

11230  
6



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO  
FACULTAD DE MEDICINA  
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSTGRADO E INVESTIGACIÓN

INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL  
HOSPITAL DE ESPECIALIDADES CENTRO MÉDICO LA RAZA

**EFFECTO DEL ACIDO RETINOICO EN RATAS CON INSUFICIENCIA RENAL  
AGUDA INDUCIDA POR DICROMATO DE POTASIO**

TESIS DE POSTGRADO PARA OBTENER EL TÍTULO DE:  
ESPECIALISTA EN NEFROLOGÍA  
PRESENTA

**DRA. HELVETIA IVONNE GARCÍA RICO**

TUTORES ACADEMICOS

**DR. ALEJANDRO PÉREZ LÓPEZ**

MÉDICO ADSCRITO AL SERVICIO DE NEFROLOGÍA DEL HOSPITAL DE  
ESPECIALIDADES CENTRO MÉDICO LA RAZA



**DR. JOSÉ LUIS REYES SÁNCHEZ**

JEFE DEL DEPARTAMENTO DE FISIOLÓGÍA RENAL CINVESTAV-IPN MÉXICO

MÉXICO DF.

SEPTIEMBRE 2002

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

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

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

**EFFECTO DEL ACIDO RETINOICO EN RATAS CON INSUFICIENCIA RENAL  
AGUDA INDUCIDA POR DICROMATO DE POTASIO**


REGISTRO N.

2002-690-0078

TESIS DE POSTGRADO PARA OBTENER EL TÍTULO DE:  
ESPECIALISTA EN NEFROLOGÍA

PRESENTA

**DRA. HELVETIA IVONNE GARCÍA RICO**



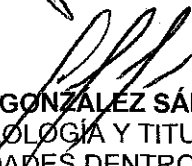
**DR. JESÚS ARENAS OSUNA**

JEFE DE EDUCACIÓN E INVESTIGACIÓN MÉDICA HOSPITAL DE  
ESPECIALIDADES CENTRO MÉDICO LA RAZA DIV. EDUCACION E  
INVESTIGACION MEDICAS

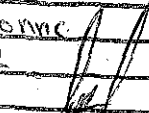


**DR. ALFONSO GONZÁLEZ SÁNCHEZ**

JEFE DEL SERVICIO DE NEFROLOGÍA Y TITULAR DEL CURSO DEL  
HOSPITAL DE ESPECIALIDADES DENTRO MÉDICO LA RAZA



Autorizo a la Dirección General de Bibliotecas de la  
UNAM a difundir en formato electrónico e impreso el  
contenido de mi trabajo recepcional.

NOMBRE: García Rico  
Helvetia Ivonne  
FECHA: 27 09 02  
FIRMA: 

**A MI FAMILIA:**

· Mi alma quisiera

Pagaros hoy la que en mi edad primera

Sufristeis sin gemir, lenta agonía, y que cada dolor de entonces fuera

germen de una alegría

**Por su comprensión y apoyo, con todo mi amor :**

**A MI PADRE, HERMANOS Y ESPOSO**

## **A MIS MAESTROS**

No lo sorprendió la indiferencia del público

Ni de la crítica al final de su vida.

Desde las cinco líneas paralelas del papel

Pautado, veía el mundo con claridad.

***Con admiración y respeto:***

Dr. Alfonso Luis González Sánchez

Dr. Alejandro Pérez López

Dr. José Luis Reyes Sánchez

## INDICE

	N. Pág.
Resumen.....	1
Antecedentes científicos.....	3
Justificación.....	11
Objetivo .....	12
Material y Métodos.....	13
Resultados.....	15
Discusión.....	23
Conclusiones.....	26
Bibliografía.....	27

## RESUMEN

**Introducción.** La Insuficiencia Renal Aguda (IRA) es un síndrome clínico que generalmente se caracteriza por una disminución brusca de la función renal, elevación sérica de los elementos azoados, oliguria y es frecuentemente reversible, su etiología es multifactorial, y su patogenia desconocida, con una morbimortalidad alta.

Recientemente se ha destacado el papel que juega dentro de la patogenia de la IRA, las moléculas de adhesión de las células tubulares en los mecanismos de fijación de la célula tubular a la matriz extracelular y a las células vecinas y su eventual desprendimiento hacia la luz tubular y su contribución a la obstrucción tubular y esta a la depresión del filtrado glomerular, de ahí la necesidad de idear medidas que impidan tal desprendimiento celular y con ello, potencialmente disminuir la obstrucción tubular.

**Objetivo.** Estudiar en un modelo experimental de IRA el efecto del All-Trans. Acido Retinoico (AR) sobre la función renal y sobre la eliminación por la orina, de las células epiteliales renales vivas o muertas

**Material y Métodos.** Se evaluaron ratas Wistar hembras (200-250g), las que se dividieron en dos grupos, el primero, fue el grupo con IRA o control (n 20) el cual se estudio durante 14 días después de haberse inducido falla renal aguda con dicromato de potasio a dosis de 15mg/Kg/ por vía SC, en dosis única y se cuantifico en sangre creatinina y en orina, las células epiteliales antes de la IRA y en los días,1,3,7,10 y 14 días pos inducción del nefrotóxico. El segundo fue el grupo con IRA + AR (n 20) y fue estudiado igual que el primer grupo con la diferencia que, además, se administro diario, por vía oral a dosis de 1 mg/kg el ATAR, cinco días previos a la aplicación del nefrotóxico y durante 14 días posterior a la inducción de IRA.

**Resultados.** Se observó mayor pérdida por la orina de células epiteliales, vivas y muertas en el grupo con IRA que en el grupo tratado con AR. La mayor pérdida celular fue en el 3er día Pos IRA, siendo para las células epiteliales vivas en el grupo con IRA de  $345 \pm 4$  EE y de  $200 \pm 3$  cel/ $10^3$  / mL EE para el grupo con IRA AR, y para las células epiteliales muertas del grupo con IRA de  $470.3 \pm 4$

cel/10<sup>3</sup>/mL EE y de 318±4 cel/10<sup>3</sup>/mL EE para el grupo con IRA + AR con p < 0.005. La concentración de creatinina sérica presentó un incremento paulatino a partir de la aplicación del nefrotóxico, en los dos grupos de estudio, alcanzando su mayor concentración sérica el día 3 Pos IRA, en donde el grupo con IRA presento un mayor nivel serico de 8.4±2.5mg/dL EE y de 2.4±2.0mg/dL EE para el grupo IRA+ AR con una p < 0.005, aun en el día 7, se encontró una disminución significativa con p < 0.01 en el grupo con IRA+ AR en los días subsiguientes, 10 y 14, cuando se compararon ambos grupos, no se encontró diferencias significativas

**Conclusiones.** Nuestro estudio demostró que la administración oral de AR previa y durante la inducción de IRA experimental limita, el daño renal y reduce la eliminación por la orina de células epiteliales vivas y muertas.

