

UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA
FACULTAD DE MEDICINA

EFFECTOS Y MECANISMOS DE ACCIÓN
DE LOS ESTRÓGENOS-PROGESTÁGENOS
SOBRE LA MICROCIRCULACIÓN GÁSTRICA
EN LA INSUFICIENCIA RENAL CRÓNICA

Memoria presentada por **Dña. M^a Carmen Pérez Hernández**,
para acceder al grado de Doctora.

Dirigida por el Profesor Dr. **Don Enrique Quintero Carrión**.

Departamento de Medicina Interna y Psiquiatría.
Octubre, 1997

**DON ENRIQUE QUINTERO CARRIÓN, PROFESOR TITULAR DE
PATOLOGÍA MÉDICA DEL APARATO DIGESTIVO DE LA FACUL-
TAD DE MEDICINA DE LA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA.**

CERTIFICA QUE:

Los trabajos de investigación realizados por **Dña. M^a del
Carmen Pérez Hernández**, relativos a:

*«Efectos y mecanismos de acción de los estrógenos-progestágenos
sobre la microcirculación gástrica en la insuficiencia renal cró-
nica»*

han sido llevados a cabo bajo su dirección en el Labora-
torio de la Unidad de Investigación del Hospital Univer-
sitario de Canarias y el Departamento de Medicina Inter-
na y Psiquiatría de la Facultad de Medicina de la
Universidad de La Laguna.

Así hace constar que, una vez revisada la presente Memo-
ria, la encuentra apta para su defensa ante tribunal.

La Laguna a 8 de Octubre de 1997.

Fdo. Prof. Dr. Enrique Quintero Carrión.

...a Yurena, Alberto y Leonor, que representan la continuidad de la vida.
...a Mohamed Salem, que representa la lucha por la libertad y la dignidad de un pueblo.
...a mis padres.

LISTADO DE ABREVIATURAS

AGI	= arteria gástrica izquierda
E-P	= estrógenos-progestágenos
ERE	= elemento de respuesta a estrógenos
e.v.	= endovenoso
FSAGI	= flujo sanguíneo en arteria gástrica izquierda
FSG	= flujo sanguíneo gástrico
FSMG	= flujo sanguíneo de la mucosa gástrica
H&E	= hematoxilina-eosina
i.m.	= intramuscularip = intraperitoneal
IRC	= insuficiencia renal crónica
L-NAME	= n-nitro-l-arginina-metil-éster
NO	= óxido nítrico
PAM	= presión arterial media
RIA	= radioinmunoanálisis
R	= receptor
RE	= receptor de estrógenos
RVAGI	= resistencia vascular arteria gástrica izquierda
RVMG	= resistencia vascular de la mucosa gástrica
Sham-EP	= ratas sham tratadas con estrógenos-progestágenos
Sham-VH	= ratas sham tratadas con vehículo
SNC	= sistema nervioso central
SOLO	= BMDP Statistical Software, Inc. versión 2.0 8/88, Los Angeles. Ca.
Urémicas-EP	= ratas urémicas tratadas con estrógenos-progestágenos
Urémicas-VH	= ratas urémicas tratadas con vehículo
VH	= vehículo

Además, en la presente memoria se han utilizado algunas palabras inglesas, bien porque están muy arraigadas o bien porque la traducción al castellano no refleja bien su significado original (por ejemplo, sham, turn over). Asimismo, se ha mantenido alguna abreviatura según la notación inglesa (por ejemplo, NO).

ÍNDICE

I. INTRODUCCIÓN	8
1. CIRCULACIÓN GÁSTRICA	13
1.1. ANATOMÍA	13
1.1.1. Arterias principales	13
1.1.2. Microcirculación	14
1.1.2.1. Muscularis externa	14
1.1.2.2. Mucosa y Submucosa	14
1.1.2.3. Comunicaciones arterio-venosas	15
1.1.2.4. Distribución del flujo sanguíneo en la pared gástrica	16
1.2. FACTORES IMPLICADOS EN LA REGULACIÓN	
DEL FLUJO SANGUÍNEO GÁSTRICO (FSG)	16
1.2.1. Sistema Nervioso Central (SNC)	17
1.2.2. Sistema Nervioso Autónomo	17
1.2.3. Catecolaminas	18
1.2.4. Histamina	19
1.2.5. Adenosina	19
1.2.6. Hormonas gastrointestinales	20
1.2.7. Prostaglandinas	21
1.2.8. Neuropeptidos	22
1.2.9. Factores endoteliales	23
1.3. METODOLOGÍA DISPONIBLE PARA MEDIR EL FLUJO SANGUÍNEO GÁSTRICO EN MODELOS EXPERI- MENTALES	25
1.3.1. Aclaramiento de hidrógeno	25
1.3.2. Medidores miniaturizados de flujo mediante el análisis del efecto Doppler	27
1.3.3. Velocimetría del láser-Doppler	27
1.3.4. Microscopía in vivo	28
1.3.5. Técnica de las microesferas radiactivas	29
1.3.6. Espectrofotometría de reflexión	30
1.3.7. Autorradiografía con C14-yodo-antipirina	32
1.3.8. Medidores electromagnéticos de flujo	32
1.3.9. Aclaramiento de aminopirina	33
1.4. REGULACIÓN DEL FLUJO SANGUÍNEO GÁSTRICO EN CONDICIONES FISIOLÓGICAS	34

1.4.1. <i>Secreción Ácida</i>	34
1.4.2. <i>Período postprandial</i>	34
1.5. REGULACIÓN DEL FLUJO SANGUÍNEO GÁSTRICO EN CONDICIONES PATOLÓGICAS	35
2. EFECTOS DE LA UREMIA SOBRE LA FUNCIÓN Y MORFOLOGÍA DE LA MUCOSA GÁSTRICA	37
2.1. SECRECIÓN ÁCIDA	37
2.2. FLUJO SANGUÍNEO	38
2.3. MOTILIDAD GÁSTRICA	39
2.4. CAMBIOS MORFOLÓGICOS	40
3. EFECTOS DE LA UREMIA SOBRE LA INTEGRIDAD DE LA MUCOSA GÁSTRICA	41
4. HEMORRAGIA DIGESTIVA ALTA EN LA UREMIA.....	42
4.1. PREVALENCIA Y ETIOLOGÍA	42
4.2. FACTORES PREDISPONENTES Y PRONÓSTICO	43
4.3. TRATAMIENTO ENDOSCÓPICO	44
4.4. TRATAMIENTO CON ESTRÓGENOS PROGESTÁGENOS	45
5. ESTRÓGENOS-PROGESTÁGENOS	46
5.1. ESTRÓGENOS	47
5.1.1. <i>Características químicas</i>	47
5.1.1.1. Con estructura esteroidea	47
5.1.1.2. Con estructura no esteroidea	48
5.1.2. <i>Mecanismo de acción de los estrógenos</i>	48
5.1.3. <i>Acciones fisiofarmacológicas de los estrógenos</i>	50
5.1.3.1. Sobre el sistema reproductor	50
5.1.3.2. Efectos metabólicos	51
5.1.4. <i>Características farmacocinéticas</i>	51
5.2. PROGESTÁGENOS	52
5.2.1. <i>Características químicas</i>	52
5.2.2. <i>Receptor de la progesterona</i>	53
5.2.3. <i>Acciones de los progestágenos</i>	54
5.2.3.1. Progesterona	54
5.2.4. <i>Características farmacocinéticas</i>	55
5.3. EFECTOS VASCULARES DE LOS ESTRÓGENOS-PROSGESTÁGENOS	55
5.3.1. <i>Coagulación</i>	57
5.3.2. <i>Presión arterial</i>	58
5.3.3. <i>Permeabilidad vascular</i>	60
II. OBJETIVOS	61
III. MATERIAL Y MÉTODOS	63
1. MODELO DE RATA URÉMICA	64
2. MEDICIÓN DEL FLUJO SANGUÍNEO Y DE LAS RESISTENCIAS VASCULARES GÁSTRICAS	65
2.1. PREPARACIÓN DE LOS ANIMALES	65

2.2. MEDICIÓN DEL FLUJO SANGUÍNEO Y RESISTENCIAS VASCULARES DE LA MUCOSA GÁSTRICA	66
2.3. MEDICIÓN DEL FLUJO SANGUÍNEO Y RESISTENCIAS VASCULARES DE LA ARTERIA GÁSTRICA IZQUIERDA	67
3. ANÁLISIS MORFOMÉTRICO DE LA MICROCIRCULACIÓN GÁSTRICA. DETERMINACIÓN DE LA DENSIDAD VASCULAR GÁSTRICA	67
4. FÁRMACOS UTILIZADOS	68
5. DISEÑO Y PLAN DE TRABAJO	68
5.1. ESTUDIO I. EFECTO TERAPÉUTICO A CORTO Y LARGO PLAZO DE LOS ESTRÓGENOS-PROGESTÁ- GENOS SOBRE LA HEMODINÁMICA Y LA DENSIDAD VASCULAR GÁSTRICA EN RATAS URÉMICAS Y RATAS CONTROL	68
5.2. ESTUDIO II. EFECTO DEL TRATAMIENTO CON ESTRÓGENOS-PROGESTÁGENOS SOBRE LA REACTIVIDAD VASCULAR GÁSTRICA	70
6. ANÁLISIS ESTADÍSTICO	70
IV. RESULTADOS	72
1. ESTUDIO I. EFECTO DEL TRATAMIENTO CON ESTRÓGENOS-PROGESTÁGENOS SOBRE LA HEMODINÁMICA Y LA MORFOLOGÍA VASCULAR GÁSTRICA	73
1.1. ESTUDIO HEMODINÁMICO BASAL	75
1.2. EFECTO DE LOS ESTRÓGENOS-PROGESTÁGENOS SOBRE LA HEMODINÁMICA GÁSTRICA	75
1.3. EFECTO DEL TRATAMIENTO CON ESTRÓGENOS-PROGESTÁGENOS SOBRE LA DENSIDAD VASCULAR GÁSTRICA	76
2. ESTUDIO II. EFECTO DEL TRATAMIENTO CON ESTRÓGENOS-PROGESTÁGENOS SOBRE LA REACTIVIDAD VASCULAR GÁSTRICA	80
2.1. DETERMINACIONES ANALÍTICAS Y HEMODINÁMICA BASAL	80
2.2. CURVAS DOSIS-RESPUESTA TRAS LA ADMINISTRACIÓN DE L-NAME	82
2.3. CURVAS DOSIS-RESPUESTA TRAS LA ADMINISTRACIÓN DE METOXAMINA	82
2.4. CURVAS DOSIS-RESPUESTA TRAS LA ADMINISTRACIÓN DE ANGIOTENSINA II	83
V. DISCUSIÓN	94
1. EFECTO DE LOS ESTRÓGENOS-PROGESTÁGENOS SOBRE LA HEMODINÁMICA GÁSTRICA	98
2. EFECTO DE LOS ESTRÓGENOS-PROGESTÁGENOS SOBRE LA REACTIVIDAD VASCULAR GÁSTRICA	101
VI. CONCLUSIONES	105
VII. BIBLIOGRAFÍA	107

I. INTRODUCCIÓN

La hemorragia digestiva por lesiones de la mucosa gástroduodenal es una de las causas más frecuentes de hospitalización en pacientes con IRC avanzada, alcanzando en algunas series hasta el 14% de los motivos de ingreso hospitalario [1]. Los estudios que analizan las causas de hemorragia digestiva alta en pacientes urémicos muestran resultados contradictorios. Algunas series han mostrado que la angiodisplasia gástroduodenal constituye la primera causa de sangrado digestivo, con una prevalencia que oscila entre el 24-53% [2, 3], mientras que otros estudios revelan la causa más frecuente de sangrado en la uremia la úlcera péptica, o la gástroduodenitis erosiva con una incidencia del 60% [4, 5].

En los últimos años se ha confirmado que existe una clara asociación de la angiodisplasia gastrointestinal con la IRC [5, 6]. En series amplias de angiodisplasia del tracto gastrointestinal se ha observado que hasta un 35% de los pacientes eran portadores de IRC [7]. Esta lesión, caracterizada por la ectasia focal o difusa de capilares y vénula de la mucosa y submucosa gástroduodenal, tiene un amplio espectro de manifestaciones clínicas que van desde las formas asintomáticas o la anemia crónica hasta la hemorragia masiva. El diagnóstico endoscópico de estas lesiones es frecuentemente difícil, por lo que pueden pasar fácilmente desapercibidas. Macroscópicamente se manifiestan como manchas únicas o múltiples de pequeño tamaño (<7 mm.), de color rojo escarlata, que se asientan sobre una mucosa de aspecto normal. Ocasionalmente pueden agruparse formando estrías rojizas en el antro (Watermelon stomach) o afectar de forma difusa a la mucosa gástrica o duodenal simulando una «gastritis» o una «duodenitis». Estudios recientes han constata-

do que la prevalencia de angiodisplasia en pacientes con IRC es significativamente superior (13%) a la observada en sujetos con función renal conservada (1.3%) [4] y que su desarrollo parece estar relacionado con el tiempo de evolución y la gravedad de la enfermedad renal subyacente.

El tratamiento de la hemorragia por lesiones pépticas en pacientes urémicos no difiere del que se aplica a pacientes con función renal conservada. En el momento presente estas lesiones se tratan preferentemente por vía endoscópica. La administración local de adrenalina al 1/10.000 seguida de esclerosis con sustancias como el polidocanol o suero fisiológico, la termocoagulación con sonda de calor o la fotocoagulación con láser tienen una gran eficacia hemostática, no existiendo diferencias significativas entre el rendimiento terapéutico de ambas. En cuanto al tratamiento quirúrgico se reserva para aquellos pacientes con hemorragia persistente o recidivante por úlcera péptica.

Cuando la lesión responsable del sangrado es una angiodisplasia gástrica o duodenal, el tratamiento resulta más complejo. Como primera medida terapéutica se ha propuesto el tratamiento endoscópico mediante electrocoagulación, sonda de calor, esclerosis o fotocoagulación con láser. Sin embargo, con frecuencia el tratamiento endoscópico o incluso la cirugía no pueden realizarse por el carácter difuso de la lesiones, por la localización múltiple de las mismas o por el carácter recurrente de la hemorragia [8, 9]. Ello sucede con frecuencia en la angiodisplasia asociada a la IRC por lo que ha sido necesario recurrir a otras opciones terapéuticas.

Durante décadas se han utilizado los estrógenos-progestágenos (E-P) como una alternativa terapéutica válida para el control de la hemorragia digestiva producida por estas lesiones vasculares [9]. Estos fármacos, utilizados tradicionalmente en la uremia para el tratamiento de la diátesis hemorrágica [10-12] se han empleado empíricamente en la hemorragia digestiva por ectasias vasculares gastroduodenales. Existen al menos dos estudios controlados que demuestran la eficacia de la administración oral de E-P en la prevención de la hemorragia digestiva por estas lesiones vasculares [13, 14]. En el primero de ellos (realizado en pacientes con hemorragia recurrente por angiodisplasia gastrointestinal), se administraron de

forma alternativa y por períodos de 6 meses E-P o placebo, sirviendo cada paciente de control de sí mismo. El tratamiento hormonal evitó el sangrado digestivo en la mayoría de los pacientes, siendo mínimas las necesidades transfusionales. Por el contrario, durante el período de tratamiento con placebo fueron frecuentes las transfusiones sanguíneas recidivando la hemorragia en la mayoría de los casos. Estos estudios constataron que el tratamiento con E-P logra controlar la hemorragia en la mayoría de pacientes sin modificar la expresión morfológica de las lesiones. Así, tras la retirada de estos fármacos se produce invariablemente la recurrencia del sangrado. En el segundo estudio, con un diseño experimental similar al anterior se constató que tras la administración oral de etinilestradiol (0.05 mg) y noretisterona (1 mg), sólo 3 de los 13 pacientes precisaron transfusiones sanguíneas por hemorragia, mientras que 12 de los 13 pacientes tratados con placebo requirieron trasfusiones. Estos estudios controlados pusieron de manifiesto que este tratamiento hormonal no se asociaba a efectos adversos graves en comparación con el placebo, si bien el tiempo de seguimiento de los mismos fue relativamente corto.

Los estudios en los que se ha evaluado el tratamiento con E-P para la hemorragia por angiodisplasia gastrointestinal en pacientes urémicos, son todos no controlados e incluyen un escaso número de pacientes. La administración oral de E-P a pacientes urémicos con anemia ferropénica o hemorragia recurrente por angiodisplasia gastrointestinal se acompaña del cese del sangrado y de una reducción significativa del número de transfusiones en la mayoría de pacientes [15, 16].

Hasta el momento presente se desconocen los mecanismos por los cuales los E-P consiguen el cese del sangrado digestivo en estos pacientes. Se ha sugerido que pueden actuar a diferentes niveles: **1)** existen evidencias clínicas y experimentales de que estas hormonas actúan sobre la coagulación reduciendo el tiempo de hemorragia [11, 17, 18]; **2)** es posible que ejerzan un efecto beneficioso sobre el endotelio vascular aumentando su resistencia ante la exposición a diferentes noxas [19]; **3)** existen evidencias indirectas de que pueden actuar sobre la microcirculación mesentérica enlenteciendo el flujo sanguíneo por mecanismos no bien conocidos [20]; y **4)** pue-

den alterar la reactividad vascular a las catecolaminas [21-23] y vasopresina [24] potenciando su efecto vasoconstrictor.

La administración parenteral de una dosis única de E-P en pacientes urémicos con diátesis hemorrágica consigue reducir el tiempo de sangrado durante un período de 72 horas [10]. La administración continuada de estos fármacos consigue el cese del sangrado y un acortamiento del tiempo de sangrado (entre 30 y 15 minutos o menos) en el 50% de los pacientes. Este efecto es máximo a los cuatro o cinco días del comienzo del tratamiento. Los preparados estrogénicos orales también se han mostrado eficaces en el control de la diátesis hemorrágica en pacientes urémicos [17]. La administración oral de estrógenos conjugados consigue unos efectos similares a los obtenidos mediante la administración parenteral, reduciéndose el tiempo de sangrado aproximadamente a los siete días del comienzo del tratamiento.

Recientemente se ha tratado de identificar el componente activo de los estrógenos conjugados responsables de la reducción del tiempo de hemorragia en la uremia, así como establecer si existe o no un receptor específico para esta actividad que pudiera ser antagonizado [10]. Estos estudios han sugerido que el 17 β -estradiol y el sulfato de estrona son los componentes activos y responsables de este efecto en un modelo de rata urémica. El 17 β -estradiol tiene un efecto prolongado y su actividad está mediada por un receptor específico que puede ser neutralizado con antagonistas como el tamoxifeno o el clomifeno. En esta misma línea de investigación se ha estudiado el zeranol, un compuesto con una estructura química similar a los estrógenos pero con menor actividad estrogénica y menos efectos secundarios. Esta sustancia, cuya actividad está ligada a los receptores estrogénicos, controla el sangrado en las ratas urémicas de forma duradera, siendo activa desde la primera administración [19].

Estudios previos realizados en un modelo de rata urémica han constatado que la uremia se asocia a una circulación hiperdinámica gástrica, caracterizada por un aumento del flujo sanguíneo asociado a una marcada reducción de las resistencias vasculares gástricas. Estos cambios están modulados, al menos en parte, por un aumento en la síntesis local del óxido nítrico.

En el presente estudio se planteó la hipótesis de que los estrógenos-progestágenos pudieran revertir la circulación hiperdi-

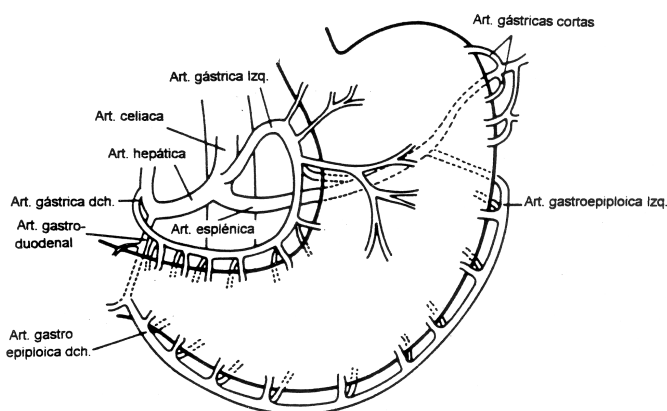
námica gástrica descrita en dicho modelo experimental, bien alterando la morfología vascular o bien mediante un efecto sobre la reactividad vascular gástrica.

1. CIRCULACIÓN GÁSTRICA

1.1. ANATOMÍA

1.1.1. Arterias principales

El principal aporte del estómago proviene de la arteria celiaca, que a su vez es rama de la aorta abdominal; esta rama surge entre las vértebras doce dorsal y primera lumbar [25]. La irrigación de este órgano se realiza mediante seis arterias principales como ya describió Michels en 1955 y ha sido confirmado recientemente por estudios angiográficos [26].



Irrigación arterial del estómago

La arteria gástrica izquierda irriga el tercio inferior del esófago y la porción superior derecha del estómago. La arteria gástrica derecha, rama de la hepática, irriga su porción derecha. El fundus se nutre por arterias gástricas cortas, ramas de la esplénica. La gastroe-

piploica izquierda, también rama de la esplénica, irriga la parte superior de la curvatura mayor, mientras que la parte inferior depende de la gastroepiploica derecha, rama de la gastroduodenal, la cual, a su vez, procede de la arteria hepática.

1.1.2. Microcirculación

1.1.2.1. Muscularis externa

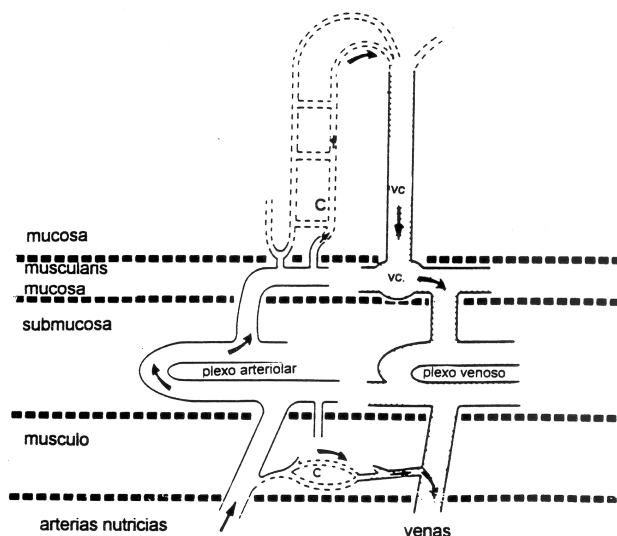
No hay una definición concluyente sobre el aporte vascular de la capa muscular del estómago. Los estudios realizados en ratas revelan que las ramas de las arterias suministradoras penetran el revestimiento muscular enviando ramas al músculo [27]. Estas arterias surgen y se ramifican dividiéndose finalmente en capilares, que transcurren por las capas superficiales y profundas del músculo, estableciéndose una comunicación entre los diferentes planos. La arteriola terminal se divide en capilares formando vías de conducción. Este tipo de comunicación es diferente al de las anastomosis arteriovenosas: los canales de conducción están formados por una arteriola que alcanza el tamaño de un capilar (metarteriola), continuando posteriormente en un tramo para terminar en una vénula y de esta forma se cierra el lecho capilar. La red capilar drena en las vénulas acompañada de las arteriolas, volviendo a drenar éstas en las venas que salen del plexo submucoso. En estudios con microscopía de electrodos [28] se ha observado que los capilares presentan una orientación característica. En piezas de estómagos humanos postmortem, se ha descrito la presencia de una subserosa y un plexo vascular profundo [29].

1.1.2.2. Mucosa y Submucosa

Después de que las arterias suministradoras atraviesan la capa muscular, van a la porción externa de la submucosa, formando una arcada arteriolar que se anastomosa entre sí, y se dispone en sentido transversal [27, 30]. En esta parte de la pared gástrica existe una red

capilar muy poco densa y algunas de las ramas arteriolas formadas a este nivel se dirigen retrógradamente hacia la capa muscular. De la arcada arteriolar submucosa salen arteriolas de pequeño calibre que atraviesan la *muscularis mucosa* en sentido perpendicular y a partir de las cuales se forma la red capilar de la mucosa.

Los capilares mucosos ascienden de forma perpendicular hasta la porción más superficial, bordeando las glándulas gástricas y dando ramas que en disposición horizontal se conectan con otros capilares ascendentes [31]. En la parte más superficial de la mucosa los capilares forman un entramado que converge en vénulas colectoras, que de forma descendente y perpendicular atraviesan las diversas capas formando vénulas en disposición muy parecida a la de las arteriolas en cada capa de la pared gástrica [32].



Microcirculación gástrica

1.1.2.3. Comunicaciones arterio-venosas

En estudios realizados con técnicas de inyección de colorantes en estómagos humanos [30], se ha descrito la presencia de anastomosis arteriovenosas o shunts en la submucosa. Esta distribución

ofrece un posible mecanismo para el control del flujo sanguíneo de la mucosa. Estudios con microesferas de cristal en perros [33], han mostrado que el flujo sanguíneo de la mucosa está en función de la resistencia arteriolar de la mucosa y la resistencia de los shunts.

Más recientemente, estudios anatómicos y fisiológicos cuestionan la existencia de estos shunts. Investigaciones en ratas con técnicas de microscopía en vivo [27, 34, 35] y en gatos [36] han fracasado en revelar la existencia de estos shunts; Piasecki [29] en un estudio similar al de Barlow [30] y al de Gannon [34] mediante microscopía electrónica no pudieron confirmar la presencia de anastomosis arteriovenosas en estómagos humanos.

1.1.2.4. Distribución del flujo sanguíneo en la pared gástrica

Los pequeños vasos de la mucosa y submucosa gástrica están conectados en serie. Las principales arterias suministradoras envían ramas a la capa muscular continuando a la submucosa y dando lugar al plexo arteriolar de ésta. Este lecho vascular de la capa muscular está en paralelo con el de la mucosa-submucosa, explicando esta configuración anatómica los cambios en la distribución del flujo entre la muscular y la mucosa-submucosa en ciertas condiciones experimentales [37].

La distribución anatómica de la red arteriolar de la submucosa explica la importancia en el control del flujo sanguíneo para la mucosa, pues el flujo sanguíneo de ésta disminuye por constricción de los vasos y se incrementa por la dilatación de estos vasos [38].

1.2. FACTORES IMPLICADOS EN LA REGULACIÓN DEL FLUJO SANGUÍNEO GÁSTRICO (FSG)

El flujo sanguíneo del estómago está controlado por múltiples factores destacando la interrelación entre estímulos nerviosos, la acción de péptidos circulantes y factores vasoactivos locales.

1.2.1. Sistema Nervioso Central (SNC)

Conocer el papel que desempeña el SNC sobre la regulación del FSG es tarea difícil, dado que muchos de los estímulos centrales que modulan dicho flujo también influyen en otras funciones como la secreción ácida o la motilidad, con lo cual se hace difícil distinguir entre un efecto puro vascular o un efecto sobre el flujo, en relación con la estimulación de estas otras funciones. Consecuentemente, existen pocos estudios sobre la influencia del SNC sobre el FSG, además de ofrecer resultados contradictorios en la literatura a este respecto.

La mayoría de los estudios se han realizado mediante estimulación química o eléctrica de la zona hipotalámica. Se ha descrito que la estimulación del hipotálamo anterior aumentaba el FSG y la secreción ácida, mientras que la estimulación del hipotálamo posterior producía disminución, tanto del FSG como de la secreción. Se ha demostrado que la estimulación eléctrica del hipotálamo lateral incrementaba el FSG, en tanto que la estimulación del ala cinérea lo disminuía [39, 40]. Otros autores demostraron un incremento del FSG, al estimular eléctricamente la porción caudal del hipotálamo ventromedial [41].

1.2.2. Sistema Nervioso Autónomo

La innervación simpática del estómago procede de los nervios espinales, desde el sexto al décimo, hasta terminar en el ganglio celíaco, donde se inician fibras post-ganglionares que acompañan en su trayecto a las arterias que irrigan el estómago. Mediante estudios histológicos con métodos de fluorescencia, se ha podido comprobar que las arteriolas de la capa basal de la mucosa y de la submucosa tienen una abundante innervación adrenérgica, mientras que los capilares de la mucosa reciben un escaso número de fibras simpáticas.

La estimulación eléctrica de las fibras simpáticas del estómago produce un descenso marcado del FSG. Este efecto está mediado por la liberación de norepinefrina y se bloquea por la administración de antagonistas alfa-adrenérgicos [42].

Se ha comprobado que la reducción del FSG inducida por la estimulación de fibras simpáticas es transitoria y que tras la estimulación prolongada el FSG vuelve a los valores basales, fenómeno que se ha denominado de «escape autorregulador» de la influencia vasoconstrictora adrenérgica [43]. Este fenómeno se produce como consecuencia de una vasodilatación, en respuesta a la vasoconstricción inducida por la estimulación simpática y no por la apertura de *shunts* arteriovenosos como se había pensado en un principio [44].

La innervación parasimpática en el estómago tiene lugar a través de los nervios vagos. La estimulación vagal produce un incremento del FSG y también un aumento de la secreción ácida [43], mientras que el flujo sanguíneo mucoso gástrico se reduce inmediatamente después de realizar una vagotomía [45].

La hiperemia gástrica inducida por la estimulación parasimpática está mediada por neuronas colinérgicas y no colinérgicas. La acetilcolina es el mediador responsable de la vasodilatación, tras el estímulo de fibras parasimpáticas eferentes.

El incremento no colinérgico del flujo sanguíneo inducido por la estimulación vagal prolongada, está mediado por la activación de las fibras nerviosas aferentes presentes en los nervios vagos [46].

Existen evidencias de una cierta interrelación entre los sistemas simpático y parasimpático en la regulación del FSG. Así, se ha comprobado que la estimulación vagal disminuye la respuesta vasoconstrictora inducida por la estimulación del sistema simpático del plexo celíaco, de una forma mucho más marcada que la producida por la administración exógena de norepinefrina [47]. Además, se ha demostrado en estudios *in vitro*, con segmentos de arteria gástrica, una inhibición colinérgica de la neurotransmisión adrenérgica.

