

## Prostaglandinas séricas y urinarias en ratas cirróticas no ascíticas

J. C. SANTOS, D. RODRIGUEZ PUYOL, A. BLANCHART, G. ARRIBA, L. HERNANDO y J. M. LOPEZ NOVOA.

Laboratorio de Fisiopatología Renal. Departamento de Nefrología. Fundación Jiménez Díaz. Avda. Reyes Católicos, 2. 28040 Madrid.

### RESUMEN

En el momento actual no se conoce con precisión el papel jugado por las prostaglandinas (PG) en las alteraciones hemodinámicas y funcionales renales que se observan en los estadios iniciales de la cirrosis hepática. Para analizar este problema se estudiaron las concentraciones plasmáticas de 6-Keto-PGF<sub>1α</sub> y TxB<sub>2</sub> y las excreciones urinarias de PGE<sub>2</sub> y PGF<sub>2α</sub> en ratas cirróticas no ascíticas en condiciones basales. Los animales cirróticos fueron clasificados, según la respuesta ante una sobrecarga salina aguda (5 mmol. de Na<sup>+</sup> intragástricos) en cirróticos no retenedores (CNR) y cirróticos retenedores (CR). Las ratas CR mostraron unas concentraciones plasmáticas elevadas de 6-Keto-PGF<sub>1α</sub> y las CNR disminuidas con respecto a los controles. Los niveles de TxB<sub>2</sub>, así como las excreciones urinarias de PGE<sub>2</sub> y PGF<sub>2α</sub>, fueron menores en ambos grupos de animales cirróticos que en los controles. No hubo diferencias significativas en la diuresis, excreciones urinarias de Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>, Cl<sup>-</sup>, creatinina y aldosterona y concentraciones plasmáticas de renina y aldosterona entre los distintos grupos estudiados. Estos resultados sugieren que puede existir una cierta relación entre unos niveles elevados de PGI<sub>2</sub> (cuyo metabolito fundamental es la 6-Keto-PGF<sub>1α</sub>) y la vasodilatación asociada a la cirrosis, sobre todo a partir de determinados estadios de enfermedad. Además, una cierta incapacidad para sintetizar PG natriuréticas (PGE<sub>2</sub>), observada ya en condiciones basales, puede jugar algún papel en la retención hidroelectrolítica observada en la cirrosis.

**Palabras clave:** Cianosis experimental. Natriuresis. Prostaglandinas. Renina. Aldosterona.

### SUMMARY

#### SERUM AND URINARY PROSTAGLANDINS IN NON-ASCITIC, CIRRHOTIC RATS

Cirrhotic patients show hemodynamic and renal function disturbances but the mechanisms responsible for these alterations are not yet completely known. Prostaglandins (PG) have been proposed as possible mediators of these disturbances by some authors. However, most of the information about this problem has been obtained in cirrhotic patients with ascites. The present study was performed in order to analyze the role of PG in the hemodynamic and renal changes found in the early stages of hepatic cirrhosis.

Cirrhotic (phenobarbital + CCl<sub>4</sub>) non-ascitic rats were classified in Na<sup>+</sup> non-retaining (CNR) and retaining (CR) animals according to the response to an acute intragastric sodium overload test (5 mmol Na<sup>+</sup>). Rats with the same treatment which developed hepatitis (H) but not cirrhosis were also studied. Rats drinking phenobarbital (NF) were used as controls. Daily urinary flow, Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>, Cl<sup>-</sup>, creatinine, aldosterone, PGE<sub>2</sub> and PGF<sub>2α</sub> excretion and plasma concentrations of renin, aldosterone, 6-Keto-PGF<sub>1α</sub> and TxB<sub>2</sub> were determined in basal conditions.

Compared with NF, CR rats showed higher 6-Keto-PGF<sub>1α</sub> plasma levels, whereas CNR showed lower levels of 6-Keto-PGF<sub>1α</sub>. Plasma TxB<sub>2</sub> concentrations and

urinary excretion of PGE<sub>2</sub> and PGF<sub>2α</sub> were decreased in both groups of cirrhotic animals with respect to NF. There were no differences in diuresis, urinary electrolytes, creatinine and aldosterone excretion and plasma concentrations of renin and aldosterone between the 3 groups studied.

Results suggest a possible contribution of high plasma PGI<sub>2</sub> levels to the decreased vascular resistances found in cirrhosis, mainly in rats being unable to excrete adequately a Na<sup>+</sup> overload. A decreased basal production of vasodilating PG (PGE<sub>2</sub>) could contribute to the deranged Na<sup>+</sup> homeostasis shown by these cirrhotic rats.