*Palabras clave:* Ácido retinoico/ Insuficiencia renal Aguda



## SUMMARY

**Introduction:** The Acute Renal Failure (ARF) is a clinic symptom that is generally characterized for a sudden decrease of the renal function, seric increase of the azoad elements, oliguria and it's frequently reversible. It's etiology is multifactor and it's unknown pathogenic, with a high mobility.

It's roll in the ARF pathogenic has been recently discovered, sticking molecules of the tubular cells in the fixed mechanisms from the tubular cell to the extracelular fixed womb and to the nearest cells and its eventual landslide to the tubular light and its contribution to the tubular obstruction.

This is the depression of the glomerular infiltration. It's from there that arises the need of taking measures for avoiding such a cellular land slide and in that way, potentially decrease the tubular obstruction.

**Objective:** Studding in a ARF experimental model the effect of the ALL-Trans Retinoic Acid (AR) on the renal function and on the elimination through the urine of the kidney epithelial cells alive or death.

**Materials and Methods:** Wistar female rats were evaluated (200-250g) and divided in two groups, the first one was the group with ARF or control (n.20) that was studied for fourteen days after the induction of a Acute Renal Failure with potassium dicromato with a dose of 15mg/Kg through SC way in a unique dose and It's quantified in creatinina blood and in urine, epithelial cells before ARF and in days 1,3,7,10 an 14 days after the induction of the nephrotoxic. The second one was with the ARF group+ AR (n.20) and was studied in the same way as the first group with the difference that it was dally administrated and in an oral way with a dose of 1mg/Kg the AR 5 days before the application of the nephrotoxic and fourteen days after the induction of the ARF.

**Results.** It's was observed a higher lost of epithelial cells death or alive through urine in the group with ARF than in the group treated with AR. The highest cellular lost was in the third day pos ARF, being for the epithelial cells that were alive in the group with ARF of the  $345 \pm 4$  EE and of  $200 \pm 3$  EE cel/ $10^3$ /mL for the group with ARF+AR, and for the death epithelial cells of the group with ARF of  $470.3 \pm 4$

cel/ $10^3$ /mL EE and of  $318 \pm 4$  cel/ $10^3$ /mL EE for the group with ARF+AR with  $p < 0.05$ . Concentration of seric creatinina presented a gradual increase through the application of the nephrotoxic in both study groups achieving it's higher seric concentration an day 3 pos ARF, where ARF group presented a higher seric level of  $8.4 \pm 2.5$ mg/dl EE and of  $2.4 \pm 2$  mg/dl EE for the IRA group AR with a  $p < 0.05$ , in the following days 7,10 and 14 when both groups were compared, no significative difference was found.

**Conclusion:** The study showed that the oral administration of AR, previous and during the induction of experimental ARF limitates the renal harm and reduce the elimination through urine of the epithelial cells that are alive of death.

## **Antecedentes científicos.**

La Insuficiencia Renal Aguda (IRA) es un síndrome clínico, que se caracteriza por un deterioro brusco de la función renal, cuya expresión común es un aumento de la concentración de los productos nitrogenados en sangre y es potencialmente reversible. Alrededor del 60% de los casos cursan con oliguria (1)

Para el funcionamiento renal son necesarias tres premisas: perfusión sanguínea adecuada, integridad del parénquima renal y la permeabilidad de las vías excretoras (1)

La incidencia de la IRA en países desarrollados puede estimarse en 200 casos por millón de población adulta, pudiéndose dividir en pre-renal, renal y post renal provocando alteraciones fisiopatológicas similares.(1)

La IRA es causada por isquemia (50%), nefrotóxicos (35%), cerca del 15% por nefritis tubulointersticial aguda o glomerulonefritis aguda. (2)

No obstante en medio hospitalario frecuentemente es de origen multifactorial, por ejemplo sepsis, tratamiento con aminoglucósidos, medios de contraste, insuficiencia cardíaca, uso de agentes antiinflamatorios no esteroideos etc. (1)

La mortalidad depende de varias condiciones como son: co-morbilidad, lugar del hospital donde se atiende la IRA, como por ejemplo se reporta mortalidad de 7-23% en hospitalización de nefrología y de 50 a 80% en la Unidad de Cuidados Intensivos.(3)

Con la introducción de los tratamientos dialítico en las décadas de 1940 y 1950 logró disminuir la mortalidad del 90 al 50%.(3)

### **Fisiopatología:**

En las última década se ha incrementado el aporte de conocimientos en el terreno fisiopatológico de la IRA y con ello un avance en el abordaje terapéutico. El agravamiento de la deficiencia de oxígeno (hipoxemia-isquemia) al aumentar compromete la viabilidad de las células a partir de este momento se ponen en marcha tres tipos de mecanismos: (4,6)

1.Mecanismo de muerte celular:

a) *Necrosis*: Proceso no previsto causado por una caída tan inesperada como intensa en la concentración de ATP celular clave en el desarrollo de este tipo de muerte celular.

b) *Apoptosis*: Proceso activo previsto por la maquinaria activa de la célula, que ha dispuesto una serie de disparadores que permiten el desmantelamiento ordenado de la de la célula.

2. Mecanismo de reparación celular: La activación de la proliferación celular es uno de los mecanismos que se ponen en marcha para intentar contrarrestar e y reparar la muerte celular

3. Mecanismo de control: Después de la reparación celular y de la sustitución de las células afectadas por células vivas, es necesario un último control para que la proliferación celular no prosiga de modo indefinido, así pues es posible detectar una segunda oleada de Apoptosis controlada

En el curso clínico de la IRA se puede dividir en tres períodos:

- a) Fase de inicio: período durante el cual el individuo es expuesto a la agresión física, química o biológica.
- b) Fase de mantenimiento: período durante el cual se establece la lesión parenquimatosa

Fase de recuperación: que incluye recuperación celular, limitación de la lesión secundaria y regeneración de las células renales(5,6)

### **1. Hemodinámica glomerular y alteraciones circulatorias:**

El riñón humano normal recibe un flujo sanguíneo de alrededor de 1200ml/min. que corresponde a 660ml de flujo plasmático renal, una característica básica de la regulación del flujo sanguíneo renal (FSR) es la capacidad de autorregulación siendo eficaz en ciertos límites de presión arterial, existen varias hipótesis que se han planteado para explicar esta autorregulación 1. teoría miogénica 2. Retroalimentación túbulo-glomerular 3. metabólica

