

EFFECTO DE LA FICOCIANINA-C SOBRE LA MORFOLOGÍA GLOMERULAR EN UN MODELO DE NEFROTOXICIDAD POR KANAMICINA

MSc. Lic. Zulema Ramírez Carmentate¹, MSc. Lic. Sandra Rodríguez Salgueiro², Dra CM. Lucía González Núñez³, Mariuska Matos Terrero², Amelia Capote¹

¹ Escuela Latinoamericana de Medicina. Cuba

² Instituto Nacional de Investigaciones Científicas. Cuba

³ Instituto de Nefrología. "Dr. Abelardo Buch López". Cuba

zulemarc@elacm.sld.cu

RESUMEN

Introducción

El uso de los antibióticos aminoglucósidos está limitado por la nefrotoxicidad que producen. El daño primario se produce en las células tubulares proximales y posteriormente se afectan los glomérulos. La ficocianina-c acelera la recuperación de los túbulos debido a sus propiedades antioxidantes. En este trabajo se evaluó el efecto de la ficocianina-c sobre la morfología glomerular de ratas en la fase recuperativa del daño renal inducido por un tratamiento crónico con kanamicina.

Materiales y métodos

Se utilizaron 29 ratas Wistar adultas machos distribuidas en cinco grupos tratados durante 20 días con: PBS (*Control*), kanamicina (*Kanamicina*) y los tres restantes con ficocianina-c (5 y 10 mg/kg) y kanamicina (*Ficocianina Concomitante 5*, *Ficocianina Concomitante 10* y *Ficocianina Precondicionado 10*). El grupo *Ficocianina Precondicionado 10* recibió además un pretratamiento con ficocianina-c durante 4 días. A los 90 días de iniciado el experimento, se extrajeron los riñones, se incluyeron en parafina y se tiñeron con hematoxilina y eosina y ácido peryódico de Schiff. Se evaluaron los glomérulos en 10 campos de la zona cortical, mediante estudios morfológicos cualitativos y semicuantitativos, utilizando microscopía óptica.

Resultados

Los tratamientos concomitante (10 mg/kg) y preconditionante con ficocianina-c redujeron la expansión mesangial y el daño glomerular inducido por kanamicina. La celularidad mesangial se comportó como en el grupo *Control*. El pretratamiento con ficocianina-c provocó disminución de las sinequias.

Conclusiones

La ficocianina-c contribuye a evitar los efectos tardíos de la kanamicina sobre los glomérulos renales, lo que podría ser de gran utilidad para mitigar la acción nefrotóxica de la antibioticoterapia con aminoglucósidos.

INTRODUCCIÓN

La ficocianina-c es un pigmento fotosintético biliproteico que se extrae de algas verde azules de agua fresca, como *Spirulina sp.*¹ Presenta diversas propiedades farmacológicas relacionadas con su actividad antioxidante.² El efecto nefroprotector de tratamientos con ficocianina-c y también con *Spirulina sp.* sobre la morfología tubular se ha demostrado en modelos de daño agudo inducido por gentamicina en ratas.³⁻⁵ Todos estos estudios tienen en común la evaluación de la morfología tubular durante la fase aguda, sin embargo son pocas o ninguna las investigaciones realizadas en la morfología glomerular durante la fase recuperativa.

En un estudio anterior de nuestro grupo se demostró el efecto protector de la ficocianina-c sobre los túbulos proximales, evaluada durante la fase recuperativa, en un modelo de daño por kanamicina en ratas y ratones.⁶

Los aminoglucósidos (AMG) son antibióticos naturales (obtenidos a partir de actinomicetos) o semisintéticos. Se usan frecuentemente en el tratamiento de una variedad de infecciones producidas por bacterias Gram negativas y endocarditis bacteriana.⁷

Los beneficios clínicos de estos agentes se ven limitados por la nefrotoxicidad, que es uno de sus efectos secundarios más persistentes y graves.^{8,9} Algunas características físicoquímicas y farmacocinéticas de los AMG como su rápido transporte, gran acumulación y retención durante periodos prolongados, contribuyen a desarrollar el daño renal.¹⁰

Actualmente, a pesar de sus acciones tóxicas, está aumentando la prescripción de los AMG, debido a la disminución de la resistencia bacteriana global y a su diversidad estructural, que evita la resistencia cruzada.⁸ Además, con la reemergencia de la tuberculosis a nivel mundial en los últimos años, se ha incrementado el uso de los AMG estreptomicina, kanamicina y amikacina, considerados actualmente como medicamentos antituberculosos de segunda línea por la Organización Mundial de la Salud.^{11,12}

