

Papel del óxido nítrico en las alteraciones renales de la cirrosis hepática

N. M. Atucha, A. M. Ramírez, M. C. Pérez, C. Martínez, A. Sánchez, T. Quesada y J. García-Estañ
Departamento de Fisiología, Facultad de Medicina, Universidad de Murcia.

En 1980, Furchgott y Zawadzki¹ describieron que los efectos vasodilatadores de la acetilcolina son mediados por un factor liberado por las células endoteliales que produce relajación del músculo liso y al que llamaron factor relajante derivado del endotelio (FRDE). En los años siguientes se realizaron importantes avances en la caracterización química del FRDE, identificado como óxido nítrico (NO), en su biosíntesis, en las alteraciones fisiológicas y farmacológicas que modulan su liberación y en el mecanismo de la vasodilatación inducida por él²⁻⁷. Desde un punto de vista fisiológico, mientras que numerosos estudios han caracterizado las consecuencias derivadas de la inhibición de la síntesis de NO, que produce un aumento de presión arterial, vasoconstricción renal y retención de sodio^{7,8}, todavía no se ha desarrollado un método eficaz de producir un aumento sostenido en los niveles de NO. Sin embargo, la estimulación transitoria de la síntesis de NO mediante la administración intravenosa de acetilcolina o bradiquinina produce un descenso de presión arterial, vasodilatación renal y natriuresis^{7,8}. Por otra parte, mientras algunos procesos patológicos como la hipertensión arterial, la diabetes mellitus y la arteriosclerosis se acompañan de un déficit en la producción de NO, otras situaciones como el embarazo, la septicemia y la cirrosis hepática muestran una estimulación de la síntesis de NO. En las siguientes líneas revisaremos los distintos estudios que apoyan la idea de que una síntesis excesiva de NO puede ser responsable de la gran vasodilatación sistémica que caracteriza a la cirrosis hepática⁹⁻¹¹. En el momento de escribir este artículo, prácticamente todas las evidencias favorables a esa idea son indirectas y, por lo tanto, no conocemos todavía con seguridad si la sín-

tesis de NO está realmente elevada en la cirrosis, ni los estímulos responsables de esa probable mayor actividad de NO o los factores que la modulan. En esta revisión se hará especial énfasis en el estudio del NO renal como mecanismo fisiopatológico de la retención de sodio y agua de la cirrosis hepática, acontecimiento que, aparentemente secundario a la vasodilatación periférica, determina la expansión del volumen plasmático, el aumento del gasto cardíaco y la aparición de ascitis.

Antecedentes

Hipotensión arterial y resistencias vasculares disminuidas, junto con un aumento del gasto cardíaco, son importantes características de la cirrosis hepática que definen una circulación hiperdinámica. Actualmente se acepta que este estado hiperdinámico juega un papel primario en la activación de los sistemas antinatriuréticos (sistema renina-angiotensina, sistema nervioso simpático y vasopresina) que conduce a la retención de sodio y agua. Aunque el origen de la alteración hemodinámica no está claro, la vasodilatación sistémica de la cirrosis está probablemente relacionada con una falta de balance entre las sustancias endógenas vasodilatadoras y vasoconstrictoras. De hecho, la cirrosis hepática es una enfermedad con tendencia a la hipotensión arterial, y esto es sorprendente cuando se consideran los elevados niveles de catecolaminas, vasopresina y angiotensina II que presentan los pacientes y los modelos experimentales de cirrosis¹¹. Sin embargo, la respuesta vascular a esos vasoconstrictores está muy reducida en la cirrosis y se ha sugerido que la causa es una excesiva producción de sustancias vasodilatadoras. Además, las alteraciones hemodinámicas de la cirrosis son muy similares a las que tienen lugar tras la infusión de sustancias vasodilatadoras¹². Los estudios realizados hasta la fecha sobre prostaglandinas, quininas o péptido natriurético auricular indican que ninguno de ellos es el principal mediador vasodilata-

Correspondencia: Jaquín García-Estañ López.
Departamento de Fisiología.
Facultad de Medicina.
30100 Murcia.

dor en la cirrosis. Una nueva sustancia vasodilatadora de origen endotelial, el NO, está siendo sometida a escrutinio para comprobar si, como se ha propuesto⁹, puede ser el factor vasodilatador mediador de las alteraciones sistémicas y locales de la cirrosis hepática.

