

80  
275



# UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE CIENCIAS

RECEIVED  
FACULTAD DE CIENCIAS  
MAY 17 1979  
LIBRARY

USO DE LA DEXAMETASONA PARA REDUCIR LA NEFROTOXICIDAD INDUCIDA POR CICLOSPORINA



**T E S I S**  
QUE PRESENTA:  
**ALBERTO LUIS MONJARDIN HERRERA**  
PARA OBTENER EL TITULO DE:  
**B I O L O G O**



MEXICO, D. F.

1999



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.

Este proyecto se realizó en el Departamento de Nefrología del Instituto Nacional de Cardiología "Ignacio Chávez", bajo la dirección de la Dra. Norma Araceli Bobadilla Sandoval.



UNIVERSIDAD NACIONAL  
AUTÓNOMA DE  
MÉXICO

**MAT. MARGARITA ELVIRA CHÁVEZ CANO**  
Jefa de la División de Estudios Profesionales de la  
Facultad de Ciencias  
Presente

Comunicamos a usted que hemos revisado el trabajo de Tesis:

" USO DE LA DEXAMETASONA PARA REDUCIR LA NEFROTOXICIDAD INDUCIDA  
POR CICLOSPORINA "

realizado por **Alberto Luis Monjardín Herrera**

con número de cuenta 9354950-7 , pasante de la carrera de **Biología**

Dicho trabajo cuenta con nuestro voto aprobatorio.

Atentamente

Director de Tesis **Dra. Norma Araceli Bobadilla Sandoval**  
Propietario **Dra. María Teresa Benítez Rodríguez**

Propietario **Dra. Margarita Victoria García Garduño**

Propietario **Dr. José Pedraza Chaverri**

Suplente M. en C. **Enrique Moreno Saenz**

Suplente

*Edna María Suárez Díaz*

**Consejo Departamental de Biología**

**Dra. Edna María Suárez Díaz**  
Coordinadora de licenciatura

Nos envanecemos con razón de nuestros maravillosos inventos, de nuestros descubrimientos de inimaginable trascendencia; nos estamos encarando con el universo en todas sus sombras; perseguimos el misterio de todas las cosas ... pedimos a la ciencia la última palabra de lo real, y nos contesta y nos contestará siempre con la penúltima palabra, dejando entre ella y la verdad absoluta que pensamos vislumbrar, toda la inmensidad de lo relativo.

Justo Sierra

## DEDICATORIAS

A Dios..... a quien si no.

A ustedes dos que forman parte de cada una de mis células..... a ti papá y a ti mamá gracias por haberme permitido tomar parte del juego loco de la vida..... los amo.

A mis hermanas Angela y Anasilvia, las quiero mucho.

A mis tíos Ramón Cordero y Silvia Monjardín, mi más sincero y eterno agradecimiento por el apoyo y cariño invaluable que recibí durante todo este tiempo de mi carrera profesional.

A ti.....porque viajamos juntos al lugar más lejano y recóndito de nuestro ser y todavía no hemos regresado..... Acuérdate, venus nos vigila.....

Allá donde estés, en un paraíso maravilloso, te dedico estás páginas:

Abuelo Samuel, por las mil anécdotas y experiencias que me contaste y los ratos que convidamos juntos y que con tu ejemplo me enseñaste tantas cosas....

Abuelo Manuel y abuela Angela, porque sin habernos conocido en este tiempo y espacio, los quiero por su ejemplo.

Tía Lenchita, porque con tu sencillez y tu vida llena de amor me has mostrado qué es la verdadera fidelidad y amor a nuestros semejantes. Eres grande por eso.

## AGRADECIMIENTOS

**A la Dra. Norma A. Bobadilla Sandoval:**

Mi más profundo agradecimiento por su apoyo y dedicación constante y por haberme enseñado con su ejemplo, que la tenacidad y la disciplina representan la clave del éxito.

**MUCHAS GRACIAS TAMBIÉN:**

Al jurado y revisores de mi tesis de licenciatura quienes me dedicaron parte de su valioso tiempo: **Dra. María Teresa Benítez Rodríguez, Dra. Margarita V. García Garduño, Dra. Norma A. Bobadilla Sandoval, Dr. José Pedraza Chaverri y M. en C. Enrique Moreno Saenz.**

A todos los integrantes del Departamento de Nefrología del Instituto Nacional de Cardiología, en especial a la **Dra. Edilia Tapia** por su valiosa colaboración en los trabajos de micropunción renal; a la **Biol. Gabriela Sánchez Lozada** por sus atinados comentarios que enriquecieron el presente trabajo y a la **Q.B. Fabiola Jiménez** por su participación de gran valía y por su amistad.

Al personal del Departamento de Nefrología del Instituto Nacional de Cardiología, particularmente a la **Sra. Rocío García** y a la **Sra. Silvia Salgado** por la amistad que me brindaron.

A la **UNAM**, por ser la fuente atesorable de donde adquirí los conocimientos que forjaron mi formación académica y profesional.

# INDICE

	Página
<b>I. RESUMEN</b>	VII
<b>II. GLOSARIO</b>	VIII
<b>III. INTRODUCCIÓN</b>	1
<b>CICLOSPORINA</b>	1
a. Nefrotoxicidad	3
Aguda	3
Crónica	4
b. Vasoconstricción Renal Inducida por CsA	7
<b>GLUCOCORTICOIDES</b>	11
a. Biosíntesis, Transformación, Degradación	13
b. Mecanismo de Acción	15
c. Agonistas Sintéticos	17
<b>IV. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA</b>	22
<b>V. HIPÓTESIS</b>	23
<b>VI. OBJETIVO</b>	23
<b>VII. DESARROLLO EXPERIMENTAL</b>	24
a. Determinación de la Hemodinámica Glomerular	24
b. Análisis Estadístico	27
<b>VIII. RESULTADOS</b>	28
<b>IX. DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES</b>	34
<b>X. PERSPECTIVAS</b>	38
<b>XI. BIBLIOGRAFÍA</b>	39

## RESUMEN

La ciclosporina (CsA) es un agente inmunosupresor que ha mejorado la supervivencia de los pacientes trasplantados. Sin embargo, su administración se acompaña de efectos secundarios indeseables entre los que destaca, por su importancia clínica, la nefrotoxicidad, la cual se caracteriza por vasoconstricción renal desde etapas tempranas al tratamiento con este fármaco. El mecanismo por el cual la ciclosporina produce vasoconstricción renal no se ha establecido claramente; no obstante, se ha sugerido que sea causada por el desequilibrio en la liberación de factores vasoactivos. Así mismo, se han probado diversas maniobras con el fin de reducir la nefrotoxicidad inducida por CsA, sin embargo, los resultados han sido poco satisfactorios.

Desde hace algunos años se conoce que los glucocorticoides producen vasodilatación renal, sin embargo, no se ha determinado el mediador responsable de esta respuesta vasodilatadora.

El propósito del presente trabajo fue investigar si la administración crónica de dexametasona (Dex) previene la vasoconstricción renal inducida por ciclosporina.

Para lo cual se evaluó la hemodinámica glomerular mediante técnicas de micropunción renal en los siguientes grupos de 8 ratas cada uno: I. Veh (0.1 ml de aceite de oliva); II. CsA (30 mg/kg); III. Veh+Dex (4 mg/kg); IV. CsA+Dex.

En el presente estudio encontramos que la CsA produjo la vasoconstricción renal característica y este efecto repercutió sobre la función renal.

La administración de dexametasona produjo vasodilatación renal en los animales controles.

En las ratas tratadas con CsA, la administración crónica de dexametasona revirtió la vasoconstricción renal e indujo la normalización de la hemodinámica glomerular.

El efecto protector de la dexametasona sobre la vasoconstricción inducida por ciclosporina puede llegar a tener una gran relevancia a nivel clínico en aquellos pacientes que reciben trasplante de órganos o con enfermedades autoinmunes. Sin embargo, se requieren más estudios para determinar el mecanismo por el cual la dexametasona produce vasodilatación renal, lo cual será motivo de futuros trabajos.

# INTRODUCCIÓN

## CICLOSPORINA

En los primeros años en que se realizaron trasplantes de órganos, los tratamientos utilizados para obtener efectos inmunosupresores como método terapéutico fueron totalmente empíricos, éstos se modificaron considerablemente en el momento de la introducción del régimen de inmunosupresión a base de azatioprina y corticoesteroides, esquema que fue el más utilizado durante los primeros 25 años en los trasplantes renales (1). Sin embargo, durante este tiempo los resultados de la sobrevida del trasplante permanecieron relativamente estáticos hasta la introducción de la ciclosporina A (CsA), en el año de 1974 (2), como potente agente inmunosupresor.

La CsA es un endecapéptido neutro, cíclico altamente lipofílico obtenido de la fermentación del hongo *Tolypocladium polysporum*, cuya estructura fue inicialmente descrita por Regger y cols. (3), con un peso molecular de 1,203 Da. Diez de los 11 aminoácidos que la conforman presentan la configuración "L" característica de las proteínas, la excepción es la D-valina en la posición ocho. Siete de tales aminoácidos se encuentran n-metilados y dentro de las características químicas, vale la pena resaltar su naturaleza alifática. Las modificaciones a la química de la molécula sugieren que el sitio activo de la misma es la región hidrofílica que contiene los aminoácidos 1, 2, 3 y 11 (fig. 1).

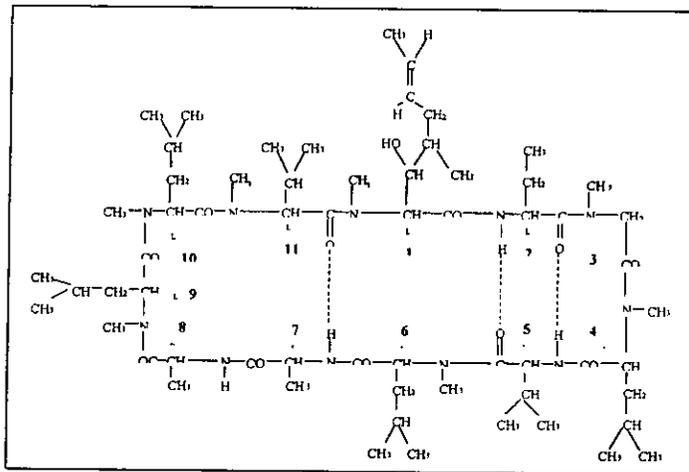


Figura 1. Estructura química de la ciclosporina.

La absorción de la CsA por el tracto gastrointestinal es variable e incompleta, promediando entre un 25% y un 30% (4). Algunos factores tales como la proximidad de la droga con las comidas, el número de dosis por día y la función hepatobiliar del enfermo (5) o incluso la acción de otros medicamentos pueden afectar dicha absorción y por lo tanto, la acción terapéutica del medicamento (3).

Sin embargo, una vez que la CsA llega al árbol vascular, ésta es captada por el hígado, sitio primordial donde es metabolizada a través del citocromo P-450. Se han aislado nueve metabolitos en orina humana y de perro así como en la bilis de rata después de la administración de CsA marcada, mismos que son menos tóxicos y presentan menor actividad inmunosupresora. Las drogas que inducen la actividad del citocromo P-450 aceleran la eliminación de la CsA, como son: la rifampicina, el dilatin y el fenobarbital que disminuyen la concentración de este medicamento en plasma (6). Por otro lado, las sustancias que compiten por el citocromo P-450 disminuyen su eliminación y pueden precipitar la nefrotoxicidad, la hipertensión y otros efectos colaterales, tal es el caso del ketoconazol, el verapamil, la eritromicina (7) y el furosemide a dosis elevadas (8). Además del metabolismo hepático se ha demostrado la presencia de la droga en la circulación enterohepática y sólo el 10% de la misma es eliminada por vía renal (9). El páncreas representa el segundo sitio de captación de la CsA. Estos dos niveles elevados de CsA en los tejidos pueden explicar el aumento en la frecuencia de adenoma hepatobiliar en las ratas o del adenoma de células de los islotes pancreáticos (6). Finalmente, y debido a su naturaleza lipofílica, la grasa es el tercer depósito más importante de CsA en el organismo. Los órganos vascularizados como el corazón, pulmón, cerebro y riñones tienen una concentración tisular media y el músculo y la médula espinal son los que tienen más baja concentración.

La capacidad inmunosupresora de la ciclosporina depende de la formación de un complejo formado por este medicamento y la ciclofilina, su proteína receptora citoplasmática (10). Este complejo se une a la calcineurina inhibiendo su actividad de fosfatasa, lo que a su vez trae consigo el bloqueo de la expresión de proteínas nucleares reguladoras y la activación de los genes que codifican para las interleucinas y sus receptores en las células T (11). De este modo, todo indica que la CsA actúa de manera específica y reversible sobre los linfocitos pues, a nivel celular, inhibe la producción de linfocina e incluso de interleucina-2 (factor de crecimiento de las células T). Por otro lado, parece bloquear el reposo linfocitario durante la fase  $G_0$  o  $G_1$  del ciclo celular e inhibe la liberación, desencadenada por el antígeno, de las linfocinas

por las células T activadas.

Así pues, la CsA es un inmunosupresor eficaz que prolonga la sobrevida de los alotrasplantes de piel, corazón, riñón, páncreas, médula ósea, intestino delgado o pulmón. Diversos estudios sugieren que la CsA inhibe el desarrollo de las reacciones inmunocelulares, incluso en alotrasplantes y en algunas patologías como la hipersensibilidad cutánea retardada, la encefalomiелitis alérgica experimental, la artritis provocada por el adyuvante de Freund, y en procesos en se requiere la inmunosupresión como en la reacción del injerto contra el huésped y la producción de anticuerpos dependientes de las células T.

De esta forma, el uso de CsA ha permitido incrementar notablemente la tasa de sobrevida a corto plazo de los pacientes trasplantados, la cual oscila entre el 85% y 90% anual para el caso del trasplante de riñón a nivel mundial (12), además de que ha sido utilizada con beneficios considerables en el tratamiento de enfermedades autoinmunes. No obstante la utilidad benéfica de este medicamento, su administración en la práctica clínica se encuentra limitada debido a los efectos secundarios que produce, de los cuales destacan la hepatotoxicidad, la predisposición a la hipertensión arterial y principalmente la nefrotoxicidad.

