

Cambios hemodinámicos renales inducidos por adenosina en un modelo de riñón filtrante. Efecto del verapamil

P. G. Cosmes, A. Refoyo, F. Hidalgo, F. Rubio, I. Ramos y J. F. Macías *

Servicio de Nefrología. Hospital Virgen de la Vega. * Hospital Clínico. Salamanca.

RESUMEN

La producción renal de adenosina se influencia por un receptor de transporte en respuesta a la carga tubular de sodio. La concentración de adenosina aumenta en la isquemia renal. Estudiamos la respuesta hemodinámica renal a la infusión de adenosina en ausencia de filtrado glomerular en un modelo de riñón isquémico no filtrante.

A ocho perros se les infundió intrarrenalmente una solución de adenosina 0,2 μ M a 2 ml/min. durante diez minutos antes (control) y tres días después de hacer un riñón no filtrante según la técnica de Blaine (experimental). Durante el período experimental la adenosina se administró sola y durante una infusión intrarrenal de verapamil. Se monitorizaron continuamente el flujo sanguíneo renal y la presión arterial.

En el período control el flujo sanguíneo renal fue $112,5 \pm 16,5$ ml/min. La adenosina lo redujo de forma inmediata a $50,2 \pm 13$ ml/min. y a $102,7 \pm 16,8$ ml/min. diez minutos después. La retirada de la adenosina provocó un rebote del flujo a $131,7 \pm 18,9$ ml/min. En el período experimental, el flujo sanguíneo renal basal fue $55,7 \pm 8,4$ ml/min. La adenosina lo disminuyó a $39 \pm 8,6$ ml/min.; diez minutos más tarde el flujo era $80 \pm 18,4$ ml/min. No se observó rebote. El verapamil aumentó el flujo basal a $99,7 \pm 22,1$ ml/min. y abolió los efectos vasculares de la infusión de adenosina.

En este modelo de riñón no filtrante la adenosina ejerce su efecto vasoconstrictor renal inmediato en menor intensidad y varía la respuesta habitual, probablemente por el alto contenido de adenosina en el riñón. El verapamil normalizó el flujo sanguíneo renal y abolió los efectos vasculares de la adenosina en el riñón no filtrante.

Palabras clave: **Adenosina. Riñón isquémico no filtrante.**

ADENOSINE INDUCED RENAL HAEMODYNAMICS IN A NON-FILTERING KIDNEY MODEL. INFLUENCE OF VERAPAMIL

SUMMARY

Intrarrenal adenosine production may be influenced by a transport-sensitising receptor in response to tubular sodium load. The concentration of adenosine is

Recibido: 2-XI-87.
En versión definitiva: 18-I-88.
Aceptado: 19-I-88.

Correspondencia: Dr. P. G. Cosmes.
Servicio de Nefrología.
Hospital Virgen de la Vega.
Paseo de San Vicente, 58.
37007 Salamanca.

increased in the ischemic kidney. The present study evaluates the renal haemodynamics elicited by adenosine in a model of a non-filtering kidney.

Eight dogs were infused intrarenally with $0.2 \mu\text{M}$ adenosine for 10 minutes before (controls) and three days after one kidney was rendered non-filtering following Blaine's technique (experimental period). In the experimental period, adenosine was administered alone and during an intrarenal infusion of verapamil. Renal blood flow and blood pressure were continuously recorded.

In controls basal renal blood flow was 112.5 ± 16.5 ml/min. Adenosine promptly reduced it to 50.2 ± 13 ml/min, and ten minutes later it reached 10.27 ± 16.8 ml/min. Adenosine withdrawal provoked a rebound to 131.7 ± 18.9 ml/min (Table I. Figure 1). In the experimental period, basal renal blood flow was 55.7 ± 8.4 ml/min; adenosine produced a vasoconstriction to 39 ± 8.6 ml/min; ten minutes later it was 80 ± 18.4 ml/min. The rebound was 77.7 ± 16.3 ml/min (Table II. Figure 1). In this period, verapamil provoked an increase of renal blood flow to 99.7 ± 22.1 ml/min. When adenosine was infused intrarenally in addition to verapamil, renal blood flow was unaltered and rebound was not observed (Table III. Figure 1).

