



300627
UNIVERSIDAD LA SALLE

29

ESCUELA DE CIENCIAS QUIMICAS
INCORPORADA A LA U. N. A. M.

“ EFECTO NEFROTOXICO POR
CICLOSPORINA ”

TESIS PROFESIONAL
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
QUIMICA FARMACEUTICA BIOLOGA
P R E S E N T A :
S A N D R A M E N D O Z A R U I Z

DIRECTOR DE TESIS:

Q.F.B. ENRIQUE CALDERON GARCIA

MEXICO, D. F.

1995

FALLA DE ORIGEN



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 está 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.

AGRADECIMIENTOS

A DIOS

PORQUE TODAS LAS COSAS

PARA EL Y POR EL

SON HECHAS

A MIS PADRES :

Que me han dado lo mejor.

Gracias por su apoyo, confianza y amor...

Sin ustedes no habría sido posible alcanzar esta meta.

A MIS HERMANOS :

Sonia, Rafael y Miriam

Quienes en todo momento me han apoyado y brindado su amor...

A mi esposo, Javier Alexis

**Gracias por tu comprensión , ayuda y amor para culminar
unas de nuestras muchas metas que nos hemos propuesto
alcanzar juntos....**

Dedico también esta tesis a las personas que han estado en todo momento junto a mí : Isabel Huerta y Esther Bada
Por su confianza y amistad, Gracias....

Con un profundo agradecimiento a mi asesora

Norma Bobadilla

Por su atinada dirección en la realización de esta tesis,

quien no sólo fué una gran maestra

sino también una gran Amiga..... Gracias

Al personal del Laboratorio de Nefrología del

Instituto Nacional de Cardiología por su orientación y experiencia..

Gracias.....

INDICE

	Página
INTRODUCCION	2
ANTECEDENTES	5
METODOLOGIA	21
ANALISIS ESTADISTICOS	33
RESULTADOS	34
GRAFICAS	35,40
ANALISIS DE RESULTADOS	44
CONCLUSIONES	47
BIBLIOGRAFIA	49

INTRODUCCION

La ciclosporina A (CYA) es un eficaz agente inmunosupresor utilizado en diversas áreas de la medicina especialmente la relacionada con transplantes renales ya que mejora la sobrevida de los injertos, sean de donador vivo o de cadáver, lo que indudablemente se traduce en mayor éxito y mejor pronóstico de enfermos sometidos a esta modalidad de tratamiento.

Su utilidad en la clínica se ha visto limitada principalmente por los efectos secundarios como la hepatotoxicidad, la predisposición a la hipertensión arterial y en especial la nefrotoxicidad.

Desde el punto de vista renal la ciclosporina produce cambios en la hemodinámica glomerular, asociada a un incremento de las resistencias vasculares renales, fibrosis intersticial e hipertrofia progresiva de vasos preglomerulares. La alteración más importante es la isquemia por efecto de vasoconstricción arteriolar persistente con disminución del flujo plasmático renal, filtración glomerular y del coeficiente de ultrafiltración (1, 2, 3).

Recientemente se ha demostrado que el endotelio participa activamente en la regulación del tono vascular generando compuestos a nivel local en respuesta a diversos estímulos. Algunas de estas sustancias como lo es la endotelina que posee propiedades vasoconstrictoras es liberada por distensión mecánica; otras, muestran efectos de vasodilatación como es el caso de las prostaciclina y el factor derivado del endotelio caracterizado actualmente como óxido nítrico (ON).

El ON es sintetizado en la célula endotelial por una sintasa a partir del aminoácido arginina con rápida difusión en la célula muscular lisa activando a su vez la guanilato ciclasa soluble, generando GMPc y finalmente relajación a través de una protein-kinasa.

En vista de que existe evidencia funcional y morfológica de que la ciclosporina produce lesión del endotelio vascular renal, y de que experimentalmente la administración de este fármaco a dosis que afectan la función renal, incrementan los niveles circulantes de endotelina, se deduce pues que la lesión endotelial juega un papel importante en la nefrotoxicidad antes referida, lo que a su vez podría limitarse con maniobras vasodilatadoras estimulando la síntesis de ON tales como la infusión endovenosa de arginina.

Por lo expuesto anteriormente se plantea este trabajo con los siguientes objetivos:

- 1) Evaluar la participación del endotelio en la isquemia renal que caracteriza a la nefrotoxicidad por ciclosporina.**
- 2) Determinar la capacidad del endotelio para generar ON y vasodilatación en respuesta a la infusión aguda de arginina.**
- 3) Demostrar que la vasoconstricción renal es secundaria a la incapacidad del endotelio para producir ON.**

El presente trabajo de carácter experimental y prospectivo se realizó en el Laboratorio de Nefrología del Instituto Nacional de Cardiología "IGNACIO CHAVEZ" de Enero de 1992 a Enero de 1993.

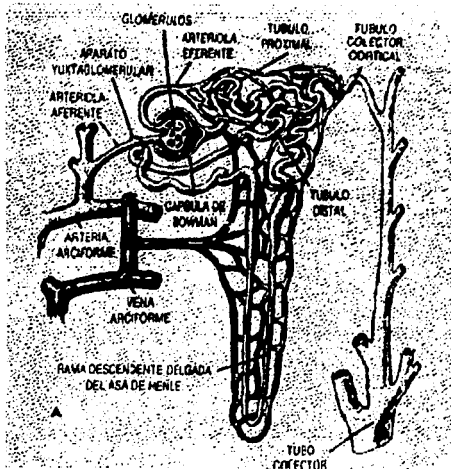
Se utilizaron ratas Wistar macho a las que se sometieron a uninefrectomía derecha. A los 15 días posterior al procedimiento quirúrgico, se les administró CYA por vía subcutánea a dosis de 30mg/kg y 28 días después se iniciaron los estudios renales funcionales. La hemodinámica glomerular fue evaluada por método de micropunción midiendo los determinantes de filtración glomerular en ratas control y con CYA antes y después de la infusión intravenosa de arginina.

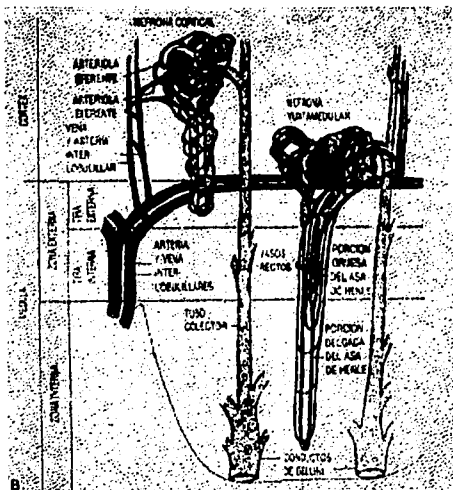
ANTECEDENTES.

FISIOLOGIA RENAL

El riñón efectúa dos funciones principales: una de ellas, es excretar los productos terminales del metabolismo, y otra controlar el balance de agua y las concentraciones de la mayor parte de los constituyentes de los líquidos corporales.

Los riñones contienen alrededor de 2 400,000 nefronas, cada una de las cuales es capaz de producir orina por sí mismas. La nefrona está compuesta básicamente de un glomérulo a través del cual el plasma se filtra y un largo túbulo donde el líquido filtrado sufre modificaciones hasta convertirse en orina al llegar a la pelvis renal.





El glomérulo consiste en un complejo de capilares interconectados, que se encuentran dentro de un espacio llamado cápsula de Bowman. Hacia el interior de la cápsula se filtra el plasma desde los capilares glomerulares, a través de las membranas superpuestas del propio capilar y de la cápsula de Bowman. Esta membrana de filtración está formada por tres capas: el endotelio capilar, la membrana basal y una capa monocelular epitelial. La capa endotelial está ampliamente fenestrada por poros. La membrana basal es una malla celular, relativamente homogénea, formada por glicoproteínas y mucopolisacáridos. Las células epiteliales en esta región del glomérulo tienen una estructura mucho más compleja que las

células aplanadas del resto de la cápsula, ya que presentan prolongaciones citoplasmáticas llamadas podocitos.

La permeabilidad de la membrana glomerular es de 100 a 500 veces mayor que la de los capilares usuales lo cual se debe a su estructura especial. Además, existen las células del mesangio, que se encuentran en la parte central del ovillo glomerular, entre las asas capilares y junto a ellas. Algunas de estas células actúan como fagocitos, mientras que otras contienen un gran número de miofilamentos y son capaces de contraerse en respuesta a diversos estímulos reduciendo el área de filtración.

