

Permeabilidad tubular conservada en la insuficiencia renal aguda postisquémica *

J. M. López-Novoa, M. A. Rengel, F. J. Ortega, J. L. Rodicio y L. Hernando

Servicio de Nefrología
Fundación Jiménez Díaz
Avda. de los Reyes Católicos, 2
Madrid - 3

(Recibido el 15 de mayo de 1976)

J. M. LOPEZ-NOVOA, M. A. RENGEL, F. J. ORTEGA, J. L. RODICIO and L. HERNANDO. *Tubular Permeability Maintained in Post-Ischemic Acute Renal Failure*. Rev. esp. Fisiol., 33, 11-16. 1977.

The effect of nearly total renal ischemia during a two hour period on glomerular filtration and urine composition was studied in relation to tubular permeability and tubular obstruction, two mechanisms that could explain renal insufficiency after ischemia.

Studies on creatinine clearance, micropuncture and microinjection of ¹⁴C-inulin into the proximal tubules by means of a hydraulic system were performed before and after the period of ischemia. Thirty minutes after the withdrawal of arterial obstruction, the animals exhibited a maintained diuresis, 50 per cent reduction in glomerular filtration in the superficial nephrons and in the total kidney, a reduction in the proximal fractional absorption of water, and also an increase in the urinary elimination of sodium.

The glomerular filtrate of cortical nephrons obtained by micropuncture in anterior areas of the proximal tubules did not differ significantly from the one obtained by micropuncture in more distal areas.

The inulin injected into the proximal tubules of a kidney was entirely eliminated by it.

La fisiopatología del fracaso renal agudo se desconoce todavía en aspectos fundamentales. Hoy día se invocan tres grupos de mecanismos distintos: alteraciones

vasomotoras, aumento de permeabilidad tubular y obstrucción tubular.

En el presente estudio se investiga el papel jugado por el aumento de permeabilidad tubular en un modelo de fracaso renal agudo provocado por isquemia renal temporal.

Un problema de la mayor parte de las técnicas utilizadas, inyección de glicerina, dicromato potásico, cloruro mercuríco, ni-

* Una parte de este trabajo ha sido presentada al I Congreso Nacional de Ciencias Fisiológicas y publicado un resumen en el libro del Congreso.

trato de uranilo, es que poseen un cúmulo de efectos secundarios: miolisis, hemolisis, liberación de sustancias de acción tóxica directa sobre el riñón, que pueden interferir con el desarrollo del proceso experimental. Por ello se ha utilizado, en el presente trabajo, una técnica basada en la isquemia renal temporal por ligadura de la arteria renal, que elimina en gran parte estas interferencias y que produce una serie de alteraciones similares a las observadas en los modelos experimentales más frecuentemente utilizados (9).

Material y métodos

Las experiencias han sido realizadas en ratas Wistar, hembras, procedentes de nuestro criadero, que pesaban 190-250 g. Tuvieron libre acceso a una comida estándar hasta 18 horas antes de la experiencia y al agua durante todo el tiempo. Después de ser anestesiadas con fenobarbital sódico fueron traqueotomizadas y colocadas en una mesa de micropunción provista de un mecanismo de calefacción y termostato. Allí fueron preparadas para micropunción y/o aclaramiento según técnicas previamente descritas (15). Además de los procedimientos quirúrgicos ordinarios se pasó un lazo de lino calibre 50 alrededor de la arteria renal, quedando sus extremos sujetos mediante la introducción en un tubo de polietileno de 5 mm de diámetro y 3 cm de longitud con objeto de poder reducir su calibre. Una vez canulada una yugular, se comenzó a infundir por ella inulina al 7% en Ringer-lactato, a una velocidad de 0,015 ml/min de forma que se conseguía una concentración en sangre de 0,8-1 mg/ml.

Efecto de dos horas de isquemia sobre la función renal. En 10 ratas uninefrectomizadas, al menos 20 días antes de la experiencia y preparadas para micropunción, se tomaron dos muestras de orina de 30 minutos de duración a través de un

catéter vesical implantado mediante incisión suprapúbica.

Al principio y al final de cada período se tomaron 0,1 ml de sangre femoral en capilares heparinizados, para medir hematocrito y concentración de inulina. Simultáneamente con la recogida de orina, se tomaron tres muestras de fluido tubular por micropunción de la parte final accesible del túbulo proximal mediante la técnica de recolección espontánea previamente descrita (15). Una vez terminado este período de control, el lazo situado alrededor de la arteria renal se estrechó tirando de las puntas de lino pasadas por un tubo de polietileno, de forma que la circulación superficial renal, observada a través del microscopio de disección, se hiciera muy lenta, aunque con cuidado de no interrumpirla totalmente. Con ello el paso de fluido por los túbulos fue desapareciendo, terminando éstos por colapsarse en pocos minutos. Durante el tiempo de isquemia se suspendió la infusión de inulina. Una vez transcurridas dos horas, se retiró el lazo arterial, la circulación se restauró aparentemente en pocos minutos y las nefronas volvieron a cargarse de líquido. Se reinició la infusión de inulina y a los 30 minutos se repitieron los procedimientos experimentales descritos en el período control.

