

**UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA**

**FACULTAD DE VETERINARIA**

**ROL DE LAS PROSTAGLANDINAS Y DEL ÓXIDO NÍTRICO EN LA RESPUESTA  
HEMODINÁMICA RENAL CONSECUTIVA A UNA SOBRECARGA AMINOACÍDICA:  
ESTUDIO POR FLUJIMETRÍA ULTRASONORA EN EL OVINO CRÓNICO**

**por**

**BOTTINO GONZÁLEZ, Juan Pedro**

TESIS DE GRADO presentada como uno de  
los requisitos para obtener el título de Doctor  
en Ciencias Veterinarias  
Orientación: Medicina Veterinaria

MODALIDAD: Ensayo experimental

**MONTEVIDEO  
URUGUAY  
2016**

## PÁGINA DE APROBACIÓN

**Presidente de mesa:** .....  
Dr. Alejandro Benech

**Segundo miembro (Tutor):** .....  
Dra. Islamey Tebot

**Tercer miembro:** .....  
Dr. Sebastian Ado

**Cuarto miembro (Co-tutor):** .....  
Dr. Fernando Vila

**Fecha:** .....

**Autor:** .....  
Juan Pedro Bottino González

## **AGRADECIMIENTOS**

Al Dr. Alberto Cirio por darme la oportunidad de realizar este trabajo.

A la Dra. Islamey Tebot por confiar en mi, por su disposición, por aportar y brindar todo su apoyo, conocimientos y experiencia.

A la Cátedra de Fisiología y a su personal, por el apoyo científico y académico, por facilitarme la utilización de instrumentos e instalaciones y ayudarme en los distintos trabajos realizados.

Al Dr. Ignacio Guedes y su equipo, por la ayuda brindada en la realización de las cirugías.

A todos los compañeros y docentes por brindarme su ayuda incondicional, y principalmente por su cariño y amistad.

A los funcionarios de la Biblioteca de Facultad de Veterinaria, por su amabilidad y paciencia en la búsqueda de material bibliográfico.

A mis padres, hermanas, cuñados, sobrinos y a Lalo por todo el apoyo, paciencia y cariño brindado durante toda la carrera.

A mis amigos, por hacer de este trayecto algo ameno y agradable.

A Dios, sin el cual nada de esto tendría propósito..

## TABLA DE CONTENIDO

	PAGINA
PÁGINA DE APROBACIÓN	2
AGRADECIMIENTOS	3
LISTA DE CUADROS Y FIGURAS	5
1. RESUMEN	6
SUMMARY	7
2. INTRODUCCIÓN	8
3. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	9
3.1. Vascularización	9
3.2. Flujo sanguíneo renal	9
3.3. Método de medidas del FSR	10
3.3.1. Método indirecto	10
3.3.2. Método directo	11
3.4. Factores de variación del FSR	11
3.4.1. Edad	11
3.4.2. Sexo	12
3.4.3. Estado reproductivo	12
3.4.4. Alimentación	12
3.5. Principales factores que controlan la circulación renal	12
3.5.1. Mecanismo miogénico	12
3.5.2. Retroalimentación tubuloglomerular	13
3.5.3. Factores hormonales	13
3.6. Consecuencias de un riñón sobrecargado	15
4. HIPÓTESIS	17
5. OBJETIVOS	18
5.1. Objetivo general	18
5.2. Objetivos específicos	18
6. MATERIALES Y MÉTODOS	19
6.1. Animales de experimentación	19
6.2. Implantación de sondas flujimétricas	19
6.3. Protocolos experimentales	20
6.4. Análisis estadístico	22
7. RESULTADOS	23
7.1. Resultado de la perfusión de aminoácidos	23
7.2. Resultado de la perfusión de ketoprofeno y aminoácidos	24
7.3. Resultado de la perfusión de L-NAME y aminoácidos	25
8. DISCUSIÓN	26
9. CONCLUSIONES	31
10. BIBLIOGRAFÍA	32

## LISTA DE CUADROS Y FIGURAS

Figuras	Página
Figura 1. Dispositivo experimental	20
Figura 2. Esquema de perfusión de aminoácidos	21
Figura 3. Esquema de perfusión de bloqueantes y aminoácidos	21
Figura 4. Evolución del FSR (ml/min) durante la administración intravenosa de aminoácidos. Valores promedios tomados cada diez minutos +/-DS, n=8.	23
Figura 5. Evolución del FSR (ml/min) durante la administración intravenosa de ketoprofeno y aminoácidos. Valores promedios tomados cada diez minutos +/-DS, n=8.	24
Figura 6. Evolución del FSR (ml/min) durante la administración intravenosa de L-NAME y aminoácidos. Valores promedios tomados cada diez minutos +/-DS, n=8.	25

## 1. RESUMEN

El flujo sanguíneo renal (FSR) corresponde al 22% del gasto cardíaco y está directamente relacionado a la función de los riñones por lo cual cualquier modificación (aumento o disminución) incidirá en su normal funcionamiento. La regulación del FSR está dada por mecanismos locales, así como por factores extrínsecos como el valor proteico de la dieta. En este trabajo se evalúa el efecto de una sobrecarga de aminoácidos sobre la hemodinámica renal en ovinos, determinando si vasodilatadores como el óxido nítrico y las prostaglandinas participan en la modulación del FSR. Se utilizaron ocho ovinos hembras Corriedale adultas, no gestantes y no lactantes, alojadas en jaulas metabólicas y equipadas con sondas ultrasonoras a efecto transit time alrededor de las arterias renales para realizar el registro del FSR. En días alternos se les administró uno de tres tratamientos: (i) aminoácidos, (ii) un bloqueador del óxido nítrico (L-NAME) y aminoácidos, y (iii) un bloqueador de las prostaglandinas (ketoprofeno) y aminoácidos. La administración de aminoácidos produjo un aumento del FSR de 22% ( $p < 0,05$ ). La inhibición del óxido nítrico provocó una disminución del 22% en el FSR. La posterior perfusión de aminoácidos no logró aumentar el FSR a los valores iniciales de perfusión. La inhibición de las prostaglandinas con el ketoprofeno produjo una disminución significativa en el FSR de un 9% ( $p < 0,05$ ), revirtiéndose con la administración de aminoácidos. Estos resultados sugieren que el aumento del FSR estaría dado por una vasodilatación a nivel arteriolar renal inducida por la sobrecarga de aminoácidos con la posible mediación del óxido nítrico descartándose un rol más proactivo de las prostaglandinas.

## **SUMMARY**

The renal blood flow (RBF) corresponds to 22% of cardiac output and it is directly related to the function of the kidneys. Any modification would affect their regular operation. The regulation of RBF is based on local mechanisms, as well as external factors such as the protein level of the diet. This work evaluates the effect of an amino acid overload on renal hemodynamics in sheep by determining if vasodilators like nitric oxide and prostaglandins are present in RBF modulation. Eight adult Corriedale non-pregnant non-lactating ewes equipped with ultrasonic probes around renal arteries to register RBF were used. In alternate days they were administered one of the following 3 treatments: (i) amino acid, (ii) a nitric oxide blocker (L-NAME) and amino acids, and (iii) a prostaglandin blocker (ketoprofen) and amino acids. The amino acid perfusion increased RBF by 22% ( $p < 0.05$ ). With the nitric oxide inhibition, the RBF fell by 22%. However the later amino acid perfusion did not increase the RBF to its control values. Inhibition of prostaglandins with ketoprofen resulted in a 9% decrease in RBF, which was reversed after administration of amino acids. These results suggest that increased FSR would be due to renal arteriolar vasodilation induced by the overload of amino acids with the possible mediation of nitric oxide, discarding a more proactive role of prostaglandins.

## 2. INTRODUCCIÓN

El flujo sanguíneo renal es el 22% del gasto cardíaco, valor extremadamente elevado que se encuentra directamente relacionado a la importancia de su función. Como en los demás tejidos el flujo de sangre aporta nutrientes a las células y se lleva sus productos de desecho. El flujo renal supera dichas necesidades, pues tiene por objetivo aportar plasma suficiente a la elevada filtración glomerular que se necesita para mantener regulados con precisión los volúmenes de líquido corporal y sus concentraciones de solutos, además de la eliminación de desechos.

Este FSR se encuentra regulado por factores intrínsecos que dependen de la intervención hormonal, nerviosa y de sustancias que se producen a nivel local (autacoides). También dentro de la regulación se hallan factores extrínsecos relacionados a la edad, sexo y los componentes de la dieta. Dentro de este último punto es de destacar la sensibilidad del FSR al tenor proteico. Es así que tanto el aumento como la disminución de las proteínas influyen sobre los valores de FSR.

Estudios apuntan a la administración de aminoácidos como un factor capaz de aumentar el FSR (Giordano y col., 1994). El mecanismo por el cual son capaces de hacerlo aún no está bien establecido. Se proponen sustancias vasodilatadoras, producidas a nivel renal, como participantes de una cadena de eventos que tendría por finalidad la vasodilatación de las arteriolas renales, resultando en un incremento del FSR en respuesta a la sobrecarga aminoacídica. En este sentido, las prostaglandinas (Tuttle y col., 2002) y el óxido nítrico (Cirio y col., 2009) son sugeridos como responsables de dicho incremento.

