portosistémicas que descomprimen el sistema (fig. 1). Esto quiere decir que para el estudio de la circulación hiperdinámica tanto los modelos de hipertensión portal prehepática, como intrahepática, serían útiles, con la particularidad de que los modelos de hipertensión portal prehepática no desarrollan ascitis. Para el estudio de las alteraciones de la circulación intrahepática se requieren modelos específicos de cada enfermedad.

Modelos de hipertensión portal prehepática

Ligadura parcial de la vena porta

Este modelo, conocido en la literatura médica anglosajona como PVL (*portal vein ligation*), ha sido ampliamente utilizado en el estudio de la fisiopatología de la hipertensión portal. Se ha caracterizado en ratas^{1,14,15}, ratones^{6,7} y conejos¹⁶. La técnica consiste en aislar la vena porta del tejido graso que la rodea, colocándose una ligadura rodeando a la vena porta y una aguja de punta roma entre la ligadura y la vena. La ligadura se cierra con fuerza y se retira la aguja. El resultado es una estenosis calibrada de la vena porta, cuyo diámetro es el de la aguja sobre la que se ha realizado la ligadura. En el modelo convencional de PVL en ratas se utiliza una aguja de calibre 20 G (0,889 mm)^{1,14,15}. Utilizando agujas de mayor calibre se obtienen estenosis menos severas y menor grado de hipertensión portal^{17,18}. En ratones, el calibre de aguja convencionalmente utilizado es el 27 G^{6,7}, y en conejos, el 18 G¹⁸. La cirugía debe realizarse en condiciones asépticas. Existen numerosas páginas web de universidades e instituciones que proporcionan información acerca de la técnica quirúrgica y el cuidado preoperatorio y postoperatorio de los animales, y donde se pueden encontrar pautas de anestesia, analgesia y profilaxis antibiótica adecuada (p. ej., <http://info.med.yale.edu/yarc/vcs/>). Para la ligadura de la vena porta no es necesario el uso de profilaxis antibiótica.

El modelo PVL ha sido extensamente utilizado por su facilidad, su reproducibilidad, su bajo precio y por la rapidez de instauración del síndrome de la hiperten-

sión portal. Después de una semana la ligadura de la vena porta las ratas desarrollan de forma completa, el síndrome de hipertensión portal con síndrome de circulación hiperdinámica y *shunting* portosistémico. El *shunting* portosistémico comienza a ser detectable al segundo día y es cercano al 100% a partir del séptimo día¹¹. La vasodilatación mesentérica y el aumento de gasto cardíaco son evidentes a partir del 4.º día^{11,14}. El principal inconveniente del modelo es que la hipertensión portal se induce de forma aguda, y que al contrario que la mayoría de las situaciones halladas en la clínica, el grado de hipertensión portal es máximo a las 24 h, y va disminuyendo a lo largo de los días debido al desarrollo de colaterales portosistémicas¹¹.

Modelos de hipertensión portal intrahepática

La hipertensión portal intrahepática se puede clasificar a su vez en presinusoidal, sinusoidal o postsinusoidal. Los modelos que reproducen la cirrosis, la causa más frecuente de hipertensión portal intrahepática en el mundo occidental, tienen un doble componente presinusoidal y sinusoidal, pero, por motivos prácticos, serán incluidos dentro de los modelos de hipertensión portal sinusoidal.

Hipertensión portal intrahepática presinusoidal

Esquistosomiasis. La infección experimental por *Schistosoma mansoni* se ha estudiado en ratones y hámsters. Este modelo se consigue inyectando cercarias del parásito en la pared abdominal. A las 5-7 semanas los animales desarrollan hipertensión portal de manera progresiva^{19,20}. El modelo de hámster no desarrolla *shunting* portosistémico ni circulación hiperdinámica por causas que se desconocen²¹. Por el contrario, el modelo en ratones desarrolla *shunting* portosistémico, que comienza a ser detectable a la semana 9, y alcanza un 15% de media a la semana 11^{19,20}. Su utilización es muy escasa, y en la última década no se han publicado estudios con este modelo. Tiene la ventaja de que el desarrollo de hipertensión portal, al contrario que en el modelo PVL y más parecido a lo que sucede en las hepatopatías crónicas, es lentamente progresivo.

Hipertensión portal intrahepática sinusoidal

Existen numerosos modelos animales de cirrosis. En esta revisión se describen los más utilizados en el estudio concreto de la hipertensión portal.

Cirrosis por ligadura del colédoco (CBDL). El modelo de ligadura de colédoco (CBDL) es un modelo de cirrosis biliar secundaria que se ha ensayado princi-

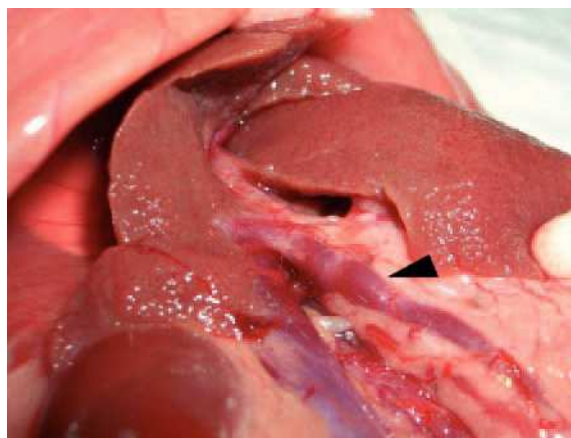
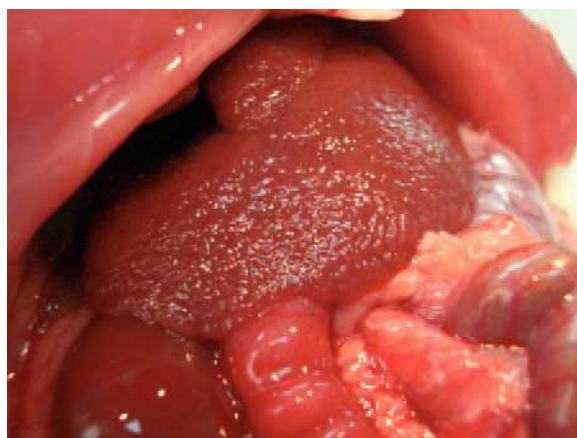