Indicios de una producción excesiva de NO en la cirrosis

La mayoría de los trabajos publicados hasta la fecha sólo han proporcionado datos indirectos de una mayor producción de NO en cirrosis. Así, las curvas dosis-respuesta construidas con inhibidores de la síntesis de NO muestran una mayor sensibilidad presora en animales cirróticos (tetracloruro de carbono, Cl₄C) despiertos o anestesiados^{13,14}, en ratas con ligadura parcial de la vena porta (LVP) anestesiadas¹⁵ o en animales con ligadura del conducto biliar (LCB) anestesiados¹⁶ que en sus respectivos controles. Sin embargo, los investigadores que han usado una única dosis de inhibidor no han encontrado una mayor respuesta presora en animales con LCB o con LVP que en sus respectivos controles^{17,18}. Por lo que hace a pacientes cirróticos, sólo hay un estudio publicado¹⁹ y es muy interesante, porque muestra que la inyección de azul de metileno, un bloqueante de la acción del NO, aumentó la presión arterial en un paciente con cirrosis hepática descompensada y con grave hipotensión arterial. Por otra parte, distintos estudios *in vitro* han comprobado que la menor respuesta presora de varios lechos arteriales a los vasoconstrictores, característica del proceso cirrótico, se corrige o reduce mediante tratamiento con inhibidores de la síntesis de NO²⁰⁻²³, lo cual indicaría una mayor producción basal del NO. Además, estudios de nuestro laboratorio han demostrado que los animales cirróticos exhiben una mayor respuesta vasodilatadora renal en respuesta a acetilcolina, un vasodilatador dependiente de endotelio²⁴, y este resultado sugiere que los riñones cirróticos son capaces de liberar, tras estimulación apropiada, más NO que los controles. Resultados similares se han descrito en un ensayo *in vitro*, en el que la producción de GMPc estimulada por bradiquinina, otro vasodilatador dependiente de endotelio, fue mayor en segmentos aórticos de ratas cirróticas con ascitis que en los de los controles²⁵. Por último, la concentración de nitritos/nitratos séricos, otro índice de la producción de NO, está elevada en pacientes cirróticos y se ha descrito una correlación entre ellos y el nivel de endotoxemia²⁶. Por lo tanto, la gran mayoría de estudios, utilizando una amplia variedad de experimentos, apoyan la idea de una producción elevada de NO en la cirrosis hepática.

Mecanismos de producción de NO en la cirrosis

Una mayor síntesis de NO puede explicarse por al menos dos mecanismos. En primer lugar, el NO puede ser liberado por las células endoteliales en respuesta a un aumento del flujo sanguíneo, mediante un mecanismo de estimulación por rozamiento (shear stress)²⁷. En la cirrosis hepática y en la hipertensión portal se han encontrado flujos sanguíneos elevados en prácticamente todas las circulaciones regionales, incluyendo la esplácnica y la renal^{11,14,15,24}. Sin embargo, no conocemos todavía si ese elevado flujo sanguíneo es la causa o la consecuencia de la mayor producción de NO. En segundo lugar, elevados niveles de endotoxinas o citoquinas, aumentados en la cirrosis²⁸, pueden también contribuir al aumento de la síntesis de NO. Así, se sabe que la endotoxemia estimula una síntesis de NO inducible, tanto en células endoteliales como en musculares lisas, y esta mayor producción de NO inducida por la endotoxina produce vasodilatación e hiporrespuesta a vasoconstrictores que puede ser revertida mediante tratamiento con inhibidores de la síntesis de NO^{29,30}. En apoyo de este mecanismo, ya se ha comentado arriba la correlación que parece existir entre la endotoxemia y los niveles plasmáticos de nitritos/nitratos en pacientes cirróticos²⁶.

