

Papel de la L-arginina en el tratamiento del fracaso renal agudo isquémico

C. Caramelo, G. Espinosa, B. Encabo*, A. López Farré, M. Moliz**, M. R. Cemadas, M. J. Gallego, A. Riesco, P. Millán, M. Montón, L. Hernando y S. Casado

Laboratorio de Nefrología. Fundación Jiménez Díaz. * Sección de Anatomía Patológica. Hospital de Móstoles. Madrid. ** Servicio de Nefrología. Residencia de la Seguridad Social Carlos Haya. Málaga.

El fracaso renal agudo (FRA) isquémico es, en términos prácticos, el paradigma de FRA y ha servido como eje principal de los estudios encaminados a dilucidar los factores que producen el cese brusco de la función renal.

De los diversos mecanismos implicados en el FRA isquémico, el daño por reperfusión debido a los radicales libres de O₂, la toxicidad celular dependiente de elevación del Ca²⁺ citosólico y la producción de endotelina parecen ser los más relevantes¹⁻⁵. Sin embargo, los mecanismos precisos por los que los radicales libres y el Ca²⁺ producen daño renal todavía no han sido suficientemente aclarados.

El diseño de tratamientos para impedir, atenuar y recuperar el FRA es uno de los objetivos clásicos de la Nefrología clínica, que aún conserva plena validez. Se han empleado diversos abordajes terapéuticos, fundamentados en las teorías vigentes acerca de la patofisiología del FRA. El propósito general de estos tratamientos ha sido contrarrestar la disminución de la perfusión glomerular y aumentar el flujo tubular. Así, la expansión del volumen circulante y el uso de manitol y de diuréticos del asa son los métodos utilizados con mayor frecuencia, aunque con éxito variable⁶⁻⁸. Otras tácticas han sido el empleo de agentes con propiedades vasodilatadoras y/o de inhibición del aumento de Ca²⁺ intracelular, como el péptido natriurético atrial (ANP)⁹ o los bloqueantes de los canales lentos del calcio¹⁰.

El objetivo de cualquier método de tratamiento debe dirigirse no tanto a restablecer el FGR y FPR disminuidos en el riñón postisquémico como a proteger los túbulos del daño debido a la isquemia. Así, en el contexto del FRA, el descenso de FGR y FPR debe verse más como un mecanismo homeostático de protección ante la incapacidad de un manejo adecuado del filtrado glomerular por parte de los túbulos.

En individuos y animales de experimentación normales, la ingesta de proteínas y las soluciones de aminoácidos

producen un aumento del FGR y el FPR, así como un incremento de la diuresis y natriuresis¹¹⁻¹³. El mecanismo de estos efectos renales de los aminoácidos no está suficientemente establecido, aunque se ha involucrado a diversos factores, como el IGF (*insulin like growth factor*), el glucagón, las prostaglandinas y el factor relajante dependiente de endotelio (EDRF)¹⁴⁻¹⁷.

La estructura del EDRF corresponde al óxido nítrico (NO)¹⁸, y su precursor es el aminoácido L-arginina (L-Arg)¹⁹. El NO estimula a la célula de músculo liso vascular para producir guanosin monofosfato cíclico (GMPc), mediador dotado de propiedades vasorrelajantes, que aparentemente dependen de contrarrestar algunos mecanismos relacionados con el nivel de Ca²⁺ libre citosólico^{20,21}. Otras células cuya función puede verse afectada por la formación intracelular de GMPc, secundaria a la presencia de NO, son las del mesangio glomerular²², los leucocitos polimorfonucleares²³ y las plaquetas²⁴, todas ellas con un posible papel en el FRA isquémico.

En teoría, L-arginina (L-Arg) es el único aminoácido estructuralmente adecuado para producir NO a partir de su grupo guanidino. Desde hace dos años se dispone de antagonistas competitivos de L-Arg que son capaces de bloquear la formación de NO y ofrecen una herramienta farmacológica de valor extraordinario para abordar la patofisiología del endotelio.

Durante el pasado y presente años se han conocido nuevos datos acerca del mecanismo de acción renal y hemodinámica de diferentes aminoácidos²⁵, que podemos resumir en: a) L-Arg aumenta el flujo plasmático renal (FPR), la tasa de filtrado glomerular (FGR), la natriuresis y la diuresis por un mecanismo dependiente de la formación de NO y mediado por GMPc; b) L-glicina (L-Gly) produce efectos similares y por mecanismos semejantes, por lo que podría existir una generación de L-Arg a partir de L-Gly; no obstante, este último dato aún no se ha comprobado; c) la administración i.v. de L-Arg provoca descensos breves y transitorios de la presión arterial tanto en animales de experimentación²⁵ como en humanos²⁶; d) estos efectos de los aminoácidos parecen ser independientes de al menos dos de los factores más frecuentemente citados: ANP y glucagón²⁶; e) los antagonistas de

Correspondencia: G. Espinosa.
Laboratorio Nefrología.
Fundación Jiménez Díaz.
Madrid.

la L-Arg no afectan la acción renal de todos los aminoácidos en la misma proporción²⁶.