Adenosine exerts its vasoconstrictor effect in the non-filtering kidney. The non-filtering kidney, already vasoconstricted, may account for the lower vasoconstrictor response elicited by adenosine, and for the absence of rebound. Calcium-channel blockers increase the renal blood flow in the non-filtering kidney to values similar to the pre-ischaemic levels, and abolish all the haemodynamic events related to adenosine.

Key words: **Adenosine. Ischaemic non-filtering kidney.**

Introducción

La adenosina es un vasodilatador eficaz en todos los órganos excepto en el riñón, en el que produce un potente efecto vasoconstrictor¹⁻⁵. Basándose en el característico efecto vascular renal de la adenosina y en la capacidad del riñón para producirla tanto en situaciones fisiológicas como en isquemia renal, Spielman y Thomson⁶ la han propuesto como posible regulador endógeno del flujo sanguíneo renal (FSR) y del filtrado glomerular (FG). Para los autores, el ascenso del FSR produciría un aumento del FG y, por tanto, de la oferta tubular de solutos con mayor reabsorción activa de sodio, consumo de ATP y producción de adenosina que, actuando sobre el sistema renina-angiotensina, llevaría el FSR y el FG a la normalidad. Macías y cols.⁷ inhibieron el efecto vasoconstrictor renal de la adenosina con verapamil.

Nuestro trabajo estudia la respuesta de la hemodinámica renal a la infusión de adenosina en ausencia de FG y de carga tubular de solutos en un modelo de riñón no filtrante y la influencia del bloqueo del transporte celular transmembrana del calcio sobre dicha respuesta.

Material y métodos

Se estudiaron ocho perros de ambos sexos, cuyo peso osciló entre 12 y 30 kg. Todos ellos estuvieron

con dieta normosódica hasta la noche antes del experimento, en que se suspendió la ingesta de alimentos.

Los animales se anestesiaron con tiopental sódico (30 mg/kg. i.v.), añadiendo pequeñas dosis de mantenimiento cuando era necesario. Se les practicó intubación endotraqueal para ventilación mecánica. Se canularon una arteria femoral para monitorización continua de la presión arterial y una vena braquial para infusión de medicación.

Tras practicarse una incisión subcostal izquierda y una cuidadosa disección por planos, se expusieron los vasos renales y el riñón izquierdo por vía retroperitoneal. En caso de encontrarse varias arterias renales, se suturaba la incisión y se utilizaba el riñón derecho.

Abrazando la arteria renal, cuidando no denervarla, se colocó un flujómetro electromagnético (Narco Bio-Systems, 2730M), Texas, USA) para control permanente del FSR. El flujómetro y el transductor de presión arterial (Hewlett-Packard, 267BC, Mass., USA) se conectaron a un polígrafo (Hewlett-Packard, 7786A, Mass., USA) y a un monitor (Narco Bio-Systems, 806PK, Texas, USA) para registrar gráficamente el FSR y la presión arterial con el primero y monitorizar continuamente en dígitos el FSR con el segundo.

En la arteria renal, y distal al flujómetro, se colocó una aguja del núm. 22 en ángulo recto para la infusión de adenosina y otras drogas. La aguja se conectó

a un catéter y éste a una llave de tres pasos que permitiría infundir las drogas de forma aislada o simultánea por medio de bombas de infusión continua (B. Braun, 871022, RFA). La permeabilidad de la aguja se mantuvo mediante infusión con suero salino isotónico a 2 ml/min., método utilizado habitualmente en este tipo de experimentos ^{8, 9}.

Una vez terminadas las maniobras quirúrgicas, y antes de comenzar el estudio hemodinámico, se esperó a que la presión arterial y el FSR se estabilizaran aproximadamente unos treinta minutos.

Concluido el tiempo de estabilización, se cambió la infusión intrarrenal de mantenimiento por otra de adenosina 0,2 µM a 2 ml/min. durante diez minutos para volver a la infusión de mantenimiento hasta que el FSR se estabilizó en cifras basales. Transcurrido este tiempo experimental, período control, se procedía a conseguir el modelo de riñón no filtrante según la técnica de Blaine y cols. ¹⁰, que consiste en una doble ligadura y sección del uréter izquierdo, o derecho en su caso, y clampaje de la arteria renal ipsilateral cerca de su origen durante dos horas. Después de ese tiempo de isquemia se retiraba el clamp arterial y se suturaba la incisión subcostal por planos. Tres días después se reintervinieron los animales bajo las mismas técnicas anestésicas y quirúrgicas y en las mismas condiciones ambientales. De nuevo se repitió la infusión de adenosina sola y durante una infusión intrarrenal de verapamil (10 µg/kg/min.) que se iniciaba quince minutos antes.