Papel del NO en la circulación hiperdinámica de la cirrosis

La administración aguda de inhibidores de la síntesis de NO en animales con cirrosis por Cl₄C o por LCB, o con hipertensión portal por LVP, aumenta la presión arterial en forma dependiente de la dosis, y este efecto hipertensor es mayor en los animales cirróticos que en los controles¹³⁻¹⁶. Además, las resistencias periféricas, esplácnicas y renales se elevan también a niveles similares a los de los controles^{14,15}. En un interesante trabajo en ratas con hipertensión portal, el tratamiento crónico con un inhibidor de la síntesis de NO aumentó la presión arterial y las resistencias periféricas, descendió el gasto cardíaco y el volumen plasmático y corrigió la hipotensión capilar característica de esos animales³¹. Por lo tanto, estos estudios indican que una producción excesiva de NO interviene probablemente en el desarrollo y en el mantenimiento de la circulación hiperdinámica de la cirrosis hepática y de la hipertensión portal.

Papel del NO en las alteraciones renales de la cirrosis

Según la teoría de la vasodilatación arterial periférica¹¹, la retención de agua y sodio de la cirrosis es

secundaria a un infrallenado del árbol vascular arterial motivada por la vasodilatación arterial. Esto activaría los sistemas antinatriuréticos nervioso y hormonales en un intento de compensar y mantener la presión arterial. Como se ha expuesto arriba, el NO es una sustancia que, en animales normales, produce vasodilatación renal, diuresis y natriuresis⁸. Así, la inhibición de la síntesis de NO a dosis no presoras reduce el flujo sanguíneo renal y la excreción de agua y sodio³². Como la tasa de filtración glomerular no cambia en esas condiciones, se puede concluir que el NO inhibe la reabsorción de agua y sodio en alguna parte de la nefrona. Según esto, el bloqueo del NO en animales cirróticos debería producir vasoconstricción renal y mayor retención de agua y sodio. Sin embargo, los pocos estudios realizados hasta la fecha indican que la inhibición de la síntesis de NO, lejos de producir mayor retención de agua y sodio, podría tener un efecto beneficioso en la homeostasis del volumen del animal cirrótico^{13, 31, 33}.

La inhibición de la síntesis de NO, a dosis presoras, en animales cirróticos con ascitis aumenta la diuresis y natriuresis hasta niveles similares a los de los controles¹³. Sin embargo, en estos experimentos, la elevación de la tasa de filtración glomerular concomitante hace que la mayor excreción de sodio y agua no pueda ser atribuida a una inhibición de la reabsorción tubular, sino al incremento de la carga filtrada. Con el objeto de evitar la influencia de los aumentos de presión arterial, que por sí mismos inducen una mayor eliminación de agua y sodio, diseñamos una serie de experimentos que utilizaran dosis no presoras del inhibidor de la síntesis de NO. En estos estudios³³, la infusión de 10 µg/kg/min del inhibidor en animales cirróticos sin ascitis o de 1 µg/kg/min en animales cirróticos con ascitis produjo un importante aumento de diuresis y de natriuresis hasta alcanzar los niveles basales de los controles. Además, esta mayor excreción de agua y sodio observada tras la inhibición de la síntesis de NO no es debida a cambios en la filtración glomerular, y se produjo a pesar de un importante descenso del flujo sanguíneo renal. Más indicios en la misma dirección se encuentran en un trabajo reciente en animales con LVP³¹, en los que la inhibición crónica de la síntesis de NO redujo, aunque no eliminó completamente, el mayor espacio de sodio, índice de retención de sodio, característico de este modelo de hipertensión portal.