## **NEFROTOXICIDAD**

La nefrotoxicidad asociada a la CsA se caracteriza por una disminución en la función renal que puede ser reversible y no progresiva en etapas tempranas de la terapia al disminuir o suspender la dosis (13-14). En humanos, esta disfunción renal aguda se debe principalmente a una vasoconstricción renal intensa. En periodos prolongados de tratamiento, los efectos deletéreos se traducen en daño renal crónico progresivo comúnmente irreversible, cuya característica principal es la presencia de fibrosis intersticial (14).

## **NEFROTOXICIDAD AGUDA**

Los efectos nefrotóxicos de la CsA han sido observados tanto en riñones nativos, como trasplantados desde las primeras prácticas terapéuticas con este medicamento. Es decir, se han reportado casos clínicos de disfunción renal por esta vía no sólo en trasplantes de órganos sólidos y de médula ósea, sino también en el tratamiento a la poliartritis o a la afección oftálmica inflamatoria (15-21). Posteriormente, se hizo evidente que las alteraciones

funcionales del riñón en las primeras etapas eran reversibles.

Hoy en día se asume que, en efecto, la nefropatía aguda inducida por ciclosporina se caracteriza por ser funcional, dosis dependiente y reversible. Ésta se manifiesta al presentarse vasoconstricción renal. Clínicamente, se observa un incremento en los niveles de creatinina sérica, un aumento en la presión arterial y con frecuencia hipercalemia y acidosis tubular distal moderada (22), aunque también es posible demostrar la presencia de vasoconstricción renal en pacientes en los que la creatinina sérica no se modifica. Estas alteraciones en el tono vascular se han observado también experimentalmente estudiando la hemodinámica glomerular por medio de micropunción renal. La infusión de CsA, en forma aguda y/o, crónica, produce una disminución en la filtración glomerular por nefrona debido a una vasoconstricción pre y posglomerular, ocasionando un decremento en el flujo plasmático por nefrona, QA, así como también se observa una disminución en el coeficiente de ultrafiltración, Kf, y un incremento en las resistencias arteriolas (23-24).

Puesto que la nefrotoxicidad aguda por CsA es reversible y el cuadro sintomático es similar al rechazo agudo, en la práctica clínica del trasplante renal adquiere suma importancia el poder diferenciar entre la disfunción aguda causada por este inmunosupresor y el rechazo agudo. Al respecto, la biopsia del injerto resulta ser una prueba útil para distinguir un caso de otro. En base a ella se puede sugerir que, aunque no hay cambios patológicos específicos inducidos por la administración aguda de CsA, si existe una ausencia de rechazo vascular y celular se trata de un evento nefrotóxico agudo por CsA. Por el contrario, la presencia de rechazo agudo no excluye la toxicidad por esta droga (25).

## **NEFROTOXICIDAD CRÓNICA.**

Si la administración de CsA se prolonga a periodos mayores de tiempo, entre los 6 y 12 meses, los cambios funcionales descritos anteriormente pueden presentarse a la par con cambios estructurales severos comúnmente irreversibles y progresivos independientemente de la dosis suministrada. Estas alteraciones se han identificado a nivel histológico como fibrosis tubulointersticial, atrofia tubular y arteriopatía aferente (26). Tales anomalías comienzan en la médula externa y se extienden a los rayos medulares internos, lo cual dificulta el diagnóstico si la biopsia renal es superficial. Clínicamente, esta clase de nefropatía se caracteriza por azotemia

progresiva, proteinuria e hipertensión.

La lesión vascular se caracteriza por arteriopatía ocliterativa con cambios degenerativos en las paredes de la arteriola aferente que presentan hialinización. La microscopía de luz ha revelado que estas lesiones incluyen depósitos de eosinófilos a lo largo de la pared arteriolar, reemplazando a los pericitos y miocitos necróticos y comprometiendo el lumen vascular (25). Otras patologías observadas son la muerte de células musculares lisas, la pérdida de continuidad de la lámina basal y la acumulación de matriz extracelular.

A nivel tubular los cambios son vistos desde etapas nefrotóxicas agudas. Se han reportado alteraciones morfológicas en el túbulo proximal, tales como la presencia de mitocondrias de gran tamaño, vacuolización isométrica producida por el edema del retículo endoplásmico, y aumento en el número de lisosomas, cuando los niveles sanguíneos de CsA rebasan los 1500 - 2000 ng/ml (27-28).

La fibrosis intersticial es otra anomalía renal asociada con la presencia de este medicamento, la cual fue reconocida por primera vez por Klintmalm y cols. (29), cuyos mecanismos responsables no han sido bien establecidos en la actualidad, sin embargo, el decremento en el flujo plasmático renal es un factor esencial que estimula el proceso fibrótico en el intersticio renal que conlleva en casos extremos a esclerosis glomerular y colapso. Los datos sugieren que la isquemia, como resultado de la marcada vasoconstricción renal, estimula la fibrosis de manera notoria, ya que se ha observado en células tubulares de ratón una elevada producción de los componentes de matriz extracelular, tal es el caso de la colágena I y IV, en respuesta a la administración *in vitro* de CsA. Otros estudios han reportado un incremento en la síntesis de colágena tipo III en células mesangiales y fibroblastos renales en el humano, así como un aumento en los niveles de ARNm de procolágena  $\alpha 1$  en la corteza renal de ratas tratadas con este inmunosupresor (30-32). Shihab y cols. (33) al estudiar la expresión de algunos componentes de la matriz extracelular en ratas tratadas crónicamente con CsA durante 28 días y alimentadas con dieta baja en sal, encontraron un incremento en los niveles de ARNm de proteoglicanos como: biglicano y decorina, colágena I, las glicoproteínas tenasina y fibronectina en la médula renal en comparación con la corteza, lo cual coincide con estudios previos (34-35) que demuestran que los primeros cambios en la nefropatía crónica por CsA se observan en la región medular. Weinberg (34) ha sugerido que los

cambios morfológicos más importantes se localizan en el segmento S3 corticomedular del túbulo proximal; así mismo, Willebrand y Harry (35) demostraron depósitos de CsA en las células tubulares cuando se efectuó citología por aspiración.

Las células responsables de la fibrosis no se han identificado completamente; los análisis morfométricos indican que la mayoría de las células en etapa de proliferación se localizan en el intersticio, sin embargo no se ha determinado con precisión si las células responsables de este proceso son células mononucleares inflamatorias; pero lo que sí se sabe es que la estimulación de esta proliferación celular se sitúa particularmente en el túbulo intersticio renal.

El decremento en el flujo plasmático renal, debido a la constricción de la arteriola aferente en la proximidad del glomérulo, no es el único mecanismo que contribuye a la fibrosis. El infiltrado de células mononucleares presente desde las primeras etapas de la nefropatía por CsA se asocia con la regulación de la expresión de osteopontina, un quimiotáctico de los macrófagos, que es una fuente importante de citocinas linfocíticas y de otros agentes inflamatorios como el factor de crecimiento derivado de plaquetas presentes en las paredes arteriolares de ratas tratadas con este medicamento (36). De la misma manera, el factor de crecimiento transformante  $\beta$ , (TGF- $\beta$ ), otra citocina, se encuentra sobre expresado tanto células T humanas como en células yuxttaglomerulares de ratas tratadas con CsA (37-38), el cual está implicado en la fibrosis de numerosas enfermedades crónicas estimulando la síntesis de los componentes de la matriz extracelular como la colágena, la fibronectina y proteoglicanos y bloqueando su degradación al inhibir a las proteasas responsables. De tal forma, el TGF- $\beta$  juega un papel importante en la deposición y acumulación de la matriz extracelular en el modelo de CsA a largo plazo (33).

A pesar de las alteraciones funcionales y estructurales encontradas en la nefropatía crónica asociada al tratamiento con CsA, algunas investigaciones han cuestionado tales afirmaciones. En un estudio llevado a cabo en 21 pacientes con nefrotoxicidad crónica por CsA se observó que la disminución de la dosis de la droga en un 50% o la suspensión de ésta, mejoraba en forma significativa la filtración glomerular; en 5 biopsias de estos pacientes se observó que las lesiones arteriolares desaparecieron y que los cambios vasculares disminuyeron significativamente (39). Por otro lado, estudios retrospectivos realizados en humanos han demostrado que las modificaciones

estructurales no siempre correlacionan con las disfunciones renales. Jacobson *et al.* (40) encontraron que 19 pacientes a quienes se les practicó trasplante renal y recibieron CsA durante 2 años, presentaban una marcada disminución en la tasa de filtración glomerular (TFG) así como un incremento considerable de fibrosis tubulointersticial comparado con riñones normales. A pesar de ello, no hubo correlación entre el grado de disfunción renal y la fibrosis desarrollada. Así mismo, Elzinga *et al.* (41) encontraron que al suspender la CsA a ratas tratadas crónicamente, éstas presentaban un mejoramiento en la TFG, pero la atrofia tubular y la fibrosis intersticial continuaba progresando.

## VASOCONSTRICCIÓN RENAL INDUCIDA POR CsA

La vasoconstricción renal inducida por CsA desencadena cambios funcionales y estructurales importantes que alteran considerablemente la hemodinámica renal y en consecuencia, puede ocasionar la pérdida de la función renal. Los mecanismos responsables que la inducen no han sido completamente dilucidados; sin embargo, se ha atribuido al desequilibrio de sustancias vasorelajantes y contráctiles que regulan el tono vascular a nivel local.

Por otro lado, se presume que otros mediadores como la actividad del sistema nervioso simpático así como la hipovolemia contribuyan a la vasoconstricción renal inducida por CsA. Al respecto, se ha observado que la administración aguda estimula la actividad de los nervios simpáticos a nivel renal y genitofemoral (42) y que el bloqueo  $\alpha$ -adrenérgico al igual que la denervación revierten la vasoconstricción renal y por tanto, restablecen el flujo plasmático renal (22). Se ha visto, por otra parte, tanto en el modelo agudo como crónico de nefrotoxicidad por ciclosporina en ratas, que hay reducción del volumen plasmático y el incremento en la concentración de sal circulante asociado a este fenómeno restablece el flujo plasmático renal y la tasa de filtración glomerular a valores normales (43).

En estudios realizados por Meyer y cols. (44-45) en células de músculo liso y en cultivos de células mesangiales se ha demostrado que la CsA incrementa la permeabilidad celular al  $\text{Ca}^{2+}$ , aumentando la entrada de éste a la célula así como su liberación de los depósitos intracelulares al citoplasma. De esta forma, la elevación de los niveles de calcio en el citosol es una buena razón para explicar la contractilidad tanto de las células musculares lisas como de los pericitos especializados en la proximidad del glomérulo, es decir, de las células mesangiales que regulan el área glomerular.

Esta liberación de  $\text{Ca}^{2+}$  al espacio citoplasmático, mediada por la acción de la fosfolipasa C, además de inducir contracción, estimula a la fosfolipasa  $\text{A}_2$ , enzima esencial en la vía de síntesis de prostaglandinas vasorelajantes. Sin embargo, por un mecanismo no bien conocido, la CsA inhibe la producción basal de prostaglandinas y la estimulada por hormonas vasoconstrictoras (46-47) potenciando así el efecto vasopresor. De esta manera, la CsA tiene efectos combinados, por un lado aumenta el  $\text{Ca}^{2+}$  citosólico y por otro inhibe la liberación compensadora de eicosanoides vasodilatadores (45-46).

Además de ello, se ha observado un incremento en la liberación de factores contráctiles como tromboxano  $\text{A}_2$  (48), endotelina (49) y angiotensina II (50). Al respecto de ésta última, se ha demostrado que la localización medular del receptor tipo I de angiotensina II corresponde al área lesionada en la nefrotoxicidad crónica por CsA (51) estimulando el proceso fibrogénico, el cual disminuye si ese receptor es bloqueado con un antagonista o inhibiendo a la enzima convertidora de angiotensina, (ECA) (52). Así mismo, Tufro y cols. (53) encontraron que la CsA aumenta la expresión de renina en el lecho vascular renal y particularmente a lo largo de la arteriola aferente. Estas observaciones coinciden con estudios previos realizados por Perico y cols. (50), quienes encontraron un aumento en la actividad de renina plasmática durante la administración crónica de CsA.

Por otra parte, se ha demostrado un incremento en la síntesis renal de tromboxano en ratas y humanos tratados crónicamente con CsA y por otro lado, la administración en ratas de un inhibidor selectivo de la sintetasa de este eicosanoide, el UK-38485, restableció parcialmente la tasa de filtración glomerular (TFG) pero no modificó la vasoconstricción renal puesto que el flujo plasmático renal no se modificó, sugiriendo que el tromboxano altera la TFG al reducir el coeficiente de ultrafiltración,  $\text{Kf}$  (48). Estos resultados difieren de la experimentación en el trasplante renal en la que al usar un inhibidor específico de la sintetasa humana de tromboxano (CGS 13080), se observó un incremento tanto del flujo plasmático renal como TFG (54). Estas diferencias indican la participación de otros factores además del tromboxano durante la nefrotoxicidad por CsA.

En efecto, se ha demostrado que la presión arterial y el flujo sanguíneo están regulados de manera importante por el endotelio, estructura que modula el tono vascular al mediar la liberación de sustancias vasorelajantes como la prostaciclina y el óxido nítrico (ON), y vasoconstrictoras como la endotelina.

La endotelina (Et-1) es un vasopresor 10 veces más potente que la angiotensina II y su síntesis es marcadamente mayor en el sistema porta renal en relación a cualquier otro lecho vascular (55). La infusión exógena de endotelina en ratas produce hipertensión sistémica, vasoconstricción renal, disminución del Kf y de la filtración glomerular por nefrona (56), es decir, efectos similares a los producidos por la administración de CsA.

La exposición *in vitro* de células endoteliales humanas con CsA induce la liberación de la endotelina (57). En ratas tratadas a dosis altas con este inmunosupresor, los niveles circulantes de Et-1 se incrementan considerablemente (49). Por el contrario, la infusión intrarenal de anticuerpos anti-endotelina o del antagonista de los receptores a Et-1 restableció la filtración glomerular por nefrona y el flujo plasmático glomerular, sugiriendo que la endotelina es, en parte, responsable de la vasoconstricción observada (51, 60). Por otra parte se ha demostrado que la velocidad de disociación entre la endotelina y su receptor es muy baja e incluso puede ser irreversible, lo que explica el efecto vasoconstrictor tan prolongado a pesar de que los niveles circulantes sean normales (58).