Búsqueda de «escape» de inulina a través de la pared tubular. En 4 animales uninefrectomizados y preparados para micropunción se repitió el procedimiento experimental utilizado en el grupo anterior, con la diferencia de que, en cada período, se obtuvieron dos o tres muestras de fluido tubular, tanto de zonas medias como de la zona final accesible del túbulo proximal, identificadas por el paso de lisamina verde.

Asimismo, se estudió la recuperación urinaria de C^{14} -metoxi-inulina inyectada en los túbulos proximales de cinco animales no nefrectomizados y en poliuria por inyección de furosemida, 10 mg/kg de

peso, para conseguir una diuresis de alrededor de 50 μ l/min. Se realizaron tres microinyecciones de inulina marcada en el período de control y otras tantas en el período postisquémico en cada rata, cuyos uréteres fueron canulados independientemente con tubo de polietileno PE 10.

La microinyección fue hecha mediante una microjeringa Hamilton (Micromesure N.U. La Haya), acoplada a una bomba Braun de infusión constante de manera que proporcionara una velocidad de infusión de alrededor de 1 nl/min. La jeringa se conectó mediante un tubo de polietileno PE 50 a la pipeta de micropunción a través del manguito del micromanipulador. La jeringa y el tubo de polietileno se llenaron con aceite mineral y el tubo se ajustó a la pipeta calentando ligeramente. Una vez realizada la inyección, la pipeta fue mantenida 5 minutos en su posición antes de ser retirada y se dejó un intervalo de 20 minutos antes de comenzar una nueva microinyección. La orina fue recogida, en períodos de 10 minutos a partir del momento de comenzar la infusión, en pequeños viales completándose a 1 ml con solución salina. Esta cantidad se puso junto con 7 ml de líquido de Bray en viales de centelleo que contenían

2 ml de agua destilada. Se pusieron muestras de 5 ml de inulina, igual a la inyectada, directamente en 1 ml de solución salina y se trataron como si fueran orinas. Estas muestras fueron utilizadas como patrones de referencia y su actividad fue considerada el 100 %. Todos los viales se leyeron en un contador de centelleo líquido durante una hora o 10.000 cuentas.

Se determinó sodio y potasio por fotometría de llama en un espectrofotómetro, modelo IL 141 (Instrumentation Laboratory, Lexington, Mass.); inulina en sangre y orina por el método de la antrona (7); inulina en fluido tubular mediante un micrométodo espectrofluorométrico (17).

Resultados

Efecto producido por dos horas de isquemia casi total sobre la función renal. Contra lo observado por algunos autores (2, 3) no se ha encontrado un aumento significativo de la diuresis. El filtrado glomerular total se reduce en 48,5 % y el filtrado glomerular por nefrona cortical en un 51,2 % (tabla I), cifras similares a las observadas por DAUGHARTY *et al.* (2).

Los datos del filtrado glomerular por nefrona obtenidos por micropunción en la

Tabla I. *Efecto de la isquemia sobre la función renal.*

Abreviaturas utilizadas: PA = Presión arterial; D = Diuresis; U/P_{in} = Relación entre la concentración de inulina en orina y plasma; FGT = Filtrado glomerular total; U_{Na} = Sodio de orina; U_K = Potasio en orina; FT = Flujo tubular; FT/P_{in} = Cociente entre la concentración de inulina en fluido tubular y plasma; FG/N = Filtrado glomerular por nefrona.

Parámetros	Período control	Período postisquemia
PA (mm Hg)	98,00 ± 2,00	97,00 ± 2,00 *
D (μ l/min/kg)	27,20 ± 2,00	34,70 ± 4,70 *
U/P _{in}	241,00 ± 11,00	96,00 ± 3,00 **
FGT (ml/min/kg)	6,49 ± 0,24	3,34 ± 0,51 **
U _{Na} (mEq/l)	25,50 ± 5,30	141,40 ± 11,80 **
U _K (mEq/l)	175,00 ± 9,00	63,00 ± 10,00 **
FT (nl/min)	10,70 ± 0,30	7,80 ± 0,30 **
FT/P _{in}	2,92 ± 0,03	1,85 ± 0,08 **
FG/N (nl/min)	31,20 ± 0,70	14,30 ± 0,60 **

* No significativo. ** P < 0,005.

parte inicial de los túbulos proximales y en la más distal accesible de los mismos se muestran en la figura 1. Los valores encontrados para las dos localizaciones no presentan diferencias significativas en el periodo control ni en el de recuperación de la isquemia.