Existen algunos trabajos, en parte contradictorios, que examinan el efecto de aminoácidos en distintos modelos de FRA, incluyendo el FRA isquémico. En general, y con excepción de las comunicaciones de Toback²⁷ y algunos resúmenes muy recientes, la mayoría de los autores ha referido un efecto contraproducente de los aminoácidos²⁸. Las críticas generales que pueden hacerse a estos estudios son el uso de concentraciones elevadas de los distintos aminoácidos y el empleo, excepto en el trabajo de Zager y cols.²⁹, de mezclas de aminoácidos, impidiendo, por tanto, la valoración de posibles efectos diferenciados de cada uno de ellos. Un detalle importante es que todas las comunicaciones que referimos corresponden además a la época previa a la identificación de L-Arg como precursor de NO. En preparaciones de túbulos *in vitro* se ha observado que L-Gly tiene un efecto protector sobre el daño celular, cuyo mecanismo todavía no está suficientemente establecido^{30,31}.

Recientemente hemos ensayado en nuestro laboratorio una serie de maniobras destinadas a clarificar el efecto de los aminoácidos en el FRA isquémico desde el punto de vista de la nueva información disponible acerca del papel de la L-Arg como precursor del NO. Los datos previos indicaban que los efectos renales de L-Arg estaban mediados por NO. La hipótesis general con que se empezó a trabajar fue que la isquemia-reperusión renal se acompaña de una disminución de NO, bien por déficit de producción o por aumento de catabolismo, este último debido a la producción de anión superóxido durante la reperusión. En este sentido existen datos que indican la presencia de una respuesta deficiente a la acetilcolina en FRA isquémico inducido por norepinefrina³² y por oclusión de la arteria renal³³. El corolario, un tanto obvio pero posible, es que la provisión de sustrato, e.g. L-Arg, pudiera favorecer la generación intrarrenal de NO y, por tanto, disminuir algunos de los efectos de la isquemia. En una primera serie de experimentos se produjo una isquemia renal uni o bilateral durante sesenta minutos, seguida de observación durante sesenta minutos, veinticuatro horas o cuarenta y ocho horas tras el inicio de la reperusión. L-Arg se suministró en forma de bolo de 15 o 25 mg, i.v., inmediatamente antes de la isquemia e inmediatamente antes de la reperusión. Los resultados de estas experiencias confirmaron lo referido por otros autores²⁸, notándose una tendencia al empeoramiento de la función renal y, fundamentalmente, unos índices de daño histológico significativamente más altos en los animales tratados con L-Arg.

Una explicación provisional de estos resultados podría encontrarse en: a) falta de producción de NO o catabolismo aumentado del NO en el riñón isquémico, capaz de anular el posible efecto positivo de la L-Arg y contrarrestar un efecto tóxico inespecífico de la misma; b) aumento de la producción de anión superóxido inducido por la misma L-Arg³⁴; c) producción del radical peroxini-

trito, capaz por sí mismo de provocar daño renal³⁵. Tanto b) como c) implicarían que la formación de anión superóxido puede constituir un mecanismo patogénico principal. El siguiente abordaje experimental, que se encuentra actualmente en curso, ha utilizado la información obtenida en la primera serie de estudios y se está realizando en riñón *in situ* de conejos uninefrectomizados agudamente. En estos animales se estudia el efecto de una isquemia renal de sesenta minutos sobre la función renal en cuatro condiciones: a) sin tratamiento; b) con infusión de L-Arg a una dosis menor que la empleada en las experiencias anteriores (0,5 mg/kg/min), para disminuir posibles efectos tóxicos; c) infusión de superóxido dismutasa, para disminuir la elevación de anión superóxido, d) infusión conjunta de superóxido dismutasa y L-Arg, para analizar el posible papel del anión superóxido en el efecto de la L-Arg.

Los resultados, todavía preliminares y correspondientes a tres animales por grupo, se muestran en la tabla I y, tomados en conjunto, indicarían: a) que el uso de infusiones de L-Arg a dosis bajas es tan poco efectivo como la superóxido dismutasa en la prevención del FRA isquémico; b) que la supresión simultánea de la actividad del anión superóxido potencia los efectos renales de la L-Arg en el FRA isquémico.

