

ORIGINALES

Efectos de la inhibición de la síntesis de óxido nítrico en la hemodinámica y excreción renal de ratas con cirrosis biliar crónica

A. M. Ramírez, N. M. Atucha, T. Quesada, M. C. Pérez, B. López-Ayerra, C. Martínez, A. Sánchez y J. García-Estañ

Departamento de Fisiología, Facultad de Medicina, Universidad de Murcia.

RESUMEN

La cirrosis hepática cursa con elevados niveles de óxido nítrico (NO). En el presente trabajo nos propusimos determinar el papel del NO en las alteraciones renales hemodinámicas y excretoras de un modelo experimental de cirrosis biliar. Los experimentos se han realizado en ratas Munich-Wistar veinticinco días después de la ligadura del conducto biliar (LCB) o de operación simulada (controles). La infusión i.v. de un inhibidor de la síntesis de NO (L-NAME, 1, 5 y 10 µg/kg/min) no cambió la presión arterial media (PAM) de los animales controles y disminuyó el flujo sanguíneo papilar (FSP, fluximetría láser-doppler) en forma dosis-dependiente ($5,4 \pm 1,6$ %, $16,2 \pm 2,6$ % y $26,3 \pm 3,3$ %, respectivamente). En el grupo LCB, la PAM basal fue menor y aumentó significativamente con la primera dosis de L-NAME (de $90,6 \pm 3,8$ a $105,2 \pm 5,1$ mmHg) y siguió aumentando con las restantes dosis ($127,4 \pm 4,2$ y $133,7 \pm 4,2$ mmHg). En estos animales LCB, el FSP basal fue un $40,3 \pm 3,8$ % menor que en los controles, y, tras la infusión de L-NAME, la resistencia vascular papilar aumentó más que en los controles. En otro grupo de animales preparados para la realización de aclaramientos renales y sometidos al mismo régimen de infusiones que en el protocolo anterior, las infusiones de L-NAME en los controles no modificaron la PAM y produjeron un ligero aumento de la diuresis y natriuresis sólo con la última dosis del inhibidor. Por el contrario, en el grupo LCB, las infusiones de L-NAME indujeron un aumento significativo de PAM y un incremento significativo de diuresis y natriuresis desde la primera dosis del inhibidor, que se mantuvieron elevadas con las restantes dosis. Además, la vasoconstricción renal inducida por el inhibidor del NO fue significativamente mayor en el grupo LCB. Estos resultados indican que, en ratas anestesiadas con cirrosis biliar, hay una mayor sensibilidad presora sistémica y renal a la inhibición de la síntesis de NO, que además induce un importante efecto diurético y natriurético. Esto sugiere que el NO participa en el mantenimiento de los bajos niveles de presión arterial y en las alteraciones renales de los animales con cirrosis biliar.

Palabras clave: **Hemodinámica renal. Diuresis. Natriuresis. Presión arterial. Colestasis.**

Recibido: 7-VI-94.

En versión definitiva: 9-VIII-94.

Aceptado: 17-VIII-94.

Correspondencia: Joaquín García-Estañ López.

Departamento de Fisiología.

Facultad de Medicina.

30100 Murcia.

ROLE OF NITRIC OXIDE IN THE RENAL DISTURBANCES OF HEPATIC CIRRHOSIS

SUMMARY

Liver cirrhosis is associated with elevated blood nitric oxide (NO) levels. In the present study we have evaluated the role of NO in the renal hemodynamic and excretory abnormalities present in an experimental model of biliary cirrhosis. The experiments were performed in Munich-Wistar rats, 25 days after bile duct ligation (BDL) or sham operation (controls). Intravenous infusion of NO synthesis inhibitor (L-NAME, 1,5 and 10 µg/Kg/min) did not alter mean arterial pressure (MAP) in control animals and decreased renal papillary blood flow (PBF, laser-doppler flowmetry) in a dose-dependent manner (5.4 ± 1.6 %, 16.2 ± 2.6 % and 26.3 ± 3.3 %, respectively). In the BDL group, basal MAP was lower and increased significantly with the first dose of L-NAME (from 90.6 ± 3.8 to 105.2 ± 5.1 mmHg) and kept increasing with the following doses (127.4 ± 4.2 and 133.7 ± 4.2 mmHg). In these BDL animals, basal PBF was significantly lower (40.3 ± 3.8 %) than that of the controls and, L-NAME administration induced higher increases in papillary resistance than in the controls. In control animals prepared for renal clearances and subjected to the same infusion dosage, L-NAME administration did not change MAP and slightly increased diuresis and natriuresis only with the highest dose of the inhibitor. In contrast, in the BDL animals, MAP, diuresis and natriuresis increased significantly after infusion of the NO synthesis inhibitor from the first dose and remained elevated throughout the experiment. Renal vasoconstriction induced by the NO synthesis inhibitor was also significantly greater in the BDL group. These results indicate that anesthetized rats with biliary cirrhosis show a higher systemic and renal sensitivity to NO synthesis inhibition. This result suggests that NO participates in the lower arterial pressure and renal alterations of the animals with biliary cirrhosis.

