

UNIVERSIDAD DR. JOSÉ MATÍAS DELGADO

RED BIBLIOTECARIA MATÍAS

DERECHOS DE PUBLICACIÓN

Basados en

El Reglamento de Graduación de la Universidad Dr. José Matías Delgado

Capítulo VI, Art. 46

“Los documentos finales de investigación serán propiedad de la Universidad para fines de divulgación”

Publicado bajo la licencia Reconocimiento-NoComercial-CompartirIgual de Creative Commons
<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/3.0/>



Se permite copiar, distribuir y comunicar públicamente la obra siempre que se especifique el autor y el nombre de la publicación y sin objetivos comerciales, y también se permite crear obras derivadas, siempre que sean distribuidas bajo esta misma licencia

Para cualquier otro uso se debe solicitar el permiso a la Universidad

**UNIVERSIDAD “DR. JOSE MATIAS DELGADO”
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
DR. LUIS EDMUNDO VASQUEZ
ESCUELA DE MEDICINA**

*TESIS PARA OPTAR POR EL TÍTULO DE
DOCTOR EN MEDICINA*

**“EFECTO DEL DIMETILSULFÓXIDO EN UN
MODELO DE NEFROTOXICIDAD INDUCIDA
POR GENTAMICINA EN CONEJOS”**

AUTORES

AXA MARIA YOSMAR ANAYA NOUBLEAU
PAOLA MARCELA AMAYA AMAYA
OSCAR FRANCISCO LOPEZ NUÑEZ

ASESOR

DR. WILLIAM ANDRES HOYOS ARANGO

2012

AGRADECIMIENTOS

A Dios, por permitirnos llegar hasta este punto y coronar nuestra carrera en forma exitosa.

Al Dr. William A. Hoyos Arango, por su apoyo incondicional a este trabajo, por ser un ejemplo a seguir para nosotros y en especial por su valiosa amistad.

Al Dr. Alfredo Galán Berger, por su disposición inmediata e incondicional a colaborar con nuestro proyecto, así como por todas sus gestiones que permitieron la consecución del mismo.

Al Dr. Oscar E. Argueta, por concedernos de manera desinteresada y entusiasta su tiempo, conocimiento y experiencia a nuestro trabajo de investigación.

A la Lic. Carolina Cardoza de Hoyos, por brindarnos sus conocimientos, tiempo y paciencia como un miembro más del equipo de investigación.

Al Sr. Wilfredo Cardoza y Lic. Marta Gladys Hernández de Cardoza, por su valioso apoyo técnico, sin el cual no hubiera sido posible culminar este trabajo.

Al Lic. René F. Amaya y Lic. Gloria de los Ángeles Amaya, por su apoyo incondicional en la etapa experimental del presente estudio, sin el cual éste no habría sido posible.

A la Dra. Flora E. Amaya y al Dr. Alfonso Sampera, por sus aportes invaluable en el diseño de la fase experimental y por estar siempre presentes cuando más fue necesario.

Al Lic. José Maximiliano Anaya y Lic. Claudia María Noubleau, por su acompañamiento incondicional a lo largo de todo este proceso.

Al Dr. José Oscar López Lacayo y Sra. Gloria Margarita Núñez de López, por sus consejos, y por creer en nuestro proyecto desde el inicio.

A Javier Padilla y Analydia Gutiérrez, por ser los mejores compañeros de equipo, por su responsabilidad y por permitir con su tenacidad y entusiasmo que este trabajo fuese una realidad.

A Raúl Madrid, por su valiosa y desinteresada colaboración en los momentos más críticos del estudio.

HOJA DE APROBACION

CONTENIDO

AGRADECIMIENTOS	2
HOJA DE APROBACION	3
CONTENIDO.....	4
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	7
OBJETIVO GENERAL	10
MARCO TEÓRICO.....	11
1 – Lesión Renal Aguda.....	11
1.1 - Definición y clasificación.....	11
1.2 – Epidemiología	14
1.3 – Etiología y Fisiopatología	15
1.3.1 - Generalidades.....	15
1.3.2 - Necrosis Tubular Aguda (NTA)	16
1.4 – Presentación clínica.....	20
1.5 – Diagnóstico	22
1.5.1. - Marcadores renales convencionales.....	22
1.5.2. - Marcadores renales novedosos	26
1.5.3. – Histopatología Renal.....	32
2 - Daño Renal Inducido por Medicamentos	45
2.1 - Generalidades	45
2.2 - Epidemiología.....	45
2.3 - Medicamentos nefrotóxicos más frecuentes.....	46
2.3.1 – Agentes Antimicrobianos, Antifúngicos y Antivirales	46
2.3.2 – Medicamentos de uso en oncología.....	47
2.3.3 – Analgésicos.....	47
2.3.4 – Agentes Inmunosupresores	47
2.3.5 – Otros medicamentos nefrotóxicos	47
2.4 - Nefrotoxicidad por aminoglicósidos	49
2.4.1 - Historia de los aminoglicósidos.....	49
2.4.2 - Propiedades farmacológicas	50
2.4.3 - Usos terapéuticos	52
2.4.4 - Efectos Adversos más comunes.....	54

2.4.5 - Fisiopatología de la nefrotoxicidad inducida por aminoglicósidos	56
2.5 - Modelos de nefrotoxicidad inducida por aminoglicósidos	64
2.5.1 - Modelos animales en conejos	64
2.5.2 - Modelos animales en ratas	65
3 - Nefroprotección	67
3.1 - Estrategias de nefroprotección	67
3.1.1. - Estrategias no farmacológicas	67
3.1.2. - Estrategias farmacológicas	68
3.1.3. Estrategias de diálisis.....	72
3.2 - Barredores de radicales libres	72
3.3 - Dimetilsulfóxido (DMSO)	73
3.3.1 – Fundamentos sobre el papel de los radicales libres de oxígeno y estrés oxidativo	73
3.3.2 - Generalidades del DMSO	76
3.3.3 - Propiedades farmacológicas primarias del DMSO.....	77
3.3.4 - Mecanismos de acción del DMSO	80
3.3.5 - Usos terapéuticos del DMSO.....	84
3.3.6 - Efectos Adversos más comunes del DMSO	85
SISTEMA DE HIPÓTESIS.....	87
Hipótesis de investigación (h_1).....	87
Hipótesis nula (h_0)	87
Hipótesis alterna (h_A).....	87
MARCO METODOLÓGICO	88
1. Tipo de Estudio	88
2. Definición conceptual y operacional de las variables	88
3. Universo, selección y tamaño de la muestra.....	89
3.1 Universo.....	89
3.2 Muestra.....	89
3.3 Aleatorización de la Muestra.....	89
4. Criterios de inclusión y exclusión	90
5. Procedimiento para recolección de la información.....	90
6. Procedimiento para considerar aspectos éticos.....	90
7. Origen del medicamento	91
8. Diseño experimental	91
8.1 Animales de Experimentación	91

8.2 Condiciones de alojamiento.....	91
8.2.1. Cajas Metabólicas y localización.....	91
8.2.2. Alimentación y agua.....	91
8.2.3. Iluminación.....	92
8.2.4. Temperatura.....	92
8.3 Procedimiento.....	92
RESULTADOS.....	95
1. Creatinina Sérica (Cr-S).....	95
1.1 Análisis intragrupo.....	95
1.2 Análisis intergrupo.....	95
1.3 Análisis porcentual.....	96
1.4 Análisis según la clasificación de RIFLE.....	96
2. N-acetil-β-D-glucosaminidasa urinaria (NAG-U).....	98
2.1 Análisis intragrupo.....	98
2.2 Análisis Intergrupo.....	99
2.3 Análisis diferencial.....	100
3. Gasto urinario (GU).....	101
4. Histopatología RENAL (HPR).....	102
4.1 Análisis descriptivo.....	102
4.1.1 Hallazgos incidentales.....	102
4.1.2 Otros hallazgos de NTA.....	105
4.1.3 Estadificación de daño tubular proximal.....	109
4.1.4 Análisis estadístico.....	112
DISCUSIÓN.....	114
CONCLUSIONES.....	118
RECOMENDACIONES.....	119
CRONOGRAMA DE TRABAJO.....	120
PRESUPUESTO.....	122
ANEXOS.....	124
Cuadro 14. Criterios para clasificar el daño tubular proximal por Microscopía de luz.....	124
REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.....	125

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Durante muchos años, el término *Insuficiencia Renal Aguda* (ARF por sus siglas en inglés) constituyó uno de los principales puntos de referencia para ilustrar los diversos mecanismos fisiopatológicos implicados en la enfermedad renal. Sin embargo, producto de la investigación médica y de múltiples revisiones científicas sobre el tema; actualmente se ha sustituido el término antes mencionado por el de *Lesión Renal Aguda* (AKI por sus siglas en inglés) en el marco de la nueva clasificación *RIFLE* propuesta por la *Acute Dialysis Quality Improvement Initiative Group*, (ADQI, por sus siglas en inglés).¹

De acuerdo a la literatura actual, se estima que la Lesión Renal Aguda (LRA), se presentará en un 5% del total de pacientes hospitalizados y en un 25 al 30% de los pacientes ingresados en unidades de cuidados intensivos, de los cuales hasta un 5% requerirá algún tipo de terapia de reemplazo renal. En base a la información anteriormente citada, la mayoría de pacientes recuperará su función renal basal; sin embargo pese a esta aparente recuperación, se calcula que hasta la mitad de estos pacientes desarrollará algún tipo de daño estructural residual que indefectiblemente propiciará una mayor predisposición a episodios subsecuentes de enfermedad renal residual.¹ Una de las causas de LRA, la constituyen en gran medida los medicamentos de diversas clases y familias químicas utilizados en una amplia gama de situaciones clínicas con fines terapéuticos.

La Gentamicina es un antibiótico perteneciente a la familia de los aminoglicósidos, tradicionalmente utilizada para el manejo de infecciones bacterianas provocadas por microorganismos gram negativos.² Algunas de las propiedades y beneficios de este antimicrobiano son su potente capacidad bactericida, pobre resistencia bacteriana y bajos costos económicos para su adquisición, razón por la cual también tiene una amplia difusión y aplicación en países como El Salvador.³

Las infecciones por gram negativos constituyen un gran reto para el manejo clínico de los pacientes hospitalizados en las unidades de cuidados intensivos (UCI). Actualmente se cuenta con una amplia gama de antimicrobianos disponibles para tales fines; sin embargo existen diversas limitantes a sus usos terapéuticos. Se estima que aproximadamente un 10% de los pacientes manejados en UCI con terapéutica antimicrobiana, presentan algún tipo de reacción alérgica asociada al uso de los mismos. Por otro lado, se han documentado cada vez mayores niveles de resistencia bacteriana a muchos de estos medicamentos, especialmente a las fluoroquinolonas; motivo por el cual actualmente los aminoglicósidos continúan jugando un rol importante en el manejo clínico de los pacientes en cuidados intensivos.⁴

Sin embargo, los medicamentos pertenecientes al grupo de los aminoglicósidos han sido asociados con un sustancial riesgo de nefrotoxicidad, especialmente la Gentamicina; lo cual limita enormemente sus usos en la práctica clínica.^{2,5} Se ha

estimado que más del 15% de los pacientes tratados con Gentamicina sufrirán de algún tipo de daño renal a largo plazo, siendo por ejemplo una causa común del daño renal agudo en los pacientes hospitalizados, por lo cual se incrementa enormemente su morbimortalidad.^{1,6} Adicionalmente, existen evidencias que demuestran el incremento sustancial del potencial nefrotóxico de los aminoglicósidos al combinarse con otros antimicrobianos, tales como la vancomicina.³

En los seres humanos, el daño renal agudo usualmente fundamenta sus causas en efectos isquémicos y/o nefrotóxicos. En el caso particular de la nefrotoxicidad inducida por aminoglicósidos, existen diversas teorías que pretenden explicar los mecanismos fisiopatológicos subyacentes; una de las más aceptadas sugiere que la acumulación intracelular de estos medicamentos al interior de los lisosomas de las células tubulares proximales, desencadena la liberación de hidrolasas intracelulares; así como alteraciones en la síntesis de proteínas y la función mitocondrial; llevando eventualmente a la disrupción de la membrana y a la consecuente muerte celular.⁷ En general se puede decir que el mecanismo fisiopatológico de la nefrotoxicidad es multifactorial, mientras que la generación de metabolitos reactivos del oxígeno constituye uno de los mecanismos más importantes en la nefrotoxicidad inducida por Gentamicina, aunque evidentemente no es el único.¹

Durante las últimas décadas, la investigación científica ha promovido mayores y mejores intervenciones que pretenden reducir la nefrotoxicidad inducida por aminoglicósidos. Una de las estrategias implementadas para tales fines, consiste en inducir una disminución en la acumulación renal de dichos medicamentos, por medio de alteraciones químicas en las moléculas de los mismos; lo cual probablemente los convertirá en estructuras más complejas pero con un menor potencial nefrotóxico. Adicionalmente, se están sintetizando y utilizando sustancias cuya función fundamental consiste en competir con los aminoglicósidos por los sitios de unión a las células de los túbulos renales proximales. La utilización de factores de crecimiento cuya principal función es incrementar la capacidad de regeneración renal, así como la disminución en el intervalo de dosificación de los aminoglicósidos mediante la utilización de un régimen terapéutico de dosis diaria; constituyen otras estrategias que actualmente están siendo implementadas con el fin de reducir los efectos colaterales que conlleva la medicación con dichos antimicrobianos. No obstante, a pesar que la utilización de un régimen de dosis diaria con aminoglicósidos posee una buena eficacia clínica, no existe evidencia actual que demuestre una reducción significativa en los niveles de nefrotoxicidad inducida por los mismos.⁶

Una de las intervenciones más prometedoras en relación al tema de de la nefroprotección, se fundamenta en el desarrollo y uso con fines terapéuticos de medicamentos antioxidantes que promuevan la protección en contra de la necrosis celular, tales como la vitamina E o vitamina C.⁸ Actualmente, existe evidencia de ciertos agentes que han demostrado reducir el daño renal al neutralizar las causas de origen isquémico y nefrotóxico; lo cual resultaría de mucha ayuda en la

práctica clínica. De acuerdo a la literatura actual, son pocos los agentes documentados que cumplen con estos requisitos, dentro de los cuales se describen la n-acetilcisteína, el dimetilsulfóxido (DMSO) y el factor de crecimiento de hepatocitos.⁹

Las consecuencias del daño renal agudo a nivel mundial resultan devastadoras adicionalmente en el plano económico, puesto que situaciones de este tipo prolongan la estancia hospitalaria e incrementan significativamente los gastos de hospitalización a cifras tan elevadas que rondan los 8 billones de dólares anuales. Es por esta razón que muchos han señalado la necesidad de realizar intervenciones en los estadios tempranos de la enfermedad, en aras de lograr una disminución efectiva de la morbimortalidad que esta conlleva.¹

Teniendo en consideración las múltiples teorías fisiopatológicas que sugieren una posible naturaleza multifactorial que pueda explicar en gran medida la nefrotoxicidad inducida por aminoglicósidos y las limitadas evidencias que hasta ahora revelan los estudios científicos realizados al respecto, es posible encontrar un contexto favorable a las hipótesis fisiopatológicas sobre el rol que protagonizan el estrés oxidativo, la liberación de radicales libres, y la utilización de barredores de radicales libres como el DMSO, en un intento por demostrar su potencial efectividad como agente nefroprotector. Dada la relativa facilidad de acceso al DMSO en nuestro medio y la evidencia disponible sobre su papel nefroprotector en modelos animales de lesión renal por isquemia-reperfusión, ¿Será posible implementar una pauta terapéutica en un modelo animal para atenuar e inclusive revertir una LRA inducida por Gentamicina?

OBJETIVO GENERAL

Verificar el efecto nefroprotector del Dimetilsulfóxido por medio de la disminución del daño renal agudo inducido por Gentamicina en un modelo animal.

OBJETIVOS ESPECIFICOS

1. Comprobar la validez del modelo de nefrotoxicidad inducida por Gentamicina en conejos.
2. Determinar mediante la cuantificación de biomarcadores de daño renal la acción nefroprotectora del Dimetilsulfóxido como barredor de radicales libres.
3. Determinar mediante parámetros histopatológicos la acción nefroprotectora del Dimetilsulfóxido como barredor de radicales libres.

MARCO TEÓRICO

1 – LESIÓN RENAL AGUDA

1.1 - DEFINICIÓN Y CLASIFICACIÓN

La insuficiencia renal aguda (IRA) ha representado un problema muy común y que reviste gravedad en la medicina clínica. A pesar de los significativos avances logrados como consecuencia de la comprensión en la fisiopatología de la enfermedad, el avance en el tratamiento de la IRA no ha sido significativo; pues dentro de su manejo entran en juego varios elementos tales como la variedad en su presentación clínica, diferentes factores de riesgo, falta de unificación de criterios diagnósticos, entre otros; que dificultan hacer un diagnóstico oportuno.¹⁰

El término IRA, fue introducido por el doctor Homer W. Smith, en el capítulo: “Insuficiencia renal aguda relacionada con lesiones traumáticas” de su libro, *El Riñón- Estructura y Función en la Salud y Enfermedad* (1951) durante la Segunda Guerra Mundial.^{11,12} Dicho término ha sido sujeto de varias modificaciones a lo largo de los años debido a la complejidad de su severidad, hasta llegar a un consenso final en el cual fue posible estandarizar su definición, y obtener de esta manera, un nivel de clasificación similar al otorgado a otros dos síndromes comunes en materia de cuidados intensivos, como en el caso del Síndrome de Distrés Respiratorio Agudo (SDRA) y Sepsis.¹¹

En el año 2002 se realizó la convención denominada como *Acute Dialysis Quality Initiative* (ADQI por sus siglas en inglés), en la cual un grupo de expertos dirigidos por los doctores Rinaldo Bellomo, Claudio Ronco, John Kellum, Ravindra Mehta y Paul Plavesky, llevaron a cabo una revisión sistemática de la literatura con el propósito principal de establecer criterios estandarizados para la definición, clasificación, prevención y tratamiento de la LRA. Los resultados de dichos esfuerzos fueron publicados en el año 2004, surgiendo como consecuencia de ello la escala RIFLE.¹³ Por consiguiente, se propuso el término *Lesión Renal Aguda* (LRA) en sustitución por el de *Insuficiencia Renal Aguda* (IRA), debido a que el primero, reflejaba de manera más integral el espectro de alteraciones que se suceden durante la IRA, y no simplemente la pérdida de la capacidad renal para eliminar productos de desecho metabólico.¹⁰

Las variables que integran la escala RIFLE (por sus siglas en inglés: Risk, Injury, Failure, Loss y End Stage Renal Disease) representan por tanto, un nuevo sistema de clasificación que ha sido desarrollado en base a evidencia científica actual y formal, así como la opinión de expertos en el tema. Una de sus principales características es que contempla tres niveles de gravedad con respecto a los niveles de creatinina, gasto urinario o ambos.^{11,12,13} De acuerdo con la clasificación RIFLE los parámetros a considerar son los siguientes: (Figura 1)¹³

- **Risk** (riesgo): Incremento en la creatinina sérica (CR-S) de 1.5 veces o una disminución en la tasa de filtración glomerular (TFG) mayor del 25% con un gasto urinario (GU) inferior a 0.5 ml/Kg/h por 6 horas.
- **Injury** (lesión): Incremento de la CR-S de 2 veces el valor basal o una disminución en la TFG mayor del 50% con un GU inferior a 0.5 ml/Kg/h por 12 horas.
- **Failure** (falla): Incremento de la CR-S de 3 veces su valor basal una disminución en la TFG mayor del 75% o una creatinina sérica mayor a 4 mg/dL con un GU menor de 0.3 ml/Kg/h sostenido por 24 horas ó anuria por 12 horas. La definición de LRA Crónica Agudizada cae en esta clasificación.
- **Loss** (pérdida): Se considera falla renal aguda persistente por más de cuatro semanas.
- **End Stage Kidney Disease** (enfermedad renal terminal): Es la falla renal sostenida por más de tres meses.

En el año 2004, se integró el *Acute Kidney Injury Network* (AKIN por sus siglas en inglés), en donde uno de los alcances más importantes lo constituyó la modificación de la escala RIFLE a un sistema de estratificación/clasificación conocido como Clasificación AKI. Esta nueva clasificación diferencia únicamente tres estados: I, II y III. Asimismo se añadió una ventana de 48 horas para la realización del diagnóstico de LRA, con la finalidad de asegurar que el proceso fuera agudo. (Cuadro 1)¹³

Cuadro 1. Sistema de definición y clasificación/estratificación para LRA		
Grado LRA	Creatinina	Gasto Urinario
LRA I	Incremento de la CR-S igual o mayor a 0.3 mg/dL o incremento de 150-200% del valor basal.	GU menor a 0.5 mL/Kg/h por más de 6h.
LRA II	Incremento de la CR-S de 200-300% del valor basal.	GU menor a 0.5 mL/Kg/h por más de 12h.
LRA III	Incremento de la CR-S más de 300% del valor basal con CR-S de 4 mg/dL o tratamiento con reemplazo renal.	GU menor a 0.3 mL/Kg/h por más de 24h ó anuria por 12 h.

Cuadro 1. El diagnóstico de LRA incluye una reducción abrupta (dentro de 48 horas) de la función renal. (Tomado y modificado de: Carrillo R, Castro JP. Escala RIFLE. Fundamentos y su impacto en el diagnóstico, pronóstico y manejo de la lesión renal aguda en el enfermo grave. *Rev Asoc Mex Med Crit y Ter.* 2009;23(4):241-244)

Actualmente existe evidencia que concluye que la clasificación AKI puede mejorar la sensibilidad al momento de realizar el diagnóstico de LRA, aunque la clasificación RIFLE continua siendo superior al momento de predecir a mortalidad intrahospitalaria en la población de pacientes críticos.¹³ Para efectos del presente trabajo se utilizará la clasificación RIFLE como fundamento para diagnóstico y estadificación de la LRA.

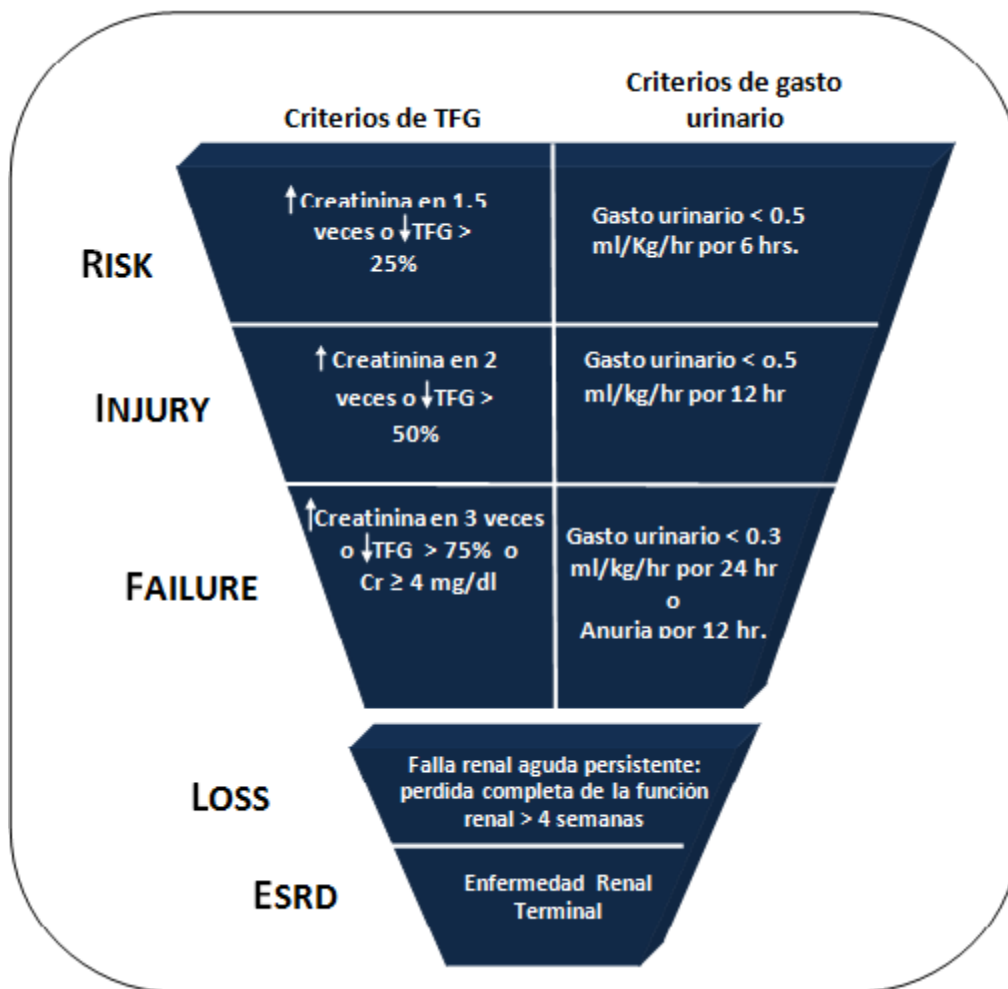


Figura 1. Esquema de clasificación RIFLE. (Tomado y modificado de Kellum JA. Acute kidney injury. Crit. Care Med. 2008;36(4 Suppl):S141-145).

La aplicación clínica de la escala de clasificación RIFLE reviste de mucha importancia en cuanto al pronóstico se refiere. Evidencia reportada en estudios recientes sugiere que los estados avanzados en la clasificación RIFLE pueden correlacionarse con un puntaje APACHE II progresivamente peor en los pacientes hospitalizados en UCI.^{14,15}

1.2 – EPIDEMIOLOGÍA

La LRA comprende una familia de síndromes que se caracterizan por una disminución abrupta y sostenida de la tasa de filtración glomerular. Se considera que en las UCI el daño renal agudo es de origen multifactorial, aunque predominantemente como consecuencia de estados sépticos y otros estados inflamatorios sistémicos, ocasionando de esta manera un aumento en la morbimortalidad de estos pacientes.¹⁶

Pese a los avances tecnológicos y médicos actuales, la morbimortalidad de estos pacientes en las UCI continúa siendo considerablemente alta. Se ha estimado que en pacientes hospitalizados, la incidencia de LRA es del 3 al 7%, mientras que en el grupo de pacientes ingresados a UCI; de un 25 hasta un 30% desarrollará algún grado de LRA, de los cuales hasta un 5% requerirá algún tipo de terapia de reemplazo renal.^{1,14}

Cabe destacar que la LRA ocasiona un alto impacto en la mortalidad de los pacientes ingresados en UCI, pudiendo hacerse presente hasta en un 50% de los mismos. Diversos estudios han demostrado que la LRA es un factor de riesgo importante para desarrollar complicaciones no renales a largo plazo. Aunque la mayoría de estos pacientes recuperará su función renal basal, se estima que la mitad de estos presentará una lesión renal estructural residual que los hará propensos a padecer episodios subsecuentes de falla renal que eventualmente progresará a una enfermedad renal terminal. En relación a las aseveraciones anteriormente descritas, es posible inferir que las consecuencias de la LRA a nivel mundial resultan devastadoras adicionalmente en el plano económico; puesto que situaciones de este tipo prolongan la estancia hospitalaria e incrementan significativamente los gastos de hospitalización a cifras tan elevadas que rondan los 8 billones de dólares anuales.¹

1.3 – ETIOLOGÍA Y FISIOPATOLOGÍA

1.3.1 - GENERALIDADES

Los mecanismos etiológicos involucrados en el desarrollo de la LRA son en general, de naturaleza multifactorial. Sin embargo, cuando se evalúan en el marco de un enfoque diagnóstico, usualmente se dividen en formas prerrenales, intrínsecas y posrenales.¹⁷

La LRA prerrenal (también conocida como azotemia prerrenal) es la causa más común de LRA y usualmente suele ser consecuencia de una disminución - *limitada* - de la perfusión renal.¹¹ Este tipo de lesiones usualmente ocurren en los casos de deshidratación severa, hipotensión arterial, hemorragias agudas e insuficiencia cardíaca congestiva, entre otros. Debido a que este tipo de situaciones clínicas no están vinculadas a una hipoperfusión renal prolongada, no llega a ocurrir una necrosis del tejido renal; por consiguiente, la retención nitrogenada revertirá durante las primeras 24 horas después de haberse establecido una adecuada perfusión renal. La anatomía patológica muestra en estos casos, un tejido renal completamente normal, en el cual no se muestran evidencias de destrucción tisular ni celular a la microscopía tanto óptica como electrónica. Por su parte, las formas posrenales de LRA son a menudo consecuencia de trastornos obstructivos que pueden presentarse en diferentes niveles: vesical, uretral o ureteral. Dichos trastornos terminarán generando eventuales daños intrínsecos dependiendo de cuan prolongada sea la obstrucción producida.¹⁷

En el caso de la LRA de tipo intrínseco, el mecanismo subyacente consiste en un daño tisular directo del parénquima renal, cuya localización podrá ser a nivel tubular, glomerular, vascular o intersticial. Desde una perspectiva clinicopatológica, es posible clasificar las causas de LRA intrínseca bajo las siguientes categorías: a) Enfermedades que involucran grandes vasos renales; b) Enfermedades relacionadas a la microvasculatura y glomérulo renal; c) Alteraciones a predominio de túbulo renales; d) Otros procesos agudos que involucran el intersticio tubular renal. (Cuadro 2)

Cuadro 2. Principales causas de Azotemia Renal Aguda Intrínseca
<p>Enfermedades que involucran grandes vasos renales.</p> <ul style="list-style-type: none"> • Arterias renales: trombosis, ateroembolismo, tromboembolismo, disección, vasculitis (ej. Takayasu). • Venas renales: trombosis, compresión.
<p>Enfermedades relacionadas a la microvasculatura y glomérulo renal.</p> <ul style="list-style-type: none"> • Inflamatorias: glomerulonefritis aguda o rápidamente progresiva, vasculitis, radiación, rechazo de aloinjertos. • Vasoespásticas: hipertensión maligna, toxemia en el embarazo, esclerodermia, hipercalcemia, medicamentos, material de contraste. • Hematológicas: Síndrome hemolítico-urémico, púrpura trombótica trombocitopénica, coagulación intravascular diseminada, síndromes de hiperviscosidad.
<p>Enfermedades caracterizadas por lesiones a predominio de túbulos renales, con usual necrosis tubular renal.</p> <ul style="list-style-type: none"> • Isquemia causada por hipoperfusión renal. • Toxinas exógenas (ej. antibióticos, agentes anticancerosos, material de contraste, venenos, etc.). • Toxinas endógenas (ej. mioglobina, hemoglobina, ácido úrico, lisis tumoral, etc.).
<p>Enfermedades agudas que involucran el intersticio tubular renal.</p> <ul style="list-style-type: none"> • Nefritis intersticial alérgica (ej. antibióticos, antiinflamatorios no esteroideos, etc.). • Infecciones (ej. virales, fúngicas, bacterianas). • Rechazo agudo de aloinjertos • Procesos infiltrativos (ej. linfomas, leucemia, etc.).

Cuadro 2. Tomado y modificado de: *Brenner and Rector's, The Kidney. 8th ed. Saunders; 2007.*

Actualmente se sabe que en los casos de LRA intrínseca con afección de túbulos renales, el hallazgo histopatológico más común y característico es la *Necrosis Tubular Aguda (NTA)*.¹⁷

1.3.2 - NECROSIS TUBULAR AGUDA (NTA)

La NTA se caracteriza por una destrucción de las células epiteliales que conforman los túbulos renales, acompañada de una supresión aguda del funcionamiento renal. Sin embargo, para lograr comprender la magnitud de la LRA, es necesario conocer a profundidad cuales son los determinantes fisiopatológicos que desencadenan el fenómeno de la NTA. De acuerdo a la evidencia disponible en la literatura actual, la NTA de origen isquémico y de origen tóxico representa cerca del 80 al 90% del total de casos de de LRA intrínseca.¹⁴

La diferencia fundamental entre la LRA prerrenal y la LRA intrínseca de tipo isquémico, radica en que ésta última se encuentra asociada a daño directo en el parénquima renal y no resuelve inmediatamente ante la restauración de la

perfusión renal.¹⁴ Actualmente se sabe que la prolongación del estado de hipoperfusión renal -que originalmente condicionó una LRA prerrenal- conllevará posteriormente al desarrollo de NTA; presentándose primordialmente en aquellos pacientes que han sido sometidos a cirugías mayores y en los que han sido sujetos de estados sépticos generalizados, hipovolemia severa, traumatismos graves o quemaduras extensas.¹⁷ En el caso particular de los estados sépticos severos; el daño renal se produce como consecuencia de una acción conjunta entre la respuesta sistémica que propicia una vasodilatación generalizada con la consecuente hipoperfusión renal y la liberación de toxinas capaces de provocar una mayor susceptibilidad de las células tubulares renales ante los efectos deletéreos de la isquemia renal.^{14,17,18}

Por su parte, la NTA de origen tóxico obedece a efectos originados tanto por sustancias exógenas como endógenas. La proliferación durante los últimos años de nuevos agentes antimicrobianos y medicamentos anticancerosos ha incrementado considerablemente la gama de medicamentos causantes de nefrotoxicidad y la necesidad de prestar mayor atención a dichos efectos adversos por parte de quienes los prescriben.¹⁴ Con relación al grupo de antimicrobianos con mayor potencial nefrotóxico es posible destacar el papel que desempeñan los aminoglicósidos utilizados ya sea solos o en combinación con otros medicamentos tales como las cefalosporinas, vancomicina o anfotericina B. Asimismo, los materiales de contraste también son capaces de producir NTA de origen tóxico, principalmente en pacientes con patologías renales crónicas, diabéticos y entidades clínicas tales como el mieloma múltiple.¹⁷

Adicionalmente, existen también compuestos endógenos capaces de provocar una LRA cuando se encuentran en altas concentraciones en el torrente sanguíneo; mediante una combinación de múltiples efectos que inducen vasoconstricción renal, toxicidad tubular directa y obstrucción de los túbulos renales. Tal es el caso de la hemoglobina y mioglobina, las cuales, de acuerdo a la evidencia disponible; son capaces de producir vasoconstricción, al barrer y neutralizar el óxido nítrico - el cual funciona como potente vasodilatador,- y produciendo posteriormente un desbalance entre sustancias vasoconstrictoras y vasodilatadoras que resulta crítico para el mantenimiento de la perfusión renal normal.¹⁴

En los pacientes con lesiones traumáticas graves, es posible apreciar una sinergia de los mecanismos antes descritos; ya que la NTA generalmente es una consecuencia del efecto combinado de la hipovolemia, junto con la acumulación de mioglobina u otras toxinas liberadas por el daño tisular producido.^{17,18} Por otro lado, se ha sugerido que entre un 20-40% de los pacientes que sufren quemaduras de más del 15% de la superficie corporal, desarrollará una NTA con un espectro de causas inclusive más diverso; al entrar en juego factores tales como la hipovolemia, -que conllevará a hipoperfusión prolongada- y la rabdomiólisis con la consecuente liberación de mioglobina -potencialmente nefrotóxica-, así como el estado de sepsis con la eventual liberación de toxinas, situación que se ve agravada ante la necesidad de recurrir al uso de antibióticos con potenciales efectos nefrotóxicos.^{14,17}

1.3.2.1- Mecanismos Fisiopatológicos

La fisiopatología de la NTA en la actualidad aun no ha sido dilucidada con certeza. Independientemente de la etiología de la NTA (isquémica o tóxica), el principal efecto que manifiesta el daño renal lo constituye una disminución en la TFG. Se han postulado al menos tres mecanismos posibles (Figura 2), por medio de los cuales se ve afectada la TFG durante la LRA con NTA y es posible que los tres desempeñen un rol importante en su desarrollo.¹⁷

El primer mecanismo consistiría en el desarrollo de alteraciones hemodinámicas a nivel glomerular; dichas alteraciones se producen como consecuencia de una disminución de la perfusión glomerular, vasoconstricción de la arteriola aferente y vasodilatación de la arteriola eferente respectiva; lo cual en conjunto, conlleva a una disminución de la presión de filtración.^{14,17} Actualmente, existe evidencia que sugiere un incremento en la liberación de endotelina (un potente vasoconstrictor); así como una marcada reducción en los niveles de sustancias vasodilatadoras, en especial el óxido nítrico; a partir de las células epiteliales renales, como consecuencia de los efectos producidos por la isquemia.¹⁹ La deficiencia de óxido nítrico conllevaría a vasoconstricción, debido a que este último desempeña un papel importante en la regulación del tono vascular renal y sistémico, manteniendo una vasodilatación basal de la arteria renal.¹⁷

El segundo mecanismo se encuentra relacionado con la fuga tubular renal (back-leakage), como una consecuencia de la pérdida de las células del epitelio renal y de las uniones oclusivas celulares; lo cual conlleva indefectiblemente, a una TFG poco efectiva, puesto que el filtrado glomerular que ingresa a los túbulos renales se escapa hacia el intersticio renal y consecuentemente se reabsorbe en la circulación sistémica.¹⁴ Desde el punto de vista bioquímico; se ha postulado que la fuga tubular renal es el resultado final de los efectos celulares que produce la isquemia (Cuadro 3); que conllevan a la disminución de la producción de Adenosín Trifosfato (ATP), con la consecuente inhibición de las bombas de protones dependientes de ATP y la pérdida de los gradientes iónicos. Asimismo existe evidencia que sugiere un notable incremento del calcio citosólico libre en una NTA; lo cual podría llevar a una potencial activación de fosfolipasas y proteasas con la consecuente degradación del citoesqueleto celular. Finalmente, se conoce que durante la fase de reperfusión renal, la conversión de la hipoxantina por xantina es capaz de generar moléculas como el peróxido de hidrógeno y el superóxido; las cuales en presencia de hierro, son capaces de producir radicales hidroxilo reactivos, generando daño celular oxidativo. Todos los mecanismos anteriormente mencionados, en conjunto; conllevarán a la pérdida de las uniones oclusivas intracelulares.^{17,19}

El tercer mecanismo propuesto consiste en obstrucción tubular renal por la formación de cilindros a partir del desprendimiento de las células epiteliales de los túbulos renales así como la proteína de Tamm-Horsfall, la cual suele excretarse en estos casos.^{14,17} Dicha proteína usualmente es secretada por la porción gruesa ascendente del Asa de Henle en calidad de monómero, y usualmente, como

producto de la intensa acumulación de cloruro de sodio que puede producirse como consecuencia de la NTA en el túbulo distal; la proteína de Tamm-Horsfall es convertida a formas poliméricas; las cuales junto con las células tubulares descamadas y membranas del borde en cepillo promueven la formación de cilindros que finalmente desencadenan la obstrucción tubular.¹⁹

Cuadro 3. Mecanismos de la Injuria celular después de isquemia.
Disminución celular de ATP.
Disminución en la función de bombas dependientes de ATP.
<ul style="list-style-type: none"> • Alteración del contenido electrolítico intracelular. • Edema celular • Incremento de los niveles de calcio libre en citosol. • Acidosis Intracelular.
Activación de Enzimas.
<ul style="list-style-type: none"> • Fosfolipasas. • Proteasas.
Daño de reperfusión.
<ul style="list-style-type: none"> • Hipoxia persistente en la medula externa. • Generación de radicales libres de oxígeno (superóxido). • Daño inducido por leucocitos.
Alteración de la actina del citoesqueleto y moléculas de adhesión celular.

Cuadro 3. Tomado y modificado de Miyahira Arakaki JM. Insuficiencia renal aguda. Rev Med Hered. 2003;14(1):36-43).

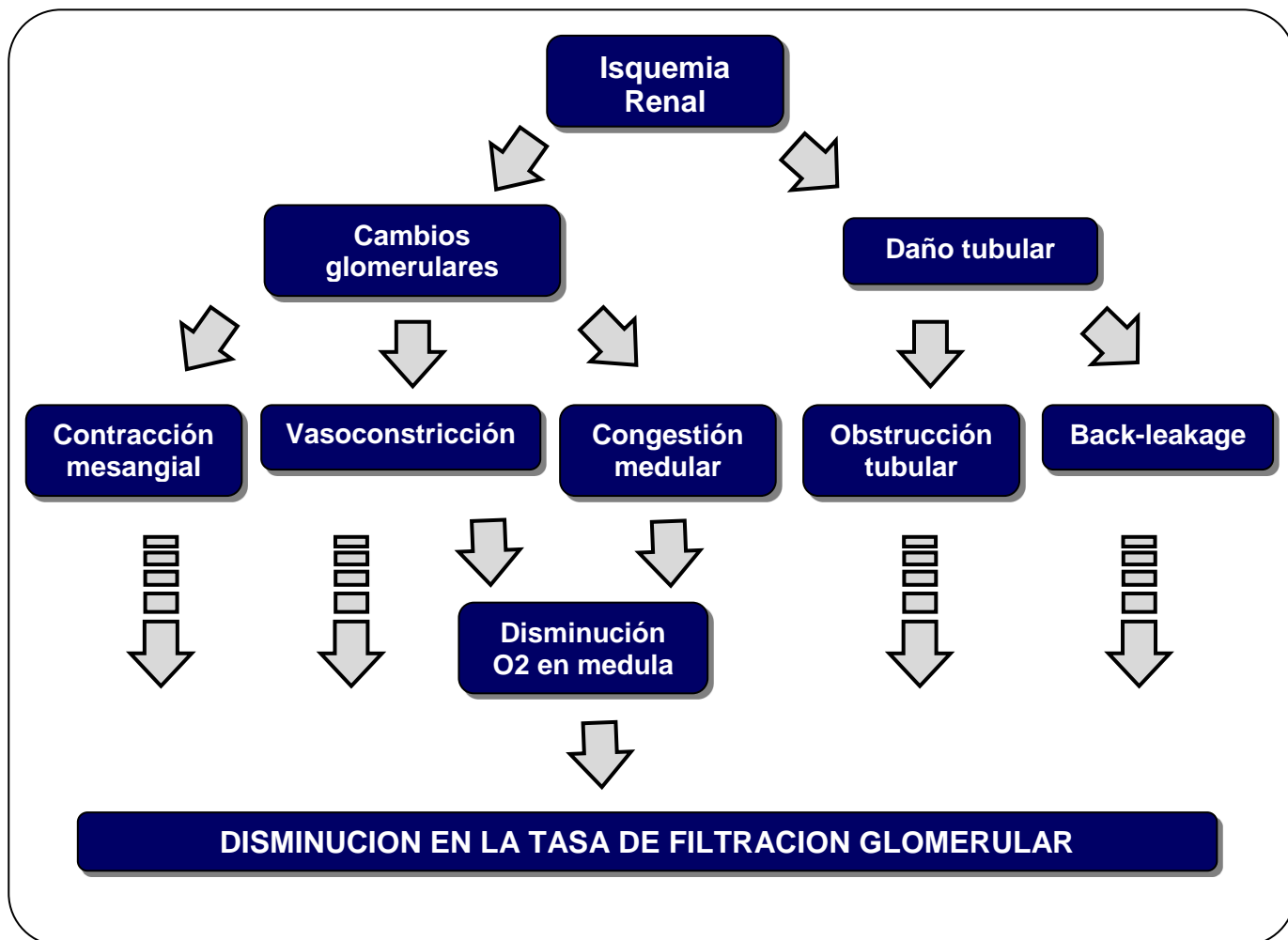


Figura 2. Fisiopatología de la NTA isquémica. (Tomada y modificada de Miyahira Arakaki JM. *Insuficiencia renal aguda. Rev Med Hered. 2003;14(1):36-43*).