Para demostrar que el riñón era no filtrante, se inyectó en la arteria renal, antes del clampaje de la arteria renal y en la reintervención, una solución de verde lisamina. La ausencia de colorante en los túbulos de una zona de la superficie renal decapsulada constituye la evidencia de ausencia de filtración.

Todas las soluciones a infundir eran preparadas el mismo día del experimento. Se analizan los resultados por el test de la t de Student para datos pareados. Se considera significación estadística una P < 0,05. Los datos se expresan como media ± 1 EEM.

Resultados

En el período control la adenosina produjo una vasoconstricción inmediata que llevó el FSR de 112,5 ± 16,5 a 50,2 ± 13,0 ml/min. (tabla I, Fig. 1), lo que supone un decremento significativo de un 59,1 % del FSR basal (tabla I, Fig. 2). En el minuto cinco de infusión de adenosina el FSR fue 99 ± 17,1 ml/min. (tabla I, Fig. 1) (el 85,1 ± 6,7 % del FSR basal, P < 0,05) (tabla I, Fig. 2). La recuperación del flujo a niveles basales no se produjo hasta el minuto siete de la infusión. En el minuto diez el FSR fue 102,7 ± 16,8 ml/min., sin diferencia significativa respecto al basal (tabla I, Fig. 1). La retirada de la

Tabla I. Respuesta del FSR a la infusión de ADO en el riñón filtrante. En la parte superior se expresan los resultados en ml/min. En la inferior, los mismos resultados en porcentaje con respecto al FSR basal

	Basal	Vc. máx. 1 min.	5 min.	10 min.	Rebote
FSR ml/min.	112,5	50,2 *	66,0 *	99,0 *	102,7 * 131,7 **
EEM	16,5	13,0	14,2	17,1	16,8 18,9
FSR %	100	40,9 *	55,2 *	85,1 *	90,1 119,1 **
EEM	—	6,6	5,8	6,7	7,4 6,9

ADO: adenosina; Vc. máx.: vasoconstricción máxima.

* p < 0,05 con respecto al FSR basal.

• p < 0,05 con respecto al FSR en el minuto diez.

adenosina provocó un efecto de rebote que llevó el FSR a 131,7 ± 18,9 ml/min. (tabla I, Fig. 1), que representa un aumento del 19,1 % respecto al basal y del 28,2 % respecto al flujo en el minuto diez de infusión de adenosina; ambas diferencias son estadísticamente significativas (tabla I, Fig. 2).

El FSR basal en el riñón no filtrante fue 55,7 ± 8,4 ml/min., que supone una disminución de flujo con respecto al basal en el riñón intacto del 50,5 % (P < 0,05) (tabla II, Figs. 1 y 2). La adenosina produjo un descenso inmediato del FSR a 39 ± 8,6 ml/min. (tabla II, Fig. 1) (el 66,9 ± 7,8 % del basal, P < 0,05) (tabla II, Fig. 2). Cuando comparamos la intensidad de la vasoconstricción provocada por la adenosina en el riñón normal y en el riñón no filtrante, la diferencia es estadísticamente significativa. La recuperación del FSR a niveles basales en el riñón no filtrante se observó desde el primer minuto de infusión de la adenosina (tabla II, Fig. 1). En el minuto cinco el FSR fue 75,2 ± 17,6 ml/min. (tabla II, Fig. 1) (el 124,7 ± 13,7 % del basal, P < 0,05) (tabla II, Fig. 2) y en el minuto diez 80 ± 18,4 ml/min. (tabla II, Fig. 1) (el 133,1 ± 14,1 % del basal, P < 0,05) (tabla II, Fig. 2). La comparación de la respuesta a la infusión de anodina en los dos períodos experimentales muestra diferencias significativas en todos los tiempos (tabla II). Con la retirada de la adenosina en el riñón no filtrante el FSR fue 77,7 ± 16,3 ml/min. (tabla II, Fig. 1), con diferencia significativa respecto al basal, pero no respecto al flujo en el último minuto de infusión, es decir, no se observó efecto de rebote (tabla II, Figs. 1 y 2).