Key words: Renal hemodynamics. Diuresis. Natriuresis. Blood pressure. Cholestasis

INTRODUCCION

Desde el punto de vista hemodinámico, la cirrosis hepática se caracteriza por presentar unos bajos niveles de presión arterial acompañados por un aumento del gasto cardíaco y disminución de las resistencias periféricas. El resultado es un aumento del volumen circulante, sobre todo en el territorio esplácnico¹⁻³. Paralelamente, se produce una marcada retención hidrosalina que contribuye a empeorar el estado de circulación hiperdinámica^{4,5}. Hasta ahora, los mecanismos por los cuales se producen estas alteraciones no están totalmente aclarados.

En los últimos años, diversos autores han relacionado el desarrollo de las alteraciones renales de la cirrosis experimental con una síntesis excesiva de óxido nítrico (NO)^{6,7}. Para comprobarlo se han analizado los efectos de distintos inhibidores de la síntesis de NO sobre la hemodinámica sistémica y/o re-

nal. Así, Pizcueta y cols. observaron una gran sensibilidad del riñón de animales cirróticos a la inhibición del NO, ya que se producía un importante aumento de la resistencia vascular renal tanto en el modelo experimental por inhalación de tetracloruro de carbono⁸ como en el de hipertensión portal por ligadura parcial de la vena porta⁹. Por el contrario, otros autores¹⁰, si bien afirman que el NO podría ser responsable de la hipotensión del animal cirrótico, no le conceden un papel importante en el mantenimiento de las alteraciones de la hemodinámica renal. En el estudio de la función excretora renal se ha demostrado que la inhibición de la síntesis de NO, tanto a dosis presoras¹⁰ como subpresoras¹¹, favorece la excreción de sodio y agua en animales cirróticos por tetracloruro de carbono. Sin embargo, en el modelo de cirrosis por ligadura del conducto biliar (LCB), aunque algunos autores han estudiado el papel hemodinámico sistémico del NO¹², todavía no se ha

valorado su contribución a la función renal. Por lo tanto, en este trabajo hemos estudiado el papel del NO en las alteraciones renales de la cirrosis hepática en un modelo experimental por LCB. Para ello hemos estudiado la respuesta excretora y hemodinámica renal a la inhibición progresiva de la síntesis de NO.

MÉTODOS

Los experimentos se han realizado en ratas Munich-Wistar obtenidas del Animalario de la Universidad de Murcia y con un peso aproximado de 200 gramos. Todos los protocolos incluidos en este estudio se realizaron de acuerdo con las directrices de la Comunidad Económica Europea y el Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación de España acerca del tratamiento ético de los animales de experimentación. El procedimiento para el desarrollo de la cirrosis sigue la técnica de ligadura y resección del conducto biliar utilizada anteriormente en nuestro laboratorio¹³. Para ello, las ratas fueron anestesiadas con éter y, en condiciones asépticas, se aisló, ligó y seccionó el conducto biliar común. El grupo control consistió en animales de igual peso sometidos a operación simulada en las mismas condiciones. Los experimentos se realizaron a los 25 ± 2 días después de la cirugía.

