

# Inhibición del sistema de cotransporte sodio, potasio en eritrocitos de pacientes con cirrosis hepática

J. I. VARELA \*, J. DIEZ \*\* y J. PARIETO \*

\* Departamento de Medicina Interna \*\* Servicio de Nefrología. Clínica Universitaria. Facultad de Medicina. Pamplona.

## RESUMEN

En la cirrosis hepática, entidad caracterizada por una alteración de la regulación del balance sistémico de sodio ( $\text{Na}^+$ ), se han descrito algunas alteraciones del balance celular de  $\text{Na}^+$ . En este trabajo se ha estudiado la actividad de los sistemas de transporte de  $\text{Na}^+$  de eritrocitos de pacientes con cirrosis. La principal observación es que la actividad del sistema que transporta acopladamente  $\text{Na}^+$ , potasio ( $\text{K}^+$ ), y tal vez cloro, está significativamente inhibida en la totalidad de los pacientes con ascitis y en un subgrupo de los pacientes sin ascitis. Asimismo, se ha observado que los pacientes con ascitis presentan una significativa disminución del contenido intraeritrocitario de  $\text{Na}^+$ . No se han observado cambios significativos en la actividad de la bomba de  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$  ni en la actividad del contratransporte  $\text{Na}^+$ : litio. Tampoco se han hallado anomalías significativas en los movimientos pasivos de  $\text{Na}^+$  a través de la membrana eritrocitaria. Puesto que el sistema de cotransporte  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$  parece funcionar como regulador del gradiente iónico transmembranario, nuestros resultados sugieren que los pacientes cirróticos, incluso antes de la aparición de ascitis, presentan alterada la capacidad para regular adecuadamente el balance intraeritrocitario de  $\text{Na}^+$ .

Palabras clave: Cirrosis. Ascitis. Eritrocitos. Cotransporte,  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ .

## SUMMARY

### SODIUM, POTASSIUM COTRANSPORT INHIBITION IN ERYTHROCYTES FROM PATIENTS WITH LIVER CIRRHOSIS

Deranged renal sodium ( $\text{Na}^+$ ) handling is a common complication of cirrhosis of the liver. The responsible mechanisms remain incompletely understood. On the other hand,  $\text{Na}^+$  transport and cellular  $\text{Na}^+$  content abnormalities have been reported in patients with liver cirrhosis. We, thus, have performed a study of  $\text{Na}^+$  transport in erythrocytes from 20 patients with liver cirrhosis (10 patients with ascites and 10 patients without ascites). The main result of this paper is that erythrocytes from all patients with ascites and erythrocytes from fifty per cent of patients without ascites show an inhibition of  $\text{Na}^+$ , potassium ( $\text{K}^+$ ), and may be chloride, system. In addition, a decrease in erythrocyte  $\text{Na}^+$  content has been observed in patients with ascites. The activity of  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$  pump is not altered in erythrocytes from cirrhotic patients. No changes have been observed in  $\text{Na}^+$ : Lithium countertransport system. Passive permeability of erythrocyte membrane to  $\text{Na}^+$  is not significantly altered. Since the cotransport system seems to regulate the intracellular  $\text{Na}^+$  concentration around a equilibrium point near the physiological  $\text{Na}^+$  concentration, our findings suggest that cirrhotic patients are not able to adequately regulate the erythrocyte  $\text{Na}^+$  balance.

Key words: Cirrhosis. Ascites. Erythrocytes.  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ , Cotransport.

## INTRODUCCION

La hipertensión arterial esencial (HTAe) es una entidad en cuya patogenia se invoca clásicamente una incapacidad del riñón para regular adecuadamente el balance sistémico de  $\text{Na}^+$ . Los resultados obtenidos recientemente en modelos animales de hipertensión equiparables a la HTAe sugieren que la regulación del balance celular de  $\text{Na}^+$  también estaría alterada en la hipertensión<sup>2,4</sup>. Esos mismos estudios muestran que las células que participan en la homeostasis cardiovascular (neuronas<sup>3</sup>; células vasculares<sup>4</sup>) y en la homeostasis del medio interno (células tubulares renales<sup>2</sup>) no regulan adecuadamente el balance celular de  $\text{Na}^+$ . En la HTAe se han descrito alteraciones del transporte de  $\text{Na}^+$  en células sanguíneas<sup>5</sup> finalmente responsables de que dichas células no regulen adecuadamente el balance celular de  $\text{Na}^+$ . Se admite actualmente que las células sanguíneas pueden constituir un modelo aceptable para el estudio de la regulación del balance celular de  $\text{Na}^+$  en la HTAe, pues las células más directamente relacionadas con la presión arterial (células tubulares renales, neuronas, células musculares lisas vasculares, etc.), no son accesibles para fines experimentales.

