



11262  
**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO**

FACULTAD DE MEDICINA  
DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO  
E INVESTIGACION

8  
20)

**MODIFICACIONES PRODUCIDAS POR EL ENVEJECIMIENTO SOBRE LA  
RESERVA FUNCIONAL RENAL EN UN MODELO MURINO.**

**T E S I S**

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE:

**MAESTRA EN CIENCIAS MEDICAS**

PRESENTA:

**MARIA AURORA MARAVILLA DOMINGUEZ**

MEXICO, D. F.

1996

**TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN**

**TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN**



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

Tutor académico: **Dr. José Dante Amato Martínez**

Coasesores: **Dr. José Ramón Paniagua Sierra.**

**Dr. José Rodrigo Muñoz Olvera**

Investigadores Participantes:

QFB. Olga Gajá Rodríguez\*

QFB. Carlos Montoya Juárez.\*

Dr. Emilio Castellanos Juárez\*\*

Dr. Sebastián Castillo Medina\*\*

\*Instituto Mexicano del Seguro Social. Hospital de Especialidades "Dr. Bernardo Sepúlveda G". Unidad de Investigación Médica en Enfermedades Nefrológicas, C. M. N. Siglo XXI.

\*\* Instituto Mexicano del Seguro Social, Hospital de Oncología, Unidad de Investigación Médica en Patología Experimental". C. M. N Siglo XXI.

## ÍNDICE

<i>RESUMEN</i>	1
<i>ABSTRACT</i>	3
<i>ANTECEDENTES CIENTÍFICOS</i>	1
<i>ENVEJECIMIENTO</i>	1
<i>RESERVA FUNCIONAL RENAL</i>	3
<i>OXIDO NITRICO</i>	5
<i>INHIBIDORES DE LA ENZIMA CONVERSORA DE ANGIOTENSINA</i>	8
<i>MATERIAL Y MÉTODOS</i>	11
a) <i>Producción del modelo experimental.</i>	12
b) <i>Estudio morfológico</i>	14
c) <i>Estudios funcionales</i>	15
d) <i>Cálculos</i>	15
e) <i>Métodos analíticos</i>	16
f) <i>Análisis estadístico.</i>	16
<i>RESULTADOS.</i>	18
<i>CUADRO 1</i>	23
<i>FIG. 1</i>	24
<i>FIG. 2</i>	25
<i>FIG. 3</i>	26
<i>FIG. 4</i>	27
<i>FIG. 5</i>	28
<i>FIG. 6</i>	29
<i>FIG. 7</i>	30
<i>FIG. 8</i>	31
<i>FIG. 9</i>	32
<i>FIG. 10</i>	33
<i>FIG. 11</i>	34
<i>FIG. 12</i>	35
<i>DISCUSION</i>	36
<i>REFERENCIAS</i>	44

## RESUMEN

Para valorar los efectos del envejecimiento en la progresión de la glomeruloesclerosis y la disminución progresiva de la función renal, manifestada por falta de respuesta vasodilatadora a la administración de aminoácidos o ingestión de comida con alto contenido de proteínas, conocida como reserva funcional renal, en la que se ha involucrado la participación del óxido nítrico, evaluamos un grupo de ratas jóvenes de 3 meses de edad (testigo), un grupo de ratas de edad avanzada de 15 meses de edad y un grupo de ratas de edad avanzada de 15 meses de edad tratadas con captopril hasta cumplir los 18 meses, a las que se les administró una mezcla de aminoácidos mixtos por vía intravenosa.

La filtración glomerular, el flujo plasmático renal efectivo, los metabolitos estables del óxido nítrico, las concentraciones de 3', 5' guanidilmonofosfato cíclico en orina y las características histológicas glomerulares se compararon en los tres grupos de estudio

Las ratas jóvenes desarrollaron elevación de la filtración glomerular, del flujo plasmático renal efectivo, de la excreción urinaria de nitritos y nitratos y de GMPC; el examen histológico de los glomérulos no reveló alteraciones significativas.

En los dos grupos de ratas de edad avanzada con y sin tratamiento, la administración de los aminoácidos no logró respuesta vasodilatadora y no se observaron cambios en alguno de los parámetros fisiológicos registrados. El examen histológico de los glomérulos reveló diversos grados de daño glomerular en ambos grupos, más evidentes en el grupo de ratas de edad avanzada tratadas con captopril.

Los resultados más sobresalientes de este estudio son: el aumento en la excreción urinaria de los metabolitos del óxido nítrico ( $1.84 \pm 0.60$  -  $2.84 \pm 0.59$  nmol/min) y GMPC ( $8.14 \pm 1.71$  -  $75.86 \pm 10.01$  ng/min) como respuesta al estímulo vasodilatador agudo en el grupo de ratas jóvenes y la ausencia de estos cambios en el grupo de ratas de edad avanzada ( $2.82 \pm 0.57$  -  $1.92 \pm 0.67$  nmol/min) ( $38.44 \pm 11.46$  -  $9.11 \pm 1.94$  ng/min) y ratas de edad avanzada tratadas con captopril ( $0.60 \pm 0.18$  -  $1.37 \pm 0.61$  nmol/min) y ( $14.67 \pm 2.97$  -  $8.33 \pm 1.96$  ng/min), así como la progresión de la

glomeruloesclerosis (Grupo I: 90% de los glomérulos normales; grupo II 48% normales y grupo III 31% normales) con la edad. El tratamiento con captopril no fue capaz de limitar la progresión de la glomeruloesclerosis en los animales ancianos.

Estos resultados sugieren la participación activa del óxido nítrico y GMPe en la respuesta vasodilatadora renal que ocurre con la administración de los aminoácidos. La presencia de cambios estructurales notables en los grupos de ratas de edad avanzada y la ausencia de respuesta vasodilatadora y cambios en los niveles urinarios excretados de los metabolitos del óxido nítrico y GMPe parecen contribuir a las alteraciones funcionales observadas en la edad avanzada.

## ABSTRACT

To assess the effects of aging in glomerulosclerosis progression and progressive reduction of renal function, measured as a loss of the vasodilatory response to aminoacid administration or to high protein food intake, known as renal functional reserve, in which nitric oxide participation has been suspected, a group of young (3 months old) male rats (control), a group of old rats (15 months old), and a group of rats treated with captopril from age 15 months to age 18 months were studied with administration of an admixture of aminoacids by the intravenous route.

Glomerular filtration rate, effective renal plasma flow, nitric oxide stable metabolites, urine concentration of 3', 5' cGMP and histologic characteristics of glomeruli were compared among the three study groups.

Young rats developed increased glomerular filtration rate, of effective renal plasma flow, of urinary excretion of nitrites and nitrates and cGMP; histologic examination of glomeruli did not reveal significant disturbances.

In both groups of aged rats (with and without treatment), aminoacids administration did not produce vasodilatory response. No changes were observed in any physiological parameter. Histologic examination of glomeruli revealed different degrees of glomerular damage in both groups, that were more striking in the group of aged rats treated with captopril.

The most important results of this study in the group of young rats were the increase in urinary excretion of nitric oxide metabolites ( $1.84 \pm 0.60 - 2.84 \pm 0.59$  nmol/min) and cGMP ( $8.14 \pm 1.71 - 75.86 \pm 10.01$  ng/min) as a response to the acute vasodilatory stimulus, and the lack of changes in the group of aged rats ( $2.82 \pm 0.57 - 1.92 \pm 0.67$  nmol/min) ( $38.44 \pm 11.46 - 9.11 \pm 1.94$  ng/min) and aged rats treated with captopril ( $0.60 \pm 0.18 - 1.37 \pm 0.61$  nmol/min) and  $14.67 \pm 2.97 - 8.33 \pm 1.96$  ng/min), and progression of the glomerular sclerosis (Group I 90% of glomeruli were normal; in group II 48% normal; in group III 31% normal) with age. Treatment with captopril was not able to stop the progression of glomerulosclerosis in aging animals.

These results suggest the active participation of nitric oxide and cGMP in the renal vasodilatory response occurring with aminoacids administration. Striking structural changes seen in groups of aged rats and the lack of vasodilatory response and the changes in the urinary excretion levels of nitric oxide metabolites and cGMP may contribute to functional disturbances observed in aged rats.

## **ANTECEDENTES CIENTÍFICOS**

### ***ENVEJECIMIENTO***

El envejecimiento es parte de la escala cronológica en el ciclo de la vida, se relaciona con una categoría del desarrollo en una dimensión cuantitativa y representa una posición específica en las etapas del crecimiento, con cambios que progresan a diferente velocidad en los diversos sistemas corporales y se manifiestan en todas las funciones y estructuras del cuerpo (1).

Muchas de las funciones renales primarias declinan con la edad en ausencia de enfermedad renal subyacente (2, 3). Durante el proceso de envejecimiento renal, ocurren cambios morfológicos y bioquímicos que incluyen a las estructuras renales (4). El peso total de los riñones disminuye y la pérdida de tejido renal afecta principalmente a la corteza, con relativa conservación de la médula renal (5). Disminuye el número de penachos glomerulares por unidad de área, así como el número de células glomerulares y tubulares; el tamaño individual de las células se incrementa, incluyendo engrosamiento y alteración en la composición de la membrana basal y disminución en el número de glomerulos funcionantes (5, 6) que reaccionan con hiperfiltración e hiperperfusión adaptativas (7).

El hombre exhibe una lenta disminución en la filtración glomerular (FG) después de la cuarta década de vida y también ocurre disminución del flujo sanguíneo renal (FSR) (4). La mujer parece estar relativamente protegida y muestra reducciones en la FG más tarde en la vida (3).

La respuesta vascular renal también cambia con la edad. Se sabe que el efecto vasodilatador a la acetilcolina y al sodio está disminuido en riñones de ancianos en comparación con adultos jóvenes (4).

Cualquiera que sea la causa inicial de la lesión, la hiperfiltración y la hiperperfusión glomerular inician o aceleran el daño estructural y la pérdida de la función y someten a las nefronas remanentes a daño mayor (8, 9). Esto lleva a considerar que el anciano está en un estado continuo de hiperfiltración por la pérdida de masa renal y es el origen de la pérdida progresiva de la función (10).

La rata también presenta muchos de los cambios de la función renal que muestran los seres humanos (11). Los estudios morfológicos indican que en las ratas, el daño glomerular dependiente de la edad, es más rápido e intenso; ocurre con aumento de los depósitos mesangiales, proliferación mesangial y el engrosamiento de la membrana basal glomerular precede a la aparición de daño focal y esclerosis glomerular global (11-13); la falla renal es causa importante de muerte en la mayoría de las cepas (11). El género es otro de los determinantes de daño estructural glomerular y de los

trastornos en la hemodinamia que ocurren con la edad avanzada, ya que la declinación de la función renal está retardada en hembras en comparación con los machos (14).