PROTOCOLOS EXPERIMENTALES

1. Efectos de la inhibición de la síntesis de NO sobre la hemodinámica intrarrenal

Preparación quirúrgica. Los experimentos se realizaron según una técnica descrita previamente en nuestro laboratorio¹⁴. Los animales (controles, $n = 8$; LCB, $n = 7$) fueron anestesiados con inactín (100 mg/kg, i.p.) y traqueotomizados. La arteria femoral derecha se canuló para determinar la presión arterial media (PAM), que fue monitorizada a lo largo de todo el experimento (transductor PDCR 75, amplificador 5241 y registro MULTITRACE 2, todos de LECTROMED, Reino Unido) y para obtener muestras de sangre. También se canuló la vena femoral para infundir dos soluciones simultáneamente, una de cloruro sódico isotónico conteniendo 0,5 % de albúmina bovina (Sigma, Reino Unido) y administrada a una tasa de 0,5 ml/100 g/h y otra de cloruro sódico isotónico a 1 ml/h. Tras colocar al animal en decúbito lateral derecho se practicó una incisión en el flanco izquierdo para exponer el riñón. Este fue liberado de la grasa perirrenal y de la glándula suprarrenal para poderlo inmovilizar en un recipiente especialmente diseñado

al efecto. Tras la disección y escisión del uréter se expuso la papila renal, que fue aislada del resto del tejido renal mediante algodón. El flujo sanguíneo papilar (FSP) se determinó con un fluxímetro láser-doppler (Periflux PF3, Perimed, Suecia), cuya sonda fue dirigida hacia la papila de tal manera que formara un ángulo de unos 30° con ella. El FSP fue registrado continuamente en el sistema Lectromed descrito arriba.

Protocolo experimental. Tras cuarenta y cinco a sesenta minutos de estabilización se tomó un período control de treinta minutos. A continuación se sustituyó el salino por una solución de N^w-L-Nitro-Arginina-Metil-Ester (L-NAME, Sigma, Reino Unido), un inhibidor de la síntesis de óxido nítrico, en tres dosis sucesivas de 1, 5 y 10 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$ y cuarenta minutos de duración cada una de ellas (diez minutos de estabilización y treinta minutos de período experimental). En cada período se tomaron muestras de sangre arterial para medir el hematocrito. Al terminar el experimento se pesaron los riñones y una muestra hepática de cada animal se fijó en formol tamponado para su posterior estudio histológico por medio de la técnica de la hematoxilina-eosina. La resistencia papilar (R_{Pap}) se determinó mediante el cociente PAM/FSP (mmHg/unidades).

2. Efectos de la inhibición de la síntesis de NO sobre la función hemodinámica y excretora renal

Preparación quirúrgica: La preparación de los animales para la realización de aclaramientos renales ha sido descrita previamente en nuestro laboratorio^{11, 14}. Igual que en el protocolo anterior, los animales (controles, $n=8$; LCB, $n=8$) fueron anestesiados con inactín y traquetomizados. Se cateterizó arteria y vena femoral derecha, además de vejiga, para recoger muestras de orina. El régimen de infusiones fue similar al del protocolo anterior, salvo que a la infusión isotónica descrita se le añadió inulina (³H-Inulin, 1 $\mu\text{Ci}/\text{ml}$, New England Nuclear, Itisa, Madrid, España) para determinar la tasa de filtración glomerular (TFG) y 0,6 % de ácido paraaminohipúrico (PAH, 4-Aminohippuric acid, Serva, Heidelberg, Alemania) para medir el flujo sanguíneo renal (FSR). Además, la velocidad de dicha infusión fue de 1 ml/100 g/h.

Protocolo experimental. Tras un período de estabilización de cuarenta y cinco a sesenta minutos se tomaron dos períodos consecutivos de quince minutos cada uno, obteniéndose las correspondientes muestras de sangre y orina para determinar los valores basales. A continuación, el salino isotónico fue sustituido por el inhibidor del NO, L-NAME, a las mismas tasas de infusión que en el protocolo anterior. Para cada dosis de L-NAME se esperaron diez minutos de estabilización, al cabo de los cuales se realizaron dos

períodos de aclaramiento de quince minutos de duración cada uno, en los que se recogieron muestras de orina para determinación de diuresis, natriuresis, concentración urinaria de inulina y de PAH y de sangre para medir microhematocrito y concentración plasmática de inulina y PAH. Al finalizar el experimento se obtuvo sangre de la arteria femoral para medir la concentración plasmática de sodio y de la vena renal izquierda para determinar la concentración venosa de PAH. Finalmente se pesaron los riñones y se tomó una muestra hepática que se procesó de forma similar a la descrita arriba.

Técnicas analíticas. La diuresis se determinó por gravimetría y se expresó por gramo de riñón. La concentración de inulina en muestras de plasma y orina se midió, tras la disolución de 10 µL de muestra en 1 ml de líquido de centelleo, en un contador de centelleo líquido (Betamatic Basic, Kontron, Madrid). La TFG se calculó mediante el aclaramiento de inulina. La concentración de PAH en plasma y orina se obtuvo mediante una técnica colorimétrica¹⁵. El FSR se calculó a partir del aclaramiento de PAH, usando la extracción renal de PAH y el hematocrito, según fórmulas establecidas. El sodio plasmático y urinario se midió por fotometría de llama (Corning 435, Izasa, Barcelona). La resistencia vascular renal (RVR) se calculó mediante el cociente PAM/FSR (mmHg min/mLg).