El túbulo se compone de una sola capa de células epiteliales que colocadas sobre una membrana basal, se caracterizan por la presencia de uniones muy apretadas entre células adyacentes. El segmento del túbulo que drena a la cápsula de Bowman es el túbulo proximal que inicialmente forma varias espiras; esta parte es llamada pars convoluta o parte contorneada, seguida de una parte relativamente recta llamada pars recta que desciende hacia la médula. El segmento que desemboca a la porción recta es la rama descendente delgada del asa de Henle. A nivel de la vuelta en forma de horquilla, empieza la rama ascendente del asa de Henle donde se produce transición del epitelio. En las asas largas, la primera porción de la rama ascendente permanece delgada y después la porción superior se vuelve gruesa en las asas cortas. Toda la rama ascendente es gruesa.

Al final de la rama ascendente del asa de Henle, el túbulo pasa entre las arteriolas aferentes y eferentes del mismo glomérulo, este segmento se llama mácula densa. Desde esta estructura, el tubo forma espiras originando el túbulo contorneado distal, el cual drena al túbulo colector inicial zona de transición entre la rama ascendente gruesa del asa de Henle y el sistema colector. El túbulo conector y la porción inicial del túbulo colector a menudo recibe el nombre de túbulo distal final. Múltiples túbulos colectores iniciales procedentes de diferentes nefronas se unen para formar túbulos colectores corticales, los que se dirigen a la médula, llamándose túbulos colectores medulares y finalmente van hacia uno de los cálices de la pelvis renal; a su última porción se le llama ducto papilar. El cáliz se continúa con el uréter, el cual desemboca en la vejiga urinaria donde la orina se almacena en forma temporal(4, 5, 6).

La primera etapa para la formación de orina ocurre en el glomérulo que consta de una densa rama de capilares situados al final de la arteriola aferente dentro de la cápsula de Bowman. A pesar de que la filtración glomerular por nefrona (SNGFR) es de 60 nL/min en humanos, esta, es mucho más alta por unidad de superficie de área(4)

El proceso de filtración glomerular como un fluido a través del capilar, deriva su fuerza de la presión hidrostática que se origina en la bomba de acción del corazón. La tasa de filtración es proporcional a la presión neta de ultrafiltración (PUF) que existe a través de la pared capilar, lo que está determinado por el equilibrio de la presión hidrostática (P) y la presión oncótica (π) actuando entre el lumen del capilar glomerular y el espacio de Bowman.

Cuando el gradiente de presión hidrostático transcápilar excede al gradiente de presión oncótica, la diferencia de las mismas constituye la presión de ultrafiltración. Por lo tanto, el coeficiente de ultrafiltración relaciona la tasa de flujo con el gradiente de presión que a su vez depende de las propiedades intrínsecas de permeabilidad al agua de la pared capilar (permeabilidad hidrostática K) y la superficie de área disponible (A)

La siguiente ecuación ilustra lo anterior :

$$\begin{aligned}
 \text{SNGFR} &= K_f \times \text{PUF} \\
 &= K_f \{ (P_{GC} - P_T) - (\pi_{GC} - \pi_T) \} \quad (1) \\
 &= K A (P - T)
 \end{aligned}$$

Donde SNGRF es la filtración glomerular por nefrona producto del coeficiente de ultrafiltración, K_f , y la presión de ultrafiltración promedio a lo largo de la red capilar, PUF. EL coeficiente de ultrafiltración K_f , es el producto de K y el área disponible para la filtración, ΔA , y PUF es la diferencia entre la presión hidrostática transcápilar media y πA , presión oncótica media, ΔP y $\Delta \pi$ respectivamente.

El proceso de filtración produce un plasma ultrafiltrado ideal. La concentración de proteína es mínima y la presión oncótica (que resulta de la propiedad coloidal de macromoléculas) dentro del espacio urinario, πT es esencialmente cero. Diversas alteraciones en las concentraciones de proteínas plasmáticas como se observa en algunos pacientes, producen efectos significativos en la filtración glomerular por nefrona (5).

En pacientes con hiperproteinemia, la elevada presión oncótica plasmática (π_{GC}) contribuye a la disminución de la filtración glomerular.

El 20% del plasma que entra en el glomérulo aparece como filtrado, sólo se pierden pequeñas cantidades de proteínas plasmáticas. La concentración de proteínas no es constante pero se incrementa a lo largo del capilar glomerular. Un análisis más detallado de las fuerzas que gobiernan la filtración se puede derivar utilizando el modelo que contempla un glomérulo ideal, el cual consiste de un tubo simple donde el plasma entra con una tasa de flujo inicial (Q_A); la presión capilar oncótica del extremo aferente (π_A) es similar a la presión oncótica del plasma sistémico, la fuerza inicial para filtración es relativamente alta. A medida que el plasma es filtrado, la presión capilar oncótica aumenta y la presión neta de filtración disminuye. Mediciones directas indican en varias especies que el ΔP es aproximadamente de 35 mmHg y es constante a lo largo del capilar glomerular, mientras π_{GC} aumenta de 20 a 35 mmHg del extremo aferente al extremo eferente. Así la presión neta del gradiente (PUF) favorece a la filtración a todo lo largo del capilar glomerular (4)

Gradiente de presión hidrostática transcápilar.

La medición de la presión hidrostática glomerular (PCG) es factible en ratas Munich Wistar cuyos glomérulos superficiales son accesibles a la micropunción. Esta determinación se realiza por una técnica llamada Servo-Null, la cual permite el uso de

micropipeta con diámetro entre 2 y 4 micras donde se registra la presión hidrostática del capilar glomerular continuamente. También se puede medir indirectamente por medio del " stop flow " (PSF). Esta presión (PSF) más la presión oncótica de la sangre en el glomérulo (π_A) es igual a la presión requerida para evitar la sub-secuente formación de filtrado glomerular, la cual debe ser igual al valor de la PCG en ese momento(7).

La contribución del glomérulo como sitio de resistencia es variable.

Si aumenta la resistencia aferente (RA) tiende a reducirse PCG, mientras que si aumenta la resistencia eferente (RE) tiende a elevarse PCG . Esta disposición anatómica y fisiológica de las resistencias glomerulares permite que PCG se controle independientemente de la presión arterial sanguínea (autorregulación).

Variaciones en el gradiente de la presión hidrostática transcápilar glomerular.

La ultrafiltración del líquido a lo largo de las paredes de la red capilar glomerular, ocurre cuando ΔP excede a $\Delta \pi$, por lo que si ΔP es mayor de 20 mmHg (valor aproximado de la presión oncótica) la fracción de filtración por nefrona FF/ N y Filtración glomerular por nefrona FG/ N se incrementa en forma no lineal. Si se incrementa ΔP , aumenta la ultrafiltración y también $\Delta \pi$, aunque en menor proporción lo que tiende a anular el aumento de ΔP . Si no hay aumento de la presión oncótica , PUF y FG/N se elevan en forma directamente proporcional a ΔP que determina el valor al que puede elevarse la presión oncótica en la arteriola eferente . y FF/N varía inversamente proporcional al flujo plasmático glomerular (QA) y directamente proporcional a Kf (8).

Gradiente de presión oncótica transcápilar.

La concentración de proteínas totales (C) en el extremo aferente y eferente del capilar glomerular (CA y CE) , se eleva conforme la sangre fluye a lo largo de la red capilar glomerular, obteniéndose un filtrado casi libre de proteínas . CA no puede medirse directamente con micropunción por lo que se considera igual al valor de C en plasma de sangre de una arteria sistémica (femoral). CE se puede medir directamente de arteriolas eferentes superficiales o en las estrellas (6). Los valores normales de CA y CE en promedio son de 5 a 6.5 gramos por dl y de 7.5 a 9 nl/ dl respectivamente . La presión oncótica (π) calculada de estos valores para CA oscila entre 15 a 20 mm Hg al principio de la arteriola (π_A) y para CE es de 35 a 40 mm HG al extremo (π_E) del glomérulo. La presión neta de ultrafiltración (PUF; $\Delta P - \Delta \pi$) disminuye al principio de la red capilar glomerular hasta el extremo del glomérulo, por lo que en algún punto cercano al extremo eferente de la red capilar glomerular, $\Delta \pi$ alcanza un valor que iguala y se opone a ΔP . A esta igualdad de ΔP y $\Delta \pi$ en el extremo del glomérulo se le conoce como presión de filtración en equilibrio.

El perfil de $\Delta \pi$ a lo largo del capilar glomerular no es lineal y esto se debe a que la tasa de filtración local es proporcional a la presión de ultrafiltración . Así la formación de ultrafiltrado ocurre más rápido en el extremo aferente de la red por lo que la concentración de proteínas y la presión oncótica aumentan con mayor rapidez en el extremo eferente del capilar glomerular (10).