La incidencia de las lesiones glomerulares relacionadas con la edad varía con la cepa (3). La Sprague-Dawley exhibe un rápido desarrollo de daño con disminución de la FG (14) desde el año de edad e hipertensión glomerular notable, alteración mesangial, esclerosis glomerular extensa y a los 22 meses de edad, ya hay extenso daño renal (16-18).

### **RESERVA FUNCIONAL RENAL**

El concepto de reserva funcional renal (RFR) nació de la observación de que en situaciones normales de reposo, la FG se eleva rápidamente por una gran variedad de estímulos. Esta capacidad excretora extra, es una reserva que el riñón utiliza en situaciones de estrés (19).

Después de estimulación máxima con comida de alto contenido de proteínas, la elevación de la FG va de 62 a 81% (20, 21); la mayoría de los observadores logran incrementos de 10 a 30% (22, 23). En la mayor parte de los estudios también se eleva el flujo plasmático renal efectivo (FPRE) y el flujo sanguíneo renal (FSR), aunque esto no es un hallazgo universal (24).

Los cambios en la función renal después de una comida rica en proteínas animales o después de la administración intravenosa de aminoácidos, se describieron por primera vez en 1923 (25) y son los estímulos usados comúnmente para estudiar la RFR; desde entonces se ha intentado esclarecer si la respuesta es directa o está mediada por otras sustancias.

La mayoría de los autores están de acuerdo en que la respuesta no se debe directamente a los efectos intrarrenales del estímulo (19). Los estudios que tratan de explicar el mecanismo se sitúan en tres categorías: la primera postula el papel de los aminoácidos como sustrato metabólico que causa esos cambios; la segunda, hipotetiza que en respuesta a la elevación en plasma de los niveles de aminoácidos, se liberan factores humorales locales o circulantes, que subsecuentemente estimulan la vasodilatación renal. La tercera categoría involucra los mecanismos renales intrínsecos que incluyen al mecanismo de retroalimentación túbuloglomerular y al mecanismo de transporte tubular (26).

Siempre que un riñón se daña, la RFR desaparece antes de que la FG en reposo disminuya. La medición del grado al cual la FG pierde su capacidad de elevarse en respuesta al estrés, es un indicador temprano de daño renal (19).

Cuando la población normal de glomérulos se reduce quirúrgicamente o por enfermedad renal (nefropatía primaria,

diabetes mellitus no controlada, hipertensión, envejecimiento, etc.) (7, 27-29), los glomérulos reaccionan con hiperperfusión e hiperfiltración adaptativas (7). La hiperfiltración glomerular rompe la integridad de la membrana capilar y provoca proteinuria, acumulación de depósitos mesangiales e inicia o acelera la esclerosis glomerular, con la consecuente disminución de la función renal y pérdida de la capacidad para aumentar la FG y FPRE después de la administración aguda de aminoácidos o proteínas (18).

### **OXIDO NITRICO**

La dilatación vascular renal, depende de la presencia de endotelio funcionalmente intacto (30, 31). El endotelio es un órgano complejo dinámico con diversas funciones e incluye la síntesis y liberación de agentes vasodilatadores (32) y vasoconstrictores (33) que modulan el tono vascular. Entre los primeros está el óxido nítrico (NO\*) o factor relajante dependiente de endotelio (FRDE) (34, 35).

El NO\* es una molécula mensajera versátil, con actividad en todos los sistemas biológicos; se requieren pequeñas cantidades de NO\* para múltiples actividades celulares (36-38). No tiene formas especiales de almacenaje, se produce y libera dónde y cuándo se necesita y difunde simplemente como producto celular; sus actividades van desde la regulación de la presión sanguínea hasta la defensa antimicrobiana. Es una pequeña molécula formada por un

átomo de nitrógeno y uno de oxígeno, no cargada, que posee un electrón no apareado, que le confiere la estructura de ion libre que la hace muy reactiva químicamente y rápidamente reacciona con otras moléculas (36-38). El NO\* se sintetiza por la sintetasa de óxido nítrico (NOS) en una reacción inusual que convierte L-arginina y oxígeno en citrulina y NO\* ( 38-39).

El NO\* es una molécula extremadamente lábil, de vida media corta, su existencia es de aproximadamente 2 a 30 segundos (38) y después de transmitir una señal espontáneamente, reacciona con oxígeno y agua y se transforma en nitritos y nitratos, que se excretan por la orina (36, 38).

El NO\* se produce en las células endoteliales, difunde fuera de ellas, entra en las células del músculo liso, donde activa la guanilato ciclasa soluble y estimula la producción de 3'5'GMPc, el cual actúa como segundo mensajero para neurotransmisores y hormonas, (40, 41); a nivel vascular el GMPc dilata las arterias e induce relajación del músculo liso y es un marcador biológico de la actividad del NO\* (35). Las células endoteliales liberan continuamente pequeñas cantidades de NO\* para mantener un nivel basal de relajación del músculo liso vascular (42).

El NO\* liberado en el riñón en condiciones basales, regula la resistencia vascular renal *in vivo* (43) e *in vitro* (44) y sus efectos están mediados por el GMPc, liberado por el riñón. Es una señal

importante en la comunicación entre el endotelio glomerular y las células mesangiales (45, 46). Se produce en el endotelio glomerular (47), en las células mesangiales (42), en el músculo liso (34) y en la región de las arteriolas aferentes del glomérulo (32) interactúa entre ellas y extiende sus efectos a las células tubulares, modula la función hemodinámica (44). El NO\* causa relajación de las células contráctiles y da lugar a hiperfiltración glomerular, una condición importante en el desarrollo de la glomeruloesclerosis (45).

La respuesta renal hemodinámica a varios agentes vasodilatadores como la bradicinina y la acetilcolina están mediados por el NO\*. La administración de inhibidores selectivos de la NOS en ratas cateterizadas crónicamente y anestesiadas, produce aumento de la presión arterial y de la resistencia vascular renal con disminución del FPR y FSR, lo que indica que la producción de NO\* contribuye a mantener la resistencia vascular renal (RVR) normalmente baja; así, se propone al NO\* como el principal mediador de la vasodilatación renal que ocurre con la administración de aminoácidos, y esta respuesta, que ocurre cuando se administra una mezcla de aminoácidos mixtos, no se presenta cuando se administran inhibidores selectivos del NO\* como el N-metil-arginina (L-NMA). La administración de aminoácidos mixtos o de L-arginina no altera la presión arterial, pero produce aumento en la FG, flujo plasmático renal, flujo urinario y excreción de sodio (33).

La aterosclerosis se asocia a una disminución notable en la relajación dependiente de endotelio a la acetilcolina. En conejos con aterosclerosis hereditaria, la relajación dependiente de acetilcolina está reducida. La alteración principal de las arterias ateroscleróticas es disminución en la liberación de NO<sup>\*</sup> y aumento de factores contráctiles (31).

### ***INHIBIDORES DE LA ENZIMA CONVERSORA DE ANGIOTENSINA***

El envejecimiento normal se acompaña de pérdida progresiva de la función renal y deterioro estructural renal (9). La pérdida de la FG relacionada con la edad causa poco problema, pero la disminución de la RFR aumenta la vulnerabilidad del riñón al daño por enfermedad agregada (48). En las ratas de edad avanzada normales, hay incremento progresivo de la excreción urinaria de proteínas y de esclerosis glomerular (9). La inadecuada adaptación intrarrenal hemodinámica, se caracteriza por aumento en la presión capilar glomerular y se acompaña de cambios morfológicos presentes en varias de las alteraciones renales no relacionadas (28, 49, 50).

Estudios en ratas de edad avanzada, muestran cambios en la hemodinamia renal. Existe vasodilatación arteriolar aferente importante, con transmisión aumentada de la presión de perfusión

renal normal hacia el capilar glomerular, lo que provoca hiperperfusión e hipertensión capilar glomerular (48).

La disminución de la resistencia arteriolar aferente del envejecimiento, es similar a la que ocurre en otros modelos de enfermedad renal como diabetes y nefrectomía. Esta anomalía y el daño subsecuente de la capacidad autorreguladora tienen un papel patogénico importante aún en ausencia de presión sistémica elevada (48).

Se sugiere que los cambios microvasculares, más que las alteraciones estructurales en el envejecimiento tienen un papel importante en el daño renal relacionado con la edad (51). Se ha demostrado que los inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina (IECA) revierten esos cambios hemodinámicos y disminuyen la excreción de proteínas (28, 49, 50, 52).

Los estudios en ratas de edad avanzada tratadas con captopril desde una edad temprana, muestran protección contra la progresión del daño renal y disminución de la proteinuria, albuminuria y esclerosis glomerular (48, 52). Parece que el control de la hipertensión glomerular es el mecanismo por el que los IECA ejercen su efecto protector (52).

A pesar de la ausencia de hipertensión sistémica, el tratamiento antihipertensivo con IECA disminuye la presión arterial en animales

normotensos (49, 53) con enfermedades renales diversas. La estimulación del sistema renina angiotensina no es un prerrequisito para la eficacia de este tratamiento. Por otro lado, la concentración de renina disminuye con la edad. (54).

Los objetivos de este estudio fueron comparar la RFR de un grupo de ratas jóvenes, con un grupo de ratas de edad avanzada y con un grupo de ratas de edad avanzada tratadas con captopril; cuantificar y comparar histomorfométricamente las alteraciones glomerulares en los tres grupos de estudio; medir la concentración urinaria de metabolitos de NO\* (nitritos y nitratos) antes y después de la administración de aminoácidos en los tres grupos de estudio y medir y comparar la concentración urinaria de GMPc antes y después de la administración de aminoácidos en los tres grupos de estudio.

## MATERIAL Y MÉTODOS

Se estudiaron tres grupos de ratas de la cepa Sprague-Dawley, machos, sanos, con alimentación estándar (Purina Chow) *ad libitum* (12 a 15 g /día) e ingestión de agua *idem*.

El grupo I de ratas jóvenes, se formó con 7 animales de 3 meses de edad, peso promedio de 359.3 g usadas como testigo; el grupo II de ratas de edad avanzada, se formó con 9 animales de 15 meses de edad, peso promedio de 585.5 g.; el grupo III de ratas de edad avanzada tratadas con captopril, se formó con 7 animales peso promedio de 501.2 g., a los cuales se les suministraron 500 mg de captopril por cada litro de agua, en el agua de bebida desde los 15 meses de edad hasta los 18 meses.