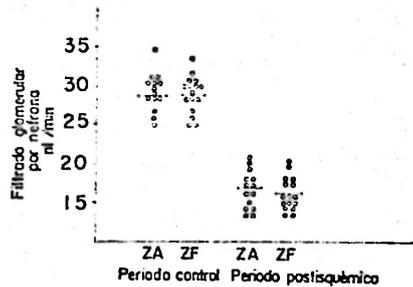


Fig. 1. Comparación de los filtrados glomerulares por nefrona obtenidos de micropunción de las zonas anteriores (ZA) y la zona más distal accesible (ZF) de túbulos proximales antes y después de una isquemia renal temporal.

La figura 2 resume los resultados de microinyección de inulina radiactiva. En el periodo control toda la inulina inyectada en los túbulos de uno de los riñones se recupera en la orina eliminada por el mismo. En el periodo postisquémico ocurre lo mismo en 3 animales, pero en el cuarto alrededor de un 40 % de la inulina total excretada se elimina por el riñón

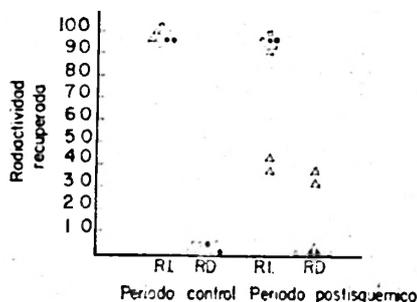


Fig. II. Recuperación de C^{14} -metoxi-inulina inyectada en túbulos renales antes y después de una isquemia renal temporal.

contralateral. Este animal excretó por los dos riñones alrededor de un 70 % de la inulina inyectada y no se pudo probar que tuviera ninguna peculiaridad que justificara el comportamiento diferente al del resto de los animales.

Discusión

El problema de cuál es el trastorno fisiológico fundamental en el desarrollo del fracaso renal agudo está aún sin resolver, a pesar del gran número de trabajos de investigación realizados en los últimos años sobre el tema, utilizando las más modernas técnicas (1, 2, 6, 8, 11, 13, 14, 16). De ellos han surgido dos tendencias principales, que pueden resumirse en los que creen que el factor primario es la alteración hemodinámica y las modificaciones tubulares son secundarias a ella (2, 3, 10, 12), por otro lado los que sostienen que la obstrucción tubular y la permeabilidad tubular aumentada, con escape de filtrado a través del epitelio dañado, son los responsables primarios de la oliguria y siguen siendo de primera importancia en su mantenimiento (4, 16).

TANNER *et al.* (16) encontraron que tras 1-2 horas de isquemia renal unilateral, la filtración glomerular total es del 10 % del valor basal y la filtración glomerular por nefrona cortical del 70 %, presentando una resorción proximal de agua disminuida. Hicieron asimismo microinyecciones manuales de C^{14} -metoxi-inulina en los túbulos renales. Antes de haber sufrido isquemia se recuperaba del riñón microinyectado un 98,4 % de la radiactividad administrada y sólo un 0,6 % se eliminaba por el contralateral. Después de una hora de isquemia el riñón inyectado excretaba un 36,4 % y el contralateral un 27,3 % del total administrado. La presión hidrostática de los túbulos proximales fue tan alta que igualó la presión de los capilares glomerulares medida por otros investigadores. Terminan concluyendo que la disparidad entre la filtración glomerular

total y la por nefrona puede explicarse por una obstrucción tubular (que vendría apoyada por alta presión hidrostática intratubular proximal) y un escape de fluido tubular a través del epitelio de la nefrona proximal, demostrado por las experiencias de microinyección de C¹⁴-metoxi-inulina.

DAUGHARTY *et al.* (2) observaron después de 3 horas de isquemia renal unilateral casi completa, que el riñón problema presentaba una filtración glomerular total y de cada nefrona cortical disminuidas en un 40 %. Mediante inyección tubular de inulina marcada y medida de la filtración glomerular a dos niveles diferentes del túbulo proximal dedujeron que no había escape transtubular de inulina. Las experiencias fueron realizadas en la estirpe Múnich de ratas Wistar, que presentan glomérulos en la superficie del riñón. Esto les permitió deducir por valoración directa que el equilibrio de filtración individual de las nefronas corticales se mantenía sin cambio respecto a los valores control.

