



UNIVERSIDAD MICHUACANA DE SAN NICOLÁS DE HIDALGO

**FACULTAD DE
QUÍMICO FARMACOBIOLOGÍA**

**EFFECTO DE LA HIPERGLUCEMIA SOBRE LA PRESIÓN
DE PERFUSIÓN RENAL**

TESIS

**PARA OBTENER EL TÍTULO DE
QUÍMICO FARMACOBIOLOGO**

**PRESENTA:
JUAN CARLOS CRUZ MEDINA**

**DIRECTORES:
D.C. DANIEL GODÍNEZ HERNÁNDEZ
D.C. ROSALÍO MERCADO CAMARGO**

MORELIA, MICHUACÁN, MARZO DE 2010.

ÍNDICE GENERAL

Índice general	i
I. Introducción	1
1. Función renal	1
1.1. Regulación del volumen del líquido extracelular y de la presión arterial	1
1.2. Regulación de la osmolaridad	1
1.3. Mantenimiento del equilibrio iónico.....	2
1.4. Regulación homeostática del pH	2
1.5. Excreción de desechos	2
1.6. Producción de hormonas.....	2
2. La nefrona: unidad funcional del riñón.....	3
2.1. Elementos vasculares del riñón.....	4
2.2. Elementos tubulares del riñón	5
2.3. Filtración	6
2.3.1. El corpúsculo renal tiene tres barreras de filtración.....	6
2.3.2. Filtrado glomerular.....	7
3. Regulación del flujo sanguíneo renal y del flujo plasmático renal.	8
3.1. Las arteriolas aferentes y eferentes responden a cambios de la presión de perfusión.	9
3.2. Autorregulación.	9

3.3 El sitio principal de influencia de la resistencia vascular en la autorregulación es la arteriola aferente	10
4. Hiperglucemia.....	10
5. Hiperglucemia y diabetes	12
6. Patogénesis de la diabetes	14
7. Control homeostático del metabolismo.....	15
7.1. Secreción pancreática de insulina y glucagón.....	15
7.2. Relación insulina- glucagón.....	16
7.3. Insulina hormona dominante en estado postprandial	17
7.3.1. Aumento de la concentración de glucosa.....	17
7.3.2. Aumento de la concentración de aminoácidos.	17
7.3.3. Efectos por prealimentación de las hormonas gastrointestinales ...	17
7.3.4 Actividad parasimpática.....	18
7.3.5. Actividad simpática.....	18
7.4. Insulina promueve el anabolismo	18
7.4.1. La insulina aumenta el transporte de glucosa en la mayoría de las células sensibles a la insulina	19
7.4.2 La insulina aumenta la utilización celular y el almacenamiento de glucosa.....	20
7.4.3. La insulina aumenta la utilización de aminoácidos	20
7.4.4 La insulina promueve la síntesis de grasas	21
7.5. El glucagón predomina en el ayuno	21
7.6. Secreción de insulina	22
7.7. Captación muscular de glucosa.....	23

7.8. Metabolismo de glucosa.....	23
8. Hiperglucemia postprandial	24
9. Mecanismo de la hiperglucemia en el daño vascular	26
II. Justificación	29
III. Hipótesis	30
IV. Objetivo general	30
V. Objetivos particulares	30
VI. Materiales y métodos.....	31
1. Animales	31
2. Preparación de soluciones.....	31
3. Preparación y calibración del equipo de perfusión (tipo Langendorff) ...	31
4. Preparación de los animales y extracción del riñón	32
5. Curvas concentración respuesta a la glucosa y a la fenilefrina	33
6. Análisis estadístico	33
VII. Resultados	34
1. Efecto de la glucosa sobre la presión de perfusión renal	34
2. Efecto del manitol sobre la presión de perfusión renal	35

3. Curva concentración respuesta a la fenilefrina en presencia de glucosa	36
4. Curva concentración respuesta a la fenilefrina en presencia de manitol	37
VIII. Discusión	38
IX. Conclusión	42
X. Referencias	43

I. INTRODUCCIÓN

1. FUNCIÓN RENAL

La función más importante del riñón es la regulación homeostática del contenido de agua y de iones de la sangre, también llamada equilibrio hidrosalino o equilibrio hidroelectrolítico. La eliminación de los desechos orgánicos es importante, pero las alteraciones del volumen de la sangre o de los niveles iónicos pueden causar problemas graves antes de que la acumulación de desechos metabólicos alcance niveles tóxicos (Silverthorn *et al.*, 2007).

Los riñones mantienen las concentraciones sanguíneas de iones en niveles normales a través del equilibrio entre la captación de estas sustancias y la excreción urinaria, de acuerdo con el principio de equilibrio de masas. La función renal se puede dividir en seis áreas generales:

1.1. Regulación del volumen del líquido extracelular y de la presión arterial

Cuando el volumen del líquido extracelular (LEC) disminuye, la presión arterial también se reduce. Si ambos disminuyen demasiado, el organismo no puede mantener un flujo sanguíneo adecuado para irrigar el cerebro y otros órganos esenciales. Los riñones trabajan en conjunto con el aparato cardiovascular para lograr que la presión arterial y la perfusión tisular se mantenga dentro de valores aceptables (Silverthorn *et al.*, 2007).

1.2. Regulación de la osmolaridad

El cuerpo integra el funcionamiento renal con ciertos comportamientos, como la sed, para mantener la osmolaridad de la sangre en un valor cercano a 290 mOsm (Silverthorn *et al.*, 2007).

1.3. Mantenimiento del equilibrio iónico

Los riñones mantienen las concentraciones de los iones fundamentales dentro de un rango normal al equilibrar la captación de la ingesta y la eliminación urinaria. El sodio (Na^+) es el principal ion que participa en la regulación del volumen del líquido extracelular y la osmolaridad. Las concentraciones de potasio (K^+) y de calcio (Ca^{2+}) también se regulan en forma estricta (Silverthorn *et al.*, 2007).

1.4. Regulación homeostática del pH

En condiciones normales el pH del plasma se mantiene dentro de un rango estrecho. Si el líquido extracelular se torna demasiado ácido, los riñones eliminan H^+ y retienen iones bicarbonato (HCO_3^-), que actúa como amortiguador o buffer del pH. Por lo contrario, cuando el líquido extracelular se torna muy alcalino, los riñones eliminan HCO_3^- y retienen H^+ . Estos órganos desempeñan un papel fundamental en la homeostasis del pH, pero no corrigen las alteraciones de manera tan rápida como lo hacen los pulmones (Silverthorn *et al.*, 2007).

1.5. Excreción de desechos

Los riñones eliminan los productos metabólicos de desecho y las toxinas ambientales. Los desechos metabólicos incluyen la creatinina proveniente del metabolismo muscular, la urea y el ácido úrico que son desechos nitrogenados (Silverthorn *et al.*, 2007).

1.6. Producción de hormonas

Aunque los riñones no son glándulas endocrinas, desempeñan un papel fundamental en tres procesos endocrinos. Las células renales sintetizan eritropoyetina, la hormona citocina que regula la síntesis de glóbulos rojos y liberan renina, una enzima que regula la producción de hormonas que

participan en la homeostasis de la presión arterial y en el equilibrio de sodio. Las enzimas renales ayudan a convertir la vitamina D₃ en una hormona que regula el equilibrio del Ca²⁺ (Silverthorn *et al.*, 2007).

Los riñones son el sitio donde se forma la orina. Se encuentran a cada lado de la columna vertebral, a nivel de las costillas undécima y duodécima, justo por encima de la cintura. Aunque se localizan por debajo del diafragma, técnicamente están fuera de la cavidad abdominal, encerrados entre el peritoneo que recubre el abdomen y los huesos y músculos de la región dorsal (Silverthorn *et al.*, 2007).

La superficie cóncava de cada riñón se orienta hacia la columna vertebral. Los vasos sanguíneos, los nervios, los linfáticos renales y los uréteres emergen de esta cara del riñón. Las arterias renales, que son ramas de la aorta abdominal, irrigan a los riñones. Las venas renales llevan la sangre desde los riñones hasta la vena cava inferior. En todo momento los riñones reciben 20-25% del volumen minuto cardíaco, aún cuando constituyen solo el 0.4% del peso corporal total (127-170 g, cada uno). Esta tasa de flujo sanguíneo elevada es fundamental para la función renal.

2. LA NEFRONA: UNIDAD FUNCIONAL DEL RIÑÓN

La sección transversal del riñón muestra que su interior está dispuesto en dos capas: una externa, la corteza y otra interna, la médula. Estas capas están compuestas por una disposición organizada de túbulos microscópicos denominados nefronas. Alrededor del 80% de ellas se encuentran casi en su totalidad dentro de la corteza (nefronas corticales), pero el 20% restante (las nefronas yuxtamedulares) penetran en la médula (Silverthorn *et al.*, 2007).

La nefrona es la unidad funcional del riñón. Cada uno de los millones de nefronas que hay en un riñón se divide en secciones y cada sección está estrechamente asociada con vasos sanguíneos especializados (Figura 1; Silverthorn *et al.*, 2007).

2.1. Elementos vasculares del riñón

La sangre ingresa al riñón a través de la arteria renal, antes de circular por las pequeñas arterias y luego por las arterias de la corteza. Aquí los vasos se convierten en un sistema porta, uno de los tres que existen en el cuerpo. La sangre circula desde la arteriola aferente hacia el interior de una red de capilares con forma de ovillo conocida como glomérulo. La sangre que sale del glomérulo ingresa a la arteriola eferente y luego a un conjunto de capilares peritubulares que rodean a los túbulos. En las nefronas yuxtamedulares, los largos capilares peritubulares que llegan hasta el interior de la médula se denominan vasos rectos. Los capilares renales se unen para formar las vénulas y las venas de pequeño calibre, que transportan la sangre hasta la vena renal para que abandone el riñón (Figura 1).

La función del sistema porta renal es primero filtrar el líquido que pasa de la sangre a la luz de las nefronas a nivel de los capilares glomerulares y luego reabsorberlo desde el túbulo hacia la sangre en los capilares peritubulares. Las fuerzas que participan en el movimiento de los líquidos dentro del sistema porta renal son similares a las que regulan la filtración del agua y de las moléculas fuera de los capilares sistémicos en otros tejidos (Silverthorn *et al.*, 2007).

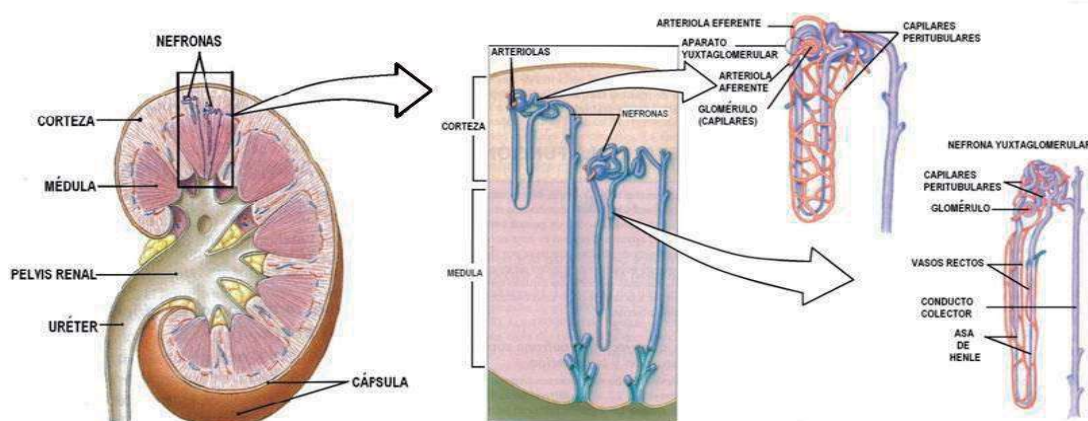


Figura 1. Representación del riñón y de la nefrona. En la sección transversal se observa que el riñón se divide en una corteza (externa) y una médula (interna). La orina que sale de la nefrona circula por la pelvis renal antes de pasar por el uréter hacia la vejiga. Modificada de Silverthorn *et al.*, 2007.

2.2. Elementos tubulares del riñón

La nefrona comienza con una estructura hueca, con forma de balón, llamada capsula de Bowman, que rodea al glomérulo. El endotelio del glomérulo se fusiona con la de la capsula de Bowman, de manera tal que el líquido se filtra directamente de los capilares a la luz del túbulo. La combinación de la capsula de Bowman con el glomérulo se denomina corpúsculo renal.

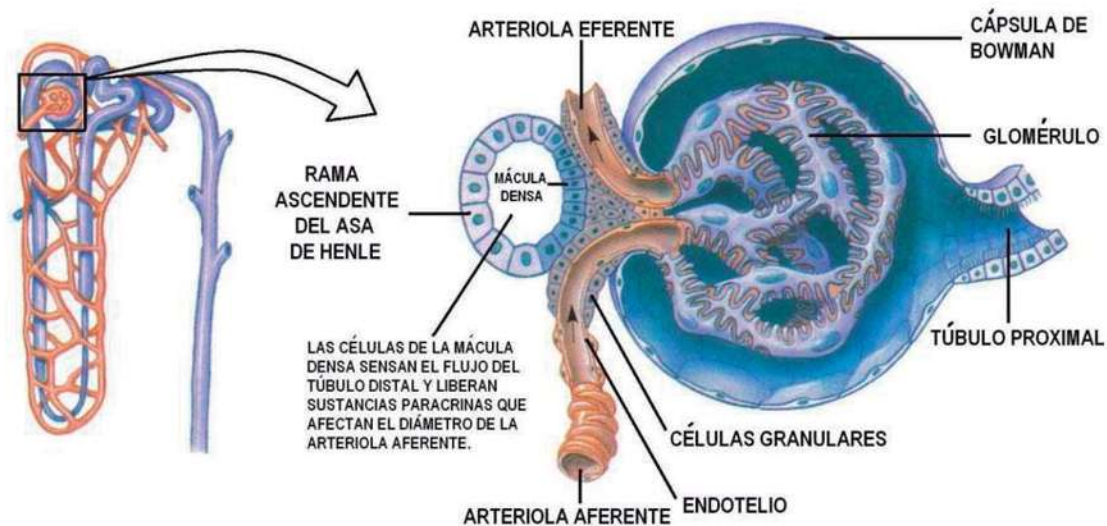


Figura 2. Representación del aparato yuxtaglomerular. La proximidad de la rama ascendente del asa de Henle y de las arteriolas permite una comunicación paracrina entre las dos estructuras. Modificada de Silverthorn *et al.*, 2007.

