

11282  
Sej ①

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO**



**FACULTAD DE MEDICINA**

División de Estudios de Postgrado e Investigación  
Instituto Nacional de Cardiología Ignacio Chávez  
Nephrology Research and Training Center  
School of Medicine  
University of Alabama at Birmingham U.S.A.

**PARTICIPACION DE LAS PROSTAGLANDINAS COMO  
MEDIADORES DEL SISTEMA RETROALIMENTARIO  
TUBULOGLOMERULAR**

**T E S I S**  
QUE PARA OBTENER EL GRADO DE:  
**DOCTORA EN CIENCIAS  
MEDICAS — NEFROLOGIA**  
**P R E S E N T A :**  
**MARTHA FRANCO GUEVARA**

Tutor Responsable: Dr. Jaime Herrera Acosta



**FALTA DE**

1989

**TESIS CON  
FALTA DE ORIGEN**



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



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

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

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

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

## CONTENIDO

- 1 .- INTRODUCCION
- 2 .- MATERIAL Y METODOS
- 3 .- RESULTADOS
- 4 .- DISCUSION
- 5 .- CONCLUSIONES
- 6 .- RESUMEN
- 7 .- GLOSARIO DE ABREVIATURAS
- 8 .- INDICE DE FIGURAS
- 9 .- INDICE DE TABLAS
- 10.- BIBLIOGRAFIA

## INTRODUCCION.

La formación de la orina esta determinada por dos procesos metabólicamente diferentes. El primero es la filtración de líquido a través de los capilares glomerulares hacia el espacio de Bowman y el túbulo proximal; la magnitud con la que se forma del filtrado depende de fuerzas hemodinámicas que actúan en la pared del capilar glomerular. El segundo es la modificación del filtrado glomerular cuando fluye a lo largo de la red tubular, lo que se lleva a cabo a través de una serie compleja de mecanismos de reabsorción y secreción que modifican tanto el volumen como la composición de líquido. Sin embargo, aunque estos dos procesos parecen ser completamente independientes, existe un mecanismo intrarrenal que acopla la filtración con la reabsorción tubular, llamado operacionalmente sistema retroalimentario tubuloglomerular (SRTG).

Por otra parte, en la producción del filtrado glomerular intervienen factores como: la presión y el flujo que perfunden el glomérulo que dependen en cierta magnitud de la presión arterial (5). Sin embargo, la filtración glomerular puede permanecer constante cuando la presión varía, así mismo la filtración glomerular puede cambiar sin que se modifique la presión arterial. Esto sugiere la existencia de mecanismos intrarrenales que regulan la filtración, independientes de la presión arterial

sistémica. En efecto, un fenómeno de la circulación renal que ha intrigado a los fisiólogos por algunas décadas, es la eficiencia del riñón para mantener o autorregular el flujo sanguíneo renal, en respuesta a variaciones en la presión de perfusión renal por arriba y por abajo de los valores normales. Así, cuando la presión arterial disminuye como ocurre durante el sueño o al recostarse, este mecanismo reduce la resistencia vascular para mantener el flujo sanguíneo y la filtración glomerular en valores óptimos. En el caso de una elevación de la presión arterial, como la que ocurre al efectuar ejercicio físico o durante episodios agudos de estrés, esta elevación es amortiguada a nivel del riñón por un aumento de la resistencia vascular que evita la elevación en el flujo y la filtración y los mantiene dentro de límites normales. Este fenómeno de autorregulación ha sido estudiado extensamente y se ha demostrado que los cambios en la resistencia vascular se deben a modificaciones en el tono de las arteriolas preglomerulares (43).

De las hipótesis que existen para explicar el mecanismo a través del cual se lleva a cabo el fenómeno de autorregulación, la referente al sistema retroalimentario tubuloglomerular ha despertado interés y controversia. Se basa en la bien conocida asociación morfofuncional entre las arteriolas aferente y eferente, la mácula densa y un cúmulo de células situadas entre estas estructuras conocidas como células de Goormaghtigh o

mesangio extraglomerular (4,30). La mácula densa tiene la capacidad de detectar cambios en la composición del líquido que llega al túbulo distal y dependiendo de ésta, transmite una señal a los elementos vasculares (arteriolas) que modifica el flujo que llega al glomérulo y con ello la filtración glomerular (57,70). El líquido que baña la mácula es normalmente hipotónico, esto se debe a que se reabsorbe NaCl en exceso de agua en la rama ascendente del asa de Henle. Cuando el flujo en el asa aumenta, existe un incremento progresivo en la concentración luminal de NaCl que lleva a la isotonicidad (39). La mácula densa detecta esta elevación en la concentración de solutos del líquido tubular y envía una señal a las arteriolas para producir vasoconstricción; de esta manera este mecanismo mantiene un balance entre la filtración glomerular y la reabsorción tubular. Así, cuando ocurre un aumento en la filtración glomerular, se elevan el flujo tubular, la concentración de cloruro de sodio y la osmolaridad en el túbulo distal, la mácula densa detecta este cambio y envía la señal que produce vasoconstricción, disminución del flujo sanguíneo que llega al glomérulo y la filtración regresa a valores normales (41,42).

De acuerdo con datos morfológicos y fisiológicos, se sabe que el proceso de transmisión, en el SRTG incluye:

- 1.- La existencia de cambios en el flujo tubular que alteran la

concentración de solutos y de la osmolaridad del líquido túbular.

2.- Detección de los cambios en la composición del líquido por las células receptoras.

3.- Transmisión de señales de las células de la mácula densa a través de las células mesangiales extraglomerulares a los elementos vasculares.

4.- Respuesta de las células vasculares, produciendo contracción o relajación de las arteriolas que modifica el flujo sanguíneo glomerular (11,13,14).

Existe información detallada concerniente a la señal que dispara el sistema. Durante los últimos años, diversos estudios de la literatura han tratado de dilucidar si existe un constituyente específico del líquido tubular que sea detectado por la mácula densa, por lo que se ha evaluado la respuesta del SRTC con soluciones isotónicas de diferente composición, que se comparan con otras que contienen concentraciones normales de NaCl (10,14-17,44). El sodio y el cloro se substituyen por: colina, bicarbonato, potasio, isetionato, manitol, urea, etc. y todas estas sustancias son capaces de producir una respuesta; sin embargo, las soluciones carentes de NaCl no producen cambios. De acuerdo con esto, los estudios sugieren que el SRTC responde a

variaciones en las concentraciones de solutos u osmolaridad, pero en presencia de NaCl (14).

Se ha propuesto que la mácula densa detecta estos cambios en la concentración de solutos, a través de modificaciones en el volumen o en la composición celular (36). Un cambio intracelular de algún constituyente en particular podría servir como mensajero e iniciar la transmisión de la señal de las células tubulares a las células vasculares contráctiles. El calcio participa en forma fundamental en este sistema (13); en varios estudios se demostró que un estímulo extrínseco produjo una elevación del calcio ionizado intracelular, al permitir la entrada de este catión a la célula y a la liberación del Ca no ionizado o almacenado (50,51). La respuesta de la célula se debe a la acción directa del Ca++, o a la activación de una proteína dependiente de calcio (51,68). La administración de ionóforos de calcio, estimula marcadamente la respuesta del SRTG (11,13). La entrada de calcio de la luz tubular a las células de la mácula densa, no parece ser el factor determinante, pues la administración de verapamil (bloqueador de calcio) o EGTA (quelante de calcio) al líquido de perfusión no modifica la respuesta, sin embargo, si se agregan agentes que inhiben la liberación de calcio intracelular de sus sitios de almacenamiento como el TMB-8-([8-N,N-dietilamino]-octil-3,4,5 trimetoxibenzoato), se produce disminución en la magnitud de la respuesta del SRTG que es dependiente de la concentración que se

utiliza (11). La calmodulina, una proteína dependiente de calcio parece participar en la regulación del SRTG. Los agentes que bloquean esta proteína, como la trifluoperacina y el calmidazolio no alteran significativamente la magnitud de la respuesta, lo que sugiere que la activación de calmodulina por aumento de calcio intracelular no participa directamente en la transmisión de señales de la mácula densa. Sin embargo, estos compuestos producen marcado retardo en la recuperación de la presión intraglomerular o la filtración glomerular por nefrona. En otras palabras, los antagonistas de calmodulina prolongan la vasoconstricción producida por el SRTG. Esto sugiere que la calmodulina participa en forma importante en la regulación del SRTG ya que favorece la salida de calcio posterior al estímulo luminal que activa el sistema de este catión (8).

El sistema de AMPc juega un papel primordial. La administración tubular de inhibidores de la fosfodiesterasa, como la 3-isometilbutilxantina (IMBX) que impide la degradación de AMPc y por lo tanto, aumenta su concentración intracelular, tiene un efecto inhibitorio en el SRTG. Esto se ha corroborado aumentando el AMPc dentro de la célula por diferentes medios. Así, en estudios en los que se han utilizado agonistas como forskolina y dibutilil-AMPc también se atenúa la respuesta del sistema (9). La inhibición parece ocurrir a través de modulación negativa sobre el calcio intracelular, puesto que al aumentar la

concentración intracelular de dicho catión, en presencia tanto de IMBX como de dibutiril-AMPC o forskolina, se revierte la inhibición (9, Fig. 1).

La naturaleza del proceso de comunicación entre las células de la mácula densa y las células musculares lisas de las arteriolas no se conoce (7,13). Al no existir conexiones anatómicas directas entre las estructuras (4,30), se ha propuesto la producción de un mediador químico para la transmisión de las señales de la mácula a las células mesangiales extraglomerulares y a las arteriolas. Se han considerado varios compuestos químicos con propiedades vasomotoras como posibles mediadores. El primero de estos, fue la angiotensina-II (49), sin embargo, la operación del sistema renina angiotensina intrarrenal se lleva a cabo en el sentido opuesto al esperado si la angiotensina fuese el mediador; en efecto, la vasoconstricción inducida por la activación de la mácula densa se asocia a supresión de la secreción de renina (18,61).

Otro compuesto que puede intervenir en la transmisión de señales en el SRTG es la adenosina (63). Oswald y colaboradores encontraron que la teofilina (bloqueador inespecífico de los receptores de adenosina) y el dipiridamol (agente que disminuye la captación de adenosina por las células y aumenta sus concentraciones intersticiales) aumentan la respuesta del SRTG

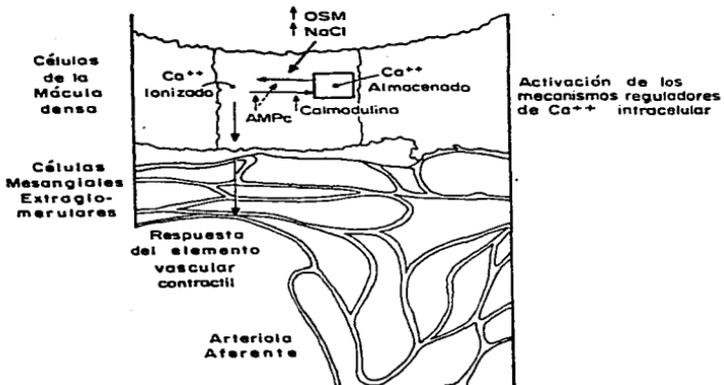


Fig.1. Esquema de los mecanismos que intervienen en la transmisión de la respuesta del sistema retroalimentario tubuloglomerular.

(46). Sin embargo la participación de la adenosina es difícil de evaluar ya que el sistema de receptores de membrana para el nucleótido es muy complejo, existen dos receptores extracelulares con efectos opuestos entre si y otro intracelular cuya función se desconoce (24).

Finalmente algunos estudios sugieren que las prostaglandinas también participan en la regulación del SRTG como mediadores de la señal que produce la mácula densa; puesto que las células glomerulares y tubulares producen prostaglandinas como  $\text{PGF}_2\alpha$ ,  $\text{PGE}_2$ , tromboxano  $\text{A}_2$ ,  $\text{PGI}_2$  y  $\text{PGD}_2$  (23, 58, 59) y la síntesis de prostaglandinas se estimula por la administración exógena de ácido araquidónico. En relación al SRTG, los datos relacionados con la participación de las prostaglandinas son controversiales. Schnermann (56) ha observado que la administración de indometacina produce disminución de la magnitud de la respuesta túbuloglomerular, tanto al administrarla en la circulación general, como al agregarla a la solución de perfusión tubular. Sin embargo, otros trabajos de este mismo autor demuestran que después de 60 minutos de infusión continua de indometacina, la respuesta inicialmente baja, retorna a valores normales, aún cuando las concentraciones urinarias de  $\text{PGE}_2$  y  $\text{PGF}_2\alpha$  persisten muy disminuidas. También se informó que cuando se administra indometacina a ratas mantenidas en una dieta baja en sal, no se inhibe la respuesta del SRTG, aún cuando la excreción urinaria de

prostaglandinas esté reducida en magnitud similar a la que se observa en ratas con dieta normosódica, que si responden al inhibidor de la ciclooxigenasa. Además, se observó que la administración sistémica de prostaglandinas vasodilatadoras, PGI o PGF<sub>2</sub> parece normalizar la respuesta cuando previamente se ha infundido indometacina. En contraste, Persson y cols (48) encuentran que la respuesta del SRTG no se modifica con la administración intratubular de PGE o PGF<sub>2</sub> y se atenua con PGI<sub>2</sub>. Un hecho importante que relaciona tanto la participación del calcio como de las prostaglandinas, radica en que alteraciones en la concentración de calcio intracelular pueden influenciar la producción de prostaglandinas. Agentes como los ionóforos de calcio, que aumentan este catión dentro del citoplasma, estimulan la fosfolipasa A<sub>2</sub> y aumentan la síntesis de prostaglandinas. En forma similar, las prostaglandinas también aumentan los niveles de calcio a través de la movilización de éste, de mitocondrias y retículo endoplásmico (51).