En la fase de inicio de la IRA se caracteriza por una drástica reducción del filtrado glomerular (FG), que se acompaña de un descenso en el FSR, el coeficiente de ultrafiltración glomerular desciende, en un esfuerzo por mantener FSR constante a

pesar de las variaciones en la presión de perfusión renal, se condiciona un reflejo miogénico estimulándose la producción de endotelina 1 y óxido nítrico actuando sobre la musculatura lisa de la arteriola eferente, de este modo el tono arteriolar trata de mantener un equilibrio entre vasoconstricción y vasodilatación. Por otra parte se incrementan los niveles plasmáticos de angiotensina II que actúa como un mediador básico de retroalimentación tubuloglomerular se produce vasoconstricción disminuyendo el FG y FSR. También se ha observado incremento en la síntesis y liberación de factor activador de plaquetas (PAF) induciendo contracción glomerular y de las células mesangiales conllevando una reducción del FSR. Otros factores como el tromboxano A2 (vasoconstrictor) y prostaglandinas vasodilatadoras contribuyen de manera significativa en los cambios hemodinámicos observados en la IRA. (1)

## **2. Alteraciones tubulares**

Aunque todos los segmentos de la nefrona tienden a afectarse en el curso de la IRA el túbulo proximal es la estructura que más fácilmente resulta lesionada debido a el alto riego sanguíneo cortical y con ello el gran aporte de oxígeno y metabolismo aeróbico con elevada generación de energía (ATP). Así el túbulo proximal obtiene su energía mayoritariamente del ciclo de Krebs mitocondrial siendo mínimo el metabolismo glucolítico, obteniéndose energía a través de la hidrólisis de ATP fundamental para el transporte activo de  $\text{Na}^+$  y funcionamiento de las ATPasa, siendo la bomba de  $\text{Na}^+ \text{K}^+$  ATPasa la que consume el 60% del ATP mitocondrial, permitiendo el transporte activo de  $\text{Na}^+$ , creando un gradiente de  $\text{Na}^+$  fundamental para activar transportadores apicales acoplados.(4)

No obstante el asa de Henle en su porción gruesa ascendente al tener una elevada dependencia metabólica del aporte de oxígeno, ante situaciones hipoxémicas o de isquemia sostenida, disfunción a este nivel causa una reducción en transporte activo de  $\text{Na}^+$ ; el cual es fundamental para establecer el mecanismo de contracorriente y un intersticio medular hipertónico, teniendo un papel crítico en el mecanismo de retroalimentación tubuloglomerular al determinar la cantidad de  $\text{Na}^+$  que alcanzará la mácula densa y, por lo tanto, el grado de reducción del

filtrado glomerular, por último los segmentos nefronales dispuestos en la parte más profunda de la médula y la papila, pese a su metabolismo glucolítico y anaerobio, son muy sensibles a la isquemia y la presencia de nefrotóxicos.(4)

Durante la IRA se observa una disfunción de las células epiteliales tubulares con pérdida de su polaridad, de sus uniones estrechas y desorganización de las moléculas de adhesión, lo que ocasiona pérdida de células viables desde la membrana basal a la luz tubular. Si el citoesqueleto se altera, como ocurre en la IRA las uniones estrechas se pierden y las microvellosidades se disponen circunferencialmente a lo largo de la célula. (Estudios realizados durante las últimas décadas han demostrado la existencia de familias de receptores proteicos que median las interacciones transmembrana célula-célula y célula matriz extracelular, el conocimiento de estos fenómenos ha originado la agrupación de estas moléculas en las siguientes familias:

- a) *Selectinas*: selectina L-selectinaP-selectina P y E.
- b) *Superfamilia de las inmunoglobulinas*: Mad CAM-1,PECAM-1 y VCAM-1 o en el endotelio y los leucocitos ICAM-1 e ICAM-2
- c) *Familia de las caderinas*: constituyen el componente transmembrana de las denominadas uniones adherentes
- d) *Familia de las Integrinas*

El conocimiento de estos receptores proteicos ha esclarecido los mecanismos de descamación celular durante la IRA. (7)

En la pérdida de la integridad de la estructura del túbulo renal con desprendimiento celular hacia la luz desempeñan un papel decisivo tanto las alteraciones que se producen en la estructura, la función y la distribución de los componentes del citoesqueleto como las alteraciones de las proteínas de adhesión y la matriz extracelular. En las uniones célula-célula el contacto se realiza mediante las denominadas uniones firmes que esta constituidas por una proteína transmembrana denominada ocludina que contiene en su dominio intracitoplásmico las regiones ZO-1 y ZO2 ( zona ocludens) que sirven de puentes de unión con los filamentos de actina, esté contacto célula-célula también se mantiene por las uniones adherentes. por otra parte la unión de la célula

epitelial a la membrana basal se realiza por uniones con integrina  $\beta$ -1, la pérdida de la habitual distribución de los diversos subunidades de integrinas facilita el desprendimiento celular y favorece la formación intratubular de cilindros. La consecuencia funcional de la pérdida de polarización de la integrina  $\beta$ -1 en las células epiteliales del túbulo renal es, tras la depresión de integrinas, la pérdida de adhesión y posterior desprendimiento de la matriz extracelular(7) (8)

### **3. Alteraciones morfológicas**

Las características morfológicas estarán estrechamente relacionadas con la intensidad lesional, la duración del proceso y el momento evolutivo en que se realiza el estudio histológico. Los cilindros granulares han constituido el primer hallazgo y el más constante, en 1923 Minami describió la presencia de cilindros pigmentados dentro de los túbulos renales, en 1929 Richards fue uno de los pioneros en establecer una relación entre los cilindros y la IRA. La formación precoz de cilindros que se evidencia a las 2 hs de producida la lesión está en estrecha relación con la degeneración del borde apical de las células del túbulo proximal, agregación de proteínas de Tamm Horsfall proceso que es favorecido por la obstrucción, los cilindros son más numerosos a las 48hrs de iniciarse la reperfusión tras la isquemia (6)

Otra característica histológica clásica estrechamente relacionada con la anterior es la dilatación tubular y aplanamiento celular, demostrándose una correlación directa entre dilatación tubular aumento del espacio de Bowman y pérdida del reborde apical. Otra característica histopatológica descrita en la IRA es la necrosis de segmentos del túbulo, asociada a una infiltración inflamatoria local, con ruptura de la membrana basal tubular, lesión histológica denominada lesión focal tubulointersticial. (6)