### 3. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

Los riñones cumplen múltiples funciones dentro del organismo. Algunas de ellas son esenciales para el mantenimiento de la homeostasis necesaria para que las células del cuerpo desarrollen correctamente sus funciones. Una de estas funciones es la eliminación de desechos que se han ingerido o que se han producido durante el metabolismo celular normal. Otra función es la de mantener el volumen y la composición de los líquidos del organismo. Respecto al agua y a los electrolitos, el equilibrio entre ingresos y salidas lo mantienen en gran medida los riñones. Estos órganos realizan sus funciones filtrando el plasma sanguíneo y retirando de él sustancias con una intensidad variable. Las sustancias no deseadas son excretadas por la orina y las que son necesarias son introducidas nuevamente a la sangre (Guyton, 2006).

#### 3. 1. *Vascularización*

La vascularización renal está constituida por la arteria renal (rama directa de la aorta), ésta se ramifica para formar las arterias interlobulares, arterias arciformes, arterias interlobulillares y arteriolas aferentes que constituyen los capilares glomerulares donde se filtra gran cantidad de líquido y solutos exceptuando las proteínas del plasma sanguíneo, en este sitio se comienza a formar orina. Los extremos conforman las arteriolas eferentes que dan origen a una red capilar que rodea a los túbulos renales.

La circulación renal es particular por estar constituida de dos lechos capilares separados por las arteriolas eferentes, éstas ayudan a regular la presión hidrostática en ambos grupos capilares. La presión debe ser diferente en los dos sectores, una presión hidrostática elevada en los capilares glomerulares permite que ocurra una filtración de líquido rápida mientras que una presión baja en los peritubulares hace que los líquidos sean reabsorbidos. Al ajustar la resistencia en las arteriolas aferente y eferente los riñones regulan las presiones de los lechos capilares, de esta forma logran cambiar el filtrado glomerular, la reabsorción tubular o ambas cosas según las demandas homeostáticas del cuerpo. Los capilares peritubulares drenan en los vasos del sistema venoso que van a formar sucesivamente la vena interlobulillar, la vena arciforme, la vena interlobular y la vena renal.

Una parte de la vascularización renal se relaciona con la corteza renal (circulación cortical) en donde se encuentran los glomerulos, este sector recibe 90% del total del FSR y conforma el 20% de la masa renal, aquí ocurren eventos relacionados con la filtración glomerular y las transferencias tubulares. La circulación medular conforma la otra parte de la vascularización renal, al igual que la corteza renal conforma el 20% de la masa renal pero recibe solamente un 10% del flujo total, sus funciones se relacionan con la concentración y dilución de la orina (Guyton, 2006).

#### 3. 2. *Flujo sanguíneo renal*

El flujo sanguíneo renal es de un 22% del gasto cardíaco y comparado con otros órganos reciben un aporte extremadamente grande de sangre ya que los dos riñones constituyen solamente el 0,4% del peso corporal. Como en los demás tejidos el flujo de sangre aporta nutrientes a las células y se lleva sus productos de desecho. El flujo renal supera dichas necesidades y tiene por objetivo aportar plasma suficiente a la elevada filtración

glomerular que se necesita para mantener regulados con precisión los volúmenes de líquido corporal y sus concentraciones de solutos.

El FSR está determinado por el gradiente de presión a través de la vascularización renal dividido por la resistencia vascular total. La mayoría de las resistencias vasculares renales ocurren en los siguientes niveles: arterias interlobulillares, arteriolas aferentes y arteriolas eferentes. La resistencia en dichos vasos sanguíneos está controlada por el sistema nervioso simpático, hormonas y mecanismos locales, un aumento de resistencia a cualquier nivel produce la disminución del FSR, mientras que la disminución de la resistencia produce aumento del FSR si las presiones a nivel de arteria y vena renal permanecen constantes.

Aunque los cambios en la presión arterial sistémica tienen influencia sobre el FSR el riñón posee mecanismos intrínsecos que mantienen tanto el FSR como la FG relativamente constantes entre los 80 y 170 mm Hg de presión arterial, éste proceso recibe el nombre de autorregulación (Guyton, 2006).

### 3. 3. Métodos de medida del FSR

Existen diferentes métodos utilizados que son capaces de cuantificar el FSR. Se pueden aplicar técnicas indirectas en las que se utiliza el concepto de depuración renal, en ellas se mide la cantidad de determinada sustancia que es completamente liberada del plasma sanguíneo por unidad de tiempo y técnicas directas como la que utiliza la flujimetría ultrasonora, en la que se mide directamente la cantidad de sangre que pasa por las arterias renales por unidad de tiempo.

#### 3. 3. 1. Metodo indirecto

En los riñones ciertos solutos, como la creatinina, pueden experimentar filtración glomerular, otros como es el caso de la glucosa pueden pasar por el proceso de filtración y reabsorción tubular; algunos como el hidrógeno, de secreción tubular y otros, como el potasio pueden sufrir los tres procesos. El efecto combinado de los tres procesos sobre la extracción de determinada sustancia del plasma y su excreción urinaria se denomina depuración de la sustancia en cuestión. La depuración de las distintas sustancias puede ser determinada analizando simultáneamente sus concentraciones en el plasma y en la orina, mientras se mide asimismo el flujo de la orina. La depuración de las sustancias refleja la eliminación en su totalidad pero no provee información de que procesos sufren las mismas. Así pues, si sabemos con exactitud cual o cuales de los tres procesos están involucrados en la eliminación de determinada sustancia podemos, indirectamente, determinar algunos valores que nos ayudan a tener una idea de la función renal.

La medida de la depuración del ácido paraaminohipúrico (PAH) se utiliza para determinar el flujo plasmático renal (FPR), dicha sustancia es un ácido orgánico exógeno que se excreta en la orina por procesos de filtración glomerular y secreción tubular. Utilizado a bajas concentraciones plasmáticas nos ayuda a determinar el FPR ya que su depuración es casi total.

La cantidad de PAH que llega al riñón es producto de su concentración plasmática y el FPR.

$$\text{FPR} \times \text{P}(\text{PAH}) = \text{U}(\text{PAH}) \times \text{V}$$

U(PAH) es la concentración urinaria de PAH y V es el flujo de orina. Si despejamos FPR obtenemos la ecuación de la depuración:

$$FPR = U(\text{PAH}) \times V / P(\text{PAH})$$

Si queremos estimar el FSR, usamos el valor del hematocrito que en mamíferos se encuentra entre un 35 y un 45 %.

$$FSR = FPR / (1 - \text{VH}/100)$$

### 3. 3. 2. Método directo

Para poder realizar las mediciones del Flujo Sanguíneo Renal (FSR) se puede utilizar el método de flujimetría ultrasonora a efecto "transit time". Se utiliza un flujímetro ultrasónico a efecto "transit time" que posee dos canales de medida, lo que permite el registro simultáneo de los flujos de las dos arteria renales.

El principio de funcionamiento del flujímetro se basa en el análisis del tiempo de tránsito de un haz de ultrasonido a través de un vaso en el cual circula un líquido. La sonda flujimétrica está compuesta por dos transductores ultrasónicos localizados de un lado del vaso sanguíneo analizado y un reflector acústico, posicionado equidistante de los transductores, en la cara opuesta del vaso. Uno de los transductores (distal con respecto al hilio renal) envía una onda de ultrasonido que pasa a través del vaso en el sentido de la corriente. Esta onda choca con el reflector acústico, atraviesa de nuevo el vaso siendo recibido por el otro transductor (proximal con respecto al hilio renal) que la convierte en señal eléctrica. El flujímetro calcula el tiempo de tránsito que necesita la onda de ultrasonido para ir del transductor distal al proximal.

El mismo principio es aplicado simultáneamente pero en sentido inverso: el transductor proximal se convierte en el polo emisor mientras que el transductor distal es el receptor y la onda ultrasónica atraviesa el vaso a contracorriente. En el primer caso la onda ultrasónica circula en el mismo sentido de la sangre dentro del vaso por lo cual el tiempo de llegada al transductor opuesto está disminuido de manera proporcional al flujo de sangre. En el segundo caso la onda circula en sentido inverso de la corriente sanguínea y el tiempo de llegada al transductor receptor está aumentado de manera proporcional del flujo sanguíneo. El flujímetro calcula la diferencia entre los dos tiempos (a favor y a contracorriente) y proporciona una medida del flujo.

### 3. 4. Factores de variación del FSR

Existen algunos factores que tienen incidencia en la cantidad de sangre que llega a los riñones y hacen variar el FSR en diferentes sentidos según la necesidad del organismo o los cambios morfológicos y estructurales que ocurren en el mismo.

#### 3. 4 . 1. Edad

El FPR es significativamente más bajo en personas con edad promedio de 70 años en relación al mismo parámetro en los individuos con edad promedio de 26 años (339 mL/min por 1.73 m<sup>2</sup>; rango, 277 a 433 versus 647 mL/min por 1.73 m<sup>2</sup>; rango 504 a 812) (Fliser y col., 1993).

### 3. 4. 2. Sexo

En humanos los hombres presentan un promedio mayor de FPR que las mujeres ( $675 \pm 150$  mL/min versus  $595 \pm 125$  mL/min) (Brenner, 2004).

