

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
Departamento de Zoología y Fisiología Animal



TESIS DOCTORAL

**Alteraciones funcionales en el fracaso renal agudo isquémico
: bases fisiológicas de la protección producida por la
reducción de masa renal**

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR
PRESENTADA POR

José Miguel López Novoa

Madrid, 2015

José Miguel López Novoa

TP
1981
212



* 5 3 0 9 8 5 6 8 4 6 *

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE

x-53-016378-x

ALTERACIONES FUNCIONALES EN EL FRACASO RENAL AGUDO ISQUEMICO:
BASES FISIOLÓGICAS DE LA PROTECCION PRODUCIDA POR LA
REDUCCION DE MASA RENAL.

Departamento de Zoología y Fisiología Animal
Facultad de Ciencias Biológicas
Universidad Complutense de Madrid
1981

© José Miguel López Novoa
Edita e imprime la Editorial de la Universidad
Complutense de Madrid. Servicio de Reprografía
Noviciado, 3 Madrid-8
Madrid, 1981
Xerox 9200 XB 480
Depósito Legal: M-31068-1981

ALTERACIONES FUNCIONALES EN EL FRACASO RENAL AGUDO
ISQUEMICO : BASES FISIOLÓGICAS DE LA PROTECCIÓN PRODU
CIDA POR LA REDUCCIÓN DE MASA RENAL.

José Miguel López Novoa.

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID
FACULTAD DE BIOLOGÍA
DEPARTAMENTO DE FISIOLÓGIA ANIMAL

1979



A mis Padres

A Teresa

Esta Tesis Doctoral ha sido realizada en el Laboratorio de Fisiología Renal del Servicio de Nefrología de la Fundación Jiménez Díaz bajo la dirección del Dr. Luis Hernando Avendaño, Jefe del Servicio de Nefrología de la Fundación Jiménez Díaz, Profesor Especial de la Facultad de Medicina de la Universidad Autónoma de Madrid.

Como Ponente ha actuado el Dr.D.Arsenio Fraile Ovejero, Catedrático de Fisiología Animal de la Facultad de Biología de la Universidad Complutense de Madrid.

AGRADECIMIENTOS

La simple relación de nombres de las personas que me han ayudado de alguna manera a la realización de esta Tesis haría interminable este apartado. Por ello es seguro que me deje en el fondo de la memoria a muchas personas sin cuya colaboración este texto no hubiera sido posible. A ellos en primer lugar mi agradecimiento.

Me gustaría ser capaz de expresar con las palabras adecuadas mis sentimientos hacia el Director de esta Tesis, mi maestro, compañero y amigo Dr. D. Luis Hernando Avendaño, cuyo ejemplo, confianza, estímulo y capacidad científica y humana me han guiado, y espero que sigan haciéndolo, no solo en mi vida profesional sino en la personal. Espero ser capaz de responder a su amistad y hacerme merecedor de la confianza que en mí ha depositado siendo un digno discípulo.

Tengo obligatoriamente que hacer mención especial a todos los que han conducido mis pasos por el campo del saber, desde mis profesores de Enseñanza Primaria y Bachillerato Elemental, D. Miguel Ruiz Borrego y D. Antonio Fernández, la Dra. Esperanza Martínez-Conde, - con quien empecé mi camino en la Investigación Fisiológica y el Dr. José Luis Rodicio que me inició en el campo apasionante de la Fisiología Renal.

Asimismo, quisiera agradecer al Prof. D. Arsenio Fraile Ovejero, mi primer Maestro de Fisiología y Ponente de esta Tesis, la formación que de él he recibido y la atención prestada, tanto durante mi estancia en su Departamento como en el desarrollo de esta Tesis.

No quisiera olvidarme de los compañeros que han trabajado y trabajan conmigo en este Laboratorio de Fisiología Renal: Manuel

Antonio Rengel, Ana Valido, Francisco Ortega, Rafael Perez-García, Blanca Ramos, Mercedes Zubiaur, José Emilio Martín-Oar y tantos - otros, a los que espero haber enseñado al menos una parte de lo que yo he aprendido de ellos. A todos mi gratitud más sincera.

Estas experiencias hubieran sido imposibles sin la magnífica colaboración técnica de Inmaculada Millás, Emilia Blanco y Rosa Antón y el cuidado y manejo de los animales por parte de Carmen Montes y Marina Bello.

Tengo asimismo que agradecer a Daniel Casellas, Cliniques Saint Charles, Montpellier, el haberme proporcionado las microsferas y enseñado a utilizarlas. A Félix Mata, del Departamento de Medicina Nuclear de esta Fundación su colaboración y enseñanzas en la determinación y manejo de Radioisótopos y a José Cortés, del Departamento de Anatomía Patológica de esta Fundación, su colaboración en los estudios histológicos realizados.

Es de destacar la magnífica labor secretarial realizada por Isabel Navajas y M^a Dolores Ferrer.

ABREVIATURAS

A.I	angiotensina I
A.II	angiotensina II
AH	Asa de Henle
AR	Arteria renal
ADH	Hormona antidiurética
CRR	Contenido renal de renina
C _{cr}	Aclaramiento de Creatinina
C _{PAH}	Aclaramiento de ácido para-aminohipúrico
C _{In}	Aclaramiento de Inulina
DNA	Acido desoxiribonucleico
E _{Cl}	Excreción de cloro
E _{Na}	Excreción de sodio
E _K	Excreción de potasio
FF	Fracción de filtración
FG	Filtrado glomerular
FGN	Filtrado glomerular por nefrona cortical
FP	Flujo plasmático
FPR	Flujo plasmático renal
FRA	Fracaso renal agudo
FS	Flujo sanguíneo
FSR	Flujo sanguíneo renal
GC	Gasto cardíaco
Htcto	Volumen hematocrito
IRA	Insuficiencia renal aguda
K _f	Coefficiente de ultrafiltración glomerular

K _g	Coefficiente de permeabilidad hidráulica glomerular
MHG	Mio-hemoglobina
MRR	Masa renal reducida
NA	Noradrenalina
PA	Presión arterial
PAH	Acido para-aminohipúrico
PAM	Presión arterial media
PTD	Presión intratubular distal
PTP	Presión intratubular proximal
RIA	Radioinmunoensayo (Radioinmunoanálisis)
RPT	Resistencia periférica total
RVR	Resistencia vascular renal
S _f	Superficie de ultrafiltración glomerular
TD	Túbulo distal
TP	Túbulo proximal
Vo	Volumen urinario

INDICE

	<u>Pág.</u>
A. INTRODUCCION	1
A.1 Fracaso Renal Agudo, definición y generalidades	1
A.2 Modelos experimentales	3
A.2.a Obstrucción temporal de la arteria renal	3
A.2.b Infusión de noradrenalina en la arteria renal	4
A.2.c Inyección de glicerina	4
A.2.d Administración de sales de uranilo	5
A.2.e Administración de cloruro mercúrico	6
A.3 Patofisiología del fracaso renal agudo	7
A.3.a Generalidades	7
A.3.b Alteración hemodinámica renal	13
A.3.c Alteración del coeficiente de ultrafiltración	22
A.3.d Salida de fluido tubular a través de las <u>pare</u> des dañadas del epitelio	25
A.3.e Obstrucción tubular	28
A.4 Adaptación funcional a la reducción de masa renal	31
A.4.a Hipertrofia renal compensadora	31
A.4.b Adaptación funcional aguda	35
A.5 Planteamiento y objetivos de las experiencias	39
B. METODOS	42
B.1 Experiencias de aclaramiento	42

	<u>Pág.</u>
B.1.a Aclaramiento en cajas metabólicas	42
b.1.b Experiencias de aclaramiento corto	43
B.2 Experiencias de micropunción	46
B.2.a Preparación de las micropipetas	46
B.2.b Preparación quirúrgica del animal	47
B.2.c Técnica de la micropunción	48
B.2.d Determinaciones en el fluido tubular	50
B.3 Técnica de microesferas	52
B.3.b Medida de la actividad de los radioisótopos	54
B.3.c Cálculos	55
B.3.d Comprobación de la técnica	56
B.4 Determinación de los componentes líquidos del orga nismo	59
B.4.a El volumen plasmático se ha determinado me- diante el cálculo del espacio de distribu- ción de albúmina marcada con ¹²⁵ I	59
B.4.b Determinación del volumen extracelular	60
B.5 Técnicas histológicas	63
B.6 Técnicas quirúrgicas	64
B.6.a Nefrectomía unilateral	64
B.7 Métodos de valoración química	65
B.7.a Inulina	65
B.7.b El ácido para-amino-hipúrico	66
B.7.c Creatinina	67

	<u>Pág.</u>
B.8 Determinación del contenido renal de renina	68
B.8.a Fundamentos	68
B.8.b Materiales utilizados	69
B.8.c Procedimiento	70
B.8.d Comprobación del método	72
B.9 Otras determinaciones	73
B.10 Métodos estadísticos	74
C. EXPERIENCIAS Y RESULTADOS	76
C.1 Valoración secuencial del filtrado glomerular y del flujo plasmático renal después de la uninefrectomía	76
C.2 Fracaso renal agudo en masa renal reducida	77
C.3 Sobrecarga hidrosalina en los animales pseudooperados	80
C.4 Valoración secuencial funcional e histológica del FRA en animales controles y con masa renal reducida	81
C.4.a Procedimiento	81
C.4.b Resultados: evolución funcional	82
C.4.c Evaluación histológica del FRA	83
C.5 Efecto de una mayor reducción de la masa renal	88
C.5.a Experiencias de aclaramiento en jaulas metabó licas	88
C.5.b Experiencias de aclaramiento agudo	89
C.6 Determinación de los componentes líquidos del organis mo después de la nefrectomía unilateral	92
C.7 Hemodinámica general e intrarrenal después de la ne frectomía	93

	<u>Pág.</u>
C.7.a Estudio de la hemodinámica general de los animales uninefrectomizados	93
C.7.b Redistribución intrarrenal del FPR en los animales uninefrectomizados	93
C.7.c Distribución intrarrenal del FG en los animales uninefrectomizados	94
D. DISCUSION	96
E. CONCLUSIONES	118
BIBLIOGRAFIA	120

A INTRODUCCION

A.1 FRACASO RENAL AGUDO. DEFINICION Y GENERALIDADES

El riñón es un órgano cuya misión fundamental es la de mantener constantes las características fisicoquímicas del líquido extracelular, y por lo tanto, de todo el medio interno.

Ante determinadas circunstancias, el riñón puede responder mediante la paralización parcial o total de sus funciones, paralización que puede ser reversible. Es a esto a lo que se denomina Fracaso Renal Agudo (FRA) o Insuficiencia Renal Aguda (IRA).

El FRA es una entidad clínicamente importante, tanto por el número de pacientes afectados como por su gravedad, aunque esta última se ha visto compensada por el desarrollo de los métodos sustitutivos de la función renal (hemodiálisis, diálisis peritoneal).

La interrupción brusca de la función renal da lugar a una situación que, si bien no es tan espectacular como la insuficiencia aguda respiratoria o cardíaca, tiene en un período breve de tiempo igual gravedad. Además el FRA puede presentarse en todas las épocas de la vida, desde el lactante hasta el anciano, y complica las patologías más diversas (66). Sin embargo, la importancia del conocimiento de su patofisiología deriva, no sólo de su considerable frecuencia y gravedad sino, sobre todo, de su posible reversibilidad.

Es curioso que el término Fracaso Renal Agudo, de tanta trascendencia en la nefrología moderna, no apareciera en la literatura médica hasta 1940, año en el que fué utilizado por Bywaters para describir la afección renal que aparecía en las víctimas de los aplastamientos, frecuentes durante los bombardeos de Londres en la Segunda

Guerra Mundial (66), siendo en este período de tiempo cuando se hicieron los primeros estudios sistemáticos de esta afección.

La nefropatía vasomotora humana, que ocurre como consecuencia de etiologías muy variadas, se caracteriza por un volumen urinario - muy reducido (oliguria), una disminución de la filtración glomerular, reducción de la capacidad de transporte tubular e isquemia cortical (116). El flujo renal cortical, medido por métodos tales como gammagrafía con ⁸⁵cripton (24), dilución de colorantes (138, 182) u otros métodos indirectos (70, 71, 126), se ha observado siempre reducido a un 30-50% del normal, reducción que persiste mientras dure la insuficiencia renal.

Si esta reducción tan marcada del Flujo Sanguíneo es debida - exclusivamente a la constricción preglomerular, debe conducir inevitablemente a la reducción de la presión efectiva de ultrafiltración en los capilares glomerulares.

Los angiogramas realizados en pacientes con este tipo de FRA han mostrado una clara disminución de la luz de las arterias arciformes e interlobulares, indicativa de constricción preglomerular (71).

Una base vascular para la insuficiencia renal en el hombre parece así bien establecida para una serie de casos, siendo las alteraciones hemodinámicas constantes, independientemente de la causa subyacente al FRA (70). De aquí la adopción por algunos grupos del término "nefropatía vasomotora" para este tipo de FRA (114, 115).

Aunque esta entidad se presente con síntomas únicos: disminución de la excreción de productos nitrogenados con su correspondiente aumento de concentración en el plasma (uremia, azotemia), disminución brusca del filtrado glomerular, alteraciones hidroelectrolíticas

(retención de agua, hiperpotasemia) y frecuentemente, disminución brusca del volumen de orina (oliguria, anuria), tanto su origen (patogenia) como los mecanismos fisiológicos alterados que subyacen (patofisiología) y su desarrollo (evolución) son muy diversos y, en muchos casos, se sabe muy poco de ellos.

A.2 MODELOS EXPERIMENTALES

Buena parte de lo que se conoce de la patofisiología del FRA - se ha averiguado mediante la utilización de modelos experimentales. Los más importantes de entre los utilizados serán descritos a continuación.

A.2.a Obstrucción temporal de la arteria renal

Se induce mediante la oclusión de la arteria renal durante un período de tiempo que suele ser de una hora (44, 94, 161, 176) ya que tiempos menores producen alteración funcional de poca importancia, y mayores dan lugar a daños irreversibles. Pueden distinguirse dos formas fundamentales de llevar a cabo esta isquemia.

a) Isquemia total: la arteria renal se ocluye completamente mediante un microclamp después de haber administrado al animal un anticoagulante (usualmente heparina a 10 - 15 u/100 g de peso, i.v.)(44, 161).

b) Isquemia parcial; ha sido realizada en algunas experiencias por López Novoa y col. (94, 96) y Daugharty y col. (34, 35). Consiste en una ligadura controlada de la arteria renal de forma que se suprime la filtración glomerular sin suprimir totalmente el paso de he

matías por la circulación superficial.

Las alteraciones fisiológicas observadas después de retirar la obstrucción de la arteria renal son prácticamente las mismas, aunque hay pequeñas diferencias que mencionaremos más adelante.

Como el FRA producido es unilateral, cuando se ha querido estudiar crónicamente las alteraciones inducidas, se ha realizado nefrectomía contralateral inmediatamente después de retirar la ligadura de la arteria renal (92, 176).

A.2.b Infusión de noradrenalina en la arteria renal

Cuando se perfunde en la arteria renal de un perro noradrenalina a una dosis de 0,75 -1 µg/Kg/minuto, el flujo sanguíneo renal y el flujo urinario descienden prácticamente a 0, y se mantienen a ese nivel mientras dure la infusión (73). Si la infusión dura menos de 30-40 minutos el riñón puede recuperarse (33) alcanzando a las 3 horas un flujo sanguíneo que raramente excederá del 50% del basal. Infusiones de 2 horas producen ya un daño irreversible.

Tanto este modelo como el anterior pueden ser denominados "isquémicos" sin ninguna duda.

A.2.c Inyección de glicerina

Ha sido posiblemente el modelo más utilizado tanto por su simplicidad como por su enorme parecido a uno de los tipos más conocidos de FRA clínicos, el denominado síndrome de aplastamiento (Crush-Syndrome). Se lleva a cabo por inyección intramuscular o subcutánea de glicerina (50%) en agua destilada, 10 ml/Kg de peso. Poco tiempo después el animal empieza a producir una orina de color rojo burdeos,

que contiene una gran cantidad de pigmentos, fundamentalmente mioglobina y hemoglobina. En principio se pensó que o bien la glicerina "per se" o bien la mioglobina o alguna otra sustancia liberada de la zona inyectada, tenían un efecto tóxico directo sobre las células renales. Posteriormente se ha comprobado que no es así, y que su acción es fundamentalmente de tipo hemodinámico (164). En la fase inicial, tras la inyección intramuscular de glicerina se produce una disminución muy importante del volumen plasmático posiblemente por "atrapamiento" de plasma y proteínas en el sitio de la inyección. El gasto cardíaco desciende hasta en un 64% a las 3 horas. A las 12 horas todavía se mantiene bajo y a las 24 horas es ya normal (75). Aunque la hipovolemia sería un factor que contribuiría a la disminución del GC habría otros factores que también colaborarían, como son la influencia directa de la glicerina sobre el miocardio y la elevación de la presión arterial sistémica (180). La administración aguda de plasma o solución salina mejora el gasto cardíaco (180) y el FG (95) pero no de una forma completa.

A.2.d Administración de sales de uranilo

El FRA por sales de uranilo se realiza fundamentalmente con acetato o con nitrato de uranilo.

La infusión de acetato de uranilo en la arteria renal (0,5 mg/Kg, 20 min) induce un rápido descenso del FG, con aumento rápido de la excreción de potasio y un aumento más lento de la excreción de sodio (175).

La administración IV de una sal de uranilo en perros produce unos resultados que varían según las dosis empleadas. Dosis de 2 mg/Kg

producen disminución del FG (medido por el aclaramiento de creatinina) y del FPR según estudios realizados por Steffen y col. (5). Con la misma dosis y vía de administración, Tyrakowski (174) sólo observó disminución del FP cortical. Dosis de 10 mg/Kg inducen disminución del FPR y del FG inmediatamente después de la administración de la sal de uranilo (175).

En la rata, se ha visto que la administración subcutánea de nitrato de uranilo en dosis a partir de 2,5 mg/Kg causa elevación de la urea plasmática. Las dosis más utilizadas han sido alrededor de 15 mg/Kg y se han observado tanto alteraciones funcionales, disminución del FG, FGN, FPR, (49) como histológicas (16, 155).

En el conejo se ha utilizado dosis entre 0,2 y 2 mg/kg intravenoso y se ha observado que en todos los casos reduce el FG (111, 156) y a la dosis mayor también el FPR (156).

A.2.e Administración de cloruro mercurico

El mercurio es uno de los tóxicos renales más antiguamente conocidos. Las dosis y vías usuales de administración son las siguientes: En la rata por inyección subcutánea a dosis entre 4 y 5 mg/Kg (86, 135, 162) o intravenosa a las mismas dosis. En conejos la dosis a emplear son mucho más bajas (1,5 - 2 mg/Kg) (149 bis). Estas dosis producen un FRA subletal, reversible y con grandes aumentos de la azotemia.

A.3 PATOFISIOLOGIA DEL FRACASO RENAL AGUDO

A.3.a Generalidades

La patofisiología del fracaso renal agudo está todavía muy mal conocida a pesar de la gran cantidad de publicaciones aparecidas en los últimos años. De ellas puede deducirse que son cuatro los mecanismos fundamentales que, actuando individualmente o en conjunción, pueden ser responsables de las alteraciones observadas en el fracaso renal agudo.

1. Alteración hemodinámica renal con disminución de la presión efectiva de ultrafiltración.
2. Alteración del coeficiente de ultrafiltración.
3. Alteración de la permeabilidad tubular por lesión del epitelio y resorción indiscriminada del fluido tubular.
4. Obstrucción tubular.

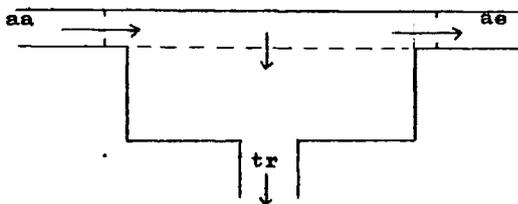
Es necesario tener también en cuenta que alguno de estos mecanismos puede ser de especial importancia en la iniciación del FRA - mientras que otros son responsables fundamentalmente del mantenimiento de la insuficiencia renal.

Un hecho constante del FRA es la disminución de la tasa de filtración glomerular, o al menos de la tasa de filtración glomerular "aparente". Esto significa que la medida del aclaramiento de inulina hecha a partir de la orina vesical o ureteral ofrece un valor por debajo del normal. Esto puede no significar que, efectivamente, la filtración glomerular está ocurriendo a un ritmo bajo. Por ejemplo, en el supuesto de que no exista ningún tipo de alteración hemodinámica

ni disminución del coeficiente de ultrafiltración, y sí, en cambio, un escape de fluido tubular a través del epitelio dañado, la tasa de filtración glomerular renal sería normal, pero parte de la orina no alcanzaría la pelvis renal y volvería a la circulación peritubular, por lo que el aclaramiento de inulina daría una medida falsa del filtrado glomerular.

Asimismo, para poder comprender con facilidad el efecto que - las alteraciones anteriormente citadas podrían tener sobre el FG, es necesario estudiar brevemente la dinámica de la filtración glomerular: Morfológicamente, la unidad filtrante, el glomérulo, está compuesto por una serie de capilares glomerulares a través de cuya pared, compuesta por el endotelio capilar, la membrana basal y el epitelio se realiza la ultrafiltración. La sangre entra al glomérulo a través de la arteriola aferente y abandona el glomérulo a través de la arteriola eferente.

Esquemáticamente, la unidad filtrante la podemos representar así:



La tasa de filtración glomerular (FG) es igual a la diferencia entre el volumen que entra por la arteria aferente (V_a) y el que abandona el glomérulo por la eferente (V_e)

$$FG = V_a - V_e$$

La magnitud del flujo de entrada y salida depende primariamente de la presión en la arteria aferente (P_a) y en la eferente (P_e), y de sus respectivas resistencias (R_a y R_e). La resistencia arteriolar es está determinada por el grado de vasoconstricción de los músculos lisos de las arteriolar glomerulares, ya que parecen ser los dos únicos puntos de todo el riñón en los que pueden regularse las resistencias. Asumiendo que la resistencia capilar glomerular se centra en un punto teórico equidistante entre R_a y R_e , la magnitud de V_a depende del gradiente de presiones ($P_a - P_g$) a través de dos resistencias en serie:

$$V_a = \frac{P_a - P_g}{R_a + R_g} \quad 1.2$$

siendo P_g la presión en el capilar glomerular.

De una forma similar, el valor de V_e sería

$$V_e = \frac{P_g - P_e}{R_g + R_e} \quad 1.3$$

Como R_g se ha demostrado (39) que es muy pequeña en comparación con R_a y R_e las ecuaciones 1.2 y 1.3 pueden reescribirse eliminando R_g . Sustituyendo las ecuaciones 1.2 y 1.3 y simplificando la ecuación 1 tenemos

$$FG = \frac{P_a - P_g}{R_a} - \frac{P_g - P_e}{R_e} \quad 1.4$$

Lógicamente P_g no es constante, y va disminuyendo a lo largo del ca pilar glomerular desde un valor inicial igual a P_a hasta un valor final igual a P_e .

Si suponemos que la disminución es lineal, el valor de P_g en el cen

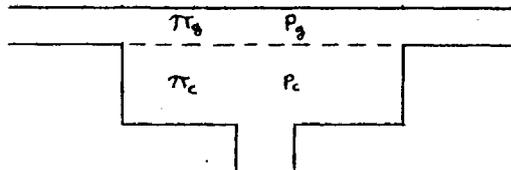
tro del elemento filtrante (Rg) sería:

$$P_g = \frac{P_a + P_e}{2} \quad 1.5$$

Sustituyendo 1.5 en 1.4 tenemos:

$$F_g = \frac{1}{2} \frac{P_a - P_e}{R_a} - \frac{P_a - P_e}{R_e} \quad 1.6$$

La ecuación 1.6 nos demuestra que, en lo que concierne a la hemodinámica de la circulación glomerular, la magnitud de FG viene dada por las presiones y las resistencias de la arteriola aferente y eferente. Así, un aumento en la P_a , suponiendo que los otros parámetros permanezcan constantes, produce un aumento del FG, mientras que un aumento en R_a hace disminuir el FG. En contraste, un aumento en R_e aumenta el FG. Es de destacar que estas alteraciones están mediadas por cambios en la P_g . Si tenemos el elemento filtrante:



para llevar a cabo la filtración es necesaria una energía (suministrada por el sistema cardiovascular) suficiente para desarrollar:

- una fuerza osmótica (π) para separar las proteínas del plasma.
- una fuerza hidrostática (P) necesaria para vencer la resistencia de fricción que hace la membrana filtrante al paso del fluido filtrado.

Ya que la ultrafiltración separa fundamentalmente proteínas, la fuerza osmótica es igual a la diferencia entre la presión coloidosmótica

del plasma (π_g) y la de la cápsula de Bowman (π_c).

$$\pi = \pi_g - \pi_c \quad 1.7$$

Sin embargo, el ultrafiltrado está prácticamente libre de proteínas; luego π_c es prácticamente igual a 0, por lo que:

$$\pi = \pi_g \quad 1.8$$

La fuerza hidrostática sería la diferencia entre la presión hidrostática en el capilar glomerular (P_g) y la presión hidrostática en la cápsula de Bowman y el túbulo (P_c)

$$P = P_g - P_c \quad 1.9$$

La cantidad de fluido filtrado es proporcional a la presión de ultrafiltración, ΔP_f , que a su vez es la suma algebraica de P y π .

$$FG = K_f \times P_f \quad 1.10$$

$$\Delta P_f = P - \pi \quad 1.11$$

Sustituyendo 1.8 y 1.9 y 1.11 en 1.10, nos queda:

$$FG = K_f (P_g - P_i - \pi_g) \quad 1.12$$

donde K_f es el coeficiente de ultrafiltración de la membrana filtrante, que a su vez es el producto del coeficiente de permeabilidad (K_g) que representa la permeabilidad intrínseca de la membrana de ultrafiltración y de la superficie efectiva de ultrafiltración (K_f).

$$K_f = K_g \times S_f \quad 1.13$$

De acuerdo con Brenner y col (39), los cambios en la concentración de proteínas plasmáticas influyen enormemente en el filtrado glomerular. Este efecto es mediado por cambios en π_g . Pero π_g no es una

constante, sino que al ir produciéndose la filtración glomerular, la concentración de proteínas en el plasma de los capilares glomerulares va aumentando desde un valor inicial igual a π_a hasta un valor final igual a π_e .

Como π_a es idéntica a la presión osmótica de las proteínas de la sangre arterial (π_p), aplicando la ley de la conservación de masas a las proteínas plasmáticas nos queda:

$$g = \frac{FPR}{FPR - FG} \pi_p \quad 1.14$$

De la ecuación 1.14 se deduce que para una presión oncótica fija, el aumento de π_g es proporcional al FPR.

Otro hecho fundamental es el descrito por el grupo de Brenner (39) de que, al menos en la rata, la presión efectiva de ultrafiltración (ΔP_f) alcanza un valor de 0 antes de la arteriola aferente, lo que implica que π_g alcanza un valor igual a $P_f - P_c$, por lo que cesa la filtración.

Varias y muy importantes son las consecuencias que de esta observación pueden desprenderse: en primer lugar, la superficie efectiva de ultrafiltración (S_f) es menor que la superficie potencial de ultrafiltración. En segundo lugar, al aumentar el flujo plasmático por el elemento filtrante se alcanzará más tarde el equilibrio $\pi_g = P_g - P_c$, por lo que aumentará S_f y por lo tanto FG .

Así, fijándonos en las ecuaciones 1.10, 1.13 y 1.14 vemos que el FG es dependiente del FPR al alterar éstos los valores de π_g y de S_f .

$$FG = K_g \cdot S_f \cdot P_g - P_i \frac{FPR}{FPR - FG} \pi_p \quad 1.15$$

En lo que a la fisiopatología del fracaso renal agudo se refiere, debemos fijarnos especialmente en que de acuerdo con 1.15 el FG es una función del FPR:

$$FG = f_1 (FPR) \quad 1.16$$

del coeficiente de ultrafiltración,

$$FG = K_f \Delta P_f \quad 1.10$$

$$FG = f_2 (K_f) \quad 1.17$$

$$FG = f_3 (S_f) \quad 1.18$$

y de las presiones y resistencias aferentes y eferentes, de acuerdo con la ecuación 1.6

$$FG = 1/2 \frac{P_a - P_e}{R_a} - \frac{P_a - P_e}{R_e}$$

A.3.b Alteración hemodinámica renal

En todos los modelos de FRA de tipo isquémico o vasomotor (glicerina, pinzamiento de la arteria renal, infusión de noradrenalina) se ha encontrado una reducción del flujo plasmático renal y un aumento de la resistencia renal.

Ayer y col (8), utilizando el método del "lavado de Xenon" (Xenon Washout), encontraron una disminución del 19% en el FPR en los 10 primeros minutos después de la inyección intramuscular de glicerina en ratas. Utilizando otros métodos se ha podido observar que este descenso era aún mayor a las 24 horas (30, 73).

En el modelo de oclusión de la arteria renal, Arendshort y col.

(6) han estudiado la hemodinámica renal después de 1 hora de oclusión. Entre 30 y 40 minutos después de haber interrumpido la oclusión arterial, el FPR estaba disminuido en un 40% y la resistencia renal elevada en la misma proporción. Daugharty y col (35) encontraron una disminución de un 40% en el FP de los glomérulos superficiales 1 hora después de haberse restablecido la circulación normal por la arte ria renal.

En el modelo de infusión arterial de noradrenalina (30 minutos) el flujo sanguíneo, que era prácticamente nulo durante la infusión, aumenta lentamente hasta alcanzar después de 3 horas alrededor de un 30% del valor previo a la infusión (102).

Ya más tardíamente, en las 24-48 horas de la iniciación del FRA, la disminución del FPR no parece jugar un papel importante en la alteración de la función renal.

En el modelo de glicerina, hay autores que han encontrado el FPR disminuido (8,30, 31) mientras que otros no han encontrado varia ción (73). La infusión de solución Ringer 18 horas después de la inye cción de glicerina puede eliminar la vasoconstricción renal sin reg taurar el aclaramiento de inulina. Sin embargo, si la infusión de Rin ger se hace 3 horas después de la inye cción de glicerina, se puede con seguir volver a los niveles basales tanto el FPR como el FG. Tanto en el modelo de ligadura de la AR (6) como en el de la infusión de NA (32) la infusión de Ringer produce una recuperación del FPR sin mejor ar el aclaramiento de inulina.

La disminución del FPR, común en todos los modelos isquémicos o vasomotores, es menos uniforme en los modelos nefrotóxicos.

Flamembaum y col (52) y Stein y col (152) han descrito disminuciones del FPR de hasta un 60% en la fase de iniciación del FRA inducido por nitrato de uranilo. Sin embargo Blantz (18), utilizando dosis aún mayores del agente nefrotóxico, no encontró ninguna alteración del FPR. Estas experiencias habían sido hechas en ratas. También en el perro, Mauk y col (102) consiguieron separar la disminución del FPR y la del FG. Al administrar PGE_2 en una de las arterias renales de un perro tratado con nitrato de uranilo mantuvieron el FPR elevado un 50% por encima del basal, pero el aclaramiento de inulina se mantuvo muy disminuído, del mismo orden que el riñón contralateral, no vasodilatado. En el modelo de cloruro mercúrico, el FPR está también muy disminuído en los primeros momentos del FRA (9). 48 horas después de la inducción, el FPR se ha encontrado normal o elevado tanto en la rata tratada con cloruro mercúrico (71, 31) como en el perro con nitrato de uranilo (152).

Las alteraciones intrarrenales que dan lugar al aumento de la resistencia vascular renal no están bien definidas. Algunos investigadores han encontrado que la disminución del aclaramiento de inulina y del flujo urinario es mayor que la disminución del FPR. Este hecho ha sido explicado como una combinación de vasoconstricción aferente y vasodilatación eferente (139). De acuerdo con esto, la fracción de filtración está disminuída en el FRA experimental (10) y en el humano (139).

Mediante determinaciones directas, Daugharty y col (35) estudiaron la dinámica glomerular 1 hora después de haber retirado la obstrucción de la arteria renal, y encontraron que el FGN y el FPRN estaban disminuídos a la mitad de los valores controles con un aumen

to proporcional de las resistencias aferente y eferente.

Tampoco las bases fisiológicas del aumento de la resistencia renal en los diversos modelos experimentales de FRA están claras. Se ha propuesto que el hinchamiento celular endotelial podría ser la causa. La hipótesis es la siguiente: una isquemia renal como la producida por la oclusión temporal de la arteria renal, hipotensión, etc., produciría hipoxia en las células del endotelio de las arterias y en los capilares renales. Esta hipoxia afectaría, entre otros complejos enzimáticos, a la bomba de sodio, por lo que las células serían incapaces de regular su volumen y ocluirían la luz de los pequeños vasos, de forma que, aunque se elimine la causa inicial de la isquemia, la circulación no vuelve a la normalidad. Aunque a favor de esta hipótesis está el hecho de que la infusión de Manitol (que produciría un efecto osmótico extrayendo el agua de las células y devolviéndolas a su volumen normal, permitiendo así, el reflujo de sangre al riñón) mejora el FRA. Sin embargo, esta hipótesis no puede explicar el hecho observado en nuestro laboratorio de que la infusión de papaverina (relajante del músculo liso) en la arteria renal de la rata mejora el FRA, por ligadura de la arteria renal (176) mientras que la infusión sistémica de la misma dosis de papaverina no lo hace (92).

Otra de las hipótesis más utilizada es la participación del Sistema Renina Angiotensina (SRA) en el FRA. Fué Goormachtigh, hace más de 30 años, el primero que postuló esta hipótesis (55). Este autor demostró una hipertrofia de las células del aparato yuxtaglomerular en pacientes con FRA postraumático y supuso que había liberación de una sustancia vasopresora del aparato yuxtaglomerular que produciría una disminución del FPR y del FG.

La renina plasmática aumenta en los estados iniciales del FRA clínico (84, 173) y experimental (21, 41). En favor del papel del SRA en la patofisiología del FRA está la demostración de que la infusión i.v. de Angiotensina II (AII) en el conejo produce alteraciones funcionales e histológicas similares al FRA (57, 101). Además la isquemia cortical es mayor en las nefronas más superficiales, que son las más ricas en renina (22, 37).

Otro hecho que apoyaría la participación del SRA en la vasoconstricción del FRA es que las ratas que beben ClNa al 1% durante al menos 3 semanas no desarrollan un fracaso renal agudo cuando se les administra una inyección intramuscular de glicerina (103, 40). Algo similar se ha obtenido para los modelos de dicromato potásico (65), cloruro mercuríco (40) y nitrato de uranilo (49). Es de particular interés el hecho de que los animales protegidos funcionalmente por la sobrecarga oral de sal desarrollan necrosis tubular histológica similar a la de las ratas no protegidas (40). Es bien sabido que la ingestión de grandes cantidades de ClNa suprimen el SRA a través de la inhibición de la síntesis de renina (58). En base a ello se podría obtener la conclusión de que la sobrecarga de sal protege del FRA a través del agotamiento de renina, lo que apoyaría la hipótesis de un papel preponderante del SRA en el FRA. Sin embargo, otros factores deben ser también considerados. Por ejemplo, se sabe que las ratas que reciben un aporte diario muy grande de sal beben más que las controles y tienen también más flujo urinario (103). Además, los animales que reciben la sobrecarga de sal siguen bebiendo después de la inyección de glicerina, a diferencia de los normales, que dejan de beber (153). Esto puede tener una gran importancia en el mantenimien

to del VEC y del flujo urinario en las ratas con alta ingesta de sal, además de otras alteraciones hemodinámicas que tendrían lugar con la sobrecarga crónica de sal y que podrían jugar un papel en la protección del FRA.

Se ha demostrado también que la producción de una natriuresis y diuresis elevadas (hecho que presentan las ratas sobrecargadas de sal), aún sin alterar la actividad renina plasmática (ARP) o la concentración renal de renina, protege del FRA experimental (162). La sobrecarga oral de ClK, que inhibe la síntesis renal y la liberación de renina, protegía menos del FRA que la sobrecarga de ClNa, a pesar de una reducción similar de ARP (50). Ya que la supresión del contenido renal de renina es menor con el ClK que con el ClNa, se pensó que la diferencia en la protección se debía a la menor disminución de la renina intrarrenal.

Otro hecho que parece apoyar la intervención del SRA en la patofisiología del FRA es la observación de que el tratamiento con β -bloqueantes mejora la respuesta renal a la inducción del FRA experimental producido por glicerina (47, 77, 90, 122, 123). La explicación a esta observación parecía simple: el tratamiento con propranolol inhibe la liberación de renina del aparato yuxtaglomerular (25) y, por lo tanto, impediría la síntesis intrarrenal de AII y la vasoconstricción subsiguiente.