La utilización del microscopio electrónico evidencia la pérdida del borde apical microvellositario, así como presencia de depósitos de filamentos que corresponden a acentuaciones del citoesqueleto celular identificándose como filamentos de actina. Por otra parte se han demostrado alteraciones del epitelio pedicelar glomerular consistentes en edema intracelular, fusión de podocitos y

aumento de proyecciones micovellositarias. También se ha descrito una reducción de la superficie de los poros de células del endotelio glomerular que explicarían la disminución de la permeabilidad glomerular con disminución de su carga polianiónica. (6) (7)

La lesión de las células del epitelio tubular el desprendimiento de la membrana basal, la descamación hacia la luz y la posterior oclusión por cilindros son complicaciones que ocurren tras la lesión isquémica con alteraciones en la expresión y afinidad de los receptores de adhesión, que median las interacciones entre las células y la matriz extracelular desempeñan un papel importante en el desprendimiento y la pérdida de las uniones entre las células epiteliales.(7) (8)

Los hallazgos patológicos en el estudio histológico son variables pero la lesión fundamental es la necrosis y degeneración del epitelio tubular. Se debe puntualizar que existe una heterogenicidad lesional que en gran parte dependerá de la causa etiológica frecuentemente tóxica o isquémica.

#### **4. Diagnóstico**

La constatación de una concentración elevada de productos nitrogenados y/o una disminución en la uresis, obliga al médico a iniciar un proceso deductivo, que le permita discernir el tipo de insuficiencia renal ante la que se encuentra y la etiología. Realizándose una historia clínica exhaustiva, exploración meticulosa y utilización de pruebas complementarias. Los controles analíticos después de detectar una elevación de los productos nitrogenados son orientativos: elevación en 24hrs > 0.5mg/dl de creatinina sérica, con datos clínicos de síndrome urémico: astenia, anorexia, somnolencia, náusea, vómito, confusión y coma. Determinaciones en sangre de Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>, urea, creatinina, BUN, Mg<sup>+</sup>, LDH, CPK, bilirrubinas, perfil inmunológico con Anti DNA, ANCA, anticuerpo anti MBG, complemento, crioglobulinas, biometría hemática completa, exámen general de orina que incluya Na<sup>+</sup> urinario y osmolaridad urinaria, son estudios complementarios para realizar el diagnóstico diferencial en el tipo de IRA, así mismo podrán ocuparse para valorar la recuperación en la IRA. Así mismo las técnicas de imagen desempeñan un papel fundamental en el diagnóstico diferencial,( ecografía, ecografía doppler, radiografía simple de abdomen,



urografía intravenosa, tomografía axial computada, estudios angiográficos y estudios isotópicos,) su uso razonado permite conocer, el número de riñones, tamaño y contorno, las características del árbol vascular, su patrón de perfusión, así como valorar posibles problemas obstructivos, y finalmente la biopsia renal no es una práctica habitual en la IRA, esta técnica debe realizarse cuando se sospeche de IRA parenquimatosa de índole diferente a necrosis tubular aguda (NTA), aunque también está indicada si la IRA dura más de tres semanas, pues para entonces la mayoría de la NTA están resueltas y podríamos estar retrasando el tratamiento de otras formas de IRA. (9)

## **5.Tratamiento**

El tratamiento de la IRA exige una valoración diagnóstica del paciente basada en a) precisar sus causas para evitarlas o corregirlas, b) confirmar la presencia de otra patología asociada, c) evaluar las consecuencias cardiovasculares y metabólicas, d) determinar si fallan otros órganos.

Se debe insistir en la importancia de las medidas preventivas, en el ámbito hospitalario donde el control de los pacientes debe ser estricto

Deberá manejarse el balance hídrico, electrolítico y de equilibrio ácido-base, así como apoyo de tratamiento sustitutivo de la función renal (diálisis); siendo las indicaciones para esta terapia sustitutiva: 1. urgente (hiperkalemia, edema agudo pulmonar) 2. soporte (mantener las concentraciones de productos nitrogenados creatinina < 6mg/dl y urea <200mg/dl) y 3.apoyo nutricional ( puesto que los pacientes con IRA cursan con un estado catabólico que implica adición de suplementos nutritivos que se vinculan con volúmenes altos de líquido e incremento en niveles de azoados). El uso de diuréticos de asa se encuentra indicado por la capacidad para aumentar la diuresis e incrementar excreción de agua libre y natriuresis. El uso de dopamina a dosis renales, aumenta el FSR, facilitando mayor aporte de oxígeno y menor consumo de del mismo al bloquear la actividad de la Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> ATPasa, no obstante su uso es controversial, ya que los beneficios de esta catecolamina se han demostrado sólo en las primeras horas de instalada la IRA. Otras sustancias como péptidos natriuréticos, antagonistas del

calcio y factores de crecimiento han probado su eficacia en modelos experimentales y en grupos pequeños de pacientes por lo que un futuro inmediato es necesario comprobar su efectividad , a que dosis, en que tipo de IRA, y en que momento evolutivo. (9)

El ácido retinoico (AR),vitamina A, liposoluble descubierta en 1913 por Davis y Mc Collum es un ácido proliénico isoprenoide, promueve el desarrollo embrionario a nivel glomerular (desencadenando su deficiencia número total de glomérulo disminuida.) así como en la diferenciación tubular (10)

Se ha demostrado su papel como antioxidante , antiproliferativo y anti-inflamatorio en GMN experimental disminuyéndose la fibrosis y proliferación con tratamiento con AR.(11)

El AR promueve la reparación epitelial regulando la queratogénesis, xerosis o sequedad cutánea, aumento del tamaño de los corneocitos pigmentación irregular de la piel, lexitud del cutis y lesión proliferativa ( por mala cicatrización) por lo que es ampliamente utilizado en patologías dermatológicas como: acné, arrugas, líneas de expresión y pigmentaciones irregulares (11)

Así mismo se ha comprobado su papel antiproliferativo en el manejo de patologías onco-hematológicas como en la leucemia promielocítica (12)

## JUSTIFICACIÓN

El tratamiento de la Insuficiencia Renal Aguda exige un enfoque integral del manejo del paciente el mejor elemento es el profiláctico, manejo de líquidos, electrolitos, equilibrio ácido-base, estado hemodinámico y apoyo oportuno con diálisis

Tratamientos basados en el mejor conocimiento de los mecanismos fisiopatológicos que conducen a la IRA aún están en fase de experimentación como son el uso de péptidos natriuréticos, factores de crecimiento y antagonistas de receptores de endotelina

En la búsqueda de sustancias que interfieran con procesos proliferativos, los derivados naturales o sintéticos de la vitamina A, han sido de gran interés por sus efectos antiproliferativos en muchos tipos celulares, como en miocitos y células mesangiales, adicionalmente tienen un efecto anti-inflamatorio, antioxidante y de modulación en la síntesis de la matriz extracelular, siendo estos procesos de gran importancia en la respuesta al daño renal. En un futuro inmediato es necesario comprobar que agentes son realmente efectivos en el tratamiento de la IRA por eso la importancia del presente trabajo.