Se midió la RFR, considerada como aumento mínimo de 25 % de los valores basales de la FG y FPRE después de la administración intravenosa de los aminoácidos. Las mediciones correspondientes a FG y FPRE se efectuaron mediante la administración de una mezcla de  $^{125}\text{I}$ -yodotalamato y  $^{131}\text{I}$ -ortoyodohipurato con una bomba para especies menores y calculados mediante una fórmula estándar; la excreción urinaria de metabolitos del  $\text{NO}^*$  en forma de nitritos y nitratos (nmol/min) se midió por la técnica de diazotización; la excreción urinaria de GMPc (ng/ml/min) se midió mediante un radioinmunoensayo. En la evaluación del daño histomorfométrico renal se consideró como proliferación mesangial: la presencia de

más de cinco células por lóbulo glomerular y esclerosis glomerular segmentaria a la presencia de áreas solidificadas causadas por combinación de colapso de los capilares y producción excesiva de matriz o sustancia mesangial.

***a) Producción del modelo experimental.***

Las ratas se pesaron y anestesiaron con pentobarbital sódico (3 mg/100 g. de peso corporal i. p.); se instilaron en el peritoneo dosis suplementarias adicionales (0.5 a 1.0 mg/100 g.) conforme se requirieron durante el experimento. La preparación quirúrgica se realizó de la siguiente forma. Se colocó al animal en un cojín termorregulable y la temperatura corporal, medida vía rectal, se conservó alrededor de 37.5 °C durante todo el procedimiento. Se colocaron catéteres de polietileno PE 50 en arteria y vena femorales y vejiga, para toma de muestras de sangre (catéter arterial), orina, reposición de líquidos, administración continua de radiofármacos y aminoácidos (catéter venoso) mediante una bomba para especies menores. Las incisiones quirúrgicas se bañaron con solución salina tibia y se cubrieron con gasa.

A fin de recuperar la euvoemia y garantizar la estabilidad hemodinámica, se permitió un período de recuperación de 60 minutos antes de iniciar las mediciones y se administró solución salina (5 ml/kg de peso corporal en una hora) por vía intravenosa como dosis de mantenimiento. Las muestras de sangre se

repusieron en forma simultánea con el mismo volumen de sangre obtenida de una rata de la misma camada, exanguinada por la mañana del experimento.

Al finalizar el período de recuperación, se administró por vía intravenosa, una dosis total de 3 a 5  $\mu\text{Ci}$  de una mezcla de yodotalamato marcado con  $^{125}\text{I}$  y ortoyodohipurato marcado con  $^{131}\text{I}$ . Una cuarta parte de la dosis total del material radiactivo, se suministró en forma de bolo como dosis de impregnación. A fin de mantener las concentraciones de ambos radiofármacos constantes en plasma, el resto de material radiactivo, se administró en forma continua con la bomba durante todo el experimento.

Se inició un período de depuración de ambos radiofármacos de una hora, con obtención de una muestra sanguínea a los 30 minutos, la colección de orina fue de 60 minutos, para obtener las mediciones basales correspondientes a filtración glomerular y flujo plasmático renal efectivo. Inmediatamente después de completar las mediciones basales, se administró por vía intravenosa, en forma continua, una mezcla de aminoácidos esenciales y no esenciales al 8.5 %, sin electrolitos, que contenía 1760 mg de glicina/100ml (0.5 ml/100 g. de peso corporal en una hora).

Una hora después de terminar la administración de los aminoácidos se inició un nuevo período de depuración de una hora de  $^{131}\text{I}$ -

ortoyodohipurato y  $^{125}\text{I}$ -yodotalamato, que se inició 60 minutos después de terminar la administración de aminoácidos.

Al terminar las mediciones, se ligó la aorta por arriba de la emergencia de las arterias renales. Ambos riñones se lavaron mediante la administración intraarterial de solución amortiguadora de cacodilato de sodio al 0.1 M (pH 7.4) por dos minutos para eliminar la sangre de los vasos renales, y por la misma vía, se suministró glutaraldehído al 2.5% en amortiguador de cacodilato de sodio al 0.1 M (pH 7.4) para fijarlos. Después, los riñones se extrajeron, decapsularon y cortaron por su eje longitudinal en rebanadas de 2 a 4 mm de espesor, se sumergieron en formaldehído al 4 % en solución amortiguadora de cacodilato de sodio 0.1 M (pH 7.4), se les asignó un número de clave y se enviaron para examen microscópico. Los patólogos que hicieron el análisis morfológico desconocían a qué grupo pertenecía el animal.

#### ***b) Estudio morfológico***

Las muestras se deshidrataron en alcoholes de concentración progresiva (50, 70, 96 y 100 %). Se aclararon en xileno e incluyeron en parafina. Se hicieron cortes histológicos de 9  $\mu\text{m}$  de espesor y se tiñeron con las técnicas histológicas de HE, PAS y Masson. Las observaciones se realizaron en microscopio de luz transmitida marca Zeiss.

### **c) Estudios funcionales**

Las muestras de sangre se centrifugaron y se separó el plasma. Se midió el volumen de plasma y orina, con pipetas manuales de precisión.

Las concentraciones de  $^{125}\text{I}$ -yodotalamato y  $^{131}\text{I}$ -ortoyodohipurato en plasma y orina, se contaron en alícuotas por duplicado, en un contador de pozo automático para emisiones gamma, por un mínimo de 10 minutos. Para disminuir el error estadístico de conteo del pozo, las alícuotas se llevaron a un volumen total de 1 ml con solución salina.

### **d) Cálculos**

Los valores de filtración glomerular y flujo plasmático renal efectivo se calcularon con las siguientes fórmulas:

$$FG = \frac{U \text{ (yodotalamato } ^{125}\text{I}) V \text{ (ml / min)}}{P \text{ (yodotalamato } ^{125}\text{I)}}$$

$$FPRE = \frac{U \text{ (ortoyodohipurato } ^{131}\text{I}) V \text{ (ml / min)}}{P \text{ (ortoyodohipurato } ^{131}\text{I)}}$$

donde:

U: es la concentración de  $^{125}\text{I}$ -yodotalamato o de  $^{131}\text{I}$ -ortoyodohipurato en la orina expresada en cuentas por minuto (cpm).

V: es el volumen de orina (ml/min) y

P: es la concentración de  $^{125}\text{I}$ -yodotalamato o de  $^{131}\text{I}$ -ortoyodohipurato en plasma expresada en cuentas por minuto (cpm).

#### **e) Métodos analíticos**

Las concentraciones de 3', 5' guanidil monofosfato cíclico (GMPc) se calcularon mediante radioinmunoanálisis con un estuche comercial (Amersham Medical).

Las concentraciones de nitritos y nitratos se calcularon con una modificación de la técnica descrita por Lowe y Gillespie (55).

Todos los valores correspondientes a los resultados funcionales se expresan como medias  $\pm$  error estándar de la media (EEM).

#### **f) Análisis estadístico.**

Las diferencias correspondientes a filtración glomerular y flujo plasmático renal efectivo, GMPc, nitritos y nitratos se valoraron con análisis de varianza de Kruskal-Wallis. Cuando se identificó la diferencia se aplicó: U-de Mann Whitney para comparación entre grupos y Wilcoxon para comparación intragrupos.

Los valores correspondientes a las diferencias histológicas entre los grupos se analizaron mediante  $\chi^2$ .

## RESULTADOS.

El peso corporal fue significativamente más bajo en el grupo de ratas I comparado con los otros dos grupos de estudio ( $p < 0.01$ ); también hubo diferencia estadísticamente significativa entre el peso del grupo II y III ( $p < 0.01$ ). Cuadro 1.

Los resultados basales de los parámetros renales de los tres grupos de estudio se muestran en el cuadro 1. Los valores basales absolutos de FG y FPRE fueron más altos en los grupos II y III, pero no son diferentes de los valores del grupo I cuando se corrigen por peso corporal (Fig. 1 y 2). Las fracciones de filtración cambiaron significativamente con la edad.

Las concentraciones basales de la excreción urinaria de nitritos y nitratos en el grupo II están elevadas al compararlas con el grupo III ( $p < 0.01$ ). No hubo diferencias entre el grupo I y los grupos II y III. Grupo I:  $1.84 \pm 0.60$  nmol/min; grupo II:  $2.82 \pm 0.59$  nmol/min; grupo III:  $0.69 \pm 0.18$  nmol/min. (cuadro 1, Fig. 3).

Las concentraciones basales plasmáticas de GMPc entre los tres grupos de estudio no mostraron diferencia estadísticamente significativa (cuadro 1, Fig. 4).

La excreción urinaria basal de GMPc, fue significativamente más baja en el grupo I al compararla con el grupo II ( $p < 0.05$ ) (cuadro 1). No

hubo diferencias entre los grupos II y III. Grupo I:  $8.14 \pm 1.71$  ng/min; grupo II:  $38.44 \pm 11.46$  ng/min; grupo III:  $14.67 \pm 2.97$  ng/min (Fig. 5).

En el grupo I, la administración de los aminoácidos, provocó un aumento significativo en la FG, el FPRE (Figs. 6 y 7), la excreción urinaria de metabolitos del NO\* (Fig. 3) y el GMPc urinario (Fig. 5), sin cambios en las concentraciones plasmáticas del GMPc (cuadro 1, Fig. 4).

En el grupo II la administración de los aminoácidos provocó disminución significativa en los valores de FG y FPRE ( $p < 0.01$ ) (Figs. 8 y 9), sin cambios en la excreción urinaria de nitritos y nitratos (Fig. 3); hubo disminución significativa en la excreción urinaria de GMPc (Fig. 5), y no hubo cambios en las concentraciones plasmáticas de GMPc ( cuadro 1, Fig. 4).

En contraste, la administración de los aminoácidos en el grupo III, no modificó la FG y el FPRE (Figs. 10 y 11). Sin embargo, se observó una tendencia al aumento en la excreción urinaria de nitritos y nitratos (Fig. 3) que no alcanzó diferencia estadística. No hubo cambios en la concentración urinaria y plasmática de GMPc ( cuadro 1, Figs. 4 y 5).

La fracción de filtración no cambió significativamente en ninguno de los tres grupos de estudio durante la administración de los aminoácidos (Cuadro1).

Los valores de la FG corregidos por peso corporal después de la administración de los aminoácidos, no mostraron diferencias entre los grupos. Grupo I:  $0.90 \pm 0.08$  ml/min; grupo II:  $0.57 \pm 0.12$  ml/min; grupo III:  $0.71 \pm 0.09$  ml/min. Los valores correspondientes a FPRE fueron significativamente más bajos en los grupos II y III comparados con el grupo I control ( $p < 0.01$ ). No se encontraron diferencias en estos valores entre los grupos II y III. Grupo I:  $3.13 \pm 0.22$  ml/min; grupo II:  $1.11 \pm 0.14$  ml/min; grupo III:  $1.28 \pm 0.09$  ml/min (Cuadro 1, Figs. 1 y 2).

La diferencia entre la FF observada entre el grupo I y el grupo III desapareció con la administración de los aminoácidos (Cuadro 1).