Así entonces, se ha demostrado que la CsA produce alteraciones del endotelio vascular renal y que la administración experimental de este fármaco a dosis que afectan la función renal, incrementa los niveles circulantes de endotelina así como de otros agentes vasoconstrictores mencionados anteriormente. La inhibición de la síntesis de prostaglandinas en este modelo también ha sido observada, por lo que cabría suponer que el efecto relajante del ON contribuya a mantener la homeostasis renal bajo estas condiciones; sin embargo, su participación ha sido poco estudiada.

El ON es sintetizado en las células endoteliales, además de una gran variedad de células, por la sintasa de óxido nítrico (NOS) que oxida el grupo nitrógeno del aminoácido L-arginina para producir este compuesto más L-citrulina. En la actualidad se han identificado 3 isoformas de la NOS, las cuales son productos de 3 genes diferentes localizados en 3 cromosomas distintos (59).

La isoforma neuronal (NOS I) y la endotelial (NOS III) se expresan de manera constitutiva en el organismo y son dependientes de  $Ca^{2+}$ /calmodulina y NADPH, liberando ON en el rango de los nanomoles en respuesta a un receptor por estimulación física; en tanto que la NOS II o inducible se expresa principalmente en macrófagos después de algún estímulo inmunológico o

inflamatorio, es independiente de calcio-calmodulina aunque su actividad se incrementa notablemente en presencia de este complejo, y una vez activada, sintetiza ON en grandes cantidades, en el orden de los picomoles (59).

Debido a su naturaleza liposoluble, el ON difunde rápidamente hasta las células del músculo liso vascular donde tiene una gran afinidad por el grupo hemo de la guanilato ciclasa soluble, la cual genera GMPc a partir de GTP. Esta molécula, a su vez, activa una proteína cinasa que produce fosforilación de las cadenas ligeras de la miosina, dando como resultado la relajación del músculo liso vascular.

Los estudios *in vitro* realizados para evaluar el papel del ON en la nefrotoxicidad por CsA son contradictorios. Algunos autores reportaron que la CsA reduce la producción de este compuesto (60-61), mientras que otros sugieren que la síntesis del mismo se conserva en valores normales pero que éste queda inactivado al interactuar con radicales libres cuya producción se acentúa en presencia de la droga (62). No obstante lo anterior, se han reportado trabajos más recientes de otros laboratorios y del nuestro en los que se establece que al contrario de lo que se suponía, la liberación del ON se encuentra incrementada (63-65).

En células endoteliales de bovino en cultivo, López-Ongil *et al.* (63) observaron que la CsA estimula la producción de ON, lo cual se asoció con un aumento en los niveles del ARNm, de la proteína y en la actividad de NOS III. Por su parte, Bobadilla y cols. (64) encontraron que la administración crónica de CsA produjo las alteraciones características, sin embargo, la excreción de nitratos y nitritos, productos finales del metabolismo del ON, fue similar a los controles. La inhibición de la síntesis del ON acentuó la vasoconstricción y la estimulación con L-arginina produjo vasodilatación renal, siendo ambas respuestas similares a las del grupo control lo que sugiere que la síntesis de ON está conservada durante la nefrotoxicidad por CsA.

En un estudio más reciente encontramos que la inhibición crónica de la síntesis del ON en ratas tratadas con CsA producía mayores alteraciones hemodinámicas y estructurales que en el grupo control, lo cual se asoció con un aumento en los niveles de ARNm de NOS III a nivel cortical (65). Estos resultados sugieren que en la nefrotoxicidad por CsA el ON juega un papel muy importante al contrarrestar la vasoconstricción renal inducida por este fármaco.

Por otro lado, se han realizado algunas maniobras con el fin de reducir la pronunciada vasoconstricción renal inducida en la nefrotoxicidad crónica por este inmunosupresor, entre ellas se puede mencionar el empleo de inhibidores de endotelina y tromboxano así como de sus antagonistas; sin embargo, los resultados han sido poco prometedores.

A su vez, se ha observado que el uso de glucocorticoides incrementa la filtración glomerular al restablecer el flujo plasmático renal. No obstante lo anterior, el empleo de corticoesteroides ha sido poco estudiado como coadyuvante a la terapia en la nefrotoxicidad por CsA. De hecho, sus mecanismos de acción permanecen inciertos.

## GLUCOCORTICOIDES.

Los glucocorticoides son un tipo de hormonas esteroides sintetizadas y secretadas por las zonas fascicular y reticular de la corteza suprarrenal

Los esteroides suprarrenales de origen natural y los obtenidos de forma sintética son derivados del esqueleto carbónico de un hidrocarburo fundamental, el alopregnano (10-13 dimetil, 17-etil, ciclopentano-perhidrofenantreno) y los glucocorticoides específicamente de un derivado de éste, el pregnano, que consta de 21 átomos de carbono (66).

Existen requerimientos bioquímicos estructurales definidos para que una molécula sea clasificada como glucocorticoide. Entre ellos se encuentran: la doble ligadura entre los carbonos 4 y 5, así como la cetona en el carbono 3; el hidroxilo en el carbono 11 y la cadena lateral en el carbono 17, una cetona en el carbono 20 y un alcohol primario en el 21. La presencia de un hidroxilo en el carbono 17 aumenta la actividad pero no es indispensable.

Se admite que hay tres productos con características propias de glucocorticoide secretados normalmente por la corteza suprarrenal: el cortisol, la cortisona y la corticosterona. En el humano, mono, perro y cobayo el principal glucocorticoide es el cortisol, mientras que en la rata, ratón y en los batracios, lo es la corticosterona (67).

Los glucocorticoides difieren de otros esteroides en la gran variedad de órganos que afectan y en la diversidad de respuestas fisiológicas que desencadenan. Lo mismo que otras hormonas, los glucocorticoides solamente

intervienen como modificadores de mecanismos preexistentes en los organismos, por estimulación o inhibición de los mismos y en ciertos casos por mecanismos permisivos que posibilitan la acción de otros factores. Estas hormonas ejercen acciones periféricas: anabólicas y catabólicas y además modulan ciertas funciones del sistema nervioso.

La acción anabólica de los glucocorticoides se ejerce principalmente en el hígado, el riñón y el pulmón. En el hígado estas hormonas estimulan la gluconeogénesis a partir de precursores no glúcidos, principalmente aminoácidos. Promueven la captación hepática de aminoácidos circulantes, la activación de enzimas transaminasas que convierten a estos aminoácidos en  $\alpha$ -cetoácidos precursores de la glucosa, la síntesis de enzimas claves de la gluconeogénesis (piruvato carboxilasa, fosfoenolpiruvato carboxiquinasa, glucosa-6-fosfatasa) y la síntesis de glucógeno y de proteínas plasmáticas.

En el riñón los glucocorticoides también son gluconeogénicos, además de incrementar la filtración glomerular gracias a su efecto vasodilatador bien conocido. En el pulmón la acción anabólica se manifiesta por la aceleración de la maduración del pulmón fetal y de la biosíntesis de fosfolípidos.

Los glucocorticoides también tienen efectos catabólicos ya que aumentan la destrucción de biomoléculas proteicas y/o grasas en las células adiposas, linfoides, conectivas, epiteliales, musculares y óseas, liberando sus constituyentes aminoácidos, glicerol y ácidos grasos en la sangre (67-68).

La acción inhibitoria de la respuesta inmune, inflamatoria y alérgica que poseen los glucocorticoides ha permitido que sean ampliamente utilizados en la clínica como agentes terapéuticos cuando se requiere de esta función.

Como se mencionó anteriormente, los glucocorticoides tienen una acción permisiva, esto significa que es necesaria la presencia de concentraciones fisiológicas de estas hormonas para que ocurran algunos efectos metabólicos mediados por otras hormonas. Por ejemplo, se ha encontrado que hay una estimulación incompleta de la gluconeogénesis por glucagón o epinefrina en el hígado de ratas adrenalectomizadas, la cual es corregida por la administración de glucocorticoides; la movilización de la grasa por la adrenalina requiere la presencia de pequeñas cantidades de cortisol, éste también estimula el tono arteriolar indirectamente por acción permisiva para la noradrenalina (69-70).

Los glucocorticoides son esenciales para el buen funcionamiento del organismo en su respuesta al estrés, ya que actúan sobre el metabolismo de los carbohidratos y conducen a un aumento de sustratos energéticos circulantes a costa de energía almacenada y de procesos anabólicos de mantenimiento. Si bien la falta de glucocorticoides conduce a síntomas de debilidad, mialgia y en algunos casos es letal, un aumento en ellos por procesos anormales impone un alto costo anabólico al organismo. Este puede manifestarse bajo formas de miopatía, diabetes por esteroides, hipertensión, inmunosupresión e inhibición del crecimiento (71).

## **BIOSÍNTESIS, TRANSPORTE Y DEGRADACIÓN.**

Los esteroides adrenales naturales no se depositan en la corteza adrenal sino que son sintetizados a medida que se les necesita. Tal como se ha señalado, los glucocorticoides son sintetizados en la zona fasciculada de la corteza suprarrenal y su producción es estrictamente regulada por la hormona adrenocorticotrófica o corticotrofina (ACTH) que promueve su síntesis a partir del colesterol, el cual es tomado por las células a partir de las lipoproteínas, de la reserva que tienen de colesterol esterificado o bien de la síntesis *de novo* (72).

El primer paso es la producción de un polipéptido hipotalámico específico, el factor liberador de corticotrofina (CRF), que se secreta en el sistema portal hipofisario, el cual estimula la liberación y expresión de ACTH en la hipófisis anterior.

La ACTH estimula la actividad de la adenilatociclasa de las adrenales, aumentando la producción de AMPc a partir del ATP. Este compuesto puede a su vez aumentar la permeabilidad de las membranas al colesterol al activar a la fosforilasa de la célula cortico-suprarrenal. Esta acción es específica, pues la ACTH no activa la fosforilasa de otros tejidos, y la adrenalina, por el contrario, que activa otras fosforilasas, no lo hace a la de las células suprarrenales. Por otro lado, la ACTH también puede aumentar la transferencia del colesterol almacenado en los liposomas de las células adrenales, poniendo a disposición de la biosíntesis de los esteroides mayor cantidad de colesterol libre.

La regulación de la secreción de ACTH está determinada en gran medida por la concentración de cortisol en sangre sobre la producción del CRF a través de una retroalimentación negativa. Cuando las tasas del

glucocorticoide son elevadas o se administra hormona exógena, se frena la actividad del hipotálamo que deja de elaborar el CRF y no se produce, en consecuencia, ACTH, afectando la expresión de los glucocorticoides.

Ya en el interior de la célula, el colesterol es internalizado en la mitocondria donde es desdoblado a pregnenolona por la acción de un complejo enzimático p-450 intramitocondrial conocido como desmolasa. La pregnenolona pasa entonces al interior del retículo endoplásmico donde es convertida en 11-desoxicortisol, el cual, a su vez, es transferido a la mitocondria para ser hidroxilado en la posición 11. El producto final, el cortisol, difunde rápidamente fuera del orgánulo de la célula (73). La figura 2 esquematiza esta serie de reacciones en el interior de la célula adrenal.

Una vez sintetizados y vertidos al torrente sanguíneo, en su mayor proporción los glucocorticoides se unen a una alfaglobulina plasmática sintetizada en el hígado y llamada transcortina o proteína CGB (Corticosteroid Binding Globulin), la cual podría funcionar como acarreador (74). La albúmina plasmática también fija glucocorticoides pero su afinidad es 1,000 veces menor que la transcortina. De esta forma, del 5 - 10% de los glucocorticoides permanece en forma libre (activa) y al parecer éstos son lo que penetran en las células blanco (69). Este mecanismo de combinación proteína-portadora protege a la hormona glucocorticoide de la inactivación rápida en el hígado y puede permitir el almacenamiento de depósitos de la hormona disponibles para su utilización de emergencia.

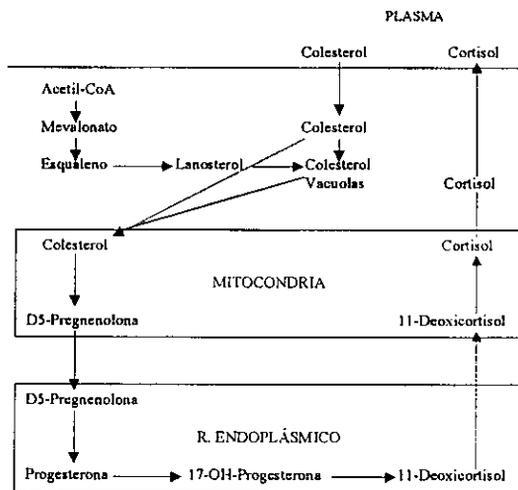


Figura 2. Localización intracelular de las reacciones involucradas en la biosíntesis del cortisol.

Los glucocorticoides son inactivados principalmente en el hígado, por varias vías que incluyen la reducción, hidroxilación, desdoblamiento de la

cadena lateral y esterificación, en donde los productos resultantes del catabolismo son siempre esteroides. La etapa más importante es la reducción enzimática de la doble ligadura 4-5 en el anillo A para formar un derivado dehidroesteroide que se transforma en un derivado tetrahidratado por reducción enzimática del carbonilo 3. Una vez realizadas estas biotransformaciones, los productos se eliminan preferentemente por el riñón y muy poco por vía biliar. El 80% de lo administrado se elimina dentro de las veinticuatro horas posteriores.