### 3. 4. 3. Estado reproductivo

La preñez y la lactancia son estados fisiológicos en los que ocurren cambios importantes en el organismo. Un estudio utilizando ovejas preñadas y en lactancia demostró que el FPR durante la gestación disminuyó un 53% y en la lactancia un 37% respecto al grupo control de ovejas no preñadas y no lactantes (Rodríguez y col., 1996). Este hecho está reforzado por estudios que indican que el estado fisiológico influye en el reciclado de la urea en el rúmen. Los aumentos de requerimientos proteicos durante la preñez y lactancia producen un aumento en la urea endógena en el rúmen (Oddy y col., 1983).

### 3. 4. 4. Alimentación

Como se ha comentado anteriormente los componentes de la dieta y dentro de éstos el tenor proteico inciden en el valor del FPR y FG.

El consumo restringido de proteínas lleva a una reducción del FPR y del FG sobretodo en los rumiantes. La disminución de proteínas en la dieta conlleva a una necesidad de disminuir la excreción renal de urea para que la misma llegue al rumen y sea reaprovechada en la producción de proteínas por parte de los microorganismos residentes en dicho órgano. El aumento en la conservación renal de urea ocurre gracias a una disminución en el FPR y FG que resulta en una menor cantidad de urea filtrada y un aumento en la reabsorción de la misma en los túbulos y pelvis renal (Cirio, 1989).

Cirio y col. (2010) administrando una mezcla de aminoácidos, observó un aumento, respecto a los valores basales, del FSR de 12%.

## 3. 5. Principales factores que controlan la circulación renal

El FSR es independiente de la presión arterial sistémica cuando ésta se encuentra entre 80 y 180 mm Hg. Para ello el riñón se vale de dos mecanismos de autorregulación.

### 3. 5. 1. Mecanismo miogénico

Es el mecanismo por el cual los vasos sanguíneos se resisten al estiramiento ocasionado por el aumento de la presión arterial. Los estudios realizados en arteriolas pequeñas han demostrado que responden a un aumento de la tensión en la pared o un estiramiento de la misma con una contracción del músculo liso vascular. El estiramiento de la pared permite una mayor entrada de iones calcio a la célula lo que permite su contracción. Este mecanismo evita una distensión excesiva de la pared y al mismo tiempo, con el aumento de la resistencia vascular resultante, ayuda a impedir un aumento excesivo del FSR cuando ocurre un aumento de la presión arterial (Guyton, 2006).

### 3. 5. 2. Retroalimentación tubuloglomerular

Es un mecanismo en el cual participan diferentes componentes de la nefrona. Se basa en el acoplamiento de los cambios en la concentración de sodio en la mácula densa y el control de la resistencia arteriolar renal. La retroalimentación ayuda a mantener constante las concentraciones de sodio en el líquido que llega al túbulo distal.

El mecanismo de retroalimentación tubuloglomerular tiene dos componentes que actúan en conjunto en el control de la FG: un mecanismo de retroalimentación arteriolar aferente y uno eferente.

El descenso en la concentración del cloruro de sodio en la mácula densa dilata las arteriolas aferentes y aumenta la liberación de renina. La dilatación de las arteriolas aferentes ocasiona un aumento en el FSR que resulta en un aumento de la presión hidrostática glomerular y ayuda a normalizar la FG. Por otra parte la liberación de renina por parte de las células yuxttaglomerulares actúa aumentando la producción de angiotensina II que contrae las arteriolas eferentes resultando en el aumento de la presión hidrostática glomerular normalizando la FG (Guyton, 2006).

### 3. 5. 3. Factores hormonales

Existen varias sustancias externas al riñón y también producidas por él mismo que actúan regulando el FSR.

#### *Noradrenalina y adrenalina*

Son hormonas liberadas por la médula suprarrenal y producen una constricción de las arteriolas aferentes y eferentes, lo que reduce el FSR. La concentración sanguínea de éstas sustancias depende de la actividad del sistema nervioso simpático (Guyton, 2006).

#### *Angiotensina II*

La angiotensina II se produce en los riñones y en la circulación sistémica, por ello se la puede considerar una hormona así como un autacoide local. Es un potente vasoconstrictor que actúa principalmente en las arteriolas eferentes y produce aumento de la presión hidrostática glomerular mientras que reducen el flujo sanguíneo renal (Guyton, 2006).

#### *El Oxido Nítrico (NO)*

Es un agente vasodilatador producido por las células endoteliales de todo el cuerpo. A nivel renal produce disminución de la resistencia vascular y un aumento de la FG y del FSR. Su producción basal evita una vasoconstricción excesiva y contribuye en la excreción normal de sodio y agua (Guyton, 2006). Estudios demostraron que la administración de NG-monometil-L-arginina (L-NMMA), un inhibidor enzimático de la producción del NO, logró prevenir los efectos vasodilatadores producidos por la administración de acetilcolina a nivel renal. Sugiriendo así que el NO podría jugar algún rol en la hemodinámica renal mediante la acción de la acetilcolina (Tolins y col., 1990). El NO ha sido propuesto como uno de los mediadores del aumento del FSR inducido por la perfusión intravenosa de aminoácidos. En un estudio realizado con ratas la administración

de un inhibidor de la síntesis del NO (nitro-L-arginina) a una dosis de 20 microgramos/100g/min, produjo una disminución en los valores normales del flujo plasmático renal (FPR). Dicho efecto no fue totalmente revertido al realizar una perfusión intravenosa de una mezcla de aminoácidos (Chen y col., 1992). Por otra parte King y col. (1991) experimentando también con ratas y tratándolas previamente con N-monometil-L-arginina, una sustancia capaz de bloquear la síntesis del NO, observó que tanto el grupo que fue tratado con el bloqueante como el control tuvieron aumentos en el FPR, luego de que recibieran una mezcla de aminoácidos, sin diferencias significativas. También Tolins y col. (1991), experimentando con ratas observaron que a una dosis alta (500 microgramos/kg/min) el LNMMA (N-monometil-L-arginina) fue capaz de producir disminuciones en los valores del FPR y del FG y aumentos en la resistencia vascular renal y que la perfusión intravenosa de aminoácidos a ratas pre tratadas con LNMMA con una dosis de 250 micrgramos/kg/min, no logró producir cambios en los valores basales de estos parámetros. Salazar y col. (1994), estudiando la hemodinámica renal en perros a los que se le administraba una comida rica en proteínas y se monitoreaba el FPR observó que la ingestión de una comida rica en proteínas resultaba en un aumento significativo del FPR y la FG. Los perros que recibieron un tratamiento con L-NAME (N-nitro-L-arginina metil ester), mostraron un incremento atenuado en la medida del FPR luego de consumir la dieta, sugiriendo así que el NO debe estar presente para que haya una respuesta hemodinámica adecuada.

#### *Las prostaglandinas (PG)*

A nivel renal producen vasodilatación y aumento del FSR. Contrarrestan el potente efecto vasoconstrictor inducido por los nervios simpáticos y la angiotensina II sobre las arteriolas eferentes. Así evitan la excesiva disminución excesiva de la filtración glomerular y el FSR (Guyton, 2006). Estudios que evaluaron el efecto de las PG durante una hemorragia hipotensiva en perros demostraron que en el grupo de animales a los que se les administró RO 20-5720, un inhibidor de la síntesis de PG, ocurrió una caída significativa en el FG y en el FPR. Dicho estudio sugirió que las PG son capaces de atenuar el efecto de una hemorragia que tiende a disminuir el FG y el FPR (William y col., 1978). Por otra parte Weismann (1980) investigando con perros a los que les indujo una hipoxemia aguda de 10 minutos de duración observó que en los mismos ocurría un reversible aumento en el FPR. Luego de tratarlos con un inhibidor de las PG (indometacina), demostró que ocurría una disminución en el FPR y aumento en la resistencia vascular renal cuando a los animales se les inducía hipoxemia. Krishna y col. (1988), estudiando el efecto de las dietas ricas en proteínas en humanos observó que los individuos que recibieron un tratamiento previo con indometacina mostraron un incremento moderado en el FG luego de que éstos ingirieran 1g de proteína por kg de peso comparado con el grupo control que recibió un placebo en lugar de indometacina, un aumento paralelo en el FPR y una caída en la RVR también fueron observados en dicho estudio. En 1988, Hirschberg y col. (1988), estudiando el efecto de la administración de aminoácidos sobre la respuesta hemodinámica renal en seres humanos, administró idometacina e ibuprofeno a individuos y observó que los aumentos en el FPR y FG, que ocurrieron cuando los individuos recibían una perfusión de arginina, no ocurrían en los que habían sido tratados previamente con los inhibidores de la síntesis de PG.

### 3. 6. Consecuencias de un riñón sobrecargado

En la vida cotidiana del animal el FSR y el FG permanecen constantes pero en determinadas situaciones ambos pueden llegar a sufrir variaciones. En el caso de una ingestión elevada de proteínas el riñón se ve obligado a aumentar su funcionamiento debido a que, al aumentar el nivel de aminoácidos en sangre, estos se filtran en el glomérulo y se reabsorben en el túbulo proximal. Los aminoácidos son reabsorbidos por un cotransporte junto con el sodio lo que significa una mayor reabsorción de sodio, disminuyendo la concentración del ion que llega a los túbulos distales. A este nivel se encuentra la mácula densa que percibe bajos niveles de éste elemento y desencadena una disminución de la resistencia en las arteriolas aferentes. Este hecho permite un aumento del FSR y el FG que mantiene una excreción de sodio en cifras normales (Guyton, 2006).