Fig. 2. Modelo de cirrosis por tetracloruro de carbono. A) La superficie hepática muestra un aspecto micronodular. B) Exposición de la vena porta previa a su canulación. Se observa una vena porta ingurgitada (flecha) y fina circulación colateral.

palmente en ratas²². Esta especie tiene la especial ventaja de no tener vesícula biliar, lo que la hace especialmente apropiada. También se ha ensayado en conejo²³ y ratón²⁴. Los ratones tienen el inconveniente de que desarrollan una dilatación marcada de la vesícula biliar, que en muchas ocasiones conduce a perforación y coleperitoneo. La intervención consiste en disecar el colédoco de la grasa subyacente, craneal a la salida de los conductos pancreáticos, tras lo cual se realiza una doble ligadura y resección de una porción de colédoco entre las 2 ligaduras para evitar su repermeabilización. El uso de tratamiento antibiótico profiláctico (ampicilina 100 mg/kg por vía subcutánea u otros de espectro similar antes de iniciar la cirugía) y la administración semanal de vitamina K (50 µg por vía subcutánea)²⁵ mejoran considerablemente la supervivencia de las ratas CBDL. Uno de los inconvenientes de este modelo es la formación de un gran quiste biliar a tensión, más voluminoso cuanto más caudal sea la ligadura. La formación de este quiste puede resultar en compresión de la vena porta en el ámbito hiliar, causando hipertensión portal prehepática incluso en la primera semana tras la cirugía. Se han propuesto diferentes métodos para evitar la formación de este quiste. En nuestra unidad hemos utilizado una variación del modelo, propuesta por Colombato et al¹⁴ en la que, mediante un catéter P10 se inyecta lentamente formol (10%, 120 µl/100 g) en la vía biliar antes de la ligadura^{15,26}. Esto evita de forma eficaz la formación de quiste biliar. Otros autores han obtenido los mismos resultados con la inyección de Ethibloc^{®27}, sustancia utilizada para embolización en radiología vascular intervencionista. Un grupo español ha solucionado este problema realizando la ligadura y sección individual del conducto hepático de cada lóbulo^{28,29}.

El modelo CBDL desarrolla fibrosis-cirrosis biliar entre las 4 y 6 semanas. Histológicamente, presenta marcada proliferación colangiolar y fibrosis portal

expansiva, pero es muy infrecuente hallar las alteraciones arquitecturales características de cirrosis como la observada en humanos o el modelo experimental de cirrosis por tetracloruro de carbono³⁰. A las 2 semanas el modelo presenta hipertensión portal leve³¹. A las 4 semanas presenta hipertensión portal marcada, manifestaciones típicas de la circulación hiperdinámica y un *shunting* portosistémico de un 30-50%^{22,32,33}. Aproximadamente un 60% presenta ascitis. A partir de la quinta semana la mortalidad es alta (20%). La hipertensión portal en este modelo tiene un importante componente presinusoidal³⁴.

Cirrosis por tetracloruro de carbono (CCl₄). La administración aguda de tetracloruro de carbono produce una hepatitis aguda. Su administración continuada produce una lesión hepática crónica que conduce al desarrollo de cirrosis³⁵. La cirrosis por tetracloruro se ha descrito en ratas^{34,36}, ratones³⁷ y conejos²³. Se puede administrar por vía oral^{38,39}, intraperitoneal⁴⁰ o inhalatoria^{36,41,42}. La vía subcutánea se desaconseja por su bajo rendimiento. El uso de diferentes esquemas de tratamiento, incluso utilizando la misma vía de administración, podría explicar la variabilidad de rendimiento en la obtención de cirrosis entre los diferentes laboratorios. Para acelerar el modelo se administra fenobarbital en el agua de bebida (0,3 g/l) desde una semana antes de iniciar la exposición al CCl₄. Los estudios hemodinámicos se realizan generalmente una semana después de interrumpir la administración de CCl₄ y fenobarbital.

Tras aproximadamente 12-15 semanas, las ratas desarrollan cirrosis micronodular (fig. 2), hipertensión portal, *shunting* portosistémico (de entre un 30-60%) y síndrome de circulación hiperdinámica². Si se mantiene durante más tiempo el tratamiento con CCl₄ (14-20 semanas), la mayoría de las ratas acaba desarrollando ascitis. El mayor problema del modelo es la diferente

sensibilidad de los animales al tetracloruro de carbono, lo que hace difícil obtener un grupo con un grado homogéneo de cirrosis. Proctor et al³⁸ han propuesto una solución consistente en individualizar la dosis de cada animal de acuerdo con el efecto de la dosis anterior, midiendo la ganancia/pérdida de peso diaria del animal³⁸. Probablemente este esquema se podría simplificar evaluando el peso del animal cada semana.