No se observaron diferencias en la medición de la excreción urinaria de los metabolitos del  $\text{NO}^*$  después de la administración de los aminoácidos entre los tres grupos de estudio (Cuadro 1, Fig. 3).

Las concentraciones de  $\text{GMPc}$  en plasma después de la administración de los aminoácidos no se modificaron en ninguno de los tres grupos de estudio (Cuadro 1, Fig. 4).

La excreción urinaria de  $\text{GMPc}$  en el grupo I mostró diferencia estadísticamente significativa comparada con la de los grupos II y III ( $p < 0.01$ ). No se observaron diferencias entre los grupos II y III.

Grupo I:  $75.86 \pm 10.01$  ng/min; grupo II:  $9.11 \pm 1.94$  ng/min; grupo III:  $8.33 \pm 1.96$  ng/min (Cuadro 1, Fig. 5).

#### HISTOLOGIA.

Hubo aumento progresivo en la extensión del daño glomerular con la edad (Fig. 12).

El daño glomerular se caracterizó por engrosamiento del mesangio, aumento de la matriz mesangial, engrosamiento segmental de la membrana basal glomerular, aumento en la celularidad y adhesión de la cápsula de Bowman.

En el grupo I, hubo daño glomerular mínimo. 90% de los glomérulos analizados fueron normales, el resto mostró alteraciones mínimas.

En el grupo II, 48% de los glomérulos fueron normales y el resto mostró alteraciones variables.

En el grupo III, sólo 31% de los glomérulos examinados fueron normales. En estos animales, los glomérulos restantes en su mayor parte, mostraron varios grados de daño.

La comparación del porcentaje y grado de daño glomerular mostró diferencias entre los tres grupos de estudio. I vs II ( $p < 0.001$ ), I vs III: ( $p < 0.001$ ) y II vs III: ( $p < 0.01$ ).

	RATAS JOVENES		RATAS DE EDAD AVANZADA		RATAS DE EDAD AVANZADA CON CAPTOPRIL	
	Antes	Después	Antes	Después	Antes	Después
FG ml/min/100g	0.54 ± 0.07	0.72 ± 0.11 <sup>a</sup>	0.76 ± 0.07	0.57 ± 0.12 <sup>a, f, ñ</sup>	0.72 ± 0.11	0.71 ± 0.09 <sup>a, f, m, r</sup>
FG ml/min	1.92 ± 0.52	3.22 ± 0.23 <sup>a</sup>	4.43 ± 0.41	2.99 ± 0.53 <sup>a, f, ñ</sup>	3.65 ± 0.55	3.57 ± 0.55 <sup>a, f, m, r</sup>
FPRE ml/min/100g	2.07 ± 0.19	3.13 ± 0.22 <sup>a</sup>	1.71 ± 0.14	1.11 ± 0.14 <sup>a, f, o</sup>	1.49 ± 0.23	1.28 ± 0.09 <sup>a, f, m, r</sup>
FPRE ml/min	7.52 ± 0.69	11.23 ± 0.66	10.00 ± 0.80	6.47 ± 0.77 <sup>a, f, ñ</sup>	7.51 ± 1.14	6.52 ± 0.48 <sup>a, f, m, r</sup>
FF %	0.26 ± 0.05	0.28 ± 0.02 <sup>c</sup>	0.45 ± 0.03	0.47 ± 0.05 <sup>a, f, o</sup>	0.51 ± 0.06	0.49 ± 0.08 <sup>a, f, m, r</sup>
NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> , NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> mmol/min	1.84 ± 0.60	2.84 ± 0.59 <sup>a</sup>	2.82 ± 0.57	1.92 ± 0.67 <sup>a, f, ñ</sup>	0.60 ± 0.18	1.37 ± 0.61 <sup>a, f, m, r</sup>
GMPc ng/vol/min	8.14 ± 1.71	75.86 ± 10.01 <sup>c</sup>	38.44 ± 11.46	9.11 ± 1.94 <sup>a, f, ñ</sup>	14.67 ± 2.97	8.33 ± 1.96 <sup>a, f, m, r</sup>
GMPc pg/dl	1.34 ± 0.62	1.44 ± 0.48 <sup>c</sup>	2.02 ± 0.59	1.77 ± 0.50 <sup>a, f, ñ</sup>	2.69 ± 1.05	2.00 ± 0.68 <sup>a, f, m, r</sup>
peso g	359.3 ± 14.4 <sup>t</sup>		585.5 ± 19.1 <sup>t</sup>		501.2 ± 2.8 <sup>t</sup>	

Cuadro 1.- diferencias correspondientes entre los valores de las variables entre grupos y antes y después de la administración de los aminoácidos

a = p < 0.005 antes-después  
b = p < 0.01 antes-después  
c = NS antes-después  
d = p < 0.05 antes-después  
e = p < 0.001 antes-después  
f = NS jóvenes vs viejas basal  
g = p < 0.001 jóvenes vs viejas basal  
h = p < 0.05 jóvenes vs viejas basal  
i = p < 0.005 jóvenes vs viejas basal  
j = NS jóvenes vs viejas con captopril basal

k = p < 0.05 jóvenes vs viejas con captopril basal  
l = p < 0.01 jóvenes vs viejas basal  
m = NS viejas vs viejas con captopril basal  
n = p < 0.01 viejas vs viejas con captopril basal  
ñ = NS jóvenes vs viejas postaminoácidos  
o = p < 0.01 jóvenes vs viejas con captopril postaminoácidos  
p = p < 0.05 jóvenes vs viejas postaminoácidos  
r = NS jóvenes vs viejas con captopril postaminoácidos  
s = p < 0.05 jóvenes vs viejas con captopril postaminoácidos.  
t = p < 0.01 jóvenes vs viejas, vs viejas con captopril, viejas vs viejas.

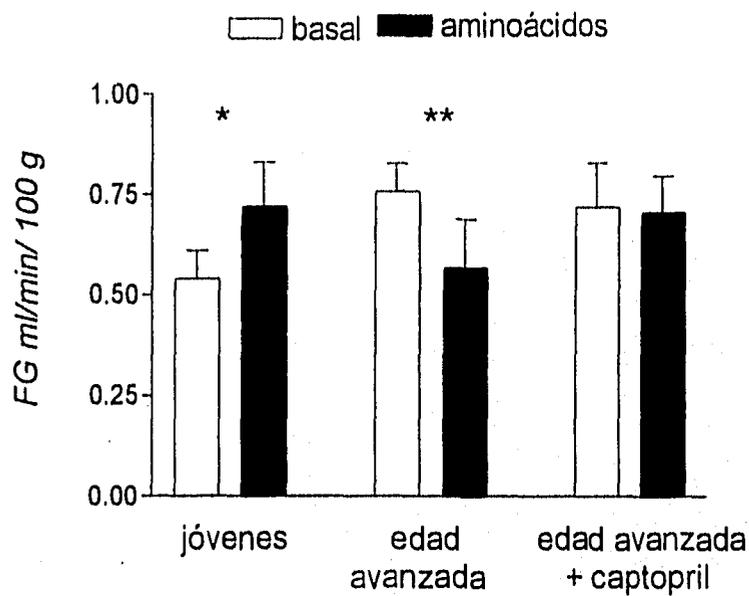


Figura 1. Filtración glomerular durante el periodo basal y después de la administración de aminoácidos en los tres grupos de estudio. Las barras claras representan la medición del valor medio en estado basal y las barras oscuras la medición del valor medio después de los aminoácidos. Las líneas representan un error estándar. \*  $p < 0.005$  vs basal; \*\*  $p < 0.01$  vs basal.

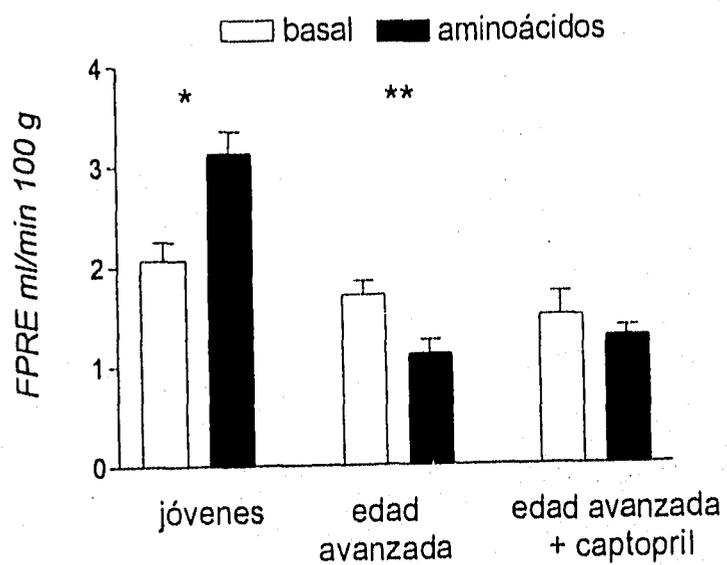


Figura 2. Flujo plasmático renal efectivo durante el periodo control y después de la administración de aminoácidos en los tres grupos de estudio. Las barras claras representan el valor medio medido en estado basal y las barras oscuras el valor medio medido después de los aminoácidos. Las líneas representan un error estándar. \*  $p < 0.005$  vs basal, \*\*  $p < 0.01$  vs basal.

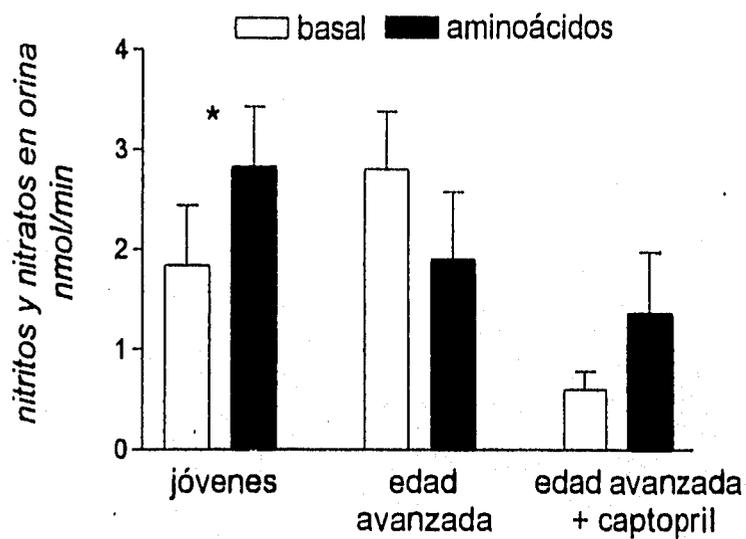


Figura 3. Excreción urinaria de nitritos y nitratos durante el periodo basal y después de la administración de aminoácidos en los tres grupos de estudio. Las barras claras representan el valor medio en estado basal y las barras oscuras el valor medio después de los aminoácidos. Las líneas representan un error estándar. \*  $p < 0.01$  vs basal.