Los mecanismos implicados en el efecto beneficioso de los inhibidores de la síntesis de NO sobre la excreción de agua y sodio en los animales cirróticos no están totalmente aclarados. Es posible que la inhibición de la producción de NO produzca una disminución de la actividad del sistema renina-angiotensina, como lo indica¹³ el que la inhibición de la

producción de NO a dosis presoras redujera significativamente los niveles de actividad de renina plasmática (ARP). Sin embargo, en los experimentos en los que se administraron dosis subpresoras, la ARP no se modificó³³. Por otra parte, las prostaglandinas (PGs) son de extraordinaria importancia para mantener la función renal en situaciones en las que los sistemas antinatriuréticos están activados, como en la cirrosis hepática³⁴. Es posible, pues, que la inhibición de la síntesis de NO pueda estimular la liberación o la acción de las PGs. Esta idea se apoya en estudios previos que demostraron que el NO inhibe la liberación de prostaciclina en células endoteliales *in vitro*³⁵. Además, la inhibición de la síntesis de NO en animales cirróticos aumenta la excreción urinaria de 6-ceto-PGF₁¹³, y el bloqueo simultáneo de la síntesis de PGs y de NO reduce drásticamente el flujo sanguíneo renal y la tasa de filtración glomerular de dichos animales³⁶. Según resultados de nuestro laboratorio descritos antes²⁴, los efectos vasodilatadores de la acetilcolina son mayores en el riñón de los animales cirróticos que en el de los controles, y el tratamiento con un inhibidor de la síntesis de NO reduce pero no elimina esas diferencias. Sin embargo, cuando se inhiben simultáneamente las PGs y el NO, la respuesta a la acetilcolina es similar en los cirróticos y en los controles. Todos estos resultados apoyan la idea⁸ de que, en condiciones normales, el principal compuesto sintetizado por el endotelio es el NO, que mantiene la síntesis de PGs en niveles bajos. La inhibición del NO permite la activación de las PGs, que pueden no sólo compensar la acción natriurética del NO, sino incluso aumentarla. Este mecanismo podría explicar el efecto natriurético resultante de la inhibición de la síntesis de NO en los animales cirróticos. Estudios recientes, sin embargo, indican que el NO estimula la liberación de PGs en diversos tipos celulares³⁷. Por lo tanto, será necesario realizar nuevos trabajos que estudien específicamente la interacción NO-PGs en el riñón de los animales cirróticos.

Con respecto a la hemodinámica renal, los trabajos publicados no permiten una conclusión clara respecto al papel del NO en la hiperemia renal de los pacientes y animales cirróticos. La infusión de dosis presoras de inhibidores de la síntesis de NO reduce el flujo sanguíneo renal de los animales cirróticos^{14, 16}, y estas respuestas son mayores que en los animales controles. En nuestros experimentos con dosis no presoras del inhibidor del NO, los descensos del flujo sanguíneo renal fueron siempre mayores en los animales cirróticos que en los controles³³, lo que sugiere una mayor contribución del NO. Sin embargo, resultados obtenidos en riñones aislados y perfundidos de animales con hipertensión portal indican que, además del papel vasodilatador del NO y de las prosta-

glandinas, otros factores, probablemente estructurales, podrían también intervenir en el mantenimiento del elevado flujo sanguíneo renal de la cirrosis hepática (García-Estañ y cols., datos no publicados).

Conclusiones

Aunque parece existir una mayor actividad sistémica y renal de NO en la cirrosis hepática, el riñón se comporta como si existiera una deficiencia en su interior. En otras palabras, el riñón cirrótico parece ser refractario al efecto diurético y natriurético del NO, pero no al vasodilatador. De hecho, si el riñón cirrótico está vasodilatado, debería eliminar más agua y sodio. Además, si el NO intrarrenal está elevado en la cirrosis, el riñón debería retener menos agua y sodio. Una posibilidad es que la elevación intrarrenal del NO se produzca como mecanismo compensatorio ante la estimulación endógena de los sistemas vasoconstrictores antinatriuréticos que, como se sabe, tienen una acción predominante en la retención de sodio de la cirrosis. Este aumento compensatorio de NO, sin embargo, no sería suficiente para compensar el efecto antinatriurético. Otras posibilidades, que conviene explorar en detalle, podrían también explicar la refractariedad a la acción diurética y natriurética del NO en la cirrosis. Esperemos que los trabajos a realizar en los próximos años nos proporcionen la información que todavía nos falta.