La cirrosis hepática es otra entidad en la que clásicamente se admite que el riñón es incapaz de excretar  $\text{Na}^+$  adecuadamente<sup>6</sup>. Esa incapacidad ya es detectable en estadios precoces de la enfermedad<sup>7</sup> y se evidencia en condiciones de sobrecarga sódica<sup>8</sup>. Sin embargo, a diferencia de lo que sucede en la HTAe, los pacientes con cirrosis hepática suelen presentar niveles bajos de presión arterial<sup>9</sup>. En el momento presente se desconocen los mecanismos responsables de la inadecuada regulación del balance sistémico de  $\text{Na}^+$  y de la inadecuada regulación de la presión arterial que presentan los pacientes cirróticos. Asimismo, es todavía escasa la información de que se dispone sobre la regulación del balance celular de  $\text{Na}^+$  en la cirrosis<sup>10-13</sup>. Por todo ello, hemos emprendido en nuestro laboratorio la investigación de la actividad de los sistemas de transporte de  $\text{Na}^+$  de la membrana de eritrocitos de pacientes con cirrosis hepática. El objetivo general de dicha investigación es el de adquirir mayor información sobre el metabolismo celular del  $\text{Na}^+$  en la cirrosis y de esta manera, análogamente a como ha sucedido en el campo de la hipertensión, poder comprender mejor la regulación del balance sistémico de  $\text{Na}^+$  y la regulación de la presión arterial en los pacientes con cirrosis.

## MATERIAL Y METODOS

## Sujetos

Grupo control: Constaba de 27 sujetos sanos (14 varones y 13 hembras) de edades comprendidas entre los 20 y los 64 años. Ninguno presentaba historia familiar de HTAe. En el momento del estudio ninguno seguía tratamiento farmacológico alguno y todos seguían dieta libre en sal.

Grupo de pacientes cirróticos: Se hallaba constituido por 20 sujetos. En todos los casos se disponía del diagnóstico anatomopatológico de cirrosis hepática (de origen etílico en 6 casos, de origen postnecrótico en 11 casos y criptogenética en 3 casos). Los pacientes cirróticos se dividieron en dos grupos de 10 sujetos cada uno: cirróticos sin ascitis, 7 varones y 3 hembras de edades comprendidas entre los 24 y los 77 años; cirróticos con ascitis, 8 varones y 2 hembras cuyas edades oscilaban entre los 45 y los 67 años. En el momento del estudio todos los pacientes seguían dieta libre en sal y ninguno había recibido tratamiento con diuréticos o digitálicos en la semana previa.

Estudio de la actividad de los sistemas de transporte de  $\text{Na}^+$  del eritrocito humano

Todos los detalles concernientes a la metodología empleada pueden hallarse en las referencias 14 y 15. En breve el procedimiento experimental consistió en lo siguiente:

Los eritrocitos aislados de sangre venosa se lavaron en  $\text{Cl}_2\text{Mg}$  110 mM y se suspendieron inmediatamente en un medio compuesto por (en mM):  $\text{Cl}_2\text{Mg}$  75, sacarosa 85, MOPS-Tris 10 (pH 7,4 a 37° C) y glucosa 10. Una alícuota de esta suspensión se destinó a la medición del  $\text{Na}^+$  intracelular previa lisis de los eritrocitos. Otras alícuotas de la misma suspensión se añadieron a distintos tubos conteniendo un medio de idéntica composición al señalado, pero con los siguientes aditivos (en mM):  $\text{Cl}_2\text{Mg}$  0,1; ouabaina 0,1 + bumetanida 0,01 y ouabaina 0,1 + bumetanida 0,01 +  $\text{ClLi}$  10. Todos los pasos precedentes se efectuaron a 4° C. Al tiempo  $t = 0$  los tubos se transfirieron a un baño a 37° C para su incubación ulterior. Tras tiempos variables de incubación se midió la concentración de  $\text{Na}^+$  en los sobrenadantes. Todas las medidas de la concentración de  $\text{Na}^+$  se realizaron mediante espectrofotometría de absorción atómica.

El flujo de  $\text{Na}^+$  catalizado por la bomba de  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ , el cotransporte  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$  y el contratransporte  $\text{Na}^+$ : Li, así como el flujo de  $\text{Na}^+$  no catalizado por ninguno de estos sistemas de transporte o «flujo pasivo» se midieron simultáneamente. La actividad de la bomba de  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$  se evaluó a partir del componente sensible a la ouabaina del flujo total de  $\text{Na}^+$  medido tras 30 minutos de incubación. La actividad del cotransporte  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$  se valoró a partir del componente sensible a la bumetanida del flujo total de  $\text{Na}^+$  medido a los 120 minutos de incubación. El flujo de  $\text{Na}^+$  resistente a la ouabaina y a la bumetanida y estimulado por el Li medido a los 120 minutos se utilizó para evaluar la actividad del contratransporte  $\text{Na}^+$ : Li. El «flujo pasivo» de  $\text{Na}^+$  se consideró como aquel componente del flujo total de  $\text{Na}^+$  detectado a los 120 minutos en un medio sin Li, bicarbonato ni calcio y con ouabaina y bumetanida. Dado que el método empleado para medir los flujos de  $\text{Na}^+$  utiliza un enfoque cinético (se mide la capacidad que tiene un sistema de transporte para extruir el  $\text{Na}^+$  intracelular a un medio extracelular sin  $\text{Na}^+$ )<sup>16</sup>, la evaluación precisa de la actividad de los sistemas de transporte de  $\text{Na}^+$  estudiados exigía el análisis de la constante de flujo (= flujo de  $\text{Na}^+$ /contenido intracelular de  $\text{Na}^+$ ). Dicho parámetro considera la dependencia que presentan los flujos catalizados por un sistema de transporte de la cuantía disponible de sustrato (en nuestro caso el  $\text{Na}^+$  intracelular).