1.4 – PRESENTACIÓN CLÍNICA

Los casos de NTA usualmente presentan un curso clínico que puede ser dividido en tres fases: fase de iniciación; fase de mantenimiento y fase de recuperación. La fase de iniciación es el período en el cual ocurre una exposición a la isquemia y/o toxinas; produciéndose una lesión al parénquima renal en evolución, pero que aun no se ha establecido por completo. Es por ello que la NTA se considera potencialmente prevenible durante esta etapa de la enfermedad, la cual puede tener una duración que oscila entre horas a días. Posterior a la fase de iniciación, se continúa la fase de mantenimiento, durante la cual la lesión al parénquima renal se establece por completo, mientras que la TFG alcanza valores de 5 a 10 mL/min. En términos generales, el GU resulta ser mucho menor durante este período de la enfermedad. Esta fase de mantenimiento puede durar en promedio de 1 a 2 semanas; sin embargo, en algunos casos ha podido prolongarse de 1 a

11 meses antes de llegar a la recuperación. Finalmente la fase de recuperación se ha definido como el período en el cual el paciente recupera la función renal mediante mecanismos que propician la reparación y regeneración de los tejidos del parénquima renal. Típicamente, el inicio de la fase de recuperación es anunciado por un incremento paulatino del GU acompañado de una reducción concomitante en los niveles de CR-S; aunque los cambios descritos en esta última podrían demorarse durante varios días en relación a la presencia evidente de diuresis.¹⁴

Una LRA deberá sospecharse cuando los valores de CR-S se muestran elevados posterior a hemorragias; pérdidas gastrointestinales, genitourinarias o insensibles excesivas; o bien quemaduras extensas; particularmente si el acceso a líquidos está restringido (por ejemplo estados comatosos, pacientes obnubilados o sedados). En cuanto a los parámetros clínicos que deben ser considerados en estos casos, es necesario tomar en cuenta síntomas como sed así como evidencia objetiva de hipotensión ortostática (descenso postural en los niveles de presión arterial sistólica superior a los 10 mmHg) y taquicardia (incremento postural que supera los 10 latidos por minuto); disminución de la presión venosa yugular, disminución considerable en la turgencia de la piel, mucosas secas y reducción considerable de la transpiración axilar. En todo caso, la sintomatología característica de la hipovolemia por regla general no es evidente hasta que el líquido extracelular ha presentado pérdidas de volúmenes del 10 al 20%.¹⁴

Pese a que la mayoría de casos de LRA han sido condicionados por una NTA de origen isquémico o nefrotóxico; resulta indispensable la evaluación cuidadosa del paciente en busca de otras afecciones del parénquima renal, dado que muchas de estas son tratables y su presencia modifica el manejo y los pronósticos de dichos pacientes.¹⁴

En cuanto a la LRA posrenal, esta puede cursar de forma asintomática cuando la obstrucción se desarrolla con relativa lentitud. Alternativamente, los pacientes podrían presentar dolor suprapúbico o dolor en flancos si existe una distensión aguda de la vejiga o del sistema colector renal y la cápsula respectivamente.¹⁴

1.5 – DIAGNÓSTICO

La detección y diagnóstico de la LRA actualmente se fundamenta en la utilización de marcadores convencionales de la función renal, tales como la CR-S y los niveles de urea además de otras pruebas urinarias. Sin embargo, pese a su empleo tan difundido en la práctica clínica, estos parámetros no demuestran cambios en tiempo real de la filtración glomerular o de un genuino proceso agudo de daño renal, motivo por el cual contribuyen a un desfase en el reconocimiento de LRA y por consiguiente a un retraso en la instauración de medidas de soporte y tratamiento, asociándose asimismo a una alta tasa de morbimortalidad.^{20,21} Es por ello que la detección temprana de la LRA se ha convertido en un punto fundamental de investigación con el propósito de identificar marcadores renales novedosos con características que los vuelvan ideales para determinar alteraciones en la función glomerular e injuria renal aguda.

Se considera que el marcador ideal debería ser una sustancia endógena, hidrosoluble, con un mínimo perfil de toxicidad, filtrada sin dificultad a nivel glomerular; además de contar con una excreción urinaria sin alteraciones y poca susceptibilidad a la influencia de compuestos exógenos como medicamentos; así como también una baja afinidad a proteínas. Adicionalmente, dicha sustancia debe ser rápida y fácilmente cuantificable, así como de bajo costo; con lo cual se posibilite su aplicación clínica mediante ensayos estandarizados que permitan la utilización de muestras de fácil acceso como la orina y suero. La existencia de dichas propiedades facultan al marcador ideal a convertirse en un sustituto preciso y confiable en la determinación de la TFG y del posible daño renal; con un alto grado de sensibilidad en la lesión precoz, contando asimismo con la suficiente especificidad de un segmento concreto de la nefrona, que simultáneamente permita la diferenciación y clasificación de la LRA.^{20,21,22}

Desafortunadamente no existen sustancias que cumplan con todas las características anteriormente mencionadas, motivo por el cual se ha propuesto la combinación de marcadores novedosos para LRA como la lipocalina asociada a la gelatinasa de los neutrófilos (NGAL), la molécula de injuria renal-1 (KIM-1) y la interleucina-18 (IL-18), dado su gran potencial para la detección aguda de la lesión renal en pacientes críticos.²⁰

1.5.1. - MARCADORES RENALES CONVENCIONALES

El diagnóstico y clasificación etiológica de la LRA actualmente depende de la detección de cambios en sustitutos endógenos convencionales de la función renal tales como la creatinina sérica y urea, así como de otros exámenes urinarios.

Pese a que estos marcadores convencionales son ampliamente utilizados por los profesionales de la salud, poseen muchas limitantes y ninguno de ellos es capaz de reflejar cambios dinámicos en tiempo real de la tasa de filtración glomerular (TFG) así como una verdadera injuria renal. Adicionalmente, estos marcadores

requieren de un tiempo determinado para poder ser detectados a niveles séricos contribuyendo entonces a un potencial retraso en el diagnóstico de la LRA.^{20,22}

1.5.1.1. - Creatinina sérica (CR-S)

La CR-S es un aminoácido derivado de la conversión no enzimática de la creatina en fosfocreatina en el músculo esquelético y su subsecuente metabolismo hepático por medio de la metilación del ácido guanidinoaminoacético para formar la creatinina. Posee un peso molecular de 113 Da, se libera en el plasma a una tasa constante y no se reabsorbe o metaboliza en el riñón. La depuración de creatinina es el método más ampliamente utilizado para estimar la TFG y los niveles de CR-S generalmente tienen una relación inversa con la TFG. Por lo tanto un aumento en la CR-S se asocia con una disminución en la TFG e implica una disminución de la función renal. En contraste con la urea, no existe evidencia de toxicidad causada por la acumulación de la creatinina en la sangre.

Existe una serie de limitantes para el uso de la CR-S como marcador de la función renal. Se sabe que la producción y liberación de la creatinina en el suero puede variar en función de la edad, sexo, ingesta alimentaria y masa muscular; así como también en los casos de condiciones clínicas asociadas tales como la rbdomiolisis.^{20,21,22,23}

Por otro lado, de un 10 al 40% de la creatinina es aclarada por secreción tubular hacia la orina con lo cual podría llegar a enmascarar un considerable declive la TFG, al menos en sus estadios iniciales. También se ha descrito la existencia de una serie de medicamentos tales como el trimetoprim y la cimetidina, los cuales son reconocidos por alterar la secreción de la creatinina causando elevaciones transitorias y reversibles en los niveles séricos de la misma. Otro de los factores – anteriormente descrito – es el tiempo requerido por este marcador convencional para lograr una acumulación, lo cual le impide poder detectar cambios en tiempo real de alteraciones en la TFG asociados a la LRA. Además las concentraciones elevadas de CR-S no son específicas para LRA y requieren diferenciarse de otras causas prerrenales o extrarenales de azoemia.^{20,22}

La concentración de CR-S no es específica para lesiones tubulares renales pero en cambio parece reflejar la pérdida de la función de filtración glomerular que acompaña al desarrollo de la LRA. Los cambios en la concentración sérica de dicho marcador no son sensibles ni específicos ante alteraciones pequeñas en la TFG y se vuelven aparentes únicamente cuando los riñones han perdido un 50% de su capacidad funcional.²⁰

1.5.1.2. - Urea sérica

La urea es una sustancia endógena de bajo peso molecular (60 Da), hidrosoluble, producto de desecho del metabolismo de las proteínas que es utilizada como un marcador sérico de la eliminación y retención de solutos urémicos. Elevaciones agudas y cuantiosas de la concentración sérica de urea son características del desarrollo del síndrome urémico y retención de una variedad de toxinas urémicas. La acumulación de urea se cree predispone a una serie de efectos adversos metabólicos, bioquímicos y fisiológicos tales como el estrés oxidativo, alteraciones de la función de la vía del cotransportador de Na⁺/K⁺/Cl⁻ importante en la regulación del agua y potasio intracelular, y alteraciones de la función inmunológica. Además la retención de toxinas urémicas puede contribuir al desarrollo de disfunción orgánica como la injuria pulmonar aguda (ALI). Los niveles de urea exhiben una relación no lineal e inversa con la TFG. Sin embargo, el uso de la urea sérica para estimar la TFG es problemático debido a los numerosos factores extrarenales que influyen en su producción y a su depuración renal independiente de la TFG. La tasa de producción de la urea no es constante y puede ser modificada por una ingesta proteica alta, enfermedad crítica, hemorragia gastrointestinal y tratamiento con corticoesteroides o tetraciclina. Este aumento de la urea sérica puede no acompañarse de un aumento concomitante de la CR-S. Además la tasa de depuración de urea tampoco es constante pues alrededor del 40-50% de la urea filtrada se reabsorbe pasivamente por las células tubulares renales proximales y distales. También en condiciones donde hay disminución del volumen circulante sucede una reabsorción intensificada de sodio y agua en las células tubulares renales proximales acompañada de un incremento en la reabsorción de urea.

La razón urea sérica/CR-S es tradicionalmente usada como indicador para diferenciar la azoemia prerenal de la necrosis tubular aguda (NTA). Por todos los factores anteriormente descritos, se considera que la concentración sérica de urea es un indicador poco fiable, debido a que tampoco es capaz de identificar cambios en tiempo real de la TFG.²⁰

1.5.1.3. – Diuresis

Las tendencias del volumen urinario pueden ser útiles al tomar en consideración la diuresis como un indicador rústico y dinámico de la función renal. La importancia de los cambios dinámicos en la diuresis ha sido reconocida al ser integrada en el sistema RIFLE, actualmente utilizado para el diagnóstico y clasificación de la LRA. Sin embargo, la diuresis, en términos generales, carece de especificidad y sensibilidad como marcador de función renal o injuria renal aguda en aquellos pacientes cuya libre excreción de agua y solutos se ve alterada; tal es el caso de los pacientes de UCI.²⁰ Además puede ocurrir disfunción renal severa a pesar de una diuresis normal cuando se asocia con disfunción tubular (falla renal no oligúrica) y alternativamente cambios en la diuresis pueden ocurrir mucho tiempo antes de demostrar cambios bioquímicos evidentes.²²

1.5.1.4. - Bioquímica urinaria

Múltiples exámenes de bioquímica urinaria, tales como la fracción excretada de sodio (FeNa) y la fracción excretada de urea (FeU), han sido empleados tradicionalmente para ayudar en la detección y clasificación de LRA precoz en azoemia prerenal y/o NTA. La FeNa fundamenta su utilización en la avidez con la que este ión es reabsorbido en a nivel tubular en la azoemia prerenal; condición clínica en la cual la función de las células tubulares permanece intacta. Como consecuencia de lo anterior, se sabe que la FeNa en estas circunstancias resulta ser inferior al 1%. En cambio en la NTA, la FeNa supera el 1%; dada la afección tubular asociada a dicha condición. No obstante, se han descrito otras situaciones en las cuales pueden existir niveles anormalmente altos de este marcador; como es el caso de los pacientes tratados con diuréticos. Asimismo, también se han descrito situaciones clínicas en las cuales es posible identificar niveles muy bajos de la FeNa (inferiores al 1%), como en los estados sépticos, rabiomólisis y exposición a radiocontrastes. Por consiguiente, puede decirse que el marcador en cuestión no posee suficiente precisión diagnóstica.^{20,22}

1.5.1.5. – Proteinuria

La excreción urinaria de proteínas ha sido descrita en numerosos estudios de LRA. En un estudio de cohorte de 104 pacientes críticamente enfermos, la mayoría con LRA o enfermedad renal crónica (ERC) agudizada, admitidos en la UCI, se encontró que un 69% presentaba evidencia de microalbuminuria (<300 mg/g creatinina) o proteinuria (≥ 300 mg/g creatinina) en el momento del ingreso. La proteinuria se detecto más comúnmente en pacientes ancianos, diabéticos, con ERC y en aquellos con shock. Una razón albumina/creatinina elevada (≥ 100 mg/g) se ha asociado con un incremento significativo de la mortalidad. La detección de microalbuminuria como marcador de un aumento en la permeabilidad capilar a las proteínas puede ser predictivo y pronostico para valorar severidad y mortalidad.²⁰

1.5.1.6.–Sedimento y microscopía urinaria

La observación microscópica del sedimento urinario ha sido utilizada tradicionalmente para diferenciar entre azoemia prerenal y NTA. El perfil clásico en la NTA es la presencia de células epiteliales tubulares renales con cilindros granulares gruesos, cilindros celulares mixtos, y cilindros color café. En cambio en la azoemia prerenal el sedimento es blando presentándose ocasionalmente cilindros hialinos o granulares finos. Sin embargo, no hay estudios clínicos a la fecha que hayan evaluado el valor de la microscopía del sedimento urinario como marcador de la función renal o LRA.²⁰

1.5.2. - MARCADORES RENALES NOVEDOSOS

Los marcadores renales novedosos pueden servir para identificar la localización de la injuria renal (túbulo proximal o distal, intersticio o vasculatura); señalar la duración de la falla renal; identificar la patogénesis de la LRA (isquemia, toxinas, sepsis o combinación de éstas); estratificar riesgo y pronosticar la duración y severidad de la LRA así como la necesidad de terapia de reemplazo renal. Adicionalmente poseen la capacidad para ayudar a determinar la duración de la estancia hospitalaria, el riesgo de mortalidad así como para monitorizar la respuesta a intervenciones terapéuticas.²² Otra de sus ventajas es que pueden ser cuantificados a nivel urinario o sérico; siendo éste último especialmente útil en pacientes con oliguria severa y en aquellos que son susceptibles a presentar alteraciones en la concentración de marcadores urinarios asociados a su estado de hidratación y al tratamiento con diuréticos.²¹

Los marcadores novedosos para LRA se pueden clasificar en:

- Enzimas liberadas por las células tubulares dañadas
- Proteínas de bajo peso molecular
- Proteínas específicamente producidas por el riñón y asociadas con el desarrollo de LRA
- Proteínas estructurales y funcionales de los túbulos renales²¹

1.5.2.1. - Acido úrico

La asociación entre la hiperuricemia y la nefropatía aguda por uratos es bien conocida. Sin embargo, el aumento en la concentración sérica de ácido úrico ha sido demostrado también en muchos otros tipos de LRA. Se considera que la detección sérica de ácido úrico puede ser un marcador de la instauración inminente de la LRA ya que su elevación sérica resulta de su sobreproducción y de la disminución de la filtración glomerular que reduce la excreción de ácido úrico en la orina.²²

El incremento en la filtración glomerular del ácido úrico en la orina resulta en principio como consecuencia de la sobresaturación del fluido intratubular por el mismo y su posterior cristalización con la subsecuente oclusión del lumen tubular y el desarrollo de una respuesta inflamatoria renal local con infiltración celular. Así pues, el ácido úrico no sólo es un marcador diagnóstico sino también un indicador de injuria intrarenal de la microvasculatura.²¹

1.5.2.2. – Enzimuria

Las enzimas liberadas de las células tubulares renales dañadas y excretadas en la orina pueden emplearse como marcadores de daño renal. Uno de los beneficios de la determinación urinaria de enzimas tubulares es el hecho que estas son

producidas en diferentes estructuras intracelulares (citoplasma, lisosomas o membrana celular) por lo cual su medición puede proveer detalles sobre la naturaleza, tamaño y sitio del daño celular tubular y su posible necrosis o disfunción.²¹

La Fosfatasa alcalina (PA), γ -glutamiltanspeptidasa (γ -GTP) y la Alanina aminopeptidasa (AAP) son enzimas del borde en cepillo. Su excreción aumentada hacia la orina refleja daño de la membrana del borde en cepillo con pérdida de las microvellosidades. Una limitación para su determinación es su relativa baja estabilidad pues su medición debe realizarse dentro de las 4 horas de haber sido recolectada la muestra y la necesidad de remover sustancias que puedan interferir en la muestra urinaria por medio de filtración con una columna cromatográfica.²¹

Las isoenzimas de la Glutación transferasa (GST) son enzimas citoplasmáticas. La GST- α es formada en las células epiteliales del túbulo proximal y la GST- π en el túbulo distal. El aumento en la excreción urinaria de una de las isoformas anteriormente descritas, puede indicar la localización de la lesión. Estas son predictoras de la necesidad de terapia de reemplazo renal en la LRA y para su medición se requiere la adición de un agente estabilizante de la actividad enzimática.²¹

1.5.2.2.1 – N-acetil- β -D-glucosaminidasa (NAG)

En condiciones patológicas el aumento de actividad enzimática en orina de origen renal se produce por desintegración y lisis de células tubulares y por una alteración de la permeabilidad de la membrana basal. Estos factores hacen posible la aparición en orina de enzimas que no se detectan habitualmente, tal es el caso de la arginina-ornitina-transaminidasa; o bien que lo hacen en pequeñas cantidades tales como la NAG.²⁴ La NAG es una enzima de naturaleza lisosomal, la cual ha sido considerada como la más activa de las glucosidasas lisosomales de las células epiteliales tubulares proximales. Se trata de un marcador urinario específico para las células tubulares ya que no puede ser filtrada por el glomérulo debido a su relativo alto peso molecular (>130 kDa).^{21,24}

Se han descrito diversas isoenzimas de NAG, las cuales se distribuyen en los tejidos en proporciones diferentes.²⁴ (Cuadro 4)

Cuadro 4. Actividad de las isoenzimas de NAG en los tejidos corporales				
	B	I	AS	A
RIÑÓN	18.3%	2.7%	---	78.0%
ORINA	9.5%	4.0%	---	85.5%
SUERO	13.0%	15.4%	68.6%	---
LCR	----	---	99.0%	----
HIGADO	31.0%	20.0%	---	48.0%

Cuadro 4. Tomado y Modificado de: Zúñiga L. Cambios en la excreción urinaria de N-Acetil-Beta-Glucosaminidasa en pacientes con diabetes tipo 2 en tratamiento con Losartán. Tesis Doctoral, Facultad de Medicina, Departamento de Medicina, Universidad de Granada, Granada, 2008.

La excreción urinaria de NAG varía a lo largo del día siguiendo un ritmo circadiano, tal y como ocurre con otros tipos de enzimas lisosomales. Sin embargo, se han descrito diferencias en este ritmo circadiano en función del sexo. Por ejemplo en las mujeres se ha documentado un pico de máxima secreción enzimática entre las siete y diez de la mañana y un pico mínimo a las veinte horas. En el caso de los hombres se ha observado que la secreción enzimática resulta ser homogénea durante casi todo el día, lo cual podría explicarse, al menos en parte por la acción estabilizadora de la testosterona en los varones. Girolami y cols. demostraron que las hormonas sexuales masculinas influyen en la secreción tubular de diversas enzimas, entre ellas la NAG.²⁴

Por otro lado, también se han evidenciado las variaciones en la actividad urinaria del NAG en función de la edad, con un aumento progresivo en recién nacidos y lactantes hasta alcanzar los seis meses de vida. Posteriormente se observan descensos paulatinos a medida se incrementa la edad cronológica. Al alcanzarse los sesenta años de edad, vuelve a ocurrir un nuevo incremento en los niveles de NAG urinario como reflejo de lesiones tubulares subclínicas dependientes de la edad.²⁴

Se admite que la concentración elevada de NAG en orina es propia de los estados de disfunción tubular proximal renal, inclusive en fases incipientes o asintomáticas. En el curso de enfermedad renal activa, los niveles de NAG urinario se mantienen elevados y su incremento indica daño a las células tubulares aunque también puede reflejar aumento de la actividad lisosomal sin daño celular. Una alta actividad de NAG en orina que persiste durante un período prolongado se ha correlacionado con un peor pronóstico y la necesidad de terapia de reemplazo renal.^{21,24}

Una de las ventajas de los marcadores enzimáticos en orina es que estos se manifiestan de forma precoz, convirtiéndose en medios diagnósticos más

sensibles en comparación con la proteinuria tubular. Sin embargo, la utilidad de la enzimuria como marcador está limitada por un umbral de liberación de enzimas tubulares que a pesar de indicar injuria celular tubular no identifica la causa o reversibilidad del proceso. Por lo cual parece que utilizar las altamente sensibles enzimas tubulares renales para la detección y monitoreo de lesión renal en pacientes con LRA es justificable en la etapa más temprana de la enfermedad, cuando el paciente es admitido al hospital o hasta 4 días antes que los marcadores renales convencionales se eleven, identificando así pacientes con alto riesgo de desarrollar LRA y permitiendo la introducción precoz de tratamiento. La actividad de estas enzimas se puede determinar fácilmente por medio de métodos de espectrofotometría.²¹

1.5.2.3. – Microproteinuria

Las proteínas de bajo peso molecular (<40 kDa) producidas por la mayoría de células de nuestro cuerpo y excretadas hacia el torrente sanguíneo son libremente filtradas hacia la orina y completamente reabsorbidas en las células tubulares proximales. Una concentración urinaria aumentada de estas proteínas (proteinuria tubular) puede ser un indicador práctico de la sobrecarga de las células tubulares con proteínas o de su lesión o disfunción. Las más reconocidas para detectar lesión de los túbulos proximales son la α 1 y β 2 microglobulinas, proteína fijadora de retinol (RBP) y la Cystatina C. Estas se determinan en la orina por medio de un ensayo de inmunoabsorción enzimática (ELISA por sus siglas en inglés).²¹

La α 1-microglobulina de 31 kDa es una proteína sintetizada por el hígado que se une a la inmunoglobulina A sérica. Solo sus formas no conjugadas son filtradas por el glomérulo y reabsorbidas en las células tubulares proximales. La β 2-microglobulina de 12 kDa es una proteína homóloga de los antígenos de histocompatibilidad, filtrada libremente por el glomérulo hacia la orina. Una elevada concentración urinaria de β 2-microglobulina ha sido demostrada con agentes nefrotóxicos (radiocontrastes) o hipoxia (causada por procedimientos cardioquirúrgicos o trasplante renal). Una limitante de su uso es la necesidad de alcalinizar la muestra de orina recolectada pues la proteína es inestable en un pH menor de 6.²¹

La RBP de 21 kDa es una proteína unida a las prealbúminas plasmáticas transportando vitamina A, filtrada por el glomérulo y casi completamente reabsorbida en los túbulos proximales, por lo cual hasta una reducción menor en la función tubular renal puede causar un aumento en la excreción urinaria de la proteína.²¹

La Cystatina C es un inhibidor endógeno de la cisteinproteinasas, de bajo peso molecular (13 kDa). Esta es sintetizada a una tasa relativamente constante y liberada en el plasma por todas las células nucleadas del cuerpo.^{20,22,23}

El principal sitio del catabolismo de la Cystatina C es el riñón, de tal manera que más del 99% de la misma es libremente filtrada por el glomérulo sin ser secretada. Sin embargo es casi completamente metabolizada y reabsorbida por las células tubulares renales proximales. Por lo tanto, es casi nulo el nivel presente y detectable en orina de dicha sustancia. Como consecuencia de lo anterior, se infiere que la TFG es inversamente proporcional a los niveles séricos de Cystatina C.^{20,21} Este marcador de la función renal puede ser determinado fácilmente por medio de nefelometría. Varios ensayos clínicos han demostrado el valor diagnóstico que ofrece la Cystatina C como un indicador de la TFG; logrando igualar e inclusive superar a la CR-S como marcador para discernir entre una función normal y una función renal disminuida. Además, la Cystatina C puede ser más sensible ante cambios precoces y leves de la función renal en comparación con la CR-S.^{20,22,23}

Aparentemente la Cystatina C no se ve influenciada por factores como edad, sexo, masa muscular o dieta del paciente; sin embargo si podría verse afectada por anomalías de la función tiroidea, terapia inmunosupresora y la presencia de inflamación sistémica. A diferencia de la CR-S y urea, la Cystatina C puede ser utilizada en la detección de cambios tempranos de la TFG, no obstante no es específica como marcador de LRA. Lo anterior se sustenta en un estudio de cohorte de pacientes críticos en el cual la elevación sérica de Cystatina C asociada a una LRA (definida como un incremento mayor del 50% en la creatinina sérica), pudo ser evidenciada de 1-2 días antes de presentarse cambios en marcadores convencionales. Además tal y como se expuso previamente, la Cystatina C no puede ser detectada normalmente en orina, sin embargo, existe evidencia que sugiere la cuantificación urinaria de la misma en pacientes con LRA. Un estudio prospectivo realizado en este tipo de pacientes, evidenció que la elevación de Cystatina C urinaria fue altamente predictiva de la necesidad de terapia de reemplazo renal.^{20,21,22,23}

1.5.2.4. - Marcadores específicamente producidos en el riñón

Recientes investigaciones elaboradas con cultivos de células tubulares proximales tanto en seres humanos como en animales, han identificado ciertos genes que son inducidos tempranamente posterior a un evento isquémico. Dichos estudios han sugerido que los productos proteicos derivados de estos genes (CYR61, NGAL y KIM-1) albergan un considerable potencial que les permitiría ser utilizados como marcadores novedosos para la evaluación de la LRA.²¹

La CYR61 es una proteína rica en cisteína que se une a la heparina y es miembro de la familia de los factores de crecimiento extracelular. Esta se encuentra unida a la célula y matriz extracelular de forma muy cercana y es capaz de jugar un rol protector en el proceso de reparación y neovascularización. En una serie de estudios, el incremento en la concentración urinaria del CYR61 ocurre aproximadamente 3-6 horas luego de 30 minutos de isquemia renal. Los niveles

elevados se mantenían por 24 horas y disminuyen luego a pesar de persistir la lesión renal por lo cual puede ser útil como un marcador de daño renal precoz.²¹ La lipocalina asociada a la gelatinasa de neutrófilos humana (NGAL), fue originalmente identificada como una proteína de 25 kDa unida por enlaces covalentes a la gelatinasa de los neutrófilos. La NGAL es normalmente expresada a niveles muy bajos en diversos tejidos humanos que incluyen el riñón, pulmón, estómago y colon. En el epitelio dañado, la expresión de NGAL se encuentra marcadamente aumentada a niveles séricos; tal es el caso de pacientes con infecciones bacterianas agudas o en patologías como el asma y la enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC). Por otro lado, esta proteína ha sido identificada como uno de los marcadores renales más tempranamente cuantificables posterior a una injuria isquémica o nefrotóxica en modelos animales, por medio de costosos inmunoensayos.^{21,22,23}

En un estudio prospectivo en niños a los que se les realizaría bypass cardiopulmonar, la incidencia de LRA se reportó en 28% de los pacientes, sin embargo el diagnóstico empleando CR-S (marcador convencional) fue únicamente posible del primero al tercer día postquirúrgico. Contrariamente al utilizarse NGAL, el aumento tanto en orina como en sangre pudo ser detectado de dos a seis horas posterior al procedimiento quirúrgico. Por consiguiente, la medición de NGAL urinario y plasmático ha emergido como un marcador sensible, específico y altamente predictivo en pacientes pediátricos que han sido sometidos a cirugía cardíaca. Estos mismos resultados han sido verificados en otro estudio prospectivo realizado en pacientes adultos, quienes desarrollaron LRA posterior a una cirugía cardíaca. En estos últimos casos los niveles de NGAL urinario se elevaron de una a tres horas posterior a la intervención en comparación con los hallazgos detectados en la CR-S, la cual pudo ser cuantificable hasta el tercer día postquirúrgico. En resumen, NGAL se está perfilando como un importante marcador de LRA con un alto potencial para el diagnóstico temprano. No obstante, las mediciones de NGAL pueden verse influenciadas por la preexistencia de enfermedad renal e infecciones sistémicas o urinarias.^{21,22}

La molécula de injuria renal (KIM-1), es una proteína transmembrana altamente sobreexpresada en las células tubulares proximales diferenciadas como consecuencia de la LRA isquémica o nefrotóxica tanto en modelos animales como en humanos. Un dominio de KIM-1, una vez metabolizado por proteólisis, puede ser detectado fácilmente en orina. Un ensayo clínico realizado en seres humanos identificó una marcada expresión de KIM-1 en los túbulos proximales de biopsias renales en pacientes con LRA establecida. Los resultados concluyeron que dicha proteína pudo establecer diferencias entre azoemia prerrenal, LRA de causa isquémica y enfermedad renal crónica. Una de las principales ventajas ofrecidas por la KIM-1 es su mayor especificidad por la identificación de injuria renal isquémica o nefrotóxica, sin ser afectada significativamente por la enfermedad renal crónica o por una infección de vías urinarias. Sin embargo, y pese a los beneficios anteriormente descritos, su potencial uso como marcador precoz

parece estar limitado debido a que el aumento de KIM-1 urinario se presenta de 12-24 horas posterior a la injuria.^{21,22,23}

1.5.2.5. - Citocinas y Quimioquinas urinarias

La respuesta inmunológica juega un rol clave en la patogénesis del daño isquémico del riñón en la LRA. Sin embargo, las citocinas poseen un perfil de baja especificidad puesto que se observa su elevación en estados sépticos, enfermedad hepática y enfermedad pulmonar, sin acompañarse de injuria renal. Dentro de este grupo de marcadores, puede considerarse que las citocinas urinarias con mayor utilidad diagnóstica para LRA son Gro- α , IL-6, IL-8 e IL-18.²¹

La Gro- α es el análogo humano de la quimioquina derivada de los queratinocitos de ratones. La determinación de Gro- α en orina se cree es un marcador para el diagnóstico temprano y predicción del desarrollo de la LRA inducida por isquemia.²¹

La Interleucina-18 (IL-18) es una citocina proinflamatoria que se induce en el túbulo proximal luego de la LRA. La proteasa de cisteína intracelular, capsasa-1, convierte las proformas de la IL-18 a su forma activa, que luego sale de la célula y puede ser excretada en la orina. Se ha observado en una serie de ensayos que la IL-18 urinaria se encuentra elevada en pacientes con LRA establecida pero no en aquellos con infección de vías urinarias, enfermedad renal crónica, síndrome nefrótico o falla prerenal, por lo cual la IL-18 parece ser una excelente herramienta para diferenciar la NTA de otros tipos de enfermedad renal aguda, siendo más específica para las lesiones de tipo isquémico y otras formas de necrosis tubular. En una serie de análisis, la IL-18 urinaria (>100 pg/mg) predijo el desarrollo de LRA 24 horas antes que la CR-S; así como la mortalidad en pacientes con síndrome de distrés respiratorio por ventilación mecánica. Asimismo se observó una elevación en los niveles de NGAL e IL-18 urinarios de 2 a 6 horas (respectivamente), posteriores a una intervención por cirugía cardíaca en un grupo de pacientes pediátricos que adicionalmente desarrollaron LRA postquirúrgica.^{21,22,23}

1.5.3. – HISTOPATOLOGÍA RENAL

La biopsia renal resulta ser frecuentemente necesaria para poder establecer diferencias entre enfermedades con presentaciones clínicas similares. Las múltiples enfermedades que causan el síndrome nefrótico, síndrome nefrítico y LRA, que tienen pronósticos y tratamientos muy diferentes, ejemplifican la importancia de la biopsia renal en la realización de un diagnóstico diferencial.²⁵

El rol principal de la biopsia renal es proporcionar un diagnóstico que permita al médico establecer un pronóstico fundamentado y asignar un tratamiento

específico para la lesión detectada. En ciertos casos, la causa específica del daño renal puede ser identificada o sugerida por medio del estudio patológico y posteriormente confirmada a través de la clínica. Además la biopsia renal es la única forma de reconocer y describir algunas enfermedades renales nuevas, como por ejemplo los efectos adversos de nuevos medicamentos. Finalmente, la biopsia renal es requerida en los ensayos clínicos para asegurar que la severidad de la enfermedad sea comparable entre los grupos de investigación y para utilizarse como un referente en la evaluación de la eficacia terapéutica.²⁵

Sin embargo el médico debe evaluar el beneficio de la información obtenida y el impacto sobre el manejo del paciente contra los riesgos asociados a la biopsia renal. La complicación más común de la biopsia renal es la hematuria microscópica, la cual ocurre en todos los pacientes. En cambio, la hematuria macroscópica se presenta sólo en un 5% a 7% de los pacientes a los cuales se les realizó una biopsia renal. Otras complicaciones incluyen la formación de un hematoma perinéfrico y la fistula arteriovenosa. Existen reportes poco frecuentes de íleo, laceración de víscera, punción de la pelvis renal resultando en un urinoma, neumotórax y dispersión de un carcinoma. El riesgo de complicaciones severas que incluyen hemorragia que requiera transfusión y fistula arteriovenosa es del 0% a 6%. La pérdida de un riñón ocurre en uno de cada 2000 a 5000 biopsias renales cerradas. Las técnicas como la ultrasonografía en tiempo real y el sistema automatizado para toma de biopsias han permitido facilitar la implementación de la técnica para la toma de biopsia renal pero no han reducido la incidencia de las complicaciones graves.²⁵

1.5.3.1 – Patología de la LRA

El entendimiento de la patología de la LRA en humanos es incompleto, puesto que muchos de los casos ocurren sin haberse tomado una biopsia renal y en la autopsia por lo general los riñones presentan artefactos de preservación.²⁶

A nivel macroscópico y como consecuencia del edema intersticial, los riñones se edematizan y aumentan de tamaño. El peso combinado de ambos riñones se encuentra usualmente aumentado en un 25% a 30%. La corteza se ensancha y adquiere un aspecto pálido y la médula puede aparecer como una banda rojiza como resultado de la congestión de la vasa recta. Los glomérulos se presentan como puntos rojos al interior de la pálida corteza renal.^{26,27}

El daño ocasionado por la LRA tanto de naturaleza isquémica como tóxica, comprometen principalmente a los túbulos renales, excluyendo a los glomérulos.^{26,27} La herniación del epitelio tubular proximal hacia la capsula de Bowman es vista ocasionalmente y puede ser el único indicador de LRA cuando los cambios en el epitelio tubular son mínimos. Los cambios morfológicos del daño celular son usualmente más sutiles en el tipo isquémico y más obvios en la forma tóxica. En la forma isquémica de LRA el daño tubular es multifocal, afectando tramos cortos de los segmentos rectos de los túbulos proximales y áreas focales de los

segmentos ascendentes del Asa de Henle. En cambio en la forma tóxica de la LRA el daño epitelial tubular es continuo y abarca una mayor extensión en los segmentos de los túbulos proximales.²⁶ (Figura 3)

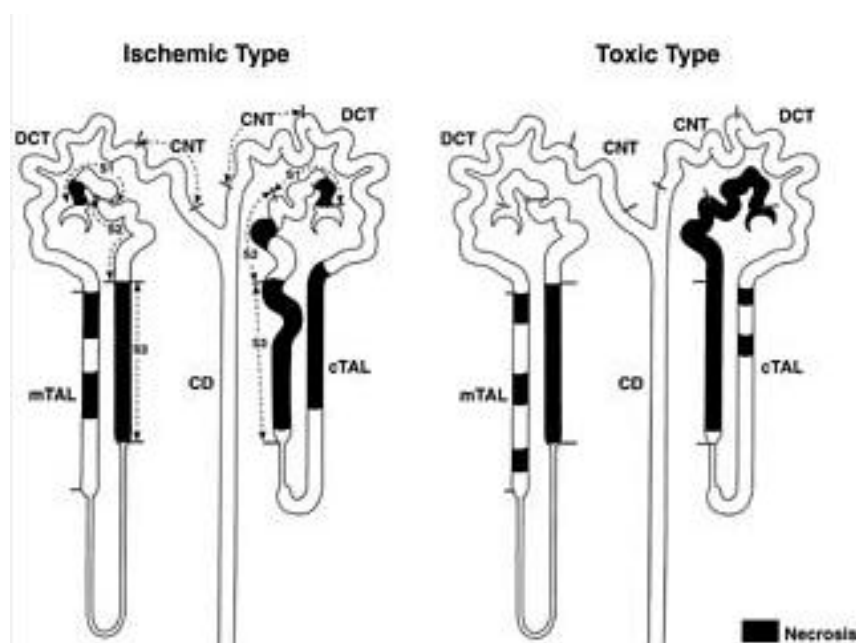


Figura 3. Diferencia en la distribución de la lesión en la forma isquémica y tóxica de la injuria tubular renal. (Tomado de: Racusen L., Kashgarian M. *Ischemic and Toxic Acute Tubular Injury and Other Ischemic Renal Injury*, Chapter 24. En: Jennette J. C., Olson J. L., Schwartz M. M., Silva F. G. *Hepinstall's Pathology of the Kidney*, 6th Edition, Lippincott Williams & Wilkins, 2007, Volume two)

Se han descrito 3 tipos histopatológicos principales de LRA inducida por medicamentos. Estos son la inflamación intersticial debido a una reacción alérgica dosis independiente, el daño tubular agudo dosis dependiente debido a una injuria toxica directa y, una nefropatía obstructiva en la cual el medicamento o sus metabolitos se cristalizan en la parte distal de la nefrona llevando a una obstrucción y falla renal.²⁷

1.5.3.1.1 – LRA de origen nefrotóxico: Túbulos

Actualmente se sabe que entre el 5% al 10% de los casos de LRA son causados en gran medida por la exposición a medicamentos.²⁶

La NTA es una entidad clínico-patológica, caracterizada por la destrucción o daño severo del epitelio tubular renal.²⁵ Clásicamente, la LRA tóxica puede ser asociada a una necrosis epitelial extensa que habitualmente involucra a todas las nefronas en una forma más uniforme que en la LRA isquémica.²⁶ La severidad y

extensión de los cambios observados en la LRA nefrotóxica varían dependiendo del medicamento, su dosis y momento de la evaluación morfológica.^{26,27}

Los cambios patológicos en los túbulos renales detectables por microscopía de luz son:

- Degeneración y necrosis de células epiteliales tubulares individuales (necrosis de coagulación, cariorrexis y picnosis).^{25,26,28} (Figura 4)
- Alteraciones en la superficie celular, incluyendo la pérdida del borde en cepillo (detectable con la coloración PAS) (Figura 5). Asimismo, pérdida de los repliegues basolaterales y ampollamiento del citoplasma.^{25,26} (Figura 6)
- Edema y vacuolización del citoplasma.^{25,26,28} (Figura 7)
- Pérdida de células tubulares individuales, con formación de lagunas o espacios a lo largo de la membrana basal tubular o con menor cantidad de células revistiendo los túbulos.^{25,26,28}
- Cristales, cilindros o detritos celulares proteínicos intraluminales.^{25,26,27,28}
- Dilatación tubular con adelgazamiento o aplastamiento o achatamiento del epitelio tubular.^{26,27,28} (Figura 8)
- Ruptura tubular con extravasación de orina (tubulorrexis).^{25,26}
- Cambios regenerativos que incluyen el achatamiento de las células epiteliales, basofilia citoplásmica, heterogeneidad del tamaño y forma de las células, mitosis celular y una mayor razón núcleo/citoplasma a nivel celular.^{26,27} (Figura 9)

El edema y vacuolización de las células tubulares proximales puede evidenciarse al identificar las células de mayor tamaño y palidez conteniendo discretas vacuolas de diversos tamaños. Las vacuolas reflejan daño celular y alteraciones de los mecanismos homeostáticos que mantienen el medio intracelular normal, siendo más frecuente su formación con la exposición a los agentes osmóticos.²⁸

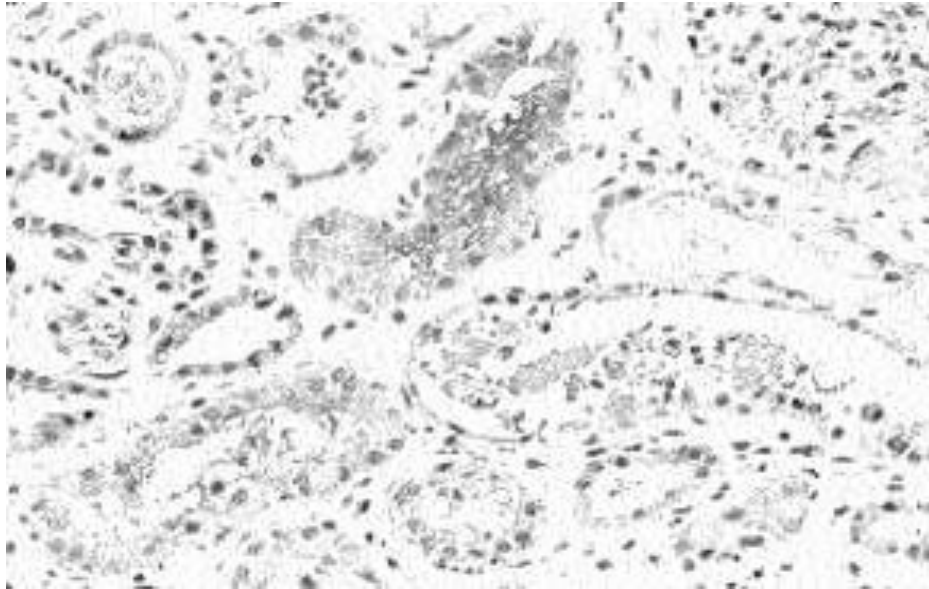


Figura 4. Células tubulares necróticas y detritos celulares en el lumen tubular. Un túbulo demuestra pérdida celular extensa con un revestimiento epitelial tubular compuesto por una sola capa muy achatada de citoplasma. Los lúmenes dilatados contienen numerosas células tubulares necróticas con núcleo picnótico. Muchos túbulos contienen detritos celulares y uno contiene eritrocitos (H&E; x250). Tales cambios son más frecuentes en la injuria toxica que isquémica, a menos que la ultima sea muy severa. (Tomada de: Racusen L., Nast C. *Renal Histopathology, Urine cytology & Cytopathology of Acute renal Failure, Chapter 9.* En: Schrier R. *Atlas of diseases of the kidney. On-line edition by ISN Informatics Commission and NKF cyberNephrology.*)

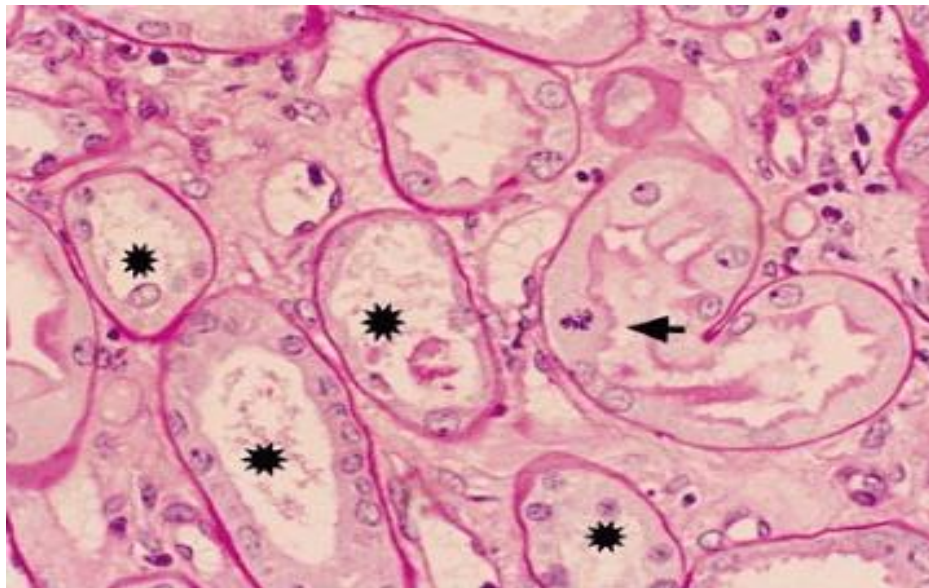


Figura 5. Los túbulos dañados (asteriscos) muestran pérdida de la altura celular y del borde en cepillo con detritos dispersos en los lúmenes tubulares. Los otros túbulos incluyendo uno con una figura mitótica (flecha) tienen preservado el borde en cepillo. El intersticio está edematoso con linfocitos dispersos (PAS, x450). (Tomado de: Jennette J.C., Olson J.L., Schwartz M.M., Silva F.G. *Primer on the Pathologic Diagnosis of Renal Disease, Chapter 3.* En: Hepinstall's *Pathology of the Kidney, 6th Edition, Lippincott Williams & Wilkins, 2007, Volume One.*)

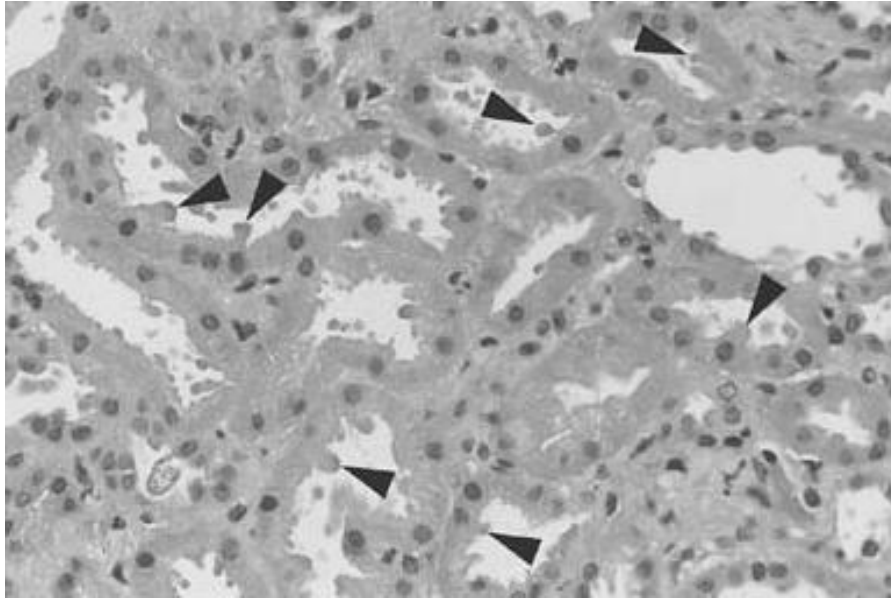


Figura 6. Ampollamiento apical de la superficie de las células tubulares proximales dañadas (punta de flecha). Ampollas citoplásmicas apicales pueden ser vistas en el lumen tubular. (H&E, x640) (Tomado de: Racusen L., Kashgarian M. *Ischemic and Toxic Acute Tubular Injury and Other Ischemic Renal Injury*, Chapter 24. En: Jennette J. C., Olson J. L., Schwartz M. M., Silva F. G. *Hepinstall's Pathology of the Kidney*, 6th Edition, Lippincott Williams & Wilkins, 2007, Volume two.)