Cirrosis por tioacetamida (TAA). Éste es otro modelo ampliamente utilizado de cirrosis tóxica. Se ha descrito en ratas⁴³ y ratones⁴⁴. Tiene la ventaja de que puede ser diluido en el agua de bebida y es estable por lo menos durante una semana⁴³. También se ha administrado como inyección i.p.⁴⁵.

En este modelo se desarrolla cirrosis micromacronodular en aproximadamente 12 semanas. Presenta el mismo problema que la cirrosis por CCl₄, es decir, la diferente sensibilidad de las ratas y la heterogeneidad del grado de cirrosis. Li et al⁴³ han propuesto un esquema de administración, en el que la dosis administrada se matiza cada semana de acuerdo con la pérdida/ganancia de peso del animal. Esta modificación evita, de forma completa, la mortalidad durante la inducción de cirrosis y obtiene un rendimiento del 90% a las 12 semanas. Las ratas desarrollan hipertensión portal, signos de circulación hiperdinámica y un 40% desarrolla ascitis.

Cirrosis inducida por dimetilnitrosamina (DMNA). La DMNA es otro tóxico que causa necrosis hepatocitaria y que tras su administración continuada causa fibrosis a partir de la cuarta semana. A las 5 semanas, las ratas muestran hipertensión portal y *shunting* portosistémico. Sin embargo, la cirrosis franca con ascitis no se desarrolla hasta las 13 semanas^{46,47}. En diversos estudios se ha utilizado este modelo 5 semanas tras el inicio de la administración de DMNA. En ese momento los animales no presentan cirrosis ni circulación hiperdinámica⁴⁸. La administración del tóxico es generalmente intraperitoneal. Es un modelo muy poco estudiado desde el punto de vista hemodinámico, principalmente debido a las importantes limitaciones para el uso de DMNA por su alta carcinogenicidad.

Cirrosis inducida por dieta. La administración a ratas y ratones de una dieta deficiente en colina y metionina, o de una dieta baja en proteínas y colina y ricas en grasa, origina esteatosis hepática asociada a un marcado aumento del estrés oxidativo que origina inflamación y fibrosis^{46,49}. Con estos modelos se obtiene cirrosis de forma muy variable entre las semanas 12 y 24. No han sido bien caracterizados desde el punto de vista hemodinámico y no se han utilizado en el estudio de la hipertensión portal.

Hipertensión portal postsinusoidal

Recientemente, se ha descrito un modelo en rata que reproduce las características histológicas y clínicas de la enfermedad venooclusiva, una de las causas de hipertensión portal postsinusoidal observadas en la clínica⁵⁰. Este modelo se induce mediante la administración por gavaje de monocrotalina. Las ratas desarrollan hiperbilirrubinemia, hepatomegalia y ascitis a los 4-5 días. Este modelo es útil para el estudio específico de la enfermedad venooclusiva. Sin embargo, no ha sido caracterizado desde el punto de vista hemodinámico, por lo que su utilidad potencial para el estudio de la hipertensión portal es desconocida.

Hipertensión portal posthepática

Estos modelos tratan de reproducir la fisiopatología del síndrome de Budd-Chiari, es decir, la lesión hepática por obstrucción del drenaje vascular del hígado. Para evitar la mortalidad derivada de una obstrucción aguda completa se han utilizado unos dispositivos denominados ameroides. Éstos se colocan alrededor del vaso que se quiere ocluir y se expanden en contacto con la humedad dentro de un soporte rígido de acero inoxidable, con lo que tras su implantación el vaso se ocluye de forma progresiva. Este modelo se ha ensayado con éxito en perros⁵¹. En ratas es prácticamente imposible disecar las venas suprahepáticas, con lo que, en el modelo que se ha descrito, la obstrucción del drenaje hepático se consigue ocluyendo la vena cava inferior en su porción suprahepática⁵², lo que no es un modelo puro de síndrome de Budd-Chiari. Estos modelos han sido escasamente estudiados, por lo que su utilidad no está bien establecida.

FISIOPATOLOGÍA DE LA HIPERTENSIÓN PORTAL Y SUS COMPLICACIONES: MODELOS PARA SU ESTUDIO (tabla II)

Alteraciones en la microcirculación intrahepática en la cirrosis

La causa más frecuente de hipertensión portal en nuestro medio es la cirrosis, en la que el primer fenómeno fisiopatológico es un aumento de la resistencia hepática al flujo portal. Este aumento de resistencia no sólo es consecuencia de una alteración de la arquitectura hepática, sino que también se debe a un aumento del tono vascular hepático. Este concepto ha sido demostrado mediante estudios realizados en hígado aislado y perfundido de rata⁵³. Estos estudios permiten evaluar el tono vascular hepático y su respuesta a vasoconstrictores y vasodilatadores. Esto no lo permiten los estudios *in vivo*, ya que no es posible disociar el efecto de las sustancias vasoactivas sobre

TABLA II. Utilidad de los principales modelos animales disponibles para el estudio de los diferentes aspectos de la fisiopatología de la hipertensión portal

Tipo de estudio	PVL	CBDL	CCI4	TAA
Alteraciones de la microcirculación intrahepática en la cirrosis	—	**	***	***
Fisiopatología de la circulación hiperdinámica	***	Escasa experiencia	***	Escasa experiencia
Secuencia temporal de alteraciones implicadas en la circulación hiperdinámica	***	**	*	***
Fisiopatología de la ascitis	*	**	***	***
Alteraciones en la circulación mesentérica	***	**	***	Escasa experiencia (?)
Circulación colateral	***	***	***	Sin experiencia (?)
Gastropatía de la hipertensión portal	***	***	***	Sin experiencia (?)
Síndrome hepatopulmonar	—	***	—	—
Modelos de hemorragia por hipertensión portal	**	***	***	(?) Sin experiencia

El modelo CCI4 ha sido el más utilizado para el estudio de las alteraciones de la circulación intrahepática. El modelo CBDL no representa adecuadamente las alteraciones de la circulación intrahepática observadas en la cirrosis humana. En el estudio de los trastornos de la circulación esplénica y sistémica asociados a la hipertensión portal el modelo PVL, por su rapidez y bajo precio, es especialmente útil para la generación de hipótesis, que posteriormente deben ser confirmadas en los modelos de cirrosis. El modelo CBDL es el único que desarrolla alteraciones similares a las del síndrome hepatopulmonar.