A pesar de las aparentes incongruencias observadas por los diferentes autores, es muy atractiva la hipótesis de que un metabolito vasoconstrictor del ácido araquidónico sirve como mediador entre las células de la mácula densa y las células efectoras contráctiles de las arteriolas (2); sin embargo, esta posibilidad no se ha investigado en forma apropiada. Las células mesangiales, las tubulares, así como las vasculares pueden

sintetizar tromboxanos y eicosanoides que se derivan de la lipooxigenación; se sabe que estos compuestos tienen efecto vasoconstrictor renal (23,28,34,35,40,45,62,64,67). Por consiguiente, el presente estudio se ha enfocado a investigar la participación del ácido araquidónico y sus metabolitos, especialmente aquellos con propiedades vasomotoras que pudiesen estar relacionados con la transmisión de señales de la mácula densa a las arteriolas.

## HIPOTESIS DE TRABAJO:

La respuesta efectora del SRTC implica la transmisión de una señal de la mácula densa a las arteriolas. El mecanismo por el cual se transmite esta señal no está bien establecido. Es posible que la mácula densa al ser estimulada, produzca una sustancia vasoconstrictora que difunda a través del mesangio extraglomerular y ocasione efectos vasomotores en las arteriolas. Otra alternativa es que la activación de la mácula densa estimule la formación de compuestos vasoactivos, directamente en el mesangio extraglomerular, que ejerzan su efecto en el músculo vascular arteriolar.

Los metabolitos del ácido araquidónico reúnen las características que se requieren para ser ese mediador pues son autocoides con propiedades vasomotoras, algunos tienen efecto vasodilatador como la PGE2 y la PGI2, mientras que otros como el TxA2 y los leucotrienos C4 y D4 producen vasoconstricción.

De acuerdo con lo anterior, este trabajo pretende establecer si el ácido araquidónico o alguno de sus metabolitos son el mediador de las señales generadas por la mácula densa.

## MATERIAL Y METODOS:

Se estudiaron 53 ratas Sprague-Dawley macho, con un peso de 225 a 250 g bajo un régimen dietético normal y sin restricción de líquidos. Las ratas se anestesiaron con pentobarbital sódico (50mg/kg) por vía intraperitoneal y se colocaron en una mesa de micropunción termorregulada para mantener la temperatura del animal en 37° C. Se cateterizaron: la tráquea con un tubo de polietileno P-250; la vena yugular externa con tubo de polietileno P-50 para la infusión de una solución isotónica de cloruro de sodio al 0.9 % (1.2 ml/h) y para la administración de anestésico adicional en caso necesario; la arteria femoral izquierda se cateterizó con tubo de polietileno P-50 para cuantificar la presión arterial en forma continua durante todo el experimento, con un transductor de presión (Statham Laboratory, Inc. Hato Rey Puerto Rico) y se registró en un polígrafo (Grass Instruments, Quincy MA.) Los experimentos se llevaron a cabo sólo si la presión arterial media se mantenía igual o mayor que 100mmHg.

A través de lumbotomía izquierda, se separaron el riñón y la glándula suprarrenal de la grasa perirrenal y tejido conectivo subyacente. El riñón se colocó dentro de una cápsula de lucita conservando su posición fisiológica, sin comprimir el pedículo renal, ni el uretero; éste último, se cateterizó con un tubo de

polietileno calibre P-10 para asegurar un flujo libre de orina. A continuación, se depositó una solución de agar al 4% para sellar el espacio entre el riñón y la cápsula de lucita y mantener una capa solución de NaCl 0.9% tibia. La superficie del riñón se iluminó con una fuente de luz fría intensa transmitida por una fibra óptica, esta luz permite visualizar claramente los túbulos y capilares de la corteza renal con un microscopio estereoscópico (Modelo M5, Wild Heerbrugg, Switzerland.)

#### ESTUDIOS DE MICROPUNCIÓN: •

Se efectuaron estudios de microperfusión anterógrada y retrógrada para evaluar la magnitud de la respuesta del SRTC midiendo los cambios en presión con bloqueo de flujo. Para la medición de presión tubular se utilizó un equipo "Servo Null" (modelo 4A Instruments for Physiology, San Diego Ca.), que se conectó a un transductor de presión (Gould Physiological Pressure Transducer P231D, Gould Inc. Measurements System Div. Oxnard Ca.), a una bomba de presión y a un polígrafo Grass (Mod.79D Grass Medical Instruments, Quincy Mass.) calibrado de 0 a 50 mmHg. El equipo detecta cambios en la conductividad eléctrica dentro de la pipeta de punción, llena con una solución de NaCl 1M. Al introducir la pipeta en el capilar o túbulo ingresa a la pipeta solución relativamente hipotónica, lo que disminuye la conductividad dentro de la pipeta, esto es detectado por el

"Servo Null" que activa una bomba y aumenta la presión dentro de la pipeta hasta igualar la presión con la de la cavidad en cuestión, recuperando la conductividad inicial dentro de la pipeta; el transductor mide la presión que la bomba aplicó al sistema para igualar a la de la cavidad en estudio, la cual es registrada en el polígrafo. Con este sistema, se utilizó una pipeta de 1 a 3 micrómetros de diámetro en la punta, para puncionar el túbulo proximal en un segmento entre el glomérulo y un bloqueo de cera, colocado previamente en la 2a o 3a circunvolución superficial y se registró la presión con bloqueo de flujo (PBF) que es una medición indirecta de la presión capilar glomerular que se utiliza cuando los animales de experimentación carecen de glomérulos superficiales.

a) Técnica para perfusión anterógrada:

Inicialmente se seleccionó un túbulo apropiado mediante una pipeta de vidrio con punta de 4 a 6 micrómetros de diámetro, llena con el colorante verde de lisamina, al 1%, que se fija a un adaptador y se conecta a una jeringa de 20 ml, de manera que la jeringa permite aspirar o inyectar a través de la micropipeta. El adaptador con la micropipeta se monta en un manipulador Leitz que permite imprimir movimientos finos a la micropipeta. Con esta pipeta, se puncionó un túbulo proximal en un punto cercano a la emergencia de la arteriola eferente, que corresponde a las

TECNICA DE MICROPERFUSION  
ANTEROGRA DA

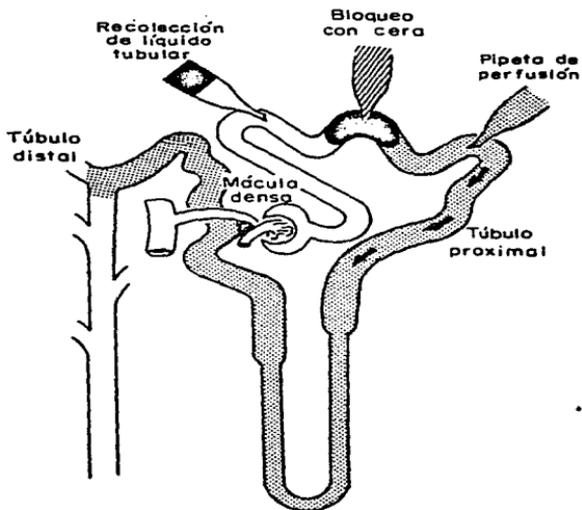


Figura 2

porciones terminales del segmento proximal. El flujo del colorante permite visualizar los diferentes segmentos de la nefrona. Se seleccionaron túbulo con 3 o más segmentos superficiales del túbulo proximal y por lo menos 2 segmentos proximales del túbulo distal. A continuación, la porción del túbulo proximal a la pipeta se bloqueó con cera, se utilizó una pipeta de 12  $\mu$ m de diámetro en la punta, que conecta a una unidad de micro-inyección (Trench-Wells, South Gate, CA.), se colocó un pequeño cilindro de 4 ó 5 veces el diámetro del túbulo de longitud, lo que provee un bloqueo inmóvil. Para iniciar la perfusión anterógrada, se insertó una pipeta de la misma medida llena con solución Ringer isotónica que conecta a una bomba de microperfusión (Walter Klotz, Munich, Germany), dentro de la porción más distal del túbulo proximal, posterior al bloqueo de cera. La presión tubular con bloqueo de flujo se registró en forma continua, inicialmente en ausencia de flujo, y se tomó esta medición como valor control. Una vez obtenido un valor estable, se perfundió a una velocidad de 40 nL/min. durante 3 a 5 minutos; al finalizar la perfusión, la presión debe retornar a los valores del período control para considerar exitoso el procedimiento (Fig. 2).

b).- Técnica para la microperfusión retrógrada.

Esta técnica se esquematiza en la figura 3. Después de la

# TECNICA DE PERFUSION RETROGRADA

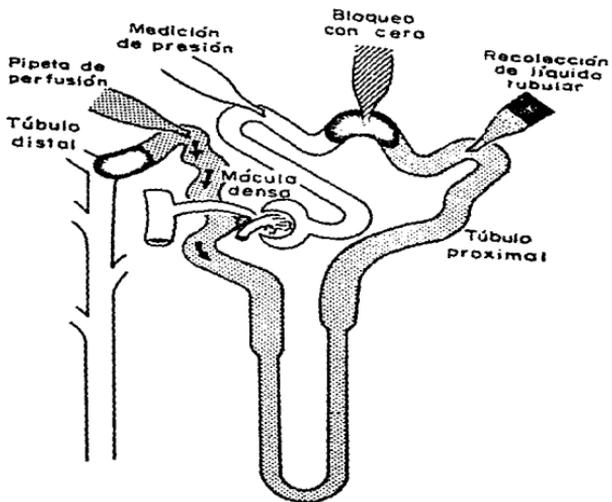


Figura 3

selección del túbulo de la manera ya descrita para perfusión anterógrada, con la pipeta que contiene cera, que se conecta a la unidad de micro-inyección, se puncionó el túbulo proximal en sus segmentos proximales y se inyectó suficiente cera para bloquear el túbulo; se puncionó también la última porción visible del túbulo distal y se colocó un segundo bloqueo con cera. Una vez que los dos segmentos fueron bloqueados, se procedió a medir en forma continua la presión tubular con bloqueo de flujo, inicialmente en ausencia de flujo para obtener un valor control y una vez obtenido un valor estable, se inició la perfusión a velocidad de 15 ml/min y se evaluó nuevamente la PBF durante un periodo de 3 a 5 minutos; al suspender la perfusión, la presión regresó a valores control. Por último, durante la perfusión se puncionó el túbulo proximal en un lugar distal al bloqueo de cera para coleccionar la solución infundida y asegurar que la perfusión es continua. Tanto en los experimentos con perfusión ortógrada como en los de retrógrada solamente se incluyeron aquellos túbulos en los que la presión retornó al valor control. La técnica de microperfusión retrógrada tiene la ventaja de que el sitio de perfusión se encuentra más cercano a la mácula densa que en la perfusión retrógrada, por lo que los compuestos perfundidos llegan a la mácula en concentraciones similares a la administradas, sobre todo cuando se utilizan compuestos lipofílicos que se adhieren fácilmente a membranas celulares. Además la solución de perfusión no se ve modificada por los

mecanismos de transporte del asa de Henle.

La solución de perfusión que se utilizó fue una solución tubular artificial (STA) que contiene: Na<sup>+</sup>, 145 mEq/l; Cl<sup>-</sup>, 135 mEq/l; HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>, 10 mEq/l; Ca<sup>2+</sup>, 1 mEq/l; Mg<sup>2+</sup>, 2 mEq/l; y urea 250 mg/l. Con una osmolaridad de 290 mOsm/Kg. Para la solución hipotónica, solamente se omitió el suficiente NaCl de la solución para obtener una osmolaridad de 40 mOsm/Kg. En estudios previos se ha demostrado que esta solución, en microperfusión retrograda, produce una disminución de 1 a 2 mmHg en la PBF (12). Así, la solución isotónica se utiliza con compuestos que pudiesen en algún momento inhibir la respuesta del SRTG y la solución hipotónica se utiliza cuando se estudian agentes que tienen la posibilidad de inducir o aumentar la respuesta.