## Otros estudios

La determinación de electrolitos en sangre y en orina se efectuó mediante fotometría de llama. La determinación de las concentraciones plasmática y urinaria de creatinina, para cálculo del aclaramiento de creatinina, se efectuó utilizando un método colorimétrico basado en la reacción de Jaffé. La presión arterial media se calculó a partir de los registros de presión arterial sistólica y diastólica efectuados convencionalmente. El volumen corpuscular medio eritrocitario se determinó mediante un autoanalizador Coulter-Counter.

**Estudio estadístico**

Todos los valores de este estudio se expresan como MEDIA  $\pm$  EEM. Para el análisis de la significación estadística se ha empleado el test de la «t» de Student para datos no pareados. Se han efectuado estudios de regresión lineal para analizar la correlación existente entre distintos parámetros. Se ha considerado estadísticamente significativa una  $p < 0,05$ .

**RESULTADOS**
**Parámetros renales y sistémicos**

La tabla I recoge algunos parámetros indicativos de la función renal de los sujetos estudiados. Puede apreciarse que no existen diferencias significativas en ninguno de los parámetros entre los grupos estudiados. Sin embargo, se observa que los pacientes cirróticos con ascitis tienden a presentar peor función renal que los pacientes sin ascitis y los controles, pues muestran: menor aclaramiento de creatinina, menor débito urinario y menor natriuresis. Asimismo, los pacientes con ascitis tienden a presentar niveles más bajos de natremia. Una tendencia similar se constata en lo que concierne a la presión arterial media. Aunque sin diferencias significativas, los pacientes con ascitis presentan una presión arterial inferior que la de los sujetos de los otros dos grupos.

**Contenido intraeritrocitario de Na<sup>+</sup>**

Como se muestra en la figura 1, el contenido intraeritrocitario de Na<sup>+</sup> es similar en los pacientes cirróticos sin ascitis que en los controles ( $6,75 \pm 0,76$  vs  $7,02 \pm 0,22$ , mmoles. l<sup>-1</sup> células). Sin embargo, los cirróticos con ascitis presentan un contenido intraeritrocitario de Na<sup>+</sup> significativamente ( $p < 0,02$ ) menor que los controles ( $5,92 \pm 0,37$  mmoles. l<sup>-1</sup> células). Asimismo, se puede observar en la figura 2 que existe una correlación positiva significativa ( $p < 0,05$ ) entre el contenido intracelular de Na<sup>+</sup> y la concentración plasmática de Na<sup>+</sup> en los cirróticos con ascitis.

**Actividad de los sistemas de transporte de Na<sup>+</sup>**

En la tabla II se recogen los resultados correspondientes a los parámetros empleados para valorar la actividad de los distintos sistemas de transporte de Na<sup>+</sup> del eritrocito humano.

Actividad de la bomba de Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>:

Los cirróticos sin ascitis presentan un flujo de Na<sup>+</sup> ca-

talizado por la bomba de Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup> y una constante de flujo muy similares a las que presentan los controles. Teniendo en cuenta que el contenido intraeritrocitario de Na<sup>+</sup> es similar en ambos grupos (Fig. 1) puede afirmarse que la actividad de la bomba de Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup> de los cirróticos sin ascitis no difiere de la que presentan los controles sanos.

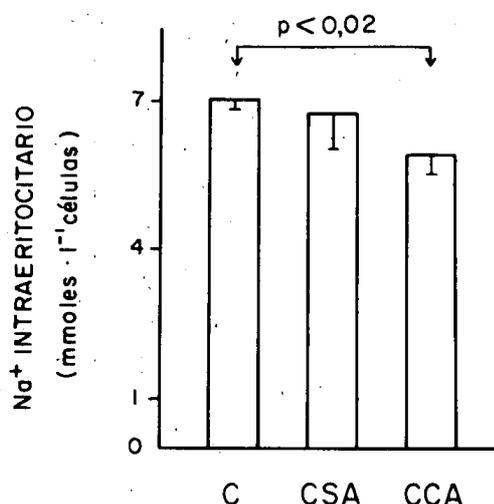


Fig. 1.—El contenido intracelular de Na<sup>+</sup> en eritrocitos de sujetos control (C), pacientes cirróticos sin ascitis (CSA) y pacientes cirróticos con ascitis (CCA).