Estos datos, aunque todavía incompletos, son alentadores acerca de un posible papel de la combinación de L-Arg y agentes que antagonizan los efectos de los radicales libres y avalan la necesidad de continuar considerando a los aminoácidos como agentes potencialmente útiles en el manejo del FRA. Del resultado de estos y otros experimentos similares podría obtenerse información útil para el diseño de soluciones intravenosas más adecuadas durante el FRA o en su prevención, así como para posibles variaciones en la composición de las soluciones empleadas en una situación especial de isquemia renal, el riñón de trasplante.

Agradecimientos

Los trabajos a los que se hace referencia en este artículo fueron financiados con ayudas del FISS (90/0229 y 90/0234), de la Fundación Ramón Areces, del CNPq (Brasil) y de la Fundación Renal. Los autores agradecen la colaboración técnica de Inma Millás, Emilia Blanco, Marta Antón y Maruja Campos.

Tabla I. Función renal postisquemia

	FGR (ml/min)	Cin (%)	Diuresis (µl/min)
Basal	2,16 ± 0,22*	100*	27 ± 6*
ISQ	0,45 ± 0,06	16,6 ± 2,6	16 ± 5
ISQ + L-Arg	0,31 ± 0,06	16,2 ± 3,2	25 ± 6
ISQ + SOD	0,59 ± 0,06*	28,7 ± 3,1*	24 ± 2
ISQ + L-Arg + SOD	1,28 ± 0,21*	67,6 ± 11,6*	157 ± 12*

Función renal tras sesenta minutos de isquemia (ISQ) en conejos tratados con L-arginina (L-Arg), superóxido dismutasa (SOD) o ambos. Los resultados están representados como media ± error estándar, siendo al menos tres experimentos diferentes para cada caso.

* p < 0,05 respecto a los conejos isquémicos no tratados; FGR: filtrado glomerular; Cin: aclaramiento de inulina.

