

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO
FACULTAD DE CIENCIAS



EFFECTOS DE LA ADMINISTRACION DEL DIAZEPAM
(VALIUM) SOBRE LA MORFOLOGIA DEL RIÑON
FETAL DE RATON BLANCO (Mus musculus)
DE LA CEPA CD-1

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
B I O L O G O
P R E S E N T A
ROSA MARTHA ORTEGA LOJERO

México, D. F.

1979

6405

697

89



Universidad Nacional
Autónoma de México



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.

I N D I C E

	PAG.
I.- INTRODUCCION	1-10
II.- HISTOLOGIA DEL RIÑON DE RATON ADULTO.....	11-18
III.- EMBRIOLOGIA DEL RIÑON DE RATON	19-23
IV.- OBJETIVO	24
V.- MATERIAL Y METODO	25-28
VI.- RESULTADOS HISTOLOGICOS	29-47
VII.- RESULTADOS DEL ESTUDIO ESTADISTICO	48-56
VIII.- DISCUSION Y CONCLUSIONES	57-64
IX.- BIBLIOGRAFIA	65-67

I.-I N T R O D U C C I O N

Uno de los más importantes motivos para la realización del presente trabajo, deriva de las complejas condiciones de la sociedad actual, en la que impera la tecnificación que ha contribuido a la superación del hombre como un ente civilizado y al conocimiento de su propia filosofía y del medio que lo rodea.

Sin embargo, durante la evolución del conocimiento humano y de los avances tecnológicos, se han producido diferentes ciclos cuya culminación es una etapa en la cual los individuos están sometidos a preocupaciones constantes que repercuten en su equilibrio emocional y los someten a un patrón de vida social y afectivo, uniforme y rutinario.

Por otra parte con los avances científicos actuales, la medicina ha creado diversos tipos de tranquilizantes que coadyuvan en el tratamiento de las personas emocionalmente afectadas, entre los que se encuentran las benzodiazepinas como el Diazepam.

Uno de los nombres comerciales del Diazepam es el de Valium, cuya fórmula química es 7-cloro-1,3-dihidro-1-metil-5-fenil-2H-1,4-benzodiazepina-2-ona, que fue sintetizada por Sternbach y Reeder en 1960 e introducida en el mercado en 1963 por los laboratorios Hoffmann-La Roche y desde entonces ha ido aumentando su uso, hasta convertirse en la actualidad en uno de los tranquilizantes más utilizados.

Su principal centro de acción es el sistema límbico, constituido entre otros por el núcleo amigdalino, el hipocampo y las regiones septales, que son las zonas del cerebro relacionadas con la regulación de la conducta emocional. También ejerce su acción sobre la corteza cerebral, produciendo una relajación de la tensión nerviosa y sedando al paciente sin disminuir su sensibilidad. No es hipnógeno y sus efectos secundarios indeseables son mínimos comparados con los de los barbitúricos.

En estudios realizados con las benzodiazepinas y especialmente con el Valium, se ha informado que es un magnífico mio-relajante, inhibidor de los espasmos de la musculatura estriada y la espasticidad, por lo cual ayuda en el tratamiento de numerosas alteraciones de la musculatura esquelética de origen neurológico, como la epilepsia, el tétanos y el reumatismo.

Su efecto relajante puede deberse principalmente a la depresión del sistema motor gama y, posiblemente, sea una consecuencia de su acción primaria sobre la formación reticular del tallo cerebral.

Es muy eficaz en pacientes con trastornos psiconeuróticos que van acompañados de ansiedad manifiesta, tensión severa, fatiga y depresión, ya que alivia los tres primeros síntomas, produciendo una clara sedación y coadyuva en el tratamiento de la depresión.

El Diazepam es auxiliar en el tratamiento de personas

con padecimientos psicosomáticos, caracterizados por trastornos funcionales del aparato digestivo, en problemas dermatológicos e incluso en afecciones propiciadas por desequilibrio funcional del sistema nervioso.

Los ginecobstetras lo han empleado en el tratamiento de disturbios psicosomáticos, característicos de la tensión premenstrual, la dismenorrea y la menopausia. Asimismo lo administran en el tratamiento de pacientes con actividad anormal o prematura del útero durante el embarazo y en los casos de placenta previa, comprobando que es muy útil para el mantenimiento de la gestación hasta su término o bien hasta asegurar la viabilidad del producto.

El Diazepam ha sido empleado con frecuencia durante el parto, por lo cual en los últimos años, numerosos investigadores han intensificado los estudios relacionados con este tema y entre ellos se pueden mencionar a Toulouse et al., (1965), Berger et al., (1966), Lean et al., (1968), Flowers et al., (1969), Friedman et al., (1969), Niswander (1969), Joyce et al., (1972), Ságen et al., (1973) citados en Mandelli et al., 1975.

Bepko, et al., (1965) y Nesbitt et al., (1967) citados por Idänpään-Heikklä et al., (1971) comprobaron que reduce la ansiedad y el temor durante el parto y Berger et al., (1966) corroboraron que al aplicarlo se acorta la duración del

parto normal, induciendo sedación y relajación muscular durante la primera y segunda fases. Flowers et al., (1969) citado por Mandelli et al., (1975) demostraron que no produce efectos negativos durante el parto.

Otro tipo de estudios se han encaminado a determinar su metabolismo y pocas han sido las investigaciones sobre los efectos que pudieran producir las benzodiazepinas en el desarrollo fetal.

Idänpään-Heikkilä et al., (Op. Cit.), Erkkola et al., (1974) y Mandelli et al. (Op. Cit.), determinaron que el Diazepam y sus metabolitos como el N demetil diazepam, atraviesan fácilmente la barrera placentaria al final del primer trimestre del embarazo y rápidamente se acumulan en los fetos tanto humanos como de animales de laboratorio, debido a que la placenta es permeable a fármacos que como el Diazepam, tienen bajo peso molecular (menor de 1,000) y en general pasan por difusión; sin embargo, otras drogas, pasan al torrente sanguíneo fetal por transporte activo o pinocitosis.

Van de Kleijn (1969) e Idänpään-Heikkilä et al., (Op. Cit.) investigaron la distribución del Diazepam marcado con C^{14} en los tejidos fetales, encontrando que se fija a la grasa parda o glándula interescapular de los roedores y a la grasa que rodea a los riñones y al epidídimo, con lo que se comprobó ser una droga altamente lipofílica.

Van der Kleijn (Op Cit.) encontró además, una rápida-

transferencia de la droga a través de la placenta y su fijación en altas concentraciones a otros tejidos fetales, especialmente en el miocardio, la musculatura cervical, las glándulas adrenales y los riñones. En el cerebro se acumula especialmente en la materia gris de la corteza cerebral, en la sustancia blanca del cuerpo calloso, del cerebro medio, del cerebelo y de la médula espinal y en los nervios periféricos como el óptico, el trigémino y los espinales.

Asimismo, se localizó en el hígado y en las mucosas del estómago y del intestino; en este último se observó una absorción lenta. En el bazo y el aparato reproductor masculino no se detectaron concentraciones de importancia, pero sí lo fueron en los ovarios y en particular en los cuerpos lúteos.

Además, Idänpään-Heikkilä y col. (Op. cit.) realizaron un experimento semejante para estudiar la transferencia del Diazepam marcado con C^{14} y sus metabolitos mediante la técnica de cromatografía de capa fina, en los tejidos de ratones, cuyos y monos, demostrando que atraviesa la barrera placentaria en las tres especies estudiadas.

En el ratón el paso es más rápido al final de la gestación, debido a que la barrera placentaria se adelgaza a medida que transcurre el embarazo y en este período se observó que una hora después de la aplicación del Diazepam radioactivo, del 76 al 86% de sus metabolitos se encontraron en la sangre de los fetos. En el mono se observó que media hora después de la aplicación se depositó en altas concentraciones en el hígado, la médula

espinal, el cerebro, los riñones, los pulmones y en la grasa.

Esto demuestra que la barrera placentaria es más efectiva en los ratones y cuyos que en los monos, cuantificando una concentración más alta en los tejidos fetales del mono.

Los mismos autores mediante cromatografía de gas determinaron los niveles sanguíneos del Diazepam en el cordón umbilical humano en las primeras etapas del embarazo y después de la aplicación por vía endovenosa e intramuscular durante el parto, encontrando la máxima concentración en la sangre extraída a los 30 minutos de la inyección intramuscular, lo cual indica una rápida absorción de la droga, que disminuyó durante las siguientes 5 a 6 horas, postulando que esta desaparición gradual, puede ser causada por su acumulación en los tejidos.

En la placenta la más alta concentración fue detectada una hora después de la administración y en el líquido amniótico se observó una baja acumulación.

En los tejidos fetales se demostró que la máxima concentración se alcanza a los 60 minutos de la administración. En este tiempo el tracto gastrointestinal, el hígado y el cerebro fetales, mostraron una elevada concentración. A las 6 horas en el cerebro fetal y el hígado se mantuvieron los niveles altos, mientras que ocurría una disminución de la concentración total en el feto, que es explicable por una posible eliminación del compuesto por vía placentaria.

El estudio fisiológico realizado por Scher et al.; (1972) en la especie humana, mostró una disminución de las oscilaciones que en la frecuencia cardíaca fetal normalmente se presentan y son de 23, a 7 latidos por minuto en los fetos cuyas madres fueron tratadas con la droga. Encontrando además - que se recuperan dichas oscilaciones a los 65 minutos.

Se realizaron las pruebas de Apgar; consistentes en observar el tono muscular del producto, la respiración, el llanto, la coloración de la piel y la frecuencia cardíaca, en los niños a cuyas madres se les administró por vía endovenosa 20 mg durante el parto. El Apgar, 5 minutos después del nacimiento, fue bajo en la mayoría de los casos y sólo alcanzó una calificación de 5 a 6 de una escala de 10, con excepción de dos niños que tuvieron de 3 a 5, pero en estos últimos, los autores discuten si el resultado tan bajo se deba al Diazepam o a otras complicaciones que se presentaron durante el parto.

Flowers et al., (1969), Owen et al., (1972), Shannon et al., (1972), André et al., (1973), Cree et al., (1973), Mc Carthy et al., (1973) citados en Mandelli et al., (1975), también consignaron en niños recién nacidos resultados bajos en las pruebas de Apgar, como consecuencia de la administración del Diazepam a las madres, 24 a 48 hrs antes del parto, además de manifestaciones de hipotonía e hipotermia, depresión respiratoria y neurológica.

Hammacher et al., (1969) citado en Scher et al., (1972), creen que estas alteraciones, tanto en la frecuencia cardíaca,

Como en los resultados de la prueba de Apgar, pueden deberse a una reducción de la capacidad adaptativa del corazón fetal y del sistema circulatorio causados por el Diazepam, que además produce el llamado "sueño fetal" a consecuencia de una depresión del sistema nervioso central.

Idänpään-Heikkilä, y colaboradores, explican la temporal hipoactividad e hipotonicidad que se observó en los niños recién nacidos de madres a las que se les administró Diazepam durante el parto, se debe a la retención del fármaco en el cerebro, la médula espinal y los nervios periféricos fetales.

Sin embargo, Flowers et al., (Op. cit) y otros investigadores concluyeron que los resultados bajos en las pruebas de Apgar, se relacionan con la hipotonía provocada por el Diazepam directamente en el músculo esquelético, pues no detectaron depresión del sistema nervioso central.

En animales de laboratorio, Stenchever et al., (1975) realizaron un experimento con ratones de la cepa Balb C con el fin de estudiar los efectos del Diazepam durante la gestación y notaron que al administrarles 0.02 mg diariamente por vía oral, del primero al noveno día de la gestación, no se produjo ningún efecto nocivo durante el período de implantación, en cambio, cuando se les administró la misma dosis del quinto al décimo segundo día de la gestación, disminuyó significativamente el número de embriones implantados; este hecho probablemente se deba a que en el ratón la implantación es tardía y por lo tanto, el efecto de la dro

ga fue evidente en este período.

En ese mismo grupo de animales se registraron tres casos de focomelia y un aumento del peso de los fetos, que los autores lo atribuyen a un efecto directo de la droga en el metabolismo fetal.

Por otra parte, Miller et al, (1975) observaron que al administrárseles diariamente en los días décimosegundo, décimotercero y décimocuarto, dosis de 500 mg/Kg, se produjo una gran disminución en el peso fetal; en cambio a dosis de 400 mg/Kg administrados del décimoprimero al décimocuarto día, la disminución no es tan notable.

El mismo Miller y colaboradores comprobaron que la administración del fármaco produce una mayor frecuencia de paladar hendido, con una dosis de 140 mg/Kg administradas en los días décimoprimero, décimosegundo y décimotercero, concluyendo que debido a que el paladar en el ratón se cierra al décimoquinto día, la administración del fármaco cercano a estas fechas, indujo a la formación del paladar hendido, al evitar la fusión de los esbozos palatinos.

Además de este tipo de alteraciones, los mismos investigadores descubrieron 4 casos de anomalías esqueléticas, al administrar 500 mg/Kg en los días décimo al décimoquinto. Estas anomalías correspondieron al esternón hendido no osificado, osificación incompleta de las falanges y de los centros cervicales

proponen que estas alteraciones se deben principalmente a un retardo en el crecimiento y en la osificación.

Otras investigaciones fueron las efectuadas in vitro por Breen y Stenchever (1970), que mediante técnicas de microscopía electrónica observaron algunas alteraciones en fibroblastos humanos tratados en cultivo de tejidos, con diversas concentraciones de Diazepam, indagando que 1 μ /ml causa deformaciones en la membrana celular. También demostraron que in vitro e in vivo produce rupturas cromosómicas y retarda el crecimiento celular.

Este efecto sobre los cromosomas es de gran trascendencia, ya que las concentraciones del Diazepam detectadas en los tejidos de los animales de experimentación son comparables a las que han causado efectos nocivos en cultivo de tejidos aún cuando los autores consideran que las alteraciones in vivo podrían variar por estar sujetas a mecanismos homeostáticos.