#### PROTOCOLOS EXPERIMENTALES:

I.- Inicialmente, se estudió el efecto del ácido araquidónico como precursor de prostaglandinas, para estimular en forma indiscriminada la síntesis de estos eicosanoides por las células de la mácula densa, a través de las diversas vías metabólicas. Para ello, se perfundió ácido araquidónico directamente dentro del túbulo distal. En estos experimentos se midió la PBF utilizando microperfusión retrógrada en cada túbulo, inicialmente con la solución isotónica para obtener un valor control de la

respuesta del SRTG, seguida de la solución hipotónica más vehículo, finalizando con la solución hipotónica más ácido araquidónico en una concentración de 160  $\mu$ M/l. Para determinar si el efecto del ácido araquidónico ocurría debido a un efecto inespecífico, en otro grupo de animales se utilizó el ácido previamente autooxidado siguiendo el mismo protocolo.

II.- La participación de tromboxano A2 se estudió bloqueando el efecto del tromboxano a nivel de receptores con EPO92 y evitando su producción mediante inhibición de la síntesis con UK 38485. Ambas drogas fueron utilizadas a dosis que tanto "in vivo" como "in vitro" han demostrado ser suficientes para bloquear los receptores de tromboxano A2 o inhibir su síntesis (1.33).

Para los estudios sistémicos se administró un bolo endovenoso de 2 mg de EPO92 seguido de una infusión continua de 1.2 mg/kg/h. La eficiencia del bloqueo con EPO92 se probó en otro grupo de ratas con el análogo de tromboxano A2, el U46619.

En estos estudios se utilizó microperfusión ortógrada y se midió la respuesta del SRTG por medio de la PBF con la solución isotónica, durante un periodo control. Las mediciones se repitieron durante la infusión del bloqueador de receptores. En otro grupo de ratas se efectuaron estudios con microperfusión retrógrada. En estos experimentos se perfundió la solución

isotónica con EPO92 dentro del túbulo a una concentración de 5 mM/l.

En los experimentos donde se utilizó el inhibidor de la síntesis de tromboxano A<sub>2</sub>, UK38485, este agente se agregó a la solución de perfusión a una concentración de 25 µM/l, y se utilizó la técnica de microperfusión retrógrada.

III.- Para estudiar el efecto de la inhibición de leucotrienos y otros ácidos hidroxieicosatetraenoicos, se bloqueó la vía de la lipooxigenación utilizando ácido nordihidroguaiarético (ANDG) a dosis de 50µM, 500µM y 2.5mM/l. Este agente se agregó a la solución isotónica de perfusión y se efectuaron experimentos de microperfusión retrógrada.

IV.- Finalmente se efectuó una reevaluación de los efectos del bloqueo producido por inhibidores de la ciclooxigenasa de ácidos grasos, para lo que se utilizó microperfusión retrógrada. Después de obtener un valor control con la perfusión de la solución isotónica, el túbulo se perfundió con indometacina 5mM o con piroxicam 5mM en solución isotónica durante 4 a 5 minutos. En los estudios con indometacina, se administró una solución isotónica libre del agente después de la solución con indometacina, para reevaluar el tiempo que tardaba en desaparecer la inhibición mediada por dicho fármaco.

#### COMPUESTOS QUIMICOS UTILIZADOS:

Las soluciones base de los diferentes compuestos utilizados se prepararon como sigue:

-Acido araquidónico (Sigma Medical Co. St Louis MO), se disolvió en etanol al 100% para obtener una concentración de 10 mg/ml y se almacenó en una atmósfera de nitrógeno a  $-70^{\circ}$  C. Puesto que el ácido araquidónico es sensible a la luz y al oxígeno ambiental, consideramos necesario preparar la solución hipotónica con ácido araquidónico inmediatamente antes de usarla. Generalmente la solución se utilizó dentro de los 2 a 5 minutos después de preparada. Para autooxidar el ácido araquidónico, la solución base del ácido fue expuesta a luz intensa y burbujeada con oxígeno al 100% por 60 minutos antes de su uso y se almacenó bajo una atmósfera de oxígeno a  $4^{\circ}$  C.

-EPO92, fue obsequiado por el Dr R.L. Jones, del Departamento de Farmacología de la Universidad de Edimburgo, Escocia. La sal de sodio del compuesto se disolvió en una solución 0.9% de NaCl, a una concentración de 5 mg/ml y se almacenó a  $-20^{\circ}$  C. Se agregó suficiente EPO92 a la solución isotónica para alcanzar una concentración de 5 mM/l, o solución de cloruro de sodio para lograr 1.2 mg/kg/h en los estudios sistémicos.

-UK38485, fue donado por los laboratorios Pfizer Inc. (Groton CT)  
El inhibidor fue disuelto en una solución de NaOH 0.1 N, diluido  
a una concentración de 3.5 mM/l con una solución salina isotónica  
y ajustada a pH de 7.5 con HCl 0.1M. La solución base se  
almacenó a -20° C. Inmediatamente antes de utilizarse se agregó  
suficiente solución base a la solución isotónica para alcanzar  
una concentración de 25 µM/l.

-Acido nordihidroguaiarético (Sigma Chemical, Co. St Louis MO),  
se disolvió en etanol puro (30mg/ml) y se almacenó a -70° C. Se  
agregó suficiente solución base a la solución isotónica para  
alcanzar una concentración de 50µM, 500µM o 2.5 mM/l

-Indometacina (Sigma Medical Co. St Louis MO) se disolvió con  
Na2CO3 en concentraciones equimolares (10mM) y se agregó a la  
solución isotónica para alcanzar una concentración de 5 mM/l.

-Piroxicam (Sigma Medical Co. St Louis Mo.) se disolvió en DMSO  
(100mM) y se agregó a la solución isotónica para alcanzar una  
concentración de 5 mM/l. (1% DMSO).

-El análogo de tromboxano A2, U46619 (UpJohn Diagnostics,  
Kalamazoo, MI) se disolvió en etanol puro (10 mg/ml) y se agregó  
a una solución de NaCl 0.9% para alcanzar la concentración de

1.5, 1.75 ó 2  $\mu\text{M}/\text{l}$ .

ANALISIS ESTADISTICO:

Los datos se analizaron mediante la prueba de "t" de Student no pareada para los estudios sistémicos y pareada para todos los estudios en que se utilizó microperfusión retrógrada. Los datos se presentan como media  $\pm$  desviación estandar  $\pm$  error estandar de la media.

## RESULTADOS:

En la primera serie de experimentos, se evaluó el efecto de la microperfusión retrógrada con soluciones que contenían ácido araquidónico en 9 túbulos. Durante la perfusión con la solución isotónica control, la PBF disminuyó de  $38.1 \pm 0.8$  a  $28.1 \pm 0.9$  mmHg. En cambio, durante la perfusión con la solución hipotónica ( $40\text{mOsm/K}$ )g con el vehículo del ácido araquidónico, la PBF disminuyó de  $37.9 \pm 0.8$  mmHg a  $35.2 \pm 0.9$  mmHg. Durante la perfusión con solución hipotónica con ácido araquidónico  $160 \mu\text{M}$ , la magnitud de la respuesta aumentó significativamente y la PBF disminuyó de  $38.6 \pm 0.9$  mmHg a  $28.0 \pm 1.2$  mmHg. La respuesta obtenida con la solución hipotónica con ácido araquidónico no fue diferente de la obtenida con la solución isotónica (Tabla 1, Fig.4).

Para determinar si el aumento observado en la magnitud de la respuesta con la solución de ácido araquidónico era debido a un efecto no específico o a una acción detergente del compuesto, se perfundió una serie distinta de túbulos con la solución hipotónica con ácido araquidónico autooxidado,  $160\mu\text{M}$ , (32). En 7 túbulos en los que se efectuó microperfusión retrógrada, la perfusión de esta solución no produjo un cambio significativo en la PBF. ( $\Delta = 0.9 \pm 0.4$  mmHg), mientras que en los mismos túbulos, la perfusión de solución con ácido araquidónico no

autooxidado produjo un aumento en la magnitud de la respuesta, similar a la observada en la serie inicial ( $\Delta = 10.4 \pm 0.6$  mmHg., Tabla 2).

El efecto de un bloqueador de los receptores de tromboxano A2 (EPO92) en la respuesta del SRTG se evaluó en 4 ratas, en las que el fármaco se administró en forma sistémica. En el periodo control, la presión arterial fue de  $116.4 \pm 2.7$  mmHg y no se alteró significativamente por la infusión del EPO92 ( $118.8 \pm 1.2$  mmHg). Como se muestra en la Tabla 3, Fig. 5, el EPO92 no modificó la magnitud de la PBF obtenida durante perfusión ortógrada con la solución isotónica en 12 túbulos en el periodo control, la PBF disminuyó de  $37.9 \pm 0.8$  a  $28.0 \pm 0.6$  mmHg,  $-9.9 \pm 0.5$ . En 13 túbulos durante EPO92, la PBF disminuyó de  $38.6 \pm 1.0$  a  $30.0 \pm 1.1$ , mmHg,  $\Delta = 8.4 \pm 0.44$ . Los datos control no fueron estadísticamente diferentes de los que se obtuvieron durante la administración del bloqueador de receptores.

En 5 ratas, se probó la eficacia del bloqueo de los receptores de tromboxano A2 con el análogo de tromboxano A2, U466619, mediante bolos antes y después de la administración de EPO92 (Tabla 4). Durante el periodo control, la PBF se mantuvo en  $37.3 \pm 0.6$  mmHg, y disminuyó transitoriamente un máximo de  $8.5 \pm 1.0$  mmHg,  $11.1 \pm 1.0$  mmHg y  $11.3 \pm 2.0$  mmHg con la inyección de 1.5, 1.75 y 2  $\mu$ M de U46619 respectivamente. Después de la

administración de EPO92, la PBF se mantuvo en 38 mmHg y disminuyó solamente  $0.44 \pm 0.3$  mmHg,  $1.0 \pm 0.2$  mmHg y  $0.5 \pm 0.2$  mmHg con 1.5, 1.75 y 2  $\mu$ g de U46619 respectivamente. Así, la dosis de EPO92 que se utilizó en forma sistémica fue suficiente para bloquear los efectos de administración del análogo de tromboxano A2.

En un grupo diferente de experimentos, en los cuales se efectuó microperfusión retrograda en 10 túbulos con la solución isotónica con EPO92, 5mM, la magnitud de la respuesta del SRTG no disminuyó significativamente. Tabla 5, Fig 6. La PBF promedio fue de  $35.7 \pm 0.8$  mmHg y disminuyó a  $26.7 \pm 0.8$  mmHg durante la perfusión de la solución isotónica. En los túbulos perfundidos con EPO92, el promedio de la PBF fue  $36.1 \pm 1.0$  mmHg y disminuyó a  $27.6 \pm 1.0$  durante la perfusión.

Los resultados de los experimentos con microperfusión retrógrada en otro grupo de 10 túbulos en los cuales se utilizó el inhibidor de la síntesis de tromboxanos UK38485, se ilustran en la Tabla 6, Fig.7. La PBF promedio fue de  $36.1 \pm 0.9$  mmHg en ausencia de perfusión y disminuyó a  $26.4 \pm 1.4$  mmHg durante la perfusión de la solución isotónica con el inhibidor. El promedio de la respuesta en esta serie no fue diferente de la observada con la solución isotónica sola ( $35.8 \pm 0.6$  y disminuyó a  $26.2 \pm 1.1$ ).

Se efectuaron estudios adicionales para determinar si la respuesta del SRTG pudiese ser mediada a través de la generación de un metabolito producido por la lipoxigenación del ácido araquidónico. Para ello se perfundieron 14 túbulos en forma retrógrada utilizando solución isotónica con ácido norhidihidroguaiarético a dosis de 50  $\mu\text{M}$ , 500  $\mu\text{M}$  y 2,5 mM (Tabla 7, Fig. 8). La PBF disminuyó de  $36.1 \pm 0.9$  mmHg a  $27.2$  mmHg durante la perfusión de la solución control y de  $36.6 \pm 1.0$  a  $28.6 \pm 1.2$  mmHg durante la perfusión de la solución con el inhibidor. Todos los datos de estos experimentos se analizaron en un sólo grupo, pues no hubo relación aparente entre la concentración de ANDG y la magnitud de la respuesta. El promedio de la respuesta durante perfusión con ANDG fue ligeramente menor que el obtenido con la solución control ( $1.0 \pm 0.36$  mmHg). Esta disminución discreta pero significativa ( $p < 0.05$ ) en la magnitud de la respuesta, representa una atenuación relativamente leve.