Análisis estadístico

Los resultados se expresan como la media ± 1 error estándar. Para valorar la significación de la diferencias entre valores de un mismo animal a distintas dosis de L-NAME se utilizó un análisis de varianza simple para medidas repetidas y test de Duncan posterior. En caso de grupos de animales diferentes se utilizó el análisis de varianza doble y el test de Duncan. Un valor de p < 0,05 se considera una diferencia estadísticamente significativa.

RESULTADOS

El estudio anatomopatológico del hígado de los animales LCB mostró una importante desestructuración de la arquitectura hepática, con presencia de nódulos de regeneración rodeados de gruesos tabiques fibrosos. En los espacios porta se observó una gran dilatación de los conductos biliares y neoformación de gran número de canalículos biliares por todo el tejido hepático. Los hepatocitos presentaron acúmulo de pigmento biliar.

Protocolo 1

Durante el período basal, los animales LCB presentaron una PAM significativamente menor que los controles (94,5 ± 4,4 frente a 129,0 ± 4,5 mmHg). Tras la infusión de dosis progresivas de L-NAME (1, 5 y 10 µg/kg/min), la PAM no varió en el grupo control, mientras que aumentó de forma significativa en los animales LCB (fig. 1). El FSP durante el período basal fue significativamente menor en los animales LCB que en los controles (156,9 ± 10,9 versus 209,0 ± 13,7 unidades) y el tratamiento con L-NAME disminuyó el FSP en ambos grupos de forma similar (dosis de 1 µg/kg/min: 140,4 ± 13,2 en LCB frente a 205,6 ± 11,9 en controles; dosis de 5 µg/kg/min: 132,0 ± 14,1 y 181,4 ± 11,6, respectivamente; dosis de 10 µg/kg/min: 97,3 ± 12,38 y 154,6 ± 11,6, respectivamente). La resistencia papilar en el período basal fue similar en ambos grupos y tras la infusión de L-NAME aumentó significativamente más en los animales LCB que en los controles (fig. 1).

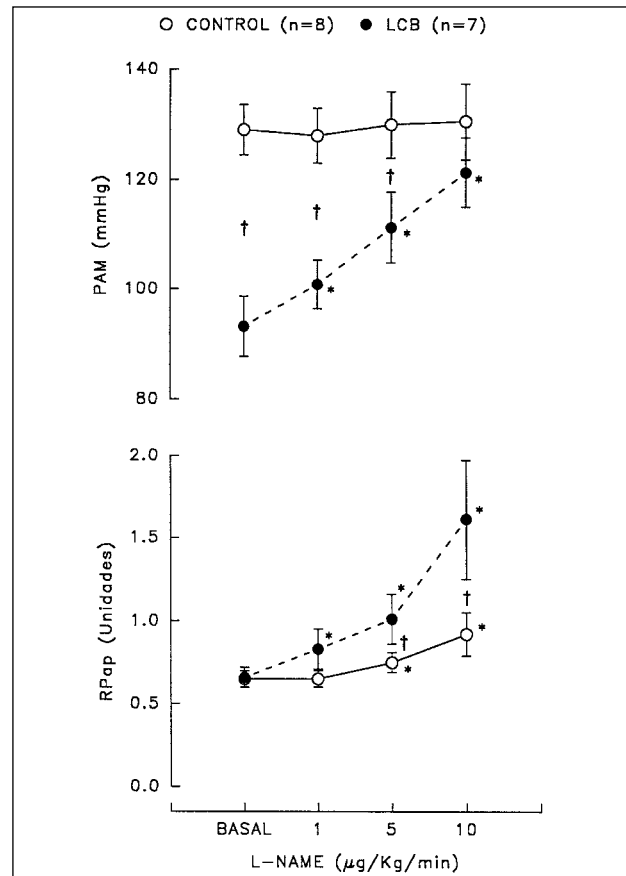


Fig 1.-Presión arterial media (PAM) y resistencia papilar (RPap) en animales controles y LCB en situación basal y tras inhibición de la síntesis de NO. *, p < 0,05 vs basal; +, p < 0,05 vs control.