II.- HISTOLOGIA DEL RIÑON DE RATON ADULTO

El riñón de los roedores está formado por un solo 16 bulo, que consiste en una pirámide medular con una cubierta de tejido cortical, por lo que se le ha dado el nombre de riñón - unilobular a diferencia del riñón humano formado por 6 a 18 16 bulos.

Su organización estructural es similar a la de otros mamíferos, puesto que presenta una porción secretora y una colectora sin embargo; existen algunas diferencias en cuanto a la longitud y grosor de los túbulos, el tamaño, el número de corpúsculos renales y las relaciones histotopográficas.

De la porción secretora la unidad estructural y funcional es la nefrona, la cual está constituida por:

I) Un corpúsculo renal (también conocido como el Corpúsculo de Malpighi) y que está formado por:

El glomérulo (penacho capilar) y la cápsula de Bowman.

II) El túbulo contorneado proximal

III) El asa de Henle y

IV) El túbulo contorneado distal.

La porción colectora está constituida por los túbulos arqueados y los rectos o papilares.

Macroscópicamente la corteza tiene un aspecto granuloso debido a los corpúsculos renales y a las porciones tortuosas

de los túbulos contorneados proximales y distales; en cambio la médula se ve estriada por la presencia de las porciones distales relativamente rectas, de los túbulos contorneados proximales y distales, las ramas ascendentes y descendentes de las asas de Henle y los túbulos colectores rectos.

Las estriaciones se distribuyen en forma de abanico desde el vértice de la pirámide medular hacia la corteza.

En algunas regiones de la corteza existen proyecciones radiales de tejido medular que forman los rayos medulares, constituidos por los túbulos colectores rectos que están rodeados por los túbulos contorneados proximales y distales de las nefronas, que por su trayecto tan tortuoso constituyen el llamado laberinto cortical.

Kriz et al, (1974) considera que estos rayos medulares pueden penetrar tan profundamente en la corteza que casi llegan a alcanzar la superficie renal. Este tejido representa, (en el riñon de ratón), aproximadamente un 26% del tejido total de la corteza y el 74% restante está integrado fundamentalmente por los corpúsculos renales y los túbulos contorneados proximales y distales de las nefronas.

En la corteza, los corpúsculos renales se encuentran distribuidos en 4 a 5 capas y corresponden a 3 tipos de nefronas, las más superficiales que se caracterizan por tener asas de Henle cortas, las mediales de asas medianas y las más profundas o yuxtamedulares, de asas de mayor longitud.

I) CORPUSCULO RENAL.

El corpúsculo renal o corpúsculo de Malpighi, como ya se mencionó; está formado por el glomérulo y la cápsula de Bowman.

El glomérulo es una estructura compleja que al microscopio fotónico se describió como un ovillo de asas capilares originadas en una arteriola aferente que desemboca en una arteriola eferente. Los glomérulos están rodeados por una cápsula de tejido epitelial, de doble pared conocida como la cápsula de Bowman. La pared interna de ésta se adosa íntimamente al endotelio de los capilares del glomérulo siguiendo su contorno. La externa es más gruesa y de forma más o menos esférica. Las dos capas están separadas por el espacio de Bowman, donde se recibe el filtrado glomerular.

La pared del glomérulo, esta constituida por tres capas: el endotelio de los capilares, la membrana basal del epitelio visceral de la cápsula de Bowman y el epitelio que recubre los capilares constituyendo la capa visceral o epitelio glomerular de la cápsula de Bowman.

El endotelio de los capilares glomerulares, es una capa que está en contacto directo con la sangre. En algunas regiones este tejido se adelgaza hasta formar poros, por los que pasan agua y macromoléculas con un peso mayor que el de las proteínas sanguíneas, lo que determina que esta capa no constituya la barrera de filtración del glomérulo.

La membrana basal fue estudiada por varios investigadores entre los que se encuentran Driessens et al, (1959) por medio de microscopía electrónica la observaron como una línea densa, continua, formada por material amorfo y filamentoso, que le confiere una gran resistencia.

Esta capa por su continuidad es considerada como la primera barrera filtrante, ya que generalmente no la atraviesan macromoléculas de mayor peso que el de las proteínas; sin embargo pueden llegar a pasar sustancias con peso molecular menor que el de las albúminas y las proteínas que posteriormente son reabsorbidas por las células de los túbulos contorneados proximales.

La capa visceral de la cápsula de Bowman, se encuentra constituida por células que tienen contacto con la pared capilar, mediante millares de pequeños procesos terminales que forman sistemas secundarios de ramificación de las células epiteliales. Por su morfología a estos procesos se les ha denominado podocitos.

Los cuerpos celulares de estos podocitos no se encuentran en contacto íntimo con los capilares; sino que sus prolongaciones citoplásmicas se extienden y se interdigitan sobre la membrana basal.

La capa visceral se continúa con el epitelio parietal de la cápsula de Bowman o epitelio capsular y está constituida por una capa de células delgadas que forman la pared de la cápsula.

En la raíz del glomérulo se localiza el aparato yuxtaglomerular, que consiste en un conjunto de células de la región media

de las arteriolas aferentes y se caracterizan por tener un citoplasma con gran cantidad de granulaciones.

Estas células solamente se pueden identificar en las paredes de la arteriola aferente, en donde está ausente la lámina interna elástica, por lo que se encuentran en contacto directo con la sangre.

También se ha observado que las células yuxtaglomerulares están asociadas con la llamada mácula densa, que son células epiteliales diferenciadas en la pared del túbulo contorneado distal, en el sitio en que se une a la rama ascendente del asa de Henle. Actualmente se desconoce el papel funcional de la mácula densa y la importancia de su relación con el aparato yuxtaglomerular.

Con respecto a estas células yuxtaglomerulares, Goormaghtigh (1939), basándose en observaciones morfológicas propuso que la estructura microscópica de sus células es indicadora de una función endócrina y concluyó que las granulaciones citoplásmicas correspondían a una sustancia hormonal la renina o bien a uno de sus precursores.

II) TUBULO CONTORNEADO PROXIMAL.

Es la estructura tubular circunvolucionada a la que desemboca la cavidad de la cápsula renal o de Bowman y en la vecindad con el corpúsculo renal sigue un trayecto sumamente tortuoso; sin embargo, al penetrar en la región medular es relati

vamente recto y se continúa con la rama descendente del asa de Henle.

La luz de los túbulos es muy amplia y está limitada por células epiteliales bajas, organizadas de acuerdo a un patrón regular, que descansa en una membrana basal anhistá y se continúa con la de la capa parietal de la cápsula de Bowman.

Friedberg (1960), con fines descriptivos ha dividido al soma de las células epiteliales en tres partes:

La basal, cercana a la membrana anhistá, considerada como la principal, la cual contiene al núcleo, los microsomas y las mitocondrias. La intermedia caracterizada por ser la zona en que se detectan abundantes vacuolas, gránulos citoplásmicos y las extensiones profundas del borde en cepillo y la porción apical organizada para formar el borde en cepillo de las células.

La superficie del epitelio está tapizada por abundantes microvellosidades que se proyectan hacia la luz del túbulo aumentando así el área de absorción, lo cual explica la extraordinaria capacidad que tiene este túbulo de reabsorción selectiva del filtrado glomerular hacia el torrente sanguíneo de la red capilar que lo rodea y formar la orina constituida principalmente por agua y productos nitrogenados de deshecho.

III) ASA DE HENLE.

Es un túbulo en forma de "U" que se proyecta hacia la región medular del riñón y tiene dos porciones, la descendente y la ascendente. La primera es la porción correspondiente a la

prolongación recta del túbulo contorneado proximal, se caracteriza por presentar un epitelio monoestratificado el cual se adelgaza gradualmente hacia el ápice del asa hasta constituir la porción más delgada de la misma, y una vez que el túbulo se ha incurvado continúa como la rama ascendente del asa, en la cual el epitelio va aumentando progresivamente de grosor hasta desembocar en la porción recta del túbulo contorneado distal. Desde el punto de vista fisiológico el asa de Henle actúa como un multiplicador osmótico de contracorriente.

IV) TUBULO CONTORNEADO DISTAL.

La rama ascendente engrosada del asa de Henle que se proyecta hacia el corpúsculo renal, se une a la porción recta del túbulo contorneado distal, tornándose tortuoso en la corteza y en el sitio de contacto con la raíz glomerular, se diferencia en una zona caracterizada por la presencia de gran cantidad de células con abundantes núcleos, conocida como mácula densa, de función aún desconocida.

Mediante estudios microscópicos se ha visto que la parte distal del túbulo difiere de la porción proximal en que es de menor longitud y sus células son más pequeñas en todas direcciones por lo que en los cortes histológicos se observan claramente sus núcleos, rodeados por escaso citoplasma, carecen del borde en cepillo y la cantidad de microvellosidades de la superficie interna es menor. Como consecuencia sus paredes son

delgadas y es mayor el diámetro de su luz. Distalmente desembocan en un túbulo arqueado que ya es parte de la porción colectora del riñón.

Cuando el filtrado glomerular llega a esta porción de la nefrona ya se ha reabsorbido aproximadamente el 85% de la totalidad del agua filtrada a nivel de la cápsula que debe retornar al torrente sanguíneo.

El 15% de filtrado glomerular restante pasa a través de las paredes de éste túbulo en cantidades variables dependiendo de las necesidades del organismo

) TUBULOS COLECTORES.

Los túbulos colectores son una serie de conductos que drenan la orina desde los túbulos contorneados distales provenientes de cada una de las nefronas y confluyen en un túbulo colector arqueado individual, a su vez, varios túbulos arqueados se vacían en un túbulo colector recto que desciende hacia la médula renal a nivel de la papila y de ahí al uréter. Además de esta función, se ha visto que los túbulos colectores tienen la capacidad de absorber pequeñas cantidades de agua.

Histológicamente se distinguen por ser conductos amplios, con luz de mayor diámetro y las paredes son de mayor grosor, las células se caracterizan por ser cilíndricas y descansar en una membrana basal anhistia.

III.- EMBRIOLOGIA DEL RIÑÓN DE RATÓN

En los mamíferos se desarrollan tres tipos de órganos excretores, el pronefros, el mesonefros y el metanefros; de estos órganos, los dos primeros son vestigiales y sufren una regresión temprana, en cambio el último persiste como riñón definitivo.

El pronefros es una estructura constituida por aproximadamente siete pares de túbulos y dos conductos pronéfricos o néfricos, que desembocan en la cloaca.

Entre el octavo y noveno día de la gestación el primer par de túbulos pronéfricos se desarrollan a partir de los nefrotomos localizados a nivel del séptimo par de somitas, como evaginaciones huecas, que pueden conservar la comunicación con el celoma o nefrostoma y cerca de éste, ocasionalmente se relaciona la pared del túbulo con una asa vascular que forma un glomérulo. El extremo distal ciego de cada túbulo se une a los conductos pronéfricos y se hace permeable.

Los otros seis pares de túbulos, se forman a partir de los nefrotomos siguientes, de la misma manera que lo hizo el primero, y éstos degeneran antes de que se diferencien los últimos.

Los conductos pronéfricos probablemente se forman por plegamiento del epitelio celómico de las crestas urogenitales, y avanzan cefalocaudalmente, hasta desembocar en la cloaca, a los diez y medio días.

En el ratón al igual que en el hombre, no se tienen evidencias de que el pronefros sea funcional, su principal papel es la organización del mesonefros y del metanefros.

El mesonefros aparece más tardíamente que el pronefros, pero lo hace antes de que terminen de diferenciarse los últimos túbulos pronéfricos, aproximadamente hacia el día doce.

Como preparación previa a la diferenciación del mesonefros, los nefrotomos situados del décimoctavo al vigesimoséptimo par de somitas, se fusionan longitudinalmente para formar los cordones nefrogénicos, dentro de los cuales quedan incluidos los conductos pronéfricos, que ahora reciben el nombre de conductos mesonéfricos o de Wolff.

Cerca de estos conductos, el tejido del cordón nefrogénico, forma pequeñas vesículas que adquieren una configuración piriforme, al acercarse a la pared de dichas estructuras, con la porción lateral sólida, que cuando se pone en contacto con los conductos mesonéfricos se hace permeable. A continuación cada vesícula se alarga, adoptando la forma de "S", a la vez que un ovillo de capilares se diferencian en un glomérulo, que es rodeado por el extremo distal del túbulo, para formar la cápsula de Bowman con su doble pared, quedando constituido así un corpúsculo renal. La porción intermedia del túbulo se elonga, originando el equivalente a los túbulos contorneados proximal y distal de las nefronas del riñón adulto, sin que haya la diferenciación del asa de Henle.

Los capilares glomerulares se desarrollan in situ, se anastomosan con arteriolas derivadas de las ramas laterales de las aortas dorsales y drenan después de formar un plexo alrededor del túbulo contorneado, a nivel de las vénulas que desembocan en la vena cardinal posterior.

Las nefronas del mesonefros se diferencian cefalocaudalmente, siendo las primeras torácicas, un par por cada segmento inicialmente y posteriormente se desarrollan 2 a 3 por segmento.

Al igual que sucedió con los túbulos pronéfricos, los primeros túbulos mesonéfricos empiezan a degenerar hacia el décimotercer día, antes de que aparezcan los últimos.

Por su estructura, se piensa que el mesonefros es funcional, aún cuando no es indispensable que lo sea, pues el tipo de placenta del ratón es de las más eficientes que se conocen para la eliminación de los productos nitrogenados de deshecho del embrión.

Solo los últimos túbulos mesonéfricos después de perder sus corpúsculos renales persisten asociados al testículo, como túbulos eferentes y los conductos mesonéfricos dan origen a los conductos deferentes, al conducto del epidídimo y a los conductos eyaculadores. En la hembra degeneran casi íntegramente quedando unos remanentes cerca de los ovarios y a los lados del útero que no tienen importancia funcional.

Hacia el día trece de la gestación, a nivel del vigésimo sexto par de somitas de cada conducto mesonéfrico, se forma una

vaginación que crece hacia el cordón nefrogénico, el cual le forma un casquete de blastema, que es el tejido metanefrogénico. Estos brotes son los esbozos ureterales o metanefrogénicos que se ramifican en el interior del blastema metanefrogénico, para originar el sistema colector del riñón definitivo.

