

11237



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

**FACULTAD DE MEDICINA
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSTGRADO
HOSPITAL INFANTIL DE MÉXICO "FEDERICO GOMEZ"**

113

**EVALUACIÓN DEL EFECTO DE
CICLOSPORINA Y TACROLIMUS SOBRE
LA PROTEINURIA EN RATAS CON
SÍNDROME NEFRÓTICO EXPERIMENTAL**

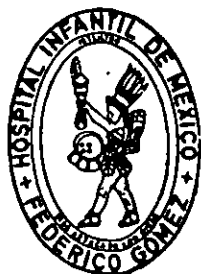
TESIS

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
PEDIATRIA MEDICA
P R E S E N T A :
DRA. VERÓNICA MORALES LUNA**

ASESORES:

DRA. MARA MEDEIROS DOMINGO.

DR. RICARDO MUÑOZ ARIZPE.



MÉXICO, D.F.

OCTUBRE 2000.

206176



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

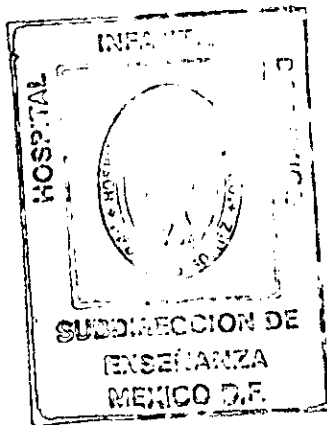
UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE MEDICINA
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSTGRADO
HOSPITAL INFANTIL DE MÉXICO "FEDERICO GOMEZ"

EVALUACIÓN DEL EFECTO DE
CICLOSPORINA Y TACROLIMUS SOBRE
LA PROTEINURIA EN RATAS CON
SÍNDROME NFRÓTICO EXPERIMENTAL.

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
PEDIATRIA MEDICA
P R E S E N T A :
DRA. VERÓNICA MORALES LUNA



ASESORES:

DRA. MARA MEDEIROS DOMINGO.

DR. RICARDO MUÑOZ ARIZPE.

MÉXICO, D.F.

AGOSTO 2000.

AGRADECIMIENTOS

A MIS PADRES

Por su amor, apoyo incondicional, confianza, gran paciencia y por existir.
Los quiero mucho.

A MIS HERMANAS

Por ser mis mejores amigas, porque hemos compartido los mejores y los peores momentos de nuestras vidas y seguimos juntas.

A MI HERMANO

Por que en su paso por la vida terrenal me enseñó la alegría de vivir, y de saber que estará presente en cada momento de mi vida, porque nuestro amor persistirá para siempre.

A MI MAMA GELA:

Por ser la mamá más maravillosa del mundo, y que DIOS me la dio a mí.

A LA DRA. MARA MEDEIROS:

Por ser inteligente, decidida, y con gran corazón, con una gran capacidad intelectual y humana; por su ánimo de enseñar y compartir sus conocimientos, por creer en mí y brindarme su ayuda para la realización de éste trabajo.

A LA BIOL. ANA MARIA:

Por todo su apoyo, sus consejos, su amistad, por que además de ser una gran profesionalista es un estupendo ser humano.

AL DR. GUILLERMO:

Por su esfuerzo dedicado, su paciencia, y por enseñarme, muchas gracias.

AL DR RICARDO MUÑOZ:

Por su paciencia, su tiempo, su experiencia compartida, por ser grande no sólo en el ámbito profesional y científico sino también en el sentido espiritual y humano. Por ser sencillamente tan brillante como es. Gracias por todo.

ÍNDICE

INTRODUCCIÓN	1
Mecanismo de acción	1
Farmacocinética	3
Efectos adversos.....	5
Presentaciones farmacéuticas	9
Síndrome nefrótico	10
Síndrome nefrótico experimental	11
Tacrolimus y ciclosporina en síndrome nefrótico experimental	12
OBJETIVO	16
JUSTIFICACIÓN	17
HIPÓTESIS	18
MATERIAL Y MÉTODOS	19
Diseño experimental	19
Método cuantitativo de proteinuria por medio del ácido sulfosalicílico.....	20
Métodos de determinación de colesterol, triglicéridos, proteínas totales, albúmina, globulinas y nitrógeno ureico	22
ANÁLISIS ESTADÍSTICO	23
TAMAÑO DE LA MUESTRA	24
RESULTADOS	25
DISCUSIÓN.....	29
BIBLIOGRAFÍA	33
ANEXOS	40

INTRODUCCIÓN

El tacrolimus (FK506, Prograf®) fue aislado de la fermentación del hongo *Streptomyces Tsukubaensis* en el norte de Japón. Es un potente inmunosupresor específico de células T. Se ha utilizado clínicamente desde febrero de 1989 aunque la Food Drug Administration (FDA) lo aprobó en 1994 y 1997 para receptores de hígado y riñón respectivamente (1). Se emplea como inmunosupresor de primera línea en la terapia de mantenimiento del trasplante renal y también se ha empleado como agente de rescate del rechazo agudo del injerto renal. La información sobre su uso en pacientes pediátricos es escasa.

Es un compuesto heterocíclico con peso molecular de 822 daltons. Estudios in vitro han mostrado que el tacrolimus es 50 a 100 veces más potente que la ciclosporina para la inhibición de interleucina-2 (1, 2).

La ciclosporina (CsA) es un polipéptido cíclico aislado de hongo *Tolypocladium inflatum gams*, lipofílico e insoluble en agua. En la actualidad se dispone de una nueva formulación, en forma de microemulsión, que se denomina ciclosporina Neoral (CsAN). Al igual que los corticoides, el tacrolimus se utiliza en el tratamiento de los episodios de rechazo celular, en cambio la CsA se usa en regímenes terapéuticos de mantenimiento.

Mecanismo de acción

El tacrolimus es un inhibidor de calcineurina. La calcineurina es una enzima ubicua, proteína heteromérica compuesta de una subunidad α -catalítica y una subunidad β -reguladora y la calmodulina (3). Al igual que la ciclosporina, se une a una inmunofilina citoplasmática diferente de la ciclofilina, denominada fugifilina. El complejo tacrolimus-fugifilina se une a los complejos calcineurina/calmodulina y bloquea su actividad como fosfatasa, de esta manera evita la desfosforilación y translocación del factor nuclear de activación de linfocitos, con lo que impide la transcripción del gen de interleucina (IL) 2, IL 3, IL 4, IL 5, el factor estimulante de granulocitos, factor de necrosis tumoral alfa e interferón gama; el efecto final es una inhibición en la activación y proliferación de células T citotóxicas (2). También puede alterar la función de la célula epitelial renal tubular, ya que el neurotransmisor en los nervios simpáticos renales, norepinefrina, regula la actividad de la Na^+ , K^+ - ATPasa en el túbulo proximal en una manera bidireccional que estimula adrenerreceptores alfa y beta que es mediada por la calcineurina (4).

La ciclosporina produce una inhibición reversible de la activación linfocitaria específica de los linfocitos T. En la superficie del linfocito la CsA se une a un receptor de membrana y penetra en la célula; posteriormente es transportada al citoplasma donde se une a la ciclofilina para penetrar a continuación en el núcleo celular donde altera la transcripción del RNA mensajero codificado para linfocinas. Así, inhibe específicamente la producción de IL-2 y disminuye la respuesta del

linfocito precitotóxico a la IL-1. Por este mecanismo, disminuye la proliferación de los linfocitos T activados por la IL-2 y suprime la proliferación de linfocitos T citotóxicos; también bloquea la producción del factor inhibitorio de migración de los macrófagos, del interferón y del factor de crecimiento de las células B (2, 5).