1.2.3. Catecolaminas

Los estudios en los que se ha investigado el papel de diversas catecolaminas administradas de forma exógena sobre el FSG han aportado resultados muy discrepantes [42, 47]. Ello se debe probablemente a las diferencias en los modelos experimentales empleados, las técnicas usadas para medir flujo, la vía de administración, las dosis de las sustan-

cias empleadas y el tipo de anestesia. Algunos estudios realizados hace bastantes años habían concluido que la epinefrina ejercía un efecto vasodilatador y la norepinefrina un efecto vasoconstrictor cuando eran administradas en un rango amplio de dosis por vía intravenosa [48]. Sin embargo, estudios algo más recientes realizados en arterias gástricas aisladas [47] o por medio de la técnica de microscopía *in vivo* [49] han demostrado que tanto la epinefrina como la norepinefrina tienen un efecto vasoconstrictor, por lo menos en la fase inicial de su aplicación. Se ha constatado que a este efecto vasoconstrictor, le sigue un fenómeno de escape con la siguiente vasodilatación que revierte la caída de flujo inicial, incluso por encima de los valores basales en el caso de la epinefrina [42]. Esto explicaría que algunos autores hayan observado vasodilatación tras la administración de epinefrina, al realizar las mediciones de flujo tardíamente.

1.2.4. *Histamina*

El efecto de la histamina sobre la FSG parece ser diferente en relación con la especie animal, la dosis y la vía de administración. Así, existe unanimidad en cuanto a, [50] que en la rata la histamina aumenta el FSG a través de la estimulación de receptores H_1 y probablemente también H_2 . En cambio, en el conejo la estimulación de los receptores H_1 produce vasoconstricción [51].

1.2.5. *Adenosina*

La adenosina ejerce un efecto vasodilatador en la mayoría de territorios vasculares, aunque en algunos órganos como el riñón tiene un efecto vasoconstrictor o vasodilatador, dependiendo de las concentraciones de este nucleósido [52]. En general, se cree que la adenosina tiene un papel importante en la regulación del flujo sanguíneo en respuesta a diferentes demandas metabólicas de los tejidos, ya sea para llevar a cabo funciones fisiológicas que requieran un alto consumo de oxígeno, o en situaciones en que se produce una reducción patológica en el aporte de oxígeno a los tejidos [53].

En el aparato digestivo la adenosina cumple también estas funciones [54]. En el estómago se ha puesto en evidencia que las arteriolas de la submucosa gástrica contienen receptores de adenosina del subtipo A_2 , [55] y sería a través de estos receptores como se produciría vasodilatación de la mucosa gástrica en diferentes situaciones. Se ha demostrado que la adenosina está, en parte, involucrada en la vasodilatación del territorio gástrico que acompaña la estimulación de la secreción ácida con pentagastrina [55].

1.2.6. Hormonas gastrointestinales

Estudios del FSG realizados hace ya algunos años, con aclaramiento de aminopirina habían aportado datos indicando que todas y cada una de las hormonas que influyen en la secreción ácida gástrica producen cambios en uno u otro sentido en el FSG. Sin embargo, hoy día sabemos que esta técnica es poco sensible para determinar cambios reales de FSG cuando se utiliza en condiciones de estimulación o inhibición de la secreción ácida [56]. Utilizando otras técnicas para medir el FSG, se ha demostrado que la pentagastrina produce un incremento del FSG en relación con su estimulación de la secreción ácida [57] y que este efecto puede estar mediado en parte por la liberación de adenosina [55], pero fundamentalmente por la liberación de óxido nítrico a partir del endotelio vascular [58].

La infusión de vasopresina causa de forma homogénea una marcada vasoconstricción generalizada que incluye el estómago, y ello ha sido objetivado en la mayoría de especies animales y también en el hombre [59]. Resultados algo más discrepantes se han descrito con el uso de somatostatina en animales de experimentación, ya que algunos estudios han hallado una clara reducción del FSG con la administración de esta hormona en perros [60], mientras que otros estudios no han conseguido corroborar este efecto en la rata [61]. El efecto de la somatostatina sobre el FSG en humanos ha sido escasamente investigado, pero en dos estudios, uno en sujetos sanos [62] y otro en pacientes cirróticos [63], se ha demostrado un efecto vasoconstrictor gástrico.

La información sobre el efecto de otras hormonas sobre el FSG es todavía más escasa [64]. Existen evidencias de que la secretina natural, pero no la sintética, produce vasodilatación gástrica [65]. La colecistoquinina ejerce un potente efecto vasodilatador gástrico [65]. El posible efecto del VIP y el glucagón sobre el Flujo Sanguíneo Gástrico no es bien conocido; existen evidencias de que el glucagón ejerce una acción vasodilatadora en el intestino [66], pero no así en el estómago [65].

1.2.7. Prostaglandinas

Las prostaglandinas, productos del metabolismo del ácido araquidónico, son sustancias producidas en múltiples tejidos que ejercen sus efectos de forma local ya que son metabolizadas con gran rapidez. En la mucosa gástrica, como en la mayoría de los tejidos, se producen todos los metabolitos del ácido araquidónico [67], tanto los derivados de la vía de la ciclooxigenasa como los de la vía de la lipooxigenasa. Las funciones de estos prostanoides en el estómago son múltiples, pero una de las más importantes es su efecto sobre la microcirculación, tanto en condiciones fisiológicas como en circunstancias patológicas. Tanto la PGI_2 como la PGE_2 producen vasodilatación gástrica, y ello ha sido demostrado en diferentes especies animales utilizando una amplia variedad de técnicas para medir el FSG [68]. Como consecuencia de este efecto, la inhibición de la ciclooxigenasa con aspirina o indometacina produce una reducción del FSG [69], siendo éste uno de los mecanismos por los que estos fármacos producen lesiones de la mucosa gástrica. Estos prostanoides probablemente participan en el mantenimiento del tono vascular gástrico en condiciones basales, pero su efecto más evidente ha sido puesto de manifiesto en la regulación del FSG en condiciones patológicas o de agresión de la mucosa gástrica, como veremos más adelante.

En cuanto a otros derivados del ácido araquidónico, se ha comprobado que la $\text{PGF}_{2\alpha}$, un endoperoxido epoximetano, el tromboxano y el leucotrieno C_4 producen una intensa vasoconstricción tanto de arterias como de vénulas de la submucosa gástrica, mientras que

productos de la lipooxigenasa tales como el LTB_4 o el LTD_4 no parecen ejercer el mismo efecto [70].

1.2.8. *Neuropéptidos*

Neuronas primarias aferentes de origen espinal y vagal contribuyen a la regulación del flujo sanguíneo gástrico. Dichas neuronas son específicamente sensibles a la capsaicina (ingrediente picante de la pimienta roja). Esta es una excitotoxina de las neuronas sensoriales capaz de producir dos efectos bien conocidos. Inmediatamente después de la administración de dosis bajas (menor de 1 mmol) estimula las neuronas por interacción de los canales catiónicos de la membrana celular, dando lugar a la liberación de neurotransmisores como el CGRP (péptido relacionado con el gen de la calcitonina) o sustancia P [71]. A dosis altas las neuronas son invadidas por cationes que producen inicialmente una excitación y posteriormente una desfuncionalización prolongada, con el consiguiente daño morfológico y deplección de neurotransmisores [71]. La capsaicina actúa selectivamente sobre un grupo de neuronas aferentes en mamíferos que se han denominado «neuronas aferentes sensibles a la capsaicina».

La aplicación tópica de capsaicina estimula las fibras nerviosas sensoriales, produciendo dilatación de las arteriolas submucosas del estómago de rata [24]. Así mismo la administración intragástrica de capsaicina produce hiperemia de la mucosa. Este efecto no se observa en ratas que han sido tratadas previamente con una dosis tóxica de capsaicina [72].

Estudios recientes han constatado que el péptido del gen relacionado con la calcitonina (CGRP) es el neuropéptido responsable de la vasodilatación gástrica, producida tras el estímulo con capsaicina [24].

Recientemente se ha constatado que la respuesta hiperémica secundaria a la retrodifusión de hidrogeniones en la mucosa gástrica está mediada por estas neuronas sensoriales no adrenérgicas no colinérgicas [71]. Sin embargo no está claro el papel que estas neuronas juegan en el mantenimiento del tono vascular basal de las arteriolas gástricas.

1.2.9. Factores endoteliales

Desde hace más de una década se conoce la existencia de uno o varios factores generados por el propio endotelio, con una importancia crucial en la regulación del tono vascular en cualquier territorio [73]. Estudios realizados durante estos últimos 10 años han demostrado que el efecto vasodilatador de sustancias como la acetilcolina o la sustancia P, ejercen su efecto vasoactivo sólo en presencia de un endotelio vascular intacto. A la sustancia liberada por el endotelio en respuesta a diferentes vasodilatadores se le denominó factor relajante derivado del endotelio (EDRF), y se comprobó que su efecto vasorrelajante se producía al activar la guanilatociclasa con la consiguiente producción de GMPc, que a su vez producía la relajación de la fibra muscular lisa de la pared vascular. En 1987 se determinó que esta sustancia correspondía al óxido nítrico (NO). Las células endoteliales producen NO a partir de la L-Arginina mediante la acción de una familia de enzimas denominadas Oxido-nítrico sintasas [74]. El NO, que tiene una vida metabólica media inferior a los 6 segundos, actúa sobre el músculo liso adyacente activando la enzima guanilato-ciclasa soluble, generándose guanosina monofosfato cíclico (GMPc) que es fosforilado y actúa produciendo la relajación de la musculatura lisa vascular. Un avance importante en el estudio de los efectos circulatorios del NO ha sido el descubrimiento de los análogos de la L-Arginina que actúan competitivamente con las óxido nítrico sintasas, inhibiendo la síntesis de NO.

El NO endógeno ha sido implicado en la regulación del flujo sanguíneo basal gástrico. Asimismo, parece probable que sea el mediador final de la respuesta hiperémica inducida por hormonas o neurotransmisores.

Estudios realizados en ratas han constatado que la administración de análogos de la arginina produce un aumento dosis-dependiente de la presión arterial y un descenso significativo, también dosis-dependiente, del flujo sanguíneo de la mucosa gástrica [75]. Ello sugiere que el NO juega un papel importante en la modulación del tono basal vascular de la mucosa gástrica. Adicionalmente, existen evidencias de que el NO es uno de los mediadores de la hiperemia gástrica asociada al estímulo de la secreción ácida con pentagastrina

[75], o a la hiperemia gástrica inducida por estímulo de neuronas sensoriales sensibles a la capsaicina [76].

El NO actúa conjuntamente con las PGs y los neuropéptidos sensoriales en la homeostasis de la microcirculación gástrica, siendo todos ellos elementos fundamentales en el mantenimiento de la integridad de la mucosa gástrica.

A raíz del desarrollo de inhibidores específicos de la formación de ON a partir de las sintasas presentes en la célula endotelial, se ha podido caracterizar el importantísimo papel que este factor endotelial tiene en la homeostasis circulatoria. Con respecto a la microcirculación gástrica, se ha demostrado recientemente que la síntesis endógena de NO está claramente implicada en la regulación del FSG, tanto en condiciones basales [75] como en condiciones de demanda metabólica incrementada, como es el caso de la estimulación de la secreción ácida con pentagastrina [58].

En las células endoteliales se produce también prostaciclina [77]. La prostaciclina es un potente vasodilatador que inhibe la agregación plaquetaria y es degradada rápidamente a 6-keto-prostaglandina f1-alfa, que tiene una vida media metabólica muy corta. Fisiológicamente, la prostaciclina y otras PGs tienen un efecto paracrino y no endocrino [78]; por tanto, la síntesis y liberación de PGs por el endotelio tienen un efecto local y no sistémico. Sobre el músculo liso vascular producen un potente efecto vasodilatador que puede estar mediado por una respuesta vascular alterada a otras sustancias vasoactivas [79], o por alteraciones en las cantidades de neurotransmisores adrenérgicos liberados por el sistema nervioso simpático [80]. En la luz vascular las PGs previenen la agregación de plaquetas y la adhesión de otras células sanguíneas al endotelio [78].

Las PGs endógenas de la serie I y E juegan un papel importante en el mantenimiento del tono basal arterial y del flujo sanguíneo basal gástrico. La inhibición de la síntesis de las PGs tras la administración de Indometacina produce una reducción del diámetro de las arteriolas de la submucosa gástrica que regulan el flujo de la mucosa [31].

Además de los factores vasorrelajantes, el endotelio produce también sustancias con potente efecto vasoconstrictor. El mejor

caracterizado es la endotelina, un potente vasoconstrictor liberado por la células endoteliales en respuesta a diferentes estímulos [81]. Se sabe que este péptido es liberado por la célula endotelial tras la incubación con diversas sustancias, entre ellas la epinefrina, la trombina o el calcio inóforo A23187. En la microcirculación gástrica la infusión de endotelina produce una marcada vasoconstricción y ello se traduce en una importante lesión de la mucosa [76, 82].

Hasta el momento presente se han descrito tres isoformas denominadas ET.1, ET.2 y ET.3. La mayor parte de las funciones que se han atribuido a estos péptidos, tienen un carácter hipotético y se basan en estudios que analizan los efectos de la administración exógena de endotelina y no en los efectos producidos por cambios en la producción endógena. La mayoría de los estudios existentes relacionados con endotelina y estómago tratan de su posible efecto como agente causal de daño mucoso y no como un posible regulador del flujo sanguíneo.

Actualmente no existe ninguna evidencia que demuestre que la endotelina sea un factor modulador del tono vascular basal gástrico.

1.3. METODOLOGÍA DISPONIBLE PARA MEDIR EL FLUJO SANGÜÍNEO GÁSTRICO EN MODELOS EXPERIMENTALES

Existe una amplia metodología para medir el flujo sanguíneo gástrico. Cada una de estas técnicas ofrece una serie de ventajas pero también presenta algunos inconvenientes y limitaciones.

1.3.1. *Aclaramiento de hidrógeno*

La aplicación de esta técnica para la medición del FSG fue descrita inicialmente por Murakami et al., (1982) [83] utilizando 100% de hidrógeno; posteriormente fue modificada por Leung et al., (1984) [84] al emplear hidrógeno al 3%, una concentración que no tiene potencial explosivo.

Esta técnica se basa en la inhalación de hidrógeno que se difunde rápidamente y satura todos los tejidos, incluida la mucosa gástrica. El H_2 molecular al contacto con un electrodo de platino se oxida y genera una corriente eléctrica que es directamente proporcional a la concentración de H_2 en la punta del electrodo [84]. La formación de esta corriente registrada durante la saturación genera una curva que tarda de 5 a 10 minutos en alcanzar un nivel estable. En este punto se retira la inhalación de hidrógeno, produciéndose la desaturación del tejido por el paso de dicho gas a la sangre capilar. Ello da lugar a un descenso progresivo en la formación de electrones que se traduce en una curva de desaturación inversa a la obtenida durante la saturación, hasta llegar a la línea basal. El cálculo logarítmico de la pendiente de esta curva en relación con el coeficiente de partición conocido del hidrógeno para aquel determinado medio y el tiempo que tarda la curva en alcanzar la línea basal, determina el FSG en ml/min/100 g. de tejido. Este cálculo se puede hacer mediante la aplicación computarizada de fórmulas mono o biexponenciales [85].

El electrodo de platino puede colocarse tanto en la en la parte luminal de la mucosa gástrica, introduciéndolo a través del fundus gástrico, como en la parte basal de la mucosa mediante la inserción del mismo a través de la serosa y de la capa muscular [57]. Los electrodos pueden ser del tipo de anillo o del tipo de aguja [86]. Esta técnica ha sido ampliamente validada en la medición del FSG en comparación con otras técnicas, tales como medidores electromagnéticos o la técnica de microesferas. Tiene la ventaja de que pueden hacerse mediciones seriadas de FSG en diferentes condiciones experimentales y el inconveniente de que expresa el FSG en un período de 10-15 minutos, que es el tiempo que suele tardar la curva de desaturación del hidrógeno para alcanzar la línea basal y, por lo tanto, pueden pasar desapercibidos cambios de FSG dentro de este período de tiempo. Aunque con mucha menos difusión, también se han utilizado otros gases inertes marcados como el $85K$ o el $133Xe$ para la medición del FSG mediante técnicas de aclaramiento [87].

1.3.2. Medidores miniaturizados de flujo mediante el análisis del efecto Doppler

En 1981, Haywood et al. [88] desarrollaron unos medidores de flujo basados en la determinación del efecto Doppler pulsátil sobre un único vaso arterial. Estos aparatos, que se implantan alrededor de una determinada arteria, dan una información muy fiable del flujo de aquel territorio vascular, pero en la fase inicial de su desarrollo tenían el inconveniente de su tamaño, que sólo permitía su aplicación a vasos de gran calibre. Esta técnica permite medir el flujo sanguíneo de un vaso teniendo en cuenta el tiempo de tránsito de una onda acústica que circula entre dos transductores que van acoplados a una sonda perivascular miniaturizada. El tiempo de tránsito es proporcional a la velocidad media del medio que conduce el ultrasonido y a la distancia. El flujo es medido directamente en ml/min. con independencia del diámetro, forma del vaso, del flujo o de la alineación del vaso con los transductores. Recientemente se han desarrollado medidores miniaturizados del efecto Doppler que permiten su implantación en vasos de pequeño calibre llegando a aplicar en arterias de 200 μ m [89].

1.3.3. Velocimetría del láser-Doppler

Esta técnica ofrece una estimación continua de la perfusión del tejido basada en el desplazamiento de la longitud de onda que sufre la luz reflejada en un cuerpo en movimiento, como consecuencia del efecto Doppler [90]. El equipamiento consiste en un láser de Helio-neón de 2mW, un foto detector acoplado a una unidad de procesamiento de las señales y una sonda. La luz emitida por el láser es conducida hasta la mucosa por uno de los haces de fibra óptica de la sonda. La luz reflejada por el tejido es devuelta al foto-detector por otro haz de fibras ópticas. Determinando en cada instante la fracción de la luz reflejada que ha sufrido un desplazamiento en la longitud de onda, la unidad procesadora estima cada 0,2 seg y de forma continua el valor de la señal láser-Doppler, que resulta proporcional al número de hematíes del área estudiada y la velocidad a

la que estos se desplazan. La señal del láser-Doppler es recogida por un registrador y se expresa en voltios.

Diversos estudios experimentales han demostrado que la intensidad de la señal láser-Doppler se correlaciona con el flujo gástrico o intestinal estimado mediante la técnica de las microesferas radiactivas, medidores electromagnéticos de flujo o aclaramiento de hidrógeno [90-92]. Sin embargo, las correlaciones de la señal de láser-Doppler con el flujo medido con las otras técnicas son débiles y no se puede efectuar una conversión de voltios a unidades absolutas de flujo. Esta técnica es de muy fácil aplicación y puede resultar útil sobre todo para monitorizar el efecto agudo de la administración de fármacos sobre el flujo gástrico, ya que los cambios pueden expresarse como variaciones respecto al nivel basal.

Las limitaciones de esta técnica incluyen, además de la imposibilidad de estimar el flujo en unidades absolutas (ml/min/100 gr), la dificultad para mantener un acoplamiento óptimo constante entre la sonda de láser y la superficie de la mucosa gástrica, debido tanto a los movimientos peristálticos como a los respiratorios. Una excesiva presión de la sonda sobre la mucosa puede causar una disminución del flujo [93]. Por otra parte, en modelos *in vitro* e *in vivo* [91] han constatado que la señal de láser puede modificarse alterando tanto el flujo de un vaso sanguíneo como el hematocrito. Por tanto, cambios en la concentración de hemoglobina del tejido interfieren en la estimación de flujo mediante láser-Doppler [94].

1.3.4. Microscopía *in vivo*

La técnica de microscopía *in vivo* para estudiar la microcirculación gástrica se lleva a cabo mediante la exteriorización del estómago del animal después de la laparotomía, aplicando transiluminación de la pared gástrica y visualizando la misma mediante un microscopio de disección conectado a una videocámara y a un monitor de televisión. De esta manera puede estudiarse tanto la microcirculación superficial de la mucosa como la de la submucosa [95, 96]. Para estudiar la mucosa se realiza una incisión en el fundus y se revierte la pared gástrica, dejando expuesta la mucosa y aplicando la fuente de luz en la parte

externa correspondiente a la serosa. Así, puede visualizarse la circulación del entramado de la red de capilares y de venas colectoras de la superficie de la mucosa. Para estudiar la microcirculación de la submucosa se realiza una pequeña incisión en la serosa y muscular del estómago y se transilumina la pared desde la vertiente luminal. Una vez expuestas y visualizadas las arterias y venas de la submucosa, puede medirse el calibre de cada uno de estos vasos en imágenes ampliadas.

Además de visualizar directamente los fenómenos que suceden en la circulación de todos los elementos celulares de la sangre, puede aplicarse un método para medir la velocidad del flujo en un determinado vaso [97]. Esto se realiza sobre la grabación en vídeo de las imágenes que luego son ampliadas y pasadas a cámara lenta en un monitor que dispone de un aparato computarizado de análisis fotométrico, el cual permite calcular la velocidad de las células sanguíneas mediante el cálculo del tiempo que tardan éstas en ir de un punto a otro de un segmento vascular. El flujo sanguíneo es, de esta manera, calculado como producto de la velocidad de los hematíes por el diámetro del vaso estudiado.

En la realización de esta metodología pueden también aplicarse técnicas de fluorescencia, que permiten estudiar la permeabilidad vascular a grandes macromoléculas y la existencia de *shunts* arterio-venosos [98].

Esta técnica tiene su máxima utilidad en el estudio de factores vasodilatadores y vasoconstrictores sobre los vasos de la submucosa, los cuales tienen un papel determinante en la regulación del flujo sanguíneo de la mucosa. En cuanto a la estimación del flujo de la propia mucosa, esta es una técnica útil y reproducible, pero hay que tener en cuenta que la medida del flujo se obtiene de un único capilar o de un grupo de capilares de la parte más superficial de la mucosa, lo cual quizá no siempre sea absolutamente representativo del flujo total de la capa mucosa.

1.3.5. Técnica de las microesferas radiactivas

Consiste en la inyección en el ventrículo izquierdo de esferas radiactivas de reducido tamaño, las cuales se distribuyen por toda la

circulación periférica hasta quedar atrapadas en las pequeñas arteriolas y capilares [99-101]. A continuación el animal es sacrificado, los órganos aislados y su radiactividad medida mediante gamma-cámara. Una muestra de referencia del número de esferas circulando en sangre periférica se obtiene mediante extracción de sangre de la arteria femoral. La cantidad de microesferas atrapadas en cada órgano es proporcional a la fracción del gasto cardíaco que va a parar a aquel determinado órgano, de tal manera que conociendo el gasto cardíaco, la cantidad total de radiactividad inyectada y la radiactividad detectada en un determinado órgano, se calcula el flujo total de aquel órgano en ml/min/100 g.

El tamaño ideal de las microesferas para la medición del FSG oscila entre 10 y 15 μ m siendo la estimación del flujo más precisa cuantas más microesferas se inyecten. En aquellos territorios vasculares donde el número de microesferas impactadas es muy bajo, el error en la estimación del flujo es muy grande.

Esta técnica mide de forma bastante precisa el flujo total del estómago en un solo tiempo. Se han introducido variaciones para medir la distribución de flujos en las diferentes capas del estómago o flujos totales a diferentes tiempos [99, 100, 101]. Se ha llevado a cabo mediante la inyección de esferas de diferentes tamaños y marcadas con distintos isótopos o mediante la inyección de microesferas del mismo tamaño pero marcadas con distintos isótopos e inyectadas a diferentes tiempos. Sin embargo, el error en la estimación del flujo aumenta considerablemente con esta metodología, ya que, por una parte, las microesferas impactadas en la primera inyección pueden privar la progresión de las esferas inyectadas a continuación y, por otra, cambios en el diámetro de los vasos desde la primera a la segunda inyección pueden producir migración de las microesferas inyectadas en primer lugar hacia territorios vasculares más distales de las capas del estómago.

1.3.6. Espectrofotometría de reflexión

Técnica introducida recientemente, permite la determinación instantánea de parámetros que reflejan el contenido de hemoglobi-

na (IHb) y el contenido de oxígeno (ISO_2) de la mucosa gastrointestinal [102]. El equipamiento consiste en un espectrofotómetro, un microprocesador y una sonda. La sonda posee dos haces de fibra óptica coaxiales que acoplan la superficie de la mucosa con el espectrofotómetro. La luz de una lámpara halógena es llevada hasta la mucosa por el haz de fibras externo y la luz reflejada por la mucosa es devuelta al espectrofotómetro por el haz interno. El espectrofotómetro convierte la señal luminosa en eléctrica, que es rápidamente procesada por la microcomputadora (40 mseg), produciendo una curva del espectro que se representa en una pantalla y a partir de la cual se calcula el IHb e ISO_2 .

Se pueden efectuar múltiples determinaciones en diferentes puntos de la mucosa gástrica de una manera rápida y fácil. La medición simultánea de IHb e ISO_2 permite el reconocimiento de cambios hemodinámicos en la mucosa intestinal. Estudios experimentales han mostrado que en condiciones de reducción del flujo (oclusión del tronco celíaco) se produce una reducción de IHb y de ISO_2 (patrón de isquemia); cuando se produce una obstrucción al flujo venoso, por ejemplo por ligadura de la vena porta, aparece un incremento del IHb y una reducción de ISO_2 normal o aumentado (patrón de hiperemia) [103].

Su principal inconveniente es que no mide el flujo en unidades absolutas pero en contrapartida puede ofrecer una información adicional sobre el contenido de hemoglobina y de oxígeno de la mucosa, que en determinadas situaciones clínicas o experimentales, como por ejemplo en la estimación de la viabilidad de un tejido isquémico, puede ser de una gran utilidad. Otro de los inconvenientes de esta técnica, que debe ser tenido siempre en cuenta cuando se aplica, es la influencia de la anemia o cambios en la oxigenación sanguínea sobre la estimación del contenido de hemoglobina y de oxígeno de la mucosa gastrointestinal. En estudios experimentales se ha demostrado una correlación directa significativa entre la concentración de hemoglobina en sangre y el IHb [104]. Asimismo, cambios en la saturación de oxígeno de la hemoglobina influyen en el contenido de oxígeno de la mucosa gastrointestinal [91].

1.3.7. Autorradiografía con C^{14} -yodo-antipirina

Esta técnica se basa en el principio de Fick, que establece que el tiempo que tarda en cambiar la concentración tisular de un trazador difusible y biológicamente inerte es igual a la diferencia de tiempo que transcurre entre la llegada del trazador al tejido por vía arterial y su aclaramiento por medio de la sangre venosa.

Para su realización se inyecta por vía intravenosa yodo-aminopirina marcada durante 30-60 segundos, al tiempo que se obtienen muestras de sangre arterial cada 3-5 segundos. A continuación se sacrifica al animal y se obtienen muestras de la pared gástrica que se congelan. Posteriormente se cortan las muestras y los cortes se preparan para el análisis autorradiográfico, que permitirá medir la radiactividad en determinadas áreas histológicas. Con la radiactividad medida en el tejido en relación con la radiactividad simultáneamente obtenida en las muestras de sangre, se calcula el flujo sanguíneo de un determinado territorio en ml/min/100 g. de tejido. Con esta técnica sólo puede realizarse una única medición de FSG, pero permite evaluar el flujo en cada una de las capas de la pared del estómago (mucosa, submucosa, muscular y serosa), e incluso permite diferenciar entre el flujo de la parte más luminal de la mucosa y el de la parte más profunda de la misma [105, 106].

1.3.8. Medidores electromagnéticos de flujo

Los medidores electromagnéticos de flujo colocados directamente en un vaso sanguíneo son, sin lugar a dudas, la forma más exacta y fiable de medir flujo sanguíneo en un determinado territorio vascular [107]. Se basan en el principio de que un fluido como la sangre tiene iones, que al moverse en un campo magnético, generan una fuerza electromagnética que es proporcional al flujo del fluido. Esta técnica tiene el inconveniente de que mide el flujo global de un territorio vascular sin poder detectar cambios regionales de distribución de flujo dentro del mismo territorio. Además, hasta épocas recientes únicamente disponíamos de medidores electromagnéticos de gran tamaño sólo utilizables en animales grandes y en

vasos de gran calibre. Aunque ha mejorado con la aparición reciente de sistemas de tamaño mucho más reducidos, todavía presenta limitaciones para vasos sanguíneos de escaso calibre en animales pequeños, como puede ser el caso de la rata.

1.3.9. Aclaramiento de aminopirina

Esta técnica se basa en el principio de que el grado de difusión de las bases débiles a través de las membranas lipídicas depende de su grado de ionización. Al pH de la sangre las bases no ionizadas difunden libremente a través de las membranas; cuando estas bases se ponen en contacto con el jugo gástrico a pH bajo se disocian y ya no pueden volver a pasar al torrente sanguíneo y sí en cambio pueden ser excretadas a la luz gástrica.

Tras la administración intravenosa de una base débil como es la aminopirina marcada con C^{14} , se miden simultáneamente las concentraciones de esta base en el jugo gástrico y en la circulación venosa a determinados intervalos, y se calcula el aclaramiento en función de estas dos concentraciones en mg/ml y de la tasa de secreción gástrica en m/min. Este método, que mide simultáneamente secreción ácida y FSG, fue muy utilizado en la década de los setenta estableciéndose muchos de los principios vigentes durante aquella época sobre la relación entre flujo sanguíneo gástrico y secreción ácida [108]. Sin embargo, en la última década se ha cuestionado la utilización de esta técnica como medida de FSG, ya que la recolección de aminopirina marcada en el jugo gástrico puede estar influenciada por el ritmo de secreción ácida. Se ha observado al compararla con otros métodos de medida de flujo que esta técnica no refleja adecuadamente el FSG en muchas circunstancias, especialmente en aquellas en las que existe estimulación de la secreción ácida [109]. Por este motivo hoy en día está prácticamente en desuso.

1.4. REGULACIÓN DEL FLUJO SANGUÍNEO GÁSTRICO EN CONDICIONES FISIOLÓGICAS

1.4.1. *Secreción Ácida*

Existen múltiples evidencias de que el flujo sanguíneo gástrico (FSG) aumenta con la estimulación de la secreción ácida, al objeto de facilitar el aporte energético que dicha función secretora requiere [57, 58]; lo que no está claro es que el incremento del FSG sea totalmente lineal con respecto al aumento de la secreción de ácido.

