

114
2ej.



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO**

**FACULTAD DE CIENCIAS
BIOLOGIA**

**"EFECTO DEL TIEMPO DE ISQUEMIA Y LA
TOXICIDAD POR CICLOSPORINA SOBRE LA
PRODUCCION DE PROSTAGLANDINAS E INSULINA
EN EL PANCREAS PRESERVADO PARA
TRASPLANTE"**

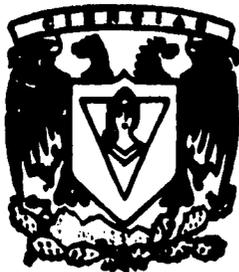
T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

B I O L O G A

P R E S E N T A

CLAUDIA OROZCO JIMENEZ



MEXICO, D. F.



FACULTAD DE CIENCIAS
SECCION ESCOLAR

FEBRERO DE 1995

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**

FALLA DE ORIGEN



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

M. EN C. VIRGINIA ABRIN BATULE

Jefe de la División de Estudios Profesionales

Facultad de Ciencias

Presente

Los abajo firmantes, comunicamos a Usted, que habiendo revisado el trabajo de Tesis que realiz(ó)ron la pasante(s) Claudia Orozco Jiménez

con número de cuenta 8652029-4 con el Título:

Efecto del Tiempo de Isquemia y la Toxicidad por Ciclosporina,
sobre la Producción de Prostaglandinas e Insulina, en el Páncreas
Preservado para Trasplante.

Otorgamos nuestro **Voto Aprobatorio** y consideramos que a la brevedad deberá presentar su Examen Profesional para obtener el título de biologa

GRADO	NOMBRE(S)	APELLIDOS COMPLETOS	FIRMA
DR.	Alberto	Odor Morales	
Director de Tesis	Dra.	María Eugenia Gonsebatt Bonaparte	
M en C.	María Teresa	Benítez Rodríguez	
Dra.	María Luisa	Fanjul Peña	
Suplente	Biol.	Julio Prieto Sagredo	
Suplente			

AGRADECIMIENTOS

A la U.N.A.M. por darme la oportunidad de ser parte de ella, honor para cualquier profesionista

*A la Dra. María Eugenia Gonsebatt, a la Dra. María Luisa Fanjul y al Biol. Julio Prieto,
por ser parte del jurado*

*A la QFB. Rosa María López, por compartir conmigo su experiencia y
conocimientos en la realización de esta tesis*

*A la M. en C. María Teresa Benítez, por el interés mostrado hacia mi,
su enseñanza y por ser parte del jurado*

*Al Dr. Alberto Odor por dirigir esta tesis, pero sobre todo por su ayuda y
apoyo para alcanzar este sueño*

*A Lucía, Paty, Angélica, Néstor, Gerardo, Chuy, Kitty, Ana y Norma,
por el gran don de la amistad que me han otorgado*

A Chavo, que más que mi cuñado es mi amigo

*A mis hermanos Susy, Vero, Rubén, Dante y Conchita, por estar en los momentos importantes,
especiales y comunes, siempre conmigo*

A mi abuelita, por su apoyo y ánimo

*A mis padres por su confianza, apoyo y respeto para con lo que emprendo,
producto del gran amor que me tienen, completamente correspondido*

DEDICATORIA

*A Usy,
Chavito,
Mariana y
Berenice,
mis pequeños sobrinos,
como símbolo de una meta alcanzada,
esperando que ustedes alcancen las suyas.*

INDICE

RESUMEN	1
INTRODUCCION	2
Diabetes mellitus insulino dependiente.	2
Trasplante de Páncreas Clínico.	2
Técnicas de Preservación.	3
Tromboxano y Prostaglandinas	6
Ciclosporina.	7
HIPOTESIS.....	9
OBJETIVOS	9
MATERIAL Y METODOLOGIA	10
A) MATERIAL	10
B) METODOLOGIA	10
Técnica quirúrgica	10
Técnicas de medición	12
Grupos Experimentales	12
RESULTADOS.....	13
Glucosa.	13
Insulina.	13
Eicosanoides.	13
DISCUSION	21
CONCLUSIONES	22
REFERENCIAS	23
PROGRAMAS DE COMPUTACION	28

RESUMEN

El refinamiento de las técnicas quirúrgicas, aunado a la disponibilidad de nuevos medicamentos inmunosupresores, tales como la Ciclosporina A (CyA) y mejores soluciones de preservación como la solución de la Universidad de Wisconsin (UW-1), han incrementado de manera muy importante la frecuencia del trasplante pancreático en las últimas décadas, con el objetivo de mejorar la calidad de vida de los pacientes diabéticos insulino dependientes.

Existe amplia evidencia en la literatura del efecto adverso que la CyA tiene sobre la capacidad del páncreas para secretar insulina. Sin embargo, esos estudios, se basan en la observación de animales a los que se les ha administrado la CyA en forma crónica.

Se ha sugerido recientemente, que los eicosanoides, como la prostaciclina (PGI) y el tromboxano A₂ (TxA), juegan un papel importante en el daño inducido por la preservación del páncreas.

El presente estudio fue diseñado para evaluar la capacidad del páncreas preservado durante 24 horas para secretar insulina cuando es estimulado con glucosa. Además de determinar las variaciones en la secreción de insulina, TxA y PGI en páncreas perfundido después de 24 horas, con y sin intoxicación por CyA.

18 perros mestizos entre 15-20 Kg fueron usados como donadores de segmentos pancreáticos; estos se perfundieron con solución UW-1 a 4°C de acuerdo a los grupos experimentales grupo I Control (n=6), II Control + CyA (n=6) y III Preservado + CyA (n=6)

En cuanto a la secreción de Insulina, se observa que no hay una diferencia significativa del área bajo la curva (ABC) medida en U.ml-1.g-1.min-1 entre el grupo I = 693.9 Y II = 757.2. En contraste, en el grupo III = 138.7, disminuye drásticamente la secreción de ésta. Esto indica que el tiempo de preservación afecta directamente la secreción de insulina, aún preservándose en la solución más segura.

El ABC del TxB medida en pg.ml-1.g-1.min-1 muestra un incremento en la secreción del grupo III = 5118.1 con respecto al grupo I = 3136.3 y II = 3204.4. El ABC de PGF1-alfa reportada en pg.ml-1.g-1.min-1 muestra que al igual que en el TxB, que en el grupo III = 3489.5 hay un aumento significativo con respecto al grupo I = 1193.7 y II = 1130.2. Con base a antecedentes anteriores y a nuestros resultados podemos deducir que el aumento en la producción de TxB y PGF1-alfa se debe a la preservación prolongada del segmento pancreático y en este estudio no se ve afectada la secreción de PGF1-alfa por la presencia de dosis tóxicas de CyA.

INTRODUCCION

Diabetes mellitus insulino dependiente.

Tiempo atrás, las personas que padecían la hoy llamada diabetes mellitus tipo 1 o insulino dependiente morían al cabo de un año, de serles diagnosticada la enfermedad, siendo la causa de la muerte la incapacidad del páncreas para producir insulina. En 1921, el aislamiento de la hormona a partir de páncreas de animales posibilitó el tratamiento de la enfermedad.

Ahora bien, ni la insulina animal ni la humana, de obtención más reciente, han ofrecido la curación completa de la enfermedad. Muchos diabéticos sufren, con el tiempo, complicaciones de efectos devastadores. Por tratarse de una enfermedad crónica, con el tiempo se pueden dañar los vasos sanguíneos y producirse cardiopatías, neuropatías, ceguera por retinopatía, insuficiencia renal, entre otras.

Se sabe que la diabetes insulino dependiente se origina por una respuesta autoinmune en el páncreas. Este proceso autoinmune, altamente selectivo, suele comenzar antes de la edad adulta (por cuyo motivo se le conoce, como diabetes juvenil). El ataque no afecta a las células pancreáticas que secretan enzimas digestivas, sino que se restringuen a las células productoras de hormonas. Estas células se encuentran en agrupamientos periféricos llamados Islotes de Langerhans. Incluso en los Islotes, tres de los cuatro tipos celulares se salvan del ataque; sólo las células beta productoras de insulina, que ocupan la mayor parte del núcleo del Islote, son víctimas de la reacción autoinmune.

La insulina facilita que la mayor parte de las células del cuerpo capten los combustibles biológicos, principalmente la glucosa. Así, cuando las células beta mueren y el páncreas cesa de producir la hormona, se acumula glucosa en la sangre, alcanzándose niveles anormales de glucosa, signo distintivo de la diabetes.

Trasplante de Páncreas Clínico.

En años recientes, los trasplantes pancreáticos se han venido desarrollando como una modalidad terapéutica, para pacientes insulino-dependientes, con el objetivo de prolongar y mejorar la calidad de vida de estos pacientes.

Sutherland y cols. (1-7) mantienen un seguimiento de los trasplantes de páncreas a nivel mundial a partir de la fundación del Registro Internacional de Trasplante de Páncreas creado en 1980. Aunque ya había datos de trasplantes previos del Colegio Americano de Cirujanos y los Institutos Nacionales de Salud, donde se reportó el primer trasplante pancreático llevado a cabo el 17 de diciembre de 1966 en la Universidad de Minnesota, todos los datos de dichas instituciones se fusionaron al nuevo registro. En ese seguimiento se observó claramente un importante incremento de los trasplantes pancreáticos sobre todo en la última década, esto como respuesta a la introducción de medicamentos inmunosupresores eficientes como la Ciclosporina (CyA), a los adelantos de las técnicas quirúrgicas y a la búsqueda de mejores soluciones de perfusión para páncreas.