Protocolo 2

Los animales sometidos a este protocolo experimental tuvieron, tras la infusión de L-NAME, similar respuesta presora (fig. 2) a la observada en el protocolo anterior. Así, en el período basal, los animales LCB tuvieron una PAM de $90,6 \pm 3,8$ mmHg, mientras que en los controles fue de $126,8 \pm 4,2$ mmHg. La infusión de L-NAME en los animales LCB aumentó la PAM desde la primera dosis, mientras que los controles sólo sufrieron un aumento significativo de presión tras la dosis de $10 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$ ($137,7 \pm 5,0$ mmHg). La TFG no varió tras el tratamiento con el inhibidor del NO en los animales controles. En los animales LCB se mantuvo significativamente menor que en los controles durante prácticamente todo el experimento (fig. 2), y la infusión de L-NAME no la modificó de forma significativa. El FSR basal no fue diferente en ambos grupos de animales ($5,7 \pm 0,8$ mL/min/g en los controles y $6,2 \pm 0,7$ mL/min/g en los LCB) y el tratamiento con L-NAME produjo en ambos una disminución, pero el descenso fue más

acusado en el grupo de animales LCB que en el grupo control (fig. 2). La respuesta vasoconstrictora renal a la inhibición del NO (medida como RVR) fue también mucho más importante en el grupo LCB, de forma que si bien en condiciones basales la RVR no fue significativamente diferente entre grupos ($25,3 \pm 3,6$ frente a $16,2 \pm 2,0$ mmHg min/mL ml/g), la infusión de L-NAME en el grupo control sólo indujo cambios significativos con la última dosis ($1 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$: $31,6 \pm 5,4$; $5 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$: $32,3 \pm 5,9$; $10 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$: $44,7 \pm 10,5$), mientras que en el grupo LCB el aumento fue significativo desde la segunda dosis ($27,2 \pm 2,0$, $72,0 \pm 19,3$ y $75,4 \pm 25,6$, respectivamente). La diuresis y natriuresis, que fueron similares en ambos grupos durante el período basal, no variaron en el grupo control con las dosis de L-NAME de 1 y 5 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$, aunque sí aumentaron ligeramente tras la dosis de $10 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$. Sin embargo, en el grupo LCB, ambas aumentaron de forma significativa con la dosis menor del inhibidor, para luego descender tras las dosis de 5 y $10 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$, aunque se mantuvieron elevadas respecto al basal (fig. 3).

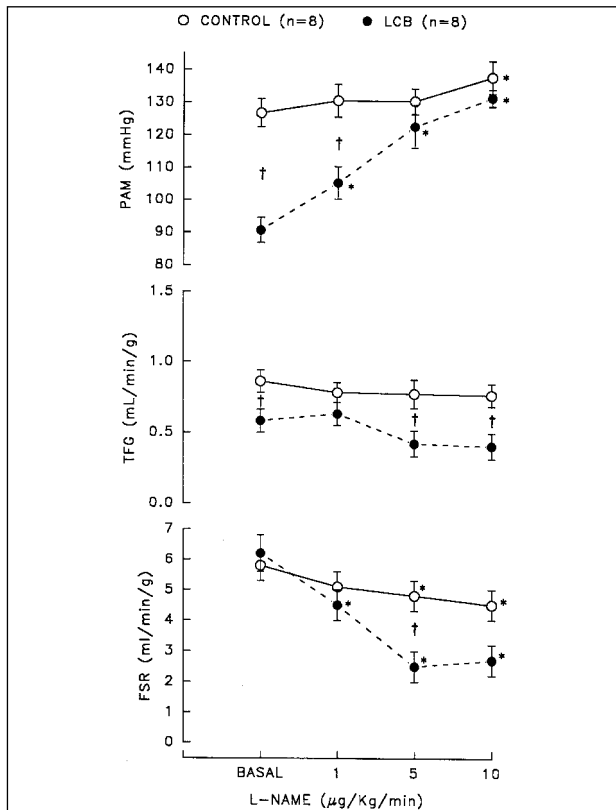


Fig 2.—Presión arterial media (PAM), flujo sanguíneo renal (FSR) y tasa de filtración glomerular (TFG) en animales controles y LCB en situación basal y tras inhibición de la síntesis de NO. *, $p < 0,05$ vs basal; +, $p < 0,05$ vs control.

