

Enteropatía hipertensiva portal inflamatoria crónica en la rata

Fernando Sánchez-Patán^a, María Ángeles Aller^a, María Teresa Corcuera^b, Elena Vara^c, Isabel Casado^b, Fernando Gómez^b, Cruz García^c, María José Alonso^b y Jaime Arias^a

^aCátedra de Cirugía. Departamento de Cirugía I. Facultad de Medicina. Universidad Complutense. Madrid. España.

^bServicio de Anatomía Patológica. Hospital Carlos III. Madrid. España.

^cDepartamento de Bioquímica y Biología Molecular. Facultad de Medicina. Universidad Complutense. Madrid. España.

Resumen

Introducción. La enteropatía hipertensiva portal tendría naturaleza inflamatoria y cursaría con remodelación intestinal. Para demostrar esta hipótesis se realizó este trabajo.

Material y método. Ratas macho Wistar con hipertensión portal (HTP) por ligadura parcial de la vena porta, se han dividido en 4 grupos: grupo I (control; n = 9) y grupo II (HTP; n = 8), a los 3 meses de evolución; grupo III (control, n = 8) y grupo IV (HTP; n = 10) de 1 año de evolución. Se ha estudiado la densidad de células caliciformes duodenales y la concentración ileal de factor de necrosis tumoral (TNF) α , interleucina (IL)-1 β e IL-10 por una técnica de ELISA.

Resultados. A los 3 meses de evolución, en las ratas con HTP aumentaron el número de células caliciformes ($103,63 \pm 14,37$ frente a $99,42 \pm 9,19/1.000 \mu\text{m}^2$) y la concentración ileal de TNF α ($0,20 \pm 0,09$ frente a $0,08 \pm 0,02$ pmol/mg proteína) ($p < 0,05$) e IL-1 β ($0,40 \pm 0,21$ frente a $0,19 \pm 0,09$ pmol/mg proteína) y disminuyó ($p < 0,05$) la IL-10 ($0,06 \pm 0,02$ frente a $0,12 \pm 0,03$ pmol/mg proteína). En las ratas con HTP al año de evolución se observa una hiperplasia de células caliciformes en el intestino delgado ($172,79 \pm 40,46$ frente a $121,76 \pm 20,74/1.000 \mu\text{m}^2$) ($p < 0,01$), que se asocia con un aumento ($p < 0,05$) de las concentraciones ileales de TNF α ($0,37 \pm 0,18$ frente a $0,17 \pm 0,08$ pmol/mg proteína), IL-1 β ($0,28 \pm 0,14$ frente a

$0,205 \pm 0,05$ pmol/mg proteína) e IL-10 ($0,25 \pm 0,14$ frente a $0,20 \pm 0,11$ pmol/mg proteína).

Conclusiones. El incremento de TNF α e IL-1 β y la disminución de IL-10 en el intestino delgado de ratas con hipertensión portal prehepática crónica son indicativos de un proceso inflamatorio asociado a la hiperplasia de células caliciformes que sería la causa de la remodelación epitelial intestinal que ocurre a largo plazo en este modelo experimental.

Palabras clave: Hipertensión portal. Remodelación esplácica. Citocinas. Rata. Células caliciformes.

CHRONIC INFLAMMATORY PORTAL HYPERTENSIVE ENTEROPATHY IN THE RAT

Introduction. Experimental portal hypertensive enteropathy could have an inflammatory etiopathogenesis and, if so, it would produce intestinal remodeling. The aim of this study was to test this hypothesis.

Material and method. Male Wistar rats with portal hypertension (PHT) produced by partial portal vein ligation were divided into four groups: group I (control; n = 9), group II (PHT; n = 8) at 3 months after surgery, group III (control; n = 8), and group IV (PHT; n = 10) at 1 year after surgery. The density of duodenal goblet cells and ileal levels of tumor necrosis factor (TNF) α , interleukin (IL)-1 β , and IL-10 were studied using an ELISA method.

Results. At 3 months after surgery, rats with PHT showed an increase in the number of goblet cells in the small bowel (103.63 ± 14.37 vs $99.42 \pm 19.19/1,000 \mu\text{m}^2$). This change was associated with an increase ($p < 0.05$) in ileal levels of TNF α (0.20 ± 0.09 vs 0.08 ± 0.02 pmol/mg protein), and IL-1 β (0.40 ± 0.21 vs 0.19 ± 0.09 pmol/mg protein), as well as with a decrease ($p < 0.05$) in ileal IL-10 levels (0.06 ± 0.02 vs 0.12 ± 0.03 pmol/mg protein). At 1 year after surgery, rats with PHT showed hyperplasia of goblet cells in the small bowel (172.79 ± 40.46 vs $121.76 \pm 20.74 /1,000 \mu\text{m}^2$) ($p < 0.01$), associated with an increase in ileal levels of

Trabajo realizado mediante ayudas de la Consejería de Sanidad. Junta de Comunidades de Castilla-La Mancha (Ref. N.º 01011 y 04047-00).