La inyección intratubular de C¹⁴-metoxi-inulina parece ser una prueba importante en la valoración de la permeabilidad y del posible escape de filtrado del interior de los túbulos dañados y posiblemente obstruidos. Sin embargo, han sido muchas las objeciones que se han hecho al método utilizado. TANNER *et al.* (16), inyectaban manualmente la inulina radiactiva dentro de los túbulos, sin control de la presión hidrostática intratubular, lo que podría facilitar la salida de la inulina, al elevarse la presión intratubular, a través del epitelio dañado. Esto podría explicar la disminución de la recuperación de la inulina observada. Para intentar obviar esto, y la necesidad de colocar otra micropipeta distalmente a la zona de punción, se ha realizado la microinyección mecánicamente, con ayuda de una bomba Braun de infusión continua y una microjeringa, de forma que se consiga una velocidad de infusión muy baja, 1 nl/min. Así se ha encontrado que, excepto en un animal, la radi-

actividad administrada en los túbulos proximales de un riñón se elimina íntegramente en la orina procedente del mismo. El filtrado glomerular por nefrona cortical obtenido a partir de micropunciones al azar en túbulos proximales no varía respecto a las realizadas en la zona más distal accesible de los mismos, indicando que no ha habido pérdida de inulina en el trayecto entre la zona pinchada al azar y la zona más distal situada en la superficie. Esto parece indicar que, en la reducción de filtrado glomerular observada, no juega un papel fundamental el escape del fluido tubular y que son especialmente factores hemodinámicos (2, 12) los responsables de estas alteraciones.

Resumen

Se estudia el efecto de dos horas de isquemia renal casi total sobre la filtración glomerular y la composición urinaria, así como el posible aumento de permeabilidad tubular.

Antes y después de la isquemia renal temporal se hicieron estudios de aclaramiento, micropunción y microinyección de C¹⁴-metoxi-inulina dentro de túbulos proximales mediante un sistema hidráulico. Después de 30 minutos de haber retirado la obstrucción arterial, los animales presentaban diuresis mantenida, reducción el 50 % del filtrado glomerular, tanto de las nefronas superficiales como del riñón total, así como de la resorción proximal racional de agua, además de un incremento de seis veces en la eliminación urinaria de sodio. El filtrado glomerular por nefrona cortical obtenido a partir de micropunciones de zonas anteriores de los túbulos proximales no difiere significativamente del obtenido de micropunciones de la zona más distal accesible de los mismos. La inulina inyectada en los túbulos proximales de un riñón es eliminada íntegramente por el mismo.

Bibliografía

1. ARENDSHORST, W. J., FINN, W. F. y GOTTSCHALD, C. W.: *Abs. Amer. Soc. Nephrol.*, Washington, 1973, p. 4.
2. DAUGHARTY, T. M., UEKI, I. F., MERCER, P. F. y BRENNER, B. M.: *J. Clin. Invest.*, 53, 105-116, 1974.

3. DAUGHARTY, T. M. y BRENNER, B. M.: *Am. J. Physiol.*, **228**, 1436-1439, 1975.
4. EISENBACH, G. M. y STEINHAUSEN, M.: *Pfluegers Arch.*, **343**, 11-25, 1973.
5. EISENBACH, G. M., KITZILINGER, B. y STEINHAUSEN, M.: *Pfluegers Arch.*, **246**, 223-234, 1974.
6. FINN, W. F., ARENDSHORST, W. J. y GOTTSCHALK, C. W.: *Circ. Res.*, **36**, 675-681, 1975.
7. FÜHR, J., KACZMARCZY, K. J. y KRÜTTGEN, C. D.: *Klin. Wochenschr.*, **33**, 729-730, 1955.
8. HINSHAW, L. B., PAGE, B. B., BRAKE, C. M. y EMERSON, T. E.: *Circ. Res.*, **2**, 231-235, 1954.
9. LÓPEZ-NOVOA, J. M., RODICIO, J. L., MILLÁS, I. y HERNANDO-ÁVENDAÑO, L.: *Rev. esp. Fisiol.*, **31**, 131-132, 1975.
10. OKEN, D. E., ARCE, M. L. y WILSON, D. R.: *J. Clin. Invest.*, **45**, 724-735, 1966.
11. OKEN, D. E.: *Am. J. Med.*, **58**, 77-82, 1975.
12. OKEN, D. E.: *An. Rew. Med.*, **26**, 307-319, 1975.
13. REIMER, K. A., GANATE, C. E. y JENNINGS, R. B.: *Lab. Invest.*, **26**, 347-363, 1972.
14. RILEY, A. L., ALEXANDER, E. A., MIGDAL, S. y LEVINSKY, N. G.: *Kidney Int.*, **7**, 27-34, 1975.
15. RODICIO, J., HERRERA-ACOSTA, J., SELLMAN, J. C., RECTOR, F. C., JR. y SELDIN, D. W.: *Nephron*, **6**, 437-456, 1969.
16. TANNER, G. A., SLOAN, D. L. y SOPHASAN, S.: *Kidney Int.*, **4**, 377-389, 1973.
17. VUREK, G. G. y PEGRAM, S. E.: *An. Biochem.*, **16**, 409-419, 1966.