Como el coeficiente de ultrafiltración (K_f) es el producto de la filtración por superficie de área (S) y la permeabilidad de agua de la pared capilar glomerular (K) diferentes autores lo han calculado entre 0.0019 y 0.0028 cm^2 , los valores de K con un valor de K_f de 0,08 nl/mmHg son 28.6 a 42.1 nl/mmHg cm^2 .

Esta permeabilidad tan alta permite que la filtración glomerular ocurra con rapidez a pesar que el gradiente de presión de filtración sea de sólo 5 mmHg en promedio en la rata (10, 11).

Fracción de filtración /nefrona (FF/N) , es la parte del flujo plasmático glomerular que se filtra y se puede expresar :

$$FF/N = f_q/N \quad \quad \quad QA$$

FF/N puede calcularse experimentalmente a partir de CA y CE

$$FF/N = 1 - CA/CE = 1 - \pi A/\pi E$$

y en condiciones de equilibrio de presión de filtración puede expresarse así

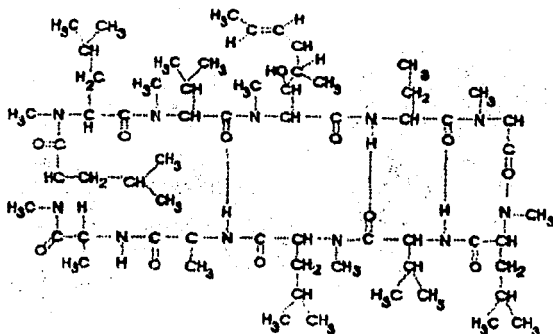
$$1 - \pi A/\Delta P$$

Por lo que en condiciones de equilibrio de presión de filtración el valor de FF/N es independiente de QA y K_f y sus determinantes son CA y ΔP .

ΔP limita el valor final al que puede llegar CE y por tanto πE en el extremo eferente del capilar (12)

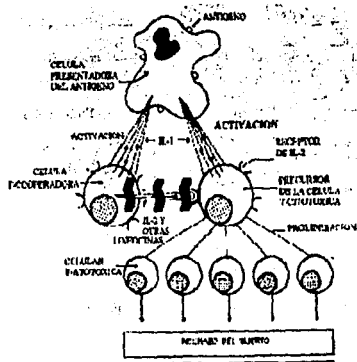
CICLOSPORINA

La ciclosporina es un medicamento inmunosupresor que se obtiene por fermentación del hongo *Tolypocladium inflatum* (13). La molécula activa es un polipéptido cíclico constituido por once aminoácidos , con un peso molecular de 1202.63 . Su pH es neutro , prácticamente insoluble en agua , pero altamente soluble en solventes orgánicos y lípidos (13). Su estructura presenta algunas particularidades originales. Contiene un aminoácido no conocido aún, estrechamente implicado en la actividad biológica de la molécula, y su actividad inmunosupresora se asocia al ácido alfa-aminobutírico y a la metilvalina (14).



Trabajos experimentales desde 1972, han demostrado la considerable eficacia de la CYA en la prevención al rechazo de trasplantes en el tratamiento de enfermedades autoinmunes.

A diferencia de otros agentes inmunosupresores, el mecanismo de acción de la CYA es altamente selectivo (13). Estudios previos (15) sugieren que la CYA inhibe selectivamente la producción de interleucina-2 (IL-2) de los linfocitos-T cooperadores activados por el antígeno, lo que inhibe la proliferación y generación de linfocitos T citotóxicos sin afectar subpoblaciones de las células T supresoras. Además, la CYA inhibe la generación de linfocinas por las células T cooperadoras, incluyendo al factor de inhibición de migración del macrófago, gama-interferón (15 - 16).



El uso de la CYA en la clínica se encuentra limitado por sus efectos secundarios principalmente la hepatotoxicidad, la hipertensión, la acidosis metabólica y nefrototoxicidad, siendo esta última la más frecuente e importante.

En etapas tempranas de administración de CYA existe un marcado descenso de la tasa de filtración glomerular y del flujo sanguíneo renal, lo cual es reversible cuando se suspende o se disminuye la dosis del fármaco. El tratamiento con CYA produce marcada vasoconstricción y por consecuencia una disminución en el flujo plasmático y filtración glomerular lo que causa un desgaste crónico e irreversible de la función de la nefrona, debido a isquemia severa y daño estructural renal. (17)

Durante la administración de CYA en el periodo temprano del postransplante, se pueden observar las siguientes alteraciones:

Nefrotoxicidad aguda reversible

Disfunción renal aguda.-Se observa una disminución de la tasa de filtración glomerular (GFR) que no guarda proporción a la disminución observada del flujo plasmático renal así como una reactividad renovascular anormal. En estudios de micropunción se ha observado un descenso en la SNGFR y en el flujo plasmático renal por aumento concomitante en las resistencias aferentes y eferentes. Existe también un descenso del Kf.

Patología Tubular.- Se ha considerado que la ciclosporina es una toxina para el túbulo proximal y este efecto se manifiesta cuando los niveles se encuentran a una concentración de 1500-2000 ng/ml en sangre. En esas condiciones el túbulo proximal puede mostrar grandes mitocondrias y vacuolización isométrica.

Nefrotoxicidad crónica e irreversible .-

Disfunción renal crónica.- En estas condiciones se observa una importante caída de la filtración glomerular por disminución del flujo plasmático secundario a vasoconstricción.

Fibrosis intersticial.- Cuando la vasoconstricción es irreversible, la consecuencia es la fibrosis intersticial y a nivel glomerular se observa expansión segmental y / o global.

Daño vascular y vasoconstricción.- Los primeros estudios en este contexto han reportado trombosis glomerular. La arteriopatía, entidad poco frecuente, consiste en afección de las primeras capas de células del músculo liso, tanto de la arteriola aferente como de las pequeñas arterias que finalmente producen esclerosis y colapso en la región fibrótica. En las células mesangiales la CYA elevan las concentraciones de calcio citosólico, debido a la liberación del calcio intracelular.

EL ENDOTELIO Y LA CICLOSPORINA.

Se ha demostrado en los últimos años que la ciclosporina produce daño sobre el endotelio estructura que juega un papel importante pues es capaz de modular el tono vascular al elaborar distintas sustancias vasoactivas. Entre estas sustancias, las que tienen propiedades vasodilatadoras se encuentra la prostaciclina y el factor relajador derivado del endotelio (EDRF), identificado como el óxido nítrico. La endotelina por el contrario posee un efecto vasoconstrictor.

La observación de que el óxido nítrico es formado por una enzima que proviene de las células del endotelio vascular, ha despertado un gran interés en la investigación biológica (4). El óxido nítrico comparte propiedades biológicas del EDRF que es el estimulador endógeno de la guanilato ciclasa; es una molécula liberada por los macrófagos de murina y otras células después de una actividad inmunológica. Este compuesto es sintetizado a partir de un aminoácido llamado L-arginina por medio de la enzima óxido nítrico sintetasa. Recientemente se han caracterizado dos tipos de esta enzima: una es constitutiva citosólica Ca⁺⁺/calmodulina dependiente y libera óxido nítrico por breves períodos en respuesta a un receptor por estimulación física; la otra enzima, es inducida después de la activación de los macrófagos, células endoteliales y otras por medio de citosinas y una vez expresado sintetiza óxido nítrico por largos períodos (18).

Propiedades del Oxido Nítrico.

Químicamente el óxido nítrico activa la guanilato ciclasa soluble en el músculo liso vascular e induce una marcada acumulación de GMPc y relajación. La activación de la guanilato

ciclase soluble y la acumulación de GMPc ocurre rápidamente en respuesta a concentraciones muy pequeñas de ON. También el ON es capaz de producir relajación directa del músculo liso (19).

Existen otras sustancias capaces de inducir relajación como la acetil colina, bradicinina, histamina, serotonina, etc. Todas ellas requieren de un endotelio intacto. Muchas de estas sustancias se unen a receptores específicos de las células de superficie del endotelio y después inducen la formación y liberación de ON. Se ha demostrado que este factor es distinto a la prostaciclina pero capaz de activar directamente la guanilato ciclase soluble .