Correspondencia: Dra. M.A. Aller.
Cátedra de Cirugía. Facultad de Medicina. Universidad Complutense.
Pza. de Ramón y Cajal, s/n. 28040 Madrid. España.
Correo electrónico: maaller@med.ucm.es

Manuscrito recibido el 20-3-2006 y aceptado el 25-4-2006.

TNF α (0.37 ± 0.18 vs 0.17 ± 0.08 pmol/mg protein) ($p < 0.05$), IL-1 β (0.28 ± 0.14 vs 0.205 ± 0.05 pmol/mg protein), and IL-10 (0.25 ± 0.14 vs 0.20 ± 0.11 pmol/mg protein).

Conclusions. The increase in TNF α and IL-1 β levels and the decrease in IL-10 level in the small bowel in rats with chronic prehepatic PHT suggest the existence of an inflammatory process related to goblet cell hyperplasia. This inflammation could be responsible for the intestinal epithelial remodeling that occurs in the long term in this experimental model.

Key words: Portal hypertension. Splanchnic remodeling. Cytokines. Rat. Goblet cells.

Introducción

Las alteraciones intestinales que se producen en la hipertensión portal son principalmente vasculares, con aumento del número y el tamaño de los vasos mucosos y submucosos, y por esta razón se ha propuesto la denominación de "vasculopatía intestinal hipertensiva portal"¹. Sin embargo, también se ha descrito la asociación de inflamación inespecífica con estas alteraciones vasculares²⁻⁴. Así, el intestino presenta un infiltrado inflamatorio crónico constituido por células mononucleares y se asocia con atrofia de las vellosidades, edema de la lámina propia, proliferación muscular y engrosamiento de la muscularis mucosa^{2,4}.

En ratas con hipertensión portal prehepática, la vasculopatía intestinal se asocia con incremento de la infiltración de la mucosa y submucosa por células cebadas^{5,6}. Por esta razón, se ha propuesto que la enteropatía hipertensiva portal experimental podría tener naturaleza inflamatoria mediada por las células cebadas, cuyos mediadores estarían implicados en su fisiopatología⁵⁻⁷. En este supuesto, las alteraciones estructurales que se producen a largo plazo en esta enteropatía se corresponderían con un proceso de remodelación de características similares al que se describe en otros procesos inflamatorios crónicos⁸.

Para demostrar la existencia de alteraciones estructurales intestinales, así como su relación con mediadores de la inflamación, en la enteropatía hipertensiva portal crónica, se determinaron la densidad de células calcificiformes y las concentraciones de factor de necrosis tumoral (TNF) α , interleucina (IL)-1 β e IL-10 en el intestino delgado de ratas con triple ligadura parcial de la vena porta (TLPP) a los 3 meses y 1 año de evolución postoperatoria.

Material y método

Se utilizaron ratas macho de la cepa Wistar procedentes del Animario de la Facultad de Medicina de la Universidad Complutense de Madrid con pesos corporales que oscilaron entre 250 y 300 g.

El procedimiento experimental empleado en este estudio se efectuó según los principios para el cuidado y la utilización de los animales de experimentación, publicados en España en el RD 1202/2005.

Para su estudio, los animales fueron divididos en 4 grupos: 2 grupos control de 3 meses ($n = 9$) y 1 año ($n = 8$) de evolución (grupos I y III, respectivamente), y 2 grupos con hipertensión portal (HTP) prehepática

por TLPP de 3 meses ($n = 8$) y 1 año ($n = 10$) de evolución (grupos II y IV, respectivamente).

Todos los animales fueron sacrificados por sobredosis de tiopental sódico una vez concluido el tiempo de evolución previsto para cada grupo.

Técnica quirúrgica de hipertensión portal

Se anestesió a las ratas con ketamina (80 mg/kg) y xilacina (12 mg/kg) por vía intramuscular. Se realizó una laparotomía media, desplazando las asas intestinales y el estómago a la izquierda del animal, y los lóbulos hepáticos medio y lateral izquierdo en sentido craneal mediante una torunda de algodón subdiafragmática. A continuación, se disecó el tramo de vena porta comprendido entre el drenaje de la vena gastroduodenal y el hilio hepático. Para realizar la TLPP se fijaron 3 ligaduras de seda 4/0 a una guía Silastic con 3 muescas, cuya finalidad es mantenerlas equidistantes. Las estenosis fueron calibradas por ligadura simultánea alrededor de la vena porta y de un catéter 20 G, que posteriormente se retiró con el fin de permitir la reexpansión parcial de la vena porta hasta ese calibre conocido (20 G; 1,2 mm de diámetro externo). La laparotomía se cerró en dos planos con catgut y seda 2/0⁹.