Desde la capsula de Bowman, el líquido filtrado fluye hacia el túbulo proximal, luego hacia el asa de Henle, un segmento con forma de horquilla que llega en profundidad hasta la médula renal y luego retorna a la corteza. El asa de Henle se divide en dos ramas, una rama descendente, delgada y una rama ascendente que tiene un segmento grueso y otro delgado. Luego, el líquido pasa por el túbulo distal. Los túbulos distales de hasta de ocho nefronas drenan en un único conducto llamado túbulo colector (en conjunto, el túbulo distal y el túbulo colector forman la nefrona distal). Los túbulos distales pasan desde la corteza a través de la médula y drenan en la pelvis renal. Desde ésta, el líquido filtrado y modificado, ahora llamado orina, pasa al uréter para su excreción. La

nefrona se retuerce y se pliega sobre si misma de tal manera que la parte final de la rama ascendente del asa de Henle pasa entre las arteriolas aferente y eferente. Esta región se conoce como aparato yuxtaglomerular. La proximidad de la rama ascendente y de las arteriolas permite una comunicación paracrina entre las dos estructuras, una característica fundamental de la autorregulación del riñón (Figura 2; Silverthorn *et al.*, 2007).

2.3. Filtración

La filtración del plasma hacia el interior del túbulo renal es la primera etapa de la formación de orina. Este proceso, relativamente inespecífico, genera un filtrado cuya composición es similar a la del plasma pero sin la mayoría de las proteínas plasmáticas.

2.3.1. El corpúsculo renal tiene tres barreras de filtración

La filtración se lleva a cabo en el corpúsculo renal, que está formado por los capilares glomerulares rodeados por la cápsula de Bowman. Las sustancias que salen del plasma deben pasar a través de tres barreras de filtración antes de entrar a la luz tubular: el endotelio del capilar glomerular, la lámina basal (membrana basal) y el epitelio de la capsula de Bowman.

La primera barrera es el endotelio capilar. Los capilares glomerulares son capilares fenestrados con poros grandes, que permiten que la mayoría de los componentes del plasma se filtren a través del endotelio, pero lo suficientemente pequeños como para evitar que las células sanguíneas salgan del capilar. Además, las proteínas con carga negativa que se encuentran sobre la superficie del poro ayudan a repeler a las proteínas plasmáticas que también tienen carga negativa.

Las células mesangiales glomerulares se encuentran entre los capilares del glomérulo y a su alrededor. Estas células tienen proyecciones citoplasmáticas de filamentos similares a la actina que les permiten contraerse y modificar el flujo sanguíneo a través de los capilares. Además, las células

mesangiales secretan citocinas que participan en procesos inmunitarios e inflamatorios. Las alteraciones de la función de estas células producen muchos procesos patológicos que afectan al riñón.

La segunda barrera de filtración es una capa acelular de matriz extracelular denominada lámina basal, que separa el endotelio capilar del epitelio que recubre la capsula de Bowman. Esta lámina está formada por glicoproteínas con carga negativa y una sustancia similar al colágeno que actúa como un tamiz grueso que separa la mayoría de las proteínas plasmáticas del líquido que se filtra.

La tercera barrera de filtración es el epitelio de la cápsula de Bowman. La porción de epitelio capsular que rodea a cada capilar glomerular está formada por células especializadas llamadas podocitos. Estas células tienen extensiones citoplasmáticas largas denominadas pedicelos que nacen en el cuerpo principal de la célula. Estas prolongaciones envuelven a los capilares glomerulares y se entrelazan unos con otros, dejando unas estrechas hendiduras de filtración cerradas por una membrana. Los podocitos, como las células mesangiales, contienen fibras contráctiles que están conectadas con la lámina basal por medio de integrinas.

2.3.2. Filtrado glomerular

El flujo sanguíneo renal (FSR) representa el volumen de sangre que fluye a través del sistema vascular renal por unidad de tiempo; el flujo plasmático renal (FPR) representa el mismo concepto, pero sólo se refiere al flujo del plasma. El filtrado glomerular (FG o VFG) es la suma del filtrado que realizan cada una de las nefronas funcionales, por lo que es el índice más cercano a la evaluación global del funcionamiento renal. Los glomérulos son las estructuras encargadas de la producción de un ultrafiltrado del plasma (plasma libre de proteínas) y adquieren esa propiedad en la vida fetal (Dvorkin y Cardinali, 2005).

El filtrado glomerular es de 125 mL/min o 180 L/día; el coeficiente entre el filtrado glomerular y el flujo sanguíneo renal se denomina fracción de

filtración (FF) y expresa el porcentaje del flujo plasmático renal que se filtra hacia el espacio de Bowman (alrededor de un 20%). El ultrafiltrado se rige por las llamadas “fuerzas de Starling” y se mantiene dentro de un rango estrecho gracias a la autorregulación renal (Dvorkin y Cardinali, 2005).

La composición del filtrado glomerular está determinada por la barrera de filtración glomerular (BFG) que, a su vez, está compuesta por el endotelio del capilar glomerular, la membrana basal y las hendiduras que dejan los podocitos. La presión hidrostática del capilar glomerular (PG) promueve el movimiento de los líquidos desde estos hacia el espacio de Bowman (EB). Debido a que el ultrafiltrado es un líquido libre de proteínas, la presión oncótica en el EB es cercana a cero; es decir que la PG es la única fuerza a favor de la filtración, mientras que la presión oncótica del capilar glomerular (πG) y la presión hidrostática del espacio de Bowman (PB) van en sentido contrario. La PG no sólo es determinante importante de la presión de filtración, sino que sirve de fuerza impulsora para el FG a través del PG y del resto de la nefrona (Dvorkin y Cardinali, 2005).

3. REGULACIÓN DEL FLUJO SANGUÍNEO RENAL Y DEL FLUJO PLASMÁTICO RENAL

Los riñones son órganos metabólicamente activos, pero el gran requerimiento sanguíneo no es, en primer término, para la oxigenación tisular, sino para mantener un nivel adecuado de filtrado glomerular. El flujo sanguíneo renal está determinado por la deficiencia de presión arteriovenosa a través del lecho vascular (presión de perfusión) y por la resistencia vascular. La presión en la arteria renal es, en esencia, la misma que en las arterias sistémicas y promedian los 100 mmHg. La gran caída de presión que se produce en las arteriolas aferentes y eferentes identifica estos vasos como los sitios principales de resistencia vascular renal. Los cambios en los diámetros de estos vasos constituyen el mecanismo primario de ajuste de la resistencia vascular renal y son el determinante principal del flujo sanguíneo renal y en consecuencia del filtrado glomerular (Dvorkin y Cardinali, 2005).

3.1. Las arteriolas aferentes y eferentes responden a cambios de la presión de perfusión

En la mayoría de los casos, el tono vascular de ambas arteriolas se regula para asegurar una presión de filtración adecuada. Un aumento en la presión sistémica podría dañar las paredes delicadas de los capilares glomerulares o incrementar en exceso el flujo sanguíneo y en consecuencia, el nivel de filtrado glomerular. Para prevenirlo, la arteriola aferente se contrae y modula así la presión y el flujo sanguíneo de los capilares. Contrariamente, si la presión sistémica cae, la arteriola aferente se dilata para permitir un flujo sanguíneo adecuado a los capilares glomerulares; también se contrae en respuesta a la hipotensión, lo que ayuda a mantener una presión apropiada en el lecho vascular (Dvorkin y Cardinali, 2005).

Los cambios en la presión arterial producirían grandes efectos en la presión de perfusión renal y en el filtrado glomerular si no fuera por la autorregulación; esta se lleva a cabo, en primer término, por la regulación fina en las resistencias de ambos lechos arteriolares. El 90% del flujo sanguíneo renal está destinado a la corteza renal y el 10% restante perfunde la médula, debido a que ésta posee una resistencia superior (en los llamados vasos rectos) y nos explica la mayor susceptibilidad medular a la hipoxia (Dvorkin y Cardinali, 2005).

3.2. Autorregulación

El mantenimiento de la cantidad y la composición normal de los líquidos corporales por los riñones es un proceso continuo, llevado a cabo con mayor eficiencia si el flujo plasmático renal y el filtrado glomerular permanecen relativamente constantes. La capacidad para mantener un flujo constante a pesar de los cambios en la presión arterial se conoce como autorregulación y se produce también en otros tejidos, como el corazón y el cerebro, aunque con la expresión máxima en el nivel del lecho vascular renal. Esto permite que entre los rangos de presión, donde el flujo puede autorregularse, la fracción de filtración también parezca relativamente constante (Dvorkin y Cardinali, 2005).

3.3. El sitio principal de influencia de la resistencia vascular en la autorregulación es la arteriola aferente

La autorregulación es intrínseca al parénquima renal y puede mantenerse aún en riñones trasplantados, desnervados o en preparaciones aisladas y perfundidas. En relación con los mecanismos que subyacen a la autorregulación, la evidencia actual favorece al llamado mecanismo miogénico, una propiedad intrínseca del músculo liso vascular. Esta propiedad permite la contracción del músculo cuando se estira, es decir, en respuesta a un aumento de la tensión parietal (en general debido a aumentos en la presión arterial). Se sugirió que el estiramiento abriría canales de calcio para que este ion ingrese a la célula y permitir la contracción. El radio de la arteriola aferente disminuiría entonces, debido a la contracción, en respuesta a aumentos de la presión de perfusión (Dvorkin y Cardinali, 2005).

Un mecanismo alternativo es la retroalimentación tubuloglomerular que involucra un mecanismo de retroalimentación a través del que puede censarse el flujo del líquido tubular (o algún componente de él, como el nivel de reabsorción de NaCl) e influir en la resistencia de la arteriola. El censor se ubica en la mácula densa del aparato yuxtaglomerular (AYG) y traduce el estímulo en señal, para afectar tanto la resistencia de la arteriola aferente como el filtrado glomerular. Cuando el filtrado glomerular aumenta el flujo a la mácula densa, el AYG envía una señal, causa vasoconstricción y retorna el flujo sanguíneo renal y el filtrado glomerular a valores normales. En contrapartida cuando el filtrado glomerular y el flujo sanguíneo renal decrecen, la mácula densa envía una señal que provoca un aumento tanto del filtrado glomerular como del flujo sanguíneo renal (Dvorkin y Cardinali., 2005).

4. HIPERGLUCEMIA

La hiperglucemia es la elevación de la concentración de glucosa sanguínea alcanzando niveles por encima de los normales. La hiperglucemia es la característica principal de la diabetes mellitus y puede aparecer en neonatos como consecuencia de la administración de glucocorticoides, en

pacientes que recibieron suero glucosado en cantidades excesivas y posterior a la ingesta de alimentos (postprandial). Esta condición está asociada a las tasas de mayor mortalidad y morbilidad entre los adultos no diabéticos ingresados para el tratamiento de infarto al miocardio (Capes *et al.*, 2000; Stephane *et al.*, 2006), derrame cerebral (Capes *et al.*, 2001; Stephane *et al.*, 2006) o traumas (Laird *et al.*, 2004; Bichicchio *et al.*, 2005; Stephane *et al.*, 2006).

Por otra parte, una comparación histórica (Krinsley, 2004; Stephane *et al.*, 2006) y un ensayo aleatorizado (Van den Berghe *et al.*, 2001; Stephane *et al.*, 2006) llevados a cabo con adultos mostraron efectos benéficos de la terapia con insulina y las concentraciones de glucosa en sangre sobre las tasas de mortalidad y morbilidad. Varios estudios indicaron que la hiperglucemia es un factor de riesgo de muerte en adultos y niños (Bochicchio *et al.*, 2005; Srinivasan *et al.*, 2004; Stephane *et al.*, 2006). Además, Ertl y colaboradores (2006) informaron de un aumento en la prevalencia de retinopatía prematura en la hiperglucemia (concentraciones de glucosa en sangre 155 mg/dL) en niños con peso bajo al nacer.

Numerosos estudios han reportado una alta prevalencia de la hiperglucemia en niños de peso extremadamente bajo al nacer (EBPN; Lilien *et al.*, 1979; Dweek y Cassaday, 1974; Stephane *et al.*, 2006), en particular, durante la primera semana de vida. La hiperglucemia se relaciona indirectamente con el peso al nacer. Louik y colaboradores (1985) reportaron una prevalencia de hiperglucemia, 18 veces mayor, en recién nacidos con peso menor de 1 Kg, en comparación con niños de peso mayor a 2 Kg. Por otro lado, la edad gestacional se relaciona directamente con alguna enfermedad (por ejemplo, septicemia), con el tratamiento con corticoesteroides y las infusiones de glucosa por vía intravenosa administrada en tasas superiores a las tasas de rotación normal de glucosa en lactantes (6 mg/kg/min; Lilien *et al.*, 1979; Louik *et al.*, 1985; Dweek y Cassady, 1974; Star *et al.*, 2001; Stephane *et al.*, 2006).

La hiperglucemia, en muchos pacientes enfermos, es un efecto del estrés y por lo tanto, consecuencia de un aumento en los niveles de catecolaminas, que se sabe que estimulan el metabolismo de la glucosa (Lilien

et al., 1979; Stephane *et al.*, 2006). En este sentido, muchos niños prematuros no son diferentes de los pacientes de más edad, en estado crítico. Sin embargo, la intolerancia a la glucosa observada en pacientes sanos y en bebés prematuros que reciben infusiones de glucosa está específicamente relacionada con la falta de madurez y podría ser el resultado de la insuficiencia absoluta o relativa de insulina, resistencia a la insulina hepática y periférica, la insuficiencia de la capacidad de respuesta a la insulina y/o a la glucosa (Meetze *et al.*, 1998; Kalham *et al.*, 1986; Stephane *et al.*, 2006) y la pequeña masa de tejido dependiente de insulina (principalmente músculo y grasa), (Gruenwald y Minh, 1960; Finberg, 1964; Stephane *et al.*, 2006).

La hiperglucemia se acompaña, con frecuencia, de la pérdida urinaria de glucosa y la diuresis osmótica, con riesgo de deshidratación (Lilien *et al.*, 1979; Louik *et al.*, 1985; Dweek y Cassady, 1974; Pildes, 1986; Stonestreet *et al.*, 1980; Stephane *et al.*, 2006). Además, la hiperglucemia conduce a hiperosmolaridad y cambios osmóticos, que aumentan el riesgo de derrame cerebral (Finberg, 1967; Stephane *et al.*, 2006). Sin embargo, los niños con EBPN se encuentran en riesgo de sangrado cerebral, especialmente durante la primera semana de vida, como resultado de los vasos sanguíneos inmaduros en la matriz germinal y de la falta de desarrollo de la autorregulación de la presión de la sangre cerebral (Vohr y Ment, 1996; Volpe, 1997; Stephane *et al.*, 2006). Debido a que el cerebro es el principal consumidor de glucosa, que representa el 90% de utilización de la glucosa en los recién nacidos, una hemorragia cerebral de gran tamaño perturba el metabolismo del cerebro y reduce el consumo de glucosa, que conduce a una hiperglucemia. Por lo tanto, la hemorragia cerebral puede ser la causa o la consecuencia de la hiperglucemia (Bier *et al.*, 1977; Stephane *et al.*, 2006).