—: carece de utilidad; *: poco útil; **: utilidad intermedia; ***: modelo de elección.

la presión portal que dependen de cambios en la circulación sistémica, mesentérica y colateral de los efectos derivados de cambios en la resistencia intrahepática. Otra forma de evaluación de la microcirculación hepática es mediante estudios de microscopía intravital⁵⁴.

El modelo más estudiado en perfusión aislada de hígado es el modelo de cirrosis por CCI4. En este modelo se ha demostrado que el hígado cirrótico muestra un aumento del tono vascular hepático, hiperrespuesta a los vasoconstrictores e hiporrespuesta a los vasodilatadores^{36,55,56}. El principal mecanismo que media estas alteraciones es una disfunción endotelial caracterizada por una insuficiente producción de óxido nítrico y una producción aumentada de prostanoides vasoconstrictores^{55,57}. La respuesta de la circulación intrahepática a sustancias vasoactivas en el modelo de perfusión aislada de hígado se ha evaluado también en otros modelos de cirrosis, como CBDL^{58,59} y cirrosis por TAA⁶⁰, pero los datos disponibles son escasos. Al evaluar los datos en estos modelos se debe recordar que las ratas con CBDL tienen un importante componente presinusoidal en el aumento de resistencia intrahepática³⁵.

Alteraciones en la circulación sistémica, mesentérica y colateral asociadas a la hipertensión portal

Estos estudios comprenden la realización de estudios hemodinámicos *in vivo* y la perfusión *ex vivo* del lecho vascular mesentérico y de las colaterales portosistémicas.

Los estudios *in vivo* permiten estudiar la fisiopatología de la circulación hiperdinámica asociada a la hi-

pertensión portal. La circulación hiperdinámica se ha descrito en el modelo PVL^{1,14} y en los modelos de cirrosis por CCI4², CBDL²² y TAA⁶¹. Excepto en este último, en el que los estudios son escasos, en los demás existen multitud de trabajos que han estudiado los mecanismos moleculares que activan la cascada de episodios que conducen al desarrollo de la circulación hiperdinámica.

Los estudios *in vivo*, por otra parte, evalúan de forma global los efectos de un determinado fármaco en la presión portal, integrando los efectos en el influjo portal, la resistencia colateral y la resistencia hepática.

Cualquiera de los modelos de hipertensión portal es, en teoría, válido para el estudio de la circulación mesentérica. Ésta se ha evaluado mediante la perfusión aislada del lecho vascular mesentérico (preparación de McGregor⁶²), mediante el estudio de vasos mesentéricos aislados⁶³ o mediante la perfusión de la microvasculatura intestinal⁶⁴. En los modelos PVL y cirrosis por CCI4 se ha demostrado la característica hiporrespuesta vascular a vasoconstrictores de la vasculatura mesentérica⁶³⁻⁶⁶.

La circulación colateral se ha estudiado con diferentes metodologías. La más frecuente ha sido el cálculo del *shunting* portosistémico mediante la inyección de microesferas radiactivas, de colores o fluorescentes^{67,68}. El uso de microesferas marcadas con diferentes isótopos, colores o marcadores fluorescentes permite evaluar en un mismo animal los cambios del *shunting* portosistémico en respuesta a diferentes intervenciones¹⁰. Otra forma de estudiar las colaterales ha sido la medición mediante técnicas basadas en ultrasonidos del flujo en el *shunt* esplenoportal espontáneo, colateral de gran tamaño que desarrollan diferentes modelos de ratas con hipertensión portal (PVL, cirrosis por

CBDL y CCl₄)⁴⁸. Por último, Mosca et al⁶⁹ desarrollaron un sistema para la perfusión *ex vivo* de colaterales, que permite evaluar la respuesta del lecho colateral a diferentes vasodilatadores y vasoconstrictores. A la hora de realizar estos estudios se debe tener en cuenta que las ratas con PVL tienen un *shunting* prácticamente total (del 100%), mientras que en las ratas con cirrosis avanzada éste es de entre un 30 y un 60%. La disponibilidad del modelo PVL supone una enorme ventaja para la realización de estos 3 tipos de estudios, ya que es un modelo muy rápido y enormemente barato en comparación, sobre todo con los modelos de cirrosis tóxica. A lo largo de los últimos 20 años, la mayoría de los investigadores ha seguido la estrategia de generar hipótesis en el modelo PVL para luego corroborarlas en los más laboriosos y costosos modelos de cirrosis.