En los estudios efectuados en un grupo de 10 túbulos, para reevaluar la capacidad de la indometacina para inhibir la respuesta del SRTG, la inhibición fue claramente consistente durante la perfusión con solución isotónica con indometacina, Tabla 8. Un ejemplo de esta atenuación se muestra en la figura 9, las respuestas individuales se representan en la figura 10. La

perfusión con la solución isotónica sola produce una disminución promedio de la PBF de  $36.8 \pm 0.9$  mmHg a  $27.3 \pm 0.8$  mmHg ( $\Delta = 9.5 \pm 0.7$  mmHg). Durante los 5 a 6 minutos de perfusión con indometacina, la respuesta fue casi completamente abolida, la PBF fue de  $36.7 \pm 0.9$  mmHg antes y de  $36.0 \pm 0.8$  mmHg después de la indometacina ( $\Delta = 0.5 \pm 0.4$  mmHg). Inmediatamente después de la perfusión con indometacina, cada túbulo se reperfundi6 con la solución isotónica control. El período entre la terminación de la perfusión y la iniciación de la siguiente vari6 de 15 a 90 s. A pesar de este breve lapso, la respuesta normal se restableci6 por completo. La PBF después de indometacina fue  $36.8 \pm 0.8$  mmHg y disminuy6 a  $26.4 \pm 1.2$  mmHg con la solución isotónica ( $\Delta = 10.4 \pm 1.0$  mmHg), así la reperfusión con solución isotónica produjo una respuesta de magnitud normal en t6bulos previamente tratados con indometacina.

En estudios adicionales hechos en 9 t6bulos, se efectu6 microperfusión retr6grada con piroxicam, un inhibidor de la ciclooxigenasa que produce menores efectos colaterales que la indometacina. Como se observa en la Tabla 9, Fig. 11, en la respuesta control la PBF disminuy6 de  $37.6 \pm 0.6$  mmHg a  $27.6 \pm 0.8$  ( $\Delta = 10.1 \pm 0.7$  mmHg), durante perfusión con la solución isotónica con 5mM de piroxicam, la PBF disminuy6 de  $38.6 \pm 0.6$  a  $28.5 \pm 0.9$  mmHg ( $\Delta = 10.1 \pm 0.6$  mmHg). Los t6bulos se perfundieron con piroxicam por lo menos durante 5 minutos, pero

no se observó atenuación de la respuesta durante este periodo.

Tabla 1. Microperfusión retrógrada con ácido araquidónico 160 µM.

No. Tábulo	TAM	PBF	STA	Rec.	Δ	Hipo.	Rec.	Δ	AA	Rec.	Δ
mmHg											
1	115	39	28	36	11	35	37	2	27	39	12
2	110	37	30	38	7	38	39	1	32	40	8
3	100	40	30	40	10	40	40	0	32	42	12
4	115	38	29	37	9	34	39	4	30	40	9
5	120	35	24	34	10	-	-	-	24	34	10
6	115	34	24	35	10	35	34	1	22	35	12
7	125	38	26	39	13	35	37	2	26	37	11
8	130	40	32	40	8	41	41	1	33	39	6
9	130	42	30	42	12	40	42	2	27	38	11
<b>X</b>	<b>117.7</b>	<b>38.1</b>	<b>28.1</b>	<b>37.9</b>	<b>10.0</b>	<b>37.2</b>	<b>38.6</b>	<b>1.6</b>	<b>28.1</b>	<b>38.2</b>	<b>10.1</b>
<b>DE</b>	<b>±9.7</b>	<b>±2.5</b>	<b>±2.8</b>	<b>±2.6</b>	<b>±1.8</b>	<b>±2.8</b>	<b>±2.6</b>	<b>±1.2</b>	<b>±3.8</b>	<b>±2.5</b>	<b>±2.1</b>
<b>EE</b>	<b>±3.2</b>	<b>±0.8</b>	<b>±0.9</b>	<b>±0.9</b>	<b>±0.6</b>	<b>±1.0</b>	<b>±0.9</b>	<b>±0.4</b>	<b>±1.3</b>	<b>±0.8</b>	<b>±0.7</b>

No. ratas = 8.

STA Vs Hipo.  $t = 11.1008, p < 0.001$

Hipo. Vs AA  $t = -9.1810, p < 0.001$ . Tábulos pareados.

Abreviaturas:

TAM : Tensión arterial media  
 PBF : Presión con bloqueo de flujo  
 STA : Solución tubular artificial  
 Rec : Valor de recuperación de la PBF  
 Δ : Delta o cambio en PBF  
 Hipo: Solución tubular artificial  
 hipotónica 40 mMsm/l

AA: Solución hipotónica con ácido  
 araquidónico  
 X : Promedio  
 DE: Desviación estándar  
 EE: Error estándar

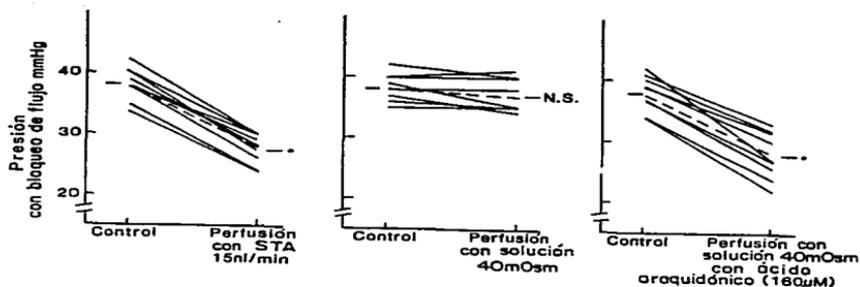


Fig.4. Respuesta del SRTG graficada en forma individual, durante la perfusión retrógrada con solución tubular artificial isotónica (A); solución hipotónica con vehículo (B) y solución hipotónica con ácido araquidónico (C). El \* representa A,  $t = 17.3205$  y B,  $t = 12.2474$ .  $p < 0.001$ , al compararse los valores a cero perfusión y a 15 nl/min. La comparación entre la respuesta con la solución con vehículo (B) y la solución con ácido araquidónico (C) fue estadísticamente significativa,  $t = 9.1810$ ,  $p < 0.001$ .

Tabla 2. Microperfusión retrógrada con 160 $\mu$ M ac. araquidónico autooxidado

No. Túbulo	TAM	PBF	STA	Rec.	$\Delta$ mmHg	AAO	Rec.	$\Delta$	AA	Rec.	$\Delta$
1	125	41	34	42	8	41	42	+1	32	40	10
2	135	43	30	42	13	43	43	+2	30	41	13
3	120	40	31	42	9	42	44	0	33	40	11
4	125	38	29	38	9	38	38	0	30	37	8
5	125	42	35	43	7	44	45	+1	34	40	11
6	115	38	25	39	13	39	39	0	29	38	10
7	125	35	27	37	8	39	39	+2	29	36	10
$\bar{X}$	124.3	39.7	30.1	40.4	9.6	40.8	41.4	0.8	31.0	38.8	10.4
DE	$\pm$ 6.1	$\pm$ 2.9	$\pm$ 3.6	$\pm$ 2.4	$\pm$ 2.4	$\pm$ 2.3	$\pm$ 2.8	$\pm$ 0.9	$\pm$ 2.0	$\pm$ 1.9	$\pm$ 1.5
EE	$\pm$ 2.3	$\pm$ 1.1	$\pm$ 1.3	$\pm$ 0.9	$\pm$ 0.9	$\pm$ 0.8	$\pm$ 1.0	$\pm$ 0.3	$\pm$ 0.8	$\pm$ 0.7	$\pm$ 0.6

No ratas = 6.

AAO Vs AA t = -19.9020, p < 0.001. Túbulos pareados.

Abreviaturas:

TAM: Tensión arterial media

PBF: Presión con bloqueo de flujo

STA: Solución tubular artificial

Rec: Valor de recuperación de la PBF

$\Delta$  : Delta o cambio en PBF

AA : Solución hipotónica con ácido araquidónico

AAO: Solución hipotónica con ácido araquidónico autooxidado

$\bar{X}$  : Promedio

DE : Desviación estándar

EE : Error estándar

Tabla 3. Respuesta del SRTG en condiciones control y durante la infusión sistémica del bloqueador de receptores de Tx<sub>A2</sub>, EPO92.

No. Rata	CONTROL					EPO92				
	TAM	PBF	STA	Rec.	Δ mmHg	TAM	PBF	STA	Rec.	Δ
1	100	35	25	34	9	115	38	28	38	10
	100	39	27	39	12	110	37	31	37	6
	110	36	30	38	8	120	33	21	30	11
2	120	42	29	42	13	120	40	31	42	9
	110	42	30	42	12	125	38	31	38	7
	125	38	27	37	11	125	38	27	37	11
3	120	42	32	40	10	110	37	30	36	7
	120	35	26	35	9	110	35	28	35	7
	115	37	29	36	8	110	40	33	40	7
4	125	38	28	39	10	130	46	35	46	9
	127	35	27	36	8	125	44	35	43	9
	125	36	27	36	9	125	41	33	42	8
<b>Y</b>	116.4	37.9	28.0	37.8	9.9	118.8	38.6	30.0	38.3	8.4
<b>DE</b>	±9.5	±2.8	±1.9	±2.6	±1.7	±7.1	±3.6	±3.8	±4.1	±1.6
<b>EE</b>	±2.7	±0.8	±0.6	±0.7	±0.5	±1.2	±1.0	±1.1	±1.2	±0.4

Control Vs EPO92 t = 0.6261. No estadísticamente significativo.  
 Tóbulos no pareados

Abreviaturas:

TAM: Tensión arterial media  
 PBF: Presión con bloqueo de flujo  
 STA: Solución tubular artificial  
 Rec: Valor de recuperación de la PBF  
 Δ: Delta o cambio en PBF

EPO92: Bloqueador de receptores de Tx<sub>A2</sub>  
 Tx<sub>A2</sub>: Tromboxano A<sub>2</sub>  
 Y: Promedio  
 DE: Desviación estándar  
 EE: Error estándar

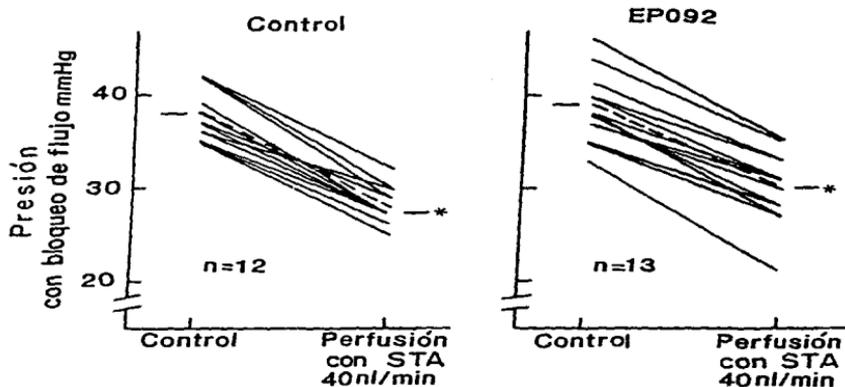


Fig.5. Respuesta del SRTG graficada en forma individual durante perfusión ortógrada con solución tubular artificial isotónica, en condiciones control y durante la administración sistémica del bloqueador de receptores de  $\text{TxA}_2$ , EP092. El \* representa A,  $t = 17.0967$  y B,  $t = 16.3951$  B,  $p < 0.001$ , al compararse los valores a cero perfusión y a 40 nl/min. La comparación entre la respuesta de los dos grupos no fue significativa,  $t = 0.6261$ .

Tabla 4. Efecto de el análogo de TxA2, U46619 sobre la PBF en condiciones control y durante la administración sistémica del bloqueador de receptores EPO92.

No. Rata	PBF	CONTROL						EPO92						
		TxA2 1.5µg	TxA2 1.75µg	TxA2 2µg	TxA2 2µg	TxA2 1.5µg	TxA2 1.75µg	TxA2 2µg	TxA2 2µg					
1	35	22	13	25	10	28	7	41	41	0	40	1	30	1
2	41	31	10	31	10	30	11	42	42	0	42	0	42	0
	37	26	11	25	11	-	-	36	36	0	37	0	-	-
	37	30	7	26	11	-	-	38	38	0	40	+2	-	-
3	36	30	6	18	12	-	-	35	35	0	36	+1	-	-
4	38	25	13	20	18	17	21	37	38	+1	39	+2	37	0
	35	28	7	23	12	20	15	40	40	0	41	+1	40	0
5	40	35	5	31	9	35	5	37	41	+3	38	+1	37	0
	37	32	5	30	7	28	9	36	36	0	37	+1	38	+2
$\bar{X}$ =	37.3	28.7	8.5	25.4	11.1	26.3	11.3	38.0	38.5	0.4	38.8	1.0	37.3	0.5
DE =	±2.0	±3.9	±3.2	±4.6	±3.0	±6.6	±5.5	±2.4	±2.5	±1.0	±2.0	±0.7	±4.0	±0.8
EE =	±0.6	±1.2	±1.0	±1.4	±1.0	±2.1	±2.0	±0.7	±0.8	±0.3	±0.6	±0.2	±1.2	±0.3

TxA2 control Vs EPO92  $t = 9.7688$ ,  $p < 0.001$ . Túbulos no pareados.