5. HIPERGLUCEMIA Y DIABETES

La diabetes mellitus es una enfermedad sistémica que afecta al riñón, entre otros órganos. La complicación clásica final de la fase, la nefropatía diabética, es la causa más común de insuficiencia renal que requiere un trasplante o diálisis en los Estados Unidos (Eggers, 1988; Terry y Raj, 1993).

La hiperglucemia es un factor etiológico importante en el desarrollo de la diabetes y está causada por un defecto en la secreción de insulina (como en la diabetes mellitus tipo I) o por la resistencia a la insulina (diabetes mellitus tipo II). La hipertrofia renal y una elevada filtración glomerular se producen durante la fase temprana de la diabetes (Morgense y Andersen, 1973; Terry y Raj, 1993). Durante la primera semana de la diabetes inducida por estreptozotocina, en las ratas, la tasa de crecimiento renal se encuentra estrechamente relacionada con el grado de hiperglucemia (Seyer-Hansen, 1977; Terry y Raj, 1993).

El mecanismo de la hipertrofia renal no está bien definido. Una hipótesis es que la hipertrofia del riñón está relacionada con el aumento de la velocidad de filtración glomerular (Tuttle *et al.*, 1991; Terry y Raj, 1993). Sin embargo, esta hipótesis fue cuestionada en un estudio, donde se observó que la terapia de la insulina subsanó parcialmente la hiperfiltración glomerular, sin afectar el volumen del riñón, en 8 días de tratamiento (Tuttle *et al.*, 1991; Terry y Raj, 1993). Además, se ha demostrado que no todos los sujetos no diabéticos con hipertrofia renal presentan hiperfiltración glomerular (Tuttle *et al.*, 1991; Terry y Raj, 1993).

La hiperglucemia inducida por alteraciones en los cationes intracelulares puede desempeñar una participación en la hipertrofia renal y en la diabetes-hipertensión. Se ha demostrado en los riñones aislados de rata (Ross *et al.*, 1973; Terry y Raj, 1993), así como en túbulos proximales aislados de ratas (Weinman *et al.*, 1975; Terry y Raj, 1993) que el Na^+ y la glucosa son cotransportados. Se encontró un aumento en la concentración intracelular de Na^+ en los túbulos proximales de rata normal con la exposición a glucosa (25 mM) y se propuso que este aumento se debió a una mayor carga en la filtración que estimula la entrada de glucosa y Na^+ a las células renales (Kumar *et al.*, 1988; Terry y Raj, 1993). En este estudio se sugiere que el Na^+ puede estar implicado en la hipertrofia renal y un aumento de Na^+ también se ha observado en la proliferación de células malignas (Liehling y Gupta 1987; Terry y Raj, 1993) y en respuesta a estimuladores del crecimiento (Koch y Leffert, 1979; Terry and Raj, 1993). El hecho de que el gradiente intracelular de Na^+ disminuya durante la hiperglucemia, llevó a considerar posible que el Ca^{+2}

intracelular aumentaría como uno de los mecanismos celulares para mantener bajo el Ca^{2+} intracelular en muchos tejidos es mediado por el intercambiador $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$, que emplea en el gradiente de Na^+ . Un aumento de Ca^{2+} intracelular sólo o en sinergismo con el diacilglicerol, en presencia de fosfolípidos, puede activar la proteína cinasa C (Nishizuka, 1986; Terry y Raj, 1993), que participa en la transducción de señales extracelulares recibidas de los factores y hormonas de crecimiento (Berridge, 1986; Terry y Raj, 1993). Se conoce que los niveles altos de glucosa activan a la proteína cinasa C en cultivos de células mesangiales (Ayo *et al.*, 1991; Terry y Raj, 1993) lo que sugiere que Ca^{2+} intracelular puede aumentar durante la hiperglucemia.

La hiperglucemia también puede producir alteraciones en el pH intracelular al aumentar el Na^+ intracelular (Kumar *et al.*, 1988; Terry y Raj, 1993) y el cotransportador Na^+/H^+ está íntimamente involucrado en la regulación del pH interno. Se ha investigado el efecto de la hiperglucemia sobre el pH y sobre el Na^+ intracelular, independiente de las concentraciones de Ca^{2+} y de Mg^{2+} en la perfusión del riñón, un órgano blanco de la diabetes, utilizando Na^+ (Bodenhausen *et al.*, 1977; Terry y Raj, 1993).

6. PATOGÉNESIS DE LA DIABETES

La diabetes mellitus se caracteriza por presentar concentraciones plasmáticas de glucosa anormalmente elevadas (*hiperglucemia*) como resultado de una deficiencia de insulina o por una reactividad anormal de las células en los tejidos blanco. La hiperglucemia crónica y sus anomalías metabólicas asociadas producen las complicaciones de la diabetes, que incluyen el daño de los vasos sanguíneos, los ojos, los riñones y el sistema nervioso.

La diabetes mellitus tipo I es un trastorno que cursa con deficiencia de la insulina como resultado de la destrucción de las células β . La diabetes tipo I es más comúnmente una enfermedad autoinmune, en la cual el cuerpo no reconoce las células β como propias y las destruye con anticuerpos y leucocitos.

La diabetes mellitus tipo II se conoce también como diabetes insulinoresistente porque, en la mayoría de los pacientes, los niveles de insulina en la sangre son normales o incluso están elevados. La mayoría de los pacientes diabéticos tipo II cursan por deficiencia de insulina y requieren de inyecciones de la misma (Silverthorn *et al.*, 2007).

La fisiopatología de la intolerancia a la glucosa en la diabetes es compleja e involucra tanto factores genéticos como adquiridos (DeFronzo, 1988; DeFronzo, 1997; Bays *et al.*, 2003). Entre los factores adquiridos, el aumento de peso (DeFronzo, 1988; Kelley, 1995; Bays *et al.*, 2003) y la inactividad física (DeFronzo, 1988; DeFronzo, 1997; Schneider y Morgado, 1995; Bays *et al.*, 2003) son de importancia primordial. En la diabetes, los individuos en ayunas con hiperglucemia, presentan el siguiente tríada: 1) alteración en la secreción de insulina por el células β del páncreas, 2) resistencia a la insulina en el músculo y 3) resistencia hepática a la insulina. Esta tríada desempeña una participación central en el desarrollo y en la progresión de la intolerancia a la glucosa (DeFronzo, 1988; DeFronzo, 1997; Bays *et al.*, 2003).

7. CONTROL HOMEOSTÁTICO DEL METABOLISMO

El sistema endocrino tiene la responsabilidad principal de la regulación metabólica, aunque el sistema nervioso tiene cierta influencia, sobre todo en lo que respecta a dirigir el apetito. La regulación, de momento a momento, depende fundamentalmente de la relación entre la insulina y el glucagón, dos hormonas secretadas por las células endocrinas del páncreas. Ambas hormonas tienen vidas medias o semividas cortas y deben ser secretadas continuamente para que muestren un efecto sostenido (Silverthorn *et al.*, 2007).

7.1. Secreción pancreática de insulina y glucagón

Las células endocrinas del páncreas constituyen menos del 2% de la masa total del órgano; la mayor parte del tejido pancreático está dedicado a la producción y la secreción exocrina de enzimas digestivas y bicarbonato. En 1869, el anatomista alemán Paul Langerhans describió pequeños grupos de células, conocidas ahora como islotes de Langerhans, dispersas en todo el

cuerpo del páncreas. Los islotes contienen cuatro tipos celulares distintos, cada uno asociado con la secreción de una o más hormonas peptídicas (Silverthorn *et al.*, 2007).

Casi el 75% de las células de los islotes son células β , que producen insulina y un péptido llamado amilina. El otro 20% son células α , que secretan glucagón. La mayoría de las células restantes son células D, que secretan somatostatina. Algunas células raras llamadas células PP (o células F) producen el polipéptido pancreático. Al igual que todas las glándulas endocrinas, los islotes están estrechamente asociados con capilares en los cuales se liberan las hormonas. Tanto las neuronas simpáticas como las parasimpáticas terminan en los islotes, lo que proporciona un medio por el cual el sistema nervioso puede influir en el metabolismo (Silverthorn *et al.*, 2007).

7.2. Relación insulina-glucagón

La insulina y el glucagón actúan de una forma antagónica para mantener las concentraciones plasmáticas de glucosa dentro de un intervalo aceptable. Ambas hormonas están presentes en la sangre la mayor parte del tiempo. Sin embargo, es la relación entre las dos hormonas la que determina cual es el efecto que predomina (Silverthorn *et al.*, 2007).

En la alimentación, cuando el cuerpo está absorbiendo los nutrientes, domina la insulina y el cuerpo realiza un anabolismo neto. La glucosa ingerida es utilizada para la producción de energía y el exceso de glucosa es almacenado como glucógeno o grasas. Las proteínas se digieren para emplearse fundamentalmente en la síntesis de proteínas nuevas (Silverthorn *et al.*, 2007).

En el ayuno, la regulación metabólica evita que se produzcan concentraciones bajas de glucosa plasmáticas (hipoglucemia). Cuando predomina el glucagón, el hígado utiliza glucógeno e intermediarios distintos de la glucosa para sintetizar la glucosa que se libera en la sangre (Silverthorn *et al.*, 2007).

En un individuo normal, la glucosa plasmática en ayunas se mantiene alrededor de 90 mg/dL. Después de la absorción de los nutrientes de una comida, la glucemia se eleva. El aumento de la glucosa estimula la liberación de insulina la cual, a su vez, promueve la entrada de glucosa a las células. Las

concentraciones plasmáticas de glucosa retornan al nivel del ayuno, poco después de cada comida. Durante un ayuno de toda la noche, las concentraciones plasmáticas de glucosa disminuyen hasta los niveles más bajos y la secreción de insulina también disminuye. La secreción de glucagón se mantiene relativamente constante durante el periodo de 24 horas, lo que apoya la teoría de que es la relación entre la insulina y el glucagón lo que determina la dirección del metabolismo (Figura 3; Silverthorn *et al.*, 2007).

7.3. Insulina hormona dominante en estado postprandial

La insulina es una hormona peptídica típica, se sintetiza como una prohormona inactiva y es activada antes de la secreción. La glucosa es un estímulo importante para la secreción de insulina, pero los siguientes factores pueden estimular, amplificar o inhibir la secreción:

7.3.1. Aumento de la concentración de glucosa

Un estímulo importante para la liberación de insulina es una concentración plasmática de glucosa mayor de 100 mg/dL. La glucosa absorbida desde el intestino delgado alcanza las células β del páncreas, donde es captada por los transportadores GLUT2. Con más glucosa disponible como sustrato, la producción de ATP aumenta y los canales de K^+ regulados por ATP se cierran. La célula se despolariza, los canales de Ca^{2+} regulados por voltaje se abren y entra Ca^{2+} e inicia la exocitosis de insulina (Silverthorn *et al.*, 2007).

7.3.2. Aumento de la concentración de aminoácidos

El aumento de la concentración plasmática de aminoácidos luego de una comida también desencadena la secreción de insulina (Silverthorn *et al.*, 2007).

7.3.3. Efectos por prealimentación de las hormonas gastrointestinales

Se ha mostrado que hasta el 50% de la secreción de insulina es estimulada por la hormona péptido 1 semejante al glucagón (GLP-1). El GLP-1 y el péptido inhibitorio gástrico (GIP) son hormonas incretinas producidas por células del íleon y el yeyuno en respuesta a la ingestión de nutrientes. Las incretinas viajan a través de la circulación hasta las células β del páncreas y pueden llegar allí

aún antes de que se absorba la glucosa. La liberación anticipada de insulina en respuesta a estas hormonas impide una elevación súbita de las concentraciones plasmáticas de glucosa cuando absorbe la comida. Otras hormonas gastrointestinales, como la colecistocinina (CCK) y la gastrina, amplifican la secreción de secretina (Silverthorn *et al.*, 2007).

7.3.4. Actividad parasimpática

La actividad parasimpática en el aparato digestivo y el páncreas aumenta durante una comida y luego de ella. Las aferencias parasimpáticas que llegan a las células β estimulan la secreción de insulina (Silverthorn *et al.*, 2007).

7.3.5. Actividad simpática

La secreción de insulina es inhibida por las neuronas simpáticas. En periodos de estrés, aumentan las aferencias simpáticas que llegan al páncreas endocrino, lo cual se ve reforzado por la liberación de catecolaminas de la médula suprarrenal. La adrenalina y noradrenalina inhiben la secreción de insulina y cambian el metabolismo hacia la gluconeogénesis para proporcionar combustible extra para el sistema nervioso y el músculo esquelético (Silverthorn *et al.*, 2007).

7.4. Insulina promueve el anabolismo

La insulina se combina con un receptor de membrana en sus células diana, al igual que otras hormonas peptídicas. El receptor de insulina tiene actividad de tirosina cinasa, que inicia cascadas intracelulares complejas cuyos detalles no se conocen completamente. El receptor de insulina activado fosforila proteínas que incluyen un grupo conocido como los sustratos insulino-receptor (IRS). Estas proteínas actúan a través de vías complicadas sobre el transporte y el metabolismo celular. Las enzimas que regulan las vías metabólicas pueden ser inhibidas o activadas directamente o su síntesis puede estar influenciada, indirectamente, a través de factores de transcripción (Silverthorn *et al.*, 2007).

Los tejidos diana primarios para la insulina son el hígado, el tejido adiposo y el músculo esquelético. La respuesta habitual de la célula diana es un aumento del metabolismo de la glucosa. En algunos tejidos diana, la insulina también regula los transportadores GLUT. Otros tejidos, que incluyen el encéfalo y los epitelios transportadores del riñón y del intestino, no requieren insulina para la captación y metabolización de glucosa (Silverthorn *et al.*, 2007).

La insulina reduce la glucosa en plasma de las cuatro formas siguientes:

7.4.1. La insulina aumenta el transporte de glucosa en la mayoría de las células sensibles a la insulina

El tejido adiposo y el músculo esquelético, en reposo, requieren insulina para la captación de glucosa. Sin insulina, los transportadores GLUT4 son retirados de la membrana y almacenados en vesículas citoplasmáticas. Cuando la insulina se une al receptor y lo activa, la cascada de transducción de señales hace que las vesículas se muevan hacia la membrana celular e inserten los transportadores GLUT4 por exocitosis. Las células captan entonces la glucosa del líquido intersticial mediante difusión facilitada (Silverthorn *et al.*, 2007).

Curiosamente, el músculo esquelético, durante el ejercicio, no depende de la actividad de la insulina para captar glucosa. Cuando los músculos se contraen, los transportadores GLUT4 son insertados en la membrana incluso en ausencia de insulina y la captación de glucosa aumenta. La señal intracelular para ello no se conoce pero parece involucrar al Ca^{2+} y una disminución del fosfato inorgánico (p_i) (Silverthorn *et al.*, 2007).