La porción distal de los túbulos colectores rectos presenta un ensanchamiento llamado ampolla, que induce al tejido metanefrogénico que lo rodea para que se diferencie en pequeñas masas celulares que formarán nefronas, de la misma manera en que se originan las mesonéfricas, sólo que en este caso, el túbulo se organiza para formar las porciones descendente y ascendente del asa de Henle, que se proyectan hacia la futura región medular. Los túbulos rectos, al irse ramificando, desarrollan nuevas ampollas que inducen a la formación de las nuevas nefronas. La diferenciación de las porciones colectoras y secretoras, se produce en el ratón al día catorce de la gestación.

Pocas horas después, las tres primeras generaciones de nefronas comienzan a involucionar hasta que desaparecen, quedando únicamente en el sitio que ocupaban, tejido conectivo laxo que forma la región medular del riñón, en la que se alojan la mayor parte de los túbulos rectos y las asas de Henle. Al día dieciséis se distinguen con claridad la región cortical de la medular.

El blastema metanefrogénico desde el día quince origina la cápsula renal que rodea al riñón.

Los riñones, originalmente muy bajos y con el hilio en

posición ventral, al disminuir la curvatura caudal del feto y al crecer la pared infraumbilical, van ascendiendo y rotando, hasta que el hilio es medial y está colocado a nivel de las primeras vértebras lumbares.

Al día diecisiete el riñón tiene una tercera parte de las nefronas diferenciadas y es funcional, aún cuando esto no sea necesario para la eliminación de los productos nitrogenados puesto que, como ya se mencionó, la placenta es muy eficiente para sustituirlo en esta función, pero sí es importante que produzca orina, para la regulación de la cantidad de líquido amniótico.

IV.- OBJETIVO

Conociendo que el Diazepam es un tranquilizante muy -
útil, que se emplea incluso en las mujeres embarazadas, en las
que se sabe es capaz de atravesar la barrera placentaria y depo-
sitarse en los tejidos fetales, resulta de importancia trascen-
dental investigar si es una droga inócua o provoca efectos noci-
vos para los productos de madres que reciben tratamiento a base
de este fármaco durante el embarazo.

El principal objetivo de esta tesis es el de precisar,
si el Diazepam (Valium) que se fija al riñón de los fetos de ra-
tón, produce cambios histológicos que pudieran repercutir en la
fisiología renal posnatal y si existen éstos, se tratará de con-
firmar su validéz por medio de pruebas estadísticas.

V.- MATERIAL Y METODO:

Para este estudio se seleccionaron ratones de la cepa CD-1, tomando como parámetros el peso, que en las hembras vírgenes fluctuó entre los 25 y 30 gramos y en los machos de 30 a 35 gramos y la edad de 5 a 7 meses.

Los animales se aparearon de las 7 a las 8 de la mañana, en unidades reproductoras de 5 hembras por macho. En seguida se separó a los machos de las hembras y se comprobó la existencia del tapón vaginal que fue tomado como signo de inseminación y el inicio del desarrollo.

Se pesaron y marcaron a las hembras embarazadas, dividiéndose en 7 grupos, a 5 de los cuales, se les administró Diazepam (Valium) en diferentes dosis, al sexto, el disolvente del Diazepam que fue proporcionado por los laboratorios Roche y cuya fórmula química no fue revelada y al séptimo, suero fisiológico. En todos los casos la aplicación se hizo por vía intraperitoneal.

El volumen del disolvente del Diazepam y del suero fisiológico que se inyectó, fue el equivalente al que recibieron las hembras tratadas con las diferentes dosis del Diazepam.

Para los lotes a los que se les inyectó el Diazepam, se tomó como base la dosis de 10 mg, que aplicada a una mujer de 60 Kg, le provoca sedación e induce a la anestesia y que en el ratón es el equivalente a la aplicación de 166 μ /Kg. De acuer

do con esta relación se formaron los siguientes grupos:

GRUPO	DOSIS INYECTADA EN EL RATON	DOSIS EQUIVALENTE AL SER HUMANO
(V _{1.25})	41.5 γ /Kg.	2.5 mg/60 Kg
(V ₅)	166 γ /Kg	10 mg/60 Kg.
(V ₂₀)	664 γ /Kg.	40 mg/60 Kg.
(V ₄₀)	1.328 mg/Kg.	80 mg/60 Kg.
(V ₈₀)	2.656 mg/Kg.	160 mg/60 Kg.

Como ya se expuso anteriormente, se inyectó a las hembras gestantes cada 24 horas y se les pesó diariamente para tener un control de la evolución de la gestación.

El desarrollo embrionario de los ratones de la cepa CD-1 es de 18 días, por lo que se procedió a inyectarlas a partir del sexto día, que corresponde a la fecha de la formación de la línea primitiva, hasta el decimoséptimo, para comprobar si la droga pudiera tener algún efecto a nivel de los organizadores que inducen a la diferenciación del riñón.

Al decimoctavo día se procedió a sacrificar a los animales por decapitación. Se eligió este método puesto que se conoce que la administración de los anestésicos puede afectar la fisiología del tejido renal, debido a que pasan a través de la barrera placentaria.

Una vez decapitadas las hembras, se les practicó una laparotomía media supra e infraumbilical y se disecó el peritoneo hasta encontrar el útero, que también se disecó, dejando expuestos a los fetos, los cuales se contaron al igual que las reabsorciones correspondientes a cada cuerno uterino. Los fetos fueron liberados del corion y del amnios, para evitar la asfixia, se observó su morfología externa, para determinar si era normal o existían anomalías visibles macroscópicamente.

Posteriormente se procedió a realizar la disección de cada uno de los fetos, llevándose a cabo la extracción de los riñones que se pesaron, midieron y observaron macroscópicamente. Se fijaron durante 24 horas en los líquidos de Zenker, Helly y Formol al 10% amortiguado a pH 7.4.

Después de la fijación se lavaron y midieron longitudinalmente con un calibrador, se deshidrataron pasándolos por alcoholes graduales, se aclararon con toluol, e incluyeron en parafina y Paraplast a una temperatura de 58°C realizándose cortes de 5 μ de espesor.

Se utilizaron los métodos de coloración de Mallory y de Hematoxilina-Eosina, procediéndose a efectuar el estudio histológico que consistió en observar principalmente las características microscópicas y las determinaciones cuantitativas de los corpúsculos renales, presentes en los riñones de los ratones de los siete grupos estudiados; para ello se eligieron cortes de

La corteza renal del mismo espesor (5μ) y zonas equivalentes, en las que se hizo el conteo total de los corpúsculos renales en 10 campos seleccionados al azar, observándose en total entre 250 y 300 campos microscópicos de los riñones derecho e izquierdo de los fetos tratados con cada una de las cinco dosis de Diazepam empleadas, en el grupo del disolvente del Diazepam y el control tratado con suero fisiológico.

Con los datos obtenidos se realizaron estudios estadísticos del peso, la talla y el número de corpúsculos renales, por medio de una computadora digital PDP/11-40.

VI.- RESULTADOS HISTOLOGICOS

Al observar al microscopio los cortes transversales y longitudinales de la porción medial de los riñones de los fetos tratados con suero fisiológico, se distinguen con claridad las regiones cortical y medular, ya que el tejido que las integra presenta características morfológicas diferentes. (Fig. 1).

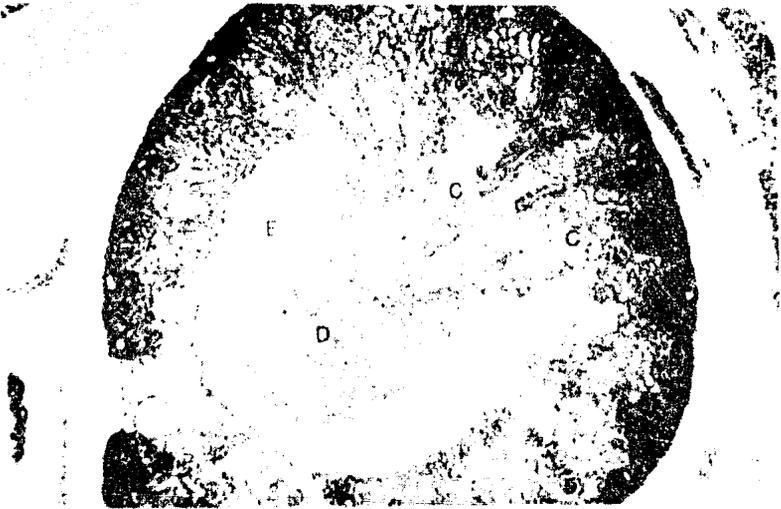


FIG. 1. Corte transversal de riñón de un feto de ratón de 18 días de edad, tratado con suero fisiológico, en el que se observan las regiones cortical (A), con el esbozo de los rayos medulares (B), la medula (C), la papila renal (D) y la pelvis renal (E). 100 x.

La corteza está constituida fundamentalmente por el túbulo metanefrogénico que hacia la periferia del riñón se organiza para formar una capa de tejido aún no diferenciado,

de aspecto granuloso, con una gran afinidad tintórea, en el que las células presentan núcleos muy voluminosos.

Adyacente a este tejido se proyecta el vértice de los rayos medulares formados por los túbulos colectores poco teñidos que se encuentran rodeados por un gran número de corpúsculos renales que están en diferentes estadios de desarrollo. (Fig. 2).

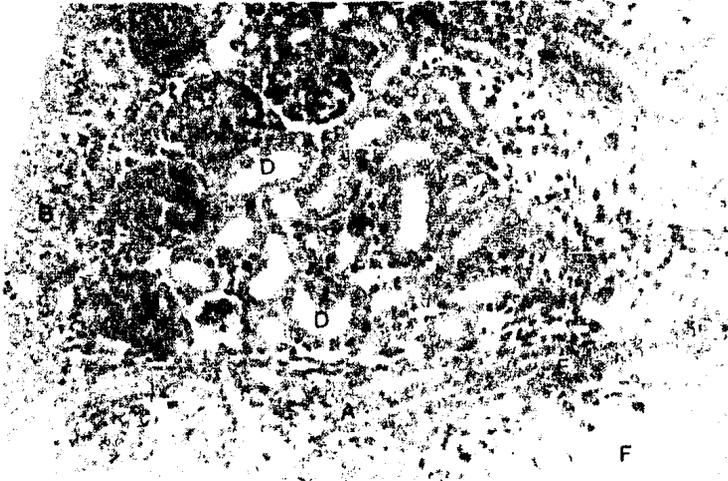


FIG. 2 Corte de riñón de un feto de ratón de 18 días de edad del grupo control, en el que se observa el esbozo de los rayos medulares (A) el blastema metanefrogénico (B), corpúsculos renales (C), túbulos contorneados (D), esbozos de las asas de Henle (E), y el mesénquima de la médula (F). 200x.

Los esbozos de las nefronas están constituidos por un conjunto de células mesodérmicas agrupadas en pequeñas esferas.

que aún no se relacionan con los capilares que darán origen a las arteriolas aferente y eferente que formarán un glomérulo. Otras de las nefronas en desarrollo, son piriformes o en forma de S y pueden identificarse fácilmente por la gran afinidad tintórea que presentan. (Fig. 3). También en la porción interna de la corteza se observan los primordios de las cápsulas de Bowman en las que se inicia la diferenciación de los capilares que forman a los glomérulos. La pared de los capilares es de naturaleza endotelial y sus células son pavimentosas con el núcleo que sobresale hacia la luz del vaso y están rodeadas por la capa interna o visceral del epitelio glomerular, compuesta por células voluminosas, esferoidales o cuboidales, con citoplasma escaso y un gran núcleo esférico. En las células de los corpúsculos renales de los fetos de ratón aún no se pueden distinguir las características típicas de los podocitos. (Fig. 4)

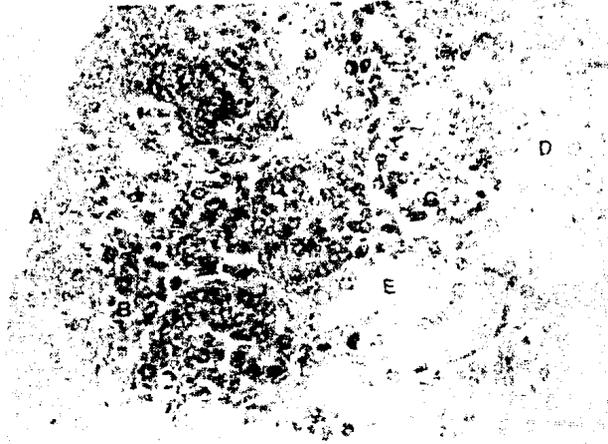


FIG. 3 Corte histológico de la corteza renal de un feto de ratón tratado con suero fisiológico, en el que se puede identificar, el esbozo de la cápsula renal (A) el blastema metanefrogénico con los primordios de las nefronas (B), corpúsculos renales ya diferenciados (C), cortes de túbulos concernidos proximales (D) y distales (E). 325 x.

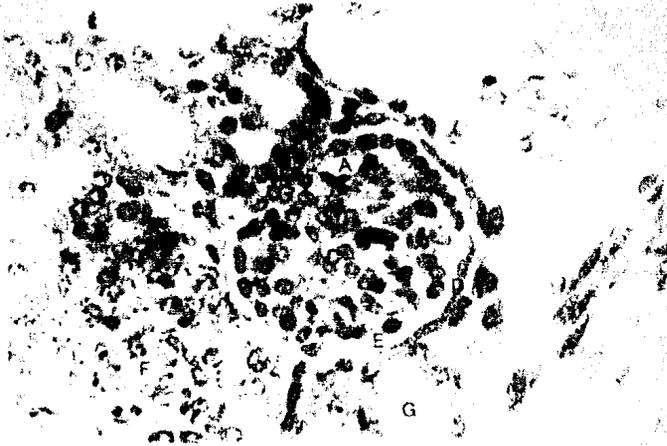


FIG. 4 Corte de un glomerulo de un feto de ratón del grupo tratado con suero fisiológico, se observan los capilares del glomerulo, el espacio capsular (A), la capa visceral de la cápsula (B) formada por los podocitos (b), las células mesangiales (c), la capa parietal de la cápsula de Bowman (D), el espacio de Bowman (E), cortes de los túbulos concernidos proximal (f) y distal (G) o probablemente el esbozo del aparato de glomerular y la mácula densa (H). 500 x.