Dentro de los mecanismos fisiopatológicos del daño renal por AMG, se ha comprobado que estos inducen generación de especies reactivas del oxígeno.¹³ Inicialmente, esto conduce a la muerte de las células epiteliales de los túbulos proximales (fase de necrosis tubular aguda)^{14,15} y posteriormente, a la contracción vascular y mesangial en los glomérulos, al mismo tiempo que el epitelio tubular se regenera (fase recuperativa).¹⁶ Además, se favorece un proceso inflamatorio.¹⁷

El uso de nefroprotectores podría mejorar el perfil tóxico farmacológico y la utilidad clínica de estos fármacos.¹⁸ Según resultados experimentales, el uso de agentes con propiedades antioxidantes disminuye la nefrotoxicidad provocada por los AMG.¹⁹⁻²²

El presente trabajo tuvo como objetivo evaluar el efecto de la ficocianina-c sobre la morfología glomerular de ratas durante la fase recuperativa del daño inducido por un tratamiento crónico con kanamicina.

MATERIALES Y MÉTODOS

Animales

Se utilizaron 29 ratas Wistar machos con un peso de 320-350 g aproximadamente, procedentes del Centro Nacional para la Producción de Animales de Laboratorio (CENPALAB). Los procedimientos se realizaron según lo aprobado por los Comités Internacionales para el Cuidado de los Animales y de acuerdo con las regulaciones cubanas para la experimentación animal, acorde con las guías éticas para la investigación. Se alimentaron con dieta estándar comercial y *ad libitum*. Se mantuvieron en estas condiciones antes y durante el experimento. Se distribuyeron en cinco grupos los cuales fueron tratados una vez al día durante 20 días: un grupo **Control** y los grupos **Kanamicina**, **Ficocianina Concomitante 5**, **Ficocianina Concomitante 10** y **Ficocianina Precondicionado 10** (Tabla 1).

Se empleó kanamicina-100 (ámpulas de inyección de 100 mg/mL, de Laboratorios AICA, La Habana, Cuba); Ficocianina-c (Biodelta PTY Ltd, 30 % de pureza a partir de *Spirulina platensis*) y una disolución de cloruro de sodio 0,1 mol/L. pH 7.2-7.4 (PBS).

La disolución de ficocianina-c se preparó a razón de 2,5 mg/mL para lo cual se pesó 1 g de ficocianina-c, se diluyó en 400 mL de PBS estéril y se homogenizó en un agitador hasta su completa disolución.

Los tratamientos se administraron por la mañana. La ficocianina-c se administró primero y posteriormente la kanamicina. A los 90 días de iniciado el experimento, se efectuó la eutanasia por sobredosis de tiopental sódico 50 mg/kg de peso y se extrajeron los riñones para el análisis histopatológico.

Procesamiento histológico

Los riñones extraídos se seccionaron mediante un corte sagital a través del hilio, se fijaron en una disolución estabilizadora de formol 10% en PBS y se incluyeron en parafina. Se realizaron cortes de 3-4 μm de grosor, se tiñeron con hematoxilina y eosina y ácido peryódico de Schiff (PAS).²³

Análisis morfológico cualitativo y semicuantitativo

Se utilizó una lámina histológica teñida con PAS por animal y se evaluaron 10 campos tomados al azar en la zona cortical desde el polo superior al inferior, a 400 X mediante un microscopio óptico OLYMPUS BX 53 y las imágenes se tomaron con una cámara CDP 73 acoplada al microscopio.

Análisis semicuantitativo

Por cada campo se tuvieron en cuenta los glomérulos que aparecían en toda su extensión y se evaluó el daño en cuanto a las variables siguientes: presencia de sinequias en el ovillo glomerular (adherencia a la cápsula de Bowman que puede ser a través de una unión fibrilar o de tipo celular); hiper celularidad mesangial (presencia de más de tres núcleos en el mesangio); expansión mesangial (incremento de las zonas coloreadas en el mesangio). Para determinar el daño glomerular se promediaron las tres variables estudiadas.

Para el análisis de las variables de daño glomerular se le asignó **0** a la estructura histológica normal y **1** a la condición patológica. Para la cuantificación de las variables se utilizó el método descrito previamente, utilizando el programa .Net platform/Visual Studio 2008 environment, C# language, en el cual se promedian los glomérulos dañados por campo histológico y se obtienen 10 valores por animal.²⁴

Análisis estadístico

Se utilizó el programa estadístico Graph Pad Prism 5.00 para Windows. Se realizaron comparaciones entre todos los grupos con respecto al porcentaje de glomérulos dañados por campo histológico para cada variable. Las diferencias estadísticas entre los grupos de tratamiento se determinaron mediante las pruebas no paramétricas Kruskal Wallis y de comparaciones múltiples de Dunn. Las diferencias se consideraron estadísticamente significativas cuando $p < 0.05$.