El verapamil en el riñón no filtrante aumentó el FSR a 99,7 ± 22,1 ml/min. (tabla III, Fig. 1) que representa un aumento significativo de flujo de un 78,9 % del basal con respecto al del riñón no filtrante y un descenso de un 11,4 % comparado con el FSR basal del riñón intacto, pero en este caso la diferencia no tiene significación estadística (tabla III). La infusión de adenosina no modificó significativamente el

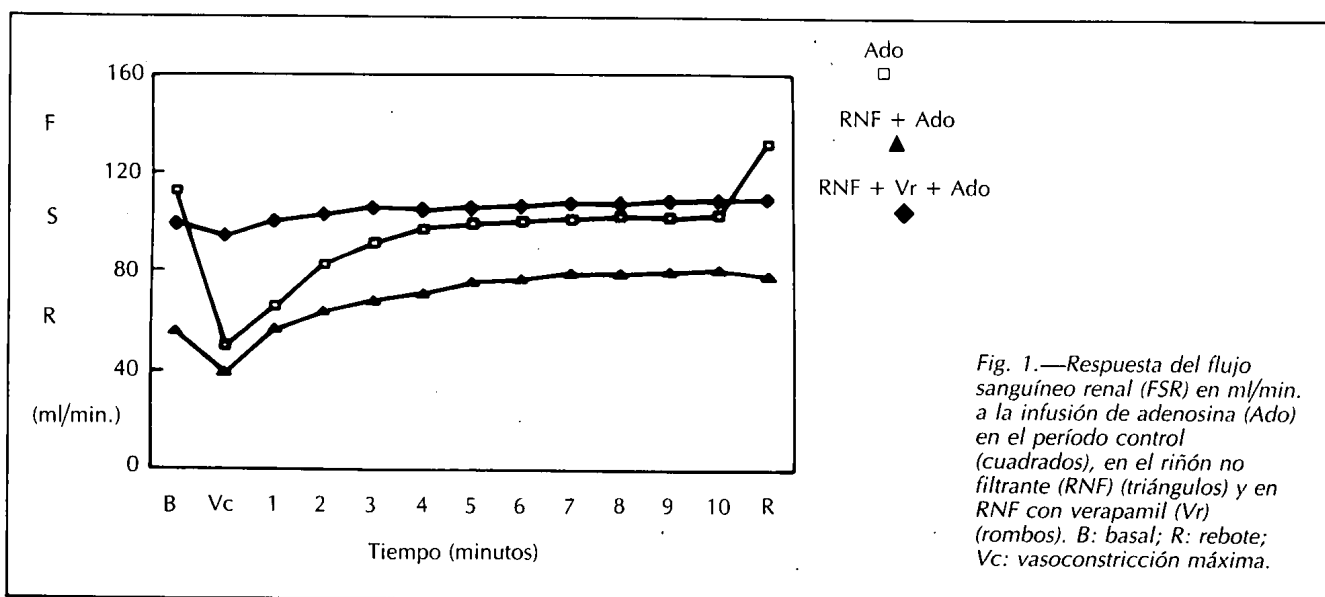


Tabla II. Respuesta del FSR a la infusión de ADO en el riñón no filtrante. En la parte superior se expresan los resultados en ml/min. En la inferior, los mismos resultados en porcentaje con respecto al FSR basal