Bibliografía

1. Chatterjee SN y Berne TV: Protective effect of allopurinol in renal ischemia. *Am J Surg*, 131:658-660, 1976.
2. Paller MS, Hoidal JR y Ferris TF: Oxygen free radicals in ischemic acute renal failure. *J Clin Invest*, 74:1156-1164, 1984.
3. Leaf A, Cheung JU, Mills JW y Bonventre JV: Nature of the cellular insult in acute renal failure. En Brenner BM y Lazarus JM (eds.). *Acute Renal Failure*. W. B. Saunders Co., Philadelphia, pp. 2-20, 1983.
4. Kon V, Yoshioka T, Fogo A e Ichikawa L: Glomerular actions of endothelin in vivo. *J Clin Invest*, 83:1762-1767, 1989.
5. López-Farré A, Gómez-Garre D, Bernabeu F y López-Novoa JM: A role for endothelin in the maintenance of postischemic renal failure in rats. *J Physiol* (en prensa), 1991.
6. Zager RA, Mahan J y Merola AJ: Effects of mannitol on the postischemic kidney: biochemical, functional and morphologic assessments. *Lab Invest*, 53:433-442, 1985.
7. Hanley MJ y Davidson K: Prior mannitol and furosemide infusion in a model of ischemia acute renal failure. *Am J Physiol*, 241:F556-F564, 1981.
8. De Torrente A, Miller PD, Cronin RE, Paulsen PE, Erickson AL y Schrier RW: Effects of furosemide and acetylcholine in norepinephrine-induced acute renal failure. *Am J Physiol*, 235:F131-F136, 1978.
9. Lieberthal W, Sheridan AM y Valeri CR: Protective effect of atrial natriuretic factor and mannitol following renal ischemia. *Am J Physiol*, 258:F1266-F1272, 1990.
10. Burke TJ, Arnold PE, Gordon JA, Bulger RE, Dobyan DC y Schrier RW: Protective effect of intrarenal calcium membrane blockers before or after renal ischemia. Functional, morphological and mitochondrial studies. *J Clin Invest*, 74:1830-1841, 1984.
11. Hostetter TH: Human renal responses to a meat meal. *Am J Physiol*, 250:F388-F393, 1986.
12. Castellino P, Coda B y DiFronzo RA: Effect of aminoacid infusion on renal hemodynamics in humans. *Am J Physiol*, 251:F132-F140, 1986.
13. Rodríguez-Iturbe B: The renal response to an acute protein load in men: Clinical perspective. *Nephrol Dial Transplant*, 5:1-9, 1990.
14. Hirschberg R y Kopple JD: Role of growth hormone in the aminoacid induced acute rise in renal function in men. *Kidney Int*, 32:382-387, 1987.
15. Friedlander G, Blanchet-Benqué F, Nitenberg A, Laborie C, Assan R y Amiel C: Glucagon secretion is essential for aminoacid-induced hyperfiltration in men. *Nephrol Dial Transplant*, 5:110-117, 1990.
16. Hirschberg RR, Zipser RD, Slomowitz LA y Kopple JD: Glucagon and prostaglandins are mediators of amino acid induced rise in renal hemodynamics. *Kidney Int*, 33:1147-1155, 1988.
17. King AJ, Troy JL, Anderson S, Neuringer JR, Ginning M y Brenner B: Nitric oxide: a potential mediator of amino acid-induced renal hyperemia and hyperfiltration. *J Am Soc Nephrol*, 1:1271-1277, 1991.
18. Ignarro JJ, Buga GM, Wood KS, Byrns RE y Chandhuri G: Endothelium-derived relaxing factor produced and released from artery and vein is nitric oxide. *Proc Nat Acad Sci*, 84:9265-9269, 1987.
19. Palmer RMJ, Ashton DS y Moncada S: Vascular endothelial cells synthesize nitric oxide from L-Arginine, 333:664-666, 1988.
20. Ishii K, Gorsky LD, Forsternann U y Murad F: Endothelium-derived relaxing factor (EDRF): the endogenous activator of soluble guanylate cyclase in various types of cells. *J Appl Cardiol*, 4:505-512, 1989.
21. Meyer-Lehnert H, Caramelo C, Tsai P y Schrier RW: Interaction of atriopeptin III and vasopressin on calcium kinetics and contraction of aortic smooth muscle cells. *J Clin Invest*, 82:1407-1414, 1988.
22. Shultz P, Schorer AE y Raji L: Effects of endothelium-derived relaxing factor and nitric oxide on rat mesangial cells. *Am J Physiol*, 258:F162-167, 1990.
23. McCall T, Whittle BJR, Boughton-Smith NK y Moncada S: Inhibition of FMLP-induced aggregation of rabbit neutrophils by nitric oxide. *Br J Pharmacol*, 95:517P, 1988.
24. Radomski MW, Palmer RMJ y Moncada S: Comparative pharmacology of endothelium-derived relaxing factor, nitric oxide and prostacyclin in platelets. *Br J Pharmacol*, 92:187, 1987.
25. Cernadas MR, López-Farré A, Digiuni E, Espinosa G, Riesco A, Gallejo MJ, Casado S, Hernando L y Caramelo C: Renal and systemic effects of aminoacids administered separately: comparison between L-arginine and non nitric oxide donor aminoacids. *J Pharmacol Exp Ther* (en prensa), 1992.
26. Vallance P, Collier J y Moncada S: Effects of nitric oxide synthesized from L-arginine mediates endothelium-dependent dilatation in human veins. *Cardiovasc Res*, 23:1053-1057, 1989.
27. Toback FG: Aminoacid enhancement of renal regeneration after acute tubular necrosis. *Kidney Int*, 12:193-198, 1977.
28. Zager RA y Venkatachalam MA: Potentiation of ischemic renal injury by amino acid infusion. *Kidney Int*, 24:620-625, 1983.
29. Zager RA, Johannes G, Tuttle SE y Sharma MM: Acute aminoacid nephrotoxicity. *J Lab Clin Med*, 101:130-140, 1983.
30. Weinberg JM, Buchanan DN, Davis JA y Aberzua M: Metabolic aspects of protection by glycine against hypoxic injury to isolated proximal tubules. *J Am Soc Nephrol*, 1:949-958, 1991.
31. Weinberg JM, Davis JA, Aberzua M y Rajan T: Cytoprotective effects of glycine and glutathione against hypoxic injury to renal tubules. *J Clin Invest*, 80:1446-1454, 1987.
32. Conger JD, Robinette JB y Schrier RW: Smooth muscle calcium and endothelium-derived relaxing factor in the abnormal vascular responses of acute renal failure. *J Clin Invest*, 82:532-537, 1988.
33. Lieberthal W, Wolf EF y Renneke HG: Renal ischemia and reperfusion impaired endothelium-dependent vascular relaxation. *Am J Physiol*, 256:F894-F900, 1989.
34. Heim KF, Thomas G y Ramwell PW: Effect of substituted arginine compounds on superoxide production in the rabbit aorta. *J Pharmacol Exp Ther*, 257:1130-1135, 1991.
35. Beckman JS, Beckman TW, Chen J, Marshall PA y Freeman BA: Apparent hydroxyl radical production by peroxynitrite implications for endothelial injury from nitric oxide and superoxide. *Proc Natl Acad Sci*, 87:1620-1624, 1990.