Los cirróticos con ascitis tienden a presentar un flujo de Na<sup>+</sup> catalizado por la bomba de Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup> menor que los sujetos control (y menor que los pacientes sin ascitis). Por otra parte, como muestra la figura 1, el contenido intraeritrocitario de Na<sup>+</sup> es significativamente menor en los pacientes con ascitis y presenta una correlación significativamente positiva ( $p < 0,05$ ) con el flujo de Na<sup>+</sup> catalizado por la bomba de Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup> (Fig. 3). Por ello no es de extrañar que la constante de flujo de la bomba tienda a ser superior en los eritrocitos de los pacientes con ascitis. Todo ello significa que la actividad de la bomba de Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup> eritrocitaria no sólo no está disminuida en la cirrosis con ascitis, sino que tiende a estar aumentada.

Actividad del cotransporte Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>:

Al compararlos con los sujetos control, los pacientes cirróticos con ascitis presentan una disminución significativa ( $p < 0,005$ ) de la actividad del cotransporte Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup> eritrocitario, caracterizada por una disminución del flujo de Na<sup>+</sup> catalizado por dicho sistema y una disminución

TABLA I

**PARAMETROS RENALES Y SISTEMICOS**

	A.Cr. ml/min.	V.M. ml/min.	Na <sup>+</sup> <sub>o</sub> mmol/min.	Na <sup>+</sup> <sub>p</sub> mmol/l.	Presión arterial media mmHg
Controles	100 $\pm$ 20	1,10 $\pm$ 0,25	0,10 $\pm$ 0,05	140 $\pm$ 5,0	90 $\pm$ 10
Cirróticos:					
Sin ascitis	104 $\pm$ 07	0,99 $\pm$ 0,12	0,07 $\pm$ 0,01	140 $\pm$ 0,4	88 $\pm$ 10
Con ascitis	86 $\pm$ 13	0,92 $\pm$ 0,12	0,04 $\pm$ 0,01	134 $\pm$ 3,0	85 $\pm$ 06

A.Cr.: Aclaramiento de creatinina. V.M.: Volumen minuto urinario. Na<sup>+</sup><sub>o</sub>: Na<sup>+</sup> urinario. Na<sup>+</sup><sub>p</sub>: Na<sup>+</sup> plasmático.

TABLA II

ACTIVIDAD DE LOS SISTEMAS DE TRANSPORTE DE Na<sup>+</sup>

	Bomba de Na <sup>+</sup> , K <sup>+</sup>		Cotransporte Na <sup>+</sup> , K <sup>+</sup>		Cotransporte Na <sup>+</sup> :Li <sup>+</sup>	Transporte no sensible a ouabaina y bumetanida	
	Flujo sensible a ouabaina	Constante de flujo	Flujo sensible a bumetanida	Constante de flujo	Flujo estimulado por Li <sup>+</sup>	Flujo pasivo	Constante de flujo
Controles	1.823 ± 80	0,260 ± 0,009	161 ± 10	0,023 ± 0,001	84 ± 06	163 ± 14	0,022 ± 0,002
Cirróticos:							
Sin ascitis	1.711 ± 95	0,254 ± 0,012	154 ± 26	0,020 ± 0,002	112 ± 09	115 ± 12	0,016 ± 0,001
Con ascitis	1.637 ± 169	0,276 ± 0,025	43 ± 09*	0,010 ± 0,002*	113 ± 24	124 ± 36	0,021 ± 0,006

Los flujos se dan en μmoles.l<sup>-1</sup> células.h<sup>-1</sup>. Las constantes de flujo se dan en h<sup>-1</sup>.  
 \*: p < 0,005 con respecto al grupo de controles y al grupo de cirróticos sin ascitis.

de la constante de flujo. Así pues, se puede afirmar que en la cirrosis con ascitis existe una inhibición del cotransporte Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup> de los eritrocitos.

El funcionamiento del sistema de cotransporte de los eritrocitos de los pacientes sin ascitis no difiere del que presentan los controles cuando aquellos se consideran como grupo. Sin embargo, la figura 4 muestra que al considerar individualmente a los pacientes sin ascitis, la mitad presenta un flujo de Na<sup>+</sup> catalizado por el cotransporte Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup> tan bajo como el presentado por los cirróticos con ascitis. Por tanto, el estudio de la actividad del cotransporte Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup> eritrocitario permite dividir a los pacientes cirróticos sin ascitis en dos grupos: los que tienen una actividad normal del cotransporte y los que tienen una actividad del cotransporte tan disminuida como los pacientes con ascitis.