En la porción central de los corpúsculos renales también se pueden identificar las células mesangiales que rodean a los capilares que no están cubiertos por los podocitos, y son células con núcleos menos teñidos, más pequeños y no tan esféricos como los de la capa visceral. (Fig. 4).

La capa parietal de la cápsula de Bowman presenta células aplanadas con escaso citoplasma en el que sobresalen los núcleos alargados, con cromatina finamente granulada y con 1 a 2 nucleolos. Esta capa es más o menos esférica y está separada de la visceral por un espacio que es llamado espacio de Bowman. (Fig. 4).

En cortes seriados se logra distinguir parte de la porción distal de las nefronas en desarrollo que se elongan hasta ponerse en contacto con los túbulos colectores rectos. De esta porción de la nefrona se desarrollaron los túbulos contorneados y las asas de Henle. (Fig. 2).

En la misma región cortical se pueden encontrar otras etapas intermedias del desarrollo de las nefronas y en particular de los corpúsculos renales, observándose que los principales cambios estructurales que sufren las células de la cápsula para alcanzar características semejantes a las definitivas son: en la capa parietal, una disminución del espesor de sus células que llegan a ser aplanadas y pavimentosas, con núcleos esféricos y citoplasma basófilo. En la visceral, las células siguen siendo

voluminosas pero la separación entre éstas es mayor, además de que se ha hecho más evidente el espacio de Bowman. (Fig. 4).

Con las técnicas histológicas utilizadas se pudieron distinguir hacia el polo vascular de algunos corpúsculos renales, pequeños acúmulos de células con núcleos grandes, citoplasma basófilo, con gran afinidad tintórea, que probablemente corresponden al esbozo del aparato yuxtaglomerular y la mácula densa. (Fig. 4).

Los corpúsculos renales yuxtamedulares son los primeros que empiezan a desarrollarse y por lo tanto serán los que logran más tempranamente la diferenciación total, incluso a nivel funcional.

En estas nefronas los túbulos contorneados proximales y distales pueden ser reconstruídos por medio de cortes seriados, por lo que se sabe que su trayecto es tortuoso. La diferencia fundamental entre los túbulos proximales y distales es el espesor de sus paredes, que es mayor en los primeros, y mediante la técnica de coloración de Mallory se pueden identificar en la superficie interna de su epitelio, una zona teñida con el azul de anilina, que está constituida por pequeñas proyecciones citoplásmicas que son el esbozo de las microvellosidades del borde en cepillo que las caracteriza. Sus células son ligeramente cilíndricas, en las que los límites celulares no son fáciles de distinguir, su citoplasma es acidófilo, el núcleo esférico con cromatina granulosa

y con 1 o 2 nucleolos. En general estos túbulos son muy abundantes y se observan rodeando a los corpúsculos renales. La luz es ligeramente menor que la de los túbulos contorneados distales, lo que se debe en parte al borde en cepillo. (Fig. 4).

Los túbulos contorneados distales son más cortos que los proximales y también se encuentran cerca de los corpúsculos renales y se pueden identificar por ser un poco menos circunvolucionados, además de tener células de menor espesor, con límites celulares más definidos, con citoplasma ligeramente basófilo y núcleos esféricos, un poco más grandes y más cercanos entre sí.

La pared interna de las células carece de borde en cepillo por lo que la luz es más amplia, como puede apreciarse en la figura 4.

La mayoría de las asas de Henle, aún permanecen en la región cortical y son fundamentalmente las de las nefronas yuxtamedulares siendo las primeras que penetran en la zona medular. La estructura histológica de las asas que no han llegado aún a la región medular, es muy similar a la de los túbulos contorneados en general, sólo que las células son ligeramente más bajas con citoplasma escaso, más basófilo y con mayor afinidad tinción, en el que el núcleo ocupa gran parte de las células. La luz de las asas es más estrecha, lo cual es fácil de observar tanto en los cortes longitudinales como en los transversales. (Fig. 2).

En toda la región cortical existen fibroblastos muy escasos que se localizan entre las nefronas y rodeando a los vasos sanguíneos.

En la misma región cortical se localizan los túbulos colectores arqueados a los que desembocan los túbulos contorneados distales y no son fáciles de identificar. En cambio, los túbulos colectores rectos se pueden distinguir claramente sobre todo por formar el eje de los rayos medulares que se proyectan hacia la corteza. (Fig. 5). Su pared está constituida por un epitelio cilíndrico simple con citoplasma claro y núcleo esférico.

La luz es amplia y como su nombre lo indica siguen un trayecto recto desde la médula hasta la parte profunda de la corteza, sin llegar a la superficie. (Figs. 5 y 6).

FALLA DE

ORIGEN.

SERVICIOS DE
MICROFILMACION.

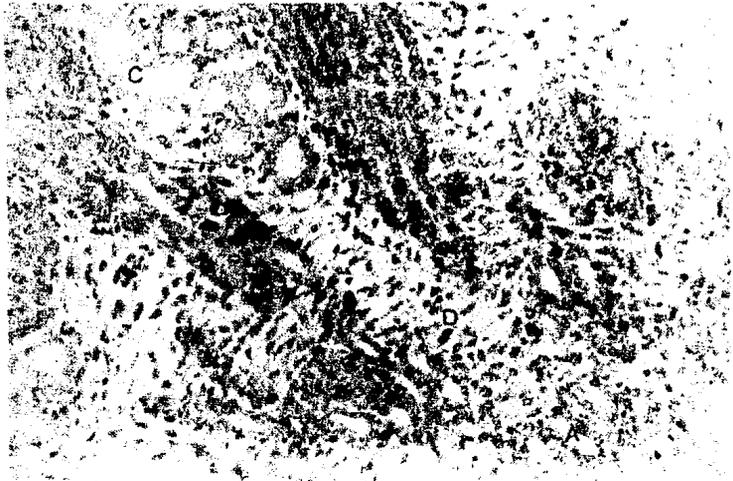


FIG. 5 Corte histológico de la región medular de riñón de un feto de ratón, en el que se distinguen los túbulos colectores rectos (A) que forman parte de los rayos medulares, esbozos de las asas de Henle (B), túbulos contorneados (C) y mesénquima de la médula (D) 192 x.

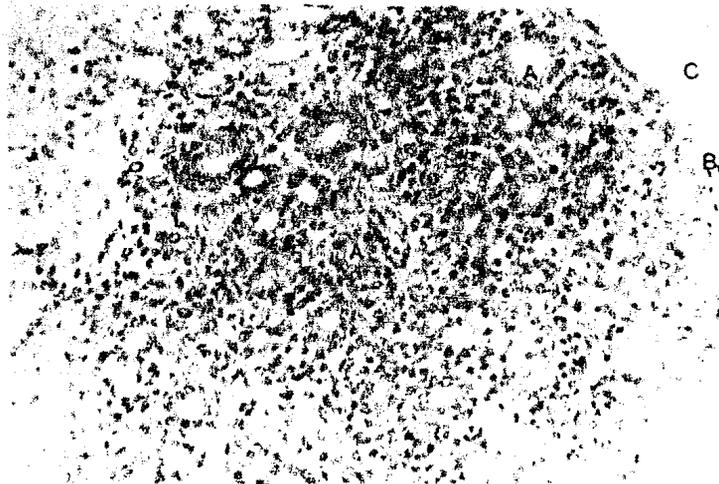


FIG. 6 Corte de la papila renal de un feto de ratón del grupo control en el que se observan abundantes cortes de los túbulos colectores rectos (A) y células mesoteliales (B) que revisten a la papila renal (C). 250 x.

La región medular está constituida principalmente por los túbulos colectores rectos, algunas porciones distales de las asas de Henle y por abundante tejido conectivo laxo, que en la porción cercana a la corteza, está formada por fibroblastos orientados con el eje mayor paralelo a la superficie externa del riñón y hacia la región más profunda, o sea que hacia la papila renal va perdiendo esta orientación y abundancia hasta formar un estroma menos laxo, que se distribuye entre los túbulos colectores rectos. (Figs. 5 y 6).

Tanto en los cortes transversales como en los longitudinales de la región medial del riñón, el tejido más superficial de la médula del riñón de un feto de ratón tiene una apariencia muy diferente a la del riñón adulto, pues falta que los túbulos colectores se ramifiquen más y que las asas de Henle lleguen hasta la médula, lo que causará una disminución notable de la cantidad de tejido conectivo laxo. Este se encuentra formado por fibroblastos que son fusiformes o estrellados con abundante material intercelular que se tiñe muy ligeramente y un núcleo alargado con cromatina finamente granulada oscura y 1 a 2 nucleolos.

Los túbulos colectores rectos que desembocan en la pirámide renal tienen las mismas características histológicas que las de la porción distal y se hallan cortados en sentido transversal y longitudinal a este nivel y desembocan en la

pelvis renal.

La pelvis renal está revestida por un mesotelio escamoso que se continúa con el epitelio de los túbulos colectores rectos y con el del uréter. (Fig. 6).

En el riñón fetal del ratón, la cápsula está formada por una sola capa de tejido conectivo, semejante al mesotelio de la pelvis renal (Fig. 6).

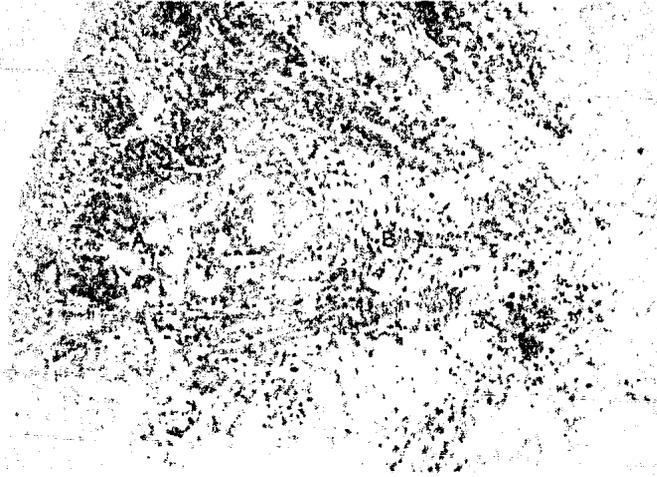


Fig. 6. Corte histológico de la corteza (A) y la médula (B) del riñón de un feto de ratón tratado con suero fisiológico, en el que se conserva el aspecto renal. 350 x.

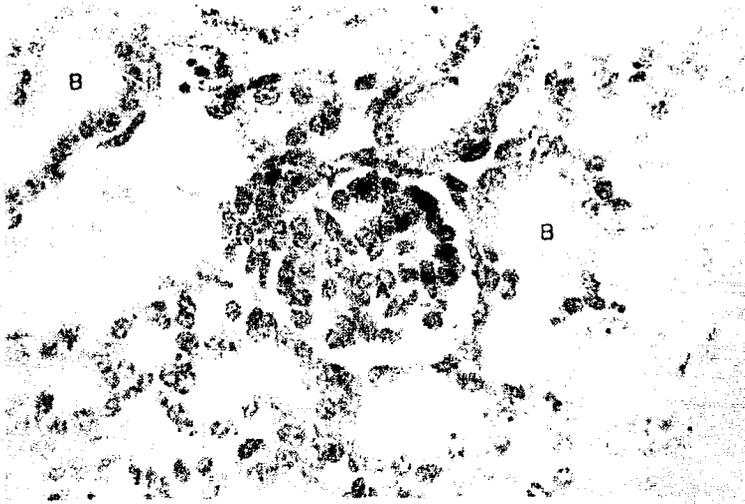


FIG. 8. Corte de un corpúsculo renal (A), de los túbulos contorneados (B) del riñón de un feto de ratón control. 500 x.

El disolvente del Diazepam no causó aparentemente modificaciones morfológicas del riñón y la apariencia del tejido es normal. (Figs. 9 y 10).

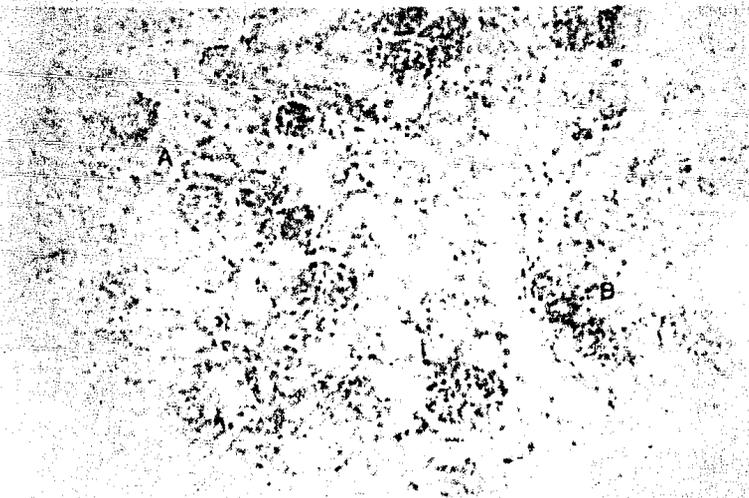


FIG. 9. Aspecto histológico de la corteza (A) y la médula (B) del riñón de un feto de ratón tratado con el disolvente del Diazepam. 170 x.