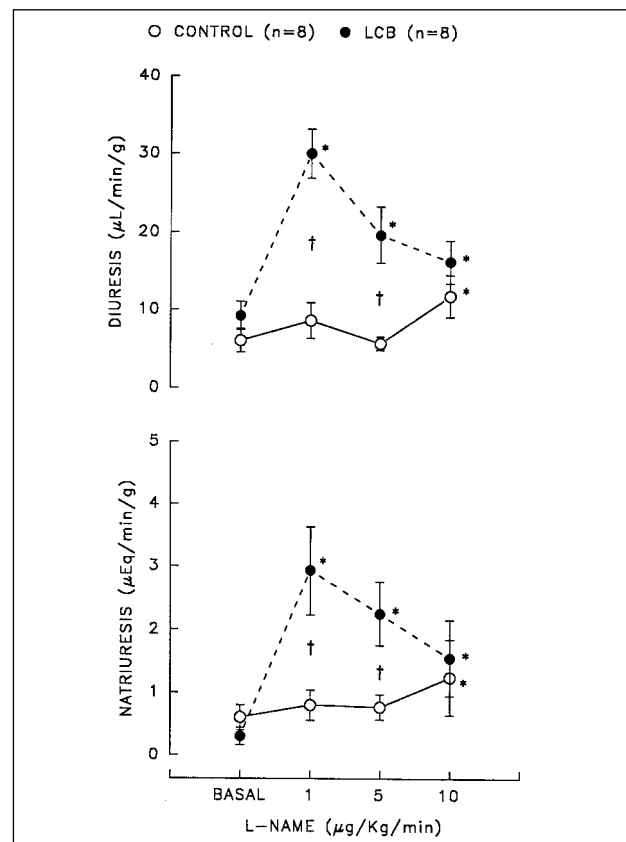


Fig 3.—Diuresis y natriuresis en animales controles y LCB en situación basal y tras inhibición de la síntesis de NO. *, $p < 0,05$ vs basal; +, $p < 0,05$ vs control.

DISCUSION

El principal resultado del presente trabajo es que los animales con cirrosis biliar crónica poseen una mayor sensibilidad presora sistémica y renal a la inhibición de la síntesis de NO, lo que sugiere que el NO juega un papel importante en la fisiopatología de esta enfermedad.

Se ha descrito que la cirrosis hepática cursa con hipotensión arterial^{4, 16-20}, y nuestros datos confirman que los animales LCB muestran unos bajos niveles de presión arterial. Aunque en este trabajo no se ha determinado la hemodinámica sistémica, resultados no publicados de nuestro laboratorio indican que las ratas sometidas a ligadura crónica del conducto biliar tienen un gasto cardíaco elevado y unas resistencias vasculares totales disminuidas, lo que coincide con otros autores^{18, 19}. Aunque el origen de la hipotensión arterial en la cirrosis no está aclarado, nuestros resultados indican claramente que el NO contribuye a su mantenimiento, ya que la inhibición de la síntesis de NO a dosis subpresoras en los animales controles produce en los animales LCB un marcado incremento de la PAM hasta alcanzar los niveles de los animales controles. Hay autores que no apoyan la idea de que la síntesis de NO esté aumentada en este modelo de cirrosis por LCB¹². Sin embargo, sus resultados quizás se deban a que sólo administraron una dosis máxima, que produjo el mismo efecto en los animales con LCB que en los controles. Nuestros resultados indican que con una cuidadosa elección de las dosis del inhibidor de la síntesis de NO se revela la mayor sensibilidad presora de los animales cirróticos, hecho que también han observado otros autores en distintos modelos de cirrosis experimental^{8, 10} e hipertensión portal⁹.

El flujo sanguíneo papilar es menor en los animales LCB que en los controles. Datos previos de nuestro laboratorio en el modelo de cirrosis por inhalación de tetracloruro de carbono han demostrado la existencia de un menor FSP respecto al de los animales controles²¹. Sin embargo, estos animales no tenían disminuida la presión arterial, mientras que los del presente trabajo, como se ha descrito, tienen una marcada hipotensión, que probablemente es la causa de la menor perfusión sanguínea medular, ya que la resistencia papilar basal es similar en LCB y controles. Esto se basa en el hecho de que la circulación papilar renal, al contrario que la circulación cortical, no autorregula su flujo ante cambios de presión arterial²²⁻²⁴. Sin embargo, la inhibición de la síntesis de NO, al igual que sucede con la PAM, produjo una vasoconstricción medular mayor en los animales LCB que en los controles. Además, esta mayor sensibilidad presora a la inhibición del NO afecta también al riñón de forma global, ya que el L-NAME aumentó marcadamente la resistencia vascular renal en los

animales LCB. Estos resultados coinciden con los de Pizcueta y cols.⁸ en otro modelo de cirrosis experimental. Por lo tanto, nuestros datos sugieren una mayor actividad de NO en la médula renal del animal con cirrosis biliar, lo que está de acuerdo con la idea de que la médula renal es un sitio preferente para la formación y acción del NO²⁵.