Estudio histológico intestinal

En todos los animales se resecó la segunda porción del duodeno, proximalmente al drenaje del colédoco. El duodeno fue perfundido intraluminalmente con suero salino. Posteriormente, las muestras fueron fijadas con formol al 10%, deshidratadas e incluidas en parafina. Secciones de 5 μ m perpendiculares a la luz intestinal fueron teñidas con hematoxilina-eosina, visualizadas con un microscopio digital (Leica DM 5000B) y las imágenes obtenidas fueron valoradas con un sistema de análisis de imagen (Qwin, Leica Microsystems). En todas las muestras se cuantificó el número de células calcificiformes en un área de, al menos, 150.000 μ m², y el resultado se expresó como número de células calcificiformes/1.000 μ m² de epitelio glandular.

Preparación de homogeneizados intestinales

Las muestras de íleon se congelaron inmediatamente tras su extracción y se introdujeron en tubos de polipropileno (Falcon; Becton Dickinson, Lincoln Park, Estados Unidos) que contenían tampón de lisis a 4 °C (10 ml de tampón/g de tejido). El tampón de lisis contiene feniltiolsulfonil flúor (PMSF; Sigma Chemical Company), pepstatina A 1 μ g/ml (Sigma Chemical Company), aprotinina (Sigma Chemical Company), antipaina (Sigma Chemical Company) y leucepeptina en tampón fosfato a pH 7,2 con el 0,05% de azida sódica. Las muestras se homogeneizaron 3 veces durante 30 s con un homogeneizador eléctrico (Polytron; Brinkmann Instruments, Westminister, Estados Unidos) a máxima velocidad, y se midió el volumen final de homogeneizado con una pipeta graduada. A continuación, se centrifugaron a 3.000 g, y se congeló el sobrenadante a -80 °C para permitir la formación de agregados macromoleculares.

Citocinas intestinales

Se midió las concentraciones de TNF α , IL-1 β e IL-10 en íleon mediante una técnica de ELISA utilizando kits comerciales específicos para rata (BioNOVA Científica Ltd., Madrid, España). La concentración mínima detectable de TNF α es de 0,5 pg/ml. El rango de variación intraensayo oscila entre el 3,1% (mínimo de la curva estándar) y el 4,2% (máximo), con una variabilidad entre ensayos del 5,2 al 5,6%. La concentración mínima detectable de IL-1 β es de 1,5 pg/ml. El rango de variación intraensayo oscila entre el 3,5% (mínimo de la curva estándar) y el 4,3% (máximo), con una variabilidad entre ensayos del 6,1 al 7,4%. La concentración mínima detectable de IL-10 es de 2,5 pg/ml. El rango de variación intraensayo oscila entre el 4,2% (mínimo de la curva estándar) y el 7,5% (máximo), con una variabilidad entre ensayos del 5,8 al 9,3%.

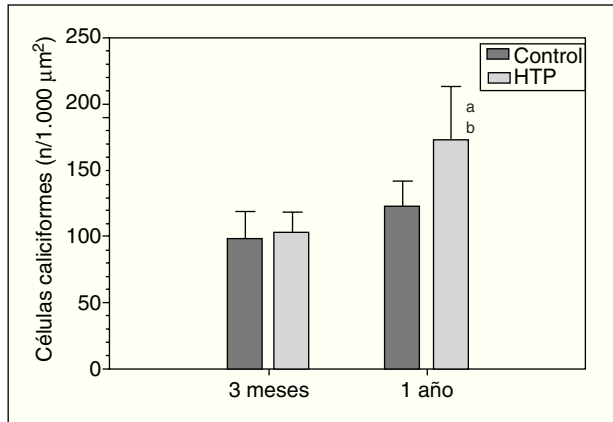


Fig. 1. Número de células caliciformes/1.000 μm^2 de epitelio glandular en el duodeno de los animales de los grupos I (control) y II (hipertensión portal; HTP) a los 3 meses de evolución, y en los grupos III (control) y IV (HTP) al año de evolución.

^a $p < 0,01$; diferencia estadísticamente significativa respecto de su grupo control.