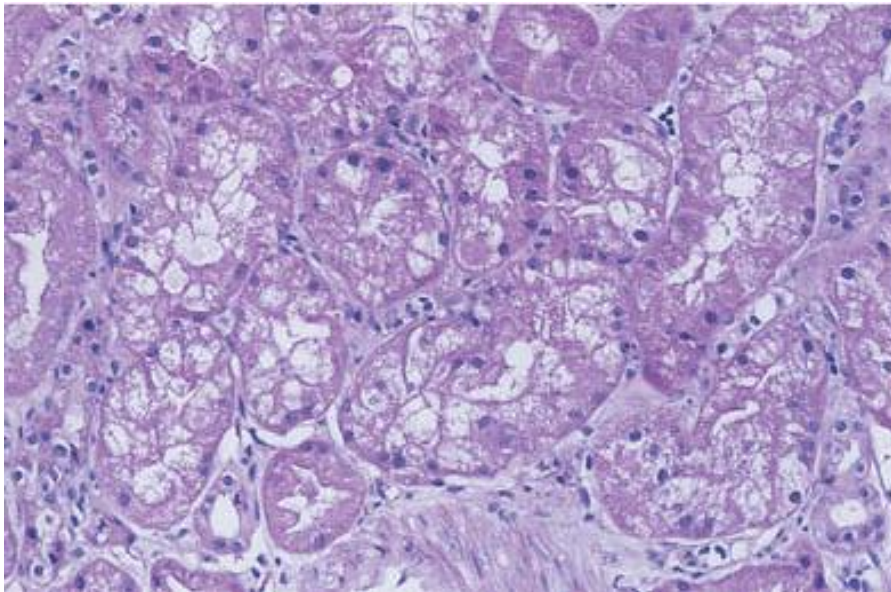


Figura7. Células tubulares demostrando edema severo que en ciertas áreas parece obstruir el lumen tubular. (H&E; x640) (Tomado de: Racusen L., Kashgarian M. *Ischemic and Toxic Acute Tubular Injury and Other Ischemic Renal Injury*, Chapter 24. En: Jennette J. C., Olson J. L., Schwartz M. M., Silva F. G. *Hepinstall's Pathology of the Kidney*, 6th Edition, Lippincott Williams & Wilkins, 2007, Volume two.)

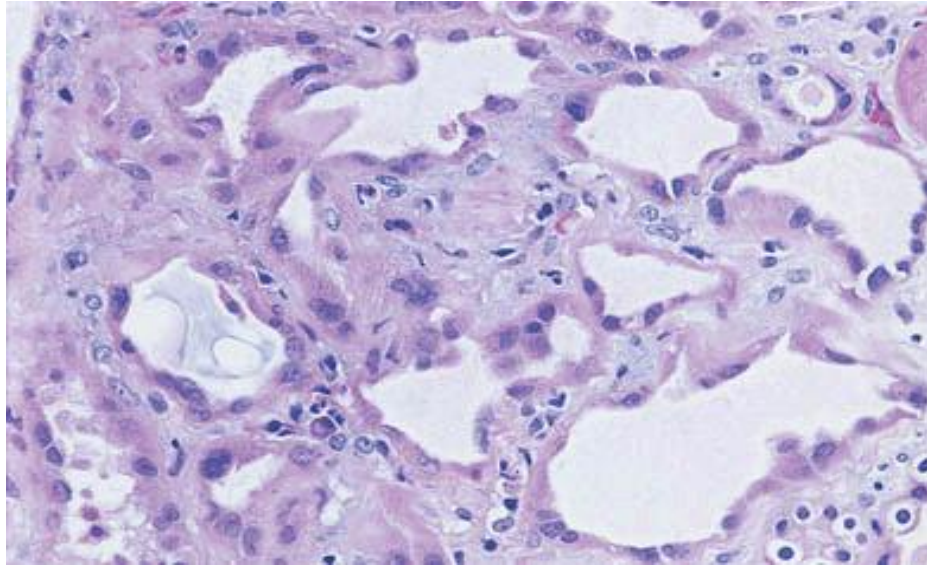


Figura 8. Túbulos dilatados con achatamiento del epitelio tubular (H&E, x640). (Tomado de: Racusen L., Kashgarian M. *Ischemic and Toxic Acute Tubular Injury and Other Ischemic Renal Injury*, Chapter 24. En: Jennette J. C., Olson J. L., Schwartz M. M., Silva F. G. *Hepinstall's Pathology of the Kidney*, 6th Edition, Lippincott Williams & Wilkins, 2007, Volume two.)

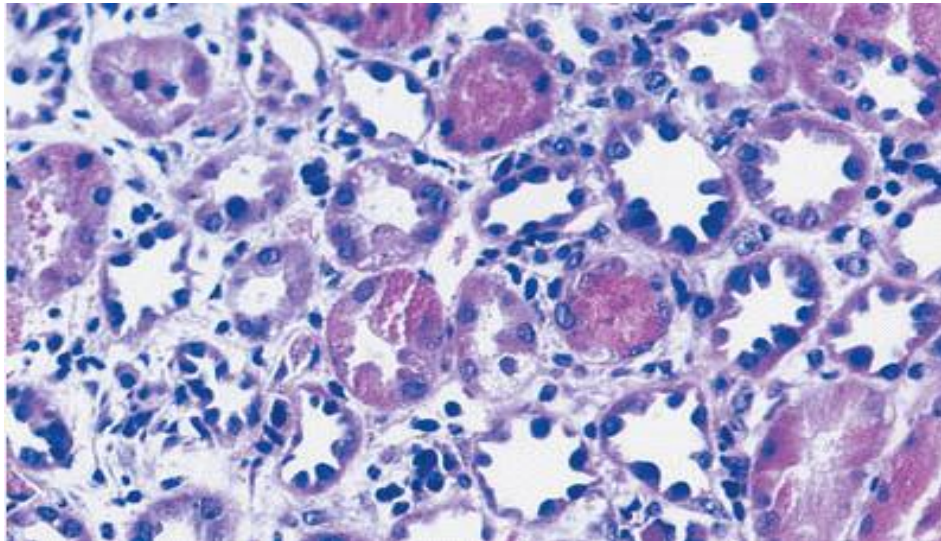


Figura 9. Cambios regenerativos en las células tubulares con núcleos hiper cromáticos y relativamente poco citoplasma (H&E, x640). (Tomado de: Racusen L., Kashgarian M. *Ischemic and Toxic Acute Tubular Injury and Other Ischemic Renal Injury*, Chapter 24. En: Jennette J. C., Olson J. L., Schwartz M. M., Silva F. G. *Hepinstall's Pathology of the Kidney*, 6th Edition, Lippincott Williams & Wilkins, 2007, Volume two.)

1.5.3.1.2 – LRA de origen nefrotóxico: Vasculatura

La vasculatura usualmente no presenta cambios notables a menos que haya una enfermedad concomitante. Sin embargo, se puede notar congestión vascular en la medula externa.²⁶

1.5.3.2 – Patología de la nefrotoxicidad por aminoglicósidos

Específicamente en el caso de los pacientes tratados con Gentamicina, la incidencia de LRA es de alrededor del 20%. En el caso de la Gentamicina el inicio de la elevación detectable de la creatinina sérica es típicamente luego de 8 a 10 días de haber iniciado la terapia.²⁶ La inflamación túbulointersticial acompañada de NTA, ha sido reportada también en la nefrotoxicidad inducida por aminoglicósidos, siendo este patrón el más común en las mujeres. Se ha observado que los citosegresomas son muy comunes en el epitelio tubular de los pacientes que están recibiendo Gentamicina, así como la presencia de cilindros proteicos y degeneración citoplasmática. En modelos animales, la nefrotoxicidad inducida por Gentamicina se alcanza a altas dosis (40 a 100 mg/kg/día), observándose necrosis de los segmentos S1 y S2 de los túbulos contorneados proximales, siendo la extensión dosis dependiente.^{26,27}

Los cambios estructurales observados en ratas tratadas con Gentamicina a una dosis de 40 mg/kg/día por 10 días, se evidenciaron en las células tubulares proximales tan solo después de 3 días de tratamiento. Se detectó un incremento en el número de vacuolas citoplasmáticas unidas a membrana, siendo principalmente citosomas y algunos citosegresomas que contenían fragmentos de membrana y remanentes de organelas celulares.²⁹ La mayoría de estos citosomas usualmente se encuentran conformados por uno o más agregados concéntricos de espirales compuestos de membranas, llamados cuerpos mieloides.^{26,27,29} (Figura 10)

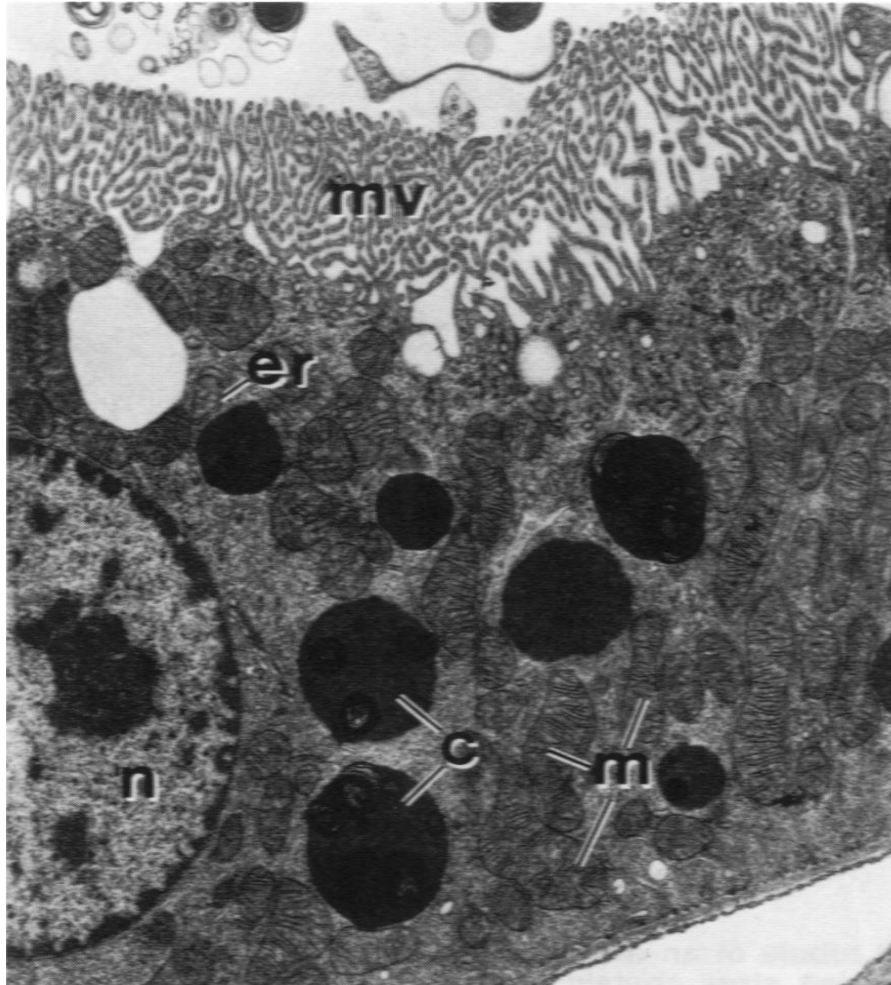


Figura 10. Microscopía electrónica de un túbulo proximal de una rata recibiendo gentamicina a 40 mg/kg/día por 3 días. Cuerpos mieloides presentes en varios citosomas (c) y en el lumen tubular. Otros componentes celulares, incluyendo la mitocondria (m), segmentos del retículo endoplasmático (er), microvellosidades (mv) y núcleo (n), se observan sin anomalías (x 14,600). (Tomado de: Houghton D., Plamp III C., DeFehr J., Bennett W., Porter G., Gilbert D. *Gentamicin and Tobramycin Nephrotoxicity, a morphologic and Functional Comparison in the rat.* *American Journal of Pathology*, Vol. 93, No.1, October, 1978.)

Luego de 7 a 10 días de tratamiento con aminoglicósidos, los cuerpos mieloides eran aparentes en pequeñas cantidades al interior de los citosomas localizados en otros sitios del riñón como los túbulos distales y colectores. Nunca se identificaron alteraciones a nivel glomerular.²⁹ Los cambios morfológicos que suceden posteriormente por lo regular se presentan con el edema mitocondrial. (Figura 11) Adicionalmente, se observa dilatación de los segmentos del retículo endoplasmático y edema citoplasmático, así como dispersión y mala definición de los componentes ribosomales.^{26,27,29}

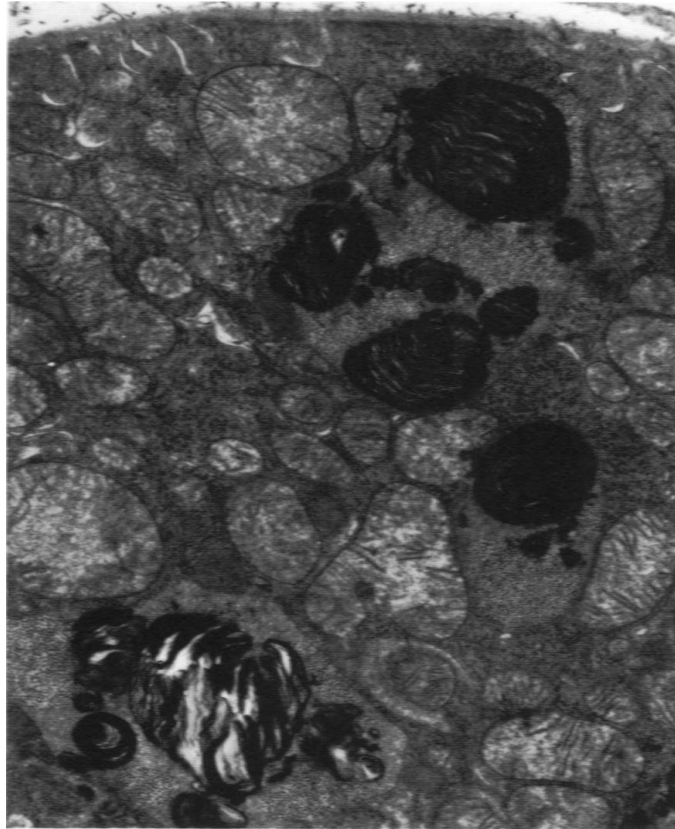


Figura 11. Microscopía electrónica de una célula tubular proximal de un animal recibiendo tobramicina a una dosis de 40 m/kg/día por 10 días. Daño celular significativo evidenciado por el marcado edema mitocondrial. Grandes citosomas contienen numerosos cuerpos mieloides. (x 14,600) (Tomado de: Houghton D., Plamp III C., DeFehr J., Bennett W., Porter G., Gilbert D. *Gentamicin and Tobramycin Nephrotoxicity, a morphologic and Functional Comparison in the rat. American Journal of Pathology, Vol. 93, No.1, October, 1978.*)

Los cambios tardíos del daño por aminoglicósidos se evidencian al notar un citoplasma cada vez más edematoso que contiene fragmentos de mitocondrias, lisosomas y cuerpos mieloides libres (Figura 12). La membrana celular se torna irregular y frecuentemente forma una serie de repliegues y muescas con pocas microvellosidades. Las uniones estrechas con las demás células se pierden. El núcleo se torna edematoso con heterocromatina aglutinada densamente en sus márgenes. Los detritos citoplasmáticos y cuerpos mieloides llenan los lúmenes tubulares. Luego de la pérdida de las células tubulares, aquellas que se encuentran intactas parecen esparcirse y achatarse sobre áreas amplias de la membrana basal tubular. Al suceder esto las microvellosidades se separan y parecen ser menos numerosas.²⁹

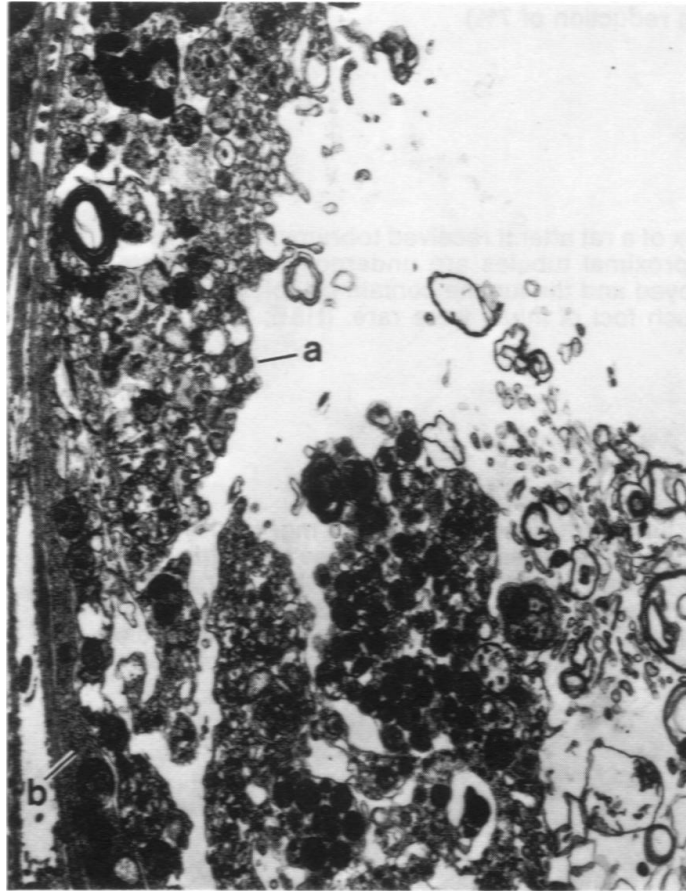


Figura 12. Microscopía electrónica de un túbulo proximal luego de 7 días de Gentamicina a una dosis de 40mg/kg/día. El epitelio se encuentra severamente dañado. Una célula con membrana aparentemente intacta pero con marcado daño y desorganización citoplasmática (a) se mantiene unida a la lámina basal. Una célula mucho menos dañada (b) se encuentra achatada sobre la lámina basal. El lumen contiene detritos citoplasmáticos y cuerpos mieloides (x 14,600). (Tomado de: Houghton D., Plamp III C., DeFehr J., Bennett W., Porter G., Gilbert D. *Gentamicin and Tobramycin Nephrotoxicity, a morphologic and Functional Comparison in the rat.* American Journal of Pathology, Vol. 93, No.1, October, 1978.)

La naturaleza multifocal del daño celular se observa tanto a la microscopía de luz así como en la microscopía electrónica. Segmentos adyacentes de los túbulos proximales son con frecuencia mínimamente dañados o muestran únicamente cambios citosomales (Figura 13). Luego de siete días de tratamiento con gentamicina se observan infiltrados con células inflamatorias mononucleares a nivel de la corteza y de la unión corticomedular.²⁹

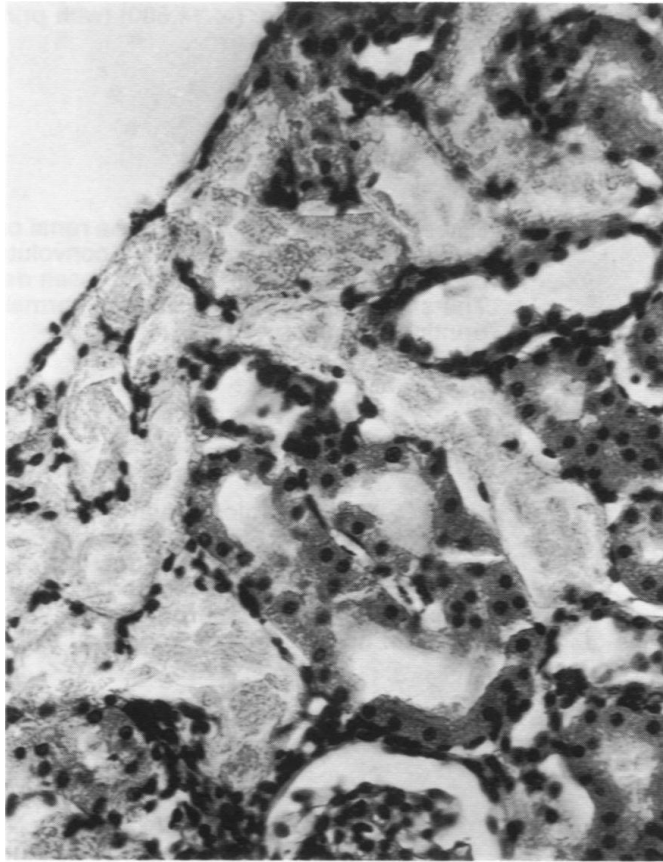


Figura 13. Microscopía de la corteza renal externa de una rata que recibió Gentamicina a una dosis de 40 mg/kg/día durante 7 días, que demuestra la necrosis tubular focal temprana. Algunos túbulos proximales están desprovistos de un epitelio viable y su lumen contiene detritos necróticos. El intersticio contiene linfocitos (H&E, x 300). (Tomado de: Houghton D., Plamp III C., DeFehr J., Bennett W., Porter G., Gilbert D. *Gentamicin and Tobramycin Nephrotoxicity, a morphologic and Functional Comparison in the rat.* American Journal of Pathology, Vol. 93, No.1, October, 1978.)

Luego de 10 días de tratamiento con gentamicina a una dosis de 40 mg/kg/día, por lo menos un 75% y en muchos cortes casi la totalidad de los túbulos de los dos tercios externos de la corteza renal se encontraban necróticos (Figura 14).²⁹

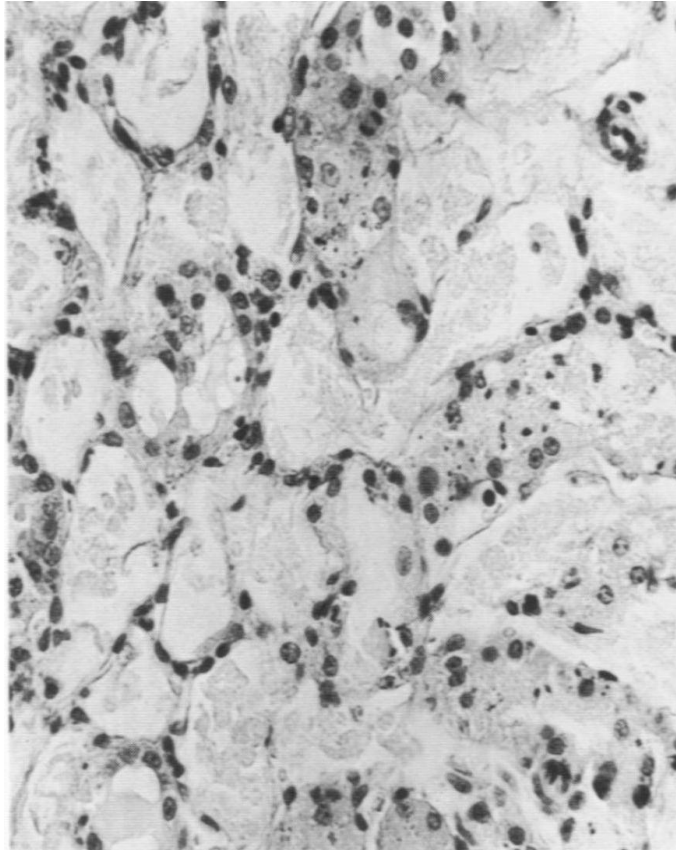


Figura 14. Microscopía de la corteza renal de un animal tratado con gentamicina a una dosis de 40 mg/kg/día durante 10 días. La necrosis tubular proximal es casi completa y casi todos los túbulos se encuentran privados de epitelio, con el lumen tubular lleno de detritos citoplasmáticos y nucleares. Se observan células inflamatorias mononucleares dispersas por el intersticio y las células intactas con vacuolas (H&E, X 300). (Tomado de: Houghton D., Plamp III C., DeFehr J., Bennett W., Porter G., Gilbert D. *Gentamicin and Tobramycin Nephrotoxicity, a morphologic and Functional Comparison in the rat. American Journal of Pathology, Vol. 93, No.1, October, 1978.*)

2 - DAÑO RENAL INDUCIDO POR MEDICAMENTOS

2.1 - GENERALIDADES

La nefrotoxicidad se define como el desarrollo de daño renal de tipo estructural y/o funcional, que se produce como consecuencia de la exposición a uno o varios medicamentos, medios diagnósticos y toxinas exógenas.³⁰ Dado que el riñón desempeña una inmensa gama de funciones corporales esenciales que incluyen el aclaramiento de los productos metabólicos de desecho, así como la modulación de la respuesta endocrina y mantenimiento del equilibrio hidroelectrolítico y ácido-básico; es posible inferir con facilidad que el daño renal conllevará al desarrollo de graves problemas clínicos. Por otro lado, el metabolismo y la excreción de medicamentos exógenos se consideran como una de las funciones críticas desempeñadas por el aparato renal; la cual a su vez, lo convierte en un objetivo vulnerable ante diversas formas de lesión renal.³¹

La compleja naturaleza de las enfermedades graves y estados de salud críticos, a menudo demanda el uso de múltiples agentes terapéuticos; muchos de los cuales poseen un enorme potencial para inducir daño renal al ser empleados ya sea en forma individual o combinada. La NTA se considera la forma más común de daño renal por exposición a nefrotoxinas; si bien es cierto, otros tipos de lesión renal también pueden observarse.⁷

2.2 - EPIDEMIOLOGÍA

La LRA es una condición relativamente usual en las UCI y puede presentarse en un 20 a 30% de los pacientes en estado de salud crítico. Algunos estudios recientes de corte epidemiológico han demostrado que los medicamentos nefrotóxicos son considerados como factores causales del 19% al 25% de los casos reportados de daño renal severo en este grupo de pacientes.⁷

Al analizar la ocurrencia de este tipo de complicaciones y realizar comparaciones unos 30 años atrás, es posible concluir que las personas actualmente viven más, presentan una mayor incidencia de enfermedades crónicas tales como la Diabetes Mellitus y afecciones cardiovasculares en general; consumen múltiples medicamentos y se encuentran más expuestos a procedimientos diagnósticos y terapéuticos con alto potencial de causar daño renal. Es por ello que, en la actualidad, la población de adultos mayores presenta una incidencia de nefrotoxicidad por medicamentos que ha alcanzado cifras que rondan hasta en un 66% de los casos reportados.³²

2.3 - MEDICAMENTOS NEFROTÓXICOS MÁS FRECUENTES

En términos generales, las sustancias nefrotóxicas pueden ser clasificadas en cuatro categorías: a) Agentes terapéuticos, b) Agentes diagnósticos, c) Agentes alternativos y complementarios y, d) Toxinas exógenas.³¹ No obstante, para propósitos del presente trabajo, se tomarán en consideración únicamente los agentes terapéuticos con potencial nefrotóxico.

Los seres humanos, con regular frecuencia son expuestos a una gran variedad de medicamentos nefrotóxicos. Muchos agentes terapéuticos poseen potenciales nefrotóxicos ya bien conocidos; los cuales usualmente pueden ser subdivididos en: Agentes antimicrobianos, medicamentos de uso en oncología, analgésicos, agentes inmunosupresores y otros tipos. Mientras la mayoría de estos medicamentos requieren de prescripción médica, existe una buena cantidad de ellos que son considerados como medicamentos de venta libre (OTC por sus siglas en inglés). Por otro lado, es necesario tener en consideración el avance actual de la industria farmacéutica que propicia el apareamiento de nuevos medicamentos con potenciales efectos nefrotóxicos todavía desconocidos, pero que se prescriben de forma continua en la práctica clínica.³³

2.3.1 – AGENTES ANTIMICROBIANOS, ANTIFÚNGICOS Y ANTIVIRALES

Los antibióticos pertenecientes a la familia de los aminoglicósidos; han sido conocidos históricamente por su acumulación dosis dependiente a nivel de los túbulos proximales de la nefrona; produciendo primordialmente estrés oxidativo, disfunción mitocondrial y daño a los lípidos de membrana. Por su parte la ciprofloxacina, perteneciente a la familia de las fluoroquinolonas; genera una Nefritis Intersticial Aguda (NIA) y en raras ocasiones, precipitación de cristales a nivel de los túbulos renales cuando es administrada a dosis excesivas. Se ha descrito adicionalmente, que los antibióticos betalactámicos y las sulfonamidas, en especial la sulfadiazina; también pueden llegar a causar una NIA.³³ Las polimixinas, en especial la polimixina B; son consideradas extremadamente nefrotóxicas y constan de una ventana terapéutica muy reducida. Sus principales efectos han sido observados a nivel de los túbulos renales proximales.^{33,34}

En cuanto a los antifúngicos; se ha conocido que la anfotericina B es capaz de producir vasoconstricción arteriolar aferente y lesión en las células tubulares distales por disrupción de las estructuras celulares, mientras que agentes antivirales tales como el tenofovir, cidofovir y adefovir, generan una lesión tubular proximal mediante una disrupción mitocondrial, pudiendo además llegar a producir lesión tubular distal. También existe evidencia que sugiere que el aciclovir, al ser administrado en altas dosis por infusión endovenosa rápida, es capaz de precipitarse al interior de los túbulos renales; efectos que también han sido descritos en medicamentos como el indinavir y atazanavir.³³

2.3.2 – MEDICAMENTOS DE USO EN ONCOLOGÍA

Los medicamentos pertenecientes al grupo de los platinos, (cisplatino >carboplatino >oxaliplatino = nedaplatino) son capaces de generar toxicidad dosis dependiente a nivel de los túbulos proximales, distales y asa de Henle. Por su parte, el metotrexato genera lesión renal mediante la formación de cristales insolubles de metotrexato y 7-hidroxi metotrexato; los cuales se precipitan al interior de los túbulos renales. La interleucina-2 ha sido descrita como agente causante de azotemia prerenal, debido a que propicia el síndrome de fuga capilar. De igual manera han sido descritos otros agentes oncológicos con diversos espectros de nefrotoxicidad, tales como los bifosfonatos y agentes antiangiogénicos entre otros.³³

2.3.3 – ANALGÉSICOS

Los antiinflamatorios no esteroideos (AINES) han sido estudiados en numerosas ocasiones por sus ya conocidos efectos renales; los cuales usualmente pueden ser clínicamente evidentes en los pacientes que presentan factores de riesgo y comorbilidades. En general los AINES de todas las clases disminuyen la producción de prostaglandinas renales, lo cual conlleva a una reducción de la TFG, así como excreción anormal de sodio, potasio, agua e hidrógeno. También se ha documentado que este tipo de medicamentos podrían producir eventualmente una NIA.³³

2.3.4 – AGENTES INMUNOSUPRESORES

Actualmente se tiene conocimiento que ciertos inmunosupresores como los inhibidores de la calcineurina, en concreto la ciclosporina y el tacrolimus, producen isquemia y lesión renal directa conocida como toxicidad por calcineurina. Adicionalmente se ha visto que el sirolimus es capaz de inducir lesión directa al glomérulo, produciendo una Glomeruloesclerosis Focal y Segmentaria (GEFS).³³

2.3.5 – OTROS MEDICAMENTOS NEFROTÓXICOS

Dentro de este grupo pueden ser incluidos diversos tipos de medicamentos, los cuales de forma individual han sido identificados por sus variables efectos tóxicos a nivel renal. Tal es el caso de los inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina (IECA) y de los antagonistas de receptores de angiotensina II (ARA-II) los cuales pueden provocar lesión renal de origen hemodinámico en todos aquellos pacientes con factores de riesgo que mantienen una función renal alterada. Existe evidencia que sugiere que el Orlistat, un medicamento recientemente introducido para el tratamiento de la obesidad; posee capacidad suficiente para generar nefropatía, al inducir hiperoxaluria entérica, la cual a su vez, está asociada a la formación de depósitos de oxalato cálcico a nivel de los

túbulos renales. En el caso del Topiramato y la Zonisamida, se ha evidenciado una mayor incidencia de casos de acidosis tubular renal tipo II con la formación de cálculos de fosfato cálcico. Inclusive medicamentos de uso más frecuente como los inhibidores de la bomba de protones, han sido asociados con el apareamiento eventual de una NIA y menos comúnmente, a desequilibrios electrolíticos como hiponatremia e hipomagnesemia.³³ De hecho, y debido a su uso diseminado a nivel mundial, los inhibidores de la bomba de protones se han convertido actualmente en la principal causa de NIA inducida por medicamentos.³⁴

Cuadro 5. Agentes nefrotóxicos más comunes.			
Agentes Terapéuticos	Agentes Diagnósticos	Agentes Alternativos	Toxinas Exógenas
<p>Antimicrobianos:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Aminoglicósidos • Antivirales • Anfotericina B • Sulfadiazina • Ciprofloxacina <p>Quimioterapéuticos:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Platinos • Ifosfamida • Mitomicina • Gemcitabina • Metotrexato • Pentostatina • Interleucina- 2 • Agentes antiangiogénesis <p>Analgésicos:</p> <ul style="list-style-type: none"> • AINES • Inhibidores COX- 2 • Fenacetina • Combinaciones <p>Otros:</p> <ul style="list-style-type: none"> • IECA/ ARA- II • Metoxiflorano • Manitol, Sacarosa • Zolendronato • Pamidronato • Topiramato • Zonisamida • Orlistat • Estatinas • Mesalamina • IBP 	<p>Material de Contraste:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Osmolaridad alta • Osmolaridad media • Osmolaridad baja <p>Otros Agentes:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Gadolinio (altas dosis) • Solución oral de fosfato de sodio (NAP) 	<p>Hierbas:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Ephedra sp. • Glycyrrhiz sp. • Datura sp. • Taxus ceibaica • Uno degatta • Cape aloes <p>Adulterantes:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Acido mefenámico • Dicromato • Cadmio • Fenilbutazona • Melamina 	<p>Metales Pesados:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Hierro • Mercurio • Cadmio • Uranio • Cobre • Bismuto <p>Solventes:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Hidrocarburos <p>Otras Toxinas:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Silicón • Germanio

Cuadro 5. Tomado y Modificado de: Perazella MA. Renal vulnerability to drug toxicity. Clin J Am Soc Nephrol. 2009;4(7):1275-1283

2.4 - NEFROTOXICIDAD POR AMINOGLICÓSIDOS

2.4.1 - HISTORIA DE LOS AMINOGLICÓSIDOS

Los aminoglicósidos son productos naturales o semisintéticos derivados de los compuestos de una variedad de sustancias producidas por especies bacterianas de *Streptomyces* y *Micromonosporas* descubiertos en 1940.^{34,35}

A este grupo de antimicrobianos pertenecen medicamentos tales como la gentamicina, amikacina, tobramicina, kanamicina, estreptomicina y neomicina. Estos medicamentos han sido primordialmente utilizados para el tratamiento de infecciones causadas por microorganismos aeróbicos gram-negativos, realizando su función como bactericidas, dado que el sitio primario de acción de dichos medicamentos lo constituye la subunidad 30S del ribosoma, lo cual permite la inhibición irreversible de la síntesis de proteínas.^{36,37}

En 1943 Waksman y cols. después de examinar de forma sistemática una gran cantidad de actinomicetos provenientes del suelo, descubrieron que el *Streptomyces griseus* elaboraba una sustancia con potencia antimicrobiana; la estreptomicina, la cual actualmente es un importante agente utilizado en el tratamiento de la tuberculosis. Es de esta manera como se da inicio a la investigación de un complejo grupo de antibióticos que tienen gran difusión en la actualidad.^{36,37}

Posteriormente se amplía el margen de la investigación en el campo de la antibioticoterapia, dando lugar al descubrimiento de nuevos antibióticos con parecida configuración estructural. A la estreptomicina le seguirá la neomicina (1949), kanamicina (1957) y gentamicina (1963).³⁸

El interés por este grupo de medicamentos se debe principalmente a que muchos de los miembros de esta familia de antimicrobianos poseen actividad antipseudomónica; característica que los sitúa en una posición ventajosa en comparación con otros tipos de antibióticos ante los cuales dicha bacteria ha desarrollado resistencia. De la misma manera, la resistencia de ciertos microorganismos a los aminoglicósidos se debe en gran medida a su capacidad para degradar enzimáticamente la estructura del antibiótico; motivo por el cual ha sido necesario cada vez más realizar esfuerzos para modificar las propiedades químicas de la molécula, con el fin de evitar su degradación por los mecanismos de resistencia anteriormente mencionados.³⁸

Como consecuencia de las continuas modificaciones químicas de las moléculas de aminoglicósidos, con el consecuente cambio en sus espectros de acción, algunos autores han establecido una clasificación basada en las diferentes generaciones de los aminoglicósidos, la cual puede ser dividida en tres grupos:

- **Primera Generación:** Compuesta por estreptomycin, neomicina y kanamicina, cuya utilización se ha visto disminuida considerablemente en los últimos años debido a su limitado espectro y creciente resistencia bacteriana. Estos medicamentos fueron antibióticos de primer escoge ante microorganismos gram-negativos hasta los años 70, aunque en la actualidad, la estreptomycin sigue siendo utilizada contra el tratamiento de la tuberculosis.^{36,38}
- **Segunda Generación:** Incluye a la gentamicina y la tobramicina, ambas con un mayor espectro de actividad, lo cual los convierte en antimicrobianos eficaces contra la mayoría de cepas resistentes a la kanamicina.
- **Tercera Generación:** Agrupa los compuestos semisintéticos obtenidos por modificación química de las moléculas previas; entre estas se mencionan la dibecacina, amikacina, y netilmicina.³⁸

2.4.2 - PROPIEDADES FARMACOLÓGICAS

La estructura química de los aminoglicósidos se compone de amino azúcares unidos por enlaces glucosídicos a un alcohol cíclico hexagonal con grupos amino (aminociclitol).³⁹ Se consideran como policationes, y es su polaridad la responsable de las propiedades farmacocinéticas compartidas por cada miembro de este grupo, siendo estos hidrosolubles, estables en solución y más activos en un pH alcalino que ácido.^{36,39}

Como se mencionó anteriormente, los aminoglicósidos son inhibidores irreversibles de la síntesis de proteínas, aunque el mecanismo de actividad bactericida no es del todo bien conocido, actualmente se sabe que su actividad es concentración- dependiente.^{36,39} El proceso se inicia por medio de una difusión pasiva mediante los canales de porinas a través de la membrana; el fármaco es transportado activamente hasta el citoplasma por un proceso dependiente de oxígeno. El gradiente electroquímico transmembrana es el proveedor de energía para este proceso, y transporta en conjunto con una bomba de protones. El bajo pH extracelular, así como las condiciones anaerobias inhiben el transporte por medio de la disminución del gradiente. A esta etapa también se le conoce como *Fase dependiente de energía I*.³⁶

La *Fase dependiente de energía II* se lleva a cabo al interior de la célula, en donde la molécula de aminoglicósidos se une específicamente a la subunidad ribosomal 30S, inhibiendo la síntesis de proteínas por medio de tres vías diferentes:

1. Interferencia con el inicio de la formación del complejo peptídico
2. Alteración de la lectura del RNA mensajero (mRNA), ocasionando la incorporación incorrecta de aminoácidos en el péptido, dando origen a proteínas tóxicas o no funcionales.
3. Ruptura de los polisomas convirtiéndolos a monosomas no funcionales.

Todas estas actividades se llevan a cabo simultáneamente, ocasionando daños irreversibles a la célula.^{36,39}

Al tener un mayor conocimiento sobre los mecanismos de entrada de los aminoglicósidos al interior de la célula, es posible deducir los mecanismos por medio de los cuales los microorganismos presentan resistencia a estos compuestos. Se han establecido tres mecanismos principales por medio de los cuales se puede generar resistencia a los aminoglicósidos, tales como la inactivación del fármaco por medio de la producción de enzimas transferasas ya sea por adenilación, acetilación o fosforilación; considerando a este último, como el mecanismo más común. Asimismo se han descrito la incapacidad del antibiótico para penetrar a la membrana intracelular y la baja afinidad de la molécula al ribosoma por alteración o ausencia de la proteína del receptor en la subunidad ribosomal 30S.^{36,39}

Un porcentaje significativo de las cepas de *Enterococcus faecalis* y *E. faecium* son altamente resistentes a todos los aminoglicósidos. Las infecciones causadas por estas cepas resistentes pueden ser de muy difícil tratamiento al perderse la actividad bactericida sinérgica con otros medicamentos tales como la penicilina o la vancomicina; teniendo además en consideración que puede existir resistencia cruzada ante estos fármacos. Es así como microorganismos resistentes a la gentamicina podrían presentar simultáneamente resistencia cruzada a otros aminoglicósidos tales como tobramicina, amikacina, kanamicina y netilmicina.³⁶

2.4.2.1 - Propiedades farmacocinéticas y farmacodinámicas

Los aminoglicósidos no son absorbibles en el tracto gastrointestinal. Menos del 1% de la dosis es absorbida por vía oral o rectal, por lo que se elimina casi en su totalidad a través de las heces. La absorción de estos medicamentos, especialmente la gentamicina, puede verse aumentada en presencia de lesiones gastrointestinales tales como úlceras o enfermedad de colon irritable.^{36,39}

Es por esta razón que tradicionalmente se prefiere su administración por vía parenteral, ya que son absorbidos rápidamente de los sitios de inyección intramuscular, logrando concentraciones pico en plasma después de unos 30 a 90 minutos. Una situación similar ocurre con las concentraciones obtenidas aproximadamente 30 minutos posteriores a la administración de dichos medicamentos por vía intravenosa, mecanismo que únicamente puede verse afectado en los estados de shock, en donde la absorción intramuscular se ve disminuida como consecuencia de una pobre perfusión. Por otro lado, se ha demostrado que la administración directa de estos fármacos en cavidad pleural y peritoneal puede resultar en una rápida absorción con la consecuente aparición de toxicidad inesperada o bloqueo neuromuscular.^{36,40}

Debido a su baja afinidad a las proteínas y alta solubilidad, los aminoglicósidos se distribuyen libremente en el espacio vascular; sin embargo, su polaridad los convierte en sustancias incapaces de penetrar las membranas biológicas, como es el caso del sistema nervioso central y el sistema ocular, a excepción de las células tubulares renales y las que conforman el oído interno, habiéndose demostrado que poseen una cinética de captación del fármaco que es saturable. El volumen de distribución de los aminoglicósidos es del 25% del peso corporal total, y se ha demostrado que una hora posterior a su administración, se puede observar una concentración urinaria de hasta 25 a 100 veces mayor que en plasma, manteniéndose así durante varios días.^{36,40} Por otro lado, existe evidencia que sugiere que la concentración de los aminoglicósidos en secreciones y tejidos es baja, en comparación con otros sitios corporales tales como la corteza renal, la endolinfa y perilinfa del oído interno en donde se encuentran a concentraciones considerablemente altas, lo cual contribuye al desarrollo de los efectos ototóxicos y nefrotóxicos característicos de estos fármacos.³⁶

Usualmente, la administración de los aminoglicósidos ha sido distribuida en tres dosis iguales al día; sin embargo, actualmente se prefiere la administración en esquema de dosis única, puesto que además de lograr una considerable reducción en el riesgo de toxicidad, se ha comprobado que su efectividad es igual o mayor al régimen de dosis múltiples. Adicionalmente, diversos estudios clínicos han demostrado que el efecto bactericida de los aminoglicósidos es dependiente de la dosis; motivo por el cual se infiere que una mayor concentración del antibiótico es capaz de eliminar una mayor cantidad de bacterias de forma más rápida y eficaz. Finalmente se ha sugerido que el efecto post-antibiótico de dichos medicamentos puede persistir durante varias horas, de tal manera que a mayor dosis administrada, mayor efecto postantibiótico.^{39,40} A pesar de que la administración en esquema de dosis única conlleva numerosos beneficios, deberá realizarse siempre un monitoreo continuo y un ajuste de dosis con el propósito de prevenir el desarrollo de toxicidad.