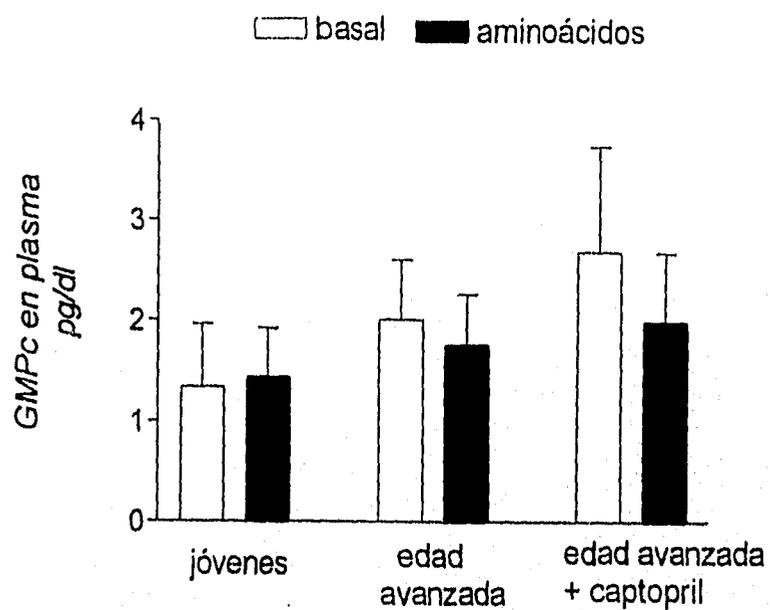


Figura 4. Concentraciones plasmáticas de GMPC durante el periodo basal y después de la administración de aminoácidos en los tres grupos de estudio. Las barras claras representan el valor medio en estado basal y las barras oscuras representan el valor medio después de los aminoácidos. Las líneas representan un error estándar.

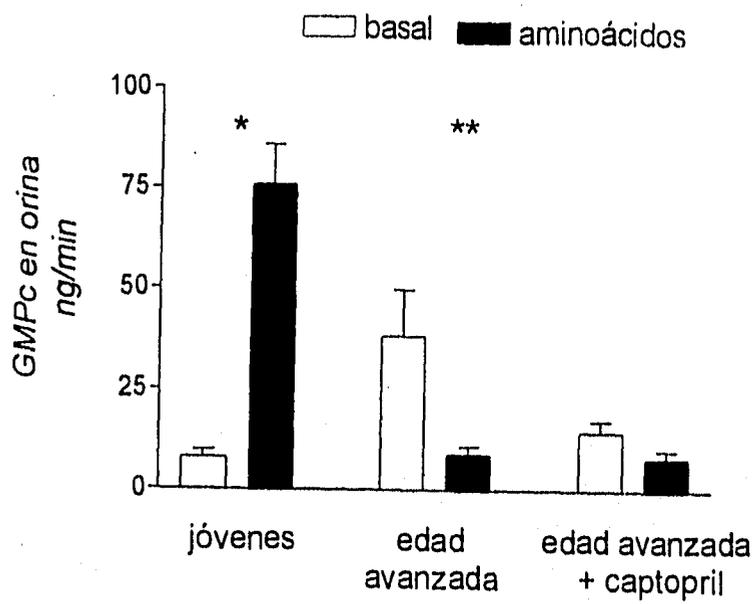
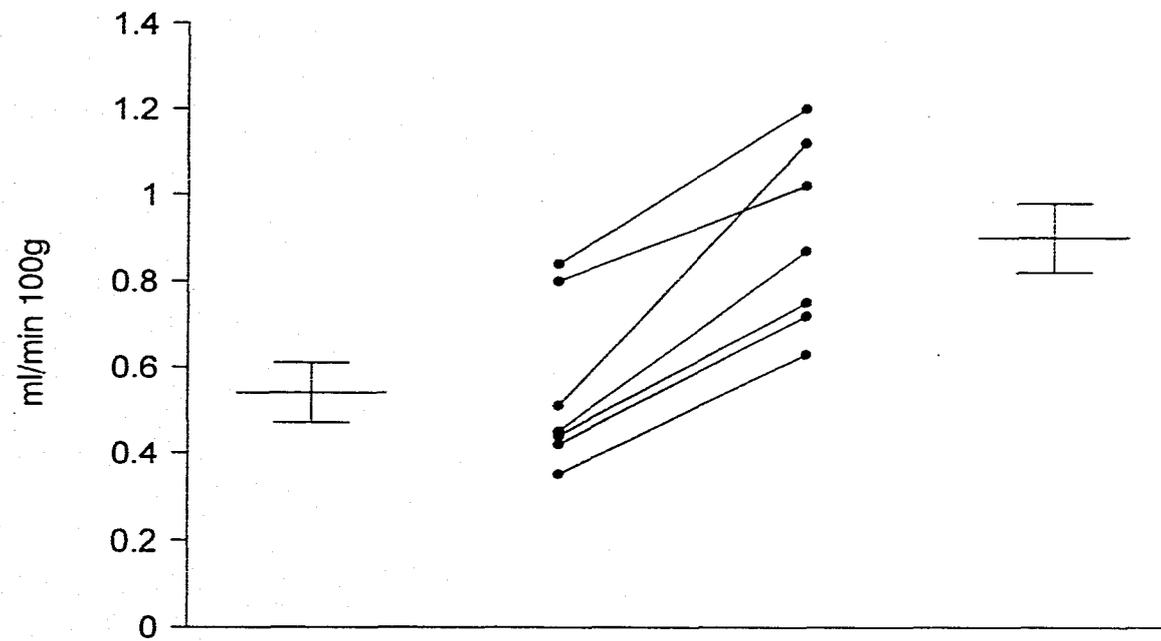
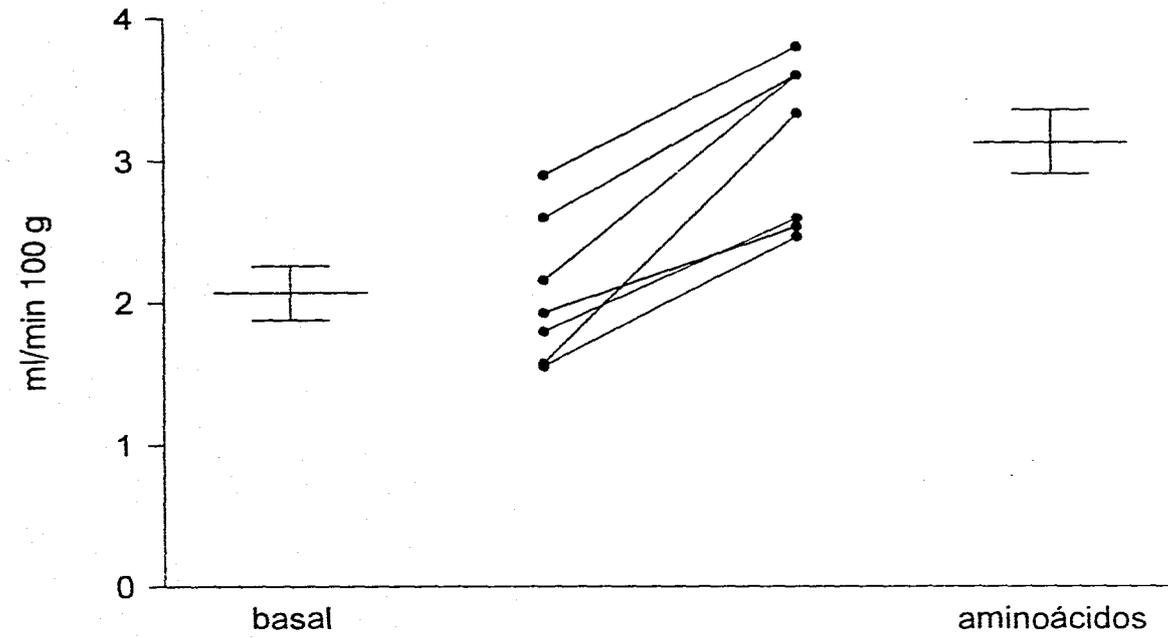


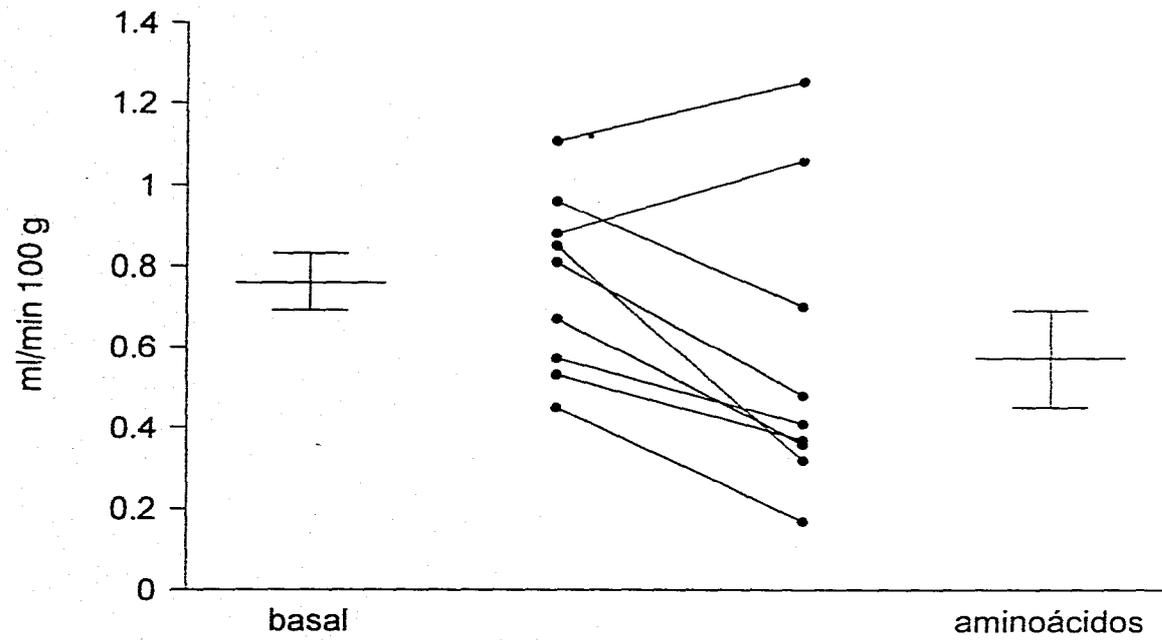
Figura 5. Excreción urinaria de GMPc durante el periodo basal y después de la administración de aminoácidos en los tres grupos de estudio. Las barras claras representan el valor medio en estado basal y las barras oscuras el valor medio después de los aminoácidos. Las líneas prestan un error estándar. \*  $p < 0.001$  vs basal \*\*  $p < 0.01$  vs basal.