Por otra parte, una limitación importante del FSG basal o de la capacidad de aumentar en un momento determinado, puede ser un factor limitante de la respuesta secretora ácida máxima [58, 110].

El mecanismo por el cual se produce la respuesta hiperémica a la estimulación de la secreción ácida no es bien conocido. La mayoría de los estudios dirigidos a dilucidar este mecanismo se han llevado a cabo en modelos de estimulación con pentagastrina en la rata. Existen evidencias de que la adenosina podría ser uno de los mediadores del incremento del flujo en condiciones fisiológicas [55]. Así mismo se ha constatado que el óxido nítrico modula el incremento del flujo sanguíneo de la mucosa gástrica, inducido por la infusión de pentagastrina [58]. Actualmente se desconoce si existe un efecto sinérgico entre el óxido nítrico y la adenosina, o si el efecto de esta última está mediado por la liberación de ésta a nivel del endotelio vascular.

1.4.2. *Período postprandial*

En el período postprandial se produce un incremento del flujo sanguíneo que ha sido extensamente estudiado en el intestino, pero no en el estómago. La demanda energética generada por los procesos de digestión y absorción provoca una mayor extracción de oxígeno, que va asociada a un aumento importante del flujo sanguíneo intestinal [111]. Los escasos estudios que han evaluado el FSG tras la ingesta, han constatado que se produce un incremento de este parámetro mediante técnicas distintas de medición de flujo sanguíneo [112-114].

El mecanismo por el cual se produce la hiperemia postprandial es complejo y en él probablemente participan muchos factores como hormonas gastrointestinales, reflejos nerviosos, distensión de la pared gástrica, tipo de nutriente y sustancias como la histamina, prostaglandinas o adenosina [115-117].

1.5. REGULACIÓN DEL FLUJO SANGUÍNEO GÁSTRICO EN CONDICIONES PATOLÓGICAS

La mucosa del estómago dispone de un complejo mecanismo de defensa, que le sirve para protegerse de la autodigestión, por el propio ácido secretado a nivel de la luz gástrica, y del daño que le pueden producir sustancias lesivas exógenas.

El flujo sanguíneo gástrico (FSG) constituye uno de los elementos principales en la defensa de la barrera mucosa gástrica. El mantenimiento del flujo sanguíneo es indispensable para proporcionar la correcta oxigenación de los tejidos y el soporte energético necesario para la funciones de protección, reparación y regeneración de las células de la mucosa. Por otra parte, facilita el aclaramiento de todas aquellas sustancias potencialmente lesivas que penetran en el interior de la mucosa.

Numerosos estudios han constatado que cuando se produce la rotura de la barrera mucosa gástrica, inmediatamente tiene lugar una vasodilatación que previene contra el daño tisular

Existen múltiples evidencias que indican que una reducción del FSG o la imposibilidad de aumentarlo por encima del nivel basal, ante un estímulo lesivo, produce daño celular. Estudios experimentales han constatado que el daño mucoso por distintas noxas aumenta tras la administración de vasoconstrictores o en modelos de hipotensión arterial [118-120]. Por el contrario, en otros estudios se ha observado que la administración de sustancias vasodilatadoras como el isoprotenerol [121], o prostaglandinas exógenas [122], producen una reducción significativa del daño mucoso gástrico, inducido por las diferentes noxas.

La capacidad de autorregulación del FSG en cada circunstancia patológica puede estar mediada por distintos mecanismos o

por la suma de varios de ellos. La hiperemia gástrica que sigue al aumento en la retrodifusión de hidrogeniones (H^+) parece estar mediada por las fibras nerviosas aferentes sensibles a la capsaicina [123] y concretamente por la liberación de neuropéptidos, como el péptido del gen relacionado con la calcitonina [124]. En situaciones en las que se produce la ablación morfológica o funcional de dichas fibras nerviosas, se bloquea la respuesta hiperémica y aumenta el daño mucoso producido por el ácido. Por otra parte, existen evidencias de que las prostaglandinas endógenas actúan como mediadoras de la vasodilatación gástrica en algunas circunstancias de agresión tisular [57, 122]. Otro mecanismo implicado en la regulación del flujo sanguíneo gástrico como respuesta a la agresión tisular, son las vías nerviosas periféricas sensibles a opiáceos y a capsaicina [125]; el mecanismo por el cual este reflejo nervioso aumenta el flujo sanguíneo de la mucosa gástrica (FSMG) no es bien conocido, aunque se sabe que no está mediado por las prostaglandinas [126]. La modulación producida por neuronas aferentes periféricas sobre los cambios de flujo sanguíneo en lesiones de la mucosa gástrica inducidas por PAF [126], podría estar modulado por la liberación del péptido relacionado con el gen de la calcitonina (CGRP), o por la formación de óxido nítrico, o por ambos a la vez, ya que existen algunas evidencias que sugieren la interacción de neuropéptidos liberados por fibras sensoriales y por el óxido nítrico [127]. El óxido nítrico podría ser el mediador principal de los cambios de flujo sanguíneo mucoso gástrico en determinadas situaciones patológicas, como la anemia aguda normovolémica [104] o el shock séptico [128].

Finalmente existen sustancias, como el PAF y el etanol, que basan su efecto ulcerogénico en una potente acción vasoconstrictora. El daño mucoso gástrico producido por el PAF va precedido de un marcado descenso del FSG, que se acentúa en presencia de ácido y se atenúa cuando la secreción ácida es inhibida por un antagonista H_2 [129].

Por otra parte, el etanol además de tener un efecto tóxico directo sobre la mucosa, estimula la liberación de sustancias como el leucotrieno C_4 [130] y la endotelina 1 [131], que produce vasoconstricción, estasis vascular y aumento de la permeabilidad vascular.

2. EFECTOS DE LA UREMIA SOBRE LA FUNCIÓN Y MORFOLOGÍA DE LA MUCOSA GÁSTRICA

2.1. SECRECIÓN ÁCIDA

La etiología de las lesiones gastroduodenales asociadas a la uremia no es bien conocida. Los estudios clínicos realizados hasta la actualidad se centran fundamentalmente en el análisis descriptivo de las lesiones o complicaciones que presentan los pacientes urémicos y en la asociación de éstas con alteraciones en la secreción ácida gástrica. Algunos autores han relacionado el desarrollo de lesiones pépticas con un aumento de la secreción ácida basal estimulada [132, 133], mientras que otros, por el contrario, han observado la existencia de hiposecreción ácida o aclorhidia. El principal inconveniente que presenta la mayoría de estos estudios es la inclusión en los mismos de grupos heterogéneos de pacientes urémicos, en los que se introducen factores como la diálisis o incluso el trasplante renal, que pueden modificar el estado de secreción ácida.

En los últimos 20 años numerosos estudios han sugerido que la hipersecreción ácida puede ser un factor de riesgo para el desarrollo de lesiones gastroduodenales en pacientes urémicos [132, 134-138]. Existen evidencias de que la hemodiálisis puede favorecer el estímulo de la secreción ácida en estos pacientes [139]. Los mecanismos que modulan dicha respuesta no son bien conocidos. Se ha sugerido que sustancias potencialmente tóxicas para la mucosa oxíntica pueden ser eliminadas mediante la hemodiálisis. Ello, asociado a la hipergastrinemia que presentan estos pacientes, podría inducir a un aumento en la secreción gástrica. Durante el programa de hemodiálisis el 14% de los pacientes urémicos presentan un aumento significativo de la secreción ácida basal, mientras que en un 63-75% de los casos se produce un aumento marcado de la secreción ácida estimulada [136, 140].

El posible papel del ácido como factor etiopatogénico de las lesiones pépticas asociadas a la uremia ha sido cuestionado por varios estudios, en los que se ha constatado que con frecuencia los pacientes urémicos presentan hiposecreción ácida o aclorhidria [141-144]. El mecanismo por el cual se puede producir hiposecreción ácida en estos pacientes no es bien conocido. Se ha observado que estos cambios ocu-

ren en ausencia de atrofia gástrica [141, 142, 144, 145], lo cual sugiere que la hipoacidez es secundaria a un trastorno funcional y no a una alteración morfológica de la mucosa gástrica. Así, se han propuesto varias hipótesis para explicar este efecto: **1)** podría ser el resultado de efecto neutralizante del amonio, el cual se produce en grandes cantidades como consecuencia de la hidrólisis de la urea, por las ureasas presentes en la mucosa gástrica; **2)** podría estar inducido por alteraciones en la regulación neuro-humoral de la secreción ácida a nivel de la célula parietal, bien por un mecanismo inhibitorio aún no conocido o por una disminución en el número de células parietales funcionantes [142]; y **3)** deberse a una retrodifusión aumentada de hidrogeniones a través de la mucosa, en cuyo caso no se trataría de una verdadera hiposecreción ácida. Ello podría estar facilitado por alteraciones en los distintos elementos que constituyen la barrera mucosa gástrica en la uremia. Recientemente, en un modelo experimental de ratas con insuficiencia renal crónica, se ha constatado que el grosor de la capa de moco de la mucosa se encuentra marcadamente disminuido con respecto al de ratas con función conservada. Este proceso facilita la retrodifusión de H^+ y se asocia a una mayor tasa de acidificación de las células epiteliales superficiales [146].

Finalmente, existen escasos estudios que investiguen las alteraciones de la secreción ácida en modelos experimentales de uremia. En ratas con insuficiencia renal crónica inducida mediante nefrectomía subtotal, tanto la secreción ácida basal como la estimulada con secretagogos se encuentran muy aumentadas [146].

Por lo expuesto anteriormente, se deduce que la uremia puede asociarse tanto a hipersecreción como a hiposecreción ácida gástrica, sin que se conozcan hasta el momento las circunstancias que modulan dichos cambios y su influencia en el desarrollo de lesiones de la mucosa gastroduodenal.

2.2. FLUJO SANGUÍNEO

Se ha observado en estudios experimentales que en la uremia se produce un aumento del flujo sanguíneo gástrico, en condiciones basales y tras estímulo con pentagastrina. Algunos de los facto-

res implicados en la respuesta hiperémica serían la regulación de la presión sanguínea a nivel de la mucosa y el óxido nítrico (NO) un agente humoral lábil derivado de las células del endotelio vascular [2, 147, 148], ya que al administrar L-Name (un inhibidor específico de la formación del óxido nítrico), se producía una atenuación de la hiperemia, concluyendo que el NO podría jugar un papel importante en la regulación del flujo sanguíneo gástrico.

Existen evidencias de que el aumento del flujo sanguíneo gástrico observado en la uremia juega un papel protector frente al daño por etanol, y que este efecto está mediado por un aumento en la síntesis de NO [149].

Estudios preliminares realizados en pacientes urémicos en diálisis [150], sugieren que la alta incidencia de sangrado gástrico puede estar relacionada con la isquemia de la mucosa y no sólo con las variaciones del flujo sanguíneo de la mucosa gástrica. Diebel y col. [150] investigaron el PH intramucoso gástrico y el PH arterial de pacientes urémicos antes de ser sometidos a hemodiálisis y durante ésta, y encontraron, al comparar los resultados con voluntarios sanos, que si bien no se observan diferencias en cuanto al PH arterial, el PH de la mucosa es más alto en los pacientes renales, proponiendo que ésto puede ser un factor predictivo de la tendencia al sangrado gástrico en estos enfermos.

2.3. MOTILIDAD GÁSTRICA

Los pacientes urémicos con frecuencia presentan sensación de pesadez posprandial, náuseas y vómitos, trastornos que se han asociado históricamente al propio síndrome urémico, pero que pueden estar relacionados con alteraciones en la motilidad gastrointestinal. De hecho, existen evidencias clínicas y experimentales de que en la uremia se produce un retraso en el vaciamiento gástrico [151-154].

Wright y col, [152] investigaron pacientes con insuficiencia renal, que presentaban sintomatología digestiva (náuseas y vómitos), trastornos frecuentes en este tipo de pacientes; para ello estudiaron el vaciado gástrico y aunque no encontraron datos concluyentes, estos eran suficientemente indicativos de la existencia de un trastor-

no de la motilidad gástrica. Otros autores [153, 155] observaron este tipo de trastornos en niños con insuficiencia renal crónica, atribuyendo este trastorno de la motilidad a la presencia de un aumento del reflujo gastroesofágico, así como a otras alteraciones relacionadas con factores neurovegetativos y a las propias alteraciones producidas por la insuficiencia renal sobre el estómago.

Recientemente, en pacientes renales adultos (independientemente de que estuvieran en diálisis o no), en los que se utilizó comida sólida radiomarcada, se observó un retraso en el tiempo de vaciado gástrico, lo que se atribuyó a un origen multifactorial, sugiriendo que la presencia de estos síntomas abdominales no predicen la presencia de una alteración en el vaciado gástrico [154].

En estudios experimentales se ha observado que ratas con insuficiencia renal crónica presentan una marcada alteración en la motilidad gástrica caracterizada por ondas de gran amplitud, no peristálticas, que retrasan el vaciamiento de sólidos pero no el de líquidos. Dicho trastorno no se corrige tras la administración de inhibidores de la síntesis de NO, por lo que no parece estar mediado por esta molécula. Los mecanismos que modulan los trastornos de la motilidad gastrointestinal en la uremia no son, pues, bien conocidos [151].

2.4. CAMBIOS MORFOLÓGICOS

Estudios clínicos en pacientes con insuficiencia renal crónica, han detectado una hipertrofia de la mucosa del estómago y duodeno [143, 156, 157]. En relación con el incremento de la secreción ácida a la estimulación con pentagastrina, algunos autores han apuntado la posibilidad de que ésta sea debida a una hipertrofia de las células parietales del estómago. Este fenómeno sería similar al observado en estudios experimentales con modelos de ratas a las que se les ha inducido la insuficiencia renal crónica mediante nefrectomía subtotal [149].

En este modelo experimental se ha observado un incremento estadísticamente significativo del peso del estómago, del área cuerpo gástrico, de la altura de la mucosa corporal y de la densidad de las células parietales y enterocromafines [149]. Parece que la uremia

fomenta la hipertrofia del estómago, favoreciendo la diferenciación y proliferación de las células parietales frente a las células superficiales epiteliales.

Existen evidencias de que la hipertrofia de la mucosa gástrica observada en ratas urémicas se debe, en parte, a un aumento en los niveles séricos de gastrina. En un estudio reciente se observó que la administración de un anticuerpo monoclonal específico de la gastrina, revierte en el aumento de la masa de células parietales y células enterocromafines de la mucosa gástrica de estos animales y normaliza la secreción ácida y el flujo sanguíneo mucoso gástrico [158].

3. EFECTOS DE LA UREMIA SOBRE LA INTEGRIDAD DE LA MUCOSA GÁSTRICA

Los pacientes con IRC presentan una mayor predisposición a padecer lesiones de la mucosa gástrica y duodenal que la población general. Estudios endoscópicos realizados incluyendo amplias series de pacientes urémicos, han constatado la presencia de lesiones erosivas o pépticas en el 25-75% de los casos [138, 159, 160].

Estas lesiones han sido tradicionalmente etiquetadas con los términos de «gastritis erosiva», «gastroduodenitis» o «duodenitis».

Los mecanismos que modulan la aparición de estas lesiones en la uremia no son todavía bien conocidos. Estudios experimentales recientes han revelado que la uremia produce alteraciones importantes en la barrera mucosa gástrica como: **a)** una marcada reducción en el grosor de la capa de muco-bicarbonato, probablemente secundaria a un déficit en la síntesis de prostaglandinas por las células epiteliales de la superficie [146], **b)** un aumento en la tasa de acidificación celular de las células epiteliales superficiales, consecuencia del aumento de la retrodifusión de hidrogeniones al interior de la mucosa [146], y **c)** una reducción del gradiente de potencial eléctrico a través de la mucosa, probablemente mediado por una alteración de las uniones estrechas intercelulares, que permiten el paso de iones al interior de la mucosa [146].

Por otra parte, existen evidencias de que la urea y el amonio pueden ser tóxicos directos sobre la mucosa gástrica. En un estudio

realizado hace tres décadas [161] se observó que la aplicación de urea sobre la mucosa gástrica aumentaba la permeabilidad de Na^+ , K^+ e H^+ . Asimismo la administración de amonio [131] por vía oral en ratas produce una reducción del grosor de la capa de moco gástrico.

Estudios clínicos, a su vez, han constatado que los pacientes urémicos, especialmente durante la hemodiálisis, presentan una disminución del PH intramucoso gástrico [150].

4. HEMORRAGIA DIGESTIVA ALTA EN LA UREMIA

4.1. PREVALENCIA Y ETIOLOGÍA

La prevalencia de lesiones de la mucosa gastroduodenal y hemorragia gastrointestinal en pacientes con insuficiencia renal crónica (IRC) avanzada, es considerablemente superior a la observada en pacientes con una función renal conservada. Estudios endoscópicos y necrópsicos de amplias series de pacientes urémicos han demostrado que las 2/3 partes de los pacientes urémicos presentan algún tipo de lesión en la mucosa del esófago estómago o duodeno. [138, 159, 160, 162, 163]. La gastritis hemorrágica y la duodenitis representan más de las dos terceras partes de estas lesiones, poniéndose de manifiesto como un eritema difuso del antro y/o duodeno, o bien como erosiones o manchas de color rojo escarlata, semejantes a petequias. La prevalencia de úlcera gastroduodenal en pacientes urémicos es superponible a la observada en la población general y oscila entre un 2 y un 10%. Por razones que aun se desconocen, se eleva a un 19% en el caso de los trasplantados renales. Estas lesiones gastroduodenales muchas veces cursan de forma silente, y no es infrecuente que se manifiesten por primera vez como una hemorragia digestiva alta [138, 159, 160, 162, 164].

La hemorragia digestiva por lesiones de la mucosa gastroduodenal es una de las causas más frecuentes de hospitalización en pacientes con IRC avanzada, alcanzando en algunas series hasta el 14% de los motivos de ingreso hospitalario [1]. Los estudios que analizan las causas de hemorragia digestiva alta en pacientes urémicos muestran resultados contradictorios. Algunas series han mostrado que la

angiodisplasia gastroduodenal constituye la primera causa de sangrado digestivo, con una prevalencia que oscila entre el 24-53 % [2, 3]; sin embargo, en otros estudios es la úlcera péptica la causa más frecuente de sangrado en la uremia con una incidencia del 60% [4].

En los últimos años se ha constatado una clara asociación de la angiodisplasia gastrointestinal con la IRC [4, 6]. En series amplias de angiodisplasia del tracto gastrointestinal se ha observado que hasta un 35% de los pacientes eran portadores de IRC [7]. Esta lesión, caracterizada por la ectasia focal o difusa de capilares y vénulas de la mucosa y submucosa gastroduodenales, tiene un amplio espectro de manifestaciones clínicas que van desde las formas asintomáticas o la anemia microcítica crónica hasta la hemorragia masiva. El diagnóstico endoscópico de angiodisplasia es difícil, por lo que puede pasar fácilmente desapercibido. Macroscópicamente, se manifiesta como manchas únicas o múltiples de pequeño tamaño (< 7 mm), de color rojo escarlata, que asientan sobre una mucosa de aspecto normal. Ocasionalmente pueden agruparse formando estrias rojizas en el antro (Watermelon stomach) o afectar de forma difusa a la mucosa gástrica o duodenal simulando una «gastritis» o una «duodenitis». Estudios recientes han constatado que la prevalencia de angiodisplasia en pacientes con IRC es significativamente superior (13%) que la observada en sujetos con función renal conservada (1.3%) [4] y su desarrollo parece estar relacionado con el tiempo de evolución y la gravedad de la enfermedad renal subyacente.

4.2. FACTORES PREDISPONENTES Y PRONÓSTICO

Los factores predisponentes de hemorragia digestiva alta en la uremia no son bien conocidos. Algunos autores han sugerido que un aumento en la secreción ácida gástrica podría favorecer la aparición de hemorragia en pacientes con lesiones pépticas o vasculares. Sin embargo, no existe ningún estudio que haya podido demostrar esta relación. Aproximadamente un 80% de los pacientes urémicos con hemorragia digestiva por lesiones gastroduodenales recibe tratamiento con fármacos potencialmente ulcerogénicos (aspirina, corticoides o antiinflamatorios no esteroideos) [164], que pueden

actuar debilitando la barrera mucosa gástrica al inhibir la síntesis endógena de prostaglandinas. Por otra parte, se ha sugerido que la heparinización durante la hemodíalisis, el estrés quirúrgico o las infecciones que frecuentemente presentan, puedan favorecer la aparición de hemorragia digestiva en estos pacientes [141]. Finalmente, otros factores intercurrentes como la alteración de la agregación plaquetaria y el alargamiento del tiempo de sangrado, pueden predisponer a la diátesis hemorrágica por lesiones erosivas o vasculares preexistentes.

La presentación de una hemorragia digestiva por lesiones gastroduodenales en pacientes con IRC comporta un mal pronóstico. En un 25% de estos pacientes la hemorragia tiene un carácter recidivante [2, 7] y las necesidades de transfusión sanguínea son superiores en comparación con series de pacientes con hemorragia digestiva y función renal normal. La mortalidad por sangrado digestivo en pacientes urémicos oscila entre un 20% y un 71% [164-166] y se mantiene en el 50% en trasplantados renales [167, 168], mientras que la mortalidad por hemorragia digestiva en pacientes con función renal normal es inferior al 10%. Estas circunstancias motivaron que durante los años setenta y principios de los ochenta, algunos autores aconsejaran la cirugía profiláctica para aquellos candidatos a un trasplante renal que presentaban una úlcera gástrica o duodenal no complicada [136, 141]. En la actualidad esta medida ha sido sustituida por el empleo de fármacos inhibidores de la secreción ácida.

4.3. TRATAMIENTO ENDOSCÓPICO

El tratamiento de la hemorragia por úlcera péptica en pacientes urémicos no difiere del que se aplica a pacientes con función renal conservada. En el momento presente estas lesiones se tratan preferentemente por vía endoscópica. La administración local de adrenalina al 1/10.000 seguida de esclerosis con sustancias como el polidocanol o suero fisiológico, la termocoagulación con sonda de calor o la fotocoagulación con láser, tienen una gran eficacia hemostática, no existiendo diferencias significativas en el rendimiento terapéutico entre las mismas. Cuando la hemorragia por úlcera

péptica no puede ser controlada mediante tratamiento endoscópico resulta necesaria la cirugía.

Cuando la lesión responsable del sangrado es una angiodisplasia gástrica o duodenal el tratamiento resulta más complejo. Como primera medida terapéutica debe intentarse el tratamiento endoscópico mediante electrocoagulación, sonda de calor, esclerosis o fotocoagulación con láser. Sin embargo, con frecuencia el tratamiento endoscópico, o incluso la cirugía, no pueden realizarse por lo difuso de las lesiones, por la localización múltiple de las mismas o por el carácter recurrente de la hemorragia [9, 169]. Ello sucede con frecuencia en la angiodisplasia asociada a la IRC por lo que ha sido necesario recurrir a otras opciones terapéuticas.

4.4. TRATAMIENTO CON ESTRÓGENOS PROGESTÁGENOS

Durante décadas se han utilizado los estrógenos-progestágenos como una alternativa terapéutica válida para el control de la hemorragia digestiva producida por estas lesiones vasculares. [10]. Estos fármacos, utilizados tradicionalmente en la uremia para el tratamiento de la diátesis hemorrágica [11-13, 17], se han empleado empíricamente en la hemorragia digestiva por ectasias vasculares gastroduodenales. Existen al menos dos estudios controlados que demuestran la eficacia de la administración oral de estrógenos-progestágenos en la prevención de la hemorragia digestiva por estas lesiones vasculares [14, 15]. En el primero de ellos, realizado en pacientes con hemorragia recurrente por angiodisplasia gastrointestinal, se administraron de forma alternativa y por períodos de 6 meses estrógenos-progestágenos o placebo, sirviendo cada paciente como control de sí mismo. El tratamiento hormonal evitó el sangrado digestivo en la mayoría de los pacientes, siendo mínimas las necesidades transfusionales. Por el contrario, durante el período de tratamiento con placebo fueron frecuentes las transfusiones sanguíneas, recidivando la hemorragia en la mayoría de los pacientes. Estos estudios constataron que el tratamiento con estrógenos-progestágenos lograba controlar la hemorragia en la mayoría de pacientes sin modificar la expresión morfológica de las lesiones. Así, tras la retirada de estos fármacos se

produce invariablemente la recurrencia del sangrado. En el segundo estudio, con un diseño experimental similar al anterior, se constató que tras la administración oral de etinilestradiol (0.05 mg) y norethisterona (1 mg), sólo 3 de 13 pacientes con hemorragia digestiva alta por angiodisplasia gastrointestinal precisaron transfusiones sanguíneas por hemorragia, mientras que 12 de los 13 pacientes tratados con placebo requirieron transfusiones. Estos estudios controlados, pusieron de manifiesto que este tratamiento hormonal no se asociaba a efectos adversos graves en comparación con el placebo, si bien el tiempo de seguimiento de los mismos fue relativamente corto.

Los estudios en los que se ha evaluado el tratamiento con estrógenos-progestágenos para la hemorragia por angiodisplasia gastrointestinal en pacientes urémicos son todos no controlados e incluyen un escaso número de pacientes. La administración oral de estrógenos progestágenos a pacientes urémicos con anemia ferropénica o hemorragia recurrente por angiodisplasia gastrointestinal, se acompaña del cese del sangrado y de una reducción significativa del número de transfusiones en la mayoría de pacientes [18, 170].

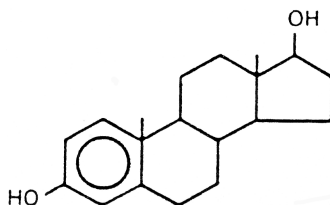
Hasta el momento presente se desconoce el mecanismo de acción de los estrógenos-progestágenos. Se ha sugerido que pueden actuar a diferentes niveles: **1)** existen evidencias clínicas y experimentales de que estas hormonas actúan sobre la coagulación reduciendo el tiempo de hemorragia [12, 13, 19]; **2)** es posible que ejerzan un efecto beneficioso reforzando el endotelio vascular [20]; **3)** existen evidencias indirectas de que pueden actuar sobre la microcirculación mesentérica enlenteciendo el flujo sanguíneo por mecanismos no bien conocidos [21]; y **4)** pueden alterar la reactividad vascular a las catecolaminas [22-24] y vasopresina [171] potenciando su efecto vasoconstrictor.

5. ESTRÓGENOS-PROGESTÁGENOS

Seguidamente describiremos las características tanto estructurales como farmacológicas de estas sustancias implicadas terapéuticamente en el presente estudio: los estrógenos-progestágenos.

5.1. ESTRÓGENOS

Los estrógenos son sintetizados principalmente en el ovario por estímulo de la FSH; también son sintetizados en cantidad importante por la placenta y en menor cantidad por el testículo y por la corteza adrenal en ambos sexos. Otros tejidos como el hígado, el músculo, la grasa o los folículos pilosos pueden convertir los precursores esteroideos en estrógenos.



17 β-Estradiol

Existen tres tipos principales estrógenos de origen humano: el estradiol, la estrona y el estriol, siendo el primero el más potente y secretado en gran cantidad por el ovario.

5.1.1. Características químicas

5.1.1.1. Con estructura esteroidea

El principal producto es la hormona natural 17β-estradiol, cuyos metabolitos son la estrona y el estriol. Poseen 18 C, y es característica específica la presencia de un anillo aromático o fenólico en A y la carencia del grupo metilo en el C 19. Existen también ésteres de estradiol en suspensión acuosa u oleosa para la administración intramuscular depot: Benzoato, Cipionato, Enantato, Propionato, Valerato y Undecilato.

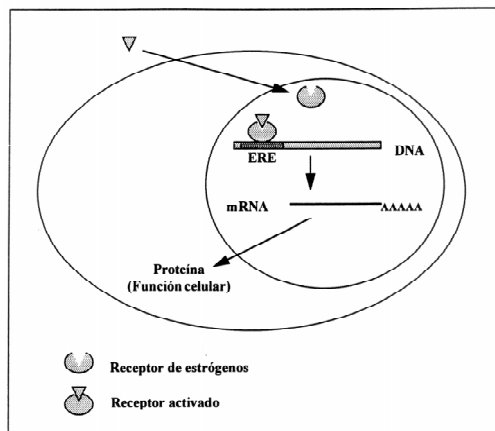
5.1.1.2. Con estructura no esteroidea

Ciertos derivados estilbénicos poseen intensa actividad estrogénica; en su configuración trans muestran una relación estructural con el estrógeno que explica su capacidad para interactuar con el receptor estrogénico. Los principales son: dietilestilbestrol, bencestrol, dienestrol, hexestrol, metalenestril y clorotrianiseno; a partir de este último surgieron los fármacos con capacidad para actuar como antagonista sobre el receptor estrogénico: tamoxifeno y clomifeno [172, 173].

5.1.2. *Mecanismo de acción de los estrógenos*

Las acciones biológicas de los estrógenos son muy variadas. Sin embargo, se cree que la mayor parte de las acciones pueden ser explicadas por el mecanismo de acción del receptor de estrógenos (RE).

Los receptores son macromoléculas, y su identificación en un tejido determinado es la base para denominar a este tejido como diana; éstos sirven como unidades que reconocen a las hormonas esteroideas [174]. Cuando los receptores reconocen a los estrógenos, la unión de ambos da lugar a la formación del complejo hormona-receptor, o receptor activado que tiene una alta afinidad por secuencias de nucleótidos específicos del DNA, denominados elementos de respuesta a estrógenos (ERE). La unión entre el complejo ER y la secuencia de nucleótido que la acepta, está asociada con la transcripción de genes específicos [174]. Por esta razón, a los RE se les denomina factores de transcripción activados por ligandos. Este complejo presenta tres dominios, de los cuales uno se une a la hormona y otro es el que confiere al receptor su capacidad de unión al DNA [175].



