

Óxido nítrico y células mesoteliales. Aplicación de técnicas experimentales en la diálisis peritoneal

Ana Rejero

Enfermera de Diálisis y del Laboratorio de Nefrología, Hipertensión e
Investigación Cardiovascular. Fundación Jiménez Díaz.

INTRODUCCIÓN

El mesotelio peritoneal está formado por una capa de células que limitan la cavidad peritoneal y que funciona como una membrana dializante viva cuya permeabilidad puede modificarse mediante factores biológicos y físicos.

Durante los procesos de diálisis peritoneal, la capa de células mesoteliales está continuamente expuesta a dañarse mediante los fluidos ácidos e hiperosmolares del líquido de diálisis, además de sufrir ocasionalmente contaminaciones bacterianas, lo que induce la movilización de neutrófilos y macrófagos a la cavidad peritoneal. Estos neutrófilos y macrófagos peritoneales activados van a interactuar con las células mesoteliales liberando a su vez citoquinas y proteasas susceptibles de dañar el mesotelio.

Numerosos estudios han demostrado que las células mesoteliales pueden sufrir alteraciones en pacientes sometidos a diálisis peritoneal crónica. En estos pacientes, existe un proceso continuo de daño mesotelial que obliga a la regeneración continua de estas células. No obstante, en muchas ocasiones esta regeneración no es completa y a menudo las biopsias peritoneales obtenidas de pacientes en CAPD muestran zonas denudadas de células mesoteliales.

Además de sus propiedades dializantes, las células mesoteliales tienen un papel importante en los procesos inflamatorios que ocurren en la cavidad peritoneal, construyendo la primera línea de defensa contra los microorganismos invasores del peritoneo.

CÉLULAS MESOTELIALES: MECANISMO DE COAGULACIÓN Y FIBRINOSIS

El mesotelio es normalmente una superficie no trombogénica. No obstante, en condiciones patológicas como en la ascitis maligna, las adhesiones postquirúrgicas y la peritonitis, la fibrina se acumula en la superficie peritoneal. La deposición repetida de fibrina en la superficie mesotelial puede facilitar la formación de tejido correctivo y eventualmente la generación de esclerosis peritoneal. Se ha hipotetizado que ocurra una disminución de la capacidad fibrinolítica de las células mesoteliales lo que resulta una mayor facilidad para la acumulación de fibrina.

El mesotelio peritoneal expresa diferentes componentes de la cascada de la fibrinólisis. El factor activador del plasminógeno (tPA) una enzima activadora de la fibrinólisis se expresa de forma constitutiva en las células mesoteliales. No obstante, el mesotelio es también capaz de sintetizar inhibidores de la cascada de la fibrinólisis como los inhibidores 1 y 2 del activador del plasminógeno (PAI-1 y PAI-2). Así el balance en la producción por parte de las células mesoteliales entre inductores de la fibrinólisis e inhibidores determina la capacidad del mesotelio de degradar la fibrina (Figura 1). En algunos casos, como podría ser la inflamación peritoneal que ocurre en la peritonitis, la actividad fibrinolítica de las células mesoteliales puede ser absorbidas completamente, lo que explicará que en las bolsas del dializador de estos enfermos observamos la existencia de grandes acumulaciones de fibrina.

En los últimos años una molécula generada por diversas células ha despertado el interés de la comunidad científica debido a la información creciente sobre la implicación de esta molécula en una gran variedad de procesos fisiopatológicos. Esta molécula es el óxido nítrico (NO). El

Correspondencia:
Ana Rejero
Avenida Reyes Católicos, 2
28040-MADRID

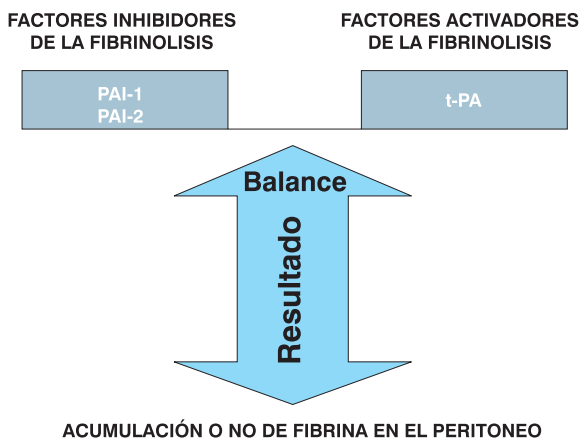


Figura 1

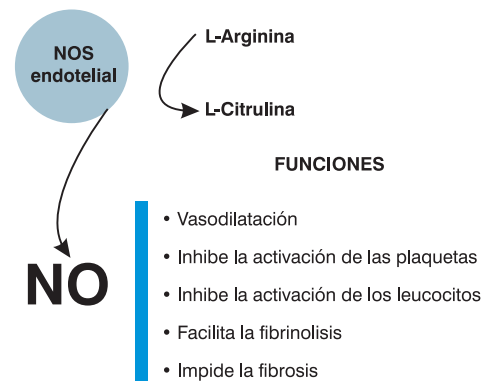


Figura 2

NO aminoácido L-arginina a L-citrulina. Pero el NO no es una molécula de exclusivo origen endotelial. Células como los leucocitos producen grandes cantidades de NO en respuesta a citoquinas y a sustancias de origen bacteriano como el lipopolisacárido de *E. coli* (LPS), participando en la destrucción de las bacterias.