**Key words:** Experimental cirrhosis. Natriuresis. Prostaglandins. Renin. Aldosterone.

## INTRODUCCION

La cirrosis hepática se asocia, en determinados estadios, a alteraciones hemodinámicas y funcionales renales, incluyendo hipertensión portal, vasodilatación periférica, retención hidroelectrolítica e incluso fracaso renal funcional<sup>1-3</sup>. Dentro de los sistemas neurohumorales considerados responsables de estas alteraciones, han recibido especial atención el sistema renina-angiotensina-aldosterona (SRAA)<sup>4,5</sup> y el sistema nervioso simpático<sup>6,7</sup>.

En los pacientes cirróticos, la utilización de antiinflamatorios no-esteroides determina un empeoramiento de la función renal<sup>8,9</sup>. Mediciones de la excreción urinaria de prostaglandina (PG) E<sub>2</sub> han puesto en evidencia niveles elevados de esta PG natriurética en pacientes cirróticos con ascitis y función renal normal, disminuyendo su excreción con el deterioro de la función renal<sup>9-11</sup>. Es por ello que se ha sugerido que la PGE<sub>2</sub> podría actuar como mecanismo compensatorio de respuesta ante la elevación de sustancias antinatriuréticas y vasoconstrictoras<sup>11</sup>. ZIPSER y cols. han sugerido que unos niveles urinarios elevados de tromboxano (Tx) A<sub>2</sub> podrían jugar un papel importante en la génesis del síndrome hepatorenal<sup>12</sup>.

Todos estos estudios, realizados en humanos, son de difícil interpretación. Desde el punto de vista de la hemodinámica y de la función renal, las poblaciones de pacientes cirróticos resultan muy heterogéneas. Además, los pacientes cirróticos suelen ser vistos en la clínica habitual con un grado avanzado de enfermedad. Por ello se planteó el estudio de las PG en un modelo de cirrosis hepática experimental en estadios precoces de la enfermedad, cuando todavía no existe ascitis<sup>13</sup>.

## MATERIAL Y METODOS

La cirrosis hepática experimental fue inducida en ratas Wistar macho, con un peso aproximado de 150 g. por administración combinada de fenobarbital y CCl<sub>4</sub><sup>14</sup>. Como controles se utilizaron ratas macho de peso similar, unas bebiendo crónicamente fenobarbital (NF) y otras recibiendo además CCl<sub>4</sub>, pero sin lesiones histológicas de cirrosis (H). Durante la semana previa a las experiencias, los animales no fueron expuestos al CCl<sub>4</sub> ni al fenobarbital.

Los animales cirróticos y los NF fueron sometidos a una sobrecarga salina aguda (5 mmol. de Na<sup>+</sup> en 1 min.), a través de una sonda intragástrica colocada bajo ligera anestesia con éter.

A continuación fueron alojados en cajas metabólicas individuales, con acceso libre al agua, recogiendo orina durante un período de 24 h. Se determinó la concentración de Na<sup>+</sup> en orina mediante un método automático (ASTRA IV, Beckmann), calculándose el porcentaje de eliminación de Na<sup>+</sup>: Los animales cirróticos fueron divididos en 2 grupos: cirróticos no retenedores de Na<sup>+</sup> (CNR; % excreción: 90,9 ± 8,5; x ± DE) y cirróticos retenedores (CR; % excreción: 31,7 ± 20,7), en función del porcentaje de excreción de los controles (96,9 ± 8,4).

Diez ratas NF, 6 H, 6 CNR y 6 CR fueron introducidas en cajas metabólicas individuales, donde recibieron agua desionizada *ad libitum* y una cantidad fija de comida (10 g.) conteniendo 0,03 mmol. g.<sup>-1</sup> de Na<sup>+</sup>. Tras un período de adaptación de 5 días, se recogió orina de 48 h. en pequeños viales que se cambiaban frecuentemente, manteniéndolos a 4° C. Finalizado el período de balance, las orinas de cada animal fueron mezcladas, separadas en alícuotas y almacenadas a -20° C hasta el momento de su análisis; además, se obtuvo sangre por punción aórtica, previa ligera anestesia con éter, en 2 tubos diferentes (3 ml/tubo), manteniéndolos en frío y conteniendo, respectivamente, etilendiamino tetraacético (EDTA; 5 mM concentración final) para determinación de renina y aldosterona y EDTA más indometacina (5 mM y 10<sup>-5</sup> M de concentraciones finales respectivas) para determinación de PG. Las sangres fueron centrifugadas (3.000 r.p.m., 15 min., 4° C) y los plasmas separados y almacenados a -20° C hasta el momento de su análisis. Los períodos de almacenamiento nunca fueron superiores a 15 días. En todos los animales se obtuvieron muestras de tejido hepático, siendo imprescindible la confirmación de una hepatitis grado III-IV (grupo H) o de una cirrosis (grupos CNR y CR), según los criterios de GERBER y POPPER<sup>15</sup> para la inclusión en estudio.