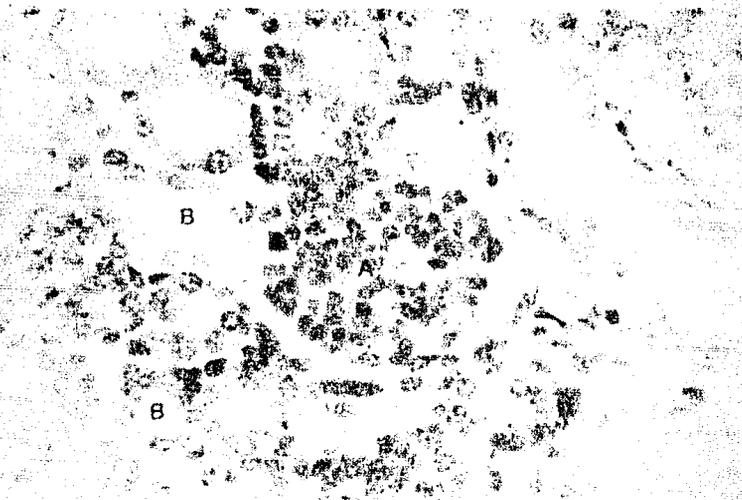


Fig. 10. Corte de un corpúsculo renal (A), los túbulos convolucio-
nados (B) del riñón de un feto de ratón tratado con
el disolvente del diazepam. 500 x.

con las dosis del diazepam (Valium) de 41.5 g/Kg (V_{1.25})
y de 160 g/Kg (V₅), las alteraciones histológicas no son muy
acentuadas y el aspecto del riñón es similar al de los riñones de
los fetos tratados con suero fisiológico. (Figs. 11 y 12, 13 y 14).

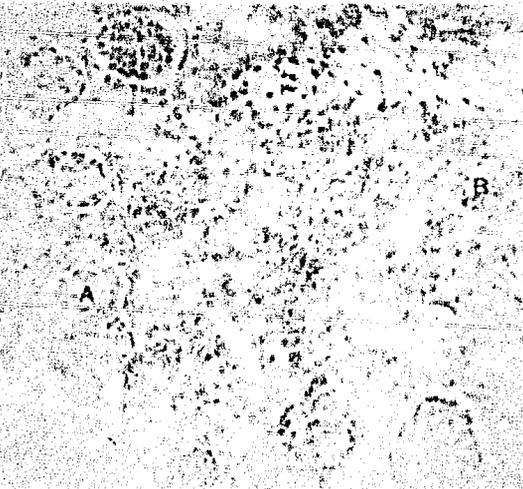


Fig. 11. Corte histológico del riñón de un feto de ratón tratado
con una dosis de diazepam de 41.5 g/Kg (V_{1.25}), en el
cual se observan la corteza (A) y la médula (B).
(B). 192 x.

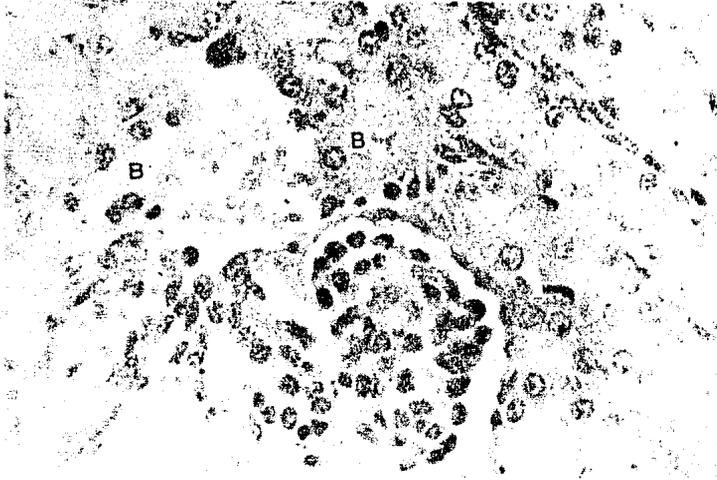


FIG. 1. Corpúsculo renal (A) y túbulo contorneado (B) del riñón de un feto de ratón del grupo tratado con una dosis de Diazepam de 41.5 μ /kg. (V. 1.25). 500 x.



Aspecto citoplásmico de la corteza (A) y zona (B) del riñón de un feto de ratón tratado con una dosis de Diazepam de 41.5 μ /kg. (V. 1.25). 192 x.

FALLA DE

ORIGEN.

SERVICIOS DE
MICROFILMACION.

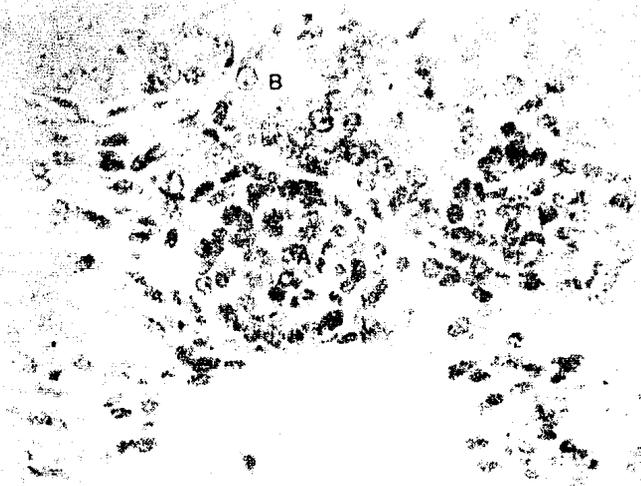


Fig. 14. Corpúsculos renales (A) y túbulo contorneado (B) de un feto de ratón del grupo V₅, tratado con la dosis terapéutica del Diazepam. (166 mg/kg). 500 x.

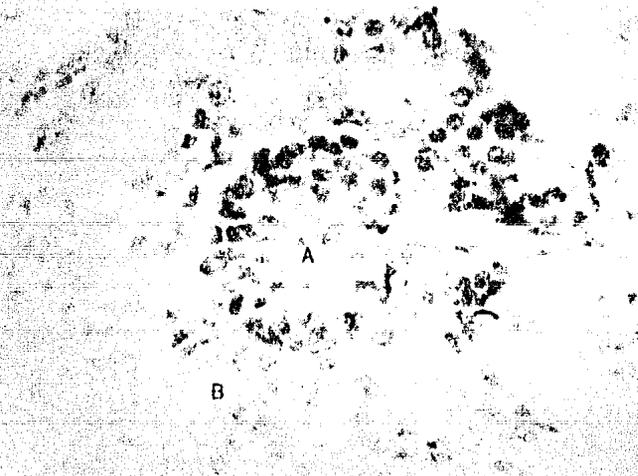
La principal diferencia histológica que se observó entre los riñones de los fetos de los ratones del grupo control (inyectados con suero fisiológico) y los inyectados con el diazepam consistió principalmente en la distorsión de las pautas normales de los túbulos de las nefronas y de los colectores de los riñones tratados con la dosis de 166 mg/kg (V₂₀), (Fig. 14).

En los túbulos de las nefronas, se observó el encogimiento de las células epiteliales, los túbulos por su tamaño con el aspecto de "tubo en U", con la presencia de vacuolas en las células epiteliales, lo que se atribuye a la distorsión de la estructura normal de los túbulos renales. En los túbulos contorneados, se observó la presencia de células epiteliales con núcleos hinchados y citoplasma hinchado, lo que se atribuye a la distorsión de la estructura normal de los túbulos renales.

renales tiene un aspecto que se aparta ligeramente de lo normal.
(figs. 15 y 16).

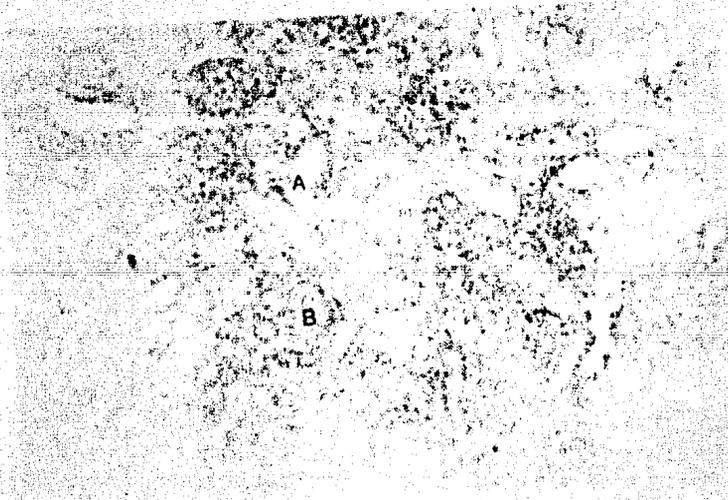


15. Corteza A) y médula renal del de un feto del grupo V20, tratado por una dosis de 664 γ (10g.) en el que se observan los túbulos contorneados (C) ligeramente edematizados. 190 x.



16. Médula renal del feto V20, en el que se observan los túbulos contorneados (A) y los corpúsculos renales (B) en la médula de un feto de 664 γ (10g.) de 120 días que se manifiesta una ligera edematización de las paredes de los túbulos y los corpúsculos renales. 200 x.

En los riñones de los fotos tratados con 40 i. los
 de los túbulos está ocupada, en gran parte por el citoplasma y
 el borde interno de las células no se distingue con claridad.
 También las células de los corpúsculos renales son edematosas y
 los núcleos se ven distorsionados. (Figs. 17 y 18).



Aspecto histológico de la corteza renal de un foto de ración del grupo 40, tratado con una dosis de Dioxopon de 1.320 mg/1 en el que se observan los túbulos con contornos edematosos y distendidos. (Fig. 17) un número menor de corpúsculos renales.

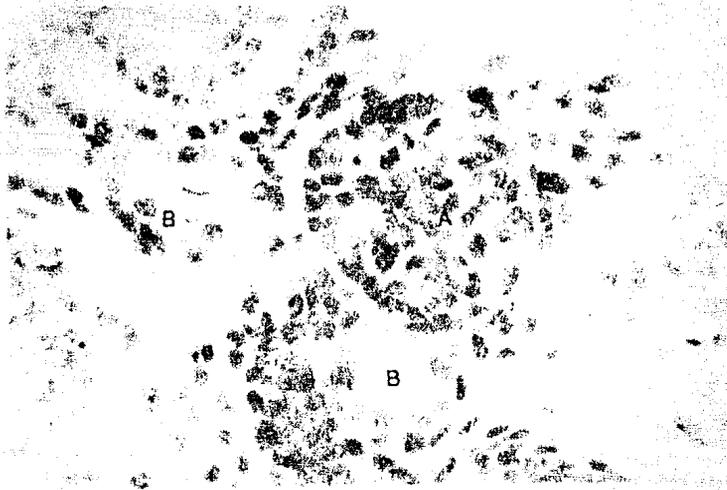


FIG. 18. Corpúsculo renal (A), túbulo contorneado (B) de un feto de ratón tratado con una dosis de Diazepam de 1.328 mg/kg (340). En estos se observan el citoplasma y los núcleos de las células edematosas. 500 x.

En el riñón de los fetos tratados con Vag se encuentran numerosos corpúsculos renales grandes con las paredes externas e interiores de la cápsula de Bowman edematizada con numerosas células, con el núcleo distorsionado. Los túbulo contorneados están distendidos con el citoplasma claro muy abundante, pero cuando se los mira al microscopio se distinguen con nitidez el borde interno de las células, los núcleos son de mayor tamaño y se ven con la cromatina difusa (Fig. 19 y 20).

En uno de los fetos se encontró un quiste en un riñón, en el cual se observó que se repitió el fenómeno.

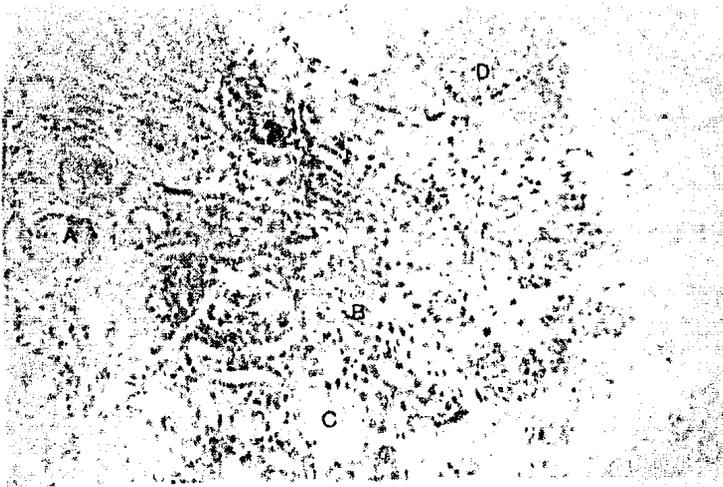


Fig. 19 Corte histológico de la corteza (A) y la médula (B) del riñón de un feto de ratón del grupo de V80, tratado con una dosis de Diazepam de 2.656 mg/Kg, en el que se observan los túbulos contorneados dis-
tendidos (C) y escasos corpúsculos renales (D).
192 x.



Detalle de un túbulo contorneado dis-
tendido, en el que se observan los
microvilli y el núcleo celular, de un feto de
ratón tratado con una dosis de Diazepam de 2.656
mg/Kg (V. 19). 500 x.

VII.- RESULTADOS DEL ESTUDIO ESTADISTICO.

En primer lugar se compararon las medias de los pesos del riñón derecho de los ratones inyectados con suero (S) con los tratados con el disolvente del Diazepam(T), encontrándose que las diferencias no son significativas a un nivel alfa de 0.05 por la prueba de t de "Student" por lo cual se procedió a comparar el peso de los riñones de los fetos tratados con las cinco dosis del Diazepam (Valium), con el grupo control (S) para ver si existían diferencias significativas.

La dosis que presenta un efecto menor y cuyos resultados se acercan al control (S) es la de $V_{1.25}$ sus medias son de 6.342 ± 1.267 mg y 6.031 ± 0.856 mg y no son significativamente diferentes a un nivel alfa de 0.05, pero sí lo es a 0.1.

La dosis de V_5 , da una media de 5.630 ± 0.730 mg, semejante a la de V_{80} que es de 5.709 ± 0.754 y en ambos casos el resultado de la comparación con el suero es significativa, a un nivel alfa de 0.05.

Con la dosis de V_{40} la media fue de 5.959 ± 0.753 mg que con respecto al grupo de suero, sigue mostrando diferencias significativas a un nivel alfa inferior a 0.05.

El grupo de V_{20} es el que presentó una diferencia mayor, ya que la media es de 5.522 ± 1.000 mg que da diferencias significativas aún a un nivel alfa menor de 0.0005.

Con estos resultados (Cuadro 1) se elaboró un histograma en el que es fácil visualizar las diferencias entre las medias de los siete grupos estudiados (Fig. 21 A)

CUADRO 1

PESO DEL RIÑÓN DERECHO en mg.