El transporte de la glucosa en las células hepáticas (hepatocitos) no es directamente dependiente de insulina pero está influenciado por la presencia o ausencia de insulina. Los hepatocitos tienen transportadores GLUT2 que siempre están presentes en la membrana celular. En el estado posprandial la insulina activa una hexocinasa, enzima que fosforila la glucosa 6-fosfato. Esta reacción de fosforilación mantiene las concentraciones de glucosa intracelular libre bajas en relación con la concentración plasmática, de modo que la glucosa

difunde continuamente en el hepatocito sobre el transportador GLUT2 (Silverthon *et al.*, 2007).

En el ayuno, cuando las concentraciones de insulina son bajas, la glucosa sale del hígado hacia la sangre para ayudar a mantener la homeostasis de la glucosa. En este proceso, los hepatocitos convierten los depósitos de glucógeno y los aminoácidos en glucosa. La glucosa recién formada se mueve a favor de un gradiente de concentración, hacia afuera de la célula utilizando los mismos transportadores GLUT2 que operan en la dirección inversa. Si los transportadores GLUT fueran retirados de la membrana durante el ayuno, como ocurre en el músculo y el tejido adiposo, la glucosa no tendría ningún camino para salir del hepatocito (Silverthon *et al.*, 2007).

7.4.2. La insulina aumenta la utilización celular y el almacenamiento de glucosa

La insulina activa las enzimas para la utilización de glucosa (glucólisis) y para la síntesis de glucógeno y de grasa (gluconeogénesis y lipogénesis). La insulina inhibe simultáneamente las enzimas para la degradación de glucógeno (glucogenogenólisis), la síntesis de glucosa (gluconeogénesis) y la degradación de grasa (lipólisis) para asegurar que el metabolismo se mueva en la dirección anabólica. Si se ha ingerido más glucosa que la necesaria para obtener energía y en la síntesis, el exceso se transforma en glucógeno o ácidos grasos (Silverthon *et al.*, 2007).

7.4.3. La insulina aumenta la utilización de aminoácidos

La insulina activa las enzimas para la síntesis de proteínas e inhibe las enzimas que promueven la degradación de las mismas. Si una comida incluye aminoácidos, estos son utilizados para la síntesis de proteínas tanto por el hígado como por el músculo. El exceso de aminoácidos es convertido en ácidos grasos (Silverthon *et al.*, 2007).

7.4.4. La insulina promueve la síntesis de grasas

La insulina inhibe la β -oxidación de los ácidos grasos y promueve la conversión del exceso de glucosa o aminoácidos en triglicéridos (lipogénesis). El exceso de triglicéridos es almacenado como gotitas de lípidos en el tejido adiposo (Silverthorn *et al.*, 2007).

7.5. El glucagón predomina en el ayuno

El glucagón, secretado por las células α del páncreas generalmente es antagonista de la insulina en sus efectos sobre el metabolismo. Cuando las concentraciones plasmáticas de glucosa disminuyen después de una comida, la secreción de insulina se hace más lenta y los efectos del glucagón sobre el metabolismo tisular son los prominentes. La dirección del metabolismo está determinada por la relación entre insulina y glucagón mas que por una cantidad absoluta de cualquiera de las hormonas (Silverthorn *et al.*, 2007).

La función del glucagón es evitar la hipoglucemia y el estímulo primario para la liberación de glucagón es la concentración plasmática de glucosa. Cuando las concentraciones de glucosa son menores de 100 mg/dL, la secreción de glucagón aumenta significativamente. Con concentraciones de glucosa por encima de 100 mg/dL, cuando esta secretando insulina, la secreción de glucagón es inhibida y se mantiene en un nivel bajo pero relativamente constante. La fuerte relación entre la secreción de insulina y la inhibición de glucagón ha llevado a especular que las células α están reguladas por algún factor ligado a la insulina más que por las concentraciones plasmáticas de glucosa (Silverthorn *et al.*, 2007).

El hígado es el tejido diana primario del glucagón. El glucagón estimula la glucogenólisis y la gluconeogénesis para aumentar la producción de glucosa. Se calcula que durante un ayuno de toda la noche, el 75% de la glucosa producida por el hígado proviene de los depósitos de glucógeno y el 25% restante de la gluconeogénesis. La secreción simultánea de glucagón en esta situación evita la hipoglucemia al estimular la salida de glucosa del hígado. Por

lo tanto, aunque solo se ingirieron aminoácidos, los tejidos periféricos cuentan tanto con glucosa como aminoácidos (Silverthorn *et al.*, 2007).

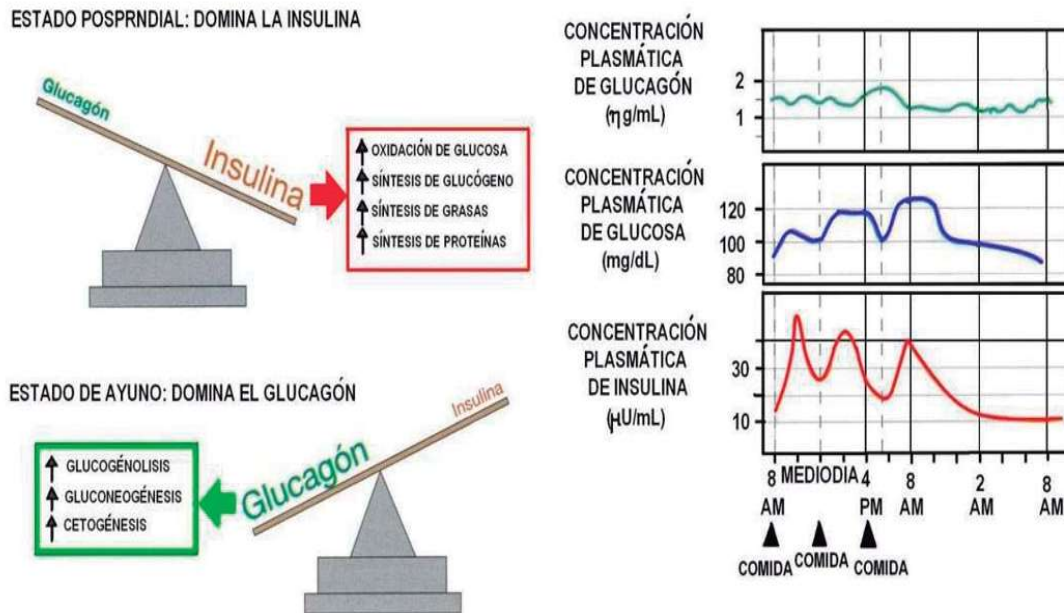


Figura 3. Representación de las concentraciones de la insulina y del glucagón en el estado postprandial y en el estado de ayuno, respectivamente. También se observan las graficas de insulina, glucosa y glucagón durante el día. Tomada de Silverthorn *et al.*, 2007

7.6. Secreción de insulina

Antes de la aparición de la hiperglucemia postprandial y el ayuno, los individuos genéticamente predispuestos a desarrollar diabetes tipo II son resistentes a la acción de la insulina (Gulli *et al.*, 1992; Jackson *et al.* 2000; Bays *et al.*, 2003). Sin embargo, la homeostasis de la glucosa se mantiene normal, por un aumento marcado en la secreción de insulina por las células β del páncreas (DeFronzo, 1988; DeFronzo, 1997; Gulli *et al.*, 1992; Reaven *et al.*, 1989; Bays *et al.*, 2003). El aumento en la concentración plasmática de insulina, en ayunas, es suficiente para compensar la resistencia a la insulina hepática y la tasa basal de la producción hepática de glucosa (HGP) sigue siendo normal, mientras que la respuesta a la hiperinsulinemia en la ingesta de carbohidratos es suficiente para causar la supresión normal del HGP basal y

para superar el defecto en el músculo la captación de glucosa (DeFronzo, 1988; DeFronzo, 1997; Gulli *et al.*, 1992; Tripathy *et al.* 2000; Pratipanawatr *et al.* 2001; Jackson *et al.* 2000; Vauhkonen *et al.*, 1997; Weyer *et al.*, 1999; Bays *et al.*, 2003).

7.7. Captación muscular de glucosa

El tejido muscular, en individuos con diabetes tipo II, presenta resistencia a la acción de la insulina de moderada a grave (DeFronzo, 1988; DeFronzo, 1997; DeFronzo *et al.*, 1985; Groop *et al.*, 1989; Bays *et al.*, 2003). Cuando la insulina se inyecta, de manera sistémica o local en la pierna o el antebrazo, el efecto estimulador de la hiperinsulinemia en el músculo aumenta la captación de glucosa (DeFronzo *et al.*, 1985; Harold Bays *et al.*, 2003). La captación de glucosa en el músculo junto con la capacidad de la insulina no suprimen la tasa basal de glucosa hepática (DeFronzo *et al.*, 1985; Groop *et al.*, 1989; DeFronzo *et al.*, 1989; Bays *et al.*, 2003) que es la responsable del aumento excesivo de la concentración de glucosa en el plasma, después de la ingesta de alimento, es decir, hiperglucemia postprandial (Ferrannini *et al.*, 1988; Bays *et al.*, 2003).

En individuos no diabéticos, aproximadamente un tercio de la glucosa absorbida es oxidada en la masa muscular, en respuesta a al estímulo fisiológico de insulina y los otros dos tercios se convierten en glucógeno (DeFronzo, 1988; DeFronzo, 1997; Groop *et al.*, 1989; Shulman *et al.*, 1990; Bays *et al.*, 2003). En individuos con diabetes tipo II, la capacidad fisiológica y farmacológica aumentan la concentración de insulina en el plasma para aumentar la oxidación de la glucosa y la síntesis del glucógeno muscular está alterada (DeFronzo, 1988; DeFronzo, 1997; Groop *et al.*, 1989; Shulman *et al.*, 1990; Bays *et al.*, 2003).

7.8. Metabolismo de glucosa

El mantenimiento de una concentración normal de glucosa en el plasma requiere de la utilización precisa de la misma, de la producción endógena de glucosa y de la entrega de glucosa en la dieta. La glucosa se deriva de 3 fuentes: la absorción intestinal que sigue a la digestión de los carbohidratos, la glucogenólisis y gluconeogénesis. La glucosa es transportada a las células a través de múltiples vías metabólicas: puede ser almacenada como glucógeno,

que puede sufrir glicólisis en piruvato y finalmente, puede ser liberada en la circulación por el hígado y los riñones, los únicos órganos que contiene glucosa-6-fosfatasa, la enzima necesaria para la liberación de glucosa en la circulación.

La concentración de glucosa en el plasma es relativamente estable, lo que indica que la tasa de producción de glucosa y la utilización de la misma son iguales. El promedio es de $2.2 \text{ mg Kg}^{-1} \text{ minuto}^{-1}$. Los rangos normales son de 1.8 a $2.6 \text{ mg Kg}^{-1} \text{ minuto}^{-1}$ en adultos sanos después de un ayuno nocturno (Gaber y Santiago, 1976; Giugliano *et al.*, 2008). Después de una comida, los resultados de la absorción de glucosa en la tasa de aporte de glucosa exógena en la circulación que pueden ser más del doble de la tasa de glucosa de la producción endógena, dependiendo del contenido de hidratos de carbono de la comida, el tipo y el grado de absorción de glucosa. Como la glucosa es adsorbida, la producción de glucosa endógena es suprimida y se acelera la utilización de glucosa por el hígado, el músculo y la grasa (Radziuk *et al.*, 1978; Giugliano *et al.*, 2008).

La glucosa exógena es asimilada y la concentración de glucosa en el plasma vuelve a los valores del estado de ayuno, siendo la insulina la hormona glucorregulatoria dominante. El estado de ayuno regula la concentración de glucosa en el plasma mediante la restricción de la producción de glucosa hepática en respuesta a las concentraciones más altas, que se encuentran después de las comidas y es necesario estimular la utilización de la glucosa (Rizza *et al.* 1981; Guigliano *et al.*, 2008).

8. HIPERGLUCEMIA POSTPRANDIAL

El perfil de la hiperglucemia postprandial está determinado por muchos factores, incluyendo el tiempo, la cantidad y composición de la comida, el contenido de hidratos de carbono de la comida, el resultado de la secreción de insulina y la inhibición de la secreción de glucagón. La absorción de los alimentos sigue siendo de 5 a 6 horas después de una comida en una personas con y sin diabetes, el momento óptimo para medir las concentraciones de glucosa postprandial en sangre sigue siendo un proceso en discusión. La hiperglucemia post carga se refiere a la glucosa pico después de

una carga de glucosa predefinida, es decir, durante una sobrecarga oral de glucosa en la prueba de tolerancia (OGTT). La Organización Mundial de la Salud recomienda el uso de 75 g de glucosa en la prueba de tolerancia (Lindholm *et al.*, 2001; Giugliano *et al.*, 2008). La prueba de tolerancia es la prueba de referencia para la categorización de tolerancia a la glucosa. La relación entre los valores de hiperglucemia postprandial y post carga es difícil de entender y las diferencias dependen, en parte, de la capacidad de la mezcla de comidas que contienen aminoácidos para provocar una mayor secreción de insulina que la glucosa sola.

En un estudio, se mostró que la glucemia a las 2 h después de una OGTT estaba estrechamente relacionada con la glucemia 2 h después de una comida estándar (Wolever *et al.*, 1998; Giugliano *et al.*, 2008), lo que sugiere que los sujetos con concentraciones altas de glucosa post carga, también hayan presentado picos de glucosa después de una comida normal. La diabetes se diagnostica cuando la concentración de glucosa plasmática, en ayunas, es de 7 mmol/L (126 mg/dL) o de 11.1 mmol/L (200 mg/dL) 2 h después de ingerir 75 g de glucosa. Estos valores son mucho más altos que en el ayuno "normal" (5,1 mmol/L ó 92 mg/dL) y 2 h después en la prueba post carga (5,4 mmol/L ó 97mg/dL). Es claro que el ayuno o las concentraciones de glucosa 2 h post carga que están por debajo de los valores de la diabetes son factores de riesgo de enfermedad cardiovascular (Coutinho *et al.*, 1999; Diabetes Care, 2003; Giugliano *et al.*, 2008).

En las personas que desarrollan diabetes, la patología presenta complicaciones microvasculares en la retina, en el glomérulo renal, en los nervios periféricos y se acelera la enfermedad macro vascular aterosclerótica que afecta las arterias que irrigan el corazón, el cerebro y las extremidades inferiores (Coutinho *et al.*, 1999; Diabetes Care., 2003; Giugliano *et al.*, 2008). En la diabetes tipo I y diabetes tipo II, se ha demostrado una fuerte relación entre los valores medios de glucemia, medida como hemoglobina glucosilada A1c (HbA1c) y las complicaciones de la diabetes (The Diabetes control and Complications Trial Research Group., 1993; UK Prospective Diabetes Study (UKPDS), Grupo., 1998; Giugliano *et al.*, 2008). Estos estudios son la base de la Asociación Americana de la Diabetes, quien sugiere que el objetivo del tratamiento actual recomendado es una HbA1c de 7% (American Diabetes

Association, 2005; Giugliano *et al.*, 2008). Sin embargo, sólo alrededor de un tercio de los pacientes diagnosticados con diabetes logran ese objetivo (Saydah *et al.*, 2004; Giugliano *et al.*, 2008) con menos del 6.5% de los pacientes que alcanza la concentración objetivo de HbA1c (American College of Endocrinology, 2004; Giugliano *et al.*, 2008).