Abreviaturas:

PBF: Presión con bloqueo de flujo

$\bar{X}$  : Promedio

EPO92: Bloqueador de receptores de TxA2

DE : Desviación estándar

TxA2: Tromboxano A2

EE : Error estándar

Tabla 5. Microperfusión retrógrada con el bloqueador de receptores de TxA2, EPO92 5 mM.

No. Tábulo	TAM	PBF	STA	Rec. mmHg	Δ	EPO92	Rec.	Δ
1	110	35	25	35	10	26	34	9
2	120	35	25	36	10	27	36	8
3	105	32	25	32	7	25	35	7
4	115	39	32	39	7	35	39	4
5	135	37	25	39	14	27	39	12
6	115	32	26	32	6	26	32	6
7	110	37	30	38	7	28	38	10
8	115	40	29	41	11	31	42	10
9	115	35	25	35	10	24	36	11
10	115	35	25	35	10	27	35	8
11	120	37	28	38	9	28	40	10
X	115.5	35.7	26.7	36.1	9.2	27.6	36.7	8.5
DE	±7.9	±2.6	±2.6	±3.1	±2.4	±3.2	±3.1	±2.4
EE	±2.5	±0.8	±0.8	±1.0	±0.7	±1.0	±0.9	±0.8

No ratas = 8

STA Vs EPO92 t = 1.0320, No estadísticamente significativo. Tábulos pareados

Abreviaturas:

TAM: Tensión arterial media  
 PBF: Presión con bloqueo de flujo  
 STA: Solución tubular artificial  
 Rec: Valor de recuperación de la PBF  
 Δ : Delta o cambio en PBF

EPO92: Bloqueador de receptores de TxA2  
 TxA2 : Tromboxano A2  
 X : Promedio  
 DE : Desviación estándar  
 EE : Error estándar

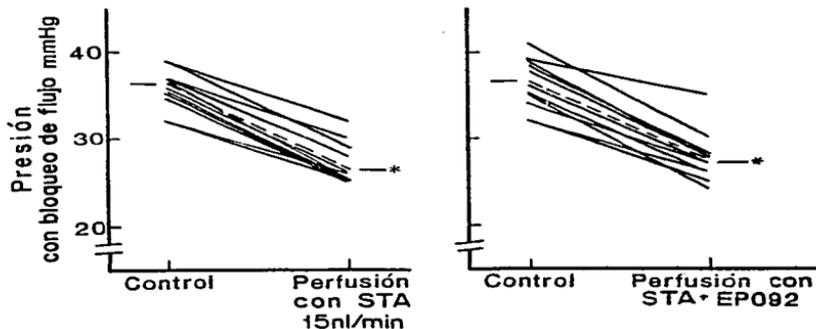


Fig. 6. Respuesta del SRTG graficada en forma individual durante la perfusión retrógrada de solución tubular artificial isotónica sola (A) y con el bloqueador de receptores de  $Tx_A2$  EPO92 5mM (B). El \* respresenta A,  $t = 15.3125$  y B,  $t = 12.0456$ ,  $p < 0.001$ , al compararse los valores a cero perfusión y 15nl/min. La comparación entre la respuesta de los dos grupos, A Vs B no fue significativa,  $t = 1.0320$ .

Tabla 6. Microperfusión retrógrada con el inhibidor de la síntesis de TxA2. UK38485.

No. Tábulo	TAM	PBF	STA	Rec. mmHG	$\Delta$	UK 38485	Rec.	$\Delta$
1	100	35	23	32	12	21	31	11
2	110	35	28	34	7	29	34	5
3	115	40	2	42	11	29	41	11
4	115	35	28	36	7	29	36	7
5	110	38	31	39	7	32	40	7
6	115	35	25	35	10	24	35	11
7	115	34	25	35	9	24	35	10
8	129	37	28	38	9	31	38	7
9	110	35	26	35	9	26	33	9
10	110	34	19	35	15	19	34	15
$\bar{X}$	112.2	35.8	26.2	36.1	9.6	26.4	35.7	9.3
DE	$\pm 5.6$	$\pm 1.9$	$\pm 3.4$	$\pm 2.8$	$\pm 2.5$	$\pm 4.3$	$\pm 3.1$	$\pm 2.9$
EE	$\pm 1.8$	$\pm 0.6$	$\pm 1.1$	$\pm 0.9$	$\pm 0.8$	$\pm 1.4$	$\pm 1.0$	$\pm 0.9$

No ratas = 8.

Control vs UK 38485  $t = 0.8955$ . No estadísticamente significativo.

Tábulos pareados.

Abreviaturas:

TAM: Tensión arterial media

PBF: Presión con bloqueo de flujo

STA: Solución tubular artificial

Rec: Valor de recuperación de la PBF

$\Delta$ : Delta o cambio en PBF

UK : Inhibidor de la síntesis de TxA2  
38485

TxA2: Tromboxano A2

$\bar{X}$  : Promedio

DE : Desviación estándar

EE : Error estándar

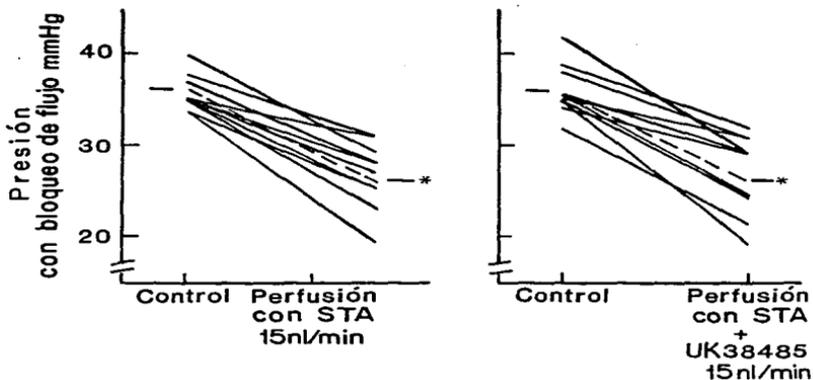


Fig. 7. Respuesta del SRTG graficada en forma individual, durante la perfusión retrógrada de solución tubular artificial isotónica sola (A) y con el inhibidor de la síntesis de TxA<sub>2</sub>, UK 38485 (B). El \* representa A,  $t = 11.9175$  y B,  $t = 9.1976$ ,  $p < 0.001$ , al compararse los valores a cero perfusión y 15nl/min. La comparación entre la respuesta de los dos grupos A Vs B no fue significativa,  $t = 0.8955$ .

**Tabla 7. Microperfusión retrógrada con el inhibidor de la lipoxigenasa, ac. nor dihidroguaiarético.**

No. Tábulo	TAM	PBF	STA	Rec. mmHg	Δ	ANDG	Rec.	Δ	dosis
1.	100	37	30	39	7	32	40	7	50μM
2	100	40	32	42	8	35	42	7	50μM
3	95	33	25	33	8	25	34	8	50μM
4	95	33	25	34	9	27	35	7	500μM
5	100	34	26	36	8	29	35	7	500μM
6	125	38	30	40	8	30	40	10	500μM
7	115	44	36	44	8	38	45	6	500μM
8	120	33	23	32	10	22	31	10	500μM
9	120	35	26	35	9	27	35	8	500μM
10	125	36	26	35	10	26	35	9	500μM
11	125	40	28	40	12	33	40	8	5mM
12	110	32	24	31	7	25	31	6	5mM
13	125	35	24	36	11	26	36	10	5mM
14	120	35	26	35	9	26	34	8	5mM
Y =	112.5	36.1	27.2	36.6	8.8	28.6	36.6	7.9	
DE =	±12.0	±3.4	±3.6	±3.8	±1.5	±4.4	±4.1	±1.4	
EE =	±3.2	±0.9	±0.9	±1.0	±0.4	±1.2	±1.1	±0.4	

No. ratas = 7.

Control Vs ANDG  $t = 2.6161$ ,  $p < 0.05$ . Tábulos pareados.

**Abreviaturas:**

TAM: Tensión arterial media

PBF: Presión con bloqueo de flujo

STA: Solución tubular artificial

Rec: Valor de recuperación de la PBF

Δ : Delta o cambio en PBF

ANDG: Acido nordihidroguaiarético

Y : Promedio

DE : Desviación estándar

EE : Error estándar

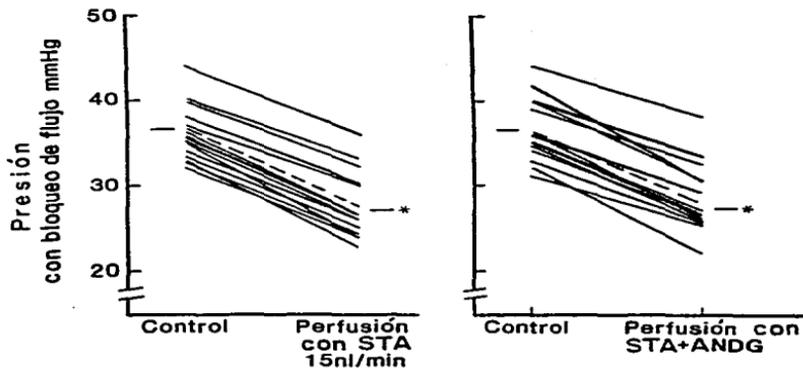


Fig. 8. Respuesta del SRTG graficada en forma individual, durante la perfusión retrógrada de solución tubular artificial sola (A) y con el inhibidor de la lipooxigenasa ANDG (B). El \* representa A,  $t = 23.5636$  y B,  $t = 20.6122$ ,  $p < 0.001$ , al compararse los valores a cero perfusión y 15nl/min. La respuesta con ANDG (B) fue menor que la control (A),  $t = 2.6161$ ,  $p < 0.05$ .

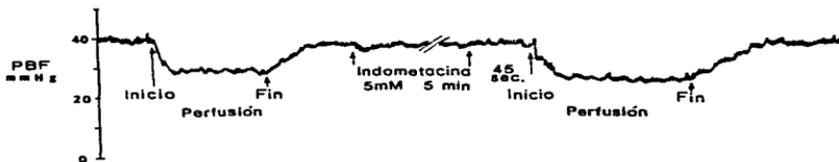


Fig.9. Ejemplo de la respuesta del SRTG obtenida con perfusión retrógrada de solución isotónica. La disminución de la PBF fue inhibida cuando se agregó indometacina (5mM) a la solución isotónica. Sin embargo, después de 45 segundos, se obtuvo nuevamente una respuesta normal al perfundir con la solución isotónica nuevamente.

Tabla.8 Microperfusión retrógrada con indometacina y evaluación del tiempo de recuperación de la respuesta del SKTG.

No. Tábulo	TAM	PBF	STA mmHg	Rec.	Δ	Indo. mM	Réc.	Δ	STA mmHg	Rec.	Δ	Tiempo entre Indo. y STA.
1	105	42	30	42	12	40	40	0	27	40	13	1' 30"
2	115	35	27	35	8	35	35	0	24	34	11	1' 30"
3	115	32	26	32	6	32	32	0	25	33	7	1' 30"
4	115	39	26	38	13	35	38	-3	28	38	10	1' 15"
5	110	37	30	38	7	39	40	+1	34	43	6	1'
6	100	39	30	37	9	35	38	+3	30	38	8	30"
7	120	35	25	36	10	35	36	0	27	36	9	30"
8	100	36	27	35	9	35	35	0	26	34	9	15"
9	125	34	23	35	11	35	35	0	20	33	15	30"
10	130	39	29	39	10	39	39	0	23	38	16	45"
$\bar{X}$ =	113.5	36.8	27.3	36.7	9.5	36.0	36.8	0.5	26.4	36.7	10.4	15-90"
DE =	±10.1	±3.0	±2.4	±2.7	±2.2	±2.4	±2.6	±1.35	±3.8	±3.3	±3.3	
EE =	±3.2	±0.9	±0.8	±0.9	±0.7	±0.8	±0.8	±0.4	±1.2	±1.0	±1.0	

No de ratas = 6.

STA Vs Indo t = 12.6433, p < 0.001.

Indo Vs STA después de Indo t = 7.7745, p < 0.001. Tóbulos pareados.