RESULTADOS

Análisis cualitativo

En el grupo **Control** la morfología glomerular se caracterizó por la presencia de corpúsculos renales normales (Figura 1).

En el grupo **Kanamicina** se presentaron zonas de glomérulos dañados alternando con zonas aisladas de estructura normal. Se observaron glomérulos con diferentes grados de severidad de daño, desde parcialmente dañados hasta degenerados completamente (Figura 2).

En los glomérulos parcialmente dañados se observaron sinequias, obliteración de las luces capilares de algunos lobulillos, hiper celularidad y aumento de la matriz del mesangio, lo que le confirió un aspecto ensanchado. En zonas aledañas extraglomerulares se identificó infiltrado inflamatorio intersticial. Además, se apreció dilatación irregular del espacio de Bowman y retracción del ovillo glomerular.

En los glomérulos degenerados completamente se observó la membrana basal engrosada, marcada retracción del ovillo glomerular con obliteración de las luces capilares y gran ensanchamiento del espacio de Bowman.

En los grupos **Ficocianina Concomitante 5 y 10** se observaron sinequias, obliteración de las luces capilares de algunos lobulillos; hiper celularidad y aumento de la matriz del

mesangio; en algunos glomérulos la membrana basal de la cápsula de Bowman estaba engrosada. En algunos casos, se apreció dilatación irregular del espacio de Bowman y retracción del ovillo glomerular. No obstante, estos daños fueron menos notables en el grupo *Ficocianina Concomitante 10*.

El grupo *Ficocianina Precondicionado 10* presentó extensas áreas de glomérulos conservados con un comportamiento similar al grupo *Control* (Figura 3).

Análisis semicuantitativo

La kanamicina provocó un aumento del mesangio a expensas de la matriz y las células mesangiales. Los grupos tratados con ficocianina 10 mg/kg mostraron disminución de la matriz mesangial con respecto al grupo *Kanamicina* y la celularidad mesangial se comportó como en el grupo *Control*.

El grupo *Kanamicina* tuvo el mayor porcentaje de glomérulos con sinequias. Sin embargo, los grupos que recibieron tratamiento con ficocianina-c evidenciaron un menor porcentaje de glomérulos dañados en comparación con el grupo *Kanamicina* para este tipo de lesión, cuyos resultados no se diferenciaron del grupo *Control*.

En la evaluación del daño glomerular, el grupo *Kanamicina* tuvo más afectación que el grupo *Control*. Solo en el grupo *Ficocianina Precondicionado 10* hubo una disminución del daño glomerular con respecto al grupo *Kanamicina* (Figura 4).

DISCUSIÓN

Los AMG inducen cambios morfológicos importantes en el riñón los que ocasionan, en muchos casos, daño renal agudo. Esto se debe a que las células de los túbulos proximales renales poseen un mecanismo de transporte particular que permite aumentar la concentración de los AMG de manera muy superior a los encontrados en el plasma.⁴ El riñón puede responder al daño iniciando un proceso de reparación siempre que haya suficientes nutrientes y oxígeno y la integridad de la membrana basal tubular no esté afectada irreparablemente.¹⁴

La búsqueda de sustancias nefroprotectoras que disminuyan la toxicidad provocada por los AMG, o aceleren la recuperación morfofuncional del riñón, constituye una prioridad.^{19-21, 25} En el presente trabajo, se evaluó el efecto del agente antioxidante ficocianina-c sobre la morfología glomerular durante la recuperación del daño renal inducido por kanamicina en ratas, mediante estudios morfológicos cualitativos y semicuantitativos.

Los cambios morfológicos inducidos por kanamicina tuvieron características de tipo focal, debido a la ocurrencia simultánea de necrosis y regeneración,^{9,82} eventos similares a los obtenidos con otros AMG.²⁶ En los grupos tratados con ficocianina-c se observaron extensas áreas de glomérulos conservados, lo cual se correspondió con áreas de reparación tisular.

Aunque el glomérulo es la primera parte de la nefrona que entra en contacto con los AMG, se le ha prestado poca atención en estudios previos. Uno de los resultados novedosos de

este trabajo es la descripción de cambios morfológicos glomerulares inducidos por kanamicina, dados por el aumento de células mesangiales, expansión mesangial y presencia de senequias.