9. MECANISMOS DE LA HIPERGLUCEMIA EN EL DAÑO VASCULAR

Al menos 4 vías principales están involucradas en el daño vascular inducido por la hiperglucemia: una mayor actividad de poliol, produciendo sorbitol y la acumulación de fructosa; un aumento de la formación de productos finales de glicosilación; la activación de la proteína cinasa C y el factor nuclear κ B y el aumento de flujo vía hexosamina. Hay muchas razones para pensar que los estados de activación hiperglicémicos son eventos metabólicos perjudiciales a través de un proceso único: el exceso de producción de superóxido por la electrotransportación mitocondrial de la cadena respiratoria. Esta teoría elegante (Brownlee, 2001; Giugliano *et al.*, 2008) parece indicar que la activación de la oxidación por estrés en la hiperglucemia juega un papel importante en la patogénesis de las complicaciones de la diabetes. Debido a todas estas alteraciones metabólicas, que ocurren más en particular en las células endoteliales, se ha postulado que pueden dar lugar a disfunción endotelial y contribuir a la lesión vascular (Brownlee., 2005; Giugliano *et al.*, 2008).

La activación del estrés oxidativo juega un papel fundamental en los efectos de los mecanismos mencionados y en los factores de riesgo asociados con la hiperglucemia sostenida. Sin embargo, la evidencia, cada vez mayor, sugiere que otros trastornos de la glucemia como son los cambios rápidos de glucosa podrían desempeñar un papel importante. En este sentido, merece especial atención la relación entre la hiperglucemia postprandial y, en general, los picos de hiperglucemia y las complicaciones de la diabetes.

Por ejemplo, se ha establecido que la hiperglucemia postprandial induce a una sobreproducción de superóxido que, después de reaccionar con el óxido nítrico, produce un estrés nitrosativo con la posterior generación de derivados metabólicos como el peroxinitrito y nitrotirosina. La toxicidad de estas sustancias puede producir un daño endotelial y parece estar asociada con las

complicaciones microvasculares y macrovasculares. Al reducir las elevaciones postprandiales, el estrés oxidativo y el nitrosativo pueden ser disminuidos (Ceriello *et al.*, 2002; Guigliano *et al.* 2008).

Se piensa que la nitrotirosina es un marcador relativamente específico del daño oxidativo mediado por peroxinitrito (Beckman y Koppenol, 1996; Guigliano *et al.*, 2008) y que puede ser un predictor independiente de enfermedades cardiovasculares (Shishehbor *et al.*, 2003; Guigliano *et al.*, 2008). La formación de nitrotirosina se detecta durante la hiperglucemia aguda en la pared de las arterias (Pennathur *et al.*, 2001; Guigliano *et al.*, 2008), en corazones de ratas durante la hiperglucemia (Ceriello *et al.*, 2002; Guigliano *et al.*, 2008) y en el plasma de sujetos sanos y diabéticos (Marfella *et al.*, 2001; Ceriello *et al.*, 2002; Guigliano *et al.*, 2008).

De esta manera, el estrés oxidativo, independientemente de los estadios de la enfermedad aterosclerótica, parece representar un fenómeno clave en la progresión de la enfermedad vascular aguda. Las variaciones de la glucosa, en el tiempo, no se limitan a la hiperglucemia postprandial, porque las concentraciones de glucosa en la sangre en pacientes con diabetes están siempre fluctuando entre picos hiperglucémicos de glucosa. Esas fluctuaciones son particularmente marcadas en la diabetes tipo 1 y, en menor medida, en los pacientes con diabetes tipo II tratados con insulina. Sin embargo, los pacientes con diabetes tipo II también pueden experimentar picos y los patrones a través de las variaciones de glucosa aguda. Los picos hiperglucémicos corresponden generalmente a los valores máximos después de las comidas, en particular, a media mañana (Monnier *et al.*, 2002; Guigliano *et al.*, 2008), mientras que los valores más bajos se observan en los periodos interprandiales (Trovati *et al.*, 1991; Guigliano *et al.*, 2008), especialmente en pacientes que son tratados con insulina secretagogos y que corren el riesgo de episodios hipoglucémicos (Monnier *et al.*, 2004; Guigliano *et al.*, 2008).

En un estudio realizado en pacientes con diabetes tipo II, se midió la excreción de 24 h de la 8-iso-prostaglandina F2 α , un indicador de la producción de radicales libres, mientras que los pacientes utilizaban un sistema continuo de monitoreo de glucosa en la sangre, las concentraciones de glucosa en ayunas y HbA1c también fueron determinados y se observó una correlación lineal entre el aumento de la producción de radicales libres y el magnitud de las

fluctuaciones de la glucosa, pero no con la concentración media de glucosa de 24 h, con la concentración de glucosa en ayunas o de incluso la concentración de HbA1c. La concentración de 8-iso-prostaglandina F2 α fue 4 veces mayor en los pacientes con el mayor variabilidad en el índice glicémico que en los pacientes con una baja variabilidad glucémica (Marfella *et al.*, 2001; Guigliano *et al.*, 2008).

Además, la hiperglucemia oscilatoria causa incrementos más agudos en las concentraciones plasmáticas de algunas citocinas pro-inflamatorias, tales como la interleucina-6, la interleucina-18 y del factor de necrosis tumoral α , que la hiperglucemia crónica en los sanos y en los sujetos intolerantes a la glucosa (Esposito *et al.*, 2002; Guigliano *et al.*, 2008). Lo anterior parece estar estrechamente relacionado con la capacidad de los picos de hiperglucemia para reducir la disponibilidad del óxido nítrico (Guigliano *et al.*, 1997).

II. JUSTIFICACIÓN

La hiperglucemia es la característica principal de la diabetes mellitus y puede aparecer en neonatos como consecuencia de la administración de glucocorticoides, en pacientes que recibieron suero glucosado en una cantidad excesiva y posterior a la ingesta de alimentos (postprandial). Esta condición está asociada a las tasas de mayor mortalidad y morbilidad entre los adultos no diabéticos ingresados para el tratamiento de infarto al miocardio, derrame cerebral o traumas. Varios estudios indicaron que la hiperglucemia es un factor de riesgo de muerte en adultos y niños. Además, se ha reportado un aumento en la prevalencia de retinopatía prematura en la hiperglucemia (una complicación de la diabetes mellitus) en niños con peso bajo al nacer.

La hiperglucemia, en pacientes enfermos, puede ser un efecto del estrés y por lo tanto, consecuencia de un aumento en los niveles de catecolaminas, que se sabe que estimulan el metabolismo de la glucosa. La hiperglucemia se acompaña, con frecuencia, de la pérdida urinaria de glucosa y la diuresis osmótica, con riesgo de deshidratación. Además, la hiperglucemia conduce a hiperosmolaridad y cambios osmóticos, que aumentan el riesgo de derrame cerebral.

Se conoce que la hiperglucemia es un factor determinante dentro de la fisiopatología de la diabetes mellitus y de sus complicaciones, activando mecanismos específicos que conllevan al daño vascular que, a su vez, puede contribuir al daño de órganos diana como el riñón.

Por lo anterior, el presente trabajo explora los efectos de la glucosa, *in vitro*, simulando un estado hiperglicémico agudo sobre la presión de perfusión renal y la influencia sobre las respuestas adrenérgicas.

III. HIPÓTESIS

La glucosa aumenta la presión de perfusión renal y la respuesta presora adrenérgica renal.

IV. OBJETIVO GENERAL

Determinar el efecto de la glucosa sobre la presión de perfusión renal y sobre la respuesta presora adrenérgica renal.

V. OBJETIVOS PARTICULARES

1. Montaje y estandarización del equipo para órgano aislado y perfundido.
2. Determinar el efecto de la glucosa sobre la presión de perfusión renal.
3. Determinar el efecto de la glucosa sobre la respuesta presora adrenérgica renal.

VI. MATERIALES Y MÉTODOS

1. Animales

Para realizar este estudio se utilizaron ratas macho de la cepa Wistar (normotensos) de un peso aproximado de 380 gramos $\pm$ 10 gramos y 3.5 meses de edad, aproximadamente.

2. Preparación de soluciones

Las soluciones que se usaron en el presente estudio se prepararon el día que se emplearon, se usó una solución de Krebs con la siguiente composición: Dextrosa (5.6mM), NaCl (119mM), KCl (4.7mM), CaCl₂ (2.5mM), KH₂PO₄ (1.2mM), MgSO₄ (1.2mM), NaHCO₃ (25mM). Para las curvas concentración respuesta a la glucosa se prepararon 100 ml de solución de Krebs con concentraciones crecientes de glucosa (1mM-1M) y se perfundió el riñón. Para evaluar la respuesta adrenérgica, se construyeron curvas dosis respuesta a la fenilefrina (agonista adrenérgico) en un rango de concentración que va desde 1×10^{-2} hasta una concentración de 1×10^{-7} .

3. Preparación y calibración del equipo de perfusión (tipo Langendorff)

Con ayuda de una bomba peristáltica se hicieron varios lavados de todo el equipo para eliminar impurezas y restos de precipitados de las soluciones empleadas, en estos lavados se empleó alcohol al 70%, una vez y después se enjuagó varias veces con agua destilada hasta eliminar las trazas de alcohol. Posteriormente, tanto en el matraz balón de doble fondo como en las mangueras del equipo, se hizo circular agua destilada para extraer todas las burbujas del interior de las mangueras, del serpentín y de los extremos donde se encuentran los transductores de presión. Se empleó una bomba de recirculación que tiene la función mantener la temperatura a 37°C, en todo el equipo de perfusión. La bomba de recirculación mantuvo la solución de Krebs a 37°C en el matraz balón de doble fondo y en el serpentín para que llegara al órgano en condiciones controladas de temperatura. También mantuvieron las

cámaras de órgano aislado de doble fondo a dicha temperatura para evitar variaciones de la presión de perfusión renal. Los extremos donde se conectan los transductores se llenaron con solución de Krebs, empleando una jeringa. El equipo de perfusión se calibró a un flujo constante de 10 ml/min.

Una vez regulado el flujo y la temperatura del sistema y con ayuda de un baumanómetro se calibró el sistema, dando como referencia el rango de presiones de 100 y 200 mmHg.

4. Preparación de los animales y extracción del riñón

Las ratas se sometieron a anestesia profunda con pentobarbital sódico (50mg/Kg), después se procedió a aislar y disecar el riñón derecho de los animales, utilizando la metodología de riñón aislado y perfundido y un sistema de adquisición de datos (Biopac System Inc., CA, USA) para construir curvas concentración-respuesta.

Posteriormente, se realizó una laparotomía, incidiendo plano por plano hasta llegar al peritoneo y exponer el riñón derecho, que se canuló a través de la arteria mesentérica para acceder a la arteria renal. Después, el riñón se descapsuló para eliminar las glándulas suprarrenales y el posible efecto de las hormonas liberadas por ellas (Figura 4).

Por el extremo de la cánula, cada riñón se conectó a un serpentín de calentamiento acoplado a un transductor de tensión (FT03 Grass force displacement transducer; Astro-Med, Inc. West Wawick, RI USA) que, a su vez, estaba acoplado a un sistema de adquisición de datos (MP100; Biopac systems Inc. Santa Bárbara CA, EUA) y registraron los cambios en la presión de perfusión renal.

Una vez montados los riñones se hizo una sensibilización del tejido, en 2 ocasiones a intervalos de 20 minutos, con 10µl en bolo de una concentración submáxima de fenilefrina (1×10^{-4} M). Lo anterior permitió que el riñón se estabilizara en respuesta al estímulo exógeno además de determinar si el órgano era viable para determinar la respuesta funcional.

5. Curvas concentración respuesta a la glucosa y a la fenilefrina

En el riñón derecho de los animales se realizaron curvas concentración-respuesta a la glucosa y a manitol (1mM-1M) registrándose la presión de perfusión dependiente de la concentración administrada en el tejido estudiado.

Para evaluar la respuesta adrenérgica en presencia de glucosa, se construyeron curvas dosis respuesta a la fenilefrina (agonista adrenérgico) en un rango de concentración que va desde 1×10^{-2} hasta una concentración de 1×10^{-7} en 2 condiciones: Krebs con valores de glucosa normales (glucosa 1X; 5.6 mM) y con el doble de la concentración de glucosa (glucosa 2X; 11.2 mM). Para descartar que los efectos de la glucosa fueran de tipo osmótico se diseñó un experimento a las mismas concentraciones de manitol.

6. Análisis estadístico

Los resultados se expresaron como el promedio $\pm$ el error estándar utilizando el programa Sigma Plot 8.02 para la construcción de las gráficas. Los datos fueron sometidos a un análisis de varianza de una vía. El efecto máximo (E_{max}) y la concentración efectiva 50 (CE_{50}) se calcularon empleando regresiones no lineales con parámetros farmacodinámicos empleando el programa WinNonlin™ professional version 2.1.

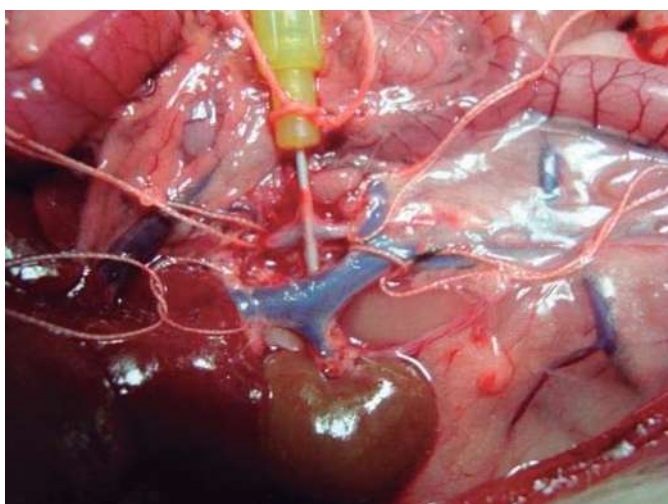


Figura 4. Esquema donde se observa la canulación del riñón para su extracción y montaje en el sistema tipo Langendorff, nótese como la canulación se realiza a través de la arteria mesentérica para facilitar la entrada de la cánula en la arteria renal.