	V _{1.25}	V ₅	V ₂₀	V ₄₀	V ₈₀	T	S
MEDIA	6.031	5.63	5.522	5.959	5.709	5.974	6.342
DESV. ESTANDAR	0.856	0.730	1.000	0.753	0.754	1.225	1.267

Los datos de la prueba de t se comprobaron mediante el análisis de varianza, en el que se obtuvo una F de 3.183, con una diferencia significativa a un nivel alfa de 0.005.

Si se toma la media del peso del riñón derecho de suero como el 100 % del peso normal y se compara con los seis grupos restantes, se obtiene una idea clara de la proporción en que disminuye el peso, por acción del Diazepam y esto se muestra gráficamente en la figura 22 A.

CUADRO 2

PESO DEL RIÑÓN IZQUIERDO en mg.

	V _{1.25}	V ₅	V ₂₀	V ₄₀	V ₈₀	T	S
MEDIA	5.356	5.120	5.186	5.261	5.433	5.355	5.919
DESV. ESTANDAR	0.598	0.529	1.050	0.781	0.686	0.982	1.008

El cuadro 2 muestra las medias y las desviaciones estándar del peso del riñón izquierdo de los siete grupos estudiados que al ser analizados por la prueba de t dieron los siguientes resultados:

El peso promedio del grupo tratado con suero, fue de 5.919 ± 1.008 mg, que con respecto al del grupo tratado con el disolvente del Diazepam (T), 5.355 ± 0.982 mg resultó significativamente diferente a un nivel alfa menor de 0.05.

Las cinco dosis de Diazepam produjeron una disminución significativa a un nivel alfa inferior a 0.05, siendo el grupo de V_{80} el que resultó menos afectado, con una media de 5.433 ± 0.686 mg con una significación a un nivel alfa de 0.025, seguido en orden decreciente por el grupo de $V_{1.25}$ con una media de 5.356 ± 0.598 mg, con una diferencia significativa a nivel alfa inferior a 0.005, V_{40} con 5.261 ± 0.781 mg, V_{20} 5.186 ± 1.050 mg y por último V_5 con 5.12 ± 0.529 mg. En estos tres últimos el nivel alfa es inferior a 0.0005.

También en este caso se hizo un análisis de varianza, obteniéndose una F de 3.687 que resultó significativa a un nivel alfa de 0.0019.

La figura 21 B, muestra un histograma diseñado con las medias del peso del riñón izquierdo de los fetos de los siete grupos estudiados.

De la misma manera en que se trataron los resultados

en porcentajes del riñón derecho, se manejaron los del izquierdo según se muestra en la figura 22 B.

Se hizo la comparación del peso de los riñones derecho e izquierdo entre sí, destacándose que no hay diferencias significativas en el caso de los animales tratados con suero, obteniéndose un nivel alfa menor de 0.01, siendo las medias del peso del riñón derecho de 6.34 ± 1.267 mg y 5.91 ± 1.008 mg respectivamente.

Las diferencias más notables entre los pesos de los riñones derecho e izquierdo se encontraron con las dosis de V_{40} y $V_{1.25}$ en los que el nivel alfa es menor de 0.0005. En seguida esta T con un nivel alfa menor de 0.01 y V_5 con una significación a 0.05.

La diferencia menor se encontró entre los grupos de V_{80} y V_{20} y sólo fueron significativas a un nivel alfa de 0.1.

Al aplicar la prueba de t para determinar las diferencias que existen en cuanto a la longitud del riñón derecho, se encontró que con la dosis de $V_{1.25}$ disminuyó significativamente con respecto al suero, a un nivel alfa de 0.0005, ya que tiene medias de 2.689 ± 0.181 mm y 2.915 ± 0.259 mm respectivamente. La hipótesis de igualdad de medias entre V_{20} y V_{80} comparadas con el grupo control se rechaza aún a un nivel alfa de 0.005, puesto que sus medias son de 2.781 ± 0.211 mm y 2.753 ± 0.27 mm.

Comparando V_5 con suero, se rechaza la hipótesis de

igualdad de medias a un nivel alfa de 0.1.

Los grupos de V_{40} y T comparados con el S no presentan diferencias significativas a una alfa de 0.05 encontrándose significación a un nivel de 0.55 (Cuadro 3).

En la figura 23 A se representan gráficamente las medias y las desviaciones estándar de la longitud del riñón derecho de los fetos de los siete grupos estudiados.

Al aplicar análisis de varianza, se encontró que la F calculada es de 5.327, por lo que la hipótesis de igualdad se rechaza a 0.0001.

CUADRO 3

LONGITUD DEL RIÑÓN DERECHO en mm.

	$V_{1.25}$	V_5	V_{20}	V_{40}	V_{80}	T	S
MEDIA	2.689	2.846	2.781	2.909	2.753	2.864	2.915
DESV. ESTANDAR	0.181	0.267	0.211	0.172	0.270	0.237	0.259

La figura 24 A muestra en porcentaje la proporción en que es más pequeño el riñón derecho de los grupos tratados con Diazepam y su disolvente (T) con respecto al control (S).

Al igual que en el riñón derecho, en el izquierdo de $V_{1.25}$ la longitud comparada con el grupo de suero presenta diferencias significativas a un nivel alfa menor de 0.0005, ya que las medias respectivas son de 2.643 ± 0.177 mm y 2.888 ± 0.1782 mm. La longitud también disminuyó significativamente a niveles

alfa de 0.005, en el grupo de V_{20} con una media de 2.782 ± 0.183 mm. en V_{80} la diferencia es significativa a 0.025 y con respecto a V_{40} lo es a 0.5.

La hipótesis de igualdad de medias no se rechaza entre los grupos de V_5 y S, encontrándose la diferencia a un nivel alfa de 0.40 y entre (T) y (S) el nivel es de 0.30 (Cuadro 4).

CUADRO 4

LONGITUD DEL RIÑÓN IZQUIERDO en mm.

	$V_{1.25}$	V_5	V_{20}	V_{40}	V_{80}	T	S
MEDIA	2.643	2.869	2.782	2.814	2.761	2.862	2.888
DESV. ESTANDAR	0.177	0.256	0.183	0.207	0.236	0.241	0.178

El histograma de medias y desviaciones estándar de la longitud del riñón izquierdo de los fetos, muestra las diferencias que existen entre los grupos estudiados. (Fig. 23 B)

Por medio de análisis de varianza se comprobó que las diferencias entre la longitud del riñón izquierdo de los fetos de los grupos estudiados son altamente significativas, pues la hipótesis se rechaza a un nivel alfa de 0.0002 ya que la F calculada es de 6.317.

En la figura 24 B se representan gráficamente las diferencias porcentuales que existen entre el riñón izquierdo del grupo control (S), tomando como el 100 % y el riñón izquierdo de los grupos tratados con el disolvente y con las cinco dosis del Diazepam.

Al comparar la longitud de los riñones derecho e izquierdo, se encontró que sólo hay diferencias significativas con las dosis de V_{40} y a un nivel alfa de 0.025, siendo las medias de 2.909 ± 0.172 mm el derecho y 2.814 ± 0.207 mm el izquierdo.

Con respecto a $V_{1.25}$ las diferencias son significativas a un nivel alfa de 0.15 y las dosis de V_5 , V_{20} , V_{40} , V_{80} y S, las diferencias son mínimas y la zona de rechazo se encuentra entre t.55 y t.70.

Al comparar el número de corpúsculos renales del riñón derecho de los grupos experimentales con el control S se encontró que hay diferencias significativas a un nivel alfa de 0.0005 entre V_{80} con una media de 5.1 ± 2.693 , V_{40} con 5.5333 ± 1.852 y $V_{1.25}$ con 6.15 ± 2.3005 con respecto al grupo control que tiene una media de 8.833 ± 2.587 . El grupo de V_5 también es significativamente diferente a un nivel alfa de 0.005 y su media es de 6.8 ± 2.587 .

La media del número de corpúsculos renales del riñón derecho tratado con V_{20} es de 7.5 ± 2.909 y la hipótesis de igualdad de medias solo se rechaza a un nivel alfa de 0.1. Entre el grupo tratado con el disolvente del Diazepam y el de suero no hay diferencias significativas pues solo se rechaza a un nivel alfa de 0.40. (Cuadro 5)

CUADRO 5

NUMERO DE CORPUSCULOS RENALES DEL RIÑON DERECHO
CONTADOS a 40 x

	V _{1.25}	V ₅	V ₂₀	V ₄₀	V ₈₀	T	S
MEDIA	6.150	6.800	7.5	5.533	5.100	8.600	8.833
DESV. ESTANDAR	2.3005	2.587	2.909	1.852	2.693	2.143	2.587

En la figura 25 A están representadas gráficamente las diferencias que existen entre las medias y las desviaciones estándar del número de corpúsculos renales del riñón derecho de los grupos estudiados.

Por medio del análisis de varianza se comprobó que hay diferencias significativas a un nivel alfa de 0.000001 ya que la F calculada es de 8.222.

En la figura 26 A se representan las diferencias porcentuales del número de corpúsculos renales de los grupos experimentales comparados con el control.

En el riñón izquierdo el grupo que tiene menor número de corpúsculos renales es el de V₄₀ con media de 5.95 ± 3.363 y la hipótesis de igualdad de medias comparada con el grupo de suero que tiene una media de 8.8 ± 1.794 se rechaza a un nivel alfa de 0.01 y a este mismo nivel se rechaza el grupo de V_{1.25} con media de 6.433 ± 2.69 con respecto al de suero. V₅ tiene una media de 6.2667 ± 2.462 y la hipótesis nula se rechaza a 0.05. V₂₀ con media de 6.3 ± 3.743 y V₈₀ con 6.667 ± 2.353 sólo se rechazan

a un nivel alfa de 0.05 y entre T con 7.7 ± 2.202 y S la diferencia es nula a 0.01.

(Cuadro 6)

CUADRO 6

NUMERO DE CORPUSCULOS RENALES DEL RIÑÓN IZQUIERDO

CONTADOS a 40 x

	V _{1.25}	V ₅	V ₂₀	V ₄₀	V ₈₀	T	S
MEDIA	6.433	6.2667	6.300	5.95	6.667	7.7	8.8
DESV. ESTANDAR	2.6997	2.462	3.743	3.363	2.353	2.202	1.794

La figura 25 B es un histograma construido con las medias y las desviaciones estándar del número de corpúsculos renales del riñón izquierdo de los grupos estudiados.

Por medio del análisis de varianza se calculó una F de 2.242, encontrándose que se rechaza la hipótesis de igualdad a un nivel de 0.041.

El histograma de la figura 26 B muestra las diferencias porcentuales que existen entre los grupos experimentales y el control.

Al hacer la comparación del número de corpúsculos renales de los riñones derecho e izquierdo se encontró que solo en el grupo de V₈₀ se tienen diferencias significativas, a un nivel de 0.025 y que en los demás grupos, sin incluir el de suero, la hipótesis de igualdad de medias se rechaza a un nivel de 0.05.

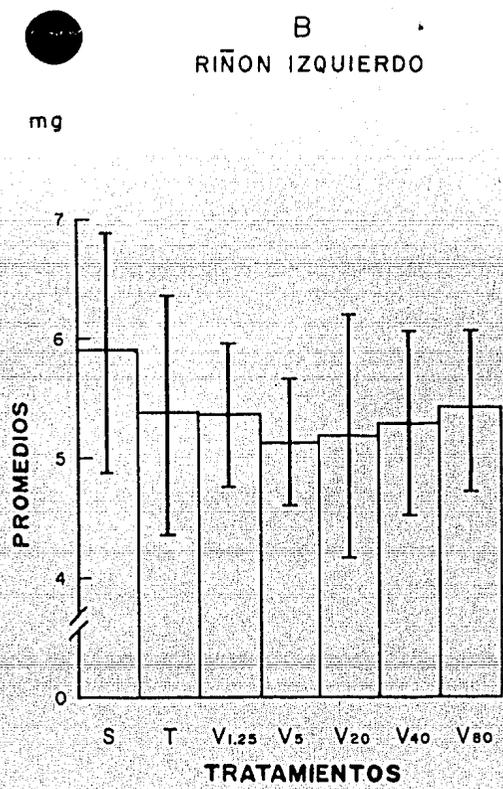
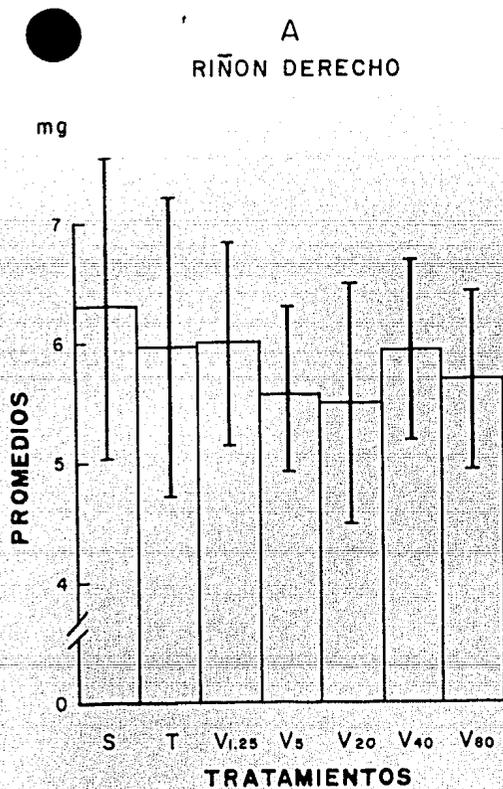
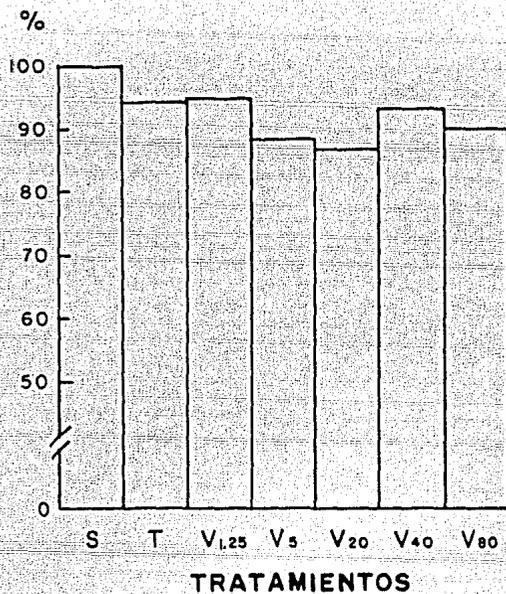


FIG. 21 - MEDIAS DE LOS PESOS DE LOS RIÑONES DERECHO (A) E IZQUIERDO (B) DE LOS FETOS DE LOS RATONES TRATADOS CON SUERO FISIOLÓGICO (S), EL DISOLVENTE DEL VALIUM (T) Y LAS CINCO DOSIS DE VALIUM, 41.5 γ /KG (V_{1.25}), 166 γ /KG (V₅), 664 γ /KG (V₂₀), 1.328 mg/KG (V₄₀) Y 2.656 mg/KG (V₈₀). LAS LINEAS VERTICALES INDICAN LA DESVIACION ESTANDAR.