Existe una serie de razones que sugieren que las dietas hiperproteicas pueden inducir alteraciones importantes de la función renal y de otros aspectos del metabolismo. Se ha demostrado que estas dietas pueden ocasionar hiperfiltración glomerular y aumento del flujo sanguíneo. Actualmente está bien establecido el hecho de que la ingesta proteica en animales y en el humano afecta significativamente la hemodinamia renal. Estudios realizados con ratas obesas a las que se les administraba diferentes macronutrientes y se evaluaba la función y la histología renal demostraron que las dietas proteicas se relacionaban con riñones que presentaban un aumento en la esclerosis en relación con el grupo control. Además se observó, luego de 24 semanas de tratamiento, que las ratas tratadas con dietas a base de proteínas presentaban un bajo FPR en comparación con el grupo control (Alavi y col., 1995). Por otra parte estudios realizados con humanos que recibieron dietas compuestas de proteínas de origen animal y vegetal mostraron que los individuos que consumían proteínas de origen animal presentaban una FPR y FG significativamente más altos que los que consumían proteínas vegetales. Esto quiere decir que no solamente la cantidad de proteína consumida influye en la hemodinámica renal sino que también el tipo de proteína (Kontessis y col., 1990).

La mayor parte de los estudios realizados en este sentido sugieren que la reducción en la ingesta proteica induce una disminución de la FG y del FSR, así como del volumen renal . Skov y col. (1999), realizó un estudio en el que se observó el efecto, en dos diferentes grupos de personas obesas, del consumo de dietas altas y bajas en proteínas constatando una aumento en el tamaño del riñón en el primer grupo y una disminución del mismo en el segundo. Además se vio que hubieron cambios en la FG en ambos grupos; +5. 2 ml/min en los que consumieron altos niveles y -7.1 ml/min en el grupo de bajos niveles de proteína.

Estudios dosis-respuesta han demostrado que la FG y el FSR son directamente proporcionales a la cantidad de aminoácidos administrados, en estos ensayos clínicos cinco grupos de personas recibieron diferentes dosis de una mezcla de aminoácidos (0.5; 1,0; 2,0; 4,0 y 6,0 ml/kg/min) y se observó que en todos hubo un aumento tanto del FG como del FPR (Giordano y col., 1994).

Una elevada ingesta proteica induce cambios hemodinámicos que fuerzan al riñón a restablecer el equilibrio homeostático del sodio, que se pierde junto con la reabsorción de aminoácidos. Sin embargo, a la larga esto puede tener consecuencias adversas. El aumento de la presión y flujo intraglomerular inducidos por la carga proteica ocasiona

cambios fisiopatológicos, los cuales mantenidos en el tiempo causan daño glomerular progresivo y esclerosis, particularmente en riñones con daño pre-existente (Lentine y col., 2004).

#### **4. HIPOTESIS**

Una sobrecarga aminoacídica provoca el aumento del FSR mediado por la liberación de óxido nítrico y prostaglandinas a nivel local.

## 5. OBJETIVOS

### 5. 1. *Objetivo general*

Precisar el rol del NO y de las prostaglandinas en la respuesta hemodinámica renal consecutiva a una perfusión intravenosa de aminoácidos en el ovino.

### 5. 2. *Objetivos específicos*

- 1) Determinar si existe una variación del FSR consecutiva a una perfusión de AA en el ovino ayunado.
- 2) Determinar las variaciones del FSR durante la perfusión de una mezcla de AA, en el ovino ayunado y tratado con un inhibidor de la síntesis de NO (*N*<sup>G</sup>-nitro-L-arginina metil ester, L-NAME).
- 3) Determinar las variaciones del FSR durante la perfusión de una mezcla de AA, en el ovino ayunado y tratado con un inhibidor de la síntesis de prostaglandinas (ketoprofeno).

## 6. MATERIALES Y METODOS

### 6. 1. Animales de experimentación

El protocolo se desarrolló en el laboratorio de Fisiología de la Facultad de Veterinaria en Montevideo. Se utilizaron ovinos hembras Corriedale adultas, no gestantes y no lactantes ( $n = 8, 45 \pm 5$  kg) provenientes del campo experimental N° 2 de Facultad de Veterinaria ubicado en Libertad, Departamento de San José. Luego de su desparasitación y revisión clínica, las ovejas fueron mantenidas en jaulas metabólicas individuales a temperatura ambiente, con luz natural, alimentadas con ración a base de maíz y fardo de alfalfa que se les administró dos veces al día y agua *ad libitum*.

Luego de un período de adaptación de 15 días a las condiciones experimentales, se prepararon para la cirugía.

### 6. 2. Implantación de sondas flujimétricas

Tras un ayuno de cuarenta y ocho horas de sólidos y doce horas de líquidos se realizó la implantación quirúrgica de las sondas flujimétricas a los animales. La cirugía se realizó en el Servicio de Endoscopía del Centro Hospital Veterinario de la Facultad. Doce horas previas a la cirugía se administró amoxicilina ( $7$  mg/kg IM, *Amoxicilina, Alfasan, Holanda*).

La premedicación anestésica se realizó con Xilazina ( $0,2$  mg/kg IM, *Sedomin, Konig, Argentina*) y Diacepán ( $0,25$  mg/kg IV, *Unizepan, Unimedical, Uruguay*). La anestesia general se indujo con Tiopental sódico con una dosis de ( $10$  mg/kg IV, *Tiopental Sodico, Ripoll, Uruguay*) y fue mantenida con halotano ( $0,5-2\%$ ) asociado a un flujo de O<sub>2</sub> a ( $1$  l/min).

Posterior a la asepsia de piel se efectuó, en la fosa del flanco derecho, siguiendo la bisectriz del ángulo costo-lumbar, una incisión de 15 a 18 cm. Los diferentes planos musculares de la zona fueron incididos siguiendo la dirección de sus fibras. Localizado el riñón derecho en el espacio retroperitoneal se identificó la arteria renal y se eliminó el tejido conjuntivo y adiposo que la rodeaban para evitar la interferencia con la señal ultrasonora. Luego se colocó alrededor de la arteria la sonda flujimétrica (a 2 cm del hilio renal) que fue cubierta por un film de silicona que se suturó para mantenerlo en su sitio. Esto impide que el tejido circundante interfiriera con la señal ultrasonora y contribuye a inmovilizar la sonda alrededor de la arteria.

La incisión de la pared se suturó respetando los diferentes planos musculares y posteriormente se suturó la piel. El cable de la sonda se exteriorizó a nivel de la comisura dorsal de la herida quirúrgica. Un mitón de algodón fue fijado al flanco del animal, para proteger el conector de la sonda así como el cable.

Seguidamente se colocó al animal en decúbito lateral derecho y se procedió de la misma forma para la colocación de la sonda en el riñón izquierdo.

Una vez culminada la cirugía los animales fueron llevados nuevamente a sus jaulas metabólicas para su recuperación post quirúrgica. Se les administró amoxicilina (7 mg/kg/día IM, Amoxicilina, Alfasan, Holanda) durante cinco días, para el tratamiento antimicrobiano, además de ketoprofeno (3mg/kg/día IM, Ketofen, Merial, Brasil) durante tres días para limitar las reacciones inflamatorias y el dolor.

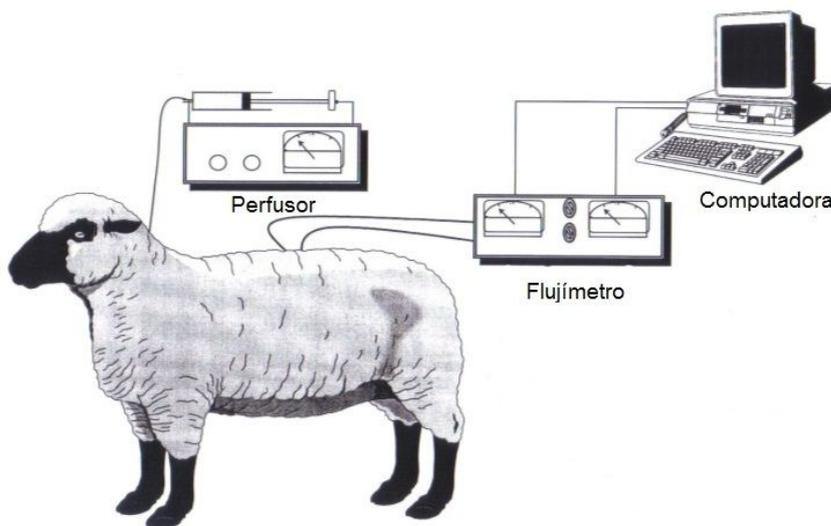
### 6. 3. Protocolos experimentales

Los protocolos experimentales se iniciaron ocho días luego de la cirugía ya que era necesario que ocurriera la completa encapsulación fibrosa de las sondas, hecho que permitió una óptima señal ultrasónica. Una vez logrado esto los conectores de la sonda fueron acoplados al flujímetro. El flujímetro a su vez se conectó a un sistema de adquisición numérica y con un software de adquisición y tratamiento de datos biológicos (Figura 1). Los registros obtenidos fueron utilizados para calcular los flujos instantáneos y los flujos medios con intervalos de tiempo regulares de diez minutos. Previamente a iniciar los protocolos se tomaron registros del FSR normal para comprobar que todo estuviera funcionando correctamente.