*Mecanismo de acción genómica de los receptores de estrógenos
(ERE: elemento de respuesta a estrógenos)*

El receptor (R), cuando no está ocupado por la hormona, no posee la configuración que se une al elemento de respuesta a estrógeno. En este estado, el gen estructural está siendo transcrito a un nivel basal, donde la RNA-polimerasa no está siendo influenciada por factores de transcripción. Puesto que los estrógenos tienen naturaleza lipídica pueden atravesar las membranas plasmáticas y nuclear sin dificultad. El receptor se une a la hormona con alta afinidad y la configuración del receptor cambia de modo que el complejo tiene capacidad para unirse al ERE. Cuando esto sucede, la actividad de la RNA-polimerasa aumenta y transcribe más eficientemente y el RNA producido es procesado y transformado en proteína [176]. El resultado de la acción estrogénica es, por tanto, un aumento en la expresión del conjunto de genes que presentan elementos de respuesta a estrógenos [175].

Actualmente se ha descrito la presencia de receptores estrogénicos en tejidos no considerados diana y en tejidos patológicos, actuando mediante el mecanismo de unión estrógeno-receptor clásico o sin la mediación de este mecanismo. Esta última vía de actuación de los estrógenos es novedosa y en ella se han implicado ejemplos como el de la movilización del calcio en las células granulosa, la modificación eléctrica o funcional de algunas neuronas y el efecto

sobre la secreción del páncreas exocrino. Se plantea la existencia de otros receptores a estrógenos tipo II o en otras localizaciones celulares como en la membrana [177, 178].

5.1.3. Acciones fisiofarmacológicas de los estrógenos

5.1.3.1. Sobre el sistema reproductor

La activación de los receptores específicos situados en los correspondientes órganos, estimulan el desarrollo de las características sexuales secundarias en la mujer y controlan su ciclo reproductivo.

A lo largo del ciclo fértil femenino, las variaciones cíclicas de estrógenos ocasionan los cambios característicos en los órganos genitales: la proliferación de la mucosa uterina y vaginal, el aumento de la secreción del cuello y la turgencia de las mamas; la caída en la contracepción de estrógenos provoca la atrofia y necrosis de la mucosa uterina, que se desprende. Todos estos efectos serán completados por los propios de la progesterona.

Los estrógenos actúan sobre receptores estrogénicos en el SNC, que se distribuyen por núcleos especiales. La región basal medial hipotalámica es una zona particularmente rica en receptores estrogénicos, donde actúan modificando la frecuencia pulsátil de la GonadotrofinaRH (GnRH) [179, 180]. La disminución de estrógenos incrementa la secreción pulsátil de GnRH, FSH y LH; en cambio, el aumento produce acciones más complejas ya que éstos influyen también directamente sobre las células gonadotrofas de la hipófisis, que poseen receptores estrogénicos. El estradiol por una parte inhibe la secreción de FSH, y por otra facilita la secreción de GnRH hipotalámica, necesaria para inducir la secreción de LH. A dosis elevadas y mantenidas, los estrógenos consiguen inhibir no sólo la secreción de FSH sino la de LH, impidiendo la ovulación.

5.1.3.2. Efectos metabólicos

Los estrógenos presentan cierta actividad anabólica que se traduce en retención de nitrógeno, sal y agua, con tendencia a la formación de edemas. En la etapa premenopáusica, se oponen a la actividad osteoclástica de la paratohormona, lo que puede explicar la osteoporosis a partir de la menopausia. Reducen la tolerancia a la glucosa, sobre todo si el páncreas tiene menor capacidad de segregar insulina. Aumentan los triglicéridos del plasma, en especial de las VLDL, si bien pueden reducir los niveles de colesterol en las LDL. Aumentan las proteínas plasmáticas que fijan los esteroides (testosterona, estrógenos, cortisol), la tiroxina, el hierro y el cobre. Incrementan también la fracción no fija de cortisol. Reducen la capacidad secretora del hígado para ciertos iones orgánicos y pueden incrementar la síntesis de enzimas y favorecer la retención de bilirrubina. Adicionalmente, pueden modificar la composición de la bilis, lo que puede originar colelitiasis. Incrementan la síntesis de renina y angiotensina y favorecen la secreción de aldosterona. Favorecen también la síntesis de varios factores de coagulación (II, VII, IX, X) y el plasminógeno, y disminuyen la actividad de la antitrombina III [179].

5.1.4. Características farmacocinéticas

Los estrógenos se absorben bien por cualquier vía, incluidas la piel y mucosas. Los estrógenos naturales, cuando se administran por vía oral, sufren una rápida inactivación intestinal y hepática por la acción de la 17 β -hidroxiesteroidehidrogenasa, produciendo un elevado índice estrona/estradiol; por eso su biodisponibilidad oral es muy baja y no resulta eficaz por esta vía. En cambio, por vía transcutánea o vaginal alcanzan niveles de estradiol en el rango de la fase folicular normal, con menor elevación de la estrona. Los estrógenos sintéticos, tanto esteroides como no esteroides, se metabolizan lentamente y por eso se emplean por vía oral. Determinados ésteres arilo y alquilo retrasan extraordinariamente la absorción parenteral: su acción se inicia lentamente pero llega a durar varias semanas [174, 181, 182].

Los estrógenos naturales se fijan en el plasma a la albúmina y la globulina fijadora de hormonas sexuales. En el hígado, el estradiol se oxida en estrona y estriol; todos ellos sufren conjugaciones para convertirse en glucurónidos (C 3 y C 16) y en sulfatos (C 3), reduciendo así su actividad y facilitando su eliminación biliar y urinaria; en el intestino, el glucurónido se puede hidrolizar y el estrógeno se reabsorbe [181,182].

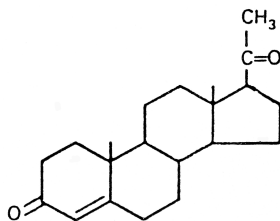
La metabolización de los estrógenos es estimulada por diversos inductores, entre los que destacan los barbitúricos y la rifampicina.

5.2. PROGESTÁGENOS

La hormona progesteracional natural o progestágeno principal es la progesterona, que es secretada principalmente por el cuerpo lúteo en la segunda fase del ciclo menstrual. Pequeñas cantidades de esta hormona se secretan por el testículo y la corteza adrenal en ambos sexos. Durante el embarazo se produce una gran cantidad en la placenta

5.2.1. Características químicas

La hormona natural es la progesterona, que al ser rápidamente metabolizada en el hígado, no es útil por vía oral. Existen múltiples derivados sintéticos con estructura esteroidea, obtenidos con el objeto de que puedan ser útiles por vía oral o de que actúen en forma depot durante varios meses.



Progesterona

Se pueden clasificar del siguiente modo:

a) Derivados de la progesterona y 17 α -hidroxiprogesterona, que pueden administrarse por vía oral o parenteral; b) Derivados de la testosterona; c) Derivados de la 19-nortestosterona y; d) Antagonistas de la progesterona [179].

5.2.2. *Receptor de la progesterona*

Su presencia es abundante en las células hormono-dependientes y su síntesis es promovida por los estrógenos, lo que explica que determinados tejidos necesiten la acción favorecedora previa del estrógeno para que después pueda actuar la progesterona [180, 183, 184].

El receptor citoplasmático consta de dos subunidades, las proteínas A y B de peso molecular 79.000 y 108.000, respectivamente. La unión a la progesterona favorece el transporte al núcleo, donde cada subunidad se unirá a zonas distintas: la proteína A se une a una región específica del ADN compuesta por 150 pares de bases, mientras que la B se une a proteínas cromosómicas no histonas. Es esencial que ambas zonas sean ocupadas para que se exprese la acción de la hormona, en forma de un incremento de ARN-polimerasa en determinados sitios del genoma, lo que produce aumento de la síntesis de determinadas proteínas; no estimula, sin embargo, el crecimiento celular como lo hacen los estrógenos, quizá porque la presencia del complejo progesterona-receptor en el núcleo sea más breve que la del estrógeno [183].

Tanto el estrógeno natural como los sintéticos incrementan la cantidad de receptores de progesterona e inducen un cambio en su coeficiente de sedimentación que pasa de 4 S a forma 7-8 S; por consiguiente, la acción del estrógeno no es sólo cuantitativa sino cualitativa, promoviendo así la fijación de la progesterona a su receptor [179, 183].

Con frecuencia se aprecia en la progesterona una acción antiestrogénica [184, 185], que más bien habría que calificar como modificadora de la acción del estrógeno y que se explica en los mecanismos de receptores. La progesterona, en efecto, reduce la

concentración de receptores estrogénicos en el citoplasma celular, así como el número de complejos estrogénicos-receptor en el núcleo; de este modo la progesterona, secretada fisiológicamente después del estrógeno, evita la estimulación y el desarrollo excesivo promovido por el estrógeno, que podrían inducir hiperplasia e, incluso, neoplasia. La progesterona inhibe la producción de sus propios receptores [183, 186].

5.2.3. Acciones de los progestágenos

5.2.3.1. Progesterona

En el útero previamente influido por el estradiol, la progesterona estimula el desarrollo y la actividad del endometrio secretor, pero si el endometrio no estuviera previamente estrogenizado, provocaría atrofia glandular.

En las glándulas endocervicales la secreción acuosa producida por estrógenos se transforma en secreción viscosa. En el epitelio vaginal impide la cornificación celular que provocan los estrógenos. En la trompa reduce la secreción de células caliciformes y aumenta la actividad de las células ciliares, facilitando así el paso del óvulo.

En el tejido mamario, la progesterona, sinérgicamente con el estrógeno, facilita el desarrollo de los acinos glandulares; al término del embarazo, la lactación sobreviene bajo la acción de la prolactina, después de que descienden los niveles de estrógenos y gestágenos.

La progesterona puede ocupar receptores aldosterónicos con escasa capacidad activante, por lo que se comporta como antagonista de la aldosterona [180], pudiendo provocar hipersecreción compensadora de aldosterona. En el eje hipotálamo-hipofisario, la progesterona inhibe la liberación de GnRH y su acción facilitadora sobre la secreción de la LH en la hipófisis; este efecto es mayor cuando la progesterona está asociada a los estrógenos [180].

En el SNC, ciertos núcleos encefálicos poseen receptores gestagénicos [179, 187]. La progesterona modifica la termorregulación, induciendo un aumento de la temperatura corporal de

alrededor de $0,5^{\circ}\text{C}$ en la segunda parte del ciclo femenino. Estimula también la respiración, observándose un descenso de la Pco_2 arterial [179].

5.2.4. *Características farmacocinéticas*

La progesterona por vía oral se metaboliza con tal rapidez en el hígado que resulta ineficaz, de ahí que se deba administrar en soluciones oleosas por vía parenteral o subcutánea. Algunos progestágenos se acumulan en la grasa subcutánea, resultando un efecto depot a altas dosis. De este modo, aunque su aclaramiento plasmático sea rápido, la acción en los tejidos se prolonga durante todo el día [182]. Durante la circulación en la sangre, los progestágenos están más o menos unidos a proteínas específicas con una alta afinidad y/o a la albúmina con una baja afinidad pero con una gran capacidad; estas últimas características son las que pueden hacer cambiar la efectividad y la eliminación de un determinado progestágeno [184].

El principal metabolito es el pregnandiol, que se encuentra en forma libre y en forma conjugada con glucuronato o como sulfato; en su mayor parte se elimina por la orina.

5.3. EFECTOS VASCULARES DE LOS ESTRÓGENOS-PROGESTÁGENOS

A partir de los estudios epidemiológicos y experimentales se ha admitido que los esteroides ováricos ejercen numerosos efectos cardiovasculares. Entre ellos están la acción directa sobre la pared vascular, alteraciones en la hemodinámica y modificaciones del metabolismo proteico implicadas en el proceso arteriosclerosis [188].

Los estrógenos-progestágenos pueden producir cambios estructurales sobre los vasos sanguíneos; por ejemplo, el tratamiento con estrógenos produce una reducción del acumulo de elastina y colágeno en la aorta. Estos efectos se ejercen a diferentes niveles y varían según naturaleza, dosis y vía de administración de las moléculas utilizadas [189].

El endotelio es un tejido formado por una fina lámina de células que revisten la luz de los vasos sanguíneos; el proceso que conduce a la formación de esos vasos es lo que se denomina angiogénesis o neovascularización [190]. También se le ha denominado «cascada angiogénica», frecuentemente dividida en diferentes fases: discontinuidad vascular, migración celular, proliferación y reorganización estructural.

Los «esteroides angiostáticos», carecen de actividad glucocorticoide o mineralocorticoide, son capaces de inhibir el proceso de angiogénesis en presencia de heparina o heparina fragmentada. Esta función de los esteroides parece estar dirigida por su configuración estructural [191].

Estos esteroides representan un prototipo de inhibidores de la angiogénesis que pueden tener un uso terapéutico potencial como coadyuvante de los tratamientos anticancerígenos y en las enfermedades donde hay un predominio anormal de la neovascularización [192].

El efecto vascular de las hormonas sexuales puede ser debido además, a un efecto estructural sobre los vasos sanguíneos, ya que mientras la testosterona incrementa la síntesis de fibroproteínas como el colágeno o la elastina [193], los tratamientos con estrógenos causan una disminución del acúmulo de estas proteínas en la aorta [194]. Esto se ha demostrado en el estudio de ratas hipertensas detectándose un menor acúmulo de éstas en las hembras que en los machos. Además, se ha observado que al resolverse la hipertensión, el grosor de las paredes vasculares remite en las hembras y no en los machos [193]. Wolinsky (1972) [195] Existen evidencias de que los estrógenos disminuyen la hipertrofia aórtica mientras que la progesterona la incrementa en ratas macho.

Se ha observado una respuesta diferente a los agentes vasoactivos en los animales machos y hembras de experimentación, teniendo los primeros una mayor respuesta a la norepinefrina, y las hembras una mayor respuesta a los metabolitos del ácido araquidónico. La testosterona parece ser responsable de esta diferente respuesta, ya que cuando las hembras son tratadas con esta hormona, se incrementa su respuesta a la norepinefrina [196-198].

En humanos se ha estudiado la influencia sobre la estructura vascular del endometrio durante el ciclo menstrual, distinguiendo-

se un papel vasodilatador endometrial de los estrógenos y vasoconstrictor de la progesterona. El efecto de los estrógenos se desarrolla tanto a nivel local produciendo un engrosamiento arteriolar, como sistémico [199].

A nivel sistémico se ha observado en la mujer que los estrógenos producen un incremento del flujo vulvar sanguíneo, que puede ser revertido con los progestágenos [200, 201].

Los cambios en la permeabilidad vascular pueden provocar una retención hídrica, que en la mama se manifiesta como mastodinia, con aumento del volumen mamario y anomalías termográficas [189].

El tratamiento combinado de estrógenos y progestágenos provoca un descenso del tono vascular y un reducción de la impedancia en las arterias uterinas [202].

Actualmente se estudia el efecto vasodilatador de los estrógenos para su aplicación sobre el circuito arterial coronario, en pacientes que van a ser sometidos a trasplante cardíaco [203].

5.3.1. Coagulación

Se ha observado que los estrógenos equinos y los sintéticos aumentan los factores de coagulación y disminuyen la actividad del factor III de la antitrombina; este efecto parece estar relacionado con la vía de administración al menos en los humanos. Por otra parte, la mayoría de los derivados de la progesterona natural no afecta a los valores de la coagulación sanguínea [204].

Los estrógenos también aumentan el riesgo de enfermedad cardiovascular al incrementar la función plaquetaria, disminuir los niveles de antitrombina III, aumentar la viscosidad sanguínea y potenciar la síntesis hepática de factores de coagulación, especialmente el VII [205].

El óxido nítrico (NO), un agente humoral lábil formado en las células del endotelio vascular a partir de la L-arginina, influye sobre la relajación vascular y la presión sanguínea. Recientemente se ha constatado que la administración de un inhibidor específico de la síntesis del NO como la N-monometil-L-Arginina (L-NMMA) o N-nitro-L-Arginina (L-NAME), normaliza el tiempo de hemorragia y

la tendencia al sangrado en las ratas urémicas. En este estudio el efecto parece estar mediado por cambios en la adhesión plaquetaria pero no en la agregación. En este estudio el efecto de acortamiento del tiempo de sangrado revertía al administrar el precursor del NO, la L-Arginina pero no con la D-Arginina. Los autores concluyen que el NO es un mediador de la tendencia al sangrado en la uremia [147].

Zoja y col. [19] realizan un estudio en el que se constata que la administración de la L-Arginina, precursor del óxido nítrico (NO), previene el efecto de los estrógenos sobre la agregación plaquetaria en ratas con insuficiencia renal crónica (IRC); ello sugiere que la reducción del tiempo de hemorragia producida por la administración de estrógenos en ratas con insuficiencia renal crónica (IRC) está mediada, al menos parcialmente, por la inhibición de la síntesis de óxido nítrico (NO).

5.3.2. *Presión arterial*

Las hormonas sexuales juegan un importante papel en la modulación de la respuesta vascular a las sustancias vasoactivas endógenas. Observaciones clínicas y experimentales sugieren que las hormonas sexuales femeninas, y en particular los estrógenos aumentan la sensibilidad vascular a las catecolaminas; esta sensibilidad parece estar mediada por una mayor afinidad de los receptores adrenérgicos vasculares [23]. Así mismo, se ha visto en estudios posteriores cómo la progesterona induce cambios significativos sobre la relajación del endotelio en arterias coronarias de conejos, posiblemente por acción sobre los canales de calcio [206].

Estudios epidemiológicos indican que la frecuencia de las hipertensiones patológicas en mujeres fértiles que toman anticonceptivos hormonales (estrógenos-progestágenos) se presentan en un orden del 5% [207]. El mecanismo productor sigue en discusión, hablándose de modificaciones del sistema renina-angiotensina-aldosterona.

Desde que Laragh y col. en 1967 [208] observaron la asociación entre hipertensión arterial, la toma de anticonceptivos orales y

la remisión de ésta cuando eran suspendidos, han sido numerosos los estudios encaminados a investigar el papel de los estrógenos y progestágenos sobre el aparato vascular. Se ha descrito que el 4-5% de las mujeres que toman anticonceptivos orales desarrollan hipertensión arterial, y que en el 9-16% de las mujeres hipertensas que ingieren anticonceptivos orales, es detectado un incremento adicional de la presión arterial [209-211].

El análisis de la «hipertensión por la píldora» revela que el sustrato plasmático de renina está incrementado [212], aunque este incremento puede estar relacionado con el efecto de primer paso hepático de los estrógenos orales. Todo ello ha llevado al desarrollo de nuevas formulaciones de anticonceptivos, con menor dosis de estrógenos-progestágenos y un efecto más selectivo por los receptores de la progesterona, lográndose reducir el riesgo de hipertensión arterial [213].

Las modificaciones observadas en la presión sanguínea y en la hemodinámica sistémica, cuando se aplican terapias hormonales de sustitución, pueden ser debidas, en parte, a cambios en el sistema renina-angiotensina. Los estrógenos orales estimulan la producción hepática de sustrato de la renina y en algunos individuos puede predisponer al desarrollo de hipertensión arterial [214]. El tratamiento crónico con 17 β -Estradiol en un modelo experimental de ratas, redujo selectivamente y mejoró la respuesta contráctil del anillo aórtico a la Angiotensina-II y a la Norepinefrina, proponiendo los autores el modelo de rata hembra prepuberal normal para investigar la modulación de los estrógenos en la respuesta aórtica en relación con sustancias vasoactivas in vitro [24].

Adicionalmente, los estrógenos causan retención de sodio [215] por un mecanismo desconocido, aunque probablemente no esté relacionado con la secreción de mineralocorticoides [216].

Los datos existentes en mujeres normotensas demuestran que aunque la terapia con estrógenos está asociada a un incremento en el sustrato de renina, no modifican la presión sanguínea [217]. La progesterona puede además interactuar con el sistema renina-angiotensina, actuando como un antagonista competitivo de la aldosterona con propiedades anti-mineralocorticoide, y por lo tanto, incrementando la excreción de sodio [7]. Existen evidencias de

que la terapia crónica con progesterona produjo un incremento de la actividad plasmática de la renina y de la secreción de aldosterona [218], que favorece la secreción de sodio y puede producir una disminución de la presión sanguínea, como se ha observado en mujeres menopáusicas [219].

Por último, se piensa que mujeres previamente hipertensas puedan tener una respuesta anormal a la acción de las hormonas sexuales, debido a una alteración en el endotelio o en la función del receptor [220].

5.3.3. *Permeabilidad vascular*

Se ha observado que los estrógenos-progestágenos pueden modificar de forma importante el endotelio en determinadas condiciones clínicas. La terapia estrogénica puede proteger la integridad de las células endoteliales a través de mecanismos no conocidos. En enfermedades como las telangiectasias hemorrágicas hereditarias (Enfermedad de Rendu-Osler-Weber), estas hormonas actuarían de alguna manera preservando el endotelio de las vénulas afectadas por la enfermedad [20].

II. OBJETIVOS

1. Analizar el efecto del tratamiento con estrógenos-progestágenos a corto y largo plazo sobre la microcirculación gástrica en ratas con insuficiencia renal crónica. Para ello se investigó: a) el efecto sobre el flujo sanguíneo mucoso gástrico y las resistencias vasculares gástricas; y b) si dicho tratamiento altera la morfología de los capilares de la mucosa y submucosa gástrica.
2. Evaluar los posibles mecanismos de acción que modulan el efecto de los estrógenos-progestágenos sobre la microcirculación gástrica en la uremia: a) se analiza si dicho efecto esta mediado por la inhibición en la formación local de oxido nítrico; y b) se estudia el efecto de los estrógenos-progestágenos sobre la reactividad vascular gástrica a sustancias vasoconstrictoras.

III. MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizaron ratas macho Sprague-Dawley de 200-250 gr de peso, que fueron separadas en dos grupos. Un grupo formado por ratas con insuficiencia renal crónica y el otro por ratas sham o control.

1. MODELO DE RATA URÉMICA

La uremia fue inducida mediante nefrectomía subtotal según el modelo descrito previamente por Lee MI et al. [221]. Tras 12 horas de ayuno las ratas fueron anestesiadas con pentobarbital por vía intraperitoneal (ip) (40/mg/peso). A continuación se practicó lumbotomía y exposición del riñón izquierdo, separándose cuidadosamente la glándula suprarrenal del polo renal superior. Posteriormente, utilizando un microscopio de disección (Nikon), se practicó ligadura de dos o tres ramas de la arteria renal izquierda hasta conseguir infartar de $\frac{3}{4}$ a $\frac{5}{6}$ de la masa renal izquierda. Una semana después de la primera intervención, se realizó nefrectomía del riñón derecho bajo anestesia con pentobarbital (40 mg/kg/peso, ip).

En las ratas controles se practicó intervención ficticia (operación sham). Las ratas fueron preparadas de forma idéntica al grupo experimental. Se practicó lumbotomía izquierda y derecha bajo anestesia con pentobarbital (40 mg/kg ip) con una semana de diferencia, realizándose manipulación de los riñones sin destrucción del tejido renal.

Desde la primera intervención quirúrgica, las ratas fueron estabuladas en jaulas individuales administrándoseles dieta estándar y agua a discreción con un ciclo de luz de 12 horas. Los experimen-

tos se llevaron a cabo 4-6 semanas después de la segunda intervención.

*Composición de la dieta estándar de mantenimiento,
preparada a base de piensos vegetales (Lética, Barcelona).*

Humedad	9,00%
Proteínas	17,00%
Lisina	0,70%
Metionina+Cistina	0,50%
Grasa bruta	3,00%
Fibra bruta	5,00%
Cenizas	5,00%
Calcio	
Fósforo	
Cloruros	
M.E.L.N.	57,00%
Energía metabolizable	2.950 Kcal./Kg.

El grado de insuficiencia renal se evaluó el día antes del experimento mediante determinación de la creatinina sérica (con un Analizador de Creatinina Beckman Instruments, Fullerton CA), obteniéndose la muestra de sangre de un corte en la cola del animal.

2. MEDICIÓN DEL FLUJO SANGUÍNEO Y DE LAS RESISTENCIAS VASCULARES GÁSTRICAS

2.1. PREPARACIÓN DE LOS ANIMALES

Después de un ayuno de 18 horas, con restricción de alimentos pero no de agua, las ratas fueron anestesiadas con uretano (1.25 g/kg, vía subcutánea). A continuación se canalizó la arteria carótida derecha con una cánula de PE-50, para monitorización continua de la presión arterial, utilizando un transductor Statham P23Db. Posteriormente, se

practicó una traqueostomía y colocación de una cánula PE-260, para facilitar la respiración espontánea y la administración de hidrógeno al 3%. Después se canalizó la vena femoral derecha con una aguja de 23-G acoplada a un catéter PE-50 para la administración continua de suero salino (1.5 ml/h), al objeto de mantener al animal hidratado durante el experimento. Posteriormente, se realizó una laparotomía media y exteriorización del estómago, que fue separado cuidadosamente del bazo mediante gasas mojadas con suero salino. Finalmente, se determinó de forma continua la temperatura rectal, manteniéndose a 36-37°C mediante lámpara ultravioleta.

2.2. MEDICIÓN DEL FLUJO SANGUÍNEO Y RESISTENCIAS VASCULARES DE LA MUCOSA GÁSTRICA

El flujo sanguíneo de la mucosa gástrica se midió mediante la técnica de aclaramiento de hidrógeno [84]. Para ello, se insertó un electrodo de platino (125 μ de diámetro) desde la serosa a la porción basal de la mucosa del cuerpo gástrico. El electrodo de platino fue previamente insertado en una pipeta de cristal de 1.5 mm de diámetro y fijado con pegamento de cianoacrilato. La punta del electrodo se insertó unos 3-4 mm dentro del tejido, colocándose un electrodo de referencia en la cavidad abdominal para cerrar el circuito eléctrico.

Al administrar H_2 al 3% por vía traqueal, el gas difunde rápidamente a los tejidos. Al contacto del H_2 con el electrodo de platino se produce la oxidación del mismo, dando lugar a la formación de electrones y a la generación de una corriente eléctrica que se registra en una unidad polarográfica en forma de una curva ascendente que en 15 minutos alcanza una meseta (saturación tisular de H_2). Cuando se alcanza este punto se suspende la administración de H_2 por vía traqueal. Ello produce un descenso progresivo de la curva que sigue un trazado monoexponencial, correspondiente a la desaturación tisular de H_2 . Dado que dicho gas se elimina exclusivamente por vía sanguínea, la curva de desaturación es directamente proporcional al flujo sanguíneo de la mucosa gástrica. La señal analógica registrada en la unidad polarográfica es transformada en una señal digital, que es a su vez procesada para el posterior

análisis computarizado del flujo sanguíneo (expresado en ml/min/100g de tejido) [85].

Las resistencias vasculares de la mucosa gástrica fueron calculadas dividiendo la presión arterial media entre el flujo sanguíneo de la mucosa gástrica, expresándose en mmHg/ml/min/100g de tejido gástrico.

2.3. MEDICIÓN DEL FLUJO SANGUÍNEO Y RESISTENCIAS VASCULARES DE LA ARTERIA GÁSTRICA IZQUIERDA

El flujo sanguíneo en la arteria gástrica izquierda se determinó mediante la técnica de flujometría ultrasónica [222]. Para ello, se disecó dicha arteria en las proximidades de la unión esofagogástrica e inmediatamente antes de su entrada en la pared de la pequeña curvatura gástrica, dejando expuesto un segmento de unos 3 mm de longitud donde se colocó un sensor ultrasónico perivascular (Modelo 1RB, Transonic, Ithaca, New York, USA). Dicho sensor fue conectado a un pequeño flujómetro (modelo T106, Transonic) que permite medir el flujo de forma continua en ml/min. Las determinaciones se realizaron después de un período de estabilización de 45 minutos. Las resistencias vasculares de la arteria gástrica izquierda fueron calculadas dividiendo la presión arterial media entre el flujo sanguíneo de la arteria gástrica izquierda, expresándose en mmHg/ml/min.

3. ANÁLISIS MORFOMÉTRICO DE LA MICROCIRCULACIÓN GÁSTRICA. DETERMINACIÓN DE LA DENSIDAD VASCULAR GÁSTRICA

Al finalizar los experimentos de medición del flujo sanguíneo se resecó el estómago mediante corte a nivel del esófago inferior y de la primera porción del duodeno. A continuación se realizó un corte transversal, utilizando una cuchilla recta, a nivel del cuerpo gástrico que fue sumergido en parafina y teñido posteriormente con hematoxilina y eosina (H&E).

Las muestras fueron codificadas para análisis morfométrico mediante un sistema de análisis de imagen automático (Microscience Ins.). Un microscopio óptico Reicher conectado a una cámara de video y a un ordenador, permitieron realizar el trazado del contorno de los capilares y vénulas de la mucosa y submucosa, con un lápiz digitalizado (x20). Con este sistema se cuantificó el número total de vasos y el área vascular total (mm^2) de la mucosa y submucosa gástrica de cada animal. Asimismo, se determinó el área promedio por vaso (μm^2) (resultado del cociente entre el área vascular total y el número de vasos). El área total de la mucosa y submucosa gástrica se calculó dibujando su contorno (x2). Se determinó el área relativa ocupada por los vasos mediante el cociente del área total de éstos por las áreas respectivas de la mucosa y submucosa. Las mediciones fueron realizadas por un investigador que desconocía el grupo al que pertenecían los animales.

4. FÁRMACOS UTILIZADOS

Se utilizó enantato de estradiol (1.2 mg/100g) y acetofénido de Dihidroxiprogesterona (18 mg/100g), preparado Depot que se administra por vía intramuscular, cuyo nombre comercial es Topasel[®], proveniente del laboratorio Europharma, Madrid.

También se emplearon en el estudio Metoxamina, Angiotensina II y N-Nitro-L-Arginina (L-NAME), que se obtuvieron de la casa Sigma Chemical Co., Madrid. Estos fármacos se disolvieron en suero fisiológico.