^b $p < 0,001$; diferencia estadísticamente significativa respecto del grupo II.

Análisis estadístico

Los resultados se expresan como la media \pm desviación estándar (DE). El análisis de la varianza (ANOVA) y el test de Duncan para contrastes *a posteriori* fueron utilizados para comparar las variables entre los diferentes grupos. Los resultados se consideran estadísticamente significativos si $p < 0,05$.

Resultados

Células caliciformes intestinales

Hay un aumento progresivo del número de células caliciformes duodenales en las ratas con HTP (grupos II y IV) respecto de sus controles (grupos I y III, respectivamente), tanto a los 3 meses ($103,63 \pm 14,37$ frente a $99,42 \pm 19,19$ células caliciformes/1.000 μm^2) como al año ($172,79 \pm 40,46$ frente a $121,76 \pm 20,74$ células caliciformes/1.000 μm^2) de evolución, si bien esta diferencia sólo es estadísticamente significativa al año de evolución ($p < 0,01$) (fig. 1).

Citocinas intestinales

En los animales con HTP por TLPP (grupos II y IV), se observa un aumento ($p < 0,05$) de las concentraciones ileales de $\text{TNF}\alpha$ respecto de los animales control (grupos I y III), tanto a los 3 meses ($0,20 \pm 0,09$ frente a $0,08 \pm 0,02$ pmol/mg proteína) ($p < 0,05$) como al año ($0,37 \pm 0,18$ frente a $0,17 \pm 0,08$ pmol/mg proteína) ($p < 0,05$) de evolución (fig. 2).

Se comprueba que también hay un aumento de la concentración ileal de $\text{IL-1}\beta$ en ratas con HTP, tanto a los 3 meses (grupo II) ($0,40 \pm 0,21$ frente a $0,19 \pm 0,09$ pmol/mg proteína) como al año (grupo IV) ($0,28 \pm 0,14$ frente a $0,205 \pm 0,05$ pmol/mg proteína) de evolución, con

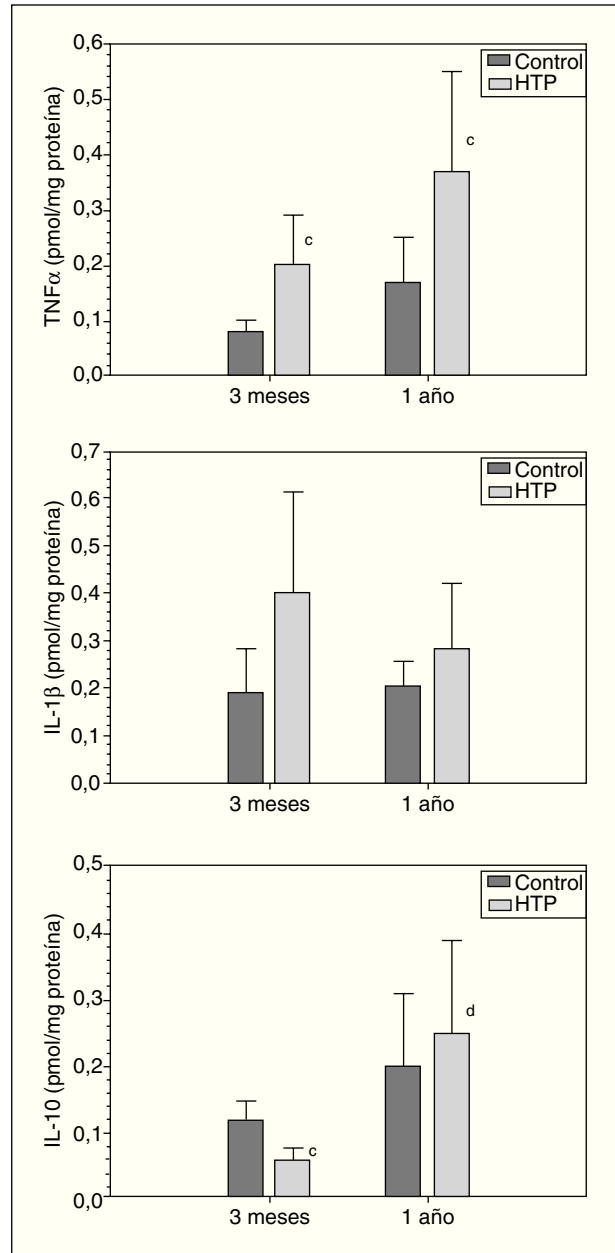


Fig. 2. Concentración ileal de $\text{TNF}\alpha$, $\text{IL-1}\beta$ e IL-10 en ratas control y con hipertensión portal (HTP) a los 3 meses (grupos I y II, respectivamente) y al año de evolución postoperatoria (grupos III y IV, respectivamente).