## **OBJETIVO**

Comparar el daño renal inducido por dicromato de potasio en ratas que reciben ácido retinoico vs aquellas que no lo reciben

## MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizarán 40 ratas Wistar hembras de 250 a 250grs induciéndoles IRA en el día cero con intoxicación con dicromato de potasio a 15mg/kg/SC. Se seleccionaron al azar dos grupos de ratas: a)El grupo 1 comprendió 20 ratas a las cuales fueron el grupo control; b)El grupo 2 comprendió 20 ratas a las cuales 5 días previos a la inducción de IRA con dicromato de potasio se les administró por vía oral por medio de sonda de alimentación 1mg/día de ácido retinoico diluido en aceite de cacahuete y etanol 1:1v/v y se les siguió administrando subsecuentemente diario por 14 días.

Se determinó la IRA con los siguientes parámetros:

1. Concentración de creatinina sérica por técnica Tonanes y Tausky, reacción de Jaffe realización de lectura de longitud de onda a 540nm
2. Análisis microscópico del sedimento urinario: Se colocó a las ratas en jaulas metabólicas los días 0,1,3,7,10 y 14, recolectándose la orina en probetas durante 2 hrs, posteriormente se midió y se centrifugó ( centrifuga Beckman G- SGR, USA) a 1300 r.p.m. durante 5 minutos. Se separo la orina del sedimento urinario y a este , se le agrego 10 $\mu$ l de Solucion de Hanks y90 $\mu$ l de azul de tripano, obteniéndose una dilución de 1:10 y de esta solución se cargo la cámara de Neubauger y de ahí se obtienen 10 $\mu$  y se deposito en la cámara, observándose en cinco campos. La viabilidad de las células se baso, en la presencia o ausencia del colorante en el interior de la célula.

3. El tipo celular fue identificado por su morfología: células del epitelio: renal, pelvis y de vejiga a) La célula renal, es circular, pequeña, con borde liso, y núcleo pequeño b) La célula de la Pelvis: con forma piriforme, elongada borde irregular núcleo y citoplasma pequeño c) La célula de Vejiga: fue de forma redondeada bordes lisos, grande y citoplasma abundante y núcleo grandes.

Se sacrificaron al azar tres ratas por cada grupo en los días 0, 1,3,7,10 y 14. obteniéndose las muestras de orina y sangre siendo procesadas en el laboratorio de fisiología renal del CIVENTAV-IPN México DF.

Los criterios de inclusión fueron: Ratas Wistar hembras de 200 a 250grs, sanas, de 6 a 8 semanas de edad. Los criterios de exclusión: ratas que fallecieron.

**Análisis estadístico:** Se realizó estadística descriptiva con frecuencias simples y relativas para variables nominales y medidas de tendencia central y dispersión para variables cuantitativas.

Se realizó ANOVA para medidas repetidas para la comparación antes y después, y ANOVA para la comparación entre grupos, siempre y cuando los datos tuvieron distribución normal, caso contrario utilizó su alternativa no paramétrica. Para las variables nominales utilizó Chi cuadrada.

**Aspectos éticos.** Se ajustó a los lineamientos internacionales Universales de la declaración contra el maltrato de animales de investigación biomédica.

## RESULTADOS

La viabilidad de las células presentes en el sedimento urinario fue determinada con la tinción de azul de tripano en donde, se observó una mayor pérdida por la orina de células vivas como muertas en el grupo con IRA, cuando se comparó con el grupo de ratas con IRA + AR. El promedio de células muertas totales en los días que fueron cuantificadas, (Células epiteliales: renales, pélvicas y vejiga) para el grupo con IRA fue de  $470.3 \pm 4 \text{ cel}/10^3/\text{mL}$  vs  $318 \pm 4 \text{ cel}/10^3/\text{mL}$  y para el grupo con IRA + AR  $p < 0.001$  y de células vivas de  $345.2 \pm 4 \text{ cel}/10^3/\text{mL}$  para el grupo con IRA vs  $200 \pm 3 \text{ cel}/10^3/\text{mL}$  del grupo con IRA + AR con una  $p < 0.001$  (Fig 1, 2)

La pérdida mayor de células se observó en el día 3 para las células muertas y vivas, para células muertas del grupo con IRA fue de  $388.6 \pm \text{ cel}/10^3/\text{mL}$  vs  $188 \pm 4 \text{ cel}/10^3/\text{mL}$  del grupo con IRA + AR  $p < 0.001$ . La pérdida de células vivas en el grupo con IRA tuvo igualmente su pico máximo, en el día 3 con  $294.1 \pm 5 \text{ cel}/10^3/\text{mL}$  vs  $184 \pm 3 \text{ cel}/10^3/\text{mL}$  del grupo con IRA + AR.  $p < 0.001$  (Fig. 1, 2)

Los cambios en el número de células epiteliales renales, de la pelvis y vejiga tanto vivas como muertas guardaron el mismo patrón de mayor desprendimiento en el día 3 en el grupo con IRA, en relación al grupo con IRA + AR indicando un efecto protector contra la nefrotoxicidad del dicromato de potasio. (Tablas 1- 4) (Fig. 1- 8)

La pérdida urinaria de células epiteliales vivas del grupo con IRA fue máxima el día 3 con valores de  $106.9 \pm 4 \text{ cel}/10^3/\text{mL}$  vs  $56 \pm 2 \text{ cel}/10^3/\text{mL}$  para el grupo con IRA + AR con una  $p < 0.001$ . La pérdida de células epiteliales muertas en el grupo con IRA el día 3 fue de  $131.4 \pm 4 \text{ cel}/10^3/\text{mL}$  vs  $62 \pm 3 \text{ cel}/10^3/\text{mL}$  del grupo con IRA + AR  $p < 0.001$ . (Tablas 1- 4) (Fig. 3, 4)

**TAB.1 PERDIDA URINARIA DE CÉLULAS VIVAS DEL GRUPO CON IRA**

Tipo celular	Día 0	1	3	7	10	14	Total
Epitelial Renal $\phi$	0	0	204.6 $\pm$ 6***	2.9 $\pm$ 1	0	0	207.5 $\pm$ 4
Epitelial Pelvis $\phi$	0	0	72.6 $\pm$ 4***	2.9 $\pm$ 1	0	0	75.5 $\pm$ 3
Epitelial Vejiga $\phi$	8 $\pm$ 2	14.3 $\pm$ 4	106.9 $\pm$ 4***	14.3 $\pm$ 2	6.7 $\pm$ 2	4 $\pm$ 1	154.2 $\pm$ 3
<b>Total <math>\phi</math></b>	8 $\pm$ 2	14.3 $\pm$ 4	294.1 $\pm$ 5***	18.1 $\pm$ 2	6.7 $\pm$ 2	4 $\pm$ 1	345.2 $\pm$ 4

\*\*\*Estadísticamente significativo con  $p < 0.001$  Comparado con la perdida celular del grupo con IRA+ AR, el mismo dia.