5. DISEÑO Y PLAN DE TRABAJO

5.1. ESTUDIO I. EFECTO TERAPÉUTICO A CORTO Y LARGO PLAZO DE LOS ESTRÓGENOS-PROGESTÁGENOS SOBRE LA HEMODINÁMICA Y LA DENSIDAD VASCULAR GÁSTRICA EN RATAS URÉMICAS Y RATAS CONTROL

Tres semanas después de realizar la nefrectomía subtotal o la intervención ficticia (ratas sham), se administró una inyección depot intramuscular de enantato de estradiol (1.2 mg/100g), más

acetofénido de dihidróxiprogesterona (18 mg/100g) (EP), o su vehículo (VH). Para valorar si el tratamiento con EP modifica la hiperemia gástrica en la uremia, se determinó el flujo sanguíneo de la mucosa gástrica y las resistencias vasculares gástricas en cada uno de los grupos del experimento:

- **Grupo 1** = ratas urémicas, que recibieron por vía i.m. 1.2 mg/100g de enantato de estradiol + 18 mg/100g de acetofénido de dihidro-progesterona depot (Topasel) (Uremia/EP).
- **Grupo 2** = ratas urémicas, tratadas con una cantidad equivalente de excipiente por vía im (Uremia/VH).
- **Grupo 3** = ratas sham (controles), que recibieron por vía intramuscular 1.2 mg/100g de enantato de estradiol + 18 mg/100g de acetofénido de dihidroprogesterona depot (Topasel) (Sham/EP).
- **Grupo 4** = ratas sham, tratadas con una cantidad equivalente de excipiente por vía intramuscular (Sham/VH).

Cada uno de estos grupos fueron estudiados 24 horas, 48 horas y 15 días después de la administración del fármaco o su vehículo, incluyéndose de 8 a 12 animales por grupo. Para confirmar que las ratas urémicas presentaban hiperemia gástrica en el momento de ser tratadas con los estrógenos-progestágenos o su vehículo, se midió el flujo sanguíneo y la resistencia vascular de la mucosa gástrica en grupos adicionales de ratas urémicas y sham, tres semanas después de la cirugía (cada grupo estuvo constituido por 7 animales).

Con la intención de evaluar el efecto de los EP sobre la densidad vascular gástrica, se realizó un análisis morfométrico de los capilares y vénulas de la mucosa y submucosa gástrica de las ratas urémicas y sham que habían recibido tratamiento con EP 15 días antes. El estómago de las ratas fue resecado al finalizar la determinación del flujo sanguíneo de la mucosa gástrica, y procesado para el examen histológico y morfométrico ya descrito previamente. Finalmente, antes de sacrificar al animal, se tomo una muestra de sangre de la aorta para determinar por RIA los niveles de 17 β -estradiol, con el objeto de monitorizar el tratamiento con EP.

5.2. ESTUDIO II. EFECTO DEL TRATAMIENTO CON ESTRÓGENOS-PROGESTÁGENOS SOBRE LA REACTIVIDAD VASCULAR GÁSTRICA

En este estudio se evaluó si en la rata urémica los EP alteran las resistencias vasculares gástricas, bien aumentando sensibilidad vascular gástrica a sustancias vasoconstrictoras o mediante inhibición de la formación de Óxido Nítrico.

Tres semanas después de la cirugía ablativa o intervención Sham, las ratas recibieron una inyección depot intramuscular de 1.2 mg/100gr de enantato de estradiol más 18 mg/100gr de acetofénido de dihidroprogesterona (EP) o su vehículo (VH).

Al demostrarse en el estudio I que la hiperemia gástrica observada en las ratas urémicas era revertida 48 horas después de la administración de EP, consideramos que el estudio de la reactividad vascular gástrica en ratas urémicas y sham podía realizarse a las 72 horas de la administración de EP o VH.

La administración endovenosa de dosis acumulativas de Metoxamina (15, 30, 60, 120 y 180 mg.kg⁻¹.min⁻¹), Angiotensina II (62, 125, 250, 500 y 750 ng.kg⁻¹.min⁻¹), o N-Nitro-L-Arginina metil-éster (L-NAME) un inhibidor específico de la formación de óxido nítrico (1, 2, 3, y 4 mgr.kg⁻¹.min⁻¹), se realizó mediante una bomba de infusión (modelo 975 de Harvard Apparatus Co. Inc South Natick, MA). Los fármacos fueron disueltos en suero salino estéril al 0.9% y preparados el mismo día del experimento; cada dosis administrada fue mantenida durante 10 minutos, registrándose simultáneamente la presión arterial media y el flujo sanguíneo de la arteria gástrica izquierda. Las resistencias vasculares gástricas fueron calculadas antes y 10 minutos después de la administración de cada dosis.

6. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Las variables cuantitativas fueron comparadas mediante la prueba de la t-Student para medias pareadas (en el caso de grupos dependientes), y no pareadas (en el caso de grupos independientes). En la comparación de dos medias se comprobó primero su distribu-

ción mediante el test de Kolgomorov y la igualdad de varianzas mediante el coeficiente de Snedecor. Cuando las series analizadas no se ajustaban a una distribución normal se aplicó el test no paramétrico de Mann-Whitney.

Para analizar las diferencias porcentuales entre los valores basales y los valores obtenidos tras la administración de fármacos con respecto a la presión arterial media, el flujo sanguíneo y resistencias vasculares gástricas entre los animales urémicos tratados con estrógenos-progestágenos o los tratados con vehículo (estudio II), se realizó un análisis unidireccional de varianza. Cuando este análisis mostró un efecto de interacción significativo, se analizaron las diferencias entre los diferentes grupos, aplicando la prueba de la comparación múltiple de Neuman-Keuls.

Los resultados se expresan como la media \pm el error estándar. Todos los cálculos se realizaron con el programa estadístico SOLO (BMDP Statistical Software, Inc. Versión 2.8 8/88, Los Angeles. Ca.).

IV. RESULTADOS

1. ESTUDIO I. EFECTO DEL TRATAMIENTO CON ESTRÓGENOS-PROGESTÁGENOS SOBRE LA HEMODINÁMICA Y LA MORFOLOGÍA VASCULAR GÁSTRICA

Tres semanas después de la cirugía ablativa o de la operación ficticia, las ratas urémicas presentaron un peso significativamente inferior (229 ± 11 g) al observado en las ratas controles (326 ± 7 g) ($p < 0.05$). Las ratas urémicas, sometidas a nefrectomía subtotal, ganaron menos peso durante las 5 semanas de seguimiento que las controles (38 ± 8 g vs 95 ± 9 g, respectivamente) ($p < 0.001$).

Como se muestra en la Tabla 1, a las tres semanas de la cirugía ablativa o ficticia, no se observaron diferencias significativas en la presión arterial media ni en los niveles séricos de 17-estradiol entre las ratas urémicas y las ratas sham no tratadas. Ello sugiere que en este modelo experimental la uremia no altera significativamente los niveles basales séricos de 17-estradiol. Las ratas urémicas presentaron unos niveles séricos de creatinina tres veces más elevados que las ratas sham. El tratamiento con E-P no produjo cambios significativos en los niveles séricos de creatinina, ni en la presión arterial media en ninguno de los dos grupos de ratas estudiados.

Los niveles séricos basales de 17-estradiol fueron similares entre las ratas urémicas o sham no tratadas o tratadas con vehículo. A las 24 horas de la administración de enantato de estradiol (1.2 mg/100g) y acetofénido de Dihidróxiprogesterona (18 mg/100g), se produjo un incremento significativo en los niveles séricos de 17-estradiol tanto en las ratas urémicas como en las ratas sham, mante-

niéndose dicho aumento a los 15 días de la administración del tratamiento (tabla 1). Las diferencias observadas en los niveles séricos de 17-estradiol entre las ratas urémicas y las ratas sham 24 horas, 48 horas y 15 días después de la administración del tratamiento no fueron estadísticamente significativas (Tabla 1), sugiriendo que la insuficiencia renal no modifica la farmacocinética de estas hormonas.

TABLA 1. Determinaciones analíticas y presión sanguínea media. (Estudio I)

	MEDIA PRESIÓN MEDIA (mmHg)	CREATININA SÉRICA (mg/dl)	17-ESTRADIOL SÉRICA (pg/ml)
<u>RATAS SHAM:</u>			
No tratadas			
(n=11)	101 ± 6	0.45 ± 0.03	26 ± 14
Vehículo			
24 horas (n= 5)	115 ± 7	0.5 ± 0.04	69 ± 14
48 horas (n= 6)	94 ± 4	0.5 ± 0.04	82 ± 8
15 días (n=11)	101 ± 5	0.4 ± 0.03	105 ± 10
Estrógenos-progestágenos			
24 horas (n= 5)	101 ± 5	0.4 ± 0.02	828 ± 102 ^a
48 horas (n= 9)	103 ± 4	0.5 ± 0.02	1562 ± 144 ^a
15 días (n=11)	98 ± 3	0.5 ± 0.07	1325 ± 353 ^a
<u>RATAS URÉMICAS:</u>			
No tratadas			
(n=10)	117 ± 5	1.6 ± 0.22 ^b	59 ± 14
Vehículo			
24 horas (n= 5)	129 ± 12	1.6 ± 0.17 ^b	71 ± 18
48 horas (n= 6)	101 ± 7	1.4 ± 0.09 ^b	64 ± 11
15 días (n= 8)	104 ± 8	1.6 ± 0.4 ^b	32 ± 7
Estrógenos-progestágenos			
24 horas (n= 8)	101 ± 4	1.1 ± 0.03 ^b	1563 ± 144 ^c
48 horas (n= 9)	112 ± 6	1.6 ± 0.2 ^b	1171 ± 78 ^c
15 días (n=12)	113 ± 6	1.4 ± 0.06 ^b	791 ± 96 ^c

^a p<0.01 comparado con ratas sham tratadas con vehículo.

^b p<0.001 comparado con su respectivo grupo control a las 24 h. y 15 días después de realizar el tratamiento.

^c p<0.01 comparado con ratas urémicas tratadas con vehículo.

1.1. ESTUDIO HEMODINÁMICO BASAL

En el estudio hemodinámico realizado en condiciones basales a las tres semanas de la cirugía ablativa o ficticia (ratas no tratadas), las ratas urémicas presentaban una circulación gástrica hiperdinámica caracterizada por un FSMG ($68 \pm 9 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1} \cdot 100 \text{ gr}$) significativamente superior ($p < 0.01$), y una RVMG ($1.9 \pm 0.2 \text{ mm Hg} \cdot \text{ml} \cdot \text{min}^{-1}$) significativamente inferior ($p < 0.05$) a las observadas en las ratas sham ($37 \pm 5 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1} \cdot 100 \text{ gr}$ y $3.1 \pm 0.4 \text{ mm Hg} \cdot \text{ml} \cdot \text{min}^{-1}$, respectivamente) (Figura 1).

1.2. EFECTO DE LOS ESTRÓGENOS-PROGESTÁGENOS SOBRE LA HEMODINÁMICA GÁSTRICA

La figura 2 muestra los efectos de los E-P o VH sobre el FSMG a las 24 horas, 48 horas y 15 días después del tratamiento. En las ratas sham el tratamiento con E-P o VH no modificó el FSMG en ninguno de los períodos estudiados. El tratamiento con VH no modificó el FSMG en las ratas urémicas, siendo éste significativamente superior al observado en las ratas sham tratadas con VH en cada uno de los períodos del estudio. Sin embargo, el tratamiento con E-P produjo un descenso progresivo del FSMG que alcanzó niveles similares a los observados en las ratas sham. El descenso del FSMG en ratas urémicas se observó a las 24 horas y mostró diferencias estadísticamente significativas respecto al FSMG de los correspondientes grupos de ratas urémicas, tratadas con VH a las 48 horas y a los 15 días de la administración del tratamiento.

La figura 3 muestra los efectos de los E-P o VH sobre la RVMG a las 24 horas, 48 horas y 15 días después de la administración del tratamiento. En las ratas sham el tratamiento con E-P o VH no produjo cambios significativos en la RVMG en ninguno de los grupos estudiados. En las ratas urémicas, el tratamiento con VH no modificó significativamente la RVMG, siendo ésta significativamente inferior a la observada en los correspondientes grupos de ratas sham tratadas con VH. Sin embargo, paralelamente a los cambios descritos en el FSMG, el tratamiento con E-P produjo en las ratas urémicas un aumento pro-

gresivo de la RVMG que alcanzó niveles similares a los observados en las ratas sham. Dicho aumento, observado ya a las 24 horas, mostró diferencias estadísticamente significativas con respecto a la RVMG de los correspondientes grupos de ratas urémicas, tratadas con VH a las 48 horas y a los 15 días después del tratamiento.

1.3. EFECTO DEL TRATAMIENTO CON ESTRÓGENOS-PROGESTÁGENOS SOBRE LA DENSIDAD VASCULAR GÁSTRICA

La Tabla 2 muestra los resultados del análisis morfométrico de los vasos de la mucosa y submucosa gástrica en ratas urémicas y ratas sham a los 15 días de la administración del tratamiento con E-P o VH. No se observaron diferencias significativas en el número de vasos, el área vascular total, el área promedio por vaso, y el área de mucosa ocupada por vasos entre las ratas urémicas y las ratas sham tratadas con vehículo en ninguno de los territorios estudiados. Asimismo, el tratamiento con E-P no produjo cambios significativos en la densidad vascular de la mucosa y submucosa gástrica con respecto a los valores observados en los respectivos grupos de ratas urémicas y sham tratadas con VH.

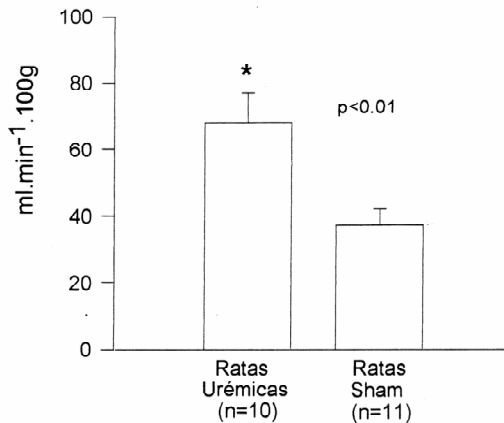
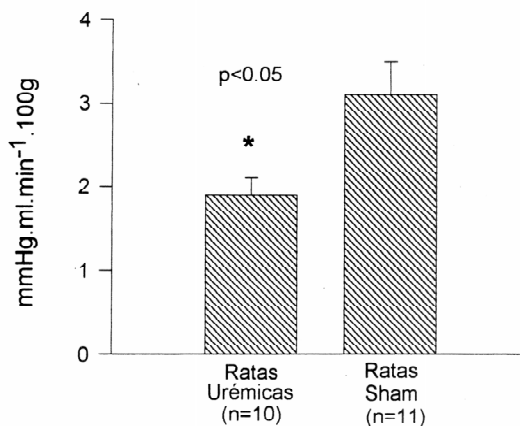
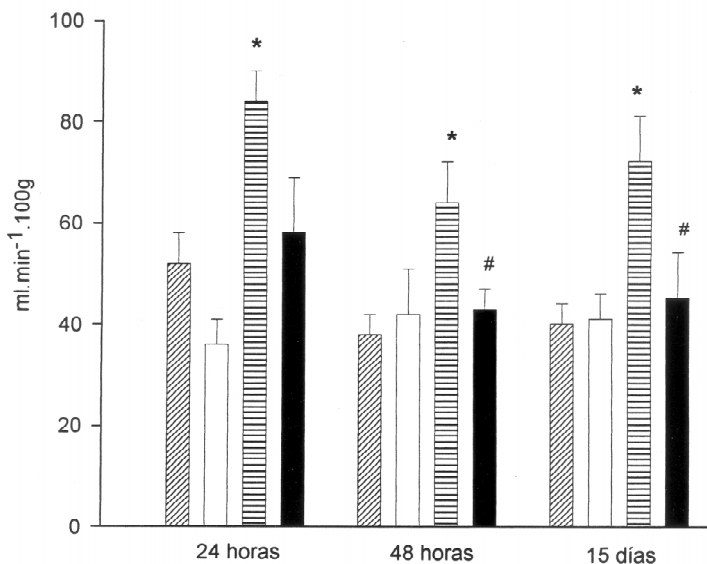
Figura 1. Hemodinámica basal (estudio I).**A) Flujo sanguíneo mucoso gástrico (FSMG)****B.- Resistencia vascular de la mucosa gástrica (RVMG).**

Figura 1. Hemodinámica de la mucosa gástrica en condiciones basales (a las 3 semanas de practicada la cirugía ablativa o ficticia) en ratas urémicas (n=10) y ratas sham (n=11) no tratadas (estudio I).

A) El FSMG fue significativamente mayor ($p<0.01$) en las ratas urémicas que en las ratas sham. B) Las ratas urémicas presentaron una marcada reducción en la RVMG en comparación con la observada en las ratas sham ($p<0.05$).

Figura 2. Flujo sanguíneo mucoso gástrico (estudio I).

* $p < 0.05$ vs ratas sham tratadas con vehículo o estrógenos-progestágenos

$p < 0.05$ vs ratas urémicas tratadas con vehículo.

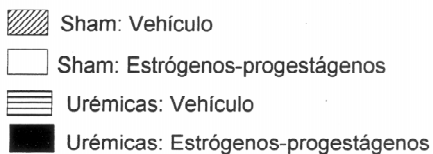
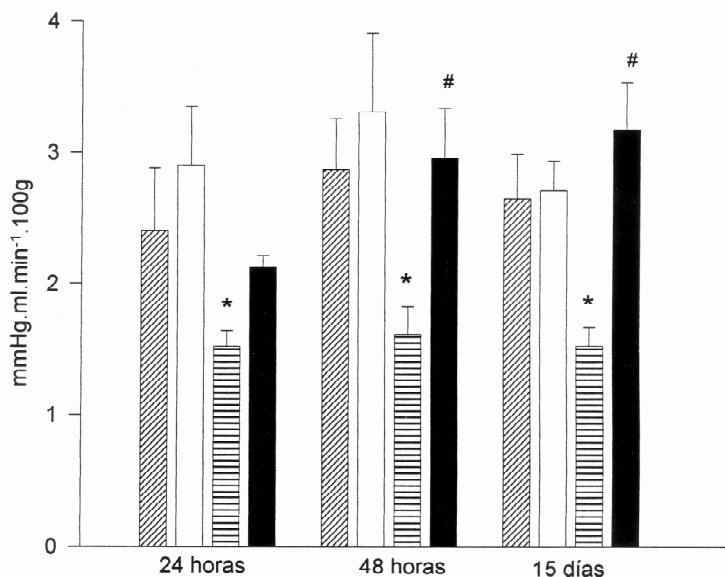


Figura 2. Flujo sanguíneo mucoso gástrico en ratas sham y ratas urémicas a las 24 h., 48 h., y 15 días de haber recibido tratamiento con E-P o VH (estudio I). El FSMG en las ratas sham fue similar en los tres períodos analizados, no existiendo diferencias significativas entre los valores observados en ratas tratadas con E-P o VH. Las ratas urémicas tratadas con VH presentaron un FSMG significativamente superior ($p < 0.05$) en todos los períodos estudiados con respecto a las ratas sham tratadas con E-P o VH. El tratamiento con E-P produjo un marcado descenso del FSMG, que fue estadísticamente significativo con respecto a las ratas urémicas tratadas con VH a las 48 h. y a los 15 días de la administración del tratamiento ($p < 0.05$).

Figura 3. Resistencia vascular de la mucosa gástrica (estudio I).

* $p < 0.05$ comparado con las ratas sham tratadas con estrógenos-progestágenos o vehículo.

$p < 0.05$ comparado con ratas urémicas tratadas con vehículo.





 Sham: Vehículo
 Sham: Estrógenos-progestágenos
 Urémicas: Vehículo
 Urémicas: Estrógenos-progestágenos

Figura 3. Resistencia vascular de la mucosa gástrica en ratas sham y ratas urémicas a las 24 h., 48 h., y 15 días de haber recibido tratamiento con E-P o VH (estudio I). No se observaron diferencias significativas en la RVMG entre las ratas sham tratadas con E-P y las tratadas con VH. Las ratas urémicas tratadas con VH presentaron una RVMG significativamente inferior ($p < 0.05$) que los dos grupos de ratas sham en todos los períodos estudiados. El tratamiento con E-P produjo un aumento progresivo de la RVMG con respecto a las ratas urémicas tratadas con VH, que fue estadísticamente significativo ($p < 0.05$) a las 48 h y a los 15 días después del tratamiento.

TABLA 2. Análisis morfométrico de los vasos de la mucosa y submucosa gástrica (Estudio I).

	Nº DE VASOS	ÁREA VASCULAR TOTAL (mm ²)	ÁREA TRANS- VERSAL (mm ²)	ÁREA OCUPADA POR VASOS (%)
<u>VASOS DE LA MUCOSA</u>				
Sham-VH	148 ± 15	212 ± 1	1.5 ± 0.1	0.8 ± 0.06
Sham-EP	131 ± 27	201 ± 34	1.6 ± 0.1	0.7 ± 0.1
Urémicas-VH	114 ± 13	218 ± 51	1.8 ± 0.2	0.6 ± 0.1
Urémicas-EP	117 ± 14	186 ± 28	1.5 ± 0.1	0.5 ± 0.08
<u>VASOS DE LA SUBMUCOSA</u>				
Sham-VH	99 ± 11	689 ± 91	8 ± 2	12 ± 3
Sham-EP	101 ± 10	888 ± 223	10 ± 3	13 ± 3
Urémicas-VH	93 ± 7	771 ± 250	9 ± 3	8 ± 5
Urémicas-EP	88 ± 5	864 ± 210	10 ± 2	13 ± 2

2. ESTUDIO II. EFECTO DEL TRATAMIENTO CON ESTRÓGENOS-PROGESTÁGENOS SOBRE LA REACTIVIDAD VASCULAR GÁSTRICA

2.1. DETERMINACIONES ANALÍTICAS Y HEMODINÁMICA BASAL

La tabla 3 muestra los resultados correspondientes a los niveles séricos basales de creatinina y 17-estradiol, así como los parámetros hemodinámicos a las 72 horas de la administración i.m. de E-P o VH en todos los grupos de ratas estudiados.

Las ratas urémicas presentaron unos niveles séricos de creatinina tres veces superiores a los observados en las ratas sham y fueron equiparables a los que presentaron las ratas urémicas del estudio I. El tratamiento con E-P produjo un marcado aumento en los niveles séricos de 17-estradiol tanto en las ratas urémicas como en las ratas sham. Al comparar los niveles hormonales entre las ratas sham y las urémicas tratadas con VH o E-P no se observaron diferencias significativas.

El tratamiento con E-P no produjo cambios significativos en la P.A.M. de las ratas urémicas o sham, presentando los cuatro grupos de ratas estudiados una P.A.M. similar. El FSAGI basal en las ratas

sham tratadas con E-P no mostró diferencias significativas respecto al observado en las ratas sham tratadas con VH. Las ratas urémicas tratadas con VH presentaron un FSAGI basal significativamente mayor que el obtenido en las ratas sham tratadas con VH. El tratamiento con E-P produjo un descenso estadísticamente significativo en el FSAGI basal con respecto al observado en las ratas urémicas tratadas con VH y alcanzó unos niveles similares a los obtenidos en las ratas sham.

En las ratas sham el tratamiento con E-P no modificó la RVAGI basal, siendo éste similar al observado en las ratas sham tratadas con VH. Las ratas urémicas tratadas con VH presentaron una RVAGI basal significativamente inferior a la obtenida en las ratas sham. En las ratas urémicas el tratamiento con E-P produjo un aumento estadísticamente significativo de la RVAGI basal con respecto al grupo de ratas urémicas tratadas con VH, siendo los valores superponibles a los observados en las ratas sham.

TABLA 3. Determinaciones analíticas y hemodinámica basal (Estudio II).

	CREATININA (mg/dl)	17 β -ESTRADIOL (pg/ml)	P.A.M. (mm Hg)	FAGI (ml/min)	RVAGI (mmHg/ ml/ min)
Sham-VH (n=26)	0.4 \pm 0.05	65 \pm 16	97 \pm 2	0.75 \pm 0.04	126 \pm 6
Sham-EP (n=20)	0.5 \pm 0.03	950 \pm 115b	103 \pm 3	0.76 \pm 0.06	144 \pm 10
Urémicas-VH (n=19)	1.7 \pm 0.1a	70 \pm 11	106 \pm 4	1.36 \pm 0.13	88 \pm 8c
Urémicas-EP (n=21)	1.85 \pm 0.09a	867 \pm 89b	103 \pm 5	0.92 \pm 0.12d	139 \pm 19d

P.A.M. = presión arterial media.

FAGI = flujo sanguíneo en arteria gástrica izquierda.

RVAGI = resistencia vascular en arteria gástrica izquierda.

a $p < 0.0001$ con respecto a los niveles de creatinina sérica en ratas sham.

b $p < 0.0001$ con respecto a los niveles séricos en ratas urémicas y sham tratadas con VH.

c $p < 0.05$ significativamente diferente de los respectivos FAGI y RVAGI en ratas sham.

d $p < 0.05$ comparado con el respectivo FAGI y RVAGI en ratas urémicas tratadas con VH.

2.2. CURVAS DOSIS-RESPUESTA TRAS LA ADMINISTRACIÓN DE L-NAME

Las figuras 4, 5 y 6 muestran el efecto del tratamiento con E-P sobre la respuesta a la administración de dosis acumulativas de L-Name. Dosis crecientes de L-NAME produjeron un incremento progresivo y equiparable de la PAM en ratas sham y urémicas tratadas con E-P o VH (Figuras 4 A y 5 A respectivamente). Por el contrario, la administración de L-NAME se acompañó de un descenso insignificante en el FSAGI, no siendo las diferencias observadas entre los valores obtenidos en cada una de las dosis y el valor basal estadísticamente significativas. (Figuras 4 B y 5 B, respectivamente).

La figura 6 muestra los efectos de los E-P sobre la reactividad vascular gástrica (calculada restando la RVAGI obtenida en cada dosis, del valor basal) al L-NAME en ratas sham y urémicas. Dosis acumulativas de L-NAME produjeron un aumento paralelo de la RVAGI en todos los grupos estudiados, sin observarse diferencias estadísticamente significativas entre los mismos. El tratamiento con E-P no alteró de forma significativa la RVAGI en las ratas urémicas. Estos datos sugieren que el efecto vasoconstrictor de estos esteroides en la uremia no está mediado por la inhibición en la síntesis de óxido nítrico.

2.3. CURVAS DOSIS-RESPUESTA TRAS LA ADMINISTRACIÓN DE METOXAMINA

Los resultados de las curvas de respuesta a dosis crecientes de metoxamina se muestran en las figuras 7, 8 y 9. Las ratas sham y urémicas tratadas con E-P y VH presentaron un incremento similar y paralelo en la PAM en respuesta a la metoxamina (Figuras 7 A y 8 A, respectivamente), no existiendo diferencias significativas entre las ratas tratadas con E-P o VH en ninguno de los grupos. Asimismo, el tratamiento con metoxamina no se acompañó de cambios importantes en el FSAGI en ninguno de los grupos de ratas estudiados (Figuras 7 B y 8 B).

La administración de metoxamina produjo un incremento paralelo en la RVAGI en todos los grupos estudiados, no observándose diferencias estadísticamente significativas entre las ratas urémicas o

sham tratadas con E-P o VH. La figura 9 muestra el efecto de los E-P sobre la reactividad vascular a la metoxamina en ratas urémicas y ratas sham. El tratamiento con E-P no modificó la respuesta vasoconstrictora de la AGI en ninguno de los grupos.

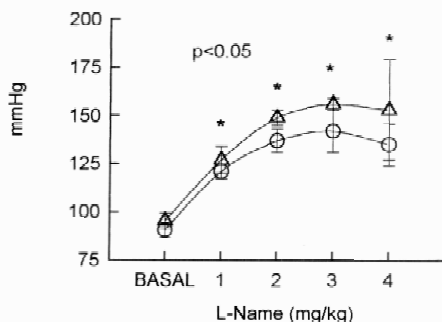
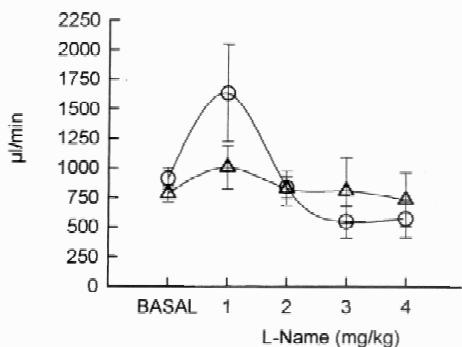
2.4. CURVAS DOSIS-RESPUESTA TRAS LA ADMINISTRACIÓN DE ANGIOTENSINA II

Las figuras 10, 11 y 12 muestran el efecto del tratamiento con E-P sobre la respuesta a la administración de dosis acumulativas de angiotensina II. Tanto las ratas sham como las urémicas tratadas con E-P o vehículo, presentaron un aumento progresivo y paralelo de la PAM, no existiendo diferencias significativas entre el incremento de la PAM observado en las ratas tratadas con E-P o VH en ninguno de los grupos (Figuras 10 A y 11 A, respectivamente).

La administración de dosis crecientes de angiotensina II produjo un aumento del FSAGI en las ratas sham (figura 10 B) que fue discretamente más acentuado en las ratas tratadas con E-P que en las que recibieron VH, aunque estas diferencias no llegaron a alcanzar significación estadística. Por el contrario, en las ratas urémicas tratadas con E-P y VH la administración de dosis crecientes de angiotensina II se acompañó de un descenso progresivo en el FSAGI (figura 11 B). Si bien no se observaron diferencias estadísticamente significativas entre la tasa de reducción del FSAGI (diferencias de los valores de cada una de las dosis con respecto al valor basal) en las ratas urémicas tratadas con E-P y las que recibieron VH, el FSAGI fue significativamente más bajo en cada uno de los períodos analizados en las ratas tratadas con E-P en comparación con las ratas urémicas tratadas con VH (Figura 11 B).

El efecto de los E-P sobre la reactividad vascular gástrica en respuesta a dosis crecientes de angiotensina II se muestra en la figura 12. Dosis crecientes de angiotensina II produjeron un incremento de la RVAGI en las ratas sham tratadas con E-P y VH, sin observarse diferencias estadísticamente significativas en la tasa de incremento entre los dos tratamientos (Figura 12 A). En las ratas urémicas, se produjo también un aumento progresivo en la RVAGI, pero la tasa de incremento de la RVAGI fue mucho más acentuada en las ratas

tratadas con E-P que en las que recibieron tratamiento con VH, siendo estas diferencias estadísticamente significativas en cada uno de los períodos analizados (figura 12 B).