El ON tiende a ser inestable, rápidamente se transforma en radicales libres (ON -2, ON-3) Es altamente lipofílico y permeable a las membranas plasmáticas donde se combina con las fracciones de hemoproteínas reducidas incluyendo la guanilato ciclase para producir un hemo-óxido nítrico que facilita la conversión de Mg GTP a GMPc . Este último, dependiente de la proteína cinasa es activado dando una desfosforilación de las cadenas ligeras de la miosina y produce relajación. También se ha observado que el ON es capaz de inhibir la agregación plaquetaria una acción que es compartida con la prostaciclina y a diferencia de esta, puede impedir la adhesión plaquetaria a superficies endoteliales(18).

Este factor de relajación puede ser inhibido por L-nitrometil arginina éster. En ratas normales la inhibición de ON produce aumento en la tensión arterial , por lo que se sugiere que es un gran vasodilatador contribuyendo en forma importante en la regulación de la tensión arterial y en los mecanismos de vasodilatación renal (20, 21) .

METODOLOGIA

UNINEFRECTOMIA

En el presente estudio se utilizaron ratas macho de la cepa Wistar con un peso entre 350-400 gr, sometidas a uninefrectomía del riñón derecho. La asepsia del material quirúrgico utilizado consistió en lavado del instrumental con jabón y remojado en benzal. Las ratas se anestesiaron con éter. El pelo del costado derecho se retiró por rasurado y la superficie se limpió con yodovinilpirrolidona (Germidine P) para mantenerlo en condiciones asépticas. Por medio de una incisión oblicua abdominal infracostal de 5cm se localizó el riñón , y se separó de la grasa perirrenal sin dañar la glándula suprarrenal ; se disecó la vena y arteria renal con hilo de seda 000, colocando doble ligaduras y seccionandola se retiró el riñón, por último, se suturó la piel con Catgut 000 o grapas . Para diferenciar cada una de las ratas se marcó la cola de las mismas con plumón indeleble. Después de la cirugía , las ratas permanecieron en recuperación durante un lapso de 15 días. Se colocó a cada rata en una jaula con acceso a alimento y agua ad libitum.

Las ratas se dividieron en dos grupos :

Grupo I: Ratas controles que recibieron aceite de oliva como vehículo (n=20) y las que recibieron ciclosporina (n=16) por vía subcutánea

Grupo II: a) Ratas Controles + L-Arginina (n=19) y,

b) Ratas Tratadas con CYA + L-Arginina (n=17)

Las ratas se rasuraron en la región dorsal izquierda y derecha, (se les inyecta del lado derecho e izquierdo intercaladamente para evitar que se les formen abscesos) se les realizó asepsia de la zona con Germidine para evitar infecciones posteriores; se les inyectó 30mg/kg de peso de ciclosporina y 0.1ml de aceite de oliva a las ratas control durante 28 días. A las ratas que recibieron vehículo (controles) se les dió alimento en forma pareada (misma cantidad de alimento que las tratadas con CYA), lo que equivaldría al promedio de lo que comían las ratas de ciclosporina en 24 horas.

Después de 28 días se realizó la preparación quirúrgica para los estudios de función glomerular.

PREPARACION QUIRURGICA

Antes del experimento se anestesió a una rata con éter diferente al grupo control y al tratado con CYA, con el fin de obtener una muestra sanguínea de 15 ml. Se le practicó una incisión media abdominal. Se extrajeron los órganos abdominales identificándose la aorta y se obtuvieron 15 ml de sangre al introducir una aguja en la bifurcación de la misma, conectada a una jeringa que contenía una solución de ringer con heparina (0.5 ml de heparina y 40ml de ringer).

Tanto las ratas del grupo control como el tratado con ciclosporina fueron pesadas y anestesiadas con pentobarbital sódico, barbitúrico de acción prolongada (anestésico P) a

razón de 32mg/kg. Se esperó el efecto del fármaco. La cirugía se realizó en un colchón térmico para mantener a la rata en una temperatura corporal de 37 °C . Se realizó traqueostomía mediante una incisión media en el cuello, se disecó la tráquea del músculo , y por un pequeño corte entre los anillos se introdujó un catéter de polietileno No. 240 que se sujetó con seda. Inmediatamente se le colocó un flujo de oxígeno , conectado al tubo de la tráquea.

A nivel de las venas yugulares se hizo una incisión en la piel, se separaron ambas venas yugulares del tejido conectivo . Se introdujeron dos hebras de hilo de seda 000 por debajo de las venas y una de las hebras se anudó para interrumpir el flujo sanguíneo del cerebro al corazón. Por una pequeña incisión se introdujo en la vena 2cm de catéter de polietileno No. 50 , se sujetó con hilo de seda al catéter, y con la otra hebra se sujetó a la vena yugular. El catéter se conectó a una jeringa que contenía solución de ringer en una vena y la otra se conectó a una bomba de infusión.

Se separaron cada una de las arterias femorales y las fibras nerviosas, pero debido a la vasoconstricción que se produce durante la manipulación se agregó xilocaína al 1%, para su dilatación y fácil cateterización . Para realizar el cateterismo se le colocó un clip de plata con el fin de interrumpir el flujo sanguíneo hacia la pierna. Se colocó una hebra de hilo y se le hizo una incisión en la arteria con tijeras de iris introduciéndose el catéter de polietileno No. 50 a ambas arterias, y cuyo extremo se conectó a una jeringa con heparina y ringer para evitar la formación de coágulos.

Por medio de una incisión media, se localizó y se disecó el uretero ,se le colocó un hilo y se anudó. Con tijeras de iris se hizo una incisión y se introdujo el catéter no. PE10 anudándose nuevamente para evitar que éste se desplazara.

Se expuso el riñon derecho y se colocó en una cápsula de lucita después de disecar el tejido adiposo perirrenal. El espacio entre la cápsula y el riñon se rellenó con un elastómero (Xantopren de Bayer) y la superficie del riñon se cubrió con una solución de ringer tibia.

Para reponer la pérdida de líquido durante la cirugía se inició una infusión de plasma (1ml/100gr de peso de la rata) a una velocidad de 11.6ml/hr . Terminada la infusión se tomó una muestra de sangre que sirvió como blanco y se repuso el volumen con sangre de una rata donadora y posteriormente se inició una infusión de polifructosán (análogo de la inulina) como marcador de la filtración glomerular.
(inutest, Laevosán -Gesellschaft, Viena).

Los estudios de hemodinámica renal para el grupo I se llevaron a cabo de la siguiente forma:

Se registró la tensión arterial de la rata durante todo el experimento por medio un transductor de presión (modelo P23 DB Statham Instruments) registrado en un polígrafo Gras Instruments conectado a la arteria femoral izquierda . Una vez que la rata se estabilizó en una presión entre 95-120 mm de Hg, se inició la primera infusión de polifructosán al

25% a una velocidad de 2.2 ml/hr. Se esperaron 60 minutos para que el polifructosán se distribuyera por todo el cuerpo de la rata (equilibrio de polifructosán). Se inició la recolección de orina (1 ó 2 muestras) en un tubo ependorf durante 30 - 40 min. para medir la producción de orina por minuto y la concentración de polifructosán. Antes y después de la recolección de orina se tomó una muestra de sangre arterial (400microl aprox) y se midió el hematócrito . La concentración de proteínas en la arteriola eferente se midió en muestras de sangre arterial obtenida del catéter de la arteria femoral y se respuso por la vena yugular derecha (0.5ml). Después del período de equilibrio de 60 min, se midió la presión hidrostática en las arteriolas eferentes y túbulos superficiales bajo condiciones de flujo libre y bloqueo de flujo con un aparato Servo-null (Servonuling pressure system model 4A) con pipetas de cristal con punta de 5 a 7 μm . Para medir la presión intratubular con bloqueo de flujo, se interrumpió el flujo del líquido tubular mediante una columna de aceite mineral con negro de Sudán y se inyectó a la luz tubular a través de una pipeta de cristal con punta de 9 a 11 μm y se conservó en posición estable por lo menos 30 segundos, la pipeta del Servo-null se colocó en el segmento más proximal del túbulo bloqueado. Así la presión se midió en el polígrafo. La concentración de proteína en la arteriola eferente se obtuvo por punción directa con muestras de sangre de por lo menos tres arteriolas eferentes (vasos estrellas) con pipetas de 13 a 15 μm . Para calcular la filtración por nefrona se obtuvo una recolección de líquido tubular, mediante aspiración suave durante 3 minutos después de bloquear como se describió anteriormente en 6 túbulos superficiales.