Sobre la nefrotoxicidad causada por AMG se ha planteado la ocurrencia de daño tubular sin cambios significativos en las estructuras glomerulares.²⁷⁻²⁹ Esta puede ser una de las razones por la cual, en evaluaciones histopatológicas del daño renal agudo por AMG, se hace poca referencia al glomérulo. Sin embargo, se ha descrito que en modelos experimentales la gentamicina puede inducir congestión, atrofia, hipertrofia glomerular²⁰ y acumulación de sustancia amorfa en la matriz mesangial.³⁰

En estudios de fisiología renal se ha reportado que la gentamicina causa disminución de la velocidad de filtración glomerular y otras alteraciones intraglomerulares.²⁹ Una de las estructuras que se piensa juegue un papel importante en la regulación de la filtración glomerular son las células mesangiales, debido a sus propiedades como células contráctiles.³¹

Se ha planteado que la contracción de las células mesangiales disminuye la filtración glomerular por reducción del flujo sanguíneo.^{32,33} Tanto la contracción como la relajación de las células mesangiales son reguladas por numerosas sustancias vasoactivas y pueden ser alteradas por xenobióticos, tales como drogas y metales pesados.^{34,35} Por esta razón, las células mesangiales pueden constituir blancos de sustancias tóxicas y se ha reportado que los AMG pueden inducir aumento de la proliferación de este tipo celular.³⁶

En este trabajo se describe por primera vez el aumento del número de células mesangiales durante la recuperación del riñón después de un tratamiento crónico con kanamicina. En un estudio previo se observó la proliferación de células mesangiales durante la fase aguda del daño causado por gentamicina. Esto se interpretó como una respuesta de reparación causada por la acción del AMG sobre el compartimento mesangial o estructuras adyacentes.³⁷

Sin embargo, según Martínez-Salgado no se ha reportado aumento del número de células mesangiales en animales ni en pacientes tratados con AMG, lo que este autor atribuyó a la ocurrencia simultánea de proliferación y apoptosis como un mecanismo que regula el número de células después del daño inducido por gentamicina.³⁷

La expansión mesangial podría estar vinculada al aumento de la proliferación de células mesangiales, las cuales producen los componentes de la matriz, así como a la acumulación de proteínas del filtrado.³¹

En los grupos tratados con ficocianina-c a la dosis de 10 mg/kg se demostró que no hubo expansión mesangial y se apreció una tendencia a la reducción del número de células mesangiales, lo que sugiere que este agente contribuyó a disminuir las afectaciones sobre el mesangio intraglomerular, posiblemente relacionado con sus propiedades antioxidantes.

Se ha planteado que el efecto de los antioxidantes podría estar relacionado con la inhibición de la vasoconstricción y de la contracción mesangial.³⁸ De manera similar, en un modelo de nefropatía diabética en ratones se encontró efecto protector de la ficocianina-c sobre la expansión mesangial, en relación con su acción antioxidante.³⁹

Con respecto al efecto de la ficocianina-c en los glomérulos, en un estudio anterior de nefrotoxicidad por kanamicina, no se obtuvo disminución de la expansión mesangial en ratas ni en ratones, como en este trabajo; aunque cualitativamente sí se encontró mejor conservación de los glomérulos en ratones tratados con la dosis de 10 mg/kg, lo que coincide con la dosis que fue más efectiva en esta investigación.⁵

Concerniente a la presencia de sinequias, no se tiene referencia de la formación de sinequias en modelos de nefrotoxicidad inducido por AMG. En este trabajo se encontró la presencia de las mismas en todos los grupos tratados con el AMG y en mayor cuantía en el grupo **Kanamicina**.

Las sinequias pueden representar una lesión temprana de esclerosis. El mecanismo por el cual se forman las sinequias no está bien definido. Se plantea que las mismas pueden iniciarse por la separación de los podocitos de las asas capilares, que conduce a la adhesión de la membrana basal glomerular desnuda con la cápsula de Bowman, lo cual puede aumentar por la acumulación subcapsular de proteínas filtradas. Además, las alteraciones en las células de la hoja parietal pudieran contribuir a la formación de sinequias.⁴⁰

Tanto las sinequias como la expansión mesangial, las cuales conllevan a la obliteración de los capilares, podrían afectar la velocidad de filtración glomerular.⁴¹

También se ha reportado que las sinequias pueden ser uno de los factores que aceleren el daño glomerular progresivo, ya que a pesar de que se restablezca la estructura normal glomerular, si las asas capilares permanecen unidas a la cápsula de Bowman mediante sinequias, el desvío de la filtración en la lesión sinequial podría continuar incluso cuando la excreción de proteínas urinarias retorne a la normalidad.⁴⁰

Los menores valores de sinequias en el grupo **Ficocianina Precondicionado 10**, similares al grupo **Control**, podrían estar relacionados con efectos beneficiosos de la ficocianina-c sobre la función renal. Este es el primer reporte del efecto de un tratamiento preconditionante con ficocianina-c sobre la morfología glomerular. Tampoco se han encontrado antecedentes de resultados semejantes con la utilización de *Spirulina sp.*

El efecto protector de la ficocianina-c ante el daño por kanamicina en glomérulos de ratas, pudiera estar relacionado con su actividad antioxidante.² Estos agentes actuarían mediante el debilitamiento de la citotoxicidad directa de los AMG, la inhibición de la contracción vascular y la reducción de la inflamación resultantes.³⁸