VII. RESULTADOS

1. Efecto de la glucosa sobre la presión de perfusión renal

Para determinar el efecto de la glucosa sobre la presión de perfusión renal se utilizaron concentraciones crecientes de glucosa, contenida en 100 ml de solución de Krebs y se observó que la glucosa aumentó la presión de perfusión renal, de manera dependiente de la concentración de glucosa, es decir, a una concentración mayor de glucosa es el aumento de la presión de perfusión renal es mayor (Figura 5). La CE_{50} de la glucosa fue de 72 ± 13 mM y el efecto máximo se ubicó en 191 ± 4 mmHg.

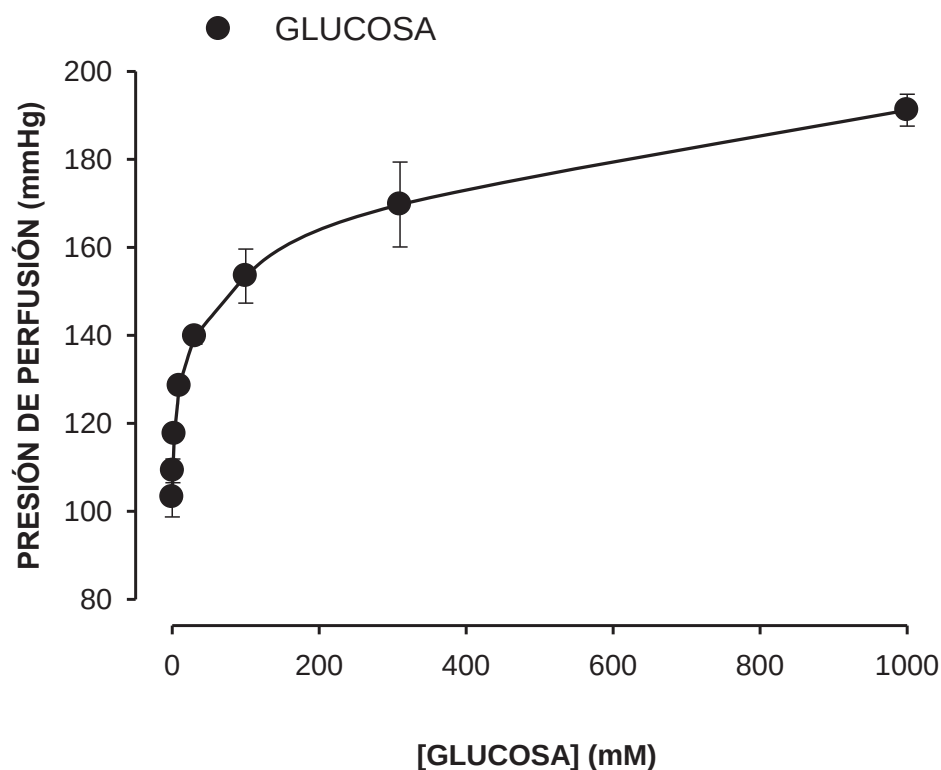


Figura 5. Curva concentración respuesta a concentraciones crecientes de glucosa (1mM, 3.1mM, 10mM, 31mM, 100mM, 310mM, 1M) en riñón aislado y perfundido de rata. Cada punto representa el promedio $\pm$ el error estándar de 3 experimentos.

2. Efecto del manitol sobre la presión de perfusión renal

Para descartar que el efecto de la glucosa se debiera a un efecto de tipo osmótico, se construyó una curva concentración respuesta al osmolito, manitol a las mismas concentraciones empleadas en la curva de glucosa y se observó un aumento de la presión de perfusión renal sólo a la concentración más alta. No se pudo determinar la CE_{50} y el efecto máximo fue de 141 ± 8 mmHg, es decir, la mitad del aumento en la presión de perfusión observado en la curva con glucosa (figura 6).

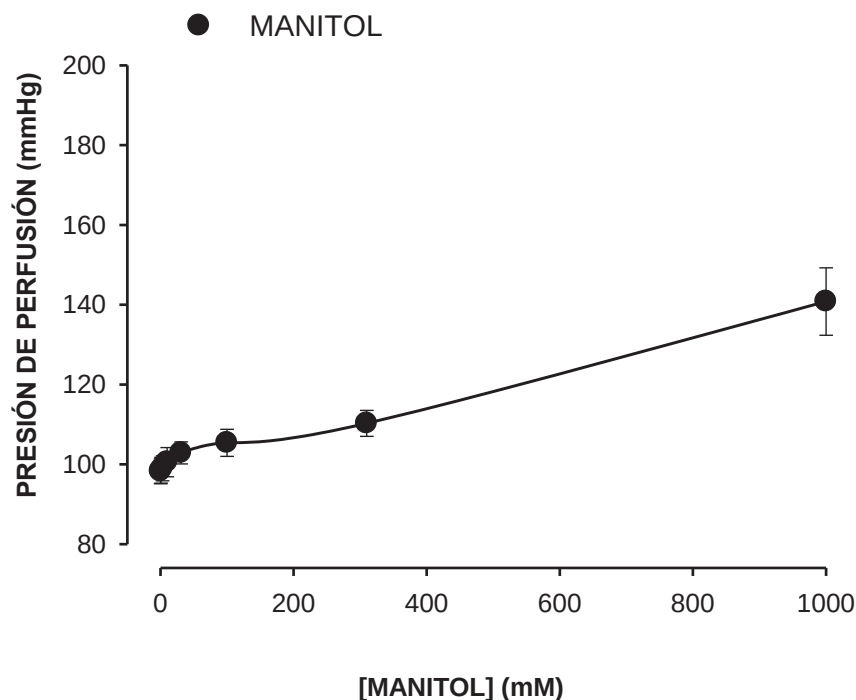


Figura 6. Curva concentración respuesta a concentraciones crecientes de manitol (1mM, 3.1mM, 10mM, 31mM, 100mM, 310mM, 1M) en riñón aislado y perfundido de rata. Cada punto representa el promedio $\pm$ el error estándar de 3 experimentos.

3. Curva concentración respuesta a la fenilefrina en presencia de glucosa

Para analizar el efecto de la glucosa alta sobre la respuesta presora adrenérgica renal, se construyeron curvas concentración respuesta a la fenilefrina en presencia de la concentración de glucosa 11.2 mM (glucosa 2X). En condiciones control, se observó que fenilefrina produjo un aumento en la presión de perfusión renal hasta llegar al efecto máximo. Cuando se realizó la curva en presencia de glucosa 2X se produjo una reactividad mayor a la fenilefrina ($p < 0.05$) desde la primera concentración administrada y se mantuvo esta hiperreactividad hasta alcanzar el efecto máximo (Figura 7).

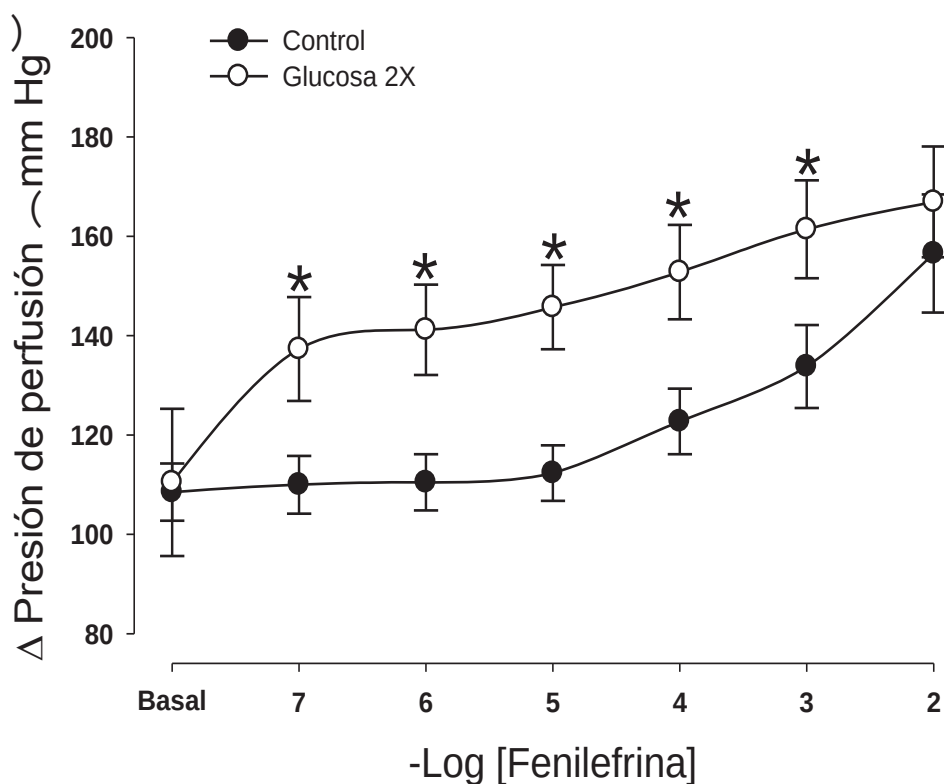


Figura 7. Curva concentración respuesta a la fenilefrina en riñón aislado y perfundido de rata, en presencia de una concentración de glucosa normal y en presencia de glucosa 11.2 mM (glucosa 2X). Cada punto representa el promedio $\pm$ el error estándar de 3 experimentos. * $p < 0.005$ vs. control.

4. Curva concentración respuesta a la fenilefrina en presencia de manitol

Para analizar si el efecto de la glucosa alta sobre la respuesta presora adrenérgica renal observado se debía a un efecto osmótico, se construyeron curvas concentración respuesta a la fenilefrina en presencia de la concentración de manitol 11.2 mM (manitol 2X). En condiciones control, se observó que fenilefrina produjo un aumento en la presión de perfusión renal hasta llegar al efecto máximo. Cuando se realizó la curva en presencia de manitol 2X se observó que este no fue capaz de modificar la reactividad a la fenilefrina (Figura 8).

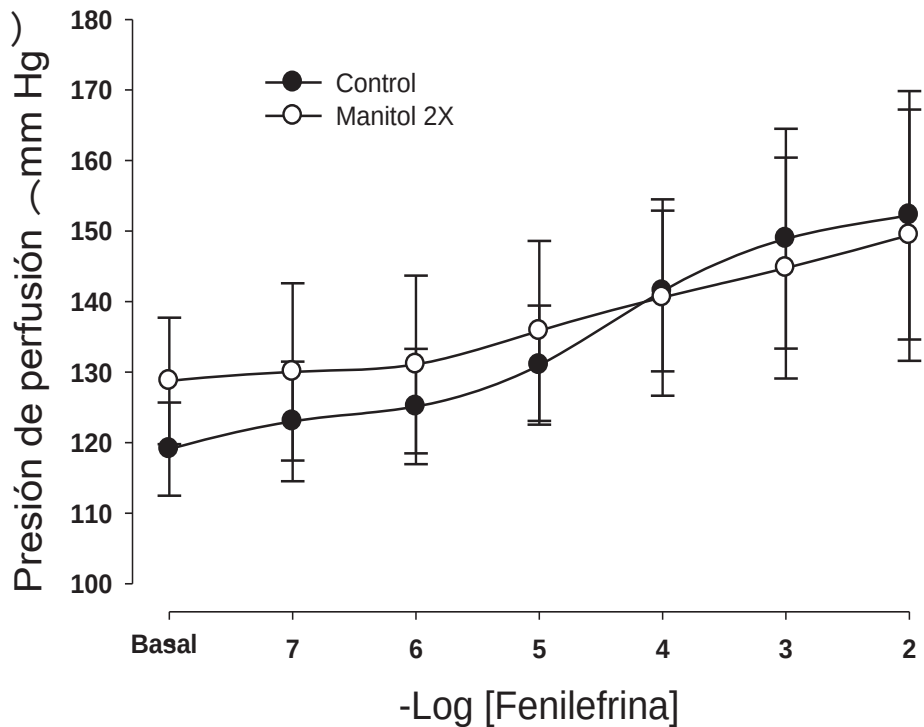


Figura 8. Curva concentración respuesta a la fenilefrina en riñón aislado y perfundido de rata, en presencia de una concentración de manitol 5.2 mM y en presencia de manitol 11.2 mM (manitol 2X). Cada punto representa el promedio $\pm$ el error estándar de 3 experimentos.

VIII. DISCUSIÓN

Los principales resultados obtenidos en este proyecto fueron los siguientes: en la curva concentración respuesta a la glucosa se observó un incremento, dependiente de la concentración, en la presión de perfusión renal. Por otro lado, la presencia de glucosa 2X produjo una reactividad mayor a la fenilefrina ($p < 0.05$) desde la primera concentración administrada y se mantuvo esta hiperreactividad hasta alcanzar el efecto máximo. Sin embargo, el hecho de que el manitol produjera un aumento en la presión de perfusión renal sólo a la dosis más alta y que no modificara la curva a la fenilefrina sugiere que estos mecanismos parecen ser dependientes de la glucosa.

La diabetes mellitus está asociada con las alteraciones en los niveles de glucosa, de insulina, de glucagón y de hormonas del crecimiento, como con cambios en la respuesta y producción de varios agentes vasoactivos en el riñón y en la vasculatura (Viberti *et al.*, 1981; Morgensen *et al.*, 1980; Praving *et al.*, 1980; Christlieb, 1974; Ylikorkala *et al.*, 1981; Christensen, 1974). En este sentido, el incremento en la filtración glomerular precede a una lesión glomerular significativa en humanos con diabetes tipo I (Morgensen y Andersen, 1973; Ditzel y Junker, 1972). También se sabe que el riñón es uno de los dos órganos que tienen la enzima glucosa-6-fosfatasa que es necesaria para liberar glucosa a la circulación (Giugliano *et al.*, 2005).

La elevación en los niveles de glucosa, causa vasodilatación y un aumento en la concentración de inulina, en riñones aislados y perfundidos tanto de animales normales como en animales diabéticos. Se usaron concentraciones iguales resulto significativa vasoconstricción y un insignificante decremento en la concentración de inulina (Bertram *et al.*, 1985). También se sabe que la glucosa se absorbe con facilidad en el glomérulo lo cual causa incremento en la filtración glomerular y por ende una daño glomerular y se reabsorbe por el túbulo contorneado proximal (Dvorkin y Cardinali, 2005).

La hiperinsulinemia está relacionada con la elevación de la presión sanguínea (Keen *et al.*, 1996; Brands *et al.*, 1991; Zavaroni *et al.*, 1989). Esto es consistente con reportes descritos anteriormente que levantan el control glycémico (Brands y Hopkins, 1996). La hiperinsulinemia puede aumentar la

presión sanguínea (Keen *et al.*, 1996; Brands *et al.*, 1991; Zavaroni *et al.*, 1989); sumando, la insulina es capaz de estimular el sistema renina angiotensina (Fang y Huang, 1998). Está reportado que la glucosa disminuye la relajación vascular (Teshamariam *et al.*, 1991; Beckman *et al.*, 2001; Williams *et al.*, 1998; Pieper *et al.*, 1995), probablemente por la acumulación de sorbitol y mio-inositol (Teshamariam *et al.*, 1992), la producción de radicales libres (Teshamariam y Cohen, 1992), o por la activación de la proteína cinasa C (Teshamariam *et al.*, 1991).