Farmacocinética

Después de la administración oral el tacrolimus se absorbe rápidamente con pico en la concentración plasmática a los 30 minutos. La biodisponibilidad oral varía de 6 a 43% con promedio de 20% (6 - 8). Se absorbe en el intestino delgado y se une fuertemente a los eritrocitos en la circulación, resultando en una concentración de 20:1. En el plasma la droga se une a proteínas plasmáticas (>98.8%), principalmente a la albúmina sérica y la glicoproteína ácida - α - 1. Es metabolizado por las enzimas del citocromo P450 3A4 (CYP3A4) tanto en intestino como en hígado. Se han identificado por lo menos 9 metabolitos hidroxilados y desmetilados (7 - 9). Solamente un metabolito, 31-O-desmetilado tiene actividad farmacológica similar que el componente original. Tiene una baja depuración con una proporción de extracción menor de 3% del flujo sanguíneo hepático. Se elimina principalmente (95 %) por metabolismo hepático y excreción biliar, menos de 5 % se elimina por vía renal y no se dializa (8). Debido a su alta toxicidad, a que tiene una ventana terapéutica estrecha, una gran variabilidad interindividual en la biodisponibilidad y a las interacciones medicamentosas, el monitoreo terapéutico es esencial en los pacientes que reciben este medicamento.

Los niños requieren mayores dosis en mg/kg para alcanzar niveles en valle semejantes a los adultos, al parecer debido a un aumento en la depuración (8, 10).

La CsA se puede administrar por vía oral e intravenosa. Cuando se administra por vía oral se absorbe en el intestino delgado, variando su biodisponibilidad entre 20 y 50 %, conforme el tiempo transcurre. Precisa de las sales biliares para su disolución y posterior absorción; por lo que aquellas situaciones que dificulten el paso de la bilis a la segunda porción de duodeno o alteren su composición (p ej. insuficiencia hepática, drenaje biliar externo) alterarán su absorción.

La concentración plasmática máxima se alcanza a las 3-4 horas de su administración oral y la vida media se calcula entre 12 y 17 horas. Circula unida en 70% a las células sanguíneas, en especial a los hematíes y el resto a las proteínas plasmáticas. Se metaboliza en el hígado a través del sistema del citocromo P-450 por lo que múltiples fármacos que utilizan esta misma vía metabólica interfiere en su eliminación (eritromicina, antagonistas de calcio, rifampicina, fenitoína, etc.) (11, 12). La CsA y sus metabolitos se excretan por medio de la bilis existiendo circulación enterohepática; menos de 10 % de la CsA administrada por vía oral y solo 0.1 % en forma metabólicamente activa se elimina por el riñón, por lo que la insuficiencia renal no altera en forma significativa los niveles de CsA (13). La nueva presentación ciclosporina neoral (CsAN), en comparación con la CsA tradicional presenta un perfil de absorción más uniforme y más rápido con una menor influencia de la ingesta concomitante de alimentos.

Efectos adversos

Los efectos adversos del tacrolimus incluyen neurotoxicidad que se manifiesta en 1 y 2 % con convulsiones tónico-clónicas generalizadas, de 15 a 25 % desarrollan parestesias, cefaleas, fotofobia, pesadillas, hiperestesias, confusión, coma, disartrias, psicosis y encefalopatía (10, 14). La incidencia de los efectos adversos neurológicos es de 8 a 21% y generalmente ceden con la reducción de la dosis. De las complicaciones ectodérmicas figuran la hipertricosis (entre 10 y 50%) y la hipertrofia gingival (10 - 20 %) (15).

Las alteraciones metabólicas y endocrinas son la hiperglucemia, hipercolesterolemia, hiperprolactinemia, hipotestosteronismo, ginecomastia y disminución de la espermatogénesis. La hepatotoxicidad es poco frecuente y autolimitada produciendo un cuadro enzimático de colestasis y en el paciente con trasplante de hígado es frecuente la coledocolitiasis (16). Se ha reportado efecto diabetogénico que requiere tratamiento con insulina y se presenta en forma independiente de los niveles sanguíneos. La incidencia de diabetes mellitus insulino-dependiente en niños es desconocida y ha sido informada solamente en algunos pacientes trasplantados (17). Un estudio japonés de 1995 reporta una incidencia de 22% (18) y un estudio del Hospital Johns Hopkins en 1997 revela una incidencia de 10% (14). La CsA no presenta toxicidad medular pero se ha descrito anemia hemolítica en menos del 1 % que se manifiesta como síndrome hemolítico-urémico, que es reversible al disminuir la dosis (19).

El tacrolimus favorece la aparición de infecciones virales así como enfermedad linfoproliferativa asociada a virus de Epstein-Barr (20).

El desarrollo de tumores "de novo" es una complicación documentada; la incidencia de linfomas no-Hodgkin era de 11% y después de la utilización de CsA incrementó a 27%. El tacrolimus incrementa la incidencia de linfomas en un 13 % del riesgo habitual de la población general (21).

La incidencia de hipertensión arterial se reporta en un 85% (14, 22) y la etiología puede ser multifactorial uniendo el efecto tóxico de la CsA, la administración de corticoides y el exceso de peso habitual de estos pacientes (21). El rol del sistema renina-angiotensina ha sido extensamente discutido. Ambos CsA y tacrolimus estimulan directamente la síntesis de endotelina y su liberación de las células renales. Esta liberación puede participar en una vasoconstricción renal aguda y crónica inducida por la CsA ya que esto es reducido por anticuerpos anti-endotelina o antagonistas de los receptores de endotelina. La CsA también potencializa la angiotensina II, induciendo movilización de calcio, incrementa los niveles de endotelina 1 (en el hígado y los riñones) durante el rechazo agudo. También se ha demostrado que la CsA mejora la actividad del sistema nervioso simpático, aumenta la expresión de enzimas antioxidantes, inhibe la unión de adenosina con los glóbulos rojos incrementando los niveles plasmáticos de la misma, y también estimula la producción de tromboxano A2 (3).

La nefrotoxicidad es uno de los efectos más importantes de la CsA y aún más del tacrolimus que puede manifestarse como trastornos tubulares, desequilibrio

electrolítico tales como hipercaliemia e hipomagnesemia ó insuficiencia renal aguda; también se han descrito lesiones túbulointersticiales irreversibles, semejantes a las observadas con ciclosporina (14). Los mecanismos fundamentales de nefrotoxicidad inducidos por la CsA y el tacrolimus no son totalmente entendidos. La toxicidad aguda ocurre en las primeras semanas o en los primeros meses de tratamiento. La disminución en la función renal está relacionada a la dosis y es principalmente causada por la inducción de constricción de la arteriola aferente predominantemente y disminución en la velocidad de filtración glomerular. Hemodinamicamente la toxicidad aguda es usualmente leve y es reversible al reducir o suspender la dosis de CsA. La nefrotoxicidad crónica es un daño progresivo, irreversible y no dependiente de la dosis de la función renal después de la exposición a largo plazo sin evidencia de rechazo. La toxicidad crónica está asociada con el inicio de fibrosis túbulointersticial en el exterior de la médula y progresando a los rayos medulares de la corteza, atrofia tubular y cambios hialinos degenerativos característicos en las paredes de arteriolas, especialmente las aferentes, las cuales podrían resultar en arteriopatía obliterativa y esclerosis glomerular hacia abajo de la circulación o colapso. Esta lesión es frecuentemente asociada con hipertensión y tubulopatía. El tacrolimus, al igual que la CsA también induce vasoconstricción renal con una disminución de la velocidad de filtración glomerular y alta resistencia renal que se ha observado tres meses después del trasplante. Estos efectos son, en una mínima parte, dependientes de los

niveles alcanzados en la fase temprana post-trasplante, pero no por el uso previo de inducción de la terapia (23).