La excreción de los aminoglicósidos es llevada a cabo por medio de filtración glomerular sin alteración metabólica previa, ya que más del 90% del total de la dosis administrada se excreta en orina durante las primeras 24 hrs; mientras que el 10% restante es reabsorbido y puede detectarse en orina inclusive a los 20 días posterior a su administración.⁴⁰

2.4.3 - USOS TERAPÉUTICOS

Las infecciones por gram-negativos representan un creciente reto para los médicos en las UCI, pues existen en este escenario limitadas opciones para la elección del antimicrobiano apropiado debido a que existe un aumento progresivo de infecciones originadas por gram-negativos multidrogoresistentes, como en el caso de *Pseudomona aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii* y *Klebsiella pneumoniae* productor de *betalactamasas*. Adicionalmente, cerca del 10% de los pacientes ingresados presentan algún tipo de alergia a las penicilinas, limitando

mucho más las opciones terapéuticas. Es entonces como consecuencia de las situaciones expuestas previamente, que los aminoglicósidos continúan desempeñando un rol fundamental entre los antimicrobianos de escoge al interior de muchas UCI.⁴

De acuerdo a lo descrito previamente, la actividad bactericida de los aminoglicósidos está dirigida a bacilos gram-negativos aerobios tales como *Enterobacteriaceae* y bacilos no fermentadores como *Pseudomonas aeruginosa* y *Acinetobacter spp.* Su acción contra microorganismos anaerobios y gram-positivos es muy limitada, por lo que no suelen utilizarse como agentes únicos para tratar enfermedades causadas por este tipo de bacterias. Se ha demostrado que la combinación con antibióticos que actúan sobre la pared bacteriana tales como la penicilina, cefalosporinas, monobactam y carbapenems produce un efecto sinérgico logrando incrementar el espectro de actividad antimicrobiana ante microorganismos como *Enterococcus faecalis*, *Streptococcus pyogenes*, *Staphylococcus aureus*, *S. epidermidis*, entre otros. Por otro lado, estos antimicrobianos carecen de actividad contra bacterias tales como neumococos, *Stenotrophomonas maltophilia*, bacterias anaerobias y rickettsias.^{36,40}

Pese a la introducción en los últimos años de nuevos antimicrobianos con mayor potencia y menor toxicidad, los aminoglicósidos continúan siendo el tratamiento de elección para el manejo de diversas patologías dado su rápida actividad bactericida, baja tasa de resistencia y bajo costo.^{36,37} Su indicación más frecuente bajo esquemas monoterapéuticos es en los casos de pielonefritis aguda, siendo también utilizados en combinación con betalactámicos para obtener un efecto sinérgico contra infecciones graves causadas por bacilos gramnegativos; especialmente aquellas causadas por *P. aeruginosa*, *Enterobacter*, *Klebsiella* y *Serratia*, y otras especies resistentes a otros antibióticos, como en infecciones del tracto urinario, bacteremia, quemaduras infectadas, osteomielitis, neumonía, peritonitis y otitis entre otras.^{36,40} (Cuadro 6)

Cuadro 6. Usos clínicos de los aminoglicósidos	
Profilaxis Quirúrgica: dosis única	
Agente: gentamicina sola o en combinación	
Procedimientos:	
<ul style="list-style-type: none"> • Cirugía urológica • Cirugía abdominal (a excepción de reparación de hernia) • Cirugía vascular • Cirugía cardíaca. 	
Terapia Empírica: duración de terapia < 48 hrs.	
Agente: gentamicina en combinación con otros antimicrobianos	
Infecciones quirúrgicas e intraabdominales:	
<ul style="list-style-type: none"> • Colangitis • Colecistitis aguda • Diverticulitis • Viscera perforada • Infección del sitio operatorio 	

Infecciones genitourinarias:

- Pielonefritis
- Epidídimo-orquitis
- Enfermedad inflamatoria pélvica (No adquirida sexualmente)

Infecciones del tracto respiratorio:

- Neumonía adquirida en la comunidad
- Neumonía nosocomial

Endocarditis infecciosa**Endoftalmitis****Infecciones del Sistema Nerviosos Central:**

- Absceso epidural

Sepsis:

- Relacionado con catéter intravascular
- Sospecha de bacteremia por gram-negativos o adulto con SEPSIS de causa desconocida
- Niños menores de 4 meses de edad con causa desconocida
- Neutropenia febril

Etiología Conocida: duración prolongada
Agente: usualmente utilizados en combinación

Gentamicina:

- Brucelosis
- Endocarditis infecciosa
- Bacteremia por organismo entérico
- Infección por *Pseudomonas aeruginosa*
- Listeria severa
- Tularemia

Tobramicina:

- Infección por *Pseudomonas aeruginosa* en fibrosis quística

Amikacina:

- Infecciones por organismos gram-negativos altamente resistentes
- Infección del sistema nervioso central por *Nocardia Spp*
- Infecciones por Mycobacterias resistentes como *M. Tuberculosis*, *M. abscessus*, *M. avium*

Cuadro 6. Tomado y modificado de Avent M, Rogers B, Cheng A, Paterson D. Current use of aminoglycosides; indications, pharmacokinetics and monitoring for toxicity. Intern Med J. 2011.

2.4.4 - EFECTOS ADVERSOS MÁS COMUNES

En general los aminoglicósidos son muy bien tolerados al ser administrados por vía intravenosa e intramuscular y no suelen provocar reacción inflamatoria local. Sin embargo, los antibióticos de este grupo son considerados potenciales causantes de nefrotoxicidad, ototoxicidad, y en muy raras ocasiones bloqueo neuromuscular.⁴⁰ Todos los miembros del grupo comparten el mismo espectro de toxicidad, sin embargo, se ha descrito que la netilmicina, kanamicina y amikacina son más ototóxicas en comparación con la tobramicina, neomicina y gentamicina, las cuales por su parte han sido identificadas con un mayor potencial nefrotóxico.^{38,39}

Es necesario tener en consideración los diversos factores que pueden modificar y favorecer al desarrollo de toxicidad por estos agentes, tales como las enfermedades preexistentes de cada paciente, la severidad de la enfermedad, la administración concomitante de otros medicamentos y la predisposición genética.³⁷ Por otro lado, la toxicidad inducida por aminoglicósidos es dosis y tiempo dependiente, por lo que el desarrollo de la toxicidad es más probable al sobrepasar cierto umbral de concentración, el cual se estima que ocurre a una concentración mayor a los 2mcg/ml.³⁹ En el caso concreto de la nefrotoxicidad, se ha evidenciado que, pese al monitoreo riguroso de los pacientes, ésta se presenta en 10-25% de los casos.^{11,12}

Aproximadamente, del 8% al 26% de los pacientes que son tratados con aminoglicósidos durante varios días, desarrollan una mayor propensión a presentar LRA, la cual en la mayoría de las veces es completamente reversible al discontinuar el tratamiento, pues las células tubulares proximales tienen la capacidad de regenerarse. Esta toxicidad resulta de la acumulación del aminoglicósido en las células tubulares proximales, el cual se acumula posteriormente entre los lisosomas de las células epiteliales alterando su función.³⁹

La presentación típica de la nefrotoxicidad inducida por aminoglicósidos es una disfunción de la excreción renal no oligúrica o incluso en ciertos casos poliúrica, acompañada de un incremento en la creatinina y urea plasmática, y de otros productos metabólicos, así como de una proteinuria, enzimuria, aminoaciduria, glicosuria y alteraciones electrolíticas (hipercalcemia, hipermagnesemia, hipocalcemia e hipomagnesemia).¹¹ Estas manifestaciones usualmente se han observado posterior a los 7 días de tratamiento con aminoglicósidos.^{4,39}

Todas las alteraciones anteriormente descritas eran atribuidas en gran medida al fenómeno conocido como NTA inducida por la acumulación de los aminoglicósidos en los túbulos renales proximales.^{11,12} Sin embargo, se ha visto que los aminoglicósidos ejercen efectos deletéreos en todos los componentes de la nefrona y no solo a nivel de los túbulos proximales renales.

La nefrotoxicidad inducida por aminoglicósidos se correlaciona con el total de medicamento administrado; por lo tanto, es más probable desarrollar toxicidad en una terapia prolongada y por infusión continua, en comparación a la administración intermitente de una sola dosis diaria, puesto que elevadas concentraciones en niveles plasmáticos están correlacionadas con mayor toxicidad en seres humanos.³⁹

La ototoxicidad inducida por aminoglicósidos puede conllevar a la pérdida permanente de la capacidad auditiva y disfunción vestibular, que como se menciona con anterioridad, es un efecto dosis dependiente y directamente proporcional al tiempo de exposición al fármaco. Por otro lado, se considera que su desarrollo es independiente de la nefrotoxicidad.^{4,38} La pérdida permanente de la audición se debe a la destrucción de las células ciliadas externas del órgano de

Corti y a las neuronas de la cóclea, las cuales no se regeneran. La disfunción vestibular se origina como consecuencia de las lesiones causadas en las células ciliadas de la cúpula de las crestas ampulares radicadas en los conductos semicirculares, siendo ambas lesiones irreversibles.^{4,40}

Se estima que los rangos de toxicidad coclear y vestibular varían entre 0% a 62% y 0% a 19% respectivamente.⁴ Por otro lado, es posible que la ototoxicidad esté presente sin que el paciente se dé cuenta, usualmente ocurre al final del tratamiento, lo que dificulta en gran medida su monitorización en pacientes graves, por lo tanto puede ser subdiagnosticada.

Otro de los efectos adversos de la administración de aminoglicósidos que ocurre de manera no muy frecuente, pero que suele ser grave y en ocasiones hasta fatal es el bloqueo neuromuscular, el cual se desarrolla usualmente posterior a la irrigación peritoneal con solución de neomicina, aunque también se han reportado casos posterior a la administración intravenosa.⁴ Entre sus manifestaciones clínicas se encuentra la apnea por debilidad de los músculos respiratorios, parálisis flácida y midriasis.⁴⁰ La parálisis puede ser reversible con gluconato de calcio.^{39,40}

2.4.5 - FISIOPATOLOGÍA DE LA NEFROTOXICIDAD INDUCIDA POR AMINOGLICÓSIDOS

2.4.5.1 - Efectos tubulares

La toxicidad tubular de la gentamicina comprende la muerte de las células epiteliales tubulares principalmente en el segmento proximal acompañado de una respuesta inflamatoria importante y de una alteración funcional no letal de los componentes celulares clave involucrados en el transporte del agua y solutos.³⁸

La citotoxicidad tubular de los aminoglicósidos es un punto clave de la nefrotoxicidad inducida por estos antibióticos. Se ha observado que el tratamiento de animales experimentales con gentamicina resulta en apoptosis y necrosis de las células epiteliales tubulares.^{40,41} Esto se debe a la acumulación de dicho antibiótico en las células epiteliales de la corteza renal, primordialmente de los túbulos proximales. En dicho sitio, la molécula de gentamicina se une a un complejo formado por unas proteínas llamadas megalina y cubilina, siendo transportado por endocitosis al interior de la célula donde se moviliza a través del compartimiento endoplasmático y se acumula principalmente en los lisosomas, retículo endoplasmático y aparato de Golgi.^{38,40,41} Posteriormente la gentamicina se une a los fosfolípidos de membrana alterando su metabolismo y, causando un estado conocido como Fosfolipidosis.^{38,40}

Esto provoca una desestabilización de la membrana lisosomal y una agregación de los lisosomas resultando en la muerte celular, así como la formación de

estructuras multilaminares llamadas cuerpos mieloides.⁴⁰ En el retículo endoplasmático, la gentamicina inhibe la síntesis de proteínas, fomenta los errores de transcripción y puede interferir en el correcto doblamiento postranscripción de las proteínas, provocando estrés y activando la respuesta de proteínas desdobladas, la cual al ser estimulada continuamente provoca apoptosis por medio de la caspasa 12 y calpainas. Una vez activadas, estas enzimas promueven la activación proteolítica de caspasas ejecutoras y desencadena la vía mitocondrial de apoptosis. Además cuando la concentración de aminoglicósidos en las estructuras endosomales excede un nivel aun desconocido, sus membranas se rompen y tanto su contenido como el antibiótico se vierten en el citosol, donde la gentamicina actúa sobre las mitocondrias activando la vía intrínseca de la apoptosis, interrumpiendo la cadena respiratoria, impidiendo la producción de ATP y produciendo estrés oxidativo al incrementar los radicales libres superóxido e hidroxilo. También la muerte celular por medio del mecanismo de apoptosis se debe a las catepsinas, proteasas lisosomales, que activan las caspasas ejecutoras y a la proteína Bid que estimula la vía intrínseca.^{38,40} La gentamicina liberada de los lisosomas quela el hierro mitocondrial formando un complejo Gentamicina-Fe(II) muy oxidativo capaz de causar la muerte celular.⁸ Finalmente, la activación del receptor extracelular sensible al calcio (CaSR) con la gentamicina y otros aminoglicósidos induce un nivel leve de apoptosis en las células tubulares renales que lo poseen.^{38,40,41} (Figura 15)

En una serie de experimentos realizados se ha demostrado que la gentamicina independientemente de la injuria celular inhibe una variedad de transportadores de membrana a nivel del borde de cepillo celular y de la membrana basolateral, entre los cuales se mencionan el cotransportador Na-Pi, el intercambiador Na-H, transportador de dipéptidos y la adenosina trifosfatasa Na-K (Na-K ATPasa) que conlleva a la ausencia de ATP celular y finalmente contribuye al proceso de necrosis celular.^{8,38,40} Esta última es un componente clave de la homeostasia del volumen celular, y su desregulación puede conllevar a necrosis o apoptosis. Además la Gentamicina compite con otras moléculas para unirse al complejo Megalina-Cubilina, lo cual impide la reabsorción de proteínas, cationes orgánicos y otras moléculas a nivel del túbulo proximal.³⁸

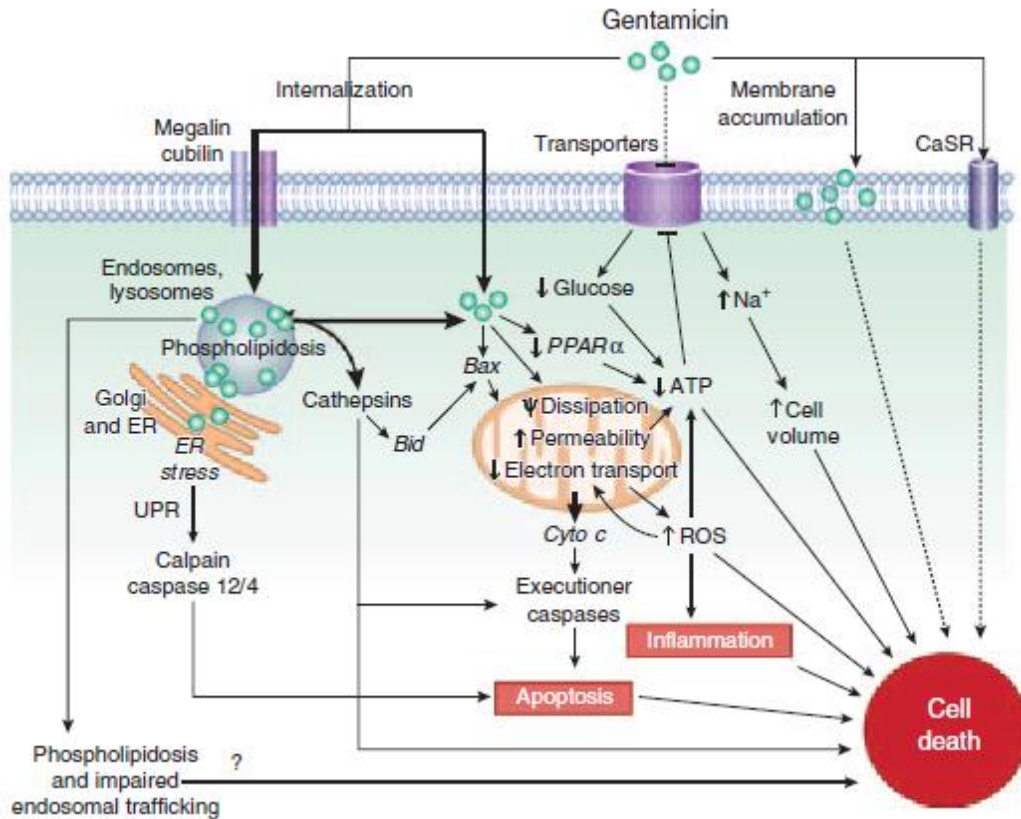


Figura 15. Mecanismos celulares de la citotoxicidad inducida por Gentamicina. (Tomado de López-Nova JM, Quiros Y, Vicente L, Morales AI, López-Hernández FJ. *New insights into the mechanism of aminoglycoside nephrotoxicity: an integrative point of view.* *Kidney Int.* 2011;79(1):33-45.)

Adicionalmente, los detritos celulares que se vierten en el lumen tubular obstruyen parcial o totalmente los túbulos renales, lo cual reduce o impide la función excretora de la nefrona afectada. Adicionalmente, el aumento de la presión hidrostática en el interior del túbulo y de la cápsula de Bowman, reduce la presión del gradiente de filtración y por lo tanto la tasa de filtración glomerular. Este aumento de la presión intratubular provoca a su vez un incremento en la fuga del ultrafiltrado hacia el espacio intersticial y capilares peritubulares, disminuyendo la excreción de los productos filtrados. Sin embargo, en casos donde la obstrucción tubular es leve o inexistente la acumulación de productos tales como la creatinina continúa, implicando una disminución en la TFG. Esto se debe a que el daño tubular que provoca una disfunción en la reabsorción conlleva a la acumulación de agua y electrolitos en la parte distal de la nefrona, activando así el mecanismo de retroalimentación tubuloglomerular por medio de la angiotensina-II y de los efectos mediados por las arteriolas aferentes y eferentes.³⁸

2.4.5.2 - Efectos glomerulares

La gentamicina posee efectos a nivel del glomérulo renal que alteran la filtración por medio de:

- La contracción mesangial que resulta en la disminución del coeficiente de ultrafiltración (K_f) y la TFG.
- La estimulación de la proliferación celular mesangial en paralelo con el incremento en la apoptosis de estas mismas.
- Leve aumento en el tamaño, alteración de la forma redondeada y de la densidad así como edematización difusa de la barrera de filtración asociada con infiltración por neutrófilos a dosis terapéuticas altas.
- Pérdida de la selectividad de la barrera de filtración glomerular que contribuye a la proteinuria sobre todo al impedirse la reabsorción tubular.³⁸

Además se ha visto que la gentamicina reduce el número y el tamaño de los poros de las fenestras glomerulares endoteliales y provoca una contracción de las células mesangiales a través de un incremento en la concentración intracelular de calcio mediado por una serie de efectos inducidos por la gentamicina tales como un incremento en la producción de radicales libres de oxígeno (ROS), estimulación del CaSR, producción de vasoconstrictores como el tromboxano A2 y endotelina-1, activación del sistema renina-angiotensina (RAS), secreción y acción autocrina del factor activador de plaquetas (PAF). También se ha demostrado que la apoptosis de las células mesangiales es mediada por el incremento de ROS y probablemente por la sobreproducción de óxido nítrico (ON). Esta excesiva producción de ON debido a la expresión de sintetasa de óxido nítrico inducida por gentamicina causa estrés nitrosativo (síntesis excesiva de óxido nítrico) y efectos citotóxicos al interactuar con aniones de superóxido y formar el peroxidonitrito.^{38,41} (Figura 16)

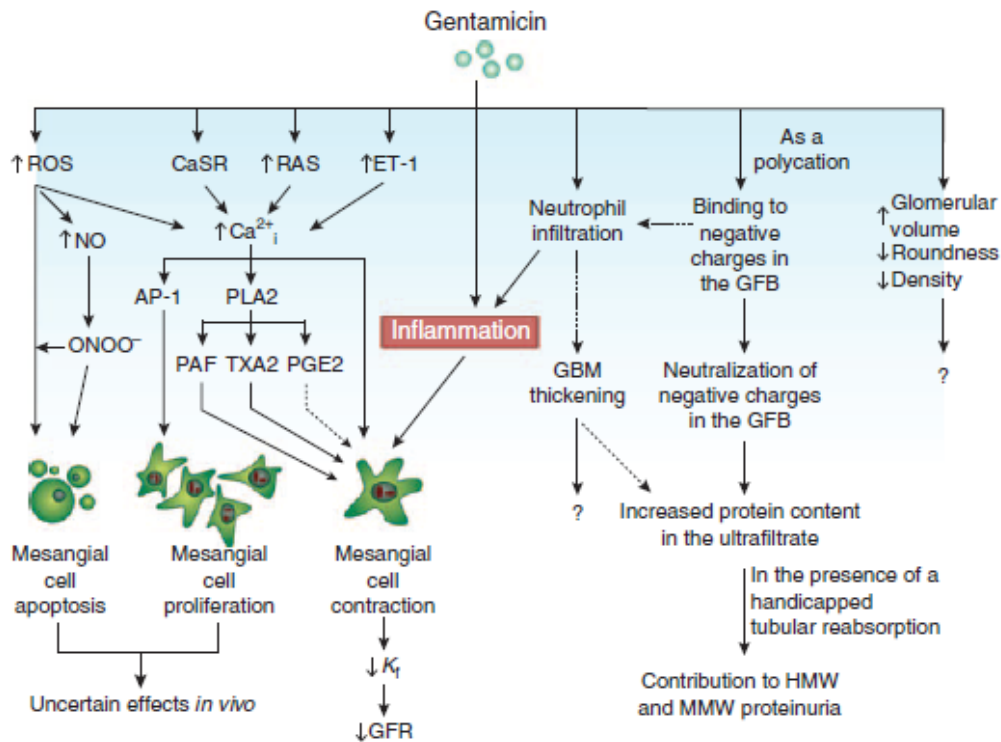


Figura 16. Efectos glomerulares inducidos por la Gentamicina. (Tomado de López-Novoa JM, Quiros Y, Vicente L, Morales AI, López-Hernández FJ. *New insights into the mechanism of aminoglycoside nephrotoxicity: an integrative point of view.* *Kidney Int.* 2011;79(1):33-45.)

2.4.5.3 - Efectos vasculares

La gentamicina induce una reducción en el flujo sanguíneo renal como consecuencia de un incremento en la resistencia del lecho vascular renal. Un flujo sanguíneo renal menor causa la caída de la TFG, y sensibiliza las células tubulares a la muerte celular por medio de la reducción del oxígeno y de la disponibilidad del ATP. La reducción del flujo sanguíneo renal sucede inicialmente debido a la activación de la retroalimentación tubuloglomerular, como consecuencia de una deficiente reabsorción tubular con el fin de prevenir una pérdida masiva de fluidos y electrolitos y, a una adaptación de la retroalimentación tubuloglomerular, la cual se ve sobrepasada por la vasoconstricción del árbol vascular renal y del compartimiento mesangial. Esta vasoconstricción se debe como se explicó previamente al incremento de la producción de sustancias vasoconstrictoras inducidas por el tratamiento con gentamicina, tales como la endotelina-1, PAF y tromboxano A2, y al hecho que este antibiótico bloquea la síntesis de prostaglandinas vasodilatadoras.^{38,41}

La síntesis endotelial de ON a bajos niveles provoca una vasodilatación fisiológica, mientras que un exceso de ON debido a la sobreexpresión de la sintetasa de oxido nítrico, puede causar por otro lado, efectos citotóxicos. Además el ON interactúa con el anión superóxido para formar peroxinitrito, el cual causa daño

proteico y celular.^{38,40} Finalmente, se ha especulado que la marginación de los leucocitos conlleva al desarrollo de tapones vasculares, congestión e isquemia.³⁸ (Figura 17)

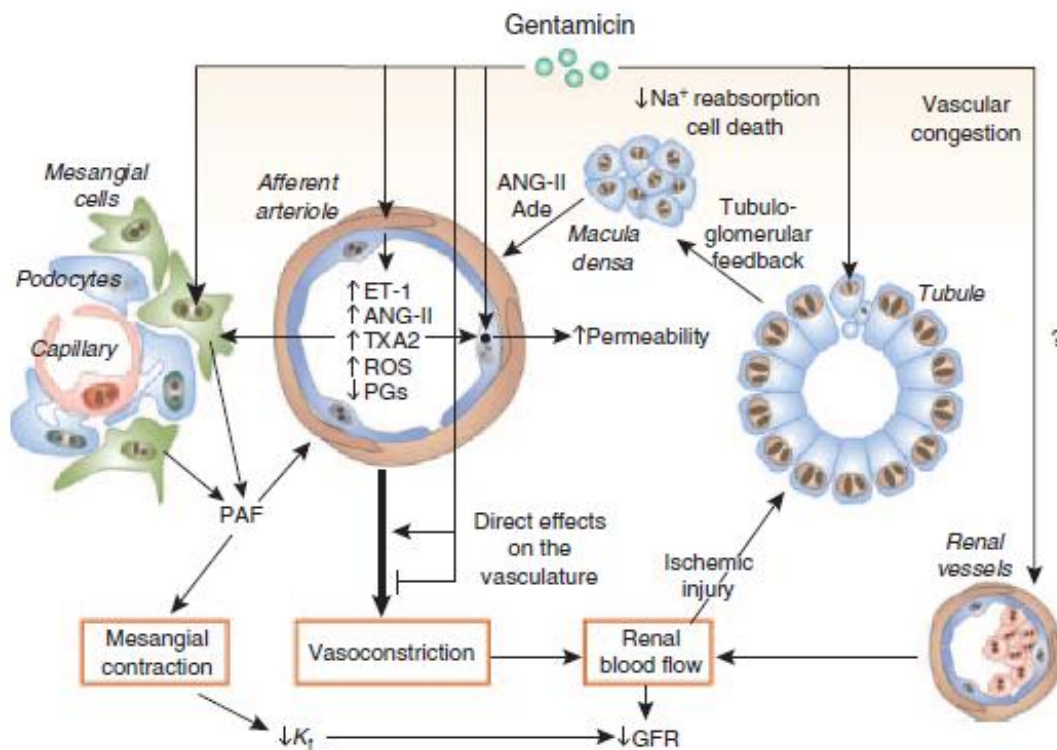


Figura 17. Efectos vasculares inducidos por la Gentamicina. (Tomado de López-Novoa JM, Quiros Y, Vicente L, Morales AI, López-Hernández FJ. *New insights into the mechanism of aminoglycoside nephrotoxicity: an integrative point of view.* *Kidney Int.* 2011;79(1):33-45.)

2.4.5.4 - Estrés oxidativo e inflamación

Se ha sugerido que el estrés oxidativo juega un rol importante en la nefrotoxicidad inducida por gentamicina al crear un círculo vicioso de amplificación del daño, conectando los tres mecanismos anteriormente descritos.³⁸

La gentamicina incrementa directamente la producción mitocondrial de ROS, los cuales son potencialmente capaces de:

- Inhibir la cadena transportadora de electrones, suprimir la respiración celular y producción de ATP.
- Estimular la liberación del citocromo c y factor inductor de apoptosis desde el espacio intermembranoso mitocondrial.
- Causar daño a nivel de los ácidos nucleicos que desencadena un incremento en la actividad de la poli ADP ribosa sintetasa con el consiguiente decremento de la reserva celular de ATP y arresto del ciclo celular.

- Propiciar peroxidación lipídica, desestabilización de las membranas celulares y activación de receptores de muerte celular tales como el receptor Fas (FasR).
- Generar estrés a nivel de diferentes organelos y estructuras celulares tales como el retículo endoplasmático.
- Impedir el flujo transmembranal de sodio al inhibir la bomba Na-K ATPasa y de los canales de sodio, lo cual genera edema celular, pérdida de la integridad de las membranas y necrosis.⁴⁰

Un incremento o un desbalance en la producción de los ROS y el estrés oxidativo median la respuesta inflamatoria desencadenada por la gentamicina. El anión superóxido y el peróxido de hidrógeno activan el factor nuclear kB (NBkB), un mediador clave de varias vías inflamatorias, al inducir la expresión de citoquinas proinflamatorias y de la sintetasa de óxido nítrico. Esta enzima endotelial, al sintetizar ON en exceso puede causar efectos citotóxicos al reaccionar con el anión superóxido y producir peroxinitrito, un radical altamente reactivo que contribuye al daño celular y reduce la relajación vascular.^{38,40}

Además los ROS contribuyen a la constricción mensangial y vascular y participan en la inflamación. Los detritos tisulares y los contenidos celulares vertidos al espacio extracelular desencadenan la inflamación, y una inflamación exagerada contribuye a magnificar el daño, que a su vez exacerba la respuesta inflamatoria. La inflamación activa también a las células mesangiales, podocitos, células epiteliales, células endoteliales y leucocitos; los cuales producen citoquinas y factores de crecimiento que contribuyen al proceso fisiopatológico incluyendo la amplificación del daño tubular.^{38,41} (Figura 18)

Clásicamente, la nefrotoxicidad por gentamicina ha sido considerada como una tubulopatía en la cual el daño tubular y la disfunción tubular son la causa principal de la insuficiencia renal. Sin embargo, como se ha explicado en las tres secciones anteriores la gentamicina tiene efectos tanto en los túbulos como en el glomérulo y la vasculatura renal.⁴¹ (Figura 19)

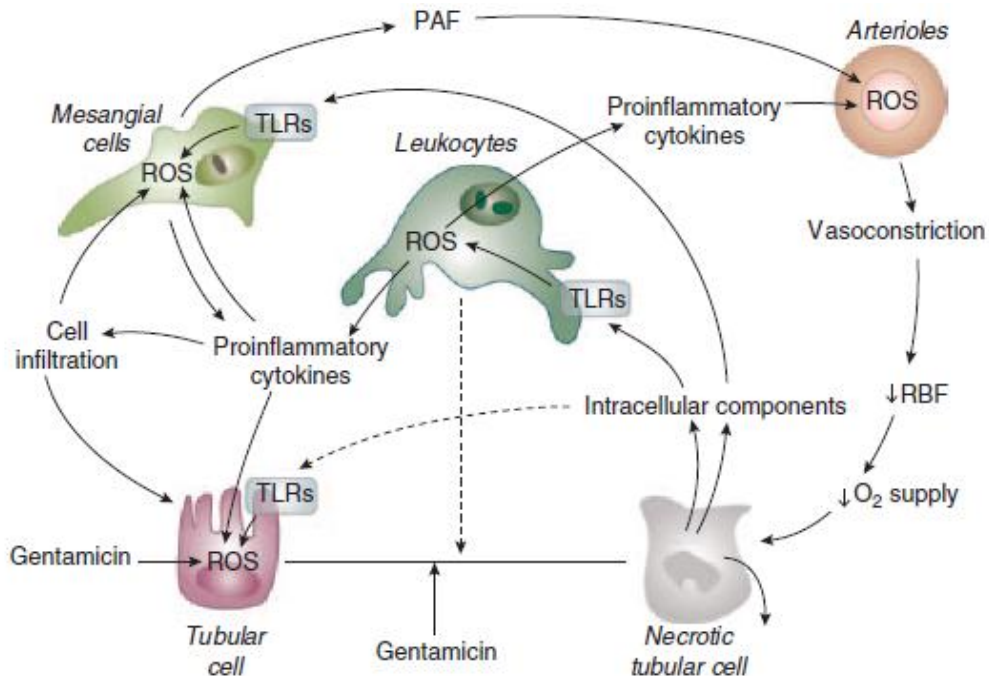


Figura 18. Amplificación de los efectos tubulares, glomerulares y vasculares por la inflamación. (Tomado de López-Novoa JM, Quirós Y, Vicente L, Morales AI, López-Hernández FJ. *New insights into the mechanism of aminoglycoside nephrotoxicity: an integrative point of view.* *Kidney Int.* 2011;79(1):33-45.)

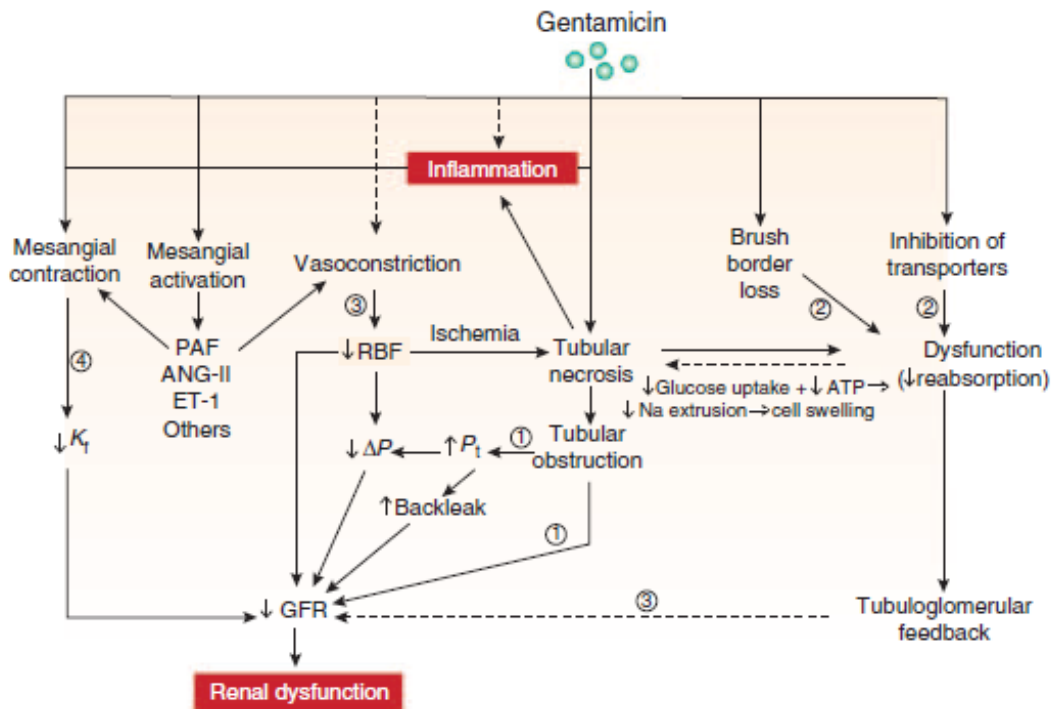


Figura 19. Nefrotoxicidad inducida por Gentamicina. (Tomado de López-Novoa JM, Quirós Y, Vicente L, Morales AI, López-Hernández FJ. *New insights into the mechanism of aminoglycoside nephrotoxicity: an integrative point of view.* *Kidney Int.* 2011;79(1):33-45.)

2.5 - MODELOS DE NEFROTOXICIDAD INDUCIDA POR AMINOGLICÓSIDOS

La LRA inducida por aminoglicósidos condiciona en gran medida al desarrollo de una NTA por los mecanismos fisiopatológicos anteriormente descritos. El manejo clínico de la NTA aun en la actualidad conlleva a grandes retos, y su tratamiento continúa siendo de tipo conservador; de tal manera que hasta ahora, no existe una intervención terapéutica óptima para este tipo de entidades clínicas. Es a partir de estas afirmaciones que, en los últimos años se han promovido una serie de estudios e investigaciones sobre la NTA, enfocados primordialmente en los mecanismos fisiopatológicos subyacentes, así como el desarrollo de potenciales medidas terapéuticas que permitan prevenir su apareamiento, o cuando menos, reducir su duración y atenuar sus efectos.

La mayoría de los estudios sobre LRA y NTA han sido desarrollados en modelos animales, los cuales en general, ofrecen una serie de ventajas en comparación con los estudios experimentales realizados en seres humanos, puesto que posibilitan mayores oportunidades de manipulación y un mejor entendimiento de los mecanismos subyacentes; resultando ser al mismo tiempo, protocolos menos complejos, más factibles de realizar y con menores limitantes experimentales.⁴²

En términos generales, existen al menos tres tipos diferentes de modelos animales de LRA: los modelos de etiología isquémica, los de etiología séptica y los de etiología tóxica, siendo estos últimos los que se abordarán con mayor detalle. Se han descrito diversos tipos de medicamentos y sustancias con reconocido potencial nefrotóxico, tales como el cisplatino, glicerol, hemoglobina, mioglobina y los ya conocidos aminoglicósidos; dentro de los cuales destaca en la gran mayoría de los casos la gentamicina.⁴³ Una gran mayoría de los modelos animales de nefrotoxicidad inducida por gentamicina han sido realizados, tradicionalmente en conejos y/o ratas como sujetos de experimentación.

2.5.1 - MODELOS ANIMALES EN CONEJOS

La evidencia disponible sobre protocolos experimentales de nefrotoxicidad inducida por gentamicina en conejos sugiere que es posible obtener dichos resultados utilizando diferentes vías de administración del antibiótico; ya sea por vía endovenosa, intramuscular o inclusive subcutánea. En 1998, Pérez de la Cruz MJ y cols. publicaron un modelo animal de nefrotoxicidad que pretendía demostrar los efectos renales de la gentamicina de acuerdo a las variaciones temporales (cronofarmacocinética) y adicionalmente el potencial efecto nefroprotector del calcio al ser administrado paralelamente a la gentamicina. Para tales efectos, se utilizó un grupo de 36 conejos neozelandeses, los cuales recibieron gentamicina por vía endovenosa a una dosis de 20 mg IV cada 8 horas por un período de 16 días consecutivos; la pauta posológica en los animales de experimentación se estableció en este caso a partir de dosis terapéuticas en seres humanos, extrapoladas en función de la superficie corporal del conejo.⁴⁴

Para tal caso, se fundamentó el protocolo de administración de gentamicina en estudios previos que tomaron como base la dosis de 8 mg/Kg/día, considerada como la prescripción límite en seres humanos en infecciones severas, y dicha dosis nefrotóxica, fue extrapolada a conejos con peso aproximado de 2 Kg mediante cálculos estandarizados que tomaron en consideración la superficie corporal del animal.³⁰

Otro estudio realizado por Hanslik T y cols., utilizó un modelo animal de nefrotoxicidad inducida por gentamicina en conejos, administrando dicho antibiótico por vía subcutánea a dosis de 120 mg/Kg/día durante un período de 7 días; con el objetivo de comprobar el potencial efecto mediador del Factor Activador de Plaquetas en la nefrotoxicidad inducida por gentamicina, utilizando simultáneamente una sustancia antagonista de dicho factor para probar la hipótesis en cuestión.⁴⁵

Por otro lado, Brion N, Barge J, Godefroy I y cols., publicaron en 1984 un trabajo sobre mediciones comparativas de nefrotoxicidad experimental entre diversos tipos de aminoglicósidos, tales como gentamicina, netilmicina, dibekacina y amikacina, en conejos como animales de experimentación. Dicho estudio indicaba que la gentamicina poseía el mayor potencial nefrotóxico de todos los antibióticos en cuestión, el cual pudo ser comprobado por histopatología, al identificarse NTA generalizada y focal en un 60% y 40% respectivamente, de los conejos tratados con dicho medicamento al ser administrado por vía intramuscular en esquemas de altas dosis, equivalentes a 30mg/Kg/día dividido en 2 dosis diarias por un período de 14 días.⁴⁶ Un protocolo similar fue presentado por Abu-Spetan y Abdel-Gayoum, quienes en el año 2001 publicaron un modelo de nefrotoxicidad inducida por gentamicina aplicada por vía intramuscular a dosis de 80mg/Kg/día durante un período de 5 días consecutivos en conejos; evidenciándose daño renal que resultó ser inclusive mayor al añadir una dieta alta en grasas y colesterol en dichos animales, la cual constituyó la hipótesis principal del estudio en cuestión.⁴⁷

2.5.2 - MODELOS ANIMALES EN RATAS

En términos generales, los modelos de nefrotoxicidad inducida por gentamicina en ratas son más comunes de acuerdo a la evidencia disponible en la literatura científica actual. En estos modelos, usualmente se utilizan ratas como sujetos de experimentación, a las cuales se les administran dosis de gentamicina por vía parenteral, que oscilan entre 100 a 200 mg/Kg de peso corporal durante un período de 3 a 6 días consecutivos; evidenciándose en la mayoría de casos NTA directa, como hallazgo histopatológico predominante.³⁵

Existen sin embargo, protocolos experimentales que han sugerido la utilización de dosis y períodos de tratamiento menores; tal es el caso de los trabajos publicados por Ali B.H. y cols., en 2005 y Said M.M. en 2010; quienes utilizaron un modelo animal de nefrotoxicidad inducida por gentamicina intramuscular a dosis de 80

mg/Kg/día durante 6 días consecutivos; logrando generar nefrotoxicidad moderada sin llegar a producir efectos letales en los animales de experimentación.^{48,49}

Sin embargo, y de acuerdo a la evidencia disponible; una vasta mayoría de los modelos animales de nefrotoxicidad inducida por gentamicina en ratas han sido desarrollados administrando el antibiótico por vía intraperitoneal; utilizando dosis que van desde los 50 mg/Kg/día, como lo describe De la Cruz Rodríguez LC y cols., 2009; a esquemas más comunes que emplean dosis de 80 mg/Kg/día según lo descrito por Khan SA y cols., 2008; Abdel-Raheem IT y cols., 2009; Ajami M y cols., 2010; hasta dosis que alcanzan los 100 mg/Kg/día de acuerdo a los estudios publicados por Parlakpinar H y cols., 2006; Safa J y cols., 2010; durante períodos de tratamiento que oscilan entre los 5, 7, 8 y 10 días consecutivos.^{50,51,52,53,54,55}

Es indudable que existen en la actualidad una gran diversidad de esquemas disponibles para inducción de nefrotoxicidad por gentamicina. No obstante, algunos autores han sugerido que cuando menos en modelos animales de ratas, el régimen de 100 mg/kg/día por vía intraperitoneal durante 8 días consecutivos es el que genera mayor nefrotoxicidad.⁵⁶

3 - NEFROPROTECCIÓN

La LRA es muy común entre los pacientes críticamente enfermos y contribuye significativamente a la morbilidad y mortalidad de los mismos. A pesar de los numerosos adelantos en la tecnología médica, la morbimortalidad de la LRA en la UCI continua siendo alta sin haber mejorado significativamente en las últimas dos décadas por lo cual es imperativa la necesidad de buscar estrategias para prevenirla.¹⁶

3.1 - ESTRATEGIAS DE NEFROPROTECCIÓN

Las metas de una estrategia preventiva para los casos de LRA son:

- Preservar la función renal
- Prevenir la mortalidad
- Prevenir complicaciones de la LRA como la sobrecarga de volumen, alteraciones acido-básicas y anormalidades electrolíticas
- Prevenir la necesidad de diálisis crónica
- Producir mínimos efectos adversos.¹⁶

3.1.1. - ESTRATEGIAS NO FARMACOLÓGICAS

Los métodos conservadores para prevenir la LRA incluyen limitar la deshidratación, hipotensión y exposición a nefrotoxinas.¹⁶

3.1.1.1. - Hidratación y cargas volumétricas

Es reconocido que la depleción del volumen intravascular es un importante factor de riesgo para el desarrollo de LRA. La hidratación endovenosa parece efectiva en la prevención de por lo menos ciertas formas de LRA como por ejemplo en la rabdomiólisis postraumática. Además se ha sugerido que los fluidos isotónicos son preferibles ante fluidos hipotónicos en la prevención de esta entidad clínica, por ejemplo en la nefropatía por contrastes. Sin embargo, la composición ideal del fluido y la velocidad de infusión ideal continúan sin esclarecerse por lo cual se debe de individualizar en función de las necesidades del paciente.¹⁶

3.1.1.2. - Mantenimiento de la presión de perfusión renal

No hay un valor absoluto de la presión arterial media (PAM) establecido como adecuado; por lo cual la PAM blanco debe ser individualizada. Además los vasopresores deben ser utilizados para mejorar la presión de perfusión solamente luego de completar una adecuada repleción volumétrica. También contrario a la

creencia común, no hay evidencia aportada por estudios clínicos o estudios animales adecuadamente diseñados que sugieran que la epinefrina está asociada con un incremento en el riesgo de LRA cuando es utilizada para tratar la hipotensión arterial. Finalmente, la hipertensión intraabdominal se asocia con una disminución de la perfusión renal y puede resultar en LRA, por lo cual su pronta identificación, monitoreo y tratamiento quirúrgico temprano ofrece el mejor potencial para la recuperación.¹⁶

3.1.1.3. –Reducción en la exposición a nefrotoxinas

Los aminoglicósidos comúnmente causan LRA. Sostenidas elevaciones en los niveles que ocurren como consecuencia de múltiples dosis diarias parecen estar relacionadas con toxicidad, mientras que el efecto bactericida depende de la concentración pico. Además la absorción de aminoglicósidos por las células tubulares proximales es saturable. Por lo tanto cuando una dosis grande del medicamento es administrada, más de ésta es excretada sin ser reabsorbida por los túbulos renales y por tanto sin acumularse en las células tubulares y sin causar injuria. Una serie de estudios demostró que no hay diferencia en la eficacia de los aminoglicósidos cuando se dosifican una vez al día, pero que si hay una tendencia hacia una menor nefrotoxicidad en los grupos de monodosis diaria.^{3,8,16}

La nefrotoxicidad asociada a la anfotericina B ocurre en 25-30% de los pacientes. Pese a que no existe evidencia contundente, se ha sugerido que el uso de las formulaciones lipídicas de dicho medicamento parecieran causar menor nefrotoxicidad comparada con las formulaciones estándar. Por lo tanto, la formulación lipídica de la anfotericina B deberá ser preferentemente utilizada en aquellos pacientes con insuficiencia renal o evidencia de disfunción tubular renal.¹⁶

Se ha observado que la incidencia de nefropatía por contrastes ha disminuido debido al uso de agentes no iónicos que son de baja osmolaridad (500-850 mOsm/kg) o isoosmolares (aproximadamente 290 mOsm/kg). Por lo tanto el menor volumen necesario de contraste no iónico e isoosmolar debe ser utilizado en conjunto con líquidos endovenosos isotónicos en todos los pacientes de alto riesgo.¹⁶

3.1.2. - ESTRATEGIAS FARMACOLÓGICAS

La LRA en la UCI ocurre en el escenario de la falla multiorgánica y existe abundante evidencia que brinda soporte a la disfunción inflamatoria y epitelial así como al estrés oxidativo como mecanismos primarios de la LRA inducida por sepsis, en lugar de la concepción más tradicional que considera la etiología isquémica. Por lo cual las estrategias farmacológicas dirigidas a mejorar el flujo sanguíneo renal o a disminuir el consumo renal de oxígeno han sido generalmente poco exitosas.¹⁶

3.1.2.1. - Cotratamiento con compuestos nefroprotectores

En el nivel preclínico, muchas moléculas han demostrado ejercer un efecto nefroprotector sobre la nefrotoxicidad por medicamentos y especialmente en aquella inducida por aminoglicósidos (Cuadro 7). La mayoría de estudios realizados han probado la habilidad de los antioxidantes para aliviar la nefrotoxicidad por aminoglicósidos. Casi la totalidad de los estudios se han realizado en animales por lo cual estos resultados prometedores deben estudiarse en un entorno clínico.^{3,38}

Cuadro 7. Sustancias potencialmente nefroprotectoras en el uso de Gentamicina	
Clase Farmacológica	Intervenciones Farmacológicas
Antibióticos	Fosfomicina, fleroxacina
Bloqueadores de canales de calcio	Nifedipina, amlodipina
Betabloqueadores	Carvedilol
Antianginosos citoprotectores	L- NIL
Inhibidores de iNos	L- arginina
Precusores de Oxido Nítrico	Trimetazina
Hormonas	Melatonina, tiroxina
Antiplaquetarios	Trapidil
Estatinas	Atorvastatina
Agonistas PPR- γ	Rosiglitazona
Inhibidores sintéticos de TNF- α	Pentoxifilina
Biguanidas	Metformina
Antioxidantes	Probucol, aminoguanidina, L- carnitina, N- acetilcisteina, licopeno, curcumina, timoquinona, aceite de pescado, vitamina E y C, aceite de sésamo, halofuginona, resveratrol, querectina
Barredores de radicales libres	S- alilcisteina, dialil sulfide, fenil éster del ácido cafeico, S- alilmercaptocisteina
Enzimas antioxidantes	Superoxidodismutasa
Miméticos de la Superóxido Dismutasa	M40403iculata
Extractos herbales	Ajo, cassia auriculata, soya, té verde, Niguella Sativa, Morchellua esculenta, Phylantus amarus.