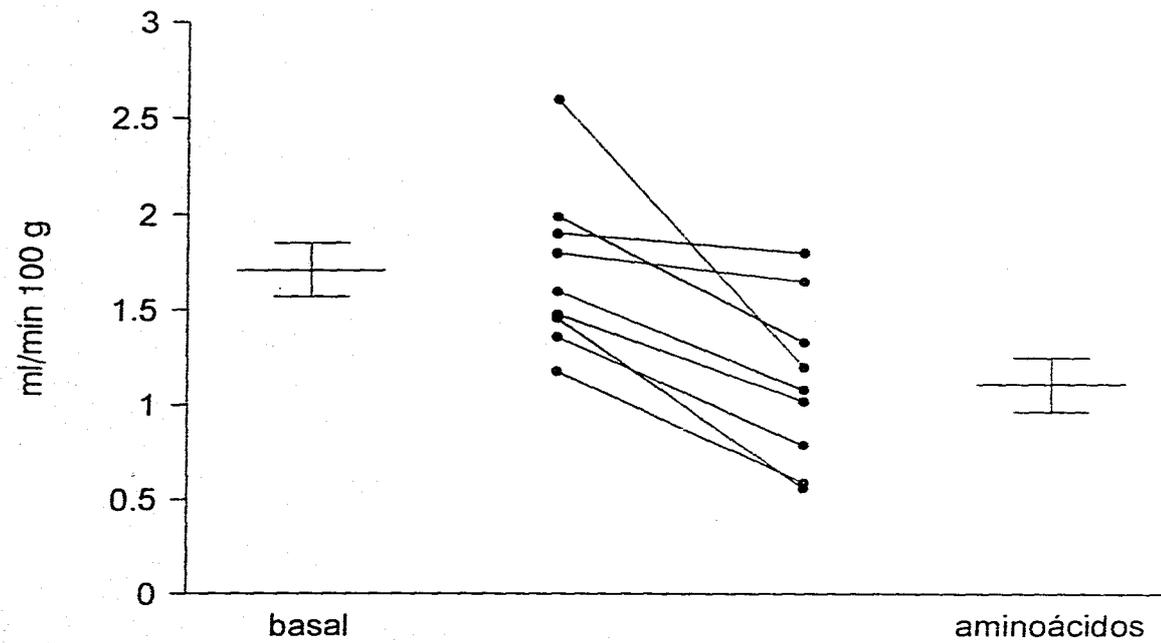
**Figura 6. FG en el grupo de ratas jóvenes.** La administración de aminoácidos provocó aumento de la FG vs periodo control.  $p < 0.005$ . Se expresan los resultados individuales y como media y EEM.



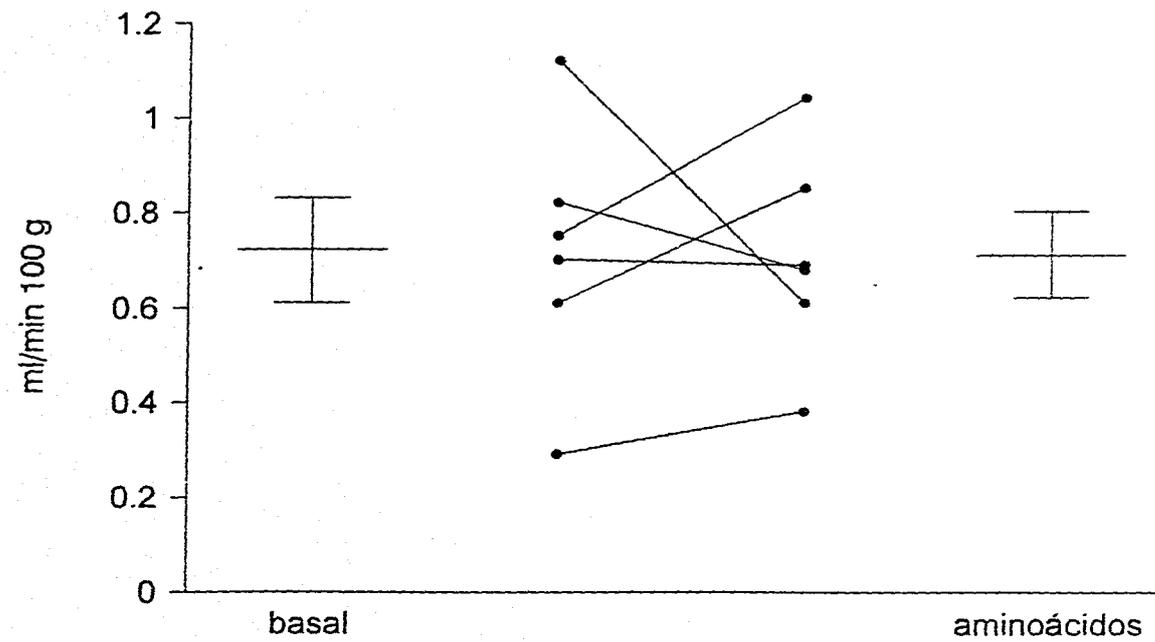
**Figura 7. FPRE en el grupo de ratas jóvenes.** La administración de los aminoácidos provocó un aumento sobre el FPRE vs periodo basal ( $p < 0.01$ ). Se expresan los valores individuales y como media y EEM.



**Figura 8. FG en el grupo de ratas de edad avanzada.** La administración de los aminoácidos provocó disminución de la FG vs. periodo control  $p < 0.01$ . Se expresan los resultados individuales y como media y EEM.

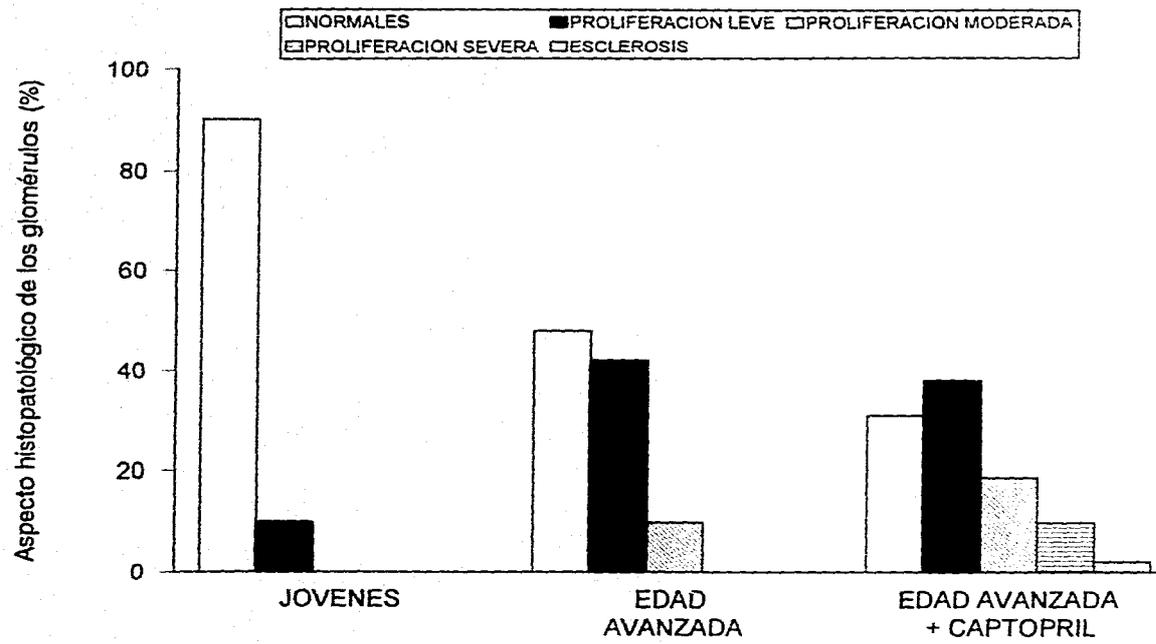


**Figura 9. FPRE en ratas de edad avanzada.** La administración de los aminoácidos provocó una disminución del FPRE vs basal(  $p < 0.01$ ). Los resultados se expresan como media y EEM.



**Figura 10. FG en el grupo de ratas de edad avanzada con captopril.** La administración de los aminoácidos no provocó modificación sobre la FG vs periodo control. Los resultados se expresan como media y EEM





**Figura 12. Aspecto histopatológico de los glomérulos.** El porcentaje de daño glomerular es mayor conforme avanza la edad de los animales.

## DISCUSION

En contraste con vasodilatadores como la acetilcolina, la administración intravenosa de aminoácidos o la ingestión de comida con alto contenido de proteínas, da lugar a vasodilatación renal, con incremento en el FPRE que produce un aumento proporcional en la FG (56).

En este estudio se evaluó la respuesta vasodilatadora renal secundaria a la administración intravenosa de aminoácidos mixtos. Los animales recibieron una carga de aminoácidos calculada según su peso corporal.

En el grupo I, la mayor parte de los glomérulos observados fueron normales, y sólo 10 % mostraron alteraciones mínimas, lo que sugiere que la función de las nefronas de esos animales es homogénea; estos datos concuerdan con otros estudios (9, 18, 58).

La administración de los aminoácidos produjo en el grupo I, aumento en el FPRE y en la FG, sin cambios en la fracción de filtración, como se ha informado en otros estudios (18, 58).

La elevación de la excreción urinaria de nitritos y nitratos y de GMPc observados en este grupo, apoyan la participación del NO\* como responsable de la hiperemia e hiperfiltración que ocurre con la

administración de aminoácidos (59). Este punto de vista es reforzado por los estudios que muestran que la inhibición selectiva de la síntesis de NO\* (61), causa disminución del FPRE, de la FG y aumento de la resistencia vascular renal (61, 62) y confirman el papel del GMPc como marcador biológico del NO\* y mediador de la vasodilatación dependiente de endotelio (59).

En el grupo II, aunque el porcentaje de glomérulos indemnes fue de 48 %, el resto mostró diversos grados de daño. La FG fue normal al corregirla por peso corporal. En este grupo de estudio, la administración de aminoácidos provocó disminución significativa de la FG y el FPRE, lo que demuestra la falta de respuesta hemodinámica al estímulo vasodilatador. La FF elevada antes de la administración de aminoácidos no cambió después, lo que confirma la elevación constante de la resistencia vascular renal (63). Ya que los nitritos y nitratos son metabolitos estables de la producción de NO\* que se excretan por orina, es razonable asumir que la alta concentración en este grupo, se debe a síntesis extrarrenal aumentada de NO\* posiblemente como un mecanismo para conservar la resistencia vascular .