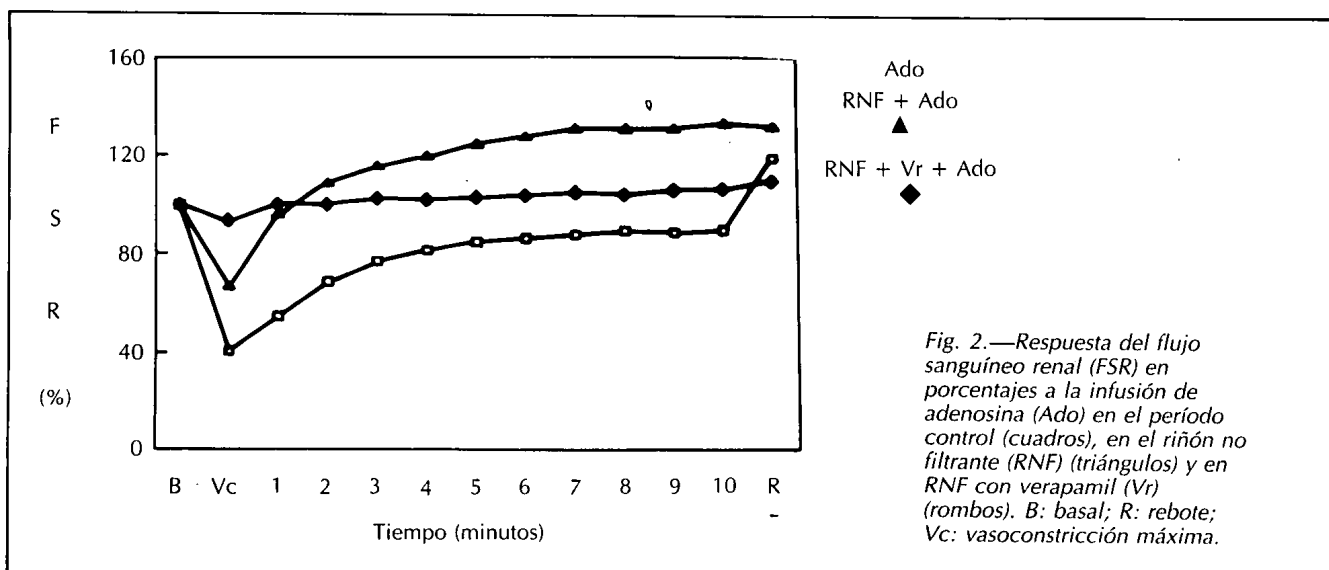
	Basal	Vc. máx.	1 min.	5 min.	10 min.	Rebote
FSR ml/min.	55,7 *	39,0 *	56,2	75,2 *	80,0 *	77,7 *
EEM	8,4	8,6	11,8	17,6	18,4	16,3
FSR %	100	66,9 ■*	96,0 ■	124,7 ■	133,1 ■*	131,4 *
EEM	—	7,8	10,3	13,7	14,1	9,4

ADO: adenosina; Vc. máx.: vasoconstricción máxima.
 * p < 0,05 con respecto al FSR basal en el riñón filtrante.
 ■ p < 0,05 con respecto al FSR basal en el riñón no filtrante.
 ■ p < 0,05 con respecto al mismo tiempo en el riñón filtrante.

Tabla III. Respuesta del FSR a la infusión de ADO en el riñón no filtrante tratado previamente con verapamil. En la parte superior se expresan los resultados en ml/min. En la inferior, los mismos resultados en porcentaje con respecto al FSR basal

	Basal	Vc. máx.	1 min.	5 min.	10 min.	Rebote
FSR ml/min.	99,7 *	94,2	100,2	105,7	108,7	109,2
EEM	22,1	21,7	24,8	27,0	27,7	25,1
FSR %	100	93,7	100,5	103,2	106,6	109,7
EEM	—	2,4	3,7	5,2	5,5	4,4

ADO: adenosina; Vc. máx.: vasoconstricción máxima.
 * p < 0,05 con respecto al FSR basal en el riñón no filtrante en ausencia de verapamil.



FSR, como tampoco lo hizo la retirada de la droga (tabla III, Figs. 1 y 2).

La presión arterial no se modificó en ninguno de los tiempos experimentales.

Discusión

Desde que se considera a la adenosina como posible mediador humoral del fenómeno *feedback* tubuloglomerular en el proceso de autorregulación del FSR y del FG¹¹, se han realizado distintos trabajos para establecer con certeza la actuación de la adenosina en dicho proceso. El fundamento de tales trabajos reside en la alteración o bloqueo del manejo tubular del sodio y para conseguirlo se han utilizado modelos experimentales de riñones no filtrantes con isquemia renal o sin ella¹²⁻¹⁵. En este caso estudiamos la respuesta del FSR a la administración exógena de adenosina en un modelo de riñón isquémico no filtrante.