Las concentraciones plasmáticas y urinarias de Cl<sup>-</sup>, Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup> y creatinina fueron determinadas en autoanalizador (ASTRA IV, Beckmann). Las concentraciones de renina (CRP) y aldosterona plasmática (ALDOP) fueron determinadas por radioinmunoensayo (RIA), según técnicas previamente descritas<sup>16,17</sup>. La aldosterona urinaria (ALDOU) se cuantificó igualmente por RIA, previa hidrólisis ácida durante 24 h. a temperatura ambiente<sup>18</sup>. Las PG plasmáticas y urinarias fueron extraídas con columnas de octadecil-silil-sílice (SEP-PAK C<sub>18</sub>, Waters, Milford, MA), según la técnica de Powell<sup>19</sup>, oscilando las recuperaciones entre 75 %-97 %. Las concentraciones plasmáticas de 6-Keto-PGF<sub>1α</sub> (metabolito de la PGI<sub>2</sub>) y de TxB<sub>2</sub> (metabolito del TxA<sub>2</sub>) y urinarias de PGE<sub>2</sub> y PGF<sub>2α</sub>, se determinaron por RIA<sup>20</sup>. Las PG tritadas (<sup>3</sup>H 6-Keto-PGF<sub>1α</sub>, 150 Ci. mmol.<sup>-1</sup>; <sup>3</sup>H TxB<sub>2</sub>, 180 Ci. mmol.<sup>-1</sup>; <sup>3</sup>H PGE<sub>2</sub>, 160 Ci. mmol.<sup>-1</sup>; <sup>3</sup>H PGF<sub>2α</sub>, 220 Ci. mmol.<sup>-1</sup>) se obtuvieron de Amersham (UK) y los anticuerpos específicos y los estándares de Seragen (Seragen Inc. Boston, MA). Las variaciones intraensayo e interensayo fueron inferiores a 7 y 14 %, respectivamente, en todos los casos, oscilando el límite de sensibilidad entre 35 y 50 pg.ml.<sup>-1</sup> para las 4 PG.

Los resultados se expresan como  $\bar{x} \pm eem$ . Las comparaciones entre los grupos se realizaron mediante un análisis de varianzas. Una p < 0,05 fue considerada estadísticamente significativa.

**RESULTADOS**

La tabla I muestra la diuresis y las excreciones urinarias basales de  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ , creatinina y ALDOU, así como las concentraciones plasmáticas de renina y ALDOP en los animales NF, CNR y CR. No existieron diferencias significativas en ninguno de los parámetros considerados.

TABLA I  
DIURESIS, EXCRECION URINARIA DE ELECTROLITOS, CREATININA Y ALDOSTERONA (ALDOU) Y CONCENTRACIONES PLASMATICAS DE RENINA (CRP) Y ALDOSTERONA (ALDOP) EN LAS RATAS CONTROLES (NF), CIRROTICAS NO RETENEDORAS (CNR) Y CIRROTICAS RETENEDORAS (CR)

	NF	CNR	CR
UV (ml. 24 h. <sup>-1</sup> )	11,8 ± 2,4	11,3 ± 1,5	10,1 ± 1,4
U <sub>Cl</sub> V (mmol. 24 h. <sup>-1</sup> )	0,46 ± 0,04	0,40 ± 0,03	0,44 ± 0,07
U <sub>Na</sub> V (mmol. 24 h. <sup>-1</sup> )	0,32 ± 0,04	0,27 ± 0,03	0,27 ± 0,04
U <sub>K</sub> V (mmol. 24 h. <sup>-1</sup> )	1,65 ± 0,22	1,71 ± 0,11	1,70 ± 0,12
U <sub>Cr</sub> V (μmol. 24 h. <sup>-1</sup> )	6,63 ± 0,62	6,10 ± 0,62	5,57 ± 0,53
ALDOU (ng. 24 h. <sup>-1</sup> )	71,4 ± 9,7	75,9 ± 5,6	79,6 ± 7,0
CRP (μU. ml. <sup>-1</sup> )	0,70 ± 0,11	0,45 ± 0,15	0,68 ± 0,10
ALDOP (ng. ml. <sup>-1</sup> )	0,52 ± 0,04	0,54 ± 0,08	0,52 ± 0,03