Ascitis y trastornos de la función renal en la cirrosis

La gran mayoría de los estudios en este campo se ha realizado en el modelo de cirrosis por CCl₄⁷⁰⁻⁷². La administración de CCl₄ se mantiene hasta que se detecta ascitis en la exploración. El modelo de PVL, al igual que ocurre en los pacientes con hipertensión portal prehepática, no desarrolla ascitis. Aún así, por ser ideal para estudios secuenciales, el modelo ha resultado fundamental en la descripción de la fisiopatología de la circulación hiperdinámica¹⁴, y en la validación de la teoría de la vasodilatación arterial periférica como iniciadora de la retención de sodio y agua que conduce al desarrollo de ascitis en la cirrosis^{14,73-75}. Los modelos de cirrosis por CBDL y por CCl₄ también se han utilizado para estudios longitudinales dirigidos a demostrar la secuencia vasodilatación-retención de sodio-ascitis⁷⁶⁻⁷⁸, pero su evolución temporal, especialmente en el caso de cirrosis por CCl₄, carece de la homogeneidad del modelo PVL y, por lo tanto, la interpretación de estos estudios es más difícil.

Gastropatía de la hipertensión portal

Diversos estudios han demostrado que las ratas con PVL y con cirrosis presentan alteraciones de la microcirculación gástrica comparables con la gastropatía de la hipertensión portal observada en pacientes. Este modelo ha sido útil para evaluar intervenciones terapéuticas que posteriormente han demostrado cierta eficacia en la práctica clínica^{70,71}.

Síndrome hepatopulmonar

Las ratas CBDL desarrollan alteraciones comparables a las del síndrome hepatopulmonar observado en humanos, consistentes en *shunting* intrapulmonar y aumento del gradiente alveoloarterial de oxígeno⁸¹. Estas alteraciones son obvias ya a partir de la segunda



Fig. 3. Modelo de hemorragia por hipertensión portal. El modelo consiste en la sección de una rama de la vena ileocólica de primer (1), segundo (2), tercer (3) o cuarto orden. Para el ensayo de tratamientos farmacológicos se emplea la sección de una rama de primer orden⁸².

semana tras la ligadura del colédoco⁴⁵. Por razones no bien aclaradas, las ratas con hipertensión portal de otra causa (PVL, cirrosis por TAA) no desarrollan síndrome hepatopulmonar^{45,81}.

Hemorragia por hipertensión portal

Recientemente se ha descrito un modelo de hemorragia por hipertensión portal que ha demostrado ser útil para valorar intervenciones terapéuticas en la hemorragia aguda por complicaciones de la hipertensión portal, como la transfusión de volumen o el tratamiento con fármacos vasoactivos^{15,26,82}. El modelo consiste en la sección de una rama de la vena ileocólica. La severidad de la hemorragia depende del grado de hipertensión portal y del calibre de la rama seccionada¹⁵ (fig. 3). Este modelo de hemorragia ha sido ensayado en ratas PVL y CBDL^{15,26,82}. Una sección de una rama de primer orden de la vena ileocólica induce una mortalidad del 50% en ratas CBDL, mientras que ésta es nula en ratas PVL. En estas últimas se ha ensayado un modelo con 2 secciones sucesivas de una rama de primer orden de la vena ileocólica. Por una parte, esto aumenta la mortalidad del modelo hasta el 50%. Por otra, permite ensayar tratamientos farmacológicos en presencia de hipovolemia, reproduciendo más fielmente el contexto clínico en que se aplican estas terapias⁸².

BIBLIOGRAFÍA

1. Vorobioff J, Bredfeldt J, Groszmann RJ. Hyperdynamic circulation in a portal hypertensive rat model: A primary factor for maintenance of chronic portal hypertension. *Am J Physiol.* 1983;244:G52-6.
2. Vorobioff J, Bredfeldt JE, Groszmann RJ. Increased blood flow through the portal system in cirrhotic rats. *Gastroenterology.* 1984;87:1120-3.