Uno de los mejores mediadores que liberan las células endoteliales es el óxido nítrico, el cual tiene varios efectos antiaterogénicos, tal como la agregación plaquetaria, inhibición de la secreción de factores de crecimiento y moléculas de adhesión endotelial y la inhibición del factor de transcripción nuclear KB (Escandon y Cipolla, 2001; Hsueh *et al.*, 1997). Existen diversos estudios experimentales y estudios en humanos con diabetes mellitus que tienen una reducción endotelial de óxido nítrico, la cual puede estar atribuida por varios causas. La hiperglucemia fija un mecanismo que reduce potencialmente el óxido nítrico endotelial, incluyendo la actividad de la óxido nítrico sintetasa. Lo último es la causa por la activación de la ruta del poliol, la activación de la proteína cinasa C y el incremento del estrés oxidativo, conduciendo a la inactivación de óxido nítrico con la formación de peróxido nítrico (Escandon y Cipolla, 2001). Es posible considerar que la disfunción endotelial puede contribuir a una microangiopatía y a una macroangiopatía en la diabetes mellitus (Escandon y Cipolla, 2001; Hsueh *et al.*, 1997).

Las células endoteliales tienen múltiples funciones y no existe una singular definición de disfunción endotelial. Varias definiciones basadas en estudios clasificados en alteraciones funcionales, principalmente la capacidad de inducir vasodilatación por sustancias que estimulan la secreción de óxido nítrico por el endotelio, en cambios importantes de mediadores químicos por la célula endotelial (Escandon y Cipolla, 2001). Los resultados de este proyecto demostraron que la hiperglucemia aguda causa una significativa vasoconstricción renal y el efecto está en función de la concentración a mayor concentración mayor es el efecto sobre la presión de perfusión renal en riñones normotensos y normoglicémicos.

El desarrollo de la nefropatía diabética esta asociada con la exposición crónica de una elevada glucosa en la célula renal (Brownlee, 2001; Schrijvers *et al.*, 2004; Wendt *et al.*, 2003). Diversas líneas de evidencias demuestran que el estrés oxidativo y especies reactivas de oxígeno están involucradas en la diabetes induciendo complicaciones renales (Allen *et al.*, 2003; Lee *et al.*, 2003). Además que un antioxidante previene el desarrollo de un daño en el riñón en modelos de animales diabéticos (Koya *et al.*, 1997; Lal *et al.*, 2000), evidencias de experimentos obtienen que estudios *in vitro* prevengan la generación de especies reactivas de oxígeno agonistas del daño de los efectos de la hiperglucemia sobre las células mesagiales (Studer *et al.*, 1997; Tada *et al.*, 1997).

Las diferentes metodologías respecto a la evaluación de las alteraciones de la función endotelial causada para la glucosa tienen que ser en estudios experimentales aplicados. Esto se ha observado estudios en vivo en animales diabéticos (Lash y Bohlen, 1991), estudios con órgano aislado, (por ejemplo en anillos de aorta) de animales diabéticos (Taylor *et al.*, 1994; Hattori *et al.*, 1991; Tesfamariam *et al.*, 1989; Oyama *et al.*, 1986; Abiru *et al.*, 1990; Pieper y Siebeneich, 1998), con órgano aislado de animales normoglucémicos expuestos a elevadas concentraciones de glucosa por un cierto periodo de tiempo (Tesfamariam *et al.*, 1990; Tesfamariam *et al.*, 1991; Bohlen y Lash, 1993; Tesfamariam y Cohen, 1992; Dorigo *et al.*, 1997).

Esta establecido que el endotelio juega importantes papeles en la homeostasis en el cuerpo, porque este puede secretar diversos mediadores químicos que interactúan con células del musculo liso vascular y con elementos que están presentes en la circulación. Las funciones del endotelio son las siguientes: 1) control del tono vascular atreves de la secreción de sustancias vasoactivas; 2) regulación del crecimiento de las células del musculo liso vascular; 3) participación de la reacción inflamatoria; y 4) homeostasis (Carvalho *et al.*, 1996; Nunes *et al.*, 1996). Esto suprime diversos factores, tales como hipertensión sistémica, dislipemia, hiperhomocisteinemia e hiperglucemia, la misma implicada en la patogenia de vasculopatías tienen en común la presencia de perturbaciones el fisiopatología endotelial. En pacientes con diabetes, complejos factores interactúan, tales como la hiperglucemia,

Hipertensión arterial sistémica, dislipidemia e Hiperinsulinemia/insulina resistente causando disfunción endotelial usualmente en diabetes tipo II (Escandón *et al.*, 2001; Hsueh *et al.*, 1997).

Muchos estudios no incluyen un control como sustancia osmótica, pero con sustancia absorbidas que sean metabolizadas por la célula (por ejemplo manitol) (Davies y Hagen, 1996; Kashiwagi *et al.*, 1997; La selva *et al.*, 1999). Esto genera dudas sobre si las alteraciones están basadas especialmente debido a la hiperosmolaridad de la glucosa. La hiperosmolaridad puede causar una reducción en la vasodilatación del endotelio-dependiente, sin embargo fue significativa solo en la dosis elevada de acetilcolina y tubo una intensa disminución comparada con la reducción causada por la concentración de glucosa 15mM. Además las concentraciones de glucosa usadas en varios estudios fueron muy altas comparadas con aquellas de rutina basadas en la práctica clínica (Lash and Bohlen, 1991; Khatami, 1990). Nuestros resultados indicaron que las concentraciones de glucosa usadas producen una vasoconstricción sobre la presión de perfusión renal en riñón como órgano aislado y perfundido de ratas normotensos y normoglucemicos. También se realizaron curvas a manitol para descartar que el fenómeno obtenido se debiera a un efecto osmótico por parte de la glucosa, se uso manitol a iguales concentraciones como se uso la glucosa, obteniendo un efecto menos pronunciado sobre la presión de perfusión renal con manitol.

IX. CONCLUSIÓN

Los resultados obtenidos sugieren que la glucosa aumenta la presión de perfusión renal, de manera dependiente de la concentración y aumenta la respuesta presora adrenérgica renal.

X. REFERENCIAS

- Abiru T, Watanabe Y, Kamara K, Miyata N, Kasuya Y. Decrease in endothelium-dependent relaxation and levels of cyclic nucleotides in aorta from rabbits with alloxan-induced diabetes. *Res Commun Chen Pathol Pharmacol* 1990; 68: 13-25.
- American Diabetes Association. Standards of medical care in diabetes. *Diabetes Care* 2005; 28(suppl):S4 –36.
- Ayo, S. H., Radnick, R., Garonl, J. A., Troyer, D. A, and Kreisherg, J. I. Beckman JS, Koppenol WH. Nitric oxide, superoxide, and peroxynitrite: the good, the bad, and ugly. *Am J Physiol* 1996; 271:C1424–37.
- Berridge, M. J. (1986) *Cancer Suru.* 5, 413-430
- Bochicchio GV, Sung J, Joshi M, et al. Persistent hyperglycemia is predictive of outcome in critically ill trauma patients. *J Trauma.* 2005; 58:921–924
- Bogardus C, Lillioja S, Howard BV, Reaven G, Mott D 1984 Relationships between insulin secretion, insulin action, and fasting plasma glucose concentration in nondiabetic and noninsulin-dependent diabetic subjects. *J Clin Invest* 74:1238–1246
- Bohlen HG, Lash JM. Topical hyperglycemia rapidly suppresses EDRF-mediated vasodilation of normal rats arterioles. *Am J Physiol* 1993; 265: H219-25.
- Brownlee M. Biochemistry and molecular cell biology of diabetic complications. *Nature* 2001; 414:813–20.
- Brownlee M. The pathophysiology of diabetic complications: a unifying mechanism. *Diabetes* 2005; 54:1615–25.
- Capes SE, Hunt D, Malmberg K, Gerstein HC. Stress hyperglycemia and increased risk of death after myocardial infarction in patients with and without diabetes: a systematic overview. *Lancet.* 2000; 355:773–778
- Capes SE, Hunt D, Malmberg K, Pathak P, Gerstein HC. Stress hyperglycemia and prognosis of stroke in nondiabetic and diabetic patients: a systematic overview. *Stroke.* 2001; 32:2426–2432
- Carvalho MH, Scivoletto R, Nigro D, Fortes ZB. Funcoes fisiologicas do endotelio vascular. *Rev Soc Cardiol Estado de Sao Paulo* 1996; 6: 121-8.
- Ceriello A, Quagliaro L, D’Amico M, et al. Acute hyperglycemia induces nitrotyrosine formation and apoptosis in perfused heart from rat. *Diabetes* 2002; 51:1076–82.
- Ceriello A, Quagliaro L, Catone B, et al. Role of hyperglycemia in nitrotyrosine postprandial generation. *Diabetes Care* 2002; 25:1439–43.
- Ceriello A, Taboga C, Tonutti L, et al. Evidence for an independent and cumulative effect of postprandial hypertriglyceridemia and hyperglycemia on endothelial dysfunction and oxidative stress generation. Effects of short- and long-term simvastatin treatment. *Circulation* 2002; 106:1211–8.
- Coutinho M, Gerstein HC, Wang Y, Yusuf S. The relationship between glucose and incident cardiovascular events. A metaregression analysis of published data from 20 studies of 95,783 individuals followed for 12.4 years. *Diabetes Care* 1999; 22:233– 40.
- Cupples WA, Loutzenhiser RD. Dynamic autoregulation in the in vitro perfused hydronephrotic rat kidney. *Am J Physiol Renal Physiol* 275:F126–F130, 1998.

Davies MG, Hagen PO. Alterations in venous endothelial cell and smooth muscle cell relaxation induced by high glucose concentrations can be prevented by aminoguanidine. *J Surg Res* 1996; 63: 474-9.

DeFronzo RA 1988 Lilly Lecture. The triumvirate: α cell, muscle, liver. A collusion responsible for NIDDM. *Diabetes* 37:667–687

DeFronzo RA 1997 Pathogenesis of type 2 diabetes: metabolic and molecular implications for identifying diabetes genes. *Diabetes Rev* 4:177–269

DeFronzo RA, Gunnarsson R, Bjorkman O, Olsson M, Wahren J 1985 Effects of insulin on peripheral and splanchnic glucose metabolism in non-insulindependent (type II) diabetes mellitus. *J Clin Invest* 76:149–155

DeFronzo RA, Ferrannini E, Simonson DC 1989 Fasting hyperglycemia in non-insulin dependent diabetes mellitus: contributions of excessive hepatic glucose production and impaired tissue glucose uptake. *Metabolism* 38:387–395

Dorigo P, Fraccarollo D, Santostasi G, Maragno I. Impairment of endothelium-dependent but not of endothelium-dependent dilation in guinea-pig aorta rings incubated in the presence of elevated glucose. *Br Pharmacol* 1997; 121: 972-6.

Dweck HS, Cassady G. Glucose intolerance in infants of very low birth weight, part I: incidence of hyperglycemia in infants of birth weights 1,100 grams and less. *Pediatrics*. 1974; 53:189–195

Eggers p. w. (1988) *N. Engl. J. Med.* 318, 223-229

Ertl T, Gyarmati J, Gaal^o V, Szabo I. Relationship between hyperglycemia and retinopathy of prematurity in very low birth weight infants. *Biol Neonate*. 2006; 89:56–59

Escandon,JC, Cipolla,M. Diabetes and endothelial dysfunction: a clinical perspective. *Endocrine Reviews* 2001; 22: 36-52.

Esposito K, Nappo F, Martella R, et al. Inflammatory cytokine concentrations are acutely increased by hyperglycemia in humans: role of oxidative stress. *Circulation* 2002; 106:2067–72.

Ferrannini E, Simonson DC, Katz LD, Reichard G, Bevilacqua S, Barrett EJ, Olsson M, DeFronzo RA 1988 The disposal of an oral glucose load in patients with non-insulin dependent diabetes. *Metabolism* 37:79–85

Finberg L. Dangers to infants caused by changes in osmolal concentration. *J Pediatr*. 1967; 40:1031–1034

Garber AJ, Cryer PE, Santiago JV, et al. The role of adrenergic mechanisms in the substrate and hormonal response to insulin-induced hypoglycemia in man. *J Clin Invest* 1976; 58:7–15.

Giugliano D, Ceriello A and Esposito K. Glucose metabolism and hyperglycemia. *Am J Clin Nutr* 2008;87(suppl):217S-22S.

Giugliano D, Martella R, Coppola L, et al. Vascular effects of acute hyperglycemia in humans are reversed by L-arginine: evidence for reduced availability of nitric oxide during hyperglycemia. *Circulation* 1997; 95:1783–90.

Groop LC, Bonadonna RC, Del Prato S, Ratheiser K, Zyck K, DeFronzo RA 1989 Effect of insulin on oxidative and non-oxidative pathways of glucose and FFA metabolism in NIDDM. Evidence for multiple sites of insulin resistance. *J Clin Invest* 84:205–213

Gruenwald P, Minh HN. Evaluation of body and organ weights in perinatal pathology, part I: normal standards derived from autopsies. *Am J Clin Pathol*. 1960;34:247–253

Gulli G, Ferrannini E, Stern M, Haffner S, DeFronzo RA 1992 The metabolic profile of NIDDM is fully established in glucose-tolerant offspring of two Mexican-American NIDDM parents. *Diabetes* 41:1575–1586

Harold Bays, Lawrence Mandarino, and Ralph a. DeFronzo. Role of the Adipocyte, Free Fatty Acids, and Ectopic Fat Pathogenesis of Type 2 Diabetes Mellitus: Peroxisomal Proliferator-Activated Receptor Agonists Provide a Rational Therapeutic Approach. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 89(2):463–478 *Printed in U.S.A.* Copyright © 2004 by The Endocrine Society doi: 10.1210/jc.2003-030723

Hattori Y, Kawasaki H, Abe K, Kanno M. Superoxide dismutase recovers endothelium dependent relaxation in diabetic rat aorta. *Am J Physiol* 1991; 261:H1086-94.

Hise, M. K.7 and Mehta, P. S. (1988) *Endocrinology* 123,1553-1558

Hsueh WA, Quinones MJ, Creager MA. Endothelium in insulin resistance and diabetes. *Diabetes Reviews* 1997; 5: 343-52.

Is the current definition for diabetes relevant to mortality risk from all causes and cardiovascular and non cardio vascular diseases? *Diabetes Care* 2003; 26:688 –96.