Agradecimientos

Los trabajos de los autores aquí reseñados han sido realizados gracias a ayudas del FIS (90-0541, 93/1227 y 94/0713).

Bibliografía

1. Furchgott RF, Zawadzki JV: The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial blood muscle by acetylcholine. *Nature* 299:373-376, 1980.
2. Moncada S, Palmer RMJ, Higgs EA: The discovery of nitric oxide as the endogenous nitrovasodilator. *Hypertension* 12:365-372, 1988.
3. Furchgott RF, Vanhoutte PM: Endothelium-derived relaxing and contracting factors. *Faseb J* 3:2007-2018, 1989.
4. Moncada S, Palmer RMJ, Higgs EA: Nitric oxide: physiology, pathophysiology and pharmacology. *Pharmacol Rev* 43:109-142, 1991.
5. Ignarro LJ: Biosynthesis and metabolism of endothelium-derived nitric oxide. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 30:535-560, 1990.
6. Ignarro LJ: Nitric oxide: a novel signal transduction mechanism for transcellular communication. *Hypertension* 16:477-483, 1990.
7. Romero JC, Lahera V, Salom MG, Biondi ML: Role of endothelium-dependent relaxing factor nitric oxide on renal function. *J Am Soc Nephrol* 2:1371-1387, 1992.
8. Tolins JP, Palmer RMJ, Moncada S, Raji L: Role of endothelium-derived relaxing factor in regulation of renal hemodynamic responses. *Am J Physiol* 258:H655-H662, 1990.
9. Vallance P, Moncada S: Hyperdynamic circulation in cirrhosis: a role for nitric oxide? *Lancet* 337:776-777, 1991.
10. Stark ME, Szurszewski JH: Role of nitric oxide in gastrointestinal and hepatic function and disease. *Gastroenterology* 103:1928-1949, 1992.
11. 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.
12. Tzoporis J, Fields N, Lee R, Leenen F: Arterial vasodilation and cardiovascular structural changes in normotensive rats. *Am J Physiol* 260:H1944-H1952, 1991.
13. 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.
14. 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.
15. 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.
16. Ramírez A, Atucha NM, Matzilevich M, Ubeda M, Quesada T, García-Estañ J: Efectos de la inhibición de la síntesis de óxido nítrico sobre la hemodinámica y la excreción renal en ratas con ligadura del conducto biliar (abstract). *Gastroenterología y Hepatología* 16:245, 1993.
17. Sogni P, Moreau 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.
18. Iwata F, Jbh T, Kawai T, Itoh M: Role of EDRF in splanchnic blood flow of normal and chronic portal hypertensive rats. *Am J Physiol* 263:G149-G154, 1992.
19. Midgley S, Grant IS, Haynes WG, Webb DJ: Nitric oxide in liver failure (letter). *Lancet* 338:1590, 1991.
20. Lee F-Y, Albillos A, Colombato LA, Groszmann RJ: The role of nitric oxide in the vascular hyporesponsiveness to methoxamine in portal hypertensive rats. *Hepatology* 16:1043-1048, 1992.
21. Villamediana LM, Diéguez G, Santos JC, García-Villalón AL, Caramelo C, López-Novoa J: Vascular reactivity to norepinephrine in rats with cirrhosis of the liver. *Can J Physiol Pharmacol* 66:667-670, 1988.
22. Sieber CC, López-Talavera JC, Groszmann RJ: Role of nitric oxide in the *in vitro* splanchnic vascular hyporeactivity in ascitic cirrhotic rats. *Gastroenterology* 104:1750-1754, 1993.
23. Castro A, Jiménez W, Clària J, Ros J, Martínez JM, Bosch M, Arroyo V, Piulats J, Rivera F, Rodés J: Impaired responsiveness to angiotensin II in experimental cirrhosis: role of nitric oxide. *Hepatology* 18:367-372, 1993.
24. García-Estañ J, Atucha NM, Sabio JM, Vargas F, Quesada T, Romero JC: Increased endothelium-dependent renal vasodilation in cirrhotic rats. *Am J Physiol* (267: R549-R553, 1994), 1994. (Abstract en *J Am Soc Nephrol* 4:550, 1993).
25. Ros J, Jiménez W, Lamas S, Clària J, Arroyo V, Rivera F, Rodés J: Increased vascular nitric oxide synthase activity in aortic segments of rats with cirrhosis and ascites (abstract). *J Hepatol* 18:S14, 1993.
26. Guarner C, Soriano G, Tomás A, Bulbena O, Novella MT,