El FSR pasó de $112,5 \pm 16,53$ ml/min. en el riñón intacto a $55,75 \pm 8,45$ ml/min. después de hacerlo no filtrante (Fig. 1). La caída del flujo no se debe principalmente a cambios estructurales de la vasculatura renal, pues estudios histológicos del riñón hecho no filtrante por este método demuestran que la perfusión glomerular se mantiene y que la necrosis afecta fundamentalmente a los túbulos renales¹⁰. En condiciones de isquemia renal se eleva la producción y almacenamiento renal de distintos agentes vasoconstrictores que pueden determinar el descenso del FSR¹⁶⁻²⁰. Importantes evidencias apuntan a la adenosina como uno de los principales responsables de dicho descenso: la adenosina es un potente vasoconstrictor renal^{4, 21}; la adenosina se acumula en el riñón isquémico^{12, 13}; la teofilina, antagonista de los receptores de adenosina^{21, 22}, mejora la función renal²³ y devuelve la capacidad de autorregulación del FSR en el riñón isquémico no filtrante¹⁵; el verapamil, que anula los efectos hemodinámicos de la adenosina en el riñón^{7, 24}, consigue en nuestro estudio elevar el FSR en el riñón isquémico a niveles similares a los del riñón intacto.

La respuesta del FSR a la administración exógena de adenosina en el riñón no filtrante difiere de la observada en el riñón en varios aspectos (figs. 3 y 4). En primer lugar, la vasoconstricción máxima inducida por adenosina en el riñón no filtrante es de menor intensidad que en el riñón intacto, con un descenso del FSR de un 33,1 % en el primer caso *versus* un 59,1 % en el segundo. En segundo lugar, la recuperación del flujo a niveles basales durante la infusión de adenosina se observa ya desde el primer minuto de infusión y desde el sexto los flujos son significativamente superiores a los basales. Por último, la retirada de la infusión no desencadenó efecto de rebote.

Creemos que la menor intensidad de vasoconstricción inmediata se debe a que la adenosina exógena incide en un riñón cuya vasculatura ya está constreñida por la acción de la adenosina endógena renal, que, como hemos señalado, se encuentra en altas concentraciones en el riñón isquémico y, por tanto, con limitada capacidad para una mayor vasoconstricción.

Respecto a la recuperación precoz del FSR, incluso a niveles significativamente superiores a los basales durante la infusión de adenosina, pensamos que al incidir la adenosina exógena en un riñón isquémico con alto contenido en adenosina, una vez producida la fase vasoconstrictora rápida, posiblemente la fase vasodilatadora de la respuesta normal sea más precoz que en riñones no isquémicos (efecto adenosina sobre adenosina).

La ausencia de rebote al retirar la infusión de adenosina se explicaría por la persistencia del efecto de la adenosina endógena del riñón isquémico que contrarresta el efecto del cese de la exógena.

Según expusimos antes, el ascenso del FSR con verapamil en este modelo de riñón no filtrante hasta niveles semejantes a los del riñón normal apoya la hipótesis según la cual la disminución de FSR en el riñón isquémico se debe en gran parte a la vasoconstricción inducida por el acúmulo de adenosina en este riñón y no por daño vascular. En consonancia con trabajos previos en riñones intactos^{7, 24, 25}, y en glomérulos aislados²⁶, el verapamil abolió los efectos hemodinámicos de la adenosina en el riñón isquémico no filtrante.

En resumen, creemos que el descenso del FSR en el riñón isquémico no filtrante se debe principalmente al acúmulo de adenosina en este riñón. El bloqueo del FG no evita la respuesta vasoconstrictora renal a la infusión intrarrenal de adenosina exógena, aunque altera el perfil característico de dicha respuesta, probablemente por el alto contenido en adenosina del riñón isquémico. Por último, la abolición de los efectos vasculares renales de la adenosina en este modelo de riñón por el verapamil refuerza la idea que la adenosina ejerce su efecto hemodinámico en el riñón favoreciendo la entrada de calcio en las células contráctiles renales, vasculares y/o mesangiales.

Bibliografía

1. Haddy FJ y Scott JB: Metabolically linked vasoactive chemicals in local regulation of blood flow. *Physiol Rev* 48:688-707, 1968.
2. Ally AI y Nakatsu K: Adenosine inhibition of isolated rat ileum and antagonism by theophylline. *J Pharmacol Exp Ther* 199:208-219, 1976.
3. Walter P y Bassenge E: Wirkung von ATP, A-3, 5-MP, adenosine und dipyridamol um streifenpreparaten del A. coronari, A. renalis, und der V. portal. *Pflügers Arch* 299:52-65, 1968.