Antes de iniciar los protocolos se colocó un catéter (Seldiflex 6F, 15cm x 2 mm, Plastimed, Saint-Leu-la-Forêt, Francia) en una vena yugular con la técnica de Seldinger para la administración de las diferentes sustancias necesarias en la aplicación de los protocolos.

Previamente a la realización de los protocolos los ovinos fueron sometidos a un ayuno de 16 horas.

Se realizó, durante una hora, un registro testigo del FSR antes de cada protocolo. Finalizadas las perfusiones se hizo un registro hasta una hora después. Cada ovino recibió una perfusión por día en orden aleatorio. Cada protocolo se repitió dos veces por animal, dejando pasar 48 horas entre repeticiones para desaparición de los efectos precedentes.



**FIGURA 1.** Dispositivo experimental.

### Protocolo N° 1: Administración de Solución de Aminoácidos

Los animales recibieron una sobrecarga de aminoácidos mediante perfusiones de 0,5 mL/min de una mezcla de aminoácidos (6 mg/kg/min, Aminoven, Libra, Uruguay), como se muestra en el esquema de la figura N.º 2



**FIGURA 2.** Protocolo de perfusión de aminoácidos

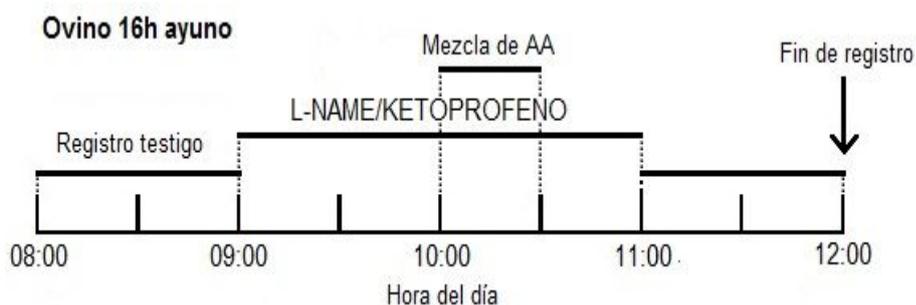
### PROTOCOLO N°2: Administración de aminoácidos y ketoprofeno

Durante una hora, previa a la perfusión de aminoácidos, se administró un bloqueante de las prostaglandinas, ketoprofeno (2 mg/kg/min Ketofen, Merial, Brasil).

### PROTOCOLO N°3: Administración de aminoácidos y L-NAME

Durante una hora, previa a la perfusión de aminoácidos, se administró un bloqueante del Óxido Nítrico (NO), el L-NAME (0,22 mg/kg/min, Sigma-Aldrich, Lyon, Francia).

Los protocolos N°2 y N°3 se muestran en el esquema de la figura N.º 3



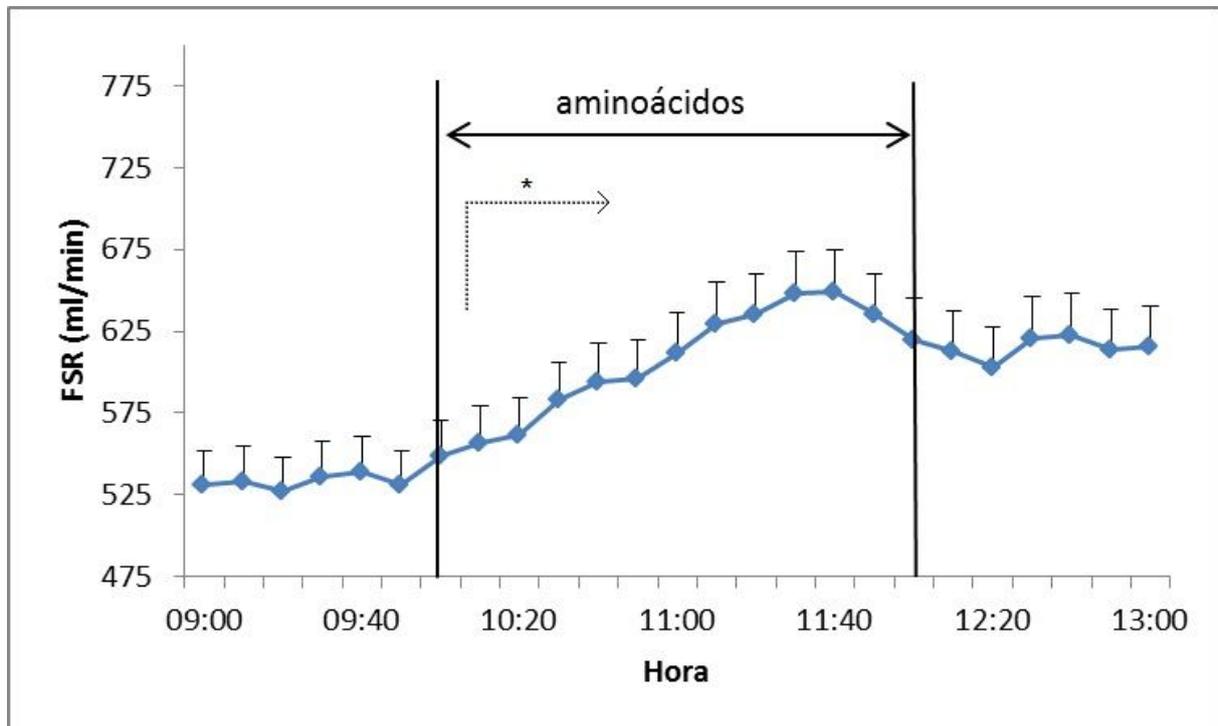
**FIGURA 3.** Protocolo de perfusión de bloqueantes y aminoácidos

#### *6. 4. Análisis estadístico*

A la variable numérica continua (FSR) con distribución normal se le realizó un análisis de varianza de un factor utilizando el programa Stata 11. El nivel de significación fue de 95%.

## 7. RESULTADOS

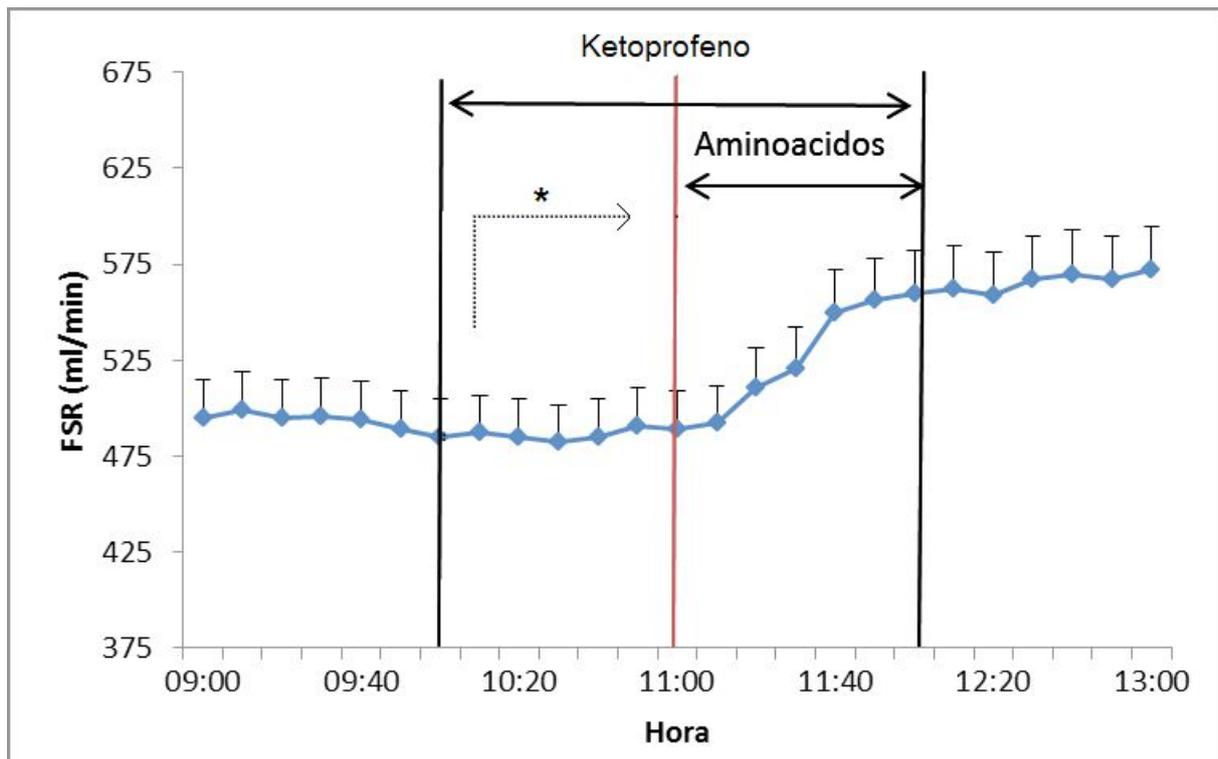
### 7. 1. Perfusión de aminoácidos



**FIGURA 4.** Evolución del FSR (ml/min) durante la administración intravenosa de aminoácidos. Valores promedios tomados cada diez minutos  $\pm$ DS,  $n=8$ . El asterisco indica diferencias significativas ( $p<0,05$ ) respecto a los valores del registro control.