- Balanzó J, Vilardell F, Mourelle M, Moncada S: Increased serum nitrite and nitrate levels in patients with cirrhosis: relationship to endotoxemia. *Hepatology* 18:1139-1143, 1993.
27. Rubanyi GM, Romero JC, Vanhoutte PM: Flow-induced release of endothelium-derived relaxing factor. *Am J Physiol* 250:H1145-H1149, 1986.
28. Lumsden AB, Henderson JM, Kutner MH: Endotoxin levels measured by a chromogenic assay in portal, hepatic and peripheral venous blood in patients with cirrhosis. *Hepatology* 8:232-236, 1988.
29. Rees DD, Cellek S, Palmer RMJ, Moncada S: Dexamethasone prevents the induction by endotoxin of a nitric oxide synthase and the associated effects on vascular tone: an insight into endotoxin shock. *Biochem Biophys Res Commun* 173:541-547, 1990.
30. Gray GA, Schott C, Julou-Schaeffer G, Fleming I, Parrat JR, Stoclet JC: The effect of inhibitors of the L-arginine/nitric oxide pathway on endotoxin-induced loss of vascular responsiveness in anesthetized rats. *Br J Pharmacol* 103:1218-1224, 1991.
31. Lee F-Y, Colombato LA, Albillos A, Groszmann RJ: N^w-nitro-L-arginine administration corrects peripheral vasodilation and systemic capillary hypotension and ameliorates plasma volume expansion and sodium retention in portal hypertensive rats. *Hepatology* 17:84-90, 1993.
32. Lahera V, Salom MG, Miranda-Guardiola F, Moncada S, Romero JC: Effects of N^o-nitro-L-arginine methylester on renal function and blood pressure. *Am J Physiol* 261:F1033-F1037, 1991.
33. Atucha NM, Ramírez A, Quesada T, Romero JC, García-Estañ J: Renal effects of nitric oxide synthesis inhibition in cirrhotic rats. *Am J Physiol* (en prensa), 1994. (Abstract en *J Am Soc Nephrol* 4:544, 1993).
34. Zipser RD, Lifschitz MD: Prostaglandins and related compounds. En: Epstein M (ed). *The kidney in liver disease*, 3rd. ed. Baltimore: Williams & Wilkins, 393-415, 1988.
35. Doni MG, Whittle BJR, Palmer RMJ, Moncada S: Actions of nitric oxide on the release of prostacyclin from bovine endothelial cells in culture. *Eur J Pharmacol* 151: 19-25, 1988.
36. Ros J, Clària J, Jiménez W, Asbert M, Castro A, Arroyo V, Rivera F, Rodés J: Role of nitric oxide and prostaglandins in the regulation of renal perfusion in conscious rats with cirrhosis and ascites. *J Hepatol* 16 (Supp. 1):S5, 1992.
37. Salvemini D, Misko TP, Masferrer JL, Seibert K, Currie MG, Needleman P: Nitric oxide activates cyclooxygenase enzymes. *Proc Natl Acad Sci USA* 90:7240-7244, 1993.