Todos los estudios referentes al efecto nefroprotector de agentes antioxidantes ante el daño inducido por AMG se han realizado en la fase aguda; ^{39,40} con excepción del estudio

realizado por González y cols., en el cual se demostró que la ficocianina-c acelera la regeneración tubular cuando se administra concomitantemente con kanamicina.⁵

Estos resultados demuestran que la protección de este agente también se manifiesta en la estructura glomerular. Además, este trabajo constituye el primer reporte preclínico del efecto positivo de un pretratamiento con ficocianina-c (10 mg/kg) en la recuperación del daño glomerular en un modelo de nefrotoxicidad por kanamicina en ratas.

CONCLUSIONES

El presente trabajo ha permitido demostrar el efecto protector del agente antioxidante ficocianina-c sobre la morfología glomerular en la fase recuperativa del daño inducido por kanamicina.

Solo los tratamientos concomitante (10 mg/kg) y preconditionante reducen la expansión mesangial y el daño glomerular. El pretratamiento muestra una mejor acción sobre glomérulos.

Estos resultados demuestran que la ficocianina-c contribuye a evitar los efectos tardíos de la kanamicina en los glomérulos renales, lo que podría ser de gran utilidad para mitigar la acción nefrotóxica de la antibioticoterapia con aminoglucósidos.

BIBLIOGRAFÍA

BIBLIOGRAFÍA

1. Kuddus M, Singh P, Thomas G, Al-Hazimi A. Recent developments in production and biotechnological applications of C-phycoerythrin. Biomed Res Int. 2013;2013:742859.
2. Romay C, Gonzalez R, Ledon N, Ramirez D, Rimbau V. C-phycoerythrin: a biliprotein with antioxidant, anti-inflammatory and neuroprotective effects. Curr Protein Pept Sci. 2003 Jun; 4(3): 207-16.
3. Kuhad A, Tirkey N, Pilkhwal S, Chopra K. Effect of Spirulina, a blue green algae, on gentamicin-induced oxidative stress and renal dysfunction in rats. Fundam Clin Pharmacol. 2006 Apr; 20(2):121-8.
4. Karadeniz A, Yildirim A, Simsek N, Kalkan Y, Celebi F. Spirulina platensis protects against gentamicin-induced nephrotoxicity in rats. Phytother Res. 2008 Nov; 22(11): 1506-10.
5. González NL, Rodríguez SS, García HD, Matos TM, Santos FE, Plasencia FC, *et al.* La ficocianina acelera la recuperación del tejido renal dañado por sobredosis de kanamicina en roedores. Acta Microscópica. 2012;21(3):147 - 54.

6. Salama AD, Cook HT. The Renal Biopsy In: Taal MW, Chertow GM, Marsden PA, Sckorecki K, Yu A SL, BM. B, editors. Brenner and Rector's the Kidney 2011. p. 2962
7. Chen LFK, D. Current use for old antibacterial agents: polymyxins, rifamycins, and aminoglycosides. *Infect Dis Clin North Am.* 2009;23:1053-75.
8. Xie J, Talaska AE, Schacht J. New developments in aminoglycoside therapy and ototoxicity. *Hear Res.* 2011 Nov;281(1-2):28-37.
9. Zappitelli M, Moffett B, A H. Acute kidney injury in non-critically ill children treated with aminoglycoside antibiotics in a tertiary healthcare centre: a retrospective cohort study. *Nephrol Dial Transplant.* 2011;26:144-50.
10. Morales AI AM, Perez-Barriocanal F. Mechanisms implied in aminoglycoside-induced nephrotoxicity. *Nefrologia.* 2000 Sep-Oct;20(5):408-14.
11. Caminero JA, Sotgiu G, Zumla A, Migliori GB. Best drug treatment for multidrug-resistant and extensively drug-resistant tuberculosis. *Lancet Infect Dis.* 2010 Sep;10(9):621-9.
12. Haydel SE. Extensively Drug-Resistant Tuberculosis: A Sign of the Times and an Impetus for Antimicrobial Discovery. *Pharmaceuticals (Basel).* 2010 Jul 1;3(7):2268-90.
13. Karasawa T, Steyger PS. Intracellular mechanisms of aminoglycoside-induced cytotoxicity. *Integr Biol (Camb).* 2011 Sep;3(9):879-86.
14. Bonventre JV. Pathophysiology of AKI: injury and normal and abnormal repair. *Contrib Nephrol.* 2010;165:9-17.
15. Endre ZH, Pickering JW. Acute kidney injury: Late-onset acute kidney injury-subacute or more of the same? *Nat Rev Nephrol.* 2014 Jan 28.
16. Bonventre JV. Dedifferentiation and proliferation of surviving epithelial cells in acute renal failure. *J Am Soc Nephrol.* 2003 Jun;14 Suppl 1:S55-61.
17. Mingeot Leclercq MP, Tulkens PM. Aminoglycosides: nephrotoxicity. *Antimicrob Agents Chemother.* 1999 May;43(5):1003-12.
18. Bonventre JV, Basile D, Liu KD, McKay D, Molitoris BA, Nath KA, **et al.** AKI: a path forward. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2013 Sep;8(9):1606-8.
19. Nagai J, Takano M. Molecular aspects of renal handling of aminoglycosides and strategies for preventing the nephrotoxicity. *Drug Metab Pharmacokinet.* 2004 Jun;19(3):159-70.
20. Balakumar P, Rohilla A, Thangathirupathi A. Gentamicin-induced nephrotoxicity: Do we have a promising therapeutic approach to blunt it? *Pharmacol Res.* 2010 Sep;62(3):179-86.