A
RIÑON DERECHO



B
RIÑON IZQUIERDO

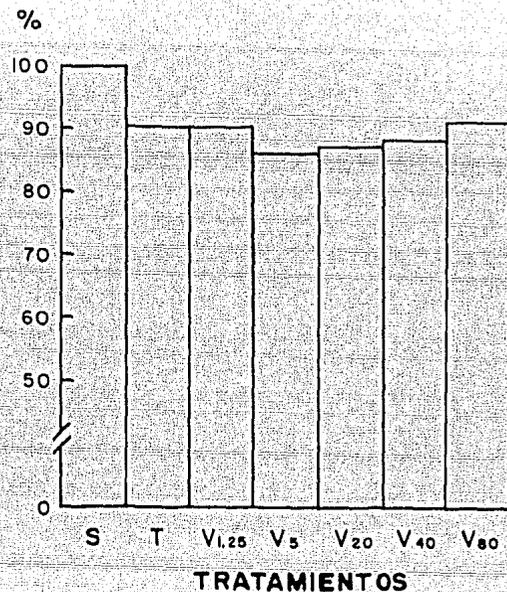


FIG. 22 - PORCENTAJES DE LAS DIFERENCIAS DEL PESO DE LOS RIÑONES DERECHO (A) E IZQUIERDO (B) DE LOS FETOS DE RATON TRATADOS CON SUERO FISIOLOGICO (S), EL DISOLVENTE DEL VALIUM (T) Y CON LAS CINCO DOSIS DE VALIUM, V_{1.25}, V₅, V₂₀, V₄₀ Y V₈₀.

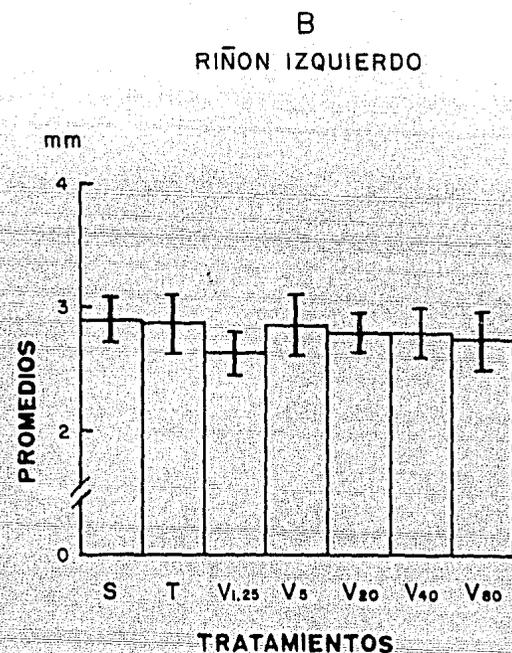
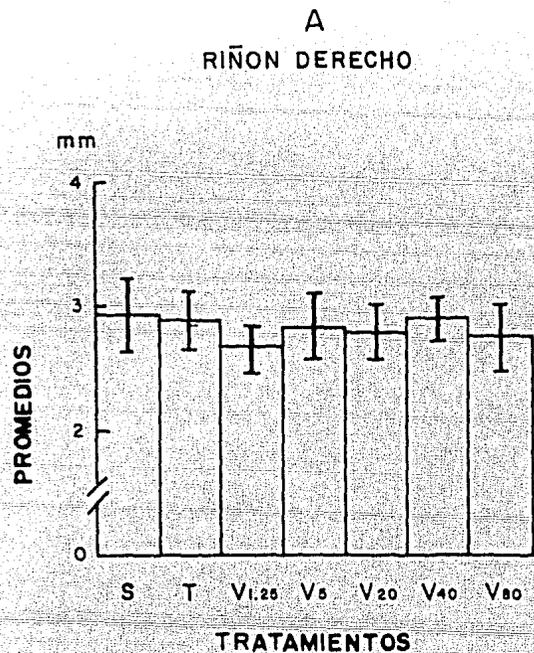
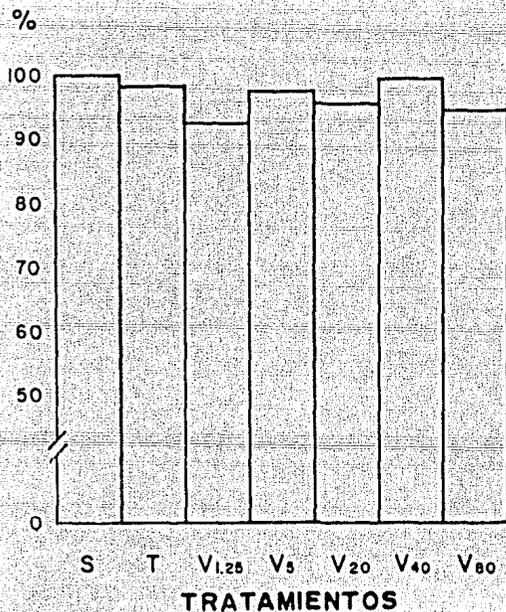


FIG. 23 - MEDIAS DE LA LONGITUD DE LOS RIÑONES DERECHO (A) E IZQUIERDO (B) DE LOS FETOS DE RATON TRATADOS CON SUERO FISIOLÓGICO (S), EL DISOLVENTE DEL VALIUM (T) Y LAS DOSIS DE VALIUM DE 41.5 μ /KG (V_{1.25}), 166 μ /KG (V₅), 664 μ /KG (V₂₀), 1.328 MG/KG (V₄₀) Y 2.656 MG/KG (V₈₀). LAS LINEAS VERTICALES INDICAN LA DESVIACION ESTANDAR.

A
RIÑÓN DERECHO



B
RIÑÓN IZQUIERDO

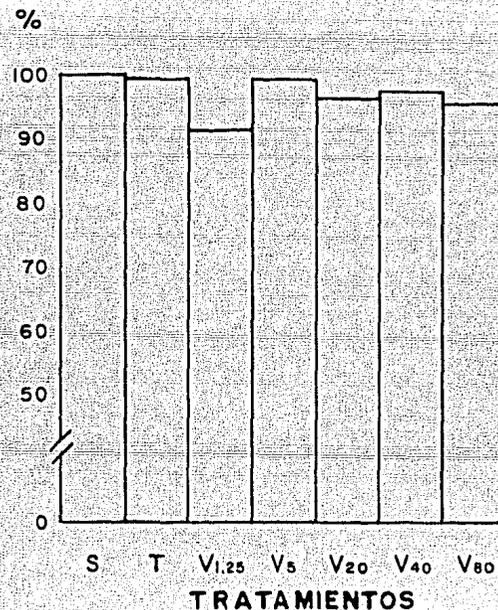


FIG. 24 - HISTOGRAMAS QUE MUESTRAN EN PORCENTAJE LAS DIFERENCIAS QUE EXISTEN ENTRE LA LONGITUD DE LOS RIÑONES DERECHO (A) E IZQUIERDO (B) DE LOS FETOS DE RATON TRATADOS CON SUERO FISIOLOGICO (S), EL DISOLVENTE DEL VALIUM (T) Y LAS CINCO DOSIS DE VALIUM V_{1.25}, V₅, V₂₀, V₄₀ Y V₈₀.

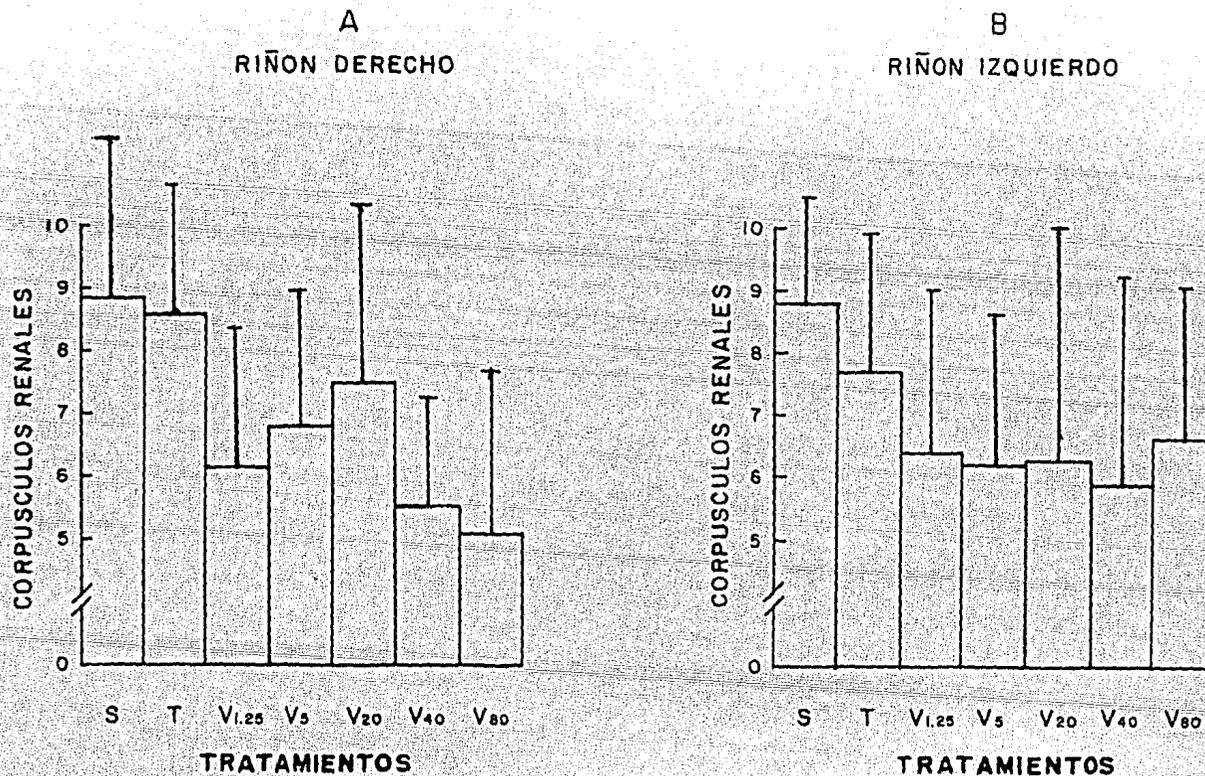
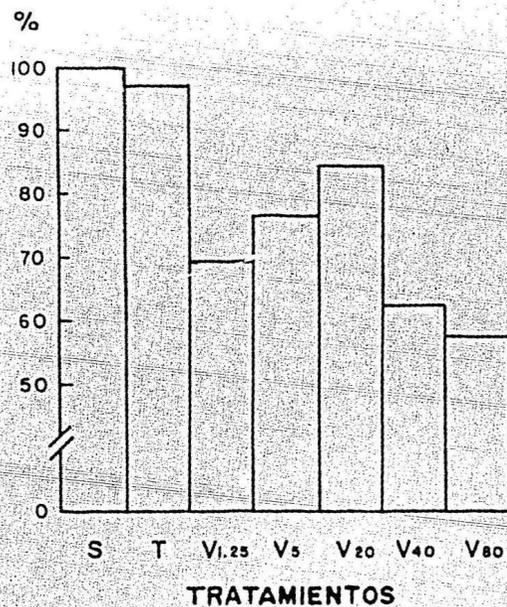


FIG 25 - HISTOGRAMAS DE LAS MEDIAS DEL NUMERO DE CORPUSCULOS RENALES DE LOS RIÑONES DERECHO (A) E IZQUIERDO (B) DE LOS FETOS DE RATON, TRATADOS CON SUERO FISIOLÓGICO (S), EL DISOLVENTE DEL VALIUM (T) Y CON V_{1.25}, V₅, V₂₀, V₄₀ Y V₈₀.

A
RIÑÓN DERECHO



B
RIÑÓN IZQUIERDO

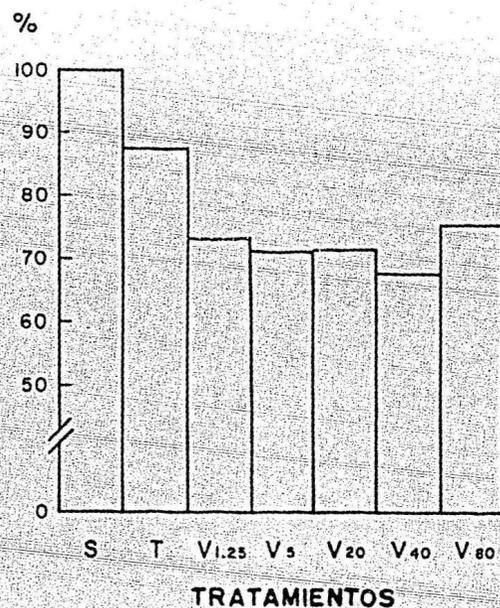


FIG. 26 - HISTOGRAMAS QUE MUESTRAN EN PORCENTAJE, LAS DIFERENCIAS DEL NUMERO DE CORPUSCULOS RENALES DE LOS RIÑONES DERECHO (A) E IZQUIERDO (B) DE LOS FETOS DE RATON TRATADOS CON SUERO FISIOLOGICO (S), EL DISOLVENTE DEL VALIUM (T) Y V_{1.25}, V₅, V₂₀, V₄₀ Y V₈₀,

VIII. - DISCUSION Y CONCLUSIONES

Los resultados del estudio histológico indican que por medio de microscopía fotónica no es posible demostrar la existencia de daños renales tisulares en los fetos tratados con Diazepam. Sin embargo, no se puede descartar la posibilidad de que existan, ya que Breen y Stenchever (1970), estudiando fibroblastos cultivados con Diazepam, tampoco pudieron observar cambios morfológicos visibles con el microscópio fotónico; pero al continuar su estudio con el microscópio electrónico de transmisión, hallaron alteraciones en el aparato de Golgi que era muy abundante, el retículo endoplásmico rugoso estaba distendido y presentaba dilataciones irregulares que contenían material electrodens, apareciendo con frecuencia vesículas citoplásmicas que contenían pequeñas esferitas o estructuras electrodensas largas e irregulares, así como elementos membranosos irregulares cuyo número y complejidad varió con las diferentes dosis, aun cuando no se encontró una relación directa dosis-efecto de acuerdo con las concentraciones de la droga.