Los efectos de inmunosupresión de CsA y tacrolimus resultan ambos de la inhibición de la calcineurina y de la sobreexpresión de la transformación del factor de crecimiento beta (TGF- β). Estos efectos también pueden resultar en nefrotoxicidad. La CsA y el tacrolimus son drogas que primero se unen a una inmunofilina citoplasmática para crear un complejo droga-proteína que inhiba la acción de la calcineurina. La calcineurina es una enzima ubicua. La desfosforilación del factor nuclear activador de los linfocitos T dependiente de calcineurina facilita su importación nuclear. Subsecuentemente, el factor nuclear de activación de células T induce la generación de citoquinas, las proteínas de la superficie celular y las proteínas unidas a DNA. La inhibición de la calcineurina previene la transcripción del mRNA de los genes codificadores de IL-2 y otras citoquinas tales como IFN- γ , IL-3, IL-4, IL-5 y TNF- α . Sin embargo, la CsA inhibe la actividad de la calcineurina solamente en un 50% en niveles sanguíneos sostenidos y en un 70 % en el pico máximo. Mientras que el tacrolimus se reporta de 50 a 100 veces más potente en cuanto a ésta acción. La calcineurina está localizada en los túbulos proximales, los túbulos colectores corticales y medulares de las ramas ascendentes. La calcineurina regula la activación de la Na⁺ - K⁺ - ATPasa en el epitelio renal. En los túbulos colectores, la CsA y el tacrolimus disminuyen la actividad de la Na⁺ - K⁺ - ATPasa en un 35 y 85 % respectivamente. Ambos regulan la producción de las tres isoformas TGF- β , TGF- β 1, - β 2 y - β 3. El

TGF- β probablemente contribuye con ambos inmunosupresores (CsA y tacrolimus) en la fibrosis deletérea (24). El TGF- β aumenta el depósito de matriz extracelular, por estimulación directa de síntesis de componentes individuales de la misma; bloquea la degradación de la matriz por disminución de la síntesis de proteasas y estimulación de inhibidores de proteasa tales como el inhibidor del plasminógeno activado - 1 (PAI- 1) (25). También incrementa la producción de endotelina-1, y la actividad simpática del riñón. Sin embargo parece que la inmunosupresión y los efectos nefrotóxicos de CsA y probablemente del tacrolimus están enlazados en la inhibición de la actividad fosfatasa de la calcineurina que conduce a una reducción de citoquinas y a una estimulación del sistema renina-angiotensina, el cual regula TGF- β . El desarrollo de las lesiones fibrosas túbulointersticiales de la nefropatía crónica puede ser dependiente de un balance entre la generación de TGF- β que promueve la fibrosis y las citoquinas que la inhiben (26). Un parámetro temprano de la nefrotoxicidad es vacuolización tubular, si se administra el tacrolimus por largo tiempo se asocia con hialinosis arteriolar y fibrosis intersticial, previamente descritos con ciclosporina (27).

Presentaciones farmacéuticas

Prograf® = Tacrolimus.

Cápsulas de 1 y 5 mg de tacrolimus anhidro. Cajas con 10, 30, 50 cápsulas.

Ampolletas de 1 ml solución estéril que contiene 5 mg/mL de tacrolimus anhidro para uso intravenoso (8).

Sandimmun® Neoral = Ciclosporina.

Cápsulas en una microemulsión: Neoral®: 25 mg, 100 mg.

Cápsulas: Sandimmun®: 25 mg, 50 mg, 100 mg.

Inyección: 50 mg/mL (5 mL).

Solución oral: Sandimmun®: 100 mg/mL (50 mL). Solución en microemulsión;

Neoral®: 100 mg/mL (6, 7).

Síndrome nefrótico

El síndrome nefrótico (SN) se caracteriza clínicamente por la asociación de edema, oliguria, proteinuria, hipoalbuminemia e hipercolesterolemia. Puede aparecer en cualquier edad, durante el curso de enfermedades renales o sistémicas con involucro renal.

La lesión histológica más frecuente en niños es la de cambios glomerulares mínimos con fusión de los podocitos en la microscopía electrónica, sin depósitos en la inmunofluorescencia. En algunos casos se encuentra proliferación mesangial difusa o esclerosis glomerular focal y segmentaria, pueden estar presentes depósitos de IgM o C3.

Aproximadamente 10% de los niños con SN no responden al tratamiento con esteroides y presentan complicaciones extrarrenales del SN, además del riesgo de desarrollar insuficiencia renal crónica terminal (28, 29).

Síndrome nefrótico experimental

Existen diferentes modelos animales de síndrome nefrótico utilizando nucleótidos como aminonucleósido de puromicina (ANP) o adriamicina y se han caracterizado la secuencia de eventos clínicos e histopatológicos (25, 26).

La inducción de nefrosis por el aminonucleósido de puromicina en ratas ha sido estudiada extensivamente desde la primera descripción en 1955 . La enfermedad puede ser inducida por una sola inyección intravenosa o subcutánea 150 mg/kg diluida al 2% en solución salina isotónica, (25, 29) o por inyecciones intraperitoneales diarias (3) hasta llegar a la dosis total de 15 mg por 100 g de peso corporal. El mecanismo de la proteinuria ha sido foco de investigación. Diversos experimentos con peroxidasa aniónica, neutral y catiónica indican una pérdida temprana de la barrera con carga selectiva para la filtración glomerular. Las principales lesiones ultraestructurales fueron vacuolización de podocitos y fusión total de pedicelos con pérdida de hierro coloidal – polianión reactivo del estrato en la superficie epitelial adyacente a la membrana basal. Los glomérulos generalmente son de celularidad normal (29) pero también hay proliferación mesangial (3) con membrana basal capilar muy delgada. Las cápsulas de Bowman dilatadas muestran numerosas vacuolas. Los espacios urinarios se encuentran ensanchados y pueden contener precipitados hialinos. El epitelio tubular se aplana con medios acidófilos focales. El intersticio exhibe esparcidos linfocitos y otras células mononucleares. Los vasos son normales (29).

La evolución en el tiempo se ha descrito de la siguiente manera: las ratas desarrollan proteinuria en los días 4 a 30 y presentan hipoproteinemia en los días 4 a 16, que se considera la etapa nefrótica, posteriormente la proteinuria va desapareciendo después del día 30, también hay incremento en los lípidos séricos incluyendo colesterol, triglicéridos, lipoproteínas de alta y de baja densidad durante la etapa nefrótica (30).