Resultados previos de nuestro laboratorio han demostrado, en esta fase crónica de la cirrosis por LCB, una mayor expresión renal del gen de renina en un momento en que la actividad de renina plasmática todavía no está aumentada¹³. Estos datos sugieren la existencia de una activación intrarrenal del sistema renina-angiotensina-aldosterona (SRA), que, de acuerdo con los resultados que aquí se presentan, posiblemente esté siendo compensada por los elevados niveles de NO. Sin embargo, hasta la fecha desconocemos si esta mayor expresión del gen de renina es el mecanismo que directamente estimula la producción de NO o hay otros factores implicados.

El NO es un sistema vasodilatador que, en animales normales, produce diuresis y natriuresis²⁵. La mayor actividad intrarrenal de NO de los animales cirróticos podría ser un mecanismo compensador frente a los elevados niveles de hormonas antinatriuréticas presentes en la cirrosis^{4, 13, 16-17}. Sin embargo, los resultados obtenidos no arrojan luz sobre este problema, ya que la inhibición de la síntesis de NO en los animales LCB produjo una mayor diuresis y natriuresis, pero este efecto es probablemente debido al aumento simultáneo de la PA, que, como se sabe, influencia de manera importante la función excretora renal^{22-24, 26, 27}. Otras posibilidades que no deben descartarse incluyen una inhibición intrarrenal del SRA como consecuencia del gran aumento de la presión arterial o una estimulación de las prostaglandinas o quininas renales, entre otras. Es importante reseñar, sin embargo, que experimentos realizados en el modelo de cirrosis por tetracloruro de carbono indican que la inhibición de la síntesis de NO, a dosis presoras o subpresoras, aumenta la excreción de sodio y agua^{10, 11}. Claramente, estos datos indican la necesidad de llevar a cabo nuevos estudios sobre el papel del NO renal en las alteraciones excretoras renales de la cirrosis.

En conclusión, los animales con cirrosis por ligadura del conducto biliar muestran una mayor sensibilidad presora sistémica y renal a la inhibición de la síntesis de NO, lo cual sugiere que el NO participa en la fisiopatología de las alteraciones renales y sistémicas de la cirrosis hepática.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido realizado gracias a la ayuda del Fondo de Investigaciones Sanitarias de la Seguridad

Social 94/0713 y de la Dirección General de Investigación Científica y Técnica 92-0078.