También detectaron un retardo en el crecimiento de las células y una reducción de la actividad mitótica en los cultivos de fibroblastos. La dosis menor del Diazepam que administraron correspondió a 0.1 μ /ml, en donde la morfología de la mayor parte de las células cultivadas no pareció diferir de la que presen

taron las poblaciones celulares controles; sin embargo, tanto en la minoría de las células alteradas como en las tratadas con las dosis de 1,10 y 20%/ml, las alteraciones fueron mayores.

Estas concentraciones son equivalentes a las que se acumulan en los tejidos, cuando se hacen experimentos en animales de laboratorio y podrían tener efectos indeseables al modificar la ultraestructura celular in vivo, aun cuando existe la influencia de la gran cantidad de mecanismos homeostáticos que pudieran modular el efecto de la droga.

Un apoyo a la hipótesis de que la ultraestructura del tejido renal probablemente se altera con el Diazepam, es que el número de corpúsculos renales es significativamente menor en los dos riñones comparados con los de los fetos tratados con suero, lo cual comprueba que el Diazepam acumulado en el riñón, sí afecta a los procesos de diferenciación de los corpúsculos renales.

El mecanismo de acción del Diazepam (Valium) es totalmente desconocido hasta el momento; pero sabiendo que las ampollas que se diferencian a partir de los extremos ciegos de los túbulos colectores rectos son los organizadores que inducen a la diferenciación de los corpúsculos renales derivados del tejido metanefrogénico, puede suponerse que tal vez las células de algunas ampollas podrían dejar de producir los evocadores indispensables para la formación de los corpúsculos renales o que el

tejido metanefrogénico sea el que no responde normalmente a la inducción. También existe la posibilidad de que ambos tejidos sean bloqueados parcialmente.

La causa de las posibles alteraciones de los organizadores o de la competencia de los tejidos, podría ser el retardo del crecimiento producido por el Diazepam o las rupturas cromosómicas observadas por Stenchever et al., (1969 y 1970) en cultivos de fibroblastos y que el mismo Breen y Stenchever (Op. cit) observaron in vitro .

Por otra parte Guignard et al., (1975) haciendo estudios de la función renal de 6 niños de 7 a 12 años de edad y en 6 conejos con un peso de 2 a 2.5 kg tratados con Diazepam aplicado por vía endovenosa, encontraron que la filtración glomerular estaba disminuída y que el flujo efectivo del plasma renal era menor, aún cuando la osmolaridad de la orina se mantuvo dentro de los límites normales.

Los autores excluyeron la posibilidad de alteración a nivel de la hormona antidiurética y no pudieron explicar el mecanismo de acción del Diazepam, por lo que lo relacionado con la disminución del número de los corpúsculos renales queda aún como una incógnita, pero este trabajo puede servir para continuar el estudio funcional de los riñones de los fetos expuestos a la acción del Diazepam durante la gestación para tratar de determinar si tiene repercusiones funcionales y si éstas -

on temporales o permanentes, puesto que al nacimiento sólo una tercera parte de los corpúsculos renales del ratón están diferenciados.

También en cultivo de tejidos de fibroblastos, Breen y Stenchever (Op. cit.) y Stenchever (Op. cit.) comprobaron el retardo del crecimiento celular causado por el Diazepam, agregando que, además de las alteraciones de la membrana celular, existen rupturas cromosómicas que pueden afectar el metabolismo celular; estos hallazgos podrían ser la causa de la disminución del peso y el tamaño de los riñones de los fetos tratados con Diazepam, ya que a pesar de que las dosis que se aplicaron durante el presente estudio fueron en general menores que las que se utilizaron durante el trabajo experimental realizado in vitro; sin embargo, por las investigaciones de Van der Kleijn (1969), Idänpään-Heikkilä et al., (1971) y Erkkola (1974), se sabe que son equivalentes a las cuantificadas en el torrente sanguíneo de los fetos humanos y de los animales de laboratorio, lo que apoya la hipótesis postulada del origen de la disminución del peso y de la talla del riñón de los fetos.

Otro argumento válido para explicar el porqué dosis tan pequeñas afectan el desarrollo renal, son los estudios metabólicos realizados con Diazepam marcado con C^{14} , en los que se comprobó que éste es eliminado con mayor lentitud en los fetos que en la madre, por lo cual las cantidades de Diazepam que se

acumulan en los tejidos fetales, siempre son mayores que las circulantes tanto en la sangre materna como en la fetal.

El hecho de que el feto regule la cantidad de líquido amniótico por medio de la producción de orina y la deglución del mismo líquido, también favorece la recirculación y la retención del fármaco durante un período de tiempo mayor en el feto, dando oportunidad de producir alteraciones en sus tejidos.

La diferencia que se aprecia entre los dos riñones, puede explicarse en base a que todos los órganos pares del cuerpo, no son totalmente iguales en su desarrollo y, por lo tanto, pueden ser afectados de diferente manera.

El haber usado dosis en progresión geométrica, se hizo para probar si existía una relación dosis-respuesta del Diazepam, demostrándose que los dos riñones responden de diferente manera.

A nivel de microscopía fotónica, se encontraron escasas diferencias en la histología renal entre las cinco dosis de Diazepam empleadas ($V_{1.25}$, V_5 , V_{20} , V_{40} y V_{80}) y los grupos tratados con el disolvente del Diazepam (T) y con suero fisiológico (S), que aparentemente son leves. Sin embargo, no se descarta la posibilidad de que el tejido renal presente alteraciones ultraestructurales o fisiológicas mayores, ya que el peso, la talla y el número de corpúsculos renales de los riñones de los fetos tratados con las cinco dosis se encontraron alterados

significativamente al compararlos con los controles, resultando más afectado el riñón derecho que el izquierdo.

En el riñón derecho con V_{80} se observó la máxima disminución en el número de corpúsculos renales, sin embargo no hay relación entre la disminución observada con V_5 y V_{20} , pues en este último es menor la disminución, siendo ésto un indicador de que no existe una correlación lineal dosis-efecto, lo cual se comprobó mediante pruebas estadísticas. Lo mismo sucedió con el riñón izquierdo pues aún con la dosis de $V_{1.25}$ que fue la más baja que se aplicó, se observó un decremento mayor del número de corpúsculos renales que el producido por V_{80} en el mismo riñón. Este resultado concuerda con los trabajos de Breen y Stenchever (Op. cit.).

El número de corpúsculos renales fue menor en el riñón derecho de los fetos tratados con las dosis de V_{80} y V_{40} , notándose que en las demás dosis también existen diferencias con respecto al control, pero no tan marcadas. En cambio, con las dosis de V_{40} y V_5 se obtuvo una notable disminución de los corpúsculos renales del riñón izquierdo.

Las dosis de V_{20} y V_5 fueron las que provocaron una disminución más notable en el peso, tanto del riñón derecho como del izquierdo, en tanto que la talla de ambos riñones disminuyó en mayor proporción con las dosis de $V_{1.25}$ y V_{80} .

Los resultados obtenidos sugieren que no existe una

correlación clara dosis- respuesta, por lo tanto, aún dosis pequeñas pueden llegar a alterar el desarrollo renal.

Las evidencias de alteración renal, encontradas en esta investigación, permiten pensar que probablemente también el desarrollo del riñón humano podría ser afectado por el Diazepam de manera similar, sin llegar a asegurarlo, puesto que el metabolismo de cada uno de los tipos de animales de laboratorio y el ser humano no son iguales, pero los estudios experimentales son un indicador de lo que posiblemente suceda en la especie humana.

Otro hecho importante que debe tomarse en cuenta es que, si existen alteraciones renales en los hijos de las madres tratadas con Diazepam (Valium) durante la gestación y éstas son similares a las encontradas en el presente estudio, serían difíciles de detectar únicamente mediante los métodos rutinarios de exploración de los recién nacidos. De acuerdo con lo anterior, se sugiere el uso de pruebas más precisas del funcionamiento renal, como la medición de la filtración glomerular, la depuración de creatinina, etc.

Sería conveniente proseguir este tipo de investigaciones para tratar de comprobar la hipótesis postulada sobre el origen del daño renal y determinar si esta alteración es temporal o definitiva, aplicando una metodología más exacta con el objeto de encontrar el mecanismo de producción de las altera-

ciones mediante microscopía electrónica, métodos histoquímicos y fisiológicos, los cuales contribuirían a completar la investigación iniciada en este estudio.

Podemos concluir que mientras no se despeje la incógnita planteada sobre la probable alteración de los corpúsculos renales causada por el Valium, es recomendable no utilizarlo durante la gestación.

IX.- BIBLIOGRAFIA

- Alexander, D. Pauline and D. A. Nixon., 1961. The foetal kidney. Brit. Med. Bull. 17 : 112 - 117.
- Anónimo., 1970. Valium. Roche. Resumen farmacológico y clínico. Edit por Lab. Hoffmann- La Roche. Buenos Aires, Argentina.
- Caulfield, B. J. and B. F. Trump., 1962. Correlation of ultrastructure with function in the rat kidney. Amer. J. Path. 40 (2) : 199 - 218.
- Breen, P. C. and M. A. Stenchever., 1970. Some effects of Diazepam on the fine structure of human fibroblasts in tissue culture. Am. J. Obstet. Gynecol. 108 : 520 - 527.
- Driessens, A. Dupont y A. Demaille., 1959. L' ultrastructure du rein du Rat examiné au microscope électronique. C. R. Soc. Biol. 153 : 626 - 628.
- Dunn. B. Thelma., 1949. Some observations on the normal and pathologic anatomy of the kidney of the mouse. Journal. - Nat. Cancer. Inst. 9: 285 - 301.
- Erkkola, R. K. Kanto, J and R. Sellman., 1974. Diazepam in early human pregnancy. Acta. Obstet. Gynec. Scand. 53: 135 - 138.
- Fraser. F. C., 1962. Drug-induced teratogenesis. Le Journal de L' Association Médicale Canadienne. 87 (13) : 683 - 684.
- Friedberg, E. C., 1960. Normal microscopic structure of the kidney as related to function. Leech. 30 (4) : 106 - 114.
- Guignard, J. B. Filloux, J. Lavoie. J. Felet., and A. Torrado., - 1975. Effects of intravenous Diazepam on renal function. Clin. Pharmacol. Ther. 18 (4) : 401 - 404.

- W. Arthur., 1967. Tratado de Histología Interamericana. México : 711 - 748.
- Idänpään-Heikkilä, P. I. Jouppila, O. Poulakka and M. S. Vorne., 1971. Placental transfer of Diazepam ¹⁴C. in mice, hamsters and monkeys. Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics. 176 (3) : 752 - 757.
- Idänpään-Heikkilä, P. I. Jouppila, O. Poulakka and M. S. Vorne., 1971. Placental transfer and fetal metabolism of Diazepam in early human pregnancy. Am. J. Obstet. Gynecol. 109 : 1011 - 1016.
- Kriz, W. and H. Koepsell., 1974. The structural organization of the mouse kidney. Z. Anat. Entwickl. Gesh. 144 : 137-163.
- Morselli, M. P. L. Morselli, S. Nordio, G. Pardi, N. Principi, F. Sereni and G. Tognoni., 1975. Placental transfer of Diazepam and its disposition in the newborn. Clin. Pharmacol. Ther. 17 (5) : 564 - 572.
- Miller, R. and B. Becker., 1975. Teratogenicity of oral Diazepam and Diphenylhydantion in mice. Toxicology and applied Pharmacology. 32 : 53 - 61.
- Mofid, M. C. R. Brinkman and N. S. Assali., 1973. Effects of Diazepam on uteroplacental and fetal hemodynamics and metabolism. Obstet. Gynecol. 41 (3) : 364 - 368.
- Rojas, Ramírez. V., 1975. Benzodiazepinas. Rev. Fac. Med. 18 (1) : 32 - 35.
- Rugh, Roberts., 1968. The Mouse: its reproduction and development. United States. Burgess Publishing Co. : 276-281.
- Scher, J. D. M. Hailey and R. W. Beard., 1972. The effects of Diazepam on the fetus. Journal of Obstetrics and Gynecology of the British Commonwealth. 79: 635 - 638.

- Stecher, P. G., 1968. The Merk Index. An encyclopedia of chemical and drugs. Merk. and Co. In. 8a ed. : 341.
- Stenchever, A. M. and K. J. Parks., 1975. Some effects of Diazepam on pregnancy in the Balb/c mouse. Am. J. Obstet. Gynecol. 121 (6): 765 - 770.
- Torrey, W. Theodore., 1943. The development of the urogenital system of the albino rat. I The kidney and its ducts. Am. J. Anat. 72 : 113 - 142.
- Van der Kleijn, E., 1969. Kinetics of distribution and metabolism of Diazepam and Chlordiazepoxide in mice. Arch. Int. Pharmacodyn. Ther. 178 (1) : 193 - 215.
- Vetter, M. R. and C. W. Gibley., 1966. Morphogenesis and Histochemistry of the developing mouse kidney. J. Morph.- 120 : 135 - 155.
- Yamada, E., 1955. The fine structure of the renal glomerulus of the mouse. J. Biophys and Biochem. Cytol. 1: 551 - 566.