Cuadro 7. Sustancias con potencial para prevenir la nefrotoxicidad inducida por Gentamicina. (Tomado de Balakumar P, Rohilla A, Thangathitupathi A. *Gentamicin-induced nephrotoxicity: Do we have a promising therapeutic approach to blunt it?* *Pharmacological Research* 62 (2010) 179–186.)

La oliguria que acompaña a la LRA es en parte resultado de la obstrucción tubular causada por los desechos, incluyendo el epitelio denudado y esta obstrucción potencialmente lleva a una fuga retrograda del filtrado glomerular hacia el intersticio renal perpetuando la injuria renal. En el caso de la LRA no oligúrica frecuentemente se evidencia un mejor pronóstico en comparación con la LRA oligúrica. Por esta razón se ha promovido la utilización de diuréticos de asa para la prevención de la LRA puesto que al inducir una mayor diuresis es posible realizar un efecto de barrido a nivel de los túbulos renales. Dos metaanálisis han demostrado que no hay beneficio alguno con el uso de diuréticos en lo que respecta a la incidencia, necesidad de diálisis o mortalidad de la LRA. Sin embargo se observó un aumentado riesgo de sordera y tinnitus en aquellos pacientes tratados con altas dosis de furosemida.¹⁶

Además se ha observado un incremento en el riesgo de nefrotoxicidad en aquellos pacientes que han estado recibiendo gentamicina y furosemida simultáneamente. Por lo tanto, al momento no existe evidencia que sustente el uso sistematizado de diuréticos de asa en la prevención de la LRA de cualquier etiología y estos no deben emplearse especialmente en pacientes tratados con aminoglicósidos. En conclusión, si se considera la utilización de diuréticos de asa en pacientes con LRA de tipo oligúrica previo a un proceso de diálisis, ésta deberá de suspenderse inmediatamente de no lograrse el efecto diurético deseado.^{16,38}

La dopamina aumenta el flujo sanguíneo renal por medio de la vasodilatación directa del lecho esplácnico, aumentando el gasto cardiaco y la presión de perfusión, por lo cual ha sido evaluada en la prevención y tratamiento de la LRA. Una serie de estudios concluyeron que la dopamina no previno el desarrollo de la LRA, necesidad de diálisis o la mortalidad. Por lo cual basados en la evidencia actual la dopamina a dosis bajas no tiene rol alguno en la prevención de la LRA de cualquier etiología. El fenoldopam, un agonista selectivo del receptor dopamina-1, similar a la dopamina, incrementa el flujo sanguíneo renal y la TFG. Sin embargo, en una serie de estudios se ha demostrado que este medicamento no tiene rol en la prevención de la nefropatía por contraste. Por consiguiente, se necesitan más estudios para evaluar la eficacia del fenoldopam para prevenir la LRA de otra etiología en la UCI.¹⁶

Muchos ensayos clínicos controlados evaluaron el uso del péptido natriurético atrial (PNA) en la prevención de la LRA y fallaron en demostrar beneficio alguno. El anaritide no mejora la sobrevivencia libre de diálisis y en general esta forma sintética del PNA no debe utilizarse para prevenir la LRA en pacientes de la UCI. Además se necesitan ensayos clínicos aleatorizados de mayor envergadura para evaluar el rol del PNA a bajas dosis en pacientes sometidos a cirugía cardíaca.¹⁶

Las elevaciones agudas en el calcio intracelular preceden a cualquier evidencia de daño de la membrana tubular renal en ciertas formas de LRA. Se ha demostrado que los antagonistas de los receptores de calcio revierten la vasoconstricción arteriolar aferente inducida por una variedad de estímulos. Tras la revisión de 9 ensayos clínicos aleatorizados se concluyó que el tratamiento con bloqueadores de los canales de calcio en el período circundante al trasplante renal se asoció con una disminución significativa de la incidencia de la NTA postrasplante. Sin

embargo, no se evidenció diferencia alguna en lo que corresponde a la mortalidad, requerimiento de hemodiálisis y pérdida del injerto.¹⁶ Sin embargo, el tratamiento con nifedipina y amlodipina revirtió las alteraciones inducidas por la gentamicina de los niveles de proteínas urinarias, NAG, CR-S y urea; lo cual indica su potencial rol en la prevención de la nefrotoxicidad inducida por gentamicina pero este efecto no se observó con el uso del verapamilo pues incluso se exacerbó la necrosis tubular renal.³⁸ Por lo cual basado en la evidencia actual los bloqueadores de los canales de calcio no pueden ser recomendados de rutina en pacientes con LRA.¹⁶

El uso de la N-acetilcisteína (NAC) en múltiples pequeños estudios ha demostrado una incidencia disminuida de la nefropatía por contraste. Debe tomarse en consideración que la NAC puede disminuir la concentración sérica de creatinina sin mejorar la TFG, posiblemente al aumentar la actividad de la creatinquinasa y la secreción tubular. Por lo cual las implicaciones de las reducciones de la CR-S dependiente de la dosis de NAC luego de la administración del contraste persisten sin clarificarse y deben investigarse más. Sin embargo considerando su seguridad, bajo costo y posible beneficio, la NAC puede usarse en pacientes de alto riesgo para prevenir la nefropatía por contraste.¹⁶

3.1.2.2. - Inhibición de la acumulación tubular renal

La acumulación de los aminoglicósidos, puede reducirse ya sea al impedir captación o al aumentar su liberación. La reducción de su captación se ha obtenido por medio de dos estrategias. La primera está dirigida a tornar la molécula de los aminoglicósidos más compleja, y la segunda está enfocada en la competición por o la disminución de la unión de dichos medicamentos a la membrana del borde en cepillo. Un blanco obvio es el complejo endocítico Megalina-Cubilina responsable del transporte de los aminoglicósidos y de su acumulación en las células tubulares. Desafortunadamente las sustancias utilizadas en este contexto no pueden ser trasladadas hacia una aplicación clínica ya que presentan una falta de eficacia y/o una toxicidad intrínseca. Sin embargo, la estrategia basada en la competencia por el sitio de unión eventualmente llevó al descubrimiento que los aminoglicósidos pueden ser su propio competidor por lo cual como ya se detalló anteriormente se ha demostrado que la administración a dosis únicas elevadas de aminoglicósidos disminuye la nefrotoxicidad. Además las estatinas han demostrado provocar una reducción en la acumulación de la gentamicina en las células tubulares y del daño renal, pero aún se deben determinar las consecuencias clínicas de interferir con la endocitosis mediada por el complejo Megalina-Cubilina como mecanismo de nefroprotección.^{8,38}

3.1.2.3. - Prevención de la Fosfolipidosis lisosomal por los aminoglicósidos

La reducción de la Fosfolipidosis lisosomal puede lograrse por medio del uso de aminoglicósidos modificados para unirse con menor fuerza a los fosfolípidos en un

pH ácido o por medio de la administración de un agente que pueda prevenir la unión de dicha molécula a los fosfolípidos. Por ejemplo, se descubrió que los aminoglicósidos con una sustitución del átomo N-1 demostraron un menor nivel de unión a los fosfolípidos y menor inhibición de las fosfolipasas lisosomales, causando cambios renales menos marcados en animales y en humanos. El ácido poliaspártico, es un polímero que ha surgido como un protector contra la nefrotoxicidad inducida por aminoglicósidos por medio de la inhibición de la unión de estos con las vesículas de membrana renales.⁸

3.1.2.4. - Prevención del estrés oxidativo

La terapia con aminoglicósidos induce la generación de radicales libres y la liberación de hierro por las mitocondrias corticales. Por lo cual el estrés oxidativo juega un rol considerable en la nefrotoxicidad inducida por gentamicina y sustancias con propiedades antioxidantes directas o indirectas han sido identificadas para prevenir la nefrotoxicidad inducida por gentamicina en modelos experimentales. Entre las muchas sustancias estudiadas podemos mencionar la vitamina C, vitamina E y el dimetilsulfóxido (DMSO), un barredor de radicales libres que ha demostrado reducir los niveles plasmáticos de urea y creatinina en ratas. Sin embargo se requieren ensayos a mayor escala para poder validar su uso clínico.^{3,7,8}

3.1.3. ESTRATEGIAS DE DIÁLISIS

A pesar de poderse remover los medios de contraste por medio de diálisis la evidencia actual es insuficiente para recomendar profilácticamente el uso de la diálisis con el fin de prevenir la nefropatía por contraste.¹⁶

3.2 - BARREDORES DE RADICALES LIBRES

Se ha propuesto que las especies reactivas de oxígeno son las responsables de producir la muerte celular en diversos estados patológicos tanto en humanos como en animales, ya que producen injuria celular y necrosis por diversos mecanismos, incluyendo la peroxidación de los lípidos de la membrana, desnaturalización de las proteínas y daño al DNA.⁵⁷

Diversas investigaciones han sugerido que los ROS son importantes mediadores de la nefrotoxicidad inducida por gentamicina, pues se ha demostrado que este fármaco potencia la producción de peróxido de hidrógeno por la mitocondria cortical renal, afectando diversos procesos biológicos potencialmente importantes en patologías glomerulares, así como también en la LRA de origen isquémico.^{58,59}

Se ha establecido que entre los abordajes principales utilizados para disminuir o proteger contra la nefrotoxicidad inducida por gentamicina, el uso de agentes antioxidantes se encuentra entre los mecanismos más relevantes.⁵⁹ Es por esto que se ha estudiado el potencial terapéutico de varios antioxidantes tanto naturales como sintéticos, entre los cuales se incluyen el probucol, melatonina, curcumina, ácido cafeico feniletil éster, licopeno, resveratrol, thymoquinona, extracto de té verde, quercetina, vitamina E y C, eugenol, así como también la enzima superóxido dismutasa (SOD), dimetilsulfóxido (DMSO), N- acetilcisteína, carvedilol, entre otros.^{51,59}

El DMSO ha demostrado ser una sustancia efectiva para disminuir la nefrotoxicidad inducida por gentamicina, pues su mecanismo de acción como agente nefroprotector lo realiza como barredor de radicales libres, reduciendo los radicales hidroxilo para formar metano, además de inhibir la peroxidación lipídica.² Se considera al DMSO como una sustancia prometedora en la disminución de la nefrotoxicidad inducida por gentamicina pues ha sido utilizada clínicamente en humanos y animales en diversas patologías, así como también en diversas condiciones experimentales en ratas.⁵⁹

3.3 - DIMETILSULFÓXIDO (DMSO)

3.3.1 – FUNDAMENTOS SOBRE EL PAPEL DE LOS RADICALES LIBRES DE OXÍGENO Y ESTRÉS OXIDATIVO

Previamente se ha hecho alusión a la asociación observada entre el DMSO y el daño inducido por radicales libres (RL); razón por la cual resulta fundamental la realización de una breve revisión sobre estos últimos y sus mecanismos de acción.

Es bien sabido que los electrones se disponen alrededor de los núcleos de los átomos en capas perfectamente definidas conocidas como orbitales. Cada uno de dichos orbitales posee un máximo de dos electrones que se encuentran apareados. La mayoría de las sustancias presentes en el organismo contienen electrones apareados y por consiguiente suelen ser estructuras químicamente estables.⁶⁰ Se consideran como RL a todas aquellas moléculas que contienen electrones desapareados en su orbital más externo; lo cual los convierte en moléculas altamente inestables, extraordinariamente reactivas y de vida efímera (su vida media es de apenas unos pocos microsegundos); con una enorme capacidad para combinarse inespecíficamente con una diversidad de biomoléculas tales como carbohidratos, lípidos, proteínas, ácidos nucleicos y sus derivados.^{60,61}

Los RL son generados permanentemente en el organismo como consecuencia del metabolismo oxidativo; de tal forma que el oxígeno molecular (O₂), representa una

de las piezas fundamentales en dicho proceso; a tal punto que se perfila como el principal responsable de la producción de especies oxidantes en las células del metabolismo aerobio.⁶⁰ El O_2 es birradical; esto significa que su molécula posee dos electrones desapareados en su orbital externo, lo cual permite generar (por reducción parcial de su molécula), especies reactivas tales como el anión superóxido (O_2^-); el radical hidroxilo (OH); el peróxido de hidrógeno (H_2O_2); y el oxígeno singlete (1O_2).⁶¹

Dada la alta inestabilidad atómica propia de la naturaleza de los RL, estos son capaces de colisionar con otras biomoléculas del organismo sustrayéndole un electrón (oxidándolas); generado de esta manera alteraciones estructurales que indefectiblemente afectarán la función de dichas estructuras al interior celular.⁶¹ Al efecto que los agentes oxidantes producen en los organismos se le conoce como estrés oxidativo. En términos generales un RL es capaz de ceder su electrón desapareado, tomar un electrón de otras biomoléculas químicamente estables, o simplemente unirse a ellas. En cualquiera de los tres casos anteriormente descritos, la situación resultante es la génesis de otro radical químicamente agresivo.⁶⁰ (Figura 20)

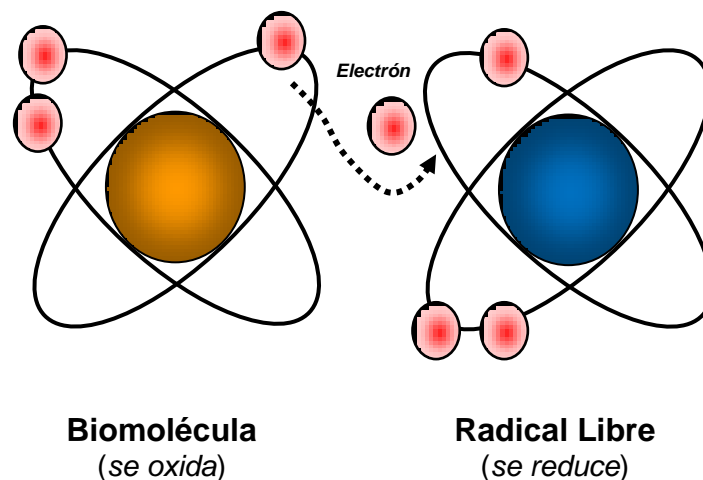


Figura 20. Interacción de los radicales libres con biomoléculas. (Tomado y modificado de Velásquez M, Prieto B, Contreras R. *El envejecimiento y los radicales libres*. Ciencias 2004;75:36-43.)

Uno de los fenómenos más comunes asociados al daño por RL lo constituye la peroxidación lipídica; la cual puede ser definida como el daño desencadenado por un RL en los ácidos grasos que conforman las membranas celulares; los cuales al ser oxidados, se convierten a su vez en RL de ácido graso con potencial para producir daño en otra biomolécula vecina; propiciando así una reacción en cadena con efectos celulares devastadores.⁶¹ El radical OH es el más reactivo que la química convencional conoce. Puede interactuar con las bases nitrogenadas de los ácidos nucleicos y alterar la información genética de las células, o estimular la peroxidación lipídica, en la cual ataca los ácidos grasos poliinsaturados,

convirtiéndolos a su vez en oxidantes (es decir, en RL). Un solo radical OH es capaz de transformar cientos de moléculas de ácidos grasos en hidroperóxidos, que al descomponerse producen aldehídos; sustancias que poseen un enorme potencial tóxico para las membranas celulares.⁶⁰ Una vez se ha producido el daño celular como consecuencia de la peroxidación de los lípidos de membrana, se propicia el paso de los RL y de iones calcio al interior de las células, lo cual provoca daño mitocondrial; liberando al medio intracelular una mayor cantidad de RL capaces de activar una reacción en cadena, oxidando a su paso proteínas, carbohidratos, lípidos de membrana (mitocondrial, reticular y nuclear) e inclusive el propio ADN.⁶² (Figura 21)

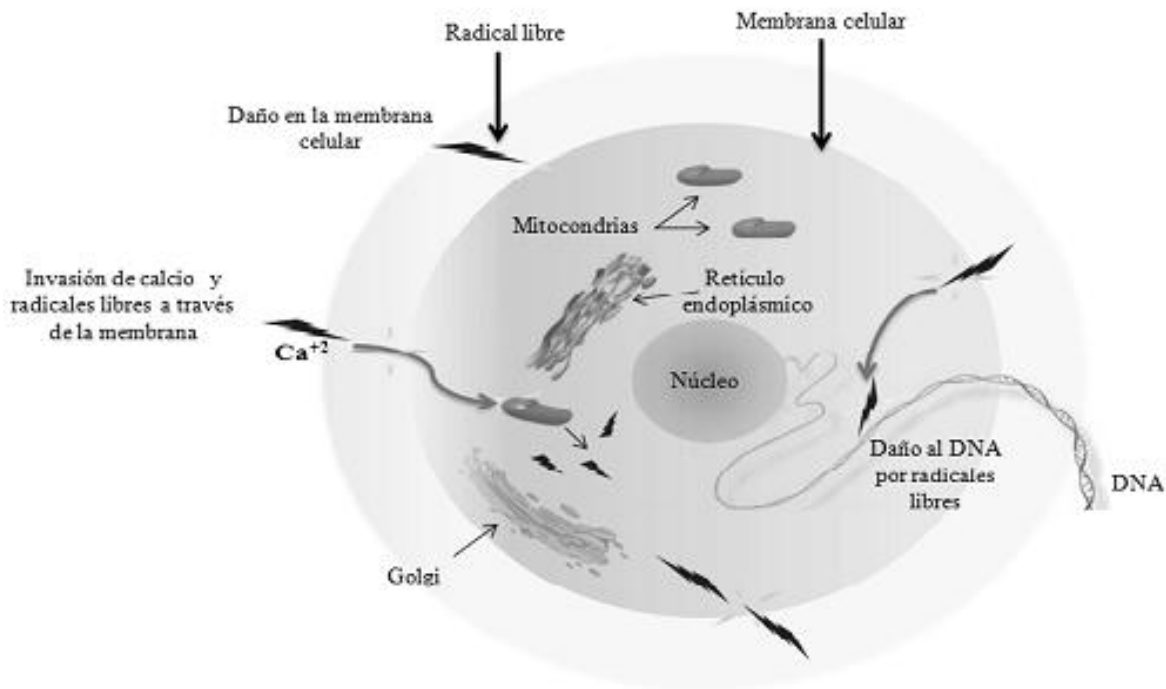


Figura 21. Efectos celulares de la peroxidación lipídica. (Tomado de Maldonado O, Jiménez EN, Guapillo MRB, Ceballos GM, Méndez E. Radicales libres y su papel en las enfermedades crónico-degenerativas. Rev Med UV, Jul-Dic. 2010.)

Existen múltiples mecanismos antioxidantes (endógenos y/o exógenos) para contrarrestar los efectos dañinos producidos por los RL. Puede definirse como antioxidante a toda aquella sustancia que hallándose presente a bajas concentraciones con respecto a las de un sustrato oxidable (biomolécula), retarda o previene la oxidación de dicho sustrato. Desde la perspectiva bioquímica, el antioxidante es capaz de ceder un electrón al RL, neutralizando sus efectos nocivos y convirtiéndose asimismo en RL débil no tóxico.⁶¹ Puede decirse que, en resumen, un antioxidante es una sustancia capaz de reducir o revertir el daño oxidativo inducido por los RL.⁶³ (Figura 22)

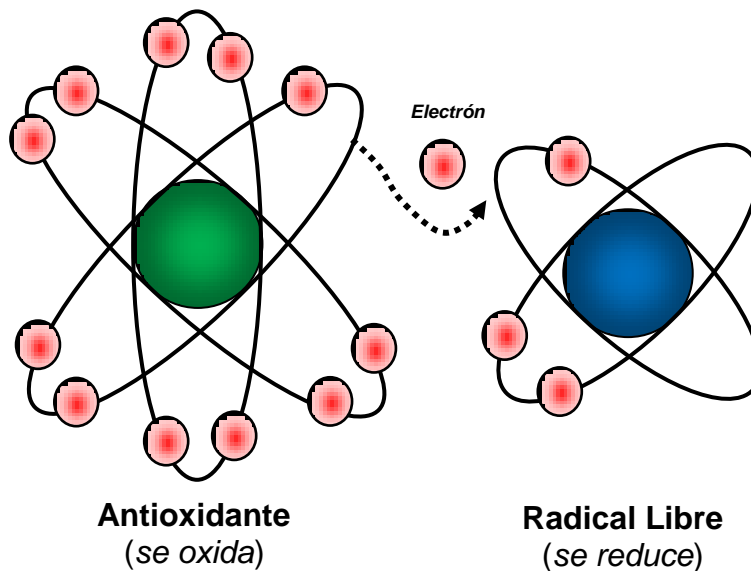


Figura 22. Interacción de los radicales libres con antioxidantes. (Tomado y modificado de Velásquez M, Prieto B, Contreras R. *El envejecimiento y los radicales libres*. Ciencias 2004;75:36-43.)

Actualmente existe evidencia sobre antioxidantes artificiales que ya se han comenzado a emplear con fines terapéuticos en el campo de la medicina humana y veterinaria; entre ellos cabe destacar la N-acetilcisteína, el DMSO, la etildimetiltiourea y el etanol. Cuando menos los últimos tres, poseen actividad antirradicales libres comprobada y son capaces de neutralizar el efecto del pernicioso radical OH.⁶⁰

3.3.2 - GENERALIDADES DEL DMSO

El DMSO fue descrito por primera vez en el año de 1866, por Alexander Mikhaylovich Zaytsev, (también conocido como Saytzeff) un químico ruso procedente de Kazán. Se trata de una sustancia líquida de apariencia clara o amarillenta de sabor amargo e inodora. Es soluble en agua, etanol, acetona, éter dietílico, benceno y cloroformo.⁵⁹

El ciclo natural del DMSO y sus derivados comienza en el océano en donde el plancton microscópico es capaz de metabolizar el sulfuro inorgánico y convertirlo en compuestos sulfurados conocidos como sales de dimetilsulfonio, las cuales son posteriormente liberadas y convertidas en el mismo océano para dar origen a otro compuesto conocido como dimetilsulfide (DMS). El DMS escapa del agua en forma de gas hasta alcanzar las capas atmosféricas. Cuando el DMS es expuesto los efectos de la luz ultravioleta de alta energía y ozono; es convertido a DMSO y dimetilsulfona (DMSO₂); ambos compuestos solubles en agua, que retornan a la

superficie terrestre a través de la lluvia en donde finalmente las plantas son capaces de captar y concentrar ambas sustancias en sus raíces hasta cien veces más.⁶⁴

En los seres humanos, el DMSO es metabolizado con su consecuente oxidación a DMSO_2 , o bien por reducción a DMS.⁶⁵ Es bien conocido que el DMSO es reducido a DMS al ser combinado in vitro con glutatión (GSH) o cisteína.⁶⁶ El DMSO y DMSO_2 son excretados tanto en orina como en heces. En cuanto al DMS, este es eliminado por medio de la respiración y de la piel generando el característico olor a “ajo” tradicionalmente descrito en la literatura. La excreción completa del DMSO administrado por vía oral en seres humanos requiere aproximadamente 120 horas; siendo la excreción urinaria la principal ruta de evacuación.⁶⁵

El DMSO es una sustancia obtenida como un subproducto durante el procesamiento de la pulpa de madera para fabricación de papel; cuya consistencia usual es líquida a temperatura y presión ambiente. A partir de 1940, el DMSO ha sido utilizado como solvente orgánico, y como criopreservante, desde 1961.⁶⁷

El DMSO se introdujo a la práctica clínica para el tratamiento de las quemaduras, lesiones hipotérmicas en las extremidades, y artritis. Posteriormente muchos reportes científicos sugirieron su utilización clínica como antiinflamatorio efectivo para disminuir el daño tisular producido a consecuencia de la isquemia cerebral; sin embargo dicha evidencia nunca llegó a materializarse en estudios clínicos controlados, motivo por el cual hasta el momento únicamente ha sido aprobado para el manejo de la cistitis intersticial por medio de instilación vesical. Otra evidencia disponible ha sugerido el uso del DMSO en el tratamiento del cáncer gástrico y de colon; así como tratamiento tópico con aplicaciones meramente veterinarias.⁵⁹

3.3.3 - PROPIEDADES FARMACOLÓGICAS PRIMARIAS DEL DMSO

El DMSO es una molécula anfipática (posee un extremo hidrofílico y otro hidrofóbico), aprótica (no posee puentes de hidrógeno) y altamente bipolar; en razón de la separación de cargas entre el oxígeno y el azufre de tal forma que es miscible tanto en agua como en solventes orgánicos.⁶⁸ Una vez el DMSO es puesto en contacto con el agua, más que donar un protón, éste es capaz de atraer un ion hidrógeno del agua, formando de esta manera puentes de hidrógeno mucho más fuertes que aquellos formados por la interacción entre las moléculas de agua. Es debido a esta propiedad anfipática peculiar, que el DMSO es frecuentemente utilizado en el laboratorio como solvente universal.⁶⁹

Dadas las propiedades moleculares del DMSO, se han descrito a lo largo de la historia una amplia gama de efectos farmacológicos primarios, muchos de ellos han permitido sentar bases para su aplicación en la práctica clínica.

3.3.3.1 – Penetración de Membrana

El DMSO es capaz de atravesar la mayoría de membranas tisulares de los animales y seres humanos. Dicha propiedad fue evaluada por Kolb y cols. quienes en modelos animales de experimentación (ratas), detectaron niveles de DMSO en sangre 10 minutos después de la aplicación del mismo por vía cutánea. Sin embargo dichos modelos también fueron reproducidos en seres humanos; en quienes los niveles séricos de DMSO fueron identificados apenas 5 minutos después de su administración cutánea; mientras que 1 hora posterior a su aplicación, el DMSO pudo ser detectado en las estructuras óseas. Otros investigadores han sugerido que tan sólo 2 horas posterior a la aplicación de DMSO por la misma vía han sido suficientes para comprobar la presencia de dicha sustancia en diversos órganos corporales; los cuales han sido descritos en el siguiente orden decreciente: bazo, estómago, pulmones, humor vítreo, timo, cerebro, riñón, esclera, colon, corazón, músculo esquelético, piel, hígado y aorta, entre otros.⁷⁰

3.3.3.2 – Transporte de Membrana

Diversos estudios han demostrado la potente capacidad del DMSO como vehículo para transportar otras sustancias o medicamentos a través de las membranas celulares. Las moléculas no ionizadas de bajo peso molecular son transportadas a través de la piel por el DMSO; algo que no ocurre en el caso de sustancias de alto peso molecular tales como la insulina. Es de esta forma que existe abundante evidencia científica acerca del rol que desempeña el DMSO como transportador de membrana para medicamentos de diversos tipos, tales como el aciclovir (tópico) el cual demostró ser más efectivo en el tratamiento de herpes viral al ser administrado junto con el DMSO en comparación con el polietilenglicol en un modelo animal de experimentación. Por su parte, Maibach y Feldman estudiaron el grado de penetración de la hidrocortisona y testosterona junto con el DMSO concluyendo que existía un considerable incremento en el nivel de penetración dérmica de dichos medicamentos cuando eran disueltos en dicho vehículo. Sulzberger y cols. identificaron la penetración que tiene el DMSO en la piel humana al demostrar la acumulación de dicha sustancia en el estrato córneo de la piel, lo cual ha sugerido su potencial utilidad como vehículo para transportar agentes terapéuticos en dermatosis inflamatorias e infecciones superficiales de la piel como las piодermias.⁷⁰

3.3.3.3 – Diuresis

El DMSO ha probado tener marcados efectos diuréticos en modelos animales. Formanek y Suckert estudiaron precisamente dichos efectos en ratas, al aplicar de forma tópica en piel una dosis de 0.5 mL de DMSO al 90% 5 veces al día por cada animal. De esta forma encontraron que el DMSO era capaz de incrementar hasta

en 10 veces el volumen urinario, con el consecuente incremento en la excreción de electrolitos como el sodio y el potasio.⁷⁰

3.3.3.4 – Inhibición de la colinesterasa

Sams y cols. estudiaron los efectos del DMSO a nivel del músculo liso, esquelético y cardíaco; empleando concentraciones de 0.6 al 6%. Se evidenció que el DMSO sorprendentemente disminuyó la respuesta del diafragma tanto a estímulos eléctricos directos (músculo) como indirectos (nervio) provocando consecuentemente fasciculaciones espontáneas del músculo esquelético. Por otro lado, el DMSO incrementó la respuesta del músculo liso gástrico tanto a los estímulos eléctricos a nivel neural como a nivel muscular. El umbral vagal disminuyó un 50% al administrar DMSO al 6%. Por consiguiente se ha concluido que la inhibición a la colinesterasa podría explicar razonablemente la presencia de fasciculaciones en el músculo esquelético, aumento del tono en músculo liso y disminución del umbral vagal; fenómenos que han sido observados en los modelos anteriormente descritos.⁷⁰

3.3.3.5 – Antiinflamación

Gorog y Kovacks demostraron que el DMSO ejerce mínimos efectos antiinflamatorios en el edema inducido por carragenina. Dichos autores asimismo han estudiado el potencial efecto antiinflamatorio del DMSO en el tratamiento adyuvante en un modelo de poliartitis inducida en ratas. Al ser aplicado en forma tópica, el DMSO demostró propiedades antiinflamatorias considerables en dicho modelo de experimentación. Bajo la misma línea de investigación Gorog y Kovacks también estudiaron el efecto antiinflamatorio del DMSO al ser administrado de forma tópica en la dermatitis por contacto, eczema alérgico y calcificaciones de la piel en modelos animales (ratas); mediante la utilización de DMSO al 70%, evidenciando una considerable mejoría en todos los casos. Suckert por su lado demostró los efectos antiinflamatorios del DMSO al ser administrado por vía intraarticular en modelos animales de conejos de artritis inducida experimentalmente.⁷⁰

3.3.3.6 – Bacteriostasis

Se ha comprobado que el DMSO ejerce un marcado efecto inhibitorio en una amplia gama de bacterias y hongos; inclusive en al menos un tipo de parásito a concentraciones que oscilan entre el 30-50%. Por otro lado se ha evidenciado que el DMSO al 80% es capaz de producir inactivación de ciertos virus, tales como los virus RNA, virus de la influenza tipo A, virus de la influenza tipo A-2 y virus DNA entre otros. Gillchriest y Nelson han sugerido que el efecto bacteriostático observado en el DMSO podría ser consecuencia de una pérdida de la estructura conformacional del RNA requerido para la síntesis de proteínas.⁷⁰

3.3.3.7 – Protección ante daño por isquemia

Actualmente existe numerosa evidencia que demuestra el efecto protector del DMSO frente al daño inducido por el fenómeno de isquemia-reperusión (I/R), en múltiples órganos tales como riñón, mucosa intestinal, retina, hígado, cerebro, piel, músculo, corazón y médula espinal entre otros. Se han propuesto diferentes mecanismos a través de los cuales el DMSO crea un efecto protector frente al daño por I/R tales como antagonismo de los efectos plaquetarios, prevención de la acumulación de neutrófilos en la reperusión y la neutralización de los efectos citotóxicos de los radicales libres de oxígeno sobre las mitocondrias celulares; entre otros mecanismos ampliamente descritos posteriormente en el presente documento.⁷⁰

3.3.3.8 – Otras propiedades

Muchas otras propiedades farmacológicas primarias del DMSO han sido identificadas por otros autores, quienes han descrito efectos del mismo sobre el tejido conectivo, bloqueo nervioso (analgesia), aumento o reducción en la efectividad de otros fármacos, vasodilatación, relajación muscular y antagonismo de la agregación plaquetaria. Sin embargo, la mayor parte de las propiedades farmacológicas primarias atribuidas al DMSO aún se encuentran en fase experimental.⁷⁰

3.3.4 - MECANISMOS DE ACCIÓN DEL DMSO

El DMSO posee una inmensa variedad de acciones biológicas que le han convertido en blanco de innumerables estudios farmacológicos. Durante los últimos 40 años, se han publicado en la literatura científica cerca de 10,000 artículos sobre sus efectos biológicos y aproximadamente unos 30,000 estudios en relación a sus implicaciones químicas.⁷¹

Pese a que el mecanismo de base por el cual el DMSO ejerce sus potenciales efectos terapéuticos aún no ha sido entendido a la perfección, se ha demostrado que el DMSO es capaz de penetrar la membrana celular; y una vez en su interior es capaz de atenuar el daño inducido por isquemia debido a sus propiedades antioxidantes como barredor de radicales libres y como consecuencia de sus efectos en el intercambio iónico así como en la excitación celular.⁷²

Se ha documentado que el DMSO ha presentado resultados beneficiosos en casos de lesión al sistema nervioso central e isquemia miocárdica; así como sus efectos neuroprotectores en la isquemia cerebral y trauma.

Algunas investigaciones previas han demostrado que dicha sustancia al ser administrada en altas dosis, actúa como un poderoso agente inhibidor de la agregación plaquetaria sin haber presentado hasta la fecha, evidencia de efectos adversos protrombóticos relacionados; contrario a los inusuales pero peligrosos

casos de purpura trombótica trombocitopénica asociados a medicamentos de uso convencional como el clopidogrel. Asimismo, se sabe que en la enfermedad coronaria aguda se propicia el incremento del Factor de Necrosis Tumoral Alfa (FNT α) el cual a su vez induce la expresión del Factor Tisular (FT) en las células endoteliales. El FT es considerado una proteína clave en la activación de la coagulación y formación de trombos, siendo parte importante en la fisiopatología del síndrome coronario agudo e infarto de miocardio. La literatura actual ha sustentado el efecto neutralizador que ejerce el DMSO sobre la expresión del FT.⁷¹

Las reacciones bioquímicas involucradas en los efectos del DMSO sobre la lesión cerebral aguda (LCA) aún se desconocen con exactitud. Sin embargo, en la actualidad se ha reportado que el DMSO alberga una gama de propiedades útiles en el manejo del paciente con LCA. En concreto, se ha postulado que dicha sustancia es capaz de incrementar el flujo sanguíneo cerebral sin producir alteraciones de la presión arterial; reducción *-rápida y efectiva-* de la presión intracraneal y disminución del edema tisular; potente efecto diurético sin afectación de la frecuencia cardíaca; bloqueo de la activación de los canales de sodio intracelulares; poderoso efecto como barredor de radicales libres; supresión del influjo excesivo de iones calcio al interior de la membrana celular; inhibición de la expresión del FT con la consecuente reducción de la formación trombótica; así como la inhibición de la migración y proliferación de las células musculares lisas vasculares.⁷¹

Los mecanismos moleculares actualmente propuestos -al menos en el daño inducido por isquemia- revelan que el DMSO es capaz de afectar el metabolismo del piruvato, provocando un incremento del influjo del mismo hacia el Ciclo de Krebs y disminuyendo concomitantemente el flujo neto hacia los productos finales del metabolismo glicolítico como el lactato y alanina. Estos efectos metabólicos conllevan a un incremento progresivo de la concentración de piruvato asociado a las altas concentraciones de DMSO, lo cual incrementaría el gradiente de protones mitocondrial con el consecuente aumento en los niveles de ATP. Se considera que los efectos beneficiosos asociados al uso del DMSO en la lesión cerebral están relacionados a la habilidad de dicha molécula para incrementar los niveles celulares de ATP, generalmente aminorados a consecuencia del efecto isquémico secundario a la lesión fisiológica y/o física del parénquima cerebral.⁷¹

Los medicamentos con capacidad de bloquear los influjos anormales de sodio al interior de la células cardíacas (agentes clase I) pueden prevenir el desarrollo de trastornos del ritmo como consecuencia del bloqueo parcial de los canales de sodio inhibiendo las despolarizaciones anormales. Existe evidencia que sugiere el efecto bloqueador del DMSO sobre los canales de sodio intracelulares limitando de esta forma el influjo excesivo de dicho ion al interior de las células cardíacas. Esta misma situación ha sido observada en relación al influjo de los iones calcio al interior de los miocitos. Dado el sustancial influjo intracelular de ambos iones – *sodio y calcio*- como consecuencia de arritmias e infartos, se ha sugerido que la

administración de DMSO permitiría prevenir dichos efectos preservando los niveles de potasio intracelular y evitando su salida al exterior del tejido cardíaco.

Asimismo, se ha postulado que el mecanismo anteriormente descrito podría explicar al menos en parte los efectos neuroprotectores del DMSO en las células cerebrales posterior a un accidente cerebro vascular y/o trauma craneoencefálico. A dosis clínicas, el DMSO ha demostrado suprimir de forma reversible el influjo excesivo de los iones calcio mediante el bloqueo de los receptores *-que actúan como canales de cationes-* de N-metil-D-aspartato (receptores NMDA) y los de ácido α -amino-3-hidroxi-5-metil-4-isoxazolpropiónico (receptores AMPA) los cuales son activados por el glutamato en el contexto del estrés oxidativo.⁷¹ (Figura 23). Se sabe que un trauma del SNC produce una elevación de los niveles de locales de glutamato extracelular hasta ocho veces la concentración normal, lo cual conllevaría a la activación sostenida de los receptores anteriormente mencionados con la consecuente muerte neuronal, fenómeno al que actualmente se le conoce como excitotoxicidad neuronal.⁶²

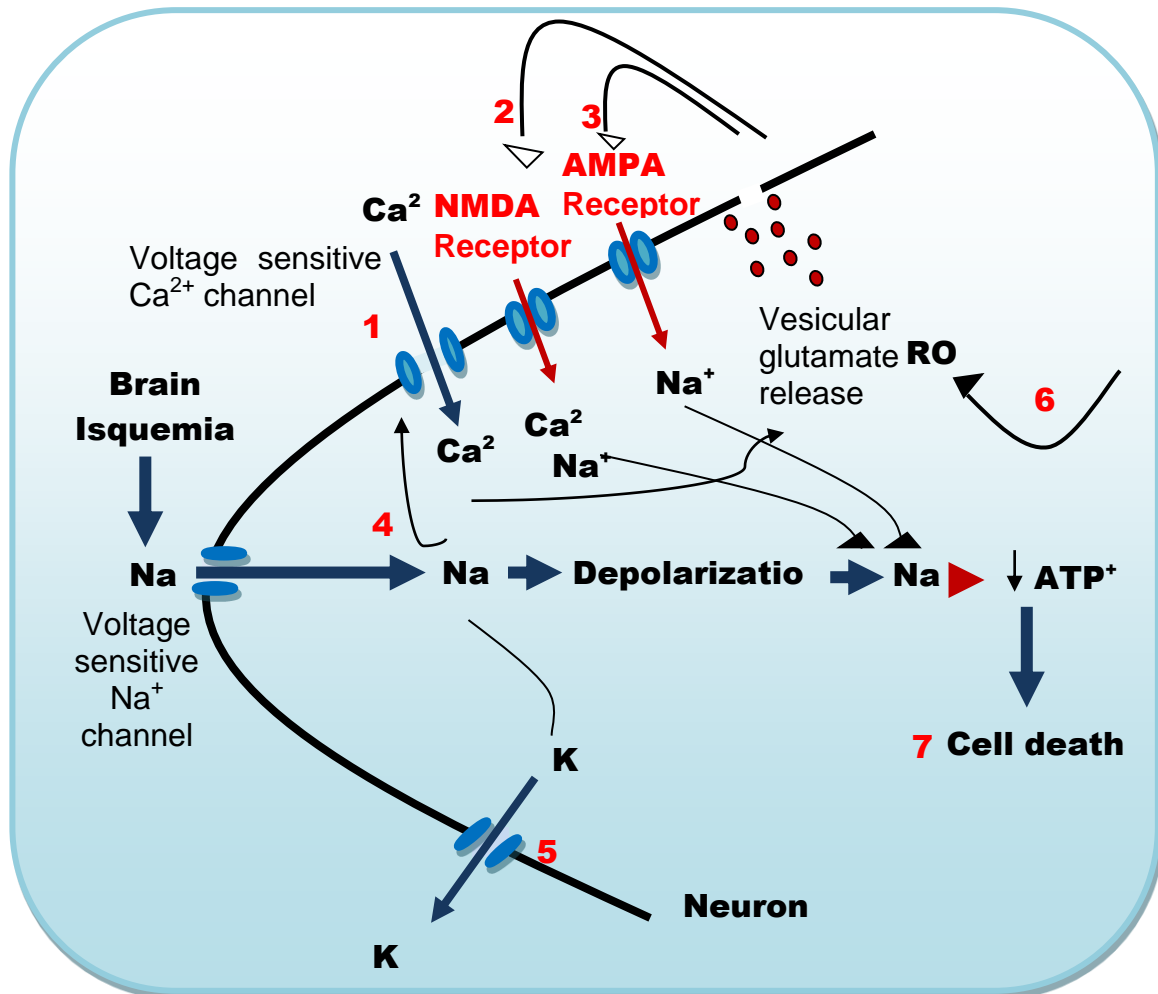


Figura 23. Fundamentos teóricos de las potenciales propiedades neuroprotectoras y sus posibles blancos celulares en el nivel subcelular basados en modelos experimentales. Se ha reportado que el DMSO es capaz de suprimir el influjo excesivo de iones calcio al interior de las células (1) y de

bloquear los receptores de NMDA y de AMPA (2,3) posterior a un evento isquémico capaz de inducir la muerte neuronal por excitotoxicidad. Asimismo se ha reportado que el DMSO tiene la capacidad de bloquear la activación de los canales de sodio (4), una reacción observada posterior a lesiones del sistema nervioso central que pueden activar la cascada de eventos bioquímicos que conllevarían a un eflujo masivo del potasio intracelular (5), hipometabolismo de la energía celular (\downarrow ATP), liberación de especies reactivas de oxígeno con producción de RL's (6) y muerte celular (7). (Tomado y modificado de Jacob SW, de la Torre JC. *Pharmacology of dimethyl sulfoxide in cardiac and CNS damage. Pharmacol Rep.* 2009;61(2):225-235.)