El FSR aumentó a partir del comienzo de la perfusión de aminoácidos con valores que fueron significativamente superiores al valor testigo ( $p<0,05$ ). Este aumento ocurrió hasta 1 hora y 40 minutos de iniciado el ensayo llegando a un máximo de variación del FSR de 22% respecto al valor inicial ( $649 \pm 41,18$  vs.  $531 \pm 16,99$  ml/min respectivamente;  $p < 0,05$ ). Al suspender la perfusión se observó una caída en el FSR pero que no alcanzó los valores basales manteniéndose 13% por encima de su valor inicial. Una hora luego de finalizar la perfusión el FSR aún se mantenía elevado (16%) con respecto a su valor inicial ( $616 \pm 34,94$  vs.  $531 \pm 16,99$  ml/min respectivamente;  $p < 0,05$ ).

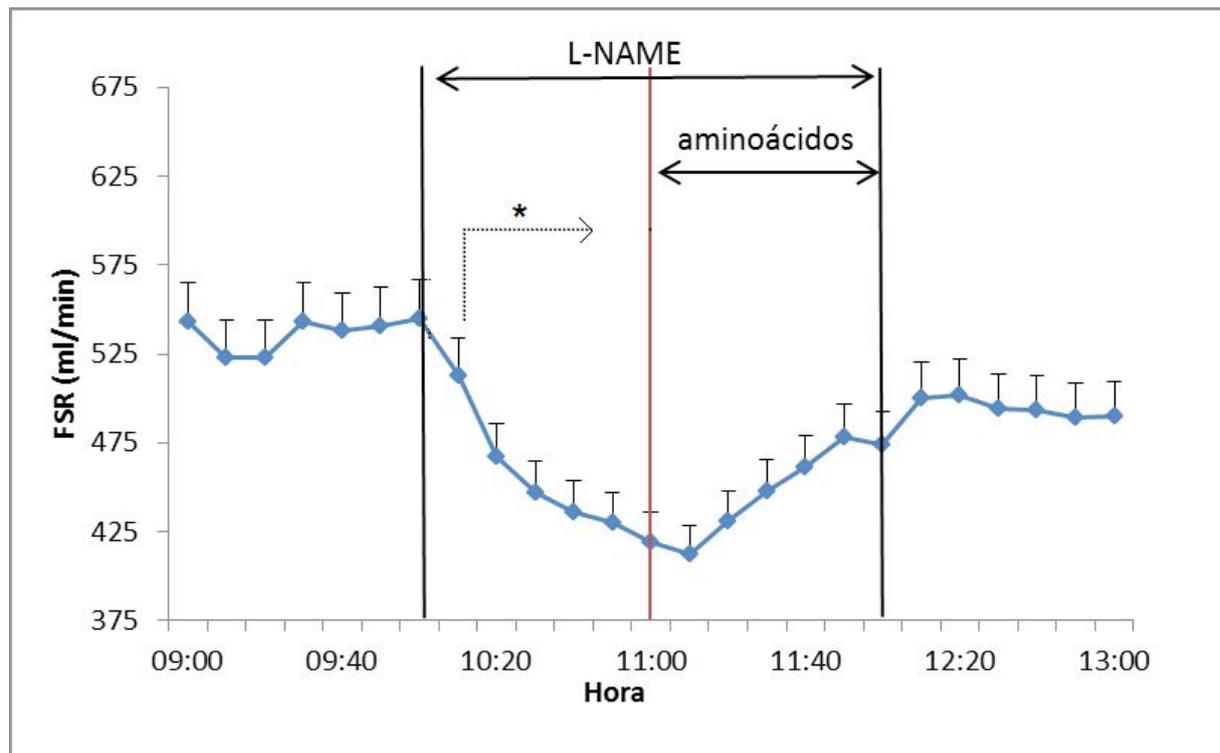
## 7. 2. Perfusión del bloqueador de las prostaglandinas y aminoácidos



**FIGURA 5.** Evolución del FSR (ml/min) durante la administración intravenosa de ketoprofeno y aminoácidos. Valores promedios tomados cada diez minutos  $\pm$  DS, n=8. El asterisco indica diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) respecto a los valores del registro control.

A los 30 minutos de iniciar la perfusión con el bloqueador de las prostaglandinas el FSR disminuyó un 9% respecto al valor testigo inicial ( $482 \pm 126,48$  vs.  $495 \pm 134,20$  ml/min respectivamente;  $p < 0,05$ ). A los diez minutos de comenzar a perfundir los aminoácidos el FSR aumentó y los valores durante la hora de perfusión fueron significativamente superiores a los del registro testigo ( $p < 0,05$ ). El máximo de variación registrado estuvo 15% por encima del valor inicial ( $572 \pm 154,68$  vs.  $495 \pm 134,20$  ml/min respectivamente;  $p < 0,05$ ).

### 7. 3. Perfusión del bloqueador del ON y aminoácidos



**FIGURA 6.** Evolución del FSR (ml/min) durante la administración intravenosa de L-NAME y aminoácidos. Valores promedios tomados cada diez minutos  $\pm$  DS, n=8. El asterisco indica diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) respecto a los valores del registro control.

Al comenzar la perfusión del bloqueador del ON, el FSR comenzó a descender hasta llegar a un mínimo de  $412 \pm 59,56$  a los 130 minutos siendo un 22% más bajo que su valor testigo ( $412 \pm 59,56$  vs.  $543 \pm 79,04$  ml/min respectivamente;  $p < 0,05$ ). A los 20 minutos del comienzo de la perfusión de aminoácidos el FSR aumentó, aunque todos los valores, hasta finalizar el registro, permanecieron significativamente más bajos ( $p < 0,05$ ), que los valores del registro testigo. Finalizadas ambas perfusiones el FSR sigue aumentando pero manteniéndose siempre con valores menores a su registro testigo (7%).

## 8. DISCUSION

### Perfusión de aminoácidos

La perfusión de aminoácidos tiene efectos sobre el flujo sanguíneo renal (Cirio y col, 2010). En nuestros estudios observamos un aumento en el FSR de los ovinos a los cuales se les administró una mezcla de aminoácidos, estando estos resultados acorde a la bibliografía consultada previamente.

En humanos Pluvio y col. (1996), reportaron, un aumento del 20 +/- 2%, resultado similar al que obtuvimos (22%) administrando una solución de mix de aminoácidos. Algunos autores observaron que tanto la L-cisteína, D-serina y la creatinina no lograron producir cambios en el FSR al administrarlos a caninos. Lee y Sumerill (1982), usando a perros como animales experimentales consiguieron aumentos en el FSR usando L-prolina administrada por vía intravenosa pero no observaron incrementos en el flujo cuando utilizaron glicina administrada por la misma vía. Por otra parte Castellino y col. (1990), administrando aminoácidos neoglucogénicos (ARG, GLY, PRO, CYS, MET, SER) obtuvieron 28% de aumento en el FPR y 16% en la FG. Ya en los individuos en los que administró alanina y una cadena de aminoácidos (BCAA) no obtuvo aumentos significativos.

### *Aminoácidos específicos versus mezcla de aminoácidos*

Segaud y col. (2009), utilizando ovinos hembras, adultas, no preñadas a las que administró una mezcla de aminoácidos y L-arginina sola observó que en ambos casos el FSR aumentaba pero no en la misma magnitud. Cuando perfundieron una mezcla de aminoácidos obtuvieron aumentos del 19,4% contra 9% cuando utilizaron L-arginina sola. Este resultado sugiere que aunque el aumento provocado por la L-arginina sola no sea tan alto como el que causó la mezcla, la L-arginina puede jugar un rol importante en el mecanismo por el cual se produce un aumento del FSR.

### *Diferencias entre dosis utilizadas*

Giordano y col. (1994), en humanos, administró diferentes dosis de una solución de aminoácidos y observó que a dosis bajas (5 mg.kg-1.min-1) hubieron aumentos no significativos en el FPR y FG. En dosis más altas (por encima de 10 mg.kg-1.min-1) sí obtuvo aumentos significativos en dichos parámetros.

La dosis utilizada en nuestros estudios fue de 6mg/ kg/ min, dicha dosis se encuentra por encima de la dosis mínima utilizada por el autor anteriormente citado y, en nuestras condiciones, produjo aumentos significativos. Este hecho puede atribuirse a una mayor sensibilidad a la sobrecarga aminoacidica por parte de los ovinos respecto a los humanos; especie utilizada en los experimentos anteriormente mencionados. Se concluye entonces que existe una relación entre la dosis de aminoácidos administrada y el efecto sobre la hemodinámica renal.

El mecanismo por el cual los aminoácidos producen vasodilatación renal aún no está del todo claro. En dicho proceso podría estar involucrado el mecanismo de

autorregulación renal en el que participa el aparato yuxtaglomerular. Los aminoácidos al ser filtrados y reabsorbidos por un mecanismo que involucra al sodio causarían una disminución en la concentración de este ión en el líquido tubular. La baja cantidad de sodio percibida por la mácula densa, activaría mecanismos para aumentar el FSR, la presión hidrostática glomerular, y por último el filtrado glomerular normalizando así las concentraciones de sodio. Esta idea estaría reforzada por estudios realizados por Woods y col. (1986), en los que se demostró un aumento del FSR y la FG al administrar aminoácidos a caninos con riñones normales; no ocurriendo lo mismo en los que tenían riñones con el feedback tubuloglomerular inhibido.