Bibliografía

1. Bosch J, Pizcueta MP, Feu F, Fernández M, García-Pagán JC: Pathophysiology of portal hypertension. *Gastroenterol Clin North Am* 21:1-13, 1992.
2. Blendis LM: Circulation in liver disease. *Transplant Proc* 25:1741-1743, 1993.
3. Groszmann RJ: Splanchnic vasodilation in portal hypertension. Mechanism consequences on systemic hypertension. En *Liver diseases and renal complications*. Gentilini P, Arias IM, Arroyo V, Schrier RW, eds. Raven Press, New York, 175-183. 1990.
4. Schrier RW, Arroyo V, Bernardi M, Epstein M, Henriksen JH, Rodés J: Peripheral arterial vasodilation hypothesis: a proposal for the initiation of renal sodium and water retention in cirrhosis. *Hepatology* 8:1151-1157, 1988.
5. Epstein M: Renal sodium handling in liver disease. En *The kidney in liver disease*. Epstein M, ed. Williams and Wilkins, Baltimore, 3-30, 1988.
6. Vallance P, Moncada S: Hyperdynamic circulation in cirrhosis: a role for nitric oxide? *Lancet* 337:776-777, 1991.
7. Stark ME, Szurszewki JH: Role of nitric oxide in gastrointestinal and hepatic function and disease. *Gastroenterology* 103:1928-1949, 1992.
8. Pizcueta MP, Piqué JM, Fernández M, Bosch J, Rodés J, Whittle BJR, Moncada S: Modulation of the hyperdynamic circulation of cirrhotic rats by nitric oxide inhibition. *Gastroenterology* 103:1909-1915, 1992.
9. Pizcueta MP, Piqué JM, Bosch J, Whittle BJR, Moncada S: Effects of inhibiting nitric oxide biosynthesis on the systemic and splanchnic circulation of rats with portal hypertension. *Br J Pharmacol* 105:184-190, 1992.
10. Clària J, Jiménez W, Ros J, Asbert M, Castro A, Arroyo V, Rivera F, Rodés J: Pathogenesis of arterial hypotension in cirrhotic rats with ascites: role of endogenous nitric oxide. *Hepatology* 15:343-349, 1992.
11. Atucha NM, García-Estañ J, Ramírez A, Pérez MC, Quesada T, Romero JC: Renal effects of nitric oxide synthesis inhibition in cirrhotic rats. *Am J Physiol* (en prensa), 1994 (abstract en *JAm Soc Nephrol* 4:544, 1993).
12. Sogni P, Moureau R, Ohsuga M, Cailmail S, Oberti F, Hadengue A, Pussard E, Lebrec D: Evidence for normal nitric oxide-mediated vasodilator tone in conscious rats with cirrhosis. *Hepatology* 16:980-983, 1992.
13. Ubeda M, Matzilevich M, Atucha NM, García-Estañ J, Quesada T, Tang S, Ingelfinger JR: Renin and angiotensinogen mRNA expression in the kidneys of rats subjected to long-term bile duct ligation. *Hepatology* 19:1431-1436, 1994.
14. Atucha NM, Ramírez AM, Quesada T, García-Estañ J: Effects of nitric oxide inhibition on the renal papillary blood flow response to saline-induced volume expansion in the rat. *Clin Sci* 86:405-409, 1994.
15. Waugh WH y Beall PT: Simplified measurement of p-aminohippurate and another arylamines in plasma and urine. *Kidney Int* 5:429-436, 1974.
16. Schrier RW, Caramelo C: Hemodynamics and hormonal alterations in hepatic cirrhosis. En *The kidney in liver disease*. Epstein M, ed. Williams and Wilkins, Baltimore, 265-285, 1988.
17. Bosch J, Ginés P, Arroyo V, Navasa M, Rodés J: Hepatic and systemic hemodynamics and the neurohumoral systems in cirrhosis. En *The kidney in liver disease*. Epstein M, ed. Williams and Wilkins, Baltimore, 286-308, 1988.
18. Better OS, Bomzon A: Effects of jaundice on the renal and cardiovascular systems. En *The kidney in liver disease*. Epstein M, ed. Williams and Wilkins, Baltimore, 508-534, 1988.
19. Siluler E, Buchs AE, Yaari A, Keynan A: Hemodynamic characterization of conscious and ketamine-anesthetized bile duct-ligated rats. *Am J Physiol* 260:G161-G166, 1991.
20. Bomzon A, Binah O, Blendis LM: Hypotension in experimental cirrhosis. Is loss of vascular responsiveness to norepinephrine the cause of hypotension in chronic bile duct-ligated dogs? *JHepatol* 17:116-123, 1993.
21. Atucha NM, Quesada T, García-Estañ J: Reduced renal papillary plasma flow in non-ascitic cirrhotic rats. *Clin Sci* 85:139-145, 1993.
22. Roman RJ, Cowley AW, García-Estañ J, Lombard JH: Pressure-diuresis in volume expanded rats. Cortical and medullary hemodynamics. *Hypertension* 12:168-176, 1988.
23. Roman RJ, Zou AP: Influence of the renal medullary circulation on the control of sodium excretion. *Am J Physiol* 265:R963-R973, 1993.
24. García-Estañ J, Atucha NM, Ramírez A, Vargas F, Quesada T: Circulación medular renal. *Medicine* 6:2609-2618, 1994.
25. Romero JC, Lahera V, Salom MG, Biondi ML: Role of endothelium-dependent relaxing factor nitric oxide on renal function. *JAm Soc Nephrol* 2:1371-1387, 1992.
26. García-Estañ J, Román RJ: Role of renal interstitial hydrostatic pressure in the pressure diuresis response. *Am J Physiol* 256:F63-F70, 1989.
27. Atucha NM, Ramírez A, Cegarra M, Quesada T, García-Estañ J: Pressure diuresis and natriuresis in cirrhotic rats. *Am J Physiol* 265:G1043-G1049, 1993.