### MECANISMO DE ACCIÓN.

El primer paso que lleva finalmente a la hormona glucocorticoide a expresar su acción fisiológica es su entrada a la célula blanco (fig. 3). Anteriormente se había propuesto que los esteroides en virtud a su pequeño tamaño y su naturaleza lipofílica, entraban a la célula por difusión pasiva. Sin embargo, actualmente se ha comprobado la existencia de un transportador

membranal saturable de varias hormonas esteroides en ciertos tipos celulares. Los estudios realizados por Allera y Rao (75) mostraron, al trabajar con vesículas de membrana plasmática de hígado de rata y con una técnica que permite la medición de la cinética de transporte a tiempos muy cortos, que la toma de corticosterona es saturable, reversible, dependiente del tiempo y la temperatura, que disminuye al bajar el volumen vesicular y que es más eficiente a concentraciones fisiológicas de la hormona, lo que comprueba la existencia de un transportador de membrana para glucocorticoides. Por otro lado, los estudios realizados por Todd-Turla y cols. (76) en el riñón de rata, determinaron la distribución del receptor para mineralocorticoides y glucocorticoides a lo largo de la nefrona, siendo el glomérulo, el túbulo proximal y el asa ascendente de Henle, los sitios predominantes donde se

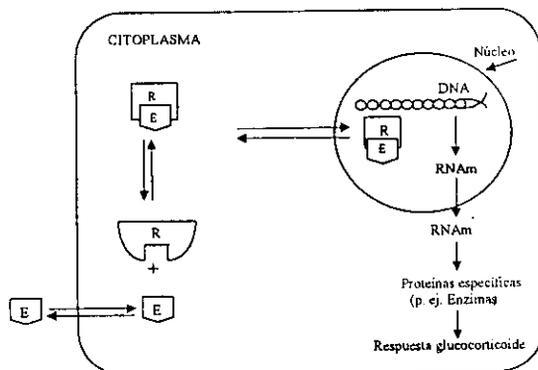


Figura 3. Etapas de la acción de los glucocorticoides. E, esteroide; R, receptor glucocorticoide específico; las distintas formas de R representan diferentes conformaciones de esta proteína.

membrana plasmática de hígado de rata y con una técnica que permite la medición de la cinética de transporte a tiempos muy cortos, que la toma de corticosterona es saturable, reversible, dependiente del tiempo y la temperatura, que disminuye al bajar el volumen vesicular y que es más eficiente a concentraciones fisiológicas de la hormona, lo que comprueba la existencia de un transportador de membrana para glucocorticoides. Por otro lado, los estudios realizados por Todd-Turla y cols. (76) en el riñón de rata, determinaron la distribución del receptor para mineralocorticoides y glucocorticoides a lo largo de la nefrona, siendo el glomérulo, el túbulo proximal y el asa ascendente de Henle, los sitios predominantes donde se

ubica el receptor para glucocorticoides, mientras que la distribución preferente del receptor para mineralocorticoides se encuentra en el tubo colector cortical y de la médula interna. En un estudio realizado en conejos (77), se pudo localizar, a su vez, los sitios de unión de la dexametasona, un análogo sintético, a lo largo de la nefrona, los cuales corresponden a los encontrados por Todd-Turla y cols. (76) para el receptor de glucocorticoides.

Una vez en el interior de la célula, el glucocorticoide se une a una proteína receptora específica y forma el complejo glucocorticoide-receptor (CRG). Tienrungroj *et al.* (78) concluyeron, en sus estudios con receptores de glucocorticoides en hígado de rata, que los grupos sulfidriilo del receptor son absolutamente requeridos para la unión del glucocorticoide, ya que el tratamiento de receptores desocupados con agentes modificadores del grupo sulfidriilo, como el metanotiosulfanato, impiden su unión.

Después de la unión hormona-receptor, el complejo sufre cambios fisicoquímicos y es transformado a un estado que es afín al ADN, a este proceso se le da el nombre de activación. Se puede unir la hormona y el receptor *in vitro* sin que exista una activación; *in vivo* esta unión se cree que es el primer evento que dispara todo el proceso de acción de la hormona (79).

Después de la activación sigue una relocalización del complejo hormona-receptor hacia el núcleo vía un proceso llamado translocación.

Yamamoto *et al.* (80) han purificado un promotor de la translocación (ASTP) en el citosol de hepatocitos de ratas adrenalectomizadas, el cual es estimulado por ATP. Ellos han observado, en ratas adrenalectomizadas, que la actividad del ASTP en el citosol está incrementada y cuando se les administra dexametasona ésta disminuye, al mismo tiempo que aumenta en el núcleo. Por otro lado, los estudios realizados por Kido *et al.* (81) sugieren que la proteína cinasa C podría jugar también un papel esencial en la translocación del CRG al núcleo.

En el núcleo, el complejo hormona-receptor se une a sitios específicos y de alta afinidad en el ADN (Glucocorticoid Response Element) y estimula la transcripción de ciertos ARN mensajeros que codifican la síntesis de proteínas o enzimas específicas. Estas proteínas actúan como mediadores de los efectos biológicos de los esteroides tal como la activación de la gluconeogénesis y del metabolismo de proteínas y lípidos.

## AGONISTAS SINTÉTICOS.

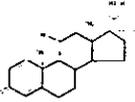
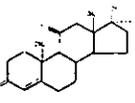
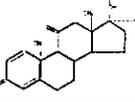
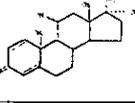
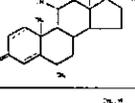
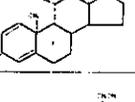
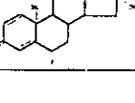
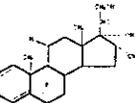
Tal como sucede con muchas otras sustancias que se encuentran en la naturaleza, la actividad de los esteroides adrenocorticales puede incrementarse al modificar su estructura. Los agonistas sintéticos son compuestos que poseen actividad glucocorticoide, la cual en ocasiones se encuentra aumentada por introducción de nuevas funciones químicas. Por ejemplo, la introducción de un nuevo enlace entre los carbonos 1 y 2 del cortisol, aumenta la acción antiinflamatoria y disminuye ligeramente la retención hidrosalina. La prednisona y la prednisolona son los correspondientes derivados de la cortisona y de la hidrocortisona o cortisol. La adición de un grupo metilo en el C-6 incrementa así mismo la acción antiinflamatoria, tal es el caso de la metilprednisolona. La introducción de átomos de halógeno en la molécula, especialmente de flúor en el C-9, C-6 o ambos, aumenta tanto la acción antiinflamatoria como la retención de sodio. Dentro de este grupo podemos incluir a la fluorocortisona y a otros esteroides de uso tópico como la flurandrenolona y la diclorisona. Por último, la incorporación de un radical hidroxilo o metilo en el C-16 disminuye la acción retenedora de sodio sin modificar la acción antiinflamatoria. Este hecho ha permitido disponer de compuestos tales como la triamcinolona, betametasona, parametasona y dexametasona. Las propiedades más importantes de estos agonistas sintéticos se encuentran en la tabla 1.

En resumen, se puede afirmar que con la introducción de una o varias de las modificaciones citadas en la molécula de los compuestos naturales se han obtenido derivados que ejercen poco efecto sobre la reabsorción renal de sodio (acción mineralocorticoide) a la vez que poseen una potente actividad antiinflamatoria.

Su mayor actividad biológica se debe a varias propiedades: 1) Son unidos débilmente por las proteínas plasmáticas y circulan como hormonas libres (activas); 2) Son más estables, la vida media del cortisol se ha estimado de 90 minutos y de 200 para la prednisona, prednisolona, metilprednisolona, triamcinolona dexametasona y algo más para la betametasona, dexametasona y fluorocortisona; 3) tienen mayor afinidad por los receptores citoplasmáticos.

Los glucocorticoides sintéticos son útiles como agentes terapéuticos en una amplia diversidad de enfermedades. Por ejemplo son eficientes para elevar el nivel de glucosa en la sangre en pacientes hipoglucémicos, para suprimir la secreción de ACTH, en el control de ciertos tipos de leucemias y

TABLA I. CARACTERÍSTICAS DE LOS CORTICOESTEROIDES UTILIZADOS POR VIA ORAL

Nombre	Estructura Química	Potencia anti inflamatoria	Dosis equivalentes (mg.)	Retención Na y agua	Vida media plasmática (min.)	Vida media Biológica (hr.)
Cortisol		1	50-100	1	90	8-12
Cortisona		0.8	50-100	0.8	90	8-12
Prednisona		3.5	20-30	0.8	200	18-36
Prednisolona		4.0	20-30	0.8	200	18-36
Metilprednisolona		5.0	20-30	0	200	18-36
Triamcinolona		5.0	10-20	0	200	18-36
Parametasona		10	4-6	0	300	36-54
Betametasona		30	0.6-3	0	300	36-54
Dexametasona		30	.075-3	0	300	36-54

como agentes antiinflamatorios o de inmunosupresión.

Por otra parte, se ha observado que las hormonas corticoesteroides tienen un marcado efecto fisiológico en el riñón. Basta mencionar que los pacientes con síndrome nefrótico, lupus y poliartritis nodosa responden bien a dosis farmacológicas de glucocorticoides. En aquellos a quienes se les practica trasplante renal se utilizan frecuentemente regímenes inmunosupresores que incluyen glucocorticoides y pulsos de esteroides en el tratamiento contra el rechazo agudo (82).

Los mecanismos de acción de los glucocorticoides sobre el riñón han sido poco estudiados. Sin embargo, se ha puesto de manifiesto que su administración aguda o crónica a dosis farmacológicas o fisiológicas en animales tales como perros, ratas y ovejas, así como en el humano, incrementa la filtración glomerular (TFG) al inducir una marcada vasodilatación renal.

Cavallo y cols. (83) demostraron que el aumento de la creatinina sérica observado en ratones con lupus nefrótico es atenuado cuando los ratones son tratados con metilprednisolona; también observaron que los ratones tratados presentaban niveles de proteinuria menores que el grupo no tratado, lo que correlacionó con la preservación de la barrera glomerular. En otro estudio realizado en ratas con daño renal progresivo por la ablación de 5/6 de la masa renal, a las que se les trató con este corticoesteroide, se observó un incremento en la filtración glomerular por nefrona debido a la relajación de los vasos arteriulares pre y posglomerulares lo que produjo un aumento en el flujo sanguíneo renal (84). En perros, el incremento de TFG y del flujo plasmático a dosis farmacológicas de glucocorticoides, también ha sido observado; sin embargo, en esta especie se presenta a la par una caída en la fracción de filtración (85).

Se ha reportado que en la insuficiencia adrenal en animales adrenalectomizados o en pacientes con enfermedad de Addison, se presenta una disminución importante de TFG y del flujo plasmático renal y que el tratamiento con glucocorticoides o la estimulación de su producción endógena restablece estos parámetros a valores normales (84, 86-88). En un estudio realizado en ratas adrenalectomizadas, la administración aguda de dosis farmacológicas elevadas de dexametasona produjo un ligero aumento en la depuración de inulina comparado con las ratas control o con aquellas tratadas a dosis bajas con este esteroide sintético (89). En un modelo de estudio similar, las ratas presentaron un incremento dosis dependiente de TFG en

respuesta a varios glucocorticoides, entre los que destacan la dexametasona y el 9- $\alpha$ -fluorocortisol (90).

Se han propuesto diversos mecanismos para explicar el incremento de TFG inducida por la administración de glucocorticoides, sin embargo la respuesta permanece incierta. Los estudios de micropunción renal en ratas han mostrado que estas hormonas adrenales causan vasodilatación de las arteriolas aferentes y eferentes, generando un aumento en el flujo sanguíneo renal, el cual es el único factor que produce el aumento de TFG (84).

Se ha sugerido que la expansión de volumen plasmático debido a la retención de sodio que causan los glucocorticoides, pueda inducir un incremento de TFG (88); sin embargo, esta explicación es poco probable ya que se ha observado que el aumento de TFG mediado por los glucocorticoides se presenta aún en el caso que el volumen plasmático no se modifique (83). Otra posibilidad que ha sido planteada es que los efectos hemodinámicos que estos compuestos naturales o sintéticos producen, sean secundarios a sus acciones metabólicas; en otras palabras, se sabe que los glucocorticoides elevan los niveles de glucosa y aminoácidos en sangre (91) y que la infusión de éstos últimos induce una vasodilatación y un aumento de TFG *per se* (92-93), por lo cual los efectos de estas hormonas puedan ser secundarios a su acción catabólica, sin embargo, esto no se ha estudiado debidamente.

Una tercera posibilidad explorada es la referente a que los glucocorticoides tenga una acción directa sobre la vasculatura renal al modular la respuesta de los agentes vasoactivos. Se ha observado que la administración crónica de glucocorticoides induce un aumento de la síntesis de prostaglandinas en algunas especies animales; sin embargo su producción no ha sido relacionada con el incremento de TFG inducida por glucocorticoides. Otros estudios han examinado la respuesta vascular a determinados agentes vasoconstrictores como angiotensina II en el tratamiento con glucocorticoides, pero los resultados han sido confusos (86). Así mismo se ha demostrado que los glucocorticoides estimulan la síntesis del factor natriurético auricular (FNA) en ratas y humanos (94-96), el cual ha sido propuesto como el mediador del aumento de la filtración glomerular por glucocorticoides al incrementar la presión capilar glomerular via su efecto vasoconstrictor a nivel de la arteriola eferente. Sin embargo, los estudios de micropunción han mostrado que los cambios hemodinámicos glomerulares que éste produce son diferentes a los que se observan con la administración de glucocorticoides tales como metilprednisolona, la cual genera un aumento en

la filtración glomerular debido al incremento en el flujo plasmático glomerular por vasodilatación aferente y no al correspondiente aumento de la presión intraglomerular generada con la administración del FNA (84). Lo anterior sugiere que es poco probable que el aumento en la filtración glomerular inducida por glucocorticoides se deba a la participación del FNA.

Por otro lado, se ha investigado poco sobre el papel que el óxido nítrico (ON) desempeña en la vasodilatación renal inducida por glucocorticoides. No obstante, se ha mostrado que esta respuesta vasodilatadora a la administración de algunas hormonas adrenocorticales como el cortisol, se ejerce únicamente en el riñón ya que la infusión de esta hormona en otros lechos vasculares tal como las arterias coronarias, mesentéricas e ilíacas, no causan vasorelajación de las mismas (97). Basados en lo anterior, De Mateo y May (98) recientemente investigaron el papel que juega el ON en la vasodilatación renal inducida por la administración de cortisol a ovejas. Ellos encontraron que el incremento en el flujo plasmático con el tratamiento con esta hormona, disminuía significativamente cuando se administraba un inhibidor de la sintasa de ON, sugiriendo que el ON es el principal mediador de la respuesta hemodinámica renal al cortisol. No obstante que el sitio y el mecanismo de interacción entre los glucocorticoides y el ON no se han dilucidado, resulta lógico suponer que esta vasodilatación sea mediada vía una respuesta a nivel genómico a través de la acción que ejerzan los receptores para glucocorticoides sobre el ADN, ya que los análogos sintéticos de estas hormonas inducen una respuesta similar a ese nivel (98-99).

## PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La ciclosporina (CsA) es un agente inmunosupresor ampliamente utilizado en la terapia de trasplantes de órganos, debido a que incrementa considerablemente la supervivencia de los pacientes trasplantados, a la vez que ha sido utilizada con benéficos resultados en el tratamiento de enfermedades autoinmunes. Sin embargo, su administración se encuentra limitada debido a los efectos secundarios que produce, de los cuales destacan la hepatotoxicidad, la predisposición a la hipertensión arterial y, principalmente, la nefrotoxicidad.

La nefrotoxicidad por ciclosporina se caracteriza por vasoconstricción renal predominantemente de la arteriola aferente, asociada a un desequilibrio en la liberación de factores vasoactivos en el endotelio renal, por una parte hay aumento de endotelina, tromboxano y angiotensina II, y por otra, disminución de prostaglandinas vasodilatadoras. Dicha vasoconstricción renal inducida por CsA desencadena cambios funcionales y estructurales importantes que alteran considerablemente la hemodinámica renal y en consecuencia, puede ocasionar la pérdida de la función renal.

Se han realizado diversas maniobras con el fin de reducir la vasoconstricción renal inducida por la administración de ciclosporina. Entre ellas podemos mencionar el empleo de inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina, bloqueadores de los receptores a endotelina e inhibidores del tromboxano; sin embargo, los resultados obtenidos han sido poco satisfactorios (48-50).

Por otra parte, se sabe que los glucocorticoides tienen un efecto vasodilatador renal bien conocido y que su administración incrementa la filtración glomerular por un mecanismo desconocido. Sin embargo, no se ha estudiado el efecto que tienen los glucocorticoides para reducir la nefrotoxicidad por CsA.

## **HIPÓTESIS**

Si la dexametasona produce vasodilatación renal, entonces su administración será capaz de reducir o evitar la vasoconstricción renal inducida por la administración crónica de CsA.

## **OBJETIVO**

Evaluar si la administración crónica de dexametasona puede prevenir la vasoconstricción renal inducida por la administración crónica de ciclosporina.

## **HIPÓTESIS**

Si la dexametasona produce vasodilatación renal, entonces su administración será capaz de reducir o evitar la vasoconstricción renal inducida por la administración crónica de CsA.

## **OBJETIVO**

Evaluar si la administración crónica de dexametasona puede prevenir la vasoconstricción renal inducida por la administración crónica de ciclosporina.

## DESARROLLO EXPERIMENTAL

Se utilizaron 32 ratas Wistar macho con un peso entre 300-350 g. Bajo anestesia general con éter, se realizó uninefrectomía mediante una incisión lumbar derecha y los animales se dejaron recuperar durante 15 días, permitiéndoseles libre acceso a comida y agua.

La figura 4 muestra el protocolo experimental que se utilizó. Las ratas se dividieron en 4 grupos con 8 animales cada uno. El primero recibió vehículo (Veh) (0.1 ml de aceite de oliva, s.c.), el segundo recibió Veh más dexametasona 4 mg/kg s.c. (Veh+Dex), el tercer grupo recibió ciclosporina (CsA) a una dosis de 30 mg/kg s.c. y finalmente, al cuarto grupo se le administró

ciclosporina más dexametasona (CsA+Dex). Los tratamientos correspondientes se administraron diariamente durante un periodo de 7 días, al cabo de los cuales se realizó la hemodinámica

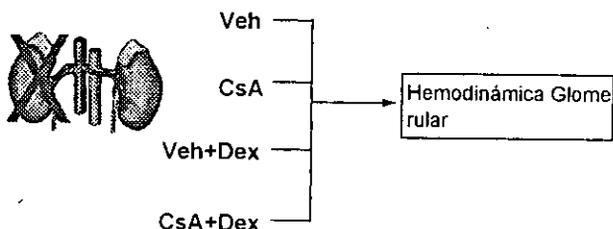


Figura 4. Protocolo experimental.

glomerular a las ratas de cada grupo mediante técnicas de micropunción renal. Los grupos que recibieron vehículo se alimentaron en forma pareada, es decir, la cantidad promedio de alimento que consumieron las ratas tratadas solamente con ciclosporina o con ciclosporina más dexametasona se proporcionó al grupo control correspondiente.

## DETERMINACION DE LA HEMODINAMICA GLOMERULAR

### Estudios de Micropunción Renal

#### Preparación Quirúrgica:

Se estudió la hemodinámica glomerular en el riñón remanente de los cuatro grupos siguientes: Veh, Veh+Dex, CsA, CsA+Dex. Las ratas se anestesiaron con pentobarbital sódico (30 mg/kg de peso corporal i.p.) y se administraron dosis suplementarias en el peritoneo, conforme a

requerimientos. La preparación quirúrgica se realizó de la siguiente manera: se colocó a la rata en una mesa termorregulada en 37°C, se entubó la tráquea con un tubo de polietileno PE-240, y se cateterizaron las venas yugulares y ambas arterias femorales con tubo de polietileno PE-50 y el uretero izquierdo con tubo de polietileno PE-10. Se expuso el riñón a través de una incisión en la línea media, después de diseccionar el tejido adiposo perirrenal se colocó en una cápsula de lucita, conservando su posición fisiológica, sin comprimir el uretero ni el pedículo renal. El espacio entre la cápsula y el riñón se llenó con un elastómero (Xantopren, Bayer) y la superficie del riñón se cubrió con solución tibia de Ringer. El riñón se iluminó con una luz fría transmitida por una fibra óptica; esta luz permite visualizar claramente los túbulos y capilares de la corteza renal con un microscopio estereoscópico (Nikon SMZ-10, Japón). Uno de los catéteres femorales se utilizó para obtener muestras de sangre periódicamente y el otro para monitorear en forma continua la tensión arterial media, TAM, mediante un transductor de presión (modelo P23db, Statham Instruments, Gould Division Inc. Hato Rey, Puerto Rico), conectado a un polígrafo (Grass Model RPS 7C8, Instruments, Quincy, Mass. EUA). Las muestras de sangre se repusieron en forma simultánea con el mismo volumen de sangre obtenida de una rata donadora.

Las ratas se mantuvieron en condiciones de euvolemia mediante la administración intravenosa de plasma isoncótico de rata a dosis de 10 ml/Kg de peso corporal en una hora, seguida de una infusión de polifructosan (Inutest Laevosan-Gesellschaft, Viena) al 25% en solución Ringer por vía intravenosa a razón de 2.2 ml/h, durante todo el experimento. Después de un periodo de equilibrio de 60 min., se inició una recolección de orina de 30 a 40 min. en tubos de plástico eppendorf que contenían aceite mineral y que previamente fueron pesados. El volumen urinario se calculó por la diferencia de pesos entre el tubo con la muestra recolectada y el tubo previamente pesado. Al principio y al final de cada recolección de orina se obtuvieron muestras de sangre. Simultáneamente a la recolección de orina, se obtuvieron muestras por micropunción del líquido tubular y de sangre de la arteriola eferente y también se midió la presión intratubular y del capilar peritubular.

### **Medición de la presión intratubular y del capilar peritubular.**

Para la medición de la presión tubular se utilizó un equipo Servo Null (Servonulling Pressure System model 4A, Instrumentation for Physiology and Medicine Inc. San Diego CA. EUA) conectado a un transductor de presión (modelo P23db, Statham Instruments, Gould Division Inc. Hato Rey, Puerto

Rico), a una bomba de presión y a un polígrafo (Grass Model RPS 7C8, Instruments, Quincy, Mass. EUA) calibrado previamente a presiones entre 0 y 50 mm Hg. El equipo detecta cambios en la conductividad eléctrica dentro de la pipeta de punción, la cual está llena con solución salina 1 M. Al introducir la pipeta en el capilar o en el túbulo ingresa a dicha pipeta solución relativamente hipotónica, disminuyendo la conductividad dentro de la pipeta, lo cual es detectado por el "Servo Null", que activa una bomba y aumenta la presión hasta igualar la presión con la de la cavidad en cuestión, recuperándose la conductividad inicial dentro de la pipeta; el transductor mide la presión que la bomba aplicó al sistema para igualarla a la de la cavidad en estudio, la cual es registrada en el polígrafo.

Para medir la presión intratubular y la presión intracapilar se utilizaron pipetas de vidrio con diámetro de la punta de 5 a 7  $\mu\text{m}$ . Para medir la presión intratubular con bloqueo de flujo (fig. 5), se interrumpió el flujo del líquido tubular mediante una columna de aceite mineral, coloreado con Sudán negro, se inyectó en la luz tubular a través de una pipeta de vidrio con un diámetro de la punta de 9 a 11  $\mu\text{m}$  y se conservó en posición estable por un mínimo de 30 segundos, la pipeta del servo null se colocó en el segmento más proximal del túbulo bloqueado y se registró la presión intratubular necesaria para detener el flujo tubular y la filtración glomerular, esto permite calcular indirectamente la presión dentro del capilar glomerular. Posteriormente se midieron la presión hidrostática tubular a flujo libre y la presión hidrostática en los capilares peritubulares en forma directa.

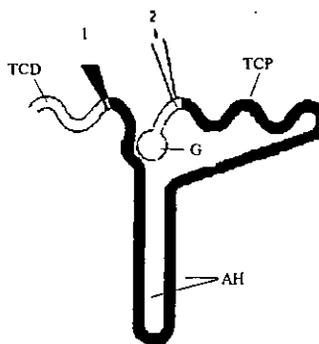


Figura 5. Perfusión del sistema tubular de la nefrona para medir la presión intratubular a flujo detenido. 1. Pipeta para detener el flujo intratubular; 2. Pipeta para medir la presión intratubular; G. glomérulo; TCP. Túbulo contorneado proximal; TCD. Túbulo contorneado distal; AH. Asa de Henle.

### Toma de muestras de micropunción.

Para la obtención de las muestras tubulares se utilizaron pipetas de diámetro en la punta de 9 a 11  $\mu\text{m}$ , llenas con aceite mineral coloreado con Sudán negro, fijas a un adaptador conectado a una jeringa de 20 ml de tal

manera que la jeringa permite aspirar o inyectar a través de la micropipeta. El adaptador con la micropipeta se montó en un manipulador Leitz, que permite realizar movimientos finos a la micropipeta. Con estas pipetas se puncionaron los túbulos proximales en un punto cercano a la emergencia de la arteriola eferente que corresponde a las porciones terminales del túbulo proximal. Para recolectar el líquido tubular se inyectó una pequeña columna de aceite con el objeto de bloquear la luz tubular y permitir el paso libre del líquido tubular al interior de la pipeta. En todos los experimentos se obtuvieron 5 a 6 muestras de líquido tubular de 3 a 4 min. c/u. A continuación, se puncionó con pipetas de 13 a 15  $\mu\text{m}$  la arteriola eferente en su emergencia a la superficie, este sitio puede reconocerse fácilmente por su aspecto en forma de estrella y se obtuvieron muestras de 100 a 200 nl para la determinación de proteínas en el plasma. La concentración de proteínas en la arteriola aferente se midió en las muestras de sangre arterial, obtenidas del catéter de la arteria femoral.

### **ANÁLISIS ESTADÍSTICO.**

Los resultados obtenidos están expresados como el promedio  $\pm$  el error estándar para cada grupo de ratas estudiado. Las comparaciones entre grupos se analizaron con ANOVA de una vía para comparaciones múltiples utilizando la prueba de Student-Neumann-Kuels. Cuando el valor de F alcanzó una  $p < 0.05$ , las diferencias encontradas se consideraron como estadísticamente significativas.

## RESULTADOS

En la figura 6 se representa el peso de los animales a lo largo del estudio. Los círculos claros representan a las ratas que recibieron vehículo. Los círculos oscuros muestran el comportamiento que siguieron las ratas a las que se les administró ciclosporina. A su vez, los cuadros claros representan las ratas tratadas con vehículo más dexametasona y finalmente, los cuadros oscuros ilustran el comportamiento de los animales a los que se les administró ciclosporina y dexametasona.

Como podemos observar, en los primeros cuatro días de tratamiento no se presentaron cambios significativos en el peso de los animales estudiados cuando se realizó el análisis de ANOVA. Sin embargo, al quinto día se aprecia una diferencia estadísticamente significativa en el grupo tratado con CsA + Dex con respecto a los animales que sólo recibieron ciclosporina. Al sexto día, los animales que recibieron vehículo más dexametasona mostraron un peso significativamente menor que el grupo con CsA. En contraste, la asociación de ciclosporina más dexametasona produjo una caída mayor en el peso cuando se comparó contra el grupo de vehículo y el de CsA.

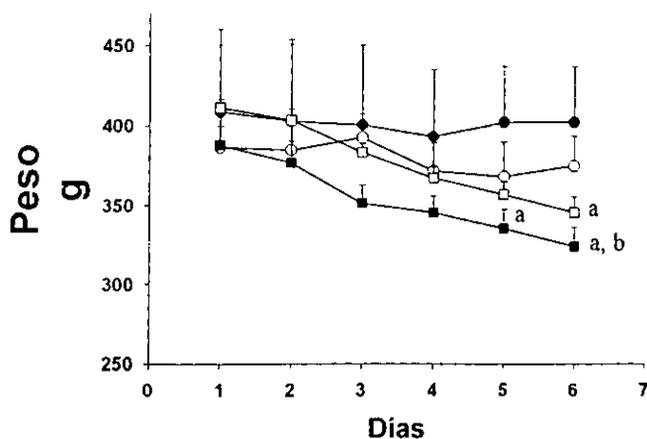


Figura 6. Efecto de la administración de ciclosporina y dexametasona sobre el peso de los grupos estudiados (○ Veh; ● CsA; □ Veh+Dex; ■ CsA+Dex). a =  $p < 0.05$  vs. Veh; b =  $p < 0.05$  vs. CsA.