El incremento del FSR ocasionado por los aminoácidos necesitaría el mecanismo de autorregulación tubuloglomerular intacto.

### Perfusión de ketoprofeno y aminoácidos

Al administrar ketoprofeno se espera una acción inhibitoria sobre las prostaglandinas producidas a nivel renal.

En nuestro estudio, cuando trabajamos utilizando ketoprofeno observamos una disminución del FSR que fue similar a la percibida por otros investigadores que aplicaron protocolos similares. Cirio y col. (2010), luego de administrar una solución de ketoprofeno durante 2 horas hallaron una disminución del 4% en el registro del FSR.

Por otra parte, investigadores que, al tener como objetivo estudiar otras sustancias necesitaban inhibir el posible efecto de las prostaglandinas observaron que al administrar indometacina (un inhibidor de la formación de prostaglandinas), los valores del flujo sanguíneo en la corteza renal no se veían afectados (Walder y col., 1991).

Algunos autores sostienen que la formación de prostaglandinas no contribuye a las variaciones del flujo sanguíneo renal normal, pero sí juega un rol importante en el riñón comprometido en casos de shock circulatorio o falla renal (Clive y Stoff, 1984; Carmichael y Shankel, 1985; Morrison, 1986; Patrono y Dunn, 1987; Oates y col., 1988).

Nuestros resultados apuntan a disminuciones significativas en el FSR, cuando a los animales se les administró el inhibidor de las prostaglandinas. Este hecho demuestra que las prostaglandinas, en condiciones normales, podrían participar en el control de la dilatación arteriolar aferente. Sin embargo, no podemos afirmar que las prostaglandinas son los únicos agentes vasodilatadores que están implicados en dicho proceso, sino que actuarían en conjunto con otras sustancias. El posterior aumento del FSR producido por la administración de aminoácidos, pese al bloqueo de la acción de las prostaglandinas, reforzaría ésta idea.

### *Efecto del ketofen sobre la acción de los aminoácidos*

En nuestro estudio, la perfusión previa de ketoprofeno no logró prevenir el aumento del FSR ocasionado por la administración de la solución de aminoácidos. Al observar estos resultados podemos inferir que si la respuesta hemodinámica renal a los aminoácidos estuviera relacionada con el mecanismo de autorregulación tubuoglomerular, el mismo no se vería afectado por la ausencia del efecto de las prostaglandinas. Existirían uno o más agentes encargados de permitir el aumento del flujo por la arteriola aferente.

Tuttle y col. (2002) obtuvieron resultados similares utilizando la indometacina (150 mg, dosis total) como inhibidor de las prostaglandinas. Observaron que la administración de la misma, no produjo cambios en la respuesta del FSR y FG frente a la administración de aminoácidos.

Cirio y col. (2010) concluyeron que los aumentos en FSR luego de administrar aminoácidos en ovinos tratados con ketoprofeno, eran similares a aquellos en los que no se había administrado ningún inhibidor de las prostaglandinas.

Estos resultados inducen la idea de que las prostaglandinas; si bien pueden estar en parte, involucradas en el control de la hemodinámica renal, no participan en la respuesta de la misma frente a la administración de aminoácidos o la sobrecarga proteica.

Por otra parte Krishna y col. (1988) trabajando en seres humanos, demostró que los individuos que recibieron un tratamiento con indometacina (50 mg, dosis total) exhibieron una significativa atenuación en la hiperfiltración glomerular en respuesta a una comida proteica. En el mismo estudio quedó demostrado que, si bien la droga alteraba la respuesta del filtrado a la carga proteica, no ocurría así con el flujo sanguíneo renal que aumentaba. Este estudio sugiere que el efecto de los inhibidores de las prostaglandinas en el riñón puede ocurrir por alteración de la permeabilidad de la superficie glomerular o afectando el equilibrio entre las resistencias de las arteriolas aferente y eferente.

### *Diferencias entre inhibidores*

El uso de drogas de distinta estructura química capaces de inhibir la acción de las prostaglandinas es un factor a observar cuando se pretende emitir un juicio respecto a la participación de éstas en el cambio en la hemodinámica renal producido por los aminoácidos. Hirschberg y col. (1988), plantea el uso de dos sustancias de diferente estructura, ambas capaces de inhibir la acción de estos agentes vasodilatadores. En sus estudios con humanos el uso de indometacina (150 mg, dosis total), derivada del ácido indolacético, previno los cambios producidos en el FPR, FG o la resistencia vascular renal (RVR) inducidos por la administración del aminoácido arginina en los pacientes. Con el ibuprofeno (800mg, dosis total), derivado del ácido propiónico, se observó el mismo efecto sobre la respuesta vascular renal a dicho aminoácido, lo que lo lleva a concluir que la acción sobre las prostaglandinas es la misma independientemente del inhibidor utilizado.

En nuestro experimento, el uso del ketoprofeno; también un derivado del ácido propiónico, no fue capaz de producir el mismo efecto que las drogas administradas a los pacientes en el estudio anteriormente citado. Si comparamos con el inhibidor de la misma estructura (ibuprofeno), podemos decir que las diferencias en los resultados encontrados no se deben a la distinta composición química de los inhibidores empleados.

#### Perfusión de L-NAME y aminoácidos

El efecto esperado al utilizar el L-NAME es que el mismo inhiba la formación de NO y, por ende, el posible efecto que esta sustancia tenga sobre el lecho vascular renal durante el aumento de flujo inducido por la administración de aminoácidos. La disminución del FSR observada en el comienzo de la perfusión del L-NAME indicaría que el NO podría participar como mediador en la respuesta vasodilatadora renal.

En otros estudios realizados con el mismo bloqueador de la formación del NO hubo resultados similares pero que difieren en cuanto al tiempo en el que comienza a verse la caída del FSR y también en cuanto a la dosis administrada de LNAME con la cual se observa efecto.

#### *Diferencias entre dosis utilizadas*

Lahera y col. (1991), administrando diferentes dosis de L-NAME no observó ningún efecto significativo cuando administró 0.1 microgramos/kg/min del mismo. Con 1.0 microgramos/kg/min solamente a los 120 minutos de perfusión hubo una reducción significativa del FSR. Una dosis más alta (50 microgramos/kg/min) logró una caída del flujo a los 60 minutos y los valores se mantuvieron bajos durante todo el experimento.

En el presente estudio se utilizó una única dosis (0,22 mg/kg/min), por lo que no podemos descartar que haya una relación dosis-respuesta. Cirio y col. (2009), utilizando la misma especie y dosis, observó que la sola perfusión de L-NAME durante 2 horas, logró disminuir un 17% el FSR y volvió a la normalidad solamente después de finalizar la maniobra.

Salazar y col. (1994), obtuvieron algunas diferencias con respecto a nuestros resultados. No mostraron diferencias significativas en el FSR entre el grupo de ratas a las que se les administró L-NAME y el grupo control en el período anterior a que éstas recibieran una comida rica en proteínas. Las diferencias se observaron luego de que a ambos grupos se les administrara una comida. En el grupo control se percibió un aumento del flujo del 25%, no siendo así en el grupo al que se les administró L-NAME.

#### *Diferencias entre inhibidores*

Otros trabajos, que estudiaron la relación del NO entre la hemodinámica renal y el efecto de los aminoácidos sobre la misma, difieren en cuanto al bloqueador del NO que se utilizó. Tolins y Raij (1991), observaron que la administración intrarrenal de

500 microgramos/kg/min de NG-monomethyl-L-arginina (LNMMA), produjo cambios significativos en el FSR de ratas, no siendo así cuando administraron 250 microgramos/kg/min.

La misma dosis, si bien no logró reducir el FSR, previno el aumento esperado del mismo cuando a los animales se les realizaba una perfusión de una mezcla de aminoácidos. Una vez más los resultados indican que la dosis del bloqueador juega un papel importante. Por otra parte King y col. (1991), administrando LNMMA (110 microgramos/kg/min) en ratas, observó que previo a administrar aminoácidos hubo una caída pequeña pero significativa del FSR y que el bloqueador impedía la hiperemia producida por los aminoácidos.

Ambos trabajos sugieren que el NO jugaría algún rol en la vasodilatación renal producida por los aminoácidos. Otros bloqueadores como nitro-L-arginina (N-L-ARG), lograron una reducción significativa del FSR cuando se administraban solos, pero su efecto fue parcialmente revertido por la perfusión de aminoácidos (Chen y col., 1992), similar a lo que ocurrió en nuestros estudios.

Chen y col. (1992), sugieren que los aminoácidos pueden influenciar significativamente en la hemodinámica renal aún en presencia de inhibidores de la síntesis de factores relajantes derivados del endotelio, entre los cuales se encuentra el NO. Esto refuerza la teoría de que el NO no actuaría solo en la vasodilatación renal frente a la administración de aminoácidos sino que lo haría en conjunto con otros agentes que podrían diferir en cuanto a la potencia de su efecto.