$\phi$  Cel/ $10^3$ /mL

Las células renales vivas tuvieron un patrón similar al de las células epiteliales observando una perdida urinaria mayor en el día 3 en el grupo con IRA de  $204.6 \pm 4$  cel/ $10^3$ /mL vs  $88 \pm 4$  cel/ $10^3$ /mL para el grupo con IRA +AR y para células muertas del grupo con IRA de  $162.9 \pm 6$  cel/ $10^3$ /mL vs  $84 \pm 4$  cel/ $10^3$ /mL para el grupo con IRA +AR  $p < 0.001$  (Tablas 1- 4) ( Fig.5, 6)

Las células desprendidas de la pelvis tuvieron un comportamiento similar al de las células epiteliales y renales con un máximo de perdida urinaria de células vivas en el día 3 para el grupo con IRA de  $72.6 \pm 4$  cel/ $10^3$ /mL vs  $40 \pm 2$  cel/ $10^3$ /mL para el grupo con IRA+AR y de células muertas del grupo con IRA en el dia 3, de  $94.3 \pm 4$  cel/ $10^3$ /mL vs  $42 \pm 4$  cel/ $10^3$ /mL par el grupo con IRA+AR  $p < 0.001$ . ( Tablas 1- 4) ( Fig. 7 y 8).



**TABLA 2 PERDIDAS URINARIAS DE CÉLULAS VIVAS EN EL GRUPO CON IRA +AR**

Tipo celular	Día cero	1	3	7	10	14	Total
Epitelial Renal $\phi$	0	0	88 $\pm$ 4*	0	0	0	88 $\pm$ 4
Epitelial Pelvis $\phi$	0	0	40 $\pm$ 2*	0	0	0	40 $\pm$ 2
Epitelial Vejiga $\phi$	0	8 $\pm$ 2	56 $\pm$ 2*	8 $\pm$ 2	0	0	72 $\pm$ 2
<b>Total <math>\phi</math></b>	0	8 $\pm$ 2	184 $\pm$ 3*	8 $\pm$ 2	0	0	200 $\pm$ 3

\*Estadísticamente significativo con  $p < 0.05$  comparado con la pérdida urinaria del grupo con IRA el mismo día.

$\phi$  Cel/ $10^3$ /mL

**TABLA 3 PERDIDAS URINARIAS DE CÉLULAS MUERTAS EN EL GRUPO CON IRA**

Tipo celular	Día cero	1	3	7	10	14	Total
Epitelial Renal $\phi$	0	5.7 $\pm$ 1	162.9 $\pm$ 6***	0	0	0	168.6 $\pm$ 4
Epitelial Pelvis $\phi$	0	11.4 $\pm$ 2	94.3 $\pm$ 4***	25.7 $\pm$ 2	6.7 $\pm$ 2	0	138.1 $\pm$ 3
Epitelial Vejiga $\phi$	32 $\pm$ 3	34.3 $\pm$ 2	131.4 $\pm$ 4***	42.9 $\pm$ 2	23.3 $\pm$ 2	0	263.6 $\pm$ 3
<b>Total <math>\phi</math></b>	32 $\pm$ 3	51.4 $\pm$ 2	388.6 $\pm$ 5****	68.7 $\pm$ 2	30 $\pm$ 2	0	470.3 $\pm$ 4

\*Estadísticamente significativo  $p < 0.001$  comparado con la pérdida urinaria de células muertas del grupo con IRA+ AR el mismo día

$\phi$  Cel/ $10^3$ /ml

**TABLA 4 PERIDAS URINARIAS DE CÉLULAS MUERTAS DEL GRUPO CON IRA + AR**

Tipo celular	Día cero	1	3	7	10	14	Total
Epitelial Renal $\varnothing$	0	0	84±4***	0	0	0	84±4
Epitelial Pelvis $\varnothing$	0	0	42±4***	5±2	4±2	0	51±3
Epitelial Vejiga $\varnothing$	0	30±3	62±3***	36±4	30±4	25±2	183±4
<b>Total <math>\varnothing</math></b>	0	30±3	188±4***	41±3	34±3	25±2	318±4

\*Estadísticamente significativo  $p < 0.001$  comparado con la perdida urinaria de células muertas del grupo con IRA el mismo día

$\varnothing$  Cel/ $10^3$ /mL

La concentración de creatinina sérica en los día 0,1,3,7,10,14 para el grupo con IRA fue de 0.9mg/dL, 2.4mg/dL, 8.4mg/dL, 3.2mg/dL, 1.8mg/dL y 0.9mg/dL, comparado con el grupo con IRA+ AR que mostró respectivamente 0.49mg/dL 1.60mg/dL, 2.49mg/dL, 1.52mg/dL, 0.77mg/dL y 0.61mg/dL, observándose una disminución estadísticamente significativa en el 3 día en el grupo con IRA+AR cuando se comparo con el grupo con IRA, con  $p < 0.001$  y aun en el día siete con  $p < 0.01$ (Fig. 9)

Células epiteliales: A)Renal, B) Pelvis, C)Vejiga

A



B



C

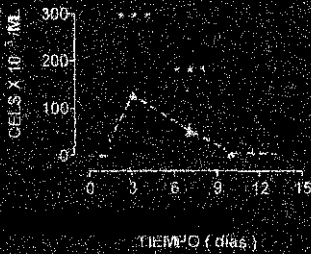


TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

ESTA TESIS NO DALE  
DE LA MIRA DE ORIGEN

FIG 1

CELULAS TOTALES VIVAS



\*\*P < 0.001

FIG2

CELULAS TOTALES MUERTAS

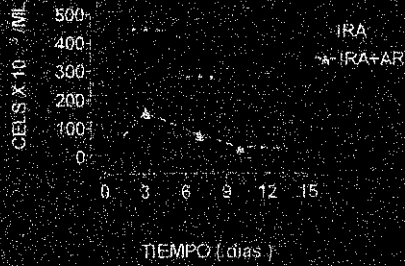
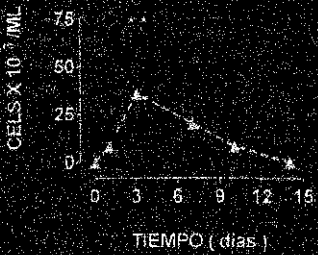