3. Groszmann RJ, Abraldes JG. Portal hypertension: from bedside to bench. *J Clin Gastroenterol*. 2005 En prensa.
4. Mullen KD, McCullough AJ. Problems with animal models of chronic liver disease: suggestions for improvement in standardization. *Hepatology*. 1989;9:500-3.
5. Sarin SK, Sabba C, Groszmann RJ. Splanchnic and systemic hemodynamics in mice using a radioactive microsphere technique. *Am J Physiol*. 1990;258:G365-G9.
6. Fernandez M, Vizzutti F, Garcia-Pagan JC, Rodes J, Bosch J. Anti-VEGF receptor-2 monoclonal antibody prevents portal-systemic collateral vessel formation in portal hypertensive mice. *Gastroenterology*. 2004;126:886-94.
7. Iwakiri Y, Cadelina G, Sessa WC, Groszmann RJ. Mice with targeted deletion of eNOS develop hyperdynamic circulation associated with portal hypertension. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 2002;283:G1074-G81.
8. Bosch J, Enriquez R, Groszmann RJ, Storer EH. Chronic bile duct ligation in the dog: hemodynamic characterization of a portal hypertensive model. *Hepatology*. 1983;3:1002-7.
9. Abraldes JG, Garcia-Pagan JC, Bosch J. Componente funcional de la hipertensión portal. *Gastroenterol Hepatol*. 2004;27:377-87.
10. Kroeger RJ, Groszmann RJ. Increased portal venous resistance hinders portal pressure reduction during the administration of beta-adrenergic blocking agents in a portal hypertensive model. *Hepatology*. 1985;5:97-101.
11. Sikuler E, Kravetz D, Groszmann RJ. Evolution of portal hypertension and mechanisms involved in its maintenance in a rat model. *Am J Physiol*. 1985;248:G618-G25.
12. Witte CL, Tobin GR, Clark DS, Witte MH. Relationship of splanchnic blood flow and portal venous resistance to elevated portal pressure in the dog. *Gut*. 1976;17:122-6.
13. Groszmann RJ. Hyperdynamic circulation of liver disease 40 years later: pathophysiology and clinical consequences. *Hepatology*. 1994;20:1359-63.
14. Colombato LA, Albillos A, Groszmann RJ. Temporal relationship of peripheral vasodilatation, plasma volume expansion and the hyperdynamic circulatory state in portal hypertensive rats. *Hepatology*. 1992;15:323-8.
15. Castaneda B, Debernardi-Venon W, Bandi JC, Andreu V, Perez del Pulgar S, Moitinho E, et al. The role of portal pressure in the severity of bleeding in portal hypertensive rats. *Hepatology*. 2000;31:581-6.
16. Cahill PA, Foster C, Redmond EM, Gingalewski C, Wu Y, Sitzmann JV. Enhanced nitric oxide synthase activity in portal hypertensive rabbits. *Hepatology*. 1995;22:598-606.
17. Lozeva V, Montgomery JA, Tuomisto L, Rocheleau B, Pannunzio M, Huet PM, et al. Increased brain serotonin turnover correlates with the degree of shunting and hyperammonemia in rats following variable portal vein stenosis. *J Hepatol*. 2004;40:742-8.
18. Abraldes JG, Iwakiri Y, Loureiro-Silva MR, Haq O, Sessa WC, Groszmann RJ. Mild increases in portal pressure upregulate VEGF and eNOS in the intestinal microcirculatory bed leading to vasodilatation and the hyperdynamic circulation. *J Hepatol*. 2005;42 Suppl 2:27A.
19. Sarin SK, Groszmann RJ, Mosca PG, Rojkind M, Stadeccker MJ, Bhatnagar R, et al. Propranolol ameliorates the development of portal-systemic shunting in a chronic murine schistosomiasis model of portal hypertension. *J Clin Invest*. 1991;87:1032-6.
20. Sarin SK, Mosca P, Sabba C, Groszmann RJ. Hyperdynamic circulation in a chronic murine schistosomiasis model of portal hypertension. *Hepatology* 1991;13:581-4.
21. Morgan JS, Groszmann RJ, Rojkind M, Enriquez R. Hemodynamic mechanisms of emerging portal hypertension caused by schistosomiasis in the hamster. *Hepatology*. 1990;11:98-104.
22. Lee SS, Girod C, Braillon A, Hadengue A, Lebrec D. Hemodynamic characterization of chronic bile duct-ligated rats: effect of pentobarbital sodium. *Am J Physiol*. 1986;251:G176-G80.
23. Burns RC, Wu Y, Sitzmann JV. Role of cirrhosis in the hemodynamic response to hemorrhage in portal hypertension. *Surgery*. 1995;117:488-93.