Jackson S, Bagstaff SM, Lynn S, Yeaman SJ, Turnbull DM, Walker M2000 Decreased insulin responsiveness of glucose uptake in cultured human skeletal muscle cells from insulin-resistant nondiabetic relatives of type 2 diabetic families. *Diabetes* 49:1169–1177

Jensen CC, Chop M, Hull RL, Fujimoto WY, Kahn SE, and the American Diabetes Association GENNID Study Group 2002 β -Cell function is a major contributor to oral glucose tolerance in high-risk relatives of four ethnic groups in the U.S. *Diabetes* 51:2170–2178

Just A, Arendshorst WJ. Nitric oxide blunts myogenic autoregulation in rat renal but not skeletal muscle circulation via tubuloglomerular feedback. *J Physiol* 569: 959–974, 2005.

Kahn SE 2001 The importance of β -cell failure in the development and progression of type 2 diabetes. *J Clin Endocrinol Metab* 86:4047–4058

Kalhan SC, Oliven A, King KC, Lucero C. Role of glucose in the regulation of endogenous glucose production in the human newborn. *Pediatr Res*. 1986; 10:49–52

Kashiwagi A, Nishio Y, Asahina T, et al. Pyruvate improves deleterious effects of high glucose on activation of pentose phosphate pathway and glutathione redox cycle in endothelial cells. *Diabetes* 1997; 46: 2088-95.

Kelley DE 1995 Effects of weight loss on glucose homeostasis in NIDDM. *Diabetes Rev* 3:366–377

Koch, K.S., and Leffert, H. L. (1979) *Cell* 18, 153-163

Krinsley JS. Effect of an intensive glucose management protocol on the mortality of critically ill adult patients. *Mayo Clin Proc*. 2004; 79:992–1000

Kumar, A. M., Gupta, R. K., and Spitzer, A. (1988) *Kidney Int*. 33, 792-797

La selva M, Beltramo E, Pagnozzi F, Molinatti GM, Porta M. Thiamine corrects delayed replication and decreases production of lactate and advanced glycation end-products in bovine retinal and human umbilical vein endothelial cells cultured under high glucose conditions. *Diabetologia* 1996; 36: 1263-8.

- Laird AM, Miller PR, Kilgo PD, Meredith JW, Chang MC. Relationship of early hyperglycemia to mortality in trauma patients. *J Trauma*. 2004; 56:1058–1062
- Lash JM, Bohlen HG. Structural and functional origins of suppressed acetylcholine vasodilation in diabetic rat intestinal arterioles. *Circ Res* 1991; 69: 1259-68.
- Liehling, M. S., and Gupta R. K. (1987) *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 508, 149-163
- Lilien LD, Rosenfield RL, Baccaro MM, Pildes RS. Hyperglycemia in stressed small premature neonates. *J Pediatr*. 1979; 94:454–459
- Lindholm E, Agardh E, Tuomi T, Groop L, Agardh CD. Classifying diabetes according to the new WHO clinical stages. *Eur J Epidemiol* 2001; 17:983–9.
- Louik C, Mitchell AA, Epstein MF, Shapiro S. Risk factors for neonatal hyperglycemia associated with 10% dextrose infusion. *Am J Dis Child*. 1985; 193:783–786
- Magnusson I, Rothman D, Katz L, Shulman R, Shulman G 1992 Increased rate of gluconeogenesis in type II diabetes: a ¹³C nuclear magnetic resonance study. *J Clin Invest* 90:1323–1327
- Marfella R, Quagliaro L, Nappo F, Ceriello A, Giugliano D. Acute hyperglycemia induces an oxidative stress in healthy subjects. *J Clin Invest* 2001; 108:635–6 (letter).
- Marsh DJ, Sosnovtseva OV, Chon KH, Holstein-Rathlou NH. Nonlinear interactions in renal blood flow regulation. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 288: R1143–R1159, 2005.
- Marsh DJ, Sosnovtseva OV, Pavlov AN, Yip KP, Holstein-Rathlou NH. Frequency encoding in renal blood flow regulation. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 288: R1160–R1167, 2005.
- Meetze W, Bowsher R, Compton J, Moorehead H. Hyperglycemia in extremely-low-birth-weight infants. *Biol Neonate*. 1998; 74:214–221
- Mirrakou A, Kelly D, Mookan M, Veneman T, Pangburn T, Reilly J, Gerich J 1992 Role of reduced suppression of glucose production and diminished early insulin release in impaired glucose tolerance. *N Engl J Med* 326:22–29
- Monnier L, Colette C, Lapinski H. Global assessment for quality and safety of control in type 2 diabetic patients. *Eur J Clin Invest* 2004; 34:37–42.
- Monnier L, Colette C, Rabasa-Lhoret R, et al. Morning hyperglycemic excursions: a constant failure in the metabolic control of non-insulin-using patients with type 2 diabetes. *Diabetes Care* 2002; 25:737– 41.
- Monnier L, Mas E, Ginet C, et al. Activation of oxidative stress by acute glucose fluctuations compared with sustained chronic hyperglycemia in patients with type 2 diabetes. *JAMA* 2006; 295:1681–7.
- Morgensen, C. E., and Andersen, M. J. F. (1973) *Diabetes* 22, 706-712
- Nishizuka, Y. (1986) *Science* 233, 305-312
- Nunes GL, Sousa AG, Sousa JE, Papel do endotelio na regulacao da proliferacao vascular: implicacoes na restenose pos-angioplastia coronaria. *Rev Soc Cardiol do Estado de Sao Paulo* 1996; 6(supl2): 190-6.
- Osol G, Halpern W. Spontaneous vasomotion in pressurized cerebral arteries from genetically hypertensive rats. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 254: H28–H33, 1988

- Oyama Y, Kawaski H, Hamori Y Kamo M. Attenuation of endothelium-dependent relaxation in aorta from diabetic rats. *Eur J Pharmacol* 1986; 131: 74-8.
- Pennathur S, Wagner JD, Leeuwenburgh C, et al. Ahydroxyl radical like species oxidizes cynomolgus monkey artery wall proteins in early diabetic vascular disease. *J Clin Invest* 2001; 107:853– 60.
- Pieper GM, Siebeneich W. Oral administration of the antioxidant, N-acetylcysteine, abrogates diabetes-induced endothelial dysfunction. *J Cardiovasc Pharmacol* 1998; 32: 101-5.
- Pildes RS. Neonatal hyperglycemia. *J Pediatr.* 1986; 109:905–907
- Polonsky KS, Sturis J, Bell GI 1996 Non-insulin-dependent diabetes mellitus: a genetically programmed failure of the β cell to compensate for insulin resistance. *N Engl J Med* 334:777–783
- Pratipanawatr W, Pratipanawatr T, Cusi K, Berria R, Adams JM, Jenkinson CP, Maezono K, DeFronzo RA, Mandarino LJ 2001 Skeletal muscle insulin resistance in normoglycemic subjects with a strong family history of type 2 diabetes is associated with decreased insulin-stimulated insulin receptor substrate-1 tyrosine phosphorylation. *Diabetes* 50:2572–2578
- Radziuk J, McDonald TJ, Rubenstein D, et al. Initial splanchnic extraction of ingested glucose in normal men. *Metabolism* 1978; 27:657– 69.
- Reaven GM, Hollenbeck CB, Chen YDI 1989 Relationship between glucose tolerance, insulin secretion, and insulin action in non-obese individuals with varying degrees of glucose tolerance. *Diabetologia* 32:52–55
- Rizza RA, Mandarino L, Gerich JE. Dose-response characteristics for the effects of insulin on production and utilization of glucose in man. *Am J Physiol* 1981; 240:630 - 9.
- Ross, B. D., Epstein, F. H., and Leaf, A. (1973) *Am. J. Physiol.* 225, 1165- 1171
- Saad MF, Knowler WC, Pettitt DJ, Nelson RG, Mott DM, Bennett PH 1989 Sequential changes in serum insulin concentration during development of non-insulin-dependent diabetes. *Lancet* 1:1356–1359
- Saydah SH, Fradkin J, Cowie CC. Poor control of risk factors for vascular disease among adults with previously diagnosed diabetes. *JAMA* 2004; 291:335– 42.
- Schnermann J, Briggs JP. Interaction between loop of Henle flow and arterial pressure as determinants of glomerular pressure. *Am J Physiol Renal Fluid Electrolyte Physiol* 256: F421–F429, 1989.
- Schneider SH, Morgado A 1995 Effects of fitness and physical training on carbohydrate metabolism and associated cardiovascular risk factors in patients with diabetes. *Diabetes Rev* 3:378–407
- Seyer-Hansen K. (1977) *Diabetologia* 13, 141-143
- Shi Y, Wang X, Chon KH, Cupples WA. Tubuloglomerular feedback dependent modulation of renal myogenic autoregulation by nitric oxide. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 290: R982–R991, 2006.
- Shishehbor MH, Aviles RJ, Brennan ML, et al. Association of nitrotyrosine levels with cardiovascular disease and modulation by statin therapy. *JAMA* 2003; 289:1675– 80.

Shulman GI, Rothman DL, Jue T, Stein P, DeFronzo RA, Shulman RG 1990 Quantitation of muscle glycogen synthesis in normal subjects and subjects with non-insulin dependent diabetes by ¹³C nuclear magnetic resonance spectroscopy. *N Engl J Med* 322:223–228

Sosnovtseva OV, Pavlov AN, Mosekilde E, Holstein-Rathlou NH, Marsh DJ. Double-wavelet approach to studying the modulation properties of nonstationary multimode dynamics. *Physiol Meas* 26: 351–362, 2005.

Esposito K, Nappo F, Martella R, et al. Inflammatory cytokine concentrations are acutely increased by hyperglycemia in humans: role of oxidative stress. *Circulation* 2002; 106:2067–72.

Srinivasan V, Spinella PC, Drott HR, Roth CL, Helfaer MA, Nadkarni V. Association of timing, duration, and intensity of hyperglycemia with intensive care unit mortality in critically ill children. *Pediatr Crit Care Med*. 2004; 5:329–336

Stark AR, Carlo WA, Tyson JE, et al. Adverse effects of early dexamethasone in extremely-low-birth-weight infants: National Institute of Child Health and Human Development Neonatal Research Network. *N Engl J Med*. 2001; 344:95–101

Stephane P. Hays, MD, E. O'Brian Smith, PhD, Agneta L. Suneag, MD, PhD. Hyperglycemia is a risk factor for early death and morbidity in extremely low Birth-Weight infants. *Peds*. 2006-0628.

Stonestreet BS, Rubin L, Pollak A, Cowett RM, Oh W. Renal functions of low birth weight infants with hyperglycemia and glucose produced by glucose infusion. *Pediatrics*. 1980; 66:561–567

Taylor PD, Oon BB, Thomas CR, Poston L. Prevention by insulin treatment of endothelial dysfunction but not enhanced noradrenaline-induced contractility in mesenteric resistance arteries from streptozotocin-induced diabetic rats. *Br J Pharmacol* 1994; 111: 35-41.

Terry L. Dowd S and Raj K. Gupta SB. NMR studies of the effect of hyperglycemia on intracellular cations in rat kidney. Vol, 268. No. 2, Issue of January 15, pp. 991-996, 1993

Tesfamariam B, Jakubowski JA, Cohen RA. Contraction of diabetic rabbit aorta due to endothelium-derived PGH₂/TXA₂. *Am J Physiol* 1989; 257: H1327-33.

Tesfamariam B, Brown ML, Deykin D, Cohen RA. Elevated glucose promotes generation of endothelium-derived vasoconstriction prostanoids in rabbit aorta. *J Clin Invest* 1990; 85: 929-32.

Tesfamariam B, Brown ML, Cohen RA. Elevated glucose impairs endothelium-dependent relaxation by activating protein kinase C. *J Clin Invest* 1991; 87: 1643-8.

Tesfamariam B, Cohen RA. Free radicals mediate endothelial cell dysfunction caused by elevated glucose. *Am Physiol* 1992; 263: H321-6.

Tripathy D, Carlsson M, Almgren P, Isomaa B, Taskinen M-R, Tuomi T, Groop LC 2000 Insulin secretion and insulin sensitivity in relation to glucose tolerance. Lessons from the Botnia Study. *Diabetes* 49:975–980

Trovati M, Burzacca S, Mularovi E, et al. Occurrence of low blood glucose concentrations during the afternoon in type 2 (non-insulin dependent) diabetic patients on oral hypoglycemic agents: importance of blood glucose monitoring. *Diabetologia* 1991; 34:662–7.

Tuttle, K. R., DeFronzo, R. A., and Stein, J. H. (1991) *Semin. Nephrol.* 11, 220-235.

Unger RH, Eisentraut AM. Entero-insular axis. *Arch Intern Med* 1969; 48:810 –22.

- Van Bavel E, Giezeman MJ, Mooij T, Spaan JA. Influence of pressure alterations on tone and vasomotion of isolated mesenteric small arteries of the rat. *J Physiol* 436: 371–383, 1991.
- Van den Berghe G, Wouters P, Weekers F, et al. Intensive insulin therapy in critically ill patients. *N Engl J Med*. 2001; 345:1359–1367
- Vauhkonen I, Niskanen L, Vanninen E, Kainulainen S, Uusitupa M, Laakso M 1997 Defects in insulin secretion and insulin action in non-insulin-dependent diabetes mellitus are inherited. Metabolic studies on offspring of diabetic probands. *J Clin Invest* 100:86–96
- Vohr B, Ment LR. Intraventricular hemorrhages in the preterm infant [published correction appears in *Early Hum Dev*. 1996; 45:169]. *Early Hum Dev* 1996;44:1–16
- Volpe JJ. Brain injury in the premature infant: neuropathology, clinical aspects, pathogenesis, and prevention. *Clin Perinatol*. 1997; 24:567–587
- Walker M III, Harrison-Bernard LM, Cook AK, Navar, LG. Dynamic interaction between myogenic and TGF mechanisms in afferent arteriolar bloodflow autoregulation. *Am J Physiol Renal Physiol* 279: F858–F865, 2000.
- Wang X, Loutzenhiser RD, Cupples WA. Frequency modulation of renal myogenic autoregulation by perfusion pressure. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 293: R1199–R1204, 2007.
- Weinman, E. J., Suki, W. N., and Eknoyan, G. (1975) *Kidney* 8, 493
- Weyer C, Bogardus C, Pratley RE 1999 Metabolic characteristics of individuals with impaired fasting glucose and/or impaired glucose tolerance. *Diabetes* 48:2197–2203
- Wolever TMS, Chiasson JL, Csima A, et al. Variation of postprandial plasma glucose, palatability, and symptoms associated with a standardized mixed test meal versus 75 g oral glucose. *Diabetes Care* 1998;21: 336–40.
- Yalow RS, Berson SA 1960 Immunoassay of endogenous plasma insulin in man. *J Clin Invest* 39:1157–1175
- Ziegler EE, O'Donnell AM, Nelson SE, Fomon SJ. Body composition of the reference fetus. *Growth*. 1976; 40:329–341