Abreviaturas:

TAM: Tensión arterial media

Rec: Valor de recuperación de la PBF

$\bar{X}$  : Promedio

PBF: Presión con bloqueo de flujo

Δ : Delta o cambio en PBF

DE : Desviación estándar

STA : Solución tubular artificial

Indo: Indometacina

EE : Error estándar

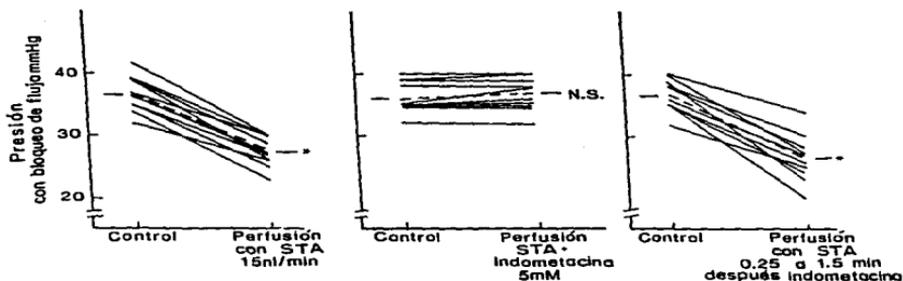


Fig.10. Respuesta del SRTG graficada en forma individual durante la perfusión retrógrada de solución isotónica (A), solución isotónica con indometacina (B) y solución isotónica nuevamente (C). El \* representa A,  $t = 13.8245$  y B,  $t = 9.8466$  B,  $p < 0.001$ , al compararse los valores a cero perfusión y a 15nl/min. La inhibición obtenida con indometacina fue estadísticamente significativa comparada con los otros dos grupos. A Vs B,  $t = 12.6433$  y B Vs C,  $t = 7.7745$ ,  $P < 0.001$ .

Tabla 9. Microperfusión retrógrada del inhibidor de la ciclooxigenasa, piroxicam 5mM.

No. Tábulo	TAM	PBF	STA	Rec. mmHg	Δ	Piroxicam	Rec.	Δ
1	110	35	25	37	11	25	36	12
2	120	38	29	39	9	30	41	9
3	120	40	27	40	13	30	39	10
4	120	37	30	38	7	31	37	7
5	115	36	26	37	10	27	36	10
6	110	37	30	39	7	31	37	8
7	125	40	28	42	12	30	43	12
8	125	40	30	40	10	29	41	11
9	100	36	24	36	12	24	36	12
$\bar{X}$ =	116.1	37.6	27.6	38.6	10.1	28.5	38.4	10.1
DE =	±8.2	±1.9	±2.3	±1.9	±2.1	±2.6	±2.6	±1.8
EE =	±2.7	±0.6	0.76	±0.6	±0.7	±0.9	±0.9	±0.6

No. de ratas = 6.  
 Control Vs Piroxicam t = 0.00. No estadísticamente significativo.  
 Tábulos pareados.

Abreviaturas:

TAM: Tensión arterial media  
 PBF: Presión con bloqueo de flujo  
 STA: Solución tubular artificial  
 Rec: Valor de recuperación de la PBF

Δ : Delta o cambio en PBF  
 $\bar{X}$  : Promedio  
 DE : Desviación estándar  
 EE : Error estándar

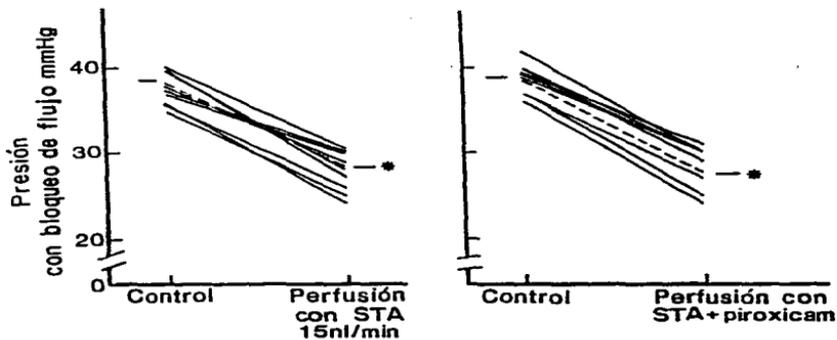


Fig. 11. Respuesta del SRTG graficada en forma individual, durante la perfusión retrógrada de solución tubular artificial (A) y solución isotónica con piroxicam 5 mM.(B). El \* representa A,  $t = 14.1421$  y B,  $t = 16.5455$ ,  $p < 0.001$ , al compararse los valores a cero perfusión y a 15 nl/min. No hubo diferencia significativa entre los dos grupos. A Vs B,  $t = 0.00$ .

## DISCUSION:

En el presente estudio, examinamos el efecto de diversos agentes que modifican el metabolismo del ácido araquidónico, en el proceso de transmisión de la señal del sistema retroalimentario túbulo-glomerular. La motivación para estos estudios se basó en parte en trabajos previos que sugieren que algunos inhibidores de la ciclooxigenasa disminuyen la respuesta del SRTG cuando se administran ya sea en la circulación general o en el líquido tubular (54-56). Un prostanóide producido por las células de la mácula densa, parecería ser un buen candidato como mediador en la transmisión de señales, dado que estas sustancias cruzan fácilmente la membrana celular y pueden ejercer efectos vasoactivos. Por lo tanto, era interesante considerar la hipótesis de que un metabolito del ácido araquidónico pudiese servir como mensajero a través del cual, la mácula densa se comunicase con las células mesangiales extraglomerulares y las arteriolas (10).

Para estudiar los efectos de diversos eicosanoides en la respuesta del SRTG, efectuamos experimentos con perfusión retrógrada agregando ácido araquidónico a una solución hipotónica que no produce respuesta. Debido a que la membrana celular es libremente permeable al ácido araquidónico, la perfusión con este precursor de prostaglandinas produce aumento de la concentración

del mismo dentro de las células de la mácula densa y por lo tanto aumenta la formación indiscriminada de sus diversos metabolitos: prostaglandinas, leucotrienos, etc. Si uno de estos metabolitos participa en la transmisión de la señal, entonces, la infusión de ácido araquidónico debería simular la respuesta normal obtenida con solución hipotónica. Los experimentos en los cuales el ácido graso fue agregado a la solución hipotónica, demostraron claramente que éste puede inducir la respuesta del SRTG y la magnitud de la respuesta no fue diferente de la obtenida con la solución isotónica. Sin embargo, cuando el ácido araquidónico era autooxidado (31), es decir, transformado en ácidos grasos no precursores de prostaglandinas, no producía respuesta alguna. Así, estos resultados son compatibles con el concepto de que la formación de un metabolito del ácido araquidónico participa en la transmisión de las señales de la respuesta.

Se efectuaron estudios adicionales en un esfuerzo por identificar la naturaleza de dicho metabolito. Basados en estudios previos (54-56) en los que se encontró inhibición de la respuesta del SRTG con inhibidores de la ciclooxigenasa, uno de los endoperóxidos parecía ser el candidato más probable. Debido a que el metabolito participante mediaba aparentemente una respuesta presora, se especuló que la prostaglandina participante era de naturaleza vasoconstrictora (26,27,52,58). Se ha establecido que el tromboxano A2 sintetizado en el riñón, puede

ocasionar vasoconstricción y es producido tanto por el glomérulo aislado como por células mesangiales en cultivo (33,34). También se ha establecido que la administración de compuestos inhibidores de la síntesis de tromboxano A<sub>2</sub>, inhibe la producción renal de este metabolito cuando se mide a través de la excreción urinaria de tromboxano B<sub>2</sub> (33,47). Además, el tratamiento con antagonistas de receptores de tromboxanos puede evitar la vasoconstricción producida por la administración de ácido araquidónico en la arteria renal (27,52). Nosotros evaluamos la posibilidad de que el tromboxano A<sub>2</sub> participara en la transmisión de la señal por medio de dos procedimientos experimentales: mediante bloqueo de los receptores de tromboxano A<sub>2</sub> y por la inhibición de su síntesis. Sorpresivamente, observamos que la administración del bloqueador EPO92, ya sea sistémica o intratubular, al igual que la administración intratubular del inhibidor UK38485, no atenuaron significativamente la magnitud de la respuesta obtenida durante la perfusión con la solución isotónica. Se puede especular que es posible que la concentración utilizada de estos fármacos fuese inadecuada o que estos agentes no alcanzaran el sitio de producción de tromboxano A<sub>2</sub> relacionado con la transmisión de la señal. Sin embargo, utilizamos concentraciones que estuvieron en niveles que en otros estudios han sido suficientes para inhibir la producción de tromboxano A<sub>2</sub> o la activación de los receptores correspondientes (1,33). Así mismo, en los estudios donde el bloqueador de receptores fue

administrado en la circulación general, demostramos que la dosis de EPO92 que se utilizó fue suficiente para bloquear el efecto vasoconstrictor de un análogo estable del TxA2, el U46619. En conjunto, estos resultados no apoyan la participación de TxA2 en el proceso de transmisión de las señales. Nuestros resultados difieren de los de Welch y Wilcox (66); estos investigadores informan que la administración sistémica del inhibidor UK38485 atenúa la respuesta del SRTC, medida por PBF y microperfusión ortógrada. Estos autores sugieren que el TxA2 pudiese modular la respuesta. Nuestros resultados no apoyan específicamente este punto, ya que en nuestro estudio, la administración sistémica de EPO92 no modificó la respuesta del SRTC. Sin embargo, es posible que se requiera la producción de TxA2 por las células efectoras para mantener una sensibilidad alta del sistema. Además, en nuestro estudio se examina sólo la respuesta máxima utilizando microperfusión retrógrada. Es posible que estos inhibidores del metabolismo de las prostaglandinas, pudiesen de alguna manera afectar en forma submáxima la respuesta del sistema. Sin embargo, en general se han observado cambios paralelos en la respuesta máxima y submáxima, así que sería poco probable que estos agentes atenuaran la respuesta submáxima sin afectar la respuesta máxima.

Las lipooxigenasas pueden metabolizar el ácido araquidónico a eicosanoides hidroxilados, los cuales también han demostrado poseer propiedades vasoactivas como los leucotrienos C4 y D4.

(2,3,26,62). Además, en estudios recientes, se han localizado lipooxigenasas en la rama ascendente del asa de Henle y en el glomérulo (2,28,58,59). Debido a que se ha informado que dichos eicosanoides producen vasoconstricción renal, investigamos si la inhibición de la lipooxigenación con ácido nordihidroguaiarético (ANDG) pudiese influenciar la respuesta del SRTG (3,26,58,59). Observamos que la administración intratubular de ANDG no atenuó substancialmente la magnitud de la respuesta, pero hubo una disminución significativa de 1 mmHg cuando los datos se analizaron en forma pareada; la relevancia fisiológica de esta ligera disminución es incierta. Debido a que no se observó mayor inhibición cuando se aumentó la concentración del ANDG a niveles muy altos, estos estudios no sustentaron la participación de un metabolito de la lipooxigenación en la transmisión de las señales.

El hallazgo de que el TxA<sub>2</sub> y metabolitos de la lipooxigenación no parecían participar en la transmisión de las señales del SRTG, nos motivó a evaluar en mayor detalle el informe previo de que la indometacina inhibía la respuesta del sistema. Este hecho era preocupante, debido a que las dosis utilizadas para inhibir completamente la respuesta eran mucho mayores que las requeridas para bloquear la actividad de la ciclooxigenasa en otros tejidos (25,29,65). Así, se abría la posibilidad de que la atenuación de la respuesta observada con

indometacina pudiese no estar relacionada específicamente con el bloqueo de la actividad de la ciclooxigenasa (29). En nuestros experimentos con perfusión retrógrada, fue posible confirmar que efectivamente, la adición de indometacina a las soluciones de perfusión a grandes dosis, inhibía la respuesta. Sin embargo, una observación importante y sorpresiva fue que la duración de la inhibición de la respuesta era de muy corta duración y se revertía después de 1 a 2 minutos reperfundiendo el túbulo con la solución isotónica sin indometacina. En estudios previos efectuados por Schnermann y colaboradores (54-56), se había demostrado que la inhibición de la respuesta con indometacina podía revertirse rápidamente. Estos resultados sugieren que la inhibición de la respuesta del SRTG con indometacina no es debida a bloqueo de la ciclooxigenasa, ya que la inactivación de esta enzima se considera irreversible y se requiere que se sintetice enzima nueva, para recuperar la actividad, generalmente de 8 a 12 hrs (25,29,37,65). Existen varias explicaciones alternativas para entender la inhibición de la respuesta producida por indometacina. Las concentraciones altas de indometacina podrían inhibir la actividad de la fosfodiesterasa (29), elevando con ello las concentraciones de AMPc intracelular. En estudios previos se ha demostrado que la respuesta del SRTG puede inhibirse con agentes que aumentan las concentraciones de AMPc intracelular (9). Además Burch y cols. (19) han informado que la indometacina puede alterar la cinética del calcio

intracelular. Por lo tanto, debido a que en otros estudios se ha sugerido que el sistema de calcio intracelular interviene en la transmisión de la señal del sistema (7,10,11,13), es posible que la indometacina inhiba la respuesta a través de la inhibición de los mecanismos que regulan el calcio intracelular. A favor de esta noción, está el hecho de que en nuestros experimentos, el piroxicam, un inhibidor de la ciclooxigenasa, tan potente como la indometacina, pero sin efectos en la cinética de calcio (19,21,22), no inhibe la respuesta del SRTG. Nuestro estudio sugiere que no es esencial un metabolito de la ciclooxigenasa para la transmisión de la señal. Sin embargo, debe hacerse notar que estos hallazgos no excluyen la participación de las prostaglandinas como moduladores de la sensibilidad del SRTG.