La producción aumentada de NO\* se asocia con la hiperfiltración renal que ocurre en ratas con diabetes inducida. En este modelo de daño renal las alteraciones hemodinámicas son semejantes a las que ocurren en el envejecimiento (64). Las ratas con diabetes no responden a la administración de aminoácidos con aumento de la

filtración y del flujo plasmático renal, lo que sugiere que la reserva funcional renal está ausente porque las nefronas están ya hiperfiltrando. La excreción urinaria basal elevada de GMPc en este grupo, apoya la participación del NO\* en la hiperfiltración que ocurre en los individuos de edad avanzada.

La disminución en la excreción urinaria de GMPc después de la administración de los aminoácidos en el grupo II, era de esperarse dada la falta de respuesta hemodinámica y confirma la relación entre producción disminuida de NO\*, ausencia de vasodilatación renal al estímulo agudo y valores disminuidos de GMPc. La excreción urinaria elevada de los metabolitos del NO\* antes de la administración de los aminoácidos en el grupo II comparada con la del grupo III, sugiere síntesis aumentada de NO\* en las células endoteliales de riñón de ratas de edad avanzada, que se manifiesta por hiperfiltración (FF elevada), lo que confirma que los animales de edad avanzada se hallan en un estado de vasodilatación permanente (10).

En el grupo III la mayor parte de los glomérulos fueron anormales. Sólo 2% tenían esclerosis. Sin embargo, los restantes mostraron cambios diversos importantes y sólo 31% de los glomérulos fueron normales.

En el grupo III, la administración de los aminoácidos no modificó la FG ni el FPRE. La FF no presentó cambios en este grupo durante la

administración de aminoácidos, lo que indica que la resistencia vascular no cambió (56).

La administración de aminoácidos en el grupo III aumentó la excreción urinaria de nitritos y nitratos, pero no aumentó la FG. La excreción urinaria de los metabolitos del NO\* antes de la administración de aminoácidos, presentó valores más bajos que los de los otros dos grupos de estudio.

La administración de captopril no restauró la capacidad vasodilatadora renal y tampoco evitó la progresión del daño renal y esto concuerda con informes previos (60) y está de acuerdo con la hipótesis de que son los cambios hemodinámicos más que los estructurales, los que juegan un papel primordial en las alteraciones funcionales observadas con el envejecimiento (51).

Inicialmente los inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina se consideraron nefrotóxicos. La evidencia indica que los IECA son útiles para retardar la progresión del daño renal en nefropatía diabética (64) y en otros modelos de daño renal (65) independientemente de la etiología y etapa evolutiva de la enfermedad, con efecto benéfico mayor, cuando el tratamiento se inicia en etapas tempranas de la enfermedad (66).

El aumento y progresión del daño renal observado en el grupo III al compararlo con el grupo II, es el resultado de la diferencia de edad existente entre los grupos (6).

El retardo en la progresión del daño renal que se observa cuando los IECA se inician en etapas tempranas de la enfermedad, puede deberse a disminución de la presión capilar glomerular, con disminución de la filtración de las proteínas plasmáticas o a disminución de la actividad de las células glomerulares e intersticiales responsables de la cicatrización (67).

En este estudio, en los grupos de ratas II y III, no se encontró reducción en la función renal cuando los valores de FG y FPRE basales se corrigieron por peso corporal; de hecho, en términos absolutos, la FG y el FPRE estuvieron elevados al compararlos con los del grupo de ratas jóvenes control. Otros investigadores han informado resultados variables respecto a la disminución de la función renal con la edad (18, 57).

Esta capacidad de conservar la FG se debe a un incremento compensador en la filtración glomerular en las nefronas intactas, como resultado de la pérdida de glomérulos funcionantes por esclerosis. En esta etapa del envejecimiento, el valor promedio de filtración por nefrona es similar al de animales jóvenes, pero se presenta heterogeneidad de la función de las nefronas conforme la edad avanza y los glomérulos muestran reducción de la FG en

reposo y son incapaces de responder al estímulo vasodilatador, lo que se manifiesta como pérdida de la reserva funcional renal (17, 18).

Algunos estudios en ratas y seres humanos sugieren que la respuesta a la administración de aminoácidos o a la comida con alto contenido en proteínas, no siempre refleja la extensión del daño glomerular en todas las enfermedades renales primarias. Nuestros resultados sugieren una relación inversa entre la respuesta funcional a la administración de aminoácidos y el nivel de daño glomerular (17, 18) y confirman las observaciones iniciales de que la RFR está perdida en ratas de edad avanzada (4, 18).

Además de reflejar los cambios estructurales dependientes de la edad en la vasculatura renal, la pérdida de la respuesta vasodilatadora a los aminoácidos, confirma la existencia de vasodilatación funcional crónica en los glomérulos en el riñón de edad avanzada, lo que da lugar a pérdida subsecuente de la respuesta vasodilatadora al estímulo agudo (18); la falta de aumento en la excreción urinaria de los metabolitos del NO\* y la disminución en la excreción urinaria de GMPc refleja la incapacidad del endotelio para producir NO\*.

La ausencia de diferencia entre los valores basales de la excreción urinaria de nitritos y nitratos del grupo I con respecto al grupo II y III, permite suponer, que los tres grupos de estudio producían

cantidades suficientes de NO\* para conservar la hemodinamia renal en equilibrio, en ausencia de estrés.

Este estudio se realizó en ratas Sprague Dawley, una cepa susceptible a desarrollar glomeruloesclerosis espontánea con la edad (15, 16). Se ha demostrado que la inhibición de la enzima convertidora de angiotensina con captopril, es capaz de prevenir el desarrollo de proteinuria y esclerosis glomerular en ratas de edad avanzada con nefrectomía unilateral a los tres meses de edad y a las que se les administró la terapia con captopril inmediatamente después de la nefrectomía, un modelo de daño renal que se caracteriza por rápido desarrollo de glomeruloesclerosis. Si el tratamiento se inicia cuando la glomeruloesclerosis está ya establecida, el captopril no disminuye ni retarda la progresión de la glomeruloesclerosis (68); nuestros resultados concuerdan con esos hallazgos.

Se ha propuesto que el débil efecto del captopril en las ratas de edad avanzada sobre la enfermedad glomerular establecida, puede deberse a varios factores: los cambios glomerulares estructurales provocados por los depósitos hialinos, el daño mesangial, la esclerosis, la proliferación mesangial e hipertrofia, pueden causar una menor sensibilidad a la intervención farmacológica similar a la descrita para cambios vasculares y estructurales en otros modelos de daño renal (48, 68).

La mayor parte de los trabajos que evalúan este aspecto, se limitan a establecer la correlación entre daño morfológico y función renal hemodinámica basal o daño morfológico y respuesta vasodilatadora renal con o sin inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina en modelos de daño renal como hipertensión, nefrectomía, nefropatía diabética y envejecimiento, sin considerar la participación de NO\* y GMPc y la respuesta tardía a la administración de captopril en la respuesta vascular renal.

En conclusión, estos resultados sugieren la participación del NO\* en la respuesta vasodilatadora renal secundaria a la administración de los aminoácidos y la incapacidad del captopril para limitar las alteraciones hemodinámicas dependientes de la edad y la progresión de la glomeruloesclerosis establecidas.

## REFERENCIAS

1. Butier R.N. The challenge of geriatric medicine. En Wilson J.D., Braunwald E., Isselbacher K.J., Martin J.B. Fauci A.S. Root R.K. (eds) Harrison's Principles of Internal Medicine McGraw-Hill Inc. New York, 1991, 12th. Ed. p.16-19.
2. Brenner B.M. Hemodynamically mediated glomerular injury and the progression glomerular disease. *Kidney Int* 1983; 23: 647.
3. Keysen G.A., Myers B.D. The aging kidney. *Clin Geriatr Med* 1985; 1:207-22.
4. Hollenberg N.K. Adams D.F., Solomon H.S. et al. Senescence and the renal vasculature in normal man. *Cir Res* 1974; 34:309-16.
5. Kaplan C., Pasternack B., Shah H, et al: Age related incidence of sclerosis glomeruli in human kidney. *Am J Pathol* 1975; 80: 227-34.
6. Kappel B., Olsen S. Cortical interstitial tissue and sclerosed glomeruli in the normal human kidney related to age and sex: a quantitative study. *Virchow Arch Pathol Anat*; 1980:387: 271-77.

7. Shestakova M.V., Mukhin N.A., Dedov II., Titov V.N., Warshavsky V.A. Protein loading test, urinary albumin excretion and renal morphology in diagnosis of subclinical diabetic nephropathy. *J Intern Med* 1992; 3: 213-17.
8. Baldwin D.S. Chronic glomerulonephritis nonimmunologic mechanism of progressive glomerular damage. *Kidney Int* 1982; 21: 100-109.
9. Anderson S., Brenner B.M. Effects of aging on the renal glomerulus. *Am J Med* 1980; 80: 435-42.
10. Abraham Bermudez J., González Pérez I., Tovar Tovar V., Carranza Madrigal J., Chávez Carbajal F., Herrera Abarca J., Gómez Navarro B. Respuesta renal a la carga aguda de proteínas en ancianos. *Nefrología Mexicana* 1991, 2:55-57.
11. Yu B.P., Masero E. J., Murata Y. Life span study of SPF Fisher 344 male rats fed ad libitum or restricted diets. Longevity, growth lean body mass and disease. *J Gerontol* 1982; 39: 142-150.
12. Couser W.G., Stilmant M.N. Mesangial lesions and focal glomerular sclerosis in the ageing rat. *Lab Invest* 1975; 33: 491-501.

13. Bolton W.K., Benton F.R., Machay J.G., et al. Spontaneous glomerular sclerosis in aging Sprague Dawley rats. Lesions associated with mesangial Ig M deposits. *Am J Pathol* 1976; 85: 277-302.
14. Munger K., Baylis C. Sex differences in renal hemodynamics in rats. *Am J Physiol* 1988; 254: f223-f31.
15. Gray J. E., van Zwieten M. J., Hollander C.F. Early light microscopic changes of chronic progressive nephrosis in several strains of ageing laboratory rats. *J Gerontol* 1982, 37: 130-141.
16. Baylis C., Fredericks M., Leypoldt J., et al. The mechanisms of proteinuria in ageing rat. *Merch Age Dev* 1985; 45: 111-26.
17. Brenner B.M. Nephron adaptation to renal injury or ablation. *Am J Physiol* 1985; 249: F324-37.
18. Baylis C., Fredericks M., Wilson C., Munger K., Collins R. Renal vasodilatory response to intravenous glycine in the aging rat kidney. *Am J of kidney disease* 1990; 3: 244-51.
19. Thomas D.M., Coles G.A., Williams J.D., What does the renal reserve mean? *Kidney Int* 1994; 45: 411-16.