TABLA 2. DATOS QUE MUESTRAN EL PROMEDIO DEL PESO CORPORAL, PESO RENAL Y HEMATOCRITO DE LOS ESPECÍMENES DE LOS GRUPOS ESTUDIADOS

	PESO - RATA gr	PESO-RINÓN gr	HEMATOCRITO %
Veh	367.7 ± 14.6	1.8 ± 0.07	0.49 ± 0.02
Veh + Dex	334.1 ± 8.9 <sup>a</sup>	1.9 ± 0.1	0.45 ± 0.0
CsA	394.3 ± 13.0	2.0 ± 0.1	0.51 ± 0.01
CsA + Dex	299.7 ± 12.1 <sup>**</sup>	1.9 ± 0.0	0.5 ± 0.0

\*= p<0.05 vs. Veh; \*\*= p<0.05 vs. CsA.

TABLA 3. RESULTADOS DE LA HEMODINÁMICA GLOMERULAR EN LOS ANIMALES SOMETIDOS A LOS CUATRO TRATAMIENTOS

	TAM mmHg	QA nl/min	RA dinas/cm <sup>5</sup>	RE dinas/cm <sup>5</sup>	PCG mmHg	Kf nl/s/mmHg	FG/n nl/min	FF/n %
Veh	125.0±4.4	131.0±9.4	2.4±0.3	1.4±0.08	50.4±0.8	0.046±0.006	34.1±2.9	0.26±0.0
Veh + Dex	121.0±3.7	183.1±15.4	1.6±0.1	1.4±0.1	57.5±1.5	0.039±0.003	43.4±1.8	0.25±0.0
CsA	115.3±4.1	63.7±7.2	4.7±0.8	2.7±0.2	46.6±1.5	0.031±0.003	17.1±1.9	0.27±0.0
CsA + Dex	121.9±4.1	172.8±28.5 <sup>**</sup>	1.8±0.3 <sup>**</sup>	1.4±0.2 <sup>**</sup>	54.7±1.9 <sup>**</sup>	0.039±0.004	35.0±5.8 <sup>**</sup>	0.27±0.01

TAM, presión arterial media; QA, flujo plasmático por nefrona; RA y RE, resistencias arteriolas aferente y eferente; PCG, presión capilar glomerular; Kf, coeficiente de ultrafiltración; FG/n, filtración glomerular por nefrona; FF/n fracción de filtración por nefrona. (a= p<0.05 vs. Veh; b= p<0.05 vs. CsA).

Por otro lado, como puede apreciarse en la tabla 2, el hematocrito, no se modificó significativamente en ninguno de los grupos estudiados. Este valor es de utilidad para detectar si durante el estudio de micropunción se presenta un incremento o una disminución importante del volumen plasmático del animal que pudiera alterar las condiciones hemodinámicas del estudio y modificar así la confiabilidad de los resultados. Sin embargo, por los datos obtenidos se puede concluir que las ratas se mantuvieron en condiciones de euvolemia durante la micropunción.

Así mismo, se puede observar que no existe una diferencia importante en el peso del riñón los grupos analizados, lo cual sugiere que los animales de estudio tenían la misma edad, factor que de no haberse contemplado pudiera haber influido en los resultados obtenidos.

En la tabla 3 se presentan los resultados hemodinámicos glomerulares correspondientes a los tres grupos experimentales comparados con los del grupo control.

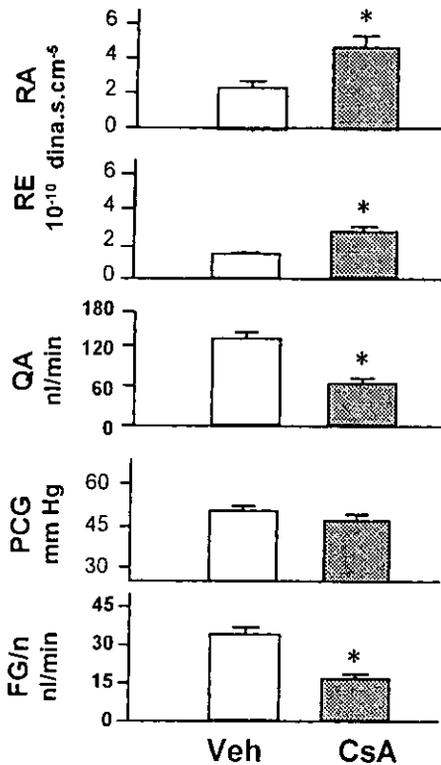


Figura 7. Efecto de la administración de ciclosporina sobre la hemodinámica glomerular. \* =  $p < 0.05$  vs.

modificó dado que el valor de ambas resistencias arteriolares se elevó en la misma proporción. El coeficiente de ultrafiltración disminuyó significativamente en comparación al grupo control. Por lo que respecta a la filtración glomerular por nefrona, ésta disminuyó a la mitad del valor observado en el grupo de ratas normales. La filtración glomerular por nefrona

La administración de CsA y dexametasona en forma individual o conjunta no modificó la TAM con respecto a la que presentaron los animales del grupo control. Sin embargo, a pesar de que no se observó ningún efecto sobre la presión sistémica, sí se presentaron cambios importantes en la hemodinámica glomerular como veremos a continuación:

Como podemos observar en la fig. 7, la administración de CsA ocasionó que el flujo plasmático por nefrona (QA) disminuyera notablemente en un 51% con respecto a los valores normales, lo cual se atribuye a la marcada vasoconstricción de los vasos pre y posglomerulares pues la resistencia arteriolar tanto aferente (RA) como eferente (RE) aumentaron en un 94% y 89% respectivamente. A pesar de ello, la presión capilar intraglomerular (PCG) no se

depende de cuatro determinantes: 1) El flujo plasmático por nefrona (QA), 2) La presión hidrostática a través de la pared del capilar glomerular ( $\Delta P$ ), 3) La presión oncótica ejercida por las proteínas plasmáticas ( $\Delta\pi$ ) y 4) El coeficiente de ultrafiltración (Kf) que es el resultado de multiplicar el área de filtración por la permeabilidad el capilar glomerular.

En base a lo anterior podemos decir que el decremento en la filtración glomerular por nefrona observado en el grupo tratado con ciclosporina es el resultado de la disminución de dos de sus determinantes: el flujo plasmático por nefrona y el coeficiente de ultrafiltración. Estos resultados muestran que la CsA produjo la vasoconstricción renal característica de la nefrotoxicidad inducida por este inmunosupresor.

La fig. 8 muestra el efecto de la administración de dexametasona sobre la hemodinámica glomerular en los animales controles. En ella se puede apreciar que la dexametasona produjo una vasodilatación renal que se caracterizó por un incremento en el flujo plasmático en un 40% por arriba del valor normal, lo que se asoció con vasodilatación a nivel de la arteriola aferente ya que sólo en ella se pudo observar una disminución de la resistencia arteriolar (RA) en un 34% con respecto al grupo control, en tanto que la resistencia posglomerular permaneció sin cambio. Dicha vasodilatación preglomerular permitió que la TAM se transmitiera a través de los vasos capilares, incrementándose significativamente la presión intraglomerular (PCG), mientras que el coeficiente de ultrafiltración no se modificó. El aumento tanto de la PCG como del QA produjo que la filtración

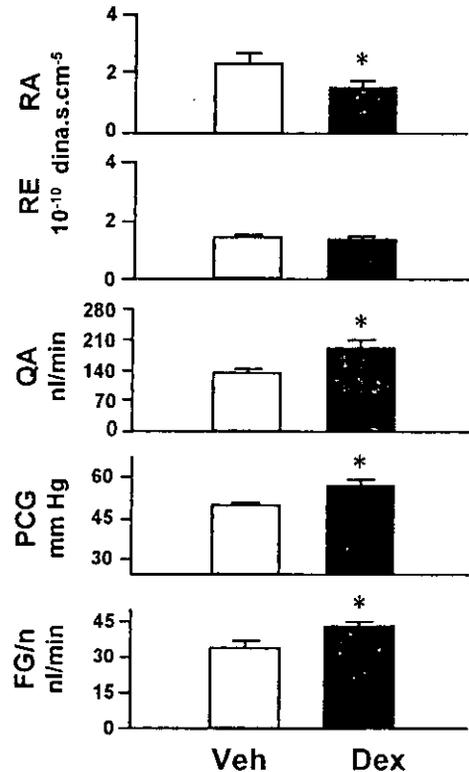


Figura 8. Efecto de la administración de dexametasona sobre la hemodinámica glomerular. \* =  $p < 0.05$  vs. Veh.

glomerular por nefrona se incrementara en un 27% con respecto al grupo control.

De esta manera, el incremento de la FG/n y de TFG con la infusión de dexametasona con respecto al grupo control se debió al aumento en el flujo plasmático por nefrona así como a la elevación de la presión intraglomerular en comparación con los valores normales.

La administración de dexametasona a los animales tratados con ciclosporina previno la vasoconstricción renal inducida por este inmunosupresor. Como podemos observar en la fig. 9, la dexametasona

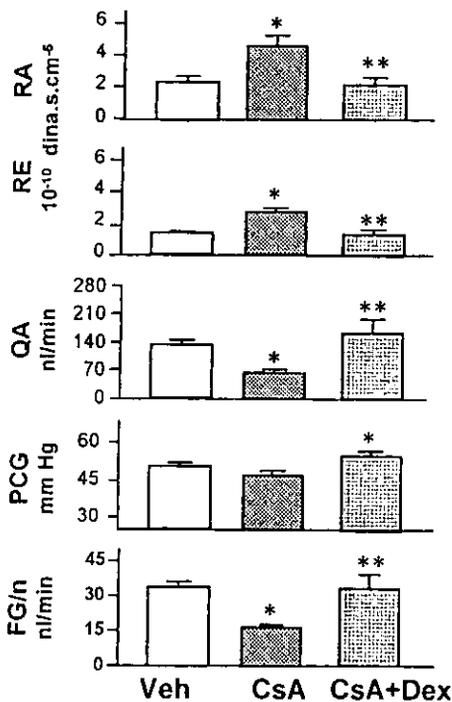


Figura 9. Efecto de la administración de dexametasona sobre la vasoconstricción renal inducida por ciclosporina. \* =  $p < 0.05$  vs. Veh; \*\* =  $p < 0.05$  vs. CsA

produjo una marcada vasodilatación renal a nivel de los vasos tanto pre como posglomerulares ya que las resistencias arteriolas tanto aferente como eferente disminuyeron significativamente en un 62% y 48% respectivamente. Como resultado de la vasodilatación renal inducida por dexametasona, el flujo plasmático por nefrona aumentó hasta alcanzar los valores basales, siendo este incremento significativamente mayor que el observado en el grupo control (127% vs. 40%). La mayor vasodilatación en la arteriola aferente produjo que la TAM se transmitiera dentro de los capilares glomerulares lo que se reflejó en un ligero incremento de la presión intraglomerular (PCG).

El coeficiente de ultrafiltración no se modificó. De esta forma, la vasodilatación en el lecho renal a nivel de las arteriolas aferente y eferente produjo el incremento de la PCG y del QA, lo cual se tradujo en un aumento significativo en la filtración glomerular por nefrona en un 105% con respecto al grupo con CsA. Este resultado fue significativamente mayor al observado en el grupo control el cual fue del 27%.

De este modo, se pudo apreciar que la dexametasona revirtió la vasoconstricción renal inducida por ciclosporina.

## DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

La ciclosporina es un medicamento que ha sido utilizado eficazmente desde hace poco más de dos décadas como potente agente inmunosupresor en diversas áreas de la medicina como la relacionada con trasplantes de órganos principalmente de corazón y riñón, ya que mejora notablemente la supervivencia de los injertos, sean de donador vivo o de cadáver relacionado, lo que sin duda se traduce en mayor éxito y mejor pronóstico de los pacientes trasplantados. Sin embargo, su utilidad en la clínica se ha visto limitada por los efectos adversos que produce como acidosis metabólica, predisposición a la hipertensión arterial, hipercalcemia, hepatotoxicidad y nefrotoxicidad, siendo ésta última la más relevante desde el punto de vista clínico.

A nivel renal la ciclosporina produce cambios en la hemodinámica glomerular que se asocian con un incremento en las resistencias arteriolas, lo que induce una disminución del flujo plasmático glomerular y en consecuencia de la función renal. Se han descrito dos formas de nefrotoxicidad: la forma aguda y la forma crónica. La primera se caracteriza por reducción del flujo plasmático glomerular y de la filtración glomerular, esta forma es reversible si se suspende el tratamiento o se reduce la dosis utilizada, sin embargo esto puede precipitar el rechazo del injerto. La segunda se caracteriza por deterioro gradual de la función renal y alteraciones estructurales irreversibles. En estudios histopatológicos de pacientes trasplantados con tratamiento crónico con CsA se han descrito alteraciones de la pared vascular, trombosis, fibrosis tubulo-intersticial y esclerosis glomerular. En experimentos con ratas se ha reportado una disminución en el diámetro de las arteriolas en relación con el grupo control sin que se presenten alteraciones tubulares, lo que sugiere que en este modelo experimental la vasoconstricción arteriolar aferente es el principal factor patogénico en la nefrotoxicidad por ciclosporina.

Hasta el momento los mecanismos responsables que conducen a la vasoconstricción renal en la nefrotoxicidad por ciclosporina no se han dilucidados completamente. Sin embargo, en diversos estudios se ha demostrado que la vasoconstricción renal en este modelo es el resultado de un desequilibrio en la liberación local de sustancias vasoactivas. Por una parte la ciclosporina induce aumento de factores vasoconstrictores como tromboxano, angiotensina II y endotelina (48-50) y por otra inhibe la liberación de factores vasorelajantes como prostaglandinas. Así mismo se ha estudiado la

contribución del sistema renina-angiotensina durante la administración crónica de ciclosporina, observándose que su actividad se encuentra aumentada (50).

Se han realizado diversas maniobras con el fin de reducir la vasoconstricción renal inducida por la administración de ciclosporina. Entre ellas podemos mencionar al empleo de inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina, bloqueadores de los receptores a endotelina e inhibidores del tromboxano; sin embargo, los resultados obtenidos han sido poco satisfactorios (48-50).

La participación del óxido nítrico, un compuesto vasodilatador liberado por el endotelio vascular, ha sido poco valorada. Sin embargo, estudios recientes de otros laboratorios y del nuestro han demostrado que en forma contraria a lo que se suponía, en la nefrotoxicidad por ciclosporina el óxido nítrico desempeña un papel muy importante al contrarrestar la vasoconstricción renal inducida por este inmunosupresor lo que evita un mayor deterioro de la función renal (63-64).