FIG.3

CELULAS EPITELIALES VEJIGA VIVAS

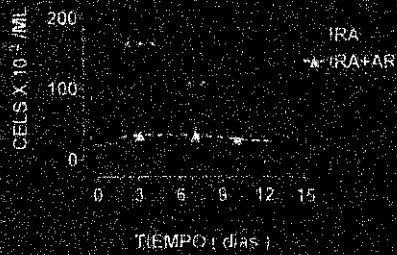


\*\*p < 0.01

\*\*\*p < 0.001

FIG.4

CELULAS EPITELIALES VEJIGA MUERTAS



TESIS CON FALLA DE ORIGEN

FIG.5

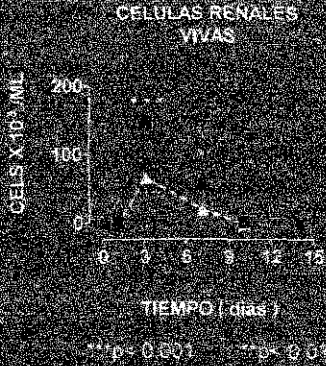


FIG.6

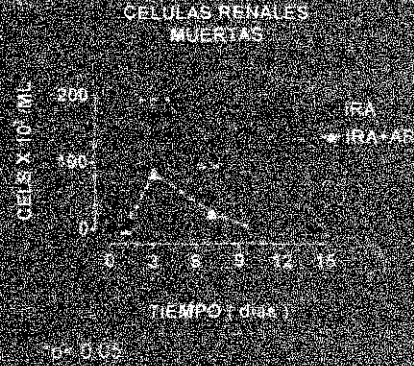


FIG.7

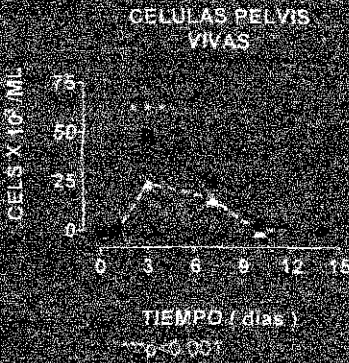
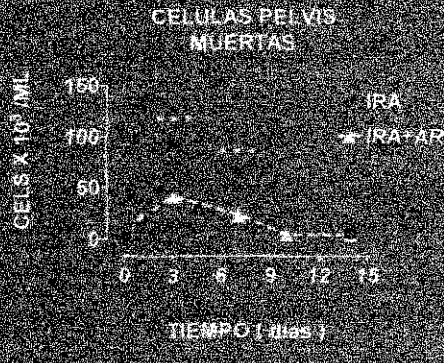


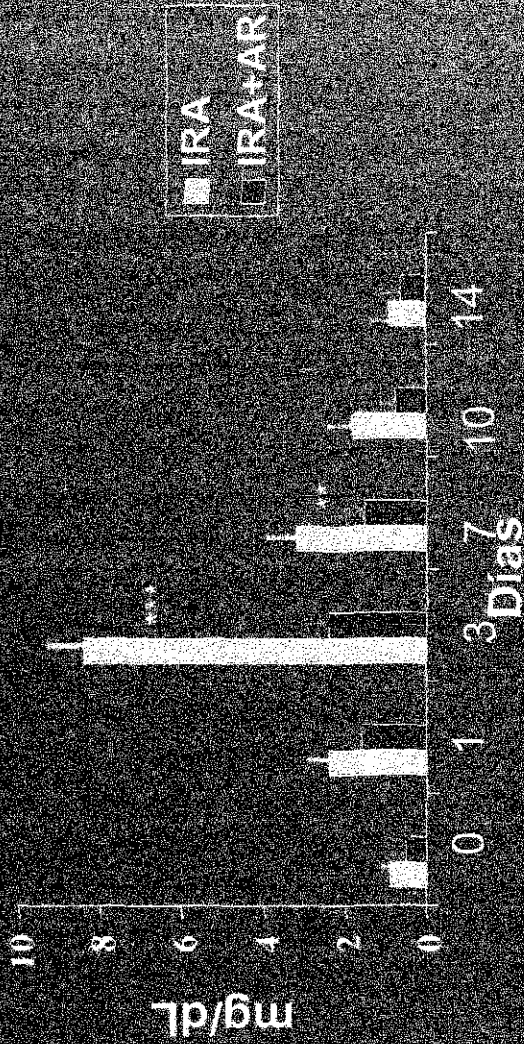
FIG.8



TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

FIG.9

Creatinina sérica



\*\*\*\* p < 0.0001    \*\* p < 0.01

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

## DISCUSIÓN

Nuestros principales hallazgos en este estudio, demuestra por primera vez que la administración oral de AR antes y después de la inducción de la IRA nefrotóxica limita el daño renal funcional y acelera la recuperación de la función renal, cuando se comparo con el grupo de ratas con IRA, a las que no se administró el AR. Lo anterior se manifestó por el comportamiento de la creatinina sérica durante el curso temporal de la IRA, en los dos grupos de estudio (Fig 9) en donde se observo que el AR atenuó el mayor daño funcional en el día 3 en relación al grupo con IRA, además en este grupo, los niveles sericos de creatinina, alcanzaron sus niveles normales antes que el grupo con IRA..

El segundo hallazgos encontrado en este estudio, fue la disminución en el sedimento urinario de células epiteliales, renales y pélvicas, vivas y muertas en el grupo de ratas a las que se administro el AR, cuando se comparo con el grupo de ratas a las que se indujo la IRA, pero no se administró el AR. Racusen demostró que las células vivas eliminadas por la orina de sujetos con trasplante renal que presentaron IRA, fueron viables ya que fueron capaces de proliferar cuando fueron cultivadas *in Vitro* (13).

Esta disminución fue estadísticamente significativa en los días 3 y 7 pos IRA, lo anterior sugiere que el AR previene la perdida de células vivas y muertas de los tres tipos de células estudiadas, antes y después del mayor daño funcional, esto puede explica el menor daño funcional del dicromato de potasio, sobre la función renal..