Figura 4. Curvas dosis-respuesta en ratas sham tras la administración endovenosa de L-NAME (estudio II).**A) Presión arterial media (PAM).****B) Flujo sanguíneo en arteria gástrica izquierda (FSAGI)**

○ Vehículo (n=7)
 △ Estrógenos-progestágenos (n=6)

Figura 4. Curvas dosis-respuesta tras la administración de L-NAME en ratas sham (estudio II). A) Dosis crecientes de L-NAME produjeron un aumento progresivo y paralelo de la P.A.M. en ratas sham tratadas con E-P o VH. Las tasas de incremento de P.A.M. con respecto al valor basal fueron estadísticamente significativas en todos los períodos analizados (* $p < 0.05$), no existiendo diferencias significativas entre los valores observados en ratas tratadas con E-P o VH. B) La administración de L-NAME no produjo cambios significativos en el FSAGI en ninguno de los grupos estudiados.

Figura 5. Curvas dosis-respuesta en ratas urémicas tras la administración endovenosa de L-NAME (estudio II).

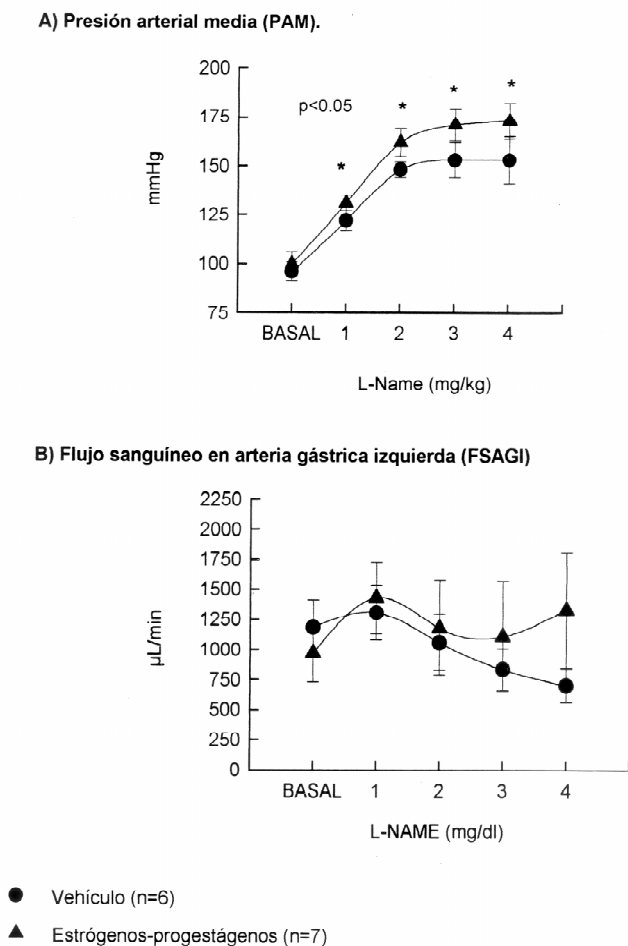


Figura 5. Curvas dosis-respuesta tras la administración de L-NAME en ratas urémicas (estudio II). A) Dosis acumulativas de L-NAME se acompañaron de un marcado incremento de la P.A.M. en las ratas tratadas con E-P o VH, sin que existieran diferencias significativas entre los dos tratamientos. La tasa de incremento de la P.A.M. con respecto al valor basal fue estadísticamente significativa en todos los períodos estudiados independientemente del tratamiento realizado. B) La administración con L-NAME no modificó de forma significativa el FSAGI en las ratas urémicas tratadas con E-P o VH.

Figura 6. Efecto del tratamiento con estrógenos-progestágenos sobre la reactividad vascular a L-NAME (estudio II).

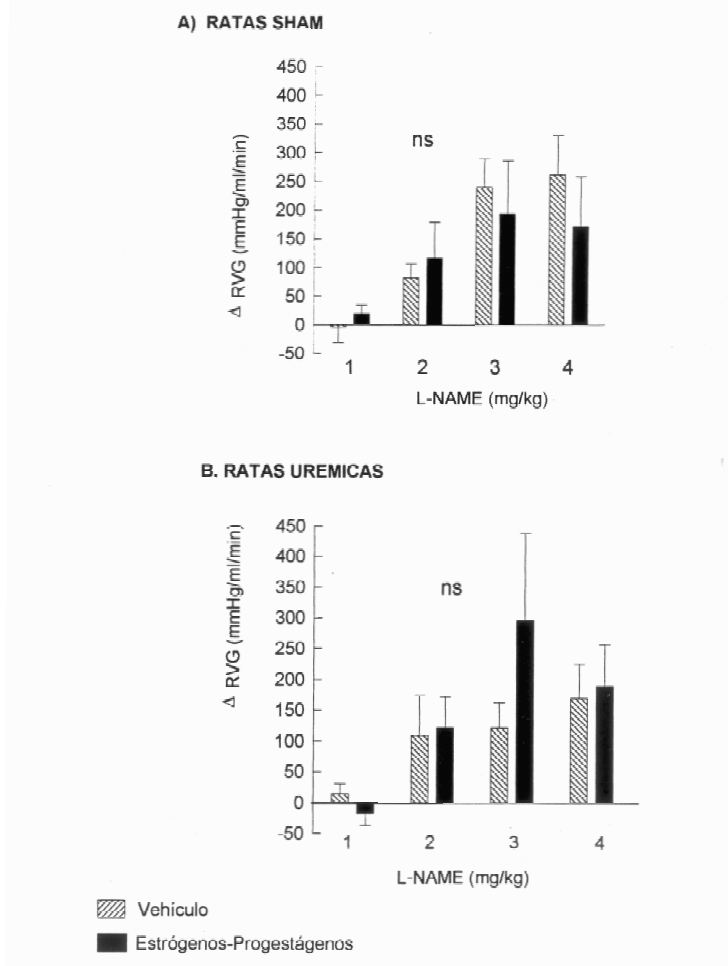
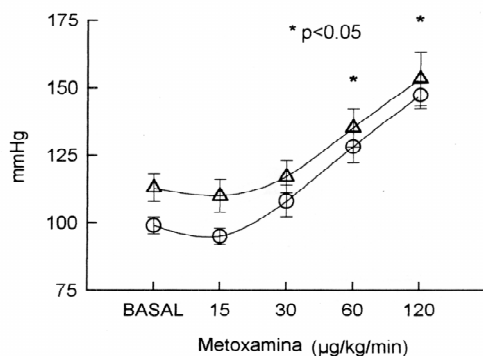


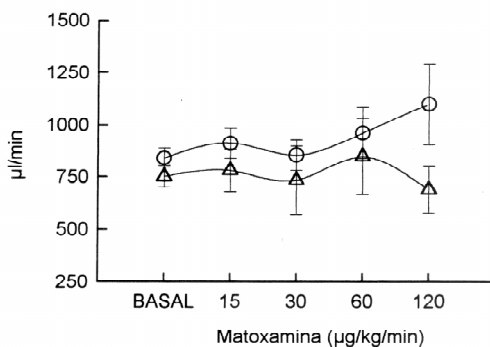
Figura 6. Efecto del tratamiento con E-P sobre la reactividad vascular gástrica a L-NAME. A) Dosis crecientes de L-NAME produjeron un aumento paralelo de la RVGI en las ratas sham tratadas con EP o VH. No se observaron diferencias estadísticamente significativas en la tasa de incremento de la RVGI entre los dos grupos de ratas. B) En las ratas urémicas la administración de L-NAME tuvo un comportamiento similar al observado en las ratas sham. El tratamiento con E-P en comparación con VH no modificó la tasa de incremento de la RVGI en ratas urémicas.

Figura 7. Curvas dosis-respuesta en ratas sham tras la administración endovenosa de metoxamina (estudio II).

A) Presión arterial media (PAM)



B) Flujo sanguíneo en arteria gástrica izquierda (FSAGI)

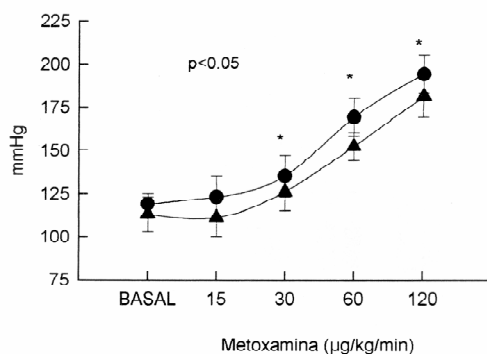


- Vehículo (n=12)
 Δ Estrógenos-progestágenos (n=7)

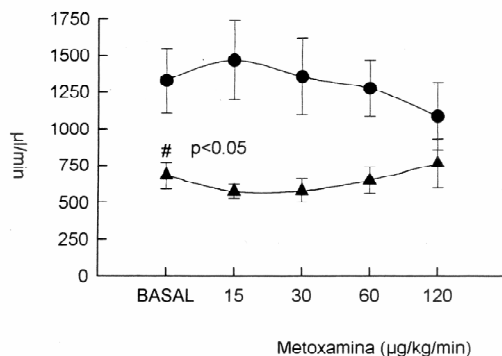
Figura 7. Curvas dosis-respuesta tras la administración de metoxamina en ratas sham (estudio II). A) La administración de metoxamina produjo un aumento paralelo de la P.A.M. en las ratas sham tratadas con E-P o VH. La tasa de incremento con respecto al valor basal de P.A.M. fue estadísticamente significativa ($*p<0.05$) en los últimos períodos estudiados en los dos grupos de ratas. B) La metoxamina no alteró el FSAGI en las ratas sham tratadas con E-P o VH.

Figura 8. Curvas dosis-respuesta en ratas urémicas tras la administración endovenosa de metoxamina (estudio II).

A) Presión arterial media (PAM)



B) Flujo sanguíneo en la arteria gástrica izquierda (FSAGI)



● Vehículo (n=7)

▲ Estrógenos-progestágenos (n=7)

Figura 8. Curvas dosis-respuesta tras la administración de metoxamina en ratas urémicas (estudio II). A) Dosis crecientes de metoxamina se asociaron a un incremento progresivo y paralelo en la P.A.M. de las ratas urémicas tratadas con E-P o VH. La tasa de incremento con respecto al valor basal de P.A.M. en los dos grupos de animales fue estadísticamente significativa en los dos últimos períodos analizados. B) El FSAGI basal en las ratas urémicas tratadas con E-P fue significativamente inferior al observado en las ratas urémicas tratadas con vehículo (# $p<0.05$). El tratamiento con metoxamina no produjo modificaciones significativas en el FSAGI de las ratas tratadas con E-P o VH.

Figura 9. Efecto del tratamiento con estrógenos-progestágenos sobre la reactividad vascular a la metoxamina (estudio II).

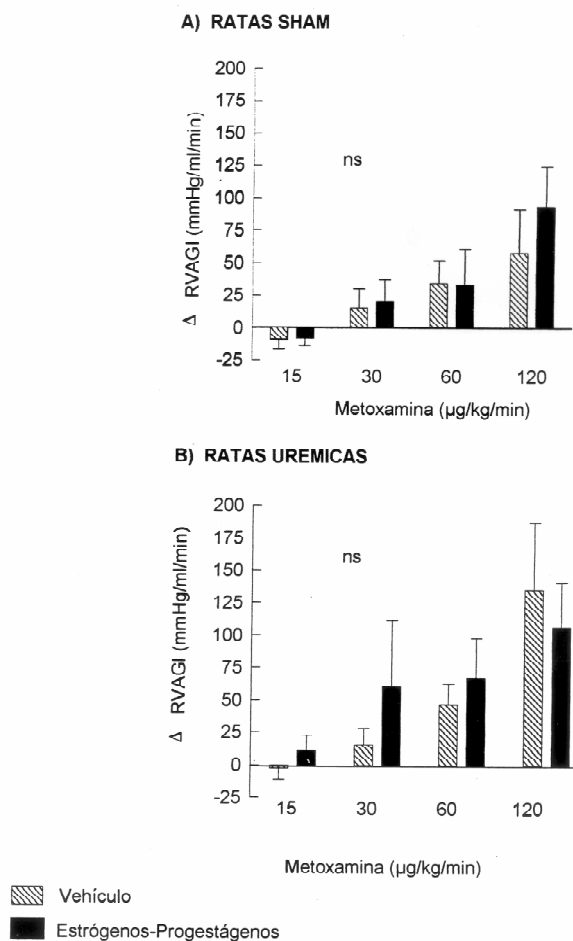
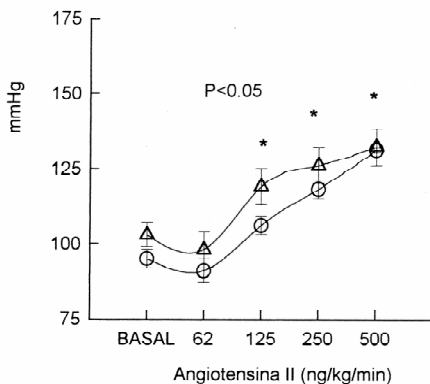


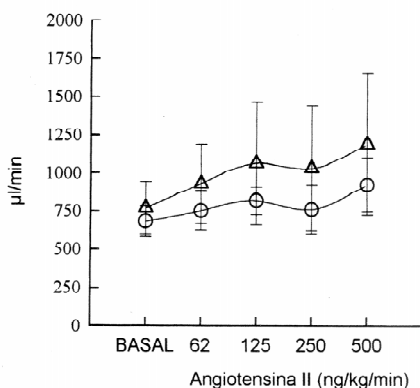
Figura 9. Efecto del tratamiento con estrógenos-progestágenos sobre la reactividad vascular gástrica a la metoxamina (estudio II). A) en las ratas sham tratadas con E-P o VH la administración de metoxamina se acompañó de un aumento paralelo en la RVAGI. Las tasas de incremento en la RVAGI con respecto al valor basal fueron similares en las ratas tratadas con E-P o VH. B) En las ratas urémicas los E-P no modificaron la respuesta vasoconstrictora de la AGI. Las tasas de incremento de la RVAGI con respecto al valor basal no fueron estadísticamente significativas entre los dos grupos de animales.

Figura 10. Curvas dosis-respuesta en ratas sham tras la administración endovenosa de angiotensina II (estudio II).

A) Presión arterial media (PAM).



B) Flujo sanguíneo en arteria gástrica izquierda (FSAGI).



○ Vehículo (n=7)

△ Estrógenos-progestágenos (n=7)

Figura 10. Curvas dosis-respuesta tras la administración de angiotensina II en ratas sham (estudio II). A) Dosis crecientes de angiotensina II produjeron un aumento progresivo y paralelo en la P.A.M. de las ratas sham tratadas con EP o VH, sin observarse diferencias significativas entre los dos grupos de ratas. La tasa de incremento con respecto al valor basal fue estadísticamente significativa (* $p < 0.05$) en las ratas tratadas con E-P o VH en los tres últimos períodos analizados. B) La administración de angiotensina II se acompañó de un ligero aumento en el FSAGI de las ratas sham tratadas con E-P o VH, sin que las diferencias entre los dos grupos fueran estadísticamente significativas.

Figura 11. Curvas dosis-respuesta en ratas urémicas tras la administración endovenosa de angiotensina II (estudio II).

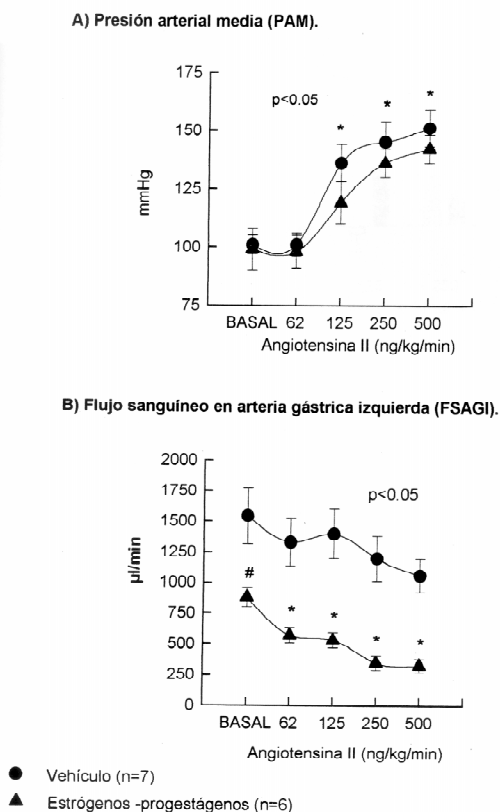
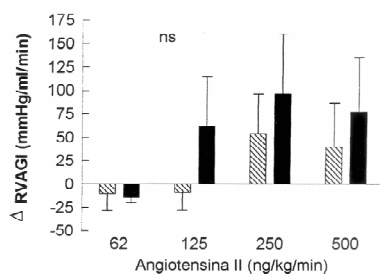


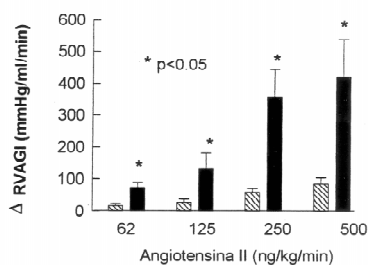
Figura 11. Curvas dosis-respuesta tras la administración de angiotensina II en ratas urémicas (estudio II). A) Dosis acumulativas de angiotensina II produjeron un aumento progresivo y paralelo de la P.A.M. en ratas urémicas tratadas con E-P o VH. El aumento de la P.A.M. observado en las ratas urémicas fue equiparable al observado en las ratas sham. La tasa de incremento de la P.A.M. con respecto al valor basal fue estadísticamente superior en los tres últimos períodos analizados tanto en las ratas tratadas con E-P como en las que recibieron VH. B) El FSAGI en las ratas urémicas tratadas con E-P fue significativamente menor que el observado en las ratas urémicas tratadas con VH (# $p < 0.05$). Al contrario que en las ratas sham, la administración de angiotensina II a ratas urémicas produjo un descenso progresivo del FSAGI tanto en las ratas tratadas con E-P como en las tratadas con VH. Sin embargo, la tasa de reducción del FSAGI con respecto al valor basal fue marcadamente superior en las ratas tratadas con E-P en comparación a las tratadas con VH (* $p < 0.05$).

Figura 12. Efecto del tratamiento con estrógenos-progestágenos sobre la reactividad vascular a la angiotensina II (estudio II).

A) RATAS SHAM



B) RATAS UREMICAS



 Vehículo
 Estrógenos-Progestágenos

Figura 12. Efecto del tratamiento con estrógenos-progestágenos sobre la reactividad vascular gástrica a la angiotensina II. A) En las ratas sham el tratamiento con E-P no alteró la respuesta vasoconstrictora de la A.G.I. a la angiotensina II, siendo el aumento de la RVAGI similar al observado en las ratas tratadas con VH. B) En las ratas urémicas el tratamiento con E-P se asoció a un marcado aumento de la respuesta vasoconstrictora de la AGI a la angiotensina II, de forma que la tasa de incremento de la RVAGI con respecto al valor basal fue significativamente superior (* $p < 0.05$) a la observada en las ratas tratadas con VH en todos los períodos analizados.

V. DISCUSIÓN

Los estrógenos conjugados se han utilizado empíricamente con éxito en el tratamiento de la diátesis hemorrágica y de la hemorragia digestiva por malformaciones vasculares (angiodisplasia o telangiectasias) en pacientes con insuficiencia renal crónica. La diátesis hemorrágica es un riesgo potencial en estos pacientes y se manifiesta en forma de epistaxis, púrpura, equimosis o por el sangrado de mucosas. Esta complicación hemorrágica, muy frecuente en la época pre-diálisis, es actualmente menos común gracias a los avances terapéuticos relacionados con la diálisis. Sin embargo, constituye todavía un problema clínico importante, sobre todo en pacientes que precisan intervenciones quirúrgicas o maniobras diagnósticas agresivas.

Cuando en el curso de una insuficiencia renal crónica sobreviene una hemorragia grave, el origen del sangrado se localiza preferentemente en el tracto gastrointestinal y excepcionalmente a nivel intracraneal, pericárdico o retroperitoneal. La hemorragia gastrointestinal en estos pacientes comporta un mal pronóstico y se ve agravada por una mortalidad elevada, independientemente de la etiología de la lesión sangrante.

Los factores que inducen a una mayor tendencia a la hemorragia en la uremia son complejos y todavía mal conocidos. La información disponible en la actualidad sugiere que podría estar relacionada con una alteración primaria de la coagulación, caracterizada por una disfunción plaquetaria y una prolongación del tiempo de hemorragia [223-225]. Los mecanismos que modulan estos cambios no son bien conocidos, pero existen evidencias de que las alteraciones en las células sanguíneas o en la pared vascular pueden jugar un

papel importante. La uremia se asocia a una marcada disfunción plaquetaria caracterizada por defectos en la disponibilidad del factor III plaquetario, en la retracción del coágulo y en la adhesión plaquetaria a distintas superficies. Asimismo, se han descrito numerosos trastornos bioquímicos plaquetarios, fundamentalmente una reducción intraplaquetaria de serotonina y adenosín difosfato, una elevación del AMP cíclico, y una disminución en la capacidad de generar tromboxano A_2 . Además, se ha descrito un defecto plaquetario caracterizado por la imposibilidad de aumentar los niveles citoplasmáticos de Ca^{2+} en respuesta a estímulos celulares, el cual se ha relacionado con la tendencia a la hemorragia en la uremia [224]. Adicionalmente, en la uremia se producen alteraciones en la interacción plaquetaria con la pared vascular, de forma que el endotelio sintetiza un exceso de prostaciclina añadiéndose además un defecto cuantitativo y cualitativo del factor VIII (Von Willbrand) plaquetario y plasmático. Otros factores que pueden afectar la función plaquetaria y la tendencia a la hemorragia en la uremia son el hiperparatiroidismo [226] y el grado de anemia [227].

El tiempo de hemorragia es la prueba clínica hematológica que mejor refleja la tendencia al sangrado. Dicha prueba resulta de la conjugación de múltiples factores, entre los que destacan las interacciones de los elementos formes de la sangre con la pared vascular, las plaquetas circulantes, factores de coagulación y los hematíes [225]. Existe una relación inversamente proporcional entre el tiempo de hemorragia y el hematocrito y ello parece estar relacionado con los efectos que la anemia tiene sobre la función plaquetaria. Con un valor de hematocrito normal, los hematíes circulan preferentemente por el centro del flujo sanguíneo, mientras que las plaquetas discurren por la periferia del mismo. Así, cuando hay un daño vascular, inmediatamente se produce la adhesión y agregación plaquetaria, dando lugar a la formación de un coágulo. Sin embargo, en situaciones de anemia importante esta disposición celular se pierde mezclándose las plaquetas y los hematíes en los vasos sanguíneos. Ello produce una alteración en la hemostasia primaria que está condicionada por una deficiente función plaquetaria.

Basándose en la evidencia de que la tendencia a la hemorragia en mujeres con enfermedad de Von Willebrand mejoraba durante

el embarazo, se planteó la hipótesis de que los esteroides estrogénicos podían modular dicho efecto en la uremia. Así, en 1984 se realizó el primer estudio para evaluar el efecto de los estrógenos sobre la tendencia a la hemorragia en pacientes con IRC [12]. Desde entonces, varios investigadores han corroborado que el tratamiento con estrógenos conjugados reduce la tendencia al sangrado en estos pacientes, efecto que parece estar relacionado con una marcada reducción en el tiempo de hemorragia. Un estudio experimental reciente ha demostrado que el 17 β -estradiol es el componente estrogénico activo responsable de este efecto, que está modulado por un mecanismo receptor [228].

El mecanismo por el cual los estrógenos reducen de forma significativa el tiempo de hemorragia en la uremia, no es bien conocido. Se ha constatado que dicho efecto no está relacionado con un aumento en la síntesis del factor de Von Willebrand o con una alteración en la adhesión plaquetaria. Tampoco se ha observado que los estrógenos aumenten la producción plaquetaria de tromboxano, ni que modifiquen el grado de anemia que frecuentemente presentan los pacientes urémicos [10-13, 17, 229]. Aunque se ha sugerido que los estrógenos podrían actuar inhibiendo la síntesis de prostaciclina en el endotelio vascular, la cual se encuentra aumentada en la uremia, dicha hipótesis no se ha confirmado en pacientes urémicos.

Recientemente, en un modelo de rata urémica se ha observado que la tendencia al sangrado que presentan estas ratas puede estar modulada por el óxido nítrico [147], sustancia que tiene la propiedad de alterar la interacción de las plaquetas con la pared vascular. La administración de un inhibidor específico de la síntesis de óxido nítrico produjo la normalización del tiempo de hemorragia en ratas urémicas, efecto que fue completamente revertido con L-arginina, un precursor del óxido nítrico. Posteriormente, se ha constatado que la reducción del tiempo de hemorragia inducida por los estrógenos en este modelo experimental podría explicarse por interferencias en la vía metabólica del óxido nítrico [19]. La administración de 17 β -estradiol normalizó el tiempo de hemorragia en ratas urémicas sin alterar el de ratas controles, efecto que era abolido cuando las ratas eran tratadas previamente con L-arginina.

Hasta el momento presente no existen otros estudios en modelos experimentales o en humanos que confirmen estos hallazgos.

1. EFECTO DE LOS ESTRÓGENOS-PROGESTÁGENOS SOBRE LA HEMODINÁMICA GÁSTRICA

Observaciones clínicas y estudios no controlados recientes han corroborado la eficacia de los E-P en el control de la hemorragia digestiva por angiodisplasia gastrointestinal en pacientes con insuficiencia renal crónica [16, 18, 170]. Esta lesión vascular, poco frecuente en sangrantes con función renal conservada, constituye una causa importante de hemorragia digestiva en pacientes urémicos [2, 7]. El carácter recurrente de la hemorragia por estas lesiones, la difícil aplicabilidad de otros procedimientos terapéuticos y la eficacia demostrada de los esteroides estrogénicos en el control del sangrado por estas lesiones en pacientes no urémicos, ha propiciado su utilización en pacientes con insuficiencia renal crónica.

Los mecanismos que modulan la respuesta favorable al tratamiento con preparados estrogénicos en esta situación clínica, son totalmente desconocidos y su empleo se ha basado en planteamientos meramente empíricos. La posibilidad de que dicho efecto esté relacionado con una reducción del tiempo de hemorragia no ha sido estudiada específicamente en pacientes urémicos con hemorragia gastrointestinal, pero resulta poco probable si se tiene en cuenta que los E-P son eficaces en el control de la hemorragia por malformaciones vasculares en pacientes con una coagulación normal [14, 15, 230-232]. Otra hipótesis factible para explicar el mecanismo de acción de estas hormonas en el control del sangrado digestivo por lesiones vasculares en la uremia, es su actuación sobre la microcirculación gastrointestinal modificando el tono o la morfología vascular. El estudio de esta hipótesis resulta difícil por razones éticas y técnicas en pacientes urémicos pero es posible en modelos experimentales de IRC.

Estudios realizados por nuestro grupo de trabajo en un modelo de rata con IRC, han constatado que la uremia se asocia a una circulación hiperdinámica gástrica caracterizada por un marcado

aumento del flujo sanguíneo y una reducción de las resistencias vasculares de la mucosa gástrica. En el momento presente se sabe que el NO, un potente vasodilatador, modula esta hiperemia gástrica, no conociéndose todavía el factor o factores que estimulan la síntesis gástrica de NO en la uremia [148, 233].

Basándonos en estos datos y en los antecedentes comentados anteriormente, realizamos el presente estudio con la intención de evaluar el efecto de los E-P sobre la hemodinámica gástrica en ratas con IRC inducida mediante nefrectomía subtotal. Para ello, decidimos tratar a los animales con E-P a las tres semanas de realizada la cirugía ablativa, momento en el que ya se había desarrollado la circulación hiperdinámica gástrica en las ratas urémicas.

Dado que en la mayoría de las observaciones clínicas descritas hasta el momento presente, se había utilizado la combinación de estrógenos y progestágenos para el tratamiento de la hemorragia recurrente por lesiones vasculares gastrointestinales, en el presente estudio empleamos un preparado depot compuesto por enantato de estradiol y dihidroxiprogesterona, a las dosis utilizadas previamente por otros autores para evaluar el efecto de estas hormonas sobre la microcirculación gástrica y esplácnica [234].

El tratamiento con E-P normalizó el flujo sanguíneo y las resistencias vasculares de las arterias extramurales y de las arteriolas de la submucosa gástrica en las ratas urémicas, sin que se produjera ningún efecto sobre la hemodinámica gástrica en las ratas sham. Dichos cambios se observaron a las 48 horas después de la administración del fármaco y se mantuvieron durante un período de 15 días. Adicionalmente, el análisis morfométrico e histológico de los vasos de la mucosa y submucosa gástrica realizado en ratas urémicas y sham antes y después del tratamiento con E-P o VH no mostró alteraciones en la densidad ni en la morfología vascular gástrica en ninguno de los grupos estudiados. Estos datos sugieren que los efectos de los E-P sobre la hemodinámica gástrica en la uremia, están mediados por un mecanismo funcional y no por alteraciones estructurales sobre la vascularización gástrica.

La posibilidad de que las diferencias observadas en los efectos hemodinámicos gástricos de los E-P entre las ratas urémicas y sham fueran debidos a la presencia de unos niveles séricos de estrógenos

más elevados en las ratas con IRC que en las controles, quedó prácticamente descartada al demostrarse que los niveles de 17-b estradiol sérico eran similares en los dos grupos de animales. Por otra parte, podría plantearse que niveles séricos muy elevados de estrógenos, en el rango de los observados en nuestro estudio, podrían inducir un efecto esteroideo inespecífico sobre la microcirculación gástrica que explicara los resultados observados en el presente estudio. De hecho, existen evidencias de que una determinada hormona esteroidea puede activar de forma inespecífica los receptores de otras hormonas esteroideas [235]. Sin embargo, esta hipótesis resulta poco probable al observarse el efecto hemodinámico sólo en las ratas urémicas y no en el grupo control, a pesar de que ambos grupos tenían niveles séricos de 17-b estradiol similares. Existen además evidencias de que la administración por separado de dosis menores de enantato de estradiol y dihidroxiprogesterona a un modelo de rata con hipertensión portal, producía efectos similares sobre la microcirculación gástrica a los observados en nuestro estudio [191].