Se ha demostrado que el aumento significativo del volumen celular disminuye marcadamente el flujo de Na<sup>+</sup> catalizado por el cotransporte Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup> eritrocitario<sup>17, 18</sup>. Por ello se ha analizado el volumen eritrocitario de los sujetos estudiados. Como se observa en la figura 5, no existen variaciones significativas del volumen corpuscular medio de los eritrocitos de los pacientes cirróticos comparados con los sujetos control (controles 100 ± 5

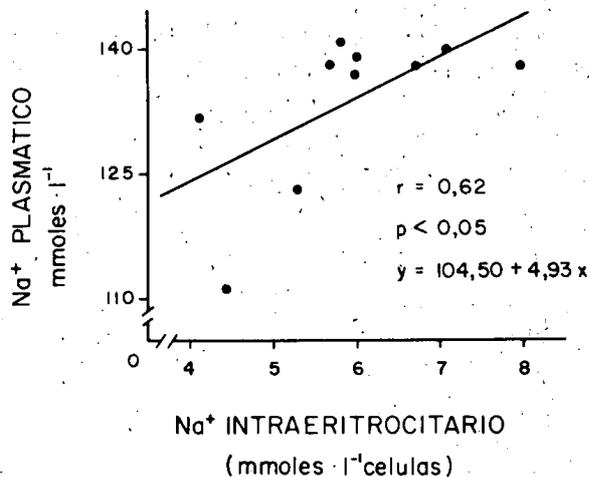


Fig. 2.—Recta de regresión de la correlación existente entre el contenido intraeritrocitario de Na<sup>+</sup> y la concentración plasmática de Na<sup>+</sup> en pacientes cirróticos con ascitis.

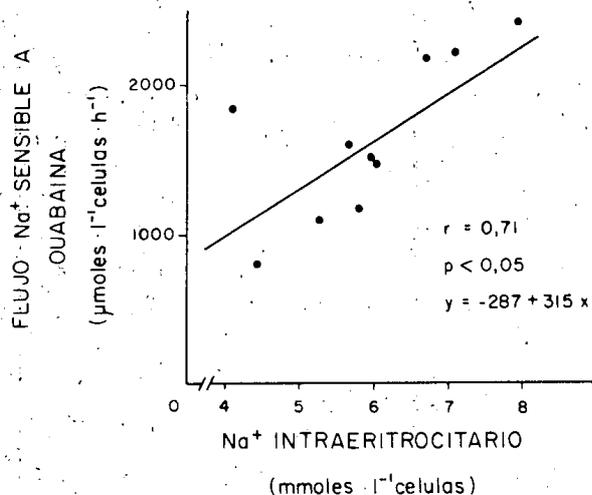


Fig. 3.—Recta de regresión de la correlación existente entre el contenido intraeritrocitario de Na<sup>+</sup> y el flujo de Na<sup>+</sup> sensible a la ouabaina catalizado por la bomba de Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup> de eritrocitos de pacientes cirróticos con ascitis.

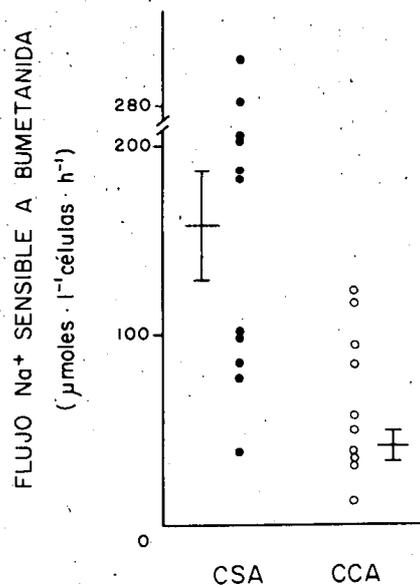


Fig. 4.—Distribución de los valores individuales del flujo de Na<sup>+</sup> sensible a la bumetanida catalizado por el cotransporte Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup> de eritrocitos de pacientes cirróticos sin ascitis (CSA) y pacientes cirróticos con ascitis (CCA).

μ<sup>3</sup>, cirróticos sin ascitis 100 ± 2 μ<sup>3</sup>, cirróticos con ascitis 105 ± 5 μ<sup>3</sup>).

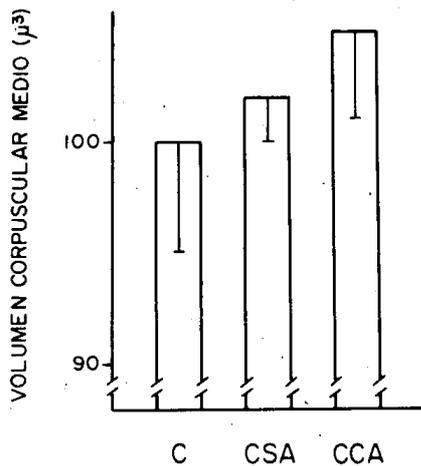


Fig. 5.—Volumen de los eritrocitos de sujetos control (C), pacientes cirróticos sin ascitis (CSA) y pacientes cirróticos con ascitis (CCA).

#### Actividad del contratransporte $\text{Na}^+ : \text{Li}^+$ :

El flujo de  $\text{Na}^+$  estimulado por el  $\text{Li}^+$  extracelular o flujo de  $\text{Na}^+$  catalizado por el contratransporte  $\text{Na}^+ : \text{Li}^+$ , tiende a estar más elevado en los pacientes cirróticos, sin que se aprecien diferencias entre el grupo con y el grupo sin ascitis.