La formación de NO ocurre mediante la activación de dos diferentes isoformas de la enzima NO sintasa. La primera de las isoformas existe de forma constitutiva en las células endoteliales (NOS_e) y su activación depende del calcio. La segunda isoforma de NO sintasa no existe en condiciones basales sino que tiene que activarse la célula para que se induzca su formación ya que necesita síntesis de novo y se diferencia de la anterior porque necesita del calcio para su activación. Esta forma de la enzima se le ha llamado inducible (NOS_i).

ÓXIDO NÍTRICO Y CÉLULAS MESOTELIALES

Una diferencia importante entre las dos isoformas de NO sintasa en su diferente capacidad de generar NO. Mientras que la isoforma NO sintasa constitutiva genera cantidades pequeñas de NO de forma puntual, la isoforma NO sintasa inducible forma cantidades elevadas de NO de forma sostenida.

Al NO se le ha implicado como pieza clave en la relación multicelular entre los componentes del "hábitat" vascular. Así, el NO (Figura 2) participa en la regulación de flujo sanguíneo, la relajación y proliferación de las células de músculo liso vascular, la agregación y adhesión de plaquetas y leucocitos al endotelio vascular y más recientemente la modulación de la síntesis de proteínas de la matriz extracelular. Sin embargo, y a pesar del amplio conocimiento existente sobre el papel del NO y las enzimas que generan en la pared vascular, existen muy pocos trabajos en la literatura sobre la implicación del NO en la fisiología y fisiopatología del mesotelio peritoneal.

En nuestro laboratorio, durante los tres últimos años hemos estado analizando si el mesotelio peritoneal puede generar NO. En estos experimentos hemos observado cómo las células mesoteliales expresan un óxido nítrico sintasa muy semejante a la que está presente en el endotelio vascular. Simulando una situación de peritonitis, que en el laboratorio se consigue mediante la incubación del mesotelio peritoneal con proteínas presentes en las membranas de las bacterias como es el lipopolisacárido de *E. coli* (LPS), la NOS_e expresada por el endotelio desaparece (Figura 3). Es decir, el mesotelio pierde la capacidad de generar NO mediante la actividad de esta enzima.

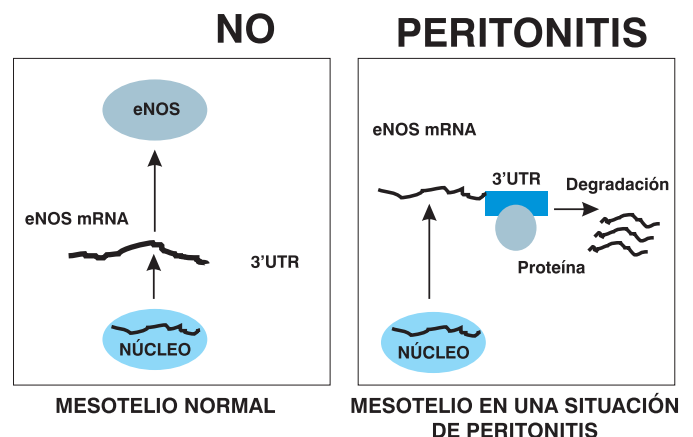


Figura 2

Actualmente, estamos analizando la implicación que tiene la pérdida de esta enzima en efectos de la infección bacteriana sobre el endotelio vascular. En este sentido, y basándonos en los conocimientos que se tienen sobre el endotelio vascular, la pérdida de la expresión de la NOS_e podría favorecer el daño celular de las células que infil-

tran la capacidad peritoneal, neutrófilos y macrófagos facilitando su adhesión a las células del mesotelio. Para analizar estos mecanismos, se va a realizar un proyecto en conejos New Zealand a los que se inducirá peritonitis, estudiándose también dentro de este mismo estudio el efecto de los diferentes líquidos de diálisis que habitualmente utilizamos en la clínica diaria, en la capacidad de generar NO por el mesotelio peritoneal.