Los niveles plasmáticos de 6-Keto-PGF<sub>1α</sub> fueron menores en las ratas CNR que en las NF, mientras que se encontraron elevados en los animales CR (Fig. 1A). Las concentraciones plasmáticas de TxB<sub>2</sub> (Fig. 1B) y las excreciones urinarias de PGE<sub>2</sub> (Fig. 2A) fueron significativamente menores en ambos grupos de ratas cirróticas que en las controles. Las eliminaciones urinarias de PGF<sub>2α</sub> fueron significativamente menores en los animales CR que en los NF (Fig. 2B). Las ratas con hepatitis (H), en comparación con las NF, mostraron unas concentraciones plasmáticas disminuidas de 6-Keto-PGF<sub>1α</sub> y TxB<sub>2</sub> (Fig. 1), con una menor excreción urinaria de PGE<sub>2</sub> (Fig. 2). El índice PGE<sub>2</sub>/PGF<sub>2α</sub> fue similar en los grupos NF, CNR y CR, pero los animales cirróticos (CNR y CR) mostraron un índice 6-Keto-PGF<sub>1α</sub>/TxB<sub>2</sub> superior a los controles (tabla 2).

**DISCUSION**

El estudio de los estadios iniciales de la cirrosis hepática es difícil de realizar en seres humanos, y gran parte de las referencias fisiopatológicas que existen analizan el problema de pacientes ascíticos<sup>21</sup>. Por ello, para comprender mejor esta fase de la enfermedad, hay que recurrir a los modelos experimentales. Las ratas tratadas durante aproximadamente 8 semanas con fenobarbital y CCl<sub>4</sub> presentan lesiones histológicas hepáticas superponibles a las referidas en los cirróticos alcohólicos<sup>15</sup>, pero en el estadio por nosotros considerado no ha aparecido todavía ascitis y los animales manejan adecuadamente

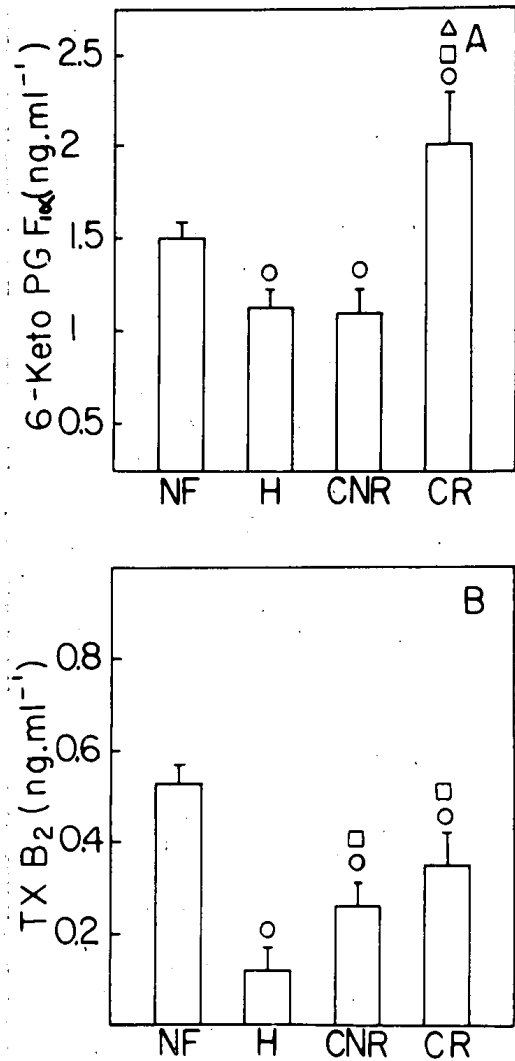


Fig. 1.—Concentraciones plasmáticas de 6-Keto-PGF<sub>1α</sub> y TxB<sub>2</sub> en los distintos grupos estudiados. NF: grupo control. H: grupo con hepatitis. CNR: grupo de ratas cirróticas no retenedoras de una sobrecarga aguda de Na<sup>+</sup>. CR: grupo de ratas cirróticas retenedoras. ○ p < 0,05 vs. NF. □ p < 0,05 vs. H. △ p < 0,05 vs. CNR.