Transporte de  $\text{Na}^+$  no sensible a ouabaina y bumetanida:

En un medio sin  $\text{Na}^+$ , sin  $\text{Li}^+$ , sin calcio y sin bicarbonato, es posible observar extrusión de  $\text{Na}^+$  por los eritrocitos, incluso en presencia de ouabaina y bumetanida. La mayor parte de ese flujo corresponde al «flujo pasivo» de  $\text{Na}^+$  a través del lecho lipídico de la membrana eritrocitaria. La constante de flujo del flujo resistente a la ouabaina y a la bumetanida constituye un índice de la permeabilidad pasiva de la membrana al  $\text{Na}^+$ .<sup>16</sup>

Se puede observar que los movimientos pasivos de  $\text{Na}^+$  a través de la membrana eritrocitaria tienden a estar disminuidos en los pacientes con cirrosis.

## DISCUSION

Estudios realizados en otros laboratorios, utilizando células sanguíneas como modelo experimental, sugieren que los mecanismos de transporte que regulan el balance celular de  $\text{Na}^+$  pueden estar alterados en la cirrosis hepática<sup>11, 13</sup>. Sin embargo, dichos estudios presentan dos tipos de limitaciones: 1) no discriminan entre cirróticos con o sin alteración del balance sistémico de  $\text{Na}^+$  y 2) no analizan el comportamiento individualizado de los mecanismos o sistemas de transporte de  $\text{Na}^+$  emplazados en la membrana celular. En este trabajo se ha analizado la actividad de cada uno de los sistemas de transporte de  $\text{Na}^+$  de la membrana de eritrocitos de pacientes cirróticos sin ascitis y de pacientes cirróticos con ascitis que presentaban una menor concentración plasmática de  $\text{Na}^+$  y una menor capacidad renal de excretar  $\text{Na}^+$ .

El principal resultado obtenido es que la actividad del

mecanismo de la membrana eritrocitaria que transporta acopladamente  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$  y tal vez  $\text{Cl}^-$  (cotransporte) está disminuida en los pacientes cirróticos con ascitis y en un subgrupo de pacientes cirróticos sin ascitis. Este resultado está en la línea de los resultados publicados por OWEN y MCINTYRE<sup>11</sup> que hallan que el flujo de  $\text{Na}^+$  resistente a la ouabaina está disminuido en eritrocitos de pacientes con hepatopatías diversas. Los trabajos de SEWELL et al.<sup>13</sup> confirman dicho hallazgo en leucocitos de pacientes cirróticos.

El sistema de cotransporte parece funcionar como un regulador del gradiente iónico transmembranario, pues cualquier cambio en la concentración interna de  $\text{Na}^+$  o externa de  $\text{K}^+$  es corregida por un flujo neto de cotransporte en la dirección opuesta a la de la perturbación iónica.<sup>19</sup> Por tanto, en la cirrosis, principalmente en la que cursa con ascitis, está disminuida la capacidad del eritrocito para regular su balance de  $\text{Na}^+$ .

La inhibición de la actividad del cotransporte  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$  eritrocitario puede estar en relación con factores intrínsecos o extrínsecos a la célula. Entre los primeros hay que contar con que en las enfermedades hepáticas se han descrito anomalías en la composición lipídica de la membrana eritrocitaria que se correlacionaban con disminución del flujo de  $\text{Na}^+$  resistente a la ouabaina<sup>11</sup>. En lo que concierne a los factores extrínsecos cabe señalar que en la cirrosis con ascitis se han caracterizado diversas anomalías hormonales cuya relación con el cotransporte  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$  puede ser interesante considerar. Se han descrito niveles elevados de catecolaminas circulantes<sup>20</sup>. Las catecolaminas ejercen sus efectos a través de la activación de la adeniliclasa y se ha comprobado que el aumento de los niveles intraeritrocitarios de AMP cíclico inhibe notablemente el cotransporte  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ <sup>21</sup>. Sin embargo, la hormona antidiurética, que también es capaz de activar la adeniliclasa y que se encuentra elevada en la sangre de los cirróticos con ascitis<sup>22</sup>, estimula el cotransporte  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$  de eritrocitos humanos frescos<sup>23</sup>. La aldosterona, otra hormona que se produce en exceso en la cirrosis con ascitis<sup>24</sup>, no es capaz de influenciar el transporte eritrocitario de  $\text{Na}^+$  resistente a los glicósidos cardíacos<sup>25</sup>.

Finalmente, conviene resaltar la observación de que se ha detectado una anomalía de la regulación del balance celular de  $\text{Na}^+$  en cirróticos que aún no presentaban ascitis. Este hecho puede ser de interés considerando qué anomalías en la regulación del balance sistémico de  $\text{Na}^+$  han sido descritas en la cirrosis antes de que aparezca ascitis<sup>6</sup>.