24. Biecker E, Neef M, Sagesser H, Shaw S, Koshy A, Reichen J. Nitric oxide synthase 1 is partly compensating for nitric oxide synthase 3 deficiency in nitric oxide synthase 3 knock-out mice and is elevated in murine and human cirrhosis. *Liver Int*. 2004;24:345-53.
25. Beck PL, Lee SS. Vitamin K1 improves survival in bile-duct-ligated rats with cirrhosis. *J Hepatol*. 1995;23:235.
26. Castaneda B, Morales J, Lionetti R, Moitinho E, Andreu V, Perez del Pulgar S, et al. Effects of blood volume restitution following a portal hypertensive-related bleeding in anesthetized cirrhotic rats. *Hepatology*. 2001;33:821-5.
27. Cho JJ, Hoher B, Herbst H, Jia JD, Ruehl M, Hahn EG, et al. An oral endothelin-A receptor antagonist blocks collagen synthesis and deposition in advanced rat liver fibrosis. *Gastroenterology*. 2000;118:1169-78.
28. Aller MA, Lorente L, Alonso S, Arias J. A model of cholestasis in the rat, using a microsurgical technique. *Scand J Gastroenterol*. 1993;28:10-4.
29. Aller MA, Duran M, Ortega L, Arias JL, Nava MP, Prieto I, Arias J. Comparative study of macro- and microsurgical extrahepatic cholestasis in the rat. *Microsurgery*. 2004;24:442-7.
30. Kountouras J, Billing BH, Scheuer PJ. Prolonged bile duct obstruction: a new experimental model for cirrhosis in the rat. *Br J Exp Pathol*. 1984;65:305-11.
31. Franco D, Gigou M, Szekely AM, Bismuth H. Portal hypertension after bile duct obstruction: effect of bile diversion on portal pressure in the rat. *Arch Surg*. 1979;114:1064-7.
32. Heller J, Shiozawa T, Trebicka J, Hennenberg M, Schepke M, Neef M, Sauerbruch T. Acute haemodynamic effects of losartan in anaesthetized cirrhotic rats. *Eur J Clin Invest*. 2003;33:1006-12.
33. Sikuler E, Buchs AE, Yaari A, Keynan A. Hemodynamic characterization of conscious and ketamine-anesthetized bile duct-ligated rats. *Am J Physiol*. 1991;260:G161-G6.
34. Jimenez W, Claria J, Arroyo V, Rodes J. Carbon tetrachloride induced cirrhosis in rats: a useful tool for investigating the pathogenesis of ascites in chronic liver disease. *J Gastroenterol Hepatol*. 1992;7:90-7.
35. Claria J, Jimenez W. Renal dysfunction and ascites in carbon-tetrachloride-induced cirrhosis in rats. En: Arroyo V, Gines P, Rodes J, Schrier RW, editors. *Ascites and renal dysfunction in liver disease*. Malden, MA: Blackwell Science; 1999. p. 379-98.
36. Graupera M, Garcia-Pagan JC, Titos E, Claria J, Massaguer A, Bosch J, et al. 5-lipoxygenase inhibition reduces intrahepatic vascular resistance of cirrhotic rat livers: a possible role of cysteinyl-leukotrienes. *Gastroenterology*. 2002;122:387-93.
37. Kamada Y, Tamura S, Kiso S, Matsumoto H, Saji Y, Yoshida Y, et al. Enhanced carbon tetrachloride-induced liver fibrosis in mice lacking adiponectin. *Gastroenterology*. 2003;125:1796-807.
38. Proctor E, Chatamra K. High yield micronodular cirrhosis in the rat. *Gastroenterology*. 1982;83:1183-90.
39. Kobayashi N, Ito M, Nakamura J, Cai J, Gao C, Hammel JM, Fox JJ. Hepatocyte transplantation in rats with decompensated cirrhosis. *Hepatology*. 2000;31:851-7.
40. Hernandez-Munoz R, Az-Munoz M, Suarez-Cuenca JA, Trejo-Solis C, Lopez V, Sanchez-Sevilla L, et al. Adenosine reverses a preestablished CCl4-induced micronodular cirrhosis through enhancing collagenolytic activity and stimulating hepatocyte cell proliferation in rats. *Hepatology*. 2001;34:677-87.
41. Jimenez W. Cirrosis hepática experimental producida por tetracoloruro de carbono: técnicas utilizadas y características histológicas, hemodinámicas y hormonales. *Gastroenterol Hepatol*. 1988;11:531-8.
42. Loureiro-Silva MR, Cadelina GW, Groszmann RJ. Deficit in nitric oxide production in cirrhotic rat livers is located in the sinusoidal and postsinusoidal areas. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 2003;284:G567-G74.
43. Li X, Benjamin IS, Alexander B. Reproducible production of thioacetamide-induced macronodular cirrhosis in the rat with no mortality. *J Hepatol*. 2002;36:488-93.