Existen datos que sugirieren que los efectos de los E-P sobre la hemodinámica gástrica no son específicos para la uremia y que pueden ocurrir en otras situaciones de hiperemia gástrica mantenida. De hecho, en un estudio reciente realizado en un modelo de rata con hipertensión portal en el que, al igual que en la uremia, existe una marcada hiperemia gástrica, la administración de dosis idénticas del mismo compuesto de E-P produjo la normalización del flujo sanguíneo gástrico en las ratas con hipertensión portal, sin modificar la hemodinámica gástrica en las ratas controles [234]. Estos autores observaron que dicho efecto vascular era selectivo para la vascularización de la mucosa, submucosa y pared muscular gástrica, y que no afectaba a otros lechos vasculares mesentéricos. Adicionalmente, en este estudio se observó que la normalización del flujo sanguíneo gástrico en las ratas con hipertensión portal tratadas con E-P se asociaba a una marcada disminución en el tamaño de los vasos y en la densidad vascular de la mucosa gástrica. Ello sugirió que este hallazgo morfológico podía ser consecuencia de un efecto inhibidor de los E-P sobre la angiogénesis. De hecho, existen evidencias apoyando que los esteroides estrogénicos pueden indu-

cir una inhibición de la angiogénesis. En circunstancias en las que se produce un estímulo de la angiogénesis, como en el crecimiento tumoral, se ha descrito que las hormonas esteroideas que poseen el grupo 17-hidroxilo pueden inhibir la proliferación vascular en presencia de heparina [191]. En el análisis morfométrico de los vasos de la mucosa y submucosa gástrica realizado en nuestro estudio no se observaron cambios en la densidad vascular gástrica, por lo que resulta poco probable que el efecto hemodinámico observado en las ratas urémicas tratadas con E-P esté modulado por una inhibición de la angiogénesis. Esta afirmación está apoyada además por el hecho de que en las ratas urémicas, los E-P revierten la hiperemia gástrica a las 48 horas del tratamiento, tiempo insuficiente para que se hayan producido cambios en la angiogénesis lo suficientemente evidentes como para que puedan ser evaluados en el examen morfométrico vascular.

2. EFECTO DE LOS ESTRÓGENOS-PROGESTÁGENOS SOBRE LA REACTIVIDAD VASCULAR GÁSTRICA

En el curso de la IRC se producen cambios hemodinámicos que condicionan parte de las manifestaciones clínicas asociadas al síndrome urémico. En la uremia es frecuente el desarrollo de una circulación hiperdinámica que se caracteriza por un aumento de la presión arterial media, del gasto cardíaco y de la volemia, y por una reducción de las resistencias vasculares periféricas. Aunque la patogenia de dichos trastornos es compleja y todavía no bien conocida, existen datos que sugirieren que la anemia asociada a la IRC es uno de los principales factores desencadenantes de los cambios hemodinámicos que ocurren en la uremia [236].

En el síndrome urémico se ha constatado la hiperactivación del sistema nervioso simpático y del sistema renina-angiotensina [237]. Estudios clínicos y experimentales han demostrado un aumento en los niveles circulantes y tisulares de catecolaminas en la uremia [238, 239]. Esta hiperactivación simpática se asocia a una respuesta vascular alterada a la acción vasoconstrictora de las catecolaminas [240]. Existen evidencias de que el efecto vasocons-

trictor de la norepinefrina, un agonista α -adrenérgico, está marcadamente reducido en la uremia, de forma que las dosis de norepinefrina necesarias para alcanzar un incremento determinado de la presión arterial y de la frecuencia cardíaca en pacientes o modelos experimentales urémicos son significativamente mayores que las requeridas en sujetos controles [240, 241]. Dicho efecto parece estar mediado por una alteración de la respuesta a receptores α -adrenérgicos, ya que el bloqueo de los receptores β -adrenérgicos no modifica la respuesta vasoconstrictora a la norepinefrina en ratas urémicas [240].

Por otra parte, estudios recientes han constatado que la síntesis endógena de NO, factor derivado del endotelio que produce relajación de la fibra muscular lisa vascular, se encuentra elevada en modelos experimentales de IRC [147, 148, 233, 242], y se ha sugerido que dicho incremento podría ser un mecanismo compensador para contrarrestar el aumento de la presión arterial frecuentemente asociado a la IRC [147]. Un estudio reciente ha demostrado que las ratas con IRC presentan una hiperactivación central y periférica del sistema nervioso simpático que se asocia a un aumento en la síntesis de NO. La administración de L-NAME produce en estos animales un aumento de la presión arterial y del turnover de norepinefrina cerebral, mientras que la administración de L-arginina, el precursor de la formación de NO, atenúa la hipertensión arterial en ratas con IRC [242]. Estos hallazgos sugieren que el NO puede modular el control neurogénico de la presión arterial en la uremia.

Varios estudios demuestran que los estrógenos pueden modular los efectos biológicos de diversas sustancias vasoactivas. Estudios *in vivo* [243] e *in vitro* [244] han constatado que los estrógenos potencian el efecto vasoconstrictor de la vasopresina. En el territorio vascular mesentérico se ha constatado que el tratamiento con estrógenos aumenta la expresión de receptores celulares de la vasopresina y su efecto vasoconstrictor [171]. Asimismo, existen evidencias clínicas y experimentales sugiriendo que los estrógenos aumentan la sensibilidad vascular a las catecolaminas. El tratamiento a largo plazo con 17 β -estradiol aumenta las contracciones producidas por norepinefrina en aortas de rata y en arteriolas mesentéricas

[22, 24]. Sin embargo, el tratamiento prolongado con estrógenos puede también inducir una relajación vascular endotelio dependiente en algunos territorios vasculares [245]. Por otra parte, los progestágenos pueden antagonizar algunos efectos de los estrógenos sobre la reactividad vascular a sustancias vasoactivas [22, 246]. Existen estudios constatando que los progestágenos pueden inducir efectos contrarios sobre el tono vascular dependiendo del territorio vascular estudiado, induciendo vasodilatación [246, 247] o vasoconstricción [234, 248].

En el presente estudio evaluamos si el efecto atenuante de los E-P sobre la hiperemia gástrica en ratas urémicas podía estar modulado por cambios en la reactividad vascular a sustancias vasoactivas. La demostración previa de que un aumento en la síntesis de NO modula la hiperemia gástrica [148] y los trastornos de la agregación plaquetaria [147] en ratas urémicas y de que la administración de 17 β -estradiol normaliza el tiempo de hemorragia y la agregación plaquetaria en estas ratas [19], sugirió que los efectos del tratamiento con E-P sobre la hemodinámica gástrica en las ratas urémicas del presente estudio podían estar mediados por una inhibición de la relajación vascular dependiente del endotelio y concretamente de NO. Sin embargo, la respuesta vasoconstrictora de la AGI a la administración de dosis acumulativas de L-NAME fue similar en ratas urémicas y ratas sham tratadas con E-P, haciendo muy improbable que dicho efecto estuviese mediado por este mecanismo.

La existencia de una alteración a la respuesta vasoconstrictora a catecolaminas en la uremia y la demostración de que los estrógenos pueden modular la respuesta vasoconstrictora a sustancias vasoactivas en otros modelos experimentales, sugirió que el aumento de las resistencias vasculares gástricas observado tras la administración de E-P en las ratas urémicas podría estar modulado por cambios en la reactividad vascular gástrica. En el presente estudio el tratamiento con E-P no modificó de forma significativa la sensibilidad vascular en respuesta a la administración de dosis acumulativas de metoxamina, un agonista selectivo α 1-adrenérgico, en ninguno de los grupos de ratas estudiados, sugiriendo que los efectos hemodinámicos de los E-P sobre la microcirculación gástrica en la uremia no están mediados por una hiperactivación α -adrenérgica. Por el

contrario, los E-P produjeron una marcada respuesta vasoconstrictora de la AGI a dosis acumulativas de angiotensina II en las ratas urémicas que fue estadísticamente significativa con respecto a la observada en las ratas control. Este hallazgo permite pensar que los esteroides estrogénicos alteran la respuesta vasoconstrictora gástrica a sustancias vasoactivas en la uremia, y que los efectos atenuantes del tratamiento con E-P sobre la hiperemia gástrica observados en ratas urémicas pueden estar modulados por una respuesta exagerada a la angiotensina II.

En resumen, el presente estudio demuestra que el tratamiento con esteroides estrogénicos atenúa la circulación hiperdinámica gástrica en ratas con insuficiencia renal crónica. Dicho efecto, que aparece precozmente y se mantiene constante 15 días después del tratamiento, parece estar modulado por cambios en la reactividad vascular gástrica a la angiotensina II y no por efectos sobre la morfología vascular gástrica. Este estudio proporciona los primeros datos referentes al posible mecanismo de acción de los estrógenos sobre la hemodinámica gástrica en la uremia y podría explicar el efecto favorable del tratamiento estrogénico en el control de la hemorragia digestiva por malformaciones vasculares gastrointestinales en pacientes urémicos. Para confirmar esta hipótesis será necesario esperar al desarrollo de modelos experimentales de malformaciones vasculares y de técnicas no invasivas, que permitan evaluar la hemodinámica gástrica en pacientes urémicos con hemorragia digestiva por estas lesiones vasculares.

VI. CONCLUSIONES

- 1.- El tratamiento con estrógenos-progestágenos revierte la hiperiemia gástrica basal en ratas con insuficiencia renal crónica. Este efecto, que ocurre precozmente y se mantiene durante un período prolongado de tiempo, se debe a un aumento en el tono de las arterias gástricas y no a cambios de la morfología en la microcirculación gástrica.
- 2.- Este efecto atenuante de los estrógenos-progestágenos sobre la circulación hiperdinámica gástrica en la uremia, puede ser modulado por un aumento en la reactividad vascular a sustancias vasoconstrictoras.

VII. BIBLIOGRAFÍA

1. Oliveira C, Frazao JM, Pires C, Silva JG, y Carrera F. *Significance of digestive hemorrhage in patients with chronic renal insufficiency in hemodialysis.* **Acta Med. Port.**, 5: 71-74, 1992.
2. Zuckerman GR, Cornette GL, Clouse RE, y Harter HR. *Upper gastrointestinal bleeding in patients with chronic renal failure.* **Ann. Int. Med.**, 102: 588-592, 1985.
3. Marcuard SP y Weinstock JV. *Gastrointestinal angiodysplasia renal failure.* **J. Clin. Gastroenterol.**, 10: 482-484, 1988.
4. Chalasani N, Cotsonis G, y Wilcox CM. *Upper gastrointestinal bleeding in patients with chronic renal failure: role of vascular ectasia.* **Am. J. Gastroenterol.**, 91: 2329-2332, 1996.
5. Tsai CJ y Hwang JC. *Investigation of upper gastrointestinal hemorrhage in chronic renal failure.* **J. Clin. Gastroenterol.**, 22: 2-5, 1966.
6. Gilmore PR. *Angiodysplasia of the upper gastrointestinal tract.* **J. Clin. Gastroenterol.**, 10: 386-394, 1988.
7. Navab F, Masters P, Subramani R, Oretago TJ, y Thompson CH. *Angiodysplasia in patients with renal insufficiency.* **Am. J. Gastroenterol.**, 84: 1297-1301, 1989.
8. Cunningham JT. *Gastric telangiectasias in chronic hemodialysis patient: report of six cases.* **Gastroenterology**, 81: 1131-1133., 1981.
9. Junquera F, Santos J, Saperas E, Armengol JR, y malagelada JR. *Tratamiento con estrogenos y progestagenos en la hemorragia digestiva por malformaciones vasculares.* **Gastroenterología y Hepatología**, 18: 61-65, 1995.
10. Livio M, Mannucci PM, Viganò G, Mingardi G, Lombardi R, Mecca G, y Remuzzi G. *Conjugated estrogens for the management of bleeding associated with renal failure.* **N. Engl. J. Med.**, 315: 731-735, 1986.
11. Viganò G, Gaspari F, Locatelli M, Puseneri F, Bonati M, y Remuzzi G. *Dose-effect and pharmacokinetics of given to correct bleeding time in uremia.* **Kidney International**, 34: 853-858, 1988.
12. Liu YK, Kosfeld RE, y Marcum SG. *Treatment of uraemic bleedin with conjugated oestrogen.* **Lancet**, 20: 887-890, 1984.
13. Shemin D, Elnour M, Amarantes B, Abuelo JG, y Chazan JA. *Oral estrogens decrease bleedinnng time and improve clinical bleeding in patients with renal failure.* **Am. J. Med.**, 89: 436-440, 1990.

14. Van Cutsen E, Putgeerts P, Vantrappen G. *Treatment of bleeding gastrointestinal vascular malformations with oestrogen-progesterone*. **The Lancet**, 335: 953-955, 1990.
15. Van Cutsen E. *Oestrogen-progesterone, a new therapy of bleeding gastrointestinal vascular malformations*. **Ac. Gastroenterolg. Bel.**, 56: 2-10, 1993.
16. Sloan JA y Schiff MJ. *Beneficial effect of low-dose transdermal estrogen on bleeding time and clinical bleeding in uremia*. **Am. J. Kidney. Dis.**, 26: 22-26, 1995.
17. Remuzzi G. *Bleeding in renal failure*. **Lancet**, 28: 205-1208, 1988.
18. Bronner MH, Pate MB, Cunningham JT, y Marsh WH. *Esrogen- progesterone therapy for bleeding gastrointestinal telangiectasias in choronic renal failure*. **Ann. Int. Med.**, 105: 371-374, 1986.
19. Zoja C, Noris M, Corna D, Viganò G, Perico N, Gaetano G, y Remuzzi G. *L-Arginine, the precursor of nitric oxide, abolishes the effect of estrogens on bleeding time in experimental uremia*. **Lab. Invest.**, 65: 479-483, 1991.
20. Menefee MG, Flessa HC, Glueck HI, y Hogg SP. *Hereditary hemorrhagic telangiectasia (Osler-Weber-Rendu-Disease)*. **Arch. Otolaryngol.**, 101: 246-251, 1974.
21. Nagamine Y, Komatsu S, y Suzuki J. *New embolization method using estrogen: Effect of estrogen on microcirculation*. **Surg. Neurol.**, 20: 269-275, 1983.
22. Miller V y Vanhoutte PM. *17beta estradiol augments endothelium-dependent contractions to arachidonic acid in rabbit aorta*. **Am. J. Physiol.**, 27: R1502-R1507, 1990.
23. Colucci WS, Gimbrone MA, McLaughlin MK, Halpern W, y Alexander RW. *Increased vascular catecholamine sensitivity and alfa-adrenergic affinity in female and estrogen treated male rats*. **Cir. Res.**, 50: 805-811, 1982.
24. Cheng DY y Gruetter CA. *Chronic estrogen alters contractile responsiveness to angiotensin II and norepinephrine in female rat aorta*. **Eur. J. Pharmacol.**, 215: 171-176, 1992.
25. Michels NA. *Blood supply and anatomy of the upper abdominal organs*. Philadelphia, Lippincott, 1955.
26. Nebesar RA, Kornblith PL, Pollard JJ, y Michel NA. *Celiac and superior mesenteric arteries. A correlation of angiograms and dissections*. Boston, Little Brown, 1969.
27. Guth PH y Rosenberg A. *In vivo microscopy of the gastric microcirculation*. **Am. J. Dig. Dis.**, 17: 391-398, 1972.
28. Browning J, Gannon BJ, y P.O'Brien. *The microvasculature and and gastric luminal PH of the forestomach of the rat. a comparison with the glandular stomach*. **Int. J. Microcir. Clin. Exp.**, 2: 109-118, 1983.
29. Piasecki C. *Blood supply to the human gastroduodenal mucosa arteries of the dogs stomach and first part of duodenum*. **J. Anat.**, 119: 133-148, 1974.
30. Barlow TE, Bentley FH, y Walder DN. *Arteries, veins and arteriovenous anastomoses in the human stomach*. **Surg. Gynecol. Obstet.**, 93: 657-671, 1951.
31. Guth PH. *Microvascular organization in the stomach*. En «Physiology of the gastrointestinal tract». Koo A, Lam K, y Smaje LH, Editores. World Sci., Singapore, p. 17-27, 1983.

32. Piqué JM, Panes J, Casadevall M, y Marroni N. *Flujo sanguíneo gástrico. Mecanismos de regulación y métodos para su evaluación. Gastroenterología y Hepatología*, 16: 75-91, 1993.
33. Walder DN. *Arteriovenous anastomoses of the human stomach. Clin. Sci. Lond.*, 11: 59-71, 1952.
34. Gannon B, Browning J, O'Brien P, y Rogers P. *Mucosal microvascular architecture of the fundus and body of human stomach. Gastroenterology*, 86: 866-875, 1984.
35. Hunter GC, Goldstone R, Villa R, y Way LW. *Effect of vagotomy upon intragastric redistribution of microvascular flow. J. Surg. Res.*, 26: 314-319, 1979.
36. Guth PH y Smith E. *Nervous regulation of the gastric microcirculation*. En «Nerves and the gut». Brooks FP y Evers PW, Editores, New York, p. 365-373, 1977.
37. Delaney JP y Grim E. *Experimentally induced variations in canine gastric blood flow and its distribution. Am. J. Physiol.*, 208: 353-358, 1965.
38. Guth PH y Smith E. *Escape from vasoconstriction in the gastric microcirculation. Am. J. Physiol.*, 223: 1893-1895, 1975.
39. Leonard AS, Long D, French LA, Peter ET, y Wangsteen OH. *Pendular pattern in gastric secretion and blood flow following hypothalamic stimulation-origin of stress ulcer?. Surgery*, 56: 109-120, 1964.
40. Osumi Y, Aibara S, Sakae K, y Fujiwara M. *Central nonadrenergic inhibition of gastric mucosal blood flow and acid secretion in rats. Life Sci.*, 20: 1407-1416, 1977.
41. Ishikawa T, Nagata M, y Osumi Y. *Dual effects of electrical stimulation of ventromedial hypothalamic neurons on gastric acid secretion in rats. Am. J. Physiol.*, 245: 265-269, 1983.
42. Zinner MJ, Kerr JC, y Reynolds DJ. *Adrenergic mechanisms in canine gastric circulation. Am. J. Physiol.*, 229: 977-982, 1975.
43. Jansson G, Lundgren O, y Martinson J. *Neuro-hormonal control of gastric blood flow. Gastroenterology*, 58: 425-429, 1970.
44. Guth PH y Smith E. *Neural control of gastric mucosal blood flow in the rat. Gastroenterology*, 69: 935-940, 1975.
45. Bell PRF y Shelley T. *Gastric mucosal blood flow and acid secretion in conscious animals measured by heat clearance. Am. J. Dig. Dis.*, 13: 685-696, 1968.
46. Thieffn G, Raybould HE, Leung FW, Taché Y, y Guth PH. *Capsaicin-sensitive afferent fibres contribute to gastric mucosal blood flow response to electrical vagal stimulation. Am. J. Physiol.*, 259: G1037-1043, 1990.
47. Van Hee RH, Vanhoutte PM. *Cholinergic inhibition of adrenergic neurotransmission in the canine gastric artery. Gastroenterology*, 74: 1266-1270, 1978.
48. Nicoloff LO, Peter ET, Stone NH, y Wangsteen OH. *Effects of catecholamines on gastric secretion and blood flow. Ann. Surg.*, 159: 32-36, 1964.
49. Guth PH y Smith E. *Vasoactive agents and the gastric microcirculation. Microvasc. Res.*, 8: 125-131, 1974.
50. Guth PH, Smith E, y Moler T. *H1 and H2 receptors in the rat gastric submucosal arterioles. Microvasc. Res.*, 19: 320-328, 1981.

51. Salvati P y Whittle BJR. *Vascular response of the isolated perfused stomach of rabbit and rat to histamine*. **Eur. J. Pharmacol.**, 89: 63-68, 1983.
52. Collis MG. *The vasodilator role of adenosine*. **Pharma. Ther.**, 41:143-162, 1989.
53. Berbe RM, Knabb R.M., Ely SW, y Rubio R. *Adenosine in the local regulation of blood flow: a brief overview*. **Fed. Proc.**, 42: 1136-1142, 1983.
54. Sawmiller DR y Chou CC. *Adenosine is a vasodilator in the intestinal mucosa*. **Am. J. Physiol.**, 261: G9-G15, 1991.
55. Gerber JG y Guth PH. *Role of adenosine in the gastric blood flow response to pentagastrin in the rat*. **J. Pharma. Exp. Ther.**, 251: 550-556, 1989.
56. Guth PH y Leung FW. *Physiology of the gastric circulation*. En «. Johnson LD, Editor. Raven Press, Nueva York, p. 1031, 1987.
57. Piqué JM, Leung FW, Tan HW, Livingston E, Scremin OU, y Guth PH. *Gastric Mucosal blood flow response to stimulation and inhibition of gastric acid secretion*. **Gastroenterology**, 95: 642-650, 1988.
58. Piqué JM, Esplugues JV, y Whittle BJR. *Endogenous nitric oxide as a mediator of gastric mucosal vasodilatation during acid secretion*. **Gastroenterology**, 102: 168-174, 1992.
59. Blei AT y Groszmann RJ. *Vasopressin and vasoconstrictors*. En «The Physiology of the Intestinal Circulation». Shepherd AP y Granger DN, Editores. Raven Press, Nueva York, p. 377, 1984.
60. Price BA, Jaffe BM, y Zinner MJ. *Effect of exogenous somatostatin infusion on gastrointestinal blood flow and hormones in the conscious dog*. **Gastro-enterology**, 88: 80-85, 1985.
61. Leung FW y Guth PH. *Dissociated effects of somatostatin on gastric acid secretion and mucosal blood flow*. **Am. J. Physiol.**, 248: G337-341, 1985.
62. Lunde OC, Kernevo K, Hanssen LE, y Larsen S. *Effect of somatostatin on human gastric blood flow evaluated by endoscopic laser-Doppler Flowmetry*. **Scand. J. Gastroenterol.**, 22: 842-846, 1987.
63. Panés J, Bordas JM, Piqué JM, Boch J, Casadevall M, Terés J, y Rodés J. *Effects of vasopressin and somatostatin on gastric blood perfusion in cirrhotics with portal hypertensive gastropathy*. **Gastroenterology**, 102: A865, 1992.
64. Bowen JC, Fang WF, y Pawlik W. *Gastrointestinal hormones and blood flow*. En «Gastrointestinal hormones». Thompson JC, Editor. University of Texas Press, Texas, p. 391, 1975.
65. Guth PH y Smith E. *The effect of gastrointestinal hormones on the gastric microcirculation*. **Gastroenterology**, 71: 435-438, 1976.
66. Chou CC, Mangino MJ, y Sawmiller DR. *Gastrointestinal hormones and intestinal blood flow*. En «Physiology of the intestinal circulation». Shepherd AP y Granger DN, Editores. Raven Press, Nueva York, 1984.
67. Poca E, Pérez RM, Saperas E, Bordas JM, Gaya J, y Piqué JM. *Capacidad sintetizadora de prostaglandinas de la mucosa gástrica. Desarrollo de una metodología de análisis*. **Química Clínica**, 8: 67-70, 1989.
68. Kauffman GL y Whittle BJR. *Gastric vascular actions of prostanoids and the dual effect of arachidonic acid*. **Am. J. Physiol.**, 242: G582-587, 1982.

69. Gerkins JF, Shand DG, Flexner C, Nies AS, Oates J, y Data JL. *Effect of indomethacin and aspirin on gastric blood flow and acid secretion.* **J. Pharma Exp. Ther.**, 203: 646-652, 1977.
70. Whittle BJR, Oren-Wolman N, y Guth PH. *Gastric vasoconstrictor actions of leukotriene C₄, prostaglandin F₂ and a thromboxane mimetic (U-46619) on the rat submucosal microcirculation in vivo.* **Am. J. Physiol.**, 248: G580-G586, 1985.
71. Holzer P y Guth PH. *Neuropeptide control of rat gastric mucosal blood flow.* **Cir. Res.**, 68: 100-105, 1991.
72. Hottenstein OD, Dawlik WW, Remak G, y Jacobson ED. *Capsaicin-sensitive nerves modulate reactive hyperemia in rat gut.* **Proc. Soc. Exp. Biol. Med.**, 199: 311-320, 1992.
73. Furchgott RF y Zawadzki JV. *The obligatory role of endothelial cells the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine.* **Nature**, 288: 373-376, 1980.
74. Palmer RMJ, Ferrige AG, y Moncada S. *Nitric oxide release accounts for the biological activity of endothelium-derived relaxing factor.* **Nature**, 327:524-526, 1987.
75. Piqué JM, Whittle BJR, y Esplugues JV. *The vasodilator role of endogenous nitric oxide in the rat gastric microcirculation.* **Eur. J. Pharmacol.**, 174: 293-296, 1989.
76. Whittle BJR. *Neuronal and endothelium derived mediators in the modulation of the gastric microcirculation: integrity in the balance.* **Br. J. Pharmacol.**, 110:3-17, 1993.
77. Vane JR, Anggard EE, y Botting RM. *Regulatory functions of the vascular endothelium.* **N. Eng. J. Med.**, 323: 27-36, 1990.
78. Vane R. *The release and fate of vasoactive hormones in the circulation.* **Br. J. Pharmacol.**, 35: 209-242, 1969.
79. Holmes SW, Horton EW, y Main IHM. *The effect of prostaglandin E₁ on responses of smooth muscle to catecholamines, angiotensin and vasopressin.* **Br. J. Pharmacol.**, 21: 538-543, 1963.
80. Hedqvist P. *Autonomic neurotransmission.* En «The Prostaglandins». Ramwell PW, Editor. Plenum, New York, p. 101-131, 1973.
81. Yanagisawa M, Kurihara H, y Kimura S. *Anovel potent vasoconstrictor peptide produced by vascular endothelial cells.* **Nature**, 332: 411-415, 1988.
82. Whittle BJR y Esplugues JV. *Induction of rat gastric damage by the endothelium-derived peptide, endothelin.* **Br. J. Pharmacol.**, 95: 1011-1013, 1988.
83. Murakami M, Moriga M, Miyake T, y Uchino H. *contact electrode methode in hydrogen gas clearance technique: a new method for determination of regional gastric mucosal blood flow in animals and humans.* **Gastroenterology**, 82: 457-467, 1982.
84. Leung FW, Guth PH, Scremin OU, Golanska EM, y Kauffman GL. *Regional gastric mucosal blood flow measurements by hydrogen gas clearance in the anesthetized rat and rabbit.* **Gastroenterology**, 87: 28-36, 1984.
85. Livingston EH, Reedy T, Leung FW, y Guth PH. *Computerized curve fitting analysis of hydrogen gas clearance curves.* **Am. J. Physiol.**, 257:G668-675, 1989.
86. Holzer P, Pabst MA, Lippe ITh, Peskar BM, Peskar BA, Livingston EH, y Guth PH. *Afferent nerve-mediated protection against deep mucosal damage in the rat stomach.* **Gastroenterology**, 98: 838-848, 1990.

87. Levitt MD y Levitt DG. *Use of inert gases to study the interaction the gastro-intestinal tract of the rat.* **J. Clin. Invest.**, 52: 1852-1862, 1973.
88. Haywood JR, Shaffer RA, Fastenow C, Fink GD, y Brody MJ. *Regional blood flow measurement in the conscious rat with pulsed doppler flowmeter.* **Am. J. Physiol.**, 241: H273-278, 1981.
89. Van Orden DE, Farley DB, Fastenow C, y Brody MJ. *A technique for monitoring blood flow changes with miniaturized Doppler flow probes.* **Am. J. Physiol.**, 247: H1005-1009, 1984.
90. Kiel JW, Riedel GL, DiResta GR, y Sheherd AP. *Gastric mucosal blood flow measured by laser-Doppler velocimetry.* **Am. J. Physiol.**, 249: G539-545, 1985.
91. Casadevall M, Panés J, Piqué JM, Bosch J, Terés J, y prensa oe. *Limitations of laser-Doppler valocimetry and reflectance spectrophotometry in the assessment of gastric mucosal blood flow.* **Am.J.Physiol.**, 1994.
92. Kvietys pR, Shepherd AP, Granger DN. *Laser-Doppler H2 clearance, and microsphere estimates of mucosal blood flow.* **Am.J.Physiol.**, 249: G221-227, 1985.
93. Ahn H, Ivarsson LE, Johansson K, Lindhagen J, y Lundgren O. *Assessment of gastric blood flow laser-Doppler flowmetry.* **Scand J. Gastroenterol.**, 23: 1203-1210, 1988.
94. Nilson GE. *Signal processor for lasser-Doppler Tissue flowmeters.* **Med. Biol. Eng. Comput.**, 22: 343-348, 1984.
95. Rosemberg A y Guth PH. *A method for the in vivo study of the gastric microcirculation.* **Microvasc. Res.**, 2: 111-112, 1970.
96. Holm-Rutili L y Obrink KJ. *Rat gastric mucosal microcirculation in vivo.* **Am. J. Physiol.**, 248: G741-746, 1985.
97. Wayland H y Johnson PC. *Erythrocyte velocity measurement in microvessels by a twoslit photometric method.* **J. Appl. Physiol.**, 22: 333-337, 1967.
98. Guth PH y Moler TL. *Endogenous prostaglandins in the regulation of the rat gastric microcirculation.* **Microvasc. Res.**, 17: S15, 1979.
99. Greenway CV y Murthy VS. *Effects of vasopressin and isoprenaline infusions on the validity of microsphere studies.* **Br. J. Pharmacol.**, 46: 177-188, 1972.
100. Buckberg GD, Luck JC, Payne B, y Hoffman JIE. *Some sources of error in measuring regional blood flow with radioactive microspheres.* **J. Appl. Physiol.**, 31: 598-604, 1971.
101. Varhaug JE, Svanes K, Svanes C, y Lekven J. *Gastric blood flow determination: intramural distrivution and arteriovenous shunting of microspheres.* **Am. J. Physiol.**, 247: G468-479, 1984.
102. Sato N, Kamada T, Schichiri M, Kawano S, y Abe H. *Measurement of hemoperfusion and oxygen sufficiency in gastric mucosa in vivo .Evidence of mucosal lesion in rats.* **Gastroenterology**, 76: 814-819, 1979.
103. Leung FW, Morishita T, Livingston EH, Reedy T, y Guth PH. *Reflectance spectrophotometry for the assessment of gastroduodenal mucosal perfusion.* **Am. J. Physiol.**, 252: G797-G804, 1987.
104. Panés J, Casadevall M, Piqué JM, Bosch J, Whittle BRJ, Terés J, y prensa oe. *Effects of acute normovolemic anemia on gastric mucosal blood flow in rat.* **Gastroenterology**, : , 1993.