Para el Grupo II se lleva a cabo una segunda fase donde se inició la infusión de arginina al 15% a una velocidad de 2.2 ml /hr , dejando a la rata en estado de equilibrio durante 30 min. Inmediatamente después se tomaron 1 ó 2 recolecciones de orina durante 30-40 min. en un tubo Ependorf, para medir la producción de orina por minuto y la concentración de polifructosán. Antes de iniciar y al término de la recolección de orina se tomaron muestras de sangre arterial para medir la concentración de polifructosán y un hematócrito . La sangre que se utilizó se repuso por la vena yugular derecha (0.5ml). Se repitieron los estudios de micropunción.

Después del experimento se procesaron las muestras de la siguiente manera:

PREPARACION DE MUESTRAS

ORINAS

Previo al experimento se pesaron unos tubos Ependorf con una gota de aceite, y después de la recolección de muestras de orina se volvieron a pesar, para determinar el volumen y con el tiempo calcular el flujo, al dividir el volumen entre el tiempo de recolección.

Dado que las orinas son muy concentradas para leerlas en el espectro se les hicieron dos diluciones:

1) Se les agregó 1 ml de agua desionizada con lo que se consiguió una dilución de 2 a 7 veces.

2) De este tubo se tomaron 100µl. de orina y se llevaron a 50ml de agua desionizada dando una dilución de 1:500.

PLASMA

Para procesar las muestras de plasma, es necesario precipitar proteínas para que el sobrenadante (que contiene polifructosan, el marcador de la filtración glomerular), quede libre de proteínas sin que interfiera con la determinación. Se tomaron 50 µl. de plasma, se le agregaron 500µl. de TCA 1N (ácido tricloroacético) y 1ml de agua desionizada, se centrifugaron las muestras durante 10 min a 3000 rpm y posteriormente se decantan. De estas muestras se tomaron 500 µl. para procesarlas.

MACROINULINAS

Para la determinación de la concentración de polifructosan se utilizó una técnica colorimétrica con antrona.

La antrona es un reactivo que hace posible la medición de carbohidratos en condiciones de temperatura controlada, al reducir el polímero del polifructosan con lo que se observa un desarrollo de color. El control de temperatura hace posible la determinación específica de este polímero, con lo que se obtiene la concentración de polifructosán que se puede determinar en la presencia de altas concentraciones de carbohidratos en plasma y orina.

REACTIVOS.-

H₂SO₄ 250ml

H₂O 65ml

Antrona 250mg

Concentración final de la antrona 0.08 mg/ml

Procedimiento.-

Se colocó un matraz volumétrico de 2 lt. en una bandeja con hielo triturado . Se vertió el ácido sulfúrico en el matraz y se deja enfriar. Posteriormente se vertió el agua desionizada lentamente . Cuando la mezcla se enfrió completamente se agregó la antrona recristalizada. Se agitó suavemente, obteniendo una solución de color amarillo.

Curva de Polifructosán

Se tomaron 4 ml de una ampolleta de polifructosán y se llevó a un matraz de 100ml de agua desionizada . De esta solución madre se tomó 1 ml y se vertió en un matraz de 100 ml de agua desionizada, obteniendo una concentración de 10 mg/ml.

De la solución estándar de polifructosán previamente elaborada se pipetea 1, 2, 3, 4, y 5 ml en un matraz de 100ml de agua desionizada respectivamente obteniendo una concentración final de 0.01, 0.02, 0.03, 0.04, y 0.05 mg/ ml . respectivamente.

Se marcaron tubos con la concentración de cada punto de la curva, y se duplicaron. Se colocaron 3 ml del reactivo mediante un despachador automático del reactivo de antrona en cada tubo para asegurar igual volumen en todos los tubos de ensaye pipeteando 0.5ml de cada punto de la curva. Se agitó vigorosamente en Vortex. Se colocó la gradilla con los tubos en una bandeja de hielo para mantenerlos fríos. Posteriormente se marcaron los tubos del experimento por duplicado, al igual que la curva se pipetearon 3 ml de reactivo de antrona y 0.5 ml de las muestras de orina y 0.5 ml de plasma libre de proteínas. Se incubaron las muestras en baño maría a 45°C durante 50 min, se dejan enfriar y se leen en espectrofotómetro Beckman DB a 520 nm. Para obtener las concentraciones de las muestras, estas absorbancias se extrapolan con la curva estándar.

MEDICION DE Na Y K

Esta técnica se basa en la intensidad de flama que da un ión al quemarse con el gas de propano, obteniendo así la concentración de Na y K.

Las muestras de orina y plasma se leyeron directamente en el Flamómetro Instrumental Laboratories 943. Para orina se utilizó una solución estándar 100Na/100K, después se leyeron la muestras y se tomaron la lectura.

Para el plasma se utilizó una solución estándar de 140 Na/ 5.00K . Previamente se retiró la fibrilla formada y se leyeron la muestra . Con estos valores se obtuvieron la excreción urinaria de Na (UNaV), Na plasmático (PNa), y FENa.

MICROINULINAS

La concentración de inulina en el líquido tubular se midió por triplicado por el método de fluorescencia de Vurek y Pegram (20). La fluorescencia se describió como una reacción específica de los keto-azúcares, para identificar azúcares.

Determinación de Inulina en micro muestras.

El reactivo empleado se preparó disolviendo 50 mg de diamedona (5,5, dimetil 1,3 ciclohexanediona) en 5 ml de ácido O-fosfórico Fischer al 85%.

Con una jeringa de microlitros conectada a un tubo de teflón se depositaron 3 mcl de reactivos en varios capilares sellados en uno de sus extremos .

Previamente se preparó una curva con soluciones estándar de 0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 3.0 mg/ml de polifructosan, las cuales se depositaron en capilares de 100 X 0.5 mm con aceite en los extremos para evitar la evaporación. Estas soluciones al igual que los capilares se colocaron sobre una platina de Leitz para facilitar su manipulación bajo el microscopio. Con una pipeta de transferencia limpia y seca se tomaron tres alcuotas de cada solución estándar y se depositaron cada una en un capilar con reactivo, esta transferencia de la muestra se hizo inyectando la muestra en el reactivo, para lo cual sólo la punta de la pipeta estuvo en contacto con el reactivo y la muestra no tocó las paredes del capilar, para asegurar una mezcla adecuada.

Después de transferir cada muestra a un capilar, la micropipeta se limpió por aspiración al vacío, primero con jabón, agua y por último con acetona.

Posteriormente se centrifugaron los capilares en una centrífuga Autocrit Ultra 3 durante un minuto, con el objeto de desplazar el reactivo al extremo sellado del capilar, y poder sellar el extremo contrario. Se volvieron a centrifugar dos veces más para asegurar una mezcla homogénea.

Tres alícuotas de cada una de las muestras tubulares contenidas en la pipeta volumétrica se procesaron de igual forma que las soluciones estándares.

Una vez centrifugadas las cubetas se colocaron en una microgradilla y posteriormente en baño maría durante 10 minutos e inmediatamente después se pusieron en baño de hielo con el fin de que se detuviera la reacción.

La reacción de polifructosán y diamedona en presencia de ácido o-fosfórico, da lugar a un compuesto fluorescente cuyo espectro de excitación fue medido por Vurek y Pegram (2), quienes encontraron que el pico de excitación es de 360 nm y el de emisión de 400 nm.

La fluorescencia desarrollada en estas muestras se midió en un microfluorofotómetro Aminco, equipado con una lámpara de mercurio de 815 watts, un filtro primario Corning Cs 7-60 para longitud de onda de 360 nm y un filtro secundario Aminco 4-7415 para longitud de onda de 400 nm.

CALCULOS

La filtración glomerular por nefrona se calculó de la siguiente manera :

$$FG/N = (LT/P) \text{ in } \times VF.$$

donde LT/P es el cociente de la concentración de polifructosán en el líquido tubular entre la concentración de polifructosán en plasma (cociente de la concentración transtubular de polifructosán) y VF es la velocidad de flujo del líquido tubular.

La presión hidrostática del capilar glomerular (PCG) se valoró de la siguiente manera:

$$PCG = PBF + \pi A$$

Donde PBF se refiere a la presión con bloqueo de flujo y πA a la presión oncótica en la arteriola aferente.

El gradiente de presión hidrostática en el capilar glomerular (ΔP), la fracción de filtración por nefrona (FF/N), el flujo plasmático por nefrona (FP/N), el flujo sanguíneo por nefrona (FS/N), la resistencia arteriolar aferente (RA), y la resistencia arteriolar eferente se calcularon con las siguientes fórmulas :

La presión oncótica (π) se calculó a partir de la concentración de proteínas .

El sodio filtrado ($\mu Eq / min$) = $Fna \text{ Din } \times Pna$

La fracción excretada de sodio se da en % y su fórmula es:

$$FENa = [(UNa/ PNa) / (UCr / PCr) \times 100]$$

ANALISIS ESTADISTICOS.