Podríamos concluir que las diferencias encontradas respecto a otros trabajos pueden no solo atribuirse a diferentes dosis usadas, sino también a la capacidad de los distintos bloqueadores de ejercer efecto sobre la hemodinámica normal del riñón. Otra teoría que podría explicar el aumento parcial del FSR al administrar los aminoácidos, pese al bloqueo de la formación del NO, es que la presencia de la arginina podría revertir el efecto inhibitorio del bloqueador. Este aminoácido es un elemento necesario para la formación del NO que se produce a partir de sus átomos de nitrógeno (Palmer y col., 1989). Otros trabajos demostraron que la L-arg administrada sola, no solamente fue capaz de revertir la reducción del flujo sanguíneo de la corteza renal producida por la perfusión de un bloqueador de la formación del NO (LNMMA), sino que produjo un aumento del  $49 \pm 10\%$  del mismo (Walder y col., 1991).

## **9. CONCLUSIONES**

Al igual que en otras especies la sobrecarga aminoacídica provoca un aumento del flujo sanguíneo renal en el ovino.

El óxido nítrico parecería cumplir un rol más activo que las prostaglandinas en esta vasodilatación, actuando a nivel de la autorregulación del flujo sanguíneo renal.

En función de nuestros resultados no son los únicos involucrados en la respuesta a la perfusión de aminoácidos, por lo suponemos que en este mecanismo tan complejo otros autacoides locales y hormonas se encontrarían implicados.

Sería de importancia delucidar a través de nuevas investigaciones el mecanismo intrínseco que lleva a la vasodilatación arteriolar renal.

## 10. BIBLIOGRAFÍA

1. Alavi FK, Zawada ET, Simmons JL (1995) Renal hemodynamic and histological consequences of diets high in unsaturated fat, protein or sucrose in obese Zucker rats. *Clin. Nephrol.*; 43:122-130.
2. Brenner BM (2004) *El riñón: tratado de nefrología*. 7° Ed. Barcelona, Elsevier, 3072 p.
3. Carmichael J, Shankel SW (1985) Effects of nonsteroidal antiinflammatory drugs on prostaglandin and renal function. *Am. J. Med.*, 78:992-1000.
4. Castellino P, Levin R, Shohat J, DeFronzo RA (1990) Effect of specific amino acid groups on renal hemodynamics in humans. *Amer. J. Physiol.*, 258(4):992-997.
5. Chen C, Mitchel KD, Navar LG (1992) Role of endothelium-derived nitric oxide in the renal hemodynamic response to amino acid infusion. *Amer. J. Physiol.*, 236:510-516.
6. Cirio A, Tebot I, Paquet C, Ayoub JI, Bonnet JM (2010) Renal blood flow increase induced by amino acids in sheep: role of nitric oxide and prostaglandins. III International Symposium on Energy and Protein metabolism and nutrition, Parma, Italia, 1 p.
7. Cirio A, Tebot I, Paquet C, Ayoub JY, Bonnet JM (2009) Blocking NO synthesis by L-NAME perfusion partially prevents the renal blood flow increase induced by insulin perfusion in conscious sheep. XI International Symposium on Ruminant Physiology, Clermont-Ferrand, Francia, p. 1.
8. Cirio A (1989) *L'épargne uréique rénale chez les moutons carencés en protéines*. Tesis Université Claude Bernard. 20 p.
9. Clive DM, Stoff JS (1984) Renal syndromes associated with nonsteroidal antiinflammatory drugs. *New Engl. J. Med.*, 310:563-572.
10. Fliser D, Zeier M, Nowack R, Ritz E (1993) Renal functional reserve in healthy elderly subjects. *J. Am. Soc. Nephrol.*, 3(7):1371-7.
11. Giordano M, Castellino P, McConnell EL, DeFronzo RA (1994) Effect of amino acid infusion on renal hemodynamics in humans. A dose response study. *Am. J. Physiol.*, 267:703-708.
12. Guyton AC, Hall JE (2006) Formación de orina por los riñones: Filtración glomerular, flujo sanguíneo renal y su control. En: Guyton AC, Hall JE *Tratado de fisiología médica*, 11° ed., Madrid, Elsevier, p.307-322.
13. Henrich WL, Anderson RJ, Berns AS, McDonald KM, Paulsen PJ, Berl T, Schrier RW (1978) The Role of Renal Nerves and Prostaglandins in Control of Renal

Hemodynamics and Plasma Renin Activity during Hypotensive Hemorrhage in the Dog. *J. Clin. Invest.*, 61(3): 744–750.

14. Hirschberg RR, Zipser RD, Slomowitz L, Kopple JD (1988) Glucagon and prostaglandins are mediators of amino acid-induced rise in renal hemodynamics. *Kidney Int.*, 33:1147-1155.

15. King AJ, Troy JL, Anderson S, Neuringer JR, Gunning M, Brenner BM (1991) Nitric Oxide: A potential mediator of amino acid-induced renal hyperemia and hyperfiltration. *J. Am. Soc. Nephrol.*, 1:1271-1277.

16. Kontessis P, Jones S, Dodds R, Trevisan R, Nosadini R, Fioretto P, Borsato M, Sacerdoti D, Viberti G (1990) Renal, metabolic and hormonal responses to ingestion of animal and vegetable proteins. *Kidney Int.*, 38:136-144.

17. Krishna GG, Newell G, Miller E, Heeger P, Smith R, Polansky M, Kapoor S, Holdtke R (1988) Protein-induced glomerular hyperfiltration: Role of hormonal factors. *Kidney Int.*, 33:578-583.

18. Lahera V, Salom MG, Miranda-Guardiola F, Moncada S, Romero C (1991) Effects of NG-nitro-L-arginine methyl ester on renal function and blood pressure. *Am. J. Physiol. Renal Physiol.*, 261(6):1033-1037.

19. Lee KE, Summerill RA (1982) Glomerular filtration rate following administration of individual amino acids in conscious dogs. *Q. J. Exp. Physiol.*, 67:459-465.

20. Lentine K, Wrone E (2004) New insights into protein intake and progression of renal disease. *Curr. Opin. Nephrol. Hypertens.*, 13:333-336.

21. Morrison AR (1986) Biochemistry and pharmacology of renal arachidonic acid metabolism. *Am. J. Med.*, (1A) 80:3-11.

22. Oates JA, Fitzgerald GA, Branch RA, Jackson EK, Knapp HR, Roberts LJ (1988) Clinical implications of prostaglandin and thromboxane A<sub>2</sub> formation. *New Engl. J. Med.*, 319:689-98, 761-767.

23. Oddy VH, Gooden JM, Annison EF (1983) Effect of diet and physiological state on recycling urea in Merino ewes. *S. Afr. Tydskr. Veek.* 13:70-72.

24. Palmer RMJ, Moncada S (1989) A novel citrulline-forming enzyme implicated in the formation of nitric oxide by vascular endothelial cells. *Biochem Biophys Res Commun*, 158(1):348-352.

25. Patrono C, Dunn MJ (1987) The clinical significance of inhibition of renal prostaglandin synthesis. *Kidney Int.*, 32:1-12.

26. Pluvio C, Pascale E, Giordano M, Cirillo D, Carone M, Pluvio M, Castellino P, Giordano C (1996) Correlation between glomerular morphology and renal

haemodynamic response to amino-acid administration in patients with IgA nephropaty. *Nephrol. Dial. Transplant.*, 11:2421-2425.

27. Rodriguez MN, Tebot I, Le Bas A, Nievas C, Leng L, Cirio A (1996) Renal functions and urea handling in pregnant and lactating Corriedale ewes. *Can. J. Anim. Sci.*, 76(3):469-472.

28. Salazar FJ, Alberola A, Nakamura T, Granger JP (1994) Role of nitric oxide in the renal hemodynamic response to a meat meal. *Am. J. Physiol.*, 267:1050-1055.

29. Segaud V (2009) Reponse hemodynamique renale a la perfusion d'acides amines chez le mouton: Etude par debitmetrie ultrasonore a effet "transit-time". Tesis Université Claude Bernard, 20 p.

30. Skov AR, Toubro S, Bulow J, Krabbe K, Parving HH, Astrup AA (1999) Changes in renal function during weight loss induced by high vs low-protein low-fat diets in overweight subjects. *Int J Obes Relat Metab Disord*, 23:1170-1177.

31. Tolins JP, Raij L (1991) Effects of amino acid infusion on renal hemodynamics. Role of endothelium-derived relaxing factor. *Hypertension*, 17:1045-1051.

32. Tolins JP, Raij L (1990) Role of endothelium-derived relaxing factor in regulation of renal hemodynamic responses. *Am. J. Physiol.*, 258(3):655-662.

33. Tuttle KR, Puhlman ME, Cooney SK, Short RA (2002) Effect of amino acids and glucagon on renal hemodynamics in type 1 diabetes. *Am. J. Physiol. Renal Physiol.*, 282:103-112.

34. Walder CE, Thiemermann, Vane JR (1991) The involvement of endothelium-derived relaxing factor in the regulation of renal cortical blood flow in the rat. *Br. J. Pharmacol.*, 102:967-973.

35. Weismann DN, Williamson HE (1980) Indomethacin suppresses renal vasodilation in response to local renal hypoxemia. *Life Sci.*, 27(25-26):2459-64.

36. Woods LL, Mizelle HL, Montani JP, Hall JE (1986) Mechanisms controlling renal hemodynamics and electrolyte excretion during amino acids. *Am. J. Physiol.* 251(2):303-12.