En contraposición a resultados previamente publicados en eritrocitos<sup>11</sup> y en leucocitos<sup>13, 26</sup> de cirróticos, la actividad de la bomba de  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$  no se halla inhibida en nuestros pacientes. Antes bien, los pacientes cirróticos con ascitis tienden a presentar una actividad de la bomba de  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$  superior a la de los sujetos control. La discrepancia entre nuestros resultados y los de otros autores puede explicarse sobre la base de que éstos evalúan la

actividad de la bomba a partir del flujo de  $\text{Na}^+$  sensible a la ouabaína e independientemente del contenido intracelular de  $\text{Na}^+$ . Cuando el flujo de  $\text{Na}^+$  que extruye la bomba de  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$  se analiza en función de la concentración intracelular de uno de sus sustratos,  $\text{Na}^+$ , se aprecia de forma más real el grado de actividad transportadora de la bomba<sup>27</sup>. Así, para las bajas concentraciones de  $\text{Na}^+$  que presentan los eritrocitos de los pacientes cirróticos, la actividad transportadora de la bomba es normal, cirróticos sin ascitis, o incluso tiende a ser elevada, cirróticos con ascitis.

En cirróticos con ascitis se han descrito concentraciones elevadas de aldosterona plasmática<sup>22</sup> y, por otra parte, la aldosterona es capaz de estimular la actividad de la  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -ATPasa eritrocitaria<sup>28</sup>. Podría ser de interés evaluar si nuestro hallazgo de una tendencia a la mayor actividad de la bomba de  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$  eritrocitaria de los cirróticos con ascitis está relacionada con un posible hiperaldosteronismo. Por otra parte, NACCARATO et al.<sup>7</sup> han comunicado que los cirróticos con ascitis presentan menor capacidad para producir hormona natriurética. Dado que la hormona natriurética inhibe la actividad de la bomba de  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ <sup>29</sup>, sería interesante evaluar si un déficit de esta hormona se asocia a una mayor actividad de la bomba de  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$  de los eritrocitos.

Aunque no alcanza significación estadística, resulta notoria la disminución del flujo de  $\text{Na}^+$  no sensible a la ouabaína y a la bumetanida que presentan los eritrocitos de los pacientes con cirrosis. Dado que dicho flujo se produce «pasivamente» a través del lecho lipídico membranario, no puede excluirse que esa anomalía esté en relación con una alteración de la composición lipídica de la membrana, como se ha descrito en eritrocitos de pacientes con hepatopatías diversas<sup>11</sup>. Por otra parte, considerando que los pacientes con ascitis tienen menor concentración plasmática de  $\text{Na}^+$ , puede plantearse la posibilidad de que este hecho, en conjunción con la disminución del «flujo pasivo» de  $\text{Na}^+$ , pueda ser responsable de la menor cuantía de  $\text{Na}^+$  que presentan los eritrocitos de esos pacientes. Otros autores han hallado también disminución del contenido intraeritrocitario<sup>10</sup> e intraleucocitario<sup>12</sup> de  $\text{Na}^+$  en cirróticos con ascitis e hiponatremia. Se requieren estudios ulteriores para delimitar si en otras células los cirróticos presentan también menor contenido de  $\text{Na}^+$ . Por ejemplo, a nivel vascular un tal hallazgo, en contraposición a lo que sucede en la hipertensión, podría estar implicado en la tendencia a la hipotensión de los pacientes cirróticos con ascitis.

En resumen, en los eritrocitos de pacientes con cirrosis hepática se pueden objetivar una anomalía del transporte de  $\text{Na}^+$  cuyo origen y significación, aún por aclarar, pueden ayudar a conocer algunos de los efectos celulares de la cirrosis, a la par que pueden permitir comprender mejor algunas de las alteraciones sistémicas que presentan estos pacientes. En el momento actual de la investigación efectuada en este campo no existe base experimental suficiente para extrapolar directamente los resul-

tados obtenidos con eritrocitos a otras células de la economía. Aunque en el caso concreto de la relación eritrocitos-células tubulares, es importante subrayar que el eritrocito es considerado un buen modelo para estudiar el efecto de distintas hormonas sobre los mecanismos de transporte iónico existentes a nivel eritrocitario y a nivel de las células tubulares renales<sup>30</sup>.

#### Agradecimientos

Los autores quieren dejar constancia de que sin la colaboración técnica de doña. Carmen Miqueo este trabajo no se habría llevado a cabo.