Tacrolimus y ciclosporina en síndrome nefrótico

La ciclosporina y tacrolimus ejercen sus propiedades inmunosupresoras en caminos similares de transducción intracelular. La ciclosporina A (CsA) ha demostrado ser útil en el manejo del síndrome nefrótico idiopático tanto de primera intención como en los casos de corticorresistencia, corticodependencia y recaídas frecuentes y el porcentaje de remisión se informa de 36-87%, según la serie. También la CsA es capaz de disminuir la proteinuria en ratas nefróticas, aún cuando en el modelo animal el síndrome nefrótico se debe al efecto tóxico de un fármaco y no a un trastorno inmunológico como puede suceder en la práctica clínica, de esta manera hay dos acciones de la CsA en el síndrome nefrótico, la primera es la acción inmunológica, presumiblemente dirigida al factor de permeabilidad glomerular secretado por linfocitos T, la segunda acción no es inmunológica y se debe tanto a una disminución en la velocidad de filtración glomerular como a la disminución de la permeabilidad a la albúmina por la pared capilar glomerular (26 - 31). En el caso específico del modelo nefrótico por ANP

se ha postulado que la CsA tiene efecto benéfico al aumentar la expresión de enzimas antioxidantes (30). El mecanismo del efecto antiproteinúrico del tacrolimus es probablemente multifactorial y puede variar según la lesión histológica. Los diversos modos de acción incluyen; inhibición de células T mediadas por la producción de linfocinas, mejoría en la permeabilidad selectiva de la membrana basal glomerular independiente de la producción de linfocinas, corrección de un defecto inmunológico fundamental o una reducción de la filtración glomerular (32- 33). En contraste con la ciclosporina, el tratamiento de síndrome nefrótico con tacrolimus ha sido reportado en pocos casos con buenos resultados aún en pacientes que no habían respondido a ciclosporina (Shapiro), también se han documentado casos por diversos grupos de trasplante en donde pacientes con proteinuria masiva mejoran al ser convertidos de ciclosporina a tacrolimus (34 - 37).

McCauley y Shapiro en 1993 realizan un estudio piloto utilizando tacrolimus para el manejo de síndrome nefrótico corticorresistente. Siete pacientes con síndrome nefrótico corticorresistente fueron tratados con tacrolimus como monoterapia a dosis de 0.15 mg/kg/día. Todos los pacientes habían sido tratados con corticoesteroides (prednisona), de los cuales además dos recibieron ciclofosfamida, dos más ciclosporina y uno clorambucil. Cuatro pacientes fueron niños (edad entre 2.5 - 13 años) con lesiones histopatológicas de glomerulonefritis con esclerosis focal, tres fueron adultos (edad de 20 - 40 años) con glomerulonefritis membranosa, membranoproliferativa y proliferación mesangial. Se observaron tres

patrones de respuesta al tratamiento: reducción de proteinuria a niveles normales, respuesta parcial (50 % de reducción) y sin mejoría de la proteinuria. Todos los pacientes excepto uno, experimentaron una reducción mínima de 50 % en la excreción urinaria de proteínas. El máximo beneficio ocurrió en la mayoría de los pacientes dentro de los dos primeros meses. La duración del tratamiento en promedio fue de 5 a 14 meses (36).

En las ratas nefróticas tratadas con APN, la retención de sodio está asociada con incremento de la actividad de la $\text{Na}^+ \text{K}^+ \text{-ATPasa}$ en la cortical de los túbulos colectores (CTC). Deschênes y Doucet realizaron un estudio en síndrome nefrótico experimental, donde evaluaron si la estimulación de la $\text{Na}^+ \text{K}^+ \text{-ATPasa}$ en la cortical de los túbulos colectores es una característica de otros síndromes nefróticos experimentales, si podría ser responsable de la retención renal de sodio y si esto es mediado por incremento plasmático de los niveles de vasopresina o activación de calcineurina. Para éste propósito el tiempo de excreción urinaria de sodio y proteínas, balance de sodio, ascitis, y la actividad de la $\text{Na}^+ \text{K}^+ \text{-ATPasa}$ en microdisecciones de CTC fueron estudiados en ratas con nefróticas por APN o adriamicina o nefropatía por HgCl_2 . Los roles de la calcineurina y vasopresina en nefrosis por APN fueron evaluados midiendo los parámetros en ratas Brattleboro y en ratas Sprague Dawley, Brown Norway y Long-Evans tratadas con ciclosporina y tacrolimus a dosis de 8 y 4 mg/kg/día respectivamente. A pesar de los diferentes patrones de cambios en la excreción urinaria de sodio y proteínas en los tres modelos de síndrome nefrótico, hubo una relación lineal entre la actividad de la

$\text{Na}^+ \text{K}^+$ -ATPasa en los CTC y la excreción de sodio en los tres casos ($p < 0.001$). Los resultados también indicaron que no hubo correlación entre la proteinuria y la retención de sodio, pero la ascitis estuvo presente solamente cuando la proteinuria estuvo asociada con marcada reducción de excreción de sodio. Finalmente, la falta de vasopresina en ratas Brattleboro o la inhibición de calcineurina por administración de ciclosporina o tacrolimus no previene desarrollo de síndrome nefrótico en ratas tratadas con APN o la estimulación de la $\text{Na}^+ \text{K}^+$ -ATPasa en los CTC. Se concluye que la estimulación de la $\text{Na}^+ \text{K}^+$ -ATPasa en los CTC en ratas nefróticas podría ser responsable de la retención de sodio y que éste fenómeno es independiente de la proteinuria, de la vasopresina y de la actividad de la calcinerina (38).

OBJETIVO

Estudiar el efecto del tacrolimus y la ciclosporina sobre la proteinuria en ratas nefróticas.

JUSTIFICACIÓN

La ciclosporina, un inhibidor de calcineurina menos potente que el tacrolimus es capaz de disminuir la proteinuria tanto en pacientes como en modelos animales de síndrome nefrótico. Existen reportes clínicos que sugieren que el tacrolimus puede ser de utilidad en el manejo de los pacientes con síndrome nefrótico. No existe información en la literatura acerca del efecto del tacrolimus sobre la proteinuria del síndrome nefrótico experimental.

HIPÓTESIS

Si el tacrolimus es más potente que la ciclosporina como inhibidor de calcineurina, suponemos que es por lo menos 30 % más eficaz que la ciclosporina para reducir la proteinuria en ratas con síndrome nefrótico experimental.

MATERIAL Y MÉTODOS

Diseño experimental

Se realizó un estudio prospectivo, comparativo, longitudinal, experimental, con cuatro grupos de ratas Wistar macho, de 6 a 8 semanas de edad, con acceso libre al agua y al alimento, colocadas en jaulas metabólicas para recolección de orina.

Grupo I.- A seis ratas se les inyectó ANP 150 mg/kg vía subcutánea, diluido al 2% en solución salina isotónica, dosis única. Cuatro días después de la inyección de ANP recibieron tacrolimus 0.3 mg/kg/día vía oral diluido en 0.3ml de aceite de maíz durante diez días.

Grupo II.- Seis ratas a quienes se les inyectó ANP 150 mg/kg vía subcutánea, diluido al 2% en solución salina isotónica, dosis única. Cuatro días después de la inyección de ANP recibieron ciclosporina en microemulsión 20 mg/kg/día, diluida en 0.2mL de aceite de maíz durante diez días.

Grupo III.- A seis ratas se les inyectó ANP 150 mg/kg vía subcutánea, diluido al 2% en solución salina isotónica, dosis única. Cuatro días después de la inyección de ANP recibieron 0.2mL de aceite de maíz durante diez días (25, 29).

Grupo IV. Seis ratas testigo "puro", no recibieron ANP. Se les administró 0.2mL de aceite de maíz vía oral durante 10 días.

En los cuatro grupos se administraron los preparados con pipeta graduada automática de 2 pasos. En todos los grupos se cuantificó proteinuria de 24 horas

durante 14 días. En el día 15 se sacrificaron y se determinó colesterol, triglicéridos, creatinina, nitrógeno ureico, proteínas totales y sus fracciones en sangre. Los riñones se extrajeron para estudio anatomopatológico, se les realizaron cortes histológicos del tejido renal con tinción de hematoxilina y eosina en búsqueda de datos de toxicidad y de los hallazgos característicos del modelo de síndrome nefrótico experimental.