Los resultados son expresados en media, error estándar y las diferencias estadísticas entre las condiciones basales y experimentales se valoraron por la t-student pareada. La comparación entre los grupos que se valoraron por la t-student no pareada. Las diferencias estadísticas se definieron cuando $p < 0.05$.

RESULTADOS

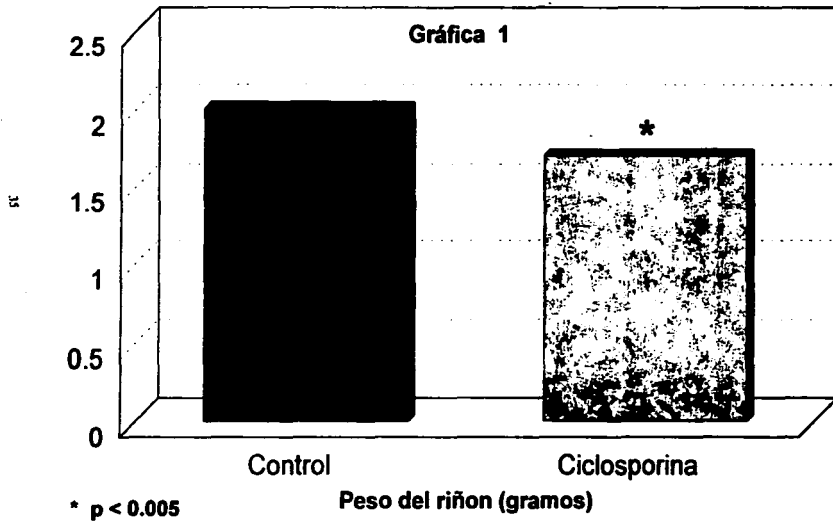
Características del grupo control y las tratadas con ciclosporina (Grupo I).

GRUPO I

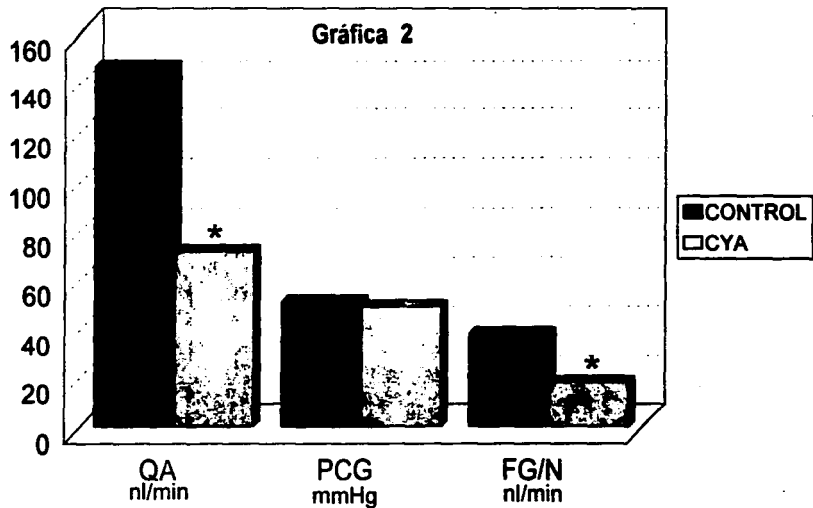
TABLA I. HEMODINAMICA GLOMERULAR EN LA NEFROTOXICIDAD POR CICLOSPORINA

PARAMETROS	CONTROLES (n= 20)	CICLOSPORINA (n=16)	
Pcg	341.9± 8.0	328.9 ± 9.7	N.S.
Prg	2.0± 0.1	1.7 ± 0.1	p< 0.005
Htc	47.5 ± 0.9	42.9 ± 0.7	p< 0.0005
TAM (mm Hg)	116.2 ± 2.1	107.8 ± 2.8	p< 0.01
QA (nl/min)	147.5 ± 5.9	71.5 ± 5.8	p< 0.0005
RA (dina.seg.cm-5)	2.0 ± 0.1	4.2 ± 0.5	p< 0.0005
RE (dina.seg.cm-5)	1.4 ± 0.1	3.2 ± 0.3	p< 0.0005
SFP (mm Hg)	32.5 ± 0.6	31.5 ± 0.6	N.S.
π A (mm Hg)	18.5 ± 0.4	17.6 ± 0.5	N.S.
π E (mm Hg)	28.4 ± 0.06	27.2 ± 0.08	N.S.
PCC (mm Hg)	51.0 ± 0.06	49.0 ± 0.08	N.S.
Kf (nl.seg.mm Hg)	0.039 ± 0.002	0.021 ± 0.002	p< 0.0005
FG/n (nl/min)	38.2 ± 1.6	18.0 ± 1.5	p< 0.0005
FF/n (nl/min)	0.3 ± 0.01	0.3 ± 0.01	N.S.
FG (ml/min)	1.3 ± 0.1	0.4 ± 0.01	p< 0.005
TF/P (polifructosan)	2.1 ± 0.2	1.7 ± 0.2	p< 0.025
UNaV (μEq/min)	0.3 ± 0.04	0.3 ± 0.13	N.S.
FENa (%)	0.2 ± 0.1	0.8 ± 0.3	p< 0.01

Hemodinámica Glomerular en la Nefrotoxicidad por ciclosporina
Ratas controles y tratadas con ciclosporina (CYA)
grupo I

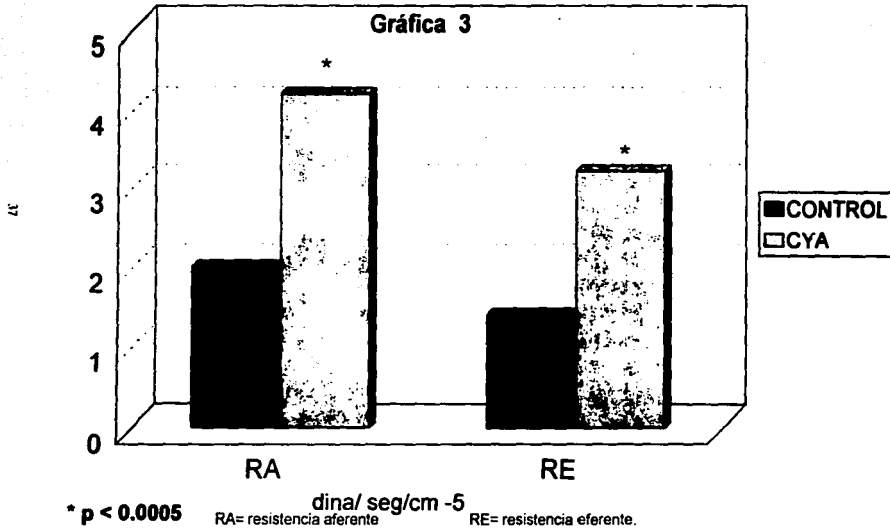


Hemodinámica Glomerular en la Nefrotoxicidad por CYA
Ratas controles y tratadas con CYA
Grupo I



* $p < 0.0005$ QA= Flujo plasmático renal. PCG= Presión capilar glomerular
FG/N= filtración glomerular por nefrona.

Hemodinámica Glomerular en la Nefrotoxicidad por CYA
Resistencias Arteriolas
Ratas controles y tratadas con CYA
Grupo I



GRUPO II A

TABLA 2. HEMODINAMICA GLOMERULAR PRE Y POST INFUSION DE ARGININA (n=19)