^c $p < 0,05$; diferencia estadísticamente significativa respecto de su grupo control.

^d $p < 0,01$; diferencia estadísticamente significativa respecto del grupo II.

respecto a sus grupos control (grupos I y III, respectivamente).

Asimismo, se ha podido comprobar una disminución ($p < 0,05$) de la concentración ileal de IL-10 en ratas con HTP a los 3 meses de evolución (grupo II) con respecto a su grupo control (grupo I) ($0,06 \pm 0,02$ frente a $0,12 \pm 0,03$ pmol/mg proteína), mientras que en los animales con HTP, al año de evolución (grupo IV), aumenta ($0,25 \pm$

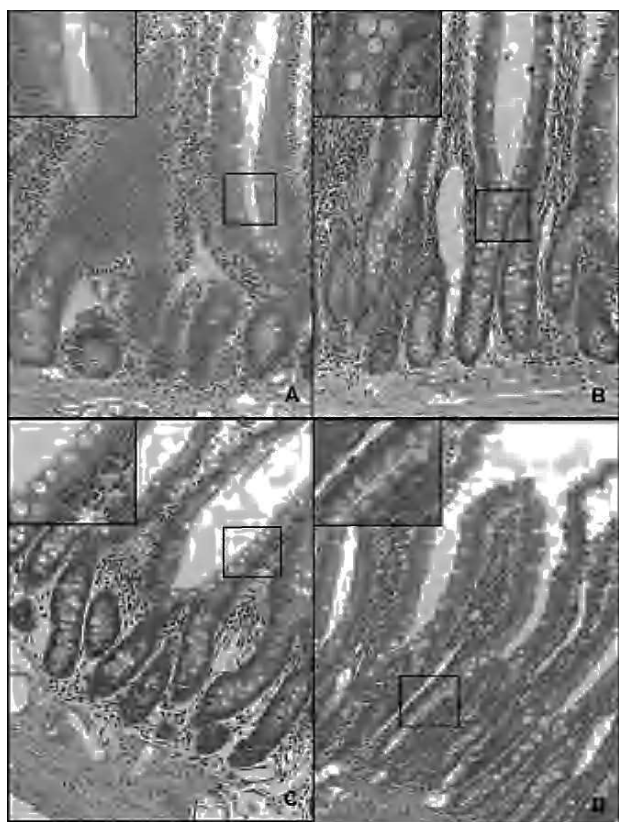


Fig. 3. Microfotografía de una sección duodenal en la rata (hematoxilina-eosina, $\times 20$). A. Control a los 3 meses de evolución (grupo I). B. Hipertensión portal a los 3 meses de evolución (grupo II). C. Control al año de evolución (grupo III). D. Hipertensión portal al año de evolución (grupo IV).

Se observa un aumento de la infiltración de la mucosa por células caliciformes en los animales con hipertensión portal (B y D) respecto de las ratas control (A y C, respectivamente), especialmente al año de evolución (D).

0,14 frente a $0,20 \pm 0,11$ pmol/mg proteína) respecto de su control (grupo III) (fig. 2).

La diferencia entre las concentraciones ileales de IL-10 que se aprecia en los animales con HTP a los 12 meses (grupo IV) y a los 3 meses de evolución (grupo II) ($0,25 \pm 0,14$ frente a $0,06 \pm 0,02$ pmol/mg proteína) es estadísticamente significativa ($p < 0,01$).

Discusión

La hiperplasia intestinal de células caliciformes (fig. 3) asociada al incremento de las concentraciones de TNF α e IL-1 β en ratas con HTP prehepática crónica indica un proceso inflamatorio crónico que induciría la remodelación epitelial del intestino delgado.

La naturaleza inflamatoria de la enteropatía hipertensiva portal experimental se ha propuesto por el hallazgo de hiperplasia de células cebadas en el intestino delgado y ganglios linfáticos mesentéricos de ratas con HTP^{5,6}. Las células cebadas tienen la capacidad de almacenar TNF α y, por lo tanto, esta citocina puede ser liberada espontáneamente tras su activación¹⁰. En particular, la trasloca-

ción bacteriana intestinal podría ser el estímulo apropiado para causar la liberación de mediadores proinflamatorios por las células cebadas de la mucosa y submucosa intestinal, así como de los ganglios linfáticos mesentéricos en las ratas con hipertensión portal prehepática, tanto a corto¹¹ como a largo plazo¹².