El mecanismo a través del cual el ácido araquidónico acentúa la transmisión de las señales del sistema, permanece sin definirse. Es posible que aumente la respuesta a través de alguna acción inespecífica. Desde este punto de vista, el hecho que el ácido araquidónico autooxidado no produjese un aumento de la respuesta, sugeriría que no se debe a una acción detergente del compuesto en las células de la mácula densa. El ácido araquidónico podría estimular la transmisión de las señales a través de otros mecanismos. Sin embargo, también es posible que algún metabolito no identificado pudiese participar directamente en la transmisión de las señales. Una vía alternativa que podría

producir un mediador en el sistema, es la de la monooxidasa de citocromos p-450 (20,28,40,45). Esta enzima ha sido localizada en el asa ascendente de Henle y en el glomérulo (58). La posible participación, si es que tiene alguna, de este sistema de citocromos p-450 en la transmisión de las señales, es difícil de evaluar debido a que se conoce poco de sus metabolitos y los bloqueadores potenciales de esta vía no son muy potentes. En forma alterna, la administración de ácido araquidónico podría producir la formación de un metabolito de cualquiera de las vías que no participase en forma directa en la transmisión de las señales pero que pudiese aumentar la sensibilidad del sistema. En este aspecto, Persson y cols. (48) encontraron que la administración intratubular de PGF2 aumenta la sensibilidad de la respuesta del SRTG.

Finalmente, el ácido araquidónico por si sólo puede participar directa o indirectamente en la transmisión de las señales, a través de un efecto del tipo ionóforo de calcio. Algunos estudios recientes demuestran que es capaz de movilizar calcio de los sitios de almacenamiento intracelulares y por lo tanto, aumentar las concentraciones citoplasmáticas de éste catión (32,38,69). Es importante mencionar que la acción como ionóforo de calcio, se observa a las mismas dosis que estimulan la producción de prostaglandinas, por lo que no es posible disociar ambos efectos (69). Esta capacidad de movilizar calcio,

no es exclusiva del ácido araquidónico sino de varias prostaglandinas como PGF<sub>2α</sub>, PGE y TxA<sub>2</sub> y sus análogos (38), lo que podría explicar las diferencias obtenidas con la administración sistémica e intratubular de diversas prostaglandinas (48,54-56).

En síntesis, se sugiere que la generación de ácido araquidónico puede acentuar la transmisión de la señal, a través de movilización de calcio intracelular de la mácula densa. Es claro que se requieren estudios adicionales para definir la participación del ácido araquidónico en la iniciación de señales de las células de la mácula densa.

## CONCLUSIONES

- La observación de que el ácido araquidónico aumenta significativamente la respuesta del SRTG sugirió que las prostaglandinas participan en la mediación de la señal en el SRTG.

- La respuesta del SRTG durante la perfusión con solución isotónica no fue modificada significativamente por:

a) La administración sistémica del bloqueador de receptores de TxA<sub>2</sub>, EPO92.

b) La administración intratubular del bloqueador de receptores de TxA<sub>2</sub>, EPO92.

c) La administración intratubular de un inhibidor de la síntesis de TxA<sub>2</sub>, el UK38485.

d) La administración intratubular de un inhibidor de la lipooxigenasa, el ácido nordihidroguaiarético.

- La rápida normalización de la respuesta después de la exposición a indometacina, sugiere que la inhibición de la respuesta del SRTG en presencia de indometacina no se debe a

inhibición de la actividad de la ciclooxigenasa, lo que se confirma al no observar inhibición de la respuesta con piroxicam otro inhibidor de la ciclooxigenasa, sin efectos en la cinética de calcio intracelular.

- Aún no se ha determinado el mecanismo a través del cual, el ácido araquidónico estimula la transmisión de las señales en el SRTG.

## RESUMEN

El bloqueo de la respuesta del SRTG observada con algunos inhibidores de la ciclooxigenasa sugirió que las prostaglandinas participan como mediadores de la respuesta normal del SRTG. Sin embargo, estudios recientes han sugerido que tal efecto supresor puede no estar relacionado con inhibición de la síntesis de prostaglandinas.

Para evaluar la participación de eicosanoides con propiedades vasoconstrictoras, como mediadores de la respuesta normal del SRTG, se efectuaron estudios de microperfusión anterógrada y retrógrada en 53 ratas Sprague Dawley, midiendo en forma continua la presión con bloqueo de flujo (PBF) y la respuesta de ésta a las soluciones de perfusión con un precursor y diferentes inhibidores de PGs.

La perfusión retrógrada con 160  $\mu$ M de ácido araquidónico (AA) agregado a una solución hipotónica, aumentó la respuesta del SRTG comparada con la solución hipotónica control. ( $\Delta$  PBF =  $1.6 \pm 0.4$  Vs  $10.1 \pm 0.7$  mmHg con AA). El bloqueo del efecto del tromboxano A2 con el bloqueador de receptores EP092 o el inhibidor de la síntesis de TxA2, el UK 38485 no modificó la magnitud de la respuesta obtenida con una solución isotónica ( $\Delta$  PBF =  $9.2 \pm 0.77$  Vs  $8.5 \pm 0.76$  EP092 y  $\Delta$  PBF =  $9.6 \pm 0.80$  Vs  $9.3 \pm 0.92$  UK

38485). En forma similar, un inhibidor de la lipoxigenasa de ácidos grasos, tampoco modificó la respuesta máxima del SRTG ( $\Delta$  PBF =  $8.86 \pm 0.39$  Vs  $7.93 \pm 0.37$ ). Sin embargo, la indometacina (5mM) atenuó significativamente la respuesta del SRTG ( $\Delta$  PBF =  $9.5 \pm 0.7$  Vs  $0.5 \pm 0.4$  mmHg con indometacina). La respuesta normal se restableció después de 15 a 90 s después de suspender la infusión de indometacina.

En forma adicional, la respuesta del SRTG no fue inhibida por piroxicam 5mM, ( $\Delta$  PBF =  $10.1 \pm 0.71$  Vs  $10.1 \pm 0.61$ ) otro inhibidor de la ciclooxigenasa sin efectos colaterales sobre la cinética de calcio intracitoplásmico.

Estos resultados no apoyan la participación de tromboxano A2 o leucotrienos como mediadores de la respuesta del SRTG. La rápida normalización de la respuesta después de la inhibición con indometacina, así como la falta de respuesta a piroxicam sugiere que la transmisión de la respuesta tampoco es dependiente de prostaglandinas, productos de la ciclooxigenación. Además el bloqueo observado con indometacina puede ser debido a efectos colaterales del compuesto no relacionados con la síntesis de prostaglandinas, muy probablemente a modificaciones de la cinética de calcio intracelular.

GLOSARIO DE ABREVIATURAS

AA	-	Acido araquidónico.
AAO	-	Acido araquidónico autooxidado
ANDG	-	Acido nordihidroguaiarético
Δ	-	Cambio en presión con bloqueo de flujo
DE	-	Desviación estándar
EE	-	Error estándar
EPO92	-	Bloqueador de receptores de tromboxano A2
Hipo	-	Solución tubular artificial hipotónica, 40 mOsm/l
IMBX	-	3-isobutilmetilxantina
Indo	-	Indometacina
STA	-	Solución tubular artificial 290 mOsm/l
SRTG	-	Sistema retroalimentario tubuloglomerular
PG(s)	-	Prostaglandina(s)
PBF	-	Presión con bloqueo de flujo
P-No	-	Poliétileno Número
Rec.	-	Valor de recuperación
TAM	-	Presión arterial media
TMB-8	-	8-(N,N-dietilamino)-octiltrimetoxibenzoato
TxA2	-	Tromboxano A2
U46619	-	Análogo de tromboxano A2
UK38485	-	Bloqueador de la síntesis de tromboxano A2
Vs	-	Contra
$\bar{X}$	-	Promedio

## INDICE DE FIGURAS

- 1 .- Esquema de los mecanismos que intervienen en la transmisión de la respuesta del SRTG.
- 2 .- Esquema de la técnica de microperfusión anterógrada.
- 3 .- Esquema de la técnica de microperfusión retrógrada.
- 4 .- Respuesta del SRTG durante la perfusión retrógrada de Ácido araquidónico.
- 5 .- Respuesta del SRTG durante la administración sistémica de EPO92.
- 6 .- Respuesta del SRTG durante la perfusión retrógrada con EPO92.
- 7 .- Respuesta del SRTG durante la perfusión retrógrada con UK38485
- 8 .- Respuesta del SRTG durante la perfusión retrógrada con ANDG
- 9 .- Ejemplo de la respuesta del SRTG durante la perfusión retrógrada de indometacina.
- 10.- Respuesta del SRTG durante la perfusión retrógrada con indometacina
- 11.- Respuesta del SRTG durante la perfusión retrógrada con piroxicam.

INDICE DE TABLAS

- 1 .- Respuesta del SRTG durante la perfusión retrógrada con AA
- 2 .- Respuesta del SRTG durante la perfusión retrógrada con AA autooxidado
- 3 .- Respuesta del SRTG durante la administración sistémica de EPO92
- 4 .- Efecto del U46619 sobre la PBF durante la administración sistémica de EPO92
- 5 .- Respuesta del SRTG durante la perfusión retrógrada con EPO92
- 6 .- Respuesta del SRTG durante la perfusión retrógrada con UK38485
- 7 .- Respuesta del SRTG durante la perfusión retrógrada con ANDG
- 8 .- Respuesta del SRTG durante la perfusión retrógrada con indometacina
- 9 .- Respuesta del SRTG durante la perfusión retrógrada con piroxicam

BIBLIOGRAFIA.

- 1.- Armstrong, R.A., R.L. Jones, V. Peesapati, S.G. Will, and N.H. Wilson. Competitive antagonism at thromboxane receptors in human platelets. *Br. J. Pharmacol.* 84:595-607, 1985.
- 2.- Ardailou, R., L. Baud and J. Sraer. Leukotrienes and other lipoxigenase products of arachidonic acid synthesized in the kidney. *Am. J. Med.* 81 (Suppl. 2B):12-22, 1986.
- 3.- Badr, K.F., B.M. Brenner, and I. Ichikawa. Effects of leukotrienes D4 on glomerular dynamics in the rat. *Am. J. Physiol.* 553 (Renal Fluid Electrolyte Physiol. 22):F239-F243, 1987.
- 4.- Barajas, L. The juxtaglomerular apparatus: anatomical consideration in the feedback control of glomerular filtration rate. *Fed. Proc.* 40:78-86, 1981.
- 5.- Baylis, C. and B.M. Brenner. The physiological determinants of glomerular ultrafiltration. *Rev. Physiol. Biochem. Pharmacol.* 80:1-46, 1978.
- 6.- Beierwaltes, W.H., S. Schryver, E. Sanders, J. Stand, J.C. Romero. Renin release selectively stimulated by prostaglandin I2

in isolated glomeruli. Am. J. Physiol. 234 (Renal Fluid Electrolyte Physiol. 12):F276-F283, 1982.

7.- Bell, P.D., M. Franco, L.G. Navar. Calcium as a mediator of tubuloglomerular feedback. Ann. Rev. Physiol. 49:275-293, 1987.

8.- Bell, P.D. Tubuloglomerular feedback responses in the rat during calmodulin inhibition. Am. J. Physiol. 250 (Renal Fluid Electrolyte Physiol. 19):F715.- F719, 1986.

9.- Bell, P.D. Cyclic AMP-calcium interaction in the transmission of tubuloglomerular feedback signals. Kidney Int. 28:728-732, 1985.

10.- Bell P.D., and L.G. Navar. Intrarenal control of glomerular filtration: Cellular mechanisms of tubuloglomerular feedback. Nephrology (Vol.1) Proceedings of the IX International Congress of Nephrology. Ed. R.R. Robinson, Spring-Verlag, New York, 130-142, 1984.

11.- Bell, P.D., L.G. Navar. Macula densa feedback control of glomerular filtration: Role of cytosolic calcium. Mineral Electrolyte Metab. 8:61-77, 1982.

12.- Bell P.D., L.G. Navar. Relationship between tubuloglomerular

feedback responses and perfusate hypotonicity. *Kidney Int.* 22:234-239, 1982.

13.- Bell, P.D., L.G. Navar. Cytoplasmic calcium in the mediation of macula densa tubuloglomerular feedback responses. *Science* 215:670-673, 1982.