21. Ali B, Al Za'abi M, Blunden G, Nemmar, A. Experimental gentamicin nephrotoxicity and agents that modify it: a mini-review of recent research. *Basic Clin Pharmacol Toxicol.* 2011;109(4):225-32.
22. Nasri H. Antioxidants for Prevention of Gentamicin-induced Nephrotoxicity. *Iran J Kidney Dis.* 2014 Jan;8(1):1-2.
23. González NL, Rodriguez SS, Fernández IA, Santos SE, Gutiérrez NE, López ML, **et al.** Effects of ozone oxidative postconditioning on renal tubular epithelial cells against ischemia/reperfusion injury in rats. *Acta Microscópica* 2010; 19(3):264-70.
24. Ali BH. Agents ameliorating or augmenting experimental gentamicin nephrotoxicity: some recent research. *Food Chem Toxicol.* 2003 Nov; 41(11):1447-52.
25. Cohen A. Renal Anatomy and Basic Concepts and Methods in Renal Pathology. In: *Fundamentals of Renal Pathology.* New York: Springer Science Business Media LLC. 2006.
26. Karakoyun B, Yuksel M, Turan P, Arbak **S, Alican I. Halofuginone has a Beneficial Effect on Gentamicin-induced Acute Nephrotoxicity in Rats.** *Rev Drug Chem Toxicol.* 2009 32 312-8.
27. Rodriguez-Barbero A, Lopez-Novoa JM, Arevalo M. Involvement of platelet-activating factor in gentamicin nephrotoxicity in rats. *Exp Nephrol.* 1997 Jan-Feb;5(1):47-54.
28. Karahan I, Atessahin A, Yilmaz S, Ceribasi AO, Sakin F. Protective effect of lycopene on gentamicin-induced oxidative stress and nephrotoxicity in rats. *Toxicology.* 2005 Nov 15; 215(3):198-204.
29. Lopez-Novoa JM, Quiros Y, Vicente L, Morales AI, Lopez-Hernandez FJ. New insights into the mechanism of aminoglycoside nephrotoxicity: an integrative point of view. *Kidney Int.* 2011 Jan; 79(1):33-45.
30. **Avdagić N, Cosović E, Nakas-Ićindić E, Mornjaković Z, Zaciragić A, A H-D.** Spirulina platensis protects against renal injury in rats with gentamicin-induced acute tubular necrosis. *Bosn J Basic Med Sci.* 2008 8(4):331-6.
31. Nielsen S, Kwon TH, Fenton RA, Praetorius J. Anatomy of the Kidney. In: Taal MW CG, Marsden PA, Sckorecki K, Yu A S L, Brenner BM, editor. *Brenner and Rector's the Kidney.* ninth ed: Saunders; 2011. p. 2962
32. Mene P, Cinotti GA. Paracrine and autocrine functions of glomerular mesangial cells. *J Endocrinol Invest.* 1989 Jul-Aug; 12(7):497-509.
33. Pfeilschifter J. Cross-talk between transmembrane signalling systems: a prerequisite for the delicate regulation of glomerular haemodynamics by mesangial cells. *Eur J Clin Invest.* 1989 Aug; 19(4):347-61.
34. Mene P. Mesangial cell cultures. *J Nephrol.* 2001 May-Jun; 14(3):198-203.