El incremento intestinal de TNF α en ratas con HTP también causaría incremento de la síntesis de óxido nítrico (NO) y prostaciclina; estos mediadores proinflamatorios parcialmente son la causa de la vasodilatación mesentérica y, por lo tanto, del síndrome de circulación hiperdinámica que caracteriza la evolución de este modelo experimental^{13,14}. Así, la inhibición de la síntesis de TNF α por talidomida o anticuerpo policlonal anti-TNF α reduce la síntesis de NO y bloquea el desarrollo de la circulación hiperdinámica¹³⁻¹⁵. La respuesta biológica de TNF α , a su vez, se amplifica por la liberación secundaria de otras citocinas proinflamatorias como IL-1 β , así como por NO^{16,17}.

El incremento de la producción intestinal de TNF α en ratas con HTP de 3 meses de evolución se asocia¹² con el incremento portal de las concentraciones de NO y CO. En particular, la actividad de la sintasa inducible de NO (iNOs) puede ser aumentada por lipopolisacárido y citocinas proinflamatorias¹⁸, factores que, a su vez, estarían aumentados en este modelo experimental de hipertensión portal¹⁹⁻²¹.

Otros mediadores inflamatorios producidos por las células cebadas, como histamina y oxidantes, también podrían colaborar en la instauración de la traslocación bacteriana intestinal, ya que aumentan la permeabilidad epitelial^{22,23}. Aunque el mecanismo de la traslocación bacteriana en la hipertensión prehepática crónica se desconoce, se ha propuesto que la hipoxemia crónica de la mucosa intestinal secundaria a la congestión vascular sería un importante factor etiológico, ya que produciría lesión por estrés oxidativo de los enterocitos^{24,25}. Avala esta hipótesis el efecto beneficioso que se obtiene con los tratamientos con alopurinol o vitaminas E y C, conocidos antioxidantes, en la hipertensión portal crónica. Estos antioxidantes atenúan la incidencia de traslocación bacteriana, aunque haya sobrecrecimiento bacteriano intestinal²⁴⁻²⁶.

El incremento de las células caliciformes en la mucosa intestinal de las ratas con hipertensión portal crónica es una alteración estructural significativa. Se considera que la hiperplasia de células caliciformes con hipersecreción de moco es una alteración propia de la remodelación epitelial del tracto respiratorio en procesos inflamatorios crónicos, como son el asma y la enfermedad pulmonar obstructiva crónica^{8,27,28}. Este mismo sentido se podría atribuir a la hiperplasia de células caliciformes en la hipertensión portal prehepática experimental crónica²⁹. En este supuesto, la respuesta hiperplásica de las células caliciformes, en tanto que signo de remodelación epitelial intestinal, podría estar mediada por el estímulo luminal que supone la alteración de la flora intestinal, así como por mediadores inflamatorios endógenos³⁰.

Se cree que en el intestino sano hay un delicado equilibrio para regular los estímulos proinflamatorios y antiinflamatorios de manera que se produzca la inflamación justa y necesaria para controlar una potencial agresión

microbiana sin causar lesión de la barrera epitelial³¹. Entre los mecanismos que posee el intestino para efectuar eficazmente este control destaca la producción de una capa adherente de moco que ejerce funciones citoprotectoras, ya que contiene factores (*trefoil factor family*, TFF) que modulan la inflamación producida por el TNF α porque antagonizan sus efectos³¹⁻³³. En este sentido, la hiperplasia de células caliciformes y la consiguiente hipersecreción de moco tendría un carácter defensivo del epitelio y modulador de la inflamación intestinal en las ratas con HTP.

En la hipertensión portal prehepática experimental, la hiperplasia de células caliciformes en el intestino delgado también reflejaría una alteración de la proliferación y la diferenciación en el eje cripta/vellosidad³⁴. En particular, se ha descrito que la inhibición de la vía Notch con inhibidores gammasecretasa potenciarían la expresión del epitelio secretor, e incluso inducirían la diferenciación de células caliciformes en adenomas³⁵.

Se considera que la inflamación mucosa intestinal puede ser mediada por 2 vías, bien por una respuesta excesiva celular TH₁, con aumento de la secreción de IL-12, interferón (IFN) γ y TNF α , o bien por la excesiva respuesta celular TH₂, que se asociaría con aumento de la secreción de IL-4, IL-5 e IL-13³³. En un modelo experimental de cirrosis se ha demostrado que se produce una polarización inflamatoria de tipo TH₁, estableciéndose una cascada inflamatoria que se iniciaría con la hiperproducción de IL-12 e IL-18 por monocitos, que a su vez activarían la hiperproducción por células T de IFN γ . Por último, IFN γ estimularía la síntesis y la liberación de TNF α por monocitos³⁶.