Dado que los animales con síndrome nefrótico tienen susceptibilidad al desarrollo de infecciones, principalmente por gérmenes encapsulados se extremaron las medidas de higiene en el bioterio para disminuir el riesgo de infecciones, para lo cual los animales fueron manipulados con guantes estériles, cambio diario de jaula metabólica así como cambio diario de agua purificada y alimento.

Método cuantitativo de proteinuria por medio del Ácido Sulfosalicílico.

Fundamento:

La proteína es precipitada por el ácido sulfosalicílico; este precipitado desarrolla una turbidez homogénea, la cual es comparada colorimétricamente con la producida por cantidades conocidas de albúmina.

Reactivos:

- 1) Ácido sulfosalicílico (ASS) al 3 %. Se disuelven 30 g en cantidad suficiente para completar 1000 mL de agua destilada.

2) Solución salina isotónica.

Material:

- 1) Tubos de vidrio de 150 x 15 mm.
- 2) Celdillas para leer en Coleman Jr.
- 3) Fotocolorímetro Coleman Jr.
- 4) Pipeta de vidrio.
- 5) Pipeta graduada automática de dos pasos.

Procedimiento:

- 1) A 4.0 mL de orina agregar 6.0 mL de ASS al 3 %. Mezclar bien.
- 2) Preparar un testigo, usando 4.0 mL de orina y 6.0 mL de solución salina.
- 3) Leer después de 5 minutos a 660 nm en fotocolorímetro Coleman Jr., poniendo a 100% de transmitancia el testigo.

Curva de calibración:

- 1) Determinar el contenido de proteínas de una solución conocida (suero humano, albúmina Armour, etc.).
- 2) Preparar estándares de 10 a 100 mg/dL por disolución con solución salina.
- 3) Hacer una gráfica comparando porcentaje de transmitancia versus

concentración (39-41):

Métodos de determinación de colesterol, triglicéridos, proteínas totales, albúmina, globulinas, nitrógeno ureico

Creatinina

La creatinina sérica se determinó por medio del método Jaffe.

Proteínas totales

Se cuantificaron por medio del método Biuret.

Albúmina

Se determinó con la técnica Verde Bromucresol.

Colesterol

Se cuantificó con la técnica de Trinder.

Urea

Se determinó a través del método de Friedman.

Todos se procesaron en un aparato Monarch plus de Instrumentation Laboratory.

Criterios de exclusión

Animales que padecieron alguna enfermedad durante la administración subcutánea de ANP.

Criterios de eliminación

Ratas que desarrollaron algún proceso infeccioso. Fueron vigiladas diariamente por Médico Veterinario.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Las diferencias entre los 4 grupos se analizaron con la prueba ANOVA.

Todos se procesaron en un aparato Monarch plus de Instrumentation Laboratory.

Criterios de exclusión

Animales que padecieron alguna enfermedad durante la administración subcutánea de ANP.

Criterios de eliminación

Ratas que desarrollaron algún proceso infeccioso. Fueron vigiladas diariamente por Médico Veterinario.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Las diferencias entre los 4 grupos se analizaron con la prueba ANOVA.

TAMAÑO DE LA MUESTRA

Se realizó el cálculo con ayuda del programa de cómputo Sigmastat versión 1.0, considerando un valor de alfa de 0.05 y beta de 0.999, consideramos encontrar una diferencia en el control de la proteinuria con tacrolimus de por lo menos 30% con respecto al grupo que recibe ciclosporina, con lo que se calcula un tamaño de muestra de 4 sujetos de estudio, y se decide ampliar a 6 sujetos.

En la Tabla 1 se muestran los valores esperados para las determinaciones séricas de albúmina, colesterol y triglicéridos así como la proteinuria en las ratas nefróticas y ratas normales (42, 43).

Tabla 1. Determinaciones bioquímicas en ratas nefróticas y ratas normales.

Determinaciones	Nefróticas	Normales
Colesterol mg/dL	392 ± 109.2	132 ± 12.7
Triglicéridos mg/dL	202 ± 92	40.5 ± 26
Albúmina g/dL	0.48 ± 0.5	2.9 ± 0.3
Proteinuria (mg/24h)	308 ± 110	0

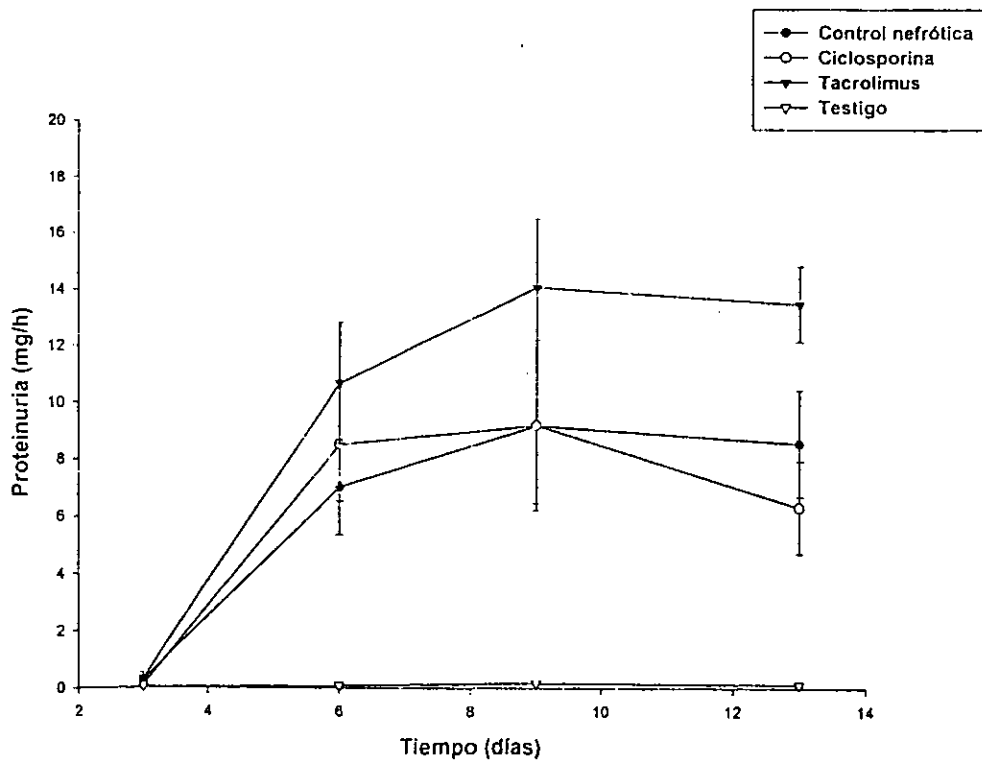
RESULTADOS

Todas las ratas que recibieron ANP desarrollaron síndrome nefrótico. Como se ha referido en la literatura para el modelo de síndrome nefrótico la proteinuria comenzó en el día 4, llegando a tener el pico máximo en el día 10, permaneciendo hasta el día 15 en que se terminó el estudio. La concentración de proteínas en orina fue diferente en los 4 grupos. En la Tabla 2 se describe la proteinuria en los diferentes grupos en los días 3, 6, 9 y 13 posterior a la administración de APN. Se puede apreciar que en el día 3 los grupos de ratas nefróticas tuvieron una proteinuria similar. Las diferencias en el efecto de CsA y tacrolimus sobre la proteinuria son aparentes desde el día 6 y significativamente diferentes en el día 9. Las ratas del Grupo II, que fueron las que se trataron con ciclosporina, tuvieron reducción de 25 % de la proteinuria en comparación con las ratas nefróticas sin CsA o tacrolimus (Grupo III), pero la diferencia no fue significativa con $p > 0.05$, al prolongar la prueba unos días más, la diferencia estadística hubiera sido significativa. Las ratas del Grupo I, que recibieron tratamiento con tacrolimus incrementaron la proteinuria 64 % en comparación con el Grupo II (ratas nefróticas), y 46.8 % con respecto al Grupo III con diferencia significativa y una $p < 0.05$. Como es de esperarse el grupo de ratas controles o blanco (Grupo IV) no tuvo variación en la proteinuria durante el experimento. La Gráfica I muestra las diferencias entre los cuatro grupos.