No se conoce el mecanismo por el cual el AR limita el daño renal funcional y promueve una recuperación mas rápida de la función renal, pero puede ser explicado a través del efecto que tiene el AR sobre los mecanismos de síntesis y degradación de la matriz extracelular glomerular (15) y por otro lado, el AR, al reducir la perdida de células renales, tanto vivas como muertas, promoverá menos acumulo de células y detritos celulares (cilindros) en la luz tubular y como

consecuencia menor obstrucción tubular, y por lo tanto mayor filtrado glomerular, si aceptamos que el fenómeno de obstrucción tubular, es uno de los factores patogénicos, mas importantes que intervienen en la disminución de la función renal en la IRA experimental y humana, como se demostró en la correlación estrecha entre la creatinina sérica y la cantidad de cilindros tubulares (14), en otras palabras, es posible que los efectos benéficos del AR sobre la función renal, sean mediados a través de modificar el coeficiente de ultrafiltración glomerular y la presión intratubular, reduciendo la formación de cilindros tubulares..

Tampoco se conocen los mecanismos por el cual la administración de AR en las ratas con IRA, redujo la eliminación por la orina de la distintas clases celulares estudiadas, pero es probable, que el AR, sea capaz de mantener el anclaje de las células tubulares a la matriz extracelular y a sus células vecinas(14) mediante su acción sobre las moléculas de union intercelular que rodean al túbulo renal y con ello impedir su desprendimiento hacia la luz tubular y así reducir el cúmulo de células y detritos etc.

La fijación del epitelio tubular a la matriz extracelular lo realiza mediante la superfamilia de receptores de las integrinas, específicamente aquellas que se expresan predominantemente en el túbulo proximal como son  $\alpha_6\beta_1$  y  $\alpha_6\beta_4$  las que se unen a las proteínas de la matriz extracelular como la lamina 1 y fibronectina, cuya codificación esta gobernada por el AR, y por otra parte el AR interviene aumentando la síntesis de receptores del factor de crecimiento epidérmico (FCE) el cual es uno de los mitogenos mas importante del túbulo proximal.

A nivel de la región basolateral de los túbulos proximales, estos se encuentran en relación estrecha con las células tubulares vecinas mediante las uniones estrechas, las uniones adherens, desmosomas, y las uniones huecas cuya función es mantener una comunicación estrecha tanto anatómicamente como funcional entre ambas células, lo que es fundamental para el mantenimiento y viabilidad de las células. A este respecto se ha encontrado que el AR interviene en



la expresión de los genes que codifican las proteínas de las uniones estrechas,(16) y a nivel borde ciliado promueve el transporte, de fosfato, aminoácidos, y glucosa, todos ellos importantes para la función energética de la célula tubular, todo ello en su conjunto explicaría teóricamente, los mecanismos por el cual el AR mejora la función renal y la reducción en la eliminación de las células vivas y muertas epiteliales.

## CONCLUSIONES

El Ácido Retinoico (AR) es una vitamina que, cuando se administra en la (IRA), muestra un efecto protector, manifestado en los resultados de las pruebas séricas y urinarias de los grupos con IRA e IRA + AR.

En el análisis del sedimento urinario se encontró un menor grado de descamación celular en el grupo tratado con AR, siendo las células renales las más representativas. En congruencia con estos datos se encontró que la concentración de creatinina sérica estuvo más elevada en las ratas con IRA que las que recibieron el ácido retinoico.

Estos resultados sugieren que el tratamiento con ácido retinoico disminuye la severidad de las alteraciones bioquímicas y celulares, que se presentan en este modelo de IRA nefrotóxica.

## BIBIOGRAFÍA

1. Liaño F, Pascual and The Madrid Acute renal Failure Study Group: Epidemiology of acute renal failure: A prospective, multicenter, community-based study. *Kidney Int* 1996;50:811-818
2. Wedeen RP. Heavy metals. En: Schrier RW, Gottschalk CW (eds). *Disease of the kidney* 6a ed Boston: Little Brown 2001, 1237-1253
3. Brivet FG, Kleinknecht D, Loirat Ph et al. Acute renal failure in intensive care units: Causes, outcome and prognostic factors of hospital mortality .A prospective, multicenter study. *Crit. Care Med* 1996;24:192-198
4. Brenner & Rector. *The Kidney*, 6a ed. pp 277-374, Estados Unidos de América 2000
5. Rabb H, O' Meara YM, Maderna P , Coleman P, Brandy KH. Leukocytes, cell adhesion molecules and ischemic acute renal failure. *Kidney Int* 1997;51:1463-1468
6. Lieberthal W, Koh JS, Levine JS. Necrosis and apoptosis in acute renal failure. *Semin Nephrol* 1998;18(5):505-518
7. Bhole A, Jahneck J, Meyer D, Shubert GE. Morphology of acute renal failure: Comparative data from biopsy and autopsy. *Kidney Int* 1976;10-S9
8. Dragun D, Tullius SG, Parck JK et al. ICAM-1 antisense oligodeoxynucleotides prevent reperfusion injury and enhance immediate graft function in renal transplantation. *Kidney Int* 1998;54 590-602
9. Brenner & Rector. *The Kidney*, 6a ed. pp 2219-2260, Estados Unidos de América 2000.

10. Kubota H, Chiba H Takakura Y et al. Retinoid X Receptor  $\alpha$  and Retinoic Acid Receptor  $\gamma$  Mediate Expression of Genes Encoding Tight-Junction Proteins and Barrier Function in F9 Cell during Visceral Endodermal Differentiation. *Exp Cell Research* 2001, 263:163-172
11. Wagner j, Dechow C, Morath C et al. Retinoic Acid Reduces Glomerular Injury in Rat Model of Glomerular Damage. *J. Am Soc Nephrol* 2000,11:1479-1487
12. Hernández P, Uria J, Dorticó E et al. Tratamiento de la leucemia promielocítica con ácido retinoico . *Revista Cubana de Hematología Inmunología, hemoterapia* 1995;11,; 1-10
13. Rascusen, L., Fivush BA, Li Y L et al. Dissociation of Tubular Cell Detachment and tubular Cell Death Clinical and Experimental "Acute Tubular Necrosis" *Laboratory Invest.* 1991; 62,4:546-556,
14. Glogigorsky MS, Lieberthal W, Rascusen L and Simon EE. Integrin receptors in renal tubular epithelium: new into pathophysiology of acute renal failure. *Am. J. Physiol.* 1993; 264 (Renal Fluid Electrolyte Physiol.33) F1-F8,
15. Manzano M, PuyolR, Gómez A, et al. Prevention by Tretinoin Call- trans Retinoic Acid) of Age Related renal Changes. *Internat. J. Vit. Nutr. Res* 1997;67 :427-431
16. Molitoris B & Marrs J. The Role of cell adhesion molecules in ischemic acute renal failure. 1999;106, 5: 583-592