Una de las propiedades más estudiadas y conocidas sobre el DMSO es su capacidad de actuar como barredor de radicales libres, lo cual le confiere propiedades antioxidantes.^{69,73,74,75} Se ha sugerido que el DMSO es capaz de transferir electrones de sus grupos metilo al OH de manera específica, comportándose como un *secuestrante inactivador* del mismo, y generando así formaldehído, metano y metano sulfinato como productos de reacción.^{70,75} A la fecha se sabe que el producto inicial de la interacción entre el DMSO y el OH es el radical metilo (\cdot CH₃).^{69,76} No obstante es necesario destacar que pese a que el radical \cdot CH₃ es 10^4 veces menos activo que el radical OH, siempre conserva alguna capacidad para mediar la peroxidación lipídica, aunque en proporciones significativamente inferiores.⁶⁹ (Figura 24)

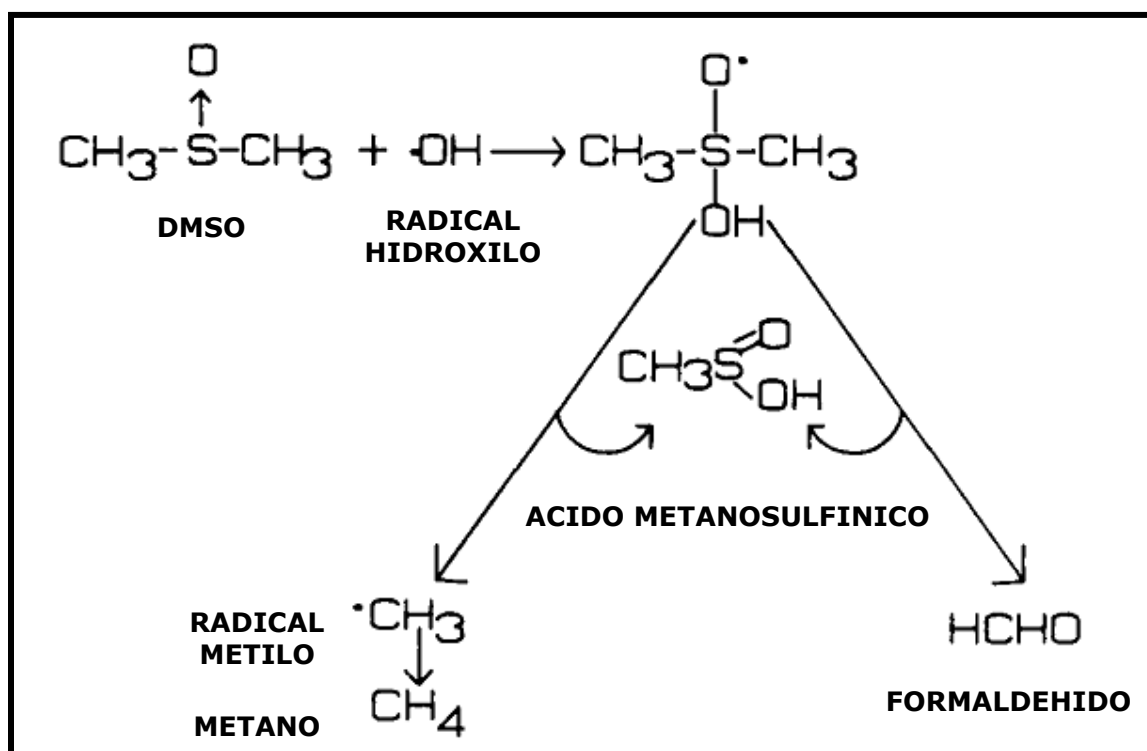


Figura 24. Neutralización del radical hidroxilo por el dimetilsulfóxido. (Tomado y modificado de Arndt K, Haschek WM, Jeffery EH. *Mechanism of dimethylsulfoxide protection against acetaminophen hepatotoxicity. Drug Metab. Rev.* 1989;20(2-4):261-269.)

Recientemente se han publicado modelos de investigación que comprueban la protección farmacológica propiciada por el DMSO en un modelo animal de lesión medular en conejos. Posterior a una lesión traumática de medula espinal se suceden una serie de acontecimientos fisiopatológicos que incluyen necrosis hemorrágica, isquemia, edema, inflamación, pérdida de calcio del espacio extracelular, pérdida del potasio del espacio intracelular y peroxidación lipídica e hidrólisis de las membranas celulares. Probablemente los radicales libres de oxígeno sean los elementos con mayor injerencia en los eventos anteriormente mencionados y los resultados hasta ahora descritos sugieren que la administración exógena de DMSO (0.1 ml/kg) *previo al evento isquémico*, atenúa el aumento de la permeabilidad vascular y mejora la función celular mediante la captación de los radicales OH, uno de los productos más tóxicos derivados del radical O_2^- .⁷⁷

Es precisamente a consecuencia de los mecanismos anteriormente descritos, que el rol del DMSO como agente nefroprotector podría estar relacionado con su capacidad como barredor de radicales libres (metabolitos del oxígeno) que se generan a partir de la toxicidad por medicamentos como los aminoglicósidos; particularmente por gentamicina. El DMSO actúa inhibiendo los radicales libres de oxígeno para formar metano en proporciones similares a los radicales de oxígeno inhibidos y bloquear la peroxidación lipídica. Algunos autores han descrito que la nefrotoxicidad inducida por gentamicina se ha asociado con un significativo descenso en los niveles del glutatión (GSH); así como en la actividad de las catalasas y superóxido dismutasas; por consiguiente se ha sugerido que los agentes antioxidantes podrían presentar resultados favorables en la atenuación de la nefrotoxicidad por gentamicina.² Dado que el DMSO contiene sulfuro en su estructura química, Arndt y cols. han postulado que este último podría incrementar la producción de GSH ya sea mediante un incremento directo del *pool* de sulfuro o bien por interacción con el metabolismo del sulfuro en el organismo, con lo cual se permitiría el incremento del componente primario para la síntesis de GSH, la cisteína.⁶⁹ No obstante es necesario tener en consideración que las teorías planteadas por estos autores han sido concebidas únicamente en el contexto de la hepatotoxicidad y no precisamente en el ámbito de la nefrotoxicidad.

3.3.5 - USOS TERAPÉUTICOS DEL DMSO

El DMSO ha sido utilizado en diferentes intervenciones terapéuticas en seres humanos. En 1978 la Administración de Medicamentos y Alimentos de los Estados Unidos (FDA) aprobó su utilización para el manejo de la cistitis intersticial, por medio de instilación intravesical. Asimismo, también se ha documentado sus usos en el manejo de las manifestaciones dermatológicas, urinarias, pulmonares, reumáticas y renales de la amiloidosis. Debido a sus propiedades como barredor de radicales libres, su utilización ha sido propuesta para el manejo de ciertas enfermedades gastrointestinales. Por otro lado se ha documentado que el DMSO ha sido efectivo para el tratamiento del edema cerebral, debido a su alta capacidad de penetración de la barrera hematoencefálica cerebral. Existe evidencia científica que sugiere adicionalmente el uso terapéutico del DMSO en el

manejo de trastornos musculoesqueléticos, adenocarcinoma pulmonar, trastornos reumatológicos, prostatitis crónica, enfermedades dermatológicas, esquizofrenia y como analgésico tópico. Adicionalmente, se ha sugerido el uso del DMSO para el tratamiento de la enfermedad de Alzheimer.⁷²

Actualmente también es utilizado con frecuencia en el campo de la medicina veterinaria con fines terapéuticos por sus efectos analgésicos y antiinflamatorios.⁵⁹

Pese a la gran cantidad de evidencia documentada sobre los efectos terapéuticos del DMSO, aún no existe un perfil claro y convincente en relación a todo su potencial; por lo que resulta fundamental la realización de investigaciones más detalladas en relación a sus propiedades farmacológicas y toxicológicas.

3.3.6 - EFECTOS ADVERSOS MÁS COMUNES DEL DMSO

Pese a la diversa gama de potenciales aplicaciones terapéuticas descritas sobre el DMSO en el manejo de diversas patologías, existen efectos adversos tanto locales como sistémicos que han sido reportados en relación al uso de dicha sustancia. Se ha descrito el apareamiento de náuseas, vómitos, diarrea y hemólisis severa que asemeja una reacción postranfusión hemolítica. Asimismo han sido descritas reacciones anafilácticas manifestadas por exantemas, eritemas y ocasionalmente broncoespasmos. Otras evidencias han sugerido la potencial participación del DMSO en complicaciones tales como falla renal, hipertensión arterial sistólica y diastólica, bradicardia, bloqueos cardíacos, y muy escasamente edema pulmonar o paro cardíaco.² No obstante, es necesario tener en consideración que los efectos adversos asociados al DMSO son relativamente leves y están íntimamente relacionados a la concentración utilizada y forma de administración.⁷¹

La mayoría de investigadores clínicos con vasta experiencia en el uso del DMSO han logrado dilucidar el principal inconveniente terapéutico asociado al mismo. La frecuencia del tratamiento y las concentraciones a las cuales es administrada dicha sustancia en las evaluaciones clínicas resultan ser extremadamente importantes en relación a los resultados obtenidos.⁶⁶ Como se mencionó previamente, el efecto adverso mejor documentado del tratamiento con DMSO ha sido la hemólisis intravascular posterior a una infusión endovenosa al 40% de DMSO (o mayor) lo cual conllevará a la excreción urinaria de hemoglobina. La hemólisis al parecer está relacionada a cambios osmóticos originados por el DMSO en los eritrocitos. Dicho efecto adverso puede ser prevenido al utilizar soluciones de DMSO al 30% o en concentraciones inferiores. No obstante, también han sido descritas la hipernatremia y la sobrecarga de líquidos cuando el DMSO ha sido administrado en infusiones altamente diluidas (al 10% o menos) en pacientes con trauma craneoencefálico severo. Es por ello que se ha recomendado la administración de dicha sustancia a concentraciones que oscilen

entre el 25 al 35% a fin de prevenir el aparecimiento de los efectos adversos anteriormente descritos.⁷¹

Un efecto indeseable significativo del DMSO es la halitosis, dado su característico olor a ajo a la respiración y sensación de sabor del mismo en la boca. Todo esto como consecuencia de la excreción pulmonar de pequeñas cantidades del DMSO convertido en DMS una vez esta ha sido administrado.^{2,71} Cuando se aplica por la vía tópica, en general el DMSO ha sido bien tolerado, sin embargo se ha descrito que es capaz de producir quemaduras locales transitorias, exantemas cutáneos y prurito.²

El DMSO ha sido utilizado en seres humanos por periodos tan prolongados como 10 meses sin presentar evidencia de toxicidad considerable. Otros efectos sistémicos que han sido descritos a consecuencia de la administración de esta sustancia son letargia, reducción de la circulación plaquetaria, incremento en los niveles de bilirrubina indirecta, fosfatasa alcalina, nitrógeno ureico y transaminasas.⁵⁹

En términos generales, el DMSO ha demostrado tener un perfil de toxicidad muy bajo en animales, plantas y otras formas de vida acuáticas. Numerosas organizaciones tales como la *International Agency for Research on Cancer* (IARC); *National Toxicologic Program* (NTP); *Occupational Safety and Health Administration* (OSHA) y *American Conference of Industrial Hygienists* (ACGIH); basadas en revisiones de diversos estudios han concluido que el DMSO no posee efectos carcinogénicos y hasta la fecha, tampoco han sido demostrado efectos teratógenos evidentes cuando es administrado por vía oral o tópica a dosis convencionales en los modelos de investigación realizados en ratas y conejos. No obstante, es necesario mencionar que los potenciales efectos teratógenos del DMSO dependerán de la ruta de administración, dosis utilizada y edad gestacional al momento de la exposición.⁶⁵

Otros estudios realizados en monos que recibieron DMSO por vía oral o tópica a dosis de 9 g/kg/día no presentaron evidencia tumoral en los frotis de médula ósea. Dado su bajo perfil de toxicidad, la *United States Environmental Protection Agency* (EPA) aprobó el uso del DMSO como solvente o cosolvente en pesticidas aplicados previo a la plantación de cultivos agrícolas de emergencia.⁶⁵

Por su parte, la *Federal Drug Administration* (FDA) ha clasificado el DMSO como solvente categoría 3; lo cual permite caracterizarlo como una sustancia con bajo perfil de toxicidad y pocos riesgos para la salud humana.⁶⁵

SISTEMA DE HIPÓTESIS

HIPÓTESIS DE INVESTIGACIÓN (H_I)

Si la aplicación de gentamicina está asociada a nefrotoxicidad por liberación de radicales libres, entonces la aplicación de DMSO de forma simultánea producirá un efecto nefroprotector que *disminuirá* el daño renal agudo.

HIPÓTESIS NULA (H₀)

Pese a que la aplicación gentamicina está asociada a nefrotoxicidad por liberación de radicales libres, la aplicación de DMSO de forma simultánea *NO* producirá un efecto nefroprotector capaz de atenuar el daño renal agudo.

HIPÓTESIS ALTERNA (H_A)

Si la aplicación de gentamicina está asociada a nefrotoxicidad por liberación de radicales libres, entonces la aplicación de DMSO de forma simultánea producirá un efecto nefroprotector que *revertirá* el daño renal agudo.

MARCO METODOLÓGICO

1. TIPO DE ESTUDIO

Ensayo experimental, controlado, aleatorizado.

2. DEFINICIÓN CONCEPTUAL Y OPERACIONAL DE LAS VARIABLES

Variable	Unidad	Concepto	Medición	Tipo de Variable
Creatinina Sérica (Cr-S)	mg/dL	Aminoácido derivado de la conversión no enzimática de la creatina a fosfocreatina en el músculo esquelético y su subsecuente metabolismo hepático a través de la metilación del ácido guanidino- amino-acético para formar la creatinina. ²² V.N. en conejos (0.5-2.6 mg/dL) ⁷⁸	La muestra de sangre se obtuvo de la vena central auricular de cada conejo (0.5-1.5 cc). Dicha muestra se dejó coagular, luego fue sometida a centrifugación y procesada por método convencional en el laboratorio comercial Ultralab	Cuantitativa Continua
NAG Urinario (NAG-U)	U/L	Enzima lisosomal, considerada como la glucosidasa más activa en los lisosomas de las células epiteliales tubulares proximales y es un marcador urinario específico de las células tubulares renales debido a su peso molecular que supera los 130 kD lo cual impide su filtración a través del glomérulo. Su incremento en orina es un indicador directo de daño a las células tubulares o de un incremento de la actividad lisosomal sin daño celular. ³⁰	Una muestra de orina fresca fue obtenida a partir de cajas metabólicas individuales al colocar una bolsa plástica en los colectores y posteriormente centrifugada. Luego fue sometida a un ensayo colorimétrico (<i>N-Acetyl-β-D-Glucosaminidase (NAG) Roche®</i>) para su cuantificación por espectrofotometría a una longitud de onda de 580 nm, requiriéndose un volumen de urinario de 0.05 ml. La muestra se incubó a 37°C en baño María por 30 minutos.	Cuantitativa Continua
Gasto Urinario (GU)	mL/Kg/h	Volumen de orina excretada por el riñón de un conejo en unidad de tiempo. V.N. en conejos (50-75 ml/Kg/día) ⁷⁹	La caja metabólica de cada conejo fue diseñada con un sistema colector de orina con un contenedor plástico que permitió medir el volumen urinario diario por medio de una jeringa de 60 mL.	Cuantitativa Continua

Variable	Unidad	Concepto	Medición	Tipo de Variable
Histopatología renal (HPR)		Escala para clasificar el daño tubular proximal renal por microscopía de luz en 5 grados descrita por Houghton y cols. ²⁹	Posterior a la nefrectomía bilateral, los riñones fueron conservados en un frasco esterilizado de vidrio con formalina al 10%. Luego cada pieza anatómica se preparó en bloques de parafina para obtener cortes con un micrótomo de 4 micrómetros de grosor. Los cortes se tiñeron con la coloración de Hematoxilina-Eosina y se montaron con resina entre un portaobjetos y un cubre objetos para ser observados por un patólogo por medio de microscopía de luz.	Cualitativa Ordinal

3. UNIVERSO, SELECCIÓN Y TAMAÑO DE LA MUESTRA

3.1 UNIVERSO

Conejos provenientes del criadero nacional “Granja Don Bosco”, Zaragoza, La Libertad, El Salvador.

3.2 MUESTRA

Se utilizaron 24 conejos divididos en tres grupos de 8 conejos cada uno:

1. Grupo SHAM: Solución Salina Normal intramuscular (IM) e intraperitoneal (IP)
2. Grupo CONTROL: Gentamicina IM + Solución Salina Normal IP
3. Grupo DMSO: Gentamicina IM + Dimetilsulfóxido IP

3.3 ALEATORIZACIÓN DE LA MUESTRA

La selección de las unidades experimentales se realizó asignando un número a cada conejo, el cual fue marcado sobre la piel de la oreja del mismo. Los números fueron colocados en una tómbola de donde se extrajeron uno a uno para posteriormente ser distribuidos en todos los grupos, iniciando con el grupo SHAM, posteriormente con el CONTROL y finalmente con el grupo DMSO.

4. CRITERIOS DE INCLUSIÓN Y EXCLUSIÓN

Criterios de Inclusión	Criterios de Exclusión
Conejos machos de raza <i>Nueva Zelanda</i>	Conejos con anomalías fenotípicas
Conejos con peso de 1.5 ± 0.5 kg	Conejos hembra o en estado de gravidez
Conejos en aparente buen estado de salud.	Conejos con anomalías anatómicas renovasculares.
Niveles basales de creatinina sérica, NAG y diuresis normales.	Conejos con peso < 1 Kg y > 2 Kg

5. PROCEDIMIENTO PARA RECOLECCIÓN DE LA INFORMACIÓN

Los valores de Cr-S, NAG-U, GU y clasificación histopatológica del grado de daño tubular se tabularon en el programa Microsoft Office Excel 2010. Posteriormente se analizaron en el programa estadístico Graph Pad Prism v5.0 para Windows.

Cada variable fue evaluada para determinar su distribución mediante el test D'Agostino-Pearson para definir el tratamiento con estadística paramétrica o no paramétrica.

Todas las variables resultaron no paramétricas por lo cual se analizaron mediante la prueba de Kruskal-Wallis y test de comparación múltiple de Dunn para determinar la significancia entre el grupo SHAM, CONTROL y DMSO. Además se utilizó el test de Friedman y post test de Dunn para analizar los valores de un mismo grupo en los diferentes tiempos de medición. En el caso de la HPR a parte de utilizarse la prueba de Kruskal-Wallis, se realizó un análisis descriptivo de los grados de daño tubular renal observados en los tres grupos de experimentación.

6. PROCEDIMIENTO PARA CONSIDERAR ASPECTOS ÉTICOS

Los procedimientos de cuidado y bienestar animal se llevaron a cabo en base a los lineamientos establecidos por el Consejo Canadiense para el Cuidado Animal, dictaminado en el año 2007. Cada animal permaneció en cajas metabólicas individuales, con apropiada luz, agua y alimentación *ad libitum*. Una vez finalizada la nefrectomía bilateral se practicó eutanasia de acuerdo a los Protocolos de

Eutanasia para animales de experimentación de la Asociación Americana de Médicos Veterinarios año 2007. Para tal efecto se utilizó la técnica de exanguinación mientras las unidades experimentales se encontraban anestesiadas.⁸⁰

7. ORIGEN DEL MEDICAMENTO

Parte del sulfato de gentamicina fue un donativo de laboratorios Vijosa en presentación de viales a una concentración de 80mg/2mL. El resto del medicamento (150 viales) fue comprado al mismo laboratorio bajo las mismas especificaciones.

8. DISEÑO EXPERIMENTAL

8.1 ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN

Se utilizaron conejos machos raza *Nueva Zelanda* procedentes de la Granja “Don Bosco” cuyo peso basal promedio fue de:

- Grupo SHAM: 1.325 kg (peso mínimo 1.2 kg y máximo 2 kg)
- Grupo CONTROL: 1.175 kg (peso mínimo 1 kg y máximo 1.3 kg)
- Grupo DMSO: 1.2125 kg (peso mínimo 1.1 kg y máximo 1.3 kg)

8.2 CONDICIONES DE ALOJAMIENTO

8.2.1. CAJAS METABÓLICAS Y LOCALIZACIÓN

Los conejos permanecieron alojados en cajas metabólicas individuales diseñadas con el propósito de recolectar las heces y orina de los animales produciendo el menor grado de estrés posible. El área de superficie de cada caja metabólica fue de 0.14 m² con una altura de 35.5 cm, de acuerdo a los protocolos establecidos en la literatura científica.⁷⁸ Las cajas metabólicas permanecieron en un sitio alejado de ruido y cualquier otro tipo de estímulo sonoro que generara estrés en los animales de experimentación. (Figura 25A)

8.2.2. ALIMENTACIÓN Y AGUA

Los conejos recibieron alimentación (concentrado comercial para conejo) y agua *ad libitum* por medio de dispensadores individuales instalados previamente en las cajas metabólicas, procurando evitar el derrame del contenido y su eventual mezcla con heces y orina. (Figura 25B, 25C)

8.2.3. ILUMINACIÓN

Los conejos fueron sometidos a ciclos de iluminación y oscuridad de 12 horas respectivamente.

8.2.4. TEMPERATURA

Los conejos se mantuvieron a temperaturas que oscilaron entre los 16°C y 22°C, y en un sitio con adecuada ventilación.⁷⁹

8.3 PROCEDIMIENTO

Se seleccionaron al azar 24 conejos machos aparentemente sanos, raza *Nueva Zelanda*, procedentes de criadero nacional; los cuales fueron transportados en cajas individuales a las instalaciones de experimentación en donde fueron sometidos a un período de adaptación de 6 días. Dicho período se aplicó con el objetivo de identificar cualquier condición patológica observable en los sujetos de experimentación y para lograr una adaptación apropiada de los conejos a sus nuevas condiciones de vida. Una vez en el sitio de experimentación se procedió a la aleatorización de la muestra de acuerdo a los parámetros establecidos previamente.

Cada conejo fue pesado, identificado y colocado en su respectiva caja metabólica para iniciar el registro del GU en mL/kg/hr para lo cual se abrió una ficha individual donde se consignaba cada día el volumen urinario medido por conejo independientemente del grupo experimental al que perteneciera, durante la fase de adaptación y la fase experimental (esquema terapéutico por 5 días mas 2 días de recuperación).

Los conejos fueron distribuidos en tres grupos experimentales diferentes:

- a) Grupo SHAM: constituido por 8 conejos a los cuales únicamente se les administró solución salina normal (SSN) al 0.9% en una dosis de 2 mL/Kg/día IM e IP durante un período de 5 días consecutivos al finalizar la fase de adaptación.
- b) Grupo CONTROL: conformado por 8 conejos a los cuales al terminar la fase de adaptación se les indujo nefrotoxicidad con sulfato de gentamicina a una dosis de 80 mg/Kg/día (dosis diaria) IM por un período de 5 días consecutivos más 2 mL/Kg/día de SSN al 0.9% IP durante el mismo período de tiempo. A este grupo no se le aplicó DMSO.
- c) Grupo DMSO: compuesto por 8 conejos a los cuales se les indujo nefrotoxicidad con sulfato de gentamicina IM utilizando el esquema previamente descrito. Simultáneamente se administró una solución de DMSO al 25% a una dosis de 2ml/Kg/día por vía IP durante el mismo período de tiempo.

Posterior a la finalización de la fase de adaptación (séptimo día) se tomó una muestra basal (M1) de sangre y orina, las cuales se procesaron para la determinación de la Cr-S y NAG-U. Posteriormente, ese mismo día se procedió a la administración de las sustancias correspondientes a cada grupo en virtud de las descripciones señaladas previamente. Al noveno día de experimentación (tercer día de tratamiento) se tomó la segunda muestra (M2) sérica y urinaria para una nueva cuantificación de Cr-S y NAG-U.

Durante el decimotercer día de experimentación se tomó la última muestra (M3) sérica y urinaria luego de 48 horas de haber finalizado el esquema terapéutico con gentamicina. Se procedió a la realización de nefrectomía bilateral previa preparación, asepsia y antisepsia de región operatoria con crema depilatoria, jabón yodado y agua estéril. Se practicó a cada unidad experimental anestesia general con Ketamina a 50 mg/kg/dosis subcutánea (SC) más Xylazina a 10mg/kg/dosis SC, y se infiltró Lidocaína al 2% en el sitio de incisión quirúrgica a nivel paravertebral subcostal. Finalmente se realizó la respectiva eutanasia al realizar una incisión sobre la aorta abdominal y liberar el pedículo vascular renal para exanguinar lo más rápido posible a las unidades experimentales. (Figura 26)



Figura 25. Condiciones de alojamiento, (A) Caja metabólica, (B) Dispensador de agua, (C) Dispensador de comida.

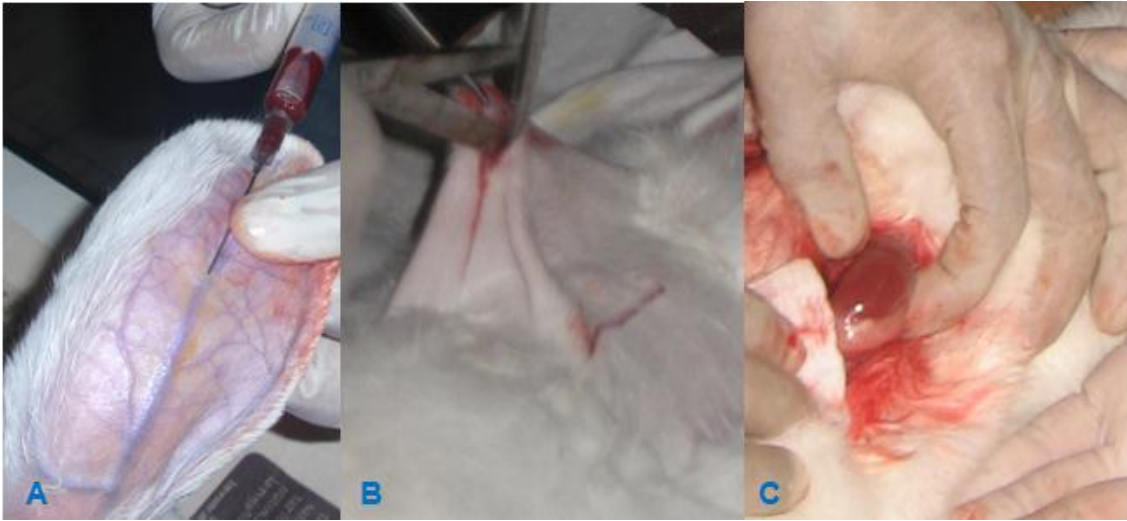


Figura 26. Procedimientos, (A) Toma de muestra sanguínea de la Vena auricular central, (B) Preparación del sitio operatorio e incisión quirúrgica, (C) Abordaje posterior para Nefrectomía bilateral.

RESULTADOS

1. CREATININA SÉRICA (Cr-S)

Cuadro 8. Valores mínimos, máximos y promedio de Cr-S según grupo				
MUESTRA		SHAM	CONTROL	DMSO
M1 BASAL	\bar{X} Cr-S	0.55 mg/dL	0.5 mg/dL	0.61 mg/dL
	(min.-máx.)	(0.42-0.66)	(0.4-0.58)	(0.52-0.70)
M2 INTERMEDIA	\bar{X} Cr-S	0.5 mg/dL	0.45 mg/dL	0.48 mg/dL
	(min.-máx.)	(0.41-0.55)	(0.36-0.56)	(0.42-0.61)
M3 FINAL	\bar{X} Cr-S	0.55 mg/dL	0.72 mg/dL	0.75 mg/dL
	(min.-máx.)	(0.42-0.78)	(0.53-0.96)	(0.64-0.88)

(M1) Primera muestra, (M2) Segunda muestra, (M3) Tercera muestra

La variable Cr-S no mostró normalidad estadística en la totalidad de las muestras. Los valores para M2 del grupo DMSO no obedecieron a una distribución normal para el test D'Agostino-Pearson ($P=0.0181$).

1.1 ANÁLISIS INTRAGRUPPO

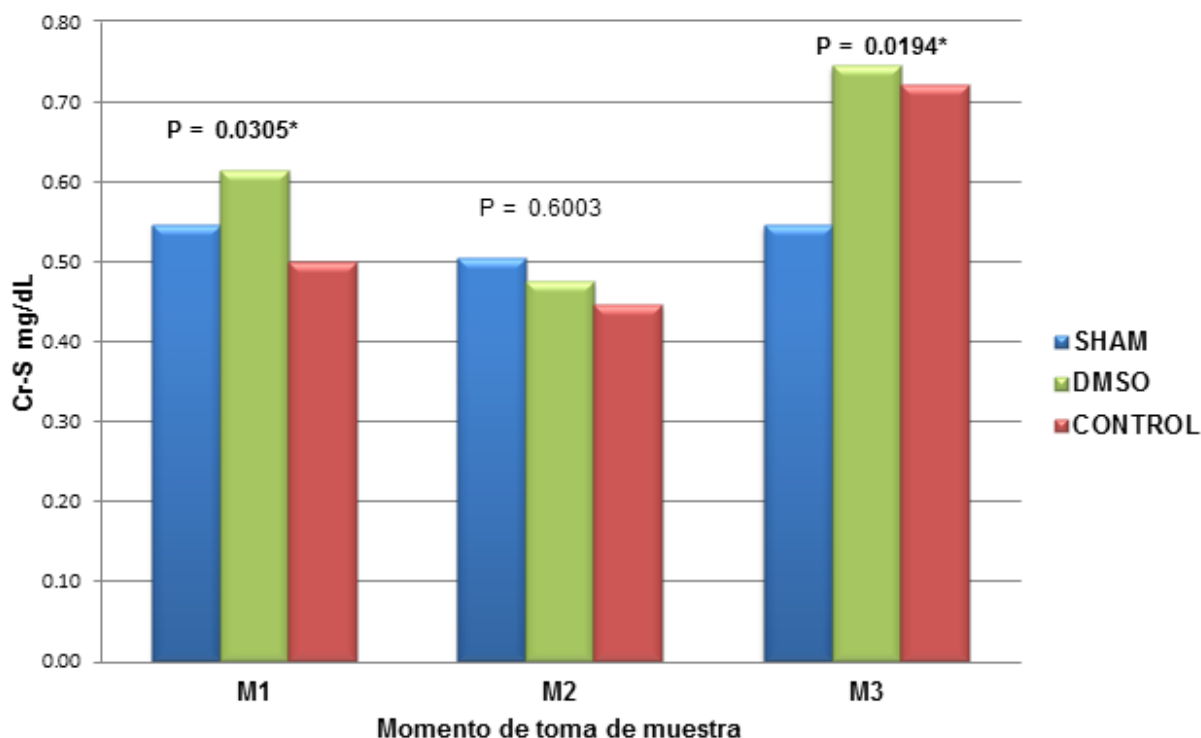
La comparación de Cr-S para los tres momentos se realizó mediante el test de Friedman y post test de Dunn, sin encontrarse diferencia estadísticamente significativa entre los tres momentos de medición dentro del grupo SHAM ($P=0.1495$). Mientras que la comparación de las medias de los valores de Cr-S entre M2 y M3 para las unidades experimentales del grupo CONTROL y DMSO mostraron diferencias muy significativas ($P=0.0099^{**}$ y $P=0.0009^{**}$ respectivamente).

1.2 ANÁLISIS INTERGRUPPO

La aplicación del test Kruskal-Wallis y post test de Dunn, mostró diferencias estadísticas al comparar el grupo CONTROL y DMSO ($P=0.0305$) en M1 (Cr-S basal tras 6 días de adaptación), así como la comparación entre los grupos SHAM y DMSO en M3 ($P=0.0194$) (48 horas posterior a la finalización del esquema de tratamiento). (Gráfico 1)

No se observó diferencia al comparar las medias de Cr-S entre los tres grupos experimentales durante el segundo momento de medición (tercer día del esquema de tratamiento). (Gráfico 1)

Gráfico 1. Creatinina Sérica promedio por grupos según muestra.



1.3 ANÁLISIS PORCENTUAL

El análisis de la brecha porcentual de las medias de Cr-S entre M1 y M3 describen una tendencia al incremento en los grupos CONTROL y DMSO del 44% y 22.95% respectivamente, mientras que el grupo SHAM no presentó variación porcentual entre dichas mediciones. Se observó una tendencia a la baja de las medias de Cr-S entre M1 y M2 para todos los grupos de investigación, siendo esta el doble para el grupo DMSO en relación al grupo CONTROL y SHAM. (Gráfico 2)

1.4 ANÁLISIS SEGÚN LA CLASIFICACIÓN DE RIFLE

Al comparar Cr-S en M1 con M3, el estadio de Riesgo (Risk) de la clasificación RIFLE de Daño Renal, se evidenció en el grupo DMSO y CONTROL en un 25% y 50% respectivamente. La Lesión renal (Injury) fue únicamente detectada en el grupo CONTROL (12.5%). Ninguna de las unidades experimentales cumplió con los criterios para ser clasificada como Falla Renal (Failure). (Gráfico 3)

Gráfico 2. Variación porcentual de la media de Cr-S por grupo

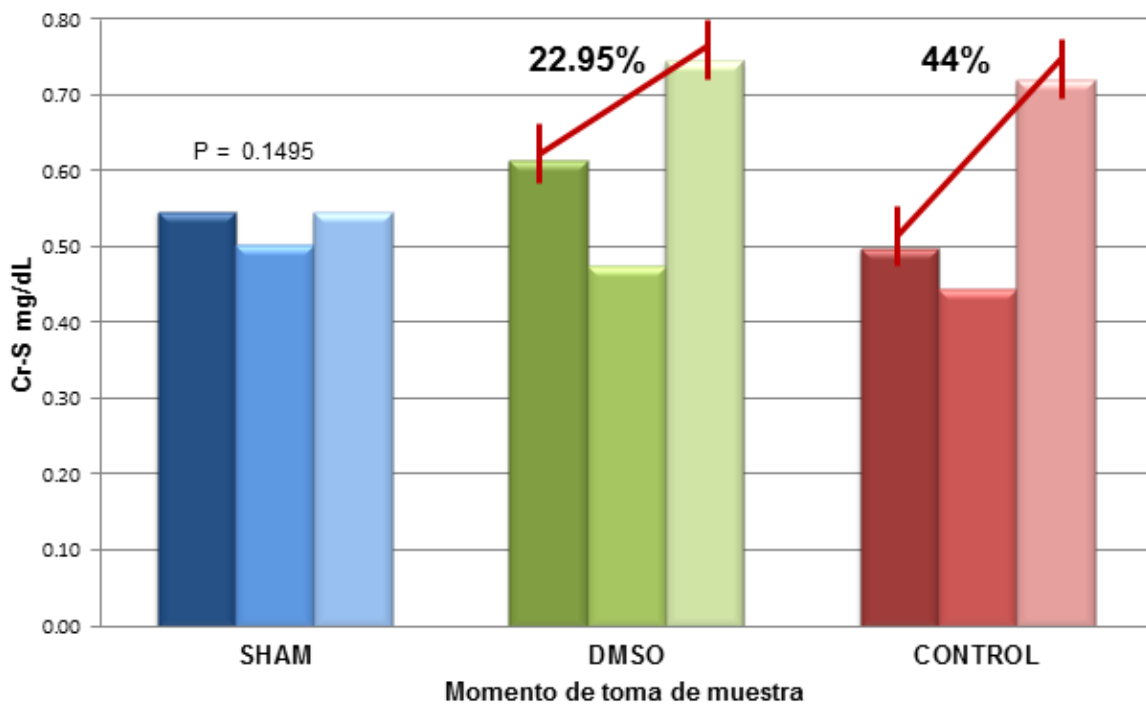
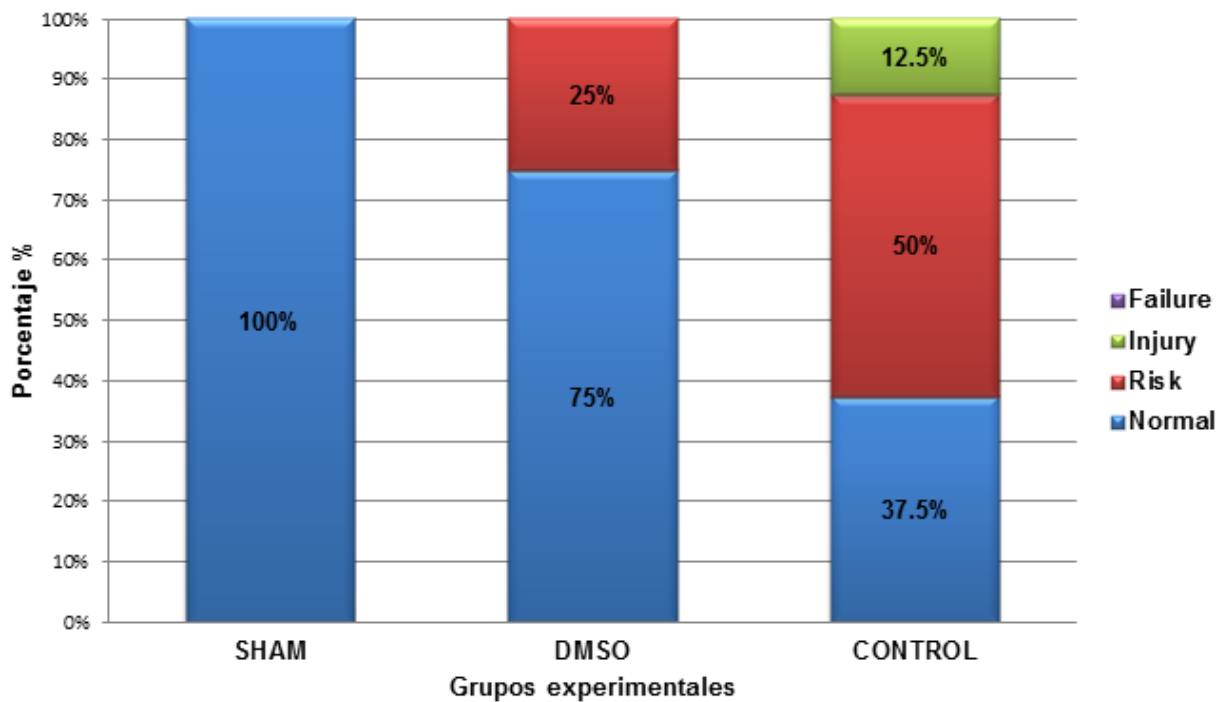


Gráfico 3. Clasificación RIFLE según creatinina sérica por grupo



2. N-ACETIL-B-D-GLUCOSAMINIDASA URINARIA (NAG-U)

Cuadro 9. Valores mínimos, máximos y promedio de NAG-U según grupo				
MUESTRA		SHAM	CONTROL	DMSO
M1 BASAL	\bar{X} NAG-U	0.02 U/L	0.34 U/L	0.0125 U/L
	(min.-máx.)	(0-0.40)	(0-0.75)	(0-0.05)
M2 INTERMEDIA	\bar{X} NAG-U	0.12 U/L	0.36 U/L	0 U/L
	(min.-máx.)	(0-0.25)	(0.15-0.80)	(0-0)
M3 FINAL	\bar{X} NAG-U	0.32 U/L	1.75 U/L	2.97 U/L
	(min.-máx.)	(0.05-0.55)	(0.90-5.15)	(0-9.45)

(M1) Primera muestra, (M2) Segunda muestra, (M3) Tercera muestra

El test D'Agostino-Pearson mostró una distribución no normal, para el grupo CONTROL en M1 (P=0.0027) y M3 (P=0.0002).

2.1 ANÁLISIS INTRAGRUPPO

La comparación de la actividad enzimática urinaria identificó diferencias mediante la aplicación del test de Friedman y post test de Dunn.