Tabla 2. Proteinuria (mg/h) en colección urinaria de 24 horas en los días 3, 6, 9 y 13 en los 4 grupos de ratas.

Días posteriores a la administración de APN	Grupo I Tacrolimus P < 0.05	Grupo II Ciclosporina P > 0.05	Grupo III Nefróticas	Grupo IV Controles
Tercero	0.32 ± 0.21	0.10 ± 0.04	0.29 ± 0.14	0.05 ± 0.02
Sexto	10.69 ± 2.14	8.53 ± 2.00	7.03 ± 1.68	0.09 ± 0.06
Noveno	14.10 ± 2.43	9.22 ± 2.99	9.21 ± 2.74	0.09 ± 0.00
Decimotercero	13.50 ± 1.36	6.32 ± 1.62	8.57 ± 1.88	0.18 ± 0.11

Gráfica I. Evolución de la proteinuria en los cuatro grupos de ratas.



Las variables bioquímicas (creatinina, urea, nitrógeno ureico, proteínas totales, albúmina, colesterol y triglicéridos) en los 4 grupos se muestran en la Tabla 3.

Todos los grupos nefróticos tuvieron hipoalbuminemia, hipercolesterolemia e hipertrigliceridemia. Puede apreciarse que la hipoalbuminemia e hipercolesterolemia fueron más acentuadas en el grupo de ratas que recibió tacrolimus (Grupo I) que en el resto de ratas nefróticas (Grupo II, Grupo III), con una diferencia significativa $p < 0.05$.

Tabla 3. Variables bioquímicas determinadas en los 4 grupos de estudio.

Variables	Grupo I Tacrolimus	Grupo II Ciclosporina	Grupo III Nefróticas	Grupo IV Controles
BUN mg %	15.33 ± 1.17	22.83 ± 4.11	17.66 ± 2.18	12.50 ± 1.50
Creatinina g/dL	0.61 ± 0.04	0.71 ± 0.07	0.71 ± 0.04	0.85 ± 0.05
Colesterol mg%	193.1 ± 26.60	180.8 ± 39.75	165 ± 22.99	78.33 ± 26.8
Triglicéridos mg%	335.1 ± 123.7	147.3 ± 40.95	333.2 ± 145.9	46.5 ± 5.75
Proteínas totales g%	5.56 ± 0.31	5.43 ± 0.19	5.58 ± 0.52	5.45 ± 0.55
Albúmina g%	2.25 ± 0.10	2.48 ± 0.18	2.48 ± 0.22	2.80 ± 0.20

El hallazgo histológico más frecuente en los riñones de todas las ratas nefróticas fue la proliferación mesangial. En la tabla 4 se muestran los hallazgos histológicos en los cuatro grupos de ratas.

Tabla 4. Hallazgos histopatológicos en los 4 grupos de ratas.

R	Grupo I	Grupo II	Grupo III	Grupo IV
1	Proliferación mesangial moderada.	Proliferación mesangial mínima.	Proliferación mesangial leve difusa.	Proliferación mesangial leve difusa.
2	Hidronefrosis, proliferación mesangial de leve a moderada.	Proliferación mesangial mínima.	Hiperplasia mesangial de leve a moderada difusa.	Hiperplasia mesangial leve difusa.
3	Proliferación mesangial difusa leve, nefritis túbulointersticial crónica focal	Proliferación mesangial leve, nefritis túbulo intersticial focal leve.	Proliferación mesangial leve, dilatación del sistema pielocalicial unilateral.	Proliferación mesangial leve, algunos túbulos dilatados.
4	Proliferación mesangial difusa leve, nefritis túbulointersticial leve difusa.	Proliferación mesangial leve difusa, nefritis túbulointersticial focal y necrosis tubular aguda focal.	Proliferación mesangial leve, dilatación tubular focal.	Congestión vascular leve.
5	Proliferación mesangial difusa leve, nefritis túbulointersticial leve, focal plus, menos del 50 %, necrosis tubular aguda.	Proliferación mesangial leve.	Proliferación mesangial difusa leve, hidronefrosis, nefritis túbulointersticial difusa leve, necrosis tubular aguda focal.	Sin alteraciones
6	Proliferación mínima segmentaria focal, cilindros hialinos, dilatación tubular y vacuolización de los túbulos.	Proliferación mesangial muy leve, túbulos dilatados, infiltrado inflamatorio intersticial multifocal.	Proliferación mesangial mínima, hidronefrosis, túbulos con vacuolización, necrosis aislada, inflamación intersticial focal.	Sin alteraciones

DISCUSIÓN

Desde la década de los ochentas la ciclosporina ha sido la base de la terapia inmunosupresora en pacientes con trasplante renal. Más recientemente, su primacía fue cambiada por el tacrolimus, también inhibidor de la calcineurina. Aún comparando el tacrolimus con la nueva microemulsión de ciclosporina (Neoral), el tacrolimus es todavía superior en la prevención de rechazo, especialmente en rechazos clínicamente graves y refractarios (27). Sin embargo, en síndrome nefrótico la ciclosporina con sus acciones inmunológicas y no inmunológicas es una terapia que se puede usar de primera instancia o en casos de corticodependencia y corticorresistencia, con buenos resultados. El tacrolimus no ha sido demostrado que sea eficaz en el síndrome nefrótico, los reportes son escasos y se tratan de casos aislados de pacientes con proteinuria masiva que mejoraron incluso al convertirlos de CsA a tacrolimus.

En nuestro estudio el tacrolimus no disminuyó la proteinuria en ratas con síndrome nefrótico experimental, al contrario, la incrementó en 66 %, mientras que la ciclosporina la redujo en 25 %. Esto debido posiblemente a que el tacrolimus es una droga muy nefrotóxica. En el estudio piloto realizado por McCauley y Shapiro (1993) de siete pacientes con síndrome nefrótico corticorresistente, el tacrolimus indujo remisión parcial en tres pacientes y remisión completa en tres. Tres de los siete pacientes habían sido tratados previamente con ciclosporina (36). En nuestro estudio las seis ratas tratadas con tacrolimus incrementaron su proteinuria. Las

acciones de la CsA en el síndrome nefrótico están bien determinadas; la inmunológica presumiblemente dirigida al factor de permeabilidad glomerular secretado por los linfocitos T y la no inmunológica que consiste en la disminución de la permeabilidad a la albúmina, disminución de la filtración glomerular y en el caso del modelo nefrótico por ANP al aumentar la expresión de enzimas oxidantes. El tacrolimus por ser 50 a 100 veces más potente en cuanto a la acción inmunológica se pensó que disminuiría la proteinuria con mejor eficacia que la CsA, sin embargo sus efectos nefrotóxicos, como se observa en los hallazgos histopatológicos, no sólo impidieron este efecto, sino que inclusive aumentó la excreción urinaria de proteínas.