35. Rodriguez-Barbero A, L'Azou B, Cambar J, Lopez-Novoa JM. Potential use of isolated glomeruli and cultured mesangial cells as in vitro models to assess nephrotoxicity. *Cell Biol Toxicol*. 2000;16(3):145-53.
36. Martinez-Salgado C, Lopez-Hernandez FJ, Lopez-Novoa JM. Glomerular nephrotoxicity of aminoglycosides. *Toxicol Appl Pharmacol*. 2007 Aug 15;223(1):86-98.
37. Martinez-Salgado C, Eleno N, Morales AI, Perez-Barriocanal F, Arevalo M, Lopez-Novoa JM. Gentamicin treatment induces simultaneous mesangial proliferation and apoptosis in rats. *Kidney Int*. 2004 Jun;65(6):2161-71.
38. Lopez-Novoa JM, Quiros Y, Vicente L, Morales AI, Lopez-Hernandez FJ. New insights into the mechanism of aminoglycoside nephrotoxicity: an integrative point of view. *Kidney Int*. 2011 Jan;79(1):33-45.
39. Zheng J, Inoguchi T, Sasaki S, Maeda Y, McCarty MF, Fujii M, *et al*. Phycocyanin and phycocyanobilin from *Spirulina platensis* protect against diabetic nephropathy by inhibiting oxidative stress. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 2013 Jan 15;304(2):R110-20.
40. Rasch R, Nyengaard JR, Marcussen N, Meyer TW. Renal structural abnormalities following recovery from acute puromycin nephrosis. *Kidney Int*. 2002 Aug;62(2):496-506.
41. Fogo AB. Can glomerulosclerosis be reversed? *Nat Clin Pract Nephrol*. 2006 Jun;2(6):290-1.

ANEXOS

Tabla 1. Diseño experimental

Grupos	Tratamiento	Dosis o volumen	Tiempo (d)	Vía de administración
<i>Control</i>	PBS	1mL/rata	20	intraperitoneal
<i>Kanamicina</i>	kanamicina-100	500 mg/kg	20	subcutánea
<i>Ficocianina</i>	ficocianina-c	5 mg/kg	20	intraperitoneal
<i>Concomitante 5</i>	kanamicina-100	500 mg/kg	20	subcutánea
<i>Ficocianina</i>	ficocianina-c	10 mg/kg	20	intraperitoneal
<i>Concomitante 10</i>	kanamicina-100	500 mg/kg	20	subcutánea
<i>Ficocianina</i>	ficocianina-c	10 mg/kg	4	intraperitoneal
<i>Precondicionado 10</i>			(pretratamiento)	
	ficocianina-c	10 mg/kg	20	intraperitoneal
	kanamicina-100	500 mg/kg	20	subcutánea