una dieta hiposódica. Además, las concentraciones plasmáticas de renina y aldosterona y la excreción urinaria de esta última se encuentran dentro de límites normales, como ha sido descrito en pacientes cirróticos estudiados en etapas no muy avanzadas<sup>5</sup>. Sin embargo, y ya en esta situación, un cierto número de ratas cirróticas son incapaces de desembarazarse de una sobrecarga aguda de sodio en un tiempo similar al de los controles. Esto nos permite diferenciar 2 estados muy iniciales de cirrosis sin ascitis, que serán el objeto de nuestro estudio.

El incremento en las concentraciones plasmáticas de 6-Keto-PGF<sub>1α</sub> en las ratas CR sugiere una posible relación entre unos niveles elevados de PGI<sub>2</sub> circulante y el estado de vasodilatación característico de las ratas cirróticas, incluso en estadios tempranos de enfermedad<sup>3</sup>. Se sabe que la PGI<sub>2</sub> circulante es producida fundamentalmente por las células del endotelio vascular, pudiendo jugar algún papel en la regulación de la hemodinámica sistémica a través de un mecanismo vasodilatador<sup>22</sup>. Algunos autores han sugerido que este estado de vasodila-

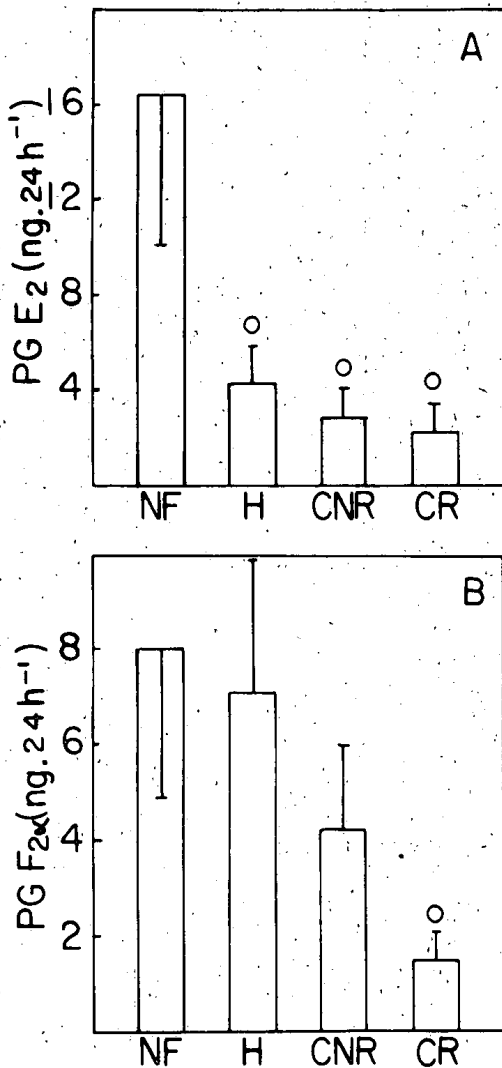


Fig. 2.—Excreciones urinarias de PGE<sub>2</sub> y PGF<sub>2α</sub> en los distintos grupos estudiados. NF: grupo control. H: grupo con hepatitis. CNR: grupo de ratas cirróticas no retenedoras de una sobrecarga aguda de Na<sup>+</sup>. CR: grupo de ratas cirróticas retenedoras. ○ p < 0,05 vs. NF.

TABLA II

INDICES PGE<sub>2</sub>/PGF<sub>2α</sub> Y 6-KETO)PGF<sub>1α</sub>/Tx B<sub>2</sub> EN LOS DISTINTOS GRUPOS DE ANIMALES ESTUDIADOS

	NF	CNR	CR
PGE <sub>2</sub> /PGF <sub>2α</sub>	2,21 ± 0,25	2,01 ± 0,27	2,46 ± 0,09
6-Keto/Tx B <sub>2</sub>	3,25 ± 0,41	4,92 ± 0,60 *	6,15 ± 0,57 *

\* p < 0,05 vs. NF.

tación generalizada es la señal inicial que desencadena la retención hidroelectrolítica, y es probable que el mayor deterioro hemodinámico inducido por una PGI<sub>2</sub> elevada sea el responsable de la mala respuesta de los animales CR a la sobrecarga salina. Recientemente, BRUIX et al.<sup>23</sup> han descrito que la administración de indometacina a pacientes cirróticos compensados condiciona un aumento de las resistencias vasculares periféricas, probablemente por inhibición de las PG vasodilatadoras.