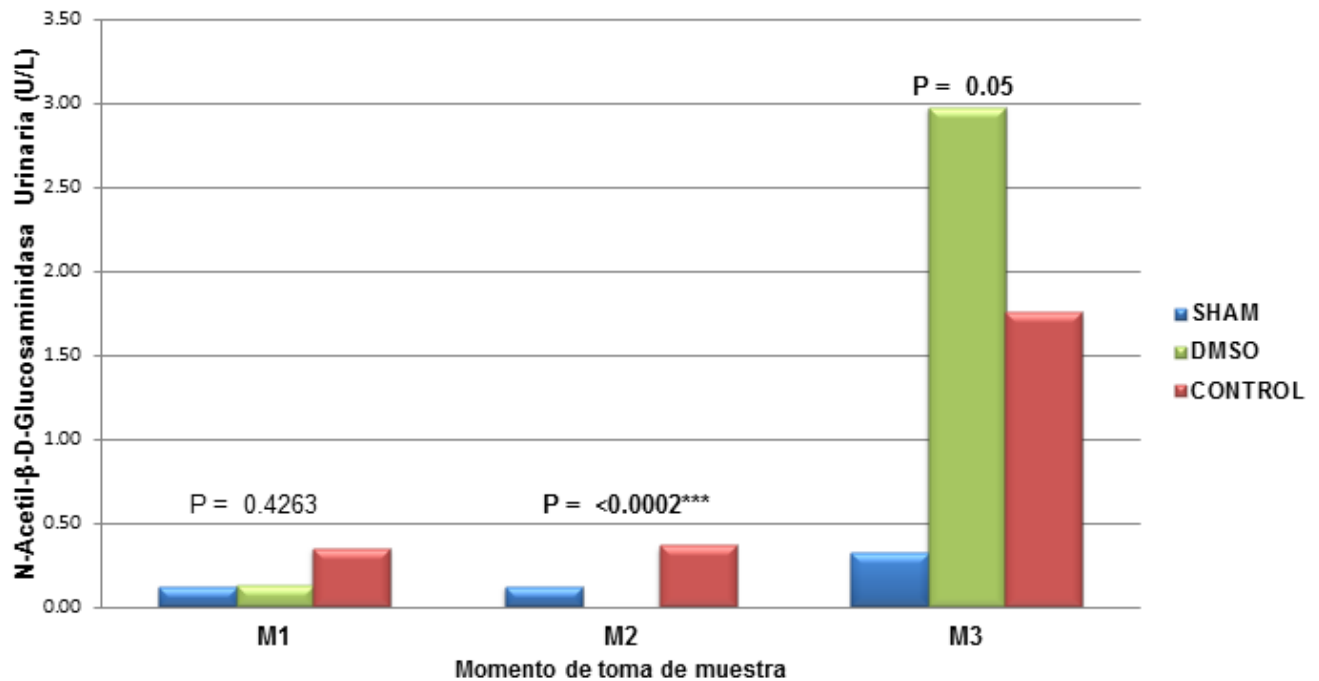
Cuadro 10. Resultados test de Friedman para NAG-U		
GRUPO	COMPARACION [‡]	Valor P [§]
SHAM	M1-M2 M1 - M3 ** M2 - M3 *	<0.0003
DMSO	M1-M2 M1-M3 M2 - M3 *	<0.0132
CONTROL	M1-M2 M1 - M3 *** M2- M3	<0.0001

(M1) Primera muestra, (M2) Segunda muestra, (M3) Tercera muestra

[§] Valor P para el Test de Friedman

[‡] Comparación según el Test de Dunn (*=P<0.05, **=P<0.001, ***=P<0.0001)

Gráfico 4. N-Acetil-β-D-Glucosaminidasa Urinaria promedio por grupos según muestra



2.2 ANÁLISIS INTERGRUPO

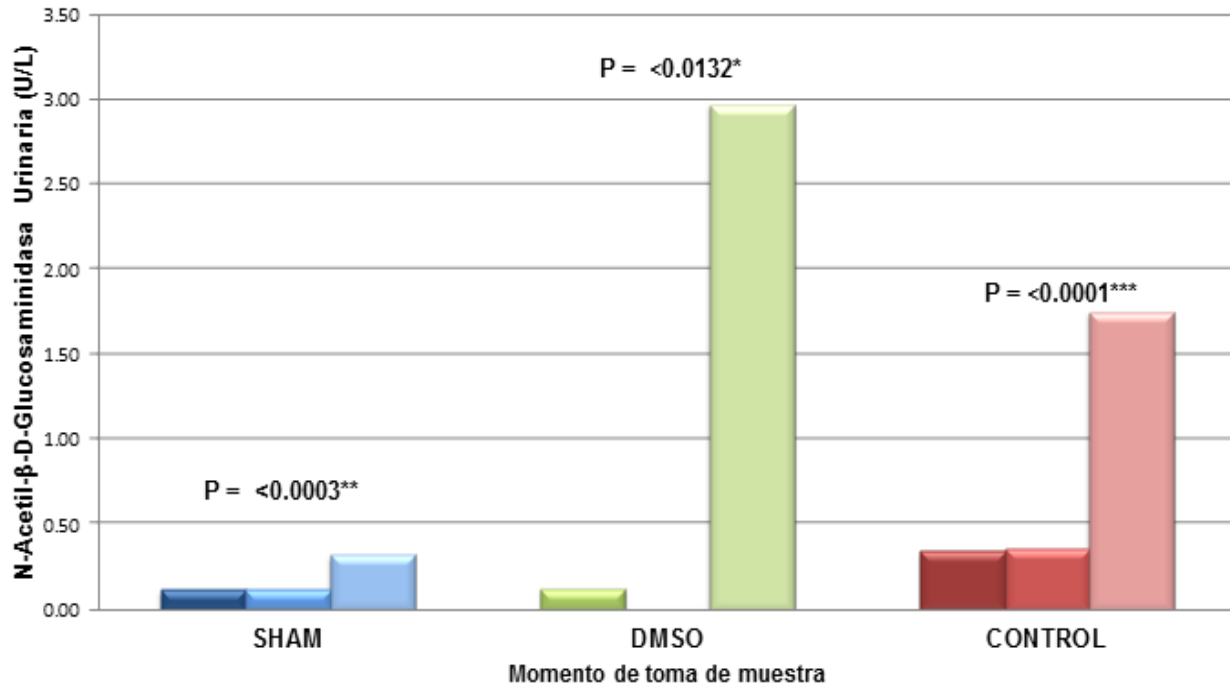
Cuadro 11. Resultados test de Kruskal-Wallis para NAG-U		
MUESTRA	COMPARACION [‡]	VALOR P [§]
M1 BASAL	CONTROL VS SHAM CONTROL VS DMSO SHAM VS DMSO	0.4263
M2 INTERMEDIA	CONTROL VS SHAM CONTROL VS DMSO *** SHAM VS DMSO	<0.0002
M3 FINAL	CONTROL VS SHAM * CONTROL VS DMSO SHAM VS DMSO	0.0522

(M1) Primera muestra, (M2) Segunda muestra, (M3) Tercera muestra

[§] Valor P para el Test de Kruskal-Wallis

[‡] Comparación según el Test de Dunn (*=P<0.05, **=P<0.001, ***=P<0.0001)

Gráfico 5. N-Acetil-β-D-Glucosaminidasa Urinaria promedio por muestras según grupo



2.3 ANÁLISIS DIFERENCIAL

Se constata que para M3 el promedio del NAG-U en el grupo DMSO y CONTROL fue 5.5 y 9.3 veces mayor al obtenido para el grupo SHAM. Por lo cual el valor promedio del NAG-U en M3 para el grupo DMSO es 1.7 veces superior al del grupo CONTROL.

Cuadro 12. Incremento de la NAG-U media por grupo	
GRUPO	Δ (M3-M1)
SHAM	0.28996 U/L
CONTROL	1.71003 U/L
DMSO	2.9565 U/L

(M1) Primera muestra, (M3) Tercera muestra
 Δ Diferencia entre M3 y M1
 (NAG-U) N-Acetil-B-D-Glucosaminidasa urinaria

3. GASTO URINARIO (GU)

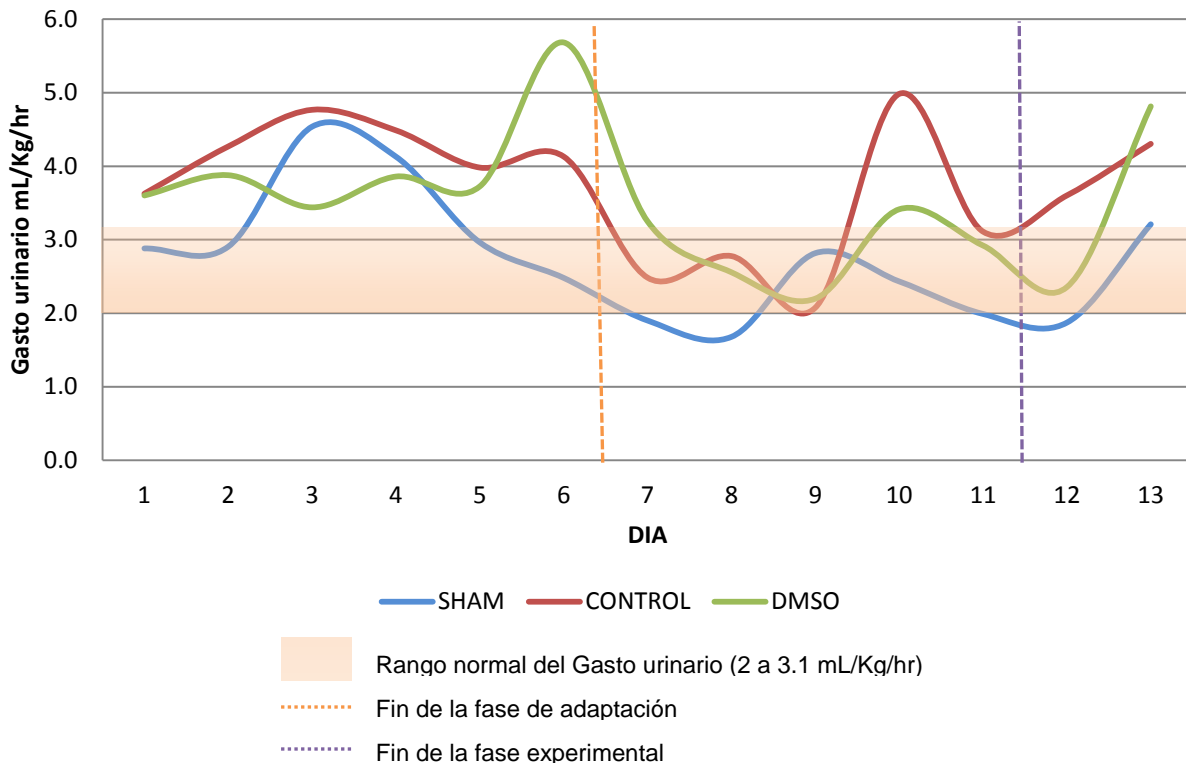
Durante el desarrollo del estudio fue posible constatar errores en la construcción de las cajas metabólicas, de tal forma que todas las unidades experimentales sufrieron fugas no cuantificables de orina, motivo por el cual no se utilizaron instrumentos estadísticos para su análisis. No obstante, se realizó un análisis comparativo de la media del GU diario por grupo experimental.

Cuadro 13. Gasto urinario promedio en mL/kg/hr según grupo experimental				
FASE	DIA	SHAM	CONTROL	DMSO
ADAPTACION	1	2.9	3.6	3.6
	2	2.9	4.3	3.9
	3	4.5	4.8	3.4
	4	4.1	4.5	3.9
	5	3.0	4.0	3.7
	6	2.5	4.1	5.7
EXPERIMENTAL	7	1.9	2.5	3.2
	8	1.7	2.8	2.6
	9	2.8	2.1	2.2
	10	2.4	5.0	3.4
	11	2.0	3.1	2.9
RECUPERACION	12	1.9	3.6	2.4
	13	3.2	4.3	4.8

Al realizar un análisis comparativo del GU promedio diario entre los diferentes grupos experimentales se pudo observar que durante el período de adaptación (primeros 6 días) se presentaron niveles de diuresis entre 3.5 y 5.5 mL/kg/hr, con una tendencia hacia la poliuria.

Posteriormente se observó una disminución en el GU al alcanzar valores normales (2 a 3.1 mL/kg/hr) al finalizar la fase de adaptación. Dicha tendencia se mantuvo hasta el tercer día de administración de gentamicina a partir del cual se constata un alza en el GU para el grupo CONTROL primordialmente. Con respecto al grupo SHAM se evidencia una tendencia del GU a mantenerse dentro del corredor de la normalidad hasta el decimotercer día. (Gráfico 6)

Gráfico 6. Gasto urinario promedio por grupo y día



4. HISTOPATOLOGÍA RENAL (HPR)

4.1 ANÁLISIS DESCRIPTIVO

Durante la evaluación macroscópica inicial de los riñones no se encontró ninguna alteración anatómica evidente que justificara la exclusión de alguna de las unidades experimentales.

4.1.1 HALLAZGOS INCIDENTALES

Los resultados del análisis de la HPR por microscopía de luz indican que el 100% de las unidades experimentales presentaban microquistes (Figura 27) e infiltración grasa del parénquima renal (Figura 28), así como hallazgos de dilatación y congestión vascular glomerular (Figura 29). Cabe destacar la presencia de Hematoma renal con hemorragia parenquimatosa en 1 de los sujetos del grupo SHAM (Figura 30) y 2 de los sujetos pertenecientes al grupo CONTROL de probable etiología traumática. Se observó necrosis glomerular en una de las unidades experimentales del grupo CONTROL (12.5%).

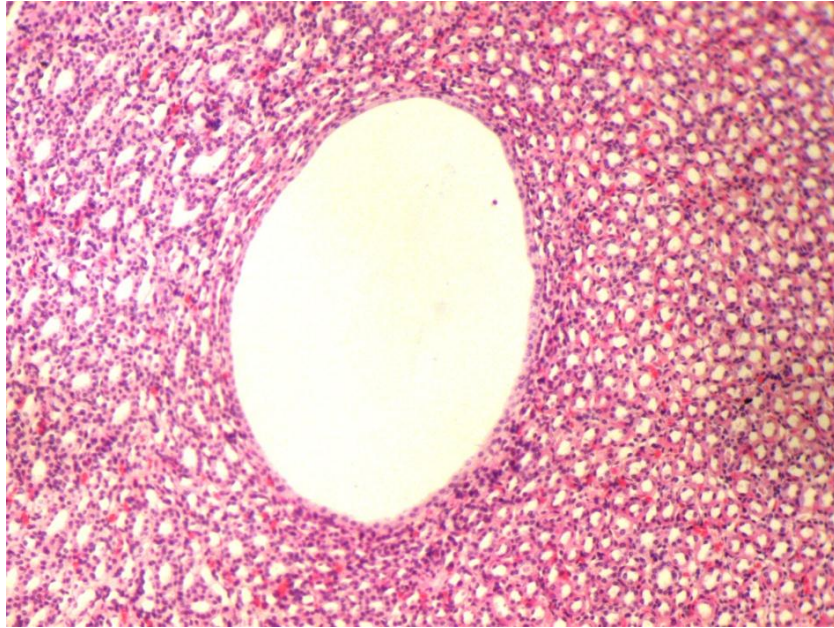


Figura 27. Microquiste renal (Riñón derecho del Conejo #6 del grupo SHAM; x4, H&E)

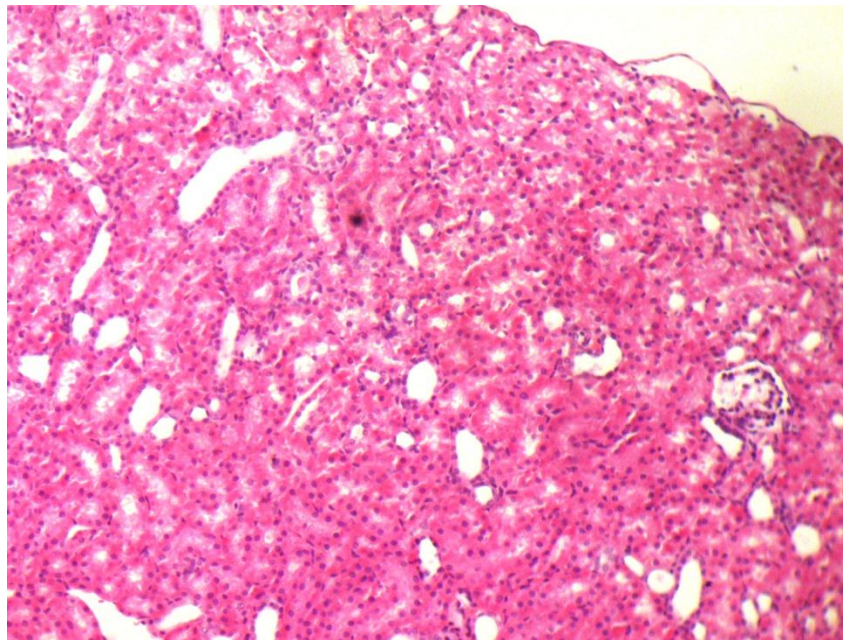


Figura 28. Infiltración grasa del parénquima renal (Riñón derecho del Conejo #8 del grupo SHAM; 10x, H&E)

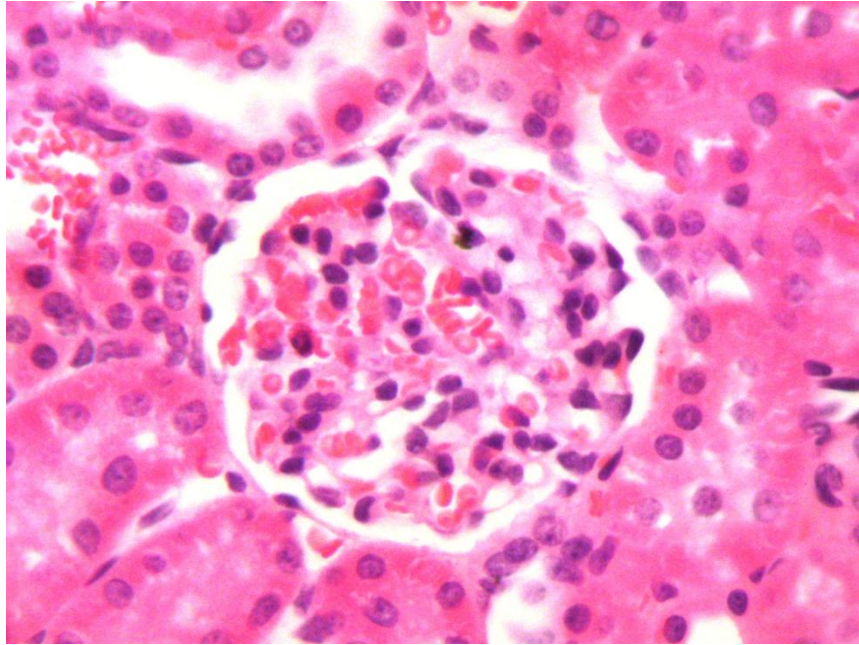


Figura 29. Congestión y dilatación de los vasos glomerulares (Riñón izquierdo del Conejo #1 del grupo SHAM; x40, H&E)

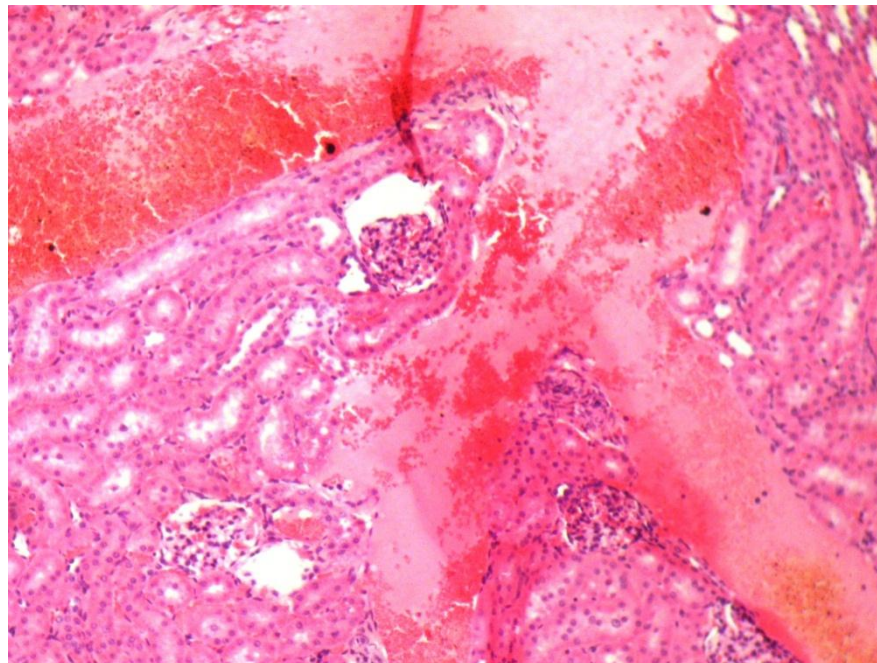
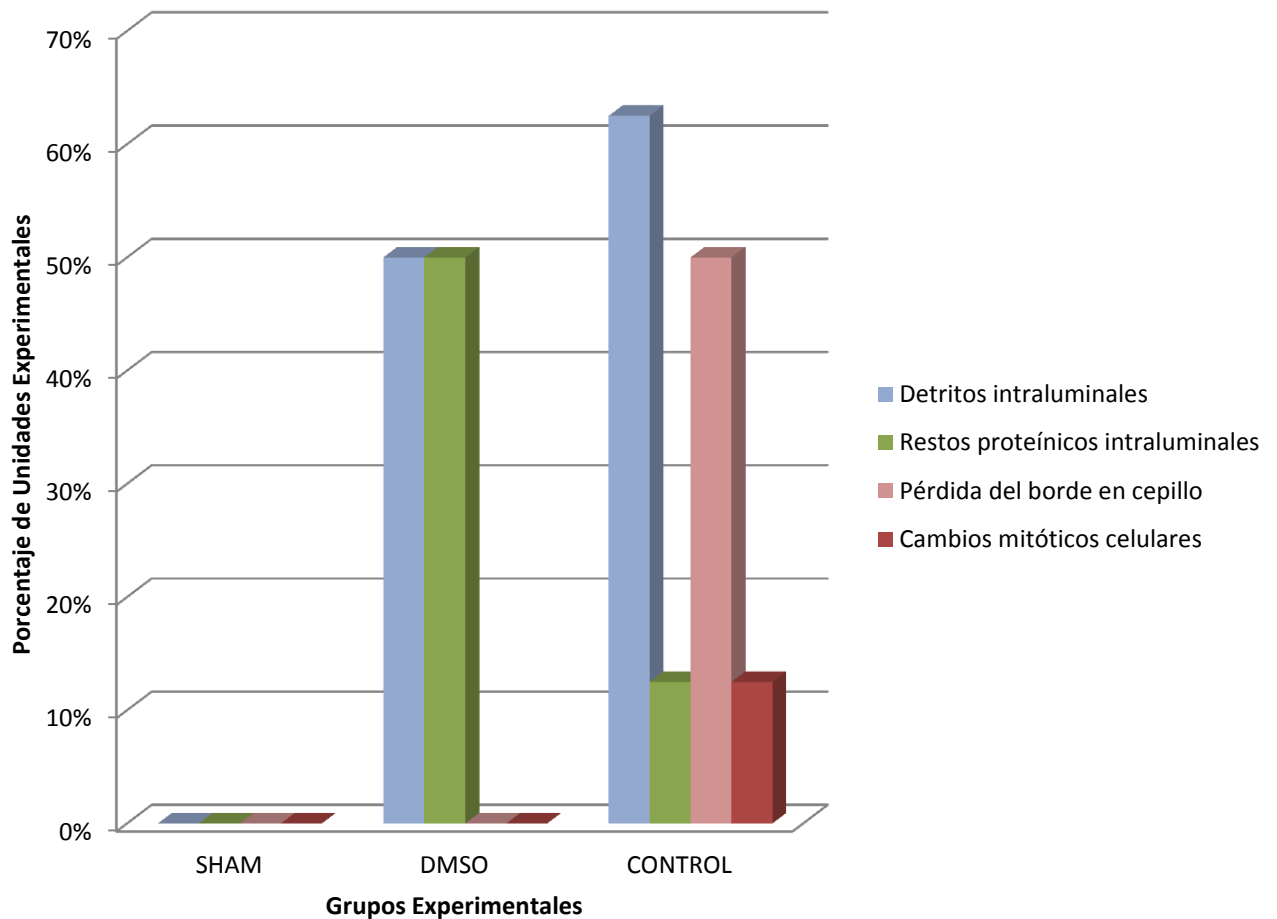


Figura 30. Hematoma renal con hemorragia parenquimatosa (Riñón izquierdo del Conejo #7 del grupo SHAM; 10x, H&E)

4.1.2 OTROS HALLAZGOS DE NTA

Se identificaron detritos celulares (Figura 31) y restos proteínicos intraluminales (Figura 32), pérdida del borde en cepillo (Figura 33) y cambios mitóticos (Figura 34) en los sujetos del grupo CONTROL (Gráfico 7). Adicionalmente, se pudo observar aplanamiento o atenuación de las células epiteliales tubulares (Figura 31), presencia de cilindros hialinos intraluminales (Figura 35), y dilatación tubular.

Gráfico 7. Cambios patológicos tubulares renales



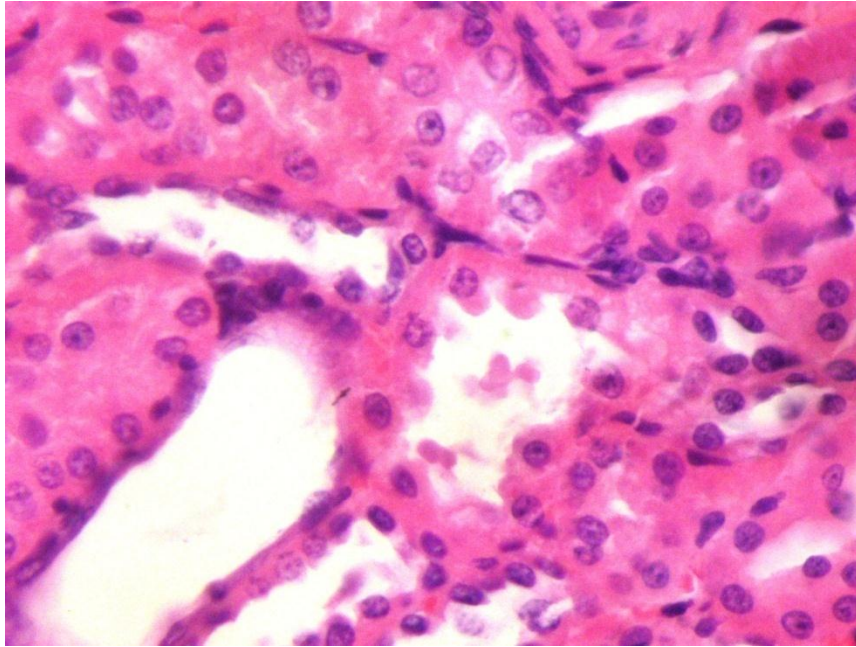


Figura 31. Detritos celulares y aplanamiento o atenuación de células epiteliales tubulares (Riñón derecho del Conejo #2 del grupo CONTROL; x40, H&E)

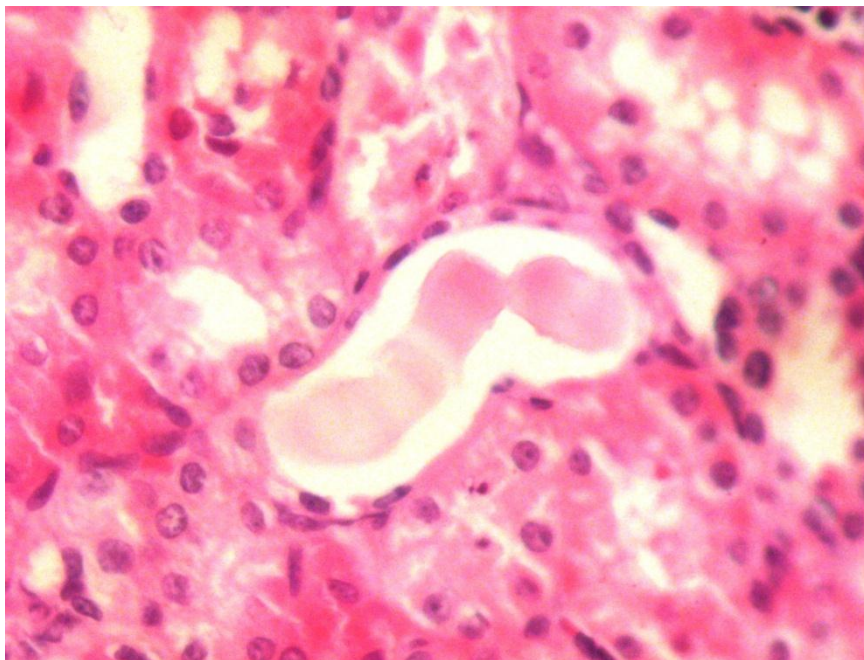


Figura 32. Restos proteínicos intraluminales (Riñón izquierdo del Conejo #2 del grupo DMSO; x40, H&E)

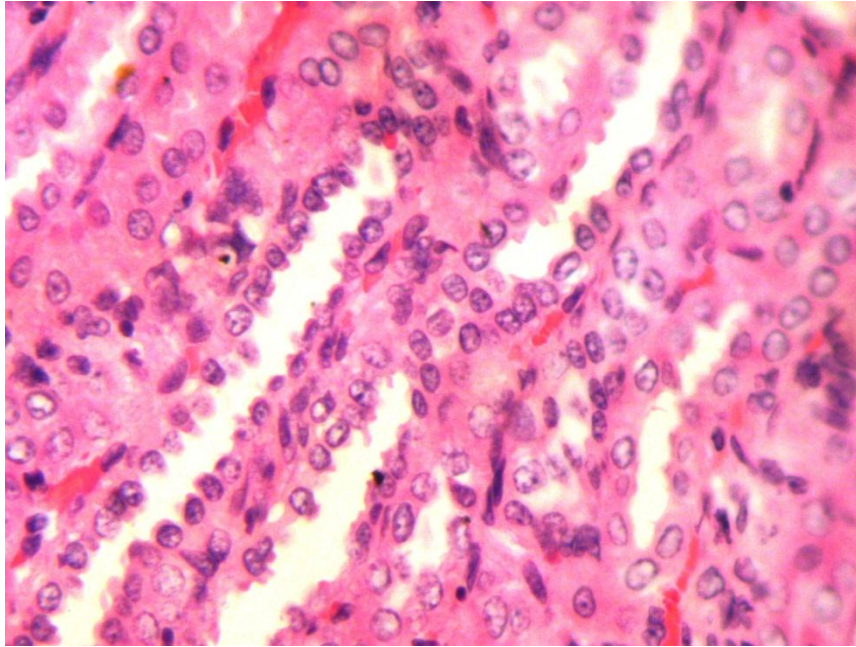


Figura 33. Descamación tubular y pérdida del borde en cepillo (Riñón izquierdo del Conejo #1 del grupo CONTROL; x40, H&E)

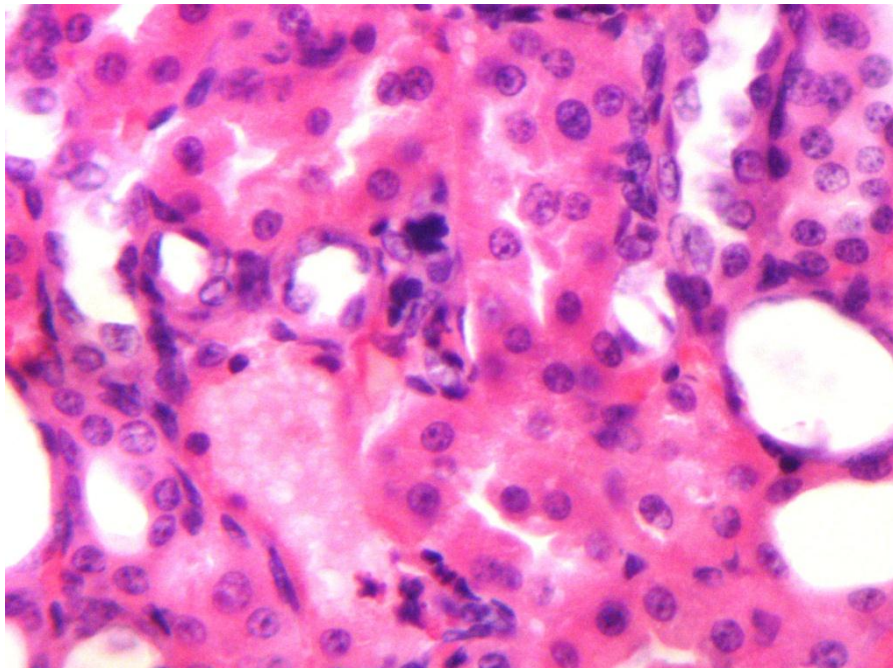


Figura 34. Cambios mitóticos de las células epiteliales tubulares (Riñón derecho del Conejo #6 del grupo CONTROL; x40, H&E)

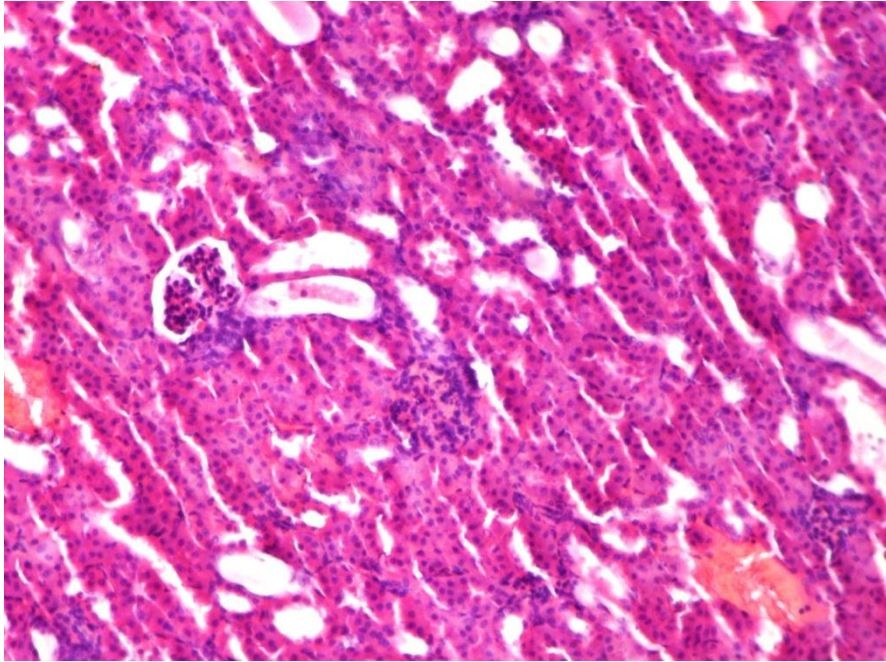
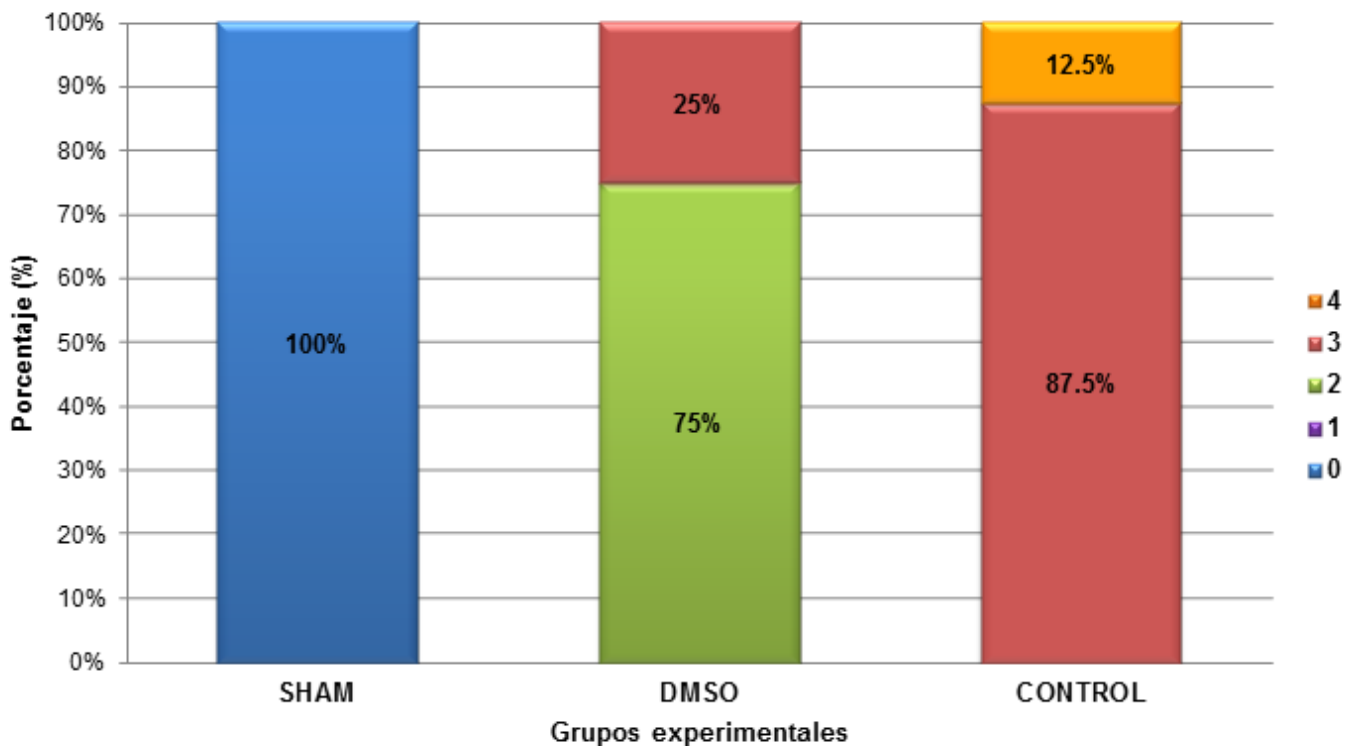


Figura 35. Cilindros hialinos intraluminales (Riñón derecho del Conejo #6 del grupo CONTROL; x10, H&E)

4.1.3 ESTADIFICACIÓN DE DAÑO TUBULAR PROXIMAL

La evaluación histopatológica de daño tubular se verificó mediante la escala propuesta por Houghton & cols ²⁹. Según la escala se evidenció que un 87.5% de las unidades pertenecientes al grupo CONTROL presentaban necrosis tubular aguda en más del 50% de los túbulos renales proximales en comparación con un 25% de las unidades experimentales del grupo DMSO. El máximo grado de necrosis tubular aguda fue observado exclusivamente en un 12.5% de las unidades experimentales pertenecientes al grupo CONTROL. (Gráfico 8)

Gráfico 8. Distribución porcentual del grado de daño tubular proximal por grupo



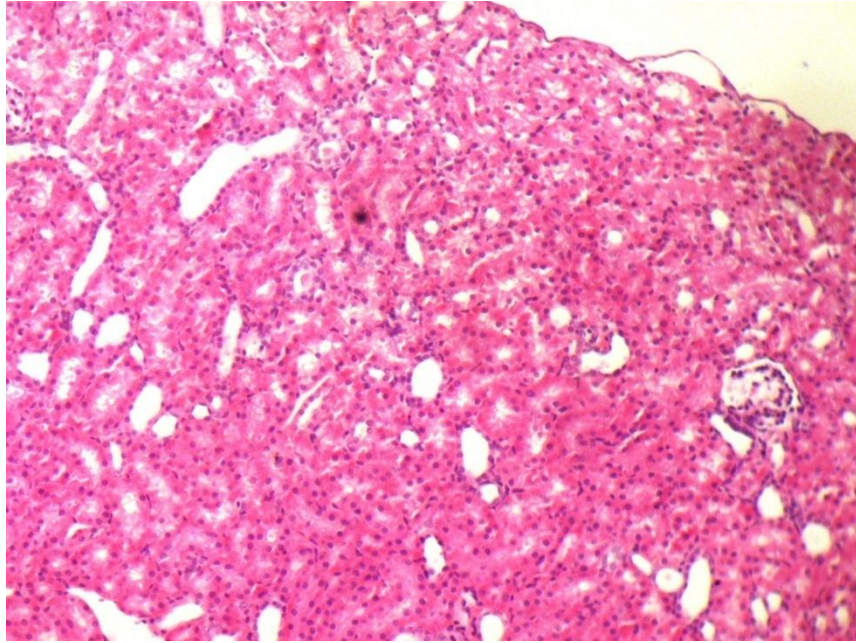


Figura 36. Histología renal normal correspondiente al Grado 0 de la Escala de Daño tubular renal de Houghton & cols (Riñón derecho del Conejo #8 del grupo SHAM; x10, H&E)

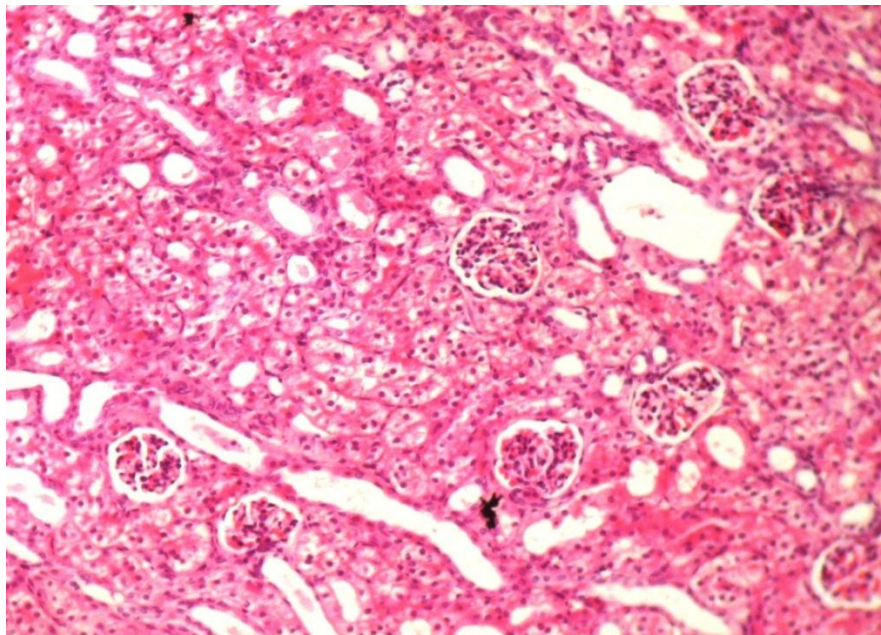


Figura 37. Necrosis tubular epitelial <50%, correspondiente al Grado 2 de Daño tubular renal según la escala de Houghton & cols (Riñón derecho del Conejo #3 del grupo DMSO; x10, H&E)

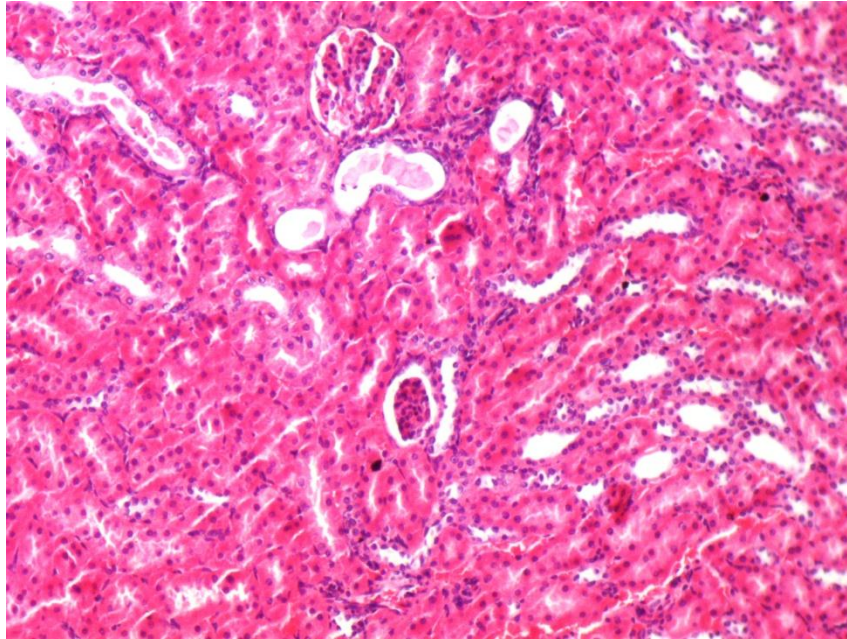


Figura 38. Necrosis tubular epitelial >50%, correspondiente al Grado 3 de Daño tubular renal según la escala de Houghton & cols (Riñón izquierdo del Conejo #8 del grupo DMSO; 10x, H&E)

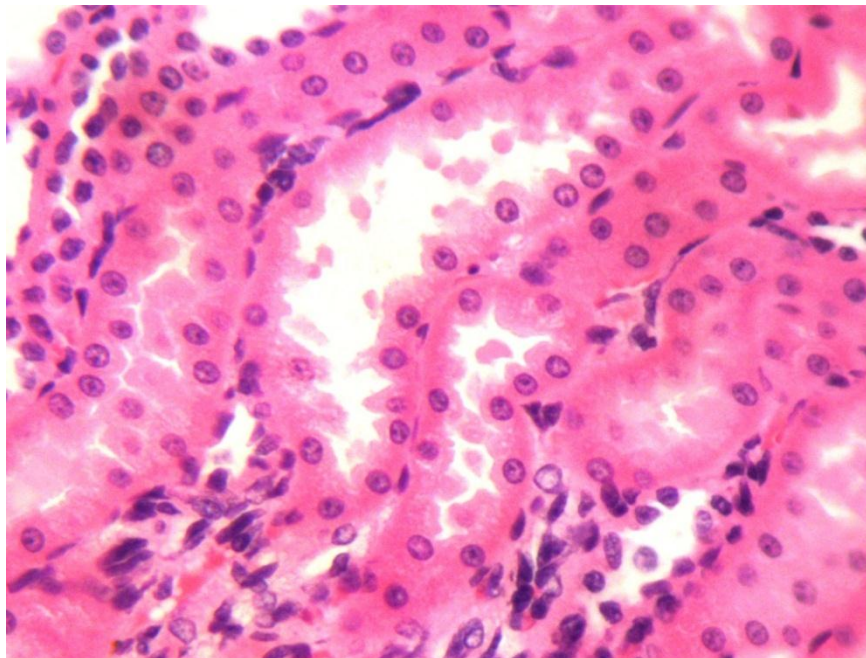


Figura 39. Necrosis y descamación de túbulo proximales > 50%, correspondiente al grado 3 de Daño tubular proximal según la escala de Houghton & cols (Riñón derecho del Conejo #8 del grupo CONTROL; x40, H&E)

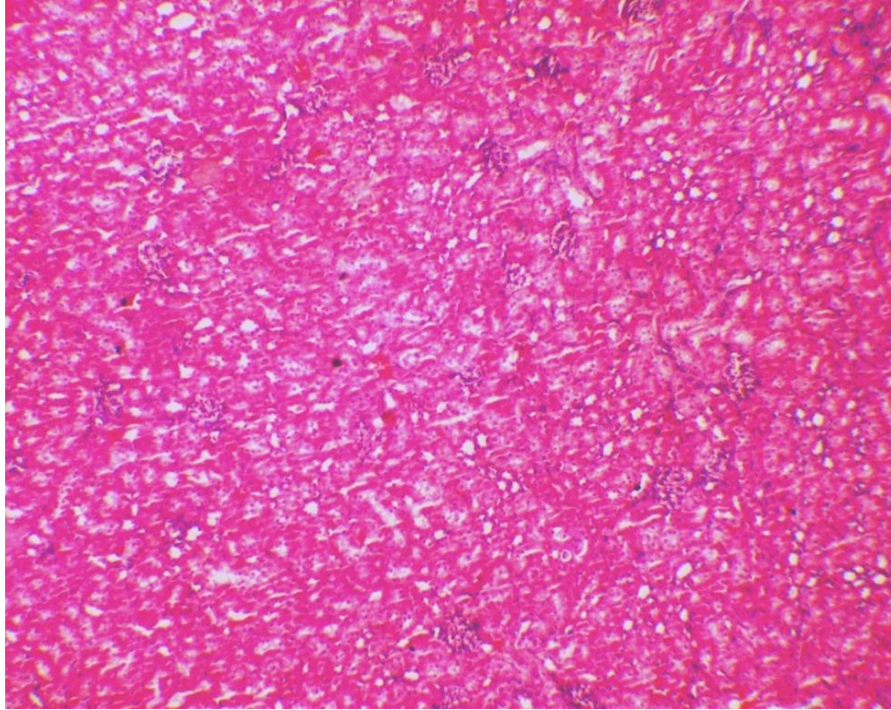


Figura 40. Necrosis tubular proximal casi total, correspondiente al grado 4 de Daño tubular proximal según la escala de Houghton & cols (Riñón derecho del Conejo #4 del grupo CONTROL; x4, H&E)

4.1.4 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Se realizó análisis estadístico de normalidad a través del Test D'Agostino-Pearson, encontrándose que el grupo CONTROL no obedece a una distribución Gaussiana ($P < 0.0001$), motivo por el cual se le dio tratamiento no paramétrico con el Test de Kruskal Wallis y post test de Dunn.