Sin embargo, en el modelo experimental de HTP prehepática por TLPP las alteraciones histológicas^{5-7,29} y bioquímicas^{7,11,12} que se producen indican el predominio de una respuesta inflamatoria intestinal de tipo TH₂, quizá mediada por células cebadas. En este caso, entre las consecuencias a largo plazo de la respuesta inflamatoria destacaría la remodelación esplácnica²⁹, tanto epitelial, con hiperplasia de células caliciformes (figs. 1 y 3), como vascular, con exacerbada angiogénesis, que sería la causa tanto de la vasculopatía intestinal hipertensiva portal⁵ como del desarrollo de circulación colateral portosistémica³⁷.

Bibliografía

- Viggiano TR, Gostout CJ. Portal hypertensive intestinal vasculopathy: a review of the clinical, endoscopic, and histopathologic features. *Am J Gastroenterol*. 1992;87:944-54.
- Nagral AS, Joshi AS, Bhatia SJ, Abraham P, Mistry FP, Vora IM. Congestive jejuno-portal hypertension in portal hypertension. *Gut*. 1993;34:694-7.
- Bayraktar Y, Balkanci F, Uzunalioglu B, Gokoz A, Koseoglu T, Batman F, et al. Is portal hypertension due to liver cirrhosis a major factor in the development of portal hypertensive gastropathy? *Am J Gastroenterol*. 1996;91:554-8.
- Misra V, Misra SP, Dwivedi M, Gupta SC. Histomorphometric study of portal hypertensive enteropathy. *Am J Clin Pathol*. 1997;108:652-7.
- Díez-Arias JA, Aller MA, Palma MD, Arias JL, Muniz E, Sanchez M, et al. Increased duodenal mucosa infiltration by mast cells in rats with portal hypertension. *Dig Surg*. 2001;18:34-40.
- Prieto I, Aller MA, Santamaría L, Nava MP, Madero R, Perez-Robledo JP, et al. Prehepatic portal hypertension produces increased mast cell density in the small bowel and in mesenteric lymph nodes in the rat. *J Gastroenterol Hepatol*. 2005;20:1025-31.
- Aller MA, Nava MP, López L, Méndez M, Méndez-López M, Arias JL, et al. Hipertensión portal clínica y experimental. *Col. Línea 300*, vol. 23. Madrid: Editorial Complutense; 2005. p. 1-148.
- Davies DE, Wicks J, Powell RM, Puddicombe SM, Holgate ST. Airway remodeling in asthma: new insights. *J Allergy Clin Immunol*. 2003;111:215-25.
- Monterde G, Rodríguez-Fabian G, Vara E, López L, Arias J, Aller MA, et al. Increased plasma levels of corticosterone and prolactin and decreased T3 and T4 levels in short-term prehepatic portal hypertension in rats. *Dig Dis Sci*. 2000;45:1865-71.
- Gordon JR, Galli SJ. Mast cells as a source of both preformed and immunologically inducible TNF- α /cachectin. *Nature*. 1990;346:274-6.
- Aller MA, Vara E, García C, Palma MD, Arias JL, Nava MP, et al. Proinflammatory liver and antiinflammatory intestinal mediators involved in portal hypertensive rats. *Mediators Inflamm*. 2005;2:101-11.
- Palma MD, Aller MA, Vara E, Nava MP, García C, Arias-Díaz J, et al. Portal hypertension produces an evolutive hepato-intestinal pro- and anti-inflammatory response in the rat. *Cytokine*. 2005;31:213-26.
- López-Talavera JC, Merrill WW, Groszmann RJ. Tumor necrosis factor alpha: a major contributor to the hyperdynamic circulation in prehepatic portal-hypertensive rats. *Gastroenterology*. 1995;108:761-7.
- Muñoz J, Albillos A, Perez-Paramo M, Rossi I, Alvarez-Mon M. Factors mediating the hemodynamic effects of tumor necrosis factor-alpha in portal hypertensive rats. *Am J Physiol*. 1999;276:G687-93.
- López-Talavera JC, Cadelina G, Olchowski J, Merrill W, Groszmann RJ. Thalidomide inhibits tumor necrosis factor alpha, decreases nitric oxide synthesis, and ameliorates the hyperdynamic circulatory syndrome in portal-hypertensive rats. *Hepatology*. 1996;23:1616-21.
- Kelley J. Cytokines of the lung. *Am Rev Respir Dis*. 1990;141:765-88.
- Kilbourn RG, Belloni P. Endothelial cell production of nitrogen oxides in response to interferon gamma in combination with tumor necrosis factor, interleukin-1, or endotoxin. *J Natl Cancer Inst*. 1990;82:772-6.
- Sogni P, Moreau R, Gadano A, Lebrec D. The role of nitric oxide in the hyperdynamic circulatory syndrome associated with portal hypertension. *J Hepatol*. 1995;23:218-24.
- García-Tsao G, Albillos A, Barden GE, West AB. Bacterial translocation in acute and chronic portal hypertension. *Hepatology*. 1993;17:1081-5.
- Sorell WT, Quigley EM, Jin G, Johnson TJ, Rikkers LF. Bacterial translocation in the portal-hypertensive rat: studies in basal conditions and on exposure to hemorrhagic shock. *Gastroenterology*. 1993;104:1722-6.
- Schimpl G, Pabst MA, Feierl G, Kuesz A, Ozbey H, Takahashi S, et al. A tungsten supplemented diet attenuates bacterial translocation in chronic portal hypertensive and cholestatic rats: role of xanthine dehydrogenase and xanthine oxidase. *Gut*. 1999;45:904-10.
- Kanwar S, Wallace JL, Befus D, Kubes P. Nitric oxide synthesis inhibition increases epithelial permeability via mast cells. *Am J Physiol*. 1994;266:G222-9.
- Welle M. Development, significance, and heterogeneity of mast cells with particular regard to the mast cell-specific proteases chymase and tryptase. *J Leukoc Biol*. 1997;61:233-45.
- Schimpl G, Pesendorfer P, Steinwender G, Feierl G, Ratschek M, Hollwarth ME. Allopurinol reduces bacterial translocation, intestinal mucosal lipid peroxidation, and neutrophil-derived myeloperoxidase activity in chronic portal hypertensive and common bile duct-ligated growing rats. *Pediatr Res*. 1996;40:422-8.
- Schimpl G, Pesendorfer P, Steinwender G, Feierl G, Ratschek M, Hollwarth ME. Allopurinol and glutamine attenuate bacterial translocation in chronic portal hypertensive and common bile duct ligated growing rats. *Gut*. 1996;39:48-53.
- Schimpl G, Pesendorfer P, Steinwender G, Feierl G, Ratschek M, Hollwarth ME. The effect of vitamin C and vitamin E supplementation on bacterial translocation in chronic portal hypertensive and common-bile-duct-ligated rats. *Eur Surg Res*. 1997;29:187-94.
- Fahy JV. Remodeling of the airway epithelium in asthma. *Am J Respir Crit Care Med*. 2001;164:S46-51.
- Chung KF. Cytokines in chronic obstructive pulmonary disease. *Eur Respir J (Suppl)*. 2001;34:50S-59S.
- Corcuera Pindado MT, Nava Hidalgo MP, Angulo Burgos A, Aller Reyero MA, Gomez Aguado F, Casado Farinas I, et al. Splanchnic remodeling secondary to experimental prehepatic portal hypertension. *An Med Int*. 2005;22:317-22.
- Deplancke B, Gaskins HR. Microbial modulation of innate defense: goblet cells and the intestinal mucus layer. *Am J Clin Nutr*. 2001;73:1131S-41S.