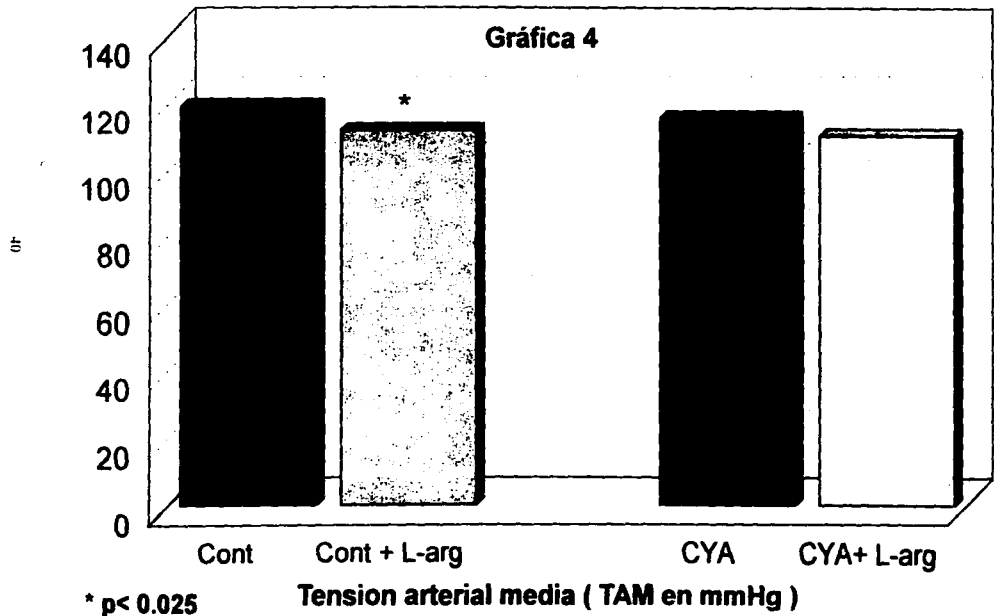
PARAMETROS	CONTROL (BASAL)	CONTROL + ARGININA	
TAM (mm Hg)	119.0± 1.8	111.7 ± 2.4	p< 0.025
QA (nl / min)	155.3± 11.1	268.4 ± 27.7	p< 0.0005
RA (dyna.seg. cm -5)	1.8 ± 0.2	1.0 ± 0.1	p< 0.0005
RE (dyna.seg. cm -5)	1.3 ± 0.1	0.8 ± 0.1	P< 0.0005
π A (mm Hg)	17.9± 0.5	16.5 ± 0.5	p< 0.005
π E (mm Hg)	28.1± 0.8	26.1 ± 0.7	p< 0.005
PCG (mm Hg)	52.5± 1.2	55.4 ± 2.0	N.S..
Kf (nl. seg. mmHg)	0.038 ± 0.003	0.062 ± 0.006	p< 0.0025
FG/N (nl/min)	41.2± 3.4	71.1 ± 7.4	p< 0.0005
SNFF	0.26 ± 0.01	0.27 ± 0.01	N. S.
FENa (%)	0.2 ± 0.1	3.8 ± 1.1	p< 0.125

GRUPO II B

TABLA 3. HEMODINAMICA GLOMERULAR EN RATAS PRE Y POST INFUSION DE ARGININA TRATADAS CON CYA (n=17)

PARAMETROS	CYA (BASAL)	CYA+ ARG	
TAM (mm Hg)	115.3± 5.4	110.1 ± 4.7	N.S
QA (nl / min)	72.2± 13.3	149.5 ± 26.4	p< 0.005
RA (dyna.seg. cm -5)	4.7± 0.8	2.1± 0.3	p< 0.01
RE (dyna.seg. cm -5)	3.1± 0.5	1.5± 0.1	P< 0.01
π A (mm Hg)	18.1± 0.9	16.7± 0.8	p< 0.005
π E (mm Hg)	28.1± 1.2	26.2± 1.1	p< 0.025
PCG (mm Hg)	8.95± 1.1	48.2± 1.4	N.S..
Kf (nl. seg. mmHg)	0.027± 0.009	0.050 ± 0.014	p< 0.0025
FG/ N (nl/ min)	18.1± 3.5	38.9± 6.8	p< 0.0025
SNFF	0.25 ± 0.02	0.26 ± 0.01	N. S.
FENa (%)	0.9 ± 0.2	3.0 ± 0.7	p< 0.005

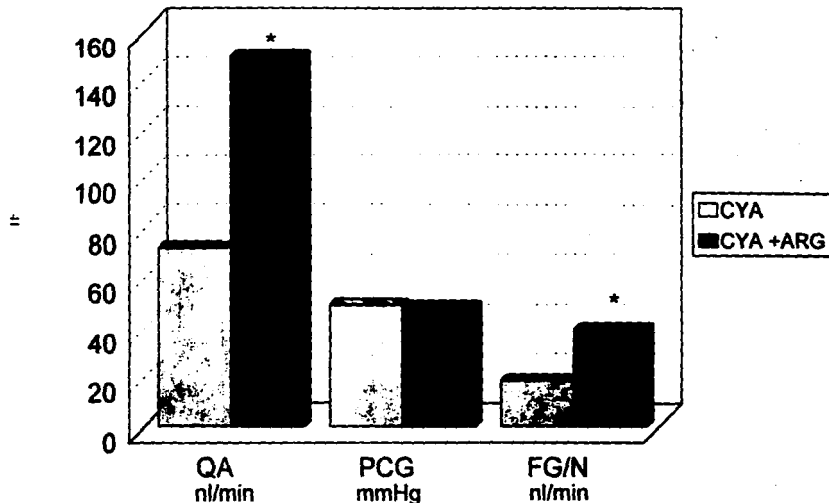
Hemodinámica Glomerular pre y post infusión de L-arginina
Ratas controles y tratadas con CYA
Grupo IIa y IIb



Hemodinámica Glomerular pre y post infusión de L-arginina
en ratas tratadas con CYA

Grupo II b

Gráfica 5

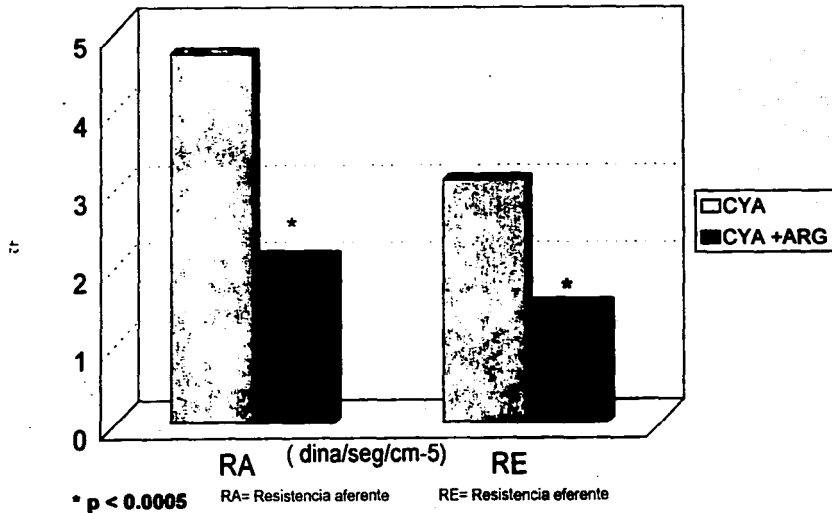


* $p < 0.0005$

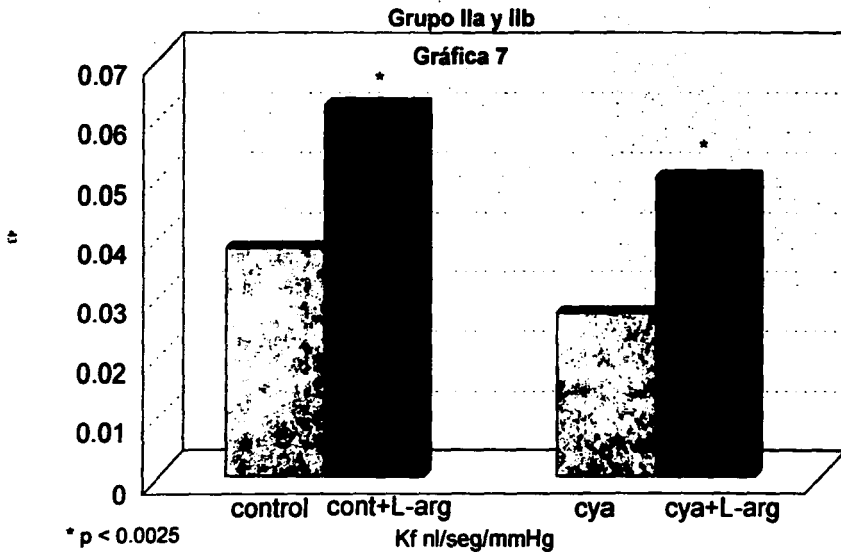
QA = flujo plasmático renal. PCG= Presión capilar glomerular.
FG/N= filtración glomerular por nefrona

Hemodinámica Glomerular pre y post infusión de L-arginina
en ratas tratadas con CYA
Grupo II b

Gráfica 6



**Hemodinámica Glomerular pre y post infusión de L-arginina
en ratas controles y tratadas con CYA
Coeficiente de Ultrafiltración (Kf)**



ANALISIS DE RESULTADOS

El peso de las ratas control y de las tratadas con ciclosporina después de los 28 días de tratamiento, no mostraron variación significativa (341.9 gr vs 328.9 gr)

El peso del riñón de las ratas tratadas fue menor que el de las control y se infiere que se debe al efecto de inhibición sobre la síntesis de proteínas una de las acciones que caracteriza a la ciclosporina.