Por otra parte, se conoce que la administración de glucocorticoides incrementa la filtración glomerular debido a que producen vasodilatación renal, aunque el mecanismo responsable de este efecto no se ha determinado. Además no se ha estudiado este efecto vasodilatador inducido por glucocorticoides durante la vasoconstricción renal inducida por CsA.

Los glucocorticoides son hormonas esteroides sintetizadas y liberadas en la corteza adrenal, los cuales han sido ampliamente utilizados como terapia de un sin número de patologías debido a sus múltiples acciones en el organismo. Entre sus propiedades podemos mencionar su carácter antiinflamatorio y su capacidad de afectar prácticamente todos los sistemas de la economía, al interactuar en diversos procesos metabólicos. Entre ellos, promueven el catabolismo de las proteínas y de la gluconeogénesis, participan en la distribución de la grasa corporal desde las áreas periféricas hacia la región central del cuerpo, reducen la absorción intestinal e incrementan la excreción renal de calcio, estimulan la eritropoyesis y prolongan la vida media de los eritrocitos y plaquetas, suprimen la respuesta inmune, etc. (69-73). Además, se ha observado que los glucocorticoides endógenos así como los administrados exógenamente ejercen muchas acciones sobre el riñón, siendo su efecto vasodilatador renal el más importante puesto que se asocia con un incremento en la filtración glomerular.

En base a lo anterior, el presente estudio se realizó con el propósito de determinar si el empleo de dexametasona puede prevenir el efecto vasoconstrictor de la ciclosporina a nivel renal y por tanto reducir la nefrotoxicidad por este inmunosupresor, para lo cual se evaluó el efecto de la administración crónica de este glucocorticoide sobre la hemodinámica glomerular en ratas uninefrectomizadas tratadas con ciclosporina. Este modelo de uninefrectomía se utilizó porque en él se reproducen los cambios funcionales e hipertróficos similares a los que se observan en los pacientes que reciben trasplante renal.

En este estudio encontramos que la CsA produjo vasoconstricción renal, como consecuencia del incremento en las resistencias tanto a nivel preglomerular como posglomerular lo que ocasionó la disminución del flujo plasmático glomerular, también se observó una reducción del coeficiente de ultrafiltración. Estos cambios provocaron un decremento de la filtración glomerular.

La administración crónica de la dexametasona en el grupo control produjo vasodilatación renal de los vasos preglomerulares como lo demuestra la disminución de la resistencia arteriolar aferente, mientras que la resistencia eferente permaneció sin cambio. Lo anterior se asoció con un aumento significativo tanto de la presión intraglomerular como del flujo plasmático glomerular, lo que indudablemente resultó en un incremento de la filtración glomerular por nefrona.

En las ratas tratadas con CsA, la administración de dexametasona produjo una vasodilatación renal muy importante, restableciendo la presión intracapilar, el flujo plasmático y la filtración glomerular a valores normales. De esta forma, la dexametasona revirtió completamente la vasoconstricción renal inducida por ciclosporina.

Se han sugerido algunos mecanismos responsables del efecto vasodilatador de los glucocorticoides a nivel renal, pero ninguno ha proporcionado una idea clara y convincente. Se ha planteado, por ejemplo, que las prostaglandinas y el factor natriurético auricular puedan estar implicados en esta respuesta, sin embargo no existen evidencias suficientes que soporten esta hipótesis. Por otra parte se ha sugerido que el aumento en la filtración glomerular por acción de los glucocorticoides se deba a su efecto sobre el catabolismo de las proteínas, al aumentar la concentración de aminoácidos. Sin embargo, estudios recientes de nuestro laboratorio y de otros grupos

apuntan a proponer que el principal mediador de la respuesta vasodilatadora inducida por glucocorticoides es el resultado de una mayor liberación intrarrenal de óxido nítrico. Al respecto, De Mateo y May (98) reportaron en un estudio realizado en ovejas que la inhibición de la síntesis de óxido nítrico bloquea la respuesta vasodilatadora renal a cortisol, lo que sugiere que este efecto es mediado por un mecanismo dependiente de ON. Además, en nuestro laboratorio hemos observado que la administración crónica de dexametasona a ratas normales y tratadas con ciclosporina produce un aumento en la expresión génica de la isoforma endotelial (NOS III) a nivel cortical y medular. Estos resultados sugieren que la dexametasona induce un aumento de óxido nítrico a nivel renal, el cual puede ser el responsable del efecto vasodilatador de los glucocorticoides.

De acuerdo con los resultados obtenidos en el presente trabajo, podemos concluir que la utilización de glucocorticoides y en particular de dexametasona puede prevenir la vasoconstricción inducida por ciclosporina. Esta maniobra puede llegar a ser de gran utilidad en los pacientes que reciben este inmunosupresor durante el trasplante de órganos o en pacientes con enfermedades autoinmunes.

## PERSPECTIVAS

En el presente estudio encontramos que:

- 1) La ciclosporina produjo la vasoconstricción renal característica.
- 2) La administración de dexametasona produjo vasodilatación renal.
- 3) La dexametasona fue capaz de prevenir la vasoconstricción renal inducida por ciclosporina.

El efecto protector de la dexametasona sobre la vasoconstricción inducida por ciclosporina puede llegar a tener una gran relevancia a nivel clínico en aquellos pacientes que reciben trasplante de órganos o con enfermedades autoinmunes. Sin embargo, se requieren más estudios para determinar el mecanismo por el cual la dexametasona produce vasodilatación renal, por lo que las perspectivas de este estudio son:

- 1) Determinar si el efecto vasodilatador es mediado por óxido nítrico, para lo cual será necesario determinar la expresión génica de las sintasas de ON (NOS) en la corteza y médula renal, y los niveles de proteína
- 2) Si llegara a existir diferencia en los niveles de expresión o de proteína de NOS, determinar si este efecto es tejido específico.
- 3) Evaluar si la dexametasona es capaz de reducir las lesiones estructurales asociadas al modelo de administración crónica de CsA con dieta baja en sodio.
- 4) Evaluar si otros glucocorticoides como la prednisolona y metilprednisolona, los cuales son utilizados durante la inmunosupresión en el trasplante de órganos, son capaces de reducir la vasoconstricción renal inducida por CsA, o si este efecto es específico de dexametasona.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Murray, J.E., Merrill, J.P., Harrison, J.H., *et al.*: Prolonged survival of human kidney homografts by immunosuppressive drug therapy. *N Engl J Med.* 268: 1315, 1963.
2. Calne, R.Y.: Immunosupresion for organ grafting. Observations on cyclosporin A. *Inmunol Rev.* 46:113, 1979.
3. Regger, A., Kuhn, M., Lichti, H., *et al.*: Cyclosporin A ein immunosuppressiv wirksam er peptidmetabolit aus *Trichoderma Polysporum*. *Rifai Helv Chim Acta.* 59: 1480-1487, 1976.
4. Morris, P.: Cyclosporine, kidney transplantation: Principles and practice. 4<sup>th</sup> edition. Philadelphia, P.A., Saunders. 1994, pp: 179-201.
5. Kahan, B.D., Ried, M., Newburger, J.: Pharmacokinetics of cyclosporin in human renal transplantation. *Transplant Proc.* 15: 2242-2250, 1983.
6. Kahan, B.D.: Individualization of Cyclosporine Therapy Using Pharmacokinetic and Pharmacodynamic Parameters. *Transplant.* 40: 457- 463, 1985.
7. Bennet W.M.: The nephrotoxicity of immunosuppressive drugs. *Clin. Nephrol.* 43: S3-S7, 1995.
8. Beveridge, T., *et al.*: Cyclosporine A: pharmacokinetics in man after a single dose in man serum levels after multiple dose in recipients allogeneic bone marrow grafts. *Therapeutic Res.* 30: 5-10, 1981.
9. Kahan, B.D., Wideman, C., Ried, M., *et al.*: The value of serial serum trough cyclosporine levels in human renal transplantation. *Transplant Proc.* 16: 1195-1203, 1984.
10. Liu J., Farmer J.D., Lane W.S.: Calcineurin is a common target of cyclophilin-cyclosporine A and FKBP-FK506 complexes. *cell.* 66: 807-815, 1991.
11. Schreiber S.L.: Immunophilin-sensitive protein phosphatase action in cell signaling pathways. *Cell.* 70: 365-368, 1992.
12. Terasaki P.I., Park M.S., Danovitch G.M.: Histocompatibility testing, crossmatching, and allocation of cadaveric kidney transplant. En Danovitch G.M. (Ed): *Handbook of kidney transplantation.* Boston, M.A. Little Brown and Co. PP 43-66, 1992.
13. Dunn J., Golden D., Van Buren C.T., *et al.*: Causes of graft loss beyond two years in the cyclosporine era. *Transplantation.* 49: 349-353, 1990.
14. Kopp J.B., Klotman P.E.: Cellular and molecular mechanisms of cyclosporine nephrotoxicity. *J. Am. Soc. Nephrol.* 1: 162-179, 1990.
15. Calne R.Y., Thiru S., Macaster P., *et al.*: Cyclosporine A in patients receiving renal allografts from cadaver donors. *Lancet.* 2: 1323-1327, 1978.
16. Shulman H., Striker G., Deeg J.H., Kennedy M., Shorb R., Thomas E.D.: Nephrotoxicity of cyclosporine A after allogeneic marrow transplantation: Glomerular thrombosis and tubular

ESTA TESIS NO DEBE  
SALIR DE LA BIBLIOTECA

- injury. *N. Engl. J. Med.* 305: 1392-1395, 1981.
17. Iwatsu S., Starlz T.E., Shaw B.W., *et al.*: Long term use of cyclosporine in liver recipients. *Transplantation.* 36: 642-643, 1983.
  18. Palestine A.G., Nussenblatt R.B., Chan C.C.: Side effects of systemic cyclosporine in patients not undergoing transplantation. *Am. J. Med.* 77: 652-656, 1984.
  19. Palestine A.G., Austin H.A., Balow J.E., *et al.*: Renal histopathologic alterations in patients treated with cyclosporine for uveitis. *N. Engl. J. Med.* 314: 1293-1298, 1986.
  20. Myers B.D.: Cyclosporine nephrotoxicity. *Kidney Int.* 30: 964-974, 1986.
  21. Novick A.C., Ho-Hsieh H., Steinmuller D.S.: Detrimental effect of cyclosporine on initial function of cadaver renal allografts following extended preservation. results of randomized prospective trial. *Transplantation.* 42: 154-158, 1986.
  22. Murray B.M., Paller M.S., Ferris T.F.: Effect of cyclosporine administration on renal hemodynamic in conscious rats. *Kidney Int.* 28: 767-774, 1985.
  23. Barros E.J.G., Boim M.A., Ajzen J., Ramos O.L., Schor N.: Glomerular hemodynamics and hormonal participation on cyclosporine nephrotoxicity. *Kidney Int.* 32: 19-25, 1987.
  24. Sabbatini M., Esposito C., Uccello F. *et al.*: Acute effects of cyclosporine on glomerular hemodynamics. micropuncture study in Rat. *Transp. Proc.* 20: 544-548, 1988.
  25. Mihatsch M.J., Ryffel B., Gudat F.: The differential diagnosis between rejection and cyclosporine toxicity. *Kidney Int.* 48: S63-S69, 1995
  26. Myers B.D., Ross J.C., Newton L.D., *et al.*: Cyclosporine-associated chronic nephropathy. *N Engl J Med.* 311: 699-705, 1984
  27. Mihatsch M.J., Thiel G., Ryffel B.: Histopathology of cyclosporine nephrotoxicity. *Transplant Proc.* 20: 759-771, 1988.
  28. Nast C.C., Blifield C., Danovitch G.M., Fine R.N., Ettenger R.B.: Evaluation of cyclosporine nephrotoxicity by renal transplant fine needle aspiration. *Mol. Pathol.* 2: 577-582, 1990.
  29. Klintmalm G., Sudenlin B., Bohman S.O., Wilczek H.: Interstitial fibrosis in renal allografts after 12 to 46 months of cyclosporine treatment: beneficial effects of low dosis in early post-transplantation period. *Lancet.* 2: 950-954, 1984.
  30. Wolf G., Killen P.D., Neilson E.G.: Cyclosporine A stimulates transcription and procollagen secretion in tubulointerstitial fibroblasts and proximal tubular cells. *J. Am Soc Nephrol.* 1:918-922, 1990.
  31. Ghiggeri G.M., Altieri P., Oleggini R., *et al.*: Cyclosporine enhances the synthesis of selected extracellular matrix protein by renal cells "in culture". *Transplantation.* 57: 1382-1388, 1994.
  32. Nast C.C., Adler S.G., Artishevsky A., *et al.*: Cyclosporine induces elevated procollagen  $\alpha 1(I)$  mRNA levels in the rat renal cortex. *Kidney Int.* 39: 631-638, 1991.