44. Okuyama H, Nakamura H, Shimahara Y, Uyama N, Kwon YW, Kawada N, et al. Overexpression of thioredoxin prevents thioacetamide-induced hepatic fibrosis in mice. *J Hepatol.* 2005;42:117-23.
45. Luo B, Liu L, Tang L, Zhang J, Ling Y, Fallon MB. ET-1 and TNF-alpha in HPS: analysis in prehepatic portal hypertension and biliary and nonbiliary cirrhosis in rats. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 2004;286:G294-G303.
46. Tsukamoto H, Matsuoka M, French SW. Experimental models of hepatic fibrosis: a review. *Semin Liver Dis.* 1990;10:56-65.
47. Jenkins SA, Grandison A, Baxter JN, Day DW, Taylor I, Shields R. A dimethylnitrosamine-induced model of cirrhosis and portal hypertension in the rat. *J Hepatol.* 1985;1:489-99.
48. Veal N, Oberti F, Moal F, Vuillemin E, Fort J, Kaassis M, et al. Spleno-renal shunt blood flow is an accurate index of collateral circulation in different models of portal hypertension and after pharmacological changes in rats. *J Hepatol.* 2000;32:434-40.
49. Nanji AA. Animal models of nonalcoholic fatty liver disease and steatohepatitis. *Clin Liver Dis.* 2004;8:559-74, ix.
50. DeLeve LD, McCuskey RS, Wang X, Hu L, McCuskey MK, Epstein RB, et al. Characterization of a reproducible rat model of hepatic veno-occlusive disease. *Hepatology.* 1999;29:1779-91.
51. Sweat ER, Musicant ME, Annetts DL, Goodhead B, Orloff MJ. Production of hepatic outflow block and ascites with an ameroid constrictor. *Surg Forum.* 1966;17:376-8.
52. Orloff MJ, Daily PO, Girard B. Treatment of Budd-Chiari syndrome due to inferior vena cava occlusion by combined portal and vena caval decompression. *Am J Surg.* 1992;163:137-42.
53. Bhathal PS, Grossman HJ. Reduction of the increased portal vascular resistance of the isolated perfused cirrhotic rat liver by vasodilators. *J Hepatol.* 1985;1:325-37.
54. Zhang JX, Pegoli Jr W, Clemens MG. Endothelin-1 induces direct constriction of hepatic sinusoids. *Am J Physiol (Gastrointest Liver Physiol).* 1994;29:G264-G632.
55. Graupera M, Garcia-Pagan JC, Pares M, Abralde JG, Rosello J, et al. Cyclooxygenase-1 inhibition corrects endothelial dysfunction in cirrhotic rat livers. *J Hepatol.* 2003;39:515-21.
56. Dudenhofer AA, Loureiro-Silva MR, Cadelina GW, Gupta T, Groszmann RJ. Bioactivation of nitroglycerin and vasomotor response to nitric oxide are impaired in cirrhotic rat livers. *Hepatology.* 2002;36:381-5.
57. Gupta TK, Toruner M, Chung MK, Groszmann RJ. Endothelial dysfunction and decreased production of nitric oxide in the intrahepatic microcirculation of cirrhotic rats. *Hepatology.* 1998;28:926-31.
58. Yokoyama Y, Xu H, Kresge N, Keller S, Sarmadi AH, Baveja R, et al. Role of thromboxane A2 in early BDL-induced portal hypertension. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 2003;284:G453-G460.
59. Kamath PS, Tyce GM, Miller VM, Edwards BS, Rorie DK. Endothelin-1 modulates intrahepatic resistance in a rat model of noncirrhotic portal hypertension. *Hepatology.* 1999;30:401-7.
60. Noda S, Masumi S, Moriyama M, Kannan Y, Ohta M, Sugano T, et al. Population of hepatic macrophages and response of perfused liver to platelet-activating factor during production of thioacetamide-induced cirrhosis in rats. *Hepatology.* 1996;24:412-8.
61. Hori N, Okanoue T, Sawa Y, Mori T, Kashima K. Hemodynamic characterization in experimental liver cirrhosis induced by thioacetamide administration. *Dig Dis Sci.* 1993;38:2195-202.
62. McGregor DD, Smirk FH. Vascular responses in mesenteric arteries from genetic and renal hypertensive rats. *Am J Physiol.* 1968;214:1429-33.
63. Sogni P, Sabry S, Moreau R, Gadano A, Lebrec D, Nh-Xuan AT. Hyporeactivity of mesenteric resistance arteries in portal hypertensive rats. *J Hepatol.* 1996;24:487-90.
64. Joh T, Granger DN, Benoit JN. Intestinal microvascular responsiveness to norepinephrine in chronic portal hypertension. *Am J Physiol.* 1991;260:H1135-H43.
65. Sieber CC, Groszmann RJ. In vitro hyporeactivity to methoxamine in portal hypertensive rats: reversal by nitric oxide blockade. *Am J Physiol.* 1992;262:G996-1001.
66. Sieber CC, Lopez-Talavera JC, Groszmann RJ. Role of nitric oxide in the in vitro splanchnic vascular hyporeactivity in ascitic cirrhotic rats. *Gastroenterology.* 1993;104:1750-4.
67. Chojkier M, Groszmann RJ. Measurement of portal-systemic shunting in the rat by using gamma-labeled microspheres. *Am J Physiol.* 1981;240:G371-5.
68. Theodorakis NG, Wang YN, Skill NJ, Metz MA, Cahill PA, Redmond EM, et al. The role of nitric oxide synthase isoforms in extrahepatic portal hypertension: studies in gene-knockout mice. *Gastroenterology.* 2003;124:1500-8.
69. Mosca P, Lee FY, Kaumann AJ, Groszmann RJ. Pharmacology of portal-systemic collaterals in portal hypertensive rats: role of endothelium. *Am J Physiol.* 1992;263:G544-G50.
70. Claria J, Jimenez W, Ros J, Rigol M, Angeli P, Arroyo V, et al. Increased nitric oxide-dependent vasorelaxation in aortic rings of cirrhotic rats with ascites [see comments]. *Hepatology.* 1994;20:1615-21.
71. Claria J, Jimenez W, Ros J, Asbert M, Castro A, Arroyo V, et al. Pathogenesis of arterial hypotension in cirrhotic rats with ascites: role of endogenous nitric oxide. *Hepatology.* 1992;15:343-9.
72. Ros J, Claria J, Jimenez W, Bosch-Marce M, Angeli P, Arroyo V, et al. Role of nitric oxide and prostacyclin in the control of renal perfusion in experimental cirrhosis. *Hepatology.* 1995;22:915-20.
73. Albillos A, Colombato LA, Groszmann RJ. Vasodilatation and sodium retention in prehepatic portal hypertension [see comments]. *Gastroenterology.* 1992;102:931-5.
74. Colombato LA, Albillos A, Groszmann RJ. The role of central blood volume in the development of sodium retention in portal hypertensive rats. *Gastroenterology.* 1996;110:193-8.
75. Schrier RW, Arroyo V, Bernardi M, Epstein M, Henriksen JH, Rodes J. Peripheral arterial vasodilation hypothesis: a proposal for the initiation of renal sodium and water retention in cirrhosis. *Hepatology.* 1988;8:1151-7.
76. Martinez-Prieto C, Ortiz MC, Fortepiani LA, Ruiz-Macia J, Atucha NM, Garcia-Estan J. Haemodynamic and renal evolution of the bile duct-ligated rat. *Clin Sci (Lond).* 2000;98:611-7.
77. Jimenez W, Martinez-Pardo A, Arroyo V, Bruix J, Rimola A, Gaya J, et al. Temporal relationship between hyperaldosteronism, sodium retention and ascites formation in rats with experimental cirrhosis. *Hepatology.* 1985;5:245-50.
78. Lopez C, Jimenez W, Arroyo V, Claria J, La Villa G, Asbert M, et al. Temporal relationship between the decrease in arterial pressure and sodium retention in conscious spontaneously hypertensive rats with carbon tetrachloride-induced cirrhosis. *Hepatology.* 1991;13:585-9.
79. Panes J, Casadevall M, Pique JM, Bosch J, Whittle BJ, Teres J. Effects of acute normovolemic anemia on gastric mucosal blood flow in rats: role of nitric oxide. *Gastroenterology.* 1992;103:407-13.
80. Panes J, Casadevall M, Fernandez M, Pique JM, Bosch J, Casamitjana R, et al. Gastric microcirculatory changes of portal-hypertensive rats can be attenuated by long-term estrogen-progestagen treatment. *Hepatology.* 1994;20:1261-70.
81. Fallon MB, Abrams GA, McGrath JW, Hou Z, Luo B. Common bile duct ligation in the rat: a model of intrapulmonary vasodilatation and hepatopulmonary syndrome. *Am J Physiol.* 1997;272:G779-G84.
82. Morales J, Moitinho E, Abralde JG, Fernandez M, Bosch J. Effects of the V1a vasopressin agonist F-180 on portal hypertension-related bleeding in portal hypertensive rats. *Hepatology.* 2003;38:1378-83.