Desde el punto de vista exclusivamente hemodinámico, la situación de las ratas CNR es más complicada de analizar. Junto a la disminución en las concentraciones

plasmáticas de 6-Keto-PGF<sub>1α</sub>, presentan una reducción significativa en el TxB<sub>2</sub> circulante. Aunque se conoce perfectamente el efecto vasoconstrictor del TxA<sub>2</sub>, se desconoce su verdadera importancia fisiológica en el control de las resistencias vasculares sistémicas. Algunos autores han sugerido un cierto papel del TxA<sub>2</sub> en el control del flujo plasmático renal<sup>24</sup>. Además, un desequilibrio entre TxB<sub>2</sub> y PGE<sub>2</sub> ha sido involucrado en la génesis del síndrome hepatorenal<sup>12</sup>. Quizá un cierto desequilibrio entre PG vasodilatadoras y vasoconstrictoras, como reflejaría el índice 6-Keto-PGF<sub>1α</sub>/TxB<sub>2</sub> aumentado de las ratas CNR, podría ser el responsable de un cierto grado de vasodilatación en estos animales.

En condiciones basales, las ratas cirróticas presentaron una menor excreción urinaria de PGE<sub>2</sub> y PGF<sub>2α</sub> que las controles. Sin embargo, y a pesar de la disminución observada en la PGE<sub>2</sub>, nuestros animales cirróticos no mostraron una retención de sodio en condiciones basales y no existieron diferencias significativas en las excreciones de PGE<sub>2</sub> entre las ratas CR y CNR. Así pues, no se puede hablar de una relación directa causa-efecto entre la disminución de PG natriuréticas y el estado de retención de sodio. Sin embargo, estos resultados sugieren que los animales cirróticos presentan una cierta incapacidad de generar PGE<sub>2</sub>, lo que podría condicionar una cierta incapacidad funcional a la hora de manejar adecuadamente unos ingresos de sodio superiores a los suministrados a nuestras ratas.

En contraste con estos resultados, algunos autores han puesto en evidencia excreciones urinarias incrementadas de PGE<sub>2</sub> en pacientes cirróticos compensados con función renal normal<sup>9,10</sup>. Esta aparente contradicción puede tener diversas explicaciones. Por una parte, podría postularse que el modelo de cirrosis utilizado no es superponible a la enfermedad humana. Sin embargo, parece más probable que las diferencias observadas sean debidas al momento de estudio de la enfermedad. Los pacientes cirróticos estudiados por estos autores suelen presentar, en mayor o menor grado, una activación de determinados sistemas neurohumorales, como el SRAA y el sistema nervioso simpático<sup>5-8</sup>, que pueden influir sobre la síntesis de PG<sup>25</sup>. Así, los resultados obtenidos en seres humanos podrían ser una consecuencia de una estimulación mantenida de la generación de PG. De todas formas, esta hipótesis debe ser confirmada realizando un análisis del modelo experimental en estadios de deterioro progresivo de la función hepática.

Las causas que conducen a este patrón característico de PG plasmáticas y urinarias pueden ser de índole diversa. En primer lugar, no parece probable que 14 días después de suprimir su administración, el CCl<sub>4</sub> o el fenobarbital continúen teniendo un efecto directo sobre el metabolismo del ácido araquidónico. Sin embargo, las características del modelo elegido pueden ser de gran importancia. El metabolismo a nivel hepático del CCl<sub>4</sub> determina la presencia de radicales libres<sup>26</sup> con un máximo de toxicidad en el entorno de su producción. Una

pequeña parte de los mismos puede alcanzar la circulación sistémica o incluso renal, pudiendo estimular crónicamente la síntesis de PG<sup>27</sup>. Este estímulo mantenido podría condicionar una situación de déficit de ácido araquidónico a nivel de las membranas, con una menor producción de PG en fases posteriores. Los resultados obtenidos en ratas con hepatopatía crónica avanzada, pero sin cirrosis (grupo H), similares a los de los animales CNR, apoyarían estos planteamientos. Sin embargo, para confirmarlos, sería interesante demostrar una producción elevada de PG en las primeras fases de la hepatitis tóxica inducida por el fenobarbital y el CCl<sub>4</sub>, antes de llegar a los estadios III-IV (grupo H).