33. Shihab F.S., Andoh T.H., Tanner A.M., *et al.*: Role of transforming growth factor  $\beta$ 1 in experimental chronic cyclosporine nephropathy. *Kidney Int.* 49: 1141-1151, 1996.
34. Weinberg J.M.: Issues in the pathophysiology of nephrotoxic renal tubular cell injury pertinent to understanding cyclosporine nephrotoxicity. *Transplant Proc.* 17: (suppl 1) 81, 1985.
35. Von Willebrand E., Harry P.: Cyclosporin A deposits in renal allografts. *Lancet.* 2: 189, 1983.
36. Shehata M., El-Nahas M., Barkworth E., *et al.*: Increased platelet derived growth factor in the kidney of cyclosporine treated rats. *Kidney Int.* 46: 726-732, 1994.
37. Khama A., Li B., Stenzel K.H. *et al.*: Regulation of new DNA synthesis in mammalian cells by cyclosporine. *Transplant.* 57: 577-582, 1994.
38. Shehata M., Cope G.H., Johnson T.S., *et al.*: Cyclosporine enhances the expression of TGF- $\beta$  in juxtaglomerular cells of rat kidney. *Kidney Int.* 48: 1487-1496, 1995.
39. Mourad G., Vela C., Ribstein J., Mimran A.: Chronic cyclosporine is reversible in renal transplant recipients. *Nephrol Dial Transplant.* 8: 1045, 1993 (Abstr).
40. Jacobson S.H., Jaremko G., Duraj F.F., *et al.*: Renal fibrosis in cyclosporine A treated renal allograft recipients: morphological findings in relation to renal hemodynamics. *Transplant Int.* 9: 492-498, 1996.
41. Elzinga L.W., Rosen S., Bennett W.M.: Dissociation of glomerular filtration rate from tubulointerstitial fibrosis in experimental chronic cyclosporine nephropathy: Role of sodium intake. *J Am Soc Nephrol.* 4: 214-221, 1993.
42. Moss N.G., Powell S.L., Falk R.J.: Intravenous cyclosporine activates afferent and efferent renal nerves and causes sodium retention in innervated kidneys in rats. *Proc Natl Acad Sci.* 82: 8222-8226, 1985.
43. Devarajan P., Kaskel F.J., Arbeit L.A., Moore L.C.: Cyclosporine nephrotoxicity: blood volume, sodium conservation, and renal hemodynamics. *Am J Physiol.* 256: F71-F78, 1989.
44. Meyer-Lehnert H., Schrier R.W.: Cyclosporine A enhances vasopressin induced  $Ca^{2+}$  mobilization and contraction in mesangial cells. *Kidney Int.* 34: 89-97, 1988.
45. Meyer-Lehnert H., Schrier R.W.: Potential mechanisms of cyclosporine A induced vascular smooth muscle contraction. *Hypertension.* 13: 352-360, 1989.
46. Sthal, R.A.K., Adler, S., Baker, P.J., Johnson, R.G., Chen, Y.P., Pritzl, P., Couser, W.G.: Cyclosporine A inhibits prostaglandin E2 formation by rat mesangial cells in culture. *Kidney Int.* 35: 1161-1167, 1989.
47. Rutledge, W., Levi, G., Wong, P.Y., Skorecki, K.: Structural specificity and biochemical locus for cyclosporine A induced inhibition of prostaglandin production in glomerular mesangial cells in culture. *Clin. Res.* 38: 275, 1990.

48. Perico, N., Benigni, A., Zoja, C., Delaini, F., Remuzzi, G.: Functional significance of exaggerated renal thromboxane A2 synthesis induced by cyclosporine. *Am. J. Physiol.* 251: F581-F587, 1986.
49. Kon, V., Sugiura, M., Inagami, T., Harvie, B.R., Ichikawa, I., Hoover, R.L.: Role of endothelin in cyclosporine induced glomerular dysfunction. *Kidney Int.* 37: 1487-1491, 1990.
50. Perico, N., Benigni, A., Bisco, E., Rossini, M., Orisio, S., Ghilardi, F., Piccinelli, A., Remuzzi, G.: Acute cyclosporine A nephrotoxicity in rats: Which for renin-angotensin system and glomerular prostagladins? *Clin. Nephrol.* 25:583-588,1986.
51. Meister, B., Lippoldt, A., Bunnemann, B., *et al.*: Cellular expression of angiotensin type-1 receptor mRNA in the kidney. *Kidney Int.* 44: 331-336, 1996.
52. Burdmann, E.A., Andoh, T.F., Nast, C.C., *et al.*: Prevention of experimental cyclosporine induced interstitial fibrosis by losartan and enalapril. *Am. J. Physiol.* 269: F491-F499, 1995.
53. Tufro-McReddie, A., Gomez, R.A., Novling, L.L., *et al.*: Effect of cyclosporine on the expression of renin and angiotensin type 1 receptor genes in the rat kidney. *Kidney Int.* 43:615-622, 1993.
54. Coffman, T.M., Smith, S.R., Creech, E.A., *et al.*: Inhibition of thromboxane synthase with CGS 13080 improves renal allograft function in patients taking cyclosporine. *Am. Soc. Transplant Physicians. 9<sup>th</sup> Annual Meeting.* 66, 1990.
55. Yanakisawa, M., Kurihar, H., Kimura, S., Tomobe, Y., Kobayashi, M., Mitsui, M., Goto, K., Masaki, T.: A Novel potent vasoconstrictor peptide produced by vascular endothelial cells. *Nature.* 332: 411-415, 1988.
56. Kon, V., Yoshioka, T., Fogo, A., Ichikawa, I: Glomerular actions of endothelin *in vivo*. *J. Clin. Invest.* 83: 1762-1767, 1989.
57. Buchman, T.E., Brookshire, C.A.: Cyclosporine induced synthesis of endothelin by cultured human endothelial cells. *J. Clin. Invest.* 83: 310-314, 1991.
58. Fogo, A., Helling, S.E., Inagami, T., Kon, V.: Endothelin receptor antagonism is protective in acute cyclosporine nephrotoxicity. *Kidney Int.* 42: 770-774, 1992.
59. Ignarro, L., Murrad, F.: Nitric oxide, biochemistry, molecular biology and therapeutic implications. Academic Press Inc. 1993: 75-85.
60. Diederich, D., Yang, Z., Lüscher, T.F.: Chronic cyclosporine therapy impairs endothelium-dependent relaxation in the renal artery of the rat. *J. Am. Soc. Nephrol.* 3: 42-50, 1992.
61. Gallejo, M.J., López Farré, A., Riesco, A., Motón, M., Grandes, S.M., Barat, A., Hernando, L., Casado, S., Caramelo, C.A.: Blockade of endothelium-dependent responses in consciuos rat by cyclosporine a: effect of L-arginine. *Am. J. Physiol.* 264: H708-H714, 1993.
62. Diederich, D., Skopec, J., Diederich, A., Dai, F.X.: Cyclosporine produces endothelial dysfunction by increased production of superoxide. *Hypertension.* 23: 957-961, 1994.

63. López-Ongil, S., Saura, M., Rodríguez-Puyol, D., Lamas, S.: Regulation of endothelial NO synthase expression by cyclosporine A in bovine aortic endothelial cells. *Am. J. Physiol.* 271: H1072-H1078, 1996.
64. Bobadilla, N.A., Tapia, E., Franco, M., López, P., Mendoza, S., Garcia-Torres, R., Alvarado, J.A., Herrera-Acosta, J.: Role of nitric oxide in renal hemodynamics abnormalities of cyclosporine nephrotoxicity. *Kidney Int.* 46: 773-779, 1994.
65. Bobadilla N.A.: Participación del óxido nítrico en la nefrototoxicidad de ciclosporina. hemodinámica glomerular, biología molecular e histopatología. Tesis de Doctorado. 1997. 60 pp.
66. Pasqueline R.Q.: *Endocrinología*. 6ª Ed. Vol. III. Ed. Científico Médica. México. 1973. 674 pp.
67. Calandra S.R., Nicola A.F., Baldi A., Blaquer J.A., Bozzini C.E., Calvo S.C., Cardinali D.P., Charreau H.E., Dellacha J., Lantos P.C., Mantalen C., Negro-Vilar A., Pisareu M.L., Santome J.A. *Endocrinología molecular*. 2ª Ed. El Ateneo. Argentina. 1985. 466 pp.
68. Guyton A.G.: *Tratado de fisiología médica*. 6ª Ed. Interamericana. México, D.F. Capítulo 77: Hormonas corticoadrenales. 1987. 1159 pp.
69. Thompson E.B., Lippman M.C.: Mechanism of action of glucocorticoids. *Metabolism*. 23: 159-202, 1974.
70. Saez S., Bertrand J.: Récepteurs cellulaires et mécanisme d'action des hormones stéroïdes. *Lyon Pharmaceutique*. 28: 11-34, 1977.
71. Munck A., Guyre P., Holbrook N.: Physiological function of glucocorticoids during stress and their relation to pharmacological actions. *Endocrinol. Rev.* 5: 25-29, 1984.
72. Ochoa B., Suckling K.E.: Short term metabolism of cholesterol ester from low-density lipoprotein in primary monolayer of adrenal cortical cells. *Biochem. Biophys.* 18: 159-167, 1987.
73. Berne M.D., Robert M., Matthew W.L.: *Physiology*. The C. V. Mosby Company Section IX: The Endocrine system. 1983. 1033-1039.
74. Kunh W.R., Vest W. Ch., Schüteri K.P.: purification and properties of squirrel monkey (*Saimiri sciureus*) corticosteroid binding globin. *Biochem.* 27: 2579-2586, 1988.
75. Allera A., Rao G.S.: Characteristic and specificity of the glucocorticoid "carrier" of rat liver plasma membrane. In "Mechanism and clinical aspects of steroid hormone resistance". *Adv. Exp. Med. Biol.* Plenum Press. New York. 1986. 53-66.
76. Todd-Turla K.M., Schnrtmann J., Fejes-Tóth G., Naray-Fejes-Tóth A., Smart A., Killen P.D., Briggs J.P.: Distribution of mineralocorticoid and glucocorticoid receptor mRNA along the rabbit nephron. *Am. J. Physiol.* 264: F781-F791, 1993.
77. Farma, N., Vandewalle, A., Bonvalet, J.P.: Autoradiographic determination of dexamethasone binding sites along the rabbit nephron. *Am. J. Physiol.* 244: F325-F334, 1983.

78. Tienrungroj W., Meshinchi S., Sánchez E.R., Pratt S.E., Grippo J.F., Holmgren A., Pratt W.B.: The role of sulfhydryl groups in permitting transformation and DNA binding of the glucocorticoid receptor. *J. Biol. Chem.* 262: 6992-7000, 1987.
79. Moudgil V.K., Lombardo G., Eessalu T., Eliezer N.: Hormone dependency of transformation of rat liver glucocorticoid receptor *in vitro*: Effect of heat, salt, and nucleotides. *J. Biochem.* 99: 1005-1016, 1986.
80. Yamamoto A., Isohashi F., Okamoto K., Hiriuchi M., Mitsui Y., Sakamoto Y.: Change in activity of an adenosine triphosphate stimulated glucocorticoid receptor translocation promoter in the cytosol and nucleus of rat liver under various physiological conditions. *Endocrinology.* 119: 357-361, 1986.
81. Kido H., Fukusen N., Katunuma N.: Inhibition by 1(5-isoquinolinesulfonyl)-methylpiperazine, an inhibitor of protein kinase C, of enzyme induction by glucocorticoid and of nuclear translocation of glucocorticoid-receptor complex. *Biochem Biophys. Res. Commun.* 144: 152-159, 1987.
82. Friedman, A.L., Chesney, R.W.: Glucocorticoids in renal disease. *Am. J. Nephrol.* 2: 3-11, 1982.
83. Cavallo, T., Graves, K., Grahlm, N.A.: Murine lupus nephritis. effects of glucocorticoid on glomerular permeability. *Lab. Invest.* 50: 378-384, 1984.
84. Baylis, C., Brenner, B.M.: Mechanism of the glucocorticoid-induced increase in glomerular filtration rate. *Am. J. Physiol.* 234: F166-F170, 1978.
85. Hall, J.E., Moore, C.L., Smith, M.J., *et al.*: Control of arterial pressure and renal function during glucocorticoid excess in dogs. *Hypertension.* 2: 139-148, 1980.
86. Baylis, C., Handa, R.K., Sorkin, M.: Steroid responses along the nephron. glucocorticoid and control of glomerular filtration rate. *Semin. Nephrol.* 10: 320-329, 1990.
87. Stanton, B., Giebisch, G., Kein-Robbenhaar, G., Wade, J., DeFronzo, R.A.: Effects of adrenalectomy and chronic adrenal corticosteroid replacement on potassium transport in rat kidney. *J. Clin. Invest.* 75: 1317-1326, 1985.
88. Whitworth, J.A., Coghlan, J.P., Denton, D.A., Fan, J.S.K., Humphery, T.S., McDougall, J.G., Scoggins, B.A., Effect of ACTH and adrenal corticosteroids on renal function in sheep. *Renal Physiol.* 1: 275-282, 1978.
89. Bia, M.J., Tyler, K., DeFronzo, R.A.: The effect of Dexamethasone on Renal Electrolyte Excretion in the Adrenalectomized Rat. *Endocrinology.* 111: 882-888, 1982.
90. Campen, T.J., Vaughn, D.A., Fanestil, D.D.: Mineralo- and glucocorticoid effects on renal excretion of electrolytes. *Pflugers Arch.* 399: 93-101, 1983.
91. Baxter, J.D., Forgham, P.H.: Tissue effects of glucocorticoids. *Am. J. Med.* 53: 573-589, 1972.
92. Brochner-Mortensen, J.: The glomerular filtration rate during moderate hyperglycemia in normal man. *Acta Med. Scand.* 194: 31-37, 1973.

93. Lee, K.E., Summerill, R.A.: Glomerular filtration rate following administration of individual amino acids in conscious dogs. *Q. J. Exp. Physiol.* 67: 459-465, 1982.
94. Gardner, D.G., Hane, S., Trachewsky, D., *et al.*: Atrial natriuretic peptide is regulated by glucocorticoid *in vivo*. *Biochem Biophys Res Commun.* 139: 1047-1054, 1986.
95. Garcia, R., Debinski, D., Gutkowska, L., *et al.*: Gluco- and mineralocorticoids may regulate the natriuretic effect and the synthesis and release of atrial natriuretic factor by the rat atria *in vivo*. *Biochem Biophys Res Commun.* 131: 806-814, 1985.
96. Weidmann, P., Matter, D.R., Matter, E.E., *et al.*: Glucocorticoid and mineralocorticoid stimulation of atrial natriuretic peptide release in man. *J. Clin Endocrinol Metab.* 66: 1233-1239, 1988.
97. May, C.N., Badnarik, J.A.: Regional hemodynamic and endocrine effects of aldosterone and cortisol in conscious sheep. Comparison with the effects of corticotrophin. *Hypertension.* 26: 294-300, 1995.
98. De Matteo R., and May C.N.: Glucocorticoid induced renal vasodilatation is mediated by a direct renal action involving nitric oxide. *Am. J. Physiol.* 273: R1972-R1979, 1997.
99. McDougall, J.G., Butkus, A., Coughlan, J.P., Denton, D.A., Meehan, P.J., Potocnik, S.T., Scoggins, B.A., Wright, R.D.: Dissociation of the biological effects and classical receptor binding of C-21 steroids in the kidney. En: *The adrenal gland and hypertension*. Mantero, F., *et al.* New York. Raven, 1985. P. 303-306.