Sin embargo, López Novoa y col. apuntaron la posibilidad de que el propranolol tuviera también una acción alterando los compartimientos líquidos del organismo (122). Así, se ha demostrado en nuestro laboratorio que la administración crónica de propranolol produce una retención de agua y sal, aunque el animal puede escapar de ella

(91). En base a esto, induciendo el FRA en diversos momentos de expansión de volumen extracelular y midiendo el contenido renal de renina, llegamos a la conclusión de que la protección conseguida por el tratamiento con propranolol está más en la alteración del volumen extracelular que en la inhibición de la liberación de renina (90).

Hay otra serie de trabajos en los que se discuten el papel del SRA en la disminución del FG y el aumento de la resistencia vascular en el FRA. Flamembaum y col. inmunizaron ratas contra la renina circulante (50). Aunque la inmunización fue efectiva, deprimiendo el aumento de la PA que se produce al administrar renina exógena, no protegía del FRA inducido por glicerina o cloruro mercuríco (50). Resultados similares fueron obtenidos por Oken (118) y Powell Jackson (134) inmunizando activa o pasivamente contra angiotensina II. Asimismo se ha alterado el SRA con inhibidores de la enzima de conversión y con saralasin (un antagonista sintético de la AII). Ambas mejoraban el FPR 3 horas después de la inyección de glicerina, pero no mejoraban la uremia.

Para discutir con mayor rigor el papel de la renina en la fisiología del FRA, es necesario delimitar el papel de la renina en la regulación intrarrenal de la excreción de sodio, del filtrado glomerular y del FG.

Así, de acuerdo con Thureau (166, 167) y Andreucci (3), está claramente demostrado que todos los elementos necesarios para la producción renal de AII (angiotensinógeno, renina, enzima de conversión) están localizados en el riñón. Así, cuando ocurre un aumento de la filtración glomerular o un descenso en la resorción proximal, una mayor cantidad de ClNa alcanza la mácula densa. Esto representa la se-

ñal para la liberación de renina. Se forma entonces AI, que se convierte en AII por acción de la enzima de conversión. La AII produce vasoconstricción, fundamentalmente en las arterias aferentes, produciendo una disminución de la FG, y por lo tanto eliminando la causa primaria del exceso de llegada de ClNa. Este mecanismo de retroalimentación túbulo-glomerular estaría constantemente funcionando en el riñón normal para prevenir la pérdida de ClNa por ajuste de la filtración glomerular y la resorción de sodio en el túbulo proximal.

Masson y Thureau (100) han sugerido que este mecanismo de retroalimentación túbulo-glomerular se pondría en funcionamiento cuando la resorción tubular proximal estuviera disminuída a causa del daño tubular funcional. La llegada de más cloruro sódico a la mácula densa sería la señal para la activación intrarrenal del SRA, y la constricción de las arteriolas aferentes a causa de la AII generada sería la causa de la resistencia vascular aumentada, la disminución del FPR y del FG y, como consecuencia, de la anuria.

En apoyo de esta hipótesis está el hallazgo de Schnerman y col. (145), quienes han demostrado que la concentración de ClNa en las muestras de fluido tubular recogidas por micropunción en las primeras asas del túbulo distal (cerca de la mácula densa) es mayor en las ratas con FRA postisquémico que en las ratas normales.

López Novoa y col. (94, 96) han demostrado también que las ratas con FRA postisquémico presentan una disminución muy importante de la resorción tubular proximal. Resultados similares han sido obtenidos por Flamembaum y col. en el FRA por nitrato de uranilo, se ha encontrado una actividad de renina aumentada en el aparato yuxtaglomerular.

Creemos que todo lo anteriormente citado deja bastante en el aire el papel del SRA en la etiología del FRA, y es muy difícil pronunciarse en uno u otro sentido.

Otro sistema que ha recibido recientemente particular atención como implicado en las alteraciones hemodinámicas del FRA es el de las prostaglandinas renales. Es muy grande la evidencia que existe acerca del papel fundamental de las prostaglandinas en la regulación de la hemodinámica renal (89, 104, 105) y del balance de agua y sodio (178). Fine (3) fué el primero que sugirió que las prostaglandinas podrían estar implicadas en las alteraciones hemodinámicas del FRA. Posteriormente Torres y col. (172) demostraron que la indometacina, un inhibidor de la síntesis de prostaglandinas, aumenta la gravedad del FRA inducido por glicerina. Esto ocurre solamente en los modelos circulantes y no en el nefrotóxico, ya que la indometacina no agrava el FRA inducido por cloruro mercuríco. Además, Weis y col. (183) han encontrado un efecto protector contra el FRA inducido por glicerina cuando se infundía PGE_2 intravenosamente inmediatamente después de la inducción del FRA.

Sin embargo, no parece probable que una deficiencia en la producción de prostaglandinas "per se" sea operativo en el modelo de glicerina, ya que se ha encontrado un aumento de la concentración molar del PGE_2 en el conejo tratado con glicerina (171). En este sentido es necesario seguir estudiando el papel de las prostaglandinas en la patogenia del FRA.

También se ha implicado a la vasopresina en el aumento de la resistencia renal tras el FRA inducido por glicerina. Hoffbauer y col. (68) observaron que 2 horas después de la inducción del FRA se

producía un aumento de la presión arterial coincidiendo con un aumento de los niveles de vasopresina, que alcanzan 40 veces los valores basales, mientras que la concentración de renina plasmática solamente se duplicaba. La inyección de un antisuero antivasopresina hacía descender la PA alrededor de 10 mmHg mientras que un antagonista de la AII, la saralasin, no tenía efecto.

De estas experiencias concluyeron que, al menos en parte, la vasoconstricción observada en el FRA inducido por glicerina se debe al aumento de la concentración plasmática de vasopresina, mientras que el SRA apenas contribuye a ello. Posteriores experiencias del mismo grupo en riñón aislado (67) y en ratas con diabetes insípida hipotalámica (83) han confirmado esta hipótesis.

A.3.c Alteración del coeficiente de ultrafiltración

Un cierto número de estudios recientes han puesto atención en los posibles cambios en el coeficiente de ultrafiltración (Kf) que pudieran ocurrir en el FRA. En dos estudios recientes se ha demostrado una disminución del Kf en modelos experimentales de FRA. Blantz, (14) estudiando el modelo de nitrato de uranilo en la rata, encontró disminución muy importante (50 y 75% con dosis de 15 y 25 g/Kg respectivamente) del Kf. Reducciones similares se han encontrado en el modelo de gentamicina (15). Se han encontrado también evidencias indirectas en otros modelos. Cox y col. (32) han estudiado perros con FRA unilateral inducido por la infusión de noradrenalina. Aunque el FPR se reduce en un primer momento, luego vuelve a niveles normales; sin embargo, el perro sigue anúrico por el riñón infundido. Al examinar bajo el estereomicroscopio la superficie del riñón se podía -

observar que todos los túbulos estaban colapsados, un hecho que podría ser indicativo de un fallo primario en la filtración glomerular. Considerando todas las posibilidades que podrían explicar la inexistencia de filtración glomerular en presencia de un FPR normal, una alteración del K_f parece más lógica, de acuerdo a la ecuación 1.10 del apartado A.3.a. Para confirmar esta hipótesis, se estudiaron los glomérulos por microscopio electrónico de transmisión y de barrido (Scanning). Con la microscopía de transmisión se pudo observar una pérdida de estructura normal de los pedicelos en todos los glomérulos. Mucho más evidentes fueron las imágenes con el microscopio de barrido, que demostró una alteración total de la estructura de los podocitos, con alteración del cuerpo celular y sin diferenciación posible de los podocitos primarios, secundarios y terciarios. Estos hechos están de acuerdo con la posibilidad de que la no formación de filtrado glomerular se debe a una modificación de la estructura normal del glomérulo que produciría una alteración bien en el coeficiente de permeabilidad (K_g) o en la superficie de ultrafiltración o en ambos, lo que llevaría consigo la disminución del coeficiente de ultrafiltración (K_f ; ecuación 1.13).

Alteraciones similares pero mucho más leves se han encontrado también en el modelo de nitrato de uranilo, lo que acompaña a descensos menores del FG (152, 154).

En el modelo de cloruro mercuríco en el perro, se encontraron cambios funcionales similares al del modelo de noradrenalina (9). 48 horas después de la administración del tóxico, el FPR estaba aumentado por encima del valor basal pero los animales estaban anúricos, y no había evidencia de filtración glomerular. La microscopía elec-

trónica de barrido revelaba alteraciones glomerulares mínimas y similares a las de los animales que recibían una dieta de gran contenido en sal y que no hacían FRA.

De varios de estos resultados puede deducirse que, según la mayoría de los estudios, el Kf está disminuida en el FRA, aunque el significado funcional de las alteraciones morfológicas glomerulares descritas en algunos modelos de FRA está aún por evaluar.

Hasta el presente hay poca información acerca de si los cambios en el Kf son debidos primariamente a disminución del área efectiva de ultrafiltración (Sf) o a la conductividad hidráulica o permeabilidad intrínseca de la membrana (Kg). En este sentido se ha demostrado que la AII causa una marcada vasoconstricción y presumiblemente una disminución de la superficie de los capilares glomerulares (72). Hay también evidencias directas de receptores específicos para AII en el glomérulo (150). Es posible así que la AII o cualquiera otra sustancia vasoactiva pueda tener efecto directo en la circulación capilar glomerular y cause alteraciones profundas en la dinámica glomerular. Además, las células mesangiales presentan también ciertas características similares a las del músculo liso y, consecuentemente, pueden tener propiedades contráctiles que alterarían la superficie efectiva de ultrafiltración.

El coeficiente de ultrafiltración se ha visto también disminuído en circunstancias en las que el FPR estaba mantenido o incluso aumentado (14,15). Aunque siempre es posible hacer hipótesis en las cuales, a pesar del aumento de FPR está disminuído Sf, parece más probable que sea Kf, o sea, la permeabilidad capilar, la que está disminuída.

A.3.d Salida de fluido tubular a través de las paredes dañadas del epitelio

Richards en 1929 fue el primero que sugirió que el fracaso renal agudo oligúrico podría ser el resultado de la resorción indiscriminada de grandes cantidades de fluido a través del epitelio tubular dañado, y lo hizo a propósito de observaciones directas de la circulación glomerular en la rana tratada con cloruro mercurico (140). Posteriormente Oliver y col. (120, 121) insistieron en la misma idea.

Bank y col. estudiaron este problema en la rata tratada con Cl_2Hg (12). Midieron el filtrado glomerular de las nefronas individuales (FGN) por técnicas de micropunción en ratas, 24 a 48 horas después de la inducción del FRA, utilizando inulina como marcador. Si se pincha un túbulo superficial de un riñón preparado para micropunción y se hace una colección de fluido tubular durante un tiempo exactamente medido, la inulina filtrada ($\text{FGN} \times \text{In}_p$) debe ser igual a la cantidad de inulina recogida en el sitio de micropunción ($\text{In}_{FT} \times V_{FT}$), o sea:

$$\text{FGN} \times \text{In}_p = \text{In}_{FT} \times V_{FT} \quad 2.1$$

siendo In_p la concentración de inulina en plasma, In_{FT} la concentración de inulina en el fluido tubular y V_{FT} el volumen de fluido tubular recogido en un minuto. De aquí se deduce que:

$$\text{FGN} = \frac{\text{In}_{FT} \times V_{FT}}{\text{In}_p} \quad 2.2$$

Lógicamente, al no poder salir del interior de la luz tubular la inulina en condiciones normales, el FGN debe ser constante, cualquiera que sea el sitio del que se obtenga la muestra de fluido tubular por micropunción (4). En las ratas con anuria secundaria a la inyección de cloruro mercuríco, el FGN descendía a medida que el punto de toma de muestra se alejaba del glomérulo, siendo muy bajo cuando la micropunción se hacía en el túbulo distal. Esta observación fue explicada como el resultado de la salida de inulina de la luz tubular a causa del daño del epitelio tubular (12). Esta hipótesis viene apoyada por experiencias con inyección de lisamina verde. Esta es un colorante que es libremente filtrado por el riñón y no es ni secretado ni absorbido por el túbulo renal cuando se inyecta en un animal normal. Cuando se observa la superficie del riñón después de la inyección del colorante, se puede ver que aparece rápidamente en las asas superficiales, y los túbulos se van volviendo más oscuros a medida que el colorante va avanzando por ellos, por la concentración progresiva de lisamina verde debido a la resorción de agua. Por el contrario en la rata con FRA con cloruro mercuríco la intensidad de color va disminuyendo según el colorante va avanzando por el túbulo. Además, el colorante no aparecía en el túbulo distal (12). Estos resultados sugieren que hay un escape de lisamina verde a través de la pared tubular dañada y apoyan la idea de que la anuria se debe a la resorción indiscriminada de fluido. Esta interpretación fue apoyada por los estudios de Steinhausen y col. (158) que muestran que cuando se inyecta ¹⁴C-inulina en el interior de los túbulos de un riñón, parte de la radioactividad aparecía en la orina del riñón contralateral, lo que sugería una resorción de inulina por el túbulo y, por

lo tanto, una permeabilidad alterada.

Estos estudios no fueron confirmados por Barenberg y col. (13) ni por Flamembaum y col. (51), quienes encontraron FGN constante a lo largo de la nefrona en ratas tratadas con cloruro mercúrico. En este último trabajo además, se obtuvo una recuperación total de la inulina marcada inyectada en los túbulos proximales de un riñón de ratas con FRA. Además, experiencias de micropunción de gota partida han de mostrado que en las ratas tratadas con cloruro mercúrico no hay prácticamente resorción de fluido en los túbulos proximales (53). En el fracaso renal agudo inducido por nitrato de uranilo el FGN es idéntico cuando se mide en los túbulos proximales o distales (48), y la inyección de lisamina verde en la vena yugular se sigue de la aparición del colorante en el túbulo proximal y en el distal. Sin embargo, otros autores han encontrado resultados opuestos en el mismo modelo (18, 152).

En el modelo isquémico por ligadura de la arteria renal Arend short y col. (6) inyectaron pequeños volúmenes de lisamina verde en el túbulo renal de ratas postisquémicas. Aunque la presión intratubular nunca aumentó más de 2 mmHg, el colorante se salía del túbulo y formaba un halo en el intersticio alrededor del punto de microinyección. Experiencias similares fueron realizadas por Daugharty y col. (35) y López Novoa y col. (94). Estos grupos produjeron una isquemia por ligadura controlada de la arteria renal, de forma que, bajo observación microscópica, cesara completamente la filtración glomerular, pero se mantuviera un flujo mínimo de hematíes a través de la superficie renal. En diversos momentos del período postisquémico se hicieron micropunciones en diversas partes de los túbulos superficia

les, observando que el FGN se mantenía constante sin importar cual fuera la parte de la nefrona pinchada. Asimismo, se obtuvo una recuperación completa en la orina unilateral de la inulina inyectada en la luz tubular de un riñón. Las diferencias con el trabajo anteriormente mencionado, se explicaron bien porque la isquemia fuera incompleta, bien porque el aumento de presión inducido por la inyección intratubular, aunque pequeño, pudiera inducir alteración en la permeabilidad de los túbulos dañados (94). Recientemente Donohoe y col. (44) han estudiado la correlación de las alteraciones funcionales y estructurales en el FRA postisquémico. Observaron que cuando se inyectaba peroxidasa en los túbulos proximales de animales con un FRA postisquémico, la peroxidasa (p.m. 40.000) se salía del túbulo a través del citoplasma necrótico del túbulo proximal y podía ser localizado histoquímicamente en las células y en el intersticio. Cuando la enzima era inyectada I.V. podía observarse una permeabilidad tubular similar, pero que no podía ser achacada a un artefacto metodológico. El mismo grupo ha descrito una serie de alteraciones histológicas selectivas en el epitelio tubular que concuerdan con los datos anteriores (179).

A.3.e Obstrucción tubular

En 1875 Ponfick sugirió que la obstrucción tubular jugaba un papel importante en el fracaso renal agudo (132). El apoyo que recibió esta teoría se basó durante un tiempo en la presencia histológica de cilindros (agregados de diversos tipos que ocupan la luz tubular) y el hinchamiento del riñón, y fue siempre apoyado en datos indirectos (99, 108, 120). Los primeros datos directos estudiaron por

micro punción la presión intratubular proximal (PTP) en el FRA inducido por cloruro mercurico y por glicerina (51, 117). En ambos casos la PTF no estaba aumentada respecto a la normal, como cabría esperar si la obstrucción distal fuera la causa de la disminucion de la filtración glomerular. En efecto, considerando que no hay alteración hemodinámica ni del coeficiente de ultrafiltración, y de acuerdo a la ecuación 1.2 del apartado

$$GF = Kf (Pg - Pc - \pi_g) \quad 1.12$$

lo único que puede alterarse es P_c , la presión de la cápsula de Bowman y el túbulo. La hipótesis de obstrucción tubular lleva consigo un aumento de la presión intratubular (y por lo tanto en la cápsula de Bowman) tal que:

$$P_c = P_g - \pi_g \Rightarrow GF = 0 \quad 3.1$$

lo que impediría la filtración glomerular haciendo 0 la presión efectiva de ultrafiltración.

En el mismo sentido de las experiencias anteriormente citadas Oken y col. (117) y Flamembaum y col. (51) demostraron que los cilindros intratubulares podían ser fácilmente expulsados de la nefrona con presiones bajas. Asimismo, Tanner (161) demostró que los cilindros de hemoglobina de la papila del hamster con FRA miohemoglobínico podían eliminarse fácilmente mediante infusión de manitol.

Burke y col. (26) encontraron que en la fase inicial del FRA inducido por noradrenalina en el perro, la presión intratubular era normal o alta, con una disminucion clara del FG. O'Connor y col. (113) encontraron que la presión intratubular era uniforme y normal entre 3 y 18 horas después de la inyección de glicerina, a pesar de una

reducción marcada del FGN, lo que debería inducir presiones intratubulares bajas. Los túbulos proximales superficiales no estaban dilatados y no se veían cilindros en las nefronas superficiales. Cuando se administra una sobrecarga de Ringer se observa el paso de desechos por los túbulos colectores. Podría ser que estos desechos, en condiciones de bajo flujo urinario, obstruyeran alguna parte de la nefrona posiblemente las asas de Henle.

Flamenzaum y col. (49) encontraron PTP normal en el FRA inducido por nitrato de uranilo, confirmando las observaciones de otros autores (18, 152) que no encuentran evidencia de obstrucción tubular en este modelo. Tanner y col. (160, 161), por el contrario, encontraron que la mayor parte de los túbulos estaban obstruidos cuando estudiaban las ratas 1-2 horas después de una hora de oclusión renal completa. Además se necesitaban grandes presiones intratubulares para desplazar la obstrucción.

La naturaleza de la obstrucción tubular no se conoce exactamente, y parecen ser varios los factores que pueden intervenir:

a) Cilindros de material de desecho.

b) Compresión de los tubos por aumento de la presión intersticial. Esto podía ser de particular importancia a nivel del asa de Henle, que es el sitio de mayor resistencia al fluido en la nefrona (56).

c) Hinchamiento celular del endotelio glomerular. Se ha descrito (27) que en el riñón del conejo, después de una oclusión temporal, las células del asa descendente se hinchaban y esto hacía disminuir el diámetro de la luz tubular.

d) Recientemente se ha descrito que la dilatación de los ca-

pilares peritubulares de la zona interna de la médula es la mayor - causa de la obstrucción tubular en el FRA postisquémico (170).

Sin embargo parece que los acúmulos intraluminales de materias de desecho son los que tienen una mayor importancia en la obstrucción tubular, en todo caso en colaboración con los otros factores mencionados anteriormente.

Es importante señalar que la obstrucción tubular puede jugar un papel de gran importancia cuando exista una lesión del epitelio tubular de tal intensidad que permita la salida de fluido a través de él, ya que la elevación de la presión intratubular producida por la obstrucción favorecería tal salida.

A.4 ADAPTACION FUNCIONAL A LA REDUCCION DE MASA RENAL

A.4.a Hipertrofia renal compensadora

Es un hecho conocido desde antiguo que el hombre y los animales pueden sobrevivir e incluso llevar una vida normal con un sólo riñón. Ya en el siglo XIX se realizaron uninefrectomías en animales de experimentación y en pacientes, descubriéndose que el riñón restante podía compensar la función del riñón extirpado (112). Sin embargo, los conocimientos que hoy poseemos acerca de los mecanismos de los cambios adaptativos estructurales y funcionales del riñón después de la reducción de la masa renal, son el resultado de experimentos realizados en las últimas décadas.

Aunque los mecanismos de compensación renal no son el objetivo fundamental de este conjunto de experimentos, creemos de interés re

visar brevemente los hechos fundamentales de la respuesta adaptativa que sigue a la pérdida de masa renal por resección quirúrgica o destrucción patológica del parenquima renal. Aunque es imposible la separación de las alteraciones estructurales y funcionales que siguen a la pérdida de masa renal funcionante, vamos a centrarnos fundamentalmente en las alteraciones funcionales, aunque sí tendremos que hacer obligatoriamente referencia en muchas ocasiones a las alteraciones histológicas subyacentes.

Después de la pérdida de masa renal, el tejido restante compensa este hecho hipertrofiándose. Se ha demostrado que la respuesta hipertrofica comienza inmediatamente después de la uninefrectomía (169). Esta respuesta se refleja en cambios en el metabolismo de la membrana celular: la tasa de incorporación de ^{14}C colina a los fosfolípidos de cortes de corteza renal aumenta en un 37% cuando el tejido era obtenido 5 minutos después de la cirugía, y se mantiene aumentado hasta 6 días después de la uninefrectomía. Pero no sólo hay una respuesta hipertrofica (aumento del tamaño de las células) sino también hiperplásica (aumento del número de células): 6 horas después de la nefrectomía se han podido demostrar ya alteraciones en la síntesis del DNA, preparatorias para la división celular (168). La hiperplasia tiene su máxima actividad 48 horas después de la nefrectomía, aunque se mantiene durante muchos días (165). La síntesis de RNA, índice de la hipertrofia renal, está muy aumentada antes de las 12 horas posteriores a la nefrectomía y se mantiene aumentada durante varias semanas (61).

Dos semanas después de una nefrectomía unilateral, el contenido total de RNA del riñón restante está aumentado en un 40%, mientras

que el contenido de DNA lo está sólo en un 25%, demostrando que el factor predominante en el crecimiento renal compensatorio es la hipertrofia más que la hiperplasia (165).

Otra cuestión de gran interés es si el número de nefronas aumenta después de la reducción de masa renal, o lo que aumenta es el tamaño de éstas. Una serie de estudios llevados a cabo en ratas no han dado una respuesta definitiva al problema, pero sí han aclarado algunos puntos.

Moore en 1929 (109) y McKay y col. en 1932 (106) no observaron aumento del número de nefronas en el riñón contralateral de las ratas después de una nefrectomía, utilizando técnicas histológicas. Bonvalet y col. en 1972 (19) utilizaron un método para contar glomérulos en riñones parcialmente macerados con ácido, y observaron que, si la nefrectomía se hacía antes de los 50 días de vida de la rata, el número de nefronas aumentaba desde alrededor de 32.000 (número normal en el riñón de rata) hasta 47.000. Este aumento no se observaba cuando la nefrectomía unilateral se hacía en ratas con más de 50 días de edad. Posteriormente, Kaufman y col. en 1975 (82) publicaron un estudio en el que, tras mejorar técnicamente el método de conteo de glomérulos, repetían la experiencia anterior. En sus experimentos no pudieron encontrar un aumento del número de nefronas, sea cual fuera la edad de la rata sometida a nefrectomía unilateral. Estos resultados ponen en tela de juicio el papel que la formación de nuevas nefronas puede tener en la adaptación funcional tras reducción de masa renal en la rata y parecen demostrar que, de tener alguno, sería en la rata joven y no en la adulta.

Después de la nefrectomía unilateral en la rata, el aumento de

peso del riñón contralateral es ya demostrable en 24 horas (78) y alcanza su máximo alrededor de los 15 días después de la cirugía, con un 40% de aumento respecto al valor previo (79).

El crecimiento renal compensador ocurre como respuesta a una pérdida de masa renal funcionante, y no es necesaria la extirpación quirúrgica del tejido. Así, la obstrucción ureteral unilateral (125) o la lesión isquémica unilateral (146) inducen crecimiento compensatorio en el otro riñón.

La intensidad del crecimiento compensador está muy relacionada con la cantidad de tejido renal funcional o quirúrgicamente eliminado. Kaufman y col. (81) compararon el crecimiento renal 4 semanas después de haber extirpado el 50% o el 70% de masa renal en unos animales, o de haber hecho operaciones simuladas en animales similares. El peso del tejido renal restante aumentaba un 85% en los animales uninefrectomizados y un 168% en las ratas que habían sufrido una extirpación del 70% de su masa renal, mientras que en las pseudoperadas el aumento era de sólo un 30%. Este crecimiento era debido tanto a hipertrofia como a hiperplasia. Así, después de extirpar la mitad o los 2/3 de la masa renal total, hay un aumento en la formación de nuevas células de un 25% y un 87%, respectivamente, en la corteza de la masa renal restante (64).

El crecimiento compensatorio no induce cambios iguales en todos los segmentos de la nefrona. Los animales uninefrectomizados presentan un aumento del 15% en el diámetro del túbulo proximal, y 25% en su longitud. El túbulo distal tenía el diámetro aumentado en un 10% y la longitud en un 17%. Tanto el volumen de la luz como el volumen celular del túbulo proximal se habían duplicado, mientras que en

el túbulo distal el aumento fue de un 50% para el volumen de la luz y de un 25% para el volumen celular (63). Cambios similares han sido observados por otros autores (7), siempre con predominio del crecimiento del túbulo proximal. Oliver (119) observó también un aumento del túbulo proximal recto y del asa de Henle tras la extirpación del 75% de la masa renal.

A.4.b Adaptación funcional aguda

La eliminación funcional de un riñón, bien sea por resección quirúrgica, ligadura de la arteria renal, ligadura del uréter, etc., se acompaña inmediatamente de un aumento en la secreción fraccional de agua, sodio, potasio y bicarbonato por el riñón intacto (62). Esta respuesta no se debe a un aumento del FG, ya que Peters ha demostrado que dentro de las primeras 18 horas después de la cirugía, este parámetro no aumenta (130). Allison y col. (3) estudiaron a nivel de nefronas individuales las características de la adaptación funcional. Estudiaron mediante técnicas de aclaramiento y micropunción las modificaciones que ocurrían en la función renal tras ligar uno o dos ramas de la arteria renal del riñón restante en ratas previamente nefrectomizadas. Tras esta maniobra, el flujo urinario y la secreción total de sodio y potasio no se modificó, a pesar de un descenso muy importante del FG y del FPR. Esto se debía a una disminución de la resorción fraccional, sin que pudieran evidenciarse, en las nefronas corticales, cambios en el filtrado glomerular por nefrona (FGN), presión arterial sistémica, presión hidrostática o presión oncótica en los capilares peritubulares.

La parte de la nefrona responsable de la adaptación funcional

ha sido también estudiada en perros mediante bloqueo farmacológico selectivo con diuréticos (59). Este trabajo ha sugerido que la disminución de la resorción proximal juega un papel clave en el aumento de la excreción fraccional de agua y electrolitos, pero un cierto papel de la nefrona distal parece también indispensable. Estas alteraciones ocurren en presencia de un FPR mantenido (28).

Diezi y col. (42) estudiaron la adaptación funcional del riñón de la rata 15 horas después de la nefrectomía unilateral, o sea, antes de que se observen cambios en el FG total. En estas experiencias el FG aumentaba significativamente en las nefronas corticales, aunque el FG total no aumentase. La resorción fraccional cortical estaba disminuída, pero debido al aumento del FGN, la resorción total no variaba respecto a los valores controles, e incluso estaba aumentada en los túbulos distales. La reducción del FGN a los niveles controles mediante pinzamiento de la aorta eliminaba la natriuresis.

En la rata como ya hemos mencionado, el FG no aumenta en las primeras 24 horas (130, 79) después de la nefrectomía unilateral, aunque Potter y col. han encontrado un ligerísimo aumento (133). El incremento masivo del FG ocurre entre 2 y 4 semanas después de la uninefrectomía en la rata (80), y puede alcanzar un 70% sobre los valores basales. Estos datos no son extensibles a otras especies animales. Así, en el perro, 24 horas después de la nefrectomía unilateral ha ocurrido ya el 95% del aumento total del FG y del FPR, cuyo máximo aumento ocurre entre 4 y 8 semanas después de la cirugía (142).

En el hombre (43, 124), después de una nefrectomía unilateral (los estudios se han hecho en hombres sanos donadores de un riñón para trasplante a un familiar en insuficiencia renal terminal), el

riñón alcanza una tasa de filtración del 65-85% de la cantidad previamente filtrada con los dos riñones. El aumento del FPR es mayor todavía que el del FG, lo que da lugar a una disminución de la fracción de filtración.

El flujo plasmático por las nefronas remanentes está inversamente relacionado con la cantidad de tejido funcionante, lo que da lugar a flujo plasmático muy elevado por nefrona funcionante cuando la cantidad de tejido eliminado es muy grande (82). Esto se ha podido comprobar en ratas a las que se les resecaba entre el 50 y el 80% del total de nefronas funcionantes basalmente, ya calculado el FPR medio por nefrona dividiendo el FPR total entre el número de nefronas, calculando este número por técnicas de contaje glomerular. También se ha comprobado en ratas con nefritis por inmunocomplejos autólogos y ratas con glomerulonefritis por anticuerpos antimembrana basal, en los que se ha demostrado que el FPR por gramo de tejido está normal mientras que el FG está muy reducido (hasta un 50%). Estos animales tienen un daño histológico muy importante, lo que implica que el FP por la nefronas relativamente conservadas debe estar - muy aumentado.(2).

También ha sido estudiado la redistribución del FP entre las distintas poblaciones nefronales de la corteza, fundamentalmente utilizando técnicas de microesferas radioactivas. En el perro uninefrec¹tomizado no se ha podido encontrar evidencia alguna de alteración en la distribución de flujo plasmático cortical (107). En ratas en las que se extirpaba el 80% de la población nefronal, el FP descendía un 15% en la corteza externa y aumentaba en una proporción similar en el área del cortex medio. El FP por el cortex profundo no variaba.

En el perro uninefrectomizado, en el que además se ligaban algunas ramas de la arteria renal del riñón restante, se observó una clara vasodilatación de todo el cortex, medido por gammagrafías dinámicas con ⁸⁵Kr y con llenado del árbol vascular con polímeros plásticos (28).

El FG por nefrona aumenta tanto después de una extirpación quirúrgica de masa renal como de destrucción de la misma por una enfermedad crónica parenquimatosa. Así, el FG por nefrona superficial de las ratas a las que se les extirpa el 50% de la masa renal aumenta en un 60% y si se les quita el 80% de la masa renal aumenta un 136% (82). Datos similares han sido obtenidos en otros trabajos (110, 131). En ratas con pielonefritis unilateral, cuando se elimina el riñón sano, se produce un aumento del FG por nefrona (11, 98). Algo similar ha sido observado en el perro (20). Sin embargo este aumento del FG por nefrona no ocurre claramente cuando la lesión es glomerular aguda o crónica (2, 141).

También se han estudiado con técnicas de micropunción los factores dinámicos que regulan la filtración glomerular en animales con reducción quirúrgica de la masa renal. Tras la nefrectomía unilateral el FG de las nefronas superficiales aumentó un 84% y el flujo plasmático por glomérulo un 79% (38). Este aumento es el resultado, en parte, de un aumento de la presión hidráulica efectiva transcáptilar y, en parte, del aumento del FP glomerular, siendo este último responsable de aproximadamente las 3/4 partes del aumento del FGN.

A.5 PLANTEAMIENTO Y OBJETIVOS DE LAS EXPERIENCIAS

En la primera parte de esta introducción (A.2) hemos tratado de dejar claro que los mecanismos que originan la aparición y, en mayor medida, el mantenimiento del FRA son, cuando menos, controvertidos; los grupos de investigadores de algunos de estos mecanismos como factor primario en la patogenia del FRA aducen haber presentado - pruebas incontrovertibles acerca de la primacía de su mecanismo favorito, ignorando en muchas ocasiones pruebas en contra de, al menos, la misma fiabilidad.

La razón primaria que nos ha impulsado a realizar esta serie de experiencias es, lógicamente, el tratar de aumentar nuestro conocimiento sobre la patofisiología del FRA inducido por glicerina; es decir, sobre las alteraciones fisiológicas que sufre un riñón cuando se altera en un determinado sentido la hemodinámica del organismo (gasto cardíaco, volumen extracelular, presión arterial, resistencias vasculares, etc). La originalidad, siempre relativa, de estas experiencias, reside en el abordaje del problema: enfrentar dos situaciones FRA y MRR que, como hemos visto, (A.2 y A.3) poseen muchas condiciones que las hacen profundamente contrapuestas. Estas características, muy resumidas, son:

- a) Mientras que, al menos en el inicio del FRA inducido por glicerina hay un descenso del FPR por nefrona, en la reducción de masa renal se produce un aumento de este parámetro.
- b) En el FRA hay una vasoconstricción intrarrenal, mientras que en la reducción de masa renal hay vasodilatación.
- c) En el FRA, la zona del riñón que sufre mayor disminución del flujo sanguíneo es la corteza, y sobre todo la corteza ex-

tarna, siendo en estas zonas donde mayor es el aumento del FP tras la resección de parte del parénquima renal.

El conocimiento teórico de estos hechos, junto con la apreciación clínica de la rareza del FRA en los pacientes con disminución de la masa renal funcionante por una enfermedad glomerular o parenquimatosa, fué lo que nos indujo a poner en marcha esta serie de experiencias.

La elección del modelo de FRA tiene también sus razones. Los fracasos renales agudos de tipo vasomotor o isquémico son fundamentalmente tres; ligadura de la arteria renal, infusión intraarterial de noradrenalina e inyección intramuscular de glicerina, según se describe en el apartado A.1 de la introducción.

Nuestro laboratorio tenía una cierta experiencia tanto en el modelo de isquemia pura por ligadura de la arteria renal (92, 94, 96, 176) como en el modelo de glicerina (90, 95, 122, 123). Fué la similitud del modelo de glicerina a uno de los más conocidos FRA clínicos, el denominado "síndrome de aplastamiento" ("crush syndrome") el que nos indujo a decidírnos por este modelo, además de ser el que en aquellos momentos contaba con un mayor número de estudios sobre su fisiopatología.

Ante el problema arriba propuesto diseñamos un protocolo muy simple (128). El resto del enfoque y los estudios que se hicieron sobre el tema y que están recogidos en esta Tesis Doctoral, fueron surgiendo de los resultados de las experiencias que se iban realizando.

El planteamiento último del conjunto de los mismos trata de constatar, sucesivamente, a estas cuatro preguntas:

- a) La reducción de la masa renal ¿protege del FRA inducido por glicerina?
- b) ¿En qué momento, después de la reducción de masa renal, y tras qué grado de reducción, se produce la mayor protección?
- c) ¿Cuáles son los mecanismos por los que la reducción de masa renal protege del FRA?
- d) ¿Qué conclusiones acerca de la patofisiología del FRA inducido por glicerina pueden obtenerse de todo lo anteriormente expuesto?

B METODOS

Las experiencias han sido realizadas en ratas hembras, albinas, de origen Wistar, de dos meses de edad y alrededor de 200 g. de peso, procedentes del criadero de la Fundación Jiménez Díaz. Excepto en el caso que se mencione expresamente lo contrario, las ratas fueron mantenidas durante los 4 días previos al comienzo de la experiencia en cajas metabólicas individuales (Panlab, Barcelona) donde se les suministró una cantidad fija de comida standard para ratas (Sanders) que en la mayor parte de los casos era de 20 g. (alrededor de 600 uEq de sodio) al día. Los animales tuvieron siempre acceso libre al agua.

B.1 EXPERIENCIAS DE ACLARAMIENTO

Las experiencias de aclaramiento son de dos tipos: experiencias de gran duración (alrededor de 24 horas) y con el animal consciente, en las que se determinaba la tasa de filtración glomerular mediante aclaramiento de creatinina endógena (C_{Cr}) y aclaramientos cortos, en los que, en períodos que oscilaban entre 20 minutos y una hora, se determinaban la tasa de filtración glomerular mediante aclaramiento de inulina (C_{In}) y de ácido p-amino hipúrico (C_{PAH}).

B.1.a Aclaramiento en cajas metabólicas

Para los aclaramientos largos, las ratas eran colocadas en las jaulas metabólicas individuales mencionadas, con libre acceso a la bebida y a la comida. La orina se recogía en probetas que contenían 2 ml. de aceite mineral previamente equilibrado con agua duran

te 7 días. En la mayor parte de los casos se puso también en el fondo de la probeta 0.1 ml. de azida sódica 20%. La orina se recogió libre de heces o restos de comida debido al especial diseño de la caja metabólica. Cuando, por diarrea o cualquier otra causa, la orina aparecía macroscópicamente contaminada con heces o cualquier otra cosa, la experiencia no se tuvo en cuenta.

Las experiencias se hicieron en períodos de un mínimo de 18 horas, siendo habitualmente de 24 horas. Al final del período se forzó la micción de la rata por manipulación y presión manual suprapúbica. Antes y después de este período (o sólo después, en el caso de que no hubiera ninguna razón para pensar que la concentración plasmática de creatinina pudiera variar) se obtuvieron muestras de sangre, bien por punción cardiaca, cuando el animal debía ser conservado con vida, o por punción aórtica tras laparotomía, cuando el animal debía ser sacrificado.

B.1.b Experiencias de aclaramiento corto

Los animales se mantuvieron sin comer durante las 18 horas previas a la experiencia. Las ratas fueron anestesiadas con pentobarbital sódico (Nembutal, Abbot) 40 mg/Kg de peso, administrado por inyección intraperitoneal. Posteriormente se las colocó sobre una mesa de polipropileno equipada con una resistencia y un termostato. Al animal se le introdujo también en el recto la sonda de un teletermómetro (Ellektro Laboratoriet, Copenhagen) y se mantuvo a lo largo de toda la experiencia a una temperatura entre 36,5 y 37,5 °C. Se les practicó la traqueotomía, introduciendo en el tercio superior de la tráquea un catéter de polietileno (PE 150, Portex, Inglaterra).

Utilizando la misma incisión en la parte inferior del cuello se canuló una yugular externa utilizando cateteres de polietileno (PE 50, Portex). Asimismo, y a través de una incisión en la ingle, se canuló la arteria femoral, que se conectó a una llave de doble paso. Una de las salidas de la llave se utilizó para la toma de muestras de sangre, la otra se conectó a un transductor de presión (Elema Schonander, EMT 35, Stockholm) que a su vez estaba conectado a un amplificador (Mingograff; Elema Schonander) y a un registro (Siemens, Alemania). La presión arterial se registró durante toda la experiencia. Los animales cuya presión arterial media descendió por debajo de 80 mmHg durante más de dos minutos, o por debajo de 100 mmHg durante más de 15 minutos, no han sido incluidos en los resultados.

Cuando las ratas estaban previamente nefrectomizadas, o cuando se deseaba recoger conjuntamente la orina de los dos riñones, se cateterizó la vejiga mediante una incisión suprapúbica en la pared abdominal, a través de la línea alba, utilizando un catéter PE 50 con el extremo intravesical en forma de embudo. Desde la canulación de la yugular, y a lo largo de la cirugía, se infundió una solución Ringer en una cantidad de 8 ml/Kg de peso, para reponer las pérdidas quirúrgicas.

Una vez terminada la cirugía se comenzó la infusión de Inulina y ácido para-amino-hipúrico (PAH). Tanto la velocidad de infusión como la concentración plasmática a conseguir son completamente distintas si para su valoración se utiliza un método colorimétrico, o si se infunde inulina y PAH marcados con radioisótopos (comunmente ^{14}C y ^3H). La infusión se hizo mediante una bomba de infusión constante (Unita 1, Braun Melsungen, Alemania). Cuando se utiliza un mé

todo colorimétrico estas sustancias se infunden de forma que se - consiga una concentración plasmática de alrededor de 1 mg/ml para la inulina y 0,50 mg/ml para el PAH.

Cuando lo que se infunde son sustancias marcadas con radioisótopos, la tasa de infusión se hace de forma que la actividad de los radioisótopos en muestras de 25-30 ul de plasma sean de por lo menos 50 veces el valor de fondo del aparato.

La orina se recogió en viales de los utilizados para contaje de centelleo líquido, que contenían 1 ml. de aceite mineral (parafina líquida) equilibrada con agua como se ha mencionado previamente. El volumen de orina se calculó, con una precisión de microlitro, por la diferencia de peso de los viales antes y después de la experiencia.

La sangre se recogió en capilares de vidrio de 75 ul de capacidad, previamente tratados con heparina amónica (Capillets, Dade, Miami, U.S.A.). El plasma se separó por centrifugación en una microcentrífuga (Heraeus Christ, Osterode).

Cuando se quiso recoger la orina de los dos riñones por separado, se hizo una laparotomía por incisión en la línea media abdominal y, tras la localización de los uréteres, se canularon estos con una pequeña porción de catéter PE 10 unido a una porción más larga de PE 50, poniendo los finales de ambos catéteres en viales separados.

8.2 EXPERIENCIAS DE MICROPUNCION

La micropunción es una técnica desarrollada sobre todo en los últimos 20 años y que permite el estudio de la función tubular de los segmentos de la nefrona que aparecen en la superficie del riñón, o de otros que pueden ponerse al descubierto, como la papila. Esta técnica, que permite el estudio de las nefronas individuales, ha sido recientemente revisada en sus distintas modalidades por Andreucci (4). En nuestro laboratorio se utiliza la técnica denominada de "flujo libre" (93, 94, 96), que es la que describiremos a continuación.

8.2.a Preparación de las micropipetas

Para la preparación de las micropipetas se partió de unos tubos de vidrio especial, de 0,8 mm. de diámetro interno y 100 mm. de longitud (Drummond Scientific Co., U.S.A.). Estos tubos se colocaron en un aparato especialmente diseñado para fabricar microinstrumentos de vidrio, fundamentalmente micropipetas y microelectrodos (Otto K Hebel, Rutledge, U.S.A.). El procedimiento se basa en aplicar una fuerza de tracción constante a los dos extremos del capilar mientras el centro se calienta por medio de una resistencia eléctrica regulable. Cuando la temperatura y la fuerza de tracción están adecuadamente reguladas, las dos mitades se separan quedando en su centro dos extremos afinados acabados en un capilar extraordinariamente fino. Estos extremos se pulen en forma de bisel en una micropulidora provista de una piedra de afilar que rota horizontalmente a gran velocidad (Industrial Science, Ridgewood, U.S.A.). El pulido se hace bajo control estereomicroscópico (Spencer Cycloptic, American Optical Co., Buffalo, U.S.A.). La punta de la pipeta, que debe medir entre 8 y 15

μm , se pula en un ángulo próximo a los 30 grados, extremos éstos que se comprueban en un microscopio convencional equipado con micrómetro (Nikon, Japón). Las pipetas que reúnen las condiciones adecuadas se cargan con aceite mineral teñido con sudán negro y se guardan hasta el momento de su utilización.

B.2.b Preparación quirúrgica del animal

La cirugía realizada es similar a la descrita en el apartado B.1.b. Además, a los animales se les canuló la otra yugular con un catéter de polietileno PE 50. El riñón izquierdo se dejó al descubierto mediante una incisión subcostal. El bazo y los intestinos se separaron mediante sondas piezas de gasa empapadas en solución salina isotónica. El riñón se separó cuidadosamente de la grasa que lo rodea, pero cuidando de dejar intacta la cápsula. Inmediatamente se colocó en una cazoleta especial "Lucite", con un hueco para dejar pasar el "hilus" renal, y el vástago metálico de la cazoleta se sujetó fuertemente a la mesa de micropunción para que el riñón quedara fijo e independiente de los movimientos respiratorios del animal.

La mesa termostatizada se colocó sobre un soporte especial que contenía 2 varillas verticales que permitían mediante nueces fijar los instrumentos necesarios para la micropunción (vástago de la cazoleta renal, iluminador, conducción del aceite mineral, etc). Esta mesa, a su vez, se colocó sobre una mesa de mármol con pies de mármol, aislada del suelo mediante varias capas de goma elástica, lo que la hace relativamente independiente de las vibraciones del edificio.

El riñón se bañó constantemente con aceite mineral equilibrado con agua, y calentado de tal manera que, al caer sobre el riñón,

su temperatura fuera de 37 °C. Esto tenía por misión evitar la dese
cación renal y mantener el riñón a una temperatura adecuada.

La superficie renal se iluminó con una fuente de luz fría y se observó mediante un estereomicroscopio (Leitz, Stereoplan RS, Ernst Leitz GMBH, Wetzla, Alemania), de gran profundidad de campo y profundidad de foco, lo que permite trabajar cómodamente bajo él, así como de cambio rápido de objetivos, ofreciendo la posibilidad de observar el riñón a 18, 72 y 144 aumentos.

Tras de comenzar la infusión de inulina y PAH de forma simi
lar a la descrita en el apartado 8.1.b., se dejó al animal estabili
zarse durante 45 minutos, antes de comenzar la experiencia de micro
punción.

8.2.c Técnica de la micropunción

Una vez el animal estuvo preparado y estabilizado según se ha descrito en el apartado anterior, se observó la superficie renal iluminada mediante un sistema de luz fría a través del estereomicroscopio y se inyectó, a través de una vena yugular, una embolada de 0,05 ml. de una solución de lisamina verde (Lisamingrün SF, Chroma Gaellschaft Schmid and Co., Stuttgart, Alemania) 0,05 g/ml en salino isotónico. Se midió el tiempo de tránsito proximal, que es el tiempo que transcurre entre la aparición del colorante en las arteriolas superficiales y su desaparición primera de la luz de los túbulos en la superficie renal. (El colorante reaparecería nuevamente en la superficie renal tras haber recorrido el túbulo proximal recto y las asas de Henle). Si el tiempo de tránsito proximal era superior a los 15 segundos, la rata se desecha, pues no se encuentra en condiciones

hemodinámicas correctas. Asimismo se desecha si alguna parte del ri
ñón está insuficientemente irrigada (presenta un color más claro o
más oscuro de lo habitual), si los túbulos renales están colapsados,
o si la presión arterial media es inferior a 100 mmHg.

Las diferentes partes accesibles de la nefrona (túbulo proxi-
mal, túbulo distal) se identifican por el tiempo de tránsito de la -
lisamina verde y por su especial configuración morfológica.

Una de las micropipetas preparadas según se describió en el -
apartado 8.2.a, se coloca en el manguito de un micromanipulador Leitz
(reducción de desplazamiento 1 : 16 - 1 : 800) que permite realizar
movimientos en los tres ejes del espacio y movimientos en cualquier
dirección. Utilizando el micromanipulador, se introduce la punta de
la pipeta en la luz del segmento del túbulo elegido. Mediante la pre
sión realizada manualmente con una jeringa conectada al manguito del
micromanipulador, se inyecta en el interior del túbulo una cierta can
tidad de aceite mineral, para que forme una columna de por lo menos
cinco veces la anchura del túbulo, y que tiene por misión evitar re-
coger fluido tubular procedente de zonas más distales de la que está
siendo estudiada. Inmediatamente se comienza la recogida del fluido
tubular en el interior de la micropipeta a la presión intratubular
espontánea. Si la columna de aceite mineral tiende a desplazarse ale
jándose de la punta de la pipeta, se la mantiene en su sitio median-
te ocasionales aspiraciones con la jeringa.

La recolección de fluido tubular se realizó durante períodos
exactamente medidos y que oscilaron entre 2 y 5 minutos. Una vez aca
bado el tiempo de colección se retiró la pipeta de la luz tubular y
se cogió en la punta una pequeña gotita del aceite mineral que cubre

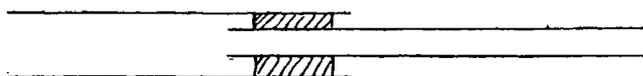
la superficie del riñón, con el fin de evitar la evaporación del fluido tubular recogido.

En cada rata se hicieron usualmente entre 3 y 6 micropunciones. Cada 2 ó 3 punciones se tomó una muestra de 75 μ l de sangre femoral, en tubos de microhematocrito.

Las técnicas de determinación de inulina en fluidos tubulares están descritas en el apartado B.4.a.

B.2.d Determinaciones en el fluido tubular

El volumen de fluido tubular obtenido se midió utilizando un capilar de vidrio de diámetro constante, colocado parcialmente en el interior de un capilar de diámetro mucho mayor, según el esquema:



La micropipeta completa se coloca en un micromanipulador Brinkmann (Brinkmann Instruments Inc., New York, U.S.A.) provisto de micrómetro con precisión hasta 1/100 mm. La punta de la pipeta se coloca junto a la boca de la micropipeta de micropunción que contiene el fluido tubular extraído. Esta micropipeta está a su vez montada en un micromanipulador similar al descrito y conectada por un tubo de polietileno a una jeringa. Haciendo una ligera presión con la jeringa, bajo control de un estereomicroscopio, se trasvasa el contenido de la micropipeta de micropunción a la micropipeta de medida, introduciendo también una pequeña parte del aceite mineral para evi

tar que el fluido tubular se evapore.

Luego se mide la longitud de capilar que ocupa el fluido tubular, con ayuda de una marca vertical en el ocular del microscopio y el micrómetro del micromanipulador y multiplicándolo por el diámetro del capilar se obtiene el volumen de fluido tubular obtenido.

La pipeta de micropunción se saca del micromanipulador y se desecha, colcándose en su lugar una pipeta de llenado total. La pipeta de llenado total se construye de forma similar a como se ha descrito para la pipeta de medida, colocando un pedazo de capilar de cuarzo de diámetro constante en el interior de un capilar de diámetro mayor. Los volúmenes normales de estas micropipetas eran de 14, 15 y 16 nl. (10^{-9} l). Parte del contenido de la micropipeta de medida se traspasa a ésta última, y de ésta a un vial de centelleo que contenía 2 ml. de agua destilada. Usualmente el contenido de inulina de los fluidos tubulares se medían por duplicado, y si era posible, por triplicado. Muestras iguales de plasma y orina se tomaron con las mismas pipetas y se depositaron en viales semejantes. Entre toma y toma, la pipeta se lavaba consecutivamente con agua y acetona dos veces.

El diámetro de la pipeta de medida se calcula de la siguiente forma: se prepara una solución de inulina marcada con tritio y de una actividad relativamente elevada, y se carga un capilar con esta solución. Luego en la pipeta a calibrar se toman cantidades variables de esta solución, se mide la longitud que ocupan y se ponen en viales de centelleo, que se cuentan como se ha descrito más arriba. Se toman también por triplicado muestras de 1 μ l de solución con una micropipeta comercial y se procesan como el resto de las muestras.

Con estas últimas se calcula la actividad de la solución (cpm/ml) y con las muestras de la micropipeta se hace la recta de regresión volumen/distancia. La pendiente de esta recta es la superficie del cilindro interno del capilar, y basta multiplicar la longitud que ocupa la muestra por este factor para calcular su volumen.

El volumen de las pipetas de llenado total se calcula de forma similar. Se pone por triplicado el total de la pipeta en viales de centelleo; junto con ellos se ponen, también por triplicado, muestras de 1 μ l de la solución, y por una simple regla de tres se calcula el volumen de la pipeta.

B.3 TECNICA DE MICROESFERAS

Los animales se prepararon quirúrgicamente de una forma similar a la descrita en el apartado B.1.b. Además, se le introdujo un catéter PE 10 a través de la carótida derecha hasta el ventrículo izquierdo, lo que se confirmó observando el trazado de la presión arterial obtenido a través del catéter.

Las microesferas (3 M Co., Snt. Paul, Minesota U.S.A) son agregados de resinas sintéticas de forma esférica u oval y de diámetro 15 ± 3 μ m. Por ello son íntegramente atrapados en los capilares glomerulares, y ninguna pasa a la circulación postglomerular, lo que las convierte en ideales para medir el flujo plasmático renal. Asimismo se pueden calcular otros parámetros hemodinámicos del animal, como el gasto cardíaco o la resistencia venosa periférica, como a continuación veremos.

Las microesferas vienen marcadas con diferentes radioisotopos. Nosotros hemos utilizado dos tipos de ellas marcadas con ^{141}Ce y ^{85}Cr ; ambos contaban en un contador de emisiones gamma con bandas específicas bien diferenciables.

El procedimiento utilizado fue el siguiente: la solución original de microesferas se agitó durante 5 minutos vigorosamente. Después 0,5 ml de la solución se disolvieron en 20 ml de sacarosa 63,0%. De esta solución se tomaron 0,25 ml en una jeringa de insulina. Esta jeringa se tapó y su radioactividad se midió en un contador de centelleo gamma.

El contenido de la jeringa, después de ser agitado, se inyectó a través del catéter situado en el ventrículo, durante un período de 15 segundos. La jeringa vacía junto con su tapón se volvió a contar en las mismas condiciones, y la diferencia cpm iniciales - cpm después de la inyección representa el número de cpm inyectadas (RI).

Desde 10 segundos antes de comenzar la inyección de las microesferas se recoge la sangre que sale libremente del catéter situado en la arteria femoral. La recogida se hace en un tubo de plástico (previamente tarado) durante un tiempo exacto de 1 minuto (10 segundos antes de la inyección de microesferas + 50 segundos después de la inyección).

Este proceso puede repetirse de nuevo con las microesferas etiquetadas con el otro radioisótopo en cualquier momento de la experiencia.

Una vez terminada la experiencia, el riñón se extrae y se divide en dos mitades mediante un corte, siguiendo un eje que pasa por ambos polos y el hilus renal. Ambas mitades se pesaron y una de ellas

(P₂) se corta en rodajas de aproximadamente 2 mm. La fijación con formol-salino 10% durante 24 horas facilita esta operación. Estas rodajas se dividieron a su vez en tres capas, bajo el control de un estereomicroscopio a bajo aumento. Las capas fueron cortical externa (C₁), cortical interna (C₂), subcortex (C₃) y medular (M), siguiendo unos criterios similares a los descritos por Yarger y col. (185).

El conjunto de todas las porciones de C₁ se pesó y su radioactividad se midió por separado. Lo mismo se hizo con C₂, C₃, M y P₁, alícuotas de la sangre extraída de la femoral y alícuotas de la suspensión de microesferas. Los detalles de las técnicas de contaje de la radiación gamma y de la determinación del solapamiento entre ambos radioisótopos se describen a continuación.

B.3.b Medida de la actividad de los radioisótopos

Todos los tubos de plástico conteniendo las muestras se completaron hasta 1,5 cm de altura con salino isotónico para igualar la geometría del contaje y se contaron durante 10 minutos o hasta acumular 100000 cuentas en un contador de radiaciones gamma (Nuclear Chicago, Chicago, U.S.A) haciendo la lectura por dos canales simultáneamente. Usualmente en el canal A se midió la actividad de ⁸¹Sr (rayo gamma de energía : 514 KeV) en las condiciones siguientes: atenuador= 8-9; base = 3,5; ventana = 2,5. En el canal B se midió la actividad de ¹⁴¹Ce (Rayo gamma de energía: 145 KeV) atenuador = 2-12; base = 4,5; ventana = 3,0.

Para calcular la interferencia que cada isótopo producía en la medida de la actividad del otro se pusieron en 20 tubos de contaje microesferas de ⁸¹Sr con actividades que variaban entre 43 y

85.000 cpm y se contaron por los dos canales preseleccionados según se ha descrito en el párrafo anterior. En otros 20 tubos se pusieron microesferas de ^{141}Ce con actividades entre 30 y 20.000 cpm/tubo y se contaron en las mismas condiciones. Además, como ya hemos dicho, cada experiencia llevaba consigo el conteo de alícuotas de cada una de las dos suspensiones de microesferas.

Las alícuotas de microesferas etiquetadas con ^{81}Sr , medidas en las condiciones del ^{141}Ce dan una lectura que es del $28,7 \pm 1,5\%$ de la lectura obtenida en el canal del ^{81}Sr . Las microesferas de ^{141}Ce contadas en las condiciones de ^{81}Sr dan una lectura que no se diferenciaba significativamente del valor de fondo del aparato. En base a esto, la actividad de ^{141}Ce en una muestra que contenga también actividad de ^{81}Sr se calculaba restando del total de cuentas del canal de ^{141}Ce un 29% de las cuentas obtenidas en el canal de ^{81}Sr , mientras que las lecturas de ^{81}Sr se utilizaban directamente.

B.3.c Cálculos

Los cálculos realizados fueron los siguientes:

$$GC = \frac{RI}{RS} \times FSF \quad \text{ml/min} \quad 4.1$$

siendo GC el Gasto Cardíaco, RI las cuentas totales inyectadas, RS las cuentas totales de la sangre extraída y FSF el flujo sanguíneo femoral. Este parámetro viene expresado en ml/min.

$$FSR = \frac{RRT}{RS} \times FSF \quad \text{ml/min} \quad 4.2$$

siendo FSR = Flujo sanguíneo renal, RRT = radioactividad renal total.

$$(P_1 + P_2 + P_2 = C_1 + C_2 + C_3 + m)$$

$$RPT = \frac{PAM}{GC} \quad \text{mmHg.min/ml}$$

siendo RPT = resistencia periférica total, PAM = presión arterial media y el GC obtenido de 4.1

$$RR = \frac{PAM}{FSR} \quad \text{mmHg.min/ml} \quad 4.4$$

siendo RR = resistencia renal y FSR obtenido de 4.2

$$FPR = FSR \left(1 - \frac{1}{Htcto} \right) \quad 4.5$$

siendo FPR el flujo plasmático renal y FSR obtenido de 4.2

El flujo sanguíneo que atraviesa cualquier fracción de riñón se calcula igual que el FSR sustituyendo RRT por la radioactividad de la zona a medir.

Usualmente los parámetros GC y RPT se expresan por 100 gramos de peso del animal, mientras que el FSR, RR, FPR y FP zonal renal se expresa por gramo de tejido renal.

8.3.d Comprobación de la técnica

La validez de este tipo de determinaciones se ha realizado mediante una serie de experiencias:

1.- Captación total de las microesferas por el riñón. Tres ratas se prepararon como se ha descrito en el apartado 8.3.a y además, mediante una laparotomía por incisión abdominal a través de la línea alba, se descubrió el pedículo renal, se aisló la vena renal y se introdujo en su interior la punta de una aguja muy fina conectada a un catéter de polietileno PE 50. Este sistema se mantuvo permeable mediante la infusión de Ringer a baja velocidad (0,01 ml/min) con una pequeña cantidad de heparina. Para evitar contaminación con sangre no

proveniente del riñón se ligaron las venas ovárica y la suprarrenal.

Tras un período de estabilización se inyectó por el catéter del ventrículo 0,25 ml de la suspensión de microesferas. Mientras, se extraía sangre a través del catéter situado en la vena renal. La radioactividad de alícuotas de esta sangre se midió en un contador de emisiones gamma. La radioactividad encontrada no difirió nunca del ruido de fondo del aparato, lo que demostró que todas las microesferas eran captadas por la red capilar renal.

2.- Identidad de las medidas realizadas con microesferas marcadas con diferentes radioisótopos.

En 6 animales preparados quirúrgicamente según se ha descrito en el apartado 8.3.a se han realizado las mediciones del GC y del FSR según la técnica de las microesferas arriba descrita, utilizando una mezcla de microesferas que contenía 0,15 ml de una solución de microesferas marcadas con ^{141}Ce y 0,15 ml de microesferas marcadas con ^{85}Sr . Tanto la muestra de sangre femoral como las fracciones de riñón y las alícuotas de la mezcla de microesferas se contaron en un contador bicanal de radiaciones gamma.

La relación entre el gasto cardiaco calculado a partir de la actividad del ^{85}Sr y el calculado con ^{141}Ce es $1,04 \pm 0,07$ (6 determinaciones). La misma relación para el FSR es $0,97 \pm 0,04$. En ninguno de los dos casos esta relación era significativamente diferente de la unidad.

3.- Relación entre el FSR medido por microesferas y el medido por la técnica del aclaramiento de PAH.

Estas experiencias han sido realizadas en 4 animales uninefrectomizadas que se prepararon quirúrgicamente según se ha descrito en los apartados B.1.b y B.3.a. Además, se colocó un lazo alrededor de la arteria renal según la técnica que hemos descrito en varias publicaciones precedentes (92,94,96,176), dejándolo abierto. Tras un período de estabilización de 60 minutos, se lleva a cabo una experiencia de aclaramiento de PAH, tal y como está descrito en el apartado B.1.b. Al final de este período se hizo una medida del FSR con microesferas, marcadas con uno de los dos isótopos utilizados.

Transcurridos 60 minutos del fin de esta primera experiencia, el lazo situado alrededor de la arteria renal se apretó de forma que constriñera parcialmente la arteria renal. Después de otros 60 minutos, se hizo un período de aclaramiento de PAH de 1 hora, al final del cual se realizó una nueva medida del FSR con microesferas marcadas con un radioisótopo distinto al de la primera experiencia.

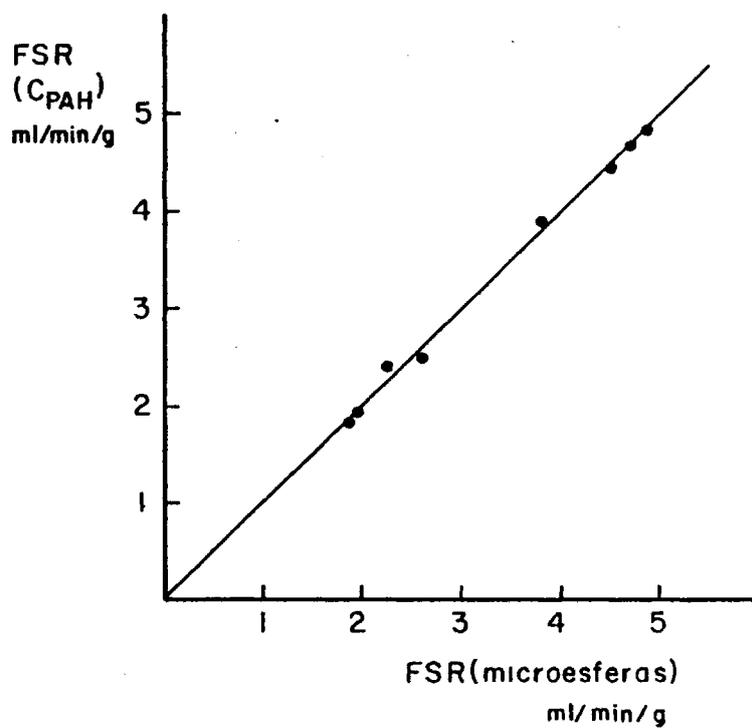
Las mediciones y cálculos del FPR y FSR por ambos métodos se han realizado según se ha descrito anteriormente, utilizando la relación

$$FPR = FSR \left(1 - \frac{1}{Htcto} \right)$$

La correlación entre el flujo plasmático renal obtenido por ambas técnicas está representada en la figura B.31

Como puede observarse en dicha figura, la correlación es muy buena, lo que valida ambas técnicas para ser comparados sus datos, al menos en condiciones fisiológicas.

FIGURA B.3.1



B.4 DETERMINACION DE LOS COMPONENTES LIQUIDOS DEL ORGANISMO

B.4.a El volumen plasmático se ha determinado mediante el cálculo del espacio de distribución de albúmina marcada con ^{125}I .

Albúmina bovina, fracción V repurificada (Difco) se marcó con ^{125}I mediante el método de oxidación con Cloramina T (76), con una actividad específica de alrededor de 100 uCi/mg de proteína. Tras purificación en una columna de Sephadex G-25, la proteína marcada se disuelve en salino hasta una concentración de aproximadamente 375.000 dpm/ml.

Para determinar el volumen plasmático, los animales se preparan quirúrgicamente según se ha descrito en el apartado B.1.b: Una vez acabada la cirugía, se le infunde por la vena femoral una solución de Ringer, 1 ml/hora, a lo largo de toda la experiencia. Tras 45 minutos de equilibrio, se toma una muestra de sangre de 75 ul, cuyo plasma servirá como blanco. Posteriormente se inyecta a través de la vena femoral 0,4 ml de la solución de albúmina marcada con ^{125}I Alb. a intervalos de 30, 60 y 90 minutos después de la inyección de albúmina se toman muestras de 75 ul de plasma en capilares heparinizados.

Los capilares se cierran por un extremo con plastilina y se centrifugan a 9000 g durante 3 minutos. El hematocrito se lee en un aparato especial y se separa el plasma de los hematíes cortando el capilar.

En tubos de radioinmunoensayo (tubos de polietileno de 4 ml de capacidad y 11 x 70 mm) se ponen 2 ml de agua y 15 ul de la muestra de plasma, por duplicado. Estos tubos se cuentan en un contador de

radiación gamma. Alícuotas de la solución inyectada se cuentan de la misma forma.

El volumen plasmático en ml se calcula dividiendo los dpm inyectados entre los dpm plasmáticos, expresados estos últimos en dpm/ml de plasma. El volumen sanguíneo o volumen circulante se calcula dividiendo el volumen plasmático por $(1 - Hto)$ siendo el volumen hematocrito = $\frac{\text{volumen de células}}{\text{volumen de plasma}}$

Normalmente el volumen plasmático y el volumen circulante se expresan como % del peso total del animal.

B.4.b Determinación del volumen extracelular.

El volumen extracelular es muy difícil de medir debido a la inexistencia de una sustancia apropiada que no penetre en las células. No hay ninguna sustancia que se mantenga como sustancia extracelular y se distribuya rápida y uniformemente en el fluido plasmático, intersticial, conectivo denso, cartílago, hueso y transcelular. Además, las diferentes velocidades de equilibrio de una sustancia específica en cada uno de estos espacios hacen difícil la interpretación de los resultados de los test de dilución, y producen confusiones entre el "espacio anatómico" y la cantidad "fisiológica".

A causa de estas dificultades, es necesario medir el volumen de distribución de una sustancia específica, y referirse a ellos, pudiendo servir su comparación en diferentes estados como un índice de los cambios del volumen extracelular. Para medir el volumen de distribución del espacio extracelular pueden utilizarse dos tipos de sustancias: a) polisacáridos como inulina o manitol; b) iones, como

tiosulfato, sulfato, tiocromato, cloruro, bromuro o sodio. A causa de las diferentes velocidades de penetración de las sustancias en cada uno de los partimientos antes mencionados, es necesario distinguir al menos 2 fases: 1ª: fase de equilibración rápida, con un tiempo medio de 20 minutos, y que representa la difusión en el plasma y el líquido intersticial; 2ª: fase de equilibración lenta, con un tiempo medio de 5-9 horas, representando la penetración en los restantes compartimientos extracelulares

Nosotros hemos utilizado la fase rápida del espacio de inulina, como medida de volumen extracelular, representado fundamentalmente por su componente intersticial. El espacio de inulina se ha calculado por el método de la inyección única. Este método se utiliza para sustancias de excreción renal lenta. Así, cuando una cantidad conocida de una sustancia se inyecta intravenosamente, hay dos factores que determinan su concentración plasmática subsiguiente: a) excreción renal; b) penetración en otros compartimientos. Cuando una sustancia ha penetrado uniformemente en los compartimientos en que puede distribuirse, su tasa de desocupación del plasma es constante, depende solamente de la excreción renal.

En la práctica, para medir el espacio de inulina por este método, se inyecta una cantidad conocida de inulina intravenosamente, y su concentración plasmática se determina a intervalos de tiempo. Posteriormente se representa el logaritmo de la concentración plasmática frente al tiempo. Se observa entonces (Figura 8.4.1) que la representación tiene dos partes, una curva que representa la fase de difusión rápida del plasma al líquido intersticial, y una segunda fase recta, que representa la secreción renal constante.

Para hallar el volumen del compartimiento donde se ha difundido la inulina, tendremos que determinar la concentración plasmática que debería haberse obtenido si la sustancia test penetrara instantánea e uniformemente en los diversos compartimientos sin haber sido excretada por los riñones. Esta concentración instantánea se obtiene extrapolando la parte recta de la curva a tiempo 0 y hallando el anti logaritmo. Dividiendo la cantidad de sustancia inyectada por la concentración instantánea se obtiene el volumen del compartimiento penetrado por la sustancia en este caso, el espacio de inulina.

En nuestro caso, las ratas en las que se iba a hacer el estudio se prepararon quirúrgicamente según se ha descrito en el apartado 8.1.b. 0,25 ml de una solución de inulina marcada con ^3H ó ^{14}C (Amersham Searle, Holanda) y de actividad alrededor de 2×10^7 dpm/ml se inyectan intravenosamente en aproximadamente 20 segundos. Muestras de plasma de 75 μl se obtienen a 5, 10, 15, 30, 45, 60, 90 y 120 minutos después de la inyección.

Muestras de 15 μl de plasma se pusieron por duplicado en viales de centelleo conteniendo 2 ml de agua destilada. También se pusieron por duplicado alícuotas de la solución de inulina inyectada. A todos los viales se les añadió 8 ml de líquido de Bray, y se contaron en un contador de centelleo líquido en el canal adecuado.

El logaritmo de las concentraciones plasmáticas de inulina se representó frente al tiempo, y el espacio de inulina se determinó según se ha descrito anteriormente.

B.5 TECNICAS HISTOLOGICAS

Las piezas, cuando se extraen, son inmediatamente fijadas en formol-salino (10%) durante un período que oscila entre 24 y 72 horas. Posteriormente se deshidratan mediante pasos sucesivos por etanol entre 96% y 100% y se incluyen en parafina. Se cortan usualmente en cortes de 3-4 micras de espesor y se tiñen con hematoxilina eosina por métodos convencionales. Las preparaciones se estudian por 2 observadores distintos, que no conocían el tratamiento previo del animal. Además, uno de ellos al menos es un especialista en anatomía patológica. Los puntos fundamentales a observar son:

- a) Integridad del epitelio tubular. Se valora de 0 a 5 cruces separando corteza externa, corteza interna, médula y papila. Con el siguiente criterio:
 - 0 normal
 - + ligera vacuolización citoplasmática
 - + + forma y tamaño normal, alteración intracitoplasmica importante:
 - + + + pérdida del borde en cepillo, distorsión celular.
 - + + + + células reconocidas como independientes pero sin estructura interna.
 - + + + + + epitelio tubular inexistente o transformado en una masa amorfa.
- b) Presencia de obstrucción o dilatación tubular y tipo de material que obstruye.
- c) Presencia de edema intersticial y su localización.

8.6 TECNICAS QUIRURGICAS

8.6.a Nefrectomía unilateral

Para la nefrectomía unilateral las ratas fueron anestesiadas mediante su introducción en un recipiente que contenía gasas empapadas en éter. Se procuró que la anestesia fuera lenta debido a que es más duradera y produce menos efectos secundarios. Una vez anestesiada, se colocó sobre una superficie móvil de formica que previamente se había limpiado con etanol y se inmovilizó al animal mediante esparadrapo. La zona dorsal subcostal se rasuró y se limpió con una solución antiséptica (Betadine). El material quirúrgico se puso desde al menos una hora antes en una solución al 0,5% de un germicida (Armil). Se hizo una incisión subcostal de 2 cm de longitud en la piel y en la capa muscular y se accedió a la celda renal retroperitonealmente. Se separó cuidadosamente la glándula suprarrenal y su vasculatura y se ligó el pedículo renal con sutura de lino, extirpándose inmediatamente el riñón. Si casualmente se hace algún desgarró peritoneal no se reparó. La capa muscular se cerró con sutura continua y se espolvoreó con una sulfamida (Azol). A continuación se cerró la piel y la sutura se bañó con Betadine.

Las ratas pseudooperadas recibieron la misma manipulación excepto que ni se ligó el pedículo ni se extirpó el riñón.

Todos los animales después de la cirugía recibieron 2 ml de ClNa 0,9% intraperitonealmente.

Usualmente se extirpó el riñón derecho.

B.7 MÉTODOS DE VALORACION QUIMICA

B.7.a Inulina

La inulina no radioactiva se determinó en plasma y orina por un método derivado del publicado por Davidson y Sackner (76). El método es el siguiente: en un tubo capilar de 75 μ l de capacidad se colocaron 20 μ l de plasma y 40 μ l de ácido tricloroacético. Uno de sus lados se cerró con plastilina y se centrifugó durante 5 minutos en la centrífuga de microhematocrito. Lo mismo se hizo por duplicado para todas las muestras de plasma. La orina se diluyó en agua destilada según la diuresis del animal y la presunta concentración de inulina (de 50 a 1000 veces). En tubos especiales de 3 ml de capacidad y 5 mm de diámetro se pusieron por duplicado:

- alícuotas de 0,1 ml de la dilución de orinas.
- el total del sobrenadante del plasma después de la desproteinización.
- alícuotas de 0,1 ml de solución de fructosa conteniendo 50, 100, 150, 200 y 300 mg/ml.
- 0,1 ml de agua destilada.

Los tubos se introdujeron en un baño de hielo y a todos ellos se les añadió 2 ml de una solución de antrona (Merck, Darmstadt, Alemania) en ácido sulfúrico (0,4 g de antrona en 370 ml de ácido sulfúrico 90%). Después se colocaron en un baño termostático durante 60 minutos a 39°C. La reacción se paró introduciendo los tubos durante 10 minutos en un baño de hielo. La absorción del cromóforo se midió a 620 μ m en un espectrofotómetro (Coleman Junior 2).

Cuando se utilizó inulina radioactiva (normalmente ¹⁴C-metox

Inulina) ésta se infundió de forma que las cuentas en las muestras de fluido tubular (alrededor de 15 μ l por muestra) tuvieran una actividad al menos cuatro veces superior a la del fondo.

8.7.b El ácido para-amino-hipúrico

Hemos utilizado una modificación al método de Smith y col. (149) que se basa en la diazotación del grupo para-amino del PAH con ácido nitroso. El exceso de NO_2H se elimina con sulfamato amónico, y la reacción con N (1-naftil) etilendiamina produce un cromógeno que absorbe selectivamente a 540 nm. Este método es altamente específico para el PAH, y sólo la presencia de sulfonamidas en el fluido a determinar puede producir interferencias en la reacción (149). El método, tal y como nosotros lo hemos aplicado para nuestras condiciones, es como sigue: en tubos de polietileno se ponen 1 ml de ácido tricloroacético 5% y 25 μ l de plasma. Se agita vigorosamente durante unos segundos y se centrifuga durante 15 minutos, a 3000 rpm. Un ml del sobrenadante se coloca en los tubos de reacción de 4 ml de capacidad. Los plasmas se preparan por duplicado. Las orinas se diluyen adecuadamente según la concentración de PAH previsible (1:1000 a 1:10000) y se pone 1 ml en los tubos de reacción por duplicado. También se pone, en tubos de reacción y por duplicado, alícuotas de 2 ml de solución de PAH entre 0,1 y 1 mg/100 ml.

A cada tubo se le añade 0,2 ml de ClN 1,1 N y 0,1 ml de nitrito sódico, 100 mg/100 ml, y se agita. Tras un período de tiempo no inferior a 3 minutos ni superior a 5, se le añade 0,1 ml de sulfonato sódico 500 mg/100 ml, se agita y se espera un período de tiempo igual al anterior, transcurrido el cual se añade 0,1 ml de N-(1naftil)-etil

endiamina 100 mg/100 ml, se agita y se espere 15 minutos. A partir de este tiempo el color formado se estabiliza durante aproximadamente 45 minutos.

Esta modificación permite una linealidad entre concentración y absorción entre 0 y 0,9 mg/ml con un coeficiente de correlación medio de $0,992 \pm 0,0001$ (media \pm error estándar de la media, 5 determinaciones). El coeficiente de variación interensayo fue de 3,2% para la muestra de 0,2 mg/100 ml y 3,1% para la muestra de 0,8 mg/100 ml (25 determinaciones para la primera y 20 para la segunda).

B.7.c Creatinina

Para la determinación de creatinina en plasma y orina se ha utilizado una pequeña modificación del método de Doolan y Alpen (45) que, en breve, es como sigue: En un tubo de polietileno de radioinmunoensayo se pone de 0,1 a 0,5 ml de plasma, se completa a 1 ml con agua destilada y se añaden 0,5 ml de ácido sulfúrico 0,66 N, se mezcla bien y se añade 0,5 ml de tungstato sódico gota a gota y agitando. Se reposa durante 30 minutos agitando varias veces y se centrifuga a 3000 rpm durante 15 minutos; 1 ml del sobrenadante se pone en tubos de reacción de 4 ml de capacidad por duplicado.

La orina se diluye según la supuesta concentración de creatinina (1:10 - 1:100) con ácido sulfúrico 0,093 N. De aquí se ponen en los tubos de reacción alícuotas de 1 ml por duplicado. Asimismo se ponen en tubos de reacción alícuotas de 1 ml de solución de creatinina en sulfúrico 0,093 N de 1 a 40 mg/ml.

A todos los tubos se les añadió 0,4 ml de ácido pícrico saturado y 0,4 ml de sosa 0,75 N, se mezcló bien y la absorción se lee

en 520 nm a los 16 minutos, pues el cromógeno es estable durante muy poco tiempo.

La representación absorbancia-concentración de inulina es lineal entre 0 y 30 mg/ml, con un coeficiente de correlación de $0,993 \pm 0,002$ (media \pm e.e.m., 10 determinaciones; 8 puntos por determinación). El coeficiente de variación intraensayo fue del 2,5% para muestras de 15 mg/ml y 25 mg/ml y el coeficiente de variación interensayo, osciló entre 2,5 y 3,3% para muestras que oscilaban entre 5 y 30 mg/ml (10 determinaciones por muestra).

8.8 DETERMINACIÓN DEL CONTENIDO RENAL DE RENINA

8.8.a Fundamentos

La renina ha sido determinada mediante la capacidad que tiene de generar angiotensina I (A I) en presencia de una cantidad adecuada de sustrato y en un medio de incubación idóneo.

Hasta la actualidad no ha sido posible aislar la renina como una proteína lo suficientemente purificada como para permitir la determinación directa de su concentración plasmática por métodos químicos o inmunoquímicos; por ello, es por lo que se valora la renina indirectamente mediante la cuantificación de sus efectos enzimáticos. Bajo determinadas circunstancias, el grado de generación de AI y AII depende básicamente de la concentración plasmática de renina. Desde la introducción del radioinmunoensayo (RIA) por Berson y Yallow (17), diferentes grupos han trabajado para obtener un método de RIA eficaz

para poder determinar la concentración de AI y AII, lo cual permite deducir la de renina.

Uno de los primeros problemas fue el de la obtención de anti sueros específicos anti AI y AII, ya que ambos, por ser péptidos pequeños, tienen escasa capacidad antigénica. Lo que se hace es unirles a moléculas mayores, que al comportarse como haptenos producen buenas tasas de anticuerpos específicos en el animal inmunizado. La concentración de renina puede determinarse valorando la generación de AI ó AII. Esta segunda posibilidad presenta muchos inconvenientes. En efecto, la generación de AII durante la incubación depende de 2 enzimas: la renina y la enzima de conversión, siendo necesaria que esta última esté en exceso, lo cual no ocurre habitualmente debido a que las sustancias necesarias para inhibir las angiotensinas (que en otro caso destruirían el producto formado) inhibe a la vez la enzima de conversión (148, 181) impidiéndola actuar apropiadamente en el paso AI → AII.

El método utilizado es una modificación del puesto a punto en nuestro laboratorio por Casado y col. (29), el cual a su vez deriva del publicado por Haber y col (60).

B.8.b Materiales utilizados

- Ile-5-angiotensina I para estandar y trazador. (Cee, Sorin, Francia).
- Ile-5-angiotensina I marcada con ¹²⁵I según el método de la oxidación con cloramina T de Hunter y Greenwood (76).
- Antisuero anti Ile-5-angiotensina Im obtenida por inmunización en conejos según técnicas tradicionales. La antigeni-

dad de la Ile-5-AII se aumenta por unión a seroalbúmina de conejo.

El antisuero se utiliza a una dilución 1 : 280000.

- Etilendiaminotetracetato disódico (Merck)
- Sulfato de 8-hidroxiquinoleína (Merck)
- 2-3-dimercaptopropranol (Merck)
- Tampón Tris, pH: 7,4; 0,025 M con lisamina 0,25%
- Carbón dextrano (Difco).

B.8.c Procedimiento

El fragmento de tejido a valorar (riñón de rata) se mantiene congelado a -40°C hasta el momento de hacer la medida. Entonces se descongela a 4°C y se vuelve a congelar 2 ó 3 veces para romper las células. Luego se fracciona en pequeños pedazos con un bisturí y se homogeniza en solución salina muy fría (ClNa 0,9%, 5 ml/g de tejido) en un homogeneizador de Potter sumergido en hielo. Una alícuota del homogeneizado se separa para determinar el contenido en proteínas y el resto se centrifuga a 3000 r.p.m. durante 30 minutos a 4°C en una centrífuga Christ dotada de mecanismo de refrigeración. El sobrenadante se separa y se diluye adecuadamente según el rango de lectura del método y la concentración de renina de la muestra. Usualmente se diluye entre 1:8000 y 1:16000. 0,1 ml de dilución se coloca por duplicado en tubos de RIA que contenían 0,24 ml de plasma de ratas nefrectomizadas 48 horas antes (rico en angiotensinógeno, pero sin renina) y se añade 0,9 ml de tampón Tris, pH: 7,4; 0,025 M que contenían los inhibidores enzimáticos: sulfato de 8-hidroxiquinoleína 0,34 M, 2 ml/100 ml de tampón y 2-3 dimercaptopropranolol 0,6 mg/100 ml del tampón. De estas soluciones se hacen dos alícuotas de 0,5 ml, una de las cua

les se incubaba a 4°C (no generación de AI) y otra a 37°C. Posteriormente, y en tubos de radioinmunoanálisis se pone por este orden:

- Tampón Tris, pH: 4,7; 0,8 ml
- ¹²⁵I-AI, 0,05 ml
- Solución estandar de AI de concentraciones 0,5, 1, 2, 4, y 8 mg/ml: 0,8 ml ó solución problema incubada a 4°C 0,05 ml. ó solución problema incubada a 37°C 0,05 ml.
- antisuero anti AI, diluído 1:280000, 0,05 ml.

4 tubos se utilizan para medir actividad total y en ellos se pone 0,9 ml del tampón, 0,05 ml de ¹²⁵I AI y 0,05 ml de antisuero. El resto de los tubos de la curva estandar y los problemas se ponen por triplicado.

Tras agitar, la mezcla se deja 24 horas a 4°C. Después se procede a separar la fracción ligada al anticuerpo de la fracción libre mediante la adición de 0,5 ml de carbón activado dextrano a todos los tubos excepto a los que se utilizan para medir actividad total. Se agitan y se centrifugan 10 minutos a 3000 rpm y a 4°C. Se decanta el sobrenadante y se cuenta su actividad gamma en el canal adecuado de un contador de radiación gamma.

Se cuentan también 5 tubos conteniendo agua destilada para medir la actividad de fondo del aparato.

Todo el procedimiento se realiza a 4°C (excepto la incubación) y el material es siempre de plástico y de un sólo uso.

Al contaje de cada tubo se le resta el valor de los blancos y la media del triplicado se calcula como porcentaje de la actividad total (media de los 4 tubos que no recibían carbón activado). Con los diversos estándares representando el porcentaje de unión frente a la

concentración del estandar se hace la curva estandar.

En el punto 0 de la curva estandar el anticuerpo liga entre un 37 y un 52% de la actividad total, con una media de 46,6 y una desviación estandar de 4,6 para 12 curvas.

La concentración de AI en las muestras se calculó interpolando en la receta estandar. La concentración de AI generada se calcula restando el valor de la muestra incubada a 4^o (no hay generación) del de la muestra incubada a 37^oC. La concentración de renina se expresa en ng de AI generado por ml de homogeneidad y hora de incubación, tras los cálculos adecuados de acuerdo con las diluciones efectuadas.

Para obviar las diferencias de peso del riñón debido a presencia de edema intersticial, la concentración de renina se ha expresado por cantidad de proteína. Por ello, y como se ha mencionado antes, se determina la concentración de proteínas de una alícuota del homogeneizado por medio del método de Lowry.

Así, la concentración de renina se expresa en ng de AI generada por hora de incubación y ug de proteína.

8.8.d Comprobación del método

Aunque este método ha sido repetidamente empleado en nuestro laboratorio (90, 91) se han hecho una pequeña serie de pruebas de validación:

a) Especificidad del antisuero. La especificidad del antisuero se pone de manifiesto en la Figura 8.8.1 en la que se muestra una ausencia de reacción cruzada con la AII.

b) Reproducibilidad de la curva estandar. La Figura 8.8.2 es

FIGURA B.8.1

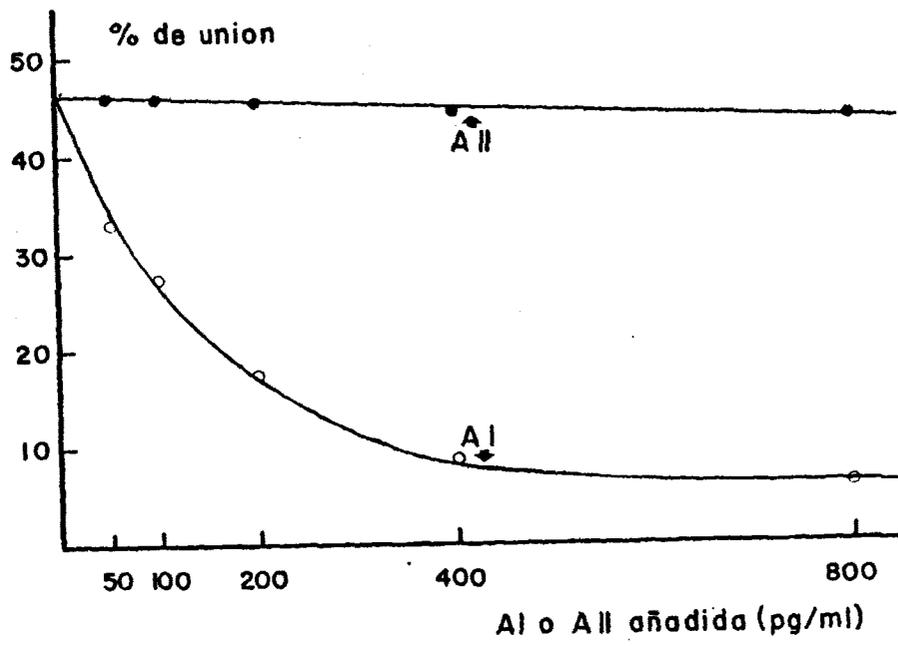
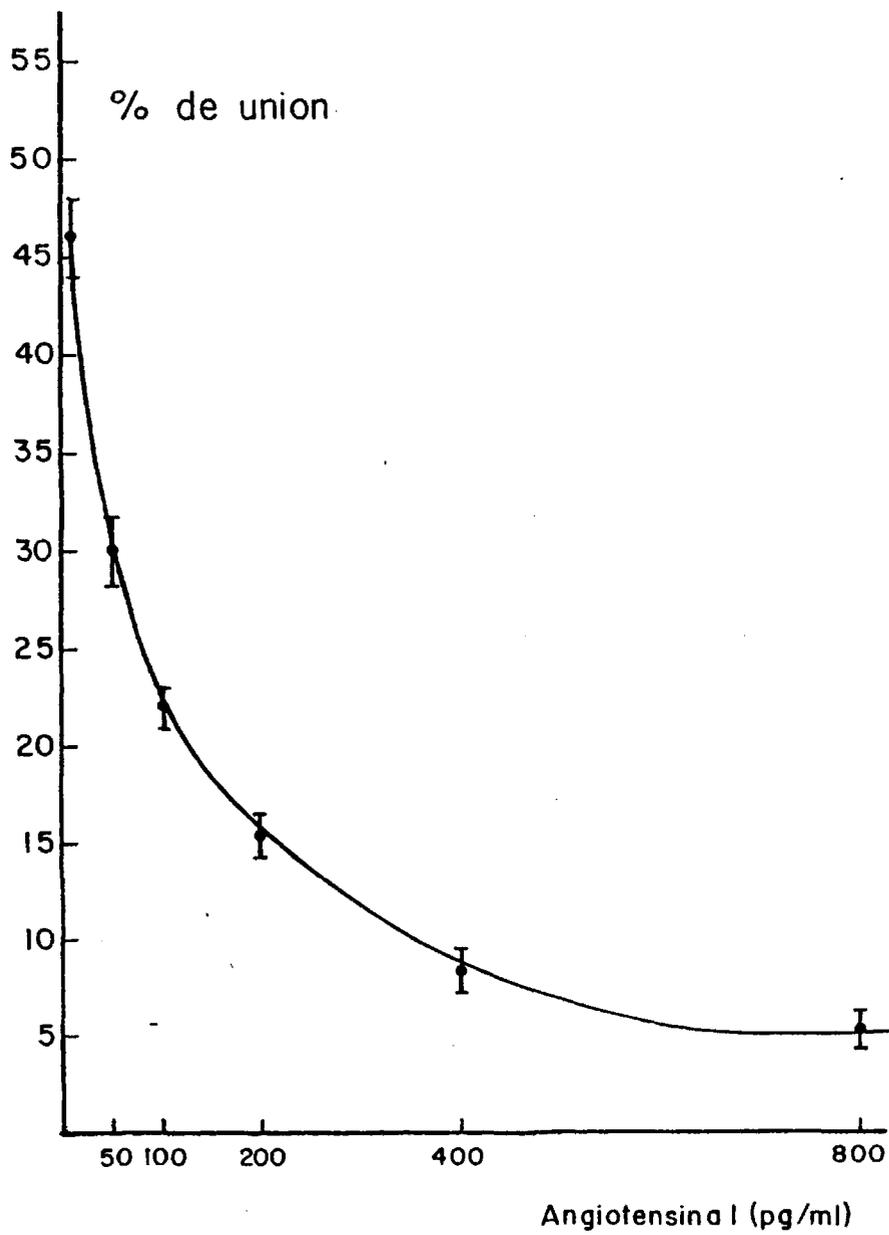


FIGURA B.8.2



tá obtenida con la media \pm e.e.m. de 12 curvas estandar distintas. El coeficiente de variación interensayo es de un 6% (12 determinaciones), y el coeficiente de variación interensayo es de un 9% (6 - determinaciones).

c) Recuperabilidad.- A 0,1 ml de dilución de angiotensina II conteniendo cantidades variables se han añadido a 0,25 ml de plasma de rata nefrectomizada al menos 48 horas antes; las cantidades añadidas fueron 4000, 2000, 1000 y 500 pg/ml, y las muestras se procesaron como si de problemas se tratara. El resultado de la experiencia se muestra en la tabla

TABLA

Recuperación de AI añadida a plasma de rata nefrectomizada

<u>AI añadida</u>	<u>AI medida</u>	<u>Recuperación</u>
pg	pg	
0	0	
500	490	98%
1000	900	90%
2000	1650	82%
4000	3450	86%

8.9 OTRAS DETERMINACIONES

Las concentraciones de sodio, potasio y cloro en plasma y orina han sido medidas mediante un sistema automático que utiliza electrodos selectivos (Stat-Ion, Technicon Co., New York, U.S.A.).

Alternativamente el sodio y el potasio se midieron por espectrofotometría de emisión de llama (IL 143; Instrumentation Laboratory, Boston, U.S.A) y el cloro mediante un clorhidrómetro (Butchler Cotlove; Butchler Inst, Fort Lee, U.S.A).

El CO_3H^- se midió por microgasometría (Natelson Microgasometer, Scientific Industries, Springfield, U.S.A). La osmolaridad del plasma o de la orina se midió mediante el descenso del punto crioscópico en un osmómetro Fiske (Fiske Associates, Massachusetts, U.S.A). El volumen hematocrito sanguíneo se ha determinado mediante toma de una muestra de sangre de 60 μl en un capilar heparinizado de 75 μl de capacidad. Tras cerrarlo por un lado con plastilina se centrifuga durante 2 minutos a 20000 g en una microcentrífuga (Heraeus Christ GMBH Osterode, Alemania) y se lee directamente en un lector circular de microhematocrito (International Equipment Co., Needham Heights, Massachusetts U.S.A). La urea se determina mediante un método enzimático (ureasa) en un Autoanalizador automático (Technicon).

B.10 MÉTODOS ESTADÍSTICOS

La homogeneidad de los grupos de datos resultantes de las experiencias se ha analizado mediante análisis de varianzas siempre que el número de grupos a estudiar sea superior a dos (88).

Al haber diseñado las experiencias para que los grupos a comparar tuvieran el mismo número de datos, tras el análisis de varianza podemos analizar la significación de las diferencias entre las medias de los distintos grupos por el método de Duncan (46), que perm

te un alto grado de automatización de los cálculos utilizando los medios técnicos a nuestro alcance que son:

Calculadora Programable "Olivetti 101 Programma" con tarjetas magnéticas.

Calculadora Programable Hewlett-Packard 9815A, con cintas magnéticas compactas (cassettes).

En el caso de grupos múltiples con distinto número de datos en cada grupo se ha utilizado, tras el análisis de varianza, el test de Knewman-Keuls (88).

Cuando solamente había que comparar dos grupos se ha utilizado el test "t" de Student, emparejado o no emparejado, dependiendo del problema a estudiar, con la oportuna corrección de los grados de libertad del coeficiente de ensayo en el caso de la inhomogeneidad de varianzas (159).

Las rectas de regresión y el cálculo de coeficientes de correlación se ha llevado a cabo mediante un programa Olivetti 101, utilizando la técnica de los mínimos cuadrados.

A menos que se mencione expresamente otra cosa, los datos se expresarán siempre como media (\bar{x}) \pm error estandar de la media (e.e. m.)

C EXPERIENCIAS Y RESULTADOS

C.1 VALORACION SECUENCIAL DEL FILTRADO GLOMERULAR Y DEL FLUJO PLASMATICO RENAL DESPUES DE LA UNINEFRECTOMIA.

Esta experiencia se ha llevado a cabo en 32 animales. Ocho ratas se han preparado para aclaramiento según se ha descrito en el apartado B.1.b. Además se ha realizado una incisión en la parte superior del abdomen, pasándose un lazo alrededor del pedículo renal derecho, dejándolo abierto. Tras un período de equilibrio de 60 minutos se han realizado dos períodos basales de aclaramiento de inulina y PAH de 30 minutos de duración cada uno, y su media se tomó como valor basal. Entonces se ligó el pedículo renal y se realizaron 5 períodos de aclaramiento de 1 hora cada uno. Las 24 ratas restantes fueron uninefrectomizadas (riñón derecho) como se ha descrito en el apartado B.6. 24, 48 y 72 horas después de la uninefrectomía, los animales se prepararon, en grupos de 8, para aclaramiento, estudiándose dos períodos de una hora, dando como valor del mismo la media de los dos períodos.

En cada período se calculó C_{in} , C_{PAH} , E_{Na} , E_K , E_{Cl} , FF y V_o . Los resultados se presentan en las Figuras C.1.1, C.1.2 y C.1.3. De ellas puede deducirse que, en las cuatro horas siguientes a la eliminación de la función de uno de los riñones, no se produce ningún aumento observable del FPR ni del FPR en el riñón contralateral. A las 24 horas se observa ya un ligero aumento de ambos parámetros, pero que no es estadísticamente significativo respecto a los valores basales. A las 48 horas los aumentos son ya de un 10% en el FG y de un 36% en el FPR. A las 72 horas el FG aumenta en otro 10% mientras que el FPR

FIGURA C.II

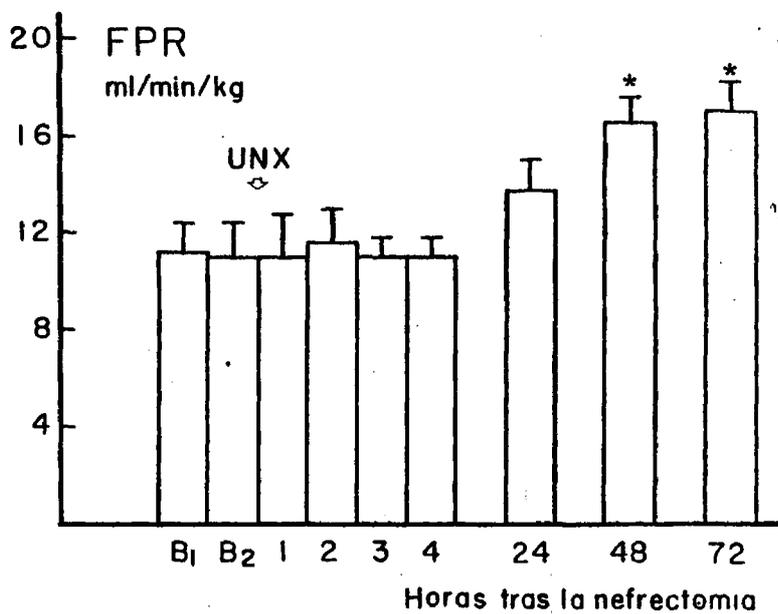
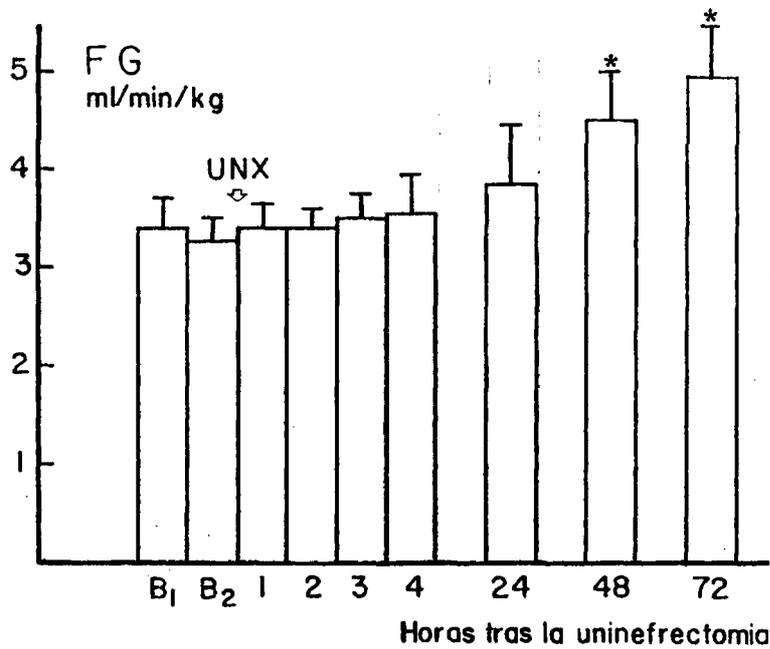
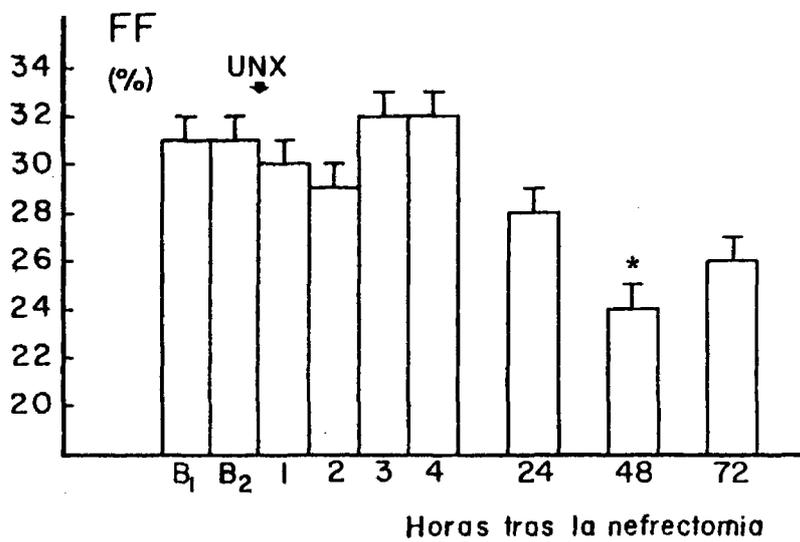
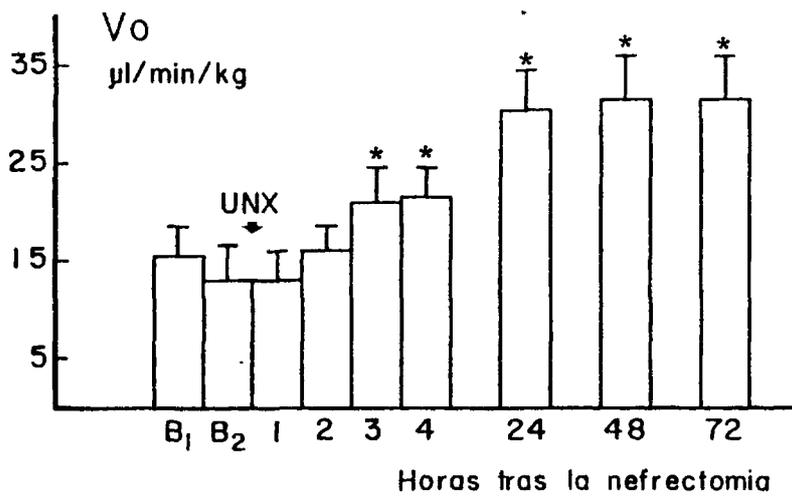


FIGURA C.1.2



prácticamente no aumenta.

Es a las 48 horas cuando se observa un aumento máximo del FPR, sobre todo en relación con el FG, alcanzando la fracción de filtración un valor del 81% del basal. Ha sido este hecho el que nos ha hecho elegir las 48 horas después de la nefrectomía como el momento - adecuado para poder estudiar las interacciones entre las alteraciones hemodinámicas del FRA y la uninefrectomía.

Es de interés el hacer notar que, solamente 4 horas después de la uninefrectomía, el volumen urinario ha alcanzado ya un aumento del 62% respecto al valor basal. Las excreciones de Na, K, y Cl sufren alteraciones similares.

C.2 FRACASO RENAL AGUDO EN MASA RENAL REDUCIDA

Para esta experiencia se han utilizado 33 ratas. Veintidós de ellas fueron sometidas a nefrectomía unilateral y en las otras 11 (Grupo 2.C) se realizó una operación simulada. Cuarenta y ocho horas más tarde se indujo el fracaso renal agudo en 11 de los animales uninefrectomizados (Grupo 2.A) y en el grupo de ratas pseudooperadas. El FRA se indujo mediante la inyección intramuscular, en ambas patas traseras, de una solución de glicerina 50% en agua destilada, y a una dosis de 10 ml/kg de peso. En el grupo 2.B la inyección de glicerina se substituyó por una inyección similar de glucosa isotónica.

Una vez inducido el FRA, las ratas se pusieron en cajas metabólicas individuales durante 2 días, realizando aclaramientos de creatinina de 24 horas de duración según se ha descrito en el apartado

B.1.a. Diariamente las ratas se pesaron, se midió su consumo de agua y comida y se recogió la orina, libre de heces y comida, en probetas que contenían parafina líquida.

Cuarenta y ocho horas después de la inducción del FRA, los animales se anestesiaron ligeramente con éter, se hizo una amplia laparotomía a través de la línea media, se pinzaron los pedículos renales con pinzas del tipo Bull-dog y se obtuvo una muestra de sangre por punción aórtica. Los riñones se extrajeron y se pesaron en una balanza electrónica con una precisión del miligramo.

En la orina recogida diariamente se midió su volumen, osmolaridad y concentración de Na, K, Cl y creatinina. Asimismo se midió en la sangre el volumen hematocrito, y las concentraciones plasmáticas de Na, K, Cl, urea y creatinina, así como la osmolaridad.

Los resultados de estas experiencias se expresan en las tablas C.2.1 a C.2.8.

En las tablas C.2.1, C.2.2., C.2.3., C.2.4., y C.2.5. se observa que los grupos utilizados son homogéneos y comparables en estado basal en cuanto a peso de los animales, volumen urinario y excreción de Na, K y Cl.

Después de la nefrectomía, la diuresis y la excreción de Na, K y Cl se mantienen iguales en los animales uninefrectomizados y pseudooperados. Sin embargo, en los primeros, la excreción se produce con un sólo riñón, por lo que el volumen urinario y la excreción de Na, K y Cl por riñón son del orden del doble de los que muestran los animales pseudooperados.

Tras la inducción del FRA, la diuresis es superior significativamente en el grupo de los animales uninefrectomizados (Tabla C.2.2)

TABLA C.2.1.

Fracaso renal agudo en masa renal reducida
Variación del peso en los animales durante las experiencias (g)

		Período Días	Estabilización	1	M.R.R.	2	F.R.A.
		Peso	1,2,3,4		5,6		7,8
Grupo 2.A.	\bar{x}	221.3	- 2.7		- 1.7		- 2.3
	EEM	4.8	1.0		0.8		0.8
Grupo 2.B.	\bar{x}	209.0	- 4.5		- 1.2		+ 0.5
	EEM	6.0	1.1		0.6		0.3
	p	NS	NS		NS		< 0.05
Grupo 2.C.	\bar{x}	210.9	- 2.5		+ 0.3		- 3.0
	EEM	7.0	1.0		0.6		1.1
	p	NS	NS		< 0.05		NS
	p'	NS	NS		< 0.05		< 0.05

Tratamiento de cada grupo : 2.A : uninefrectomía y glicerina; 2.B: Uninefrectomía y glucosa; 2.C: No nefrectomía y glicerina.

1: uninefrectomía y operación simulada

2: Inyección de glicerina (FRA) o glucosa (control)

Los resultados se expresan como % de variación respecto al peso basal

p respecto al grupo 2.A. p' respecto al grupo 2.B.

Cada grupo está compuesto por 11 animales.

TABLA C.2.2.

Volumen urinario durante las experiencias (ml/24 h)

	Días	3	4	1 5	6	2 7	8
Grupo 2.A.	\bar{x}	7.7	8.1	7.1	10.8	13.5	19.6
	EEM	1.3	1.2	1.0	0.7	1.9	2.1
Grupo 2.B.	\bar{x}	6.7	7.8	7.1	9.7	7.7	10.1
	EEM	0.9	1.8	0.6	1.4	0.7	1.7
	p	NS	NS	NS	NS	NS	< 0.05
Grupo 2.C.	\bar{x}	6.9	6.6	4.8	9.8	4.9	9.6
	EEM	0.7	1.0	0.5	1.7	1.7	1.7
	p	NS	NS	< 0.05	NS	< 0.05	< 0.05
	p'	NS	NS	< 0.05	NS	NS	NS

Tratamiento de cada grupo : 2.A: uninefrectomía y glicerina; 2.B. : uninefrectomía y glucosa;
2.C: no nefrectomía y glicerina.

1. uninefrectomía u operación simulada.

2. inyección de glicerina (FRA) o glucosa (control)

p respecto al grupo 2.A. p' respecto al grupo 2.B.

Cada grupo está compuesto por 11 animales.

TABLA C.2.3.

Excreción de sodio durante la experiencia ($\mu\text{Eq}/24\text{ h}$)

Días	3	4	5	6	7	8
Grupo 2.A. \bar{x}	528	541	327	446	328	514
EEM	58	46	50	77	49	62
Grupo 2.B. \bar{x}	412	470	299	590	303	665
EEM	34	44	47	76	60	38
p	NS	NS	NS	NS	NS	NS
Grupo 2.C. \bar{x}	460	507	290	514	151	525
EEM	53	28	53	71	50	84
p	NS	NS	NS	NS	NS	NS
p'	NS	NS	NS	NS	< 0.05	NS

Tratamiento de cada grupo: 2.A. uninefrectomía y glicerina; 2.B: uninefrectomía y glucosa;

2.C. no nefrectomía y glicerina

1: uninefrectomía y operación simulada 2: inyección de glicerina (FRA) o glucosa (control)

Los resultados se expresan como porcentaje de variación respecto al peso basal.

p respecto al grupo A.A. p' respecto al grupo 2.B.

Cada grupo está compuesto de 11 animales.

TABLA C.2.4.

Excreción diaria de potasio ($\mu\text{Eq}/24 \text{ h}$)

		3	4	1	5	6	2	7	8
Grupo 2.A.	\bar{x}	1327	1331	1024	1480			1114	1293
	EEM	124	88	105	107			117	80
Grupo 2.B.	\bar{x}	1281	1254	1111	1273			1148	1523
	EEM	98	94	109	86			92	104
	p	NS	NS	NS	NS			NS	NS
Grupo 2.C.	\bar{x}	1287	1214	1005	1240			296	100
	EEM	66	82	96	154			108	100
	p	NS	NS	NS	NS			$p < 0.0025$	$p < 0.01$
	p'	NS	NS	NS	NS			$p < 0.0025$	$p < 0.005$

Tratamiento de cada grupo: 2.A: uninefrectomía y glicerina; 2.B: uninefrectomía y glucosa; 2.C: no nefrectomía y glicerina.

1: uninefrectomía y operación simulada.

2: inyección de glicerina (FRA) o glucosa (control)

Los resultados se expresan como porcentaje de variación respecto al peso basal

p respecto al grupo 2 A p' respecto al grupo 2.B.

Cada grupo está compuesto por 11 animales.

TABLA C.2.5.

Excreción diaria del cloro (μ Eq/24 h)

		4	1	5	6	2	7	8
Grupo 2A	\bar{x}	721		598	565		230	561
	EEM	44		41	56		58	73
Grupo 2B	\bar{x}	675		555	605		571	650
	EEM	57		55	43		45	55
	p	NS		NS	NS		< 0.05	NS
Grupo 2C	\bar{x}	680		503	605		165	470
	EEM	49		63	65		35	66
	p	NS		NS	NS		NS	NS
	p'	NS		NS	NS		< 0.01	NS

Tratamiento de cada grupo: 2.A: uninefrectomía y glicerina; 2.B.: uninefrectomía y glucosa; 2.C.: no nefrectomía y glicerina.

1. Uninefrectomía u operación simulada.

2. Inyección de glicerina (FRA) o glucosa (control).

Los resultados se expresan como porcentaje de variación respecto al peso basal.

p respecto al grupo 2.A. p' respecto al grupo 2.B.

Cada grupo está compuesto por 11 animales.

785

TABLA C.2.6.

Eliminación osmolar diaria a lo largo de las experiencias

		Osmolaridad urinaria (mOsm/KgH ₂ O)				Excreción osmolar (mOsm/24 h)			
		6	2	7	8	6	2	7	8
Grupo 2.A.	\bar{x} .	1198		478	694	12.93		6.45	13.60
	EEM	211		60	94	1.49		1.11	1.97
Grupo 2.B.	\bar{x}	1260		1472	1493	12.22		11.33	15.07
	EEM	158		154	119	0.94		1.07	2.02
	p	NS		< 0.005	< 0.005	NS		< 0.001	NS
Grupo 2.C.	\bar{x}	1066		78	619	10.44		1.85	6.63
	EEM	171		42	57	0.91		0.07	0.10
	p	NS		NS	NS	NS		< 0.0005	< 0.001
	p'	NS		< 0.005	< 0.005	NS		< 0.0005	< 0.005

Tratamiento de cada grupo: 2.A. uninefrectomía y glicerina; 2.B. uninefrectomía y glucosa; 2.C. no nefrectomía y glicerina.

1: uninefrectomía u operación simulada.

2: inyección de glicerina (FRA) o glucosa (control).

Los resultados se expresan como porcentaje de variación respecto al peso basal.

p respecto al grupo 2.A. p' respecto al grupo 2.B.

Cada grupo está compuesto por 11 animales.

TABLA C.2.7.
Determinaciones en sangre 48 horas después de la inducción del Fracaso Renal Agudo

		Hcto	Na	K	Cl	Creatinina	Urea	Osmolaridad	Ccr
		%	mEq/l	mEq/l	mEq/l	mg/100ml	mg/100 ml	mOsm/Kg	ml/min/Kg p.c.
Grupo 2A	\bar{x} .	34.6	135.9	3.43	106.3	1.99	183.8	316.9	0.87
	EEM	0.5	2.1	0.10	1.7	0.23	24.7	3.4	0.12
Grupo 2B	\bar{x}	39.5	138.2	3.85	106.3	0.50	51.5	283.8	3.60
	EEM	0.3	0.8	0.12	0.8	0.03	2.9	2.6	0.36
	p	< 0.0005	NS	< 0.005	NS	< 0.0005	< 0.0005	< 0.0005	< 0.0005
Grupo 2C	\bar{x}	31.2	136.2	4.50	101.6	3.62	364.3	364.2	0.31
	EEM	0.8	2.0	0.43	3.5	0.27	31.7	3.5	0.11
	p	< 0.001	NS	< 0.005	NS	< 0.0005	< 0.0005	< 0.0005	< 0.005
	p'	< 0.0005	NS	< NS	NS	< 0.0005	< 0.0005	< 0.0005	< 0.0005

Tratamiento de cada grupo como en la tabla anterior.

Los resultados se expresan como porcentaje de variación respecto al peso basal.

p respecto al grupo 2A; p' respecto al grupo 2B.

Cada grupo está compuesto por 11 animales.

TABLA C.2.8.

Peso de los riñones en los diferentes grupos (g/Kg de peso corporal)

		Riñón derecho	Riñón izquierdo	p''
Grupo 2.A.	\bar{x}	3.08	5.03	< 0.0005
	EEM	0.09	0.19	
Grupo 2.B.	\bar{x}	3.10	3.82	< 0.05
	EEM	0.08	0.16	
	p	NS	NS	
Grupo 2.C.	\bar{x}	4.67	4.41	NS
	EEM	0.14	0.18	
	p	< 0.01	< 0.05	
	p'	< 0.01	< 0.05	

Riñón extraído por nefrectomía 48 horas antes de provocar el fracaso.

Riñón extraído 48 horas después de provocar el FRA.

p respecto al grupo 2A; p' respecto al grupo 2B

p'' respecto al riñón derecho.

También es superior la excreción de Na y Cl en las 24 horas primeras después del FRA (C.2.3 y C.2.5), y la excreción de potasio tanto a las 24 horas como a las 48 horas (Tabla C.2.4). También la excreción osmolar es superior en los animales uninefrectomizados (Tabla C.2.6).

A las 48 horas de la inducción del FRA, los animales uninefrectomizados presentan un hematocrito significativamente mayor que los uninefrectomizados, pero menor que los uninefrectomizados sin FRA. Asimismo presentan un menor contenido de potasio plasmático. Las concentraciones plasmáticas de creatinina fueron de alrededor de un 50% en los animales uninefrectomizados respecto a los pseudooperados, aunque casi cuatro veces las de los animales sin FRA. Algo similar puede decirse de los valores plasmáticos de urea. El aclaramiento de creatinina en el período transcurrido entre las 24 y las 48 horas después del FRA es alrededor de un 160% mayor en los animales uninefrectomizados que en los controles, aunque sólo es de un 25% del C_{Cr} medido en el mismo período de tiempo en los animales uninefrectomizados sin FRA (Tabla C.2.7.).

Es interesante también hacer notar el importante aumento de peso de los riñones con FRA.

Como hemos hecho notar más arriba, la eliminación de agua y electrolitos por el animal uninefrectomizado era, en el momento de llevar a cabo la inducción del FRA, similar a la de los animales con troles, y como está probado que los animales de la edad y peso de los utilizados en la experiencia (2 meses y alrededor de 200 g) la nefrectomía unilateral no induce un aumento del número de nefronas (19, 81, 82, 106, 109) es evidente que existe un aumento de la excreción de agua y sal por nefrona. Es por ello, y para tratar de probar

si era este hecho la causa de la protección encontrada, por lo que se ha realizado la experiencia siguiente.

C.3 SOBRECARGA HIDROSALINA EN LOS ANIMALES PSEUDOOPERADOS

Para tratar de obviar el aumento de la diuresis y de la excreción de NaCl después de la nefrectomía unilateral, se ha inducido en un grupo de ratas pseudooperadas (Grupo 3.A) una diuresis y natriuresis similar a las de las uninefrectomizadas, mediante la administración oral de agua y NaCl. Dos días después de la operación simulada se les indujo el FRA según se ha descrito para el grupo 2.C. Los resultados obtenidos en estos animales se compararon con los obtenidos en otras 13 ratas (Grupo 3.b), que se trataron exactamente igual que el Grupo 2.A. Las mediciones realizadas son las mismas que las mencionadas para el apartado C.2., y los resultados se expresan en las Tablas C.3.1., C.3.2. y C.3.3.

En las Tablas C.3.1. y C.3.2 se puede observar que, con la sobrecarga hidrosalina administrada, los animales pseudooperados - presentan una eliminación de agua y electrolitos que es del orden del doble de la que tienen los animales con un solo riñón, pero que, expresadas por riñón, no presentan diferencias significativas. Sin embargo, como demuestra la Tabla C.3.3., el fracaso renal agudo de los animales uninefrectomizados es mucho más leve que el que presentan los pseudooperados, con un aclaramiento de creatinina que duplica al de estos últimos y unos niveles plasmáticos de urea y creatinina significativamente menores.

TABLA C.3.1.

Sobrecarga hidrosalina en ratas controles; Volumen de orina diario (ml/24 h)

	3	4	1	5	6	2	7	8
Grupo 3.A.	\bar{x} 7.8	8.1		7.3	9.0		12.9	18.7
	EEM 1.2	1.3		0.9	1.1		2.6	5.4
Grupo 3.B.	\bar{x} 6.8	6.2		17.0	17.9		6.1	11.8
	EEM 0.7	0.5		2.1	2.1		1.0	2.2
	p NS	NS		< 0.0025	< 0.0025		< 0.01	NS
Grupo 3.B.*	\bar{x} 3.4	3.1		8.5	8.9		3.0	5.4
	EEM 0.7	0.5		1.1	1.0		0.7	1.1
	p < 0.05	< 0.05		NS	NS		< 0.005	< 0.001

Cada uno de los grupos está constituido por 13 animales.

*Los datos para el grupo 3B están aquí expresados como ml/24 h/ratón

Las ratas recibieron a partir del 5.º día 40 ml de agua que contenía 400 µEq de ClNa diariamente.

1 unirefrectomía u operación simulada.

2 inyección de glicerina (FRA) o glucosa (control)

TABLA C.3.2.

Sobrecarga hidrosalina en ratas controles. Excreción diaria de sodio ($\mu\text{Eq} / 24 \text{ h}$)

		4	5	6	7	8
Grupo 3.A.	\bar{x}	411.5	242.2	300.0	241.1	330.4
	EEM	49.9	35.6	52.8	61.4	40.0
Grupo 3.B.	\bar{x}	399.7	467.6	742.1	168.8	526.0
	EEM	44.6	53.3	80.0	42.0	78.2
	p	NS	0.001	0.0005	NS	NS
Grupo 3.B.*	\bar{x}	—	233.8	376.0	84.4	263.0
	EEM	—	26.6	39.9	21.0	39.1
	p		NS	NS	0.01	NS

Cada uno de los grupos está constituido por 13 animales.

*Los datos para el grupo 3B están aquí expresados como ml/24 h/riñón.

Las ratas recibieron a partir del 5.º día 40 ml de agua que contenía 400 μEq de ClNa diariamente.

1 unirefrectomía u operación simulada.

2 inyección de glicerina (FRA) o glucosa (control).

207

TABLA C.3.3.

Determinación en sangre 48 horas después de la inducción de un Fracaso Renal Agudo.

		Hcto %	Na mEq/l	K mEq/l	Cl mEq/l	Creatinina mg/100 ml	Urea mg/100 ml	Ccr mEq/l
Grupo 3.A.	\bar{x}	34.7	137.7	41.6	96.7	2.01	193.2	0.79
	EEM	0.6	2.4	0.28	2.6	0.33	33.6	6.18
Grupo 3.B.	\bar{x}	33.4	141.3	4.64	102.1	3.27	299.5	0.36
	EEM	0.9	2.1	0.38	3.2	0.36	36.4	0.13
	p	NS	NS	NS	< 0.05	< 0.01	< 0.01	< 0.005

El grupo 3.B. ha sido sometido a sobrecarga hidrosalina previa a la inducción del FRA.

C.4 VALORACION SECUENCIAL FUNCIONAL E HISTOLOGICA DEL FRA EN ANI
MALES CONTROLES Y CON MASA RENAL REDUCIDA

C.4.a Procedimiento

Estas experiencias se han llevado a cabo en 80 ratas. De ellas, 40 (Grupo 4.A) fueron sometidas a nefrectomía unilateral y las restantes a una operación simulada (Grupo 4.B) según las técnicas descritas en el apartado B.6 de los métodos. Transcurridas 48 horas de la operación, a 30 animales de cada grupo se les inyectó glicerina 50%, 10 ml/kg de peso, intramuscular.

Inmediatamente después de haber inyectado la glicerina, 10 ratas de cada grupo se prepararon para estudios de función renal según se ha descrito en el apartado B.1.b. de los métodos, estudiándose el FG (aclaramiento de inulina), flujo plasmático renal (aclaramiento de PAH) y volumen urinario en el período que transcurre entre 2 y 3 horas después de la inyección de glicerina. Exactamente 4 horas después de la inyección de glicerina, se obtuvo una muestra de sangre por punción aórtica para determinación de creatinina (apartado B.7. C) tras haber ligado los pedículos renales. Inmediatamente después los riñones se extirparon, descapsularon y se dividieron en 2 mitades mediante un corte perpendicular al eje que une los polos, pasando por el hilus renal. Una de las dos mitades se pesó y se congeló a -20°C hasta el momento en que se determinó la concentración de creatinina. El otro se puso en un vial conteniendo formol-salino (10%) y se estudió histológicamente tal y como se ha descrito en el apartado B.5.

El mismo proceso se realizó con 10 ratas de cada grupo a las

24 y 48 horas de la inyección, y con las ratas no inyectadas, 48 horas después de la operación.

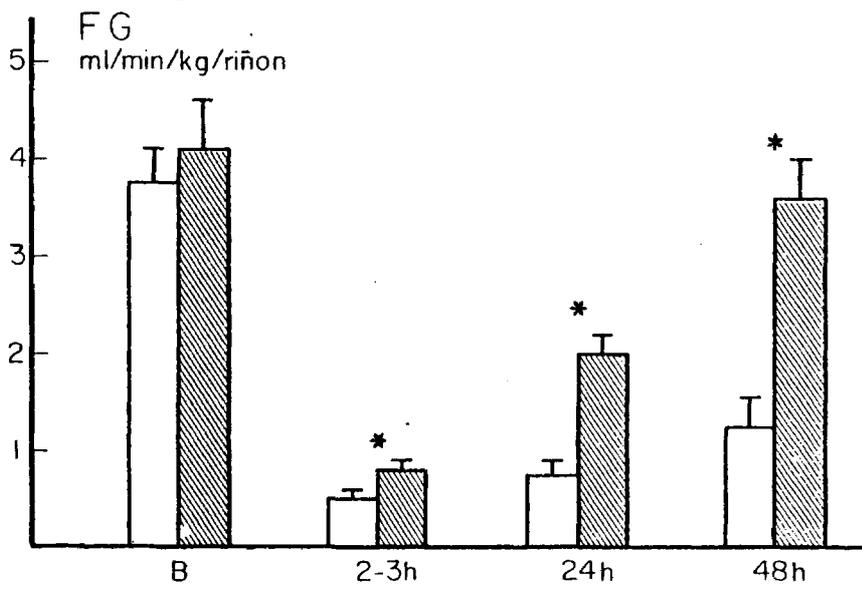
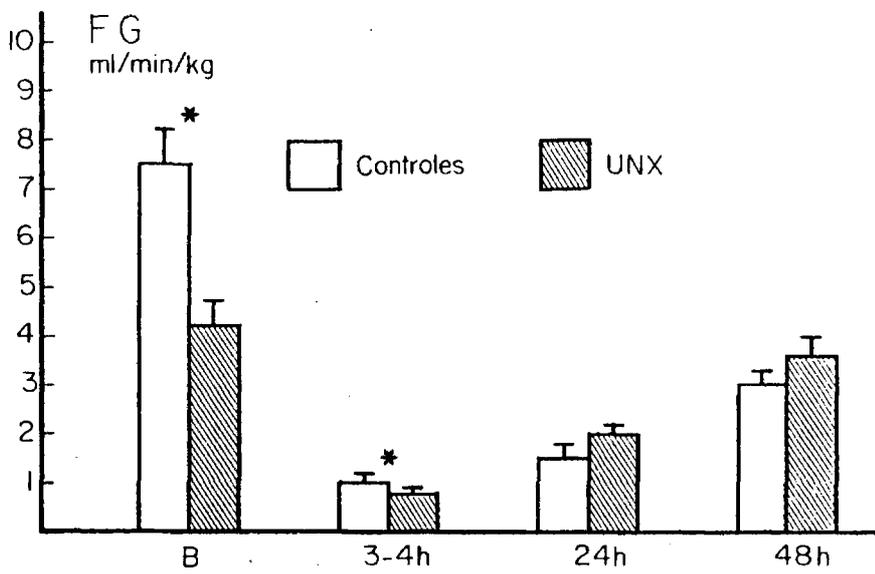
Los resultados de la valoración secuencial de la función renal están representados en las Figuras C.4.1., C.4.2., C.4.3., C.4.4., y C.4.5.

C.4.b Resultados: Evolución funcional

De las Figuras C.4.1., C.4.2., y C.4.4. puede deducirse que los animales con masa renal reducida presentan, en los primeros momentos después de la inyección de glicerina, un FRA del mismo orden que el de los animales con dos riñones, lo que se puede ver por su similar disminución del FG (86,67% para los animales pseudooperados frente a un 80,95% para los animales uninefrectomizados), y del FPR (76,59% frente a 85,02%), y por su mayor concentración plasmática de creatinina. La protección producida por la uninefrectomía empieza a observarse ya a las 24 horas, aumentando el FG respecto a las 2 horas un 150% en los animales uninefrectomizados frente a un 50% en los pseudooperados. Algo similar ocurre con FPR, que aumenta un 246% en los animales UNX y sólo un 37% en los animales del Grupo 4.B. Asimismo, la creatinina plasmática es ya inferior en los animales uninefrectomizados. La protección se evidencia completamente a las 48 horas, momento en el que el FG de los animales UNX (Grupo 4.A) es ya de un 85,71% del valor basal mientras que el del grupo 4.B es sólo de un 40,0%. Alteraciones similares ocurren en el FPR y en la concentración plasmática de creatinina.

Es de destacar que las modificaciones que ocurren en el contenido renal de renina son similares en ambos grupos, a pesar de la di

FIGURA C.4.1



80

FIGURA C.4.2

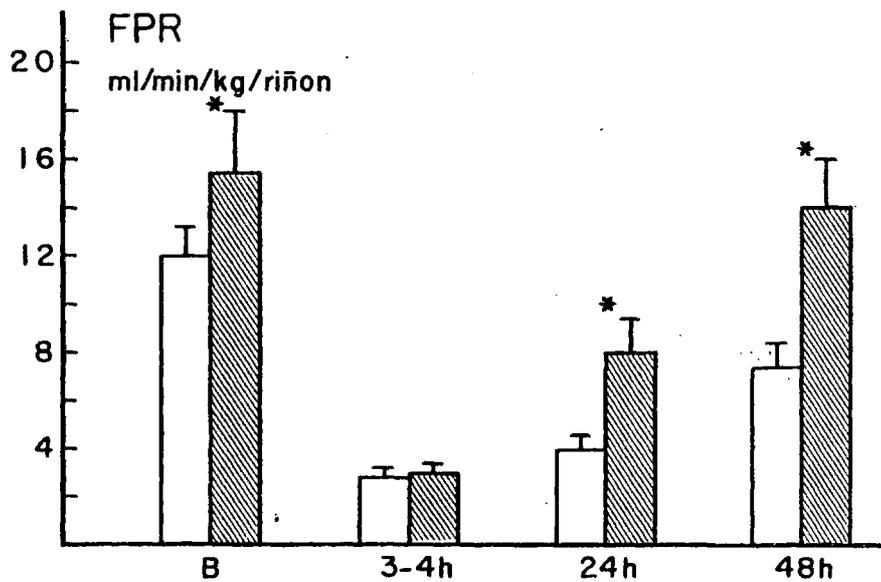
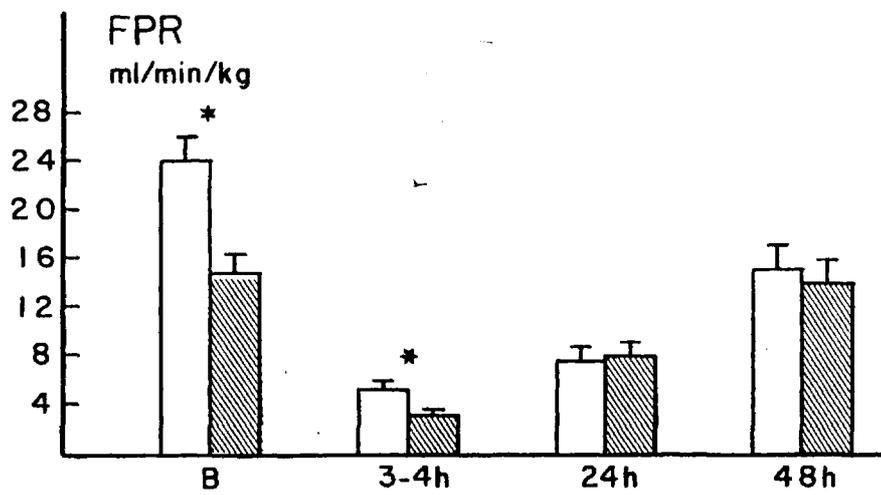
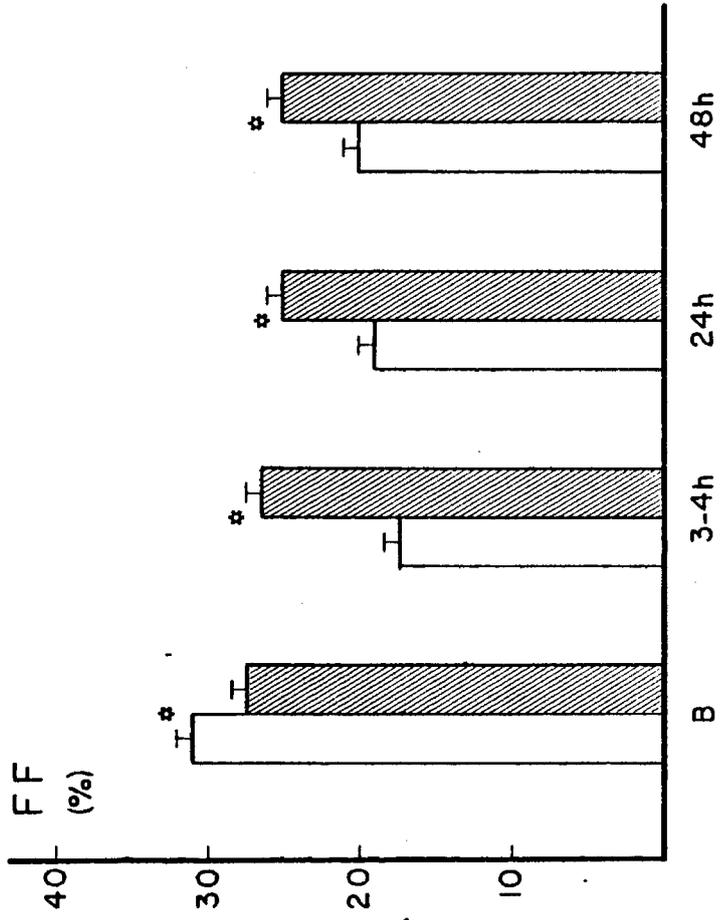


FIGURA C.4.2



824

FIGURA C.4.4.

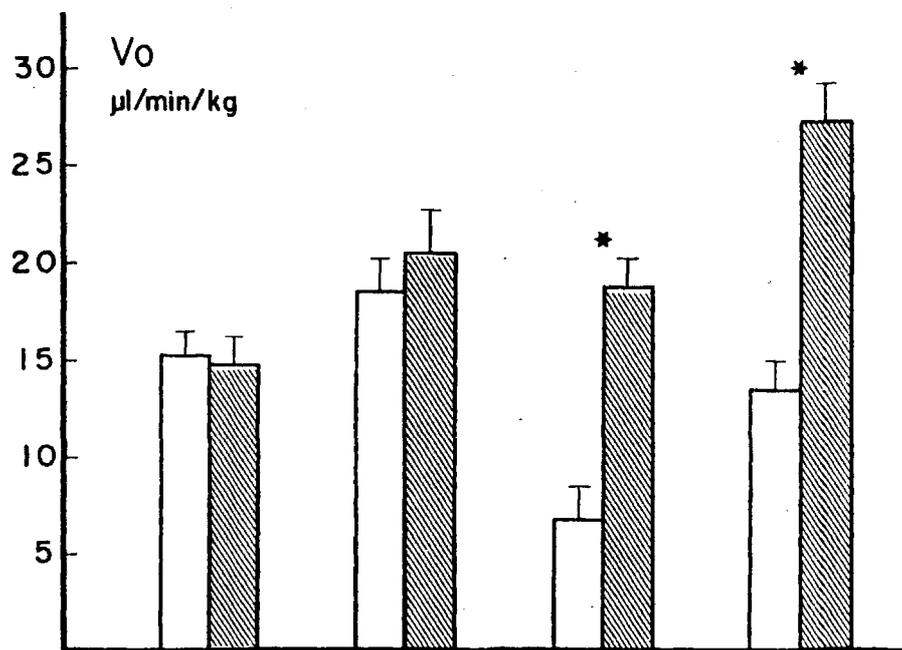
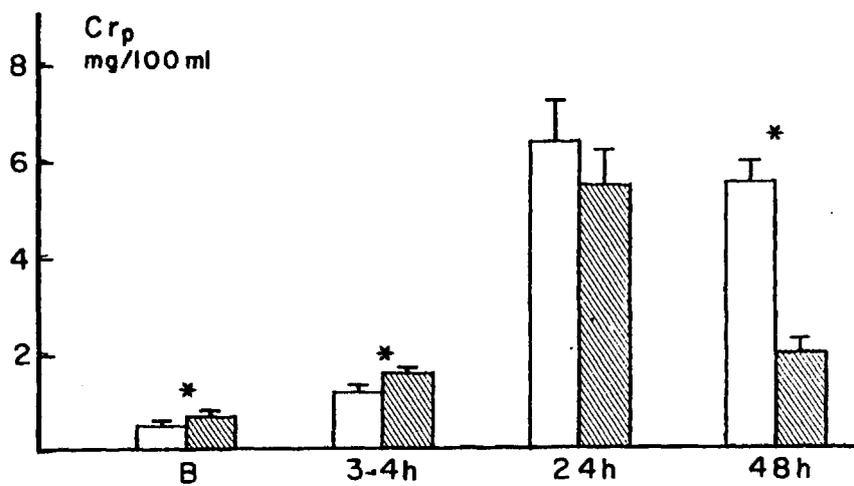
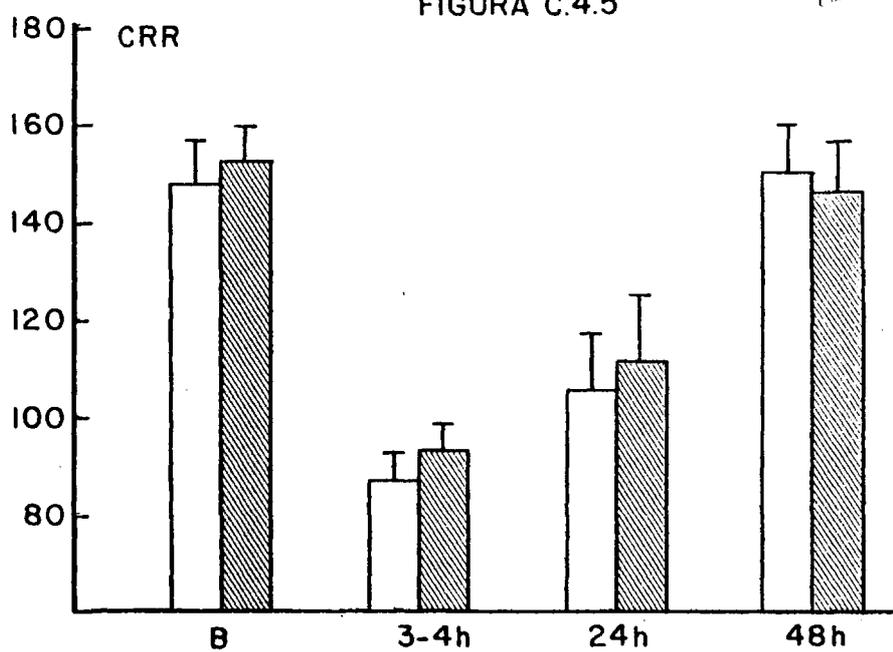


FIGURA C.4.5



ferente gravedad del fracaso, ocurriendo una disminución brusca del CRR en los primeros momentos del FRA y un aumento progresivo de la misma a lo largo de la evolución del FRA.

C.4.c Evaluación histológica del FRA

Los animales controles (pseudoperados), 4 horas después de la inyección de glicerina, presentan una serie de lesiones características como son:

En la zona cortical superficial las células han perdido en un gran porcentaje el borde en cepillo y muchas de ellas tienen su citoplasma abundantemente vacuolizado (Fig. C.4.7; 108 D). Una parte de los túbulos se encuentran llenos de un pigmento que hemos identificado como mioglobina-hemoglobina, en un porcentaje que oscila entre el 20 y el 80%. La lesión tubular cortical superficial varía también entre moderada (+) y relativamente importante (+++). Los túbulos distales se encuentran, en una pequeña proporción (10%), dilatados y con el epitelio tubular eplanado.

En la zona yuxtamedular se pueden ver lesiones similares, aunque de intensidad menos variable (++) y túbulos obstruidos con mio-hemoglobina (mHG) en una proporción que varía entre un 25 y un 85% de los casos, según el animal.

La médula externa se encuentra relativamente bien conservada, (+) observándose sin embargo un cierto grado de vacuolización citoplasmática. La ocupación con mHG de la luz de esos túbulos se observa en un 30% de los casos.

La papila está bien conservada (+); sólo aparece mHG en un 5-10% de las luces tubulares. No se observa edema intersticial en

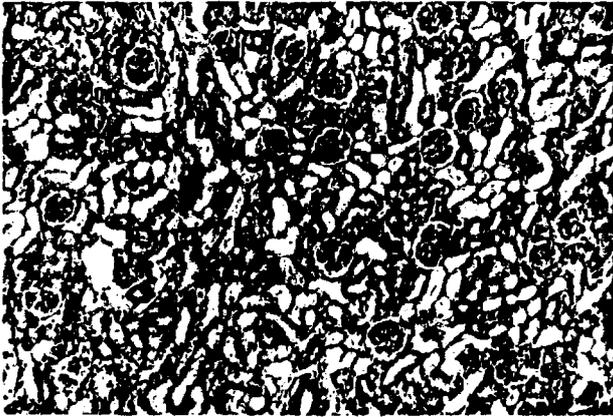


Figura C.4.7.
Corte de riñon de rata normal 4 horas despues de la inyección
de glicerina Hematoxilina-Eosina x 25



Figura C.4.8.
Corte de riñon de rata normal 4 horas despues de la inyección de
glicerina Hematoxilina-Eosina x 25

ningún caso.

A las 24 horas de la inyección de glicerina, la mayor parte de los túbulos superficiales están muy lesionados (++++), y casi todos están obstruidos, en un 80-90%, con desechos celulares, en un 10% con mHG (Fig. C.4.9; 58 D).

La médula presenta una intensidad menos acusada en su lesión (++) aunque esté obstruida la luz tubular en un 90% de los casos, tanto con mHG como con desechos celulares (Fig. C.4.10; 58 C).

La papila está bien conservada (+), presentando ocupada la luz tubular en un 60% de los casos, tanto con mHG como con desechos celulares (Fig. C.4.11; 59 B).

Es de destacar la presencia de edema intersticial de gran importancia, situado preferentemente junto a los vasos, como puede observarse en la Fig. C.4.12 (60 B) alrededor de una arteria arciforme. Existe sin embargo la posibilidad de que esta imagen sea un artefacto, hecho que deberá ser estudiado más cuidadosamente.

A las 48 horas de la inyección de glicerina existe una gran diversidad respecto a la intensidad de la lesión de los túbulos; al menos el 50% están muy dañados (++++) pero coexisten con algunos relativamente bien conservados y que incluso estarían en proceso de regeneración. El mayor daño se observa en los túbulos superficiales, en los que casi el 90% presentan una lesión de grado ++++.

La médula está más conservada, con lesiones que oscilan de + a +++ (mayoritariamente ++) y la obstrucción con mHG no supera el 20% de los túbulos en ningún caso. Ni en la médula ni en la corteza se observan túbulos dilatados. Se mantiene el gran edema intersticial en las proximidades de los vasos en todos los animales.

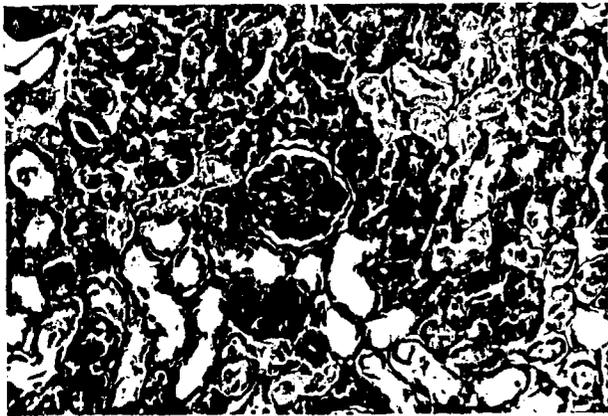


Figura C.4.9.
Corte de riñón de rata normal 24 horas después de la inyección
de glicerina Hematoxilina - Eosina x 250



Figura C.4.10.
Corte de riñón de rata normal 24 horas despues de la inyección
de glicerina Hematoxilina - Eosina x 250

81²

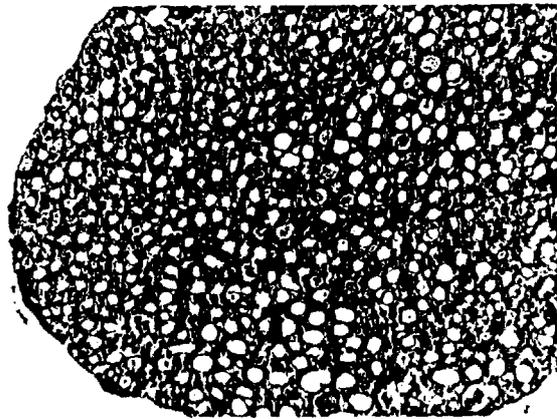


Figura C.4.11.
Corte de riñon de rata normal 24 horas después de la inyección de glicerina. Hematoxilina-Eosina x 25

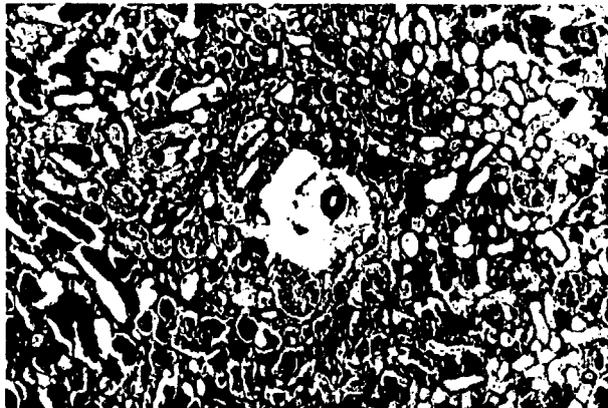


Figura C.4.12.
Corte de riñon de rata normal 24 horas despues de la inyección de glicerina Hematoxilina-Eosina x 25

En la papila contrasta que mientras la mitad de las nefronas están dilatadas, la otra mitad está obstruída (Fig. C.4.13) bien con desechos, bien con pigmentos (Fig. C.4.14). El daño celular es relativamente leve (++).

En los animales uninefrectomizados, en los que se induce el FRA por inyección intramuscular de glicerina, las lesiones cualitativas son similares a las descritas para los animales pseudooperados, y la única diferencia es la intensidad.

A las 4 horas de la inyección de glicerina, entre un 50 y un 90% de los túbulos presentan un buen grado de conservación (+ á ++) aunque hay un 10-20% de ellos cuya luz está ocupada por pigmentos.

La papila está muy bien conservada (+) y las luces ocupadas por pigmentos no superan en ningún caso el 15% de los túbulos.

A diferencia de lo observado en los animales pseudooperados, a las 4 horas se observa ya edema intersticial, preferentemente perivascular, en el 100% de las ratas.

A las 24 horas de la inyección de glicerina en las ratas uninefrectomizadas, la mayor parte de los túbulos presentan unas lesiones de moderadas a fuertes. Hay un 10% de los túbulos dilatados y con el epitelio aplanado, un 40% presentan unas lesiones de tipo intermedio (++-+++) y otro 40% con lesiones más graves (+++-++++). La obstrucción con mHG oscila entre un 5 y un 10% de los túbulos.

En la médula, que está algo menos dañada, se encuentran obstruídas entre un 10 y un 20% de las luces tubulares, de las cuales la mitad lo son por desechos celulares y la otra mitad por pigmentos. La lesión celular tubular es, en un 60% de los casos, moderada (+-++)

35.7

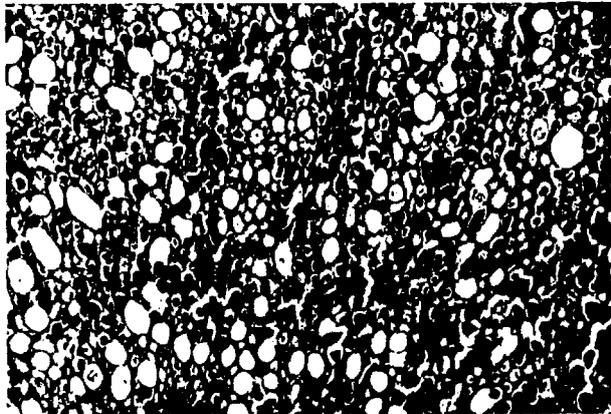


Figura C.4.13.
Corte de riñon de rata normal 48 horas después de la inyección de glicerina. Hematoxilina - Eosina x 25

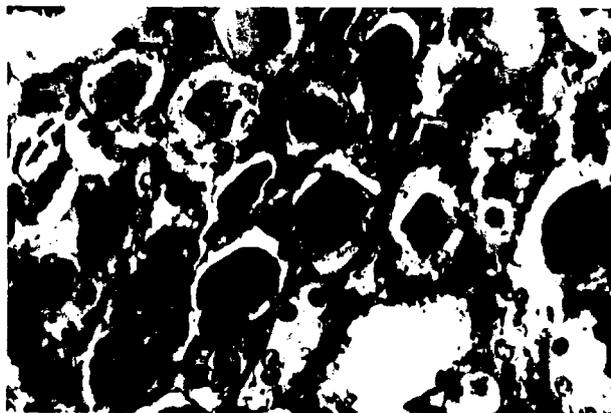


Figura C.4.14.
Corte de riñon de rata normal 48 horas despues de la inyeccion de glicerina Hematoxilina - Eosina x 1000

en un 40% algo más grave (+-+++).

La papila presenta una lesión moderada (+-++), con el 50-80% de las luces ocupadas, de las cuales entre el 10 y el 20% lo son por pigmento. Está siempre presente el edema intersticial.

A las 48 horas de inducción del FRA con glicerina coexisten túbulos muy lesionados (++++, 50%) con otros que mantienen mucho mejor la integridad celular (++, 40%) (Fig. C.4.15). Aproximadamente un 10% de los túbulos están muy dilatados con el epitelio aplanado.

En la médula, un 70-80% de los túbulos están en regeneración, con un daño variable (+-+++), mientras un 20% están completamente obstruidos y el 10% restante muy dilatados (Fig. C.4.16).

La papila está bien conservada (+), con un porcentaje de obstrucción que oscila entre el 10 y el 40%.

Se detectó un edema intersticial ligero en el 100% de los animales.

En todas las ratas y en todos los momentos de la evolución, los glomérulos eran estrictamente normales a la microscopía óptica, tanto en los animales seudooperados (Fig. C.4.17) como uninefrectomizados (Fig. C.4.18). En las primeras fases de la evolución del FRA se podía ver el espacio urinario del glomérulo ocupado por mHG. En fases más avanzadas algunos glomérulos aparecían esclerosados y rellenos de pigmento.

Las lesiones en ambos tipos de animales están resumidas en la Tabla C.4.19, en la que puede verse que las principales diferencias destacables entre la evolución histológica del FRA en los animales seudooperados y en los uninefrectomizados son:



Figura C.4.15.
Corte de riñon de rata uninefrectomizada 48 horas después de la inyección de glicerina Hematoxilina - Eosina x 250



Figura C.4.16.
Corte de riñon de rata uninefrectomizada 48 horas después de la inyección de glicerina Hematoxilina-Eosina x 250

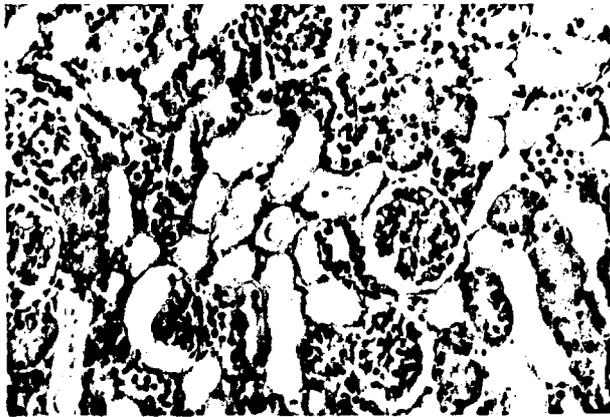


Figura C.4.17.
Corte de riñon de rata normal 48 horas después de la inyección
de glicerina Hematoxilina - Eosina x 250

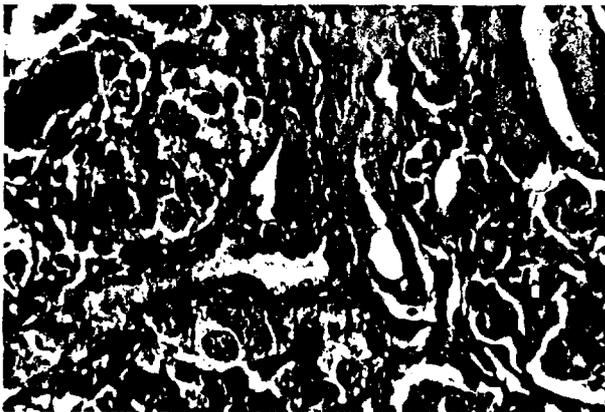


TABLA C.4.19.

		CORTEZA	MEDULA	PAPILLA
4 horas	Seudooperados	+----	+---	+
	UNX	+---	+---	+
24 horas	Seudooperados	++++	+++	+
	UNX	+++++	++++	+++
48 horas	Seudooperados	+++++	++++	++
	UNX	+++++	++++	+

Intensidad de la lesión tubular (expresada de 0 a 5 cruces) en diversos momentos de la evolución del FRA inducido en animales controles seudooperados o uninefrectomizados (UNX).

863

- La menor gravedad de las lesiones de los túbulos corticales en los animales con MRR que en los controles 4 horas después de la inyección de glicerina.

- La presencia de edema intersticial en los animales con MRR, 4 horas después de la inducción del FRA; hecho que no se observa en las ratas pseudooperadas.

- La aparición de túbulos muy dilatados y con el epitelio aplanado en los animales uninefrectomizados 24 horas después de la inducción del FRA.

- Una intensidad ligeramente menor de las lesiones tubulares a todos los niveles en los animales con MRR.

C.5 EFECTO DE UNA MAYOR REDUCCION DE LA MASA RENAL

C.5.a Experiencias de aclaramiento en jaulas metabólicas

Estas experiencias se han llevado a cabo en 33 animales. De ellos, 22 fueron sometidos a nefrectomía del riñón derecho y, dos días más tarde, a la resección de aproximadamente 1/3 de la masa renal restante. Los otros 11 (Grupo 5.C) fueron sometidos a sendas operaciones simuladas. Dos días después de la última intervención quirúrgica, 11 de los animales con MRR (Grupo 5.A) y el Grupo 5.C fueron inyectados con glicerina para inducirles un FRA, mientras que los otros 11 con MRR recibieron una inyección de glucosa isotónica (Grupo 5.B).

Las determinaciones realizadas han sido las mismas que las descritas en el apartado C.2., y los resultados se expresan en las Tablas C.5.1., C.5.2., C.5.3. y C.5.4.

De las Tablas C.5.1., C.5.2. y C.5.3. puede deducirse la homogeneidad de los grupos utilizados, tanto en el peso de los animales, como en la excreción de agua y electrolitos, previamente a todos los manejos quirúrgicos.

Tras de la eliminación de parte de la masa renal, los animales con MRR presentan una mayor excreción de agua y electrolitos si

TABLA C.5.1.

Reducción adicional de la masa renal. Alteración del peso durante la experiencia

		Basal	1,2,3,4	1	5,6	2	7,8	3	9,10
Grupo 5.A.	\bar{x}	215.6	- 6.1		- 2.0		- 2.7		- 2.9
	EEM	5.0	1.7		1.4		1.4		1.4
Grupo 5.B.	\bar{x}	218.7	- 6.1		- 2.5		- 1.4		0.0
	EEM	6.1	1.4		1.3		1.5		1.3
	p	NS	NS		NS		NS		NS
Grupo 5.C.	\bar{x}	220.4	- 4.1		- 2.9		- 5.4		0.2
	EEM	5.7	0.8		1.5		1.7		1.7
	p	NS	NS		NS		NS		NS
	p'	NS	NS		NS		NS		NS

Cada grupo está compuesto por 11 animales; los datos están expresados como % de incremento de peso respecto al valor basal.

1. uninefrectomía u operación simulada ; 2. resección de 1/3 del riñón restante u operación simulada.

3. Inyección de glicerina o glucosa p respecto al grupo 3.A. ; p' respecto al grupo 3.B.

Tratamiento de cada grupo. 5A uninefrectomía y glicerina; 5.B: uninefrectomía y glucosa;

5.C.: No nefrectomía y glicerina.

TABLA C.5.2.

Reducción adicional de masa renal. Volumen urinario ml/24 h

		3	4	1	5	6	2	7	8	3	9	10
Grupo 5.A.	\bar{x}	8.7	8.2		9.3	9.9		14.5	21.3		14.9	21.8
	EEM	1.9	0.9		1.1	1.2		1.5	3.2		2.8	2.4
Grupo 5.B.	\bar{x}	13.2	10.4		8.5	8.2		12.6	15.4		13.8	15.1
	EEM	2.4	2.8		1.4	1.8		2.8	2.4		2.1	3.4
	p	NS	NS		NS	NS		NS	NS		NS	NS
Grupo 5.C.	\bar{x}	10.1	8.7		9.2	8.3		7.8	8.3		4.3	8.1
	EEM	0.7	0.7		1.2	0.9		1.2	1.5		1.5	2.2
	p	NS	NS		NS	NS		< 0.05	< 0.01		< 0.005	< 0.005
	p'	NS	NS		NS	NS		NS	0.02		0.001	NS

Cada grupo está compuesto por 11 animales; los datos están expresados como % de incremento de peso respecto al valor basal.

1. uninefrectomía u operación simulada ; 2. resección de 1/3 del riñón restante u operación simulada.

3. Inyección de glicerina o glucosa p respecto al grupo 3.A.; p' respecto al grupo 3.B.

Tratamiento de cada grupo. 5.A. uninefrectomía y glicerina; 5.B. uninefrectomía y glucosa; 5.C. No nefrectomía y glicerina.

23

TABLA C.5.3.

Reducción adicional de masa renal. Excreción de sodio ($\mu\text{Eq}/24$ horas)

		3	4	1	5	6	2	7	8	3	9	10
Grupo 5.A.	\bar{x}	259	310		274	197		313	324		205	556
	EEM	29	60		42	47		30	40		42	99
Grupo 5.B.	\bar{x}	288	302		290	291		229	488		271	493
	EEM	65	58		82	63		39	200		51	134
	p	NS	NS		NS	NS		NS	NS		NS	NS
Grupo 5.C.	\bar{x}	212	309		285	487		556	326		188	384
	EEM	30	75		26	34		61	31		69	103
	p	NS	NS		NS	< 0.05		< 0.05	NS		NS	NS
	p'	NS	NS		NS	< 0.05		< 0.05	NS		NS	NS

Cada grupo está compuesto por 11 animales; los datos están expresados como % de incremento de peso respecto al valor basal.

1. uninefrectomía u operación simulada : 2. resección de 1/3 del riñón restante u operación simulada.

3. Inyección de glicerina o glucosa. p respecto al grupo 3.A. ; p' respecto al grupo 3.B.

Tratamiento de cada grupo. 5.A. uninefrectomía y glicerina; 5.B. uninefrectomía y glucosa; 5.C. No nefrectomía y glicerina.

TABLA C.5.4.

Reducción adicional de la masa renal. Determinaciones en plasma 48 horas después de la inducción del Fracaso Renal Agudo.

		Hcto %	Na mEq/l	K mEq/l	Cl mEq/l	Creatinina mg/100 ml	Urea mg/100 ml	Ccr ml/min Kg
Grupo S.A.	\bar{x}	34.2	135.5	3.8	103.3	1.70	185.4	0.94
	EEM	1.2	1.7	0.1	1.3	0.26	41.3	0.18
Grupo S.B.	\bar{x}	37.8	141.1	3.9	104.5	0.82	66.0	2.82
	EEM	1.3	1.2	0.1	0.6	0.04	2.8	0.23
	p	< 0.05	< 0.01	NS	NS	< 0.005	< 0.01	< 0.01
Grupo S.C.	\bar{x}	34.2	133.2	5.1	93.2	4.01	420.1	0.10
	EEM	0.9	1.3	0.2	1.2	0.30	33.4	0.03
	p	NS	NS	< 0.001	< 0.0005	< 0.0005	< 0.001	< 0.001
	p'	< 0.05	< 0.001	< 0.001	< 0.0005	< 0.0005	< 0.0005	< 0.0005

Tratamiento de cada grupo: S.A. uninefrectomía y glicerina; S.B. uninefrectomía y glucosa; S.C. No nefrectomía y glicerina.

TABLA C.5.5.

Reducción adicional de masa renal. Peso de los riñones (g/Kg)

		Riñón derecho	Riñón izquierdo
Grupo 2.A.	\bar{x}	3.08 [▲]	5.03 [▲]
	EEM	0.09	0.02
Grupo 5.A.	\bar{x}	3.29 [■]	3.20 [□]
	EEM	0.11	0.11
Grupo 5.B.	\bar{x}	3.34 [■]	2.73 [□]
	EEM	0.04	0.08
Grupo 5.C.	\bar{x}	4.44	4.07
	EEM	0.16	0.09

Los datos están expresados como gramos de peso de riñón por Kg de peso total del animal

▲ riñón obtenido 48 h antes del FRA

△ riñón obtenido 48 h después del FRA

□ riñón obtenido 48 h después del FRA, pero que había sufrido 48 horas antes del FRA la resección del 1/3 de su masa

■ riñón obtenido 96 h antes del FRA

se expresa ésta por masa renal, y aun mayor si se expresa por número de nefronas.

Después de la instauración del FRA, los animales pseudooperados (Grupo 5.C) presentan una menor diuresis y excreción de sodio que los animales con MRR (Grupo 5.A). La excreción de cloro, que no se muestra en las tablas, presenta una evolución similar a la del sodio

Los animales con una reducción adicional de la masa renal presentan una clara protección del FRA, con un FG (medido por aclaramiento de creatinina) que es, entre las 24 y las 48 horas después de la instauración del FRA, de alrededor de un 50% del de los animales con MRR y sin FRA, y más de 9 veces mayor que el de los animales pseudooperados con FRA (Grupo 5.C). Esta protección se ha tratado de estudiar más cuidadosamente mediante experiencias de aclaramiento de inulina y PAH.

C.5.b Experiencias de aclaramiento agudo

En un lote de 32 ratas se ha estudiado el FG y el FPR de animales con reducción adicional de masa renal y de animales pseudooperados, sometidos o no a un FRA.

Para ello, 16 animales fueron sometidos a las mismas maniobras quirúrgicas que los animales de los grupos 5.A y 5.B (Grupos 5.D y 5.E), mientras que a los otros dos grupos se les hizo una operación simulada (5.F y 5.G). Dos días más tarde los animales se preparaban para estudios de función renal según se ha descrito en el apartado B.1.b., iniciándose las adecuadas infusiones de inulina y PAH. Tras 60 minutos de equilibrio se realizaron dos períodos experimentales de 30 minutos de duración cada uno, acabados los cuales un grupo co

MRR (5.D) y a otro pseudooperado (5.F) se les indujo un FRA por inyección de glicerina, mientras que a los otros dos grupos (5.E y 5.G) se les inyectó glucosa isotónica, según se describió para los grupos 2.A y 2.B, respectivamente (apartado C.2). La tasa de infusión de inulina y PAH se redujo adecuadamente, y 60 minutos después de la inyección de glicerina o glucosa se realizó un período de aclaramiento de una hora. Una vez acabado, se tomó una muestra de sangre de la vena renal por punción directa, y, tras pinzar los pedículos renales con pinzas vasculares tipo Bull-dog, se tomó otra muestra de sangre arterial por punción aórtica.

Inmediatamente después se extrajeron los riñones, se pesaron y congelaron rápidamente. La concentración renal de renina se midió por RIA, según se ha descrito en el apartado B.8.

Los resultados obtenidos se expresan en las Tablas C.5.6 y C.5.7 y en las Figuras C.5.8 y C.5.9.

De la Tabla C.5.6 puede deducirse que, antes de la inducción del FRA los animales con MRR presentaban una mayor diuresis que los animales pseudooperados, mientras que, tanto la excreción de Na como la de K son del mismo orden, en términos absolutos. Además, las ratas con reducción adicional de la masa renal tienen un volumen hematocrito menor que los controles.

El FG de los animales con MRR (Grupos C.5.D y C.5.E) expresado por gramo de tejido renal es superior en un 50% a los de los animales pseudooperados (Grupos 5.F y 5.G) mientras que el FPR es un 70% mayor, por lo que los primeros presentan una fracción de filtración significativamente inferior que los segundos.

En la Tabla C.5.7 puede observarse que, entre los 60 y 120 mi

TABLA C.5.6.

Datos de aclaramiento basal de ratas con reducción de masa renal y controles.

Grupo		D ml/m	Na _o μEq/min	K _o μEq/min	FG ml/m/g	FPR ml/m/g	FF %	H _{to} %
C.5.D.	\bar{x}	7.04	0.13	1.04	1.52	5.59	27	45.8
	EEM	0.78	0.05	0.12	0.14	0.91	1	2.5
C.5.E.	\bar{x}	10.70 ^o	0.43	1.01	1.43	5.32	26	41.5
	EEM	0.89	0.16	0.15	0.26	0.84	2	0.9
C.5.F.	\bar{x}	4.63 ^{oΔ}	0.10	1.13	0.96 ^{oΔ}	3.11 ^{oΔ}	30	52.0 ^{oΔ}
	EEM	0.64	0.03	0.33	0.12	0.19	2	1.6
C.5.G.	\bar{x}	5.07 ^{oΔ}	0.12	1.25	0.97 ^{oΔ}	3.13 ^{oΔ}	31	52.2 ^{oΔ}
	EEM	0.07	0.03	0.33	0.13	0.19	1	1.7

o p < 0.05 respecto al grupo C.5.D.
 Δ p < 0.05 respecto al grupo C.5.E.
 □ p < 0.05 respecto al grupo C.5.F.

TABLA C.5.7.

Datos de aclaramiento de ratas con reducción de masa renal y controles tras la inducción del FRA.

Grupo		D	Nao	Ko	FG	FPR	FF	Hto
		ml/min	μ Eq/min	μ Eq/min	ml/min/Kg	ml/min/Kg	%	%
	\bar{x}	9.88	0.49	0.94	0.66	2.11	27	38.1
C.5.D.	EEM	1.14	0.25	0.11	0.16	0.54	2	0.9
	\bar{x}	9.14	0.13	1.04	1.50	5.62	32	43.6
C.5.E.	EEM	3.30	0.07	0.05	0.23	0.98	1	1.7
	\bar{x}	7.34	0.09	0.49	0.16	0.74	22	44.7
C.5.F.	EEM	1.61	0.04	0.09	0.06	0.31	3	0.6
	\bar{x}	5.87	0.14	1.19	0.94	3.04	30	44.6
C.5.G.	EEM	0.71	0.03	0.33	0.12	0.18	2	0.7

p < 0.05 respecto al grupo C.5.D.

p < 0.05 respecto al grupo C.5.E.

p < 0.05 respecto al grupo C.5.F.

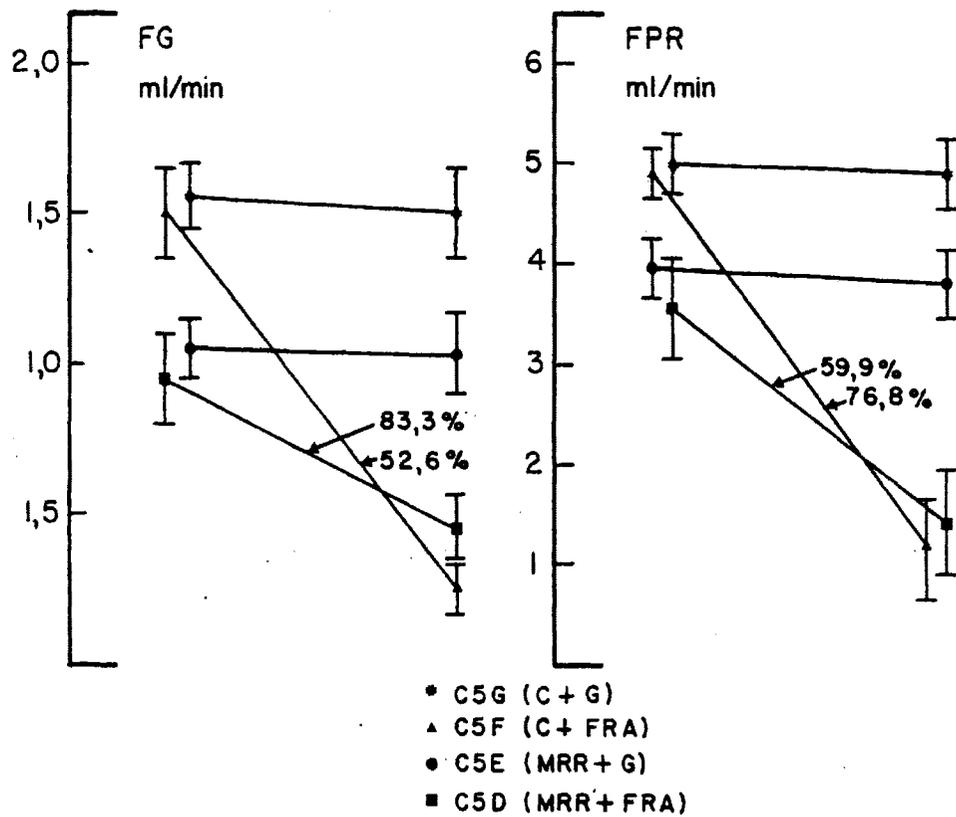
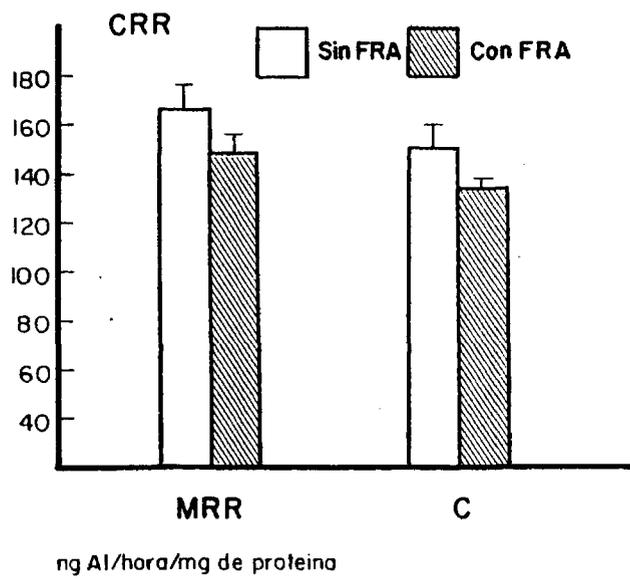


FIGURA C.5.8

FIGURA C.5.9



nutos después de la inducción del FRA, los animales, tengan o no reducida la masa renal, presentan una disminución importante de la excreción de potasio, sin modificación de la diuresis.

El FG por gramo de tejido renal disminuye en un 56% en los animales con masa renal reducida, mientras que lo hace en un 83% en los animales pseudooperados. El FPR sufre variaciones del 62% y 76% respectivamente, diferencias también significativas.

La fracción de filtración disminuye significativamente en los animales con MRR mientras que aumenta en los pseudooperados.

Las variaciones del FG y el FPR son más fácilmente observables en la Figura C.5.8., en la que estos parámetros están expresados en valor absoluto. Así, se observó que, mientras en el grupo C.4.G el FG desciende en un 83%, en los animales con MRR y FRA (C.4.E) sólo lo hace en un 52,6% con una diferencia muy significativa.

Algo similar ocurre con el FPR, que desciende un 59,9% en las ratas con MRR y un 76,8% en las pseudooperadas, también con diferencias muy significativas.

La concentración renal de renina, que presentaba valores basales similares, era siempre inferior en los animales con FRA, pero las disminuciones eran idénticas (11,45% para las ratas con MRR y 11,92% para los animales pseudooperados).

C.6 DETERMINACION DE LOS COMPONENTES LIQUIDOS DEL ORGANISMO DES-
PUES DE LA NEFRECTOMIA UNILATERAL

Las experiencias se han realizado en 16 ratas, 8 de ellas so-
metidas a nefrectomía unilateral (Grupo 6.B) y las otras 8 a una ope-
ración simulada, 48 horas antes de la experiencia.

El volumen extracelular se ha determinado midiendo el espacio de
distribución de la inulina, según la técnica descrita en el apar-
tado B.4.b.

El volumen plasmático se ha medido por medio del espacio de
distribución de albúmina bovina marcada con ^{125}I , según se ha descri-
to en el apartado B.4.a.

El volumen sanguíneo, o volumen circulante, se ha calculado
de acuerdo con el volumen hematocrito mediante la fórmula:

$$VC = VP \left(\frac{100}{\text{Hcto}} \right)$$

siendo VC el volumen circulante y VP el volumen plasmático y Hcto el
volumen hematocrito expresado en %.

Los resultados de estas experiencias están expresados en las
Tablas C.6.1 y C.6.2. En ellas puede observarse que, tanto el volu-
men plasmático como el volumen circulante y el volumen extracelular
son similares en los animales normales y en los animales uninefrec-
tomizados.

TABLA C.6.1.

Distribución de los compartimientos del V.E.C.

Grupo		peso g	Hto %	VEC ml	VP ml	VC ml	VI ml
6.A.							
Seudooperados (n =)	\bar{x}	238,7	47,5	55,1	6,37	12,16	48,74
	e.e.m.	17,8	1,6	3,8	0,44	0,81	3,57
6.B.							
UNX (n = 8)	\bar{x}	208,7	43,4	51,8	6,61	11,75	45,19
	e.e.m.	13,9	1,1	4,9	0,50	0,98	4,78
		NS	< 0.05	NS	NS	NS	NS

Abreviaturas:

VEC = volumen extracelular;

VP = volumen plasmático

VC = volumen circulante;

VI = volumen intersticial.

C.7 HEMODINAMICA GENERAL E INTRARRENAL DESPUES DE LA NEFRECTOMIA,

C.7.a Estudio de la hemodinámica general de los animales uninefrectomizados.

La experiencia se ha llevado a cabo en 15 ratas, 8 de las cuales habían sido sometidas a nefrectomía unilateral (Grupo 7.8) y las 7 restantes a una operación simulada (Grupo 7.A), 48 horas antes de la experiencia.

El gasto cardiaco, la resistencia periférica, el flujo plasmático renal y la resistencia renal se han medido utilizando la técnica de las microesferas radioactivas, descrita en el apartado 8.3 de los métodos.

Los resultados se describen en la Tabla C.7.1.

De la Tabla C.7.1 puede deducirse que la uninefrectomía no produce, a las 48 horas, aumento significativo de la presión arterial. Los animales uninefrectomizados presentan un aumento del gasto cardiaco del 18% con un descenso concomitante de la resistencia periférica en un 10%. Asimismo, este grupo de animales uninefrectomizados presenta, respecto a los controles, un aumento del 22% en el FPR (0,81 ml/min neto) y una ligera disminución de la resistencia renal.

C.7.b Redistribución intrarrenal del FPR en los animales uninefrectomizados

Estas experiencias se han llevado a cabo en 7 ratas. De ellas, 4 habían sido previamente uninefrectomizadas (Grupo 7.D) y en las 3 restantes se había hecho una operación simulada (Grupo 7.C). Los estudios se realizaron 48 horas más tarde utilizando la técnica de me

TABLA C.7.1.

Hemodinámica general y renal en ratas uninefrectomizadas y controles

Grupo		Peso g	Peso riñones g	PA mmHg	GC ml/min./100 g	RPT mmHg/ml/min./100 g.	FSR ml/min./riñón	RR mmHg/ml/min./100 g
Seudooperados (7)	\bar{x}	197,1	1.40	109.3	28.0	3.90	3.75	21.1
	EEM	10,1	0.03	2.0	1.2	0.24	0.17	2.4
	$\pm x$	198.7	0.93	104.4	33.6	3.11	4.56	22.9
Uninefrectomía (8)	EEM	8.9	0.04	2.2	0.9	0.21	0.23	1.1
	p	NS	< 0.0005	NS	< 0.0025	< 0.0125	< 0.005	< 0.01

Entre paréntesis número de ratas.

GC : Gasto cardiaco ; RTP : Resistencias periféricas totales ; FSR : Flujo sanguíneo renal ; RR : resistencias renales.

93611

dida de flujo por microesferas radioactivas y dividiendo el riñón en tres capas: cortical externa (C_1), cortical interna (C_2), subcór_{te}x (C_3) y médula (M), según se ha descrito en el apartado B.3.

Los resultados se presentan en la Figura C.7.2, representándose tanto en valor absoluto (ml/min/g de tejido) como en porcentaje del FPR total.

En la mencionada Figura puede observarse que, 48 horas después de la nefrectomía, existe un aumento significativo del FP por la zona cortical externa, porcentualmente al FPR total. El FP por el resto de las zonas no varía significativamente.

C.7.c Distribución intrarrenal del FG en los animales uninefrectomizados

El estudio se ha llevado a cabo en 8 ratas uninefrectomizadas (Grupo 7.F) y en 6 ratas pseudooperadas (Grupo 7.E) 48 horas antes de la experiencia. Una vez anestesiadas y preparadas quirúrgicamente, el FG y el FPR totales (en el caso de las ratas pseudooperadas, del riñón izquierdo) se han medido mediante técnicas de estudio de la función renal descritas en el apartado B.1.b. El filtrado glomerular individual de las nefronas superficiales (FGN) se ha medido por las técnicas de micropunción descritas en el apartado B.2.c.

Los resultados de estas experiencias se muestran en la Tabla C.7.3. En ella puede observarse que los animales uninefrectomizados, de peso y PA similares de los de los controles, presentan un aumento de un 17,4% en el FG y de un 30% en el FPR totales, lo que es responsable del descenso en la fracción de filtración que se observa en la tabla, descenso que ya se había observado anteriormente.

94'

FIGURA C.7.2

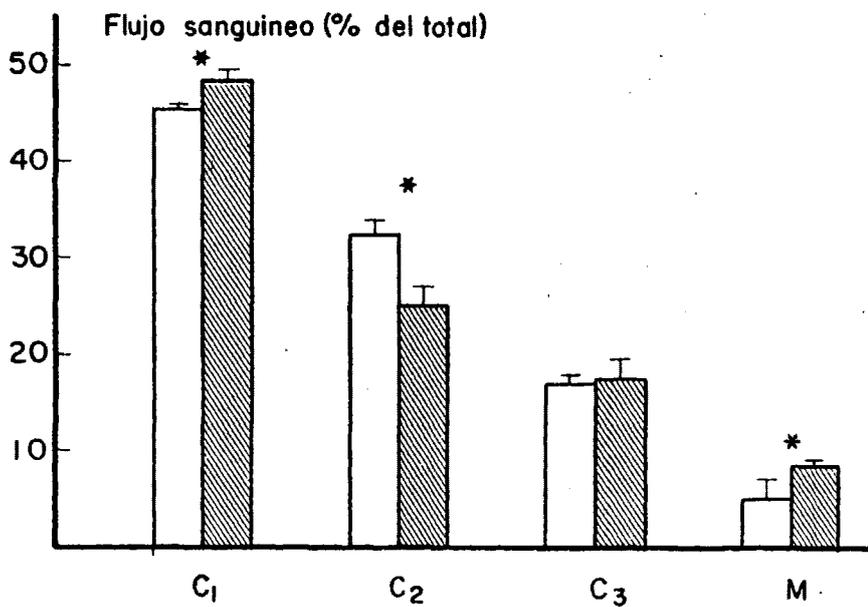
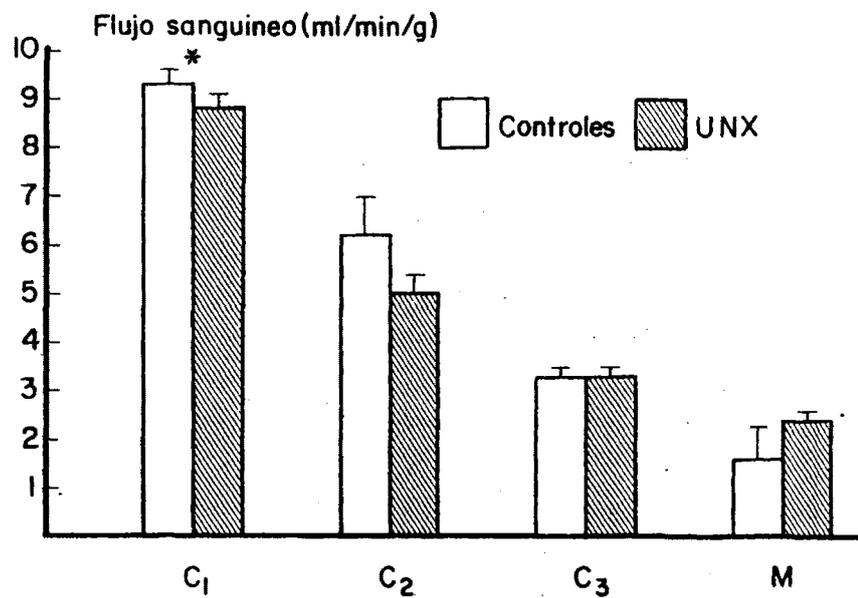


TABLA C.7.3.

Filtrado glomerular por nefrona y redistribución de filtrado en ratas uninefrectomizadas y controles

Grupo		V.O. $\mu\text{l}/\text{min}$	FG ml/min	FPR ml/min	FF	FGN ml/min	FGN/FG: $\times 10^{-3}$	PA mmHg	Peso g
7 E									
Seudooperadas	\bar{x}	9.30	0.69	2.23	0.31	31.2	45.2	109.8	202.8
(6)	e.e.m.	0.70	0.14	0.10	0.01	0.7	5.0	2.6	8.4
7 F									
Uninefrectomía	\bar{x}	15.51	0.81	3.00	0.27	45.1	55.7	108.8	200.0
(8)	e.e.m.	0.51	0.16	0.22	0.01	1.8	5.7	3.1	7.9
	p	< 0.005	< 0.05	< 0.025	< 0.0025	< 0.0005	< 0.0025	NS	NS

El FG por nefrona superficial aumenta un 44%, aumento que es mayor que el del FG del riñón completo, lo que hace que la relación FGN/FG aumente en un 22%, hecho éste que indica un aumento relativo del FG por las nefronas más superficiales.

D DISCUSION

Hasta el momento presente no existe un conocimiento preciso ni un acuerdo unánime acerca de los factores responsables del inicio y del mantenimiento de la oliguria y de las otras anormalidades funcionales del Fracaso Renal Agudo. Sin embargo, ha podido ser demostrado que, al menos en parte, el Fracaso Renal Agudo puede estar mediado por otros factores distintos del daño isquémico o nefrotóxico inicial (154).

Experimentalmente, esto ha sido evaluado determinando qué tipo de maniobra puede proteger contra el FRA experimental producido según modelos estandar con características altamente repetibles. Un claro ejemplo de ésto fué la implicación del sistema renina-angiotensina en el FRA, que habiendo sido postulada muy anteriormente (55, 173) no recibió la adecuada atención hasta que se observó que en varios modelos experimentales, de FRA, inducidos fundamentalmente en la rata, la sobrecarga crónica oral de cloruro sódico protegía contra el desarrollo del FRA (40, 65, 163). Esto se achacó a la depleción renal de renina que producía la ingesta continuada de altas cantidades de sal, como ya hemos descrito en el apartado A.3.b de la Introducción.

Nosotros hemos seguido en las experiencias aquí presentadas un criterio similar, llevando a cabo una maniobra que protegiera contra un modelo de FRA experimental y luego estudiando qué alteraciones funcionales llevaba consigo esta maniobra. Con ello conseguíamos saber sobre qué factores determinantes más o menos parciales del FRA habíamos influido, y valorar así la importancia de cada uno de ellos

en la inducción y desarrollo del FRA.

En nuestro caso, la maniobra consistió en la reducción de la masa renal funcionante a la mitad por nefrectomía unilateral.

Los datos que hemos encontrado en nuestras experiencias respecto a las alteraciones de la función renal del riñón contralateral tras la uninefrectomía nos permiten afirmar que la máxima disociación entre el aumento del FPR y del FG se produce alrededor de 48 horas - después de la uninefrectomía, por lo que hemos escogido este momento para llevar a cabo nuestras experiencias de FRA. Asimismo, la compensación de la excreción urinaria de agua, sodio, cloro, y potasio ocurre muy rápidamente. A las 4 horas de la uninefrectomía, se excreta por el riñón restante alrededor del 82% del total de agua y sodio que se excretaba por los dos riñones antes de la nefrectomía, y a las 24 horas la compensación es completa.

En relación con los datos publicados, los nuestros presentan grandes coincidencias. Peters encontró que 18 horas después de la nefrectomía unilateral en la rata no se había producido ningún aumento del FG (130). Diezi y col., tampoco encontraron cambios en el FG 15 horas después de la nefrectomía unilateral (133). En nuestras experiencias, en las 4 primeras horas después de la uninefrectomía no se produjo ningún aumento del FG. A las 24 horas, aunque la media era ligeramente mayor que el valor basal, la diferencia estaba lejos de ser significativa, lo que apoya la tesis de los tres primeros autores mencionados (42, 79, 130), aunque no se puede descartar que a las 24 horas se esté ya iniciando un aumento del FG que no podemos medir por los errores intrínsecos de las técnicas de evaluación.

El aumento del FG se hace claramente patente a las 48 y a las 72 horas de la nefrectomía (Figura C.1.2) y parece que el valor máximo se alcanza entre 2 y 4 semanas después de la reducción de la masa renal, (80), extremo este último que no se comprobó.

Todo lo hasta ahora dicho sobre la respuesta funcional aguda a la reducción de masa renal es válido para la rata, animal en el que se han realizado las experiencias. Sin embargo, en este tipo de respuestas la variabilidad intraespecífica es muy grande, como se demuestra por el hecho de que la adaptación funcional del FG en el perro es mucho más rápida que en la rata.

Respecto al flujo plasmático renal del riñón restante tras la nefrectomía, el aumento se produce mucho más rápidamente que el del FG, aunque en las 4 primeras horas después de la eliminación del riñón contralateral no pueda observarse ninguna variación. A las 24 horas el aumento es ya estadísticamente significativo, y a las 48 horas ha aumentado un 36%, lo que significa que ese riñón ha alcanzado un 68% del flujo total previo a la uninefrectomía (Figura C.1.1). A partir de ese momento el aumento del FPR se hace mucho más lento (a las 72 horas no hay diferencia significativa con el valor observado a las 48 horas) hasta alcanzar un tope a las 4 ó 5 semanas después de la reducción de la masa renal.

La razón de elegir ratas de 80 días de edad y alrededor de 200 g de peso fué la siguiente: Está perfectamente demostrado que a partir de los 50 días de vida de la rata, la hipertrofia renal compensadora secundaria a la resección de parte de la masa renal ocurre en ausencia de aumento del número de nefronas (19, 106, 109). Incluso Kaufman y col. (81) opinan que si la reducción de masa renal se ha-

ce antes de los 50 días, tampoco aumenta el número de nefronas. En base a esto, el tamaño y edad de los animales elegidos nos asegura que el aumento del FPR observado en el riñón restante tras la reducción de masa renal conlleva un aumento del flujo plasmático por nefrona, al no aumentar el número de éstas.

Otra observación importante extraída de este grupo de experiencias es la disminución de la fracción de filtración (FF) a las 24 y, sobre todo, a las 48 horas de la nefrectomía. Este superior aumento del flujo plasmático renal respecto a la parte de este flujo que se filtra, tiene dos explicaciones posibles. Para exponerlas vamos a recurrir de nuevo a las ecuaciones claves de la ultrafiltración glomerular, que están desarrolladas en el apartado A.3.a de la Introducción. Fundamentalmente vamos a fijarnos en la ecuación 1.10:

$$FG = Kf \quad Pf$$

que nos indica que el filtrado glomerular es función del coeficiente de ultrafiltración (Kf) y de la presión efectiva de ultrafiltración (Pf).

Esta dependencia de la presión efectiva de ultrafiltración, en ausencia de cambios en la presión coloidosmótica del plasma, es función de las alteraciones de la presión hidrostática intraglomerular, tal como indica la ecuación 1.6

$$FG = 1/2 \left(\frac{Pa - Pe}{Ra} - \frac{Pa - Pe}{Re} \right)$$

o sea, que el FG depende de la relación de presiones y resistencias

a la entrada y salida del glomérulo, o sea, en las arteriolas aferente y eferente.

En resumen, son dos los parámetros que pueden cambiar tras la nefrectomía modificando la fracción de filtración.

- a) Alteración del coeficiente de ultrafiltración.
- b) Adecuación de las resistencias arteriolas aferente y eferente.

Respecto al primero de los factores mencionados, Allison y col. (2) y Deen y col. (38) no han encontrado cambios en el coeficiente de ultrafiltración tras la reducción de masa renal. Como ya se explicó en la introducción, de la ecuación 1.13:

$$K_f = K_g \cdot S_f$$

se deduce que el coeficiente de ultrafiltración (K_f) es función del coeficiente de permeabilidad del elemento filtrante (K_g) y de la superficie efectiva de ultrafiltración (S_f). De las experiencias anteriormente mencionadas no puede precisarse si la no variación del coeficiente de ultrafiltración se debería a la constancia del coeficiente de permeabilidad y de la superficie efectiva de ultrafiltración, o a la variación de estos en forma inversa (38). Los trabajos en los que se ha tratado de medir el tamaño glomerular tras la reducción de masa renal ofrecen resultados contradictorios (144, 177).

Respecto al segundo de los factores mencionados, la alteración de la presión efectiva de ultrafiltración secundaria a modificaciones en las resistencias vasculares glomerulares, para que disminuyera la fracción de filtración tendría que ocurrir bien una vasoconstricción

aferente, bien una vasodilatación eferente, bien ambas a la vez, todo esto de acuerdo con la ecuación 1.6 antes mencionada. Teniendo en cuenta que la disminución del coeficiente de ultrafiltración ocurre en presencia de un flujo plasmático renal aumentado y en ausencia de un aumento significativo de la presión de perfusión (que es la presión arterial) hay que descartar todo tipo de vasoconstricción (como más adelante se comprobará en esta misma tesis) y parece muy probable que la disminución del coeficiente de ultrafiltración se deba a una vasodilatación eferente de mayor intensidad que una vasodilatación aferente (también posible).

Deen y col., estudiaron la dinámica de la filtración glomerular en ratas tras 2 semanas de uninefrectomía (38). En este trabajo encontraron un aumento del 84 y el 79%, respectivamente, en el filtrado glomerular y en el flujo plasmático de las nefronas superficiales. De sus resultados se desprende que el aumento del FG era debido a un aumento de la presión efectiva de ultrafiltración (a través de un aumento en la presión hidrostática, secundario a una adecuación de las resistencias glomerulares) y al aumento del flujo plasmático glomerular, no habiéndose demostrado cambios en el coeficiente de ultrafiltración. Respecto a la importancia relativa de estos dos factores, el aumento del FP sería responsable de un 75% del incremento del FG y la presión hidrostática lo sería en un 25%. En nuestro caso de adaptación funcional aguda, con disminución clara de la fracción de filtración (hecho que no ocurre en las experiencias de Deen y col.), el aumento de la FG debe ser en un 100% basado en el aumento del FPR, y éste, como más adelante veremos, basado en la disminución de las resistencias vasculares renales. En todo caso, las alteraciones hemop

dinámicas intrarrenales serán revisadas de nuevo en otro punto de esta discusión.

Como nuestra hipótesis de trabajo respecto a la patofisiología de este tipo de FRA es que el factor primario es una disminución del FPR que induce una reducción o desaparición del FG, hemos escogido como momento para inducir el FRA las 48 horas tras la uninefrectomía, instante en que es mayor el aumento del FPR sin incremento concomitante del FG, que podría enmascarar los resultados.

Cuando se induce un FRA por inyección intramuscular de glicerina en animales que habían sido sometidos 48 horas antes a la extirpación del riñón derecho y se compara con el inducido en animales pseudooperados, queda claramente demostrado que los animales con masa renal reducida están parcialmente protegidos contra este tipo de FRA, ya que dos días después de la inyección de glicerina los animales con MRR presentan una concentración de creatinina plasmática - que es del 55% de los animales pseudooperados, la concentración plasmática de urea es la mitad y el aclaramiento de creatinina en el período comprendido entre las 24 y las 48 horas después de la inyección de glicerina es de 2,42 veces el que presentan los animales pseudooperados. Sin embargo esta protección no es total, ya que los animales con FRA y MRR presentaban unos niveles de urea y de creatinina plasmáticas mucho más altos que los animales con MRR sin FRA, y un aclaramiento de creatinina de sólo un 24% respecto a este grupo.

Cuando se compara el FRA inducido en los animales uninefrectomizados y el de los animales pseudooperados, las diferencias principales son las siguientes:

- Los animales con MRR presentan una diuresis significativamente superior a la de los animales pseudooperados (Tabla C.2.2).

- La excreción de sodio en ambos grupos no presenta diferencias significativas (Tabla C.2.3).

- La excreción de potasio es muy superior en los animales con masa renal reducida (3,76 veces en las primeras 24 horas y 2,05 veces en las segundas 24 horas). En estos animales la excreción de potasio no disminuye significativamente con el FRA, mientras que en los pseudooperados sí lo hace, lo que justifica la hiperpotasemia que presentan estos últimos a las 48 horas del FRA (Tabla C.2.7).

- La excreción total de solutos es también mayor en los animales con MRR, que, además, excretan una orina más concentrada.

- Al estudiar el peso de los riñones (Tabla C.2.8) podemos observar que en los animales a los que se les quita el riñón derecho (Grupo 2.A), el aumento de masa del riñón izquierdo tras 4 días (dos después de la inducción del FRA) es de un 63%, del que sólo un 23% puede achacarse a la hipertrofia renal compensadora, que es el aumento que sufre el riñón de los animales del Grupo 2.B., a los que no se les induce el FRA. En los animales con 2 riñones, el aumento de peso debido al FRA es de alrededor del 45%, por lo que puede deducirse que el edema intersticial debido al FRA es del mismo orden que el que presentan los animales con MRR.

La aparición de un importante edema intersticial en los riñones de las ratas en las que se induce un FRA con glicerina, y que se refleja en un aumento de peso de los mismos, sin aumento de su peso seco, había sido ya descrita por nosotros en 1977 (95). Además se había demostrado una correlación estrecha entre el grado de alteración

de la función renal (concentración plasmática de creatinina) y el peso de los riñones.

Es muy importante hacer notar que los animales con un sólo riñón excretaban durante las 48 horas siguientes a la nefrectomía una cantidad de agua, electrolitos y otros solutos similar a la de las ratas con dos riñones (Tablas C.2.2., C.2.3., C.2.4., C.2.5., C.2.6). Esto implica que, como lo hacen con la mitad de nefronas que las ratas pseudooperadas, la excreción de agua, electrolitos y demás solutos está aumentada al doble. Thiel y col. (162) han demostrado que el aumento de la excreción de agua y electrolitos sin alteración de la concentración plasmática de renina protegía del FRA inducida por cloruro mercurico. Protecciones similares han sido observadas en ratas a las que se inducía un FRA con glicerina y que se trataban con manitol y solución salina (179). Para tratar de saber si era éste el mecanismo por el que las ratas uninefrectomizadas estaban protegidas del FRA inducido por glicerina, se indujo en un grupo de animales pseudooperados una diuresis y natriuresis doble de la normal por administración oral aguda de una solución de ClNa en el agua de bebida y glucosa. Con ello se conseguía que las ratas pseudooperadas (Grupo 3.8) tuvieran, respecto a su número de nefronas, una excreción de agua y electrolitos similar a las ratas con MRR (Tablas C.3.1 y C.3.2). Pero esta maniobra no impidió que, aunque su FRA fuera algo menos grave que las ratas no sobrecargadas (sus concentraciones plasmáticas de urea y creatinina eran un 17,9 y un 10% respectivamente más bajas que las de los animales pseudooperados no pretratados) desarrollarán un FRA de mucha mayor intensidad que las ratas con MRR procesadas junto con ellas (Tabla C.3.3).

Una información de gran importancia se obtiene al estudiar de una forma secuencial el desarrollo de las alteraciones que ocurren en la función renal y de las alteraciones histológicas tras la inducción del FRA experimental por glicerina, tanto en los animales uninefrectomizados como en animales pseudooperados. En este tipo de experiencias puede observarse que, a las 4 horas de la inducción del fracaso, los descensos del FPR y del FG en ambos grupos de animales son del mismo orden, y no presentan diferencias significativas. A las 24 horas de la inducción del FRA, el FPR de los animales pseudooperados es de un 32,3% del basal, mientras que el de los animales con un sólo riñón es, en términos absolutos, del mismo orden que los pseudooperados, y ya de un 51,8% del previo al FRA. Respecto al FG, los animales con MRR presentan un FG que, en términos absolutos, es mayor que el de los animales pseudooperados (expresado por riñón sería 2,7 veces mayor) y que es ya de un 47% del basal, mientras que el de los animales con los dos riñones es todavía de un 20%. A las 48 horas del FRA, las ratas con MRR presentan ya una reducción muy pequeña del FPR y del FG (10% y 14,3% respectivamente) mientras que en los animales pseudooperados estos parámetros están todavía muy reducidos (38,5 y 60% respectivamente).

El punto de mayor interés a destacar de entre estas observaciones es el hecho de que en un primer momento las ratas uninefrectomizadas presentan también una gran disminución de la función renal, y la diferencia con los animales pseudooperados es la rápida recuperación funcional de los primeros. Debemos destacar también que, mientras en el FRA inducido en los animales controles hay siempre una disminución de la fracción de filtración, en los animales con

MRR, que previamente tenían una FF baja, ésta se mantiene con variaciones mínimas a lo largo de la evolución del FRA. Esto indica que la vasoconstricción aferente, que parece ser la causa de la disminución del FPR, el FG y la FF, en los animales pseudooperados no ocurre, o se compensa con una vasoconstricción eferente similar.

Mientras el FRA de los animales controles cursa con una ligera oliguria, sobre todo observable a las 24 horas del FRA, el inducido en los animales nefrectomizados no produce reducción del volumen de orina, sino aumento del mismo (Fig. C.4.3). Otro hecho importante de entre estos datos es el paralelismo que existe en la concentración renal de renina en ambos grupos en los diferentes momentos después del FRA, no existiendo nunca diferencias significativas entre ambos grupos (Figura C.4.6). Esto nos induce a pensar que el sistema renina-angiotensina no juega un papel primario en esta protección, ya que la concentración renal de renina, factor que se ha invocado como clave en el desarrollo del FRA (4, 21, 40, 84, 103, 173) es similar en ambos grupos.

Respecto a las alteraciones histológicas observadas, descritas en el apartado C.4 de los resultados, puede deducirse que no se observan diferencias apreciables entre la intensidad de la lesión en uno y otro grupo de animales, aunque exista un mayor componente de dilatación tubular y menos obstrucción, tanto por desechos como por hemo-mioglobina, en el interior de los túbulos de los animales con MRR, quizás fruto del mayor flujo urinario. Esta relativa disociación entre las alteraciones funcionales y morfológicas había sido puesta ya de relieve en los animales protegidos del FRA mediante la sobrecarga crónica de ClNa, los cuales presentaban lesiones histológicas si-

milares a los no pretratados, a pesar de tener un FRA mucho más leve (40). En los animales protegidos del FRA inducido por cloruro de mercurio mediante una elevación aguda de la diuresis y la natriuresis, y sin alteración en la renina renal ni en la plasmática, puede observarse que las lesiones en el túbulo contorneado proximal están muy correlacionadas con la intensidad de la protección funcional, mientras que en el resto de la nefrona, las lesiones son similares en todos los grupos, a pesar de las diferencias funcionales (162).

Hemos tratado de estudiar también, en esta serie de experiencias, el efecto que una mayor reducción de masa renal podría tener sobre la protección contra el FRA inducido por glicerina observado en las experiencias anteriores. Para ello se ha estudiado el desarrollo del FRA en animales que habían sufrido nefrectomía unilateral y, 48 horas después, resección de 1/3 del riñón restante, o sea, que tienen 1/3 de la masa renal funcional normal. De los resultados, expresados detalladamente en el apartado C.5., y de los que se deduce que estas ratas presentan un alto grado de protección frente al FRA inducido por glicerina, destacamos como más significativos los siguientes hechos:

- Los animales con 1/3 de masa renal muestran un aumento muy importante de la diuresis respecto a la situación basal. Tras el FRA no hay ningún tipo de reducción del volumen urinario.

- Si se compara la protección ofrecida por la reducción del 50% de la masa renal con la reducción del 66% de la misma (Tablas C.2.7 y C.5.4), puede observarse que, partiendo de valores plasmáticos de urea y creatinina similares, y un FG medido por aclaramiento de creatinina, que es un 21,4% inferior en estos últimos, 48 horas después

de la inducción del FRA los niveles de urea y creatinina plasmáticos son similares y también lo es el Ccr. Ello significa que, mientras el FRA induce en los animales con 1/2 de la masa renal una disminución de un 75% en el filtrado glomerular de las segundas 24 horas tras la inyección de glicerina, la disminución de este parámetro en los animales con 1/3 de masa renal es solo de un 66,7%, con una diferencia significativa ($p = 0,05$).

El grupo de experiencias en las que se ha tratado de valorar el desarrollo del FRA inducido en ratas con 1/3 de masa renal en sus primeros momentos y mediante técnicas más depuradas (apartado C.5.b) no aporta demasiado a lo anteriormente expuesto, y simplemente confirman que la protección ofrecida por la reducción de masa renal es ya claramente demostrable a las dos horas de la inducción del FRA, cosa que no ocurría con la reducción del 50%. Por otro lado parece que el sistema renina-angiotensina tampoco está implicado en esta protección, pues ni antes ni 2 horas después de la inducción del FRA hay diferencias significativas en el contenido renal de renina entre los animales pseudooperados y los que tienen la MRR a 1/3.

A estas alturas de las experiencias, y en base a los datos y comentarios ya expuestos, nos encontramos con que tenemos claramente demostrado que las ratas con masa renal reducida están parcialmente protegidas del fracaso renal agudo de tipo vasomotor o isquémico inducido por glicerina. Esta protección ocurre debido a una menor reducción del filtrado glomerular y del flujo plasmático renal y de una recuperación más rápida de estos parámetros, sin que se puedan observar diferencias histológicas apreciables.

Hemos visto también que esta protección no podía explicarse debido a la mayor excreción de solutos por nefrona en los animales con masa renal reducida, ni a la actuación del sistema renina-angiotensina, aunque su exclusión definitiva requiera de una serie adicional de pruebas que nosotros no hemos realizado.

Por todo ello vamos a centrarnos en el estudio y discusión de las características hemodinámicas y circulatorias de estos animales para tratar de dilucidar el camino a seguir en orden a definir los mecanismos que median esta protección.

En las ratas con masa renal reducida, el filtrado glomerular disminuye en una proporción menor o igual al FPR, lo que implica un aumento o un mantenimiento de la Fracción de Filtración (FF). Los animales controles (pseudocooperados) presentan, por el contrario, una disminución de la Fracción de Filtración tras el FRA, hecho que ya había sido descrito en ratas tanto con el modelo de glicerina (T.14) como en el shock (T.116). La disminución de la fracción de filtración secundaria al FRA puede explicarse por una disminución de la presión efectiva de ultrafiltración (ΔPf), que podría basarse en una vasoconstricción arteriolar mayoritariamente aferente (preglomerular), según puede deducirse de las ecuaciones 1.6 y 1.12 del apartado A.2 de la Introducción. No parece posible que un aumento de la presión coloidosmótica plasmática con motivo de la inyección de glicerina jugase algún papel en la disminución de la FF, al reducir la Pf por aumento de π en la ecuación 1.12

$$\Delta Pf = p - \pi$$

1.12

Sin embargo, podría ocurrir que, al menos en los primeros momentos después de la inyección intramuscular de glicerina, cuando el volumen plasmático disminuye con motivo de la captación en el lugar de la inyección de plasma y proteínas (127), la proporción de suero acumulado fuera mayor que la de proteínas, y aumentara la concentración plasmática de éstas, con su correspondiente aumento de presión oncótica. Por ello, éste es otro punto que, aunque de remotas posibilidades, habría que explorar más a fondo para descartarlo también.

Otra posible explicación para la disminución de la Fracción de Filtración es la disminución del coeficiente de ultrafiltración (K_f), bien por reducción de la superficie de ultrafiltración (S_f) o por disminución del coeficiente de permeabilidad hidráulica intrínseco de la membrana (K_g), según la ecuación 1.14, estudiada en el apartado A.2 de la Introducción:

$$K_f = K_g \cdot S_f$$

1.14

Ya hemos discutido en el mencionado apartado el posible papel que podrían jugar las alteraciones del coeficiente de ultrafiltración en la patogenia del FRA, y hemos visto que su importancia puede ser grande. Pero, ¿qué diferencias podrían presentar a este respecto las ratas con MRR? Hay que destacar que, aunque los estudios sobre posibles alteraciones del coeficiente de ultrafiltración o de la superficie de ultrafiltración en las ratas con MRR arrojan resultados contradictorios (144, 147, 177), lo que sí parece definitivamente probado es que una posible variación tardaría al menos una semana en producirse (147). Por todo ello creemos que podemos descartar

este factor como responsable del mantenimiento o aumento del factor de filtración y, por lo tanto, de la protección ofrecida por la reducción de masa renal frente al FRA.

Una vez eliminado también este último punto, fueron dos las hipótesis que en ese momento nos planteamos para tratar de explicar la protección que ofrecía la reducción de masa renal:

a) Aumento del volumen plasmático y/o del volumen extracelular debido a la uninefrectomía.- Se ha demostrado que, como consecuencia de la inyección de glicerina, hay una disminución del VP y del VEC (164), a la que se le ha dado importancia patogénica como desencadenante del FRA. La expansión previa con plasma previene parcialmente contra el FRA (75). Cierta protección puede lograrse también mediante la inyección de solución salina isotónica (95). Aunque otros autores no han podido comprobar estos hechos (87), e incluso se ha dicho que las alteraciones del volumen sanguíneo no jugarían ningún papel directo en la génesis de la vasoconstricción renal del FRA (180), nosotros creemos que hay suficientes pruebas a favor de que un papel por lo menos complementario, tienen que tener en las alteraciones hemodinámicas características de este tipo de FRA. Así, si la uninefrectomía produjera un aumento del volumen plasmático o del volumen extracelular, se daría un caso igual a la inyección de plasma o solución salina isotónica, lo que podría explicar la protección.

b) Hiperdinámica circulatoria secundaria a la nefrectomía.- En el FRA inducido por glicerina, se ha demostrado que el gasto cardíaco desciende a menos de la mitad en las primeras horas tras la inducción, reducción que parece haber desaparecido ya a las 24 horas

(75). La hipovolemia anteriormente mencionada podría ser un factor determinante de la disminución del GC, pero no el único, ya que la expansión con plasma no restaura completamente el GC. Se han postulado como responsables de esta disminución la afectación directa del miocardio por la glicerina (127) y un aumento de la presión arterial media, debido, quizás, a la liberación de alguna sustancia vasoconstrictora de la zona muscular inyectada (127). El aumento con plasma del GC inmediatamente después de la inducción del FRA puede llegar a normalizar el FPR y las resistencias vasculares renales, pero no el filtrado glomerular (75). Este efecto no puede conseguirse mediante la expansión con salino (87).

Si la nefrectomía unilateral produjera, mediante un mecanismo aún no descrito, un aumento del gasto cardiaco, éste podría prevenir la disminución causada por el FRA y, por lo tanto, prevenir el del propio FRA.

La consecuencia lógica de estas dos hipótesis de trabajo es estudiar, en primer lugar, cómo se encuentran los componentes intravascular e intersticial de los líquidos de la economía después de la uninefrectomía, y en segundo lugar, estudiar la hemodinámica general e intrarrenal de las ratas uninefrectomizadas.

A los dos días de la nefrectomía unilateral, las ratas presentaban un volumen plasmático, un volumen circulante y un volumen extracelular que no se diferenciaban de los mismos parámetros medidos en los animales pseudooperados. Los resultados son concluyentes e indiscutibles, ya que las técnicas utilizadas son métodos altamente estandarizados y de gran reproducibilidad, además de estar reconocidos como adecuados para medir estos parámetros (85). Esto nos permí

te descartar con toda seguridad a las alteraciones en los espacios líquidos de la economía como responsables de la protección aquí estudiada.

Los estudios, utilizando microesferas radioactivas, de la hemodinámica general e intrarrenal de las ratas uninefrectomizadas nos ha revelado que los animales con masa renal reducida presentan un claro aumento del gasto cardiaco que parece deberse fundamentalmente a la disminución de las resistencias vasculares periféricas. Existe asimismo un aumento del flujo sanguíneo renal con su correspondiente disminución de las resistencias vasculares renales (Tabla C.7.1).

Estas observaciones son exactamente las opuestas a las descritas para los momentos de iniciación del FRA inducido por glicerina. Así, frente a la disminución del gasto cardiaco que induce la inyección de glicerina (75), las ratas con MRR tienen este parámetro aumentado, presentando además una vasodilatación periférica que se opone a la vasoconstricción periférica descrita en el FRA (67, 83). Así mismo, y al menos en los primeros momentos del FRA, el flujo sanguíneo renal se encuentra muy disminuído (8,30) y la resistencia vascular renal aumentada (67), mientras que las ratas con MRR tienen un aumento del FSR con disminución de las RVR.

Esto nos permite establecer ya, con cierta seguridad, una explicación fundamentada de los mecanismos por los cuales la reducción de masa renal protege del FRA inducido por glicerina, explicación que confirmaría la hipótesis emitida anteriormente en 2º lugar. Pero además, al estudiar la redistribución del riego sanguíneo entre las diferentes partes del riñón, se observa que las zonas más corticales, que son las que en el FRA sufren una mayor isquemia, o dicho

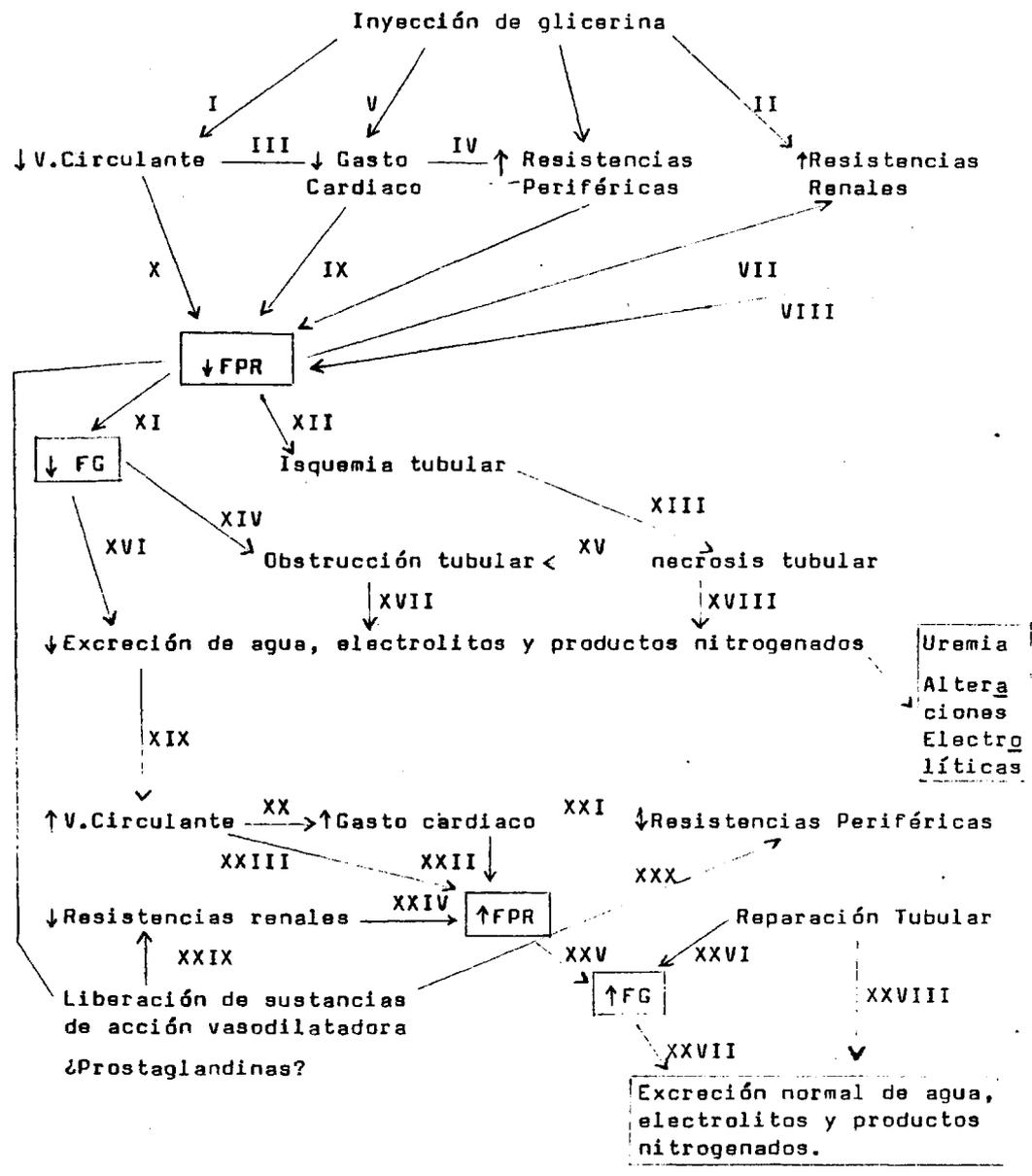
de otra forma, una mayor disminución del flujo sanguíneo por nefrona, son las que presentan un mayor aumento del FS en las ratas con MRR. Las experiencias de micropunción nos aportan también un dato importante, el gran aumento del filtrado glomerular de las nefronas superficiales, que, al inducir el FRA con glicerina, son las que mayor reducción de la filtración glomerular muestran (94, 96). Así, frente a la isquemia preferentemente cortical, característica de este modelo de FRA experimental, las ratas con MRR presentan una hiperemia, también predominantemente cortical, hecho que es, sin duda un factor más que puede contribuir a la protección parcial observada.

Una vez explicados, a nuestro parecer suficientemente, los mecanismos que median la protección que la reducción de la masa renal brinda frente a este modelo de Fracaso Renal Agudo vamos a tratar de esclarecer la última y la fundamental de las interrogantes que nos planteábamos al comienzo de las experiencias que integran esta tesis doctoral: ¿Qué pueden aportar estos resultados al conocimiento de la patofisiología de este modelo de FRA? A este respecto hay que decir que las alteraciones observadas en los animales con MRR en el momento en que se les inducía el FRA eran alteraciones puramente funcionales y, aunque nosotros no hemos tenido especial cuidado en buscar alteraciones de tipo morfológico (no hemos utilizado técnicas histológicas ni de microscopía electrónica), está bien descrito en la literatura que cambios morfológicos importantes necesitan intervalos mayores a 48 horas tras la reducción de masa renal (79). Además los animales con MRR y FRA presentan unas lesiones histológicas muy similares a las de los animales pseudooperados con FRA.

Bajo esta perspectiva, los resultados aquí presentados reafirman de una forma rotunda la hipótesis de que en el FRA inducido por glicerina los mecanismos primarios que inducen la disminución del filtrado glomerular y desencadenan el FRA son fundamentalmente hemodinámicos, bien de tipo general, bien intrarrenales, bien ambos conjuntamente, como parece deducirse de nuestras experiencias. Estas alteraciones hemodinámicas, mediadas posiblemente por una serie de mecanismos humorales (en los que podrían intervenir el sistema renina-angiotensina, las kininas, las prostaglandinas, la vasopresina) o nerviosos, todavía mal conocidos y peor interrelacionados, son las que han hecho denominar a este modelo de FRA experimental "Nefropatía vasomotora" y producen secundariamente, alteraciones de la morfología tubular (necrosis tubular, descamación del epitelio tubular, obstrucción tubular por pigmentos y restos celulares) e intersticial (edema intersticial fundamentalmente).

Estas afirmaciones acerca de la primacía de los factores hemodinámicos en la patogenia de este modelo de FRA reciben el apoyo suplementario de otra serie de experiencias realizadas en nuestro Laboratorio y no incluidas en esta Tesis Doctoral en las que se demuestra que, en dos modelos experimentales de FRA no isquémico, sino nefrotóxico, los inducidos por inyección subcutánea de cloruro mercuríco y por nitrato de uranilo, la reducción de masa renal no sólo no protege sino que agrava el FRA (135, 136). Estos hallazgos se han explicado por el hecho de que la acción primaria que conduce al FRA en estos modelos experimentales nefrotóxicos es una lesión celular tubular causada por la acción tóxica de estos productos químicos y no por alteraciones de tipo hemodinámico, que serían, de existir, secun

11/100



darias. Así, en la situación de masa renal reducida, al administrar la cantidad de tóxico de acuerdo con el peso del animal, la dosis de tóxico por nefrona que se administra es mucho mayor que en los animales controles, y es mayor, por lo tanto, la gravedad del FRA.

¿Cual sería entonces, en base a esta serie de postulados, la historia natural de la producción y recuperación (reversión) del FRA inducido por glicerina?. Una visión personal del problema está expuesta en el esquema D.1 y la desarrollamos a continuación:

En primer lugar la inyección de glicerina produciría una disminución del volumen circulante por atrapamiento de plasma y gran cantidad de proteínas en el lugar de la inyección (I). De la zona inyectada se liberarían, además de mioglobina, una serie de sustancias de alta capacidad vasoconstrictora, lo que produciría un aumento de la resistencia vascular periférica (II). Tanto la disminución del volumen circulante como el aumento de la resistencia periférica (III, IV), así como una posible acción directa de la glicerina sobre el miocardio, inducirían una disminución del gasto cardíaco (V).

Por otro lado, la inyección de glicerina, a través de un mecanismo desconocido, y que podría estar mediado por la disminución del FPR y por el aumento de la cantidad de Cl^- y Na que llegan a la macula densa, y probablemente en base a alteraciones del sistema renina-angiotensina-kininas-prostaglandinas y/o vasopresina, induce un aumento de las resistencias vasculares renales (VI, VII) que, junto con la disminución del gasto cardíaco y del volumen circulante, inducen una disminución muy importante del FPR (VIII, IX, X). Este es un punto clave en la evolución de este modelo de FRA. Posiblemente sea la disminución de FPR la que condiciona, a través de un ajuste de las

resistencias glomerulares o del coeficiente de ultrafiltración, una disminución del FG real (XI) y una isquemia tubular, preferentemente cortical (XII). Esto, junto con la disminución del flujo tubular (y posiblemente de la presión intratubular), produce la obstrucción del túbulo con desechos resultantes de la necrosis del epitelio tubular (XIII) y con pigmentos (hemoglobina, mioglobina) (XIV, XV).

La disminución del FG junto con la obstrucción tubular y la salida del fluido tubular a través del epitelio necrótico produce la disminución o la eliminación de la excreción de agua (oliguria, anuria), electrolitos y productos nitrogenados, (XVI, XVII, XVIII) con la consiguiente aparición de uremia y alteraciones electrolíticas.

La no excreción de agua y solutos produce un aumento del volumen extracelular, que podría ser la primera de las acciones compensadoras del FRA (XIX). Simultáneamente se producen otra serie de acciones reparadoras como la disminución de las resistencias periféricas y renales (posiblemente mediado por la estimulación del sistema kininas-prostaglandinas por el aumento de Angiotensina II circulante) (XXIX, XXX) y la reparación, más o menos lenta, de las lesiones necróticas tubulares.

Así, el aumento del volumen circulante y la disminución de las resistencias vasculares periféricas hacen aumentar de nuevo el gasto cardiaco (XX, XXI). Este aumento del gasto cardiaco, junto con el del volumen circulante y la desaparición de la vasoconstricción renal, producen la recuperación del FPR (XXII, XXIII, XXIV) y la normalización del FG (XXV), a lo que contribuye la reparación tubular y la desaparición del edema intersticial (XXVI). En este estado ya puede producirse la normalización de la excreción de agua, electrolitos, y

otros solutos (XXVII, XXVIII), con lo que se cierra el ciclo de recuperación del FRA.

Los pasos fundamentales en los que la reducción de masa renal está involucrada en la protección del FRA son los puntos II (aumento de las resistencias periféricas), VI (aumento de las resistencias - vasculares renales) y V (disminución del gasto cardiaco), todos ellos claves en la disminución del FPR, hecho capital de este tipo de nefropatía vasomotora, y en la aceleración de los pasos de recuperación XXI, XXII y XXIV, asimismo claves para la normalización del FPR.

E CONCLUSIONES

- La reducción de la masa renal funcionante protege parcialmente contra un modelo isquémico (vasomotor) de Fracaso Renal Agudo inducido por la inyección intramuscular de glicerina en ratas.
- Esta protección no es debida al aumento de la excreción de agua y electrolitos que ocurre en el riñón restante debido a la adaptación funcional compensadora.
- Tampoco se han encontrado diferencias en el contenido renal de renina entre las ratas con una masa renal reducida y las controles antes y durante el desarrollo del Fracaso Renal Agudo, por lo que se descarta una inhibición del sistema Renina-Angiotensina como causa de la protección parcial mencionada.
- Los animales con masa renal reducida presentan, en el momento de inducirse el Fracaso Renal Agudo, tanto el volumen extracelular total como sus compartimientos (volumen intersticial, volumen circulante, volumen plasmático) de una magnitud similar a la de los animales pseudooperados utilizados como controles, por lo que no puede atribuirse a una expansión de estos compartimientos líquidos la citada protección.
- La protección parcial contra el FRA que brinda la reducción de masa renal parece deberse al estado circulatorio hiperdinámico que presentan los animales con masa renal reducida, que exhiben un -

aumento del gasto cardiaco y una disminución de las resistencias vasculares periféricas, ya que la disminución del Gasto cardiaco y la vasoconstricción periférica son dos de los hechos que ocurren tras la inyección de glicerina.

- La disminución de las resistencias vasculares renales con aumento del Flujo Plasmático Renal, que presentan los animales con masa renal reducida, contribuye también de una forma importante a la protección, al oponerse a la vasoconstricción renal con isquemia que ocurre en este modelo de FRA.
- Además, los animales uninefrectomizados presentan una hiperemia renal, preferentemente cortical externa, zona ésta que es la que sufre mayor isquemia durante el FRA.
- La protección ofrecida por la serie de alteraciones hemodinámicas que conlleva la nefrectomía unilateral, reafirma a aquellas como responsables primarias de todas las alteraciones características de este modelo experimental, y nos permite denominarlo con toda propiedad "Fracaso Renal Agudo Isquémico" o "Nefropatía Vasomotora".
- Esta afirmación se ve reforzada por el hecho de que la reducción de masa renal no sólo no protege sino que agrava el FRA experimental de tipo nefrotóxico.

BIBLIOGRAFIA

1. Allison, M.E.M., Lipham, E.M., Lassiter, W.E., Gottschalk, C.W.
The acutely reduced kidney.
Kidney Int. 3; 354-363, 1973.
2. Allison, M.E.M., Wilson, C.B.Q., Gottschalk, C.W.
Pathophysiology of experimental glomerulonephritis in rats.
J. Clin. Invest. 53; 1402-1423, 1973.
3. Andreucci, U.E.
Pathophysiology of acute renal failure.
Proceedings EDTA, 11; 115-126, 1977.
4. Andreucci, U.E.
Renal micropuncture.
Idelson Publishers; Napoli, 1977.
5. Arendshorst, W.J.; Finn, W.F., Gottschalk, C.W.
Nephron Stop-flow pressure response to obstruction for 24 h in
the rat kidney.
J. Clin. Invest. 53, 1497-1500, 1974.
6. Arends horst, W.J., Finn, W.F., Gottschalk, C.W.
The pathogenesis of acute renal failure following temporary re-
nal ischemic in the rpt.
Circ. Res. 37, 558-568, 1975.

7. Anizurieta de Muchnik, E.E., Lipham, E.M., Gottschalk, C.W.
Form and function in normal and hypertrophied nephrons.
en: Compensatory Renal Hypertrophy.
W.W. Nowinski & R.J. Goss. ed.
New York: Academic Press, pp. 45-60, 1969.
8. Ayer, G., Grandchamp, A., Wyler, T. y Truniger, B.
Intrarenal Hemodynamics in glicerol induced myo-hemoglobinuric
acute renal failure in the rat.
Circ. Res. 29, 128-135, 1971.
9. Baehler, R.W., Kotchen, T.A., Burke, J.H., Galla, J.H., y Bha-
thana, D.
Considerations on the pathophysiology of mercuric chloride-indu-
ced acute renal failure.
J. Clin. Med. 90, 330-340, 1977.
10. Balint, P y Szocs, E.
Intrarenal hemodynamics following temporary occlusion of the re-
nal artery in the dog.
Kidney Intern. 8, S128-S136, 1976.
11. Bank, N. y Aynedjian, H.S.
Individual nephron function in experimental pyelonephritis. I.
Glomerular filtration rate and prescinal tubular sodium, potassi-
um and water reabsorption.
J. Lab. Clin. Med. 68, 713-727, 1966.

12. Bank, N., Mutz, B.F., y Aynedjian, H.S.
Role of leakage of tubular fluid in anuric due to mercury poisoning.
J. Clin. Invest. 46, 695-704, 1967.
13. Barenberg, R.L., Salomon, S., Papper, S. y Anderson, R.
Clearance and micropuncture study of renal function in mercuric chloride treated rats.
J. Lab. Clin. Med. 72, 473-484, 1968.
14. Baylis, C., Dean, W.M., Meyers, B.D. y Brenner B.M.
Effect of some vasodilator drugs on transcapillary fluid exchange in renal cortex.
Am. J. Physiol. 230, 1148-1158, 1976.
15. Baylis, C., Renke, H.R., y Brenner, B.M.
Mechanisms of gentamycin-induced defect of glomerular filtration.
Clin. Res. 25, 426A, 1977.
16. Bencosme, S.A., Stone, R.S., Latta, H., Madden, S.C.
Acute Tubular and glomerular lesions in rat kidneys after uranium injury.
Arch. Pathol. 69, 470-476, 1960.
17. Berson, S.A., y Yallow, R.S.
Immunoassay of protein hormone. The hormones. Vol. 4; G. Pincus

K.V. Thiman E.B. Astwood Ed.
New York: Academic Press 557, 1964.

18. Blantz, R.C.
Mechanism of acute renal failure after uranyl nitrate.
J. Clin. Invest. 55, 621-635, 1975.
19. Bonvalst, J.P., Champion, M., Wanstak, F. y Berjol, G.
Compensatory renal hypertrophy in young rats: increase of the
number of nephrons.
Kidney Int. 1, 391-396, 1972.
20. Bricker N.S., Klahr, S. y Rieselbach, R.E.
The functional adaptation of the diseased kidney. I. Glomerular
filtration rate.
J. Clin. Invest. 43, 1915-1921, 1964.
21. Brown, W.C.B., Brown, J.J., Gavras, H., Jackson, A., Lever, A.
F., McGregor, J., MacAdam, R.F., y Robertson, J.I.S.
Renin and acute circulatory renal failure in the rabbit.
Circ. Res. 30, 114-112, 1972.
22. Brown, J.J., Davies, D.L., Lever, A.F., Parker, R.A. y Robert-
son, J.I.S.
The assay of renin in single glomeruli in the normal rabbit and
the appearance of the juxtaglomerular apparatuses.
J. Physiol. 176, 418-428, 1965.

23. Brown, J.J., Gleadle, R.I., Lawson, D.H., Lever, A.F., Linton, A.L., MacAdam, R.F., Prentice, E., Robertson, J.I.S. y Tree, M.
Renin and acute renal failure: studies in man.
Brit. Med. J. i., 253-258, 1970.
24. Brun, C., Crone, C., Davidsen, H.G., Fabricius, J., Hansen, A. T., Lassen, N.A., Munck, O.
Renal blood flow in anuric human subjects determined by use of radioactive Krypton 85.
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 89, 687-690, 1955.
25. Bühler, F.R., Laragh, J.H., Baer, L., Vaughan Jr. E.D., Brunner H.R.
Propranolol inhibition of renin secretion.
New. Eng J. Med. 287, 1209-1214, 1972.
26. Burke, T.J., Duchin, K.L., Cronin, R.E., y Schrier, R.W.
Nephron and microcirculatory pressure changes in norepinephrine-induced acute renal failure: modification by mannitol.
Clin. Res. 25, 96a, 1977.
27. Burwell, R.G.
Changes in the proximal tubule of the rabbit kidney after temporary complete renal ischemia.
J. Pathol. Bacteriol, 70; 387-399, 1955.

28. Carriere, S., Wong, N.L.M. y Dirks, J.H.
Redistribution of renal blood flow in acute an chronic reduction of renal mass.
Kidney Int. 3, 364-371, 1973.
29. Casado Perez, S., Gutierrez Millet, V. y Hernando Avendaño, L.
Aplicación del radioinmunoensayo de angiotensina I a la determinación de actividad de renina plasmática en humanos.
Rev. Clin. Esp. 131, 195-203, 1973.
30. Chedrum, F., Baethke, R., Oken, D.E.
Renal cortical blood flow and glomerular filtration in myohemoglobinuric A.R.F.
Kidney Int: 1, 232-239, 1972.
31. Churchill, S., Zarlengo, M.D., Carvalho, J.F., Gottlieb, M.N. y Oken, D.E.
Normal cortical renal blood flow in experimental acute renal failure.
Kidney Intern. 11, 246-255, 1977.
32. Cox, J.W., Baehler, R.W., Sharma, H., O'Dorisio, T., Osgood, R.W., Stein, J.H. y Ferris, T.F.
Studies on the mechanisms of oliguria in a model of unilateral acute renal failure.
J. Clin. Invest. 53, 1546-1558, 1974.

33. Cronin, R., De Torrente, A., Miller, P., Bulger, R. y Schrier, R.
Prevention of norepinephrine-induced acute renal failure.
Proc. Ann. Meeting Am. Soc. Nephrol. 8th. Washington, D.C. p.
61, 1975.
34. Daugharty, T.M. y Brenner, B.M.
Reversible defect in glomerular filtrate rate after renal is-
chemia.
Am. J. Physiol. 228, 1436-1439, 1975.
35. Daugharty, T.M., Ueki, I.F., Mercer, P.F., Brenner, B.M.
Dynamics of glomerular ultrafiltration in the rat: V. Response
to ischemic injury.
J. Clin. Invest. 53, 105-116, 1974.
36. Davidson, W.O., Sackner, M.A.
Simplification of the antrone method for the determination of
inulin in clearance studies.
37. Davis, J.O., Shade, R.E., Johnson, J.A., Gotshall, R.W., y
Spielman, W.S.
A renal vascular receptor in the control of renin secretion.
Proc 5th Congr. Nephrol. Mexico 1972, Vol. 2; Karjer Basel, p.
178-182.

38. Deen, W.M., Maddox, D.A., Robertson, C.R. y Brenner, B.M.
Dynamics of glomerular ultrafiltration in the rat.
VII Response to reduced renal mass.
Am. J. Physiol. 227, 556-562, 1974.
39. Deen, W.M., Robertson, C.R., Brenner, B.M.
Glomerular ultrafiltration.
Federation Proceedings 33, 14-20, 1974.
40. DiBona, G.F., McDonald, F.D., Flamenbaum, W., Dammin, G.J.,
Oken, D.E.
Maintenance of renal function in salt loaded rats despite severe
tubular necrosis by mercuric chloride.
Nephron 8, 205-220, 1971.
41. DiBona, G.F.,
The renin-angiotensin system in acute renal failure in the rat.
Lab. Invest. 25, 528-532, 1971.
42. Diezi, J., Michoud, P., Grandchamp, A. y Giebisch, G.
Effects of nephrectomy in the renal salt and water transport in
the remaining kidney.
Kidney Int. 10, 450-462, 1976.
43. Donadio, J.W., Farmer, C.D., Hunt, J.C., Tauxe, W.N., Hallen-
beck, G.A. y Short, R.G.
Renal function in donors and recipients of a renal transplanta

- tion. Radioisotopic measurement.
Ann. Intern. Med. 66, 105-115, 1967.
44. Donohoe, J.F., Venkatachalam, M.A., Bernard, D.B., Levinski, N.G.
Tubular leakage and obstruction after renal ischemia: Structural functional correlations.
Kidney Int. 13, 208-222, 1978.
45. Doolan, P.D., Alpen, E.L., Theil, G.B.
A clinical appraisal of the plasma concentration and endogenous clearance of creatinine.
Am. J. Med. 32, 65-79, 1962.
46. Duncan, D.B.
en: Tables Scientifiques Geigy. 7ª edición.
Ciba-Geigy S.A., Bâle, 1972; p. 176.
47. Eliahou, H.E., Iaina, A., Solomon, S. y Gavendo, S.
Alleviation of anoxic experimental acute renal failure in rats by α -adrenergic blockade.
Nephron, 19, 158-166, 1977.
48. Flamenbaum, W.
Pathophysiology of acute renal failure.
Arch. Intern. Med. 131, 911-928, 1973.

49. Flamenbaum, W., Huddleston, M.L., McNeil, J.S., Hamburger, R.J.
Uranyl nitrate induced acute renal failure in the rat: Micropuncture and renal hemodynamic studies.
Kidney Int. 6, 408-418, 1974.
50. Flamenbaum, W., Kotchen, T.A., Oken, D.E.
Effect of renin immunization on mercuric chloride and glycerol-induced acute renal failure.
Kidney Int. 1, 406-412, 1972.
51. Flamenbaum, W., McDonald, F.D., DiBona, G.F., y Oken, D.E.
Micropuncture study of renal tubule factors in low dose mercury poisoning.
Nephron 8, 221-234, 1971.
52. Flamenbaum, W., McNeil, J.S., Kotchen, T.A., Saladina, A.J.
Experimental acute renal failure induced by uranyl nitrate in the dog.
Circulation Res. 31, 682-698, 1972.
53. Flanigan, W.J. y Oken, D.E.
Renal micropuncture study of the development of oliguria.
J. Clin. Invest. 44, 449-457, 1965.
54. Flores, J., DiBona, D.R., Beck, C.H., y Leaf, A.
The role of cell swelling and ischemic renal damage in the protective effect of hypertonic solutes.
J. Clin. Invest. 51, 118-126, 1972.

55. Goormaghtigh, N.
The renal arteriolar changes in the anuric crush syndrome.
Am. J. Path. 23, 513-523, 1947.
56. Gottschalk, C.W., Mylle, M.
Micropuncture study of the rat kidney during osmotic diuresis.
Am. J. Physiol. 189, 323-328, 1957.
57. Gavras, H., Brown, J.J., Liver, A.F., MacAdam y Robertson, J.I.
S.
Acute renal failure, tubular necrosis and myocardial infarction
induced in the rabbit by intravenous angiotensin II.
Lancet ii, 19-22, 1971.
58. Gross, F.
Renin and hypertension, physiologische oder pathologische wir-
kstoffe?
Klin. Wschr, 36, 693-706, 1958.
59. Guignard, J.P., Dirks, J.H.
Compensatory adaptation of sodium and bicarbonate excretion:
effect of diuretics.
Am. J. Physiol. 230, 1225-1230, 1976.
60. Haber, E., Koesner, T., Page, L.B., Kliman, B., y Purnode, A.
Application of radioimmunoassay for angiotensin I to the phy-
siologic measurement of PRA in normal human subjects.

- J. Clin. Endocrinol. 29, 1349-1355, 1969.
61. Halliburton, I.W. y Thomson, R.V.
Chemical aspects of compensatory renal hypertrophy.
Cancer Rev. 25, 1882-1889, 1965.
62. Hayslett, J.P.
Functional adaptation to reduction of renal mass.
Physiol. Rev. 59, 137-164, 1979.
63. Hayslett, J.P., Kashgarian, M. y Epstein, F.H.
Functional correlates of compensatory renal hypertrophy.
J. Clin. Invest. 47, 774-782, 1968.
64. Heine, W.O. y Stocker, E.
Regeneration of kidney parenchyma under normal and pathological conditions.
Pathol. Biol. 145, 89-99, 1972.
65. Henry, L.D., Lane, C.E., Kashgarian, M.
Micropuncture studies of the pathophysiology of acute renal failure in the rat.
Lab. Invest. 19, 309-314, 1968.
66. Hernando Avendaño, L.
Fracaso renal agudo.
Bol. Fund. Jiménez Díaz 5, 219-220, 1973.

67. Hofbauer, K.K., Bauereiss, K., Konrads, A., Gross, F.
Renal vasoconstriction in glycerol-induced acute renal failure;
studies in the isolated perfused rat kidney.
Clin. Sci. Med. 55, 249-252; 1978.
68. Hofbauer, K.K., Konrads, A., Bauereiss, K., Möhring, B., Gross,
F.
Vasopressin and renin in glycerol-induced acute renal failure
in the rat.
Circ. Res. 41, 424-428, 1977.
69. Hollemberg, N.K., Adams, D.F.
Vascular factors in the pathogenesis of acute renal failure in
man.
Proc. Conf. on Acute Renal Failure, 209-229; 1973.
70. Hollemberg, N.K., Adams, D.F., Oken, D.E., Aikawa, H.C., Merrill,
J.P.
Acute renal failure due to nephrotoxins. Renal hemodynamic and
angiographic studies in man.
N. Eng. J. Med. 282, 1329-1334, 1970.
71. Hollemberg, N.K., Epstein, M., Rosen, S.M., Basch, R.I., Oken,
D.E., Merrill, J.P.
Acute oliguric renal failure in man. Evidence for preferential re-
nal cortical ischemia.
Medicine 7, 455-475, 1968.

72. Hornych, H. y Richet, G.
Dissociated effect of sodium intake on glomerular and pressor
response to angiotensin.
Kidney Int. 11, 28-34, 1977.
73. Hsu, C.H., Kurtz, T.W., Goldstein, J.R., Keinath, R.D., Weller,
J.M.
Intrarenal hemodynamics and acute myohemoglobinuric renal failu
re.
Nephron, 17, 65-72, 1976.
74. Hsu, C.H., Kurtz, T.W., Rosenzweig, J. y Weller, J.M.
Renal hemodynamics in HgCl₂-induced acute renal failure.
Nephron 18, 326-332, 1977.
75. Hsu, C.H., Kurtz, T.W., y Waldinger, T.P.
Cardiac output and renal blood flow in glicerol-induced acute
renal failure in the rat.
Circ. Res. 40,178-182 , 1976.
76. Hunter, W.M., Greenwood, F.C.
Preparation of Iodine-131-labelled human growth hormone of high
specific activity.
Nature, 194, 495, 1962.

77. Iaina, A., Solomon, S. y Eliahou, H.E.
Reduction in the severity of acute renal failure in rats by
beta-adrenergic blockade.
The Lancet, 11, 157-159, 1975.
78. Johnson, H.A., Vera-Roman, J.M.
Compensatory renal enlargement hypertrophy versus hyperplasia.
Am. J. Pathol. 49, 1-13, 1966.
79. Katz, A.
Renal function immediately after contralateral nephrectomy: re-
lation to the mechanism of compensatory kidney growth.
Yale J. Biol. Med. 43, 164-172, 1970.
80. Katz, A.I., Epstein, F.H.
Relation of glomerular filtration rate and sodium reabsorption
to kidney size in compensatory renal hypertrophy.
Yale. J. Biol. Med. 40, 222-230, 1967.
81. Kaufman, J.M., Dimeola, H.J., Siegel, B., Lytton, B., Kashgaria
M. y Hayslett, J.P.
Compensatory adaptation of structure and function following pro-
gressive renal ablation.
Kidney Int. 3, 364-371, 1973.
82. Kaufman, J.M., Siegel, N.J., Hayslett, J.P.
Functional and hemodynamic adaptation to progressive renal

ablation.

Circ. Res. 36, 286-293, 1975.

83. Konrads, A., Hofbauer, K.G., Bauereiss, K., Möhring, J., Gross, F.

Glycerol-induced acute renal failure in Brattleboro rats with hypothalamic diabetes insipidus.

Clin. Sci. 56, 133-138, 1979.

84. Kokot, F., Kuska, J.

Plasma renin activity in acute renal insufficiency.

Nephron 6, 115-127, 1969.

85. Koushampour, E.

Renal physiology: principles and functions.

W.B. Saunders Co. Philadelphia 1976, p. 20.

86. Kurtz, T.W., Hsu, Ch.H.

Systemic hemodynamics in nephrotoxic acute renal failure.

Nephron 21, 100-106, 1978.

87. Kurtz, T.W., Maletz, R.M., Hsu, Ch. H.

Renal cortical blood flow in glycerol-induced acute renal failure in rat.

Circ. Res. 38, 30-35, 1976.

88. Lellouch, J., Lazar, P.

Méthodes statistiques en expérimentation biologique. Flammarion
Medicine Sciences, Paris, 1974. p. 148.

89. Lonigvo, A.J., Itskovit, H.D., Crowshaw, K y McGiff, J.D.
Dependencing of renal blood flow and prostaglandin syntesis in
the dog.
Circ. Res, 32, 712-717, 1973.
90. López-Novoa, J.M., Casado, S., Hernando, L.
Protection against glycerol-induced acute renal failure by pro
pranolol pretreatment. Role of extracellular volume expansion.
Biomedicine 29, 303-306, 1978.
91. López-Novoa, J.M., Casado, S., y Hernando, L.
An escape phenomenon from water and sodium retention induced by
propranolol in rats.
Experientia, 34, 216-217, 1978.
92. López-Novoa, J.M., y Hernando, L.
Papaverine influence in postischemic renal failure.
Rev. Esp. Fisiol. 33, 149-150, 1977.
93. López-Novoa, J.M., Rengel, M.A., Rodicio, J.L., Hernando, L.
A micropuncture study of salt and water retention in chronic
experimental cirrhosis.
J. Am. J. Physiol. 232, F315-F318, 1977.

94. López-Novoa, J.M., Rengel, M.A., Ortega, F.J., Rodicio, J.L.,
Hernando, L.
Permeabilidad tubular conservada en la insuficiencia renal aguda postisquémica.
Rev. Esp. Fisiol. 33, 11-16, 1977.
95. López-Novoa, J.M., Rodicio, J.L. y Hernando L.
Negative effect of frusemide pretreatment on glycerol induced acute renal failure.
Biomedicine 26, 117-122, 1977.
96. López-Novoa, J.M., Rodicio, J.L., Millás, I. y Hernando, L.
Glomérulo-tubular balance in postischémic renal failure.
Rev. Esp. Physiol. 31, 131-132, 1975.
97. Lowry, O.H., Rosebrough, N.S., Farr, A.L. y Randall, R.J.
Protein measurement with the Folin phenol reagent.
J. Biol. Chem, 142, 265- , 1951.
98. Lubowitz, H., Purkerson, M.L., Sugita, M. y Bricker, N.S.
G.F.R. per nephron and per kidney in chronically diseased (pyelonephritic) kidney of the rat.
Am. J. Physiol. 217, 853-857, 1969.
99. Mason, A.D.Jr., Tescham, P.E., Muirhead, E.E.
Studies in acute renal failure III. Renal histologic alterations in acute renal failure in the rat.

- J. Surg. Res. 3, 450-456, 1963.
100. Mason, J., Thurau, K.
The physiological mechanisms responsible for the adjustment of renal function during acute renal failure.
Proc. 6th. Int. Congr. Nephrol. Firenze 1975. Karger, Basel 1976, p.572-577.
101. Massani, Z.M., Finkielman, S., Worcel, M., Agrest, M., Paladino, A.C.
Angiotensin blood levels in hipertensive and non hipertensive diseases.
Clin. Sci. 30, 473-483, 1966.
102. Mauk, R.H., Patak, R.V., Fadem, S.Z., Lifschitz, M.D. y Stein, J.H.
Effect of prostaglandin E administration in a nephrotoxic and a vasoconstrictor model of acute renal failure.
Kidney Int. 12, 122-130, 1977.
103. McDonald, F.D., Thiel, G., Wilson, O.R., DiBona, G.F., Oken, D.E.
The prevention of acute renal failure in the rat by long-term saline loading: a possible role of the renin-angiotensin axis.
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 131, 610-614, 1969.
104. McGiff, J.C., Growshaw, K. y Itskovitz, H.D.

Prostaglandins and renal function.
Fed. Proc. 33, 39-47, 1974.

105. McGiff, J.C., Itskovitz, H.D.
Prostaglandins and the kidney.
Circ. Res. 33, 479-488, 1973.

106. MacKay, E.M., MacKay, L.L. y Addis, T.
The degree of compensatory renal hypertrophy following unilateral nephrectomy.
J. Exp. Med. 56, 255-265, 1932.

107. McMay, J.L. y Muzayaki, M.
Regional increases in mass and flow during compensatory renal hypertrophy.
Am. J. Physiol. 224, 219-222, 1973.

108. Meroney, W.H., Rubini, M.E.
Kidney function during acute tubular necrosis: Clinical studies and theory.
Metabolism, 8, 1-15, 1959.

109. Moore, R.
Number of glomeruli in kidney of adult white rat unilaterally nephrectomized in early life.
J. Exp. Med. 5, 709-712, 1929.

110. Morrison, A.B., Howard, R.M.
The functional capacity of hypertrophied nephrons.
J. Exp. Med. 50, 829-844, 1966.
111. Nomiya, K., Foulkes, E.C.
Some effects of uranyl acetate on proximal tubular functions
in rabbit kidney.
Toxicol. Appl. Pharmacol. 13, 89-98, 1968.
112. Nowinski, W.W.
Early history of renal hypertrophy in: Compensatory Renal Hy-
pertrophy. W.W. Nowinski y R.J. Goss. Ed.
New York Academic Press, 1969. pp. 1-8.
113. O'Connor, G., Bardgett, J., Lifschitz, M., Reineck, J., Stein,
J.
Sequential studies on the pathophysiology of glycerol-induced
acute renal failure in the rat.
Proc. Ann. Meeting. Am. Soc. Nephrol. 10th, Washington, D.C.
1977, p. 79A.
114. Oken, D.F.
Nosologic considerations in the nomenclature of acute renal
failure.
Nephron 8, 505-510, 1971.

115. Oken, D.E.
Acute renal failure (vasomotor nephropaty). Micropuncture studies of the pathogenetic mechanisms.
Ann. Rev. Med. 26, 307-319, 1975.
116. Oken, D.E.
Local mechanisms in the pathogenesis of acute renal failure.
Kidney Int. 10, 594-599, 1976.
117. Oken, D.E., Arce, M.L., Wilson, D.R.
Glycerol-induced hemoglobinuric acute renal failure in the rat:
I. Micropuncture study of the development of oliguria.
J. Clin. Invest. 45, 724-735, 1966.
118. Oken, D.E., Cotes, S.C., Flamanbaum, W., Powell-Jackson, J.D.,
Lever, A.F.
Active and passive immunisation to angiotensin in experimental
acute renal failure.
Kidney Int. 7, 12-18, 1975.
119. Oliver, J.
New directions in renal morphology: a method, its results and
its future.
Harvey ^{lect} Act. Ser. XL, 102-155, 1944.
120. Oliver, J.
Correlation of structure and function and mechanisms of reco-

very in acute tubular necrosis.

Am. J. Med. 15, 535-557, 1953.

121. Oliver, J., MacDowell, M., Tracy, A.
Pathogenesis of acute renal failure associated with traumatic and toxic injury: Renal ischemic, nephrotoxic damage and the ischemic episode.
J. Clin. Invest. 30, 1305-1351, 1951.
122. Ortega, F.J., López-Novoa, J.M., Millás, I., Rodicio, J.L., Hernando, L.
Efecto del propranolol en el riñón normal y en el fracaso renal agudo inducido por glicerina.
Nefrología, 1, 133-138, 1976.
123. Ortega, F.J., López-Novoa, J.M., Rengel, M.A., Hernando, L.
Effect of propranolol on glycerol-induced acute renal failure in rats.
Rev. Esp. Fisiol. 34, 277-284, 1978.
124. Pabico, R.C., McKenna, B.A., Freeman, R.B.
Renal function before and after unilateral nephrectomy in renal donors.
Kidney Int. 8, 166-175, 1975.
125. Paulson, D.F., Fraley, E.E.
Compensatory renal growth after unilateral obstruction.

Kidney Int. 4, 22-27, 1973.

126. Pedersen, F., Baunae, B.O., Berthelsen, H.D., Christiansen, P.
Kemp, E., Ladefoged, J., Winkler, K.
Renal flow and mean circulation time for red cells and plasma
in acute renal failure.
Proc. 2nd. Conf. Eur. Dial. Transpl. Assoc. Excerpta médica;
Amsterdam, 1965, pp. 77-81.
127. Perez García, R.
Protección parcial de las ratas con masa renal reducida frente
al fracaso renal agudo inducido por glicerina. Comparación con
un modelo nefrotóxico y deducciones patogénicas.
Tesis; Facultad de Medicina; Universidad Autónoma de Madrid,
1978.
128. Perez-García, R., López-Novoa, J.M., Hernando, L.
Allevation of experimental acute renal failure in rats by re-
duction of renal mass.
Biomedicine, 29, 43-44, 1978.
129. Perez-García, R., López Novoa, J.M., Casado, S., Hernando, L.
Partial protection against acute renal failure in rats with -
reduced renal mass.
en: Dialysis, Transplantation, Nephrology; Robinson B.H.B y
Hawkins, J.B. Ed.
Pitman medical, Estambul, 1978. pp. 402-411.

130. Peters, G.
Compensatory adaptation of renal function in the unanesthetized rat.
Am. J. Physiol. 205, 1042-1048, 1963.
131. Platt, R., Roscoe, M.H., Smith, F.W.
Experimental renal failure.
Clin. Sci. 11, 217-231, 1952.
132. Ponfick, P.
Experimentelle Beiträge zur lebre von dee transfusion.
Arch. Pathol. Anat. Physiol. 62, 273-335, 1875.
133. Peter, D.E., Leumann, E.P., Jakai, T., Holliday, M.A.
Early responsse of glomerular filtrate rate to unilateral nephrectomy.
Kidney Int. 5, 131-136, 1974.
134. Powell-Jackson, S.D., Brown, J.J., Lever, A.F., MacGregor, J., MacAdam, R.F., Titteringtor, D.M., Robertson, J.I.s., White, M.A.
Protection against ARF in rats by passive immunization against Angiotensin II.
Lancet i, 774-776, 1972.
135. Ramos-Frendo, B., Perez-García, R., López-Novoa, J.M., Hernando, L.
Increased severity of the acute renal failure induced by HgCl

- on rats with reduced renal mass.
Biomedicine (in press).
136. Ramos-Frendo, B., Pérez-García, R., López-Novoa, J.M.
Efecto de la reducción de masa renal en el FRA inducido por
nitrato de uranilo.
En preparación.
137. Reubi, F.C.
The pathogenesis of anuria following shock.
Kidney Int. 5, 106-116, 1974.
138. Reubi, F.C., Grossweiler, N., Furtler, R.
Renal circulation in man studied by means of a dye-dilution method.
Circulation 33, 426-442, 1966.
139. Reubi, F.C. y Vorburger, C.
Renal hemodynamics in acute renal failure after shock in man.
Kidney Intern. 10, S137-S143, 1976.
140. Richards, A.N.
Direct observations of change in function of the renal tubule
caused by certain poisons.
Trans. Assoc. Am. Phys. 44, 64-76, 1929.
141. Pocha, A., Marcondes M. y Malnic, G.

Micropercture study in rats with experimental glomerulonephritis.

Kidney Int. 3, 14-23, 1973.

142. Rous, S.N., Wakin, K.G.

Kidney Function before and after compensatory hypertrophy,
J. Urol. 98, 30-35, 1967.

143. Ryan, R., McNeil, J.S., Flamenbaum, W., Nagle, R.

Uranyl nitrate induced acute renal failure in the rat: Effect
of varying doses and saline loading.

Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 143, 289-296, 1973.

144. Saphir, O.

The state of glomerulus in experimental hypertrophy of th kidney
of rabbits.

Am. J. Pathol. 3, 329- , 1927.

145. Schnermann, J., Nagel, W., Thureau, K..

Die fruhdistale natriumkonzentration in Ratennieren nach rena
ler. Ischämie und hämorrhagischen Hypotension.

Pfluegers Arch. 287, 296-310, 1966.

146. Segaul, R.M., Lyttqn B. y Schiff, M.

Functional aspects of compensatory renal growth after ischemic
injury.

Invest. Urol. 10, 235-238, 1972.

147. Shea, S.M., Raskova, J., Morrison, A.B.
A stereologic study of glomerular hypertrophy in the subtotally nephrectomized rat.
Am. J. Pathol. 90, 221-229, 1978.
148. Skegs, L.T., Kahn, J.R., Shumway, N.P.
The preparation and function of the hypertensive-converting enzyme.
J. Exp. Med. 103, 295-302, 1956.
149. Smith, H.W., Finkelstein, N., Aliminosa, L., Crawford, B., Graber, M.
The renal clearance for substituted hippuric acid derivatives and other aromatic acids in dog and man.
J. Clin. Invest. 24, 388, 1945.
149. Salez, K., Altman, J., Rienhoff, H.Y., Riela, A.R., Finer, P. bis M. y Heptinstall, R.H.
Early angiographic and renal blood flow changes after HgCl₂ a glycerol administration.
Kidney Int. 10, S153-S159, 1976.
150. Sraer, J.D., Ardailou, R., Mimoune, O.
Evidence for renal glomerular receptors for Angiotensin II.
Kidney Int. 6, 241-246, 1974.
151. Staffan, J.

Badania czynnościowe i oligo-biopsyjne wostrej niewydolności nerek wywołanej dożylnym wlewaniem octanu uranylu. Poznan Tow Przyj Nauk Wydz Lek 21, 119-138, 1961.

152. Stein J.S., Gottschalk, J., Osgood, R.W., Ferris, T.F.
Pathophysiology of a nephrotoxic model of acute renal failure.
Kidney Int. 8, 27-41, 1975.
153. Stein, J.H., Lifschitz, M.D., Barnes, L.D.
Current concepts on the pathophysiology of acute renal failure.
Am. J. Physiol. 234, F171-F181, 1978.
154. Stein, J.H., Sorokin, M.I.
Pathophysiology of a vasomotor and nephrotoxic model of acute renal failure in the dog.
Kidney Int. 10, S86-S93, 1976.
155. Stone, R.S., Bencosme, S.A., Latter, H., Madden, S.C.
Renal tubular fine structure studied during reaction to acute uranium injury.
Arch. Pathol. 71, 160-174, 1961.
156. Sudo M., Honda, N., Hishida, A., Nagae, M.
Renal hemodynamics in uranyl acetate-induced acute renal failure of rabbits.
Kidney Int. 11, 35-43, 1977.

157. Steinhausen, M.
Ausscheidung von Eiweisszylindern durch das Sammelrohrsystem des Goldhamsters; in Aktuelle Probleme der Nephrologie IV Symposium der Gesellschaft für Nephrologie.
Berlin, Springer, 1966, pp. 595-601.
158. Steinhausen, H., Eisenbach, G.M., Helmtädter, V.
Concentration of lisamine green in proximal tubules of antidiuretic and mercury poisoned rats and the permeability of their tubules.
Pfluegers Arch. 311, 1-15, 1969.
159. Tablas Científicas Geigy.
6ª Edición. J.R. Geigy S.A., Basilea, 1965. p. 175.
160. Tanner, G.A., Sloan, K.L., Sophasan, S.
Effects of renal artery occlusion on kidney function in the rat.
Kidney Int. 4, 377-389, 1973.
161. Tanner, G.A. y Steinhausen, M.
Tubular obstruction in ischemia-induced acute renal failure in the rat.
Kidney Int. 10, S65-S73, 1976.
162. Thiel, G.E., Brunner, F., Wunderlich, P., Huguemin, M., Bienko, B., Torhorst, J., Peters-Haefeli, L., Kirchertz, E.J., Peters, G.

Protection of rat kidney against HgCl_2 -induced acute renal failure by induction of high urine flow without renin suppression. *Kidney Inter.* 10, S191-S200, 1976.

163. Thiel, G., McDonald, F.D., Oken, D.E.
Micropuncture studies of the basis for protection of renin depleted rats from glycerol-induced acute renal failure. *Nephron*, 7. 67-69, 1970.
164. Thiel, G., Wilson, D.R., Arce, M.L. y Oken, D.E.
Glycerol induced haemoglobinuric acute renal failure in the - rat II. The experimental model, predisposing factors and pathologic features. *Nephron*, 4, 276-297, 1967.
165. Threlfall, G., Taylor, D.M., Buck, A.T.
Studies of the changes in growth and DNA synthesis in the rat kidney during experimentally induced renal hypertrophy. *Am. J. Pathol.* 50, 1-14, 1967.
166. Thureau, K., Schnerman, J., Nagel, W., Horster, M. y Wahl, M.
Composition of tubular fluid in the macula densa as a factor regulating the function of the juxtaglomerular apparatus. *Arch. Res.* 20-21 (Suppl. 2) 78-89, 1967.
167. Thureau, K., Schnerman J., Nagel, W., Horster, M. y Wahl, M.
Activation of renin in the single juxtaglomerular apparatus

- by sodium chloride in the tubular fluid at the macula.
Circ. Res. 30/31 (Suppl. 2) 182-186, 1972.
168. Toback, F.G., Lowenstein, L.M.
Thymidine metabolism during normal and compensatory renal growth.
Growth, 38, 35-44, 1974.
169. Toback, F.G., Smith, P.D., Lowenstein, L.M.
Phospholipid metabolism in the initiation of renal compensatory growth after reduction of renal mass.
J. Clin. Invest. 54, 91-97, 1974.
170. Torhorst, J., De Rougemont, O., Brunner, F., Thiel, G.
Pathogenesis of obstruction in early ischemic acute renal failure in the rat.
Kidney Int. 13, 532a, 1978.
171. Torres, V.E., Romero, J.C., Strong, C.G., Wilson, D.M., Walker, V.R.
Renal prostaglandin E during acute renal failure.
Prostaglandins, 8, 353-360, 1974.
172. Torres, V.E., Strong, C.G., Romero, J.C., Wilson, D.M.
Indomethacin enhancement of glycerol-induced acute renal failure in rabbits.
Kidney Int. 7, 170-178, 1975.

173. Tu, W.H.
Plasma renin activity in acute tubular necrosis and other renal diseases associated with hypertension.
Circulation 31, 686-695, 1965.
174. Tyrakowsky, T.
Intrarenal hemodynamics under conditions of disordered renal function caused by intravenous injection of uranyl acetate.
Ann. Med. Sec. Pol. Acad. Sci. 18, 167-189, 1973.
175. Tyrakowsky, T., Knapowski, J., Baczyk, K.
Disturbances in electrolyte transport before the onset of uranyl acetate-induced renal failure.
Kidney Int. 10, S144-S152, 1976.
176. Valido, A., López-Novoa, J.M., Hernando, L.
Papaverine effect on postischemic acute renal failure in rats.
Biomedicine, 27, 278-280, 1977.
177. Wancra, P., Miller, W.C., Little, J.W., Malt, R.A.
Contribution of glomerular and tubular RNA synthesis to compensatory renal growth.
Am. J. Physiol. 219, 78- 88 , 1970.
178. Vander, A.J.
Direct effects of prostaglandin on renal function and renin release in anesthetized dogs.
Amer. J. Physiol. 214, 218-221, 1968.

179. Venkatachalam, M.A., Bernard, D.B., Donohoe, J.F. y Levinski, N.G.
Ischemic damage and repair in the rat proximal tubule: Differences among the S₁, S₂ y S₃ segments.
Kidney International 14, 31-49, 1978.
180. Venkatachalam, M.A., Rennke, H.G., Sandstrom, D.J.
The vascular basis for acute renal failure in the rat.
Circ. Res. 38, 267-279, 1976.
181. Vincent, M., Sassard, J., y Cier, J.F.
Methode rapide de determination radioimmunochimique de l'activité renine du plasma.
Rev. Europ. Et. Clin. et Biol. 17, 1001, 1972.
182. Walker, J.G., Silva, H., Lawson, T.R., Ryder, J.A., Shaldon, S.
Renal blood flow in acute renal failure measured by renal arterial infusion of indocyanine green.
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 112, 932-935, 1963.
183. Werb, R., Clark, W.F., Lindsay, R.M., Jones, E.O.P., Turnbull, O.I., Linton, A.L.
Protective effect of prostaglandin (PGE₂) in glycerol-induced acute renal failure in rats.
Clin. Sci. Mol. Med. 55, 505-507, 1978.
184. Wilson, D.R., Thiel, G., Arce, M.L., Oken, D.E.

Glycerol-induced hemoglobinuric acute renal failure in the rat: III Micropuncture study of the effects of mannitol and isotonic saline on individual nephron function.
Nephron 4, 337-355, 1967.

185. Yarger, W.E., Boyd, M.A., y Schrader, N.W.
Evaluation of methods of measuring glomerular and nutrient blood flow in rats kidneys.
Am. J. Physiol. 235, H592-H600, 1978.