20. Hostetter T.H. Human renal response to a meat meal. *Am J Physiol* 1986; 250: F 613-18.
21. Solling K. Christensen C.K. Solling J., Christiansen J.S. Mogenmsen C.E. Effect on renal haemodynamics, glomerular filtration rate and albumin excretion of high oral protein load. *Scan J Clin Lab Invest* 1986; 46: 351-57.
22. Williams M., Youg J.B., Rosa R.M., Gunn S., Fstein F.H. Landsberg L. Effect of protein ingestion on urinary dopamine excretion. *J Clin Invest* 1986; 78: 1687-93.
23. Rodríguez-Iturbe B., Hu U., Herrera J., García R. Relationship between glomerular filtration rate and renal blood flow at different level of protein. induced hyperfiltration in man. *Clin Sci* 1988; 74: 11-15.
24. Ter Wee P.M., Geerlings W., Rosman J.B., Sluiter W.J., van der Geest S., Donker A.J.M. Testing renal reserve filtration capacity with aminoacid solution. *Nephron* 1985; 41: 193-99.
25. Addis T., Drury D. R. The rate of urea excretion VII. The effect of various other factors than blood urea concentration on the rate of urea excretion (abstract) *J Biol Chem* 1923; 55: 629

26. Woods L. L. Mechanisms of renal hemodynamic regulation in response to protein feeding. *Kidney Int* 1993; 44: 659-75.
27. Zeir M., Schmid M., Nowack R., Zacharewics S., Huszlacher C.H., Rite E. The response of the FGR to amino acids differ between autosomal dominant polycyst kidney (ADPKD) and glomerular disease. *Nephrol Dial Transplant* 1992; 7: 501-06.
28. De Nicola L., Blantz R.C., Gabbai F.B. Renal functional reserve in treated and untreated hypertensive rat. *Kidney Int* 1991; 40: 406-12.
29. Mimram A., Ribstein J., Jover B. Aging and sodium homeostasis. *Kidney Int* 1992; 41 (suppl 37): S 107-13.
30. De Mey J.G., Clays M., Vanhoutte P.M. Endothelium dependent inhibitory effect of acetylcholine, adenosine triphosphate, thrombin and arachidonic acid in the canine femoral artery. *J Pharmacol Exp Ther* 1982; 222: 166-77.
31. Furchgott RF. Role of endothelium in responses of vascular smooth muscle. *Cir Res* 1983; 53: 557-77.
32. Furchgott RF, Zawadzki. The obligatory role of vascular endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. *Nature Lond* 1980; 288: 373-76.

33. De Mey J.G., Vanhoutte P.M. Heterogeneous behavior of the canine arterial and venous wall. *Cir Res* 1982; 51: 439-47.
34. Moncada S., Palmer R.M.J., Higgs E.A. The discovery of nitric oxide as the endogenous nitrovasodilator. *Hypertension Dallas* 1988; 12: 365-72.
35. Palmer R.M.J., Ferrige A.G., Moncada S. Nitric oxide release account for the biological activity of endothelium derived relaxing factor. *Nature Lond* 1987; 327: 524-26.
36. Snyder S.H. Bredt D.S. Biological roles of nitric oxide. *Scientific American* 1992; mayo:28-35.
37. Culotta E., Koshland D.E. Jr. The molecule of the year. NO news is good news. *Science* 1992; 258:1862-65.
38. Lowenstein Charles J., Dinerman J.L. Solomon H.S. Nitric oxide: a physiologic messenger. *Ann Intern Med* 1994; 120: 227-37.
39. White K.A., Marletta M.A. Nitric oxide synthase as a cytochrome P-450 type hemoprotein. *Biochemistry* 1992; 31: 6627-31.
40. Amezcua J.L., Palmer R.M.J., De Siyza B.M. Moncada S. Nitric oxide synthesized from L-arginine regulates vascular tone in the coronary artery of the rabbit. *Br J Pharmacol* 1989; 97: 1119-124.

41. Marshall J.J., Kontos H.A. Endothelium-derived relaxing factor: a perspective from in vivo data. *Hypertension Dallas* 1990; 16: 371-80.
42. Radermacher J., Klanke B., Schurck H-J., Stolte H.F., Frölich J.C. Importance of NO/EDRF for glomerular and tubular function: studies in the isolated perfused rat kidney. *Kidney Int* 1992; 41: 1549-59.
43. Tolins J.P., Palmer R.M.J., Moncada S., Rajj L. Role of endothelium-derived relaxing factor in regulation of renal hemodynamic responses. *Am J Physiol* 1990; 258: H622-H55.
44. Lüscher T.F., Bock H.A., Yang Z., Diederich D. Endothelium derived relaxing and contracting factor. Perspectives in nephrology. *Kidney Int* 1991; 39: 575-90.
45. Pfeilschifter J., Kunz D., Mühl H. Nitric oxide: an inflammatory mediator of glomerular mesangial cells. *Nephron* 1993; 64: 518-25.
46. Garg U., Hassid A. Inhibition of rat mesangial cell mitogenesis by nitric oxide generating vasodilators. *Am J Physiol* 1989; 257: F60-F66.

47. Shultz P.J., Schrorer A.E., Raj L. Effects of endothelium-derived relaxing factor and nitric oxide on rat mesangial cells. *Am J Physiol* 1990; 258: F162-67.
48. Anderson S., Rennke H.G., Zatz R. Glomerular adaptations with normal aging and with long-term converting enzyme inhibition in rats. *Am J Physiol* 1994; 267: F35-F43.
49. Anderson S., Rennke H.G., García D.L. Brenner B.M. Short and long term effects of antihypertensive therapy in the diabetic rat. *Kidney Int* 1989; 36: 526-36.
50. Fujihara C.K., Limongi P., Falzone R., Graudenz M.S., Zatz R. Pathogenesis on glomerular sclerosis in subtotally nephrectomized analbuminemic rats. *Am J Physiol* 1991; 261: F256-F64.
51. Fujihara C.K., Limongi P., Oliveira H.C., Zatz R. Absence of focal glomerulosclerosis in aging analbuminemic rats. *Am J Physiol* 1992; 262: R947-R54.
52. Zoja C., Remuzzi A., Corna D., Perico N., Bertani T., Remuzzi G. Renal protective effect of angiotensin-converting enzyme inhibition in aging rats. *Am J Med* 1992; 92: (suppl 4B) 60S-63S

47. Shultz P.J., Schrorer A.E., Raj L. Effects of endothelium-derive relaxing factor and nitric oxide on rat mesangial cells. *Am J Physiol* 1990; 258: F162-67.
48. Anderson S., Rennke H.G., Zatz R. Glomerular adaptations with normal aging and with long-term converting enzyme inhibition in rats. *Am J Physiol* 1994; 267: F35-F43.
49. Anderson S., Rennke H.G., Garcia D.L. Brenner B.M. Short and long term effects of antihypertensive therapy in the diabetic rat. *Kidney Int* 1989; 36: 526-36.
50. Fujihara C.K., Limongi P., Falzone R., Graudenz M.S., Zatz R. Pathogenesis on glomerular sclerosis in subtotally nephrectomized analbuminemic rats. *Am J Physiol* 1991; 261: F256-F64.
51. Fujihara C.K., Limongi P., Oliveira H.C., Zatz R. Abscense of focal glomerulosclerosis in aging analbuminemic rats. *Am J Physiol* 1992; 262: R947-R54.
52. Zoja C., Remuzzi A., Corna D., Perico N., Bertani T., Remuzzi G. Renal protective effect of angiotensin-converting enzyme inhibition in aging rats. *Am J Med* 1992; 92: (suppl 4B) 60S-63S

53. Anderson S., Diamond J.R., Karnovsky M.J. Brenner B.M. Mechanisms underlying transition from acute glomerular injury to glomerulosclerosis in a rat model of nephrotic syndrome. *J Clin Invest* 1988; 82: 1757-68
54. Corman B., Michel J.B. Renin-angiotensin system converting enzyme inhibition and kidney function in aging female rats. *Am J Physiol* 1988; 255: F250-F56.
55. Bartholomew B. A rapid method for the assay of nitrate in urine using the nitrate reductase enzyme of *Escherichia coli*. *Food Chem Toxic* 1984; 22: 541-43.
56. Bosch J.P., Saccagi A., Lauer A. Renal functional reserve in humans: effects of protein intake on glomerular filtration rate. *Am J Med* 1983; 75: 943-950.
57. Meyer T.W., Hostetter T.H., Rennke H.G., Noddin J.L., Brenner B.M. Preservation of renal structure and function by long term protein restriction in rats with reduced renal mass. (abstract); *Kidney Int* 1983; 23: 218.
58. Baylis C. Effect of amino acid infusion as an index of renal vasodilatory capacity in pregnant rats. *Am J Physiol* 1988; 254: F650-F56.

59. Chen Ch., Mitchell D.M.K., Novar G. Role of endothelium-derived nitric oxide in the renal hemodynamic response to amino acid infusion. *Am J Physiol* 1992; 263: R510 - R16.
60. Johns R.A., Peach M.J., Linden J., Tichotsky A. N<sup>G</sup> - monomethyl L-arginina inhibits endothelium-derived relaxin factor-stimulated cyclic GMP accumulation in coculture of endothelial and vascular smooth muscle cells by an action specific to the endothelial cells. *Cir Res* 1990; 67: 979 -85.
61. Radermacher J., Forsterman U., Frölich J.C. Endothelium derived relaxing factor influences renal vascular resistance. *Am J Physiol* 1990; 259: F 9 - F17.
62. Tolins J.P., Palmer RMJ., Moncada S., Rajj L. Role of endothelium derived relaxing factor in regulation of renal hemodynamic responses. *Am J Phisyiol* 258 1990; H655 - H62.
63. Davies E.F., Shock N.W. Age changes in glomerular filtration rate, effective renal plasma flow, and tubular excretory capacity in adult males. *J Clin Invest* 1950; 29: 496.
64. Bank N., Aynedhan H. Role of EDRF (nitric oxide) in diabetic renal hyperfiltration. *Kidney Int* 1993; 43: 1306 - 312

65. Lewis E.J., Hunsicker L.G., Bain R.P., Rohde R.D. The effect of angiotensin-converting enzyme inhibition on diabetic nephropathy. *New Eng J Med* 1993; 329: 1456 - 62.
66. Maschio G., Alberti D., Janin G., Locatelli F., Mann J.F.E., Motelese M., Ponticelli C., Ritz E., Zucchelli P. and the cooperative A.I.P.R.I. (ACE inhibition in progressive renal insufficiency) study group. The effect of the angiotensin converting enzyme inhibitor benazepril on progression of chronic renal insufficiency. *New Engl J Med* 1996 (in press).
67. Ace inhibition in chronic renal failure: a step forward. *Nephrol Dial Transplant* 1996; 11: 932 -33.
68. Beukers J.B., Van Der Wal A., Hoedemaeker P. J., Weening J.J. Converting enzyme inhibition and progressive glomeruloesclerosis in the rat. *Kidney Int* 1987; 32: 794 - 800.