105. Dugas MC y Wechsler RL. *Validity of iodoantipyrine clearance for measuring gastrointestinal tissue blood flow.* **Am. J. Physiol.**, 243: G155-171, 1982.
106. Hudson D, Scremin OU, y Guth PH. *Measurement of regional gastroduodenal blood flow with iodo-14C-antipyrine autoradiography.* **Am. J. Physiol.**, 248: G539-544, 1985.
107. Koling A. *Blood flow determination by electromagnetic method.* **Med. Phys.**, 3: 141-145, 1960.
108. Tague LL y Jacobson ED. *Evaluation of 14C-aminopyrine clearance for determination of gastric mucosal blood flow.* **Proc. Soc. Exp. Biol. Med.**, 151: 707-710, 1976.
109. Sonnenberg A y Blum AL. *Limitations to measurement of gastric mucosal blood flow by 14C-aminopyrine clearance.* En «Gastrointestinal Mucosal Blood Flow». Fielding LP, Editor. Churchill Livingstone, Edinburgh, p. 43-58, 1980.
110. Perry MA, Haedicke GJ, Bulkley GB, Kvietys PR, y Granger DN. *Relationship between acid secretion and blood flow in the canine stomach. Role of oxygen extraction.* **Gastroenterology**, 85: 529-534, 1982.
111. Chou CC. *Splanchnic and overall cardiovascular hemodynamic during eating and digestion.* **Federation. Proc.**, 42: 1658-1661, 1983.
112. Perry MA, Murphree D, y Granger DN. *Oxygen uptake as a determinant of gastric blood flow autoregulation.* **Dig. Dis. Sci.**, 27: 675-679, 1982.
113. Semb BKH. *Regional gastric flow changes after meal stimulation measured by the hydrogen clearance technique in conscious cats.* **Scand. J. Gastroenterol.**, 17: 839-842, 1982.
114. Nowicki PT, Stonestreet BS, Hansen NB, Yao AC, y Oh W. *Gastrointestinal blood flow and oxygen consumption in awake newborn piglets: effects of feeding.* **Am. J. Physiol.**, 245: G697-G702, 1983.
115. Gallavan RH y Chou CC. *Possible mechanisms for the initiation and maintenance of the postprandial intestinal hyperemia.* **Am. J. Physiol.**, 249: G301-308, 1985.
116. Sawmiller DR y Chou CC. *Adenosine plays a role in food induced jejunal hyperemia.* **Am. J. Physiol.**, 255: G168-174, 1988.
117. Sieber C, Beglinger C, Jaeger K, Hildebrand P, y Stalder GA. *Regulation of postprandial mesenteric blood flow humans: evidence for a colinergic nervous reflex.* **Gut**, 32: 361-366, 1991.
118. Mersereau WA y Hinchey EJ. *Effect of gastric acidity on gastric ulceration induced by hemorrhage in the rat, utilizing a gastric chamber technique.* **Gastroenterology**, 64: 1130-1135, 1973.
119. Ritchie WP. *Acute gastric mucosal damage induced by bile salts, acid and ischemia.* **Gastroenterology**, 68: 699-707, 1975.
120. Cheung LY y Chang N. *The role of gastric mucosal blood flow and H⁺ back diffusion in the pathogenesis of gastric erosions.* **J. Surg. Res.**, 22: 357-361, 1977.
121. McGreavy JM y Moody FG. *Protection of gastric mucosa Against aspirin-induced erosions by enhanced blood flow.* **Surg. Forum**, 28: 357-359, 1977.
122. Whittle BJR. *Mechanisms underlying gastric mucosal damage induced by indomethacin and bile salts, and the actions of prostaglandins.* **Br. J. Pharmacol.**, 60: 455-460, 1977.

123. Holzer P, Livingston EH, y Guth PH. *Sensory neurones signal for an increase in rat gastric mucosal blood flow in the face of pending acid injury.* **Gastro-enterology**, 101: 416-423, 1991.
124. LI DS, Raybould HE, Quintero E, y Guth PH. *Calcitonin gene-related peptide mediates the gastric hyperemic response to acid back-diffusion.* **Gastro-enterology**, 102: 1124-1128, 1992.
125. Piqué JMa, Esplugues JV, y Whittle BJR. *Influence of opioid-sensitive primary sensory neurones in the gastric microcirculatory response to PAF-acether.* **Am. J. Physiol.**, 258: G325-328, 1990.
126. Piqué JMb, Esplugues JV, y Whittle BJR. *La modulación producida por neuronas aferentes periféricas sobre los cambios de flujo sanguíneo y lesiones de la mucosa gástrica inducidos por PAF no es mediada por prostaglandinas.* **Gastroenterol. Hepatol.**, 13: 69-73, 1990.
127. Tepperman BL y Whittle BJR. *Endogenous nitric oxide and sensory neuropeptides interact in the modulation of the rat gastric microcirculation.* **Br. J. Pharmacol.**, 105: 171-175, 1992.
128. Rees DD, Celtek S, Palmer RMJ, y Moncada S. *Dexamethasone prevents the induction by endotoxin of a nitric oxide synthase and the associated effects on vascular tone: an insight into endotoxin shock.* **Biochem. Biophys. Res. Commun.**, 173: 541-547, 1990.
129. Piqué JM, Pérez RM, Bilbao J, y Terés J. *Effects of stimulation and inhibition of acid secretion on gastric damage induced by platelet-activating factor.* **Dig. Dis. Sci.**, 26: 1715-1720, 1991.
130. Peskar BM. *Role of leukotriene C4 in mucosal damage caused by necrotizing agents and indomethacin in the rat stomach.* **Gastroenterology**, 100: 619-626, 1991.
131. Kawano S, Tsujii M, Fusamoto H, Sato N, y Kamada T. *Chronic effect of intragastric ammonia on gastric mucosal structures in rats.* **Dig. Dis. Sci.**, 36: 33-38, 1991.
132. Shepherd AMM, Stewart Wk, Thjodleifsson B, y Wormsley KG. *Further studies of gastric hypersecretion in chronic renal failure.* **Brit. Med. J.**, 1: 96-98, 1974.
133. Ventkateswaran PS, Jeffers A, y Hocken AG. *Gastric acid secretion in chronic renal failure.* **Brit. Med. J.**, 4: 22-23, 1972.
134. Gordon EM, Johnson AG, y Williams G. *Gastric assessment of prospective renal-transplant patients.* **Lancet**, 29: 226-229, 1972.
135. Shepherd AMM, Stewart WK, y Wormsley KG. *Peptic ulceration in chronic renal failure.* **Lancet**, 16: 1357-1359, 1973.
136. Sullivan SN, Tustanoff E, Slaughter DN, Linton AL, Lindsay RM, y Watson WC. *Hypergastrinemia and gastric acid hypersecretion in uremia.* **Clin. Nephrol.**, 5: 25-28, 1976.
137. Chislow GD, Mee AD, Williams G, Castro JE, y Baron JH. *Peptic ulceration, gastric secretion, and renal transplantation.* **Brit. Med. J.**, 1: 1630-1633, 1977.
138. Musola R, Franzin G, Mora R, y Manfrini C. *Prevalence of gastroduodenal lesions in uremic patients undergoing dialysis and after renal transplantation.* **Gastrointestinal Endoscopy**, 30: 343-346, 1984.

139. McConnell JB, Thjodleifsson B, y Stewart WK. *Gastric function in chronic renal failure*. **Lancet**, 6: 1121-1123, 1975.
140. Hallgren R, Landelius J, Fjellström K-E, y Lundqvist G. *Gastric acid secretion in uraemia and circulating levels of gastrin, somatostatin, and pancreatic polypeptide*. **Gut**, 20: 763-768, 1979.
141. Gold CH, Morley JE, Viljoen M, Ou Tim L, Fonseca Md, y Kalk WJ. *Gastric acid secretion and serum gastrin levels in patients with chronic renal failure on regular hemodialysis*. **Nephron**, 25: 92-95, 1980.
142. Paimela H, Harkonen SL, Tallgren LG, y Ahonen J. *The effect renal transplantation on gastric acid secretion and on the serum levels of gastrin and group I pepsinogens*. **Ann. Of Clin. Resch.**, 17: 105-109, 1985.
143. Muto S, Murayama N, Asano Y, Hosoda S, y Miyata M. *Hypergastrinemia and Achlorhydria in chronic renal failure*. **Nephron**, 40: 143-148, 1985.
144. Muto S, Asano Y, Hosoda S, y Miyata M. *Hypochlorhydria and hypergastrinemia and association with gastrointestinal bleeding in young patients with chronic renal failure*. **Nephron**, 50: 5-9, 1988.
145. Muto S, Asano Y, Hosoda S, y Miyata M. *hypochlorhydria and hypergastrinemia and their association with gastrointestinal bleeding in undialyzed and hemodialyzed patients*. **Nephron**, 50: 10-13, 1988.
146. Quintero E, Kaunitz J, Nishizaki Y, De Giorgio R, Sternini C, y Guth PH. *Uremia increases mucosal permeability and acid back diffusion injury in the rat*. **Gastroenterology**, 103: 1762-1768, 1992.
147. Remuzzi G, Perico N, Zoja C, Corna D, Macconi D, y Viganò G. *Role of endothelium derived nitric oxide in the bleeding tendency of uremia*. **J. Clin. Invest.**, 86: 1768-1771, 1990.
148. Quintero E y Guth PH. *Renal failure increases gastric mucosal blood flow and acid secretion in rats: role endothelium-derived nitric oxide*. **Am. J. Physiol.**, 263: G75-G80, 1992.
149. Quintero E, Ohning G, y Guth PH. *Uremia in the rat affects gastric cell growth and differentiation*. **Dig. Dis. Sci.**, 39: 1464-1468, 1994.
150. Diebel L, Kozol R, Wilson RF, Mahajan S, Abu-Hamdan D, y Thomas D. *Gastric intramucosal acidosis in patients with chronic kidney failure*. **Surgery**, 113: 520-526, 1993.
151. Raybould HE, Plourde V, Zittel T, Bover J, y Quintero E. *Gastric emptying of solids but not liquids is decreased in rats with chronic renal failure*. **Dig. Dis. Sci.**, 39: 2301-2305, 1994.
152. Wright RA, Clemente R, y Wathen R. *Gastric emptying in patients with chronic renal failure renal receiving hemodialysis*. **Arch. Intern. Med.**, 144: 495-496, 1984.
153. Ravelli AM, Ledermann SE, Bisset WM, Trompeter RS, Barratt TM, y Milla PJ. *Foregut motor function in chronic renal failure*. **Arch. Dis. in Child.**, 67: 1343-1347, 1992.
154. Kao CH, Hsu YH, y Wang SJ. *Delayed gastric emptying in patients with chronic renal failure*. **Nucl. Med. Commun**, 17: 164-167, 1996.

155. Ravelli AM. *Gastrointestinal function in chronic renal failure*. **Pediatr. Nephrol.**, 9: 756-762, 1995.
156. Margolis DM, Saylor J.L., Geisse G, DeSchryver-Kecskemeti K, Harter RH, y Zuckerman GR. *Upper gastrointestinal disease in chronic renal failure*. **Arch. Intern. Med.**, 138: 1214-1217, 1978.
157. Muolo A, Chidini O, Ancona G, Franzin G, Galvani E, Rinaldi M, Confortini P. *Gastroduodenal mucosal changes, gastric acid secretion, and gastrin levels following successful kidney transplantation*. **Transplant. Proc.**, 11: 1277-1279, 1979.
158. Quintero E, Ohning GV, Del Rivero M, Wong HC, Walsh JH, y Guth PH. *Gastrin mediates the increase in gastric cell growth in uremic rats*. **Am. J. Physiol.**, 31: G586-G591, 1995.
159. Kang JY, Wu AYT, Sutherland IH, y Vathsala A. *Prevalence of peptic ulcer in patients undergoing maintenance hemodialysis*. **Dis. Dig. Sci.**, 33: 774-778, 1988.
160. Tani N, Harasawa S, Suzuki S, Miwa M, Sakita R, Nomiya T, Watanabe H, Senoue I, Kikuchi K, y Miwa T. *Lesions of the upper gastrointestinal tract in patients with chronic renal failure*. **Gastroenterol. Jn**, 15: 480-484, 1980.
161. Davenport HW. *destruction of the gastric mucosal barrier by detergents and urea*. **Gastroenterology**, 54: 175-181, 1968.
162. Prakash y Agrawal BK. *Upper gastrointestinal mucosal lesions in chronic renal failure*. **Indian J. Gastroenterol.**, 10: 131-132, 1991.
163. Abu Farsakh NA, Roweity RM, y Butchoun R. *Evaluation of the upper gastrointestinal tract in uremic patients undergoing haemodialysis*. **Nephrol. Dial Transplant.**, 11: 847-850, 1996.
164. Boyle JM y Johnston B. *Acute upper gastrointestinal hemorrhage in patients with chronic renal disease*. **Am. J. Med.**, 75: 409-412, 1983.
165. Branicki FJ, Boey J, y Fok PJ. *Bleeding duodenal ulcer: A prospective evaluation of risk factors for rebleeding and death*. **Ann. Surg.**, 211: 411-418, 1990.
166. Kim U, Dreiling DA, Kark AE, y Rudick J. *Factors influencing mortality in surgical treatment for massive gastroduodenal hemorrhage*. **Am. J. Gastroenterol.**, 66: 24-35, 1974.
167. Owens ML, Passaro EJ, Wilson SE, y Gordon HE. *Treatment of peptic ulcer disease in the renal transplant patient*. **Ann. Surg.**, 186: 17-21, 1977.
168. Feduska NJ, Amend WJ, Vicentini F, Melzer JS, Duca R, Garovoy MR, y Salvatierra OJ. *Peptic ulcer disease in kidney transplant recipients*. **Am. J. Surg.**, 148: 51-57, 1984.
169. Van Cutsem E, Rutgeerts P, y Vantrappen G. *Long term effect of hormonal therapy for bleeding gastrointestinal vascular malformations*. **Eu. J. Gastroenterol. Hepatolog.**, 5: 439-443, 1993.
170. Richardson JD y Lordon RE. *Gastrointestinal bleeding caused by angiodysplasia: a difficult problem in patients with chronic renal failure receiving hemodialysis therapy*. **Ann. Surg.**, 59: 636-638, 1993.
171. Mesch CL, Joh T, Korthuis J, Granger DN, y Benoit JN. *Intestinal vascular sensitivity to vasopressin in portal hypertensive rats*. **Gastroenterology**, 100: 916-921, 1991.

172. Furr BJA y Jordan VC. *The pharmacology and clinical use of tamoxifen*. **Pharmacol. Ther.**, 25: 127-205, 1984.
173. Buckley MMT y Goa KL. *Tamoxifen: a reappraisal of its pharmacodynamic and pharmacokinetic properties and therapeutic use*. **Drugs**, 37: 451-490, 1987.
174. Palacios Gil-Antuñano S. *Farmacología de los estrógenos*. En «Climaterio y Menopausia». Mirpal, Editor. Grefor S.A., Madrid, p. 204-218, 1993.
175. Truss M y Beato M. *Steroid hormone receptors: interaction with deoxyribonucleic acid and transcription factors*. **Endocrine Reviews**, 14: 459-479, 1993.
176. Clark HJ. *Action of estrogen: molecular, biological, and evolutionary considerations*. En «The menopause. Biological and Clinical consequences of ovarian failure: Evolution and management.». Korenman SG, Editor. Serono Symposium Norwell, Massachusetts, p. 33-41, 1990.
177. Wehling M, Vlseneheimer A, Shneider M, Neylan C, y Christ M. *Rapid effects of aldosterone on free intracellular calcium in vascular smooth muscle and endothelial cells: subcellular localization of calcium elevations by single cell imagings*. **Biochem. Biophys. Res. Commun.**, 204: 475-481, 1994.
178. Ciocca DR y Vargas Roig LM. *Estrogen receptors in human nontarget tissues: biological and clinical implications*. **Endocrine Reviews**, 16: 35-62, 1995.
179. McCarty KSJ, Lubahn DB, y McCarty KS. *Estrogen and progesterone receptors: physiological and pathological considerations*. **Clin. Endocrinol. Metab.**, 12: 133-145, 1983.
180. Walters MR. *Steroid hormone receptors and the nucleus*. **Endocrinol. Rev.**, 6: 512-543, 1985.
181. De la Fuente P. *Anticonceptivos en la actualidad*. **Inf. Ter. Seg. Soc.**, 10: 451-490, 1986.
182. Shenfield GM y Griffin JM. *Clinical pharmacokinetics of contraceptive steroids: an update*. **Clin. Pharmacokin.**, 20: 15-37, 1991.
183. Horowitz KB, Wey L, Sedlacek CN, y d'Arville CN. *Progesterone action and progesterone receptor structure in human breast cancer: a review*. **Recent Progr. Horm. Res.**, 41: 249-317, 1985.
184. Palacios Gil-Antuñano S. *Farmacología de los Progestágenos*. En «Climaterio y Menopausia». Mirpal, Editor. Grefor S.A., Madrid, p. 219-231, 1993.
185. Douflinger LJ. *Relative potency of progestins used in oral contraceptives*. **Contraception**, 31: 557-570, 1985.
186. Manni A. *Pharmacologic manipulation of steroid hormones. Adjunctive therapy in cancer of the breast*. **Endocrinol. Metab. Clin. N. Am.**, 20: 825-844, 1991.
187. Arnold AP y Gorski RA. *Gonadal steroid induction of structural sex differences in the central nervous system*. **Ann. Rev. Neurosci.**, 7: 413-442, 1984.
188. Sitruk-Ware R. *Terapia hormonal sustitutiva: Que prescribir, como y durante cuanto tiempo*. En «Menopausia y tratamiento hormonal sustitutivo.». Ancora SA, Editor. Duplex, S.A., Barcelona, p. 287-311, 1993.
189. Calaf J, Matos G, y Parra J. *Aplicaciones terapéuticas de estrógenos y gestágenos*. **Jano**, 36: 59-66, 1989.

190. Klagsbrun M y D'Amore PA. *Regulators of angiogenesis*. **Ann. Arch. Rev. Physiol.**, 53: 217-239, 1991.
191. Crum R, Szabo S, y Folkman J. *A new class of steroids inhibits angiogenesis in the presence of heparin or a heparin fragment*. **Science**, 230: 1375-1378, 1985.
192. Folkman J y Ingber DE. *Angiostatic steroids: Method of discovery and mechanism of action*. **Ann. Surg.**, 206: 374-383, 1987.
193. Wolinsky H. *Effects of hypertension and its reversal on the thoracic aorta of male and female rats*. **Circ. Res.**, 28: 622-637, 1971.
194. Fischer GM y Swain ML. *Effects of sex hormones on blood pressure and vascular connective tissue in castrated and non castrated male rats*. : , 1977.
195. Wolinsky H. *Effects of androgen treatment on the male rat aorta*. **J. Clin. Invest.**, 51: 2552-2555, 1972.
196. Bhargaba KP, Dhawan KN, y Saxena RC. *Enhancement of noradrenaline pressor responses in testosterone-treated cats*. **Pharmacol. Chemother**, 31: 26-31, 1967.
197. Baker PJ, Ramey ER, y Ramwell PW. *Androgen mediated sex differences of cardiovascular responses in rats*. **Am. J. Physiol.**, 235: H242-H246, 1978.
198. Greemberg S, George WR, y Kadowitz PJ. *Androgen induced enhancement of vascular reactivity*. **Can. J. Physiol. Pharmacol.**, 52: 14, 1974.
199. Sarrel P. *Effects of ovarian steroids on the cardiovascular system*. En «The circulation in the female». Ginsburg J, Editor. Parthenon, Carnforth, p. 117-141, 1989.
200. Versi E, Tapp A, Cardozo L, y Montgomery J. *Urethral vascular pulsations and the menopause*. in *Proceedings of the fifth international congress on the menopause*. 1987. Carnforth: Parthenon.
201. Sarrel PM. *Measurement of cutaneous blood flow before and after ovarian hormone replacement therapy in postmenopausal women*. in *Proceedings of the fifth international congress on the menopause*. 1987. Carnforth: Parthenon.
202. Bourne T, Hillard TC, Whitehead MI, Crook D, y Campbell S. *Oestrogens, arterial status, and postmenopausal women*. **Lancet**, 335(8703): 1470-1471, 1990.
203. Chester A, Jiang C, Sarrel P, Borland J, Yacoub M, y Collins P. *17beta-estradiol induces endothelium-independent relaxation in human coronary arteries in vivo*. **Circulation**, 88: 1-78, 1993.
204. Sitruk-Ware R. *¿Protegen los estrógenos contra las enfermedades cardiovasculares?* En «Menopausia y tratamiento hormonal sustitutivo». Ancora SA, Editor. Duplex, S.A., Barcelona, p. 177-195, 1993.
205. Fisher EA y Wolinsky H. *Menopausia: efectos de los estrógenos y la progesterona sobre los vasos sanguíneos*. En «Menopausia y tratamiento hormonal sustitutivo». Ancora SA, Editor. Duplex, S.A., Barcelona, p. 247-265, 1993.
206. Jiang C, Sarrel M, Lindsay DC, Poole-Wilson PA, y Collins P. *Progesterone induces endothelium independent relaxation of rabbit coronary artery in vitro*. **Eurp. J. Pharmacol.**, 211: 163-167, 1992.
207. Basdevant A, Elkik F, y Corvol P. *Contraception in the hipertensive woman using a vaginal ring delivering estradiol and norgestrel*. **Arch. Mad. Coeur. Vaiss.**, 78: 1737-1739, 1985.

208. Laragh. *Oral contraceptives:renin,aldosterone and high blood presure.* **Jama**, 201: 918-922, 1967.
209. Russel RP y Sullivan MA. *The pill and hypertension.* **Johns Hopkins Med. J.**, 127: 287-293, 1970.
210. Baird DT y Glasier AF. *Hormonal contraception.* **N. Engl. J. Med.**, 328: 1543-1549, 1993.
211. Woods JW. *Oral contraceptivesand hypertension.* **Hypertension**, suppl II: II.11-II.15, 1988.
212. Laragh JH. *Oral contraceptive hypertension.* **Postgrad. Med.**, 52: 98-105, 1972.
213. Rebar RW y Doll R. *Is «the pill» safe enough to continue using?* **Proc. R. Soc. Lond.**, 195: 69-80, 1976.
214. Gordon DB. *The role of renin substrate in hypertension.* **Hypertension**, 5:353,1983
215. Pfeffer RI, Kurosaki TT, y Charlton S, K. *Estrogen use and blood pressure in later life.* **Am. J. Epidemiol.**, 110: 469-478, 1979.
216. Dignam WS, Voskin J, y Assali NS. *Effects of estrogens on renal hemodynamics and excretion of electrolytes in human subjects.* **J. Clin. Endocrinol.**, 16: 1032-1044, 1956.
217. Hassager C, Riis BJ, Strom V, Guyene TT, y Christiansen C. *The long-term effects of oral and percutaneus estradiol on plasma renin substrate and blood pressure.* **Circulation**, 76: 753-758, 1987.
218. Layne DS, Meyer CJ, Vaishwanar PS, y Pincus G. *The secretion and metabolism of cortisol and aldosterone in normal and in steroid-treated women.* **J. Clin. Endocrinol. Metab.**, 22: 107-118, 1963.
219. Rylance PB, Brincat M, Lafferty K, De Trafford JC, Brincat S, Parsons V, y Studd JWW. *Natural progesterone and antihypertensive action.* **Br. Med. J.**, 290:13,1985
220. Grady D, Judd H, Barrett-Connor E, Knopp R, y La Rosa J. *A secondary prevention trial to prevent coronary events in women.* in *Fourth annual meeting of the North American Menopause Society.* 1993.
221. Lee ML, Purkerson ML, Agate FJ, y Dempsey EL. *Ultrastructural changes in renal glomeruli of rats during experimentally induced hypertension and uremia.* **Am. J. Anat.**, 135: 191-204, 1972.
222. Burton RG y Gorewit R. *Ultrasonic flowmeter uses wide bean transit-time technique.* **Med. Electron.**, 15: 68-73, 1984.
223. Livio M, Benigni A, y Remuzzi G. *Coagulation abnormalities in uremia.* **Sem. Nefrol.**, 5: 82-89, 1985.
224. Steiner RW, Coggins C, y Carvalho ACA. *Bleeding in uremia: a useful test to assess clinical bleeding.* **Am. J. Hematol.**, 7: 107-117, 1979.
225. Bowie EJW y Owen CJ. *The bleeding time.* **Prog. Hemost. Thromb.**, 2: 243-272, 1976.
226. Remuzzi G, Begnini A, y Dodesini P. *Parathyroid hormone inhibits human platelet function.* **Lacet**, II: 1321-1323, 1981.
227. Fernández F, Goudable C, Sie P. *Low hematocrit and prolonged bleeding time in uremic patients: effect of red cell transfusions.* **Br.J.Haematol.**, 59:139-148,1985.

228. Viganò G, Zoja C, Corna D, Rossini M, Pusineri F, Garattini S, y Remuzzi G. *17-beta estradiol is most active component of conjugated mixture active on uremic bleeding by a receptor mechanism*. **J. Pharmacol. Exp. Therapeut.**, 252 :344-348, 1990.
229. Zoja C, Viganò G, Corna D, Salmona M, Remuzzi G, y Garattini S. *Oral zeranol shortens the prolonged bleeding time of uremic rats*. **Kidney International**, 38: 96-100, 1990.
230. Koch HJ, Escher GC, y Lewis JS. *Hormonal management of hereditary hemorrhagic telangiectasia*. **JAMA**, 149: 1376-1380, 1952.
231. Flessa HC y Glueck HI. *Hereditary hemorrhagic telangiectasia (Osler-Weber-Rendu disease): management of epistaxis in nine patients using systemic hormone therapy*. **Arch. Otolaryngol.**, 103: 148-151, 1977.
232. Vase P y Lorentzen M. *Histological findings following oestrogen treatment of hereditary haemorrhagic telangiectasia: a controlled double blind investigation*. **J. Laryngol. Otol.**, 97: 427-429, 1983.
233. Méndez A, Fernández M, Barrios Y, López-Coviella I, González Mora JL, Del Rivero M, Salido E, Bosch J, y Quintero E. *Constitutive nitric oxide synthase isoforms account for gastric mucosal nitric oxide overproduction in uremic rats*. **Am. J. Physiol.**, 35: G894-G898, 1997.
234. Panés J, Casadevall M, Fernánde, Fernández M, Piqué JM, Bosch J, Casamitjana R, Cirera I, Bombí JA, Terés J, y Rodés J. *Gastric microcirculatory changes of portal hypertensive rats can be attenuated by long-term estrogen-progestagen treatment*. **Hepatology**, 20: 1261-1270, 1994.
235. Hsueh AJW. *Ovarian hormone synthesis, circulation, and mechanism of action*. En «Endocrinology». L.J. D, Editor. W.B. Saunders, Philadelphia, p.1929-1939, 1989.
236. Fellner SK, Lang RM, Neumann A, Korcarz C, y Borow KM. *Cardiovascular consequences of correction of the anemia of renal failure with erythropoietin*. **Kidney Int.**, 44: 1309-1315, 1993.
237. Converse RL, Jacobson TN, Toto RD, Jost CM, Cosentino F, Fouad-Tarzi F, y Victor TG. *Sympathetic overactivity in patients with chronic renal failure*. **N. Engl. J. Med.**, 327: 1912-1918, 1992.
238. Izzo JLJ, Santarosa RP, Larrabee PS, Smith RJ, y Kallay MC. *Increased plasma norepinephrine and sympathetic nervous activity in essential hypertensive and uremic humans: Effects of clonidine*. **J. Cardiovasc. Pharm.**, 10 (suppl): S225-S229, 1987.
239. Cucho JL, Prinseau J, Selz F, Ruget G, y Baglin A. *Plasma free, sufo-and glucuro-conjugated catecholamines in uremic patients*. **Kidney Int.**, 30: 566-577, 1986.
240. Rascher W, Schomig A, Kreye VA, y Ritz E. *Diminished vascular response to noradrenaline in experimental chronic uremia*. **Kidney Int.**, 21: 20-27, 1982.
241. Rostand SG, Bunzell JD, Cannon RO, y Victor RG. *Cardiovascular complications in renal failure*. **J. Am. Soc. Nephrol.**, 2: 1053-1062, 1991.
242. Shaohua. Y y Nosrati SV. *Nitric Oxide (NO) modulates the neurogenesis control of blood pressure in rats with chronic renal failure*. **IJ.Clin.Invest.**, 99:540-548, 1997.

243. Loyd S. *The vascular responses of the rat during the preproductive cycle.* **J. Physiol. Lond.**, 148: 625-632, 1959.
244. Altura BM. *Sex and estrogens and responsiveness of terminal arterioles to neurohypophyseal hormones and catecholamines.* **J. Pharmacol. Exp. Ther.**, 193: 403-412, 1975.
245. Gisclard V, Miller VM, y Vanhoutte PM. *Effect of 17 beta-estradiol on endothelium dependent responses in the rabbit.* **J. Pharmacol. Exp. Ther.**, 244: 19-22, 1988.
246. Miller VM y Vanhoutte PM. *Progesterone and modulation of endothelium-dependent responses in canine coronary arteries.* **Am. J. Physiol.**, 30: R1022-R1027, 1991.
247. Jiang C, Sarrel PM, Lindsay DC, Poole-Wilson PA, y Collins P. *Progesterone induces endothelium-independent relaxation of rabbit coronary artery in vitro.* **Eur. J. Pharmacol.**, 211: 163-167, 1992.
248. Ford SP, Reynolds LP, Farley DB, Bhatnagar RK, y Van Orden DE. *Interaction of ovarian steroids and periarterial alpha 1-adrenergic receptors in altering uterine blood flow during the estrous cycle of gilts.* **Am. J. Obstet. Gynecol.**, 150: 480-484, 1984.