Resultados compatibles con esta hipótesis han sido descritos en la hepatopatía alcohólica. La fluidez de las membranas de los eritrocitos de las ratas tratadas con etanol se encuentra aumentada, probablemente por cambios en su contenido lipídico<sup>28</sup>. Además, los cirróticos alcohólicos presentan una disminución en el contenido de ácidos grasos polinsaturados tanto a nivel de las membranas como de los fosfolípidos séricos, considerados un reflejo de los de membrana, sugiriendo de nuevo una situación de depleción característica de la enfermedad alcohólica<sup>29, 30</sup>.

Las alteraciones intrínsecas asociadas a la cirrosis, independientemente del mecanismo de su producción, pueden jugar también un cierto papel en la génesis de los cambios descritos. Si la estimulación crónica de la síntesis de PG con la subsiguiente depleción de ácido araquidónico a nivel de membrana fuera un efecto totalmente inespecífico inherente al modelo experimental, esperaríamos encontrar una disminución generalizada de todas las PG medidas. Sin embargo, la PGI<sub>2</sub> se encuentra aumentada en las ratas CR, lo que sugiere una cierta especificidad en el origen de estas alteraciones. Además, la pérdida de efectividad del filtro hepático condiciona un paso incrementado de endotoxinas desde el intestino a la circulación en la cirrosis<sup>31</sup>. Estas endotoxinas tienen la capacidad de estimular la síntesis de PG<sup>32</sup>, pudiendo contribuir a la estimulación crónica mantenida de la generación de estas sustancias, deplecionando así los depósitos de sustrato.

**Agradecimientos**

Este trabajo ha sido realizado con ayudas del FIS (80/82) y de la CAICYT (594/84). J. C. Santos y A. Blanchart son becarios del FIS. D. Rodríguez Puyol es becario de la Fundación Iñigo Alvarez de Toledo. Agradecemos a I. Millás, M. Antón y E. Blanco, así como al Departamento de Anatomía Patológica de la Fundación Jiménez Díaz, su colaboración en el presente trabajo.

**BIBLIOGRAFIA**

1. Lieberman FL, Denison EK, Reynolds TB. The relationship of plasma volume, portal hypertension, ascites and renal sodium retention in cirrhosis. The overflow theory of ascites formation. *Ann NY Acad Sci* 1970;170:202-212.
2. Epstein M, Schneider N, Befeler B. Relationship of systemic and