4. Osswald H, Schmitz H y Heidenreich O: Adenosine response of the rat kidney after saline loading, sodium restriction and hemorrhagia. *Pflügers Arch* 357:323-333, 1975.
5. Skai K, Aono J y Haruta K: Species differences in renal vascular effects of dipyridamole and in the potentials of adenosine action by dipyridamole. *J Cardiovasc Pharmacol* 3:420-430, 1981.
6. Spielman WS y Thompson CI: A proposed role for adenosine in the regulation of renal hemodynamics and renin release. *Am J Physiol* 242:423-435, 1982.
7. Macías JF, García-Iglesias C, Santos JC y López-Novoa JM: Influence of plasma renin content, intrarenal angiotensin II, and calcium channel blockers on the vasoconstriction and renin release promoted by adenosine in the kidney. *J Lab Clin Med* 106:562-567, 1985.
8. Spielman WS, Britton SL y Fiksen-Olsen MJ: Effect of adenosine on the distribution of renal blood flow in dogs. *Circ Res* 46:449-456, 1980.
9. Macías JF, Fiksen-Olsen M, Romero JC y Knox FG: Intrarenal blood flow distribution during adenosine-mediated vasoconstriction. *Am J Physiol* 244:138-141, 1983.
10. Blaine EH, Davis JO y Witty RT: Renin release after hemorrhage and after suprarenal aortic constriction in dogs without sodium delivery to the macula densa. *Circ Res* 27:1081-1089, 1970.
11. Osswald H, Nabakowski G y Hermes H: Adenosine as a possible mediator of metabolic control of glomerular filtration rate. *Int J Biochem* 12:263-267, 1980.
12. Osswald H, Schmitz HJ y Kemper R: Tissue content of adenosine, inosine and hypoxanthine in the rat kidney after ischemia and postischemic recirculation. *Pflügers Arch* 371:45-49, 1977.
13. Miller WL, Thomas RA, Berne RM y Rubio R: Adenosine production in the ischemic kidney. *Circ Res* 43:390-397, 1978.
14. Osborn JL, Hoverstein LG y Di Bona FG: Impaired blood flow autoregulation in non-filtering kidneys: effects of theophylline administration. *Proc Soc Exp Biol Med* 174:328-335, 1983.
15. Sadowski J y Wocial B: Renin release and autoregulation of blood flow in a new model of non-filtering non-transporting kidney. *J Physiol* 266:219-233, 1977.
16. Currie M, Kawasaki A, Jonas P, Davis P y Neddleman P: The mechanism and site of the enhancement arachidonate metabolism in ureter obstruction. En *Prostaglandins and the kidney*. Ed. Dunn MJ, Patrono C, Cinotti GA. Plenum, New York, págs. 29-308, 1983.
17. Reid IA, Morris BJ y Ganong WF: The renin-angiotensin system. *Ann Rev Physiol* 40:377-410, 1978.
18. Flamenbaum W: Pathophysiology of acute renal failure. *Arch Int Med* 131:911-923, 1973.
19. Arendhorst WJ, Finn WF y Gottschalk CW: Pathogenesis of acute renal failure following temporary renal ischemia in the rat. *Circ Res* 37:559-568, 1975.
20. Daugharty TM y Brenner BM: Reversible hemodynamic defect in glomerular filtration rate after ischemic injury. *Am J Physiol* 288:1436-1439, 1975.
21. Osswald H: Renal effects of adenosine and their inhibition by theophylline. *Naunyn-Schmiedeberg Arch Pharmacol* 288:79-86, 1975.
22. Daly JW: Adenosine receptors: targets of future data. *J Mol Chem* 25:197-207, 1982.
23. Osswald H, Schnermann I, Schmitz HJ y Kemper R: The possible role of adenosine in the postischemic reduction of renal blood flow and glomerular filtration rate. *Kidney Int* 11:217-218, 1977.
24. Arend L y Spielman WS: Dissociation of the renal hemodynamic and renin release effects of adenosine by verapamil. (Abstract). *Kidney Int* 23:272, 1983.
25. Cosmes PG, Iglesias CG, Del Barrio E, Refoyo A, Holgado M y Macías JF: Effect of the calcium-calmodulin complex and slow channel calcium blockade on the renal vascular actions of adenosine. *Pflügers Arch* 407:55, 1986.
26. López-Novoa JM, Arriba G, Barrio V y Rodríguez-Puyol D: Adenosine induces a calcium-dependent glomerular contraction. *European J Pharmacol* 134:365-367, 1987.