14.- Bell, P.D. Luminal and cellular mechanisms for mediation of tubuloglomerular feedback responses. *Kidney Int.* 22(12):s97-s103, 1982.

15.- Bell, P.D., C.B. McLean, L.G. Navar. Dissociation of tubuloglomerular feedback responses from distal tubular chloride concentration in the rat. *Am. J. Physiol.* 240 (Renal Fluid Electrolyte Physiol. 9):F111-F119, 1981.

16.- Bell, P.D., L.G. Navar, D.W. Ploth, C.B. McLean. Tubuloglomerular feedback responses during perfusion with nonelectrolyte solutions in the rat. *Kidney Int.* 18:460-471, 1980.

17.- Bell, P.D., C. Thomas, R.H. Williams, L.G. Navar. Filtration rate and stop flow pressure feedback responses to nephron perfusion in the dog. *Am. J. Physiol.* 234 (Renal Fluid Electrolyte Physiol. 3):F154 - F165, 1978.

18.- Briggs, J.P., Schnermann J. Macula densa control of renin secretion and glomerular vascular tone: Evidence for common cellular mechanisms. Renal Physiol. 9(4):193-203, 1986.

19.- Burch, R.M., W.C. Wise, P.V. Haluska. Prostaglandin-independent inhibition of calcium transport by nonsteroidal anti-inflammatory drugs: differential effects of carboxylic acids and piroxicam. J. Pharmacol. Exp. Ther. 227(1):84-91, 1983.

20.- Carroll M.A., M. Schwartzman, N.G. Abraham, A. Pinto, and J.C. Mc Giff. Cytochrome p 450-dependant arachidonic acid metabolism in renomedullary cells. Formation of Na K -ATPase inhibitor. J. Hypertension 4 (suppl. 4):S33-S42, 1986.

21.- Carty, T.J., J.D. Eskra, J.G. Lombardino, W.W. Hoffman. Piroxicam, a potent inhibitor of prostaglandins production in cell culture. Structure-activity study. Prostaglandins 19(1):51-59, 1980.

22.- Carty, T. J., J.S. Stevens, J.G. Lombardino, M.J. Parry, and M.J. Randall. Piroxicam, a structurally novel anti-inflammatory compound. Mode of prostaglandin synthesis inhibition. Prostaglandins 19(5):671-682, 1980.

- 23.- Currie M.G., P. Needleman. Renal arachidonic acid metabolism. Ann. Rev. Physiol. 46:327-341, 1984.
- 24.- Daly, J.W. Adenosine receptors: Target for future drugs. J. Med. Chem. 25(3): 197-207, 1982.
- 25.- Dunn, M.J. and E.J. Zambranski. Renal effects of drugs that inhibit prostaglanin synthesis. Kidney Int. 18:609-622, 1980.
- 26.- Feigen, L.P. Influence of renal lipoxygenase activity on the renal vascular response to arachidonic acid. J. Pharmacol. Exp. Ther. 228(1):140-146, 1983.
- 27.- Feigen L.P. B.M. Chapnic, J.E. Flemming, J. M. Fleming, and P.J. Kadovits. Renal vascular effects of endoperoxide analogs, prostaglandins and arachidonic acid. Am. J. Physiol 233 (Heart and Circulatory Physiol. 5):H573-H579, 1977.
- 28.- Ferreri, N.R., M. Schwrtzman, N. Ibrahim, P.N. Chander, and J.C. McGiff. Arachidonic acid (AA) metabolism in a cell suspension isolated from rabbit renal outer medulla. J. Pharmacol. Exp. Ther. 231:441-448, 1984.
- 29.- Flower, R.J. Drugs which inhibit prostaglandin biosynthesis.

Pharmacol Rev. 26(1):33-67, 1974.

30.- Forsmann, W.G. and R. Taugner. Studies on the juxtaglomerular apparatus V. The juxtaglomerular apparatus in Tupaia with special reference to intracellular contacts. Cell. Tiss. Res. 177:291-305, 1977.

31.- Franckel, E. N. Chemistry of free radical and singlet oxidation of lipids. Prog. Lipid. Res. 23:197-221, 1985.

32.- Fukuo, K., S. Morimoto, E. Koh, S. Yukawa, H. Tsuchiya, S. Imanaka, H. Yamamoto, T. Onishi, Y. Kumahara. Effects of prostaglandins on the cytosolic free calcium concentration in vascular smooth muscle cells. Biochem. Biophys. Res. Com. 136(1):247-252, 1986.

33.- Grone, H.J., R.S. Grippo, W.J. Arendshorst, and M.J. Dunn. Role of thromboxane in the control of arterial pressure and renal function in young spontaneously hypertensive rats. Am. J. Physiol. 250 (Renal Fluid Electrolyte Physiol. 19):F488-496, 1986.

34.- Hassid, A., M. Konieczkowski, and M.J. Dunn. Prostaglandin synthesis in isolated rat kidney glomeruli. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 76:1155-1159, 1979.

- 35.- Jim K., A. Hassid, F. Sun, and M. Dunn. Lipoxygenase activity in rat kidney glomeruli, glomerular epithelial cells and cortical tubules. *J. Biol. Chem.* 257(17):10294-10299, 1982.
- 36.- Kirk K.L., P.D. Bell, D.W. Barfuss, M. Ribadeneira. Direct visualization of the isolated and perfused macula densa. *Am. J. Physiol.* 248 (Renal Fluid Electrolyte Physiol. 17):F890 - F894, 1985.
- 37.- Mizuno K, S. Yamamoto, W. E. M. Lands. Effects of non-steroidal antiinflammatory drugs on fatty acid cyclooxygenase and prostaglandin hydroperoxidase activities. *Prostaglandins* 23(5):743-757, 1982.
- 38.- Mene, P., G.R. DUBYAK, A. Scarpa, M.J. Dunn. Stimulation of cytosolic free calcium and inositol phosphates by prostaglandins in cultured mesangial cells. *Biochem. Biophys. Res. Comm.* 142(2):579-586, 1987.
- 39.- Morgan, T., R.W. Berliner.: A study by continuous microperfusion of water and electrolyte movement in the loop of Henle and distal tubule of the rat. *Nephron* 6:388-405, 1969.
- 40.- Morrison, A.R., and N. Pascoe. Metabolism of arachidonate

through NADPH-dependent oxigenase of renal cortex. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 78(12):7375-7378, 1981.

41.- Navar, L.G. P.D. Bell, D.W. Ploth. Role of feedback mechanism in renal autoregulation and sensing step in feedback pathway. Fed Proc. 40:93-98, 1981.

42.-Navar L.G. D.W. Ploth, P.D. Bell. Distal tubular feedback control of renal hemodynamics and autoregulation. Ann Rev. Physiol. 42:557-5571, 1980.

43.- Navar, L.G. Renal autoregulation: perspectives from whole kidney and single nephron studies. Am. J. Physiol. 234 (Renal Fluid Electrolyte Physiol. 5):F357-F370, 1978.

44.-Navar L.G., P.D. Bell, C.E. Thomas, D.W. Ploth. Influence of perfusate osmolality on stop flow pressure feedback responses in the dog. Am. J. Physiol. 235 (Renal Fluid Electrolyte Physiol.4):F352-F358, 1978.

45.- Oliv, E.H., J.A. Lawson, A.R. Brash, and J.A. Oates. Arachidonic acid metabolism in rabbit renal cortex. J. Biol Chem. 256(19):9924-9931, 1981.

46.- Osswald, H. Adenosine and renal function. En:

function of adenosine. R.M. Berne, T.W. Rall y R. Rubio (eds.).  
Martinus Nijhoff Publishers. The Hague/Boston/London. pp 399-415,  
1983.

47.- Parry, M.J., M.J. Randall, E. Hawkeswood, P.E. Vross, and  
R.P. Dickinson. Enhanced production of prostacyclin in blood  
after treatment with selective thromboxane synthetase inhibitor,  
UK-38485. Br. J. Pharmacol. 77(5):547, 1982.

48.- Persson, A.E., G.-B. Hahne, and G. Selen. The effect of  
tubular perfusion with PGE2, PGF2a and PGI2 on the  
tubuloglomerular feedback control in the rat. Can. J. Physiol.  
Pharmacol. 61(11):1317-1323, 1983.

49.- Ploth, D.W., R. LaGrange, L.G. Navar. Tubuloglomerular  
feedback and single nephron function after converting enzyme  
inhibition in the rat. J. Clin. Invest. 64:1325-1335, 1979.

50.- Rasmussen H., P.Q. Barret. Calcium messenger system: An  
integrated view. Physiol. Rev. 64:938-987, 1984.

51.- Rubin, R.P. Calcium-phospholipid interaction in secretory  
cells: a new perspective on stimulus-secretion coupling. Fed.  
Proc. 41:2181-2187. 1982.

52.- Sakr, H.M. and E.W. Dunham. Mechanism of arachidonic acid-induced vasoconstriction in the intact kidney: possible involvement of thromboxane A<sub>2</sub>. J. Pharmacol. Exp. Ther. 221(3):614-622, 1982.

53.- Scharschmidt, L.A., M. Simonson, and M.J. Dunn. The effects of thromboxane A<sub>2</sub> (TxA<sub>2</sub>) or endoperoxide (EP) analogues on rat glomerular planar surface area (GPSA). Kidney Int. 25:336, 1984.

54.- Schnermann, J., and P.C. Weber. Reversal of indomethacin-induced inhibition of tubuloglomerular feedback by prostaglandin infusion. Prostaglandins 24(3):351-361, 1982.

55.- Schnermann, J., and J.P. Briggs. Participation of renal cortical prostaglandins in the regulation of glomerular filtration rate. Kidney Int. 19:802-815, 1981.

56.- Schnermann, J., G. Schubert, M. Hermle, R. Herbst, N.T. Stowe, S. Yarimisu, and P.C. Weber. The effect of inhibition of prostaglandin synthesis on tubuloglomerular feedback in the rat kidney. Pflugers Arch. 379:269-279, 1979.

57.- Schnermann, J., F.S. Wright, J.M. David, W. Von Stackelberg, G. Grill. Regulation of superficial nephron filtration rate by tubuloglomerular feedback. Pflugers Arch. 318:147-175, 1970.

58.- Schlondorff D. Renal prostaglandin synthesis: sites of production and specific actions of prostaglandins. Am. J. Med. 81 (suppl. 2B):1-11, 1986.

59.- Schlondorff D., R. Ardailow. Prostaglandins and other arachidonic acid metabolites in the kidney. Kidney Int. 29:108-119, 1986.

60.- Schwartzman M.L., N.G. Abraham, M.A. Carroll, R.D. Levere, J.C. McGiff. Regulation of arachidonic acid metabolism by cytochrome p-450 in rabbit kidney. Biochem J. 238:283-290, 1986.

61.- Skott O., J.P. Briggs. Direct demonstration of macula densa-mediated renin secretion. Science 237:1618-1620, 1987.

62.- Simonson, M.S., and M.J. Dunn. Leukotriene C4 and D4 contract rat glomerular mesangial cells. Kidney Int. 30:524-231, 1986.

63.- Spielman, W.S., and C.I. Thompson. A proposed role for adenosine in the regulation on renal hemodynamics and renin release. Am. J. Physiol. 242:f423-F435, 1982.

64.- Sraer, J., J.D. Sraer, D. Chansel, F. Russo-Marie, B.

Kouznetzova, and R. Adailou. Prostaglandin synthesis by isolated rat renal glomeruli. Mol. Cell. Endocrinol. 16:29-37, 1979.

65.- Walenga R.W., S.F. Wall, B.N.Y. Setty, and M.J. Stuart. Time dependent inhibition of platelet cyclo-oxygenase by indomethacin is slowly reversible. Prostaglandins 31(4):625-635, 1986.

66.- Welch W.J., and C.S. Wilcox. Modulating role for thromboxane in the tubuloglomerular feedback response in the rat. J. Clin. Invest. 1:1843-1849, 1988.

67.- Weber, P.C., B. Scherer, W. Siess, E. Held, J. Schnermann. Formation and actions of prostaglandins in the kidney. Klin Wochenschr 57:1021-1029, 1979.

68.- Williams J.A. Regulation of pancreatic acinar cells function by intracellular calcium. Am. J. Physiol. 238 (Gastrointest. Liver Physiol. 1):G268-G279, 1980.

69.- Wolf B.A., J. Turk, W.R. Sherman, M.L. McDaniel. Intracellular Ca mobilization by arachidonic acid. Comparison with myo-inositol, 4,5,6-triphosphate in isolated pancreatic islets. J. Biol. Chem. 261(8):3501-3511, 1986.

70.-Wright, F.S., and J.P. Briggs. Feedback control of glomerular blood flow, pressure and filtration rate. *Physiol. Rev.* 59:958-1006, 1979.

ESTA TESIS NO DEBE  
SALIR DE LA BIBLIOTECA