Técnicas de Preservación.

A finales de los sesentas se llevaron a cabo las primeras preservaciones de órganos para trasplante. Dos importantes estudios demostraron que se podrían preservar sin peligro los riñones por 30 horas en condiciones de frío (8) y por un tiempo más largo de 72 horas en perfusión continua (9). La importancia de estos dos estudios radicó principalmente en que se cambiaron los trasplantes de riñón de un procedimiento de emergencia a un procedimiento semielectivo. Otros investigadores experimentaron con otras soluciones de almacenaje en frío, obteniendo preservaciones adecuadas de 48 y 72 horas (10-11).

El establecimiento de un método confiable para preservar el páncreas, fue esencial para el éxito de dicho trasplante. En un principio los injertos pancreáticos solo eran preservados por períodos menores de 4 horas; períodos mayores por lo general estaban acompañados por malos resultados (12).

En general se aceptó que la preservación del páncreas por un método simple de almacenaje frío era efectivo durante 24 horas en solución de Eurocollins (EC) (13), solución de Collins (CS) (14) y solución de Sack (15). Pero la preservación de más de 48 horas no fue efectiva en estas soluciones llamadas intracelulares. Sin embargo, Florack y cols. (16-17) y Toledo-Pereyra y cols. (18) usaron una solución simple para almacenaje en frío, hiperosmolar e hipercálemica en páncreas canino. Tuvieron éxito en la preservación por 48 y 72 horas respectivamente, usando plasma filtrado con silica gel (SGFP), que tiene el inconveniente de ser muy complejo y costoso. Wahlberg y cols (19) usando una solución sintética hiperosmolar lograron la preservación por 72 horas. Estas soluciones hiperosmolares reducen la entrada de agua a las células durante el almacenaje en frío. También se observó que una tensión alta en oxígeno es ventajosa para preservación del páncreas, reduciendo el daño isquémico y manteniendo la integridad celular (20).

Kawamura y cols. (21) desarrollaron un método de almacenaje en frío en dos capas para una buena oxigenación del páncreas usando Perfluoroquímico (PFC). Tuvieron éxito de 48 y 72 horas con EC. El PFC es un líquido biológicamente inerte y actúa únicamente como un agente transportador de oxígeno, es probable que la alta tensión de oxígeno tenga un papel esencial en el tiempo prolongado de preservación

Abouna y cols. (22-23) de la Universidad de Minnesota postularon que la exitosa preservación por 48 horas del páncreas, podría ser posible con una solución económica y disponible fácilmente, tal como la fracción proteínica del plasma (PPF) o solución de Collins (CS) si la composición de este medio se modifica de manera similar a SGFP con respecto a la osmolaridad, contenido proteínico, concentración de potasio y con pH alcalino.

Belzer-Ploeg y cols. (24-25) de la Universidad de Wisconsin (UW) se interesaron en la preparación de una solución de preservación adecuada para todos los órganos, a la que llamaron UW. Para esto integraron los principios básicos de isquemia (interrupción del aporte sanguíneo arterial) hipotérmica anaeróbica con principios del metabolismo del órgano específico. El congelamiento y las continuas perfusiones aeróbicas son teóricamente los únicos medios de obtener verdaderamente un término largo de preservación (de un mes a años). El simple almacenaje en frío tuvo un tiempo límite específico más allá del cual el órgano no fue viable. La

hipotermia fue en este caso, una clave para la exitosa preservación ya que decrece el porcentaje en el cual las enzimas intracelulares que degradan los componentes celulares esenciales necesarios para la viabilidad del órgano. La hipotermia no detiene el metabolismo, simplemente retarda las reacciones y muerte celular, hasta que cesa la función del órgano y pierde viabilidad. El grupo de la Universidad de Wisconsin postuló que la composición de una solución de perfusión adecuada y efectiva debe:

- a) Minimizar la hipotermia que induce el hinchamiento celular.
- b) Prevenir la acidosis intracelular.
- c) Prevenir la expansión del espacio intersticial durante el período de lavado.
- d) Prevenir el daño por radicales libres de oxígeno (especialmente durante la reperfusión) y
- e) Proveer los sustratos para regenerar los componentes de fosfato altos en energía durante la reperfusión.

En relación a una solución general de almacenaje en frío Belzer y cols. (24-31) en base a las consideraciones anteriores designaron a la solución UW (Tabla 1), como una solución de almacenaje en frío que favorece la preservación del páncreas durante 72 horas. Como anión impermeable se usó el lactobionato con una masa molecular relativamente grande (PM 358), para prevenir el edema celular. La rafinosa, un sacárido también con una masa relativamente grande (PM 594), se adicionó para dar un soporte osmótico adicional. Esta solución tuvo un coloide estable no tóxico que fue el hidroxietil almidón que previene la expansión del espacio extracelular.

Tabla 1

Reactivo	Concentración
Lactobionato de K ⁺	100 mmol
KH ₂ PO ₄	20 mmol
MgSO ₄	5 mmol
Rafinosa	30 mmol
Adenosina	5 mmol
Glutación	3 mmol
Insulina	100 U
Penicilina	40 U
Dexametasona	8 mg
Alopurinol	1 mM
Hidroxietil almidón	50
llevados a pH 7.4 con NaOH	

Solución UW de almacenaje frío

Esta solución de almacenaje en frío no contiene glucosa ya que podría estimular la producción indeseable de ácido láctico e iones hidrógeno, sin embargo, incluye un amortiguador de fosfatos (con iones hidrógeno), precursores como adenosina para la síntesis de ATP durante la reperfusión, impermeantes efectivos y no metabolizables como lactobionato y rafinosa para suprimir la hiperhidratación celular inducida por la hipotermia; y un coloide estable y efectivo como hidroxietil almidón para conservar la presión oncótica.

Otros agentes como glutatión, alopurinol, Mg^{++} y adenosina son incluidos por razones teóricas, aunque el papel de estos en la preservación no son claros. El glutatión se agota durante la isquemia y es un componente esencial para la reducción de agentes citotóxicos, incluyendo el agua oxigenada, lípidos peróxidos, disulfato, ascorbato y radicales libres. El alopurinol inhibe la xantina oxidasa y la generación de radicales libres de oxígeno. La adenosina estimula la síntesis de ATP después de la perfusión para preservar el órgano. Esta solución es efectiva principalmente para páncreas e hígado (24-25).

Es importante considerar, que el éxito en los tiempos de preservación alcanzados con las soluciones de perfusión se valoraron en la capacidad del páncreas trasplantado para revertir la hiperglicemia en animales diabéticos, sin embargo, la normoglicemia así lograda pudo obtenerse con solo el 5% de la masa de células beta y por lo tanto, no reflejó la capacidad total del órgano injertado para secretar insulina en respuesta a retos hiperglicémicos.

Un grupo de investigadores de la Universidad de Minnesota (32) ha analizado el efecto del tiempo de preservación como factor predictivo del funcionamiento de los páncreas trasplantados. El análisis de las cifras de glucosa posprandial (2 horas) demostró una tendencia a incrementar los niveles de glucosa en forma proporcional a la prolongación del tiempo de preservación como se muestra en la tabla 2.

El análisis de varianza para esta comparación resultó marginal ($p=0.06$), pero sería seguramente significativo con un mayor número de observaciones.

Tabla 2

Tiempo de Preservación	Glicemia (mg/dL)
< 6 horas	141±3
6 - 12 horas	145±43
12 -24 horas	163±49
> 24 horas	163±100
ANOVA $p > 0.06$ (0.06)	

Tromboxano y Prostaglandinas

El tromboxano A₂ (TxA) y la Prostaglandina I (PGI) o Prostaciclina, provienen de la misma vía metabólica como productos de la ciclooxigenación del ácido araquidónico (AA), pero sus efectos biológicos son antagonísticos. Ambos productos son autacoides, es decir, no se almacenan en el organismo, sino que se producen en la mayor parte de los tejidos, en respuesta a algún estímulo, y ejercen sus efectos en forma local. La vida media de estos productos es de segundos o pocos minutos, por lo que su determinación directa es muy difícil. Generalmente, se miden sus metabolitos estables que son Tromboxano B₂ (TxB) y 6-k-Prostaglandina-F₁-alfa (PGF) respectivamente (33-35).

Recientemente se demostró que el TxA y PGI pueden aumentar o reducir respectivamente, el daño inducido al páncreas, en respuesta a diversos estímulos siendo el más importante la isquemia producida durante el almacenaje en frío (36-41).

El TxA es normalmente un potente vasoconstrictor y promotor de la agregación plaquetaria, lo que puede incrementar la permeabilidad vascular alterando el endotelio celular, dejando el tejido dañado en el páncreas aislado. Durante los últimos años, se ha demostrado que este producto puede afectar a los órganos trasplantados, no sólo debido a su potente efecto vasoconstrictor, sino por su contribución a la amplificación del rechazo inmunológico (42). En contraste la PGI es un potente vasodilatador, inhibidor de la agregación plaquetaria y por esto puede también alterar a las células endoteliales previniendo así un incremento en la permeabilidad celular por TxA (43). Además, la PGI tiene un efecto citoprotector relacionado con la estabilidad lisosomal, el cual puede ser su efecto más importante para la preservación del órgano (44). Basándose en estas propiedades, el balance de PGI/TxA puede ser crítico en el daño inducido por la preservación moderada. En efecto, un trabajo previo demostró que la proporción PGI/TxA en el injerto pancreático se incrementa después de 3 horas de almacenaje frío con solución de EC, pero decrece significativamente después de 24 horas (36).

La producción de TxA durante la crisis de rechazo podría ser un indicador de la respuesta celular al reto inmunológico y, así un marcador temprano de rechazo. Por otro lado, los altos niveles de TxA también pueden proceder de fuentes intravasculares. El daño endotelial o activación plaquetaria durante el proceso de rechazo puede iniciar la reacción provocando la liberación de araquidonato y convertirlo a diversas prostaglandinas.

Klausner y col. (45) reportaron que la PGI atenua el daño por isquemia caliente (temperatura corporal) en el riñón de rata solamente cuando el TxA fue inhibido. Similarmente, Lelcuk y col. (46) demostraron que el daño por isquemia caliente en el riñón de rata puede ser prevenido por un inhibidor de la síntesis de TxA. Sin embargo, este daño no fue prevenido por un inhibidor de la ciclooxigenasa.

Estos resultados indican que PGI y TxA no actúan como simples antagonistas farmacológicos, además el balance de PGI y TxA como moderadores del daño isquémico puede ser importante.

Estudios previos de Odor y cols. (47-48) han demostrado un aumento en la concentración de TxB₂ en la orina de animales, en forma concurrente al rechazo inmunológico del páncreas. Dicha elevación, se produce varios días antes de que el animal presente hiperglicemia como

respuesta a la destrucción masiva del páncreas trasplantado por el rechazo, por lo que experimentalmente ha demostrado ser un marcador temprano de rechazo. Por su parte Santillan-Doherty y cols. (49-50) recientemente correlacionaron el aumento de la medición de TxB2 urinario con rechazo de trasplante pulmonar en perros. El TxB2 también se incrementó en el lavado broncoalveolar durante el rechazo experimental del trasplante de pulmón.

La preservación actual de los órganos está sujeta a un sinnúmero de eventos traumáticos producto de la perfusión intra-arterial para remover sangre, la isquemia fría (4°C) y daño en la reperfusión.

Las prostaglandinas se han relacionado con el daño tisular asociado con cada uno de estos eventos, desde la solución UW que contiene una alta concentración de potasio que produce daño en las células endoteliales durante el proceso de perfusión arterial. Además, el procedimiento de lavado del páncreas demanda altos volúmenes de solución UW, por lo cual las células endoteliales y la microvasculatura puede ser severamente dañada por lavar con tales volúmenes (51). Además la interacción entre el endotelio dañado y las plaquetas se asoció con el balance de niveles intravasculares de PGI y TxA (52). Durante la isquemia fría, la fosfolipasa se activa por el aumento del calcio intracelular seguido por la síntesis de PGI y TxA (53).

En estudios previos se demostró que el rechazo agudo del trasplante renal estaba asociado con alteraciones en el metabolismo del AA, específicamente por la producción del TxA renal. Este incremento contribuye en parte, al decrecimiento del flujo sanguíneo y disfunción del injerto (54).

Ciclosporina.

La ciclosporina A (CyA) es un importante agente inmunosupresor que ha contribuido de manera significativa al incremento en el número de órganos trasplantados realizados, así como a la frecuencia del éxito con ellos obtenido. También ha sido empleada terapéuticamente en pacientes con enfermedades autoinmunes (55-56). La CyA es un endecapéptido cíclico, derivado de un hongo, cuyas características fisicoquímicas la hacen insoluble en agua (57).

La mayor limitante en el uso terapéutico de la CyA es la nefrotoxicidad causada por dosis altas del medicamento. Patric R. y cols (58), reportaron evidencias de que la CyA induce una reducción en el flujo de sangre renal, el cual corresponde cualitativa y temporalmente al deterioro en la filtración glomerular. La reducción en el flujo sanguíneo no es confinado unicamente a los riñones, también se ha observado en otros órganos, como en el hígado, bazo y páncreas (59-60).

Algunos estudios sugieren que la inhibición específica de productos vasoconstrictores como el TxB2 aminora los efectos nefrotóxicos causados por la CyA, ya que se eleva la excreción urinaria del TxB2 durante la administración de CyA (61). Por lo tanto, la CyA provoca una alteración en el balance de la vasoconstricción y la vasodilatación mediados por las prostaglandinas.

Además, ha sido demostrado, que la nefrotoxicidad crónica por CyA es en parte debida a la acción del TxA (58 y 62), efecto que recientemente se ha relacionado con la intoxicación aguda (63).

Existe amplia evidencia en la literatura, del efecto adverso que la CyA tiene sobre la capacidad del páncreas para secretar insulina (64-65). Sin embargo, estos estudios se basan en la observación de animales a los que se ha administrado la CyA en forma crónica. En la práctica clínica, la intoxicación por CyA es frecuentemente aguda, especialmente en los primeros días postrasplante.

La CyA puede tener efectos adversos en el metabolismo de la glucosa, lo cual es de particular significado en la inmunoterapia del trasplante pancreático. El deterioro en la tolerancia a la glucosa se debe al estado de resistencia de la insulina causado por la CyA (66-70).

El control de los niveles de glucosa en suero continúa siendo el objetivo de los trasplantes pancreáticos. El incremento del 25 % por encima de la basal, ha sido considerado un signo de rechazo. Sin embargo, la hiperglicemia se hace evidente cuando más de la mitad del páncreas trasplantado ha sido destruido por el proceso de rechazo, por lo tanto, no se considera un buen indicador del rechazo del trasplante (71).

HIPOTESIS

1. El tiempo de isquemia prolongado, disminuye la capacidad del páncreas para secretar insulina.
2. La intoxicación aguda por CyA disminuye la capacidad del páncreas para secretar insulina.
3. La isquemia y la intoxicación por CyA aumenta la producción de TxA por el páncreas.
4. La producción de PGI disminuye en respuesta al incremento del TxA en el páncreas

OBJETIVOS

1. Investigar la respuesta del páncreas preservado por 24 hr en base a la síntesis de insulina ante un reto de glucosa en perro.
2. Evaluar el efecto de la toxicidad aguda por CyA en páncreas canino perfundido inmediatamente y perfundido después de 24 horas de preservación, de acuerdo con la secreción de insulina.
3. Determinar las variaciones en la secreción de TxA y PGI en el páncreas canino ante diversos grados de isquemia, con y sin intoxicación concomitante por CyA.

MATERIAL Y METODOLOGIA

A) MATERIAL

Insulina-I-125, Tromboxano B2-I-125, y 6-K-Prostaglandina-F1-alfa-I-125, adquiridos en New England Nuclear (Boston). Los anticuerpos anti-Tromboxano B2 y anti-6-K-Prostaglandina-F1-alfa fueron comprados a Inmuno Nuclear Corporation. El anticuerpo anti-Insulina, fue donado por el Dr. Robert Sorenson (Univ. de Minnesota). La solución de perfusión está constituida por una solución Krebs-Ringer, con albúmina sérica de bovino, dextran de alto peso molecular, inhibidor de tripsina de soya y una concentración de glucosa de 50 mg/dL. Todos los reactivos fueron adquiridos en Sigma Chemical Co. (St. Louis Missouri).

B) METODOLOGÍA

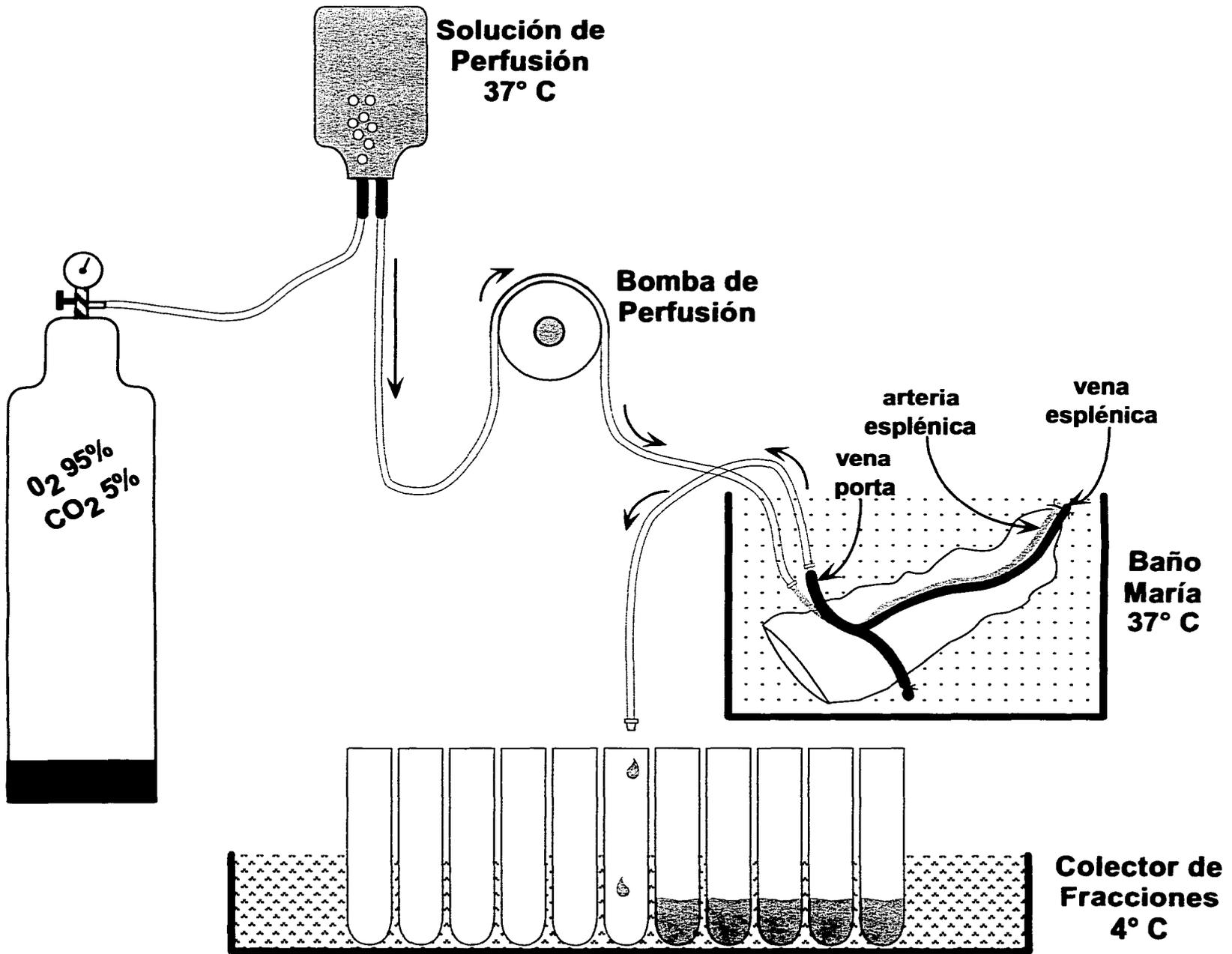
Técnica quirúrgica

18 perros criollos, de ambos sexos, con pesos entre 15-20 Kg, fueron mantenidos en ayuno nocturno durante 12 horas antes de ser empleados como donadores de páncreas.

Bajo anestesia general, inducida con Pentobarbital sódico (5 mg/Kg) y mantenida con holotano, se practicó una laparotomía media amplia a todos los animales. Se realizó una disección cuidadosa del páncreas, de la cola hacia el cuello, utilizando en todo momento el bazo como punto de manipulación. Se disecó cuidadosamente el pedículo vascular de la rama izquierda del páncreas, formado por la arteria esplénica que se siguió hasta el tronco celiaco, y la vena porta.

Una vez extraído el páncreas, se practicó un lavado a baja presión (60 cm H₂O), con 250 ml. de solución de perfusión UW-1 (Tabla 1) a 4 °C. Posteriormente, se eliminó todo el tejido linfático y adiposo del segmento pancreático registrándose el peso del mismo. Se empleó para los estudios fisiológicos, un sistema de perfusión ex-vivo (Figura 1), el cual consta de un baño María, para mantener el tejido a 37 °C y una bomba peristáltica (Infusomat-Braun), mediante la cual se infundió la solución de perfusión por un catéter colocado en el tronco celiaco. Durante todo el experimento, se burbujeó una mezcla de 95% de O₂ y 5% de CO₂ a la solución de perfusión. El efluente fue recogido a través de fracciones, a tubos helados que contenían inhibidores de proteasas. La velocidad de la perfusión fue de 5 ml/min con una presión promedio de 70 mm Hg. Se hicieron alícuotas de todas las muestras, las cuales fueron almacenadas a -40°C hasta su empleo para las determinaciones bioquímicas.

Figura 1. Esquema del modelo de perfusión



La perfusión duró 180 minutos en todos los casos, de los cuales, los primeros 59 consistieron en un período de estabilización. En los minutos 60 y 120 se administraron retos hiperglicémicos, inyectando un bolo de dextrosa de 1000 mg en un minuto.

Técnicas de medición

La glucosa se midió mediante la técnica de glucosa oxidasa, en un autoanalizador Beckman Glucose Analyser II (Fulerton, CA). La insulina y los eicosanoides, fueron medidos por radioinmunoensayo, por triplicado, con una técnica de equilibrio, desarrollada en la unidad de Investigación Experimental (UIE) del Instituto Nacional de la Nutrición (INN).

Brevemente, las muestras fueron incubadas con el anticuerpo y el antígeno marcado durante 18 horas a 4°C, separándose las fracciones libre y unida con una solución de Polietilenglicol y gamaglobulina de bovino. La fracción unida fue contada por períodos de un minuto en un contador gamma Beckman Biogamma II (Fulerton, CA). Los datos fueron analizados mediante la técnica de Regresión Logística de Cuatro Parámetros, de acuerdo a los lineamientos de Rodbard, y expresados como (U/ml o pg/ml/g).

Grupos Experimentales

Los páncreas fueron divididos en tres grupos, en forma aleatoria:

- I Control. Los segmentos pancreáticos fueron perfundidos inmediatamente. (n=6)
- II Control + CyA. Los segmentos pancreáticos fueron también perfundidos de forma inmediata, pero en presencia de dosis tóxicas de CyA (1000 ng/ml), en la solución de perfusión. (n=6)
- III Preservado + CyA. Los segmentos pancreáticos fueron preservados a 4°C durante 24 horas y posteriormente perfundidos en presencia de niveles tóxicos de CyA (1000 ng/ml), en la solución de perfusión. (n=6)

RESULTADOS

Todos los resultados se reportaron en promedio \pm error estándar, las comparaciones de los tres grupos en forma simultánea se realizaron mediante el análisis de varianza de una vía (ANOVA). Los contrastes entre dos grupos se llevaron a cabo mediante la prueba de Student para muestras independientes. Se consideró un nivel alfa de significancia estadística menor o igual al 5% ($p < 0.05$).

Se hicieron para cada perfusión las curvas concentración/tiempo de Glucosa, Insulina, Tromboxano B2 y Prostaglandina F1-alfa, calculándose el área bajo la curva (ABC) para cada uno de estos parámetros mediante la técnica de paralelepípedo y el análisis de varianza de mediciones repetidas (ANOVA) para las ABC de cada uno de los parámetros antes mencionados.

Glucosa.

La concentración de glucosa en los tres grupos (I Control, II Control + CyA y III Preservado + CyA) no muestra diferencia significativa como indica el ANOVA de mediciones repetidas donde $p > 0.05$ como se observa en la figura 2, las elevaciones de glucosa que se presentan en los minutos 60 y 120 se deben a los retos hiperglicémicos a los que fueron sometidos todos los páncreas con dextrosa a una concentración de 1000 mg. Corroborándose con los datos de la tabla 3, las ABC reportadas en $\text{mg.dL}^{-1}.\text{min}^{-1}$ son grupo I = 12645, grupo II = 12214 y grupo III = 12546 obteniéndose el ANOVA de una vía de estos datos de $p > 0.9$ de las ABC.

Insulina.

La secreción de insulina disminuye drásticamente en el grupo III preservado durante 24 horas, en comparación con el grupo I y II ambos grupos no preservados, ver figura 3. Se obtuvo un ANOVA de mediciones repetidas de $p < 0.005$ lo que nos muestra que si hay una significancia estadística entre los grupos anteriores.

De acuerdo a los datos de la tabla 4, la secreción de insulina producida como el ABC reportada en $\text{U.ml}^{-1}.\text{g}^{-1}.\text{min}^{-1}$ muestran que los grupos I = 693.9 y II = 757.2, tuvieron una mayor producción de insulina, a diferencia del grupo III = 138.7 que tuvo una disminución significativa, aplicando el ANOVA de una sola vía a las ABC se obtuvo una $p < 0.0005$. Ahora bien, según la prueba de Student para muestras independientes el grupo I vs II $p > 0.05$ no tienen una significancia estadística, en tanto que los grupos I vs III $p < 0.05$ y II vs III $p < 0.005$ si tienen diferencias significativas estadísticamente.

Eicosanoides.

Se puede determinar que los primeros 59 minutos son de estabilización, por lo tanto al principio los niveles de TxB2 son muy altos, pero después de este período llegan sus concentraciones

a niveles basales como se observa en la figura 4. La carga hiperglicémica administrada en los minutos 60 y 120 provocaron niveles transitorios no significativos. Después de los minutos de estabilización se observa un incremento en el grupo experimental en comparación con los grupos control. El ANOVA de mediciones repetidas es $p > 0.05$, lo cual no es significativo.

En la tabla 5 en donde se muestran los datos estadísticos más relevantes de TxB2 podemos ver que el cálculo del ABC reportado en $\text{pg. ml}^{-1} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ son menores los grupos I = 3136.3 y II = 3204.4 con respecto al grupo III = 5118.1, y el ANOVA de una vía para estos datos es $p < 0.0001$ teniendo una significancia estadística. De acuerdo a la prueba de Student para muestras independientes, se observa que entre los grupos II vs III $p > 0.05$ no hay significancia estadística, pero entre los grupos I vs II $p < 0.001$ y I vs III $p < 0.05$ si las hay.

De una manera similar se comporta la PGF1-alfa, como se muestra en la figura 5, los primeros 59 minutos son de estabilización, durante los cuales se alcanzan las concentraciones basales de cada uno de los grupos. También la carga hiperglicémica administrada en los minutos 60 y 120 ocasionaron elevaciones transitorias no significativas de los niveles de PGF1-alfa.

Las curvas de concentración/tiempo de PGF1-alfa mostradas en la figura 5 hacen evidente que el grupo III preservado durante 24 horas aumenta la concentración de PGF1-alfa de una manera drástica en comparación con los grupos I y II no preservados; el ANOVA de mediciones repetidas $p < 0.02$ de los datos anteriores resultó ser significativo. Esto es apoyado por los datos estadísticos mostrados en la tabla 6, donde se observa claramente que el ABC reportado en $\text{pg. ml}^{-1} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ del grupo III = 3489.5 aumenta notoriamente en comparación con los grupos I = 1193.7 y II = 1130.2; y el ANOVA de una vía de las ABC es $p < 0.0001$ resultando ser significativo. De acuerdo con la prueba de Student para muestras independientes entre los grupos I vs II $p > 0.05$ no existe significancia estadística; sin embargo entre los grupos I vs III $p < 0.05$ y II vs III $p < 0.05$ si existe.

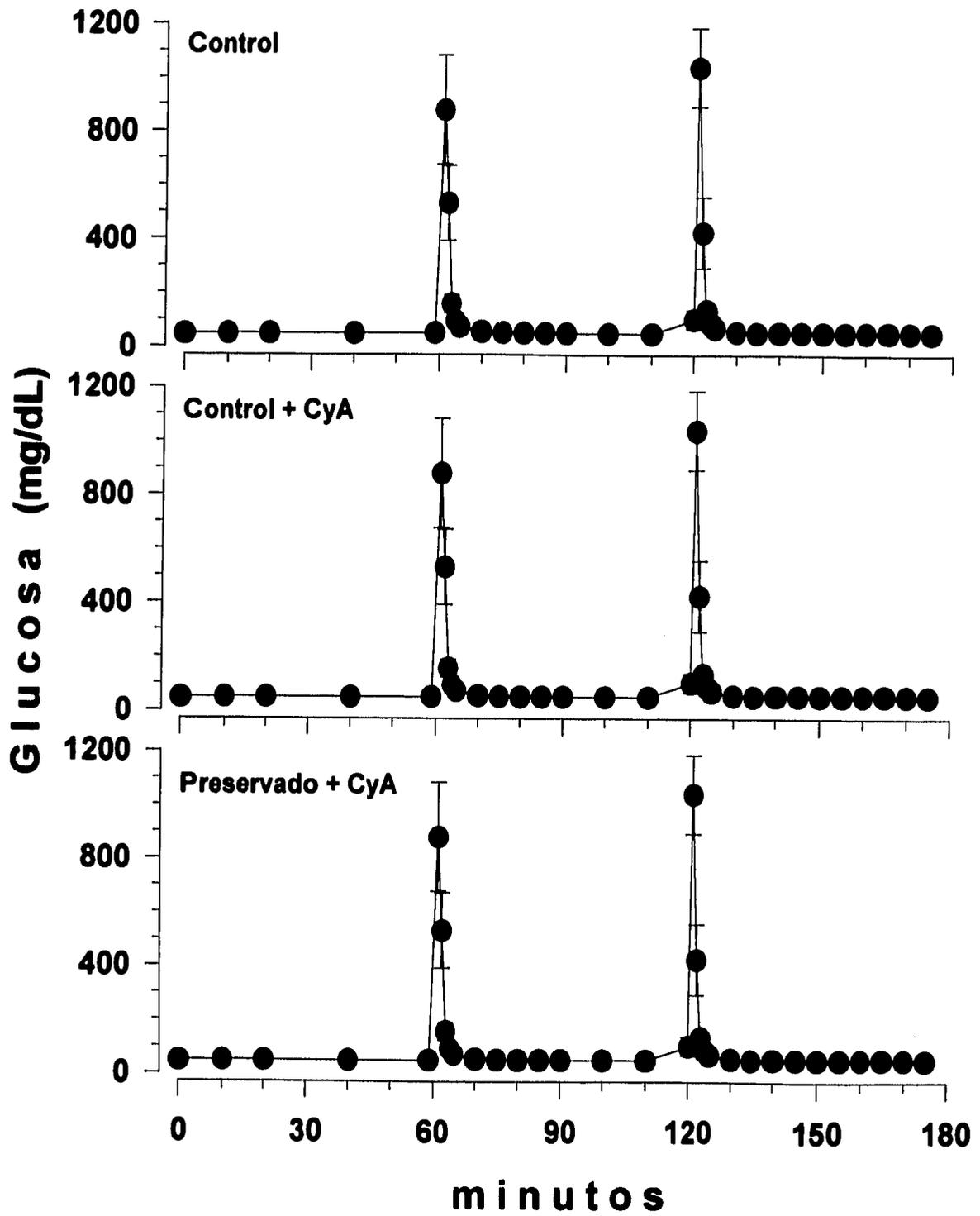


Figura 2. Curvas de concentración/tiempo de glucosa, para los tres grupos experimentales. (ANOVA de mediciones repetidas $p > 0.05$)

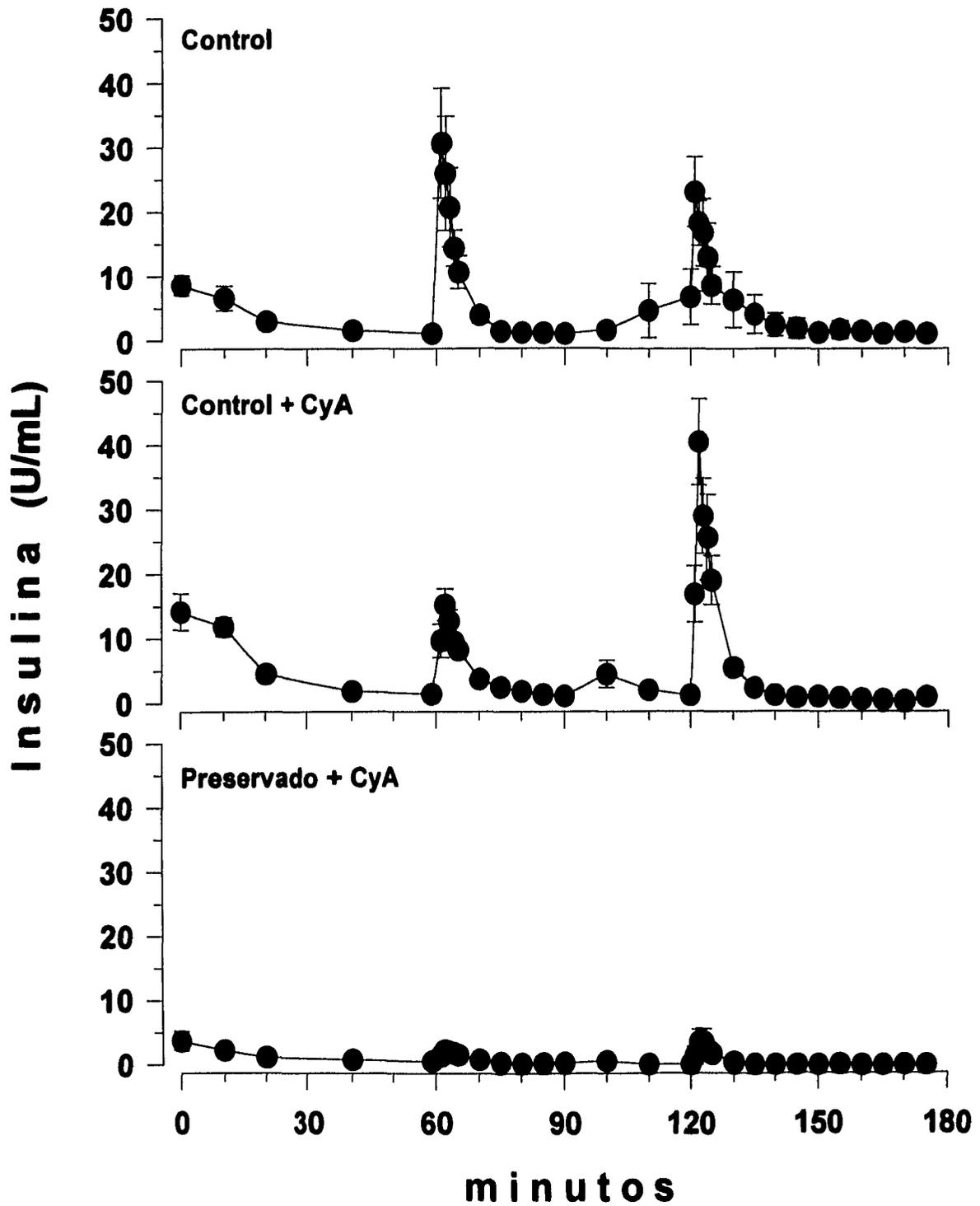


Figura 3. Curvas de concentración/tiempo de insulina, para los tres grupos experimentales. (ANOVA de mediciones repetidas $p < 0.005$)

Tabla 3

Grupo	GLUCOSA Area Bajo la Curva mg.dL-1.min-1
I. Control	12645
II. Control + CyA	12214
III. Preservado + CyA	12546
ANOVA $p > 0.9$	

Tabla 4

Grupo	INSULINA Area Bajo la Curva U. mL-1.g-1.min-1
I. Control	693.9
II. Control + CyA	757.2
III. Preservado + CyA	138.7
ANOVA $p < 0.0005$	
I vs II $p > 0.05$ I vs III $p < 0.05$ II vs III $p < 0.005$	

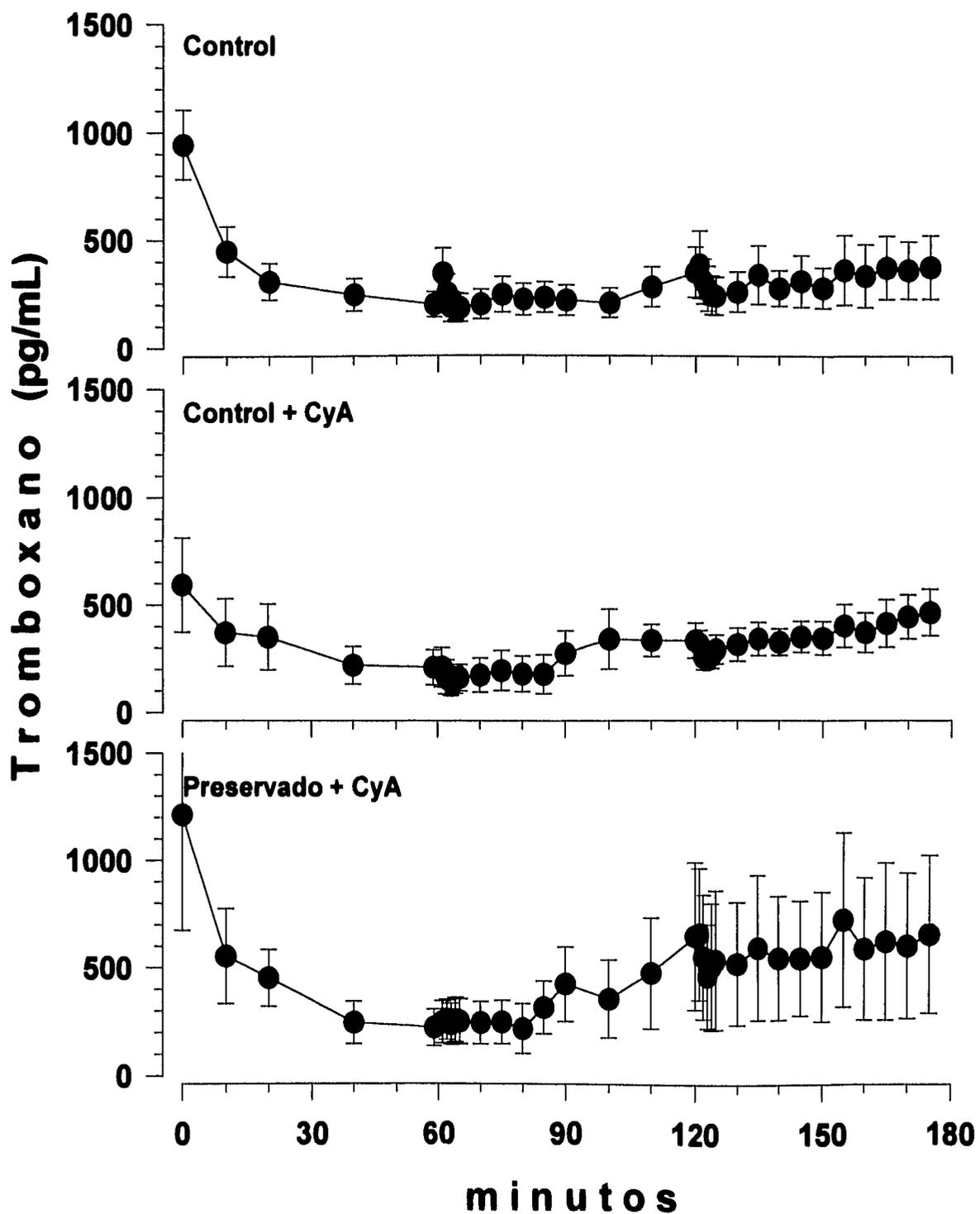


Figura 4. Curvas de concentración/tiempo de tromboxano, para los tres grupos experimentales. (ANOVA de mediciones repetidas $p > 0.05$)

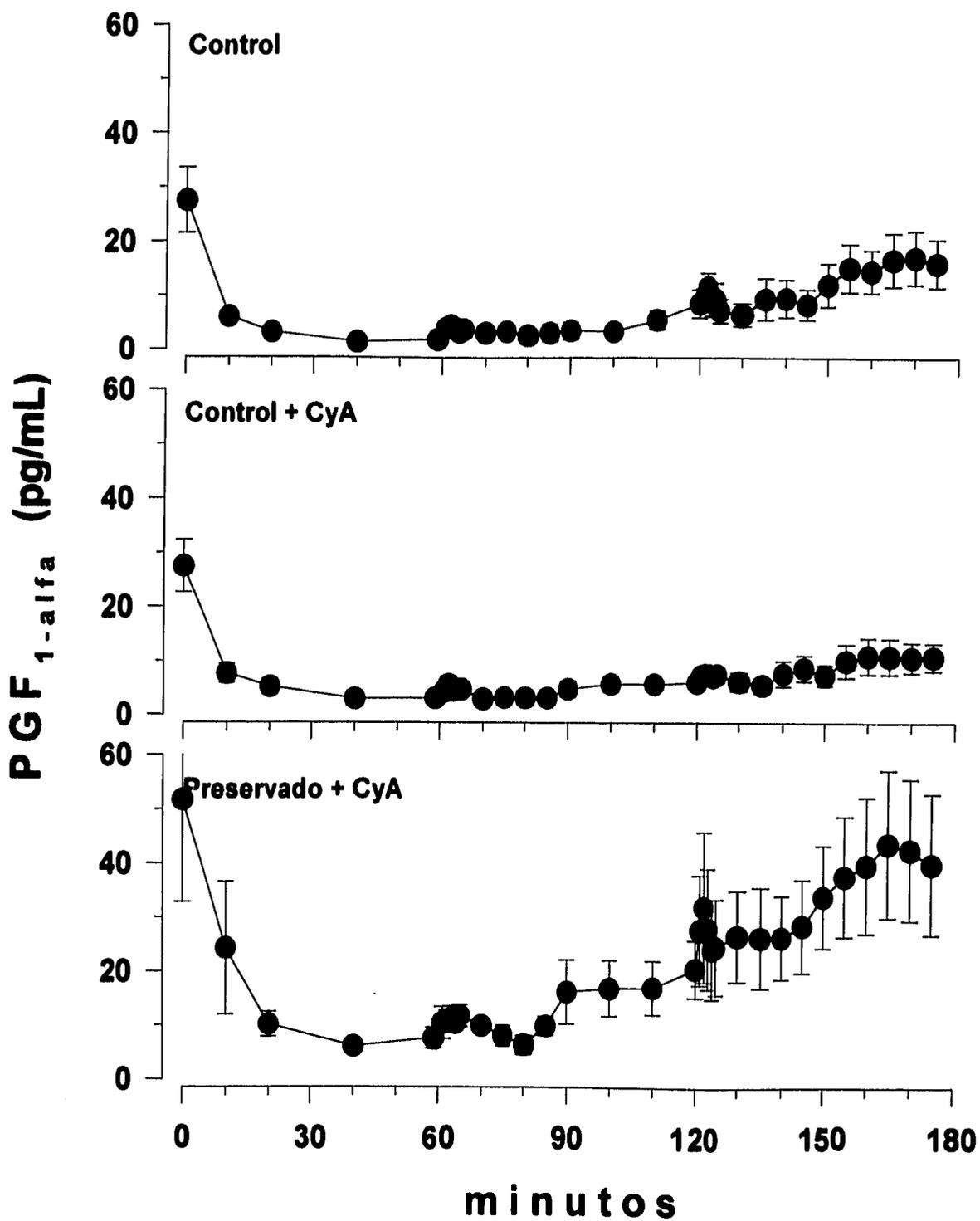


Figura 5. Curvas de concentración/tiempo de PGF_{1-alfa} para los tres grupos experimentales. (ANOVA de mediciones repetidas $p < 0.02$)

ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA

Tabla 5

Grupo	TROMBOXANO Area Bajo la Curva pg. mL-1.g-1.min-1
I. Control	3136.3
II. Control + CyA	3204.4
III. Preservado + CyA	5118.1
ANOVA $p < 0.0001$ I vs II $p < 0.001$ I vs III $p < 0.05$ II vs III $p > 0.05$	

Tabla 6

Grupo	PGF-1alfa Area Bajo la Curva pg. mL-1.g-1.min-1
I. Control	1193.7
II. Control + CyA	1130.2
III. Preservado + CyA	3489.5
ANOVA $p < 0.0001$ I vs II $p > 0.05$ I vs III $p < 0.05$ II vs III $p < 0.05$	

DISCUSION

Resulta evidente tanto en la figura 3 como en la tabla 4, que el tiempo de preservación no es inocuo para el páncreas. Aún a pesar de haber sido perfundido con la solución UW-1, que en la actualidad es la que brinda mayor protección, la producción de insulina por el grupo Preservado + CyA en respuesta a las cargas hiperglicémicas es de menos del 10 % de la producción de ambos grupos control. Esta drástica disminución, condicionada por la preservación, podría tener un efecto transitorio, para después recuperar parte de la función. De no ser así, el páncreas estaría funcionando a niveles marginales, en los cuales, cualquier daño podría conducir nuevamente a los animales a una franca intolerancia a la glucosa. La presencia de la CyA en dosis tóxicas en la solución de perfusión no afectó significativamente la capacidad de producción de insulina por el páncreas. Tal vez la toxicidad aguda, por si sola, no tiene la capacidad de afectar a las células beta e impedir su funcionamiento.

La producción de TxB2 tiene variaciones importantes en los tres grupos. Como puede verse en la figura 4, la presencia de CyA en el medio de perfusión no incrementa los niveles de TxB2 producidos por el páncreas, pero en la prueba de Student para muestras independientes la CyA sí muestra una diferencia estadística del grupo I que no tiene CyA y los grupos II y III los cuales contienen dosis tóxicas de CyA en la solución de perfusión. Este efecto de toxicidad aguda concuerda con el descrito para el riñón. La preservación del páncreas durante 24 horas aumenta de manera significativa el nivel de TxB2 cuantificable en el efluente de la perfusión siendo muy notable en la figura 4.

Las curvas de Concentración/Tiempo para PGF1-alfa mostradas en la figura 5 hacen evidentes que los niveles tóxicos de CyA no repercuten sobre la síntesis de PGI, sin embargo, la preservación prolongada sí conduce a un incremento en su producción.

La similitud entre las curvas de TxB2 y PGF1-alfa es notoria. Ambas curvas comienzan con un nivel muy alto, producido artificialmente por el inicio de la perfusión. Después de la estabilización de 59 minutos, ambos metabolitos llegan a niveles basales en los tres grupos. Mientras que en los grupos control, ambos metabolitos tienden a mantenerse estables, en el grupo preservado, existe un incremento importante a partir del minuto 120. Esto parece indicar que si bien, la CyA sola no parece alterar de manera importante la producción de eicosanoides, la toxicidad de la droga junto con el daño de la isquemia prolongada si son capaces de aumentar de manera significativa su producción.

El TxB2 y PGF1-alfa, son casi idénticos, con el mismo peso molecular, y derivadas del mismo precursor, el ácido araquidónico. Cuanto mayor es el daño tisular ya sea por isquemia o toxicidad mayor es la producción de TxB2 y de PGF1-alfa. Esto indica, que el daño tisular, consume el ácido araquidónico en forma de TxB2 y PGF1-alfa, probablemente disminuyendo la formación de otros metabolitos.

Se ha observado que el aumento en la concentración de TxB2 está ligado con el rechazo inmunológico del páncreas, por lo que se considera un marcador temprano de rechazo. Aquí se ha visto que tanto la intoxicación aguda por CyA, como la preservación prolongada del páncreas aumenta los niveles de TxB2, por lo tanto podría ser un indicio de rechazo inmunológico de dicho órgano.

El trasplante pancreático es una técnica derivada de arduas investigaciones científicas con el objetivo de dar una alternativa terapéutica más a los pacientes con diabetes insulino dependiente. Este trabajo está encaminado a aportar y reafirmar conocimientos que ayuden a obtener mejores resultados en dichos trasplantes, principalmente en México, donde la investigación y aplicación de estos procedimientos es incipiente.

CONCLUSIONES

Podemos concluir que:

1. El tiempo de isquemia fría afecta de manera significativa la secreción de insulina, al menos de manera transitoria.
2. La intoxicación aguda por CyA no afecta la capacidad del páncreas para secretar insulina.
3. A mayor daño en los tejidos pancreáticos por isquemia y toxicidad por CyA, mayor es la producción de TxB2.
4. Existe un incremento paralelo en la producción de TXA y PGI en el páncreas preservado.
5. El tiempo de preservación del páncreas debe limitarse al mínimo indispensable, y, la CyA debe administrarse con un enfoque farmacocinético estricto, para evitar al máximo la posibilidad de toxicidad aguda en el postrasplante inmediato.

REFERENCIAS

- 1.- Sutherland DER. International human pancreas and islet transplant registry. *Transplant. Proc.* 12: 229-36, 1980
- 2.- Sutherland DER. Report of international human pancreas and islet transplantation registry cases through 1981. *Diabetes* 31: 112-16, 1982
- 3.- Sutherland DER. The current status of pancreas and islet transplantation: registry statistics. *Transplant. Proc.* 15: 1303-307, 1983
- 4.- Sutherland DER, Kendall D. Clinical pancreas and islet transplant registry report. *Transplant Proc.* 17: 307-11, 1985
- 5.- Sutherland DER, Moudry KC. Pancreas transplantation registry report. *Transplant. Proc.* 21: 2759-762, 1989
- 6.- Sutherland DER, Moudry KC, Fryd DS. Results of pancreas transplant registry. *Diabetes* 38: 46-54, 1989
- 7.- Sutherland DER, Moudry KC. International pancreas transplantation analysis. *Transplant Proc.* 22: 571-74, 1990
- 8.- Collins GM. Kidney preservation for transplantation initial perfusion and 30 hours' ice storage. *Lancet* 2: 1219-222, 1969
- 9.- Belzar FO. 24-hours and 72- hours preservation of canine kidneys. *Lancet* 2: 536-39, 1967
- 10.- Sacks SA, Petritsh PH, Kaufman JJ. Canine kidney preservation using a new perfusate. *Lancet* 1: 1024-28, 1973
- 11.- Ross H, Marshall VC, Escott MC. 72-hr canine kidney preservation without continuous perfusion. *Transplantation* 21: 498-501, 1976
- 12.- Dafoe DC, Darrel AC, Macks WH. Detrimental effects of four hour of cold storage on porcine pancreaticoduodenal transplantation. *Surgery* 90: 170-79, 1986
- 13.- Amiel J, Peraldi D, Bernard JL. Successful pancreatic allograft in dogs after 24-hour cold ischemia. *Transplant. Proc.* 116: 126-27, 1984
- 14.- Westbroek DC, Gruyl J, Dijkhuis CM. Twenty-four-hour hypothermic preservation perfusion and storage of the duct-ligated canine pancreas with transplantation. *Transplant. Proc.* 6: 319-22, 1974
- 15.- Toledo-Pereyra, Chee M, Condie RM, Najarian JJ. Forty-eight hour hypothermic storage of whole canine pancreas. *Cryobiology* 16: 221, 1976
- 16.- Florack G, Sutherland DER, Heil JB. Long-term preservation of segmental pancreas autografts. *Surgery* 92: 260-69, 1982

- 17.- Florack G, Sutherland DER, Dunning M, Zweber B, Najarian JS. Function of segmental Pancreas Grafts subjected to warm Ischemia prior to Hypothermic Preservation. *Transplant. Proc.* 16: , 1984
- 18.- Toledo-Pereyra LH, Schneider A, Bock G, McKenzie G. Pancreas preservation with TP-IV: a hyperosmolar colloid solution. *Cryobiology* 22: 40, 1985
- 19.- Wahlberg JA, Love RA, Londegard L, Southard JH, Belzer FO. 72-hour preservation of the canine pancreas. *Transplantation* 42: 58, 1987
- 20.- Idezuki Y, Feemster JA, Dietzman RH, Lillehei PC. Experimental pancreaticoduodenal preservation and transplantation. *Surg. Gynecol. Obstet.* 126:1002, 1968
- 21.- Kawamura T, Kurada Y, Susuki Y, Fujiwara H, Fujino Y, Yamamoto K, Saitoh Y. Seventy-two-hour preservation of the canine pancreas by the two-layer (Eurocollins' solution/Perfluorochemical) cold storage method. *Transplantation* 47:776-78, 1989
- 22.- Abouna GM, Sutherland DER, Florack G, Najarian JS. Function of transplanted human pancreatic allografts after preservation in cold storage for 6 to 26 hours. *Transplantation* 43: 630-36, 1987
- 23.- Abouna GM, Heil JE, Sutherland DER, Najarian JS. Factor necessary for successful 48 hour preservation of pancreas grafts. *Transplantation* 45: 270-74, 1988
- 24.- Belzer FO, Southard JH. Principles of solid-organ preservation by cold storage. *Transplantation* 45: 673-76, 1988
- 25.- Ploeg RJ, Goossens D, McAnulty JF, Southard JH, Belzer FO. Successful 72-hour cold storage of dog kidneys with UW solution. *Transplantation* 46:191-96, 1988
- 26.- Moen J, Glaesson K, Piennar H, Lindell S, Ploeg RJ, McAnulty JF, Southard JH, Belzer FO. Preservation of dog Liver, kidney and Pancreas using the Belzer-UW Solution with a high sodium and low potassium content. *Transplantation* 47:940-45, 1989
- 27.- Martin D, FRACS, FRCS, Scott DF, Folker O, Belzer FO. Primary cause of unsuccessful liver and heart preservation. *Ann. Surg.* 173: 11-17, 1972
- 28.- Downes G, Hoffman R, Huang J, Belzer FO. Mechanism of action of washout solutions for kidneys preservation. *Transplantation* 16: 46-53, 1973
- 29.- Parks DA, Bulkley GB, Granger DN. Role of oxygen free radicals in shock, ischemia and organ preservation. *Surgery* 94:428-32, 1983
- 30.- Winchell RJ, Halasz NA. Lack and effect of oxygen-radical scavenging systems in the preserved reperfused rabbit kidney. *Transplantation* 48: 393, 1989
- 31.- Holloway CMB, Harvey PRC, Mullen JBM, Stransberg SM. Evidence that cold preservation-induced microcirculatory injury in liver allografts is not mediated by oxygen-free radicals or cell swelling in the rat. *Transplantation* 48: 179, 1989

- 32.- Hess WJ, Sutherland DER, Simmons RL, Najarian JS. Intra-abdominal infection in pancreas transplant recipients. *Ann. Surg.* 203: 153-62, 1989
- 33.- Foegh ML, Alijani ME, Helfrich GB, Ramwell RW. Eicosanoid and organs. *Ann. Clin. Res.* 16: 318, 1986
- 34.- Foegh ML, Alijano ME, Helfrich GB, Ramwell RW. *Transplant. Proc.* 18:20, 1986
- 35.- Bunting S, Moncada S, Vane JR. The Prostacyclin-thromboxane A2 balance: Pathophysiological and therapeutic implications. *Brit. Med. Bull.* 39: 271-76, 1983
- 36.- Kin S, Tamuro K, Nagami H, Nakase A. Effect of preservation on blood flow and production of prostacyclin and thromboxane A2 in canine segmental pancreatic autografts. *Transplant. Proc.* 23: 1651-53, 1991
- 37.- Odor MA, Chávez PMT, Franco BR, López MRM, Fernández ZM, Chávez-Peón MF, de la Rosa LC. In vivo thromboxane production by different organs in the rat: Its implication in organ transplant failure. *Transplant. Proc.* 19: 131-36, 1987
- 38.- Odor MA, López RA, Varela G, Ponce J, Luque E, Chavira ES, Larriva J. Increased thromboxane production by the pancreas after 24-hour preservation in UW-1 solution. *Transplant. Proc.* 23: 1643-44, 1991
- 39.- Hotter G, Leon OS, Rosello-Catafau J, López-Boado MA, Parellado PP, Henriques RD, Fernández CL, Gelpi E. Tissue prostanoid release phospholipase A2 activity and lipid peroxidation in pancreas transplantation. *Transplantation* 51:987-90, 1991
- 40.- Hotter G, Carafau J, Bulbena O, Goroez G, Colomer J Pi F, Fernández CL, Gelpi E. Prostaglandin E2 and thromboxane B2 levels in rats subjected to pancreas transplantation. *Prostaglandins* 39: 53, 1991
- 41.- Fernández CL, Colomer J, Targarona EM, Pi F, Sáenz A, Casas A, Hotter G, Gómez G, Roselló J, Puig-Parellada P, Vicens A. The role of oxygen free radicals in preservation injury in pancreas transplantation. *Transplant. Proc.* 21: 1381-83, 1989
- 42.- Wells SL, Shepro D, Hechtman HB. Eicosanoid of stress fibers in cultures bovine endothelial cells. *Inflammation* 9: 439, 1985
- 43.- Lefer AM, Ogletree ML, Smith JB, Silver MJ, Nicolaou KC, Barnette WE, Gasic GP. Prostacyclin: A potentially valuable agent for preserving myocardial tissue in acute myocardial ischemia. *Science* 200: 52-54, 1978
- 44.- Araki H, Lefer AM. Cytoprotective actions of prostacyclin during hypoxia in the isolated perfused cat liver. *Am. J. Physiol.* 238: 176-81, 1980
- 45.- Klausner JM, Paterson IS, Kobzik L, Rodzen C, Valeri CR, Shepro D, Hechtman HB. Vasodilating prostaglandins attenuate ischemic renal injury only if thromboxane is inhibited. *Ann. Surg.* 209: 219-24, 1989

- 46.- Lelcuk S, Alexander F, Kobzink L, Valeri CR, Shepro D Hechtman HB. Prostacilin and thromboxane A2 moderate postischemic renal failure. *Surgery* 98: 207-12, 1985
- 47.- Odor MA, López MRM, Larriva SJ, López GCM, Rodríguez SLC, Luque LE, Campos BL, Belkind GJ, Chavira ES, de la Rosa LC, Chávez Peón MF. Urinary thromboxane B2 as an indicator of pancreatic allograft rejection in nonimmunosuppressed dogs. *Transplant. Proc.* 21:3646-49, 1989
- 48.- Odor MA, López MRM, Luque LE, Chavira ES, Sotres VA, Larriva SJ, de la Rosa LC, Chávez Peón MF. Urinary amilase, urinary insulin or urinary thromboxane: Which is the best predictor of pancreatic allograft rejection in the dog?. *Transplant. Proc.* 22: 709-11, 1990
- 49.- Santillan DP, Odor MA, Jasso VR, Selman M, Gaxiola M, López MRM, Chavira ES, de la Rosa LC, Villalba CJ. Urinary thromboxane B2 as an indicator of acute rejection in lung allotransplantation. *Transplantation* 45: 852-56, 1988
- 50.- Santillan DP, Odor MA, Villalba CJ. *Transplant. Proc.* 21: 3650, 1989
- 51.- Wright FH, Wright C, Ames SA, Smith JL, Corry RJ. Pancreatic allograft thrombosis: Donor and retrieval factors and early postperfusion graft function. *Tranplant. Proc.* 22: 439-41, 1990
- 52.- Moncada S, Vane JR. Pharmacology and endogenous roles of prostaglandin endoperoxides, thromboxane A2 and prostacyclin. *Pharmacol. Rev.* 30: 293, 1978
- 53.- Fuller BJ, Gower JO, Green CJ. Free radical damage and organ preservation fact or fiction?. A review of the interrelationship between oxidative stress and physiological ion disbalance. *Cryobiology* 25: 377, 1988
- 54.- Duarte R. Cyclosporine: renal effects and prostacyclin. *Ann Inter Med* 102: 420, 1985.
- 55.- Cohen DJ, Loertacher R, Rubin MF, Tillney NL, Carpenter CB, Strom TB. Cyclosporine: a new immunosuppressive agent for organ transplantation. *Ann. Inter. Med.* 101: 667, 1984
- 56.- Kahan BD, Van Buren CT, Flechner SM. Clinical and experimental studies with cyclosporine in renal transplantation. *Surgery* 97: 125, 1985
- 57.- Wenger R. Synthesis of cyclosporine and analogues: structure, activity, relationships of new cyclosporine derivates. *Transplant. Proc.* 15: 2230-41, 1983
- 58.- Petric R, Freeman D, Wallace C, McDonald J, Stiller C, Keown P. Effect of cyclosporine on urinary prostanoid excretion, renal blood flow and glomerulotubular function. *Transplantation* 45: 883-89, 1988
- 59.- Traeger J, Dubernaïd JM, Pozza G. Influence of immuno suppressive therapy on the endocrine function of segmental pancreatic allografts. *Transplant. Proc.* 15: 1326, 1983

- 60.- Schilfgaard R, Van der Burg PM, Van Suylichem TR, Frölich M, Gooszen HG, Moolenaar AJ. Interference by cyclosporine with the endocrine function of the canine pancreas. *Transplantation* 44: 13-16, 1987
- 61.- Coffman TM, Carr RD, Yarger WE, Klotman PE. Evidence that renal prostaglandin and thromboxane production is stimulated in chronic cyclosporine nephrotoxicity. *Transplantation* 43: 282-85, 1987
- 62.- Kahan BD. Cyclosporine Nephrotoxicity: Pathogenesis, Prophylaxis, therapy and Prognosis. *Am. J. Kidney Dis.* 8: 323-31, 1986
- 63.- Weir MR, Klassen DK, Shen DK, Sullivan D, Buddenmeyer EU, Handwerger BS. Acute effects of intravenous ciclosporine on blood pressure renal hemodynamics and urine prostaglandin production of healthy humans. *Transplantation* 49: 41-47, 1990
- 64.- Otsu I, Kirano N, Taminako T, Fujiya H, Nozawa. Cyclosporine A toxicity for vascularized pancreas transplantation in rat. *Transplant. Proc.* 19: 1252-56, 1987
- 65.- Hahn HJ, Loube F, Lucke S, Klötting I, Koltner KD, Warzock. Toxic effects of cyclosporine on the endocrine pancreas of wistar rats. *Transplantation* 41: 44-47, 1986
- 66.- Engfeldt P, Tyldén G, Gunnarsson R, Ostman J, Groth CG. Impaired glucose tolerance with cyclosporine. *Tranplant Proc.* 18: 65-66, 1986
- 67.- Dresner LS, Andersen DK, Kahng KU, Munshi ID, Walt RB. Effects of cyclosporine on glucose metabolism. *Surgery* 163: 70, 1989
- 68.- Garvin PJ, Niehoff N, Staggenborg J. Cyclosporine's effect on canine pancreatic endocrine function. *Transplantation* 45: 1027-31, 1988
- 69.- Stöckmann F, Fehmann HC, Cöke B, Slegel EB, Creutzfeldt W. Impairment of stimulated insulin release from the isolated perfused cat pancreas by cyclosporine pretreatment. *Transplantation* 48: 381-85, 1989
- 70.- Yale JF, Roy RD, Grose M, Seemayer TA, Murphy GF, Marliss EB. Effects of cyclosporine on glucose tolerance in the rat. *Diabetes* 34:1309-13, 1985
- 71.- Sutherland DER, Goetz FC, Najarian JS. *Transplant. Proc.* 19: 63, 1987

PROGRAMAS DE COMPUTACION

1. **Microsoft Excel**, Versión 4.0
Microsoft Co.
Redmont WA, USA.
Empleado para la captura de Datos.
2. **Pharm/PC**, Versión 4.2
MicroComputer Specialists
Philadelphia, PA, USA.
Empleado para calcular las A.B.C.
3. **Sigma Stat**, Versión 1.0
Jandel Scientific Co.
San Rafael, CA, USA.
Empleado para la estadística general y pruebas de T.
4. **B.M.D.P.**, Versión PC/90
Biomedical Data Procesing (BMDP)
Los Angeles, CA, USA.
Empleado para realizar los ANOVAs de una vía y de mediciones repetidas.
5. **Sigma Plot**, Versión 1.02
Jandel Scientific Co.
San Rafael, CA, USA.
Empleado para la elaboración de las gráficas
6. **Canvas**, Versión 3.0
Deneva Software.
Miami, FL, USA.
Empleado para producir el esquema de la perfusión del páncreas.
7. **Microsoft Word for Windows**, Versión 6.0
Microsoft Co.
Redmont, WA, USA.
Empleado para la producción del manuscrito.
8. **Aldus PageMaker**, Versión 5.0a
Aldus Co.
Seattle, WA, USA.
Empleado para la composición de páginas y elaboración de tablas.