BIBLIOGRAFÍA

- 1.- Yoshizumi M, Perella MA, Burnett JC Jr, Lee ME. Tumor necrosis factor downregulates an endothelial nitric oxide synthase mRNA by shortening its half-life. *Circ Res* 73:205-209, 1993.
- 2.- Alonso J, Sánchez de Miguel L, Montón M, Casado S, López-Farré A. Endothelial cytosolic proteins bind to the 3' untranslated region of endothelial nitric oxide synthase mRNA: regulation by tumor necrosis factor- α . *Mol. Cell Biol* 17:5719-5726, 1997.
- 3.- Comadas MR, Sánchez de Miguel L, García-Durán M, González-Fernández F, Millás I, Montón M, Rodrigo J, Rico L, Fernández P, de Frutos T, Rodríguez-Feo JA, Guerra J, Caramelo C, Casado S, López-Farré A: Expression of constitutive and inducible nitric oxide synthases in the vascular wall of young and aging rats. *Circ Res* 83:279-286, 1998.
- 4.- González-Fernández F, López-Farré A, Rodríguez-Feo JA, Farré J, Guerra J, Fortes J, Millás I, García-Durán M, Rico L, Sánchez de Miguel L, Casado S: Expression of inducible nitric oxide synthase after endothelial denudation of rat carotid artery: role of platelets. *Circ Res* 83:1080-1087, 1998.
- 5.- Zeiher AM, Fisslthaler B, Schray-Utz B, Busse R: Nitric oxide modulates the expression of monocyte chemoattractant protein 1 in cultured human endothelial cells. *Circ Res* 76:980-986, 1995.
- 6.- De Caterina R, Libby P, Peng H-B, Thannickal VJ, Rajavashisth TB, Gimbrone MA Jr, Shin WS, Liao JK: Nitric oxide decreases cytokine-induced endothelial activation. Nitric oxide selectively reduces endothelial expression of adhesion molecules and proinflammatory cytokines. *J Clin Invest* 96:60-68, 1995.
- 7.- Newby DE, Wright RA, Dawson P, Ludlam CA, Boon NA, Fox KA, Webb DJ: The L-arginine/nitric oxide pathway contributes to the acute release of tissue plasminogen activator in vivo in man. *Cardiovasc Res* 38:485-492, 1998.
- 8.- Korb R, Warner TD, Gryglewski RJ, Vane JR: The effect of nitric oxide synthase inhibition on the plasma fibrinolytic system in septic shock in rats. *BR J Pharmacol* 112:289-291, 1994.
- 9.- Sessa WC: The nitric oxide synthase family of proteins. *J Vasc Res* 31:131-143, 1994.
- 10.- Moncada S, Higgs A.: L-Arginine-nitric oxide pathway. *N Engl J Med*. 329:2002-2012, 1993.
- 11.- López-Farré A, Caramelo C, Esteban A, Alberola, Millás, I, Montón M, Casado S: Effects of aspirin on platelet-neutrophil interactions. Role of nitric oxide and endothelin-2. *Circulation* 91:2080-2088, 1995.
- 12.- Kubes P, Suzuki M, Granger DN: Nitric oxide: an endogenous modulator of leukocyte adhesion. *Proc Natl Acad Sci USA* 88:587-590, 1991.
- 13.- Trachtman H, Futterweit S, Singhal P: Nitric oxide modulates the synthesis of extracellular matrix proteins in cultured mesangial cells. *Biochem Biophys Res Commun* 207:120-125, 1995.
- 14.- Le Cras TD, Xue C, Rengasamy A, Johns RA: Chronic hypoxia upregulates endothelial and inducible NO synthase gene and protein expression in rat lung. *Am J Physiol* 270:L164-L170, 1996.
- 15.- López-Farré A, Sánchez de Miguel L, Caramelo C, Gómez-García J, García R, Mosquera JR, de Frutos T, Millás, Rivas F, Echazarreta G, Casado S: Role of nitric oxide in the autocrine control of growth and apoptosis of endothelial cells. *Am J Physiol* 272:H760-H768, 1997.
- 16.- Sessa WC, Pritchard K, Seyedi N, Wang J, Hintze TH: Chronic exercise increases coronary vascular nitric oxide production and endothelial nitric oxide synthase gene expression. *Circ Res* 74:349-353, 1994.
- 17.- Mohamed F, Monge JC, Gordon A, Cernacek P, Blais D, Stewart DJ: Lack of role of nitric oxide (NO) in the selective destabilization of endothelial NO synthase mRNA by tumor necrosis factor- α . *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 15:52-57, 1995.
- 18.- Sánchez de Miguel, Alonso J, González-Fernández F, de la Osada Y, Montón M, Rodríguez-Feo J.A., Guerra I, Arriero M, Rico L, Casado S, López-Farré. Evidence that an endothelial cytosolic protein binds to the 3' untranslated region of endothelial nitric oxide synthase mRNA. *J Vasc Res* 1999:11.
- 19.- López-Farré A, Farré J, Sánchez de Miguel L, Romero J, González-Fernández F, Casado S. Disfunción endotelial: una respuesta global. *Rev Esp Cardiol* 1998:51; 18-22.
- 20.- López-Ferré A, Farré J, Sánchez de Miguel L, Romero J, Gómez J, Rico L, Casado S. Trombosis y enfermedad coronaria: neutrófilos, óxido nítrico y aspirina.