#### BIBLIOGRAFIA

1. Tobian L. En «Hypertension». Ed. por J. Genest, O. Kuchel, P. Hamet, M. Cantin. Mc Graw Hill, pp. 73-83. Nueva York, 1983.
2. Beck F, Bianchi G, Dorfe A. Element composition of renal cortical cells in two animal models of primary arterial hypertension. J. Hypertension 1983;1 (supl 2):38-39.
3. Nakazato Y, Ohga A, Onoda Y. The effect of ouabain on noradrenaline output from peripheral adrenergic neurons of isolated guinea-pig vas deferens. J Physiol (Lond) 1978;278:45-54.
4. Friedman SM. En «Hypertension». Ed. por J. Genest, O. Kuchel, P. Hamet, M. Cantin. McGraw Hill, pp. 457-473. Nueva York, 1983.
5. Meyer P, Garay RP, De Mendonca M. En «Hypertension». Ed. por J. Genest, O. Kuchel, P. Hamet, M. Cantin. McGraw Hill, pp. 108-116. Nueva York, 1983.
6. Epstein M. En «Nephrology». Ed. por R. R. Robinson. Springer-Verlag, pp. 449-460. Nueva York, 1984.
7. Naccarato R, Messa P, D'Angelo A. Renal handling of sodium and water in early chronic liver disease. Gastroenterology 1981;81:205-210.
8. Vlahcevic ZR, Adhan NF, Jick EW. Renal effects of acute expansion of plasma volume in cirrhosis. N Engl J Med 1966;272:387-391.
9. Bredfeldt JE, Groszman RJ. En «The kidney in liver disease». Ed. por M. Epstein. Elsevier, pp. 281-292. Nueva York, 1983.
10. Astrup J, Prytz H, Thomsen AC, Westrup M. Red cell sodium and potassium contents in liver cirrhosis. Gastroenterology 1980;78:530-534.
11. Owen JS, Mc Intyre N. Erythrocyte lipid composition and sodium transport in human liver disease. Biochim Biophys Acta 1978;570:168-176.
12. Alam AN, Wheeler P, Wilkinson SP, Poston L, Golindano C, Williams R. Changes in the electrolyte content of leucocytes at different clinical stages of cirrhosis. Gut 1978;19:650-654.
13. Sewell RB, Poston L, Wilkinson SP, Williams R. A circulating inhibitor of leucocyte sodium transport in patients with advanced liver cirrhosis. Clin Sci 1984;66:741-744.
14. Garay RP, Nazaret C, Diez J, Etienne A, Bourgain R, Braquet P, Esanu A. Stimulation of  $\text{K}^+$  fluxes by diuretic drugs in human red cells. Biochem. Pharmacol 1984;33:2013-2020.
15. Diez J, Virto R, Yap L, Errasti P, Purroy A, Prieto J. Estudio de los efectos «in vitro» de un fármaco diurético, xipamida, sobre los sistemas de transporte de sodio y de potasio del eritrocito humano. Nefrología 1985;5:109-114.
16. Garay RP, Price M, Hannaert P, Nazaret C. En «Physical chemistry of transmembrane ion motions». Ed. Por G. Spach. Elsevier, p. 645. Amsterdam, 1983.
17. Adragna N, Canessa M, Bize I, Garay RP, Tosteson DC. Na, K cotransport and cell volume in human red cells. Fed Proc 1980;39:1842a.
18. Garay RP. En «Topics of pathophysiology of hypertension». Ed. por H. Villarreal, E. Sambhi. Nijhoff, p. 40. Boston, 1983.
19. Garay R, Adragna N, Canessa M, Tosteson DC. Outward  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$  cotransport in human red cells. J Memb Biol 1981;62:169-174.
20. Nicholls KN, Saphiro MD, Van Putten VJ, Kluge R, Chung HM, Bichet DG, Schrier RW. Elevated plasma norepinephrine concentration in decompensated cirrhosis: Association with increased secretion rates, normal clearance rates, and suppressibility by central blood volume expansion. Circ Res 1985;56:457-461.
21. Garay RP. Inhibition of the  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  cotransport system by cyclic AMP and intracellular  $\text{Ca}^{2+}$  in human red cells. Biochim Biophys Acta 1982;688:786-792.
22. Bichet DG, Van Putten VJ, Schrier RW. Potential role of increased sympathetic activity in impaired sodium and water excretion in cirrhosis. N Engl J Med 1982;307:1552-1557.
23. Diez J, Miqueo C, Arrázola A, Varela JI. Stimulation of the  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -cotransport system by arginine vasopressin in human red cells. Reg Pept 1985;suppl 4:23-25.
24. Rossio L, Jr, Zia P, Reynolds T, Horton R. Studies of renin and

## INHIBICION DEL SISTEMA DE COTRANSPORTE SODIO, POTASIO

- aldosterone in cirrhotic patients with ascites. *Gastroenterology* 1975;69:698-705.
25. Glynn IM. The action of cardiac glycosides on sodium and potassium movements in human red cells. *J Physiol (Lond)* 1957;136:148-173.
  26. Sewell RB, Poston L, Wilkinson SP, Cranfield L, Williams R. Abnormalities in the leukocyte sodium pump in advanced cirrhosis. *Gastroenterology* 1981;81:676-680.
  27. Garay RP, Garrahan PJ. The interaction of sodium and potassium which the sodium pump in red cells. *J Physiol (Lond)* 1973;231:297-325.
  28. Stern N, Beck F, Sowers J. Effect of aldosterone on the human erythrocyte sodium-potassium pump in vitro. *Clin Sci* 1983;64:183-186.
  29. De Wardener HE, Clarkson EM. The natriuretic hormone: recent developments. *Clin Sci* 1982;63:415-420.
  30. Palfrey HC, Greengard P. Hormone-sensitive ion transport systems in erythrocytes as models for epithelial ion pathways. *Annals N. Y. Acad Sci* 1981;372:291-308.