Cuadro 14. Resultados test de Kruskal-Wallis para HPR	
COMPARACION [‡]	Valor P [§]
SHAM vs CONTROL ***	< 0.05
SHAM vs DMSO *	< 0.05
CONTROL vs DMSO	>0.05

[§] Valor P para el Test de Kruskal-Wallis

[‡] Comparación según el Test de Dunn (*= $P < 0.05$, **= $P < 0.001$, ***= $P < 0.0001$) (HPR) Histopatología renal

El grado de daño tubular proximal renal correspondiente a la mediana para el grupo CONTROL y grupo DMSO, fue de 3 y 2 respectivamente.

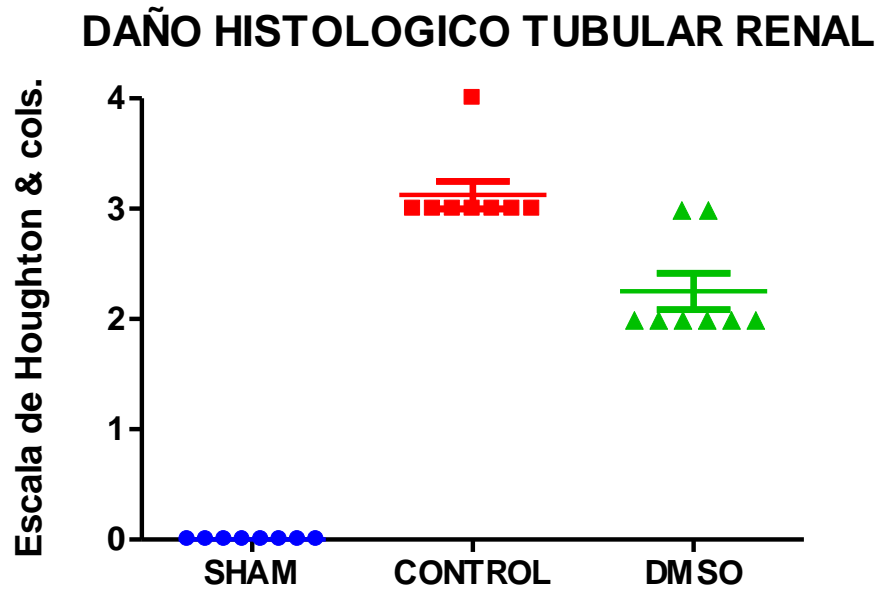


Gráfico 9. Daño histológico tubular renal por grupo.

DISCUSIÓN

Los aminoglicósidos han sido considerados durante mucho tiempo como una de las causas más frecuentes de nefrotoxicidad inducida por medicamentos. Aunque en las últimas décadas se ha evidenciado un avance significativo en el uso clínico de los mismos, todavía se conoce muy poco sobre su perfil de seguridad en comparación con otros antibióticos de amplio espectro.⁸ Uno de los aminoglicósidos de mayor uso en la práctica clínica es la gentamicina, medicamento que pese a sus ya conocidos efectos nefrotóxicos, continua siendo indicado, debido a su amplio espectro de actividad contra infecciones por bacterias gram negativas causadas por especies de *Pseudomonas*, *Proteus* y *Serratia*.³

La literatura médica sugiere la mediación de los radicales libres de oxígeno en la fisiopatología del daño renal inducido por gentamicina; específicamente a partir del peróxido de hidrógeno y anión superóxido.⁵ De igual manera, existe evidencia que demuestra la utilidad del DMSO como agente nefroprotector en el daño renal por isquemia reperfusión^{81,82,83} y en el daño renal por toxicidad inducida² debido a sus propiedades como barrador de radicales libres.

El propósito del presente estudio fue establecer un modelo animal de nefrotoxicidad inducida por gentamicina y determinar el potencial efecto del DMSO como agente nefroprotector. De acuerdo con la evidencia documental disponible, se han descrito múltiples modelos animales de nefrotoxicidad inducida por gentamicina. Según Abu-Spetan y cols, el protocolo terapéutico de gentamicina a una dosis de 80 mg/kg/día por vía IM durante un período de 5 días consecutivos es capaz de producir un nivel considerable de nefrotoxicidad en conejos sin llegar a alcanzar los niveles de letalidad; motivo por el cual dicho protocolo se reprodujo en las unidades experimentales.⁴⁷ Existe numerosa evidencia que respalda la reproducción de esquemas terapéuticos similares, de acuerdo con los resultados descritos por Ali BH y col. y por Said MM.^{48,49} Por otro lado, se sabe que un incremento en las dosis del medicamento y duración del tratamiento podría conllevar a resultados desfavorables; según lo reportado por Walker PD y cols., quienes aplicaron un protocolo de nefrotoxicidad por gentamicina a dosis de 100 mg/kg/día SC durante 8 días consecutivos, presentando una elevada tasa de mortalidad en las unidades experimentales respectivas.⁵⁸

La validez del modelo se verificó en el comportamiento ascendente de los valores de Cr-S, el cual fue evidente en el grupo CONTROL ($P=0.0099^{**}$) y en el grupo DMSO ($P=0.0009^{**}$) mas no en el grupo SHAM, cuyas unidades experimentales no presentaron diferencias estadísticamente significativas en ninguno de los tres momentos de medición ($P=0.1495$). La estadificación histopatológica del daño renal se realizó de acuerdo a la escala establecida por Houghton y cols., según la cual fue posible constatar la existencia de diferencias significativas al comparar los resultados histopatológicos del grupo SHAM con el resto de grupos ($P < 0.05$), cuyas unidades experimentales presentaron lesión renal aguda, en especial las pertenecientes al grupo CONTROL. Existe evidencia adicional en la literatura

científica que respalda la utilización de dicha escala de evaluación histopatológica para la estadificación del daño renal.⁵⁸ En las unidades experimentales del grupo CONTROL fue posible identificar degeneración y necrosis de células epiteliales tubulares individuales, pérdida del borde en cepillo, adelgazamiento del epitelio tubular, dilatación del lumen tubular, presencia de cilindros hialinos en túbulo distales, detritos celulares en el lumen tubular y la presencia de mitosis celulares en las células tubulares epiteliales; los cuales concuerdan con las descripciones realizadas por Jennette JC y cols. así como por Racusen y cols. en relación a la NTA.^{25,26} A pesar de no existir una diferencia estadísticamente significativa entre ambos grupos, se observó que el grupo DMSO presentó una menor proporción de alteraciones histopatológicas en comparación a las descritas para el grupo CONTROL.

Los hallazgos anteriormente descritos son comparables con los reportados por otros autores, en los cuales se evidencia nefrotoxicidad notoria (según incremento de la Cr-S) y necrosis tubular aguda a la evaluación histopatológica al utilizar protocolos de gentamicina a dosis de 80mg/kg/día durante 5 días y 100 mg/kg/día durante 6 días consecutivos respectivamente.^{2,47}

Cabe destacar que los hallazgos histopatológicos del presente estudio demuestran que el efecto protector del DMSO no resultó ser lo suficientemente significativo como para evitar por completo el desarrollo de nefrotoxicidad. No obstante y pese a ello, resulta evidente que la estadificación histopatológica de las unidades experimentales del grupo DMSO es menor en comparación a la observada en el grupo CONTROL, lo cual a su vez proporciona un claro indicio de la efectividad parcial de dicha sustancia como agente nefroprotector. En términos generales, el grado 3 (NTA en más del 50% de los túbulo renales) fue el más frecuente para las unidades experimentales del grupo CONTROL; en comparación con el grupo DMSO, cuyo grado más frecuente fue el 2 (NTA en menos del 50% de los túbulo renales).

Al convertir los resultados obtenidos de la Cr-S bajo los criterios de la clasificación RIFLE de daño renal, se observa que únicamente las unidades experimentales del grupo CONTROL desarrollaron Lesión Renal Aguda (12.5%) mientras que algunas de las unidades experimentales del grupo DMSO se clasificaron en Riesgo (25%). Lo anterior demuestra nuevamente la validez del modelo animal de nefrotoxicidad y sugiere que el DMSO es capaz de aminorar (mas no evitar) el daño renal inducido por gentamicina, cuando menos a la concentración y dosis empleadas en el presente estudio. Consideraciones similares pueden realizarse al valorar el incremento porcentual en los niveles de Cr-S en la última medición (M3) en donde resulta evidente que el grupo DMSO presentó un menor porcentaje de incremento (22.95%) en comparación al grupo CONTROL (44%). Estos hallazgos son comparables a los reportados por Walker PD y cols. quienes demostraron que la administración de DMSO en ratas presenta diferencias significativas al compararse con el grupo control, sin presentar además ningún tipo de anomalías a la evaluación histopatológica.⁵⁸

Se sabe que la Cr-S es considerada una prueba de baja sensibilidad para la detección de lesiones intrarenales tempranas, motivo por el cual resulta necesaria la determinación de marcadores específicos a nivel tubular renal proximal como en el caso del NAG urinario.^{84,21} Las mediciones de actividad enzimática de NAG urinario presentan un comportamiento similar al observado en los niveles de Cr-S, con una tendencia a la estabilidad en las unidades experimentales del grupo SHAM, contrario a la elevación observada en el grupo CONTROL y DMSO. A pesar de presentarse una diferencia estadísticamente significativa entre el primer y tercer momento de medición (M1 y M3) para el grupo SHAM, al comparar las medias del NAG urinario, se pudo observar que la elevación del mismo fue despreciable. Asimismo, se constató que el grupo CONTROL tuvo un incremento en la actividad enzimática de 5.49 veces más en comparación al grupo SHAM, mientras que el grupo DMSO presentó un incremento de 9.31 veces más en comparación al grupo SHAM. Estos hallazgos no son compatibles con las tendencias encontradas en el resto de variables en estudio para el grupo DMSO y podrían estar asociados con la capacidad del DMSO para alterar sistemas enzimáticos, tal y como lo demostraron Don y Julianne Wood en 1975, quienes describieron que los sistemas enzimáticos pueden verse afectados al entrar en contacto con el DMSO, de tal manera que este último puede en algunos casos potenciar su actividad catalítica, en otros disminuirla y en otros casos no afectarla en absoluto.⁸⁵ Esto se correlaciona con lo descrito por Rammler en 1967, quien encontró que debido a su capacidad reductora, el DMSO podría afectar los sistemas enzimáticos que involucran a las especies reactivas de oxígeno.⁸⁶ Finalmente, Moureau demostró en 1979, que el DMSO es capaz de interferir en la lectura de la N-Acetilglucosamina al realizar determinación colorimétrica por espectrofotometría.⁸⁷ Las aseveraciones previas generan una explicación lógica al incremento excesivo del NAG urinario observado en el grupo DMSO; teniendo en consideración que la medición de dicha enzima se realizó mediante una técnica muy similar.

El gasto urinario indica la presencia de una tendencia poliúrica durante la fase de adaptación (primeros 6 días) que posteriormente tiende a la estabilidad. Pese a que este fenómeno no ha sido descrito previamente, se podría sugerir una potencial relación entre niveles elevados de estrés con un incremento inicial de la diuresis. El incremento considerable del gasto urinario observado en los grupos CONTROL y DMSO posterior a la última dosis de gentamicina (M3) sugiere la presencia de una fase poliúrica como una consecuencia directa de dicho antibiótico a nivel renal; de acuerdo con la evidencia reportada por Quirós y cols. quienes describen la instauración de una fase no oligúrica o inclusive poliúrica, asociada a la nefrotoxicidad por gentamicina.⁴⁰ Dichos resultados también han sido confirmados por Pedraza-Chaverrí y cols.⁸⁸ Estos hallazgos nuevamente sugieren que el efecto protector del DMSO no resulta ser lo suficientemente significativo. Contrario a estos resultados, cabe destacar lo descrito por De la Cruz Rodríguez y cols. quienes observaron la instauración de una fase oligúrica posterior al tratamiento con gentamicina.⁵⁰

Resulta evidente que el DMSO administrado a una concentración del 25% no pudo evitar el daño renal en su totalidad, ante lo cual resultaría oportuno valorar un incremento en la concentración terapéutica y dosis del mismo para futuras investigaciones. Ali BH y col han reportado la efectividad del DMSO como agente nefroprotector en relación a la concentración del mismo y a la dosis de gentamicina aplicada, de tal manera que los grupos tratados con gentamicina a dosis de 50 mg/kg/día y 100 mg/kg/día presentaron mejorías significativas al utilizar DMSO a concentraciones del 25% y 50% respectivamente, siendo este indicado cuatro días previos al inicio de la antibioticoterapia.² Lo anterior sugiere que la administración terapéutica de dicha sustancia a una concentración del 40% probablemente incida en mejores resultados a nivel renal. Sin embargo, es necesario someter a consideración la evidencia disponible sobre los efectos adversos asociados al uso del DMSO en concentraciones del 50% o más; dentro de los cuales se han descrito hemólisis intravascular instantánea y precipitación del fibrinógeno; mientras que concentraciones al 100% han generado lesión acentuada endotelial y aglutinación de eritrocitos.⁶³

Los hallazgos reportados en el presente estudio establecen un evidente efecto nefrotóxico de la gentamicina de acuerdo al esquema establecido. Pese a la naturaleza multifactorial del daño inducido por este antibiótico a nivel renal, se sabe que la liberación de radicales libres de oxígeno juega un papel determinante en la fisiopatología del mismo, razón por la cual es posible explicar la efectividad parcial observada en el DMSO a nivel de Cr-S (al atenuar el incremento de la misma), gasto urinario y en la evaluación histopatológica, en la cual se observó una disminución leve de los hallazgos sugestivos de daño renal, no así con relación al NAG urinario, en el cual se observó que el efecto del DMSO no es favorable, posiblemente debido a su capacidad intrínseca para alterar la actividad catalítica de algunos sistemas enzimáticos. No obstante, en términos generales los hallazgos demuestran que el DMSO posee capacidad para atenuar los efectos adversos de la gentamicina, por lo cual su aplicación en seres humanos dependerá de mayores investigaciones que permitan mejorar el perfil de efectividad observado hasta el momento o bien descartar por completo su utilización en la práctica médica.

CONCLUSIONES

1. El modelo animal de nefrotoxicidad inducida por gentamicina a una dosis de 80 mg/kg/día IM durante 5 días consecutivos, resultó ser efectivo al analizar los hallazgos de laboratorio e histopatológicos.
2. El DMSO fue capaz de atenuar la LRA inducida por gentamicina de acuerdo con la evaluación histopatológica, aun y cuando no mostró significancia estadística.
3. La aplicación del DMSO en la nefrotoxicidad inducida por gentamicina posee relevancia clínica que amerita mayor investigación.

RECOMENDACIONES

1. Incrementar el número total de unidades experimentales del estudio.
2. Mejorar el diseño de las cajas metabólicas, con el propósito de proporcionar mayor espacio físico para cada unidad experimental y ajustes que permitan evitar la fuga de orina de las mismas.
3. Añadir variables nuevas al estudio, tales como la cuantificación de creatinina urinaria y otras que permitan demostrar la posible relación del efecto protector del DMSO con su propiedad como barredor de radicales libres.
4. Incrementar dosis y/o concentración del DMSO utilizando el mismo protocolo de nefrotoxicidad inducida por gentamicina.
5. Evaluar la posibilidad de implementar microscopía electrónica para la evaluación histopatológica.
6. Desarrollar condiciones de infraestructura adecuadas para realizar este tipo de investigaciones.

CRONOGRAMA DE TRABAJO

MES	ACTIVIDAD
FEBRERO 2011	
01 al 20	Selección del tema de investigación
21 al 25	Distribución de tópicos para bibliografía
25 al 01	Búsqueda de bibliografía según responsabilidad
MARZO 2011	
01 al 06	Terminar búsqueda de bibliografía, Revisión y lectura comprensiva de la bibliografía encontrada, Puesta en común con el resto del grupo
07 al 11	Redacción de borrador preliminar del protocolo de tesis, Entrega de documento al asesor para su correspondiente revisión y corrección
12	Entrega de borrador (Planteamiento y delineamiento del problema, justificación, marco teórico)
13 al 20	Objetivos, Hipótesis y Marco Metodológico
21 al 27	Afinar Marco Teórico, Bibliografía y Marco Metodológico
ABRIL 2011	
28 al 03	Revisión de Informe Preliminar por Asesor, Reunión para ver las recomendaciones y correcciones
04 al 10	Afinar detalles del documento en base a recomendaciones y correcciones por asesor
11 al 17	Elaboración de presupuesto preliminar
18 al 24	VACACIONES DE SEMANA SANTA
25 al 01	Diseño de cajas metabólicas
MAYO 2011	
02 al 08	Diseño de cajas metabólicas y construcción de las mismas
09 al 15	
16 al 29	
JUNIO 2011	
30 al 05	Mejoras y correcciones al marco teórico haciendo énfasis en los mecanismos de acción de los nefroprotectores. Mejorías en la redacción y unificar términos.
06 al 12	Arreglos pendientes de jaulas y Solicitud autorización alojamiento conejos en Laboratorio UJMD
13 al 26	Planificación logística de la fase experimental y prueba piloto, solicitud uso espectrofotómetro UJMD
JULIO 2011	
27 al 03	Compra conejos señuelo (4) y climatización por una semana en caja metabólica.

04 al 11	Prueba Piloto (simulacro de toma de muestra y técnica de inyección IP mas nefrectomía)
11 al 17	Análisis de información obtenida a partir de prueba piloto
18 al 31	Corrección de fallas detectadas
AGOSTO 2011	
01 al 07	VACACIONES DE AGOSTO
08 al 14	Reunión con Dr. Argueta (Patólogo) para Escala de daño renal según Houghton y cols., Capacitación por Roche para uso kit NAG
15 al 21	Adaptación de los conejos Grupo SHAM y CONTROL por una semana en caja metabólica
22 al 28	Ejecución de Fase Experimental para Grupo SHAM y CONTROL
SEPTIEMBRE 2011	
29 al 04	Medición de NAG-U, Entrega de muestras a patólogo
05 al 11	Adaptación conejos Grupo DMSO
12 al 18	Ejecución de Fase Experimental para Grupo DMSO
19 al 25	Medición de NAG-U, Entrega de muestras a patólogo
OCTUBRE 2011	
26 al 02	Consolidado de Resultados Cr-S, NAG-U y Diuresis por grupo en Excel
03 al 09	Preparación de muestras HPR
10 al 16	Capacitación con Patólogo sobre hallazgos patológicos en NTA
17 al 23	Análisis estadístico de los resultados Cr-S, NAG-U y GU
24 al 30	Análisis estadístico de los resultados Cr-S, NAG-U y GU
NOVIEMBRE 2011	
31 al 13	Revisión de documento final con asesor
14 al 27	Entrega del Protocolo al Comité de Graduación para aprobación
DICIEMBRE 2011	
28 al 04	Análisis estadístico de los resultados Cr-S, NAG-U y GU
05 al 18	Discusión de la HPR con Dr. Argueta y Análisis estadístico de los resultados de la HPR
19 al 31	VACACION NAVIDAD Y AÑO NUEVO
ENERO 2012	
01 al 15	Redacción de los Resultados
16 al 31	Redacción de la Discusión
FEBRERO 2012	
01 al 05	Correcciones finales al documento
06	Entrega de documento final a Comité de Graduación y Evaluador
06 al 19	Elaboración de presentación PPT para defensa oral y logística de la presentación oral.

PRESUPUESTO

CONCEPTO	DETALLE	TOTAL
Animales de Experimentación	Conejos machos Nueva Zelanda Costo Unitario: \$1.75 por lb de peso No. Unidades: 24	\$92.40
	Cajas metabólicas Costo Unitario: \$10 No. Unidades: 16	\$160.00
	Alimentación Costo Unitario: \$6.25 (x arroba) No. Unidades: 4 (arrobas)	\$25.00
Medicamentos	Sulfato de Gentamicina Costo Unitario (vial 80mg/2ml): \$1.57 No. Unidades: 160	\$251.20
	Xilazina Costo Unitario: \$20.00 No. Unidades: 5	\$100.00
	Ketamina Costo Unitario (50mg/1ml, frasco 35ml): \$17 No. Unidades: 4	\$68.00
	Dimetilsulfóxido Costo Unitario (ampolla 10 mL al 99%): \$5 No. Unidades: 4	\$20.00
	Solución Salina Normal Costo Unitario (SSN, bolsa 500ml): \$3.00 No. Unidades: 2	\$6.00
Insumos Médicos	Guantes Estériles Costo Unitario (caja de 50 pares): \$ 7.25 No. Unidades: 4	\$29.00
	Guantes no estériles Costo Unitario (caja de 50 pares): \$ 4.50 No. Unidades: 2	\$9.00
	Jeringas con aguja 25 Fr (anarajada) Costo Unitario: \$15.96 No. Unidades: 2	\$31.93
	Aguja 23 Fr (celeste) Costo Unitario (caja de 100): \$8.82 No. Unidades: 1	\$8.82
	Crema Depiladora Costo Unitario: \$4.50 No. Unidades: 2	\$9.00
	Kits de Pequeña Cirugía Costo Unitario: \$20.00 No. Unidades: 2	\$40.00
	Seda 1-0 (hilo de sutura) Costo Unitario: No. Unidades: 24	DONADO
	Bisturí Hoja No. 21 Costo Unitario: \$8.00 (x caja) No. Unidades: 24	\$8.00

	Guillete (Hojas metálicas) Costo Unitario: \$1.40 No. Unidades: 1	\$1.40
	Jabón Yodado Costo Unitario: \$3.00 No. Unidades: 1	\$3.00
	Gabachones de Tela Costo Unitario: \$10.00 No. Unidades: 3	\$30.00
	Frascos para muestras de patología Costo Unitario: \$0.35 No. Unidades: 48	\$16.80
	Formalina Costo Unitario: \$6.75 (x galón) No. Unidades: 2 (galones)	\$13.50
	Gasas Costo Unitario: \$1.00 No. Unidades: 20	\$20.00
	Algodón Costo Unitario: \$3.00 (x bolsa) No. Unidades: 2 (bolsa)	\$6.00
	Mascarillas Costo Unitario: \$5.00 (x caja) No. Unidades: 1 (caja)	\$5.00
	Tubos para muestras de química sanguínea Costo Unitario: \$10.00 (x caja) No. Unidades: 1 (caja)	\$10.00
	Gorros Costo Unitario: \$5.00 (x caja) No. Unidades: 1 (caja)	\$5.00
Pruebas de Laboratorio	Creatinina Sérica Costo Unitario: \$1.10 No. Unidades: 24 (x 3 tomas c/u)	\$79.20
	N-Acetil-B-D-Glucosaminidasa (estándar) Costo Unitario: \$205.69 No. Unidades: 1	\$205.69
	N-Acetil-B-D-Glucosaminidasa (NAG) Costo Unitario (kit 50 muestras): \$547.25 No. Unidades: 2	\$1094.50
	Patólogo Costo Unitario: \$10 No. Unidades: 24	\$240.00
Imprevistos	Otros gastos no especificados en el presente presupuesto	\$100.00
TOTAL		\$2688.44

ANEXOS

CUADRO 14. CRITERIOS PARA CLASIFICAR EL DAÑO TUBULAR PROXIMAL POR MICROSCOPIA DE LUZ.	
GRADO	CRITERIO
0	Normal
1	- Descamación de las células epiteliales tubulares en pequeños focos (menos del 1% del total de los túbulos examinados) - Áreas de degeneración focal granulovacuolar de las células epiteliales y detritos granulares en los lúmenes tubulares con o sin evidencia de descamación
2	Necrosis tubular epitelial y descamación prominente pero que compromete menos del 50% de los túbulos corticales
3	Más del 50% de los túbulos proximales presentan necrosis y descamación pero se identifican túbulos intactos con facilidad
4	Necrosis tubular proximal total o casi total (100%-90%)

Cuadro 14. Tomado de Houghton D., Plamp III C., DeFehr J., Bennett W., Porter G., Gilbert D. *Gentamicin and Tobramycin Nephrotoxicity, a morphologic and Functional Comparison in the rat. American Journal of Pathology, Vol. 93, No.1, October, 1978.*

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

¹Thomas AA, Demirjian S, Lane BR, et al. Acute kidney injury: novel biomarkers and potential utility for patient care in urology. *Urology*. 2011;77(1):5-11.

²Ali BH, Mousa HM. Effect of dimethyl sulfoxide on gentamicin-induced nephrotoxicity in rat. *Hum Exp Toxicol*. 2001 20: 199.

³Balakumar P, Rohilla A, Thangathitupathi A. Gentamicin-induced nephrotoxicity: Do we have a promising therapeutic approach to blunt it? *Pharmacological Research* 62 (2010) 179–186.

⁴Radigan EA, Gilchrist NA, Miller MA. Management of Aminoglycosides in the Intensive Care Unit. *Journal of Intensive Care Medicine*. 2010;25(6):327-342.

⁵Quiros A, Vicente L, Morales A, Lopez J, Lopez F. An Integrative Overview on the Mechanisms Underlying the Renal Tubular Cytotoxicity of Gentamicin. *TOXICOLOGICAL SCIENCES* 119(2), 245–256 (2011).

⁶Moffett BS, Goldstein SL. Acute kidney injury and increasing nephrotoxic-medication exposure in noncritically-ill children. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2011;6(4):856-863.

⁷Pannu N, Nadim MK. An overview of drug-induced acute kidney injury. *Crit. Care Med*. 2008;36(4 Suppl):S216-223.

⁸Mingeot-Leclercq MP, Tulkens PM. Aminoglycosides: nephrotoxicity. *Antimicrob. Agents Chemother*. 1999;43(5):1003-1012.

⁹Sang-Kyung JO, Xuzhen HU, Peter S.T Yuen, Et Alt. Delayed DMSO Administration Protects the Kidney from Mercuric Chloride- Induced Injury. *J Am Soc Nephrol* 15: 2648-2654, 2004.

¹⁰Claure del Granado R. Lesión renal aguda; ya no más insuficiencia renal aguda. *El Residente*. 2008;3(3):79-85.

¹¹Kellum JA. Acute kidney injury. *Crit. Care Med*. 2008;36(4 Suppl):S141-145.

¹²Hoste EAJ, Schurgers M. Epidemiology of acute kidney injury: how big is the problem? *Crit. Care Med*. 2008;36(4 Suppl):S146-151.

¹³Carrillo R, Castro JP. Escala RIFLE. Fundamentos y su impacto en el diagnóstico, pronóstico y manejo de la lesión renal aguda en el enfermo grave. *Rev Asoc Mex Med Crit y Ter*. 2009;23(4):241-244

¹⁴Brenner and Rector's. *The Kidney*, 8th ed. Saunders; 2007.

¹⁵Abosaif NY, Tolba YA, Heap M, Russell J, El Nahas AM. The outcome of acute renal failure in the intensive care unit according to RIFLE: model application, sensitivity, and predictability. *Am. J. Kidney Dis*. 2005;46(6):1038-1048.

-
- ¹⁶Venkataraman R. Can we prevent acute kidney injury? *Crit. Care Med.* 2008;36(4 Suppl):S166-171.
- ¹⁷Miyahira Arakaki JM. Insuficiencia renal aguda. *Rev Med Hered.* 2003;14(1):36-43.
- ¹⁸Anon. Pathophysiology review: acute tubular necrosis. *Nursing.* 2010;40(4):46-47.
- ¹⁹Devarajan P. Cellular and molecular derangements in acute tubular necrosis. *Curr. Opin. Pediatr.* 2005;17(2):193-199.
- ²⁰Bagshaw SM, Gibney RTN. Conventional markers of kidney function. *Crit. Care Med.* 2008;36(4 Suppl):S152-158.
- ²¹Lisowska-Myjak B. Serum and urinary biomarkers of acute kidney injury. *Blood Purif.* 2010;29(4):357-365.
- ²²Parikh CR, Devarajan P. New biomarkers of acute kidney injury. *Crit. Care Med.* 2008;36(4 Suppl):S159-165.
- ²³Thomas AA, Demirjian S, Lane BR, et al. Acute kidney injury: novel biomarkers and potential utility for patient care in urology. *Urology.* 2011;77(1):5-11.
- ²⁴Zúñiga L. Cambios en la excreción urinaria de N-Acetil-Beta-Glucosaminidasa en pacientes con diabetes tipo 2 en tratamiento con Losartán. Tesis Doctoral, Facultad de Medicina, Departamento de Medicina, Universidad de Granada, Granada, 2008.
- ²⁵Jennette J.C., Olson J.L., Schwartz M.M., Silva F.G. Primer on the Pathologic Diagnosis of Renal Disease, Chapter 3. En: *Hepinstall's Pathology of the Kidney*, 6th Edition, Lippincott Williams & Wilkins, 2007, Volume One.
- ²⁶Racusen L., Kashgarian M. Ischemic and Toxic Acute Tubular Injury and Other Ischemic Renal Injury, Chapter 24. En: *Jennette J. C., Olson J. L., Schwartz M. M., Silva F. G. Hepinstall's Pathology of the Kidney*, 6th Edition, Lippincott Williams & Wilkins, 2007, Volume two.
- ²⁷Greaves P. Urinary tract, Chapter 10. En: *Histopathology of preclinical toxicity studies*, Third edition, Elsevier Inc., 2007.
- ²⁸Racusen L., Nast C. Renal Histopathology, Urine cytology & Cytopathology of Acute renal Failure, Chapter 9. En: *Schrier R. Atlas of diseases of the kidney*. On-line edition by ISN Informatics Commission and NKF cyberNephrology
- ²⁹Houghton D., Plamp III C., DeFehr J., Bennett W., Porter G., Gilbert D. Gentamicin and Tobramycin Nephrotoxicity, a morphologic and Functional Comparison in the rat. *American Journal of Pathology*, Vol. 93, No.1, October, 1978.
- ³⁰Skinner R. Nephrotoxicity--what do we know and what don't we know? *J. Pediatr. Hematol. Oncol.* 2011;33(2):128-134.

-
- ³¹Perazella MA. Toxic nephropathies: core curriculum 2010. *Am. J. Kidney Dis.* 2010;55(2):399-409.
- ³²Naughton CA. Drug-induced nephrotoxicity. *Am Fam Physician.* 2008;78(6):743-750.
- ³³Perazella MA. Renal vulnerability to drug toxicity. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2009;4(7):1275-1283.
- ³⁴Avent M, Rogers B, Cheng A, Paterson D. Current use of aminoglycosides; indications, pharmacokinetics and monitoring for toxicity. *Intern Med J.* 2011.
- ³⁵Brunton L, Lazo J, Parker K. Goodman & Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics, Eleventh Edition. 11^o ed. McGraw-Hill Professional; 2005
- ³⁶Katzung B. Basic & Clinical Pharmacology. 10^o ed. McGraw-Hill Medical; 2006
- ³⁷Perez de la Cruz MJ, Nefrotoxicidad gentamicina dependiente. Posible protección y evaluación farmacocinética. Tesis Doctoral, Facultad de Farmacia, Universidad Complutense, Madrid, 1992.
- ³⁸Lopez-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;79(1):33-45.
- ³⁹Palomino J, Pachon J. Aminoglucósidos. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2003;21(2):105-15.
- ⁴⁰Quirós Y, Vicente-Vicente L, Morales AI, López-Novoa JM, López-Hernández FJ. An integrative overview on the mechanisms underlying the renal tubular cytotoxicity of Gentamicin. *Toxicol sci* 2011; 119(2):245–256.
- ⁴¹Martínez-Salgado C, López-Hernández FJ, López-Novoa JM. Glomerular nephrotoxicity of aminoglycosides. *Toxicology and Applied Pharmacology* 2007; 223:86-98.
- ⁴²Tabibi A, Nouralizadeh A, Parvin M, et al. An established rat model of inducing reversible acute tubular necrosis. *Iran J Kidney Dis.* 2007;1(1):16-20.
- ⁴³Heyman SN, Lieberthal W, Rogiers P, Bonventre JV. Animal models of acute tubular necrosis. *Curr Opin Crit Care.* 2002;8(6):526-534.
- ⁴⁴Pérez de la Cruz MJ, Cadórniga R, Ochoa MC, et al. Chronopharmacokinetics and calcium in the prevention of gentamicin-induced nephrotoxicity in rabbits. *Biopharm Drug Dispos.* 1998;19(6):407-412.
- ⁴⁵Hanslik T, Blanchet F, Nochy D, et al. Effect of the platelet activating factor antagonist BN52021 in rabbits: role in gentamicin nephrotoxicity. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 1994;128(1):111-115.
- ⁴⁶Brion N, Barge J, Godefroy I, et al. Gentamicin, netilmicin, dibekacin, and amikacin nephrotoxicity and its relationship to tubular reabsorption in rabbits. *Antimicrob.Agents Chemother.* 1984;25(2):168-172

-
- ⁴⁷Abu-Spetan KA, Abdel-Gayoum AA. Effect of high dietary cholesterol on gentamicin-induced nephrotoxicity in rabbits. *Arch. Toxicol.* 2001;75(5):284-290.
- ⁴⁸Ali BH, Al-Wabel N, Mahmoud O, Mousa HM, Hashad M. Curcumin has a palliative action on gentamicin-induced nephrotoxicity in rats. *Fundam Clin Pharmacol.* 2005;19(4):473-477.
- ⁴⁹Said MM. The protective effect of eugenol against gentamicin-induced nephrotoxicity and oxidative damage in rat kidney. *Fundam Clin Pharmacol.* 2010.
- ⁵⁰De la Cruz Rodríguez LC, Araujo CR, Posleman SE, Rey MR. Attenuation of gentamicin-induced nephrotoxicity: trimetazidine versus N-acetyl cysteine. *J Appl Toxicol.* 2010;30(4):343-353.
- ⁵¹Abdel-Raheem IT, Abdel-Ghany AA, Mohamed GA. Protective Effect of Quercetin against Gentamicin-Induced Nephrotoxicity in Rats. *Biol. Pharm. Bull.* 2009;32(1):61-67.
- ⁵²Khan SA, Priyamvada S, Farooq N, et al. Protective effect of green tea extract on gentamicin-induced nephrotoxicity and oxidative damage in rat kidney. *Pharmacol. Res.* 2009;59(4):254-262.
- ⁵³Ajami M, Egtesadi S, Pazoki-Toroudi H, Habibey R, Ebrahimi SA. Effect of crocus sativus on gentamicin induced nephrotoxicity. *Biol. Res.* 2010;43(1):83-90.
- ⁵⁴Safa J, Argani H, Bastani B, et al. Protective effect of grape seed extract on gentamicin-induced acute kidney injury. *Iran J Kidney Dis.* 2010;4(4):285-291
- ⁵⁵Parlakpınar H, Tasdemir S, Polat A, et al. Protective effect of chelerythrine on gentamicin-induced nephrotoxicity. *Cell Biochem. Funct.* 2006;24(1):41-48.
- ⁵⁶Erdem A, Gündoğan NU, Usubütün A, et al. The protective effect of taurine against gentamicin-induced acute tubular necrosis in rats. *Nephrol. Dial. Transplant.* 2000;15(8):1175-1182.
- ⁵⁷Ali BH. Agents ameliorating or augmenting experimental gentamicin nephrotoxicity: some recent research. *Food Chem. Toxicol.* 2003;41(11):1447-1452.
- ⁵⁸Walker PD, Shah SV. Evidence suggesting a role for hydroxyl radical in gentamicin-induced acute renal failure in rats. *J. Clin. Invest.* 1988;81(2):334-341.
- ⁵⁹Pope DC, Oliver WT. Dimethyl sulfoxide (DMSO). *Can J Comp Med Vet Sci.* 1966;30(1):3-8.
- ⁶⁰Paredes F, Roca JJ. Influencia de los radicales libres en el envejecimiento celular. *Offarm.* 2002;21(7):96-100.
- ⁶¹Rodríguez JM, Menendez JR, Tujillo J. Radicales libres en la biomedicina y estrés oxidativo. *Rev Cub Med Mil.* 2001;30(1):15-20.

-
- ⁶²Maldonado O, Jiménez EN, Guapillo MRB, Ceballos GM, Méndez E. Radicales libres y su papel en las enfermedades crónico-degenerativas. *Rev Med UV*, Jul-Dic. 2010
- ⁶³Millones C. Radicales libres de oxígeno y el uso de antioxidantes en un ejercicio forzado. Sistema de Revisiones en Investigación de San Marcos (SIRIVS), Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Medicina Veterinaria, Lima, Perú, 2008
- ⁶⁴Anon. Methylsulfonylmethane (MSM). Monograph. *Altern Med Rev*. 2003;8(4):438-441.
- ⁶⁵Gaylord Chemical Company L.L.C. Dimethyl Sulfoxide (DMSO) Health and Safety Information. Bulletin No. 106, Oct. 2007.
- ⁶⁶Wood DC, Wood J. Pharmacologic and biochemical considerations of dimethyl sulfoxide. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 1975;243:7-19.
- ⁶⁷García J, Efecto del dimetilsulfóxido en la respuesta quimioluminiscente y el consumo de oxígeno de neutrófilos humanos activados. *Rev. costarric. cienc. méd.* 2001;22(12):17-32.
- ⁶⁸Santos NC, Figueira-Coelho J, Martins-Silva J, Saldanha C. Multidisciplinary utilization of dimethyl sulfoxide: pharmacological, cellular, and molecular aspects. *Biochem.Pharmacol.* 2003;65(7):1035-1041.
- ⁶⁹Arndt K, Haschek WM, Jeffery EH. Mechanism of dimethylsulfoxide protection against acetaminophen hepatotoxicity. *Drug Metab. Rev.* 1989;20(2-4):261-269.
- ⁷⁰Jacob SW, Herschler R. Pharmacology of DMSO. *Cryobiology.* 1986;23(1):14-27.
- ⁷¹Jacob SW, de la Torre JC. Pharmacology of dimethyl sulfoxide in cardiac and CNS damage. *Pharmacol Rep.* 2009;61(2):225-235.
- ⁷²Parisi A, Alfieri A, Mazzella M, et al. Protective effect of dimethyl sulfoxide on acute myocardial infarction in rats. *J.Cardiovasc.Pharmacol.* 2010;55(1):106-109.
- ⁷³Park Y, Smith RD, Combs AB, Kehrer JP. Prevention of acetaminophen-induced hepatotoxicity by dimethyl sulfoxide. *Toxicology.* 1988;52(1-2):165-175.
- ⁷⁴Shlafer M, Kane PF, Kirsh MM. Effects of dimethyl sulfoxide on the globally ischemic heart: Possible general relevance to hypothermic organ preservation. *Cryobiology.* 1982;19(1):61-69.
- ⁷⁵Sanmartín-Suárez C, Soto-Otero R, Sánchez-Sellero I, Méndez-Álvarez E. Antioxidant properties of dimethyl sulfoxide and its viability as a solvent in the evaluation of neuroprotective antioxidants. *J Pharmacol Toxicol Methods.* 2011;63(2):209-215.

-
- ⁷⁶Repine JE, Eaton JW, Anders MW, Hoidal JR, Fox RB. Generation of Hydroxyl Radical by Enzymes, Chemicals, and Human Phagocytes In Vitro. *J Clin Invest.* 1979;64(6):1642-1651.
- ⁷⁷Turan NN, Akar F, Budak B, et al. Efecto protector del dimetil sulfóxido sobre un modelo experimental de lesión medular por reperfusión. *Anales de Cirugía Vascular.* 2008;22(1):108-116.
- ⁷⁸Suckow MA, Douglas F. *The Laboratory Rabbit.* 1st ed. CRC-Press; 1997.
- ⁷⁹Canadian Council on Animal Care CCPA, Manual. Vol.1, 2nd. Edition;1998.
- ⁸⁰American Veterinary Medical Association (AVMA), Guidelines of Euthanasia. Formerly Report of the AVMA Panel of Euthanasia; June 2007.
- ⁸¹ Hoyos W, Medina I, López R, et al. Dimethyl sulphoxide administration decreases renal ischemic–reperfusion injury. *Critical Care.* 2009;13(Suppl 1):P366.
- ⁸² Hoyos W, Rivas A, Urrutia A. Efectos del Dimetilsulfóxido (DMSO) sobre la apoptosis y daño renal en un modelo animal de isquemia reperfusión. Tesis Doctoral, Facultad de Ciencias de la Salud, Escuela de Medicina, Universidad Dr. José Matías Delgado, El Salvador, 2010.
- ⁸³ Hoyos W, Alfaro L, Garcia B, et al. Efecto de diferentes antioxidantes en el síndrome de isquemia reperfusión renal. Tesis Doctoral, Facultad de Ciencias de la Salud, Escuela de Medicina, Universidad Dr. José Matías Delgado, El Salvador, 2011.
- ⁸⁴Skálová S. The diagnostic role of urinary N-acetyl-beta-D-glucosaminidase (NAG) activity in the detection of renal tubular impairment. *Acta Medica (Hradec Kralove).* 2005;48(2):75-80.
- ⁸⁵Wood DC, Wood J. Pharmacologic and biochemical considerations of dimethyl sulfoxide. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 1975;243:7–19.
- ⁸⁶ Rammler DH. The effect of DMSO on several enzyme systems. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 1967;141(1):291–299.
- ⁸⁷ Rouleau M. Effects of cations, sugars, detergents, sulfhydryl compounds, and cryoprotective agents on the colorimetric determination of N-acetylglucosamine by the method of Reissig. *Anal. Biochem.* 1980;103(1):144–151.
- ⁸⁸Pedraza-Chaverrí J, Maldonado PD, Barrera D, et al. Protective effect of diallyl sulfide on oxidative stress and nephrotoxicity induced by gentamicin in rats. *Mol. Cell. Biochem.* 2003;254(1-2):125-130.