31. Barrett KE. A new twist on trefoils. Focus on TFF3 modulates NF- κ B and a novel regulatory molecule of NF- κ B in intestinal epithelial cells via a mechanism distinct from TNF- α . *Am J Physiol Cell Physiol*. 2005;289:C1069-71.
32. Zhu YQ, Tan XD. TFF3 modulates NF- κ B and a novel negative regulatory molecule of NF- κ B in intestinal epithelial cells via a mechanism distinct from TNF- α . *Am J Physiol Cell Physiol*. 2005;289:C1085-93.
33. Playford RJ, Ghosh S. Cytokines and growth factor modulators in intestinal inflammation and repair. *J Pathol*. 2005;205:417-25.
34. Bjerknes M, Cheng H. Gastrointestinal stem cells. II. Intestinal stem cells. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 2005;289:G381-7.
35. Van Es JH, Van Gijn ME, Riccio O, Van den Born M, Vooijs M, Begthel H, et al. Notch/gamma-secretase inhibition turns proliferative cells in intestinal crypts and adenomas into goblet cells. *Nature*. 2005;435:959-63.
36. Muñoz L, Albillos A, Nieto M, Reyes E, Lledo L, Monserrat J, et al. Mesenteric Th1 polarization and monocyte TNF-alpha production: first steps to systemic inflammation in rats with cirrhosis. *Hepatology*. 2005;42:411-9.
37. Fernández M, Vizzutti F, García-Pagán 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.