- intrarenal hemodynamics in cirrhosis. *J Lab Clin Med* 1977;89:1175-1187.
3. Fernández-Muñoz D, Caramelo C, Santos JC, Blanchart A, Hernando L, López-Novoa JM. Systemic and splanchnic hemodynamic disturbances in conscious rats with experimental liver cirrhosis without ascites. *Am J Physiol* 1985;242:G342-346.
4. Wilkinson SP, Williams R. Renin-angiotensin system in cirrhosis. *Gut* 1980;21:545-554.
5. Bosch J, Arroyo V, Rodés J. Hepatic and systemic hemodynamics and the renin-angiotensin-aldosterone system in cirrhosis. En *The Kidney in liver disease*, 2.ª ed., pp. 423-439. Ed. Epstein M. Elsevier Biomedical, New York, 1983.
6. Bichet D, Van Putten V, Schrier R. Potential role of sympathetic activity in the sodium and water excretion in cirrhotic patients. *N Engl J Med* 1982;307:1552-1557.
7. DiBona GF. Renal neural activity in hepatorenal syndrome. *Kidney Int* 1984;25:841-853.
8. Zipser RD, Hoefs JC, Speckart PF, Zia PK, Horton R. Prostaglandins: Modulators of renal function and pressor resistance in chronic liver disease. *J Clin Endocrinol Metab* 1979;48:895-900.
9. Mirouze D, Zipser RD, Reynolds TB. Effect of inhibitors of prostaglandin synthesis on induced diuresis in cirrhosis. *Hepatology* 1983;3:50-55.
10. Arroyo V, Planas R, Gaya J, Deulofeu R, Rimola A, Pérez-Ayuso R, Rivera F, Rodés J. Sympathetic nervous activity, renin-angiotensin system and renal excretion of prostaglandin E<sub>2</sub> in cirrhosis. Relationship to functional renal failure and sodium and water excretion. *Eur J Clin Invest* 1983;13:271-278.
11. Dunn MJ. Role of eicosanoids in the control of renal function in severe hepatic disease. *Gastroenterology* 1984;87:1392-1395.
12. Zipser R, Radvan G, Kronborg I, Duke R, Little T. Urinary thromboxane and PGE<sub>2</sub> in the hepatorenal syndrome. Evidence for increased vasoconstrictor and decreased vasodilator factors. *Gastroenterology* 1982;84:697-703.
13. López-Novoa JM, Rengel MA, Hernando L. Dynamics of ascites formation in rats with experimental cirrhosis. *Am J Physiol* 1980;238:F353-357.
14. López-Novoa JM, Navarro V, Rodicio JL, Hernando L. Cirrosis experimental de instauración rápida. Cronología de aparición de las lesiones hepáticas. *Patología* 1976;9:233-240.
15. Gerber MA, Popper H. Relation between central canals and portal tracts in alcoholic hepatitis. *Human Pathol* 1972;3:199-207.
16. Boucher R, Menard J, Genest J. A micromethod for measurement of renin in the plasma and kidney of rats. *Can J Physiol Pharmacol* 1967;45:881-887.
17. Bühler FR, Sealey JE, Laragh JH. Radioimmunoassay of plasma aldosterone. En *Hypertension manual*, pp. 655-669. Ed. Laragh JH. Yorke Medical Books, NY, 1974.
18. Vecsei P, Penke B, Soumaah A. Radioimmunoassay of free aldosterone and 18-oxoglucuronide in human urine. *Experientia* 1972;28:730-733.
19. Powell W. Rapid extraction of oxygenated metabolites of arachidonic acid from biological samples using octadecylsilyl silica. *Prostaglandins* 1980;20:947-957.
20. Salmon JA. Measurement of eicosanoids by bioassay and radioimmunoassay. *Br Med Bull* 1983;39:227-231.
21. Epstein M, Pins DS, Schneider N, Levinson R. Determinants of deranged sodium and water homeostasis in decompensated cirrhosis. *J Lab Clin Med* 1976;87:822-839.
22. Moncada S, Vane JR. «The role of prostacyclin in vascular tissue». *Fed Proc* 1979;38:66-71.
23. Bruix J, Bosch J, Kravetz D, Mastai R, Rodés J. Effects of prostaglandin inhibition on systemic and hepatic hemodynamics in patients with cirrhosis of the liver. *Gastroenterology* 1985;88:430-435.
24. Richardson JM, Kunau RT. Effect of imidazol on renal plasma flow and urinary sodium excretion. *Kidney Int* 1978;14:776A.
25. Scharschmidt LA, Lianos E, Dunn MJ. Arachidonate metabolites and the control of glomerular function. *Fed Proc* 1983;42:3058-3063.
26. Slatter TF. Necrogenic action of carbon tetrachloride in the rat: a speculative mechanism based on activation. *Nature* 1966;209:3640.
27. Baud L, Nivez MP, Chansel D, Ardaillou R. Stimulation by oxygen free radicals of prostaglandin production by rat renal glomeruli. *Kidney Int* 1981;20:332-339.
28. Schuller A, Moscat J, Díez E, Fernández-Checa C, Gavilanes FG, Muncio AM. The fluidity of plasma membranes from ethanol-treated rat liver. *Mol Cell Biochem* 1984;64:89-95.
29. Johnson SB, Gordon E, McClain C, Low G, Holman R. Abnormal polyunsaturated fatty acid patterns of serum lipids in alcoholism and cirrhosis: arachidonic acid deficiency in cirrhosis. *Proc Nat Acad Sci USA* 1985;82:1815-1818.
30. Alling C, Gustavsson L, Kristensson A, Wallerstedt S. Changes in fatty acid composition of major glycerophospholipids in erythrocyte membranes from chronic alcoholics during withdrawal. *Scand J Clin Lab Invest* 1984;44:283-289.
31. Terao K, So K, Moroi T, Ikeuchi T, Suyama T, Endo O, Fukushima K. Detection of endotoxin in plasma and ascitic fluid of patients with cirrhosis. *Gastroenterology* 1977;73:539-542.
32. Anderson F, Juviz W. Endotoxin-induced PGE<sub>2</sub> and PGF<sub>2α</sub> release in dog. *Am J Physiol* 1975;228:410-414.