La dosis de tacrolimus como terapia de mantenimiento de inmunosupresión es de 0.1 a 0.15 mg/kg y se ajusta con los niveles séricos, en nuestro estudio fue de 0.3 mg/kg/día, que se usa en la terapia de rescate en pacientes con rechazo del injerto renal (44, 45). En diferentes estudios realizados en ratas para otros fines, las dosis son muy variadas de 4 mg/kg (46) (como inmunosupresor de trasplante intestinal en ratas, para valorar su toxicidad y eficacia mediante cronofarmacología), de 1 mg/kg y de 0.3 mg/kg (47) (en un estudio que combinan efecto de tacrolimus y FTY720 en trasplante hepático en ratas). No fue posible realizar determinaciones de niveles séricos de tacrolimus en nuestro estudio que se asociaran a nefrotoxicidad, pero si se realizaron los estudios histopatológicos de los riñones.

Al igual que en otros estudios, la etapa nefrótica se desarrolló a partir del cuarto día y persistió hasta el día 15, que fue cuando concluyó el estudio, ya que se refiere

que persiste hasta el día 30. En estudios previos la proteína A, con peso molecular de 206 kD, aparece desde el día cuatro. Las concentraciones urinarias de albúmina, proteína C y proteína D llegan a ser similares en los hallazgos séricos durante la intensa hipoproteïnemia. Ha sido demostrado que las proteínas de alto peso molecular tales como los factores de coagulación VIII (330 kD) y XI (160 kD) y ceruloplasmina (124 kD) son excretadas en la orina de las ratas nefróticas. Así mismo, la actividad aumentada de la enzima convertidora de angiotensina encontrada en estas ratas ha sido atribuida al incrementar las pérdidas del plasma debido a la alteración de la filtración glomerular (48). Todas las ratas de nuestro estudio mostraron hipertrigliceridemia, hipercolesterolemia, hipoalbuminemia, pero fue más pronunciada en las que recibieron tacrolimus, que se puede explicar por la falta de respuesta al tratamiento y no concuerda con los informes que narran que la hiperlipidemia es mejor controlada, incluso en pacientes que previamente se trataron con CsA (27).

Se observó como principal hallazgo histopatológico la proliferación mesangial acompañada de dilatación de los túbulos. Como se informó en estudios previos los cambios de los riñones nefróticos secundarios a la administración de ANP incluyen proliferación mesangial y daño celular epitelial, que fue observado en nuestro estudio, con obliteración de los pedicelos, microvellosidades y desprendimiento de las células epiteliales de la membrana basal glomerular (43). Los datos de nefrotoxicidad se observaron principalmente en las ratas tratadas con tacrolimus y fueron la vacuolización de los túbulos y la nefritis túbulointersticial. Se

encontraron datos de hidronefrosis en varias ratas de diferentes grupos, por lo que no se puede determinar si el tratamiento recibido influyó en su aparición, y no se encontraron lesiones vasculares.

En conclusión, a pesar de que el tacrolimus y la CsA son inhibidores de la calcineurina y el primero se ha descrito de 50 a 100 veces más potente en cuanto a ésta acción, no mejoró la proteinuria en ratas con síndrome nefrótico experimental; al contrario, el tacrolimus la incrementó en 66 % mientras que la CsA la redujo en 25 %. Esto debido posiblemente a la nefrotoxicidad del tacrolimus.

BIBLIOGRAFIA.

1. The U.S. Multicenter FK506 Liver Study Group. A comparison of tacrolimus (FK 506) and cyclosporine for immunosuppression in liver transplantation. *N Engl J Med* 1994; 331(27): 1110-1115.
2. Jiang H, Kobayashi M. Differences between cyclosporine and tacrolimus in organ transplantation. *Transplant Proc.* 1999, 31: 1978-1980.
3. Ader JL, Rostaing L. Cyclosporine nephrotoxicity: pathophysiology and comparison with FK-506. *Curr Opin in Nephrol Hypertens* 1998, 7: 539-545.
4. Holtbäck U, Eklöf A-C. Mechanism of FK 506/520 action on rat renal proximal tubular Na⁺, K⁺ - ATPase activity. *Kidney Int* 1999; 56: 1014-1021.
5. Bunjes D, Hardt C, Rollighoff M, Wagner H. Cyclosporine mediates immunosuppression of primary cytotoxic T cell responses by impairing the release of interleukin-1 and interleukin-2. *Eur J Immunol* 1981; 11: 657-661.
6. Tojimbara T, Kimikawa M, Nakajima I, Sato S, Nakamura H, Ishida H, Tanabe K, Koyama I, Utsumi K, Sannomiya A, Tsuji K, Fuchinoue S, Agishi T. Oral vs. intravenous tacrolimus-based induction therapy in renal transplantation. *Transplant Proc* 1999; 31: 2763-2764.

7. Kaplan B, Lown K, Craig R, Abecassis M, Kaufman D, Leventhal J, Stuart F, Meier-Kriesche H-U, Fryer J. Low bioavailability of cyclosporine microemulsion and tacrolimus in a small bowel transplant recipient. *Transplantation* 1999; 67 (27): 333-338.
8. Undre NA, Stevenson P, Schäfer A. Pharmacokinetics of tacrolimus: clinically relevant aspects. *Transplant Proc* 1999; 31 (suppl 7^a): 21S-24S.
9. Venkataramanan R, Jain A, Cadoff P. Pharmacokinetics of tacrolimus: preclinical studies. *Transplant Proc* 1990; 22 (suppl 1) : 5.
10. Wood AJ, Maurer G, Niederberger W. Cyclosporine pharmacokinetics, metabolism and drug interactions. *Transplant Proc* 1988; 20 (suppl 1): 641.
11. Maurer G. Metabolism of cyclosporine. *Transplant Proc* 1985; 17 (suppl 1): 19.
12. Hamed RM. Treatment of idiopathic nephrotic syndrome with cyclosporine A in children. *J Nephrol* 1997; 10 (5): 266-270.
13. Mckee M, Segev D, Wise B, Case B, Neu A, Fivush B, Colombani P. Initial experience with FK 506 (tacrolimus) in pediatric renal transplant recipients. *J Pediatr Surg* 1997; 32 (5): 688-690.
14. Paterson DL, Singh N. Interactions between tacrolimus and antimicrobial agents. *Clin Infect Dis* 1997; 25: 1430-1440.

15. De Groen PC, Aksamit AJ, Rakela J. The role of cyclosporine A and cholesterol in a central nervous system syndrome after liver transplantation. *N Eng J Med* 1987; 317: 861-866.
16. Lorber MI, Van Buren CT, Flechner S. Hepatobiliary and pancreatic complications of the cyclosporine therapy following renal transplantation. *Transplant Proc* 1987; 19: 1808-1810.
17. Ishibashi M, Miyamoto S, Nojima M, Yoshimoto T, Yabumoto H, Mori Y, Shima H. Elimination of the adverse effects of tacrolimus-based induction therapy by a 5-day exposure of optimal steady-state blood concentration in renal transplant patients in the early postoperative period. *Transplant Proc* 1999; 31: 2761-2762.
18. Moxey-Mims MM, Kay C, Light AJ, Kher KK. Increased incidence of insulin-dependent diabetes mellitus in pediatric renal transplant patients receiving tacrolimus (FK506). *Transplantation*, 1998, 65,5: 617-619.
19. Shapiro R. Tacrolimus (FK506) in kidney transplantation. *Transplant Proc.* 1999, 31: 45-47.
20. Shapiro R. Tacrolimus in pediatric renal transplantation: a review. *Pediatr Transplantation*, 1998, 2: 270-276.
21. Leal JC, Marin MC, Barrios C. Angiotensin-Aldosterone system and arterial hypertension following orthotopic liver transplantation. *Transplant Proc* 1993; 25: 1768.