La disminución del hematócrito observada en el grupo con ciclosporina alcanza un valor estadísticamente significativo, aún durante un período breve de administración probablemente debido a la interferencia con la eritropoyetina, alteración comúnmente observada en estados de nefropatía.

La tensión arterial media (TAM) mostró disminución estadísticamente significativa en las ratas con CYA probablemente por el incremento de fracción excretada de sodio (FENa), y ambas variables se encuentran determinadas en mayor o menor grado a la regulación del tono de las arteriolas aferentes y eferentes, mismas que determinan la resistencia pre y post - glomerulares.

Por otro lado , uno de los elementos que mostró marcada disminución al comparar los dos grupos fue el flujo plasmático (QA : 147.5 n/min Vs 71.5 n/min), debido al efecto vasoconstrictor predominante en las tratadas con CYA, observándose ausencia de variación de la presión hidrostática y presión capilar glomerular.

Los valores obtenidos en la determinación del Kf en el grupo con CYA fue menor en relación con el grupo control debido principalmente a la disminución del flujo plasmático renal, lo cual a su vez se refleja en la FG/N y la FG sin que se afectará la FF/N.

Los valores de la presión oncótica aferente y eferente no se modificaron.

La disminución en la tasa de filtración de polifructosán se correlaciona con la disminución de filtración de la presión renal debido a la vasoconstricción arteriolar.

En la tabla 2 se resumen los resultados obtenidos durante la infusión de arginina. (Grupo IIa y IIb) se observa que con la infusión de este aminoácido, tanto el grupo control como el tratado muestran disminución de la TAM, valor no significativo en las ratas con CYA por el efector vasoconstrictor subyacente de la misma.

El flujo plasmático renal aumentó en ambos grupos debido a la disminución de las resistencias aferentes y eferentes ,conservándose la presión capilar glomerular .

El K_f se incrementó simultáneamente con la filtración glomerular lo que a su vez determinó un aumento correspondiente en la FG/N .

El descenso en las cifras de presión oncótica tanto aferentes como eferentes puede ser secundario a la mayor cantidad de flujo sanguíneo, que de alguna manera, diluye la concentración de proteínas en ambos extremos.

CONCLUSIONES

El presente estudio de carácter prospectivo, muestra en su primera fase, al comparar la dinámica glomerular de ratas controles, con aquellas bajo tratamiento con ciclosporina, cómo el efecto vasoconstrictor de la misma a nivel renal se hace patente a pesar de su acción inmunosupresora para trasplantes en general, y específicamente en nuestro experimento su efecto sobre un modelo hipotético de trasplante renal en ratas (uninefrectomizadas).

Se debe considerar además, que la alteración de algunos de los parámetros biológicos que mostraron cambios significativos en esta primera fase, tales como el peso del riñón de las ratas así como el hematócrito, pueden estar condicionados por el efecto secundario de la ciclosporina, por un lado, por la disminución de la síntesis de proteína, y por el otro, por la inhibición de la eritropoyetina, condiciones similares a las observadas en los estados de nefropatías adquiridas.

El efecto vasoconstrictor a nivel renal de la ciclosporina en las ratas tratadas se refleja en la disminución del TAM, QA, el Kf. FG, FG/n y en el aumento de las resistencias aferentes y eferentes (RA y RE) observándose un aumento concomitante del FENA como mecanismo de autorregulación propio de este órgano.

La segunda fase de este experimento fue diseñada con el objeto de valorar el efecto de un aminoácido básico para la síntesis de óxido nítrico, en este caso la L- arginina, en un intento por contrarrestar los efectos vasoconstrictores de fármacos como la ciclosporina.

Como fue expuesto en la metodología, se sometieron a infusión de L-arginina a ratas controles y las tratadas con ciclosporina. Los resultados obtenidos, muestran claramente como la infusión de este aminoácido mejora ostensiblemente parámetros hemodinámicos tales como aumento del QA, Kf, FG/N, FENa y disminución de RA y RE, todos estos cambios benéficos cuando se está bajo la influencia de un fármaco potencialmente dañinos para el riñon.

Podemos concluir que, desde el punto de vista experimental, la infusión de una sustancia como la L-arginina, precursor de la síntesis de óxido nítrico, puede ser una alternativa para evitar el daño renal comúnmente observado en los trasplantes renales, al contraponerse al efecto vasoconstrictor renal característicos de medicamentos como la ciclosporina.

BIBLIOGRAFIA

1. Versluis D.J., Kate F.J.W.T., Wenting G.J. Jeekel J., Weimer W : Hystological lesion associated with cyclosporine : incidence and reversibility in one year old kidneys transplan. *J. Clin . Pathol.* 1988 ; 41 : 498- 503.
2. Schuman H., Striker . G. Deeg J. H. Kenedy M , Strob R., Tomas E.D : Nephrotoxicity of Cyclosporine A after allogenic marrow transplantation : Glomerular thromboses on tubular injury. *N. Eng J Med.* 1981; 305 : 1392-1395.
3. Myers B. D., Sibley R., Newton L ., Tomlanovisch S. J. Boschcos C., Stinson E. et al . : The long term course of Cyclosporine - associated chronic nephropathy. *Kidney Int.* 1988; 33 : 590- 600.
4. Guyton A.C, *Tratado de Fisiología Médica.* Editorial Mc Graw Hill 7 a. edición 1989.
5. Brenner B, MD, Coe F. L, MD, Rector F. C M.D. , *Renal Physiology in Health and Disease .* W. B Saunders Company, 1987. USA.
6. Vander A. J., MD, *Fisiología Renal .* Editorial Mc Graw Hill. 1990 . México.
7. Blantz R. C, Israelit A. H., Rector F. C, Jr, and Seldin , D. W, 1972. Relation of distal tubular NaCl delivery and glomerular hydrostatic pressure.
8. Deen W.M, Troy J. L, Robertson, C. R and Brenner B. M, Dynamic of glomerular ultrafiltration in the rats. Determination of ultrafiltration coefficient. *J. Clin Invest.* 1973; 52 : 1500.
9. Brenner B.M, Velki F. F, and Daugharty, T M, : On estimating colloid osmotic pressure in pre and post-glomerular plasma in the rat. *Kidney Int.* 1972 ; 2: 51.

10. Landis E.M, and Pappenheimer Jr. (1963) Exchange of substances through the capillary walls. Handbook of Physiology. Circulation, Section II, Vol 2, pp 961-1034, Washington, D, C, American Physiology Society.
11. Deen W.M, Robertson C.R, and Brenner B, M : A model of glomerular ultrafiltration in the rat. Am J. Physiol. 1972 ; 223: 1178.
12. Baylis C, and Brenner B. M. : Modulation by prostaglandin synthesis inhibitors of the action of exogenous angiotensin II on glomerular ultrafiltration in the rat. Cir. res., 1978; 43 : 889.
13. Borel J. F : The History of cyclosporin A and its significance in White DJG (ed): Cyclosporin A proceeding of and international conference on cyclosporin A. Amsterdam, Elsevier Biomedical Press. 1982, pp 5- 17.
14. R. Y. Calne et al, Lanot, ii , 1033, 1979.
15. Buurman W.A, Duers T.J. M, Daemen IA , JJM. et al : Cyclosporin A inhibits IL-2 driven proliferation of human alloactivated T cells. J. Immunol. 1986; 136: 4035-4039.
16. Wish J. B: Immunologic effects of cyclosporin : Transplant Proc. 1986; 18 (No 3 Suppl 2) : 15- 18.
17. Acute Cyclosporin Nephrotoxicity - Prototype for renal membrane signalling disorder. Editorial Review. Kidney International. 1992 ; 42: 1-10.
18. Moncada S, Palmer R.M, and Higgs E. A. : Nitric Oxide : Physiology, Pathophysiology and Pharmacology. Pharmacology Review 1991.

19. Owada A, Nonogudi H, Tomita K, Marumo F : ETB receptor mediates nitric oxide (NO) - induced cGMP generation in isolated glomerulus . J. Am Soc. Nephrol. 1992 ; 3: 443 A.
20. Baylis C, Harton O, Engels K : Endothelial derived relaxing factor controls renal hemodynamics in the normal rat kidney. J. Am Soc. Nephrol . 1990; 1: 875-881.
21. Tolins J.P, Palmer R.M.J, Moncada S, Pai L: Role of endothelium- derived relaxing factor in regulation of renal hemodynamic response. Am J. Physiol. 1990; 258: H 655- H 662.