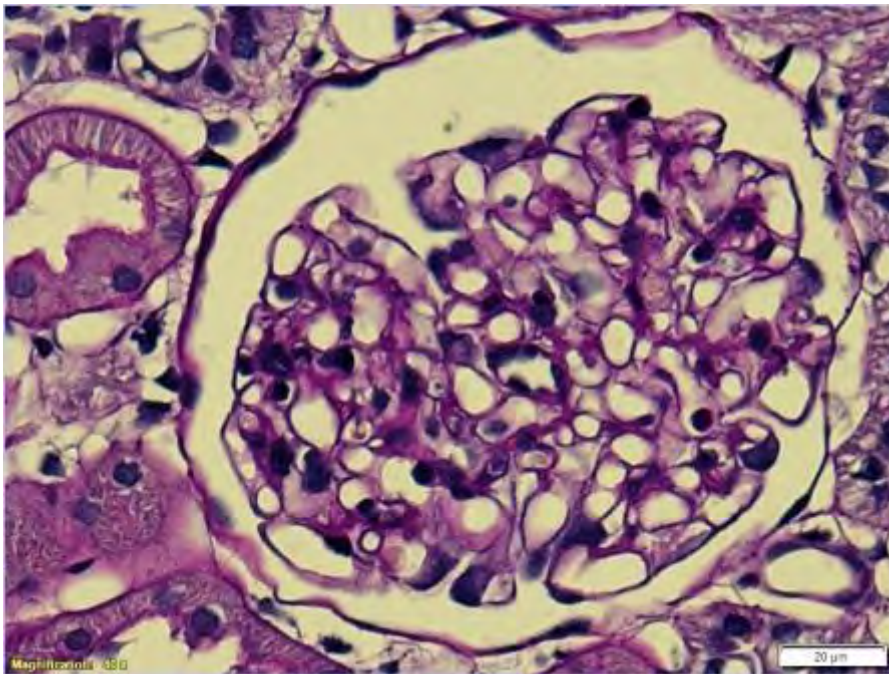


Fig.1

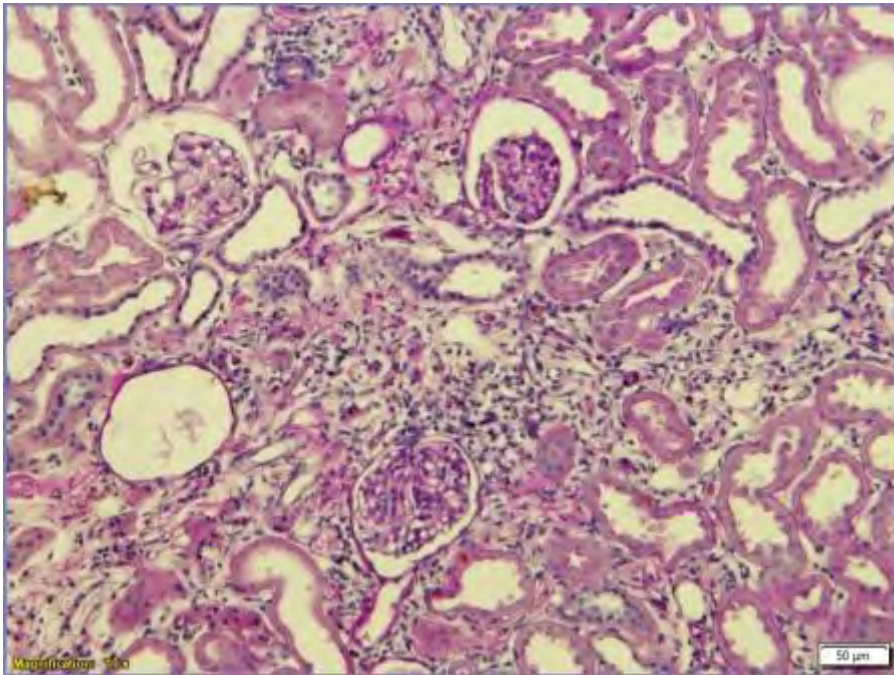


Fig.2

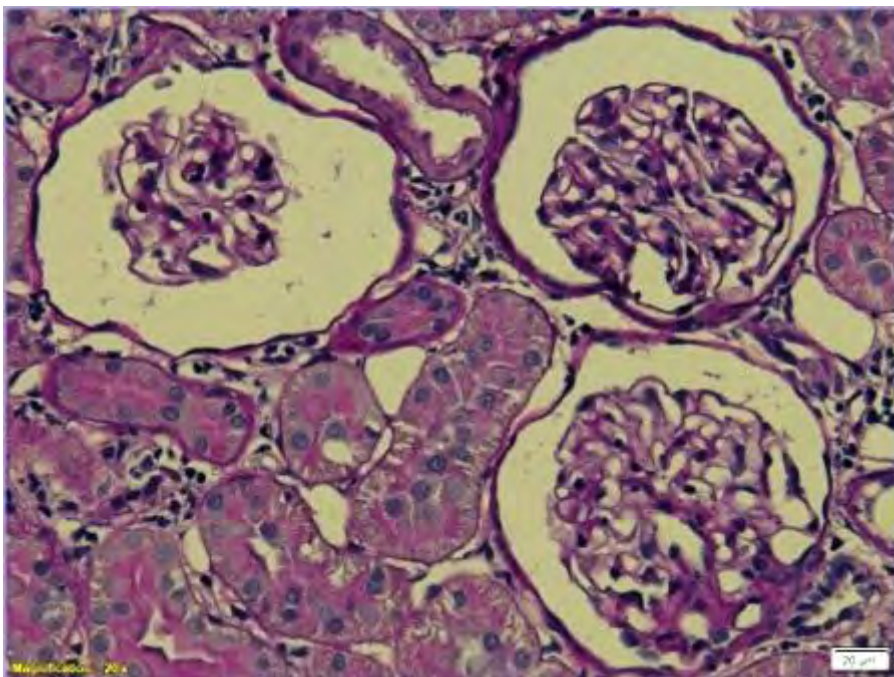


Fig.3

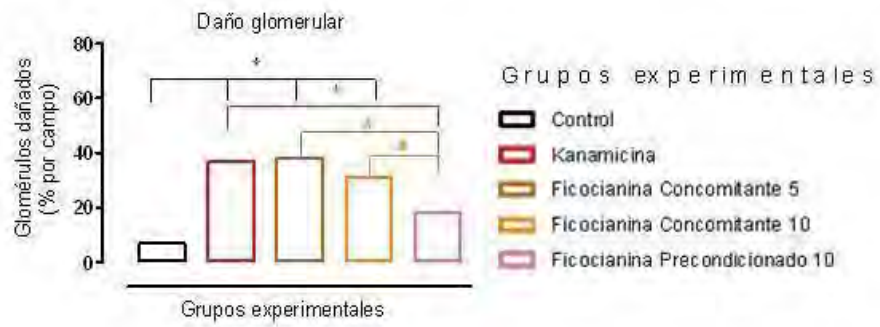


Fig. 5. Daño glomerular. Pruebas Kruskal-Wallis y de comparaciones múltiples de Dunn. * $p \leq 0,05$

Gráfico de daño glomerular