22. Mayer AD for the European Tacrolimus Multicentre Renal Study Group. Four-year follow-up of the european tacrolimus multicenter renal study. *Transplant Proc* 1999; 31 (Suppl 7^a): 27S-28S.
23. Kahan BD. Cyclosporine nephrotoxicity: pathogenesis, prophylaxis, therapy and prognosis. *Kidney Dis* 1986; 8: 323-331.
24. Velásquez JL, Dobras RB, Ocotitla J, Zavala N, Ramón GCG, Romero NB, Medeiros DM, Muñoz AR. Tratamiento con ciclosporina en niños con síndrome nefrótico corticorresistente. *Bol Med Hosp Infant Mex* 1996, 109-117.
25. Pedraza-Chaverri J, Cruz C, Ibarra-Rubio ME, Chávez MT, Calleja C, Tapia E, del Carmen Uribe M, Romero L, Pena JC. Pathophysiology of experimental nephrotic syndrome induced by puromycin aminonucleoside in rats. I. The role of proteinuria, hypoproteinemia, and renin-angiotensin-aldosterone system on sodium retention. *Rev Invest Clin* 1990; 42(1): 29-38.
26. Sharma R, Sharma M, Ge X, McCarthy ET, Savin VJ. Cyclosporine protects glomeruli from FSGS factor via an increase in glomerular cAMP. *Transplantation* 1996 Dec 27; 62(12):1916-1920.
27. Vanrenterghem YFCh. Which calcineurin inhibitor is preferred in renal transplantation: tacrolimus or cyclosporine? *Curr Opin in Nephrol Hypertens* 1999, 8: 669-674.

28. Orth SR, Ritz E. The nephrotic syndrome. *N Engl J Med* 1998, 338 (17):1202-1211.
29. Rossmann P, Bukovsky A, Matousovic K, Holub M, Kral J. Puromycin aminonucleoside nephropathy: ultrastructure, glomerular polyanion, and cell surface markers. *J Pathol* 1986; 148 (4): 337-348.
30. Wang JS, Yang AH, Chen SM, Young TK, Chiang H, Liu HC. Amelioration of antioxidant enzyme suppression and proteinuria in cyclosporine-treated puromycin nephrosis. *Nephron* 1993, 65:418-425.
31. Meyrier A. Treatment of idiopathic nephrotic syndrome with cyclosporine A. *J Nephrol* 1997, 10(1) 14-24.
32. Hampel G, Hosseini R, Jung K. Different effects of cyclosporine and tacrolimus on the activation of mesangial metalloproteinases and their inhibitors. *Transplant Proc* 1999; 31: 2757-2578.
33. Desassis JF, Rats CJI, Bakker MAH, Van Der Born J, Berden JHM. Antiproteinuric effect of ciclosporine A in adriamycin nephropathy in rats. *Nephron* 1997; 75: 336-341.
34. McCauley J, Shapiro R, Jordan M. FK506 in the management of nephrotic syndrome after renal transplantation. *Transplant Proc* 1993; 25: 1351-1354.
35. McCauley J, Shapiro R, Sacntlebury V. FK506 in the management of transplant-related nephrotic syndrome and steroid-resistant nephrotic syndrome. *Transplant Proc* 1991; 23: 3354-3356.

36. McCauley J, Shapiro R, Ellis D. Pilot trial of FK506 in the management of steroid-resistant nephrotic syndrome. *Nephrol Dial Transplant* 1993; 8: 1286-1290.
37. Krämer BK, Schweda F. Differing proteinuria control with cyclosporine and tacrolimus. *The Lancet* 1997, 349(29): 953-954.
38. Deschênes G, Doucet A. Collecting duct $\text{Na}^+ \text{K}^+ \text{-ATPase}$ activity is correlated with urinary sodium excretion in rat nephrotic syndromes. *J Am Soc Nephrol* 2000, 11: 604-615.
39. Bauer JD, Toro G y Ackermann PG. *Bray's Clinical Laboratory Methods* Sixth ed. St. Louis, C. v. Mosby Co., 1962, p. 18.
40. *International Study for Kidney Diseases in Children. Standard Laboratory Methods*, 1974.
41. Bradley, G. M. y Benson, E. S.: Examination of the urine. En: Davidson, I. y Henry, I. B. (eds.): *Clinical Diagnosis by Laboratory Methods*. Philadelphia, W. B. Saunders Co., 1974, p. 48.
42. Medeiros DM, Pérez UJP, Vidal G, Pedraza CJ, Hernández AM, Muñoz AR, Castañeda G. Biodisponibilidad de ciclosporina en ratas con síndrome nefrótico. *Bol Med Hosp Infant Mex* 2000, 57(2): S14-S15.
43. Olson JL, Rennke HG, Venkatachalam MA. Alterations in the charge and size selectivity barrier of the glomerular filter in aminonucleoside nephrosis in rats. *Laboratory Investigation*, 1981, 44, 3: 271-279.

ESTA TESIS NO SALE
DE LA BIBLIOTECA

44. Jordan ML, Shapiro R, Scantlebury V, Vivas C, Ellis D, Lombardozi-Lane S, Starzl TE. Tacrolimus-based immunosuppression in pediatric renal transplantation. *Transplant Proc.* 1999, 31 (suppl 7A), 29S-30S.
45. Jordan ML, Naraghi R, Shapiro R, Smith D, Vivas C, Scantlebury VP, Gritsch HA, McCauley D, Randhawa P, Demetris AJ, McMichael J, Fung JJ, Starzl TE. Tacrolimus rescue therapy for renal allograft rejection – five- year experience. *Transplantation*, 1997, 63, 2: 223-228.
46. Uchida H, Kobayashi E, Ogino Y, Mizuta K, To H, Okabe R, Hashizume K, Fujimura A. Chronopharmacology of tacrolimus in rats: Toxicity and efficacy in a mouse-to-rat intestinal transplant model and its pharmacokinetic profile. *Transplant Proc.* 1999, 31: 2751-2753.
47. Tamura A, Li X-K, Funeshima N, Enosawa S, Amemiya H, Suzuki S. Combination effect of tacrolimus and FTY720 in liver transplantation in rats. *Transplant Proc.* 1999, 31: 2785-2786.
48. Pedraza-Chaverri J, Sosa G, Cruz C, Medina-Campos ON, Ibarra-Rubio ME. Time course analysis of serum and urinary proteins by SDS-PAGE in experimental nephrotic syndrome. *Renal failure* 1996, 18: 181-194. *Laboratory Investigation* 1981, 44(3) : 271-279.

HOJA DE VACIAMIENTO DE DATOS

FECHA:

RATA: _____ GRUPO _____ PESO _____ TRATAMIENTO _____

DIAS														
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
VOL. URINAR:														
PROTEIN:														
PESO:														

DIA 14

PRO TOT:	
GLOBUL:	
ALBUMINA:	
UREA:	
BUN:	
CREATIN:	
TRIGLIC:	
COLEST:	

HALLAZGOS DE PATOLOGIA: